

·基础研究·

microRNA-320d 通过PBX3抑制子宫内膜癌JEC细胞 上皮-间质转化功能

王 晶, 龚凤球, 何 科, 姚书忠, 牛 刚
(中山大学附属第一医院妇产科, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】研究 microRNA-320d(miR-320d)对子宫内膜癌JEC细胞上皮-间质转化功能的影响及其相关机制。【方法】JEC子宫内膜癌细胞株分别转染 miR-320d mimics 和 negative control mimic, 分别作为 M320d、NCM 组, 并设立未转染对照 control 组, 采用 RT-PCR 法检测各组细胞 miR-320d 含量。Transwell 实验检测 3 组细胞迁移能力和侵袭能力。Western-blot 法检测 3 组细胞 α -Catenin 和 PBX3 表达水平, 及 PBX3 过表达对 miR-320d 抑制 EMT 的拮抗作用。双荧光素酶实验检测 miR-320d 与 PBX3 的关系。【结果】M320d 组 miR-320d 的表达水平为 control 组的 (808.25 ± 15.58) 倍 ($P < 0.05$)。M320d 组迁移细胞数量 29.56 ± 0.59 低于 control 组的 94.48 ± 1.02 ($P < 0.05$)。M320d 组侵袭细胞数量 7.33 ± 0.84 低于 control 组的 86.28 ± 3.51 ($P < 0.05$)。M320d 组细胞 α -Catenin、E-cadherin 蛋白表达量 $(0.365 \pm 0.017, 0.261 \pm 0.008)$ 高于对照组 $(0.114 \pm 0.010, 0.151 \pm 0.021)$, Vimentin 蛋白表达量 (0.105 ± 0.009) 低于对照组 (0.211 ± 0.025) , PBX3 蛋白表达量 (0.181 ± 0.002) 低于对照组 (0.311 ± 0.007) 。PBX3 过表达 M320d 组子宫内膜癌细胞中 α -Catenin、E-cadherin 蛋白表达量 $(0.139 \pm 0.019, 0.143 \pm 0.007)$ 低于对照组 $(0.399 \pm 0.034, 0.261 \pm 0.017)$, Vimentin 蛋白表达量 (0.234 ± 0.008) 高于对照组 (0.105 ± 0.009) , 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。双荧光素酶检验结果显示 PBX3 为 miR-320d 的下游靶基因。【结论】miR-320d 可能通过降低下游靶基因 PBX3 水平影响 EMT 相关蛋白表达, 抑制子宫内膜癌 JEC 细胞的上皮-间质转化功能。

关键词: 子宫内膜癌; 微小 RNA-320d; 上皮-间质转化

中图分类号: R711

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)05-0651-07

MicroRNA-320d Inhibits Epithelial Mesenchymal Transition Function in Endometrial Carcinoma JEC Cells by PBX3

WANG Jing, GONG Feng-qiu, HE Ke, YAO Shu-zhong, NIU Gang

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Corresponding to: Niu Gang, E-mail: niugdr@163.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the inhibitory effect and mechanism of the microRNA-320d (miR-320d) on epithelial mesenchymal transition in endometrial carcinoma JEC cells. 【Methods】 JEC endometrial carcinoma cell lines were transfected with miR-320d mimics or negative control mimic, respectively, as M320d or NCM group. Control group was established with untreated JEC endometrial carcinoma cells. miR-320d content in each group was detected by RT-PCR method. Transwell assay was used to detect the migration and invasion ability of the 3 groups. Western-blot assay was used to detect the expressions of α -Catenin, E-cadherin, Vimentin and PBX3 protein in 3 groups. Antagonistic effect of PBX3 overexpression on miR-320d inhibition of EMT was detected by western blot assay. The relationship between miR-320d and PBX3 was detected by dual luciferase assay. 【Results】 The expression level of miR-320d in M320d group was significantly up-regulated, and the expression level of miR-320d was 808.25 ± 15.58 times higher than that of control group ($P < 0.05$). The number of migrating cells in M320d group was 29.56 ± 0.59 , which was significantly lower than that of control group at 94.48 ± 1.02 ($P < 0.05$). The number of invasive cells in M320d group was 7.33 ± 0.84 , which was significantly lower than that of group control 86.28 ± 3.51 ($P < 0.05$). Compared with control group, the expression of

收稿日期: 2017-05-02

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(81602723); 广东省科技发展专项(公益研究与能力建设, 2016A020215214); 广东省医学科研基金(A2015130)

作者简介: 王晶, 妇产科医师, E-mail: wnagjing@163.com; 牛刚, 通信作者, 博士, 教授, E-mail: niugdr@163.com

α -Catenin and E-cadherin protein was significantly increased, the expression of Vimentin protein was significantly decreased, and the expression of PBX3 protein was significantly decreased. After PBX3 overexpression, the expression of α -Catenin and E-cadherin protein were significantly decreased, the expression of Vimentin protein were significantly increased. Dual luciferase assay showed that PBX3 is a downstream target gene of miR-320d ($P < 0.05$). 【Conclusion】 miR-320d may inhibit the expression of EMT related protein through the downstream target gene PBX3 and inhibit the epithelial mesenchymal transition function of endometrial carcinoma JEC cells.

Key words: endometrial carcinoma; MicroRNA-320d; epithelial mesenchymal transition

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(5): 651-657]

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)是死亡率最高的生殖系统恶性肿瘤之一,其发病与子宫内膜上皮内瘤变、雌激素过多等因素密切相关^[1]。既往报道EC多发生于围绝经期妇女,但近年来,EC的发病人群有明显的低龄化趋势,且其发病率明显上升。目前常用的激素治疗、手术治疗等手段的总体效果不能令人满意,尤其针对发生转移和扩散者的效果更差,所以迫切需要开发可以高效抑制子宫内膜癌侵袭转移的新型治疗手段,以改善子宫内膜癌的总疗效^[2]。新近研究发现,microRNA(miR)-320与卵巢癌等多种恶性肿瘤的发生发展关系密切,可能通过多种分子生物途径发挥抑癌作用^[3],并可能通过影响前B细胞白血病同源盒基因3(PBX3, pre-B-cell leukemia homeobox 3)的表达实现治疗效果,有望成为包括子宫内膜癌在内的多种恶性肿瘤的治疗手段。目前对miR-320d靶向干预子宫内膜癌后,对子宫内膜癌细胞上皮-间质转化和侵袭转移的影响及其机制尚不明确。本研究采用miR-320d模拟物转染人子宫内膜癌细胞系JEC细胞,观察其对子宫内膜癌细胞上皮-间质转化过程的影响,进而研究其对EMT相关功能蛋白(Vimentin, E-cadherin, α -Catenin)及PBX3蛋白表达水平的影响,并进一步明确其分子生物学机制。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1640培养基,胎牛血清购自美国GIBCO公司,胰酶、PBS液、Trizol液、脂质体2000(Lipofectamine™ 2000)购自美国Invitrogen公司。Transwell小室购自美国NUNC公司。Real-time PCR逆转录-聚合链酶反应试剂盒购自日本TaKaRa公司。兔抗人PBX3抗体、兔抗人Vimentin, E-cadherin,

α -连环素(α -Catenin)抗体、兔抗人 β 微管蛋白(β -tubulin)抗体购自美国Abcam公司。子宫内膜癌细胞株JEC购自ATCC。miR-320d模拟物mimics及其阴性对照negative control mimic、miR-320d及内参照RNU6的PCR引物、双荧光素酶检验试剂盒、野生型的WT-PBX3 Psicheck™-2载体及3'UTR定点突变后的MT-PBX3 Psicheck™-2载体、3'UTR定点突变的PBX3过表达质粒载体购自上海生工生物有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 microRNA转染和miR-320d含量RT-PCR检测 复苏培养JEC子宫内膜癌细胞株。以含有100 mL/L胎牛血清的1640培养基常规培养。按照转染试剂Lipofectamine™ 2000试剂说明书,在细胞融合度达50%时以miRNA mimics终浓度为52 nmol/L分别转染miR-320d mimics和negative control mimic,分别作为M320d、NCM组转染72 h,并设立未转染对照control组。Trizol法提取各组总细胞RNA,逆转录合成cDNA。以RNU6作为内参照,进行RT-PCR检测。PCR反应条件按照课题组既往报道方法进行,所得数据用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析法进行分析计算。

1.2.2 Transwell实验检测细胞迁移能力 分组转染后,各组细胞分别取对数期 1×10^5 个细胞150 μ L无血清培养基重悬后加入Transwell小室上室。Transwell下室加入500 μ L含血清完全培养基。细胞培养箱37 $^{\circ}$ C常规培养48 h,弃去上室培养液,取下上室底膜,清除未穿膜上室细胞,甲醇固定穿膜细胞15 min, PBS冲洗3遍。1%结晶紫染色20 min, PBS冲洗3遍。取下上室底膜,光镜下观察并计数穿过小孔细胞。

1.2.3 Transwell法检测细胞侵袭能力 将Matrigel胶稀释后,每个Transwell小室加入50 μ L, 37 $^{\circ}$ C孵育3h凝固。同前Transwell实验方法,将分组转

染后的细胞重悬于无血清培养基后,接种入Transwell小室上室,下室加入500 μ L完全培养基。常规培养48 h后取出小室。擦除未过膜细胞后甲醇固定,1%结晶紫染色,显微镜下拍照,光镜下观察并计数穿过小孔细胞。

1.2.4 Western-blot法检测细胞EMT相关蛋白表达的变化 子宫内癌细胞分组转染后48 h,按照既往报道方法收集细胞,提取总蛋白,进行Western-blot检测,分析 α -Catenin, Vimentin, E-cadherin和内参 β -tubulin蛋白的表达^[4]。

1.2.5 miR-320d靶基因预测 运用生物信息学方法,在miRBase数据库中搜索人源hsa-miR-320d基因的序列,进而分析miR-320d序列的特征并预测其靶基因。

1.2.6 Western-blot法检测细胞PBX3蛋白表达的变化 子宫内癌细胞分组转染后48 h,按照1.2.4方法收集细胞,提取总蛋白,进行Western-blot检测,分析PBX3蛋白和内参 β -tubulin蛋白的表达。

1.2.7 双荧光素酶实验检测miR-320d与PBX3的关系 采用野生型的PBX3 PsicheckTM-2载体及定点突变后的PBX3 PsicheckTM-2载体,分别和miRNA-320d mimics一起通过脂质体共转染,转染48 h后,按照既往报道方法,行双荧光素酶检验^[4]。

1.2.8 PBX3过表达对miR-320d抑制EMT的拮抗作用 采用构建的PBX3过表达质粒转染M320d组细胞系,并通过Western blot法检测PBX3过表达后M320d组JEC细胞中PBX3、 α -Catenin和内参 β -tubulin蛋白的表达情况。

1.3 统计学方法

采用SPSS13.0软件进行分析。实验数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析(ANOVA),两组之间比较采用LSD-*t*检验。设定 $P < 0.05$ 时为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA对JEC细胞MiR-320d水平的影响

miR-320d mimics转染JEC细胞24 h后,RT-PCR法检测各组细胞中miR-320d的表达水平。以control组的表达水平设为标准对照进行比较,M320d组miR-320d的表达水平为(808.25 \pm 15.58)

倍,差异具有统计学意义($F = 32.56, P = 0.00$,图1)。NCM组的miR-320d表达水平1.02 \pm 0.03与control组的差异没有统计学意义($P = 0.06$;图1)。

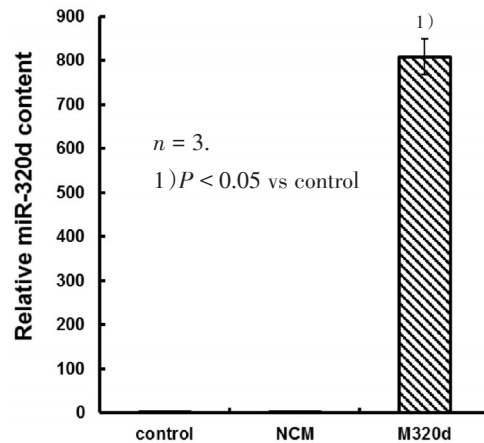


图1 3组JEC细胞miR-320d水平的比较

Fig.1 Comparison of miR-320d levels in 3 groups of JEC cells

2.2 miR-320d对JEC细胞迁移能力的影响

Transwell实验发现,经过48h培养,观察染色阳性的穿膜细胞数量。发现M320d组迁移细胞数量29.56 \pm 0.59明显低于control组的99.48 \pm 1.02,差异具有统计学意义($F = 9.79, P = 0.01$),而NCM组的细胞数量107.11 \pm 4.56与control组之间的差异无统计学意义($P = 0.07$;图2)。

2.3 miR-320d对JEC细胞侵袭能力的影响

Transwell实验发现,经过48 h培养,观察受到染色的穿膜细胞数量。发现M320d组侵袭细胞数量7.33 \pm 0.84明显低于control组的86.28 \pm 3.51,差异具有统计学意义($F = 13.46, P = 0.02$),而NCM组的细胞数量85.51 \pm 1.07与control组之间的差异无统计学意义($P = 0.06$;图3)。

2.4 miR-320d对JEC细胞EMT相关功能蛋白表达的影响

Western Blot实验显示,与control组相比,M320d组 α -Catenin、E-cadherin蛋白表达量明显升高,差异具有统计学意义($F = 18.20, 9.13, 8.23, P = 0.00, 0.01, 0.02$),而NCM组与对照组之间的蛋白表达无明显差异($P = 0.07, 0.08, 0.06$;图4)。Western Blot实验显示,与Control组相比,M320d组Vimentin蛋白表达量明显降低,差异具有统计学意义($F = 11.61, P = 0.02$),而NCM组与对照组之间的蛋白表达无明显差异($P = 0.07$;图4)。

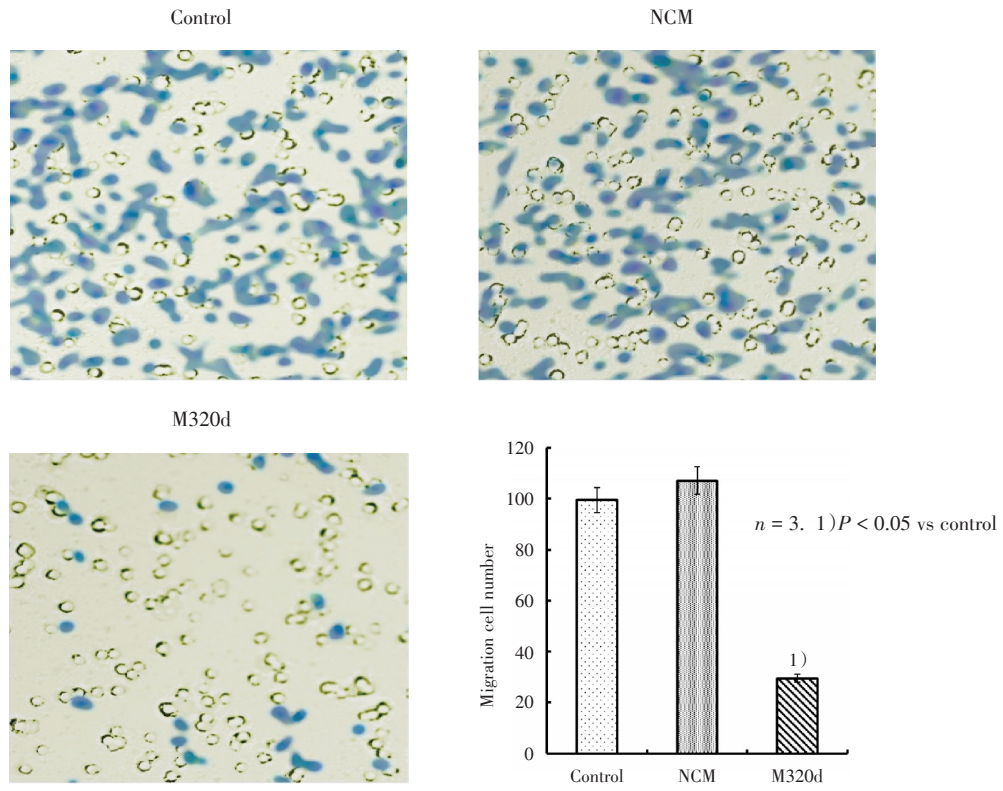


图2 miR-320d对JEC细胞迁移能力的影响(×400)

Fig.2 Effect of miR-320d on migration ability of JEC cells(×400)

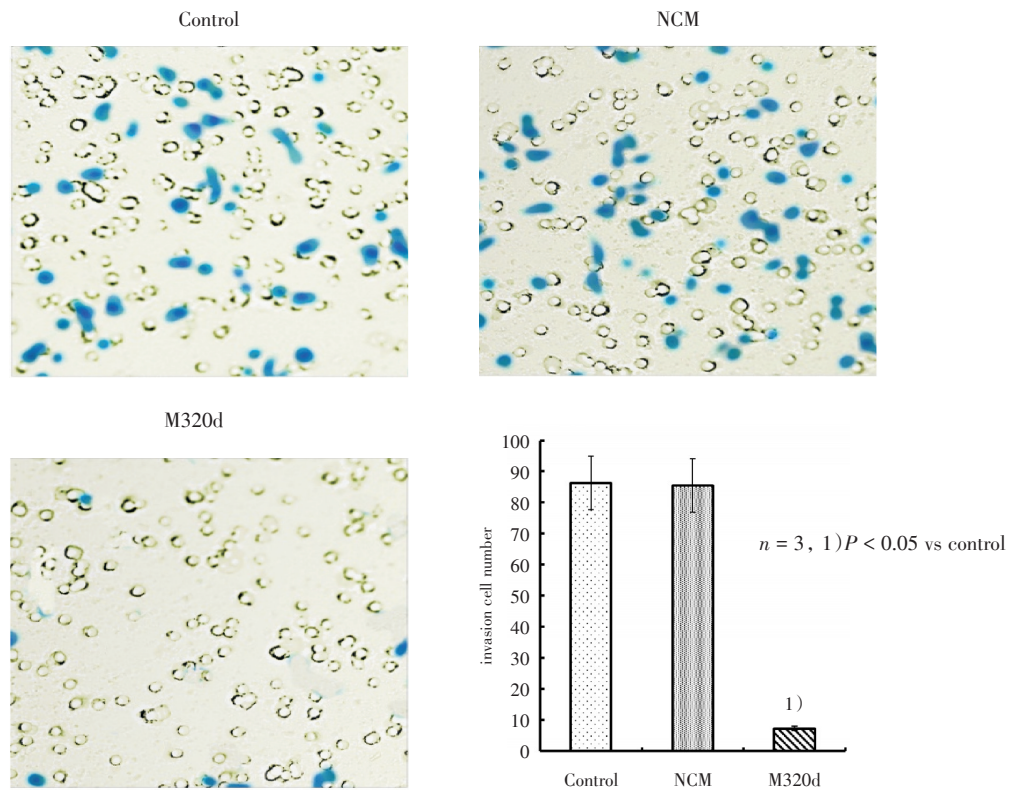
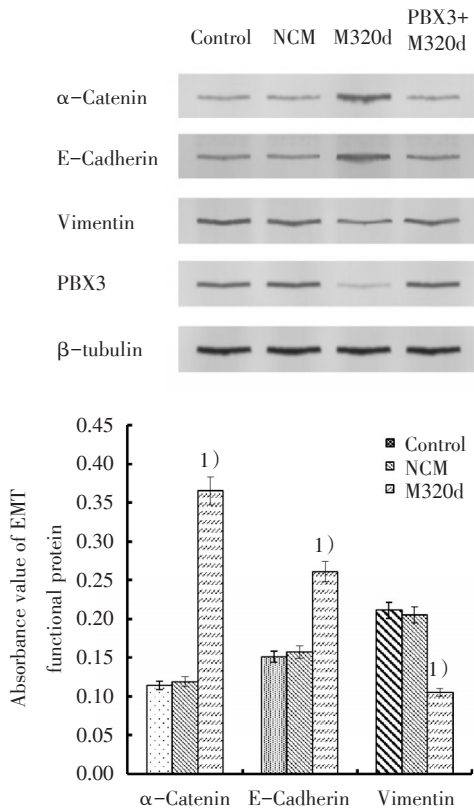


图3 miR-320d对JEC细胞侵袭能力的影响(×400)

Fig.3 Effect of on invasion ability of JEC cells by miR-320d(×400)



n = 3, 1) *P* < 0.05 vs control
图4 miR-320d对JEC细胞EMT相关功能蛋白表达的影响
Fig.4 The effect of miR-320d on the expression of EMT functional proteins in JEC cells

2.5 miR-320d对JEC细胞PBX3蛋白表达的影响
 miRBASE生物信息学预测结果表明,miR-320d与PBX3的3'UTR区部分互补。PBX3可能是miR-320d的靶基因(图5)。进一步的Western Blot实验显示,与control组相比,M320d组PBX3蛋白表达量明显降低,而NCM组与对照组之间的PBX3蛋白表达无明显差异。PBX3蛋白表达量的Western blot结果与miR-320d的PCR结果表现出负向相关关系($F=7.76, P=0.03$;图6)。这说明miR-320d抑制PBX3蛋白表达的效果显著。

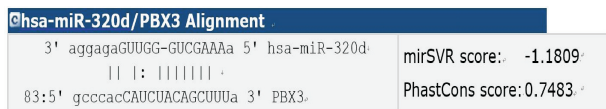
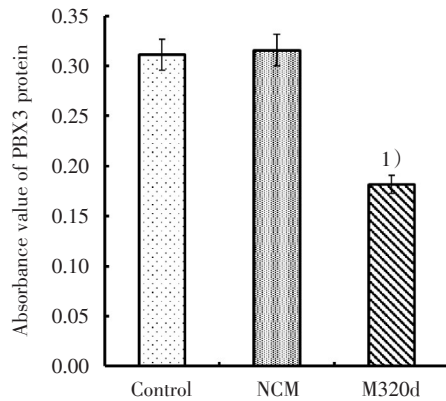


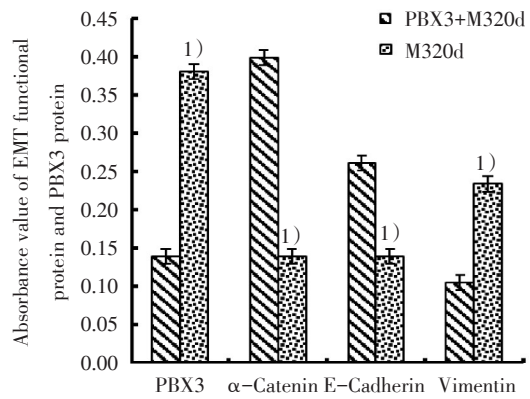
图5 miR-320d靶基因生物信息学预测结果
Fig.5 Bioinformatics prediction results of miR-320d target genes



n = 3, 1) *P* < 0.05 vs control
图6 miR-320d对JEC细胞PBX3蛋白表达的影响
Fig.6 The infection of miR-320d on the expression of PBX3 protein in JEC cells

2.6 PBX3过表达对miR-320d抑制子宫内膜癌细胞EMT的拮抗效果

Western Blot实验发现,采用3'UTR突变的PBX3质粒转染M320d组细胞,伴随PBX3表达量的升高,M320d组子宫内膜癌细胞中α-Catenin、E-cadherin蛋白表达量明显降低,Vimentin蛋白表达量明显升高,差异具有统计学意义($t = 10.38, 14.68, 8.75; P = 0.01, 0.01, 0.02$;图4,7)。

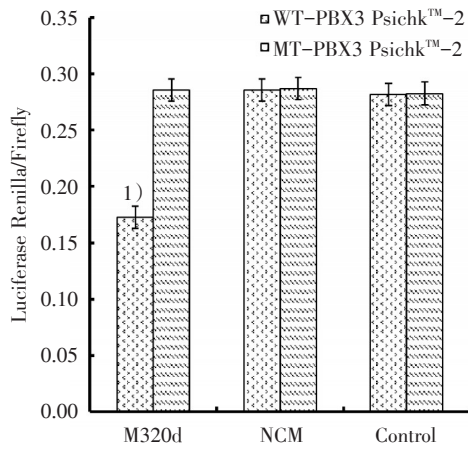


n = 3, 1) *P* < 0.05 vs control
图7 PBX3过表达拮抗miR-320d对JEC细胞EMT相关功能蛋白表达的影响
Fig.7 The effect of miR-320d on the expression of EMT functional proteins in JEC cells with or without PBX3 restoration

2.7 miR-320d与PBX3相互作用关系的双荧光素酶实验检测

双荧光素酶检验结果显示miR-320d能明显

抑制野生型 WT-PBX3 Psicheck™-2 载体的荧光强度,差异具有统计学意义($F = 10.18, P = 0.02$; 图8),而无法抑制3'UTR定点突变后 MT-PBX3 Psicheck™-2 载体的荧光强度($P = 0.07$),说明 PBX3 为 miR-320d 的下游靶基因。



$n = 3, 1) P < 0.05$ vs control

图8 PBX3的荧光素酶活性比较

Fig.8 The relative luciferase activity of PBX3

3 讨论

子宫内膜癌是发生于子宫内膜上皮的恶性肿瘤,是女性生殖道三大恶性肿瘤之一。目前,随着妇女生活方式的逐渐改变和外源性雌激素应用的逐渐推广,子宫内膜癌的发病率呈现逐年增高趋势并出现年轻化趋势,其已取代宫颈癌成为发达国家女性生殖道最常见的恶性肿瘤。由于子宫内膜癌侵袭能力较强,转移发生率较高等临床特征,虽然目前激素治疗、手术治疗、放化疗等治疗手段长足进步,但患者的总体生存仍不能令人满意^[5]。近年来,随着肿瘤学、遗传学的不断发展和人类基因组研究的不断深入,分子靶向治疗逐渐成为子宫内膜癌等恶性肿瘤提高疗效的希望。子宫内膜癌的发生涉及到细胞中多种癌基因和抑癌基因的变化,有望通过选取合适的分子靶向治疗靶点,实现对关键的细胞功能蛋白的靶向调控,进而对细胞内相应的功能进行控制,对子宫内膜癌细胞进行高效杀伤^[6]。microRNA是分子靶向治疗研究中的热点,其主要作用机制是与靶蛋白的mRNA的非编码区(3'-UTR)形成互补配对后使mRNA降解组织进一步的蛋白表达^[7]。

miR-320家族编码基因较少发生变异,有研究表明其与宫颈癌、卵巢癌等多种女性生殖系统恶性肿瘤的发生发展和侵袭转移相关^[3,8]。然而,目前miR-320在子宫内膜癌中的确切致癌效果及其起效机制尚未阐明。本研究采用miR-320d模拟物mimics成功实现了对子宫内膜癌JEC细胞的转染(图1),进而检测到对迁移能力和侵袭能力的确切抑制(图2、3),说明miR-320d对子宫内膜癌JEC细胞具有侵袭迁移能力的确切抑制效果。为明确miR-320d抑制子宫内膜癌侵袭迁移能力的效果是否是由于对上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transitions, EMT)的影响而产生的,我们考察了EMT相关功能蛋白 α -Catenin, E-cadherin和Vimentin的蛋白表达量,发现 α -Catenin, E-cadherin表达水平明显升高, Vimentin表达水平明显降低(图4)。该研究结果说明了miR-320d在迁移能力和侵袭能力的抑制过程中,具有对EMT过程的抑制效果,其对抗迁移侵袭的能力可能是通过对EMT过程的抑制实现的。以上研究结果高度提示miR-320d在子宫内膜癌治疗及预后评估中具有潜在的应用价值。

目前国际上的类似研究发现,miR-320家族在结肠癌中可能的靶蛋白为FOXM1^[9],在口腔癌中的靶蛋白可能为neuropilin 1^[10],但是miR-320d在子宫内膜癌中作用的靶蛋白仍不明确。对目的microRNA进行生物信息学分析,能够迅速预测出可能的靶基因作用位点^[11]。但是microRNA靶基因预测具有一定的不确定性,所以由生物信息学软件预测的靶基因,必须进行生物学实验方法进行严格验证,以进一步明确其生物学功能^[12]。本研究的生物信息学预测结果提示, PBX3可能为miR-320d的潜在靶基因,且其热稳定性和基因保守性较高(图5)。本研究进而发现,miR-320d过表达后, PBX3蛋白的表达量明显下降(图6),说明两者的表达量具有一定的相关性。大量相关的研究证实, PBX3可能在胃癌、结肠癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤中作为miR-144、let7等多种microRNA的靶点发挥抗肿瘤作用^[13-15]。因此,如果能够通过生物学实验证实PBX3与miR-320d在子宫内膜癌中的直接调节关系,将有助深入了解miR-320d在子宫内膜癌细胞的侵袭转移以及子宫内膜癌的发生、发展机制。

然而, PBX3是否是miR-320d的直接下游靶

基因,还需要进一步的实验证明。本研究的结果显示,采用3'-UTR突变的PBX3过表达质粒转染高表达miR-320d过表达JEC细胞后,伴随PBX3表达量的升高,细胞中 α -Catenin和E-cadherin蛋白表达量明显降低表,Vimentin表达水平明显升高(图7),说明PBX3过表达可以实现对miR-320d抑制EMT的拮抗作用。我们进而通过双荧光素酶检验结果对两者的直接相关关系进行探索,发现miR-320d只能抑制野生型WT-PBX3 Psicheck-TM-2载体的荧光强度,而无法抑制3'UTR定点突变后的MT-PBX3 PsicheckTM-2载体的荧光强度(图8),说明PBX3为miR-320d的下游靶基因。近年来,有学者对PBX3抑制恶性肿瘤EMT过程的可能机制进行了深入研究,发现PBX3表达量的变化可能通过对AKT信号通路活性的调控实现对EMT相关蛋白及恶性肿瘤侵袭转移的影响^[13,16]。

综上所述,miR-320d可能通过降低下游靶基因PBX3水平影响EMT相关蛋白表达,进而抑制子宫内膜癌JEC细胞的上皮-间质转化功能,有可能成为子宫内膜癌基因治疗的良好靶点。

参考文献:

- [1] 李小毛,叶辉霞,刘继红,等. 术前血清ca19-9在子宫内膜癌评估中的价值[J]. 中山大学学报(医学科学版),2015,36(2):275-278.
Li XM, Ye HX, Liu JH, et al. Serum levels of CA199 and disease characteristics in endometrial cancer: A clinical study of 2342 patients[J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 2015, 36(2):275-278.
- [2] 万璟,李小毛. RNAi沉默PELPI/MNAR基因对子宫内膜癌细胞增殖和细胞周期的作用[J]. 中山大学学报(医学科学版),2013,34(6):811-818.
Wan J, Li XM. Effects of silencing PELPI/MNAR expression by RNA interference on proliferation and cell cycle of endometrial cancer cells [J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 2013, 34(6):811-818.
- [3] Wang W, Yang J, Xiang YY, et al. Overexpression of Hsa-miR-320 is associated with invasion and metastasis of ovarian cancer [J]. J Cell Biochem, 2017, doi: 10.1002/jcb.26009 (Epub ahead of print)
- [4] Wang J, Ou J, Guo Y, et al. TBLR1 is a novel prognostic marker and promotes epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer [J]. Br J Cancer, 2014, 111(1):112-124.
- [5] Wang J, Zhao X, Guo Z, et al. Regulation of NEAT1/miR-214-3p on the growth, migration and invasion of endometrial carcinoma cells [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017, 295(6):1469-1475.
- [6] Li Q, Zhang C, Chen R, et al. Disrupting MALAT1/miR-200c sponge decreases invasion and migration in endometrioid endometrial carcinoma [J]. Cancer Lett, 2016, 383(1):28-40.
- [7] Lang B, Shang C, Meng L. Targeted silencing of S100A8 gene by miR-24 to increase chemotherapy sensitivity of endometrial carcinoma cells to paclitaxel [J]. Med Sci Monit, 2016, 22(6):1953-1958.
- [8] Zhang T, Zou P, Wang T, et al. Down-regulation of miR-320 associated with cancer progression and cell apoptosis via targeting Mcl-1 in cervical cancer [J]. Tumour Biol, 2016, 37(7):8931-8940.
- [9] Wan LY, Deng J, Xiang XJ, et al. MiR-320 enhances the sensitivity of human colon cancer cells to chemoradiotherapy in vitro by targeting FOXM1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 457(2):125-132.
- [10] Wu YY, Chen YL, Jao YC, et al. MiR-320 regulates tumor angiogenesis driven by vascular endothelial cells in oral cancer by silencing neuropilin 1 [J]. Angiogenesis, 2014, 17(1):247-260.
- [11] Huang K, Dong X, Sui C, et al. MiR-223 suppresses endometrial carcinoma cells proliferation by targeting IGF-1R [J]. Am J Transl Res, 2014, 6(6):841-849.
- [12] Li Y, Zhang Z, Zhang X, et al. A dual PI3K/AKT/mTOR signaling inhibitor miR-99a suppresses endometrial carcinoma [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(2):719-731.
- [13] Li B, Zhang S, Shen H, et al. MicroRNA-144-3p suppresses gastric cancer progression by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition through targeting PBX3 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 484(2):241-247.
- [14] Ramberg H, Grytli HH, Nygard S, et al. PBX3 is a putative biomarker of aggressive prostate cancer [J]. Int J Cancer, 2016, 139(8):1810-1820.
- [15] Han HB, Gu J, Zuo HJ, et al. Let-7c functions as a metastasis suppressor by targeting MMP11 and PBX3 in colorectal cancer [J]. J Pathol, 2012, 226(3):544-555.
- [16] Wang S, Li C, Wang W, et al. PBX3 promotes gastric cancer invasion and metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition [J]. Oncol Lett, 2016, 12(5):3485-3491.

(编辑 徐杰)