

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.05.001

miR-223 在结直肠癌细胞中对 RhoB 调控作用的研究^{*}

杨鹏春,白卫哲,杨静芳,汪 菁,晏彩华,戴迟兵[△]

(三峡大学附属仁和医院消化内科,湖北宜昌 443001)

[摘要] **目的** 探讨 miR-223 在结直肠癌细胞中对 RhoB 的调控作用。**方法** 采用 PITA、Targetscan 等软件在线预测 miR-223 的靶基因;采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 miR-223 在人结直肠癌细胞株(SW480、HCT-116)中的表达;采用双荧光素酶报告系统证实 RhoB 是 miR-223 的靶基因;通过细胞转染,分析 miR-223 在人结直肠癌细胞株中对 RhoB 的影响。**结果** miR-223 的表达量在 SW480 中显著低于 HCT-116($P<0.05$);PmiR-RhoB-wt 和 miR-223 mimics 共转染组与 PmiR-RhoB-wt 和 NC 共转染组比较,前者的荧光素酶活性明显下降($P<0.05$),PmiR-RhoB-mut 和 miR-223 mimics 共转染组与 PmiR-RhoB-mut 和 NC 共转染组比较,两组间的荧光素酶活性差异无统计学意义($P>0.05$);将 miR-223 mimics 或 miR-223 mimics-NC 转染至 SW480 细胞,miR-223 inhibitor 或 miR-223 inhibitor-NC 转染至 HCT-116 细胞,发现 RhoB mRNA 表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$),但是 RhoB 蛋白的表达差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** miR-223 可能靶向作用于 RhoB 影响结直肠癌的发展及转移。

[关键词] miR-223;结直肠肿瘤;RhoB

[中图法分类号] R735.3+5

[文章编号] 1671-8348(2020)05-0689-06

[文献标识码] A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on the regulatory effect of miR-223 on RhoB in colorectal cancer cells^{*}

YANG Pengchun,BAI Weizhe,YANG Jingfang,WANG Jing,YAN Caihua,DAI Chibing[△]

(Department of Digestive Internal Medicine,Affiliated Renhe Hospital of
Three Gorges University,Yichang,Hubei 443001,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the regulation effect of miR223 on RhoB in colorectal cancer cells.
Methods The target genes of miR-223 were predicted online by PITA and Targetscan software;the expression of miR-223 in human colorectal cancer cell lines (SW480,HCT-116) was detected by qRT-PCR;the dual luciferase reporter system was used to confirm that RhoB is the target gene of miR-223;the effect of miR-223 on RhoB in human colorectal cancer cell lines was analyzed by the cell transfection.
Results The expression level of miR-223 in SW480 was significantly lower than in HCT-116 by qRT-PCR ($P<0.05$);Compared with the PmiR-RhoB-wt and NC co-transfection groups,the PmiR-RhoB-wt and miR-223 mimics co-transfection groups showed a significant decrease in luciferase activity ($P<0.05$),but there was no statistically significant difference in luciferase activity between PmiR-RhoB-mut and miR-223 mimics co-transfection group and PmiR-RhoB-mut and NC co-transfection group ($P>0.05$);miR-223 mimics or miR-223 mimics-NC was transfected into SW480 cells,and miR-223 inhibitor or miR-223 inhibitor-NC was transfected into HCT-116 cells,the results showed that there was no statistically significant difference in the RhoB mRNA expression level ($P>0.05$),but the expression level of RhoB protein had statistically significantly difference ($P<0.05$).
Conclusion miR-223 may targets to act on RhoB,and affect the development and metastasis of CRC.

[Key words] miR-223;colorectal neoplasms;RhoB

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)的发病率在欧洲处于第 4 位,在我国 CRC 的发病率和病死率也较高,其病死率排在恶性肿瘤致死因素的第 5 位^[1]。目

前研究认为 RhoB 作为一种肿瘤抑制基因,可抑制肿瘤的增殖、侵袭、转移。microRNA 是一类由 18~25 个核苷酸组成的单链非编码微小 RNA,与靶基因 3'UTR

^{*} 基金项目:三峡大学科研基金项目(KJ 2013A019)。 作者简介:杨鹏春(1986—),主治医师,硕士,主要从事消化系统疾病的研究。

[△] 通信作者,E-mail:cdhibing@126.com。

结合,抑制靶基因表达,因此,可通过下游靶基因发现调控目的基因的 microRNA^[2]。已有文献报道 miR-223 在肝癌^[3]、肺癌^[4]、结肠癌^[5-6] 中表达明显上调,提示 miR-223 可能是肿瘤的潜在标志物。本研究拟探讨 miR-223、RhoB 在 CRC 发生发展中的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人正常结肠上皮细胞株(NCM460)、人 CRC 细胞株(SW480、HCT-116)购自上海生命科学研究院;miR-223 模拟物/抑制剂(mimics/inhibitor)、miR-223 mimics/inhibitor NC、PmiR-RB-REPORTTM 购自广州锐博生物公司;LipofectamineTM2000、Opti-MEM 培养基购自美国 Invitrogen 公司;噻唑蓝(MTT)试剂盒购自美国 Sigma 公司;双荧光素酶报告系统检测试剂盒购自美国 Promega 公司;Prime Script RT Master Mix、Prime Script RT Master Mix、miRNA PrimeScript[®]RT Enzyme Mix、SYBR Premix Ex TaqTM II 购自大连 TaKaRa 公司;Western blot 及 IP 细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)、ECL 化学发光试剂盒购自江苏碧云天生物技术研究。

1.2 方法

1.2.1 miR-223 靶基因的预测

应用 PITA、Targetscan、miRDB 等软件在线预测 miR-223 的靶基因。

1.2.2 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测细胞株中的 miR-223、RhoB mRNA 表达水平

将 1 株人正常结肠上皮细胞株(NCM460)和 3 株人 CRC 细胞株(HT-29、SW480、HCT-116)分别培养,当细胞的融合度达到 85%左右时,参照 TaKaRa RNAiso Plus(总 RNA 提取试剂)提取细胞中的总 RNA,用紫外分光光度计测定 RNA 浓度并配成浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的总 RNA 溶液。以 GAPDH snRNA 作为内参,按 TaKaRa 公司 SYBR Premix Ex TaqTM II 说明书进行加样,在 Light Cycler 480 II 进行扩增检测,所有反应设立 3 个复孔,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算 miR-NA-223 的相对表达水平。将 miR-223 mimics 或 miR-223 mimics-NC 转染 SW480 细胞,miR-223 inhibitor 或 miR-223 inhibitor-NC 转染 HCT-116 细胞。以 β -actin 作为内参,按 TaKaRa 公司 SYBR Premix Ex TaqTM II 说明书进行加样,在 Light Cycler 480 II 进行扩增检测,所有反应设立 3 个复孔,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算 RhoB mRNA 的相对表达水平。

1.2.3 Western blot 检测 RhoB 蛋白表达水平

(1)将 miR-223 mimics 或 miR-223 mimics-NC 转染至 SW480 细胞,miR-223 inhibitor 或 miR-223 inhibitor-NC 转染至 HCT-116 细胞。(2)按说明书提取 RhoB 总蛋白并检测浓度,然后配制 3.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,加入 1/5 倍体积 $5\times$ 蛋白电泳上样缓冲液,沸水浴加热 3~5 min,以充分变性蛋白。冷却到室温后,把蛋白样

品直接上样到十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)加样孔内,进行电泳分离,然后转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜。(3)转膜完毕后,立即把蛋白膜放置到预先准备好的 Western blot 洗涤液中,漂洗 1~2 min,分别加入兔抗人 RhoB 单克隆抗体(1:500)和 β -actin 抗体结合(1:1 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。(4)第 2 天复温,用 Western blot 洗涤液漂洗 3 次,每次 5 min,然后加入 HRP 标记的二抗(1:1 000)和底物共同在室温下孵育 1 h,再次漂洗 3 次,每次 5 min,使用 BeyoECL Plus 等 ECL 类试剂来检测蛋白。压片可以采用专用的压片暗盒进行。(5)应用 Image J 软件根据目的蛋白水平=目的蛋白条带光密度/ β -actin 条带光密度,计算比值并分析 RhoB 蛋白相对表达水平。

1.2.4 细胞的增殖能力、迁移能力、侵袭能力的检测

采用 MTT 法检测细胞的增殖能力:(1)将 miR-223 mimics/inhibitor 转染人 CRC SW480/HCT-116 细胞。(2)培养 24、48、72、96 h,更换新鲜培养基 200 $\mu\text{L}/\text{孔}$,加 20 μL MTT 溶液/孔[用磷酸盐缓冲液(PBS)配制的浓度为 5 mg/mL]。(3)孵育 4 h 后去除上清液,终止培养,按照 200 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 加入二甲亚砜(DMSO),然后振荡 10 min,充分融解结晶物。(4)使用酶标仪检测各孔在 570 nm 波长处吸光度值(OD 值),记录结果绘制细胞生长曲线(以时间为横坐标,OD 值为纵坐标)。

采用细胞划痕试验检测细胞的迁移能力:(1)用 marker 笔在 6 孔板背后画横线;在 6 孔培养板内接种约 5×10^5 个细胞,形成细胞单层。(2)第 2 天用 20 μL 枪头(灭菌)或牙签,垂直孔板背后的黑线划痕,使划痕与标记线相交,划线完成后,使用无菌 PBS 冲洗细胞 3 次,去除划下的细胞,使留下的间隙肉眼即清晰可见,然后更换新鲜无血清的培养基。放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱进行培养。(3)分别于 0、6、12、24、36 h 取样,使用倒置显微镜观察、评估 CRC 细胞的迁移情况并拍照。

采用 Transwell 板检测细胞的侵袭能力:(1)制备无基质胶 Transwell 小室;制备细胞密度为 5×10^5 个/mL 的单细胞悬液。(2)用 Matrigel 稀释液包被 Transwell 小室。取细胞悬液 200 μL 加入 Transwell 上室;下室中加入 500 μL 含有 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养液,此过程中避免产生气泡,继续培养 24 h。(3)采用无菌棉签去基质胶及上室内的细胞,再用 0.1%结晶紫染色,于 Leica DC 300F 正置显微镜下进行观察及拍照($\times 200$),随机取 5 个视野,计数并计算平均值。

1.2.5 RhoB mRNA 3'UTR 的构建和荧光素酶活性(ΔCT)检测

(1)由广州锐博生物科技有限公司完成双荧光素酶报告基因载体的构建,经苏州金唯智生物科技有限公司测序并鉴定。RhoB mRNA 3'-UTR 构建质粒载

培养细胞,在人 CRC SW480 细胞中转染 48 h,检测并计算相对 Δ CT。在转染 PmiR-RhoB-wt 质粒的实验组中,miR-223 mimics 组的 Δ CT 较 NC 组显著下降($P<0.05$)。在转染 PmiR-RhoB-mut 质粒的实验组中,miR-223 mimics 组的 Δ CT 较 NC 组无明显变化($P>0.05$),见表 1。

2.6 细胞增殖实验结果

以共转染后培养 24、48、72 h 及 96 h 时在酶标仪 OD570 nm 处检测,miR-223 mimics 组的 SW480 细胞增殖能力,与 black control 组及 NC 组比较明显增强($P<0.05$),miR-223 inhibitor 组的 HCT-116 细胞增殖能力,与 black control 组及 NC 组比较明显下降($P<0.05$),见图 6。

2.7 细胞划痕实验结果

初始划线(0 h)及培养 36 h 时观察及评价 SW480 和 HCT-116 细胞的迁移能力,见图 7、8。用 Image J 来测量划痕区域内的细胞迁移速度及细胞数,miR-223 mimics 组的 SW480 细胞迁移面积,与 NC 组及

空白对照组比较,明显增加($P<0.05$)。而 miR-223inhibitor 组的 HCT-116 细胞迁移面积,与 NC 组及空白对照组比较,明显下降($P<0.05$)。

2.8 transwell 小室侵袭实验结果

培养细胞 24 h 后,用 4%多聚甲醛固定迁移至滤膜下层的细胞,然后行 0.1%结晶紫染液染色,于倒置显微镜下观察细胞并计数。与 NC 组及 black control 组比较,miR-223 mimics 组的 SW480 细胞侵袭能力显著增强($P<0.05$);与 NC 组及 black control 组比较,miR-223 inhibitor 组 HCT-116 细胞侵袭能力下降明显($P<0.05$),见图 9、10。

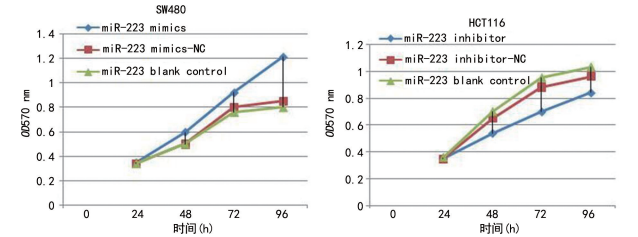


图 6 SW480 及 HCT-116 细胞生长曲线

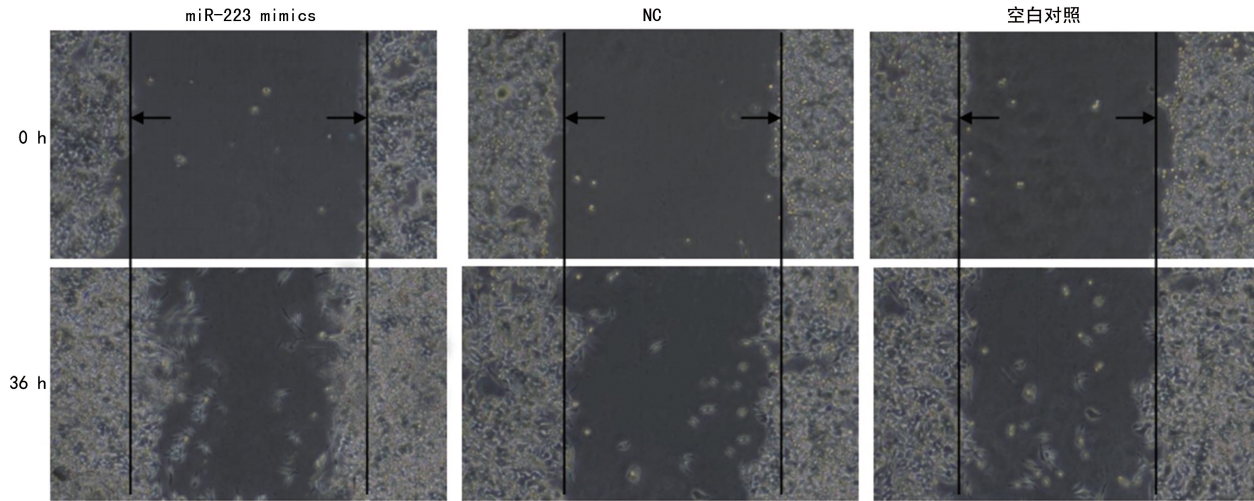


图 7 SW480 细胞各实验组 0、36 h 迁移情况 (黑线及箭头代表初始划痕面积)

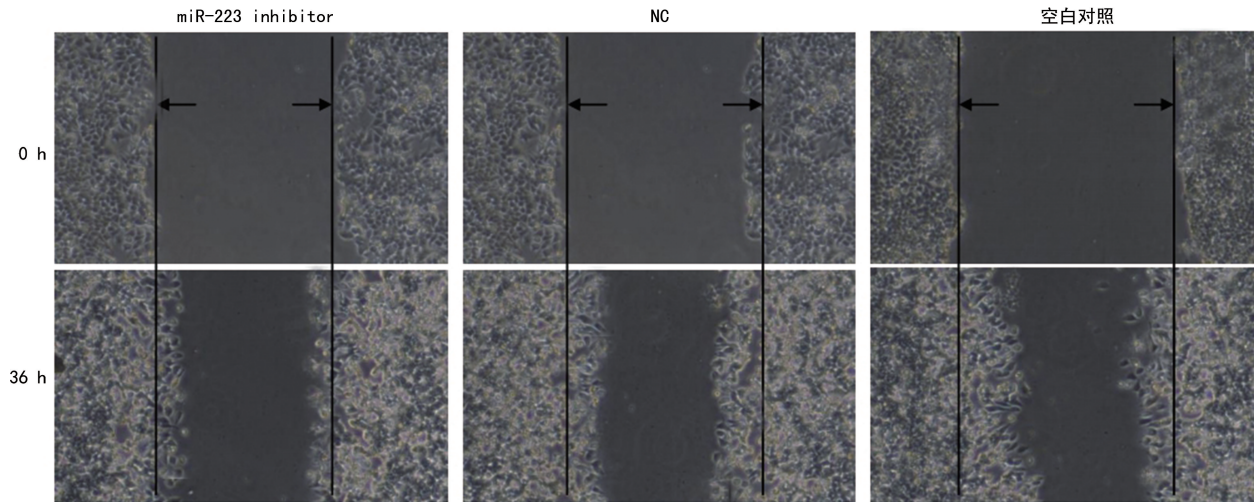


图 8 HCT-116 细胞各实验组 0、36 h 迁移情况 (黑线及箭头代表划痕线)

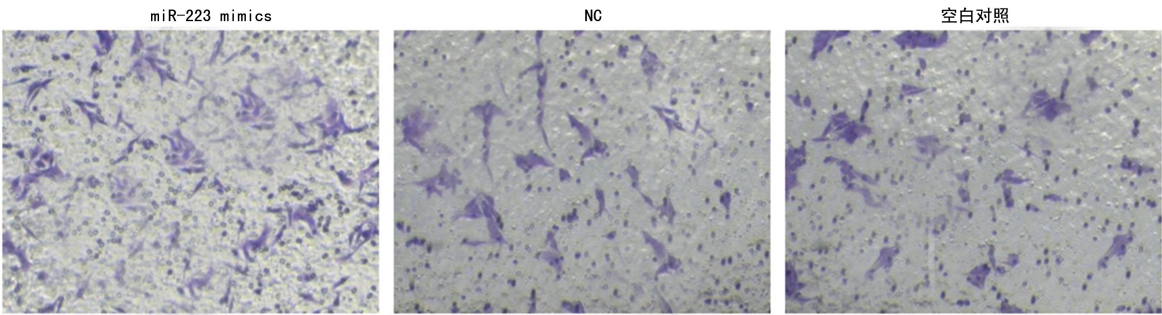


图 9 倒置显微镜下各组间穿透 transwell 过滤膜的 SW480 细胞图(结晶紫染色×100)

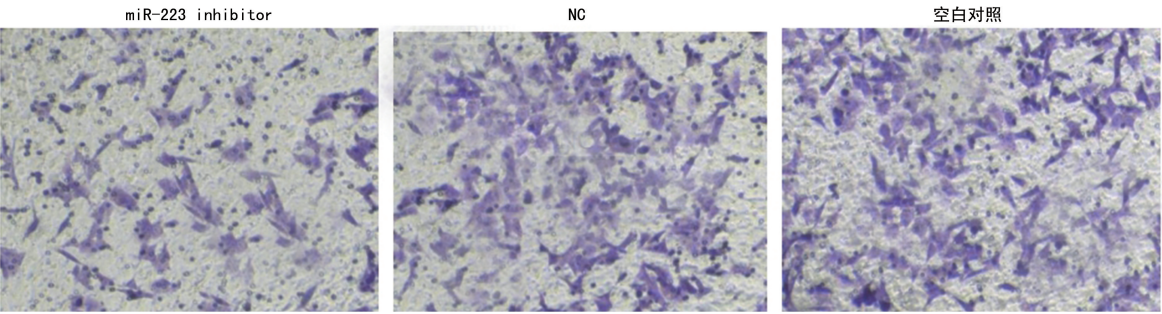


图 10 倒置显微镜下各组间穿透 transwell 过滤膜的 HCT-116 细胞图(结晶紫染色×100)

3 讨 论

miRNAs 是一类长约 18~25 nt 的非编码单链小分子 RNA,成熟的 miRNAs 与靶基因 mRNA 的 3' UTR 完全或不完全互补结合,诱导靶基因 mRNA 降解或阻遏其转录后翻译^[4]。miRNA 可调控下游靶基因的表达,从而在肿瘤发生、发展、转归中起着重要作用。miRNAs 异常表达于多种肿瘤中,如肺癌、肝癌、结直肠癌等^[3-6]。

迄今为止,在人类已鉴定的约 1 000 种 miRNA 中,有多项研究发现 miR-223 与免疫反应调节及不同炎症疾病相关联^[7-9],也与各种类型的癌症有关^[9-10]。例如,miR-223 可作为致癌基因促进胰腺导管腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[11]。miR-223 靶标之一是 FBXW7,其表达水平的改变是致癌作用、癌症发展和耐药性的主要原因^[11]。本实验前期研究证实 miR-223 在 CRC 癌组织中的表达较 CRC 癌旁组织、结直肠腺瘤组织、正常结直肠组织明显增高^[7],但其在 CRC 细胞中的作用尚未完全明确。

本研究发现 miR-223 在 NCM460 中也有表达,但明显少于其在 CRC 细胞株中的表达,同时也发现 miR-223 的表达水平由高到低分别为 HCT-116(低分化型细胞株)、HT-29(高分化型细胞株)及 SW480(低转移潜能细胞株)。提示 miR-223 的表达水平可能与 CRC 细胞分化及转移有关。这与本实验前期研究发现具有一致性,即 miR-223 在 CRC 组织中高表达,且 miR-223 的表达与 CRC 侵袭、远处转移及不良预后相关^[5]。本研究发现,SW480 细胞的增殖、迁移及侵袭能力在转染 miR-223 mimics 组较 NC 组及空白对照组明显增加;而 HCT-116 细胞的增殖、迁移及侵袭

能力在转染 miR-223 inhibitor 组较 NC 组及空白对照组明显下降。由此提示,miR-223 对 CRC 的增殖、侵袭及转移具有一定的调节作用。

RhoB 是肿瘤抑制基因,可促进生长抑制和诱导癌细胞凋亡^[3],可下调肾癌和胃癌中 RhoB 蛋白的表达^[12-13]。Ras/PI3K/Akt 通路可通过抑制 RhoB 的表达来诱导肿瘤存活、转化、侵袭和转移^[14]。本实验前期研究证实 miR-223 和 RhoB 在 CRC 中具有互逆表达模式,并提供了 miR-223 可能通过 mRNA 降解机制在转录后下调 RhoB 的证据,即可能通过抑制 RhoB 表达来增强细胞增殖、促进细胞迁移和侵袭^[5]。也有研究证实,RhoB 在 Veritas 微孔板光度计上使用双荧光素酶报告基因测定法被鉴定为 miR-223 的靶基因。

本实验设计将预测与 miR-223 有结合位点的 RhoB mRNA 3'UTR 片段和突变的 RhoB mRNA 3'UTR 片段,分别克隆至 PmiR-RB-REPORT™ 载体海肾荧光素酶翻译终止密码子下游的多克隆位点上,构建 PmiR-RhoB-wt 和 PmiR-RhoB-mut 两个重组质粒,分别与 miR-223mimics 或 NC 共同转染至人 CRC 细胞内。转染 PmiR-RhoB-wt 质粒后,miR-223 mimics 组的荧光素酶活性与 NC 组相比较,明显受抑制;转染 PmiR-RhoB-mut 质粒后,miR-223 mimics 组的荧光素酶活性与 NC 组相比较无明显变化。由此说明 miR-223 能与 RhoB mRNA 3'UTR 结合位点相结合,阻止海肾荧光素酶转录、翻译及合成蛋白,从而减弱海肾荧光,但是不影响参照的萤火虫荧光素酶的表达,那么海肾△CT 与萤火虫△CT 之间的比值就会降低。miR-223 不能与突变后的 RhoB mRNA 3'UTR

位点结合,因而△CT 也不会受到影响。由此说明,RhoB mRNA 3'UTR 可能有 miR-223 结合位点,与在线预测的一致。那么,miR-223 可能与 RhoB mRNA 3'UTR 位点结合,从而调控 RhoB 来参与 CRC 的发生发展。

已有研究证明,抑制 RhoB 的表达是 Ras/PI3K/Akt 通路诱导肿瘤存活、转化、侵袭和转移的机制之一^[14]。RhoB 通过 AKT 和 FOXM1 途径在结直肠癌的放射抗性中起关键作用。有研究发现 RhoB 在骨肉瘤组织和细胞系中的表达降低,RhoB 的异位表达抑制骨肉瘤细胞在体外和体内的迁移,并诱导骨肉瘤细胞凋亡,RhoB 过表达可以增加 PP2A 复合物中 B55 的比例,并通过与 B55 相互作用增强 AKT1 的去磷酸化,miR-19a 介导的 RhoB 是骨肉瘤细胞中 AKT1 去磷酸化的关键调节因子^[15-16]。

本实验前期已证实 miR-223 可与 RhoB mRNA 3'UTR 结合,但未明确 miR-223 是否通过诱导 RhoB mRNA 降解还是阻遏其转录后翻译使蛋白沉默而起作用的。因此,本实验将通过检测 RhoB mRNA 及蛋白的表达,从分子水平上进一步了解 miR-223 是否可调控 RhoB 从 mRNA 到翻译后的蛋白表达水平。

本实验通过分别转染 miR-223 mimics/inhibitor 至人 CRC SW480/HCT-116 细胞,采用 qRT-PCR 检测各实验组 RhoB mRNA 的表达水平显示:在转染 miR-223 mimics/inhibitor 实验中,RhoB mRNA 的表达在 miR-223 mimics/inhibitor 组、NC 组及空白对照组 3 组间无明显差异,说明 miR-223 可能不能诱导 RhoB mRNA 的降解。而在检测 RhoB 蛋白的表达水平时,发现 RhoB 蛋白表达量在 miR-223 mimics 组较 NC 组及空白对照组比较明显下降;而 RhoB 蛋白表达量在 miR-223 inhibitor 组较 NC 组及空白对照组明显增高。由此提示,miR-223 对 RhoB mRNA 表达无明显影响,但是可明显抑制 RhoB 蛋白的表达,miR-223 抑制剂解除 miR-223 的抑制后,RhoB 蛋白表达水平升高,说明 miR-223 可能在翻译水平调控 RhoB 的表达。

综上所述,RhoB 可能是 miR-223 的靶基因之一。miR-223 可通过与 RhoB mRNA 3'UTR 相结合后抑制 RhoB 蛋白的表达来促进 CRC 的发展,miR-223-RhoB 信号传导通路在 CRC 细胞入侵、增殖、迁移的有重要作用。此外,miR-223 作为致癌基因,其靶基因 RhoB 在 CRC 病原体中起肿瘤抑制剂的作用。由于目前 CRC 缺乏合适的生物标志物和治疗靶点,这些结果表明 miR-223-RhoB 信号传导通路可为改善 CRC 患者的临床治疗策略提供新的见解。

参考文献

[1] CHEN W,ZHENG R,BAADE P D,et al. Canc-

er statistics in China,2015[J]. Cancer J Clin, 2016,66(2):115-132.

[2] 李志勇,张卫. miRNAs 在心血管疾病中的研究进展[J/CD]. 中华心脏与心律电子杂志,2016,4 (4):244-248.

[3] YONG H E,SEONGHWAN H,YAN C,et al. MicroRNA-223 ameliorates nonalcoholic steato-hepatitis and cancer by targeting multiple in-flammatory and oncogenic genes in hepatocytes [J]. Hepatology,2019,70(4):1150-1167.

[4] LIU C,YANG Z,DENG Z,et al. Upregulated lncRNA ADAMTS9-AS2 suppresses progres-sion of lung cancer through inhibition of miR-223-3p and promotion of TGFBR3[J]. IUBMB Life,2018,70(6):536-546.

[5] 杨鹏春,姜仕柱,张凯,等. miR-223 和 RhoB 在结直肠癌中的表达及其与临床特征的相关性研究[J]. 广东医学,2017,38(15):2345-2349.

[6] JU H,TAN J Y,CAO B,et al. Effects of miR-223 on colorectal cancer cell proliferation and apoptosis through regulating FoxO3a/BIM[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22 (12): 3771-3778.

[7] YUAN X,BERG N,LEE J W,et al. MicroRNA miR-223 as regulator of innate immunity[J]. J Leukoc Biol,2018,104(3):515-524.

[8] WANG R,WANG F F,CAO H W,et al. MiR-223 regulates proliferation and apoptosis of IL-22-stimulated HaCat human keratinocyte cell lines via the PTEN/Akt pathway[J]. Life Sci, 2019,230(1):28-34.

[9] MA J,CAO T,CUI Y,et al. miR-223 regulates cell proliferation and invasion via targeting PDS5B in pancreatic cancer cells[J]. Mol Ther Nucleic Acids,2019,14:583-592.

[10] FASSAN M,SARAGGI D,BALSAMO L,et al. Early miR-223 upregulation in gastroesophageal carcinogenesis[J]. Am J Clin Pathol, 2017, 147 (3):301-308.

[11] HE D,HUANG C,ZHOU Q,et al. HnRNPK/ miR-223/FBXW7 feedback cascade promotes pancreatic cancer cell growth and invasion[J]. Oncotarget,2017,8(12):20165-20178.

[12] CHEN W,NIU S,MA X,et al. RhoB acts as a tumor suppressor that inhibits malignancy of clear cell renal cell carcinoma[J]. PLoS One, 2016,11(7):e0157599.

[13] ZHOU J,ZHU Y,ZHANG G,(下转第 700 页)

- to induce epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cell-like phenotypes of breast cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48: 1085-1094.
- [12] 张凡勇, 张娜, 方亮. 藤梨根制剂对胃癌 SGC-7901 细胞 MMP-2、MMP-9 和 SDF-1 表达的影响[J]. *中医学报*, 2018, 33(2): 175-180.
- [13] 郑琪, 廖子君, 赵凌宇, 等. Rab1A siRNA 对 SGC7901 胃癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *山西医科大学学报*, 2016, 47(10): 895-901.
- [14] LIAO A Y, SHI R R, JIANG Y L, et al. SDF-1/CXCR4 axis regulates cell cycle progression and epithelial-mesenchymal transition via up-regulation of survivin in glioblastoma[J]. *Molecular Neurobio*, 2016, 53(1): 210-215.
- [15] 黄晓佳, 李摇静, 许摇潇. SDF-1 促进原代培养大鼠星形胶质细胞增殖的作用[J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(9): 1219-1224.
- [16] 陈志京, 廖山婴, 吴伍林, 等. 趋化因子 CCL20、SDF-1 在大肠癌中的表达及其与淋巴结及肝脏转移的关系[J]. *广东医学*, 2018, 39(17): 2598-2601, 2605.
- [17] 吕晓业, 王健, 李山虎, 等. SDF-1/CXCR4 轴在胃癌中的研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2017, 28(2): 159-161, 195.
- [18] FU Z C, ZHANG P, LUO H C, et al. CXCL12 modulates the radiosensitivity of cervical cancer by regulating CD44[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6): 5101-5108.
- [19] 关露露, 赵青芳, 陈小兵. 胃癌多药耐药研究进展[J]. *肿瘤研究与临床*, 2017, 29(6): 422-425.
- [20] YU X F, SHI W N, ZHANG Y H, et al. CXCL12/CXCR4 axis induced miR-125b promotes invasion and confers 5-fluorouracil resistance through enhancing autophagy in colorectal cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42226.
- [21] 李静, 龚成, 曾锋. 肿瘤相关成纤维细胞分泌 SDF-1 促进卵巢癌细胞增殖耐药[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(19): 3287-3290.
- [22] LI Y F, GAO W B, MA Y, et al. Dual targeting of survivin and X-linked inhibitor of apoptosis protein suppresses the growth and promotes the apoptosis of gastric cancer HGC-27 cells[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 3489-3498.
- [23] FARMER T, O'NEILL K L, NASLAVSKY N, et al. Retromer facilitates the localization of Bcl-xl to the mitochondrial outer membrane[J]. *Mol Biol Cell*, 2019, 30(10): 1138-1146.
- [24] 黄子成, 陈清, 翁晓源, 等. Pin1 与 cyclinD1 在胃肠间质瘤中的表达及临床意义[J]. *中国医科大学学报*, 2017, 46(6): 495-500.
- [25] HUANG K H, FANG W L, LI A F, et al. Caspase-3, a key apoptotic protein, as a prognostic marker in gastric cancer after curative surgery[J]. *Int J Surg*, 2018(52): 258-263.

(收稿日期: 2019-06-05 修回日期: 2019-10-29)

(上接第 694 页)

- et al. A distinct role of RhoB in gastric cancer suppression[J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(5): 1057-1068.
- [14] OLIVIER C, JULIEN M, SARAH F, et al. The RAS-related GTPase RHOB confers resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer via an AKT-dependent mechanism[J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(2): 238-250.
- [15] LIU N, WEI Y Q I, JIANG X, et al. The critical role of dysregulated RhoB signaling pathway in radioresistance of colorectal cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2019, 104(5): 1153-1164.
- [16] ZOU Q P, XIN X, LIANG Y, et al. MiR-19a-mediated downregulation of RhoB inhibits the dephosphorylation of AKT1 and induces osteosarcoma cell metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2018, 428(8): 147-159.

(收稿日期: 2019-05-10 修回日期: 2019-11-22)