

长链非编码 RNA TINCR 通过 miR-7 调控肝癌细胞系 Huh7 侵袭和迁移

田小星, 秦凛嫔, 李 茜*

(重庆市第五人民医院 感染性疾病科, 重庆 400062)

摘要:目的 研究长链非编码 RNA(lncRNA) 组织分化诱导非蛋白质编码 RNA(TINCR)通过 miR-7 调控肝癌 Huh7 细胞侵袭和迁移的机制。方法 Real-time PCR 测定 Huh7 细胞中 TINCR 表达。Huh7 细胞中转染 TINCR shRNA, CCK-8 法测定增殖;Transwell 小室法测定侵袭和迁移;Western blot 测定 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达。生物信息学软件预测发现 TINCR 和 miR-7 有结合位点,荧光素酶报告系统鉴定二者靶向关系。Huh7 细胞中共转染 miR-7 inhibitor 和 TINCR shRNA,利用上述方法测定细胞增殖、迁移和侵袭变化。**结果** 肝癌细胞中 TINCR 表达水平明显高于正常肝细胞($P<0.05$)。转染 TINCR shRNA 后的 Huh7 细胞中 TINCR 水平降低($P<0.05$),细胞增殖、迁移以及侵袭能力均下降($P<0.05$),细胞中 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平也降低($P<0.05$)。TINCR 靶向负调控 miR-7 表达。miR-7 inhibitor 可以提高下调 TINCR 后的肝癌细胞增殖、迁移、侵袭能力以及 MMP-2、MMP-9 蛋白表达水平($P<0.05$)。**结论** 下调 TINCR 可以通过靶向促进 miR-7 表达抑制肝癌细胞 Huh7 侵袭和迁移。

关键词: 肝癌;miR-7;迁移;组织分化诱导非蛋白质编码 RNA

中图分类号:R735.7 文献标志码:A

Regulation of invasion and migration of cell line Huh7 by lncRNA TINCR via miR-7

TIAN Xiao-xing, QIN Li-pin, LI Qian*

(Department of Infectious Diseases, the Fifth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400062, China)

Abstract: Objective To study the mechanism of long non-coding RNA(lncRNA) TINCR to regulate the invasion and migration of Huh7 cells through miR-7. **Methods** The expression of TINCR was detected by real time PCR. TINCR shRNA was transfected and proliferation of Huh7 cells was determined by CCK-8; Invasion and migration were measured by Transwell chamber; The expression of MMP-2 and MMP-9 was detected by Western blot. Bioinformatics software predicted target relationship between TINCR and miR-7 and confirmed by luciferase report system. In Huh7 cells, miR-7 inhibitor and TINCR shRNA were co-transfected, the cell proliferation, migration and invasion were measured by the above methods. **Results** The expression level of TINCR in hepatoma cells was significantly higher than that in normal hepatocytes($P<0.05$). After transfection of TINCR shRNA, the level of TINCR decreased in Huh7 cells($P<0.05$), cell proliferation, migration and invasion all significantly decreased($P<0.05$), MMP-2 and MMP-9 protein levels were also decreased($P<0.05$).

收稿日期:2019-12-19 修回日期:2020-03-29

基金项目:国家自然科学基金(81804074)

* 通信作者(corresponding author):lwdvd6@163.com

TINCR targeted negative regulation of miR-7 expression. miR-7 inhibitor can improve the proliferation, migration, invasion and the expression of MMP-2 and MMP-9 protein of hepatoma cells after down regulating TINCR ($P < 0.05$). **Conclusions** Down regulation of TINCR may inhibit the invasion and migration of Huh7 cells through targeting at miR-7 expression.

Key words: hepatocellular carcinoma; miR-7; migration; tissue differentiation inducing non-protein coding RNA

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)的侵袭和迁移与细胞内异常表达的基因调控有关,这些基因通过复杂的调控网络影响肝癌细胞向远端转移^[1]。长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA)最初被认为是转录“噪音”,人们认为其在生命进程中并没有调控功能,随着研究不断深入,人们逐渐发现 lncRNA 不仅参与正常生理过程,还与疾病的发生有关^[2]。在心血管系统疾病以及恶性肿瘤等常见疾病中均发现 lncRNA 异常表达, lncRNA 也逐渐成为靶向治疗疾病的潜在靶点^[3]。lncRNA 组织分化诱导非蛋白编码 RNA(tissue differentiation inducing non-protein coding RNA, TINCR)参与肿瘤进展,在不同的肿瘤组织中的作用不同, TINCR 在前列腺癌等肿瘤中发挥抑制作用,而在非小细胞肺癌等肿瘤中发挥促进作用^[4-5]。研究报道显示, TINCR 在肝癌组织中的表达水平高于正常癌旁组织,并且 TINCR 高表达与肝癌患者的预后、淋巴结转移等有关^[6]。前期的预实验发现 TINCR 与 miR-7 有互补结合位点。miR-7 是一个在肝癌中表达下调的肿瘤抑制因子,可以抑制肝癌细胞的侵袭和迁移^[7]。本次实验探讨 TINCR 对肝癌细胞迁移和侵袭的影响和靶向调控机制,为靶向基因治疗肝癌提供资料,为研究肝癌转移分子机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

正常肝细胞 L-02 和肝癌细胞系 HCC9204、Huh7、SNU449(ATCC 公司);引物(金斯瑞生物科技股份有限公司);PrimeScript RT Master Mix 试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司];shRNA control、TINCR shRNA(湖南丰晖生物科技有限公司);MMP-9 抗体(Affinity Biosciences 公司);miR-7 mimics、mimics control、inhibitor control、miR-7 inhibitor(上海正茂生物科技有限公司);MMP-2 抗体(北京义翘神州科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 Real-time PCR 测定肝癌细胞中 TINCR 表达变化:收集对数期的正常肝细胞 L-02 和肝癌细胞 HCC9204、Huh7、SNU449,在细胞中添加 Trizol 裂解试剂,提取细胞总 RNA, RNA 溶解在 DEPC 水中,以紫外分光光度计检测 A_{260}/A_{280} 。cDNA 合成用 PrimeScript RT Master Mix 试剂盒,反转录体系为:1 μL 的 RT Enzyme Mix I、4 μL 的 $5\times$ PrimeCSript RT、1 μL 的 Oligo dT Primer、1 μL 的 Random 6 mers、2 μL 的 RNA,添加 RNase Free- H_2O 补足 20 μL ;反转录条件为:37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min,85 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 s。使用 SYBR Premix Ex Taq II 进行 real-time PCR,PCR 体系为:0.8 μL 的 forward 和 reverse primer、2 μL 的 cDNA、10 μL 的 Premix Ex Taq II、0.4 μL 的 ROX Reference DyeII,添加 RNase free- H_2O 补足 20 μL ;PCR 反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s,共 40 个循环。按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因表达水平。内参基因为 GAPDH。引物:TINCR 上游引物:5'-GCTGAGGTGACGGTCTCAAA-3',下游引物:5'-GCCTCCAGTTTCATGGACA-3'。

1.2.2 细胞转染和下调效果测定:将肝癌 Huh7 细胞分成对照、sh-NC、sh-TINCR 组,sh-NC、sh-TINCR 组细胞分别为用 Lipofectamine 2000 转染试剂转染 shRNA control、TINCR shRNA 的 Huh7 细胞。转染具体步骤按照 Lipofectamine 2000 转染试剂说明进行。取培养 24 h 以后的对照、sh-NC、sh-TINCR 组细胞,用 real-time PCR 方法测定 TINCR 表达变化,步骤同 1.2.1。

1.2.3 CCK-8 法测定肝癌细胞增殖:将 3 组细胞接种到 96 孔板中,每个孔中添加 4 000 个细胞、100 μL 细胞培养液,将细胞板放在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养 24 h,将上清吸弃。然后在细胞中添加 CCK-8 工作液 10 μL 和 100 μL 的新鲜细胞培养液。避光反应 2 h 以后,用全自动酶标仪测定每个孔的 A 值,检测波长调整为 450 nm。

1.2.4 Transwell 小室测定肝癌细胞迁移和侵袭:取出在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存的 Matrigel,吸取 $600\ \mu\text{L}$ 的不含血清的细胞培养液添加到 $100\ \mu\text{L}$ 的 Matrigel 中。在放入 24 孔板中的 Transwell 小室中添加 $40\ \mu\text{L}$ 的 Matrigel 稀释液,放在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 $30\ \text{min}$ 将小室湿化。Control、sh-NC、sh-TINCR 组共 3 组细胞用不含血清的细胞培养液悬浮,吸取 $100\ \mu\text{L}$ 添加到小室的上室中,然后在下室中添加 $500\ \mu\text{L}$ 的含血清的细胞培养液,放在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养 $24\ \text{h}$ 。以冰预冷的 4%多聚甲醛溶液固定 $30\ \text{min}$,然后用 0.1%的结晶紫染色 $10\ \text{min}$ 。在 $400\times$ 显微镜下随机选取 6 个视野,计数细胞侵袭数目,结果取均值。细胞迁移实验前不用 Matrigel 湿化小室,其余步骤与侵袭实验相同。

1.2.5 Western blot 测定肝癌细胞中 MMP-9 和 MMP-2 蛋白表达:收集对数期的对照、sh-NC、sh-TINCR 组共 3 组细胞,提取细胞总蛋白。在细胞蛋白中加入 $1/2$ 体积的上样缓冲液充分混合煮沸 $5\ \text{min}$ 。SDS-PAGE 凝胶电泳蛋白上样量为 $30\ \mu\text{g}$,在浓缩胶中使用 80V 电压电泳至溴酚蓝染料进入分离胶,然后调整到 $100\ \text{V}$ 电压电泳至溴酚蓝染料进入凝胶底部边缘 $1\ \text{cm}$ 处。取出凝胶,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下把蛋白电转移到 NC 膜上,转膜电流设置为 $200\ \text{mA}$ 恒流。取出 NC 膜,放在封闭液(含有 5%脱脂奶粉的 TBST)中,于室温环境下结合 $1.5\ \text{h}$;然后放在一抗稀释液(用封闭液按照 $1:1\ 000$ 稀释)中,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育过夜;最后将 NC 膜放在二抗稀释液(用封闭液按照 $1:4\ 000$ 稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗)中,在室温环境中孵育 $1.5\ \text{h}$ 。按照 ECL 显色试剂盒显色。Image J 软件分析条带的灰度值,GAPDH 作为内参,分析目的蛋白相对表达量变化。

1.2.6 TINCR 靶向关系预测以及鉴定:在线生物学软件 targetscan 分析 TINCR 的靶基因,miR-7 可能为 TINCR 的靶基因。构建突变以后的 TINCR 荧光素酶报告载体(MUT)和没有突变的 TINCR 荧光素酶报告载体(WT),将 MUT 和 WT 分别同 miR-7 mimics、mimics control 共转染到 Huh7 细胞中,培养 $24\ \text{h}$ 以后,检测细胞荧光素酶活性变化,检测步骤同荧光素酶活性检测试剂盒。

1.2.7 Real-time PCR 方法检测肝癌细胞中 miR-7

表达:收集对数期的对照、sh-NC、sh-TINCR 组共 3 组细胞,提取细胞总 RNA,按照 1.2 中 real-time PCR 方法测定 miR-7 表达变化,内参设置为 U6。引物:miR-7 上游引物: $5'\text{-TAACACTGTCTGTAACGATGT-3}'$,下游引物: $5'\text{-CCAGTGCAGGGTCCG-3}'$ 。

1.2.8 检测 miR-7 inhibitor 对下调 TINCR 的肝癌细胞增殖、侵袭和迁移影响:在肝癌 Huh7 细胞中分别共转染 TINCR shRNA、inhibitor control 和 TINCR shRNA、miR-7 inhibitor,命名为 sh-TINCR+Anti-NC、sh-TINCR+Anti-miR-7 组,CCK-8 法测定增殖(步骤参照 1.2.3),Transwell 小室法测定迁移和侵袭(步骤参照 1.2.4),Western blot 测定 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达(步骤参照 1.2.5)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS21.0 软件分析实验结果,计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组数据用独立样本 t 检验,多组差异比较采用单因素方差,组间比较采用 LSD- t 检验。

2 结果

2.1 TINCR 在肝癌细胞中的表达水平高于正常肝细胞

肝癌细胞中 TINCR mRNA 表达水平高于正常肝细胞($P<0.05$)。肝癌 Huh7 细胞中 TINCR 表达水平最高(表 1)。

表 1 TINCR 在正常肝细胞 L-02 和肝癌 HCC9204、Huh7、SNU449 细胞中的表达水平

Table 1 TINCR expression levels in normal liver cells L-02 and liver cancer HCC9204, Huh7, SNU449 cells ($\bar{x}\pm s, n=9$)

cells	TINCR mRNA
L-02	1.00 ± 0.12
SNU449	$1.45\pm 0.10^*$
HCC9204	$1.78\pm 0.15^*$
Huh7	$2.44\pm 0.23^{**}$

* $P<0.05$ compared with L-02 cell; ** $P<0.05$ compared with HCC9204、SNU449 cells.

2.2 TINCR shRNA 可明显下调肝癌 Huh7 细胞中 TINCR 表达水平

Huh7 细胞中转染 TINCR shRNA 以后,细胞中

TINCR 表达水平明显低于转染 shRNA control 后的细胞 ($P < 0.05$)。TINCR shRNA 可明显下调 Huh7 细胞中 TINCR 表达水平(表 2)。

表 2 TINCR shRNA 转染以后肝癌 Huh7 细胞中 TINCR mRNA 的表达水平

Table 2 TINCR mRNA expression levels in liver cancer Huh7 cells after TINCR shRNA transfection ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

group	TINCR mRNA
control	1.00±0.10
sh-NC	0.98±0.12
sh-TINCR	0.26±0.04*

* $P < 0.05$ compared with sh-NC group.

2.3 下调 TINCR 可明显降低 Huh7 细胞增殖、侵袭和迁移能力

Huh7 细胞中转染 TINCR shRNA 以后,细胞 A 值、迁移数目、侵袭数目和 MMP-9、MMP-2 蛋白表达量均明显低于转染 shRNA control 后的细胞 ($P < 0.05$)。下调 TINCR 可明显抑制肝癌 Huh7 细胞增殖、侵袭和迁移能力(图 1,表 3)。

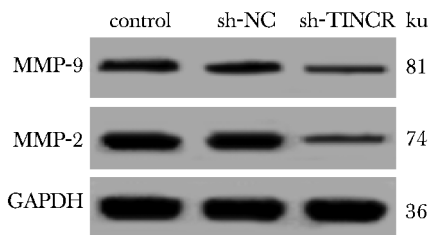


图 1 Western blot 检测 TINCR shRNA 转染以后肝癌 Huh7 细胞中 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达

Fig 1 Western blot detection of MMP-2 and MMP-9 protein expression in liver cancer Huh7 cells after TINCR shRNA transfection

表 3 TINCR shRNA 转染以后肝癌 Huh7 细胞的 A 值、迁移数目、侵袭数目以及 MMP-9、MMP-2 蛋白表达量
Table 3 A value, number of migration, number of invasion, and expression of MMP-9 and MMP-2 proteins in liver cancer Huh7 cells after TINCR shRNA transfection ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

group	A value	number of migration	number of invasion	MMP-2	MMP-9
control	0.49±0.06	62.51±3.52	55.67±3.26	0.77±0.08	0.51±0.06
sh-NC	0.51±0.05	61.87±4.63	56.21±2.74	0.76±0.06	0.53±0.04
sh-TINCR	0.34±0.03*	43.14±2.34*	32.41±2.37*	0.31±0.04*	0.33±0.05*

* $P < 0.05$ compared with sh-NC group.

2.4 TINCR 靶向调控 miR-7

TINCR 和 miR-7 有互补结合位点,并且肝癌 Huh7 细胞中共转染 miR-7 mimics 和 TINCR-WT 以后,细胞荧光素酶活性明显低于共转染 mimics control 和 TINCR-WT 的细胞 ($P < 0.05$)。TINCR 靶向调控 miR-7(图 2,表 4)。

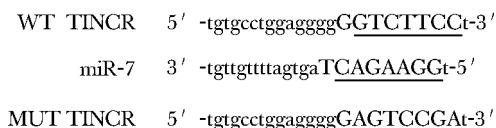


图 2 生物信息学软件预测 TINCR 和 miR-7 结合位点
Fig 2 Bioinformatics software predicts TINCR and miR-7 binding sites

表 4 WT 和 MUT 转染以后肝癌 Huh7 细胞荧光素酶活性

Table 4 Luciferase activity of liver cancer Huh7 cells after WT and MUT transfection ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

group	MUT	WT
mimics control	1.00±0.11	1.00±0.10
miR-7 mimics	1.02±0.13	0.56±0.05*

* $P < 0.05$ compared with mimics control group.

2.5 下调 TINCR 可明显促进肝癌 Huh7 细胞中 miR-7 表达

肝癌 Huh7 细胞中转染 TINCR shRNA 以后,细胞中 miR-7 表达水平明显高于转染 shRNA control 后的细胞 ($P < 0.05$)。下调 TINCR 可明显促进肝癌 Huh7 细胞中 miR-7 表达(表 5)。

2.6 miR-7 inhibitor 可明显促进下调 TINCR 的肝癌 Huh7 细胞增殖、侵袭和迁移

与共转染 inhibitor control 和 TINCR shRNA 的肝

表 5 TINCR shRNA 转染以后肝癌 Huh7 细胞中 miR-7 表达水平

Table 5 miR-7 expression levels in liver cancer Huh7 cells after TINCR shRNA transfection ($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	miR-7
control	1.00±0.08
sh-NC	0.97±0.09
sh-TINCR	2.41±0.16*

* $P<0.05$ compared with sh-NC group.

癌 Huh7 细胞比较,共转染 miR-7 inhibitor 和 TINCR shRNA 后的细胞 A 值、迁移数目、侵袭数目和 MMP-2、MMP-9 蛋白水平均升高 ($P<0.05$)。miR-7 inhibitor 可明显促进下调 TINCR 的肝癌 Huh7 细胞增殖、侵袭和迁移(图 3,表 6)。

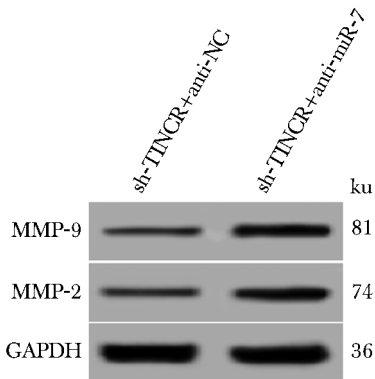


图 3 Western blot 测定 miR-7 inhibitor 和 TINCR shRNA 转染后肝癌 Huh7 细胞中 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平

Fig 3 Western blot determination of MMP-2 and MMP-9 protein levels in liver cancer Huh7 cells transfected with miR-7 inhibitor and TINCR shRNA

3 讨论

真核生物的绝大多数基因组都会被转录,转录

过程中常常产生没有翻译功能的 lncRNA, lncRNA 主要是由 RNA 聚合酶 II 转录形成的,具有调控 DNA 甲基化、染色质重塑、蛋白质修饰以及影响基因转录等功能, lncRNA 作用方式和调控机制多样,在人体的不同生理进程中扮演不同的角色^[8]。TINCR 具有促进细胞增殖的作用,其参与肿瘤发生,并且在不同的肿瘤中的研究报道不同^[4-5]。TINCR 在肺癌中表达上调,并且其高表达与肿瘤患者的临床病理特征有关,下调 TINCR 表达可以抑制肿瘤细胞的恶性转移潜能^[5]。TINCR 在前列腺癌中扮演肿瘤抑制因子的作用,其可以抑制肿瘤转移^[4]。TINCR 在肝癌中高表达, TINCR 可能是肝癌进展的促进因子^[6]。实验表明, TINCR 在肝癌细胞中的表达水平高于正常肝细胞,并且下调 TINCR 可以抑制肝癌细胞增殖,这与上述研究结果相符合,均说明 TINCR 在肝癌进展中可能发挥促进作用。

基质金属蛋白酶是存在于人体内的细胞外基质降解酶,其可以将细胞外基质降解而促进细胞的运动^[9]。在肿瘤转移过程中,肿瘤细胞从原来的位置脱落,并随着血管或淋巴管进入新的组织和器官,通过恶性增殖形成转移灶^[10]。肿瘤细胞合成的基质金属蛋白酶是肿瘤转移的基础^[11]。MMP-2 和 MMP-9 二者均是基质金属蛋白酶家族成员,也是目前发现的与肿瘤转移关系最为密切的基质金属蛋白酶^[12]。实验表明,下调 TINCR 后的肝癌细胞侵袭和迁移能力下降,细胞中 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平也降低,提示 TINCR 在肝癌转移中可能发挥促进作用,靶向抑制 TINCR 可能是抑制肝癌恶性进展的途径。

现阶段对于 lncRNA 作用机制研究发现, lncRNA 可以通过靶向调控下游基因的表达发挥不同的生物学作用,并且 lncRNA 在不同的组织以及病理进程中的靶向调控作用可能不同^[13]。本次实

表 6 miR-7 inhibitor 和 TINCR shRNA 转染后肝癌 Huh7 细胞 A 值、迁移数目、侵袭数目和 MMP-2、MMP-9 蛋白以及 miR-7 表达水平

Table 6 A value, number of migration, number of invasion and expression levels of MMP-2, MMP-9 protein, and miR-7 in liver cancer Huh7 cells after miR-7 inhibitor and TINCR shRNA transfection ($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	miR-7	A value	number of migration	number of invasion	MMP-2	MMP-9
sh-TINCR+Anti-NC	1.00±0.12	0.33±0.04	40.69±3.47	31.15±2.06	0.30±0.03	0.32±0.04
sh-TINCR+Anti-miR-7	0.34±0.05*	0.46±0.06*	56.45±3.29*	47.86±4.11*	0.68±0.08*	0.65±0.06*

* $P<0.05$ compared with sh-TINCR+Anti-NC group.

验发现,TINCR 靶向调控肝癌细胞系中 miR-7 的表达。miR-7 是一个在肝癌组织中表达下调的 miRNA 分子,过表达 miR-7 可以抑制肝癌细胞系的侵袭和迁移^[7]。本次实验发现,TINCR 靶向调控肝癌细胞系中 miR-7 的表达,并且下调 miR-7 可以逆转下调 TINCR 对肝癌细胞侵袭和迁移的抑制作用,这充分证明下调 TINCR 抑制肝癌细胞侵袭和迁移与靶向调控 miR-7 有关。

总而言之,下调 TINCR 抑制肝癌细胞恶性增殖和转移潜能,其作用机制与靶向调控 miR-7 有关,目前对于其下游的具体调节机制还不清楚,靶向抑制 TINCR 表达可能是抑制肝癌进展和转移的有效途径。本实验结果为研究 TINCR 在肿瘤进展中的调控网络提供了参考,为明确肝癌分子发生机制奠定了基础。

参考文献:

- [1] Kudo M, Finn RS, Qin S, *et al.* Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial[J]. *Lancet*, 2018, 391: 1163-1173.
- [2] Xu X, Hou J, Lv J, *et al.* Overexpression of lncRNA GAS5 suppresses prostatic epithelial cell proliferation by regulating COX-2 in chronic non-bacterial prostatitis[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18: 923-931.
- [3] Ding L, Ren J, Zhang D, *et al.* A novel stromal lncRNA signature reprograms fibroblasts to promote the growth of oral squamous cell carcinoma via lncRNA-CAF/interleukin-33[J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39: 397-406.
- [4] Dong L, Ding H, Li Y, *et al.* lncRNA TINCR is associated with clinical progression and serves as tumor suppressive role in prostate cancer [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 2799-2807.
- [5] Zhu ZJ, He JK. TINCR facilitates non-small cell lung cancer progression through BRAF-activated MAPK pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497: 971-977.
- [6] Tian F, Xu J, Xue F. TINCR expression is associated with unfavorable prognosis in patients with hepatocellular carcinoma.[J]. *Biosci Rep*, 2017, 37:1-10.
- [7] 张传海, 桂阳, 郭凤林, 等. microRNA-7 对人肝癌细胞 MHCC-97H 上皮间质转化的影响及作用机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53:29-34.
- [8] Zhang Q, Li X, Li X, *et al.* lncRNA H19 promotes epithelial-mesenchymal transition (EMT) by targeting miR-484 in human lung cancer cells [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119: 4447-4457.
- [9] Yang Y, Li X, Du J, *et al.* Involvement of microRNAs-MMPs-E-cadherin in the migration and invasion of gastric cancer cells infected with *Helicobacter pylori*[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 367: 196-204.
- [10] Conrad C, Götte M, Schlomann U, *et al.* ADAM8 expression in breast cancer derived brain metastases: functional implications on MMP-9 expression and transendothelial migration in breast cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2018, 142: 779-791.
- [11] Li F, Zhang J, Guo J, *et al.* RNA interference targeting CD147 inhibits metastasis and invasion of human breast cancer MCF-7 cells by downregulating MMP-9/VEGF expression [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50: 676-684.
- [12] LJeleniewicz W, Cybulski M, Nowakowski A, *et al.* MMP-2 mRNA expression in ovarian cancer tissues predicts patients' response to platinum-taxane chemotherapy[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39: 1821-1827.
- [13] Zhu X, Li H, Wu Y, *et al.* lncRNA MEG3 promotes hepatic insulin resistance by serving as a competing endogenous RNA of miR-214 to regulate ATF4 expression[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43: 345-357.