

## 甘草素通过调控 miRNA 抑制人黑色素瘤 A375 细胞的侵袭转移

严 淑,谷大为,陈志敏,周 明,石 惠,王 旻,吴雨晨,蔡云清\*

(南京医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学系,江苏 南京 211166)

**[摘要]** 目的:探讨甘草素对人黑色素瘤 A375 细胞侵袭转移的抑制作用及与 miRNA 相关调控机制。方法:不同浓度甘草素处理 24 h 后,采用噻唑蓝(MTT)法测定细胞存活情况,确定甘草素对细胞无毒作用剂量;通过划痕试验和 Transwell 小室迁移、侵袭试验分别观察细胞的非定向迁移力和定向迁移侵袭力;miRNA 芯片筛选差异表达的 miRNA,qPCR 方法验证 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的下调表达;Western blot 检测 PTEN、p-AKT、AKT、MMP2 和 TIMP2 蛋白表达。结果:10~100  $\mu\text{mol/L}$  剂量甘草素处理 A375 细胞 24 h 对细胞无明显损伤作用,划痕试验、Transwell 小室迁移试验、侵袭试验显示甘草素能抑制 A375 细胞侵袭转移;甘草素可下调 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的表达,上调 PTEN、TIMP2 表达水平,降低 p-AKT、MMP2 的表达水平。结论:甘草素通过下调 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 表达,进而上调 PTEN 和 TIMP2 靶基因的表达水平,阻碍 p-AKT 信号通路并降低 MMP2 蛋白表达,从而发挥抑制人黑色素瘤 A375 细胞侵袭和转移的作用。

**[关键词]** 甘草素;A375 细胞;hsa-miR-4534;hsa-miR-4487;侵袭转移

**[中图分类号]** R739.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)02-263-07

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20150231

## Liquiritigenin inhibits migration and invasion of human melanoma A375 cells via regulating miRNA expression

Yan Shu, Gu Dawei, Chen Zhimin, Zhou Ming, Shi Hui, Wang Yang, Wu Yuchen, Cai Yunqing\*

(Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, NJMU, Nanjing 211166, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of liquiritigenin (LQ) on cell migration and invasion by monitoring regulation of miRNA and its downstream target gene expression in human melanoma A375 cells. **Methods:** MTT assay was used to detect the cell viability of A375 cells treated with different concentrations of LQ. The effect of LQ on cells migration and invasion was measured by wound healing method and Transwell migration/invasion assay. Decreased expression of hsa-miR-4487 and hsa-miR-4534 was screened by miRNA Expression Array, and confirmed by quantitative PCR. The expression levels of PTEN, p-AKT, AKT, MMP2, and TIMP2 were examined by Western blot. **Results:** Ten to 100  $\mu\text{mol/L}$  of LQ treatment on A375 cells for 24 h had no obvious damage to cells. LQ inhibited cell migration and invasion in a dose-dependent manner. Hsa-miR-4534 and hsa-miR-4487 expression were downregulated by LQ. Meanwhile, LQ increased the expression level of PTEN and TIMP2, and decreased p-AKT and MMP2 expression in A375 cells. **Conclusion:** LQ inhibits migration and invasion of A375 cells, probably via regulating miRNA expression and its downstream target genes.

**[Key words]** liquiritigenin; human melanoma A375 cells; hsa-miR-4534; hsa-miR-4487; migration and invasion

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(02): 263-269]

侵袭转移是指癌细胞从原发灶脱落,侵入血管或淋巴管,迁移、黏附于适宜部位诱导肿瘤血管形成,对抗宿主抗肿瘤免疫,最终在远处形成转移灶<sup>[1]</sup>。研究表明,恶性肿瘤中存在分子水平的异常,即致癌基因的活化和抑癌基因的缺失<sup>[2]</sup>,miRNA 与人类多种肿瘤的发生发展及侵袭转移存在着密切联系。miRNA 可能成为一类新的致癌因子或抑癌因

子,它们在转录后水平调控靶基因表达,参与肿瘤的发生、发展及侵袭转移<sup>[3]</sup>。

大量研究表明,黄酮类化合物具有抗肿瘤活性作用。甘草素是从天然植物甘草中提取的一种二氢黄酮单体化合物。本实验室前期研究发现,甘草素能抑制人肝癌 SMMC-7721 细胞和人宫颈癌 Hela 细胞生长,通过调控凋亡相关蛋白和活性氧(ROS)介导

的线粒体信号通路诱导细胞凋亡<sup>[4-5]</sup>,也能通过调节PI3K/AKT通路及其下游的基质金属蛋白酶2(MMP2)抑制人肺腺癌A549细胞的侵袭转移<sup>[6]</sup>。然而,miRNA在甘草素抑制肿瘤细胞侵袭转移中的调控作用及其相关分子机制,国内外尚未见报道。本研究采用具有较强侵袭性的人黑色素瘤A375细胞为体外细胞模型,研究甘草素对人黑色素瘤细胞迁移侵袭能力的影响,探讨miRNA与甘草素抑制人黑色素瘤细胞侵袭转移的关系,为阐明甘草素抑制肿瘤细胞侵袭转移的作用及其分子机制提供新的科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人黑色素瘤A375细胞株为南京医科大学公共卫生学院实验室保存;甘草素购自南京中医药大学中医药研究院,母液溶解于二甲亚砜(DMSO)中,浓度为0.5 mol/L;DMEM培养液购自美国Gibco公司;胎牛血清购自浙江天杭生物科技有限公司;胰蛋白酶、BCA试剂、结晶紫染色液购自上海碧云天生物技术有限公司;噻唑蓝(MTT)购自美国Amresco公司;孔径为8 μm的Transwell小室购自美国Costar公司;图像由尼康TS100-F倒置生物显微镜及成像系统DS-F12-U3获得;RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、PCR试剂盒均购自日本TaKaRa公司;miRNA表达谱芯片由广州锐博公司检测,miRNA引物、U6引物、miRNA模拟物和抑制剂购自广州锐博公司;Matrigel基质胶购自美国BD公司;抗人PTEN、p-AKT、AKT、TIMP2抗体购自美国CST公司,MMP2购自美国Santa Cruz公司,β-actin购自武汉博士德公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养和药物处理

人黑色素瘤A375细胞用含10%胎牛血清(FBS),100 U/ml青霉素,100 μg/ml链霉素的DMEM培养液,置37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养,待细胞接近融合时用0.25%胰蛋白酶消化传代,取生长良好的细胞进行实验。

称取0.006 4 g甘草素溶解于50 μl DMSO中,配制成浓度为0.5 mol/L的母液,分装冻存于-20℃,临用前用DMEM培养基稀释成所需浓度。甘草素作用于细胞时,DMSO的终浓度≤0.1%(V/V),实验表明该浓度对细胞生长无影响。

#### 1.2.2 MTT法检测细胞活力

取对数生长期细胞,制成细胞悬液,按每孔3 000

个细胞接种于96孔培养板,12 h后加入甘草素溶液(药物终浓度分别为0、10、25、50、75、100 μmol/L),培养细胞24 h后,每孔加入浓度为5 g/L的MTT工作液20 μl,37℃温箱继续孵育4 h后,弃去上清加入150 μl DMSO,震荡混匀,待结晶溶解后用酶标仪490 nm波长处测定吸光度值。

#### 1.2.3 划痕试验

取对数生长期A375细胞,0.25%胰蛋白酶消化后,调整细胞浓度,8×10<sup>4</sup>个/孔接种于24孔培养板中,细胞生长至单层融合后每孔用10 μl小枪头垂直划一道直线后吸弃培养液,用PBS清洗2次,洗掉漂浮的细胞,更换新鲜的无血清培养液,并加入不同剂量(10、25、50、100 μmol/L)的甘草素,继续常规培养24 h。用倒置显微镜观察伤口愈合情况,取相同视野拍照记录。

#### 1.2.4 Transwell小室迁移、侵袭试验

制备悬液前让细胞撤血清饥饿12 h,配制含不同浓度甘草素(10、25、50、100 μmol/L)的无血清细胞悬液,并使细胞终浓度为5×10<sup>5</sup>个/ml,分别接种100 μl于上层小室,下室加入600 μl含10%FBS培养液,培养12 h取出小室,吸弃上室培养液,PBS洗涤数次,95%甲醛固定10 min,用棉签擦去微孔滤膜上室面未穿越的细胞,0.1%结晶紫溶液染色20 min。去除染色液,蒸馏水洗涤后吸去水分自然干燥,将Transwell小室上室面朝上置于载玻片上,光镜下取相同视野拍照观察细胞迁移情况。每孔加33%醋酸脱色,在酶标仪570 nm处测定吸光度值。

Transwell小室侵袭试验与迁移试验类似,但在小室上室面涂有matrigel基质胶,并在药物处理24 h后观察侵袭情况。

#### 1.2.5 miRNA表达情况检测

miRNA基因表达谱PCR芯片分析由广州锐博生物科技有限公司完成。qPCR法验证hsa-miR-4534和hsa-miR-4487表达情况;用TRIzol法提取细胞总RNA,测定浓度,逆转录成cDNA,按日本TaKaRa公司试剂盒说明书配制反应体系,以U6为内参,每组设3个平行样,用ABI7300进行qPCR实验。

#### 1.2.6 Western blot检测蛋白表达

常规收集细胞,提取总蛋白,用BCA法测定蛋白含量。取适量蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳转膜,对膜依次进行封闭、一抗(1:500~1:2 000)4℃过夜、二抗(1:2 000)室温孵育1 h。ECL显色、显影、定影。使用Image J软件对免疫印迹扫描条带进行分析,实验重复3次。

### 1.2.7 细胞转染

取对数生长期 A375 细胞接种至相应规格培养皿中,加入不含抗生素的培养基,待细胞密度达到 30%~50% 进行转染。转染步骤及转染试剂用量参照美国 Life Technologies Lipofectamine™ 2000 转染试剂操作说明;miRNA mimic 和 inhibitor 用量参照广州锐博生物科技有限公司 miR-Ribo™ miRNA mimic/inhibitor 产品使用说明,使用随机序列作为阴性对照(negative control,NC)。转染 4~6 h 后更换新鲜无双抗培养基,于 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中继续培养细胞 24 h,用 qPCR 检测转染效率。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,各组间指标的比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验,以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 甘草素对 A375 细胞生存率的影响

为系统研究甘草素对人黑色素瘤 A375 细胞迁移侵袭能力的影响,需排除甘草素对细胞的损伤作用。采用 MTT 法检测不同剂量甘草素处理 24 h 对细胞生长增殖的影响。不同剂量(10、25、50、75、100 μmol/L)甘草素处理细胞 24 h 对细胞生存率的影响均 <10% (分别为 99.21%、99.14%、97.28%、97.12%、91.73%),无显著性差异。结果表明,100 μmol/L 及以下剂量甘草素对 A375 细胞无明显细胞毒性,故选取 100 μmol/L 及以下剂量作为本次研究的实验剂量。

### 2.2 划痕试验检测甘草素对 A375 细胞迁移的影响

通过划痕试验模型,观察细胞伤口愈合情况,判断甘草素对细胞迁移力的影响。处于相同生长期的 A375 细胞经划痕处理后,10~100 μmol/L 甘草素处理后继续培养 24 h,倒置显微镜下取相同视野观察伤口愈合的程度。结果发现,随着甘草素剂量的增加,实验组细胞的迁移距离小于对照组细胞,甘草素抑制细胞扩散到伤口区域,高剂量组作用尤其明显。结果显示,甘草素能抑制 A375 细胞的迁移(图 1)。

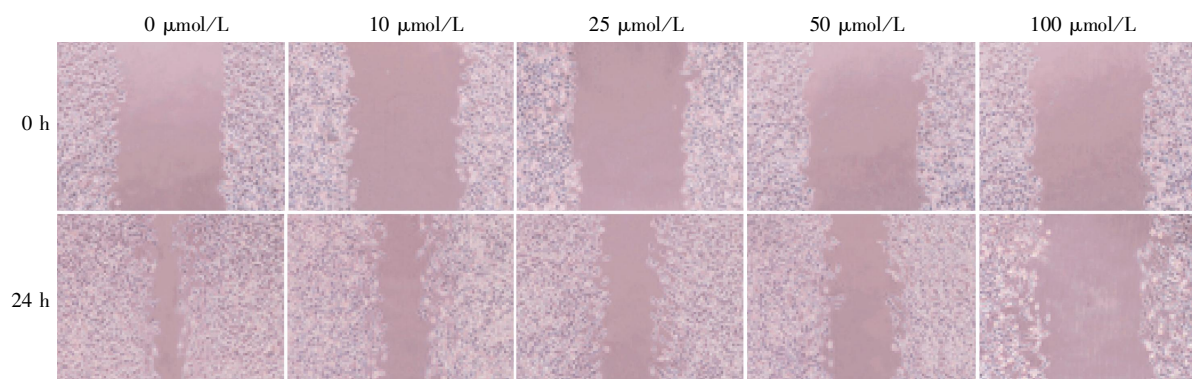


图 1 划痕试验检测甘草素对 A375 细胞迁移力的影响

Figure 1 Effect of liquiritigenin on the cell motility of A375 cells by wound healing method

### 2.3 Transwell 小室迁移试验检测甘草素对 A375 细胞迁移的影响

建立 Transwell 小室体外细胞穿孔试验模型,分析甘草素对人黑色素瘤细胞定向迁移能力的影响。与对照组相比,甘草素处理组穿越小室的细胞数目减少,呈剂量效应关系(图 2)。细胞迁移率分别下降为 93.28%、84.67%、76.63%、66.42%。其中,25~100 μmol/L 剂量组迁移率与对照组相比有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),结果提示甘草素抑制人黑色素瘤细胞的迁移。

### 2.4 Transwell 小室侵袭试验检测甘草素对 A375 细胞侵袭的影响

Transwell 小室体外侵袭试验表明,与对照组相比,甘草素处理组穿越涂有 matrigel 基质胶小室的

细胞数目减少,呈剂量效应关系(图 3)。细胞迁移率分别下降为 94.15%、83.04%、74.78%、65.11%。其中,25~100 μmol/L 剂量组迁移率与对照组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),结果提示甘草素抑制人黑色素瘤细胞侵袭。

### 2.5 甘草素对 A375 细胞 miRNA 表达水平的影响

芯片筛选结果显示,100 μmol/L 甘草素处理与对照组相比,共有 53 个 miRNA 表达差异有统计学意义,上升的有 hsa-miR-4668-5p、hsa-miR-4299 和 hsa-miR-383 等;下降的有 hsa-miR-4487、hsa-miR-4534 和 hsa-miR-144-5p 等。其中 hsa-miR-4487、hsa-miR-4534 下降明显,分别改变了 2.08 和 1.89 倍,结合在线软件 TargetScan 靶基因分析结果,它们的靶基因分别可能有 TIMP2 和 PTEN,而 PTEN 和

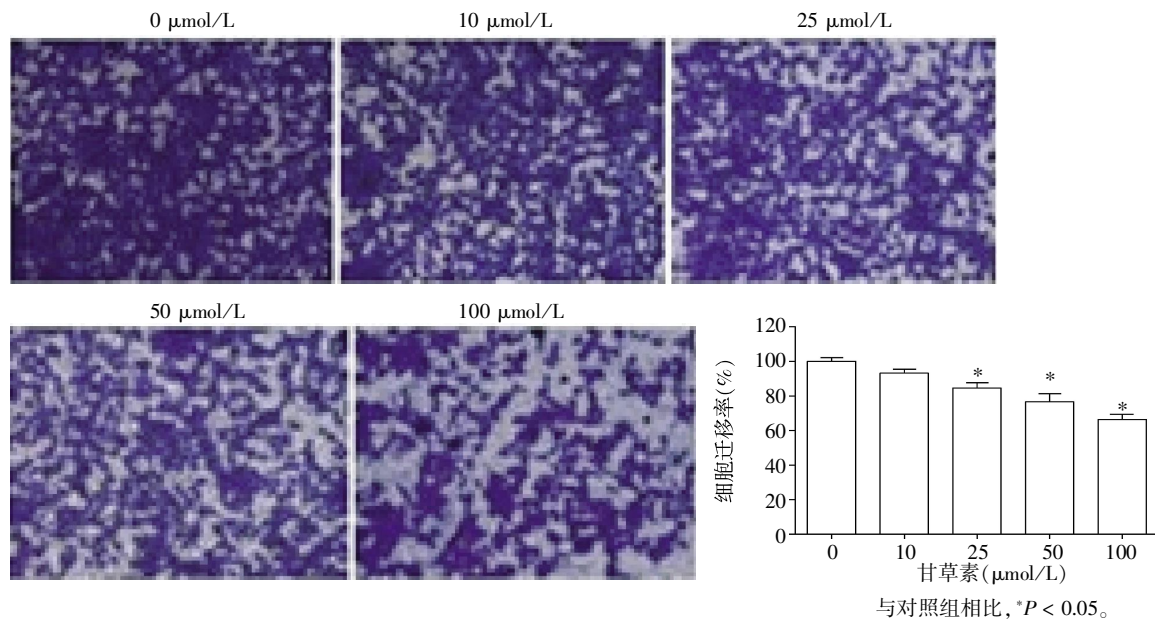


图2 Transwell 小室迁移试验检测甘草素对 A375 细胞迁移力的影响  
 Figure 2 Effect of LQ on the migration in A375 cells by transwell method

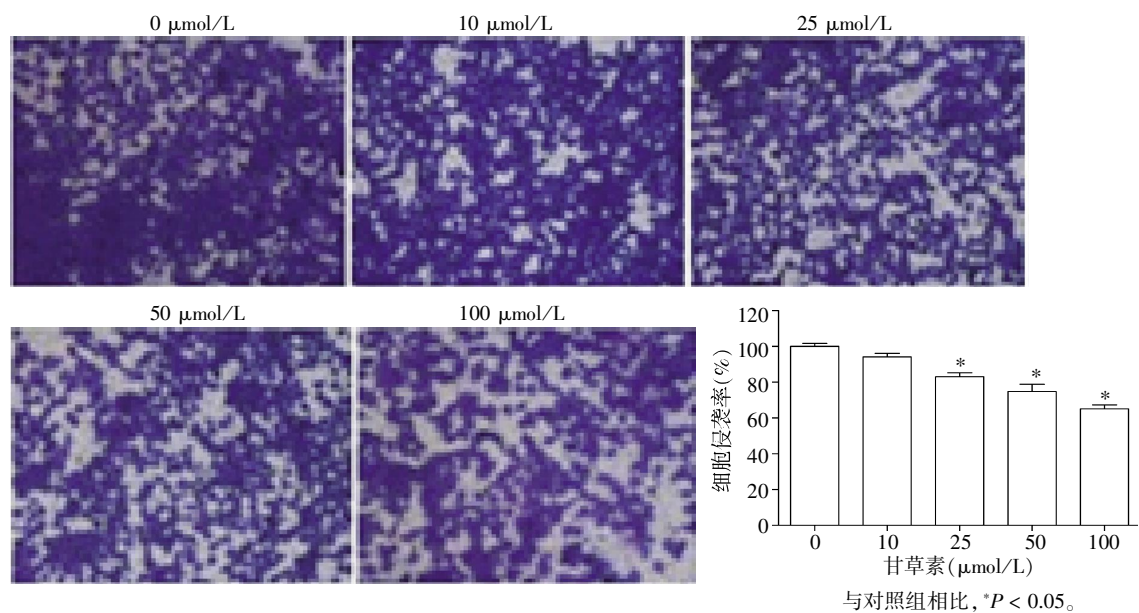


图3 Transwell 小室侵袭试验检测甘草素对 A375 细胞侵袭力的影响  
 Figure 3 Effect of LQ on the invasion in A375 cells by transwell method

TIMP2 与侵袭转移密切相关, 已有许多文献报道 PTEN 能通过调节 PI3K/AKT 信号通路影响基质金属蛋白酶从而抑制肿瘤侵袭转移, TIMP2 是基质金属蛋白酶的天然抑制剂。故选择这 2 个 miRNA 作进一步分析。qPCR 实验证实了芯片结果(图 4)。

2.6 甘草素对 A375 细胞 PTEN、p-AKT、MMP2、TIMP2 表达的影响

基于上述甘草素下调 hsa-miR-4487 和 hsa-miR-4534 表达水平的实验结果, 进一步用 Western

blot 检测下游可能靶基因表达, 图 5A 表明不同剂量 (10~100 μmol/L) 甘草素处理 A375 细胞 24 h, 随着甘草素剂量的升高, 各剂量组细胞中 PTEN 蛋白表达上升, 磷酸化 AKT (p-AKT) 蛋白表达水平受到抑制, 但对总 AKT 表达无明显影响, MMP2 蛋白表达水平下降, 相应地 TIMP2 蛋白表达水平上升 (图 5B), 上述结果均呈剂量效应关系。

2.7 转染 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的模拟物和抑制剂对可能靶基因 PTEN、TIMP2 表达的影响

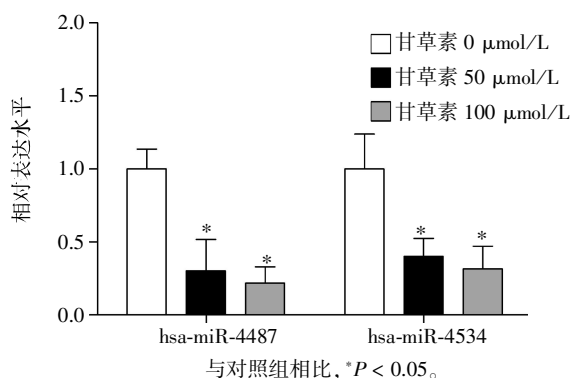
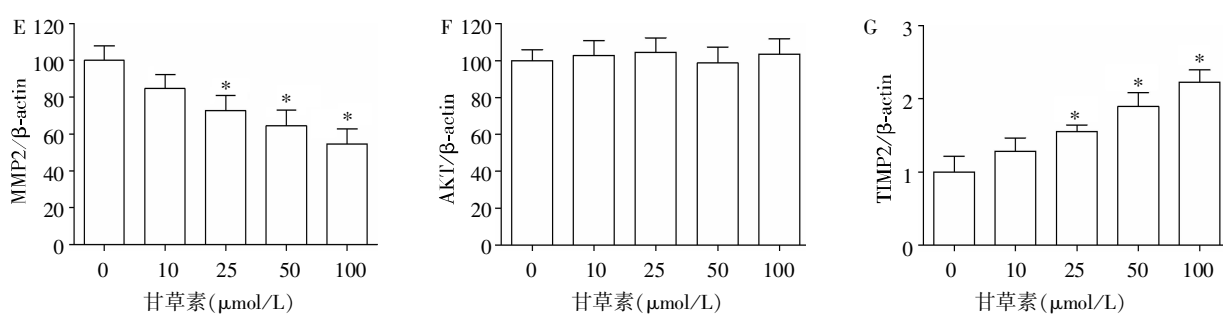
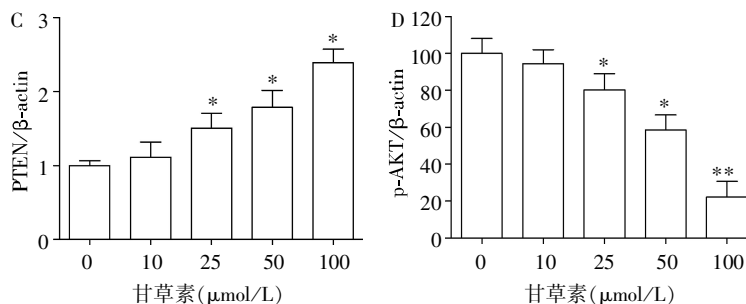
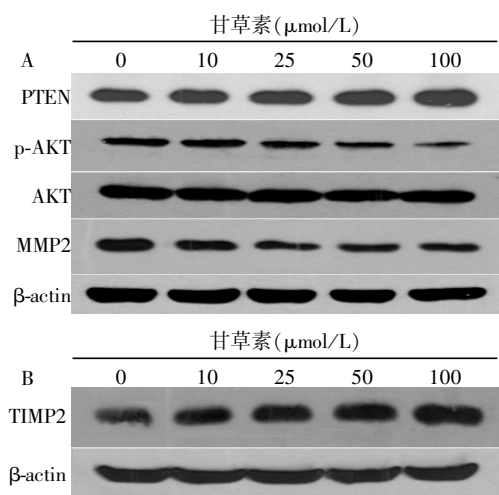


图 4 qPCR 验证甘草素处理 A375 细胞后 hsa-miR-4487 和 hsa-miR-4534 表达水平变化  
Figure 4 Effects of LQ on the expression of hsa-miR-4487 and hsa-miR-4534 in A375 cells



与 0 μmol/L 组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。  
图 5 甘草素对 A375 细胞 PTEN、p-AKT、MMP2 和 TIMP2 蛋白表达水平的影响  
Figure 5 Effects of LQ on PTEN, p-AKT, MMP2 and TIMP2 in A375 cells

转移中发挥了重要作用。

### 3 讨论

侵袭转移是恶性肿瘤细胞脱离原发肿瘤,通过各种途径,到达远处组织或器官并继续增殖生长,并形成转移灶的过程<sup>[7]</sup>。侵袭转移是恶性肿瘤的重要生物学行为之一,也是影响肿瘤患者预后的关键因

为进一步说明 PTEN 和 TIMP2 是否是 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的可能靶基因,分别转染 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的模拟物和抑制剂,处理 24 h,然后运用 qPCR 实验检测转染效率,确定 miRNA 模拟物剂量为 50 nmol/L,抑制剂剂量为 100 nmol/L。加入 hsa-miR-4534 模拟物后,与空白对照组和阴性对照组(NC)相比,PTEN 蛋白表达量下降,加入 hsa-miR-4534 抑制剂后,与空白对照组和阴性对照组相比,PTEN 蛋白表达量上升; hsa-miR-4487 的模拟物和抑制剂展示了对 TIMP2 的类似效果(图 6)。结果表明,PTEN 和 TIMP2 是 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的可能靶基因,miRNA 在甘草素抑制人黑色素瘤 A375 细胞侵袭

素。大约 90% 的肿瘤患者死亡是由肿瘤转移引起的。目前临床上采用手术、放疗和化疗等治疗手段,但是治疗效果不甚理想,易复发转移,传统的抗癌药物选择性差且毒副作用强。所以,寻找天然植物中具有抗肿瘤效应的黄酮类化合物及其衍生物的研究越来越受到人们的重视。

大量研究表明,黄酮类化合物(flavonoids)可通

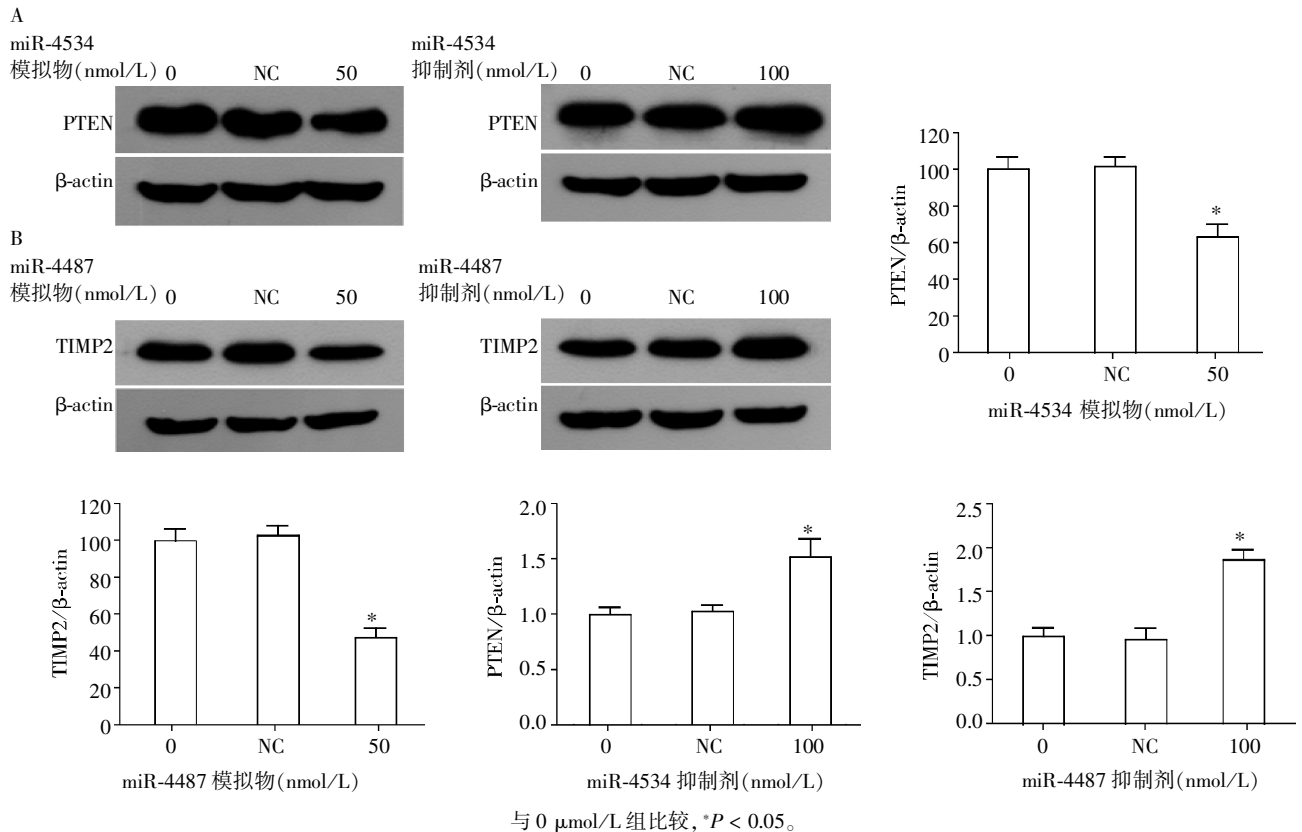


图 6 转染 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 对 A375 细胞 PTEN 和 TIMP2 蛋白表达水平的影响

Figure 6 Transfection effect of hsa-miR-4534 and hsa-miR-4487 on the expression of PTEN and TIMP2 in A375 cells

过抑制肿瘤侵袭转移发挥抗肿瘤作用。Hwang 等<sup>[8]</sup>发现花青素能抑制人黑色素瘤 A375 细胞生长,主要通过抑制酪氨酸活性以及 MITF 蛋白表达。Lee 等<sup>[9]</sup>发现,芹菜素通过 AKT 信号途径,抑制肝癌细胞 SK-Hep1、人肺癌细胞 A549 中肝细胞生长因子(HGF)的活性,从而阻止肿瘤细胞的分散、迁移和入侵。槲皮素能通过抑制 NF-κB 和 MMP2/9 信号通路从而抑制口腔癌 SAS 细胞的侵袭转移<sup>[10]</sup>。

本次研究以高侵袭人黑色素瘤 A375 细胞作为体外细胞模型,划痕试验发现对照组细胞可以大量扩散到伤口区域,而甘草素高剂量处理组几乎没有细胞扩散,低剂量处理组只有少量的细胞扩散,结果表明甘草素可抑制细胞的非定向迁移力;同时,体外 Transwell 迁移和侵袭试验分析发现,甘草素 (25~100 μmol/L)显著减少穿越小室的细胞数目,并呈剂量效应关系。结果提示,甘草素抑制人黑色素瘤细胞的迁移侵袭能力。

有关 miRNAs 与肿瘤侵袭转移的关系已成为研究热点。研究发现 miRNAs 在肿瘤侵袭转移中可发挥促进或抑制作用。Ma 等<sup>[11]</sup>证明 miRNA-10b 与乳腺癌细胞侵袭性密切相关,miRNA-10b 的上调可增

加肿瘤细胞运动性和侵袭力,促进肿瘤侵袭转移,但不影响细胞活力和增殖。Meng 等<sup>[12]</sup>实验结果显示 miRNA-21 在肝癌细胞中比正常细胞高 9 倍,还揭示 miRNA-21 通过下调 PTEN 的表达而上调 PI3K 通路进而促进肿瘤细胞增殖转移。

本研究探讨 miRNA 在甘草素抑制肿瘤细胞侵袭转移的调控作用。基因芯片结果显示,甘草素能使 A375 细胞 miRNA 表达谱改变,可以下调 hsa-miR-4487、hsa-miR-4534 等表达,并经 qPCR 验证其差异表达。

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)是重要的蛋白降解酶,可降解基底膜和细胞外基质,进而形成溶解区域,为肿瘤细胞的运动转移提供通道。其中 MMP2、MMP9 是参与肿瘤侵袭转移关键的蛋白降解酶,在肿瘤侵袭转移过程中起着非常重要的作用。PTEN 蛋白具有双重特异性磷酸酶活性,可依赖其脂质磷酸酶作用拮抗 AKT 信号通路的活化而发挥抑癌作用<sup>[13]</sup>。AKT 具有调节细胞生长、增殖、迁移、分化等多种效应。PTEN 可以多途径地抑制肿瘤的侵袭和转移,可能通过抑制细胞外基质降解和抑制肿瘤血管生成,从而抑制肿瘤的侵袭

和转移。许多研究表明,PTEN 可以拮抗 MMPs 介导的侵袭作用,PTEN 通过抑制 PI3K/AKT 通路抑制 MMPs 的活性,从而抑制了肿瘤细胞的侵袭性<sup>[14]</sup>。Zhang 等<sup>[15]</sup>证实在鼻咽癌中高表达的 hsa-miR-144 能通过抑制 PTEN/AKT 通路促进肿瘤增殖、迁移和侵袭。

在本研究中,甘草素可下调 hsa-miR-4487 以及 hsa-miR-4534 的表达,升高 PTEN 和 TIMP2 的表达,同时抑制 p-AKT 和 MMP2 的表达,最终抑制人黑色素瘤 A375 细胞侵袭转移。转染实验进一步表明,PTEN 和 TIMP2 的表达受到 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 的调控,PTEN 是 hsa-miR-4534 的可能靶基因,TIMP2 是 hsa-miR-4487 的可能靶基因。甘草素导致的 PTEN、TIMP2 水平上升,p-AKT、MMP2 水平下降,是由于 hsa-miR-4487 和 hsa-miR-4534 表达水平下调引起的,故甘草素抑制人黑色素瘤 A375 细胞侵袭转移与 miRNA 调控作用密不可分。

综上所述,甘草素通过负调控 hsa-miR-4534 和 hsa-miR-4487 表达,进而上调 PTEN 和 TIMP2 靶基因的表达水平,阻碍 p-AKT 信号通路和下调 MMP2 蛋白表达,从而发挥抑制人黑色素瘤 A375 细胞侵袭和转移的作用。本研究为阐明甘草素抑制肿瘤细胞侵袭转移的分子机制提供了新的科学依据,为甘草素肿瘤化学预防研究提供了新途径。

#### [参考文献]

[1] Leber MF, Efferth T. Molecular principles of cancer invasion and metastasis(review) [J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(4):881-895

[2] He L, He X, Lim LP, et al. A microRNA component of the p53 tumor suppressor network [J]. *Nature*, 2007, 447(7148):1130

[3] Gupta GP, Massague J. Cancer metastasis: building a framework [J]. *Cell*, 2006, 127(4):679-695

[4] Zhang SP, Zhou YJ, Liu Y, et al. Effect of liquiritigenin, a flavanone existed from *Radix glycyrrhizae* on pro-apoptotic in SMMC-7721 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(4):693-701

[5] Liu C, Wang Y, Xie S, et al. Liquiritigenin induces mitochondria-mediated apoptosis via cytochrome c release and caspases activation in HeLa cells [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(2):277-283

[6] Wang Y, Xie S, Liu C, et al. Inhibitory effect of liquiritigenin on migration via down-regulation MMP-2 and PI3K/AKT signaling pathway in human lung adenocarcinoma A549 cells [J]. *Nutr Cancer J*, 2012, 64(4):627-634

[7] 邢晏琰, 沈赞. MicroRNA 和肿瘤转移关系的研究进展 [J]. *中国癌症杂志*, 2009, 19(10):793-796

[8] Hwang JM, Kuo HC, Lin CT, et al. Inhibitory effect of liposome-encapsulated anthocyanin on melano genesis in human melanocytes [J]. *Pharm Biol*, 2013, 51(8):941-947

[9] Lee WJ, Chen W, Wang CJ, et al. Apigenin inhibits HGF promoted invasive growth and metastasis involving blocking PI3K/AKT pathway and beta 4 integrin function in MDA-M B-231 breast cancer cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 226(2):178-191

[10] Lai WW, Hsu SC, Chueh FS, et al. Quercetin inhibits migration and invasion of SAS human oral cancer cells through inhibition of NF- $\kappa$ B and matrix metalloproteinase-2/-9 signaling pathways [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(5):1941-1950

[11] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. *Nature*, 2007, 449(7163):682-688

[12] Meng F, Henson R, Wehbeqanek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(2):647-658

[13] Waite KA, Eng C. Protean PTEN: form and function [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(4):829-844

[14] Zhu S, Wu H, Wu F, et al. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis [J]. *Cell Res*, 2008, 18(3):350-359

[15] Zhang LY, Ho-Fun Lee V, Wong AM, et al. MicroRNA-144 promotes cell proliferation, migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma through repression of PTEN [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(2):454-463

[收稿日期] 2014-06-19