四川大学学报(医学版) 2016，47(5)：697－702
J Sichuan Univ (Med Sci Edi)

MiR-218在宫颈癌组织中的表达及对HeLa细胞凋亡及转移的影响*

石玉荣[1,2]，刘 健[3]，贺 伟[4]，杨 滢[1]

1.蚌埠医学院 生物化学与分子生物学教研室(蚌埠 233000)；2.蚌埠医学院 检验诊断学实验中心(蚌埠 233000)；
3.蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤外科(蚌埠 233000)；4.蚌埠市交通医院 麻醉科(蚌埠 233000)

【摘要】 **目的** 探讨miR-218在宫颈癌组织中的表达，以及对宫颈癌HeLa细胞凋亡及迁移的影响。**方法** 采用qRT-PCR检测23例正常子宫颈组织和114例宫颈癌组织中*miR*-218 mRNA的表达，分析与临床病理特征的关系；HeLa细胞分为3组：对照组(细胞不转染)、转染空脂质体阴性对照组(NC组)和 转染miR-218类似物(miR-218M组)。MTT检测细胞增殖；流式检测细胞凋亡；划痕实验和Transwell实验检测细胞迁移；qRT-PCR和Western blot分别检测*Bcl*-2、*Bax*、*NF-κB*和E-cadherin mRNA和蛋白表达。**结果** *MiR*-218 mRNA在宫颈癌组织中表达下调，在宫颈癌不同病理类型、分期分级、有无淋巴结转移及间质浸润深度间表达差异有统计学意义($P<0.01$)；采用miR-218类似物转染宫颈癌HeLa细胞，细胞增殖减少，凋亡增加，侵袭转移能力减弱。qRT-PCR和Western blot检测结果显示，转染miR-218类似物，HeLa细胞*Bcl*-2 mRNA和蛋白表达水平下调，而*Bax* mRNA和蛋白表达水平上调，E-cadherin mRNA和蛋白表达上调，*NF-κB* mRNA和蛋白表达下调。**结论** MiR-218低表达可能与宫颈癌的病理分级分期等生物学行为有关，上调miR-218表达可抑制细胞增殖，促进细胞凋亡，抑制细胞侵袭转移。

【关键词】 MiR-218 宫颈癌 增殖 凋亡 转移

Expression of Micro-RNA 218 in Cervical Cancer and Its Effect on Proliferation, Apoptosis and Invasion of HeLa Cells

SHI Yu-rong[1,2], *LIU Jian*[3], *HE Wei*[4], *YANG Ying*[1]. 1. *Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bengbu Medical College*, Bengbu 233000, China; 2. *Research Center of Clinical Diagnostics Laboratory, Bengbu Medical College*, Bengbu 233000, China; 3. *Department of Oncological Surgery, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College*, Bengbu 233000, China; 4. *Department of Anesthesiology of Bengbu Jiao Tong Hospital*, Bengbu 233000, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression and clinical significance of microRNA-218 (miR-218) in human cervical cancer and the effects of *miR*-218 on proliferation, cell apoptosis and invasion of HeLa cells. **Methods** QRT-PCR was used to detect the expression of *miR*-218 in 23 cases of normal cervical tissues and 114 cases of cervical cancer, and the relationship between the expression and the clinicopathological features was analyzed; HeLa cells were devided into three groups: non transfection (control group), transfected with empty liposomes negative control goup (NC group), transfected with miR-218 mimic (miR-218M group). The cell growth inhibiting ratio of HeLa cells was assessed by MTT assay. Fluorescence activated cell sorting was used to measure cell apoptosis. Changes of cell migration ability were detected by wound healing test and Transwell assay. QRT-PCR and Western blot were used to detect the expression of Bcl-2, Bax, NF-κB and E-cadherin, respectively. **Results** The expression of *miR*-218 in cervical cancer was down regulated, and there were significant differences in the different pathological types, stages, lymph node metastasis and interstitial infiltration in cervical cancer tissues ($P<0.01$); After being transfected with miR-218 mimic, the proliferation of HeLa cells was significantly inhibited. The ability of invasion was decreased. QRT-PCR and Western blot showed that after being transfected with miR-218 mimic, the expression levels of *Bcl*-2 mRNA and protein were down-regulated and *Bax* mRNA and protein expression levels were increased, E-cadherin mRNA and protein expression were up-regulated, but *NF-κB* mRNA and protein expression were down-regulated. **Conclusion** The low-expression of miR-218 is correlated with the poor clinicopathological features in human cervical cancer. MiR-218 overexpression reduces cancer cell proliferation and induces apoptosis and inhibits cell migration, suggesting that miR-218 may play a key role in the progression of human cervical cancer.

【Key words】 MicroRNA-218 Cervical cancer Proliferation Apoptosis Migration

宫颈癌是妇科易发的恶性肿瘤，严重威胁女性的健康与生命，近年来宫颈癌的发病有年轻化的倾

* 安徽省自然科学基金(No. KJ2014A162)资助

向。宫颈癌的主要特点是局部蔓延,部分宫颈癌患者早期有侵袭转移,导致宫颈癌预后较差,5年生存率仅有30%~60%[1]。因此,研究宫颈癌侵袭转移机制,对宫颈癌临床治疗、提高宫颈癌患者的生存率和生存质量具有重大意义。近年来文献报道,在人类肿瘤中,microRNAs (miRNAs)有异常表达,对肿瘤的发生发展具有重要的调节作用[2-4]。本研究以宫颈癌组织和宫颈癌 HeLa 细胞为研究对象,探讨 microRNA-218(miR-218)在宫颈癌组织中的表达,及其对宫颈癌 HeLa 细胞增殖、凋亡和侵袭的影响,以期为宫颈癌的临床治疗与预后判断提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

宫颈癌组织标本为蚌埠医学院第一附属医院2012年1月至2014年11月病理诊断明确、手术切除的114例患者宫颈癌组织,组织标本采集前均未接受化疗或放疗,并以其它病因手术切除的23例正常子宫颈组织为对照。收集宫颈癌患者临床病理资料。人子宫颈腺癌 HeLa 细胞为本实验室冻存。

主要试剂:RPMI1640 培养基为 Gibco 公司产品;MTT 购自 Sigma 公司;Anti-Bcl-2、Anti-Bax、Anti-E-cadherin 和 Anti-NF-κB,购自 Santa Cruz 公司;TRIzol 购自 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒和 PCR 试剂盒购自 Promega 公司;ECL 化学发光试剂购自 Thermo 公司;MiR-218 类似物(miR-218 mimic)购自 Ambion 公司;Lipofectamine™2000 转染试剂购自美国 Invitrogen 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 *实时定量 PCR(qRT-PCR)检测宫颈组织中 miR-218 mRNA 的表达* 按照 TRIzol RNA 提取试剂盒说明,提取宫颈组织中总 mRNA,mRNA 经纯化后,逆转录得到 cDNA,然后采用 ABI 7900 Real-time PCR 仪进行基因片段扩增。PCR 引物由上海生工生物工程技术服务公司合成。反应条件(94 ℃预变性,3 min ,然后 94 ℃ 30 s,59 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,共35个循环。用 *GAPDH* 基因作为内参,以目的基因 Ct 值减去内参照 Ct 值为 ΔCt,最终以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值计算 *miR*-218 mRNA 的相对表达量。

1.2.2 *细胞培养与分组* HeLa 细胞置37 ℃、体积分数5% CO_2 饱和湿度,用含有10% FBS 的 RPMI1640 培养基培养,HeLa 细胞呈单纯贴壁生长。待细胞汇合度达80%~90%,用0.25%胰酶消化细胞并传代培养,取对数生长期 HeLa 细胞用于实验。转染前1 d 将细胞接种于6孔板中,待贴壁细胞融合度达40%~60%时,根据 Lipofectamine™ 2000 说明书用无血清培养基进行转染。转染后6 h 换新鲜完全培养基,继续扩大培养以用于后续实验。实验分3组:对照组(细胞不转染加入完全培养基)、转染空脂质体阴性对照组(NC 组)和转染 miR-218 类似物组(miR-218M 组)。

1.2.3 *细胞存活数目检测* 3组子宫颈腺癌 HeLa 细胞培养72 h 后用0.04% 台盼蓝染色,光镜下计数活细胞数(其中着色细胞为死细胞),每个样品计数3次。

1.2.4 *MTT 检测细胞活力* 取对数生长期 HeLa 细胞,调整细胞浓度为 3×10^5 mL^{-1},接种于96孔板,待细胞贴壁过夜后,分3组进行实验。置37 ℃、体积分数5% CO_2 培养72 h,每孔加 MTT 试剂(5 g/L) 20 μL,继续培养4 h 后,弃上清,每孔加 DMSO 150 μL,避光振荡后,酶标仪检测各孔吸光度(*A*)值,计算细胞活力抑制率。

细胞活力抑制率(%)=$(1-A_{实验组}/A_{对照组})\times100\%$

1.2.5 *细胞凋亡检测* 3组 HeLa 细胞培养72 h 后,收集 $2\times10^5\sim5\times10^5$ 细胞。加入 Binding Buffer 液500 μL 悬浮细胞,加入 Annexin Ⅴ-FITC 5 μL,混匀,加 Propidium Iodide 5 μL。室温避光反应10~15 min,上机检测细胞凋亡。

1.2.6 *划痕实验检测细胞迁移率* 3组细胞分别接种于预先做好划痕标记的6孔细胞培养板,置培养箱中培养24 h。取干净无菌枪头,沿做好的标记,垂直于孔板,进行划痕,并尽量保证各个划痕宽度一致。吸去细胞培养液,用 PBS 清洗3次,去除划痕产生的细胞碎片,加无血清培养基,置倒置显微镜下观察,拍照。继续培养24 h,PBS 清洗2次,倒置显微镜观察拍照,统计细胞的迁移率。重复3次。

1.2.7 *Transwell 检测细胞的迁移* 分别取3组对数生长期 HeLa 细胞,调整细胞密度至 5×10^5 mL^{-1},取100 μL 细胞悬液加入 Transwell 小室。将 Transwell 小室放入24孔培养板中,并加入500 μL 20% 的血清培养基,培养24 h 后,取出 Transwell 小室,弃去孔中培养液,PBS 洗涤2次,甲醛固定30 min,1% 结晶紫染液染色20 min,用棉签轻轻擦去上层未迁移细胞,PBS 洗涤2次,400倍显微镜下随机观察5个视野,观察细胞计数。每组重复3次。

1.2.8　Western blot 检测 miR-218 对 HeLa 细胞 Bcl-2、Bax、E-cadherin 和 NF-κB 蛋白表达的影响　各组细胞培养 72 h 后收集细胞，加入细胞裂解液，提取各组细胞蛋白样本，根据蛋白质的二喹啉甲酸法（BCA 法）定量。

取等量蛋白样品，上样、电泳、转膜，封闭后分别加入 Bcl-2、Bax、E-cadherin 和 NF-κB 一抗，4 ℃孵育过夜，TBST 脱色，加二抗 IgG，ECL 化学发光试剂，X 线片曝光、定影、显影，最后采用化学发光法检测目的条带，用凝胶成像仪拍照并测定各显色条带的灰度值。以各组目的蛋白与 GAPDH 灰度的比值为目的蛋白表达的相对含量。

1.2.9　QRT-PCR 检测 miR-218 对 HeLa 细胞 *Bcl-2*、*Bax*、E-cadherin 和 *NF-κB* 基因表达的影响　3 组宫颈癌 HeLa 细胞培养 72 h 后，收集细胞，提取细胞总 mRNA，PCR 引物均由上海生工生物工程技术服务公司合成。各基因预变性条件均为 95 ℃，5 min，变性条件 95 ℃ 30 s，退火温度依次为：58 ℃、58 ℃、60 ℃、57 ℃，延伸条件为 72 ℃ 34 s，40 个循环反应。按 1.2.1 方法计算各基因的相对表达。

1.3　统计学方法

计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用 t 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　宫颈癌组织中 *miR*-218 的表达及与临床病理特征的关系

MiR-218 在宫颈癌中的表达较宫颈正常组织下降，差异有统计学意义（$P<0.01$）。*MiR*-218 在宫颈癌不同病理类型、FIGO 分期、有无淋巴结转移及间质浸润深度间的表达差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 1。

2.2　MiR-218 对 HeLa 细胞生长的影响

MTT 检测结果（表 2）显示，miR-218M 组 HeLa 细胞生长抑制作用明显，与对照组和阴性对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.01$）。

2.3　MiR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响

由图 1 可见，转染 miR-218 类似物能显著诱导细胞凋亡。与空白对照组和阴性对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.01$）。

2.4　MiR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞侵袭转移作用的影响

结果显示（图 2）：划痕 24 h 后，两对照组细胞向中间移动明显，空白区域明显变窄，转染 miR-218 类似物组 HeLa 细胞向中间移动距离明显缩短，与两对照组比较差异有统计学意义（$P<0.01$）。

表 1　MiR-218 在不同临床病理特征宫颈癌组织中的表达（$2^{-\Delta\Delta Ct}$）

Table 1　Expression of miR-218 in cervical cancer tissues with different clinicopathological features（$2^{-\Delta\Delta Ct}$）

Clinicopathological feature	n	Relative expression	P
Normal tissue	23	0.63±0.12	0.000 0
Cervical cancer tissue	114	0.34±0.15	
Pathological type			0.000 1
Squamous carcinoma	83	0.37±0.10	
Glandular cancer	33	0.29±0.07	
Lymph node transfers			0.000 0
No	48	0.44±0.12	
Yes	66	0.31±0.14	
FIGO stage			0.002 5
Ⅰ/Ⅱ	51	0.38±0.09	
Ⅲ/Ⅳ	63	0.31±0.10	
Tumor diameter			0.094 9
<4 cm	69	0.37±0.08	
≥4 cm	45	0.34±0.11	
Depth of stromal invasion			0.008 8
<2/3	61	0.36±0.09	
≥2/3	53	0.31±0.11	

表 2　MiR-218 对 HeLa 细胞生长的影响

Table 2　Effects of miR-218 on the growth of HeLa cells

Group	A_{553} value	Inhibition ratio/%
Control	0.486±0.043	0
NC	0.472±0.061	2.88
MiR-218M	0.354±0.054*	27.2*

* $P<0.01$, vs. control and NC groups

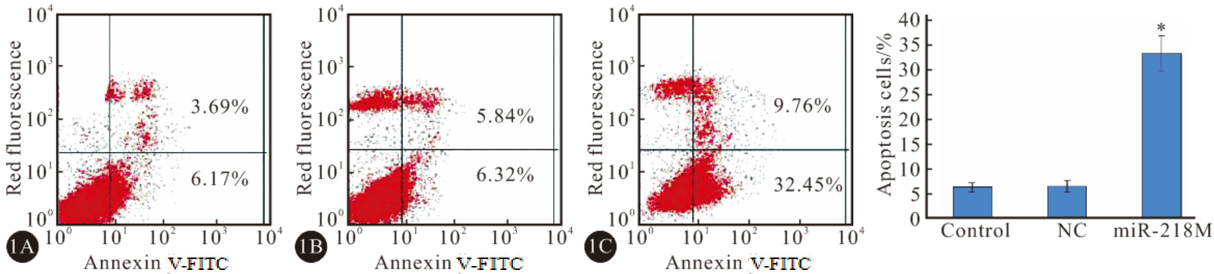
转染 miR-218 类似物组细胞穿过 Transwell 小室的细胞数目少于对照组（图 3），与两对照组比较，差异有统计学意义（$P<0.01$）。结果表明 miR-218 能抑制 HeLa 细胞的迁移转移能力。

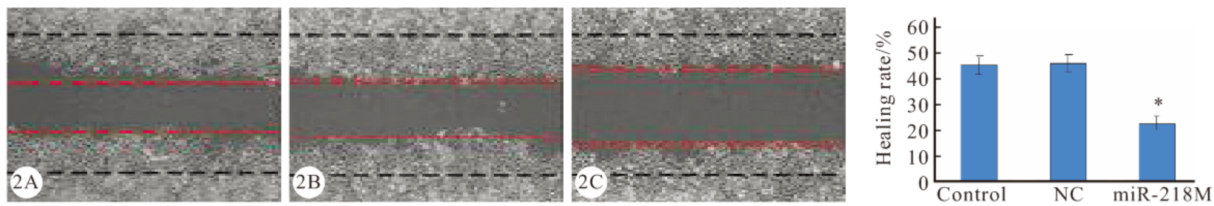
2.5　MiR-218 对 HeLa 细胞 Bcl-2、Bax、E-cadherin 和 NF-κB 蛋白表达的影响

如图 4 显示，转染 miR-218 类似物后，HeLa 细胞 Bcl-2 蛋白表达降低，Bax 蛋白表达增加，E-cadherin 蛋白的表达上调，NF-κB 蛋白表达水平下调，与对照组相比，差异均有统计学意义（$P<0.01$）。

2.6　MiR-218 对 HeLa 细胞 *Bcl-2*、*Bax*、E-cadherin 和 *NF-κB* 基因表达的影响

如图 5 显示，转染 miR-218 类似物后，宫颈癌 HeLa 细胞 *Bcl-2* 和 *NF-κB* 的 mRNA 水平明显下降；*Bax* 和 E-cadherin 的 mRNA 表达水平增加，与对照组相比，差异均有统计学意义（$P<0.01$）。





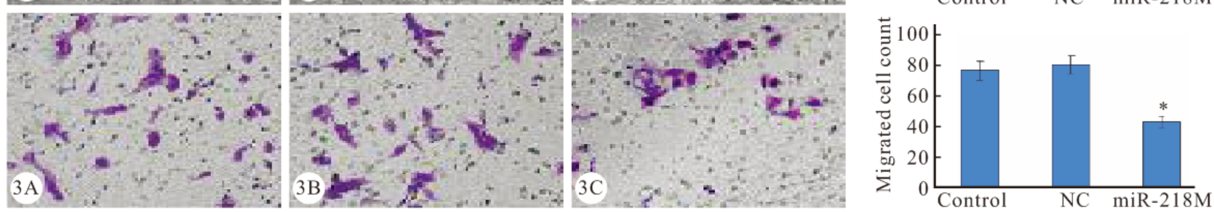


图 1　MiR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响　　图 2　划痕实验检测 miR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞侵袭转移的影响　　图 3　Transwell 实验检测细胞迁移

Fig 1　Effect of miR-218 on apoptosis of HeLa cells　　Fig 2　Effect of miR-218 on the invasion and metastasis of HeLa cells (wound healing test)　　Fig 3　Cell migration in Transwell assay

A: Control group; B: NC group; C: MiR-218M group. * $P<0.01$, vs. control and NC groups

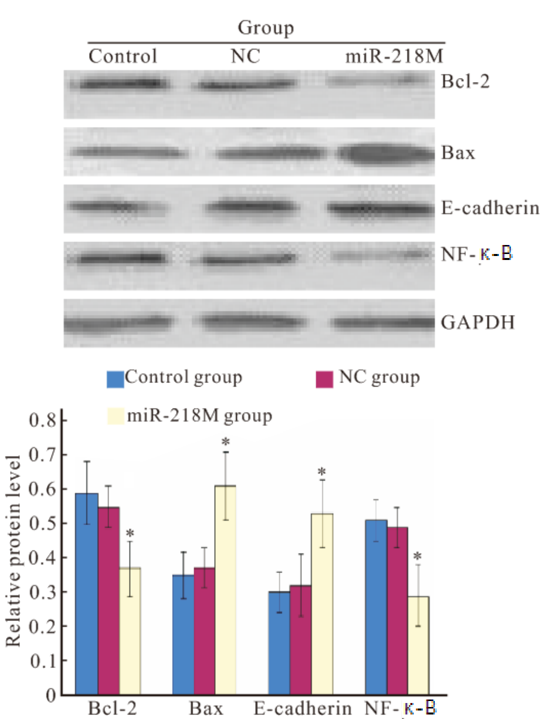


图 4　MiR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞 Bcl-2、Bax、E-cadherin 和 NF-κB 蛋白表达的影响

Fig 4　Effect of miR-218 on the protein expressions of Bcl-2, Bax, E-cadherin and NF-κB in HeLa cells

* $P<0.01$, vs. NC and control groups

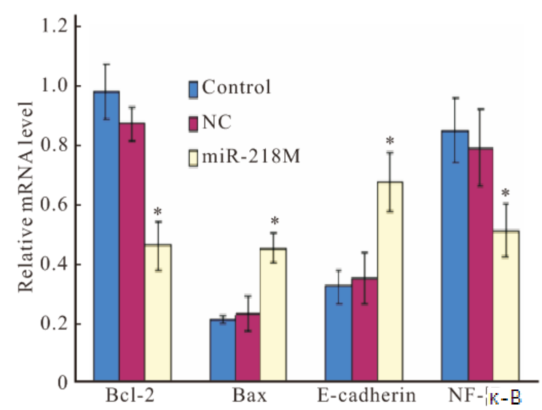


图 5　MiR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞 *Bcl-2*、*Bax*、E-cadherin 和 *NF-κB* mRNA 表达的影响

Fig 5　Effect of miR-218 on mRNA expressions of *Bcl-2*, *Bax*, E-cadherin and *NF-κB* in HeLa cells

* $P<0.01$, vs. NC and control groups

3　讨论

宫颈癌是女性易发肿瘤,发病率居第二位,仅次于乳腺癌。全球每年约新增加 50 万例临床确诊的宫颈癌病例,且发病年龄逐渐年轻化。近年来我国宫颈癌的发病率明显上升,宫颈癌的早期侵袭转移易使患者失去最佳手术机会,对宫颈癌患者的生存

率和生存质量均有较大影响。

MiRNAs 是一类高度保守的非编码单链小分子 RNA，可通过与多个靶基因的 mRNA 的 3′端的非翻译区发生不完全的互补配对，并在转录后抑制基因的表达[5]。越来越多的研究结果表明[6-8]，miRNAs 几乎参与了肿瘤发生发展的每一个步骤，在肿瘤发病机制中发挥了重要作用。50%以上的 miRNAs 定位于肿瘤的相关基因组区域内，并可由染色体异常而导致 miRNAs 基因拷贝数的改变，进而出现 miRNAs 的表达失调。现研究表明，在几乎所有的肿瘤组织内均可检测出 miRNAs 的异常表达，通过比较正常组织和肿瘤组织中 miRNAs 的表达谱，可区分正常组织和肿瘤，并可实现对肿瘤的分子分型。

目前研究发现 miR-218 在多种肿瘤中表达缺失或下调[9-11]。为探讨 miR-218 在临床宫颈癌组织标本中的表达情况及其与临床病理特征之间的关系，本实验检测 23 例正常子宫颈组织和 114 例宫颈癌组织中 *miR*-218 的表达，结果显示：在宫颈癌组织中 *miR*-218 表达下调，并低于宫颈正常组织，提示在宫颈癌的发生发展过程中，miR-218 可能发挥了抑癌因子的作用。在宫颈癌不同病理组织分型中，腺癌组织 *miR*-218 表达水平的下调高于鳞癌组织。现临床研究表明，宫颈癌的预后受多种因素的影响，盆腔淋巴结转、FIGO 分期、宫旁浸润、脉管浸润、肿瘤大小、病理类型等都均为与宫颈癌预后相关的因素[12-13]。本研究对 *miR*-218 表达水平与宫颈癌患者的临床病理参数间的关系进行分析，结果发现 *miR*-218 的表达水平在有无盆腔淋巴结转移、不同 FIGO 分期、间质浸润不同深度之间差异有统计学意义（$P<0.01$），而与肿瘤大小无相关性，因而推测 miR-218 表达与宫颈癌的浸润转移和预后相关，有望为宫颈癌的临床分期和预后判断提供实验依据。

为进一步了解 miR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞生长、迁移作用的影响，本研究通过转染 miR-218 类似物后，检测 miR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞生长、迁移的作用。MTT 结果显示，转染 miR-218 类似物，HeLa 细胞的存活数目减少，细胞生长受到抑制，与对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.01$）。流式细胞仪检测细胞凋亡，结果显示：转染 miR-218 类似物后，宫颈癌 HeLa 细胞的凋亡率明显增加。这些结果均提示 miR-218 能抑制细胞增长，促进细胞凋亡。在细胞进入凋亡途径的信号转导过程中，Bcl-2/Bax 比值上调，能抑制细胞凋亡[14-15]。本实验用 qRT-PCR 和 Western blot 实验检测转染 miR-218 类似物对宫颈癌 HeLa 细胞 *Bcl*-2 和 *Bax* mRNA 和蛋白表达的影响，结果显示，转染 miR-218 类似物后，Bcl-2 表达水平下调，而 Bax 表达水平上调，与对照组相比，差异均有统计学意义（$P<0.01$），这些结果均提示 miR-218 可能通过下调 Bcl-2/Bax 比值，抑制细胞增殖，促进细胞凋亡。

宫颈癌早期的侵袭转移导致宫颈癌的治疗效果不理想。上皮间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）是肿瘤发生侵袭和转移的前提。现研究表明，肿瘤细胞经过 EMT 后，可使细胞获得更强的侵袭能力，从而使肿瘤细胞的恶性程度更高[16-17]。现今 EMT 已经作为肿瘤侵袭、转移的重要靶标，成为肿瘤转移的一个研究热点。现有研究表明，通过抑制肿瘤细胞的 EMT，可降低肿瘤细胞的侵袭转移能力[18]。E-cadherin 是一种重要的细胞黏附分子，其表达增加，有助于抑制肿瘤转移；相反，E-cadherin 表达缺失，则成为细胞发生 EMT 的一种标志性变化。在肿瘤细胞发生 EMT 过程中，常涉及多种信号途径，其中转录因子 NF-κB 是 AKT、Notch 等重要的下游分子，可作为信号通路的中枢，参与多种肿瘤细胞的 EMT 过程[19-20]。我们设计实验探讨 miR-218 对宫颈癌 HeLa 细胞的迁移转移能力的影响。细胞划痕实验结果显示，转染 miR-218 类似物后，细胞迁移作用减弱；Transwell 实验结果亦显示，转染 miR-218 类似物后，穿透小室的细胞数减少。这些结果表明 miR-218 具有抑制 HeLa 细胞迁移的作用。QRT-PCR 和 Western blot 检测，转染 miR-218 类似物后，宫颈癌 HeLa 细胞 E-cadherin mRNA 和蛋白表达上调，*NF-κB* mRNA 和蛋白表达下调，表明 miR-218 能下调 NF-κB 的表达，上调 E-cadherin 的表达，从而抑制宫颈癌 HeLa 细胞的迁移。

综上所述，宫颈癌组织中 *miR*-218 表达下调，并与宫颈癌的浸润转移和预后密切相关；转染 miR-218 类似物，对宫颈癌 HeLa 细胞具有抑制细胞增殖、促进细胞凋亡的作用，同时通过其下调 NF-κB 表达和上调 E-cadherin 表达的作用抑制细胞侵袭转移，这些均提示 miR-218 有望成为宫颈癌治疗的新靶点。后继可在此基础上，进一步扩大实验样本量进行深入研究，为宫颈癌的诊断和基因治疗提供理论依据。

参 考 文 献

[1] HISAMATUS T, MABUCHI S, YOSHINO K, *et al*. Prediction of progression-free survival and response to paclitaxel plus carboplatin in patients with recurrent or advanced cervical cancer. Int J Gynecol Cancer, 2012, 22(4): 623-629.

[2] KARA M, YUMRUTAS O, ATILGAN R, *et al*. Expression changes of antioxidant, apoptotic, anti-apoptotic genes and miR-15b-34a-21-98 in over tissue by using erythromycin, quinacrine and tetracycline in non-surgical sterilization. Mol Biol Rep, 2014, 41(12): 8093-8098.

[3] GAO Y, LI P, LIU Z, *et al*. Expression levels of vascular endothelial cell growth factor and microRNA-210 are increased in medulloblastoma and metastatic medulloblastoma. Exp Ther Med, 2015, 10 (6): 2138-2144.

[4] CHANG CC, YANG YJ, LI YJ, *et al*. MicroRNA-17/20a functions to inhibit cell migration and can be used a prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. Oral Oncol, 2013, 49(9): 923-931.

[5] CARTHEW RW, SONTHEIMER EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. Cell, 2009, 136(4): 642-55.

[6] LEBANONY D, BENJAMIN H, GILAD S, *et al*. Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma. J Clin Oncol, 2009, 27(12): 2030-2037.

[7] FERRACIN M, VERONESE A, NEGRINI M. Micromarkers: miRNAs in cancer diagnosis andprognosis. Expert Rev Mol Diagn, 2010, 10(3): 297-308.

[8] DENG M, TANG H, ZHOU Y, *et al*. miR-216b suppresses tumor growth and invasion by targeting KRAS in nasopharyngeal carcinoma. J Cell Sci, 2011, 124(17): 2997-3005.

[9] HE X, DONG Y, WU C, *et al*. MicroRNA-218 inhibits cell cycle progression and promotes apoptosis in colon cancer by downregulation BMI1 polycomb ring finger oncogene. Mol Med, 2013, 8(18): 1491-1498.

[10] 李 超，涂康生，郑 鑫，等. MicroRNA-218在肝细胞癌中的表达及功能. 南方医科大学学报, 2013, 33(8): 1127-1131.

[11] YAMASAKI T, SEKI N, YOSHINO H, *et al*. MicroRNA-218 inhibits cell migration and invasion in renal cell carcinoma through targeting caveolin-2 involved in focal adhesion pathway. J Urol, 2013, 190(3): 1059-1068.

[12] GADDUCCI A, TETI G, BARSOTTI C, *et al*. Clinicopathological variables predictive of clinical outcome in patients with FIGO stage Ⅰb2 - Ⅱb cervical cancer treated with cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy followed by radical hysterectomy. Anticancer Res, 2010, 30(1): 201-208.

[13] TANG BB, LIU SY, ZHAN YU, *et al*. MicroRNA-218 expression and its association with the clinicopathological characteristics of patients with cervical cancer. Exp Ther Med, 2015, 10(1): 269-274.

[14] ANTIGNANI A, YOULE RJ. How do Bax and Bak lead to permeabilization of the outer mitochondrial membrane. Curr Opin Cell Biol, 2006, 18(6): 685-689.

[15] LUANPITPONG S, CHANVORACHOTE P, STEHLIK C, *et al*. Regulation of apoptosis by Bcl-2 cysteine oxidation in human lung epithelial cells. Mol Biol Cell, 2013, 24(6): 858-869.

[16] TSAI JH, YANG J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. Genes Dev, 2013, 27(20): 2192-2206.

[17] 石玉荣，陈素莲，杨 滢，等. 转化生长因子β-1对人宫颈癌细胞上皮-间质转化的诱导作用. 上海交通大学学报(医学版), 2015, 35(4): 530-534.

[18] WANG Z, LI Y, KONG D, *et al*. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition phenotype of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells is linked with activation of the notch signaling pathway. Cancer Res, 2009, 69(6): 2400-2407.

[19] JULIEN S, PUIG I, CARETTI E, *et al*. Activation of NF-kappaB by Akt upregulates Snail expression and induces epithelium mesenchyme transition. Oncogene, 2007, 26(53): 7445-7456.

[20] LIU L, SALNIKOV AV, BAUER N, *et al*. Triptolide reverses hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and stem-like features in pancreatic cancer by NF-κB downregulation. Int J Cancer, 2014, 134(10): 2489-2503.

(2016－01－26收稿，2016－05－19修回)

编辑 沈 进