

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.05.004

· 基础研究 ·

Hsa-miR-132 通过靶向 *FOXA1* 基因影响食管癌细胞的增殖和侵袭

李书军¹, 张秀金¹, 侯俊峰², 宋学平², 李凤军², 申富生¹, 张合林¹ (1. 河北医科大学第二医院 胸外科, 河北 石家庄 050051; 2. 河北省涉县医院 胸外科, 河北 邯郸 056400)

[摘要] 目的: 探讨 hsa-miR-132 (miR-132) 对人食管癌细胞增殖和侵袭的影响及其可能的机制。方法: 构建 pCDNA3.1 (+)-miR-132 表达载体并转染高转移潜能的人食管癌细胞 KYSE150, G418 筛选稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞。软琼脂克隆形成实验和 Transwell 小室实验检测 KYSE150 细胞的增殖和侵袭, Real-time PCR 和 Western blotting 检测 miR-132 和叉头框蛋白 A1 基因 (forkhead box proteins A1, *FOXA1*) 在 KYSE150 细胞中的表达, 双荧光素酶报告基因分析和 Western blotting 检测过表达 miR-132 对 *FOXA1* 的调控作用。结果: 成功构建 pCDNA3.1 (+)-miR-132 质粒, 获得稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞。亲本 KYSE150 细胞中 miR-132 低表达, 而 *FOXA1* 蛋白高表达。与转染空载体和未转染 KYSE150 细胞相比, 转染 pCDNA3.1 (+)-miR-132 不影响 KYSE150 细胞的增殖 (13.9 ± 0.33 vs 15.4 ± 0.11 , 17.1 ± 0.20 , $P > 0.05$), 但细胞体积较小且表面比较光滑; 其可显著降低 KYSE150 细胞的侵袭能力 [(55 ± 1.6) vs (129.0 ± 3.1) , (124.0 ± 2.8) 个细胞, $P < 0.01$]。miR-132 能够作用于 *FOXA1* 3'-UTR, 从而抑制内源性 *FOXA1* 的表达。结论: 食管癌 KYSE150 细胞低表达 miR-132, 外源性过表达 miR-132 可负向调控 *FOXA1* 的表达, 从而抑制 KYSE150 细胞的侵袭能力。

[关键词] 食管癌; 侵袭; 增殖; has-miR-132; *FOXA1* 基因

[中图分类号] R735.1; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)05-0485-05

Hsa-miR-132 affects proliferation and invasion of esophageal carcinoma cells by targeting *FOXA1* gene

LI Shu-jun¹, LI Xiu-jing¹, HOU Jun-feng², SONG Xue-ping², LI Feng-jun², SHE Fu-sheng², ZHANG He-lin¹ (1. Department of Thoracic Surgery, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, Hebei, China; 2. Department of Thoracic Surgery, Shexian Hospital, Handan 056400, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of hsa-miR-132 (miR-132) on proliferation and invasion of human esophageal carcinoma cells, and further explore its possible mechanism. **Methods:** pCDNA3.1 (+)-miR-132 plasmid was constructed, and KYSE150 cells stably overexpressing miR-132 were selected through G418 screening. Soft agar colony formation test and Transwell assay were performed to analyze the proliferation and invasion of KYSE150 cells. Expression of miR-132 and forkhead box proteins A1 (*FOXA1*) in KYSE150 cells were examined by real-time PCR and Western blotting. The regulatory effect of miR-132 overexpression on *FOXA1* was further studied by reporter gene assay and Western blotting. **Results:** pCDNA3.1 (+)-miR-132 plasmid was successfully constructed, and KYSE150 cells stably overexpressing miR-132 was established. In parental KYSE150 cells, miR-132 expression was low, while *FOXA1* expression was high. Compared to mock transfected KYSE150 cells and untransfected KYSE150 cells, pCDNA3.1 (+)-miR-132 transfection did not affect the proliferation of KYSE150 cells (13.9 ± 0.33 vs 15.4 ± 0.11 , 17.1 ± 0.20 , $P > 0.05$), however tumor size reduced and tumor appeared smoother after pCDNA3.1 (+)-miR-132 transfection. Furthermore, overexpression of miR-132 significantly suppressed the invasion of KYSE150 cells (55 ± 1.6 vs 129.0 ± 3.1 , 124.0 ± 2.8 , $P < 0.01$), and miR-132 decreased the expression of endogenous *FOXA1* by targeting *FOXA1* 3'-UTR. **Conclusion:** Esophageal carcinoma KYSE150 cells express low level of miR-132, and overexpression of miR-132 can negatively regulate the

[基金项目] 河北省卫生厅重点课题计划资助项目 (No. 20110068)。Project supported by the Key Project of Health Bureau of Hebei Province (No. 20110068)

[作者简介] 李书军 (1974 -), 男, 河北省邯郸市人, 博士, 主要从事胸部肿瘤的临床和基础研究。E-mail: lsj821@sina.com

[通信作者] 张合林 (ZHANG He-lin, corresponding author), E-mail: lsj821@sina.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110929.1621.007.html>

expression of FOXA1 and suppressed the invasion of KYSE150 cells.

[**Key words**] esophageal carcinoma; invasion; proliferation; hsa-miR-132; FOXA1

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(5): 485-489]

食管癌是排在第 4 位的消化道恶性肿瘤,食管癌的复发和远处转移是影响预后的主要因素^[1-2]。食管癌发生可由基因表达和调控异常所致,但对于其复发和转移的机制仍未清楚。MicroRNAs(miRNAs)是近年来发现的一类长度约 19~25 nt 的非编码单链小分子 RNA,能够以碱基不完全互补的方式与靶基因的 3'-UTR 区结合,导致靶基因在 mRNA 水平降解或引起蛋白翻译的抑制,在转录后水平上对靶基因进行负向调控^[3-5]。越来越多的研究^[6-9]证实,miRNAs 参与多种肿瘤细胞的增殖、细胞周期调控、侵袭和转移等,具有类似于癌基因或抑癌基因的作用。本课题研究食管癌细胞中 hsa-miR-132(miR-132)与叉头框蛋白 A1 基因(forkhead box protein A1, FOXA1)表达的关系,观察 miR-132 对食管癌细胞增殖和侵袭的影响,并对其作用机制进行探讨,为今后食管癌的靶向治疗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 细胞系与试剂

人食管癌细胞系 KYSE150、KYSE510、TE13 和 EC9706 由天津市胸科医院张逊教授惠赠,其中 KYSE150、KYSE510 细胞具有较高的侵袭能力。质粒 pCDNA3.1(+)和 pMIR 由河北医科大学第二医院外科研究中心提供, pMD18-T Simple 载体购自 TaKaRa 公司,大肠杆菌 *E. Coli* DH5 α 感受态细胞购自 Invitrogen 公司。Mir Vana 试剂盒购自 ABI 公司。

1.2 Real-time PCR 检测 miR-132 和 FOXA1 在食管癌细胞中的表达

用 Mir Vana 试剂盒提取细胞总 RNA。以 U6 作为内参照,real-time PCR 检测 miR-132 在 4 株食管癌细胞中的表达水平。miR-132 和 U6 的 RT 引物分别为 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGA TACGACCGACCATG-3' 和 5'-GTCGTATCCAGTGCAGG GTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAATATGGAA C-3',miR-132 和 U6 的上游检测引物分别为 5'-GC-CGATAACAGTCTACAGC-3 和 5'-TGCGGGTGCTCCGCT-TCGGCAGC-3',通用下游引物为 5'-CAGTCAGGGTC-CGAGGT-3'。采用 SYBR Green 染料法进行 real-time PCR 反应,以 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 值比较 4 株食管癌细胞中 miR-132 的表达差异,并进行数据分析。

1.3 G418 筛选稳定表达 miR-132 的 KYSE150 细胞

以 miR-132 在 GenBank 中序列为模板,设计 PCR 引物,上游为 5'-T GGATCCCCCCCCAGTCCC CGTCCCTCAG-3',下游为 5'-TGAATTCGGATACCT-TGGCCGGGAGGAC-3'(划线部分为 *Bam*H I、*Eco*R I 酶切位点)。经 T-A 克隆后,亚克隆到 pCDNA3.1(+)质粒上;real-time PCR 验证构建的 pCDNA3.1(+)miR-132 能够过表达成熟的 miR-132。

培养人食管癌 KYSE150 细胞, Lipofectamine 2000 分别转染重组质粒 pCDNA3.1(+)miR-132 和空载体 pCDNA3.1(+)。G418(350 μ g/ml)筛选培养转染后细胞,0.25% 胰酶消化存活的细胞,稀释为 100 个/ml^[10];转移到 96 孔板中继续加入 G418 进行筛选培养,单细胞增殖形成克隆后,real-time PCR 检测细胞中 miR-132 的表达水平。

1.4 软琼脂克隆形成实验检测 miR-132 对食管癌细胞 KYSE150 形态和增殖能力的影响

将 1.2% 低熔点琼脂糖与 2 \times 细胞培养基以 1:1 混合,制备 0.6% 的底层琼脂,6 孔板中每孔加入 1.4 ml,室温下凝固。将 0.6% 低熔点琼脂糖与 2 \times 细胞培养基以 1:1 混合,制备 0.3% 的上层琼脂。将 KYSE150 细胞制备成 1 \times 10⁴/ml 单细胞悬液,每孔加 1 ml 上层琼脂和 100 μ l 单细胞悬液,混匀后室温凝固。置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养,计算细胞集落形成率,采用 Spot II 软件分析图像。

1.5 Transwell 小室检测 miR-132 对食管癌细胞 KYSE150 细胞侵袭能力的影响

将稳定表达 miR-132 的 KYSE150 细胞、转染 pCDNA3.1(+)的 KYSE150 细胞和正常 KYSE150 细胞悬液各 300 μ l 接种到 Transwell 上室培养,密度为 3 \times 10⁵/ml;下室加入 500 μ l 含 10% NBS 的 RPMI 1640 培养基;置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱内培养 48 h。取出小室,移走上室中培养液,用灭菌棉棒将上室内细胞轻轻刮掉,0.1% 结晶紫染色 30 min,镜下计数穿过小室基底膜的 KYSE150 细胞数。

1.6 双荧光素酶报告基因分析 miR-132 对 FOXA1 的调控作用

应用生物信息学预测软件 TargetScan、PicTar 和 Miranda 对 miR-132 进行靶基因预测,FOXA1 为候选靶基因,PCR 扩增包含 miR-132 靶点在外的 FOXA1 基因 3'-UTR 区,上游引物为 5'-CG-GATCCAACCGTCAACAGCATAATAAA-3',下游为

5'-CCTCGAGGGAGGAGAATTTTCATATATAC-3' (划线部分为 *Sac* I、*Xho* I 酶切位点)。目的片段经过 T-A 克隆后, 亚克隆到载体 pMIR 萤火虫荧光素基因的下流, 重组载体命名为 pMIR-FOXA1。对 pMIR-FOXA1 重组质粒“种子区”的 4 个碱基进行定点突变, 突变后的质粒命名为 pMIR-FOXA1-Mut。所有构建的表达质粒均经酶切和测序鉴定。

在 24 孔板中培养人食管癌 KYSE150 细胞, 细胞融合度为 80% 时进行转染, 转染分组如下: pCDNA3.1 (+)-miR-132 + pMIR-FOXA1 组、pCDNA3.1 (+) + pMIR-FOXA1 组、pCDNA3.1 (+)-miR-132 + pMIR-FOXA1-Mut 组和 pCDNA3.1 (+) + pMIR-FOXA1-Mut 组, 每组设 3 个复孔。细胞转染后继续培养 48 h, 加入裂解液 (100 μ l/孔), 室温放置 15 min, -80 $^{\circ}$ C 冻融 1 次, 裂解的细胞离心后收集上清, 96 孔板每孔中加入 40 μ l 萤火虫荧光素底物, 混匀 10 s 后检测荧光强度; 然后再加入 40 μ l 海肾荧光素酶底物, 混匀 10 s 后检测荧光强度。将萤火虫荧光素强度值/海肾荧光素酶强度值进行标准化校正。

1.7 Western blotting 检测 miR-132 对内源性 FOXA1 蛋白表达影响

分别培养稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞、转染 pCDNA3.1 (+) 的 KYSE150 细胞和正常的 KYSE150 细胞, 生长融合度达到 70% ~ 80% 时, PBS 清洗细胞 2 次, 用 RIPA 细胞裂解液 (含有 0.1% 的 PMSF) 冰上裂解 20 min, 收集细胞于 1.5 ml EP 管中, 4 $^{\circ}$ C 下 15 000 $\times g$ 离心 15 min, 上清液转移至无菌 EP 管中, BCA 法测定蛋白浓度。取等量蛋白在 SDS-PAGE 胶中电泳, 然后转移到 PVDF 膜上; 5% 脱脂奶粉 4 $^{\circ}$ C 过夜封闭, 用 FOXA1 的兔抗人单克隆一抗 (1:500) 室温下孵育 2 h, 再用过氧化物酶标记的羊抗兔二抗 (1:5 000) 室温下孵育 30 min, 以 β -actin 为内参, 用 Bandscan5.0 软件分析 FOXA1 蛋白条带总灰度值和表达差异。

1.8 统计学处理

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS13.0 统计软件, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-132 和 FOXA1 在 4 种食管癌细胞系中的表达呈负相关

Real-time PCR 检测 miR-132 在人食管癌细胞系 KYSE150、KYSE510、EC9706 和 TE13 中的表达, 结果 (图 1) 表明: miR-132 成熟体在 KYSE150 细胞

中表达水平最低, 在 KYSE510 和 TE13 细胞中呈中等水平表达, 而在 EC9706 细胞中呈高表达。应用 Western blotting 检测了 FOXA1 蛋白在上述 4 个细胞系中的表达, FOXA1 蛋白的表达在 KYSE150 细胞中表达水平最高, 而在 EC9706 细胞中表达最低。结果提示, miR-132 在人食管癌细胞系中的表达与 FOXA1 蛋白的表达呈负相关。

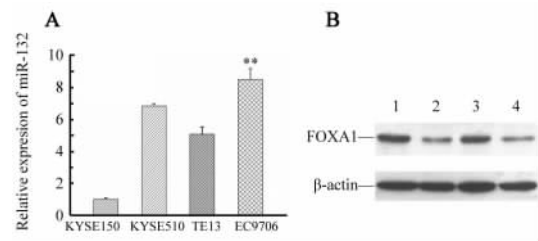


图 1 miR-132 (A) 和 FOXA1 (B) 在 4 种食管癌细胞系的表达
Fig. 1 Expression of miR-132 (A) and FOXA1 (B) in 4 esophageal carcinoma cell lines

1: KYSE150; 2: KYSE510; 3: TE13; 4: EC9706

** $P < 0.01$ vs KYSE150 cells

2.2 稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞的筛选

重组质粒 pCDNA3.1-miR-132 经酶切和测序分析确认正确后, 将其转染入 KYSE150 细胞, 并用 G418 筛选, 单克隆细胞经 real-time PCR 检测显示 (图 2), 稳定转染 pCDNA3.1-miR-132 组 KYSE150 细胞中, miR-132 表达是未转染细胞的 (93 \pm 1.02) 倍。

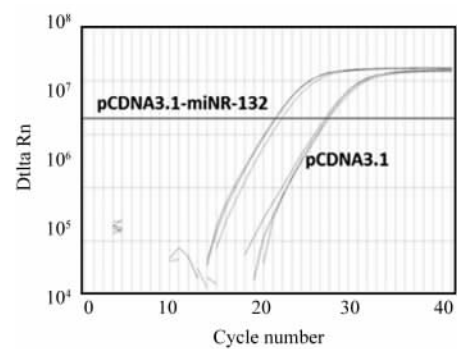


图 2 Real-time PCR 检测 pCDNA3.1-miR-132 转染后 KYSE150 细胞中 miR-132 的过表达

Fig. 3 Overexpression of miR-132 in esophageal carcinoma KYSE150A cells after pCDNA3.1-miR-132 transfection as detected by real-time PCR

2.3 miR-132 对 KYSE150 细胞形态和增殖能力的影响

通过软琼脂克隆形成实验检测 miR-132 对 KYSE150 细胞形态和增殖能力的影响, 结果 (图 3)

显示:稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞与转染 pCDNA3.1 的空白对照组 KYSE150 细胞比较,细胞的克隆形成并无明显的区别;但是过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞体积较小,而且细胞表面比较光滑。总之,miR-132 对 KYSE150 细胞的增殖无明显的影响,但影响了 KYSE150 细胞的形态,可能进而影响了细胞的侵袭性。

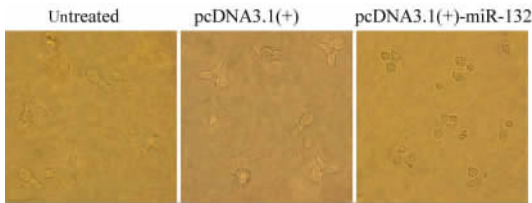


图3 miR-132 对 KYSE150 细胞克隆和形态的影响(×400 倍)
Fig. 3 Effect of miR-132 on colony formation and cell morphology of KYST150 cells(×400)

2.4 miR-132 降低 KYSE150 细胞的侵袭能力

Transwell 实验以穿过小室基底膜的细胞数目来反映细胞的侵袭能力。实验结果(图4)显示,稳定表达 miR-132 的 KYSE150 细胞穿过 Transwell 小室膜的每视野细胞数为(55 ± 2)个,而空载体组 KYSE150 细胞和未转染 KYSE150 细胞穿过小室膜的细胞数分别为(129 ± 5)个和(124 ± 3)个。稳定表达 miR-132 的 KYSE150 细胞穿过 Transwell 小室的细胞数显著降低(P < 0.01),表明 miR-132 能降低食管癌 KYSE150 细胞的侵袭能力。

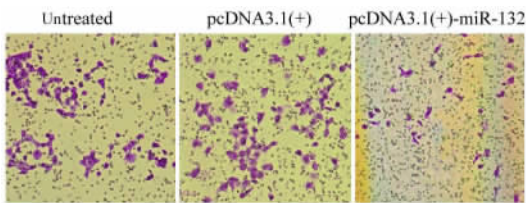


图4 miR-132 降低 KYSE150 细胞的侵袭能力(×200 倍)
Fig. 4 miR-132 decreased invasion ability of KYSE150 cells(×200)

2.5 miR-132 对 KYSE150 细胞中 FOXA1 3'-UTR 抑制性的调控作用

通过生物信息学预测,在 FOXA1 的 3'-UTR 区的第 163 ~ 169 位有 7 个碱基与 miR-132 完全互补配对,将重组表达载体 pCDNA3.1-miR-132 和融合 FOXA1 3'-UTR 的表达质粒 pMIR-FOXA1 共转染 KYSE150 细胞,其荧光素酶活性表达受到明显的抑制,而转染空载体 pCDNA3.1 和 pMIR-FOXA1 的荧

光素酶活性无明显的变化(图5);同样,共转染 pCDNA3.1-miR-132 和 pMIR-FOXA1-Mut 后 KYSE150 细胞荧光素酶活性也没有受到抑制。结果提示,miR-132 对 KYSE150 细胞中 FOXA1 3'-UTR 具有抑制性的调控作用。

2.6 过表达 miR-132 抑制 KYSE150 细胞中内源性 FOXA1 蛋白的表达

Western blotting 检测稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞、转染空载体的 KYSE150 细胞和未转染 KYSE150 细胞中 FOXA1 蛋白的表达,结果(图6)显示,稳定过表达 miR-132 的 KYSE150 细胞中 FOXA1 蛋白含量明显低于其他两组,表明成熟的 miR-132 能够在翻译水平上抑制 KYSE150 细胞中 FOXA1 蛋白的表达。

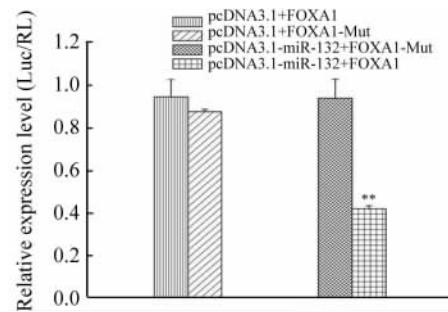


图5 miR-132 负调控 FOXA1 3'-UTR 的表达
Fig. 5 miR-132 down-regulated expression of FOXA1 3'-UTR
** P < 0.01 vs pcDNA3.1-miR-132 + FOXA1-Mut

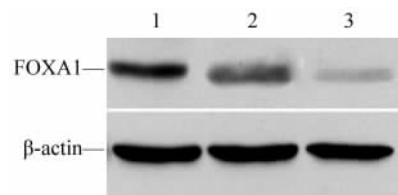


图6 miR-132 靶向抑制 KYSE150 细胞中 FOXA1 蛋白的表达
Fig. 6 miR-132 targetedly inhibited expression of FOXA1 protein in KYSE150 cells
1: Blank control; 2: pcDNA3.1; 3: pcDNA3.1-miR-132

3 讨论

目前有关 miR-132 在肿瘤中作用的报道较少。Park 等^[11]发现,miR-132 在胰腺癌中呈高表达,可增强胰腺癌细胞的增殖能力,参与肾上腺素能信号通路的调控。研究^[12]表明,miR-132 能够通过调控 p300 影响机体的抗病毒能力。miR-132 在食管癌中的作用目前尚无研究报道。本课题前期研究^[13]中证实人食管癌细胞系 KYSE150 具有较高的侵袭能

力。本研究首先通过 G418 筛选建立了能够稳定过表达 miR-132 的人食管癌 KYSE150 细胞,通过软琼脂克隆形成实验和 Transwell 实验证实了 miR-132 能够抑制 KYSE150 细胞的侵袭能力,但 miR-132 抑制 KYSE150 细胞侵袭的机制目前尚未明确。

肿瘤细胞转移是一个多步骤、多阶段的复杂过程,涉及到癌基因的激活和抑癌基因的失活等^[13]。本研究表明,miR-132 能够降低食管癌 KYSE150 细胞的侵袭能力。考虑到 miR-132 和 FOXA1 在 KYSE150 细胞中的表达呈负相关,信息学预测在 *FOXA1* 的 3'-UTR 区的第 163 ~ 169 位有 7 个碱基与 miR-132 完全互补,因此 *FOXA1* 有可能是 miR-132 的靶基因,参与食管癌的转移。FOXA1 是一种叉头基因家族的转录因子,研究^[14-16]初步显示,FOXA1 与乳腺癌、甲状腺癌、胰腺癌等的转移密切相关。

生物信息学对 miRNA 靶基因的预测存在较大的假阳性,因此,通过双荧光素酶报告基因分析是进一步确立 miRNA 对靶基因调控作用的方法。本研究选用 KYSE150 细胞进行报告基因分析,该细胞的转染效率较高且内源性 miR-132 表达水平很低,而 FOXA1 的内源性表达水平较高,有利于观察 miR-132 对 FOXA1 的调控作用。通过双报告基因分析表明,miR-132 能够抑制 *FOXA1* 基因的表达,但双荧光素酶报告基因分析系统并不能确定 FOXA1 蛋白表达是否受到抑制,因此本研究进一步通过 Western blotting 证实了 KYSE150 细胞中 miR-132 对内源性 FOXA1 的表达具有抑制作用。

总之,miR-132 在食管癌 KYSE150 细胞中可能通过对靶基因 *FOXA1* 的调控抑制 KYSE150 细胞的侵袭能力,有可能成为食管癌生物治疗的一个潜在靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Pera M, Manterola C, Vidal O, et al. Epidemiology of esophageal adenocarcinoma [J]. *J Surg Oncol*, 2005, 92(3): 151-159.
- [2] Tachimori Y, Nagai Y, Kanamori N, et al. Pattern of lymph node metastases of esophageal squamous cell carcinoma based on the anatomical lymphatic drainage system [J]. *Dis Esophagus*, 2011, 24(1): 33-38.
- [3] Stahlhute CE, Slack FJ. The role of microRNAs in cancer [J]. *Yale J Biol Med*, 2006, 79(3/4): 131-140.
- [4] Bartels CL, Tsongalis GJ. MicroRNAs: Novel biomarkers for human cancer [J]. *Clin Chem*, 2009, 55(4): 623-631.
- [5] Perrotti D, Eiringa M. The new role of microRNAs in cancer [J]. *Future Oncol*, 2010, 6(8): 1203-1206.
- [6] Burk U, Schubert J, Wellner U, et al. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells [J]. *EMBO Rep*, 2008, 9(6): 582-589.
- [7] Crawford M, Brawner E, Batte K, et al. MicroRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(4): 607-612.
- [8] Liu X, Jiang L, Wang A, et al. MicroRNA-138 suppresses invasion and promotes apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma cell lines [J]. *Cancer Lett*, 2009, 286(2): 217-222.
- [9] Xia H, Qi Y, Ng SS, et al. microRNA-146b inhibits glioma cell migration and invasion by targeting MMPs [J]. *Brain Res*, 2009, 1269(2): 158-165.
- [10] Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(9): 1025-1030.
- [11] Park JK, Henry JC, Jiang J, et al. miR-132 and miR-212 are increased in pancreatic cancer and target the retinoblastoma tumor suppressor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 406(4): 518-523.
- [12] Lagos D, Pollara G, Henderson S, et al. miR-132 regulates antiviral innate immunity through suppression of the p300 transcriptional co-activator [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(5): 513-519.
- [13] Li SJ, Li Z, Guo F, et al. miR-223 regulates migration and invasion by targeting artemin in human esophageal carcinoma [J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18: 24.
- [14] Box C, Rogers SJ, Mendiola M, et al. Tumour-microenvironmental interactions: Paths to progression and targets for treatment [J]. *Semin Cancer Biol*, 2010, 20(3): 128-138.
- [15] Mccune K, Mehta R, Thorat MA, et al. Loss of ERalpha and FOXA1 expression in a progression model of luminal type breast cancer: Insights from PyMT transgenic mouse model [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(5): 1233-1239.
- [16] Nucera C, Eeckhoutte J, Finn S, et al. FOXA1 is a potential oncogene in anaplastic thyroid carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(11): 3680-3689.
- [17] Song Y, Washington MK, Crawford HC. Loss of FOXA1/2 is essential for the epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(5): 2115-2125.
- [18] Kang J, Perry JK, Pandey V, et al. Artemin is oncogenic for human mammary carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2009, 28(19): 2034-2045.
- [19] Pandey V, Qian PX, Kang J, et al. Artemin stimulates oncogenicity and invasiveness of human endometrial carcinoma cells [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(3): 909-920.
- [20] Tang JZ, Kong XJ, Kang J, et al. Artemin-stimulated progression of human non-small cell lung carcinoma is mediated by BCL2 [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(6): 1697-1708.
- [21] Fowler A, Thomson D, Giles K, et al. miR-124a is frequently down-regulated in glioblastoma and is involved in migration and invasion [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(6): 953-963.

[收稿日期] 2011 - 07 - 06

[修回日期] 2011 - 08 - 30

[本文编辑] 韩 丹