

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.01.003

· 基础研究 ·

miR-139-5p 通过靶向 Notch1 抑制上皮性卵巢癌细胞的增殖与侵袭

姜平, 杨喜科, 王秋宇, 邵兰云, 王松朋, 方建瑞, 付鹏晓, 郭盈盈(南阳市中心医院 妇科, 河南 南阳 473000)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-139-5p 靶向 Notch1 抑制上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)细胞增殖和侵袭的作用机制。**方法:** 选取 2018 年 1 月至 2018 年 12 月在河南省南阳市中心医院妇科手术切除的 24 例 EOC 患者的癌和相应的癌旁组织标本, 以及人卵巢癌细胞系 SKOV3、ES2、HEY-T30 和人卵巢上皮细胞株 IOSE80, 用 qPCR 检测 EOC 组织和细胞系中 miR-139-5p 和 Notch1 mRNA 的表达。将过表达 miR-139-5p 载体、重组质粒 pLV-Notch1 转染至 SKOV3 细胞, 并设置空白对照组(Ctrl 组)和阴性对照组(NC 组), 用双荧光素酶报告基因实验验证 miR-139-5p 与 Notch1 3'-UTR 靶向关系, 用 CCK-8、Transwell、划痕愈合实验分别检测细胞的增殖、侵袭和迁移能力, 用 Western blotting 检测细胞中增殖和迁移相关蛋白的表达。**结果:** 与癌旁组织和 IOSE80 细胞比较, EOC 组织和细胞系中 miR-139-5p 表达显著降低、Notch1 mRNA 表达显著升高(均 $P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因实验结果证实, Notch1 是 miR-139-5p 的靶基因。与 NC 组比较, miR-139-5p mimic 组 3 d 时 SKOV3 细胞的增殖、侵袭、迁移能力和 Notch1、NICD、Cyclin D1、Cyclin A1、Snail1、 β -catenin 及 N-cadherin 表达水平均明显降低(均 $P < 0.01$), E-cadherin 表达水平明显升高($P < 0.01$); 同时过表达 Notch1 可逆转 miR-139-5p 抑制 SKOV3 细胞增殖、侵袭与迁移的作用。**结论:** miR-139-5p 可靶向 Notch1 抑制 EOC 细胞的增殖、侵袭和迁移能力, 可能与其下调 NICD、Cyclin D1、Cyclin A1、Snail1、 β -catenin、N-cadherin 而上调 E-cadherin 的表达水平有关。

[关键词] 上皮性卵巢癌; SKOV3 细胞; miR-139-5p; Notch1; 增殖; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R737.31; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)01-0019-06

miR-139-5p inhibits proliferation and invasion of epithelial ovarian cancer cells by targeting Notch1

JIANG Ping, YANG Xike, WANG Qiuyu, SHAO Lanyun, WANG Songpeng, FANG Jianrui, FU Pengxiao, GUO Yingying (Department of Gynecology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the action mechanism of miR-139-5p inhibiting proliferation and invasion of epithelial ovarian cancer (EOC) cells by targetedly regulating Notch1. **Methods:** A total of 24 pairs of EOC tissues and its corresponding para-cancerous tissues from patients, who underwent surgical resection in the Department of Gynecology, Nanyang Central Hospital of Henan Province, were collected for this study; in addition, human ovarian cancer cell lines (SKOV3, ES2, HEY-T30) and human ovarian epithelial cell line IOSE80 were also collected. Real-time quantitative PCR (qPCR) was applied to detect mRNA expression of miR-139-5p and Notch1 in EOC tissues and cell lines. The miR-139-5p over-expression vector and recombinant plasmid pLV-Notch1 were transfected into SKOV3 cells. Blank control group (Ctrl group) and negative control group (NC group) were set up. Dual luciferase reporter gene assay was applied to verify the targeting relationship between miR-139-5p and Notch1 3'-UTR. CCK-8, Transwell and Scratch healing experiments were applied to detect cell proliferation invasion and migration, respectively. Western blotting was applied to detect expressions of proliferation and migration related proteins in cells. **Results:** Compared with para-cancerous tissues and IOSE80 cells, the expression of miR-139-5p was significantly decreased in EOC tissues and cell lines, while the expression of Notch1 mRNA was significantly increased (all $P < 0.01$). The results of Dual luciferase reporter showed that Notch1 was the downstream target gene of miR-139-5p. Compared with NC group, cell proliferation, invasion and migration ability, expression levels of Notch1, NICD, Cyclin D1, Cyclin A1, Snail1, β -catenin and N-cadherin were all significantly decreased on 3 d in miR-139-5p mimic group (all $P < 0.01$), while expression of E-cadherin was significantly increased ($P < 0.01$); meanwhile, over-expression of Notch1 could reverse the inhibitory effect of miR-139-5p on proliferation, invasion and migration of SKOV3 cells. **Conclusion:** miR-139-5p can targetedly regulate Notch1 to inhibit proliferation, invasion and migration of EOC cells, which may be related to its down-regulation of NICD, Cyclin D1, Cyclin A1, Snail1, β -catenin and N-cadherin, and up-regulation of E-cadherin.

[Key words] epithelial ovarian cancer (EOC); SKOV3 cell; miR-139-5p; Notch1; proliferation; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(1): 19-24. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.01.003]

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划资助项目(No.201503118)。Project supported by the Medical Science and Technology Research Program of Henan Province (No. 201503118)

[作者简介] 姜平(1980-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤的研究

[通信作者] 姜平(JIANG Ping, corresponding author), E-mail: png756669131@163.com

上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)是妇科常见的恶性肿瘤之一,有极高的发病率和病死率,EOC发病早期缺乏典型临床特征,大部分患者就诊时病情已进入中晚期,同时其对化疗会产生耐药性且手术切除后容易复发与转移,因此,寻求EOC早期诊断和治疗的分子靶点是目前临床亟待解决的问题^[1-2]。miR-139-5p在EOC组织中表达上调,可能具有一定的抑癌作用^[3];Notch1过表达与EOC的组织分化程度、转移和预后等密切相关,可预测患者的病情进展及预后^[4]。SONG等^[5]研究发现,miR-139-5p通过下调Notch1表达抑制结肠癌细胞的侵袭和迁移,但在EOC中miR-139-5p是否通过靶向Notch1影响EOC细胞的增殖和侵袭尚未见报道。本研究通过检测EOC组织和细胞系中miR-139-5p和Notch1的表达水平,分析两者的靶向关系,探讨其对EOC细胞增殖与侵袭的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

选取2018年1月至2018年12月在河南省南阳市中心医院妇科手术切除的24例EOC患者的癌及相应的癌旁组织标本,冻存于液氮罐中。组织标本术后经病理检测确诊为EOC。所有患者术前均告知并签署知情同意书,研究方案经所在医院伦理委员会批准。

人正常卵巢上皮细胞IOSE80、人卵巢腺癌细胞SKOV3、人卵巢透明细胞癌细胞ES2和人卵巢癌细胞HEY-T30均购自美国ATCC菌种保藏中心。

PCR引物、过表达载体和重组载体由江苏启东子生物科技有限公司提供,Lipofectamine™ 2000转染试剂盒购自美国Invitrogen公司,逆转录试剂盒购自美国GeneCopoeia公司,Matrigel胶、Transwell小室购自美国BD公司,CCK-8试剂盒购自日本同仁公司,蛋白抗体一抗(NICD、Cyclin D1、Cyclin A1、Snail1、 β -catenin、E-cadherin、N-cadherin及GADPH)、二抗(羊抗鼠、羊抗兔二抗)购自美国Cell Signaling公司。

1.2 细胞培养、转染及分组

当SKOV3细胞贴壁约50%时,采用Lipofectamine™ 2000转染试剂盒,将过表达miR-139-5p载体、重组质粒pLV-Notch1转染至SKOV3细胞,实验分组为空白对照组(Ctrl组)、阴性对照组(NC组)、miR-139-5p mimic组和miR-139-5p mimic+pLV-Notch1组。转染6h后更换为含10%血清的DMEM培养基继续培养48h后进行后续实验。

1.3 qPCR检测EOC组织和细胞系中miR-139-5p和

Notch1 mRNA的表达

用TRIzol裂解组织或细胞提取总RNA,应用微量核酸仪检测RNA的纯度和浓度,琼脂糖胶电泳检测完整性;经逆转录试剂盒合成cDNA,并以此为模板进行qPCR检测。PCR引物序列:miR-139-5p F为5'-CAGCGGTCTACAGTGCACGT-3',R为5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGT-3';Notch1 F为5'-GTCAACGCCGTAGATGACCT-3',R为5'-TCTCCTCCCTGTTGTTCTGC-3';GADPH F为5'-AGCCACATCGCTCAGACA-3',R为5'-TGGACTCCACGACGTACT-3'。反应条件:94℃预变性1min,95℃变性5s,60℃复性30s,72℃延伸60s,共38个循环。分析熔解曲线,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算miR-139-5p和Notch1 mRNA的相对表达量。

1.4 双荧光素酶报告基因实验验证miR-139-5p与Notch1的靶向关系

应用生物信息学网站(www.miRGen.rog)软件预测miR-139-5p的目的靶基因,再对候选靶基因Notch1进行生物信息学分析。将miR-139-5p和Notch1重组载体共转染SKOV3细胞,分组如下:miR-139-5p mimic+Wt Notch1、miR-139-5p NC+Wt Notch1、miR-139-5p mimic+Mut Notch1、miR-139-5p NC+Mut Notch1组。清洗后加入磷酸缓冲液,室温下震荡裂解15min,吸取裂解上清液于白色不透光的96孔酶标板中,加入荧光素酶检测试剂II(LAR II),再加入Stop&Glo Reagent。避光条件下应用双荧光素酶检测系统检测荧光素酶活性。

1.5 CCK-8实验检测SKOV3细胞的增殖能力

收集各组细胞,将密度为 1×10^6 /ml的SKOV3细胞接种于96孔板(200 μ l/孔),分别培养1、2和3d,加入含10% CCK-8试剂的培养基,继续培养4h,应用酶标仪检测波长在490nm处的光密度(D)值,即代表细胞增殖能力。

1.6 Transwell实验检测SKOV3细胞的侵袭能力

将Matrigel胶包被Transwell小室的基底膜,并放置于6孔板中,将密度为 1×10^6 /ml的SKOV3细胞接种于Transwell上小室,下室中加入含10%的DMEM培养基。培养24h后,取出Transwell小室,拭去上室内侧基质胶和未穿透细胞,上室外侧为侵袭细胞,应用4%甲醇固定20min,滴加0.1%结晶紫染色15min,清洗晾干后,光学显微镜下($\times 200$)观察穿膜细胞,随机挑选5个视野对穿膜细胞进行计数。

1.7 划痕愈合实验检测SKOV3细胞的迁移能力

收集各组细胞,以密度为 1×10^6 /ml的SKOV3细胞接种于6孔板(2ml/孔),待细胞贴壁后,用1ml枪头于培养孔正中处均匀划线,横穿过孔,用缓冲液清

洗细胞,置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中培养,于 0、24 h 时拍照,并测量细胞迁移距离。

1.8 Western blotting (WB) 实验检测 SKOV3 细胞中增殖和迁移相关蛋白的表达

收集各组 SKOV3 细胞,用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度后,取 70 μg 蛋白样品上样,进行 SDS-PAGE、转膜,5%脱脂牛奶封闭 2 h 后,分别加入一抗 NICD(1:1 000)、Cyclin D1(1:1 500)、Cyclin A1(1:1 000)、Snail1(1:1 500)、β-catenin(1:2 000)、E-cadherin(1:2 000)、N-cadherin(1:1 000)及 GADPH(1:1 000),4 °C 下孵育过夜。次日,分别加入羊抗兔、羊抗鼠二抗(1:10 000)室温下孵育 30 min 后,清洗后,加入 ECL 发光剂显影,经全自动凝胶成像仪分析蛋白条带的灰度值,以 GADPH 为内参,计算各蛋白的相对表达量。

1.9 统计学处理

qPCR、CCK-8、Transwell、划痕愈合、WB 等实验均重复 5 次,所有数据采用 SPSS18.0 软件进行统计学处理。

正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 差表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验;两组间比较采用独立 *t* 检验;相关性采用 Pearson 相关系数进行描述。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 显示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EOC 组织和细胞系中 miR-139-5p 低表达而 Notch1 mRNA 高表达

qPCR 检测结果(图 1)显示,与癌旁组织比较,EOC 组织中 miR-139-5p 的表达水平显著降低($t=8.579, P < 0.01$),Notch1 mRNA 的表达显著升高($t=9.176, P < 0.01$),且 Pearson 相关检验显示,EOC 组织中 miR-139-5p 和 Notch1 mRNA 水平呈负相关($r=-0.760, P < 0.01$;图 1A);与 IOSE80 细胞比较,SKOV3、ES2、HEY-T30 和 CAOV3 细胞中 miR-139-5p 的表达均显著降低($t=31.864、48.448、32.982、49.939$,均 $P < 0.01$;图 1B)。结果表明,miR-139-5p 在 EOC 组织和细胞系中均低表达,而 Notch1 高表达。

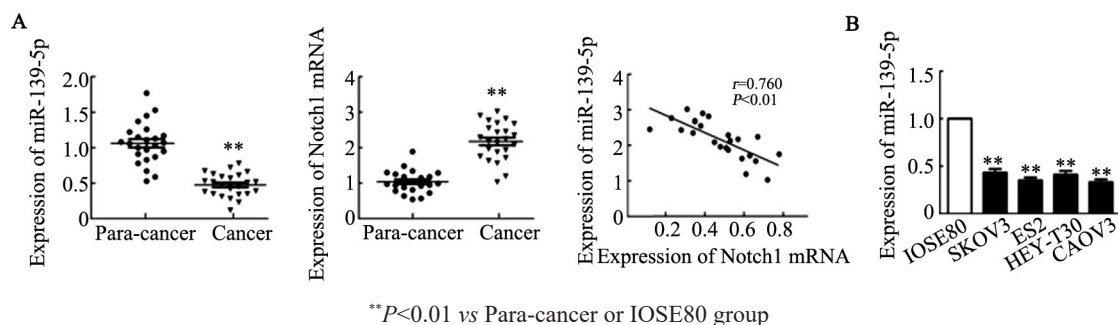


图 1 EOC 组织(A)和细胞(B)中 miR-139-5p 和 Notch1 mRNA 的表达
Fig.1 Expressions of miR-139-5p and Notch1 mRNA in EOC tissues (A) and cells (B)

2.2 miR-139-5p 靶向下调 Notch1 表达

分别转染 miR-139-5p mimic 和 pLV-Notch1 后,qPCR 检测结果(图 2)显示,与 Ctrl 组和 NC 组比较,miR-139-5p mimic 组 SKOV3 细胞中 miR-139-5p 表达显著升高($q=34.890、34.904$,均 $P < 0.01$),Notch1 mRNA 的表达显著降低($q=19.159、19.450$,均 $P < 0.01$;图 2A)。生物信息学网站软件分析结果(图 2B)显示,miR-139-5p 下游与 Notch1 3'-UTR 存在结合位点;双荧光素报告基因实验结果(图 2C)显示,miR-139-5p mimic+Wt Notch1 组细胞荧光信号显著低于 NC 组($t=13.395, P < 0.01$),而 miR-139-5p mimic+Mut Notch1 组与 NC 组荧光信号比较差异无统计学意义($t=0.186, P > 0.05$)。结果表明,Notch1 是 miR-139-5p 的下游靶基因,且 miR-139-5p 靶向下调 Notch1 表达。

2.3 miR-139-5p 靶向 Notch1 对细胞增殖能力的影响

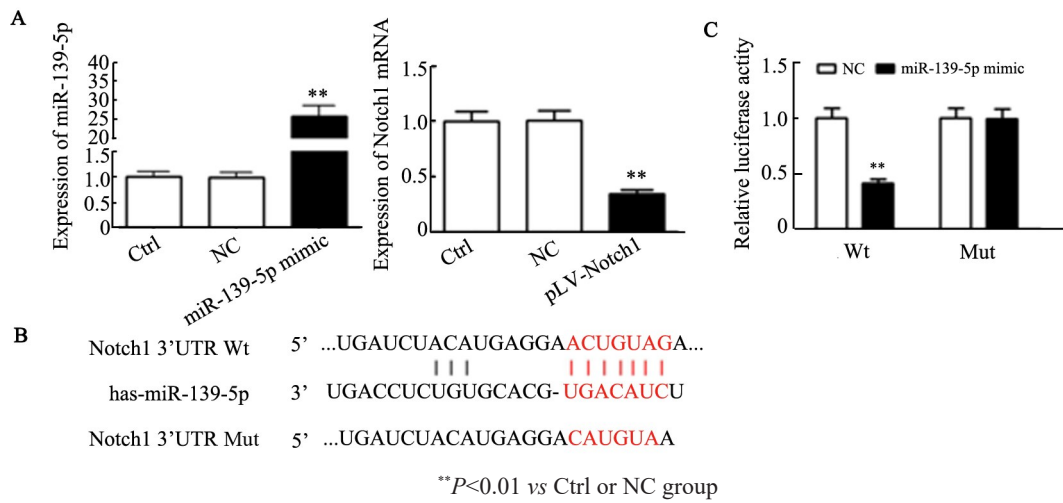
CCK-8 法和 WB 实验结果(图 3)显示,转染 miR-139-5p mimic 3 d 时,与 NC 组比较,miR-139-5p mimic

组 SKOV3 细胞的增殖能力及 Notch1、NICD、Cyclin D1、Cyclin A1 的表达水平明显降低($q=5.561、21.831、23.307、23.034、18.363$,均 $P < 0.01$);与 miR-139-5p mimic 组比较,miR-139-5p mimic+pLV-Notch1 组 SKOV3 细胞的增殖能力及 Notch1、NICD、Cyclin D1、Cyclin A1 的表达水平明显升高($q=4.449、20.791、17.630、19.707、17.474$,均 $P < 0.01$)。实验结果表明,miR-139-5p 通过靶向抑制 Notch1 下调 NICD、Cyclin D1 及 Cyclin A1 的表达,从而抑制 SKOV3 细胞的增殖能力。

2.4 miR-139-5p 靶向 Notch1 对细胞侵袭能力的影响

Transwell 细胞侵袭实验结果(图 4)显示,与 NC 组比较,miR-139-5p mimic 组 SKOV3 细胞的侵袭数目明显降低($t=14.973, P < 0.01$);与 miR-139-5p mimic 组比较,miR-139-5p mimic+pLV-Notch1 组 SKOV3 细胞的侵袭数目明显升高($t=13.154, P < 0.01$)。实验结果表明,miR-139-5p 可通过靶向抑制 Notch1 降低

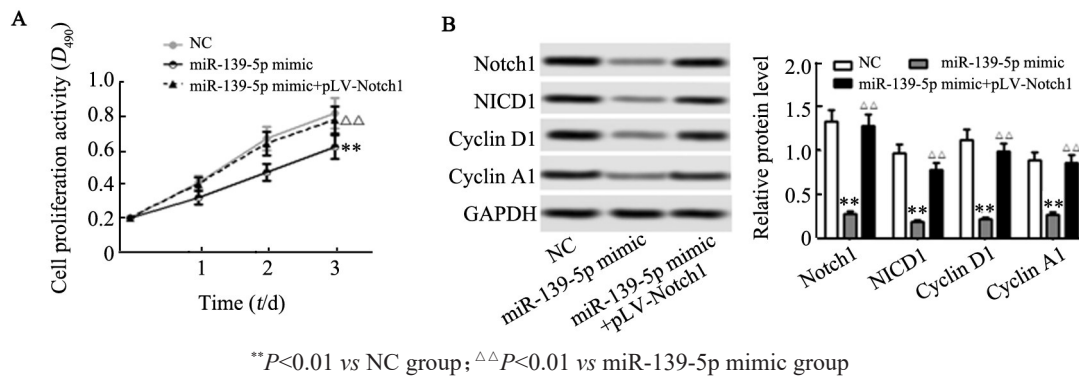
SKOV3细胞的侵袭能力。



A: Expressions of miR-139-5p and Notch1 in cells of each group; B: The prediction of binding sites between miR-139-5p and Notch1; C: The results of double luciferase reporter gene assay

图2 miR-139-5p靶向下调Notch1表达

Fig.2 miR-139-5p targetedly down-regulated the expression of Notch1



A: CCK-8 assay was used to detect cell proliferation activity;

B: WB was used to detect the expression of Notch1, NICD, Cyclin D1 and Cyclin A1

图3 miR-139-5p靶向Notch1对SKOV3细胞增殖及相关蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of miR-139-5p targeting Notch1 on proliferation and expression of proliferation-related proteins in SKOV3 cells

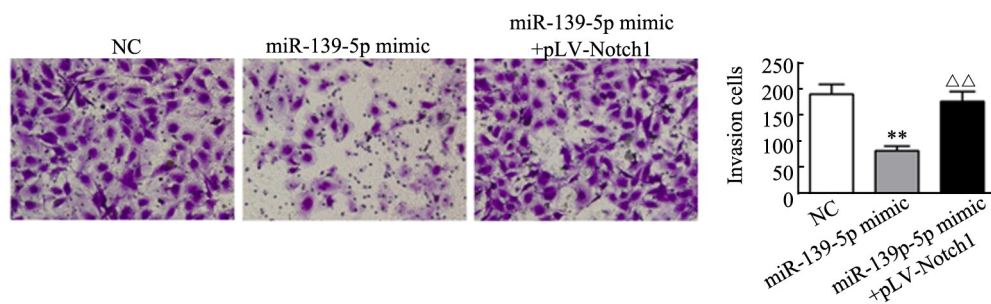


图4 miR-139-5p靶向Notch1对SKOV3细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色, ×200)

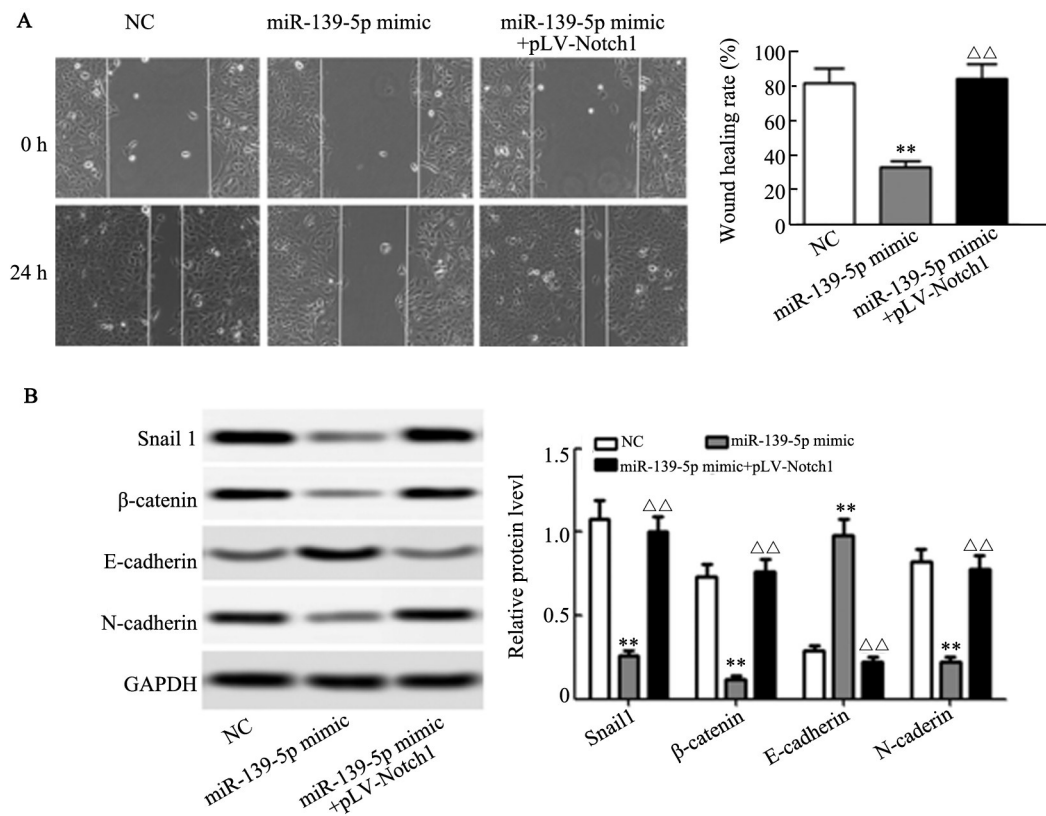
Fig.4 Effect of miR-139-5p targeting Notch1 on the invasion of SKOV3 cells (crystal violet staining, ×200)

2.5 miR-139-5p靶向Notch1对细胞迁移能力的影响
 划痕愈合实验结果(图5)显示,与NC组比较, miR-139-5p mimic组SKOV3细胞的迁移率、Snail1、β-

catenin、N-cadherin的表达水平明显降低($q=15.009$ 、 21.863 、 20.563 、 19.853 , 均 $P<0.01$), E-cadherin的表达水平明显升高($q=24.601$, $P<0.01$); 与 miR-139-5p

mimic 组比较, miR-139-5p mimic+pLV-Notch1 组 SKOV3 细胞的迁移率、Snail1、 β -catenin、N-cadherin 的表达水平明显升高 ($q=15.740、19.730、21.574、18.530$, 均 $P<0.01$), E-cadherin 的表达明显降低 ($q=$

27.097, $P<0.01$)。实验结果表明, miR-139-5p 可通过靶向抑制 Notch1, 上调 Snail1、 β -catenin、N-cadherin 的表达, 同时下调 E-cadherin 的表达, 从而抑制 SKOV3 细胞迁移。



** $P<0.01$ vs NC group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs miR-139-5p mimic group

A: The Wound healing assay was used to detect cell migration;

B: WB was used to detect the expressions of Snail1, β -catenin and N-cadherin

图5 miR-139-5p靶向Notch1对SKOV3细胞迁移能力的影响

Fig.5 Effect of miR-139-5p targeting Notch1 on the migration of SKOV3 cells

3 讨论

miRNA 是一类微小 RNA, 可通过特异性结合于靶基因 mRNA 起始区, 降解靶基因 mRNA 或抑制靶基因的翻译, 从而抑制靶基因表达。由于靶基因的生物学功能多样, miRNA 在肿瘤的发生、发展、耐药及预后等过程中具有重要作用^[6]。miR-139-5p 在不同肿瘤中有不同的表达。LIU 等^[7]报道, miR-139-5p 在子宫内膜癌中表达下调, 具有一定抑癌作用; 而 AGOSTA 等^[8]发现, miR-139-5p 可靶向 N-Myc 家族蛋白促进肾上腺皮质癌细胞的侵袭。本研究发现, miR-139-5p 在 EOC 组织和细胞系中呈低表达, 提示 miR-139-5p 可能具有抑癌作用, 与崔开颖等^[9]的研究结果一致。

Notch 信号通路广泛存在于多细胞动物, 与细胞增殖、凋亡、迁移、血管形成和肿瘤侵袭等过程密切

相关^[10]。Notch1 是 Notch 信号通路中的核心分子, 同样其在不同肿瘤中发挥不同的作用。Notch1 在急性 T 淋巴细胞白血病中过度表达, 是 T 淋巴细胞增殖和代谢的主要调控因子^[11], 但 KIKUCHI 等^[12]研究报道, Notch1 在小细胞肺癌中具有抑癌作用。本研究发现, Notch1 在 EOC 组织中呈高表达, 提示 Notch1 参与 EOC 的发生发展, 与 LIU 等^[13]的研究结果一致。

miR-139-5p 和 Notch1 的靶向关系在结肠癌、乳腺癌中已被报道。本研究发现, EOC 组织中 miR-139-5p 和 Notch1 mRNA 水平呈负相关, 过表达 miR-139-5p 的卵巢癌细胞中 Notch1 mRNA 和蛋白的表达显著降低, 且双荧光素报告基因实验结果显示, miR-139-5p mimic+Wt Notch1 共转染组细胞荧光信号显著低于其他组, 均表明 Notch1 是 miR-139-5p 的下游靶基因。进一步分析 miR-139-5p 靶向 Notch1 在 EOC 中的生物学功能发现, miR-139-5p 可靶向调控

Notch1 的表达抑制 EOC 细胞增殖、侵袭和迁移能力, 此结果与 ZHANG 等^[4]报道的 miR-139-5p 靶向 Notch1 在乳腺癌细胞中的抑制作用相似。

NICD 是 Notch 信号通路激活的标志物, 可直接进入细胞核, 影响下游靶基因的表达, 参与细胞的增殖、分化和凋亡^[15]。Cyclin D1、Cyclin A1 均为细胞周期中的重要调控蛋白, 主要功能是促进细胞的增殖^[16]。本研究发现, miR-139-5p 可靶向 Notch1 下调 NICD、Cyclin D1、Cyclin A1 的表达, 提示 miR-139-5p 靶向 Notch1 抑制卵巢癌细胞增殖, 可能与下调 NICD、Cyclin D1、Cyclin A1 有关。上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 与肿瘤细胞的浸润和转移密切相关, Snail1 是转录抑制因子, 其在肿瘤浸润的 EMT 过程中有重要作用^[17], 而 β -catenin、E-cadherin、N-cadherin 均是 EMT 相关蛋白, 参与细胞分化, 可维持细胞形态, 并调节细胞间的黏附作用^[18]。本研究发现, miR-139-5p 可靶向 Notch1 下调 Snail1、 β -catenin 和 N-cadherin 的表达, 上调 E-cadherin 的表达, 提示 miR-139-5p 靶向 Notch1 抑制卵巢癌细胞的侵袭和迁移能力, 可能与下调 Snail1、 β -catenin 和 N-cadherin、上调 E-cadherin 的表达有关。

综上所述, miR-139-5p 可靶向负调控 Notch1 的表达, 从而抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移, 可能与下调 NICD、Cyclin D1、Cyclin A1、Snail1、 β -catenin 和 N-cadherin 的表达、上调 E-cadherin 的表达有关。后续将选取合适的动物模型进行验证。

[参考文献]

- [1] 唐海峰, 李贤, 刘蓓. 敲降 HE4 和 PAX8 基因对 TC 方案治疗上皮性卵巢癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(7): 757-761. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.07.006.
- [2] PHELAN C M, KUCHENBAECKER K B, TYRER J P, et al. Identification of 12 new susceptibility loci for different histotypes of epithelial ovarian cancer[J/OL]. Nat Genet, 2017, 49(5): 680-691[2019-07-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5612337/>. DOI:10.1038/ng.3826.
- [3] HUANG L L, HUANG L W, WANG L, et al. Potential role of miR-139-5p in cancer diagnosis, prognosis and therapy[J/OL]. Oncol Lett, 2017, 14(2): 1215-1222[2019-07-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5529864/>. DOI:10.3892/ol.2017.6351.
- [4] LIU W X, ZHANG J, GAN X P, et al. LGR5 promotes epithelial ovarian cancer proliferation, metastasis, and epithelial-mesenchymal transition through the Notch1 signaling pathway[J]. Cancer Med, 2018, 7(7): 3132-3142. DOI:10.1002/cam4.1485.
- [5] SONG M X, YIN Y, ZHANG J W, et al. MiR-139-5p inhibits migration and invasion of colorectal cancer by downregulating AMFR and NOTCH1[J/OL]. Protein Cell, 2014, 5(11): 851-861[2019-07-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4225484/>.

DOI:10.1007/s13238-014-0093-5.

- [6] MIRZAEI H, MASOUDIFAR A, SAHEBKAR A, et al. MicroRNA: A novel target of curcumin in cancer therapy[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(4): 3004-3015. DOI:10.1002/jcp.26055.
- [7] LIU J H, LI C Y, JIANG Y, et al. Tumor-suppressor role of miR-139-5p in endometrial cancer[J]. Cancer Cell Int, 2018, 18: 51. DOI:10.1186/s12935-018-0545-8.
- [8] AGOSTA C, FEIGE J J, BERTHERAT J, et al. MiR-483-5p and miR-139-5p promote invasion of adrenocortical carcinoma by targeting N-myc downstream-regulated gene family members[J]. Ann D'endocrinologie, 2014, 75(5/6): 273-274. DOI:10.1016/j.ando.2014.07.070.
- [9] 崔开颖, 赵素芬, 朱根海. 上皮性卵巢癌组织中 miR-21-5p、miR-29-3p、miR-139-5p 表达变化及意义[J]. 山东医药, 2017, 57(22): 65-67. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2017.22.025.
- [10] SIEBEL C, LENDAHL U. Notch signaling in development, tissue homeostasis, and disease[J]. Physiol Rev, 2017, 97(4): 1235-1294. DOI:10.1152/physrev.00005.2017.
- [11] SANCHEZ-MARTIN M, FERRANDO A. The NOTCH1-MYC highway toward T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Blood, 2017, 129(9): 1124-1133. DOI:10.1182/blood-2016-09-692582.
- [12] KIKUCHI H, SAKAKIBARA-KONISHI J, FURUTA M, et al. Expression of Notch1 and numb in small cell lung cancer[J/OL]. Oncotarget, 2017, 8(6): 10348-10358[2019-07-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5354663/>. DOI:10.18632/oncotarget.14411.
- [13] LIU W X, ZHANG J, GAN X P, et al. LGR5 promotes epithelial ovarian cancer proliferation, metastasis, and epithelial-mesenchymal transition through the Notch1 signaling pathway[J]. Cancer Med, 2018, 7(7): 3132-3142. DOI:10.1002/cam4.1485.
- [14] ZHANG H D, SUN D W, MAO L, et al. MiR-139-5p inhibits the biological function of breast cancer cells by targeting Notch1 and mediates chemosensitivity to docetaxel[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 465(4): 702-713. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.08.053.
- [15] ZUO Q, ZHANG C, JIN K, et al. NICD-mediated notch transduction regulates the different fate of chicken primordial germ cells and spermatogonial stem cells[J/OL]. Cell Biosci, 2018, 8: 40[2019-07-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6009047/>. DOI:10.1186/s13578-018-0238-y.
- [16] REN K W, LI Y H, LU H B, et al. MiR-3940-5p functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer cells by targeting cyclin D1 and ubiquitin specific peptidase-28[J/OL]. Transl Oncol, 2017, 10(1): 80-89[2019-07-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5167246/>. DOI:10.1016/j.tranon.2016.11.004.
- [17] IGNATIUS M S, HAYES M N, LOBBARDI R, et al. The NOTCH1/SNAIL1/MEF2C pathway regulates growth and self-renewal in embryonal rhabdomyosarcoma[J]. Cell Rep, 2017, 19(11): 2304-2318. DOI:10.1016/j.celrep.2017.05.061.
- [18] MEZI S, CHIAPPETTA C, CARLETTI R, et al. Clinical significance of epithelial-to-mesenchymal transition in laryngeal carcinoma: Its role in the different subsites[J]. Head Neck, 2017, 39(9): 1806-1818. DOI:10.1002/hed.24838.

[收稿日期] 2019-08-01

[修回日期] 2019-11-29

[本文编辑] 党瑞山