

• 论著-实验研究 •

# MicroRNA-126 在肾透明细胞癌中的表达及 对细胞株 786-O 生物学行为的影响

李少君<sup>1,2</sup> 段建敏<sup>1</sup> 李焯<sup>1</sup> 刘亮华<sup>1</sup> 庞捷<sup>1</sup> 刘强照<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的:研究 MicroRNA-126(miRNA-126)在肾透明细胞癌(ccRCC)中的表达及其对细胞株 786-O 生物学行为的机制。**方法:**通过 Real-time PCR 的方法检测 30 例 ccRCC 及癌旁正常肾组织中 miRNA-126-5p 的表达情况。运用 RT-qPCR 的方法检测肾癌细胞株 786-O 和人肾小管上皮细胞株 HK-2 中 miRNA-126-5p 的表达;用 Lipofectamine RNAiMAX 将 hsa-miRNA-126-5p 转染 786-O 细胞株,用 MTT、Transwell 侵袭实验、Annexin V/PI 双染法观察转染后细胞在增殖、侵袭力和凋亡方面的变化。**结果:**miRNA-126-5p 在肾癌组织中的表达明显降低,在不同病理分级的样本中,miRNA-126-5p 在高分化组中表达量为  $36.63 \pm 5.38$ ,中、低分化组为  $19.96 \pm 7.28$ ,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在不同临床分期的样本中,I 期 miRNA-126-5p 表达量为  $37.05 \pm 6.38$ ,II~III 期的表达量为  $24.03 \pm 6.15$ ,不同分期之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。786-O 细胞株转染后,检测 miRNA-126-5p 在实验组细胞的表达为  $42.86 \pm 7.01$ ,显著高于阴性对照组  $27.46 \pm 8.43$ ( $P < 0.05$ )。MTT 法检测 786-O 转染后 48 h 增殖情况,实验组的细胞相对存活率为  $80.82 \pm 0.47$ ,阴性对照组  $98.87 \pm 0.27$ ,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。Transwell 侵袭实验显示,实验组 miRNA-126-5p 表达明显低于阴性对照组 [ $33.89 \pm 2.80$ ] vs. [ $53.67 \pm 2.23$ ], $P < 0.05$ ]。Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡,实验组的细胞凋亡率明显高于阴性对照组 [ $22.56 \pm 1.13$ ] vs. [ $7.20 \pm 0.26$ ], $P < 0.05$ ]。**结论:**miRNA-126-5p 在 ccRCC 组织中的表达量明显低于癌旁组织中的表达,其表达与肿瘤分级和临床分期无明显相关性。hsa-miRNA-126-5p 转染细胞株 786-O 后,miRNA-126-5p 的表达明显上调,并能够使 786-O 细胞增殖受到抑制,侵袭力降低,凋亡率增加。

**【关键词】** 肾透明细胞癌;miRNA-126;Real-time PCR;肾癌细胞株 786-O;细胞增殖;细胞侵袭力;细胞凋亡  
doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2018.04.015

**【中图分类号】** R737.11 **【文献标识码】** A

## Study on the expression of miRNA-126 in the renal cell carcinoma and the effects on biological characteristics of cell line 786-O

LI Shaojun<sup>1,2</sup> DUAN Jianmin<sup>1</sup> LI Ye<sup>1</sup> LIU Lianghua<sup>1</sup> PANG Jie<sup>1</sup> LIU Qiangzhao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Urology II, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou, 730030, China;

<sup>2</sup>Department of Urology, Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital)

Corresponding author: DUAN Jianmin, E-mail: djmurol@163.com

**Abstract Objective:** To investigate the expression of miRNA-126 in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) tissues and to study the effects of miRNA-126 in 786-O cells. **Method:** For real-time qPCR, the expressions of miRNA-126 were performed in 30 cases of ccRCC and normal adjacent tissues. The expressions of miRNA-126-5p were detected by RT-qPCR in 786-O cells and HK-2 cells. The 786-O cells were transfected by hsa-miRNA-126-5p using Lipofectamine RNAiMAX to up-regulate the expression of miRNA-126-5p. To study the changes of cell proliferation, invasion ability and apoptosis by MTT, transwell invasion test and flow cytometry respectively. **Result:** The expression of miRNA-126-5p in ccRCC was lower ( $P < 0.05$ ). Grouped by the pathological class, the expression of miRNA-126-5p was ( $36.63 \pm 5.38$ ) in pathological class I, and ( $19.96 \pm 7.28$ ) in pathological class II-III, which had no significant correlations ( $P > 0.05$ ). In terms of clinical stage, the expression of miRNA-126-5p was ( $37.05 \pm 6.38$ ) in clinical stage I, and ( $24.03 \pm 6.15$ ) in clinical stage II-III, which had no significant difference ( $P > 0.05$ ). After transfection, the expression of miRNA-126-5p in treatment group cells ( $42.86 \pm 7.01$ ) was significantly higher than that in control group ( $27.46 \pm 8.43$ ) ( $P < 0.05$ ). After 48 hours transfection, the 786-O cell survival rate in treatment group ( $80.82 \pm 0.47$ ) was lower than that in control group ( $98.87 \pm 0.27$ ), has significant difference ( $P < 0.01$ ). Transwell invasion experiment outcomes showed that the cells numbers in treatment group ( $33.89 \pm 2.80$ ) was significantly lower than that in control group ( $53.67 \pm 2.23$ )

<sup>1</sup>兰州大学第二医院泌尿二科(兰州,730030)

<sup>2</sup>甘肃省妇幼保健院生殖泌尿科

通信作者:段建敏,E-mail:djmurol@163.com

( $P < 0.05$ ). The cell apoptosis assay showed that the cell apoptosis rate in treatment group was  $(22.56 \pm 1.13)$ , while the cell apoptosis rate in control group was  $(7.20 \pm 0.26)$ , which had significant difference compared with control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The expression of miRNA-126-5p in ccRCC was lower than that in its adjacent normal tissues. No significant correlations were observed between miRNA-126-5p expression and clinical stage, pathological class from patients with ccRCC. The expression of miRNA-126-5p in 786-O cells which were successfully transfected by hsa-miRNA-126-5p was significantly up-regulated. After up-regulating miRNA-126-5p, the cells proliferation, invasion ability were significantly suppressed.

**Key words** clear cell renal cell carcinoma; miRNA-126; real-time PCR; renal carcinoma cell 786-O; cell proliferation; cell invasion ability; cell apoptosis

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是来源于肾脏实质泌尿小管上皮系统的恶性肿瘤,又称肾腺癌,简称肾癌,占肾脏恶性肿瘤的 80%~90%,占成人恶性肿瘤的 2%~3%<sup>[1]</sup>。在肾癌的发病率、死亡率方面,我国各地区差异也比较大,随着社会的进步,工业发展和人民生活水平的提高,肾癌的发病率也呈现逐年上升趋势。MicroRNA(miRNA)是一种非蛋白编码小分子 RNA,长度 18~25 nt,它广泛存在于各种真核细胞生物细胞中。其功能主要是调控 mRNA 的代谢,成熟的 miRNA 结合到与其互补的 mRNA 位点,根据二者序列的互补性,负向调控基因的表达<sup>[2]</sup>。Schanza 等<sup>[3]</sup>预测人类至少有三分之一的基因受 miRNA 调控,平均每个 miRNA 调节人类 200 种不同种类的 RNA,而且多个 miRNA 可以分别或同时协调活动以调节某一些特殊的目标靶基因。miRNA-126 基因定位于第 9 号染色体表皮生长因子样结构域 7(epidermal growth factor-like domain 7, EGFL-7)基因第 7 号内含子内<sup>[4]</sup>。研究发现,miRNA-126 与胚胎组织、呼吸系统、生殖系统、造血系统等的肿瘤发生发展关系密切,它能够作用于多个与肿瘤细胞增殖、转移有关的靶点,而发挥抑癌作用。

本文通过 Real-time PCR 技术,检测 miRNA-126 在肾透明细胞癌(ccRCC)与癌旁正常肾组织中的表达情况,并分析其与 ccRCC 的病理分级、临床分期之间的关系。通过转染肾癌细胞株使 miRNA-126 在 ccRCC 中过表达,观察细胞的生物学行为,包括增殖、凋亡、侵袭力等。从而进一步探求 miRNA-126 在 ccRCC 发生、发展中的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般材料

收集 2013~2015 年我院泌尿外科肾癌患者组织标本,ccRCC 组织和癌旁正常肾组织(距离 RCC 组织 $\geq 2$  cm)。所有肾癌患者行手术治疗,在术前均未行放、化疗,且术前、术后未发现有淋巴结及远处转移,所有标本病理类型均经苏木精-伊红(HE)染色证实为 ccRCC。30 例肾癌患者中,男 16 例,女 14 例;年龄 37~77 岁,平均(57.33 土

10.07)岁;肿瘤位于左肾 18 例,右肾 12 例;肿瘤平均直径 4.7 cm。其中 T<sub>1a</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> 10 例、T<sub>1b</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> 7 例、T<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> 13 例。培养人肾癌细胞株 786-O 和肾小管上皮细胞株 HK-2,细胞株来源于兰州大学第二医院泌尿研究所。

### 1.2 实验试剂

RNAisoPlus、miRNA RT-PCR Kit 试剂盒购于 Takara 公司,Lipofectamine RNAiMAX 购于 Invitrogen 公司,hsa-miRNA-126-5p 由上海吉玛公司合成。1640、DMEM 培养基购于 HyClone 公司,胎牛血清购于 PAN-Biotech 公司,MTT 粉购于 Amresco 公司,Transwell 小室购于 Nest 公司,基底胶 Matrigel 购于北京索莱宝公司,AnnexinV-PITC 双染色试剂盒购于美国 BD 公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 细胞培养** 细胞株 786-O 和 HK-2 分别使用 1640 和 DMEM 培养液加 10%胎牛血清,放置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。每隔 2~3 d 更换培养液,取对数生长期细胞进行实验。

**1.3.2 miRNA 转染** 转染所用试剂 siRNA 由上海吉玛生物制药公司合成,hsa-miRNA-126-5p 和 hsa-miRNA-126-5p N. C 序列分别为 5'-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-3', 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'。取对数期且生长旺盛的 786-O 细胞接种于 6 孔板中,24 h 内细胞融合达到 80%~90%。Lipofectamine RNAiMAX 与 hsa-miRNA-126-5p 和 N. C 混合后转染细胞,继续孵育 48 h 后进行后续实验。

**1.3.3 RNA 的提取和 RT-qPCR** 使用 RNAiso Plus 提取配对肾癌组织和癌旁组织及细胞株中的总 RNA。根据 miRNA RT-PCR Kit 试剂盒说明对提取的总 RNA 进行反转录及 Real time qPCR,检测组织和细胞中 miRNA-126-5p 的表达。PCR 反应在美国 BIO-RAD 的 Real-time PCR 仪 CFX96 中进行,以 U6 RNA 为内参,通过  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miRNA-126-5p 的相对含量。

**1.3.4 MTT 增殖实验** 将对数期生长的 786-O 细胞接种于 96 孔板中,24 h 后细胞融合达到 70%~80%,用 hsa-miRNA-126-5p 和 N. C 分别进行

转染实验组和阴性对照组,空白组未做任何处理。转染后在 5 个时间段,向每孔加 MTT 溶液 10  $\mu$ l,继续培养 4 h 后结束培养,吸去培养液,加入 DM-SO 150  $\mu$ l 溶解孔内结晶物,使用酶联免疫检测仪检测各孔的吸光值。将检测到的各孔 OD 值一本底 OD 值,各个复孔值取  $\bar{x} \pm s$ 。细胞存活率(%) = 实验组 OD / 空白组 OD  $\times 100\%$ 。

**1.3.5 细胞侵袭实验** 用 hsa-miRNA-126-5p 和 N.C 分别进行转染 786-O 细胞 48 h 后,接种于已经铺好 Matrigel 胶的 transwell 小室的上室内,6 孔板下室内加入 1 ml 含 15% 血清的培养基。37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱孵育 48 h 后,取出 transwell 小室,用 PBS 冲洗,乙醇固定后,0.1% 结晶紫染色约 20 min 后,倒置显微镜下细胞计数。

**1.3.6 细胞凋亡实验** Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡。收集转染 48 h 后的 786-O 细胞,洗涤细胞。每份标本( $10^5 \sim 10^6$  细胞)配制 Annexin V 标记液 100  $\mu$ l,用标记液轻柔操作重新悬浮细胞,配制  $10^5 \sim 10^6$  细胞/100  $\mu$ l 孵育液,避光在室温下孵育 15 min,再向每份标本中加入 10  $\mu$ l PI。向每 100  $\mu$ l 孵育液内加入 1  $\times$  Binding Buffer 400  $\mu$ l,稀释液在 15 min 内运用流式细胞仪进行检测。

**1.4 统计学方法**

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 miRNA-126-5p 在 ccRCC 组织和癌旁组织中的表达情况**

30 例 ccRCC 组织及癌旁组织中 miRNA-126-5p 的相对含量运用 Real-time qPCR 进行检测。肾癌组织中的 miRNA-126-5p 表达相比癌旁组织明显降低,有 26 例(87%)样本下调,有 4 例(13%)样本上调。ccRCC 组织和癌旁组织 miRNA-126-5p 相对表达量比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见图 1。

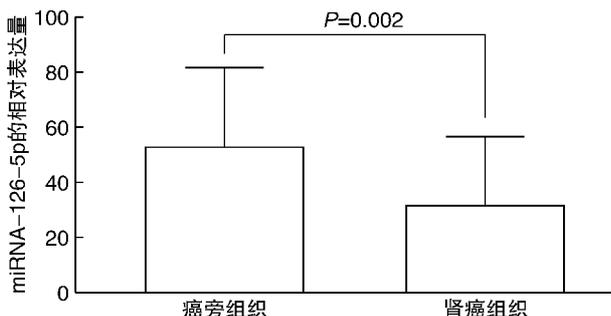


图 1 ccRCC 与癌旁组织中 miRNA-126-5p 的表达量

**2.2 miRNA-126-5p 表达与肾癌组织的病理分级**

**和临床分期的关系**

将 30 例 ccRCC 标本按病理分级和临床分期进行分组,高分化组 17 例,miRNA-126-5p 的表达相对含量为  $35.98 \pm 30.64$ ,中、低分化组 13 例,表达相对含量为  $24.43 \pm 11.94$ ,两组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。miRNA-126-5p 在不同临床分期的样本中,19 例 I 期 miRNA-126-5p 表达的相对含量为  $35.88 \pm 28.77$ ,11 例 II ~ III 期 miRNA-126-5p 表达的相对含量  $22.51 \pm 12.54$ ,各分期之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 2。

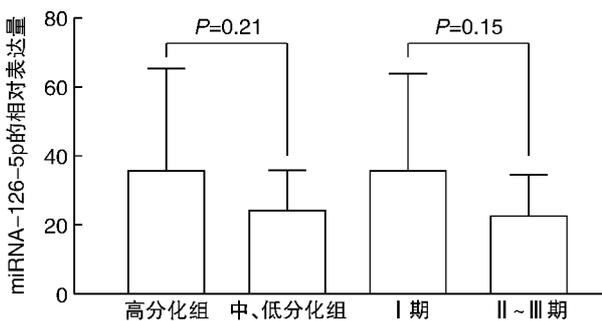


图 2 miRNA-126-5p 在 ccRCC 组织病理分级和临床分期中的表达

**2.3 miRNA-126-5p 在肾癌细胞株 786-O、OS-RC-2 及肾小管上皮细胞 HK-2 中的表达情况**

应用 Real-time PCR 技术,检测 miRNA-126-5p 在 786-O、OS-RC-2 及 HK-2 中的相对表达量。结果显示,786-O 细胞株的表达量为  $33.44 \pm 5.6$ ,OS-RC-2 细胞株的表达量为  $42.12 \pm 4.2$ ,均低于 HK-2 细胞株的表达量  $52.08 \pm 9.81$ ,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

**2.4 786-O 细胞株的转染效率和 miRNA-126-5p 在 786-O 转染后的表达情况**

选择与 HK-2 细胞表达量差异较大的 786-O 细胞株进行后续实验,将 786-O 细胞株转染 48 h 后,使用光镜显微镜与荧光显微镜观察,实验组与阴性对照组中的细胞出现荧光分布,转染成功,转染效率达 70%,见图 3。在细胞株 786-O 转染后,通过 Real-time PCR 检测 miRNA-126-5p 的含量,实验组 miRNA-126-5p 的相对表达量显著高于阴性对照组 [ $(42.86 \pm 7.01)$  vs.  $(27.46 \pm 8.43)$ ,  $P < 0.01$ ]。

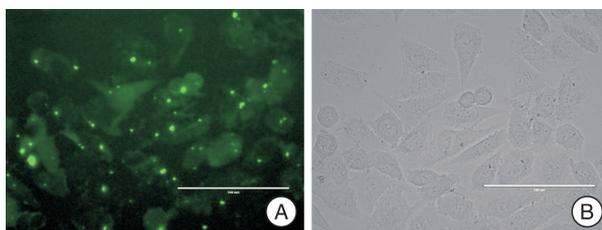


图 3 786-O 细胞株的转染情况

## 2.5 MTT 法检测转染后 786-O 增殖的情况

在转染后 12、24、36、48、72 h 动态观察细胞增殖的情况,结果显示,与阴性对照组和空白组比较,实验组细胞的增殖明显减慢,对实验组和阴性对照组细胞相对存活率进行 *t* 检验,发现两组转染后 24、36、48、72 h 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。上调 miRNA-126-5p 的表达后,786-O 细胞的增殖能力受到抑制,见图 4。

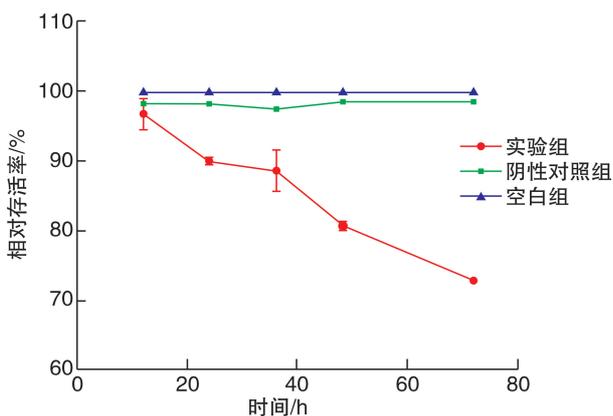


图 4 细胞株 786-O 转染后的存活率

## 2.6 Transwell 侵袭实验

将转染后的人肾癌细胞株 786-O 置于 Transwell 小室内培养 48 h 后,取出 Transwell 小室。结果显

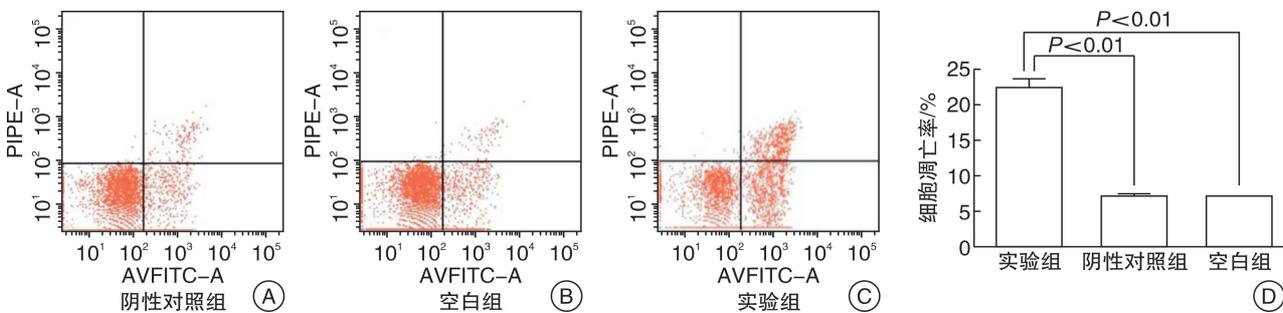


图 6 细胞株 786-O 转染后的凋亡情况

## 3 讨论

在我国泌尿系统肿瘤的发病率中,膀胱癌为第 1 位,肾肿瘤位居第 2。在西方国家位居肿瘤引起死亡的第 6 位。每年全球约有 20 万人被诊断为肾恶性肿瘤,约 10 万人因肾癌死亡,而且呈增长趋势<sup>[5]</sup>。ccRCC 是来源于肾小管上皮细胞的肿瘤,占肾肿瘤的 80%<sup>[6]</sup>。25%~30% 的患者在初期诊断时已经发生转移<sup>[7]</sup>,虽然根治性手术治疗是治疗肾癌的主要手段,但术后仍然有 30% 的患者进展为晚期肾癌<sup>[8]</sup>。由于肾癌对放、化疗的不敏感性,中位生存率只有 1.5 年,5 年生存率不足 10%<sup>[9]</sup>。因此,从分子生物学、遗传学和细胞起源方面深入了解肾细胞癌的发生、发展,更早的发现

示实验组每个视野细胞的数目平均为  $33.89 \pm 2.80$ ,阴性对照组为  $53.67 \pm 2.23$ ,空白组为  $55.0 \pm 3.04$ ,实验组明显低于其他两组,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。上调 miRNA-126-5p 的表达后,786-O 细胞的侵袭力明显降低,见图 5。

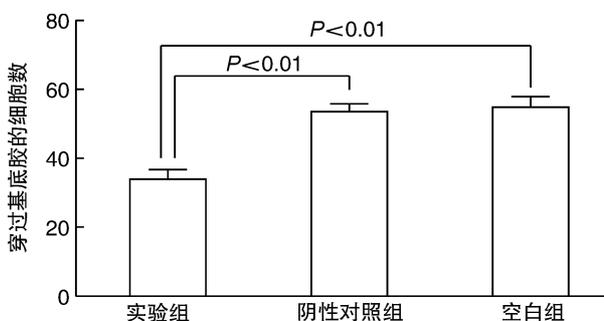


图 5 细胞株 786-O 转染后的侵袭力的变化

## 2.7 Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡

通过 Annexin V/PI 双染法检测 786-O 在转染 48 h 后细胞凋亡的情况结果显示实验组的细胞凋亡率为  $22.56 \pm 1.13$ ,阴性对照组为  $7.20 \pm 0.26$ ,空白组为  $7.18 \pm 0.65$ 。实验组的细胞凋亡率明显增高 ( $P < 0.01$ ),见图 6。说明在上调 miRNA-126-5p 的表达后,人肾癌细胞株 786-O 的凋亡明显增加。

肿瘤、识别肿瘤,在早期寻找彻底治疗肿瘤的方法成为至关重要的目标和任务。

miRNA 是广泛存在于各种动植物细胞中的非蛋白编码小分子 RNA,长度 18~25 nt。其功能主要是参与信使核糖核酸的代谢,它通过与 mRNA 完整互补来降解目标 mRNA,部分互补来抑制目标 mRNA 的表达<sup>[2]</sup>。miRNA-126 基因定位于第 9 号染色体 EGFL-7 基因的第 7 号内含子内<sup>[4]</sup>。EGFL-7 是一种调控血管内皮芽细胞的移动和定位的蛋白。随着 miRNAs 生物芯片技术的发展,在各个系统的肿瘤当中越来越多的 miRNAs 被人们发现,它们对肿瘤细胞的作用各不相同,有的促进,有的抑制。miRNA-126 与多个系统的肿

瘤发生发展都有着密切的关系,如胚胎组织、呼吸系统、生殖系统、造血系统等<sup>[10]</sup>,它能够作用于多个与肿瘤细胞增殖、转移有关的靶点,从而发挥抑癌作用。前列腺癌患者中的肿瘤组织中 miRNA-126 存在缺失<sup>[11]</sup>,miRNA-126 的过度表达可抑制肿瘤细胞的发展。

在近些年对 miRNA 的深入研究中,人们发现 miRNA 广泛参与了生命的各个过程,它们通过对下游基因的调节,调控着有机体的正常生长和肿瘤的发生发展。研究发现,结肠癌靶基因 PI3K 信号中的亚单元 p85 $\beta$ ,其主要涉及细胞稳定和遗传方面,miRNA-126 通过调控 PI3K 来抑制肿瘤生长<sup>[12]</sup>。而 miRNA-126 的缺失在结肠癌患者中时常发生,这说明它的缺失是肿瘤发生的一个重要原因。Zhou 等<sup>[13]</sup>在近期研究中发现,胰岛素受体酪氨酸激酶活性与底物 1 (insulin receptor tyrosine kinase activity and substrate 1, IRS-1) 在多种肿瘤当中出现过表达,如乳腺癌、结肠癌等。生物信息学表明 IRS-1 的 3'-UTR 包含一个 miRNA-126 假定的结合位点。研究表明 IRS-1 在结肠癌中表达上调,促进肿瘤细胞生长。而上调 miRNA-126 可以部分通过 AKT 和 ERK1/2 途径降低靶蛋白 IRS-1 的表达,从而抑制结肠癌细胞的增殖、迁徙、侵袭和阻断细胞周期进程。这些发现都说明了 miRNA-126 通过对 IRS-1 的调节可以使肿瘤细胞的生长、增殖和分化方面得到控制。

在本实验中,我们通过对 ccRCC 患者手术切除标本中 miRNA-126 含量的检测,发现 miRNA-126 在癌组织中的表达低于癌旁组织。在对 ccRCC 标本按病理分级、临床分期进行分组后发现,miRNA-126 在病理分级高分化组、中分化组和低分化组中的表达差异无统计学意义( $P>0.05$ ),miRNA-126 的表达在不同临床分期之间差异也无统计学意义( $P>0.05$ )。在对体外模型细胞的培养中,miRNA-126 在人肾癌细胞株 786-O 的表达也低于人肾小管上皮细胞 HK-2 中的表达,这与 ccRCC 和癌旁组织表达的情况相吻合。在进一步对细胞株 786-O 进行成功转染,上调 miRNA-126 在细胞株中的表达后,MTT 实验发现 786-O 的细胞增殖明显被抑制,Transwell 实验提示细胞的侵袭能力下降,通过流式细胞仪检测,发现 miRNA-126 的过表达增加了凋亡的发生。

通过本实验的研究,我们发现了 miRNA-126 和人 ccRCC 组织,以及与病理分级、临床分期的关系,提示其与肾癌的发生、发展存在着密切的联系。通过对肾癌细胞株生物学行为的研究,我们发现调控 miRNA-126 的表达可以控制癌细胞的生长速度,降低其侵袭能力,并且能够促进其凋

亡,这为从基因水平治疗肾肿瘤提示了一条新的思路,对 miRNA-126 的调控有望成为肾癌的早期诊断和治疗的新基因靶点。随着现代分子生物学的发展,miRNA-126 在肾癌中的功能和作用机制将会更加明确,在今后肾肿瘤的基因诊断、治疗等方面将会实现更大的突破。

#### [参考文献]

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008 [J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300.
- 2 Nakanori F, Hiroshi H, Koji U, et al. Extracellular miR-224 as a prognostic marker for clear cell renal cell carcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8(66): 109877-109888.
- 3 Schanza L M, Seles M, Stotz M, et al. MicroRNAs Associated with Von Hippel-Lindau Pathway in Renal Cell Carcinoma: A Comprehensive Review [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11): 1-12.
- 4 Hansen T F, Christensen R D, Andersen R F, et al. MicroRNA-126 and epidermal growth factor-like domain 7-an angiogenic couple of importance in metastatic colorectal cancer. Result from the Nordic ACT trial [J]. Br J Cancer, 2013, 109(5): 1243-1251.
- 5 齐鹏, 王春亮, 尚攀峰. 自噬与肾癌治疗新进展. [J]. 临床泌尿外科杂志, 2017, 11(32): 896-902.
- 6 Matsuura K, Nakada C, Mashio M, et al. Downregulation of SAV1 plays a role in pathogenesis of high-grade clear cell renal cell carcinoma [J]. BMC Cancer, 2011, 11: 523.
- 7 Karakiewicz P I, Briganti A, Chun F K, et al. Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(11): 1316-1322.
- 8 Jiang Z, Chu P G, Woda B A, et al. Combination of quantitative IMP3 and tumor stage: a new system to predict metastasis for patients with localized renal cell carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(17): 5579-5584.
- 9 张金超, 王丹红. 转移性肾癌的临床治疗进展 [J]. 临床泌尿外科杂志, 2016, 31(6): 574-579.
- 10 Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing [J]. Cell, 2007, 129(7): 1401-1414.
- 11 李少君, 段建敏. miRNA-126 与肿瘤靶基因的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(7): 1150-1153.
- 12 Guo C, Sah J F, Beard L, et al. The noncoding RNA, miR-126, suppresses the growth of neoplastic cells by targeting phosphatidylinositol 3-kinase signaling and is frequently lost in colon cancers [J]. Genes Chromosomes Cancer, 2008, 47(11): 939-946.
- 13 Zhou Y, Feng X, Liu Y L, et al. Down-regulation of miR-126 is associated with colorectal cancer cells proliferation, migration and invasion by targeting IRS-1 via the AKT and ERK1/2 signaling pathways [J]. PLoS One, 2013, 8(11): e81203.

(收稿日期: 2016-07-21)