

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.008

· 基础研究 ·

miR-144-3p 通过靶向 FZD4 阻断 Wnt/ β -catenin 通路抑制肝癌 Huh-7 细胞的恶性生物学行为

黄健, 黄海欣, 黄东宁, 覃莉(柳州市工人医院 肿瘤科, 广西 柳州 545005)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-144-3p 通过阻断卷曲受体 4(FZD4)/Wnt/ β -catenin 信号通路对肝癌 Huh-7 细胞增殖、迁移和凋亡的影响及其作用机制。 **方法:** 收集 2012 年 3 月至 2017 年 7 月在柳州市工人医院手术切除的 18 例肝癌患者的癌组织及相应的癌旁组织标本, 以及肝癌细胞系 Huh-7、SMMC7721 和 MHCC97 和正常人正常肝上皮细胞株 THLE-3, 用 qPCR 检测肝癌组织及细胞系中 miR-144-3p 的表达水平。将 miR-144-3p mimics/inhibitor 和 FZD4 敲降载体转染至 Huh-7 细胞中, 用 CCK-8、Transwell、划痕愈合实验和 Annexin V-FITC/PI 染色流式细胞术检测 Huh-7 细胞的增殖、迁移和凋亡水平。用双荧光素酶报告基因验证 miR-144-3p 和 FZD4 的靶向关系。 **结果:** 在肝癌组织和细胞系中 miR-144-3p 均呈低表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。过表达 miR-144-3p 可显著抑制 Huh-7 细胞增殖、迁移并诱导细胞凋亡 (均 $P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因实验证明 miR-144-3p 靶向作用 FZD4 并下调其表达水平。体外实验进一步证实, 过表达 miR-144-3p 靶向 FZD4 并阻断 Wnt/ β -catenin 通路, 进而抑制 Huh-7 细胞增殖、迁移和促进细胞凋亡 (均 $P < 0.01$)。 **结论:** miR-144-3p 通过阻断 FZD4/Wnt/ β -catenin 通路抑制肝癌 Huh-7 细胞的恶性生物学行为, 为肝癌诊断或治疗提供了潜在分子靶点。

[关键词] 肝癌; Huh-7 细胞; miR-144-3p; 卷曲受体 4; Wnt/ β -catenin; 增殖; 迁移; 凋亡

[中图分类号] R735.7; R730.2; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)10-1101-06

miR-144-3p targets FZD4 to inhibit malignant biological behaviors of liver cancer Huh-7 cells via blocking Wnt/ β -catenin pathway

HUANG Jian, HUANG Haixin, HUANG Dongning, QIN Li (Department of Oncology, Workers' Hospital of Liuzhou City, Liuzhou 545005, Guangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of miR-144-3p modulating proliferation, migration and apoptosis of liver cancer Huh-7 cells through blocking frizzled class receptor 4 (FZD4)/Wnt/ β -catenin pathway and the possible mechanism. **Methods:** A total of 18 pairs of cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues from liver cancer patients, who underwent surgery in Workers' Hospital of Liuzhou City from March 2012 to July 2017, were collected for this study; in addition, hepatic cancer cell lines (Huh-7, SMMC7721 and MHCC97) and human normal liver epithelial cell line THLE-3 were also collected. The expression of miR-144-3p in liver cancer tissues and cell lines was detected by qPCR. MiR-144-3p mimics/inhibitor and FZD4 siRNA were transfected into liver cancer Huh-7 cells; the proliferation, migration and apoptosis of Huh-7 cells were evaluated by CCK-8 assay, Transwell assay, wound healing assay and Annexin V-FITC/PI double staining flow cytometry assay, respectively. The interaction between miR-144-3p and FZD4 was verified by dual-luciferase reporter gene assay. **Results:** The expression of miR-144-3p was down-regulated in liver cancer tissues and cell lines ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Over-expression of miR-144-3p significantly inhibited cell proliferation viability, migration but induced apoptosis of Huh-7 cells (all $P < 0.01$). Moreover, dual-luciferase reporter gene assay showed that miR-144-3p directly interacted with FZD4 and suppressed its expression. Furthermore, *in vitro* experiments verified that miR-144-3p targeted FZD4 to suppress the proliferation, migration and promote apoptosis of Huh-7 cells via blocking Wnt/ β -catenin pathway (all $P < 0.01$). **Conclusion:** miR-144-3p inhibits malignant biological behaviors of liver cancer Huh-7 cells via blocking Wnt/FZD4/ β -catenin signaling pathway, which may provide potential molecular targets for early diagnosis or treatment of liver cancer.

[Key words] liver cancer; Huh-7 cell; miR-144-3p; frizzled class receptor 4 (FZD4); Wnt/ β -catenin; proliferation; migration; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(10): 1101-1106. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.10.008]

[基金项目] 柳州市工人医院科研资助项目 (No. 2017BH20305, No. Z20170896)。Project supported by the Research Support Project of Liuzhou Workers' Hospital (No. 2017BH20305, No. Z20170896)

[作者简介] 黄健(1977-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事临床肿瘤放疗研究, E-mail: xn502@sina.com

[通信作者] 黄东宁 (HUANG Dongning, corresponding author), 硕士, 主任医师, 主要从事临床肿瘤放疗研究, E-mail: hdnliuzhou@163.com

肝癌手术后发生转移和复发的比例非常高,患者总体临床预后较差。目前肝癌的发病机制尚未完全明确,针对肝癌的靶向治疗手段依然缺乏。微小RNA (microRNA, miRNA) 广泛参与肿瘤的发生发展,不断有新的miRNA被发现具有显著的肿瘤抑制作用,miRNA已成为肿瘤防治研究的重点^[1]。近年来,miR-144-3p在肺腺癌^[2]、前列腺癌^[3]、胃癌^[4]和肝癌^[5]等肿瘤组织中低表达,并抑制肿瘤细胞的恶性生物学行为。卷曲受体4 (frizzled class receptor 4, FZD4) 是一个细胞膜上与Wnt结合的受体,在Wnt通路中起到转导信号的作用。多项研究^[6-7]证实,FZD4通过调控Wnt/ β -catenin通路介导肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移。因此,本研究通过检测肝癌组织和细胞系中miR-144-3p表达水平,探讨其通过靶向FZD4调控Wnt/ β -catenin通路对肝癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 组织标本、细胞和主要试剂

收集2012年3月至2017年7月在柳州市工人医院手术切除的18例肝癌患者的癌组织及相应的癌旁组织(距肿瘤组织切缘>2 cm)标本,其中男10例、女8例。所有患者术后病理均证实为肝癌,未合并其他部位肿瘤,术前未接受针对肿瘤的放化疗。手术前均告知患者或家属并签署知情同意书,研究方案征得医院伦理委员会的批准。

肝癌细胞系Huh-7、SMMC7721和MHCC97和正常人肝上皮细胞THLE-3购自美国典型培养物保藏中心。

DMEM培养基、胎牛血清均购自美国Gibco公司,SYBR Green Master Mix、RevertAid™ H Minus First Strand Cdna合成试剂盒购自美国赛默飞世尔科技有限公司,CCK-8试剂盒和Annexin-V-FITC/PI凋亡检测试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司,Transwell小室购自美国BD公司,DNA酶和Lipofectamine™ 2000和逆转录试剂盒均购自日本TaKaRa公司,Wnt/ β -catenin信号通路的激动剂(SK2001)购自安诺伦(北京)生物科技有限公司,荧光素酶检测试剂盒购自Promega公司,兔抗人FZD4抗体、BAX抗体、Bcl-2抗体、Caspase-3抗体、 β -catenin抗体、c-Myc抗体、cyclin D1和GAPDH抗体和羊抗兔IgG(H+L)二抗均购自美国CST公司。

1.2 细胞培养及转染

人肝癌细胞系和THLE-3细胞采用含10%胎牛血清、青霉素100 U/ml和链霉素100 μ g/ml的DMEM培养液在37 °C、5%CO₂培养箱中常规培养。选取对数生长期的Huh-7细胞,采用胰酶消化后,再利用

DMEM培养基调整密度为 1×10^5 个/ml。然后,将细胞接种到6孔板(每孔添加2 ml细胞悬液),于37 °C、5%CO₂培养箱培养24 h,随后进行miR-144-3p mimics、miR-144-3p inhibitor和FZD4 siRNA转染,其转染方法参考Lipofectamine™ 2000转染试剂说明书,转染48 h后于荧光显微镜下观察细胞的转染效果。

1.3 qPCR检测肝癌组织及细胞中miR-144-3p的表达水平

选取临床肝癌组织标本及转染后48 h的肝癌细胞,并采用TRIzol一步法分别提取组织和培养后细胞中总RNA。NanoDrop检测RNA的浓度及纯度,并逆转录制备cDNA。然后,取2 ml逆转录产物进行PCR检测。引物序列:miR-144-3p,F为5'-GCCCCTACAGTATAG-ATGATGTA-3',R为5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3';FZD4,F为5'-CCTCGGCTACAACGTGACC-3',R为5'-TGCACATTGGCACATAAACAGA-3';U6,F为5'-CTGGTAGGGTGCTCGCTTCGGCAG-3',R为5'-CAACTGG TGTCGTGGAGTCGGC-3';GAPDH,F为5'-GCCACATCGCTCAGACACCA-3',R为5'-CTCAGCC TTGACGGTGCCAT-3'。随后,按试剂盒说明建立终体积为20 μ l的PCR反应体系,其中含2 μ l逆转录产物、10 μ l SYBR Green Mix、上下游引物(10 μ mol/L)各0.5 μ l。PCR热循环参数:95 °C 5 min,然后3步反应:94 °C变性30 s,60 °C退火30 s,进行45个循环。检测结果采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法进行计算。

1.4 CCK-8实验检测Huh-7细胞的增殖能力

将各组细胞以 1×10^6 个/孔接种于96孔板中,每组设置3个复孔,分别于细胞贴壁后24、48、72、96 h后,向每孔加入10 μ l CCK-8(0.5 mg/ml)溶液,于37 °C培养箱孵育2 h后采用酶标仪测定波长450 nm处的光密度(D)值,计算细胞增殖倍数,绘制生长曲线。

1.5 Transwell实验检测Huh-7细胞的迁移能力

分别将各处理组细胞用胰酶消化处理后,接种于Transwell小室24孔板内,上室加100 μ l(密度为 1×10^6 个/ml)细胞悬液,下室加250 μ l含10%胎牛血清的培养基,37 °C、5%CO₂培养箱中培养48 h后,取出小室,棉签擦去微孔膜上室的细胞,PBS小心冲洗小室上下两面2遍,4%的多聚甲醛固定侵袭并黏附到小室微孔膜下面的细胞15 min,0.1%结晶紫染色15 min,PBS冲洗小室,干燥后置于倒置显微镜下($\times 100$)观察、计数穿膜细胞数。

1.6 划痕愈合实验检测Huh-7细胞的迁移能力

将细胞密度为 1×10^6 /ml的细胞悬液加入到6孔板中,过夜培养至形成单层细胞。在单层细胞上用10 μ l的枪头划横线,PBS洗去脱落的细胞。此时显微镜下拍照作为0 h的样本,划痕间距为a,加入无血

清培养基继续培养24 h,再取出拍照作为24 h的样本,划痕间距为b。细胞迁移率 $= (1-b)/a \times 100\%$ 。

1.7 Annexin V-FITC/PI染色流式细胞术检测Huh-7细胞的凋亡水平

收集各组待测细胞,经PBS洗涤后用结合缓冲液将细胞制成 1×10^6 个/ml的悬液。然后加入Annexin V-FITC染液,混匀,室温下避光孵育10 min。再加入PI染液,室温下避光孵育5 min,上流式细胞仪对染色的细胞进行检测。

1.8 WB检测FZD4和Wnt/ β -catenin通路相关蛋白的表达水平

Huh-7细胞汇合度为80%~90%时收集细胞,PBS洗3遍,加入蛋白裂解液并刮下细胞,置于冰上裂解15 min,离心获得上清。用BCA试剂盒进行蛋白浓度定量,根据蛋白浓度将待测样品进行SDS-PAGE,转至PVDF膜上,用5%脱脂奶粉室温封闭2 h。分别加入兔抗人FZD4(1:1 000)、Bax(1:1 000)、Bcl-2(1:1 000)、Caspase-3(1:1 000)、 β -catenin(1:1 000)、c-Myc(1:1 000)、cyclin D1(1:1 000)和GAPDH抗体(1:1 000),4℃过夜孵育。次日加入羊抗兔二抗(1:5 000)室温孵育2 h,在避光条件下,用ECL发光试剂盒进行凝胶成像。用Image J软件测定蛋白条带的灰度值,以GAPDH作为内参进行目的蛋白相对定量。

1.9 双荧光素酶报告基因验证miR-144-3p和FZD4的靶向关系

将miR-144-3p mimic和FZD4 3'-未翻译区域(3' UTR)野生型(Wt)或突变型(Mut)同时转染到293T细胞,用miR-144-3p预测的mRNA结合序列,在GV272载体上克隆了包含预测结合位点或突变的3' UTR的FZD4 3' UTR的片段。经DNA测序验证后,用Lipofectamine™ 2000根据说明书将miR-144-3p mimics或对照质粒转染到293T细胞中,转染后48 h收集细胞,用双荧光素酶报告系统进行分析。

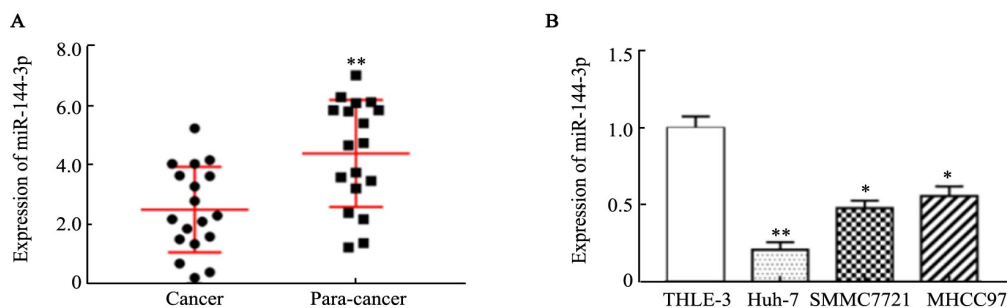
1.10 统计学处理

1.3~1.9实验均重复3次。采用SPSS 20.0软件对实验数据进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析,通过相关性和线性回归分析处理miR-144-3p和FZD4的关系。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织和细胞系中miR-144-3p呈低表达

qPCR检测结果显示,miR-144-3p在肝癌组织中的表达水平低于癌旁组织($P < 0.01$,图1A);Huh-7、SMMC7721和MHCC97细胞中miR-144-3p的表达水平显著低于THLE-3细胞($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图1B),且Huh-7细胞中miR-144-3p的表达水平最低($P < 0.05$,图1B),故后续实验选择Huh-7细胞。结果表明,miR-144-3p的低表达可能与肝癌的发生发展有关联。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Para-cancer tissues or THLE-3 cells

图1 miR-144-3p在肝癌组织(A)和细胞(B)中的表达水平

Fig.1 The expression of miR-144-3p in liver cancer tissues (A) and cells (B)

2.2 过表达miR-144-3p抑制Huh-7细胞增殖、迁移并诱导其凋亡

qPCR检测结果(图2A)显示,转染miR-144-3p mimics的Huh-7细胞中miR-144-3p的表达水平显著高于对照组($P < 0.01$)。CCK-8检测结果(图2B)显示,过表达miR-144-3p的Huh-7细胞增殖能力显著低于对照组($P < 0.01$)。Transwell和划痕愈合实验检测结果(图2C、D)表明,转染miR-144-3p mimics的Huh-7细胞迁移能力明显低于对照组[Transwell实验:(25.0 ± 5.0) vs

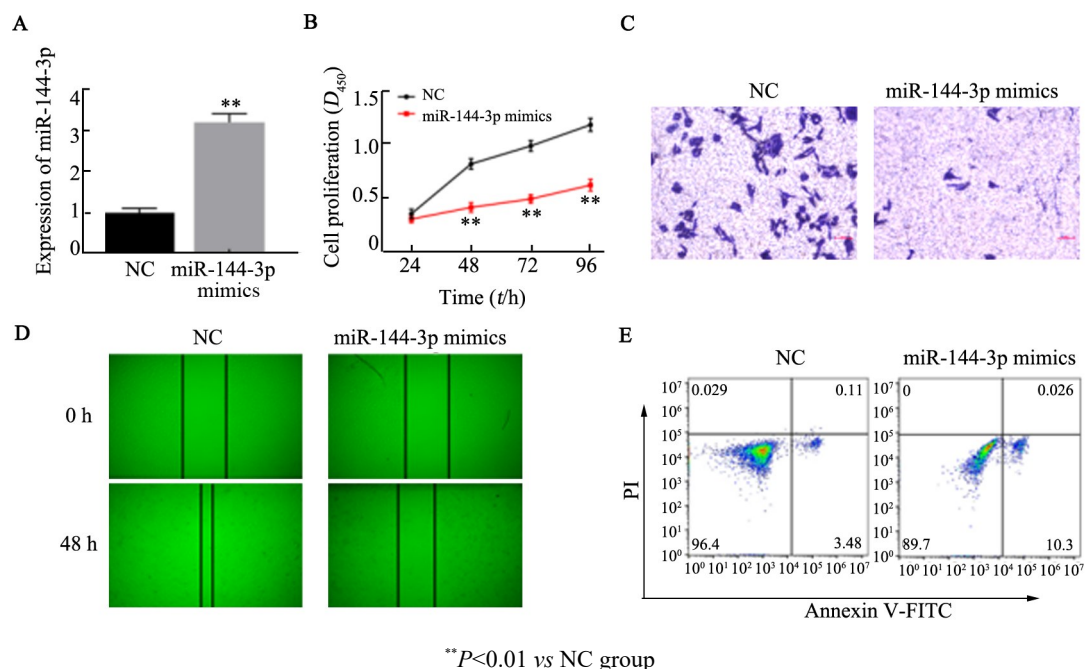
(110.0 ± 8.0)个, $P < 0.01$;划痕实验:(20.0 ± 1.9)% vs (73.3 ± 4.5)%, $P < 0.01$]。流式细胞术检测结果(图2E)证实,过表达miR-144-3p可显著促进Huh-7细胞凋亡水平[(3.59 ± 0.22)% vs (10.33 ± 0.35)%, $P < 0.01$]。结果表明,过表达miR-144-3p可显著抑制Huh-7细胞增殖、迁移并诱导细胞凋亡。

2.3 miR-144-3p靶向调控FZD4

生物信息学StarBase数据库TargetScan工具预测发现,FZD4是miR-144-3p的靶基因之一,其结合

序列如图 3A 所示。双荧光素酶报告基因验证结果(图 3B)显示,miR-144-3p 显著抑制 FZD4 野生型荧光素酶活性($P < 0.01$),而对 FZD4 突变型荧光素酶活性无影响。WB 检测结果(图 3C、D)显示,过表达 miR-

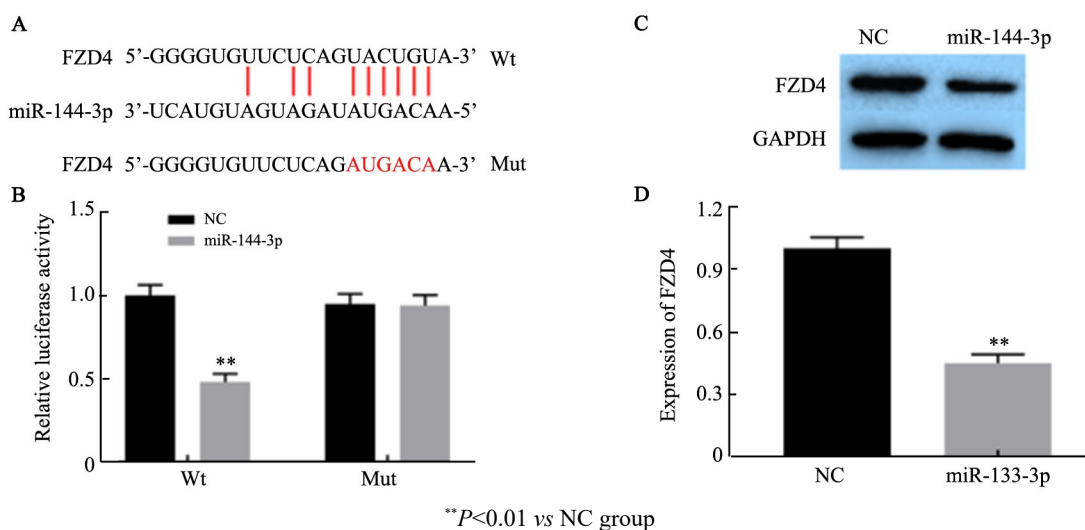
144-3p 后显著下调 Huh-7 细胞中 FZD4 蛋白的表达水平($P < 0.01$)。结果表明,FZD4 是 miR-144-3p 的直接靶基因,且 miR-144-3p 可负调控 FZD4 的表达。



A: qPCR was used to detect the expression of miR-144-3p; B: CCK-8 was used to measure the proliferation of Huh-7 cells; C: Transwell assay was used to evaluate the migration of Huh-7 cells (crystal violet staining, $\times 200$); D: Wound healing assay was used to detect the migration of Huh-7 cells; E: Flow cytometry was applied to detect the apoptosis rate of Huh-7 cells

图 2 过表达 miR-144-3p 对 Huh-7 细胞恶性生物学行为的影响

Fig.2 The effect of over-expression of miR-144-3p on the malignant biological behaviors of Huh-7 cells



A: The bioinformatics result showed that miR-144-3p had a binding site with FZD4; B: Dual-luciferase reporter gene assay was used to verify the relationship between miR-144-3p and FZD4; C and D: WB was used to detect the expression of FZD4

图 3 FZD4 是 miR-144-3p 的靶基因

Fig.3 FZD4 was a target gene of miR-144-3p

2.4 miR-144-3p 通过靶向 FZD4 并阻断 Wnt/ β -catenin 通路从而抑制 Huh-7 细胞的恶性生物学行为

WB 检测结果(图 4A)显示,沉默 FZD4 可显著下调 Huh-7 细胞中 FZD4、 β -catenin、cyclin D1 和 c-Myc

蛋白的表达水平(均 $P<0.01$),同时沉默FZD4和miR-144-3p或沉默FZD4并添加SKL2001(Wnt/ β -catenin信号通路的激动剂)可逆转沉默FZD4对Wnt/ β -catenin通路相关蛋白的表达的抑制作用,且与对照组比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。CCK-8检测结果(图4B)显示,与对照组比较,沉默FZD4可显著抑制Huh-7细胞的增殖能力(均 $P<0.01$)。Transwell和划痕愈合实验结果(图4C、D)表明,沉默FZD4的

Huh-7细胞迁移能力明显低于对照组(均 $P<0.01$)。流式细胞术检测结果(图4E)证实,沉默FZD4可促进Huh-7细胞凋亡($P<0.01$),但同时沉默miR-144-3p或添加SKL2001后,Huh-7细胞增殖、迁移和凋亡水平与对照组比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。结果表明,miR-144-3p通过靶向FZD4阻断Wnt/ β -catenin通路,进而抑制Huh-7细胞增殖、迁移并促进其凋亡。

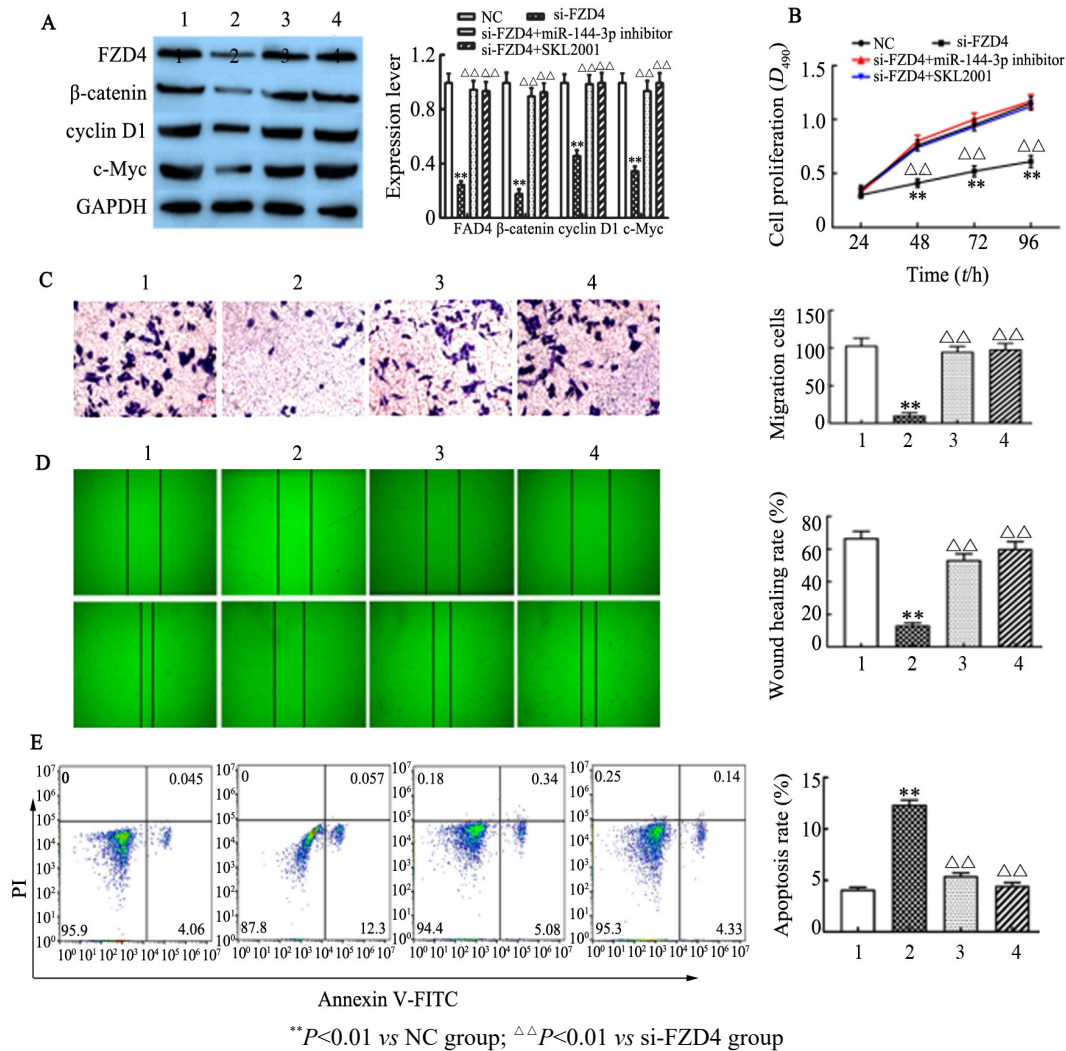


图4 miR-144-3p靶向FZD4对Huh-7细胞恶性生物学行为的影响
Fig.4 The effect of miR-144-3p on the malignant biological behaviors of Huh-7 cells via targeting FZD4

1: NC group; 2: si-FZD4 group; 3: si-FZD4+miR-144-3p inhibitor group; 4: si-FZD4+SKL2001 group

3 讨论

2017年国家癌症中心发布的报告显示,肝癌的发病率在男性位居第三、女性排名第六,而肝癌的病死率更是高居第三。肝癌患者的根治性治疗,无论肝移植还是手术切除,以及射频消融等治疗手段,都无法回避

相对较高的复发率(5年复发率高达70%)。尽管精准肝切除及解剖性肝切除的理念及方法得到了广泛的应用及推广,但这些对肝癌的复发率及预后都并没有带来明显改善。因此,研究肝癌细胞增殖及其转移的分子机制,找到能够在早期准确预测肝癌发生、转移和预后判断的标志物,采取及时有效的预防和治疗措施,对

肝癌患者的综合治疗有着重要的意义。

研究^[8-11]发现,miRNA除了可以负调控癌基因和抑癌基因,同时在肿瘤增殖、侵袭、迁移、EMT、血管生成及耐药性等很多生物学行为中起到关键性功效。例如,miR-144-3p作为抑癌基因,通过调控下游蛋白抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和诱导细胞凋亡,进而抑制肿瘤发展进程^[2-3, 12]。HAN等^[13]研究显示,miR-144-3p通过靶向下调CXCL11抑制结直肠癌发生发展进程。WU等^[5]研究发现,miR-144-3p靶向SGK3抑制肿瘤生长和血管生成,进而缓解肝癌发展进程。本研究结果证实,过表达miR-144-3p可显著抑制肝癌细胞增殖、侵袭、迁移和诱导细胞凋亡。

本研究利用生物信息学starBase数据库预测miR-144-3p靶基因,发现FZD4可通过与miR-144-3p的3' UTR高度互补结合。FZD4基因位于人11号染色体1区4带至2区1带,编码蛋白属于7次穿膜受体,在肝癌细胞和组织中高表达^[14]。过表达FZD4可促进肿瘤细胞增殖、侵袭与迁移^[15]。同时,在哺乳动物中FZD4通过细胞外半胱氨酸富集域与Wnt结合,激活经典Wnt通路,降低腺瘤性息肉病菌-糖原合成酶激酶3 β -酪蛋白激酶1多蛋白复合体的稳定性,阻断 β -catenin蛋白磷酸化及降解。细胞核内增多的 β -catenin与T细胞转录因子/淋巴细胞增强子转录因子共同作用,激活靶向调控细胞存活、增殖与侵袭的基因,导致不受控的细胞增殖与侵袭,参与肿瘤的发生发展^[16]。同时,本研究也发现,miR-144-3p通过靶向下调FZD4并阻断Wnt/ β -catenin信号通路,进而抑制肝癌细胞增殖、迁移并诱导细胞凋亡。

综上,miR-144-3p低表达与肝癌的发生发展密切相关,且过表达miR-144-3p可通过靶向FZD4阻断Wnt/ β -catenin通路,进而抑制肝癌细胞增殖、迁移及诱导细胞凋亡,从而缓解肝癌的进展。

[参考文献]

- [1] MATSUZAKI J, OCHIYA T. Extracellular microRNAs and oxidative stress in liver injury: a systematic mini review[J/OL]. *J Clin Biochem Nutr*, 2018, 63(1): 6-11[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6064810/>. DOI:10.3164/jcbrn.17-123.
- [2] LIU C, YANG Z, DENG Z Y, et al. Downregulated miR-144-3p contributes to progression of lung adenocarcinoma through elevating the expression of EZH2[J/OL]. *Cancer Med*, 2018, 7(11): 5554-5566[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6246953/>. DOI:10.1002/cam4.1714.
- [3] ZHENG H, GUO Z Y, ZHENG X Q, et al. MicroRNA-144-3p inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in prostate cancer by targeting CEP55[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(8): 2457-2468[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6129549/>.
- [4] TIAN Q G, TIAN R C, LIU Y, et al. The role of miR-144/GSPT1 axis in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(13): 4138-4145. DOI:10.26355/eurrev_201807_15406.
- [5] WU M Y, HUANG C Y, HUANG X P, et al. MicroRNA-144-3p suppresses tumor growth and angiogenesis by targeting SGK3 in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4): 2173-2181[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5652965/>. DOI:10.3892/or.2017.5900.
- [6] YANG Y, SUN Y F, WU Y, et al. Downregulation of miR-3127-5p promotes epithelial-mesenchymal transition via FZD4 regulation of Wnt/ β -catenin signaling in non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(7): 842-853. DOI:10.1002/mc.22805.
- [7] FANG G, YE B L, HU B R, et al. CircRNA_100290 promotes colorectal cancer progression through miR-516b-induced downregulation of FZD4 expression and Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504(1): 184-189. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.08.152.
- [8] KONG Y W, FERLAND-MCCOLLOUGH D, JACKSON T J, et al. MicroRNAs in cancer management[J/OL]. *Lancet*, 2019, 13(6): e249-e258[2019-03-28]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/14702045>. DOI:10.1016/S1470-2045(12)70073-6.
- [9] 陈鹏, 崔锐, 梁鸿飞, 等. miR-195靶向TLR4并阻断NF- κ B通路抑制肝癌细胞HepG2增殖和转移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(5): 550-556. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.05.011.
- [10] 张小路, 杜梅红, 陈红跃, 等. miR-375靶向调控YAP表达对肝癌细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(1): 79-84. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.01.013.
- [11] 黄锐, 伍刚, 许健, 等. miRNA通过Mcl-1基因调控HBV阳性肝癌细胞对索拉菲尼的敏感性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(3): 246-251. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.03.006.
- [12] LIU C, SU C, CHEN Y C, et al. MiR-144-3p promotes the tumor growth and metastasis of papillary thyroid carcinoma by targeting paired box gene 8[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 54[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5885360/>. DOI:10.1186/s12935-018-0550-y.
- [13] HAN B, FENG D, YU X, et al. MicroRNA-144 mediates chronic inflammation and tumorigenesis in colorectal cancer progression via regulating C-X-C motif chemokine ligand 11[J/OL]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 1935-1943[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6122338/>. DOI:10.3892/etm.2018.6389.
- [14] SEEMAB S, PERVAIZ N, ZEHRA R, et al. Molecular evolutionary and structural analysis of familial exudative vitreoretinopathy associated FZD4 gene[J/OL]. *BMC Evol Biol*, 2019, 19(1): 72[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6408821/>. DOI:10.1186/s12862-019-1400-9.
- [15] WANG Y Y, ZHANG W J, WANG Y Y, et al. HOXD-AS1 promotes cell proliferation, migration and invasion through miR-608/FZD4 axis in ovarian cancer[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(1): 170-182[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5794731/>.
- [16] MACDONALD B T, HE X. Frizzled and LRP5/6 receptors for Wnt/ β -catenin signaling[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(12): a007880[2019-03-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3504444/>. DOI:10.1101/cshperspect.a007880.

[收稿日期] 2019-04-29

[修回日期] 2019-08-20

[本文编辑] 党瑞山