

• 论 著 •

沉默 weel 基因对卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用机制*

李霞¹, 季万里², 高月^{3△}

山东医学高等专科学校附属医院(临沂市老年病医院):1. 检验科;2. 病理科, 山东临沂 276004;

3. 重庆市北碚区中医院检验科, 重庆 400700

摘要:目的 探讨沉默 weel 基因对卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用机制。方法 将卵巢癌细胞分为 Blank 组、小干扰 RNA (siRNA) 阴性对照 (siRNA-NC) 组和携带 weel 基因片段 (siRNA-weel) 组, 利用 siRNA 技术在卵巢癌细胞中沉默 weel 基因, 采用实时荧光定量 PCR、免疫印迹法 (WB) 检测 3 组卵巢癌细胞 weel RNA 及蛋白表达水平, 采用细胞划痕试验、Transwell 试验观察卵巢癌细胞平板集落形成数及卵巢癌细胞迁移、侵袭能力, 采用 WB 观察卵巢癌细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白 Wnt3a、 β -连环蛋白 (β -catenin)、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin-D1)、基质金属蛋白酶 7 (MMP-7) 的表达情况。结果 siRNA-weel 组卵巢癌细胞 weel RNA 和蛋白表达水平均低于 siRNA-NC 组和 Blank 组 ($P < 0.05$), 卵巢癌细胞集落形成数少于 Blank 组和 siRNA-NC 组 ($P < 0.05$), 卵巢癌细胞迁移、侵袭能力低于 Blank 组和 siRNA-NC 组 ($P < 0.05$), Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin-D1 和 MMP-7 表达水平均低于 siRNA-NC 组和 Blank 组 ($P < 0.05$)。结论 沉默 weel 基因可抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活, 进而抑制卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭能力。

关键词: weel 基因; 卵巢癌; 增殖; 迁移; 侵袭; Wnt/ β -catenin 信号通路

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.01.005

中图法分类号: R737.31

文章编号: 1673-4130(2022)01-0023-05

文献标志码: A

Mechanism of silencing weel gene on proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells*

LI Xia¹, JI Wanli², GAO Yue^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Shandong Medical College (Linyi Geriatrics Hospital), Linyi, Shandong 276004, China;

3. Department of Clinical Laboratory, the Chinese Traditional Medicine Hospital of Beibei District, Chongqing 400700, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of silencing weel gene on proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells. **Methods** The ovarian cancer cells were divided into Blank group, small interfering RNA (siRNA) negative control (siRNA-NC) group, and carrying weel gene fragment (siRNA-weel) group. The weel gene was silenced in ovarian cancer cells by siRNA technology. The expression levels of weel RNA and protein in 3 groups of ovarian cancer cells were detected by real-time fluorescence quantitative PCR and Western blotting (WB). The cell scratch test and the Transwell test were used to observe the number of ovarian cancer cell plate colonies and the migration and invasion capabilities of ovarian cancer cells. WB was used to observe the expression of Wnt3a, β -catenin, Cyclin-D1 and matrix metalloproteinase 7 (MMP-7) related to the Wnt/ β -catenin signaling pathway in ovarian cancer cells. **Results** The expression levels of weel RNA and protein in ovarian cancer cells in the siRNA-weel group were lower than those in the siRNA-NC group and the Blank group ($P < 0.05$), and the number of colonies formed in ovarian cancer cells was less than that of the Blank group and the siRNA-NC group ($P < 0.05$). The migration and invasion ability of ovarian cancer cells was lower than those of Blank group and siRNA-NC group ($P < 0.05$). The expression levels of Wnt/ β -catenin signaling pathway related proteins Wnt3a, β -catenin, Cyclin-D1 and MMP-7 in the siRNA-weel group were lower than those in the siRNA-NC group and Blank group ($P < 0.05$). **Conclusion** Silencing the weel gene can inhibit the activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway, thereby inhibiting the proliferation,

* 基金项目: 重庆市自然科学基金项目 (cstc2018jcyjAX0100)。

作者简介: 李霞, 女, 副主任技师, 主要从事细胞形态学研究。△ 通信作者, E-mail: moon19740000@163.com。

本文引用格式: 李霞, 季万里, 高月. 沉默 weel 基因对卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用机制[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(1): 23-26.

migration and invasion of ovarian cancer cells.

Key words: weel gene; ovarian cancer; proliferation; migration; invasion; Wnt/ β -catenin signal pathway

卵巢癌是一种严重威胁女性身心健康的常见妇科肿瘤,其发病隐匿、转移率高,整体生存率较低,5 年生存率不足 30%^[1]。化疗是目前卵巢癌的主要治疗手段,但其不良反应很大。因此,卵巢癌的靶向治疗及相关分子标志物的研究备受关注。文献[2-3]报道 weel 是一种属于丝氨酸/苏氨酸家族的蛋白激酶,在多种恶性肿瘤的发生、发展进程中起到重要作用。目前,有关 weel 基因在卵巢癌中的相关研究报道甚少。本研究观察沉默 weel 基因对卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移的影响及其作用机制,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 材料 人卵巢癌 SKOV3 细胞购自中国科学院上海细胞库;胎牛血清(FBS)、RPMI-1640 培养基购自美国 Invitrogen 公司;Matrigel 基质胶购自美国 BD Biosciences 公司;Transwell 小室购自美国 Millipore 公司;小干扰 RNA(siRNA)由上海吉玛公司合成;鼠抗人 Wnt3a 单克隆抗体、鼠抗人 β -连环蛋白(β -catenin)单克隆抗体、鼠抗人细胞周期蛋白 D1(Cyclin-D1)单克隆抗体、鼠抗人基质金属蛋白酶 7(MMP-7)单克隆抗体和鼠抗人 β -actin 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司。Lipofectamine 2000 购自上海吉玛公司,CFX96 实时荧光定量 PCR(qPCR)仪购自美国伯乐公司。

1.2 方法

1.2.1 卵巢癌细胞培养和转染 将卵巢癌细胞培养在含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养液中,放置在 37 °C、5%CO₂ 细胞培养箱中。待细胞融汇至 80%,按每孔 1×10^5 个细胞加入 6 孔板,待细胞密度达到 50%,按 Lipofectamine 2000 说明书转染细胞。试验共分 3 组:Blank 组、siRNA 阴性对照(siRNA-NC)组和携带 weel 基因片段(siRNA-weel)组。将 siRNA-NC 组(GCTGTTTTTTTGAGATTTCAG)和 siRNA-weel 组(ACGCTCTGTCAGCCTTACTA-TA)转染 SKOV3 细胞,Blank 组不转染。

1.2.2 qPCR 收集上述 3 组卵巢癌细胞,按照操作说明提取总 RNA 并测定 RNA 表达水平。以 1 μ g RNA 为模板,按 qPCR 反转录试剂盒合成 cDNA;以 1 μ L cDNA 为模板,采用 qPCR 检测 weel RNA 表达水平。反应条件:95 °C 10 s;95 °C 5 s,60 °C 15 s,72 °C 15 s,40 个循环。引物序列 Sense: 5'-CCACCACCCT-GC-CAGTTAA-3', Antisense: 5'-TAAACTTTTGT-GCAA CCAGGGTAA-3'。weel RNA 表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法确定。

1.2.3 卵巢癌细胞平板集落形成试验 将转染后的 3 组卵巢癌细胞悬液(1×10^6 /L)加入 12 孔板,轻轻混匀,隔 2 天换 1 次培养液。孵育 10 d 后用磷酸盐缓冲

液(PBS)清洗 3 次,然后用 4%多聚甲醛固定 10 min, PBS 再清洗 3 次,最后用 0.2%结晶紫染色 10 min,肉眼计数集落数,试验重复 3 次。

1.2.4 划痕试验 用直尺在 6 孔板背后划横线。在孔中分别加入 5×10^5 个转染后的 3 组卵巢癌细胞。第 2 天用枪头垂直于背后的横线划痕, PBS 清洗 3 次,加入无血清培养基细胞培养箱中培养。于 0、12、24 h 取样拍照。

1.2.5 Transwell 试验 试验前 1 d 将无 FBS 的 RPMI-1640 培养液和 Matrigel 基质胶按 8:1 混合,将 60 μ L 混合液加入到 Transwell 小室,培养过夜。试验前,将无 FBS 的 RPMI-1640 培养基 100 μ L 加入小室中,继续培养 30 min。将上述转染 24 h 的卵巢癌细胞消化并计数,将 200 μ L 细胞悬液加入 Millicell 小室中,下室加入 600 μ L 条件培养基。继续培养 15 h,然后用 4%多聚甲醛固定细胞,染色后倒置显微镜拍照。

1.2.6 免疫印迹法(WB)检测 在各组转染 48 h 的卵巢癌细胞中加入裂解液,裂解细胞后提取总蛋白并测其水平。取 30 μ L 蛋白样品进行上样,8%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后转膜,室温封闭 2 h,分别加入 weel、Wnt3a、 β -catenin、Cyclin-D1、MMP-7 单克隆抗体孵育过夜再加入二抗封闭 1 h。ECL 化学发光曝光, Bio-rad 凝胶成像系统扫描拍照,测定 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin-D1、MMP-7 蛋白表达水平。上述蛋白测定均以 β -actin 为内参,蛋白表达水平=目的蛋白灰度值/ β -actin 蛋白灰度值。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染后 3 组卵巢癌细胞 weel mRNA 及蛋白表达水平比较 利用 qPCR 和 WB 检测转染后卵巢癌细胞 weel mRNA 及蛋白表达情况,结果显示,3 组卵巢癌细胞的 weel mRNA 表达水平比较,Blank 组(3.51 ± 0.96)与 siRNA-NC 组(3.69 ± 0.88)差异无统计学意义($P > 0.05$), siRNA-weel 组(0.92 ± 0.19)低于 Blank 组和 siRNA-NC 组($P < 0.05$),见图 1A。WB 结果显示 siRNA-weel 组 weel 蛋白表达水平低于 siRNA-NC 组和 Blank 组($P < 0.05$),见图 1B。

2.2 沉默 weel 基因后 3 组卵巢癌细胞平板集落形成情况比较 沉默 weel 基因后卵巢癌细胞平板集落形成试验结果显示, siRNA-weel 组卵巢癌细胞集落形成数少于 Blank 组和 siRNA-NC 组($P < 0.05$),见图 2。

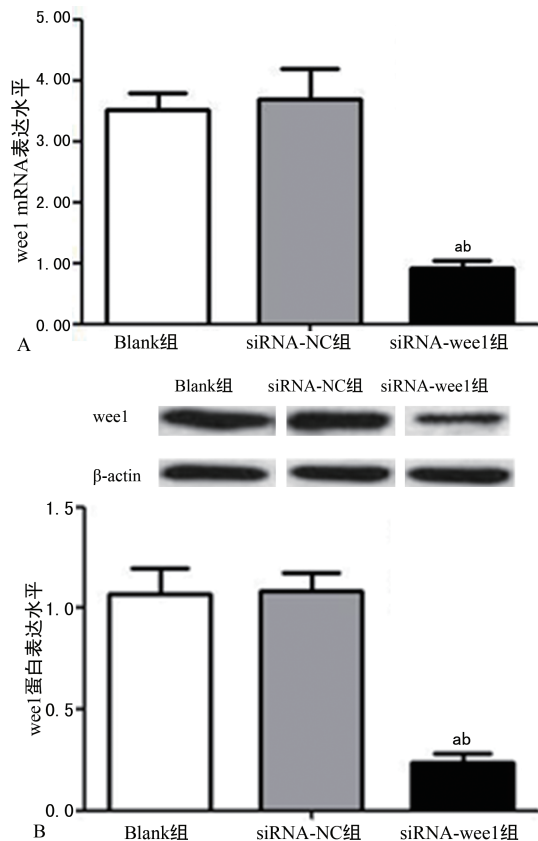


图 1 转染后 3 组卵巢癌细胞 weel mRNA 及蛋白表达水平

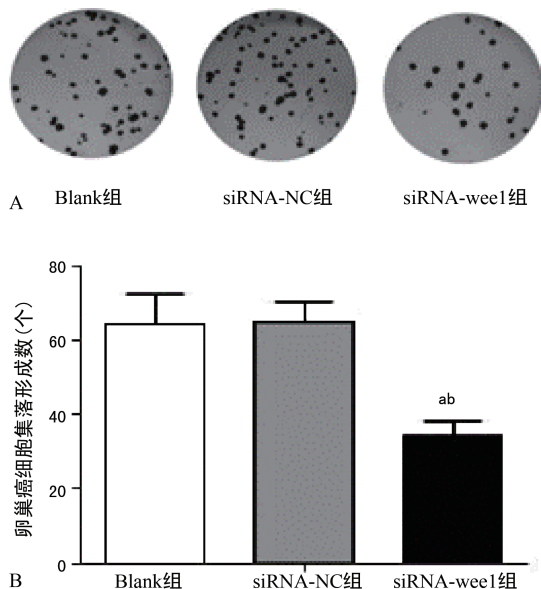


图 2 沉默 weel 基因后 3 组卵巢癌细胞集落形成情况

2.3 沉默 weel 基因后 3 组卵巢癌细胞迁移能力比较 利用细胞划痕愈合试验观察沉默 weel 基因后卵巢癌细胞迁移能力,结果显示 siRNA-weel 组卵巢癌细胞 12 h、24 h 的迁移距离小于 siRNA-NC 组和 Blank 组 ($P < 0.05$)。

2.4 沉默 weel 基因后 3 组卵巢癌细胞侵袭能力比较 利用 Transwell 试验观察沉默 weel 基因后卵巢癌细胞侵袭能力,结果表明 siRNA-weel 组卵巢癌细胞穿膜数量少于 siRNA-NC 组和 Blank 组 ($P < 0.05$),见图 3。

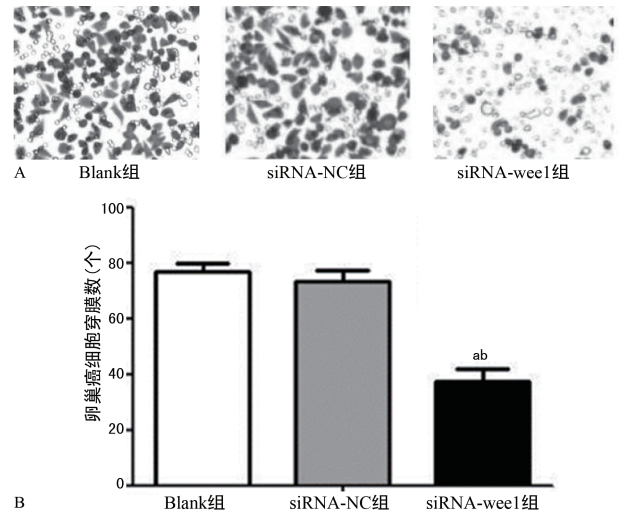


图 3 沉默 weel 基因后 3 组卵巢癌细胞侵袭能力

2.5 沉默 weel 基因后 3 组卵巢癌细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达水平比较 利用 WB 检测沉默 weel 基因后 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达情况,结果显示,siRNA-weel 组 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin-D1 和 MMP-7 蛋白表达水平均低于 siRNA-NC 组和 Blank 组 ($P < 0.05$),见图 4。

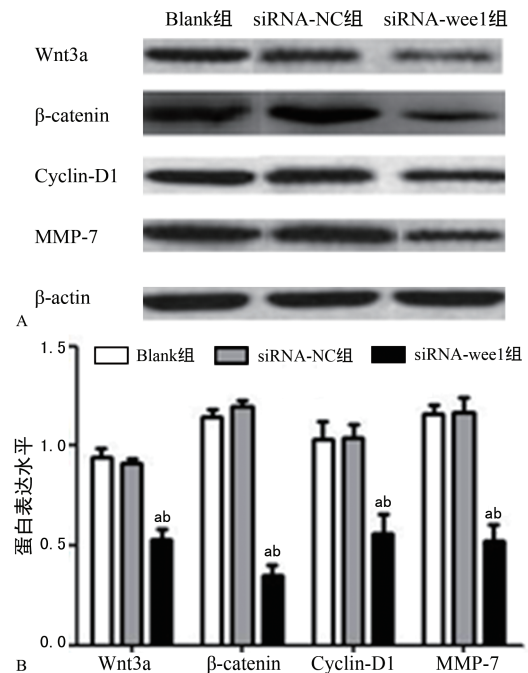


图 4 沉默 weel 基因后 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白的表达情况

3 讨 论

wee1 蛋白激酶是人 wee 激酶家族的成员之一,最早在裂殖酵母细胞中被发现,其结构由位于中间的激酶结构域、氨基端的调节结构域和一个短的羧基端组成,编码含有 647 个氨基酸的蛋白质,主要分布在细胞核中^[4-5]。wee1 蛋白激酶是 G2/M 期检查点的关键蛋白激酶,能够特异性地参与细胞周期的调节,其表达异常影响细胞周期的正常运行,进而改变细胞的生物学功能^[6]。研究发现,敲除老鼠体内 wee1 基因,其胚胎因 wee1 基因缺失,DNA 受损无法修复,诱发细胞进行有丝分裂而死亡^[7]。wee1 基因不仅在机体胚胎发育等方面起重要作用,而且在维持肿瘤细胞生物学行为方面发挥着至关重要的作用^[8-9]。文献^[10-13]报道 wee1 蛋白激酶在卵巢癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌等多种肿瘤中高表达,而且其高表达与患者预后生存相关。卵巢癌是女性常见的恶性肿瘤,近年来其发病率呈明显上升趋势,而且病死率居妇科肿瘤之首。本研究在卵巢癌细胞中沉默 Wee1 基因后发现卵巢癌细胞的增殖、侵袭、迁移能力均受到抑制,说明沉默 wee1 基因能够抑制卵巢癌细胞的恶性增殖进程,进而阻碍卵巢癌的转移。

卵巢癌在女性肿瘤中发病率和病死率均较高,而且恶性程度较高,因此深入研究其发病机制具有重要的临床意义。文献^[14-15]报道,Wnt/ β -catenin 信号通路作为细胞内 Wnt 信号传导的重要经典途径参与恶性肿瘤的增殖、分化、侵袭、迁移等。一旦 Wnt 信号被激活,引起 β -catenin 聚集在细胞质和细胞核中,激活下游靶基因的活性,引起细胞异常增殖和迁移^[16-17]。有报道显示,沉默 wee1 能够抑制直肠癌细胞的生长、侵袭、迁移,并显著抑制 Wnt/ β -catenin 通路中的 Wnt3a 和 β -catenin 基因表达水平,表明 RNA 干扰 wee1 基因抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移很可能是通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控来完成的^[12]。Cyclin-D1 和 MMP-7 作为 β -catenin 的下游靶基因,直接受 β -catenin 的调控。研究发现,过表达 Cyclin-D1 可促进肿瘤的侵袭、迁移,MMP-7 过表达可促进肿瘤的生长和细胞侵袭能力^[18-19]。本研究结果显示,沉默 wee1 基因后 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin-D1 和 MMP-7 蛋白表达均下调,表明沉默 wee1 基因能够抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活,下调其下游靶基因 Cyclin-D1 和 MMP-7 表达水平来抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移。

综上所述,沉默 wee1 基因可抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活,进而抑制卵巢癌细胞的增殖、侵袭和迁移过程,从而抑制卵巢癌的发生、发展。该分子机制的阐述为进一步寻找卵巢癌的治疗靶点提供了研究方向。

参考文献

- [1] 薛春燕,谢荃沁,徐云,等. PDL1 和 PDL2 在卵巢癌组织中的表达及对患者预后判断的价值[J]. 现代免疫学, 2020,40(1):1-8.
- [2] MATHESON C J, BACKOS D S, REIGAN P. Targeting wee1 kinase in cancer[J]. Trends Pharmacol Sci, 2016,37(10):872-881.
- [3] GEENEN J J J, SCHELLENS J H M. Molecular pathways:targeting the protein kinase wee1 in cancer[J]. Clin Cancer Res, 2017,23(16):4540-4544.
- [4] 刘斌. wee1 组蛋白与肿瘤[J]. 中南大学学报(医学版), 2015,40(7):806-810.
- [5] 袁会军,刘斌,杨艳丽,等. wee1 蛋白激酶的研究进展[J]. 中国癌症防治杂志, 2018,10(1):61-64.
- [6] SCHMIDT M, ROHE A, PLATZER C, et al. Regulation of G2/M transition by inhibition of wee1 and PKMYT1 kinases[J]. Molecules, 2017,22(12):2045.
- [7] VASSILOPOULOS A, TOMINAGA Y, KIM H S, et al. wee1 murine deficiency induces hyperactivation of APC/C and results in genomic instability and carcinogenesis[J]. Oncogene, 2015,34(23):3023-3035.
- [8] CHANG Q, CHANDRASHEKHAR M, KETELA T, et al. Cytokinetic effects of wee1 disruption in pancreatic cancer[J]. Cell Cycle, 2016,15(4):593-604.
- [9] 胡争波,李文虎,何轩. 人类 wee1 与肿瘤关系研究进展[J/CD]. 转化医学电子杂志, 2018,5(2):9-14.
- [10] LEIJEN S, VAN GEEL R M, SONKE G S, et al. Phase II study of wee1 inhibitor AZD1775 plus carboplatin in patients with TP53- mutated ovarian cancer refractory or resistant to first line therapy within 3 months[J]. J Clin Oncol, 2016,34(36):4354-4361.
- [11] LEWIS C W, JIN Z G, MACDONALD D, et al. Prolonged mitotic arrest induced by wee1 inhibition sensitizes breast cancer cells to paclitaxel[J]. Oncotarget, 2017,8(43):73705-73722.
- [12] 雷蕾,陈小艳,杨馥媒,等. RNA 干扰 wee1 基因抑制结直肠癌细胞增殖侵袭的机制研究[J]. 兰州大学学报(医学版), 2019,45(3):52-58.
- [13] KIM H Y, CHO Y, KANG H, et al. Targeting the wee1 kinase as a molecular targeted therapy for gastric cancer[J]. Oncotarget, 2016,7(31):49902-49916.
- [14] BA S, YI X, LONG Z W, et al. MicroRNA-27a promotes the proliferation and invasiveness of colon cancer cells by targeting SFRP1 through the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2017,42(5):1920-1933.
- [15] 宿世琼,倪青,侯净,等. miR-194 对乳腺癌细胞增殖、侵袭迁移和 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2020,36(14):1705-1709.
- [16] FANG Y, YUAN Y, ZHANG L L, et al. (下转第 31 页)

特异度为 86.7%, 表明 AHSG 是膀胱癌诊断和预后分析的潜在血清学标志物。

目前, 膀胱癌缺乏特异的血清学肿瘤标志物, 主要通过检测 CEA 水平来监测患者病情变化^[15]。CEA 是由黏膜上皮细胞分泌的可溶性跨膜糖蛋白, 在健康人群血清中含量极低, 是高效、广谱的肿瘤标志物。血清或尿 CEA 检测在膀胱癌的诊断和监测中具有重要的应用价值。正常情况下, 机体内 CEA 水平低于 10 ng/mL。当膀胱组织癌变或肿瘤复发时, 尿 CEA 水平会快速升高, 其与肿瘤大小和病情严重程度密切相关, 是膀胱癌诊断和预后评估的有效指标^[16]。AHMADI 等^[17]发现, 膀胱癌患者术前血清 CEA 和糖类抗原(CA)19-9 水平升高, 是判断患者预后不良的独立预测因子。本研究验证了膀胱癌患者血清 CEA 水平升高, 并利用 ROC 曲线分析 AHSG、CEA 对膀胱癌的诊断价值, 发现 AHSG 与 CEA 联合检测诊断膀胱癌的 AUC 为 0.952, 较 AHSG 或 CEA 单独检测更高, 说明 AHSG 与 CEA 联合检测诊断膀胱癌的临床应用价值更高。

综上所述, AHSG 在膀胱癌中的表达明显升高, 是膀胱癌诊断和预后预测的客观评价指标, 其与 CEA 是膀胱癌诊断和预后分析中临床应用价值更高的、潜在的血清学标志物。

参考文献

- [1] CUMBERBATCH M G K, NOON A P. Epidemiology, aetiology and screening of bladder cancer [J]. *Transl Androl Urol*, 2019, 8(1): 5-11.
- [2] BERSANELLI M, BUTI S, GIANNATEMPO P, et al. Outcome of patients with advanced upper tract urothelial carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors: a systematic review and meta-analysis [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 159: 103241.
- [3] WOLDU S L, BAGRODIA A, LOTAN Y. Guideline of guidelines: non-muscle-invasive bladder cancer [J]. *BJU Int*, 2017, 119(3): 371-380.
- [4] GUURAM S, MUTHIGI A, EGAN J, et al. Imaging in localized bladder cancer: can current diagnostic modalities provide accurate local tumor staging [J]. *Curr Urol Rep*, 2019, 20(12): 82.
- [5] NANDAGOPAL L, SONPAVDE G. Circulating biomarkers in bladder cancer [J]. *Bladder Cancer*, 2016, 2(4): 369-379.
- [6] LIU D, QIU X, XIONG X, et al. Current updates on the role of reactive oxygen species in bladder cancer pathogenesis and therapeutics [J]. *Clin Transl Oncol*, 2020, 22(10): 1687-1697.
- [7] NEDJADI T, BENABDELKAMAL H, ALBARAKATI N, et al. Circulating proteomic signature for detection of biomarkers in bladder cancer patients [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10999.
- [8] BANSAL N, GUPTA A, SANKHWAR S N, et al. Low- and high-grade bladder cancer appraisal via serum-based proteomics approach [J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 436: 97-103.
- [9] WANG Y T, SHI T, SRIVASTAVA S, et al. Proteomic analysis of exosomes for discovery of protein biomarkers for prostate and bladder cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9): 2335.
- [10] FRANTZI M, VLAHO A. ten years of proteomics in bladder cancer: progress and future directions [J]. *Bladder Cancer*, 2017, 3(1): 1-18.
- [11] 郑爱文, 陈雅卿, 朱笕青, 等. 血清多肽谱检测对子宫内膜癌早期诊断价值 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(11): 875-879.
- [12] DING D, CHEN M, XIAO X, et al. Novel serum peptide model revealed by MALDI-TOF-MS and its diagnostic value in early bladder cancer [J]. *Int J Biol Markers*, 2020, 35(3): 59-66.
- [13] JAIN A, KOTIMOOLE C N, GHOSH S, et al. Identification of potential salivary biomarker panels for oral squamous cell carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 3365.
- [14] SHI F, WU H, QU K, et al. Identification of serum proteins AHSG, FGA and APOA-I as diagnostic biomarkers for gastric cancer [J]. *Clin Proteomics*, 2018, 15: 18.
- [15] 左玉良, 窦中岭. NMP22、CA19-9 和 CEA 的检测在诊断膀胱癌中的意义 [J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2015, 33(2): 157-160.
- [16] 张杰. 肿瘤标志物在早期膀胱癌肿瘤的诊断价值及临床表达意义 [J]. *中国卫生工程学*, 2017, 16(4): 490-492.
- [17] AHMADI H, DIALADAT H, CAI J, et al. Precystectomy serum levels of carbohydrate antigen 19-9, carbohydrate antigen 125, and carcinoembryonic antigen: prognostic value in invasive urothelial carcinoma of the bladder [J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(5): 648-656.
- [18] JIANG Q, HE M, GUAN S, et al. MicroRNA-100 suppresses the migration and invasion of breast cancer cells by targeting FZD-8 and inhibiting Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(4): 5001-5011.
- [19] PENG Y, ZHANG X J, MA Q, et al. MiRNA-194 activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway in gastric cancer by targeting the negative Wnt regulator, SUFU [J]. *Cancer Lett*, 2017, 385(28): 117-127.

(收稿日期: 2021-03-29 修回日期: 2021-09-22)

(收稿日期: 2021-03-01 修回日期: 2021-10-07)

(上接第 26 页)

Downregulated GBX2 gene suppresses proliferation, invasion and angiogenesis of breast cancer cells through inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 23(3): 405-418.

- [17] WANG C H, LI Y H, TIAN H L, et al. Long non-coding RNA BLACAT1 promotes cell proliferation, migration and invasion in cervical cancer through activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(10): 3002-3009.