

• 论著-实验研究 •

miR-200a 靶向 β -catenin 对膀胱癌的上皮-间质转换影响的研究*

汤玉锐¹ 薛梦莉¹ 张冲¹ 韩兵¹ 熊言骏¹ 姚越¹ 汪盛¹

[摘要] 目的:探讨 miR-200a 靶向 β -catenin 对膀胱癌细胞上皮-间质转换(EMT)的影响。方法:TOP/FOP 闪光荧光素酶法鉴定 miR-200a 对 β -catenin 信号依赖性;使用荧光素酶法测定 miR-200a 对 β -catenin 编码基因 CTNNB1 的 3'非翻译区(3'-UTR)的靶向作用;划痕试验和 Transwell 检测 miR-200a 对膀胱癌细胞 5637 的细胞活力、转移和侵袭影响。Western blotting 确定 miR-200a 对 Wnt/ β -catenin 信号下游分子的效应。结果:miR-200a 可直接与 β -catenin 编码基因 CTNNB1 的 3'UTR 相互作用,并抑制 β -catenin 的表达。miR-200a 抑制了 5637 细胞的活力、转移和侵袭。结论:miR-200a 通过靶向 β -catenin 抑制了膀胱癌细胞 5637 的生物学功能。

[关键词] 膀胱癌;上皮-间质转换;miR-200a;Wnt/ β -catenin 信号通路

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.07.008

[中图分类号] R737.14 **[文献标志码]** A

Effect of microRNA-200a on epithelial-mesenchymal transition of bladder cancer cells through targeting β -catenin

TANG Yurui XUE Mengli ZHANG Chong HAN Bing XIONG Yanjun
YAO Yue WANG Sheng

(Department of Urology, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui, 233000, China)

Corresponding author: WANG Sheng, E-mail: bydoctorw@163.com

Abstract Objective: To determine the effect of miR-200a on the epithelial to mesenchymal transition (EMT) within bladder cancer cells. **Method:** TOP/FOP flash luciferase assays were employed to identify the effect of miR-200a on the β -catenin activity. A 3' untranslated region (3'-UTR) luciferase assay was used to determine the target genes of miR-200a. Assays of cell viability, invasion and wound healing were enabled functional analyses after miR-200a transfection. Western blotting was employed to determine downstream effects of mine proteins post miR-200a transfection. **Result:** Our data showed that miR-200a can directly interact with the 3'-UTR of β -catenin encoding gene CTNNB1 to suppress β -catenin expression. MiR-200a also suppressed the biological behaviors of 5637 cells, including cell viability, invasion and wound healing. **Conclusion:** MiR-200a suppresses biological function of bladder cancer 5637 cells via targeting-catenin.

Key words bladder cancer;epithelial-mesenchymal transition;miR-200a;Wnt/ β -catenin signaling pathway

膀胱癌及其相关的发病率和死亡率是全世界的一个重要健康问题^[1-2]。2016 年,膀胱癌在美国男性死亡中占据 4% 的比例^[1]。膀胱癌可分为非肌层浸润型膀胱癌(NMIBC)和肌层浸润型膀胱癌(MIBC)2 种。非肌层浸润型膀胱癌在膀胱癌中占比可达 75%,主要的治疗手段是膀胱肿瘤电切联合膀胱内灌注化疗,但这种膀胱癌的复发率很高,可以高达 50%~70%,并最终会有 10%~20% 的复发性肿瘤侵犯或转移到局部肌肉。肌层浸润型膀胱癌的治疗方案是手术+放化疗联合多模式治

疗,但预后很差,5 年生存率不足 50%^[3]。尽管膀胱癌的发病率和死亡率很高,但是其发病分子机制尚不明朗,目前尚无针对膀胱癌的靶向治疗被批准。膀胱癌的生存率在过去的 10 年中并没有明显提高。因此,探讨膀胱癌发生发展过程中的分子机制具有重要意义。

近年来,microrna 已成为分子生物学和遗传学的研究热点。作为一种已知的非蛋白编码小分子 RNA,已被多项研究证实与肿瘤细胞的增殖、凋亡或迁移等多种生物学功能有关^[4-7]。miR-200a 是 miR-200 家族中的一员,通过调控一些重要靶基因的表达,miR-200a 参与了多种肿瘤的发生发展。在卵巢癌中,miR-200a 通过调控 PCDH9 促进了卵

*基金项目:安徽省高校科研重点项目(No:KJ2015A280)
¹蚌埠医学院第一附属医院泌尿外科(安徽蚌埠,233000)
通信作者:汪盛,E-mail:bydoctorw@163.com

巢癌细胞增殖,集落形成和侵袭^[8]。miR-200a 也可以通过负调控 FOXA2 的表达促进子宫内膜癌细胞上皮-间质转换(EMT)^[9]。在胰腺癌细胞中过表达 miR-200a 可显著抑制胰腺癌细胞的增殖和转移,降低 β -catenin 的表达^[11]。Zeng 等^[12]发现 miR-200a 通过抑制其靶基因肝细胞生长因子(MET)和表皮生长因子受体(EGFR)的表达而抑制乳腺癌细胞的增殖。

EMT 是肿瘤发生中一个重要的病理进程,并伴有 E-cadherin(上皮细胞分子标记)下调以及 N-cadherin 和 Vimentin(间质细胞分子标记)上调。EMT 被认为是细胞黏附缺失进而促进肿瘤细胞的侵袭和转移的特征^[13-14]。随着人们对 miRNA 的研究逐渐加深,研究人员发现 miRNA 在 EMT 中起着重要的作用,一些 miRNA 可以促进 EMT 的发展,另一些则可以抑制或逆转 EMT 的进程^[15]。已有研究表明 miR-200a 与 EMT 有关,Zhao 等^[16]发现 lncRNA H19 过表达可以抑制 miR-200a 的表达,从而促进肺癌细胞生长、迁移和侵袭,并促进 EMT;Mirzaei 等^[17]发现在胃癌的 EMT 过程中,miR-200a 的表达与 EMT 标志物的表达水平呈显著负相关($P = 0.001$)。然而,miR-200a 在膀胱癌的 EMT 中的作用尚不清楚。在本研究中,我们发现在膀胱癌细胞中,miR-200a 可直接与 β -catenin 编码基因 CTNNB1 的 3'UTR 相互作用,并抑制 β -catenin 的表达;通过靶向 β -catenin 抑制了膀胱癌的 EMT。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 人膀胱癌细胞 5637 购自上海吉凯基因化学有限公司。

1.1.2 主要试剂 DMEM 细胞培养基购自 Gibco 公司,TRIzol 和 Lipofectamine 2000 试剂购自 Invitrogen 公司,miR-200a mimic、inhibitor、对照序列、PCR 扩增引物均由上海吉凯基因化学有限公司设计并合成,胎牛血清购自浙江天杭生物技术有限公司,MLLV 反转录试剂盒、TOPflash、FOPflash、pGL3 载体以及荧光素酶报告检测试剂盒购自 Promega 公司, β -catenin、ZEB1、ZEB2、E-cadherin、N-cadherin、Tcf-4、MMP-9、Cyclin D1 和 GAPDH 抗体购自 CST 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 人膀胱癌细胞 5637 用含 10% 的胎牛血清的 DMEM 培养基在 37℃ 和 5% CO₂ 的条件下培养。本研究所用序列如下:阴性对照正向序列 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3',反向序列 5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT-3';miR-200a mimic 正向序列 5'-

UAA CAC UGU CUG GUA ACG AUG U-3',反向序列 5'-AUC GUU ACC AGA CAG UGU UAU U-3';miR-200a inhibitor 正向序列 5'-ACA UCG UUA CCA GAC AGU GUU A-3',反向序列 5'-CAG UAC UUU UGU GUA GUA CAA-3'。细胞培养在 6 孔板,接种密度为 1×10^5 个细胞/孔,转染用 Lipofectamine 2000 试剂根据产品说明书进行。上述各种序列转染细胞 48 h 后用于提取总 RNA。

1.2.2 实时定量 PCR(qPCR) TRIzol[®] 提取总 RNA,以总 RNA 为模板,用 MMLV 反转录酶按照产品说明书进行 cDNA 反转录。qPCR 反应条件:95℃ 5 min,95℃ 15 s,60℃ 30 s,退火温度每个循环升高 0.2℃ 直至升至 95℃。U6 作为 qPCR 内参。

1.2.3 载体构建 用 TOPflash 和 FOPflash 报告系统作为评估 β -catenin 依赖的信号检测。将编码 β -catenin 的 CTNNB1 基因(GeneID 1499)的含 miR-200a 结合位点的野生型和突变型 3'非编码区(3'-UTRs)插入到 pGL3 载体,并分别命名为 pGL3-CTNNB1 和 pGL3-CTNNB1-mt。

1.2.4 荧光素酶报告 试验细胞(1×10^5 个/孔)接种于 6 孔板并培养 24 h。根据 Lipofectamine 2000 试剂盒说明书用 miR-200a mimic/inhibitor 转染细胞。转染 48 h 用荧光素酶报告系统检测荧光素酶活性。

1.2.5 Western blotting 细胞用预冷的 PBS 洗涤 3 次,裂解缓冲液裂解 30 min,4℃ $12\ 000 \times g$ 离心 10 min 后取上清液。BCA 蛋白定量试剂盒对样本进行定量后,按 20 μ g 总蛋白/样品的量用 SDS-PAGE 分离并转膜到 PVDF 膜上。膜分别用 β -catenin、ZEB1、ZEB2、E-cadherin、N-cadherin、Tcf-4、MMP-9、Cyclin D1 或 GAPDH 一抗(稀释比例为 1 : 1 000)进行 4℃ 孵育过夜,TBST 洗膜 3~5 次,用 HRP 标记的 IgG 二抗室温孵育 1 h,ECL 显色试剂盒进行显色。

1.2.6 划痕试验 细胞转染 24 h 后,将 1×10^5 的 5637 细胞接种于新的 6 孔板并培养至细胞融合度约 90%。用细胞推棒在单层细胞上制作人工划痕,并用 PBS 洗去细胞残片。分别在 0 h 和 24 h 观察划痕区域细胞迁移的情况。

1.2.7 迁移试验 将基质胶和 DMEM 按 1 : 2 的比例配制 60 mL 加入上方的 Transwell 小室 37℃ 孵育 30 min。将 100 μ L 用 DMEM 调整的转染细胞(5×10^5 /mL)加入到基质胶上。下方小室加入 600 μ L 趋化液。将 Transwell 板置于 5% CO₂ 细胞培养箱 37℃ 培养 24 h。细胞用结晶紫染色 3 min,PBS 洗涤细胞,将染色细胞光镜下进行计

数,取 5 个视野的细胞数均值。

1.2.8 MTT 试验 按 2000 细胞/孔的量将细胞接种于 96 孔板,转染前用 20 μ L MTT 溶液(5 mg/mL)进行共孵育 24 h。转染 4 h 后,37 $^{\circ}$ C 分别在 24、48、72、96、120 h,弃去培养液,PBS 洗涤 3~5 次,每孔加入 200 μ L DMSO。570 nm 读取光密度值。

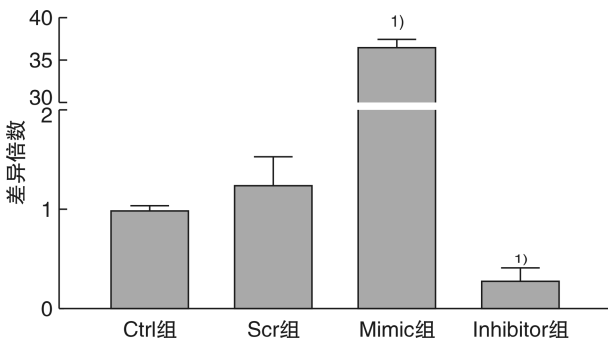
1.3 统计学方法

应用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多重比较采用单因素方差分析(ANOVA),两两比较采用 LSD 或 Tamhane's 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染后 miR-200a 的表达

将对照序列、miR-200a mimic 或 inhibitor 转染 5637 细胞 48 h 检测 miR-200a 表达发现,miR-200a mimic 处理的细胞,miR-200a 表达水平上调约 36 倍。相反,与对照序列组(Scr 组)相比,用 miR-200a inhibitor 转染的细胞中 miR-200a 的表达则降低了约 70%;Scr 组和对照组(Ctrl 组)的 miR-200a 表达比较差异无统计学意义。见图 1。



与 Scr 组比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。

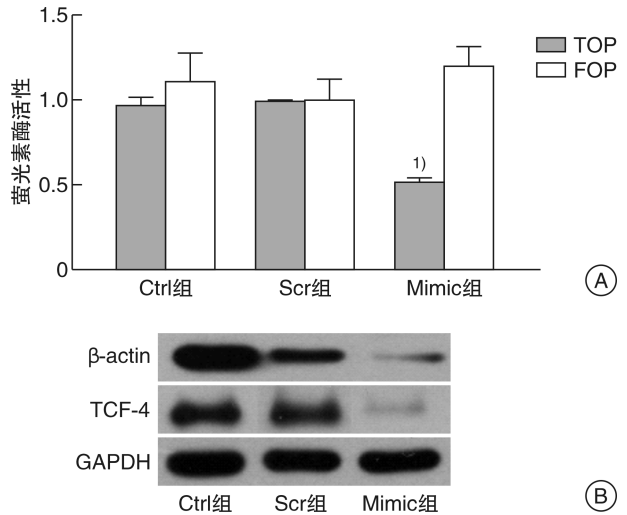
图 1 各种处理后 miR-200a 在 5637 细胞中的表达

2.2 miR-200a 过表达降低了 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性

本研究我们使用 TOPflash 和 FOPflash 报告子来确定 miR-200a 表达与 5637 细胞中 Wnt/ β -catenin 信号间的关系。结果如图 2A 所示,miR-200a 上调导致 Wnt/ β -catenin 信号抑制。Western blotting 分析还显示,miR-200a 过表达抑制了 β -catenin 和 TCF-4 蛋白的表达水平(图 2B)。在使用 miR-200a 抑制剂敲低 5637 细胞中 miR-200a 的表达后,荧光素酶(图 3A)和 Western blotting(图 3B)结果均表明 Wnt/ β -catenin 信号与 miR-200a 的水平负相关。Ctrl 组与 Scr 组比较差异无统计学意义。

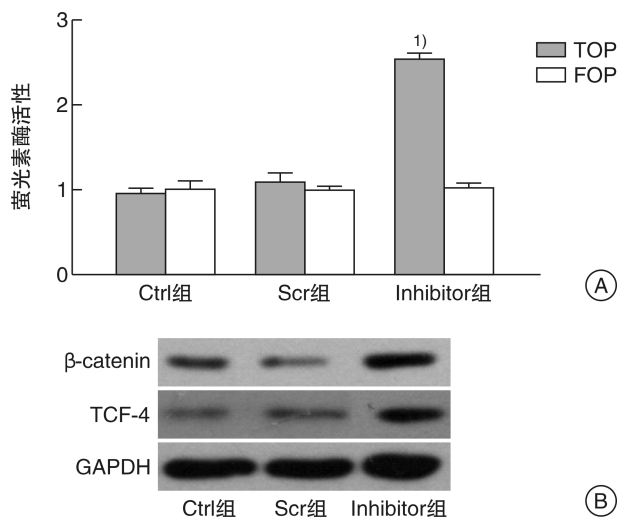
miR-200a 对 Wnt/ β -catenin 信号的影响如何调节了 Wnt/ β -catenin 信号下游分子 MMP9 和

Cyclin D1 的水平,我们通过 Western blotting 进行了检测。结果显示,miR-200a 过表达下调了 MMP9 和 Cyclin D1 的水平,而 miR-200a 抑制则增加了它们的表达(图 4)。Ctrl 组与 Scr 组比较差异无统计学意义。



A: 荧光素酶报告子试验检测 β -catenin TCF/LEF 启动子活性;B: Western blotting 检测 β -catenin 和 TCF-4 的表达。与 Scr 组比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 2 miR-200a 过表达抑制了 5637 细胞中 Wnt/ β -catenin 信号的活性



A: 荧光素酶报告子试验检测 β -catenin TCF/LEF 启动子活性;B: Western blotting 检测 β -catenin 和 TCF-4 的表达。与 Scr 组比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 3 miR-200a 抑制增强了 5637 细胞中 Wnt/ β -catenin 信号的活性

2.3 miR-200a 对肿瘤细胞活性的调节。

为了研究 miR-200a 对 Wnt/ β -catenin 信号抑制的功能结果,我们分析了 miR-200a 对 5637 细胞的迁移、侵袭和增殖能力。结果表明,在 Mimic 组

迁移(图 5A)和侵袭(图 5B,C)的细胞数明显少于 Ctrl 组和 Scr 组($P < 0.01$),而 Inhibitor 组则显著增多($P < 0.01$)。这些结果表明,miR-200a 的过表达抑制了膀胱癌细胞的迁移和侵袭能力,而 miR-200a 的低表达则具有相反的作用。使用 MTT 法测量各组细胞的增殖率结果表明,miR-200a Mimic 组显著低于其他各组(图 6)。Ctrl 组与 Scr 组比较差异无统计学意义。

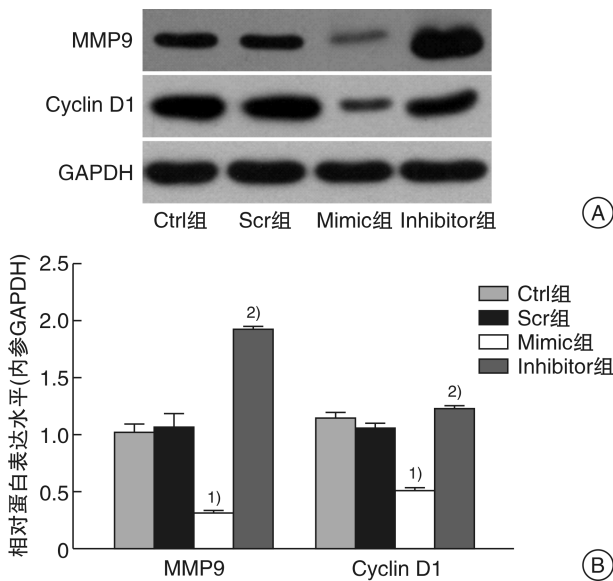
2.4 miR-200a 靶向有效性

为了确定内源性 miR-200a 是否可以靶向 β -catenin 的编码基因 CTNNB1 的 3'UTR,我们将 pGL3-CTNNB1 和 pGL3-CTNNB1-mt 转染到 miR-200a mimic 或 inhibitor 处理的 5637 细胞中。结果表明,miR-200a 的过表达显著降低了荧光素酶活性。相反,miR-200a 的下调增强了荧光素酶活性(图 7A)。qPCR 进一步验证了 miR-200a mimic 下调了 β -catenin 的表达(图 7B)。

2.5 miR-200a 表达升高抑制了 5637 细胞的 EMT

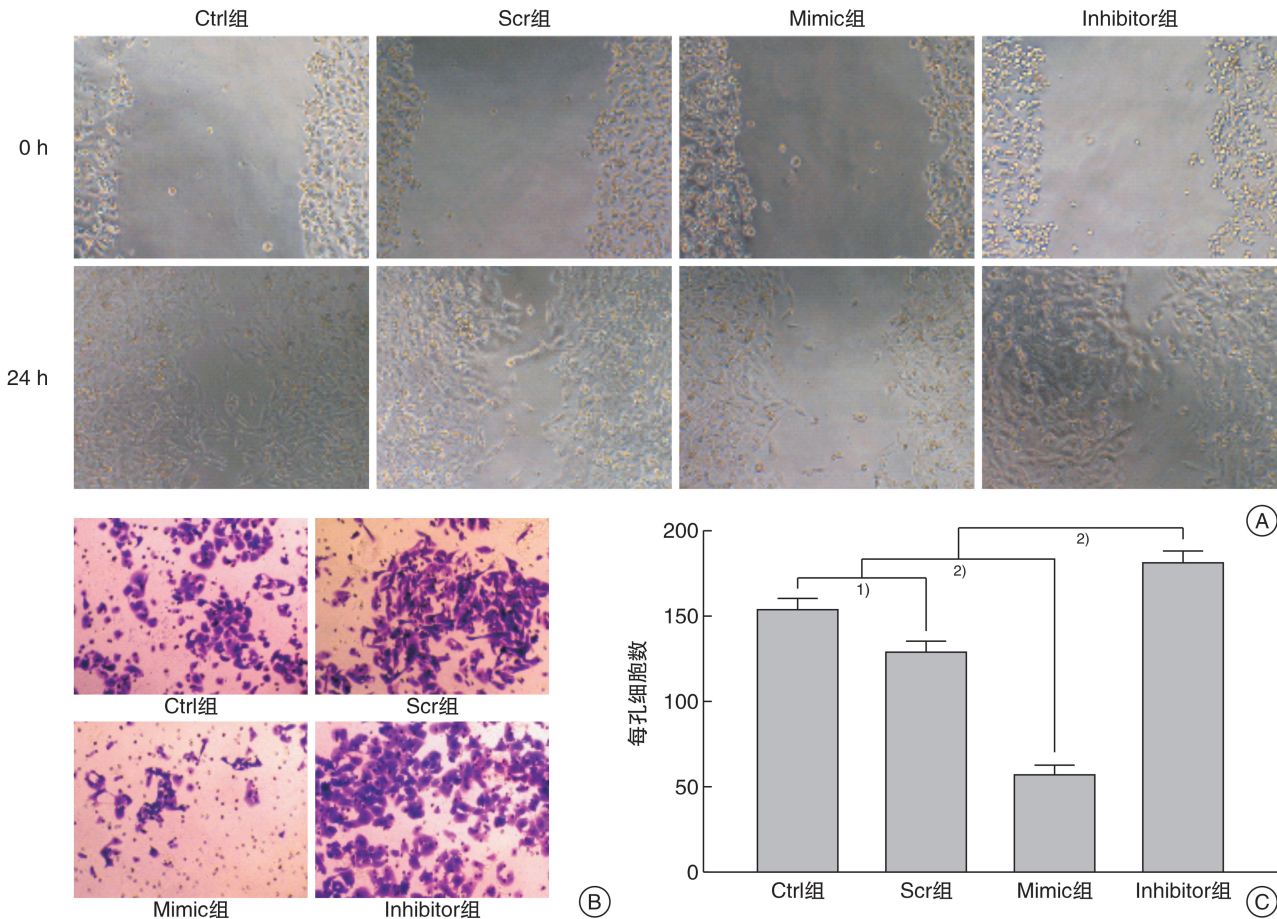
为了确定膀胱癌细胞的 EMT 是否受 miR-200a 的影响,我们用 miR-200a mimic 转染 5637 细胞并用 qPCR 分析检测了 ZEB1、ZEB2、E-cadherin 和 N-cadherin 的表达。数据显示 miR-200a 过表

达诱导了 ZEB1、ZEB2 和 N-cadherin 下调,同时上调了 E-cadherin(图 8)。



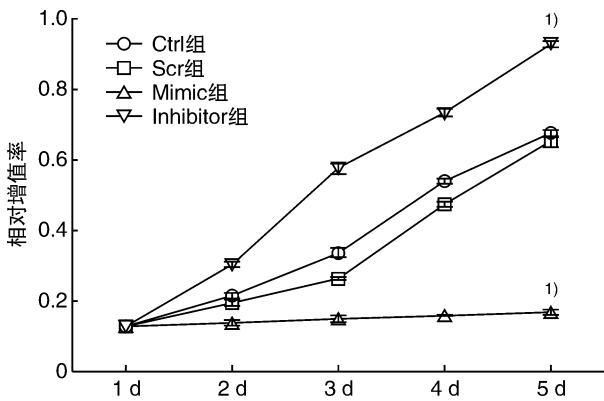
A: Western blotting 分析了 MMP9 和 Cyclin D1 的表达;B: MMP9 和 Cyclin D1 的相对表达水平。Mimic 组与 Scr 组比较,¹⁾ $P < 0.01$;Inhibitor 组与 Scr 组比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 4 miR-200a 过表达或抑制对 Wnt/ β -catenin 信号下游分子 MMP9 和 Cyclin D1 表达的影响



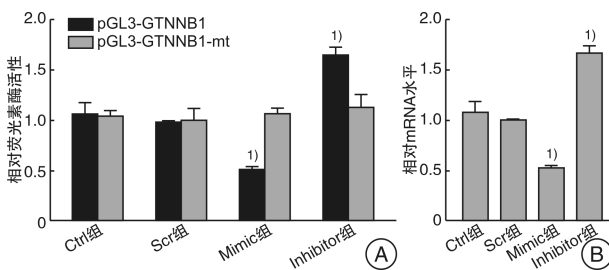
A: 划痕实验代表图;B: Transwell 代表图;C: 来自图 B 中的每孔细胞数。¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 5 miR-200a 抑制了 5637 细胞的迁移和侵袭



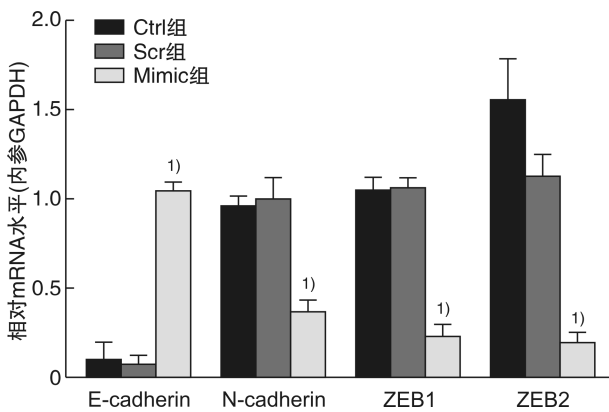
与 Scr 组比较, ¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 6 miR-200a 对细胞增殖的影响



A: 荧光素酶报告系统试验; B: qPCR 分析。与 Scr 组比较, ¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 7 miR-200a 对 CTNNB1 3'-UTR 靶向分析



与 Scr 组比较, ¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 8 miR-200a 过表达对 EMT 相关基因表达的影响

3 讨论

本研究中,我们证明了 miR-200a 可以抑制 5637 细胞中的 Wnt/ β -catenin 信号。此外,结果也显示了 miR-200a 如何通过与 CTNNB1 的 3'UTR 结合以及与 E-cadherin 和 N-cadherin 相互作用来调节 β -catenin 的表达。此外,我们还发现 miR-200a 也影响了 5637 细胞的迁移和侵袭。

Wnt/ β -catenin 信号通路在癌细胞的增殖、侵袭和迁移中起着重要的作用^[18]。多种恶性肿瘤均

伴有 Wnt/ β -catenin 信号通路表达失调^[19-21]。大量研究证实,Wnt/ β -catenin 信号通路在膀胱癌中发挥着重要作用并与多种 miRNA 联系密切。Garg 等^[22]的研究表明 Wnt/ β -catenin 信号参与膀胱癌进展,Wnt/ β -catenin 信号的激活促进了膀胱肿瘤的生长和转移。Feng 等^[23]发现通过调节 miR-98/stat3/Wnt/ β -catenin 途径轴, lncR-NASNHG16 促进了膀胱癌的发生发展。Tian 等^[24]发现 miR621 可以通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制膀胱癌细胞增殖和转移。我们的结果显示,miR-200a 过表达通过下调 β -catenin 表达来抑制 Wnt/ β -catenin 信号活性。此外,我们还发现 miR-200a 调节 Wnt/ β -catenin 信号的下游分子包括 Cyclin D1 和 MMP9 的表达。这与其他人的结果一致,即 miR-200a 通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号影响了肿瘤的 EMT^[9-12]。

我们还证明 miR-200a 上调增强了 5637 细胞中 E-cadherin 的表达,同时抑制了 ZEB1、ZEB2 和 N-cadherin 的水平。ZEB1 和 ZEB2 是抑制 E-cadherin 转录并触发 EMT 的转录因子^[25]。陈庭等^[26]发现 ZEB1 在正常膀胱上皮细胞系 SV-HUC-1 不表达,而在膀胱癌细胞系 UM-UC3 和 5637 中均有表达,并且膀胱癌恶性程度越高,ZEB1 的表达水平越高。E-钙粘蛋白是一种侵袭抑制蛋白,对细胞黏附和束缚至关重要。在 EMT 期间,异位表达 ZEB1 和 ZEB2 切断了 E-cadherin 介导的细胞黏附,使细胞易于发生 EMT 表型,如诱导 N-cadherin 表达和释放 β -catenin^[27]。TOPflash 试验进一步证实 miR-200a 的表达与 Wnt/ β -catenin 信号活性间存在强相关性。

在这项研究中,我们也应该注意可能的局限性。首先,我们的研究中仅使用 5637 这一种膀胱癌细胞,并未对其他的膀胱癌细胞进行实验,进一步的研究可能会使用其他的膀胱癌细胞加以验证,以证实目前的发现。关于 miR-200a 的机制作用方面,有可能靶向 β -catenin 对膀胱癌细胞的 EMT 只是其中的一种机制,miR-200a 是否存在另外的机制,这可能需要进行进一步的研究。miR-200a 是否能作为膀胱癌的预后标志物,可能需要在未来的研究中获得膀胱癌患者的总体生存数据。

综上所述,本研究首次阐述了 miR-200a 在膀胱癌的 EMT 中的作用。结果显示 miR-200a 抑制了膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。并且通过靶向 β -catenin 调节了 5637 细胞中 Wnt/ β -catenin 信号活性。诱导 miR-200a 的上调表达可抑制其 EMT,我们的研究提出了一种新的 miR-200a 在膀胱癌中的抑癌作用,这可能是一种潜在的膀胱癌治疗方向,但其详细机制有待进一步阐明。

[参考文献]

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1):7-30.
- 2 Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends [J]. *Eur Urol*, 2017, 71(1):96-108.
- 3 Bellmunt J, The BT, Tortora G, et al. Molecular targets on the horizon for kidney and urothelial cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(10):557-570.
- 4 Zhao H, Lai X, Zhang W, et al. MiR-30a-5p frequently downregulated in prostate cancer inhibits cell proliferation via targeting PCLAF [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1):278-289.
- 5 Zhou T, Chen S, Mao X. MiR-145-5p affects the differentiation of gastric cancer by targeting KLF5 directly [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):7634-7644.
- 6 Liu X, Min S, Wu N, et al. MiR-193a-3p inhibition of the Slug activator PAK4 suppresses non-small cell lung cancer aggressiveness via the p53/Slug/L1CAM pathway [J]. *Cancer Lett*, 2019, 447(undefined):56-65.
- 7 Huang H, Wang YX, Lin Q, et al. MiR-140-3p functions as a tumor suppressor in squamous cell lung cancer by regulating BRD9 [J]. *Cancer Lett*, 2019, 446(undefined):81-89.
- 8 Zheng YF, Luo J, Gan GL, et al. Overexpression of microRNA-98 inhibits cell proliferation and promotes cell apoptosis via claudin-1 in human colorectal carcinoma [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4):6090-6105.
- 9 Shi C, Yang Y, Zhang L, et al. MiR-200a-3p promoted the malignant behaviors of ovarian cancer cells through regulating PCDH9 [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12(undefined):8329-8338.
- 10 Shi W, Wang X, Ruan L, et al. MiR-200a promotes epithelial-mesenchymal transition of endometrial cancer cells by negatively regulating FOXA2 expression [J]. *Pharmazie*, 2017, 72(11):694-699.
- 11 Hu B, Qiu H, Lei R, et al. Interleukin-9 Promotes Pancreatic Cancer Cells Proliferation and Migration via the miR-200a/Beta-Catenin Axis [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017(undefined):1-9.
- 12 Zeng X, Qu X, Zhao C, et al. ViaFEN1 mediates miR-200a methylation and promotes breast cancer cell growth MET and EGFR signaling [J]. *FASEBJ*, 2019, 33(10):10717-10730.
- 13 Santamaria PG, Moreno-Bueno G, Portillo F, et al. EMT: Present and future in clinical oncology [J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(7):718-738.
- 14 Expósito-Villén A, E Aránega A, Franco D. Functional Role of Non-Coding RNAs during Epithelial-To-Mesenchymal Transition [J]. *Noncoding RNA*, 2018, 4(2):14.
- 15 杨玉帛,冯德超,王晓明,等. 膀胱癌上皮间质转化的研究进展 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2018, 33(11):919-924,928.
- 16 Zhao Y, Feng C, Li Y, et al. LncRNA H19 promotes lung cancer proliferation and metastasis by inhibiting miR-200a function [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 460(undefined):1-8.
- 17 Mirzaei S, Baghaei K, Parivar K, et al. The expression level changes of microRNAs 200a/205 in the development of invasive properties in gastric cancer cells through epithelial-mesenchymal transition [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 857(undefined):1724-1726.
- 18 Krishnamurthy N, Kurzrock R. Targeting the Wnt/ β -catenin pathway in cancer: update on effectors and inhibitors [J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 62(undefined):50-60.
- 19 Chen T, Lin J, Tang D, et al. Paris saponin H suppresses human hepatocellular carcinoma (HCC) by inactivation of Wnt/ β -catenin pathway in vitro and in vivo [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(8):2875-2886.
- 20 Qu T, Zhao Y, Chen Y, et al. Down-regulated MAC30 expression inhibits breast cancer cell invasion and EMT by suppressing Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(5):1888-1896.
- 21 Fu Q, Sun Z, Yang F, et al. SOX30, a target gene of miR-653-5p, represses the proliferation and invasion of prostate cancer cells through inhibition of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24(1):71.
- 22 Garg M, Maurya N. WNT/ β -catenin signaling in urothelial carcinoma of bladder [J]. *World J Nephrol*, 2019, 8(5):83-94.
- 23 Feng F, Chen A, Huang J, et al. Long noncoding RNA SNHG16 contributes to the development of bladder cancer via regulating miR-98/STAT3/Wnt/ β -catenin pathway axis [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11):9408-9418.
- 24 Tian H, Wang X, Lu J, et al. MicroRNA-621 inhibits cell proliferation and metastasis in bladder cancer by suppressing Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 308(undefined):244-251.
- 25 Shu C, Yan D, Mo Y, et al. Long noncoding RNA lncARSR promotes epithelial ovarian cancer cell proliferation and invasion by association with HuR and miR-200 family [J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(6):981-992.
- 26 陈庭,潘鹏,张艳敏,等. 锌指 E-盒结合同源异形盒-1 在膀胱癌细胞中的表达及对肿瘤细胞侵袭的影响 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2018, 33(2):132-136.
- 27 Davalos V, Moutinho C, Villanueva A, et al. Dynamic epigenetic regulation of the microRNA-200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis [J]. *Oncogene*, 2012, 31(16):2062-2074.