

· 基础研究 ·

长链非编码 RNA MALAT-1 通过 EZH2-β-catenin 信号通路调控肾癌细胞的增殖、凋亡及侵袭

彭浩¹, 武玉东², 李健¹, 李浩¹, 刘愿光¹

(1. 周口市中心医院泌尿外科, 河南周口 466000; 2. 郑州大学第一附属医院泌尿外科, 河南郑州 450052)

Long-chain non-coding RNA MALAT-1 inhibits proliferation and invasion and induces apoptosis of renal cell carcinoma cells by regulating EZH2-β-catenin signaling pathway

PENG Hao¹, WU Yu-dong², LI Jian¹, LI Hao¹, LIU Yuan-guang¹

(1. Department of Urology, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou 466000; 2. Department of Urology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the expression of long-chain non-coding RNA MALAT-1 (LncRNA MALAT-1) in tissues and cell lines of renal cell carcinoma (RCC) and its mechanism in regulating the proliferation, apoptosis and invasion of RCC cells. Methods The expression of MALAT-1 in healthy tissues, RCC tissues, HK-2, 786-O, ACHN and Caki-1 cells were detected with qRT-PCR. The 786-O cells were randomly divided into 3 groups: MALAT-1-siRNA silencing vector group (si-MALAT-1 group), MALAT-1-siRNA negative expression vector group (si-NC group) and blank control group (blank group). The cell proliferation, apoptosis and invasion abilities were detected with CCK-8 method, flow cytometry and Transwell, respectively. The protein expression levels of EZH2 and β-catenin were detected with Western blot. Results Compared with healthy tissues and HK-2 cell line, RCC tissues, 786-O, ACHN and Caki-1 had significantly higher expressions of MALAT-1 ($P < 0.05$). Compared with the blank and si-NC groups, the si-MALAT-1 group had significantly decreased activity and invasion ability of RCC cells, but significantly increased apoptosis rate, and increased protein expressions of EZH2 and β-catenin ($P < 0.05$). Conclusion LncRNA MALAT-1 is up-regulated in RCC cells and tissues. Inhibition of MALAT-1 expression can inhibit the proliferation and invasion of RCC cells and promote the apoptosis. The mechanism may involve the down-regulation of EZH2-β-catenin signaling pathway.

KEY WORDS: renal cell carcinoma; MALAT-1; proliferation and apoptosis; cell invasion; EZH2-β-catenin signaling pathway

摘要:目的 探究长链非编码 RNA 肺腺癌转移相关转录因子 1(LncRNA MALAT-1)在肾癌组织及肾细胞癌(RCC)细胞株中的表达情况及其在调控 RCC 细胞增殖、凋亡及侵袭过程中的作用机制。方法 利用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)实验检测正常和 RCC 组织以及 HK-2、786-O、ACHN 及 Caki-1 细胞中 MALAT-1 的表达情况;将 786-O 细胞随机分为 3 组,分别转染 MALAT-1-siRNA 沉默载体(si-MALAT-1 组)及 MALAT-1-siRNA 阴性表达载体(si-NC 组),空白对照组加入 PBS(Blank 组)。采用 CCK-8 法、流式细胞术法、Transwell 法检测细胞增殖、凋亡及侵袭能力;利用 Western blot 法检测 Zeste 基因同源物增强子 2(EZH2)及 β-catenin 的蛋白表达水平。结果 与正常组织及细胞株 HK-2 相比,肾癌组织及细胞株 786-O、ACHN 及 Caki-1 中 MALAT-1 的表达水平明显增加($P < 0.05$);与 Blank 组和 si-NC 组相比, si-MALAT-1 组 RCC 细胞活性和侵袭能力明显降低、细胞凋亡率明显增加、EZH2 及 β-catenin 的蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$)。结论 LncRNA MALAT-1 在肾癌组织及 RCC 细胞中表达上调;抑制 MALAT-1 的表达能够抑制 RCC 细胞的增殖和侵袭,促进凋亡,其机制可能与下调 EZH2-β-catenin 信号通路的表达有关。

关键词:肾细胞癌;MALAT-1;增殖和凋亡;细胞侵袭;EZH2-β-catenin 信号通路

中图分类号:R692

文献标志码:A

DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2020.01.015

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,约占成人恶性肿瘤的 2%~

3%,其发病率位居泌尿系肿瘤第 2 位,仅次于膀胱癌^[1]。最新的流行病学调查显示,在美国和欧洲每年被诊断为肾癌的患者分别约为 64 000 例和 15 000 例,居常见癌症第 7 位^[2]。目前,手术治疗、放疗及分子靶向治疗是 RCC 的主要治疗手段,但是肾癌患

收稿日期:2019-03-21

修回日期:2019-07-30

作者简介:彭浩,副主任医师,研究方向:泌尿系肿瘤。

E-mail:65650968@qq.com

者5年生存率仍只有约55%，而转移性肾癌患者仅为12%^[3]。近年的研究发现，长链非编码RNA(long non-code RNA, LncRNA)可在转录及转录后水平、表观遗传学水平等方面参与调控基因的表达，进而在机体的生理和病理过程中发挥重要作用^[4-5]。DAN等^[6]研究发现，LncRNA与RCC的增殖、凋亡、侵袭、转移及预后密切相关。进一步研究发现，RCC组织中LncRNA肺腺癌转移相关转录因子1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1, MALAT-1)基因mRNA表达水平明显高于正常肾组织^[7]。但LncRNA MALAT-1对RCC的生物学功能的影响报道较少。本研究观察了LncRNA MALAT-1对RCC细胞增殖、凋亡、侵袭能力及Zeste基因同源物增强子2(enhancer of zeste homolog 2, EZH2)- β -catenin信号通路的影响，旨在探究LncRNA MALAT-1与RCC的相关性及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 病理组织样本 42例肾癌组织样本来源于2016年2月至2019年2月期间在周口市中心医院确诊为RCC的患者，其中男性22例，女性20例，所有患者术前均未接受任何局部或全身治疗，均为原发性肿瘤，行手术切除，术中收集肿瘤组织及肿瘤周围的临近正常组织(距离病灶至少5 cm)。本研究共收集肾癌组织样本42个，正常肾癌组织样本20个。本研究方案经本院伦理委员会批准。所有患者均已签署知情同意书。

1.1.2 细胞及试剂 人肾癌细胞株786-O、ACHN及Caki-1(中科院上海细胞所)；人正常近端肾小管上皮细胞株HK-2(美国ATCC公司)；含有10%(体积分数)胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)及青链霉素的RPMI-1640培养基及KSM培养基、胰蛋白酶(美国GIBCO公司)；转染试剂Lipofectamine 2000、总RNA提取试剂盒及反转录试剂盒(美国Invitrogen公司)；靶向MALAT-1基因的小干扰RNA(si-MALAT-1)及阴性对照(si-NC)(美国Life Technologies)；PCR引物(上海生工生物工程)；细胞凋亡检测试剂盒(中国，碧云天生物技术有限公司)；单克隆抗体及辣根过氧化物标记的二抗(大连，TaKaRa)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 人正常近端肾小管上皮细胞株HK-2用含有10%(体积分数)FBS、100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素的KSM培养基于37 $^{\circ}$ C、5%(体积分数)CO₂的恒温细胞培养箱中培养。人肾

癌细胞株786-O、ACHN及Caki-1用含有10%(体积分数)FBS、100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素的RPMI-1640培养基于37 $^{\circ}$ C、5%(体积分数)CO₂的恒温细胞培养箱中培养。

1.2.2 qRT-PCR检测组织和细胞中MALAT-1的表达 严格按照试剂盒操作步骤使用Trizol试剂提取正常组织、RCC组织或HK-2、786-O、ACHN及Caki-1细胞中的总RNA，分光光度计测定RNA浓度及完整性(A₂₆₀/A₂₈₀为1.8~2.0)，逆转录试剂盒进行cDNA合成。以cDNA为模板进行Rt-PCR扩增，所用引物序列为MALAT-1上游：5'-AGTACAGCACAGTGCAGCTT-3'，下游：5'-CCCACCAATCCCAACCGTAA-3'；GAPDH上游：5'-GAACGTCATAATC-3'，下游：5'-CGCTCCTGGAAGATGGTGAT-3'。采用荧光定量PCR仪ABI PRISM 7300进行实时荧光定量PCR检测，以GAPDH为内参，以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因的相对表达量。

1.2.3 细胞转染 根据qRT-PCR结果选择786-O细胞进行进一步实验。取对数生长的细胞786-O以 1.5×10^5 个/孔接种于6孔板，待细胞生长至80%时，将细胞随机分为3组，按照Lipofectamine 2000操作说明书，分别转染MALAT-1-siRNA沉默载体(si-MALAT-1组)及MALAT-1-siRNA阴性表达载体(si-NC组)，空白对照组加入PBS(Blank组)。转染48 h后，收集各组细胞并采用qRT-PCR检测转染效率，方法参照1.2.2。

1.2.4 CCK-8(cell counting kit-8)检测细胞增殖 转染后的细胞培养至对数生长期，收集各组细胞用胰酶消化成单细胞悬液，以 5.0×10^3 个/孔接种于96孔板中(每组6个复孔)置于37 $^{\circ}$ C、5%(体积分数)CO₂的培养箱中培养。分别于接种后24、48、72 h加入CCK-8溶液(5 mg/mL)，每孔20 μ L，继续培养2 h后，450 nm波长下使用酶标仪测定各孔细胞的吸光度(A)值。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡 细胞培养48 h后，收集各组细胞并用预冷的PBS洗涤，加入1 \times binding buffer重悬细胞，再分别加入Annexin V-FITC(5 μ L)和PI工作液(5 μ L)，轻轻混匀后，室温避光反应15 min，使用流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况。

1.2.6 Transwell侵袭实验 收集各组细胞，以 1×10^5 个/孔重新悬浮于无血清培养基中，并接种于Transwell的上室，在小室下层孔中加入含10%的FBS(体积分数)的培养基，将Transwell小室置入37 $^{\circ}$ C、5%(体积分数)CO₂培养箱培养48 h，使用棉签拭去未穿透的细胞及Matrigel胶，4%(质量分数)甲醛固定后用0.1%(质量分数)结晶紫染色。40倍显微

镜下随机选取5个单独视野对穿膜细胞进行计数。

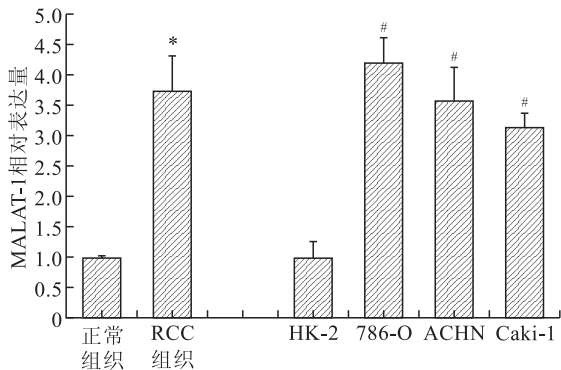
1.2.7 Western blot 检测蛋白表达水平 收集各组细胞并使用细胞裂解液提取细胞总蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度。根据蛋白浓度检测结果,取 25 μ L 蛋白样品进行 Western blot 检测。配制 10% (质量分数)聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)分离胶,加入蛋白样品后,90 V 凝胶电泳,100 V 湿转至 PDVF 膜上。5% (质量分数)的脱脂奶粉封闭液室温下封闭 1 h,一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,二抗孵育 2 h,ECL 显影,拍照后计算蛋白相对表达量。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件分析数据。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

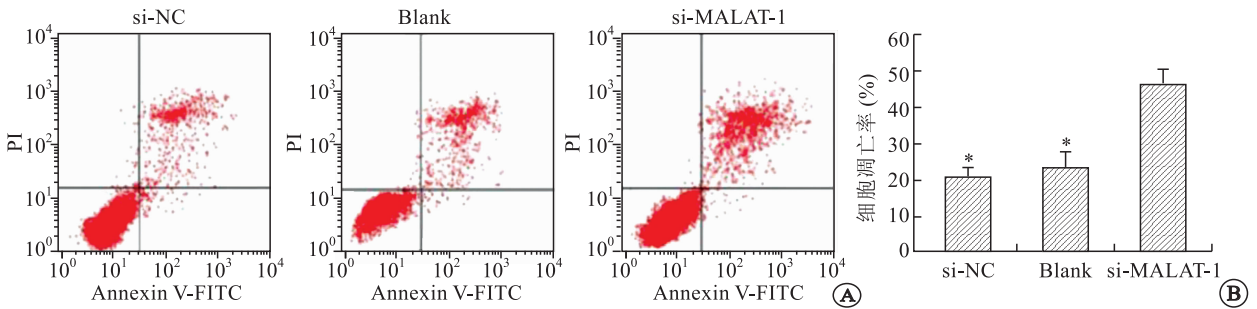
2.1 MALAT-1 在 RCC 组织及细胞中的表达情况

qRT-PCR 检测结果显示,与正常组织和 HK-2 细胞株相比,RCC 组织及 786-O、ACHN、Caki-1 细胞中 MALAT-1 mRNA 表达量明显上调,差异具有统计学意义($P < 0.05$),说明 RCC 组织及细胞中 MALAT-1 高表达(图 1)。



与正常组织比较,* $P < 0.05$;与 HK-2 细胞株比较,# $P < 0.05$ 。

图 1 MALAT-1 在正常和 RCC 组织及 HK-2、786-O、ACHN、Caki-1 细胞中的表达情况



A:流式细胞图;B:细胞凋亡率;与 si-MALAT-1 组相比,* $P < 0.05$ 。

图 4 各组细胞凋亡结果对比

2.2 细胞转染效果 转染 48 h 后,PCR 检测转染效果显示,si-MALAT-1 组 MALAT-1 mRNA 表达水平明显低于 si-NC 组和 Blank 组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),说明转染效果较好(图 2)。

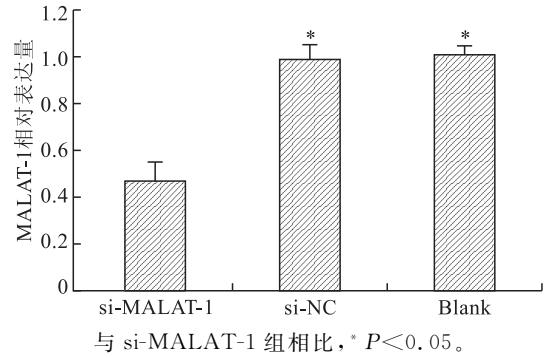
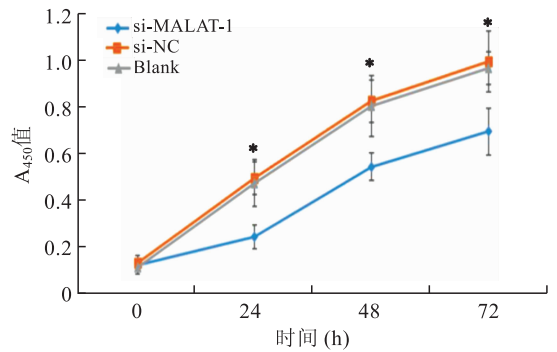


图 2 细胞转染效果

2.3 抑制 MALAT-1 表达可抑制 RCC 细胞增殖

CCK-8 实验结果显示,与 si-NC 组和 Blank 组相比,si-MALAT-1 组细胞活性明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。说明抑制 MALAT-1 的表达能够抑制 RCC 细胞的增殖(图 3)。



与 si-MALAT-1 组相比,* $P < 0.05$ 。

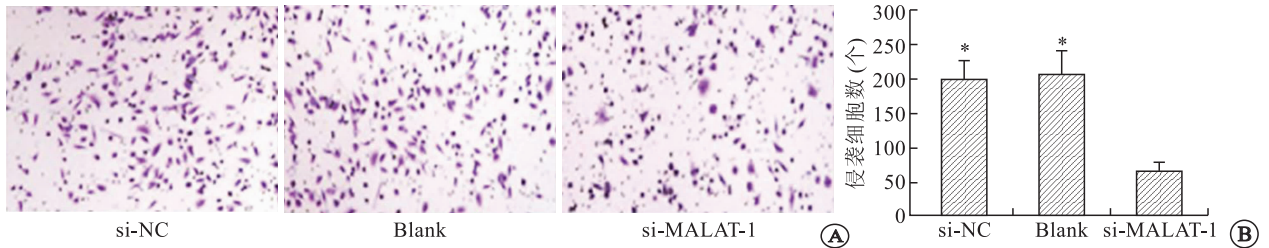
图 3 各组细胞增殖结果对比

2.4 抑制 MALAT-1 表达可促进 RCC 细胞凋亡

流式细胞术检测结果显示,si-MALAT-1 组细胞凋亡率明显高于 si-NC 组和 Blank 组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。说明抑制 MALAT-1 的表达能够促进 RCC 细胞的凋亡(图 4)。

2.5 抑制 MALAT-1 表达可抑制 RCC 细胞侵袭能力

Transwell 侵袭实验检测结果显示, si-MALAT-1 组侵袭细胞数明显低于 si-NC 组和 Blank 组, 差异

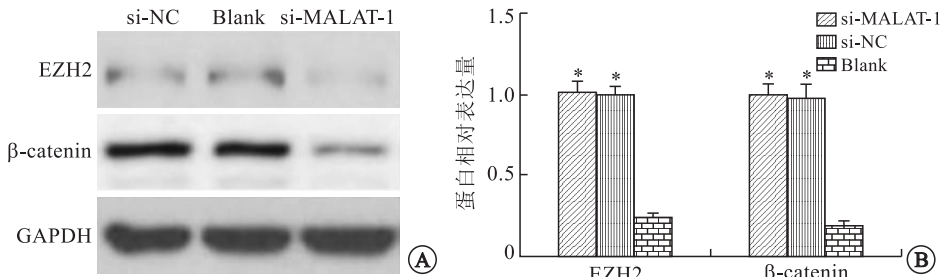


A: 侵袭细胞实验图; B: 侵袭细胞计数图; 与 si-MALAT-1 组相比, * $P < 0.05$ 。

图 5 抑制 MALAT-1 表达抑制 RCC 细胞侵袭能力

2.6 抑制 MALAT-1 表达可下调 EZH2- β -catenin 蛋白表达

Western blot 实验结果显示, si-MALAT-1 组 EZH2 和 β -catenin 蛋白表达水平明显低于 si-NC



A: 电泳结果; B: 蛋白相对表达量; 与 si-MALAT-1 组相比, * $P < 0.05$ 。

图 6 Western blot 检测 EZH2 及 β -catenin 蛋白表达结果

3 讨论

在泌尿系肿瘤中, RCC 是导致患者死亡的主要原因之一, 调查发现我国每年约有 2 万人死于肾癌, 且该病的发病率呈现明显的上升趋势^[8]。RCC 发病机制极为复杂, 是多基因相关肿瘤。目前关于 RCC 发生、发展的分子机制尚未阐明。LncRNA 是一类位于细胞核或细胞质中、长度大于 200 nt、不能编码蛋白质的一类 RNA。已有研究表明, 大量的 LncRNA 能够在不同的细胞和转录水平参与调控癌症的发生、发展及转移, 发挥抑癌基因或致癌基因的作用^[9-10]。MALAT-1 位于 11q13.1, 是具有高度保守性的 LncRNA, 作为肺癌转移的预后标记物而被发现, 目前证实与其他人类肿瘤实体有关^[11]。ZHANG 等^[12]研究发现, 肾癌组织及肾癌细胞株中 MALAT-1 表达上调, 且表达水平与肿瘤大小、分期及淋巴结转移密切相关。KAWAKAMI 等^[13]研究表明 MALAT-1 的表达水平上调, 患者总生存期明显降低, 进一步体外研究发现, 抑制 MALAT-1 的表达, 肾癌细胞株转移能力明显受到抑制, 提示 LncRNA MALAT-1 可作为肾癌的治疗靶点和判断预后标记物。来自癌症基因组图谱数据库 (the Cancer Genome

具有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明抑制 MALAT-1 的表达能够抑制 RCC 细胞的侵袭能力 (图 5)。

组和 Blank 组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明抑制 MALAT-1 的表达能够抑制 EZH2- β -catenin 信号通路的表达 (图 6)。

Atlas, TCGA) 的数据显示, 448 例肾透明细胞癌组织中 LncRNA MALAT-1 的相对表达量为 35.9, 67 例癌旁组织中的相对表达量为 14.54; 198 例肾乳头状细胞癌组织中 LncRNA MALAT-1 的相对表达量为 24.28; 30 例癌旁组织中的相对表达量为 16.95^[14]。本研究结果显示, 肾癌及肾细胞癌细胞株中 LncRNA MALAT-1 的表达水平明显高于正常对照组织及细胞株, 这与 ZHANG 等^[12]的报道一致, 提示 MALAT-1 可能是肾癌的一个潜在独立的诊断靶点。进一步研究显示, 抑制 MALAT-1 能够降低肾细胞癌细胞株 786-O 的活性和侵袭能力, 诱导细胞凋亡。本研究结果表明 MALAT-1 的表达上调可能与 RCC 的发展及进展密切相关。

EZH2 基因位于人染色体 7q35 上, 属于 PCG (polycomb group) 基因家族, 是细胞增殖相关基因^[15]。研究发现, EZH2 能够通过减少转录因子与 DNA 结合及作用 pRb2/Pbo-HDAC1 复合物介导的细胞周期素 A 途径, 促使细胞增殖, 进而诱导肿瘤的发生^[16]。BENETATOS 等^[17]的研究表明, LncRNA 可通过调控 EAH2 介导的 H3K27 甲基化调节下游效应因子。另有研究表明, 长链非编码 RNA HOX 转录反义基因 (HOX transcript antisense RNA, HO-

TAIR)可通过与 EZH2 相互作用增强组蛋白 H3 赖氨酸 27(histone H3 lysine 27, H3K27)的甲基化,导致抑癌基因沉默进而参与癌症进展和转移^[18]。Wnt 信号通路是一组多下游通道的信号转导途径,通常在癌细胞中被激活,导致磷酸化 β -catenin 蛋白在细胞中积聚并移动到细胞核内与 TCF/LEF 结合,进而转录调节 Wnt 的靶基因,如 c-Myc 诱导肿瘤形成^[19]。JUNG 等^[20]的研究表明, EZH2 能够诱导 Wnt/ β -catenin 信号过度活化。已有研究表明, MiR-506 可通过调控 EZH2- β -catenin 信号通路增强浆液性卵巢癌对药物的敏感性^[21]。刘飞等^[22]研究发现, EZH2 在肾癌组织及细胞系中的表达明显上调,且 EZH2 的异常表达与肾癌的分期、分级及淋巴结转移密切相关,提示 EZH2 可能是肾癌新的治疗靶点。杨峰等^[23]研究表明,肾透明细胞癌中 β -catenin 和 EZH2 的表达与病理分级、淋巴结转移有关,提示 β -catenin 和 EZH2 可作为预测肾透明细胞癌预后的重要指标。本研究以肾癌 786-O 细胞株作为细胞模型,将 MALAT-1 沉默载体转染 786-O 细胞,通过 CCK-8、流式细胞术和 Transwell 检测发现,沉默 MALAT-1 表达可明显抑制 786-O 细胞的增殖和侵袭能力,诱导细胞凋亡;进一步研究发现,抑制 MALAT-1 的表达能够降低 786-O 细胞株中 EZH2 和 β -catenin 蛋白的表达水平,说明 MALAT-1 可能通过调控 EZH2- β -catenin 信号通路参与 RCC 细胞的增殖、侵袭及凋亡过程。

综上所述,本研究证实了 LncRNA MALAT-1 在 RCC 组织和细胞中表达上调,抑制 MALAT-1 表达能够抑制 RCC 细胞增殖和侵袭、促进凋亡,其作用机制可能与降低 EZH2/ β -catenin 信号通路的蛋白表达水平有关,但其是否通过调控 EZH2/ β -catenin 信号通路下游效应因子参与肾癌发生发展的分子机制还需进一步研究。

参考文献:

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] SÁNCHEZ-GASTALDO A, KEMPF E, GONZÁLEZ DEL ALBA A, et al. Systemic treatment of renal cell cancer: A comprehensive review [J]. *Cancer Treat Rev*, 2017, 60: 77-89.
- [3] MOTZER RJ, MOLINA AM. Targeting renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(20): 3274-3276.
- [4] PENG WX, KOIRALA P, MO YY. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer [J]. *Oncogene*, 2017, 36(41): 5661-5667.
- [5] HUARTE M. The emerging role of LncRNAs in cancer [J]. *Nat Med*, 2015, 21(11): 1253-1261.
- [6] DONG D, MU Z, WEI N, et al. Long non-coding RNA ZFAS1 promotes proliferation and metastasis of clear cell renal cell carcinoma via targeting miR-10a/SKA1 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 111: 917-925.
- [7] CHEN S, MA P, ZHAO Y, et al. Biological function and mechanism of MALAT-1 in renal cell carcinoma proliferation and apoptosis: role of the MALAT-1-Livin protein interaction [J]. *J Physiol Sci*, 2017, 67(5): 577-585.
- [8] PONTING CP, OLIVER PL, REIK W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2009, 136(4): 629-641.
- [9] CEN D, HUANG H, YANG L, et al. Long noncoding RNA STXBP5-AS1 inhibits cell proliferation, migration, and invasion through inhibiting the PI3K/AKT signaling pathway in gastric cancer cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 1929-1936.
- [10] DU S, HU W, ZHAO Y, et al. Long non-coding RNA MAGI2-AS3 inhibits breast cancer cell migration and invasion via sponging microRNA-374a [J]. *Cancer Biomark*, 2019, 24(3): 269-277.
- [11] GUTSCHNER T, HÄMMERLE M, DIEDERICH S. MALAT-1-a paradigm for long noncoding RNA function in cancer [J]. *J Mol Med*, 2013, 91(7): 791-801.
- [12] ZHANG HM, YANG FQ, CHEN SJ, et al. Upregulation of long non-coding RNA MALAT1 correlates with tumor progression and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(4): 2947-2955.
- [13] KAWAKAMI T, CHANO T, MINAMI K, et al. Imprinted DLK1 is a putative tumor suppressor gene and inactivated by epimutation at the region upstream of GTL2 in human renal cell carcinoma [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(6): 821-830.
- [14] The Cancer Genome Atlas [DB/OL]. [2019-06-29]. https://ibld.manderson.org/tanric/_design/basic/query.html
- [15] BACHMANN IM, HALVORSEN OJ, COLLETT K, et al. EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor sub-groups in cutaneous melanom and cancers of the endometrium, prostate, and breast [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(2): 268-273.
- [16] TONINI T, BAGELLA L, D'ANDRILLI G, et al. Ezh2 reduces the ability of HDAC1-dependent pRb2/p130 transcriptional repression of cyclin A [J]. *Oncogene*, 2004, 23(28): 4930-4937.
- [17] BENETATOS L, VOULGARIS E, VARTHOLOMATOS G, et al. Non-coding RNAs and EZH2 interactions in cancer: long and short tales from the transcriptome [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(2): 267-274.
- [18] TSAI MC, MANOR O, WAN Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes [J]. *Science*, 2010, 329(5992): 689-693.
- [19] AHMAD I, MORTON JP, SINGH LB, et al. β -Catenin activation synergizes with PTEN loss to cause bladder cancer formation [J]. *Oncogene*, 2011, 30(2): 178-189.
- [20] JUNG HY, JUN S, LEE M, et al. PAF and EZH2 induce Wnt/ β -catenin signaling hyperactivation [J]. *Mol Cell*, 2013, 52(2): 193-205.
- [21] 董小瑛. MiR-506 调控 EZH2- β -catenin 信号通路对浆液性卵巢癌药物敏感性的影响 [D]. 天津: 天津医科大学, 2017.
- [22] 刘飞, 肖瑞海, 洪正东, 等. 沉默 EZH2 基因表达对肾癌细胞生物学行为的影响 [J]. *肿瘤防治研究*, 2015, 42(8): 751-755.
- [23] 杨峰. β -catenin 和 EZH2 在肾透明细胞癌中的表达及意义 [D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2011.

(编辑 魏毛毛)