

唐津天,唐润娟. miR-30 靶向调控 Zeb2 相关通路抑制胆囊癌细胞 EMT 进程 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(9): 69-75.
Tang JT, Tang RJ. miR-30 inhibits EMT of gallbladder cancer cells via Zeb2-related pathways [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 69-75.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.09.010

miR-30 靶向调控 Zeb2 相关通路抑制 胆囊癌细胞 EMT 进程

唐津天^{1*}, 唐润娟²

(1.新疆维吾尔自治区肿瘤医院肝胆胰外科, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆医科大学第二附属医院康复科, 乌鲁木齐 830000)

【摘要】 目的 本研究旨在探讨小 RNA-30(miR-30)在胆囊癌(GBC)上皮间充质转化(EMT)进程中的作用和潜在机制。**方法** qRT-PCR 用于检测胆囊上皮细胞和癌细胞系 miR-30 相对表达水平;过表达 miR-30 后采用 MTT、平板克隆实验用于检测细胞增殖能力;细胞划痕实验和 Transwell 小室试验分别评估细胞迁移和侵袭能力;Western blot 用于评估细胞 EMT 相关蛋白(E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin)和 EMT 相关转录因子(Snail、Slug 和 Zeb2)的表达水平。拯救实验用于探索 miR-30 与 Zeb2 的靶向调控关系。**结果** miR-30 在 2 个代表性 GBC 细胞系(GBC-SD 和 NOZ)中明显下调($P<0.05$)。过表达 miR-30 会抑制 GBC-SD 细胞增殖、克隆形成、细胞迁移、细胞侵袭和 EMT 过程($P<0.05$),而过表达 Zeb2 可以逆转 miR-30 导致的 EMT 抑制作用($P<0.05$)。**结论** miR-30 通过靶向 Zeb2 减弱 GBC 细胞的 EMT 进展,表明 miR-30 是一种肿瘤抑制因子,可作为 GBC 的新型潜在分子治疗靶点。

【关键词】 胆囊癌;miR-30;Zeb2;EMT

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 09-0069-07

miR-30 inhibits EMT of gallbladder cancer cells via Zeb2-related pathways

TANG Jintian^{1*}, TANG Runjuan²

(1. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Xinjiang Cancer Hospital, Urumqi 830000, China.
2. Department of Rehabilitation, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000)

【Abstract】 Objective This study aimed to explore the role and potential mechanism of miR-30 in EMT of gallbladder cancer (GBC). **Methods** qRT-PCR was used to measure the relative expression level of miR-30 in gallbladder epithelial cells and cancer cell lines. After overexpression of miR-30, MTT and colony formation assays were used to assess cell proliferation. Wound healing and Transwell assays were used to evaluate cell migratory and invasive abilities, respectively. Western blot was used to evaluate the expression levels of EMT-related proteins (E-cadherin, N-cadherin and Vimentin) and EMT-related transcription factors (Snail, Slug and Zeb2). A rescue experiment was carried to explore the regulatory relationship between miR-30 and Zeb2. **Results** miR-30 was significantly downregulated in two representative GBC cell lines (GBC-SD and NOZ) ($P<0.05$). Overexpression of miR-30 inhibited GBC-SD cell proliferation, colony formation, migration, invasion and EMT ($P<0.05$). Overexpression of Zeb2 reverses the EMT inhibitory effect caused by miR-30 ($P<0.05$). **Conclusions** miR-30 attenuates EMT of GBC cells by targeting Zeb2, which indicates that miR-30 is a tumor suppressor and can be used as a novel therapeutic target for GBC.

【Keywords】 gallbladder cancer; miR-30; Zeb2; EMT

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2021D01C399)。

[作者简介] 唐津天(1981—),男,博士研究生,副主任医师,研究方向:肝胆胰良恶性肿瘤的诊断和治疗。E-mail: pzgtud@163.com

胆囊癌 (gallbladder carcinoma, GBC) 是胆管疾病中最常见和最具侵袭性的恶性肿瘤,该病的全球发病率每年增加^[1],患者的 5 年生存率<5%^[2]。尽管诊断和治疗的技术有所进步,但 GBC 的临床结果并没有显著改善,因为早期转移和延误的诊断^[3]。手术切除是目前唯一有效的治疗方法,因为缺乏能够减轻或预防 GBC 转移的治疗方案^[4]。因此,阐明介导 GBC 发生和进展的分子机制具有重要的意义。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度约为 18~25 个核苷酸的小型非编码 RNA 分子^[5]。作为基因表达的内源性抑制因子,miRNA 可以直接与特定目标信使 RNA (mRNA) 的 3' 非翻译区 (3' untranslated regions, 3' -UTR) 结合,以诱导 mRNA 降解或抑制蛋白质翻译^[6]。因此,这些小分子可以作为肿瘤启动子或抑制子^[7]。在这些 miRNA 中,位于染色体区域 6q13 的 miR-30 已被报道在几种人类癌症中失调^[8-11]。然而,miR-30 在 GBC 中的具体角色和潜在作用机制仍然未知。

因此,在本研究中,我们探索了 miR-30 在 GBC 细胞系中的肿瘤抑制作用及其对上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 进展的影响。我们发现 miR-30 可能是通过调控 E 盒结合锌指蛋白 2 (zinc finger E-box binding protein 2, Zeb2) 介导 EMT 进程的关键因子。

1 材料和方法

1.1 细胞

人 GBC 细胞系 GBC-SD 和 NOZ 购自中国科学院上海生命科学研究院;正常人胆囊上皮细胞系 HGBEC 购自美国 ATCC 细胞库。GBC-SD 和 NOZ 细胞系在高糖 DMEM 培养基中培养,HGBEC 细胞系在 RPMI 1640 中培养。培养基均补充 10% 胎牛血清,细胞系均在 37℃ 和 5% CO₂ 的湿润环境下培养。

1.2 主要试剂与仪器

高糖 DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); RPMI 1640 培养基 (美国 HyClone 公司);胎牛血清 (美国 Gibco 公司); TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司); miR-X miRNA First-Strand Synthesis 逆转录试剂盒、miR-X miRNA qRT-PCR SYBR 试剂盒 (美国 Clontech Laboratories 公司); pCMV 表达载体 (上海龙钱生物科技有限公司); Lipofectamine 2000 (美国 Invitrogen 公司); MTT 试剂盒 (日本 Dojindo 公司)

8 μm 小室、Matrigel 胶 (美国 BD Biosciences 公司); 结晶紫 (美国 Sigma 公司); RIPA 蛋白提取试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司); 一抗 [兔抗 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、N-钙黏蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、β-肌动蛋白 (β-actin) 和 HRP 偶联的二抗 (美国 Cell Signaling Technology 公司)。酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司); 化学发光系统 (美国 Millipore 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 RNA 寡核苷酸、质粒构建及细胞转染和分组

合成 miRNA 模拟物 (miR-mimic) 以及阴性对照物 (miR-NC) 购自上海百奥生物技术有限公司。将全长 Zeb2 cDNA (GenBank ID 号: NM_9839) 克隆到 pCMV 表达载体 (Zeb2) 中,空载质粒 (Vector) 用作阴性对照。GBC-SD 细胞接种在 6 孔板中并使用 Lipofectamine 2000 进行转染。根据转染物不同,将细胞分为空白组、miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组,空白组细胞不给予任何处理,正常培养; miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组分别转染 miR-30 NC 和 miR-30 mimic。另将细胞分为 miR-30 阴性对照组、miR-30 转染组、miR-30 转染+Zeb2 阴性对照组和 miR-30 转染+Zeb2 转染组,分别转染 miR-30 NC、miR-30 mimic、miR-30 mimic+共表达质粒 Zeb2 Vector 和 miR-30 mimic+共表达质粒 Zeb2 至 GBC-SD 细胞。miRNA 的序列用 Primer Premier 4.0 软件设计,如下所示: miRNA-NC F: 5'-TCTGAGGCTAA CCACGGTCTGTA-3' 和 R: 5'-CTGATTAAGTGT CAT ACTCATAC; miR-30 mimic F: 5'-TGTA AACATCC TACTCTCAGC-3' 和 R: 5'-CTCGCTTCGGCAGC ACACCGACT-3'。质粒转染: 在每个 6 孔板中加入 2 μg 质粒,持续 48 h,然后用 G418 (200 μg/mL) 处理细胞。

1.3.2 qRT-PCR

用 TRIzol 试剂从培养的正常人胆囊上皮细胞系 HGBEC 及 GBC-SD 和 NOZ 细胞系以及空白组、miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组细胞中提取总 RNA,并使用 miR-X miRNA First-Strand Synthesis Kit 逆转录为 cDNA。随后使用 miR-X miRNA qRT-PCR SYBR 试剂盒通过聚合酶链式反应扩增并测量目的 RNA 表达。核内小 RNAU6 作为内参。相对 RNA 表达水平用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法定量。本文所用引物用 Primer Premier 4.0 软件设计,序列如下所示: miR-

30 F: 5'-CAGCTGCAAACATCCGACTG-3' 和 R: 5'-GCCACTGTAAACATCCTCGAC-3'; U6 F: 5'-CCCTT CGGGACATCCGATA-3' 和 R: 5'-TTTGTGCGTGT CATCCTTGC-3'。

1.3.3 MTT

根据制造商的说明,通过 MTT 试剂盒评估 miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组细胞增殖,并通过酶标仪在 450 nm 波长下检测吸光度。

1.3.4 平板克隆试验

miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组细胞接种在 6 孔板中,培养 14 d。用 4% 多聚甲醛固定细胞并用 0.1% 结晶紫染色,计算每个细胞系的克隆总数。

1.3.5 细胞迁移

将 miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组细胞接种在无血清培养基中的 6 孔板中并生长至 90% 密度,用无菌 200 μ L 移液器尖端在培养皿正中线处垂直划痕。在划痕伤口放置后 0 h 和 48 h 测量划痕面积,计算迁移率。

1.3.6 细胞侵袭

使用 24 孔板中的 8 μ m 小室过滤器进行细胞迁移和侵袭测定。miR-30 阴性对照组和 miR-30 转染组(每毫升 3×10^4 个)细胞接种在上室,用 Matrigel 胶包被。细胞在 200 μ L 无血清培养基中培养。将 500 μ L 补充有 10% FBS 的培养基加入下室。细胞培养 24 h,然后将迁移到下部隔室并粘附膜上的细胞用甲醇固定并用结晶紫染色。对细胞进行拍照,对每个孔中随机选择的 3 个视野中的细胞进行计数。

1.3.7 Western blot

RIPA 蛋白提取试剂盒用于提取 miR-30 阴性对照组、miR-30 转染组、miR-30 转染+Zeb2 阴性对照组和 miR-30 转染+Zeb2 转染组细胞内总蛋白。等量的细胞蛋白用 SDS-PAGE 电泳分离,转移到 PVDF 膜上,用适当的一抗(兔抗 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Snail、Slug、Zeb2 和 β -actin)和 HRP 偶联的二抗孵育。化学发光系统用于印迹显影。

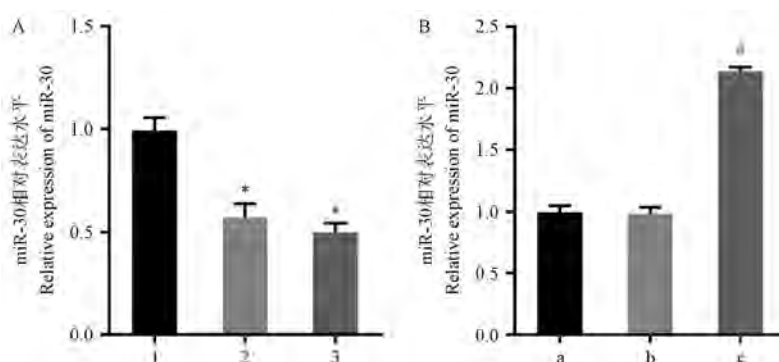
1.4 统计学方法

所有数据均以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 19.0 软件进行分析。两组之间平均表达水平的差异通过独立样本 *t* 检验进行评估。 $P < 0.05$ 认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-30 在正常和胆囊癌细胞中的表达水平差异

我们验证了 miR-30 在正常胆囊上皮细胞和胆囊癌细胞的表达水平,以确定 miR-30 在胆囊癌细胞中的角色,结果显示同正常胆囊细胞上皮细胞相比,两种胆囊癌细胞 GBC-SD 和 NOZ 中 miR-30 表达水平明显下调,具有统计学差异($P < 0.05$) (图 1A)。为了观察 miR-30 对 GBC-SD 细胞生物学功能的改变,我们通过转染 miR-30 mimic 或其阴性对照 miRNA 探索其对细胞增殖的影响。如图 1B 所示,同转染 miR-30 阴性对照组细胞相比,转染 miR-30 mimic (miR-30 转染组)细胞 miR-30 表达水平显著



注:1:人胆囊上皮细胞 HGBEC;2:人胆囊癌细胞 GBC-SD;3:人胆囊癌细胞 NOZ。a:空白组;b:miR-30 阴性对照组;c:miR-30 转染组。与人胆囊上皮细胞 HGBEC 相比, * $P < 0.05$;与 miR-30 阴性对照组相比, # $P < 0.05$ 。

图 1 miR-30 在正常和胆囊癌细胞中的表达水平差异

Note. 1, Gallbladder epithelial cells HGBEC. 2, Human gallbladder cancer cells GBC-SD. 3, Human gallbladder cancer cells NOZ. a, Control group. b, miR-30 negative control group. c, miR-30 transfection group. Compared with the human gallbladder epithelial cell HGBEC, * $P < 0.05$. Compared with the miR-30 negative control group, # $P < 0.05$.

Figure 1 Difference in the expression level of miR-30 between normal and gallbladder cancer cells

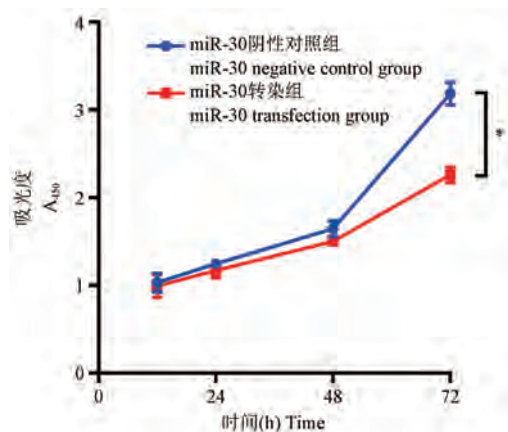
上调($P<0.05$)。而空白组和阴性对照组之间没有显著的统计学差异($P>0.05$)。

2.2 过表达 miR-30 可以明显抑制 GBC-SD 细胞增殖

通过 MTT 试验检测细胞增殖能力的改变。如图 2 所示,同 miR-30 阴性对照组细胞相比,miR-30 转染组细胞增殖能力明显抑制($P<0.05$)。

2.3 过表达 miR-30 可以明显抑制 GBC-SD 细胞克隆形成

通过平板克隆试验检测细胞增殖数目的改变。如图 3 所示,同 miR-30 阴性对照组的细胞数目相比,miR-30 转染组细胞增殖数目明显减少($P<0.05$)。

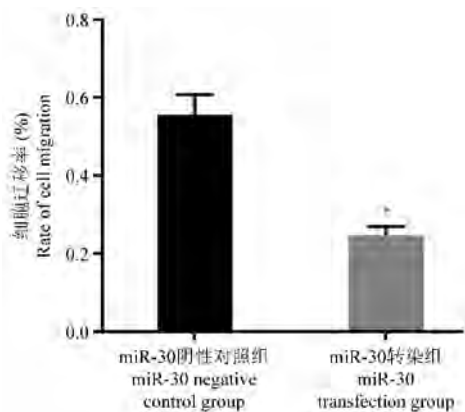


注:与 miR-30 阴性对照组相比, * $P<0.05$ 。

图 2 miR-30 和 miR-NC 对 GBC-SD 细胞增殖的影响

Note. Compared with miR-30 negative control group, * $P<0.05$.

Figure 2 Effects of miR-30 and miR-NC on the proliferation of GBC-SD cells



注:与 miR-30 阴性对照组相比, * $P<0.05$ 。

图 4 miR-30 和 miR-NC 对 GBC-SD 细胞迁移能力的影响

Note. Compared with miR-30 negative control group, * $P<0.05$.

Figure 4 Effects of miR-30 and miR-NC on the migratory ability of GBC-SD cells

2.4 过表达 miR-30 可以明显抑制 GBC-SD 细胞迁移能力

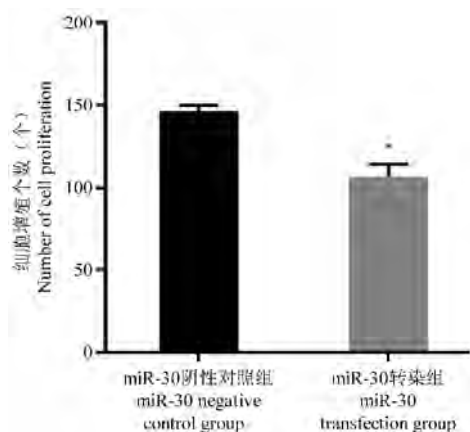
通过划痕试验检测细胞迁移能力改变。如图 4 所示,同 miR-30 阴性对照组细胞相比,miR-30 转染组细胞迁移率明显降低($P<0.05$)。

2.5 过表达 miR-30 可以明显抑制 GBC-SD 细胞侵袭能力

通过 TransWell 小室试验检测细胞迁移能力改变。如图 5 所示,同 miR-30 阴性对照组细胞相比,miR-30 转染组细胞侵袭明显减少($P<0.05$)。

2.6 过表达 miR-30 可以明显抑制 GBC-SD 细胞 EMT 进程

为了研究 miR-30 是否参与了 GBC-SD 细胞的

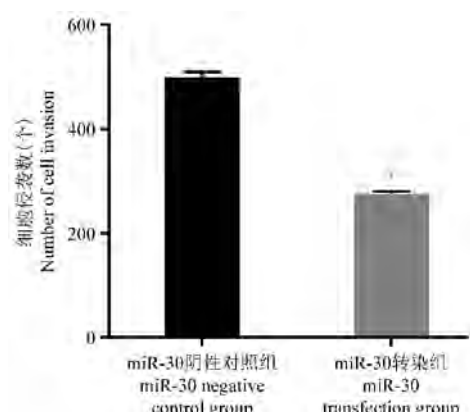


注:与 miR-30 阴性对照组相比, * $P<0.05$ 。

图 3 miR-30 和 miR-NC 对 GBC-SD 细胞克隆数目的影响

Note. Compared with miR-30 negative control group, * $P<0.05$.

Figure 3 Effects of miR-30 and miR-NC on the colony number of GBC-SD cell



注:与 miR-30 阴性对照组相比, * $P<0.05$ 。

图 5 miR-30 和 miR-NC 对 GBC-SD 细胞侵袭能力的影响

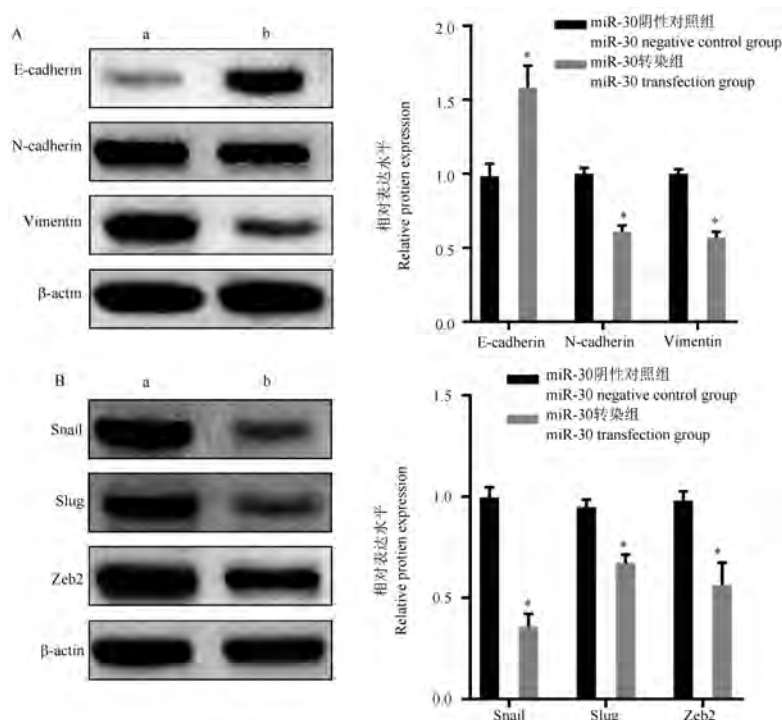
Note. Compared with miR-30 negative control group, * $P<0.05$.

Figure 5 Effects of miR-30 and miR-NC on the invasive ability of GBC-SD cells

EMT 进程,我们评估了细胞被 miR-30 或 miR-NC 处理后的 EMT 标志物蛋白 (E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin) 的表达水平,图 6 结果显示,同 miR-30 阴性对照组细胞相比, E-cadherin 表达水平在转染 miR-30 mimic 细胞中显著升高,而 N-cadherin 和 Vimentin 表达水平显著下降 ($P<0.05$), EMT 相关转录因子 (Snail、Slug 和 Zeb2) 蛋白水平下调 ($P<0.05$)。

2.7 过表达 Zeb2 可以逆转 miR-30 导致的 EMT 抑制作用

为验证 E-cadherin 能被 EMT 相关的转录因子 Zeb2 靶向结合,进行了拯救试验。共表达质粒 Zeb2 +miR-30 或其阴性对照物 Vector+miR-30 分别转染 GBC-SD 细胞,结果显示 Zeb2 可以明显逆转 miR-30 所引起的 EMT 相关蛋白 (E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin) 的表达水平 ($P<0.05$) (图 7)。

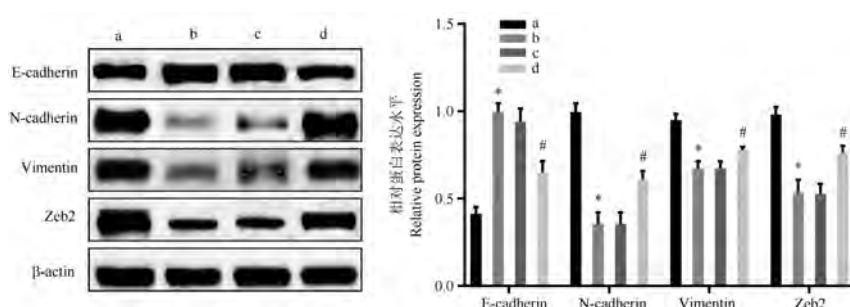


注:a:miR-30 阴性对照组;b:miR-30 转染组。与 miR-30 阴性对照组相比, * $P<0.05$ 。

图 6 miR-30 和 miR-NC 对 GBC-SD 细胞 EMT 的影响

Note. a, miR-30 negative control group. b, miR-30 transfection group. Compared with miR-30 negative control group, * $P<0.05$.

Figure 6 Effects of miR-30 and miR-NC on the EMT of GBC-SD cells



注:a:miR-30 阴性对照组;b:miR-30 转染组;c:miR-30 转染+Zeb2 阴性对照组;d:miR-30 转染+Zeb2 转染组。与 miR-30 阴性对照组相比, * $P<0.05$;与 miR-30 转染+Zeb2 阴性对照组比较, # $P<0.05$ 。

图 7 过表达 Zeb2 对 miR-30 引起 GBC-SD 细胞 EMT 的逆转作用

Note. a, miR-30 negative control group. b, miR-30 transfection group. c, miR-30 transfection+Zeb2 negative control group. d, miR-30 transfection+Zeb2 transfection group. Compared with miR-30 negative control group, * $P<0.05$. Compared with miR-30 transfection+Zeb2 negative control group, # $P<0.05$.

Figure 7 The reversal effect of overexpression of Zeb2 on the EMT of GBC-SD cells caused by miR-30

3 讨论

证据表明 miRNAs 在多种癌症中失调^[12],并作为肿瘤抑制因子或启动子发挥作用^[13]。研究揭示了 GBC^[14]中的许多 miRNA 特征,但 miRNA 在 GBC 中的发病机制中的确切作用仍不清楚。我们选择 miR-30 作为本研究的目标分子,表明了 miR-30 在 GBC 的发生和发展中起着重要作用。我们发现与正常胆囊上皮细胞相比,GBC 细胞中 miR-30 的表达显著下调。miR-30 家族的成员包括 miR-30b、miR-30c、miR-30d 和 miR-30e。作为一组肿瘤抑制因子,miR-30 家族在许多人类癌症中被下调,包括结直肠癌^[15]、肺癌^[16]、甲状腺癌^[17]和胃癌^[18]。我们证明 miR-30 显著抑制 GBC 细胞增殖、迁移和侵袭。

EMT 是一种生物学过程,通过该过程,上皮细胞失去极性和粘附能力,并获得间充质细胞的迁移和侵袭特性^[19]。EMT 在调节许多人类癌症的肿瘤侵袭和转移中起关键作用^[20-21]。miRNA 是 EMT 的关键的调节因子^[22],通过参与 EMT 相关信号通路并与 EMT 相关转录因子相互作用。例如,miR-30 通过直接靶向因子(Snail、Slug 和 Zeb2)3' UTR 抑制 EMT 的进展^[23]。Snail 是 EMT 的中心调节剂,已观察到它在所有 EMT 过程中发挥作用,并与侵入行为相关^[24]。Snail 通过直接调节上皮和间充质基因转录激活 EMT。Snail 通过其羧基末端锌指结构域与 E-cadherin 启动子区域上的 E-box DNA 序列结合抑制 E-cadherin 表达^[25]。Slug 是 Snail 超家族的另一个成员,在 EMT 进展中的作用与 Snail 类似,通过抑制 E-cadherin 表达和增强 Vimentin 和纤连蛋白表达行使功能^[24]。Slug 受 MMP-19 正向调控可与 Slug 启动子区域结合,随后激活的 Slug 可增加受体酪氨酸激酶 Axl 的表达,以通过正反馈环路维持 Slug 表达并稳定 GBC 细胞中的 EMT^[26]。Zeb2 是一种可驱动 EMT 的转录因子,其表达通常在 Snail 表达激活之后^[27]。Zeb2 在 GBC 侵袭位点高表达并通过抑制 E-cadherin 和 T-cadherin 表达并在转录水平增加 N-cadherin 和 Vimentin 表达提高侵袭潜力^[28]。在本研究中,我们发现用 miR-30 mimic 处理改变了 EMT 相关蛋白的表达,包括 E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin。并阻止了 EMT 转录因子的 Snail、Slug 和 Zeb2 的上调。另外,过表达 miR-30 可以明显逆转 GBC-SD 细胞 EMT 进程。

我们在体外实验中证明了 miR-30 在 GBC 细胞增殖和迁移和侵袭中的关键作用,可能是通过靶向 EMT 相关转录因子 Zeb2。我们的研究结果提供了对 GBC EMT 进展机制的新见解,表明 miR-30 可能作为抑制 GBC 的新靶点。

参考文献:

- [1] Song X, Hu Y, Li Y, et al. Overview of current targeted therapy in gallbladder cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 230.
- [2] Baichan P, Naicker P, Devar JWS, et al. Targeting gallbladder cancer: a pathway based perspective [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(3): 2361-2369.
- [3] Erdem S, White RR. Incidental gallbladder cancer: permission to operate [J]. *Ann Surg Oncol*, 2020, 27(4): 980-982.
- [4] Lam R, Zakko A, Petrov JC, et al. Gallbladder disorders: a comprehensive review [J]. *Dis Mon*, 2021, 67(7): 101130-101135.
- [5] Sun HD. microRNA-195-5p inhibits malignant progression of gallbladder cancer by regulating Wnt3a [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(24): 7635-7642.
- [6] Panni S, Lovering RC, Porras P, et al. Non-coding RNA regulatory networks [J]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2020, 1863(6): 194411-194417.
- [7] An Y, Zhang Z, Shang Y, et al. miR-23b-3p regulates the chemoresistance of gastric cancer cells by targeting ATG12 and HMGB2 [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(5): 1766-1769.
- [8] Yin H, Wang Y, Wu Y, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing of miR-29/miR-30 targets LOXL4 and contributes to tumorigenesis, metastasis, and immune microenvironment remodeling in breast cancer [J]. *Theranostics*, 2020, 10(19): 8494-8512.
- [9] Sun T, Liu Z, Zhang R, et al. Long non-coding RNA LEF1-AS1 promotes migration, invasion and metastasis of colon cancer cells through miR-30-5p/SOX9 axis [J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13(3): 2957-2972.
- [10] Huang XY, Zhang PF, Wei CY, et al. Circular RNA circMET drives immunosuppression and anti-PD1 therapy resistance in hepatocellular carcinoma via the miR-30-5p/snail/DPP4 axis [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 92-96.
- [11] Zhou J, Gong G, Tan H, et al. Urinary microRNA-30a-5p is a potential biomarker for ovarian serous adenocarcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(6): 2915-2923.
- [12] He B, Zhao Z, Cai Q, et al. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(14): 2628-2647.
- [13] Ferragut Cardoso AP, Udoh KT, States JC. Arsenic-induced changes in miRNA expression in cancer and other diseases [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 22(3): 115306-115310.
- [14] Tiwari PK. Epigenetic biomarkers in gallbladder cancer [J].

- Trends Cancer, 2020, 6(7): 540–543.
- [15] Huang X, Zhu X, Yu Y, et al. Dissecting miRNA signature in colorectal cancer progression and metastasis [J]. Cancer Lett, 2021, 5(2): 66–82.
- [16] Zhong S, Golpon H, Zardo P, et al. miRNAs in lung cancer. A systematic review identifies predictive and prognostic miRNA candidates for precision medicine in lung cancer [J]. Transl Res, 2021, 23(2): 164–196.
- [17] Colombo C, Minna E, Gargiuli C, et al. The molecular and gene/miRNA expression profiles of radioiodine resistant papillary thyroid cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 245–247.
- [18] Baj J, Korona-Główniak I, Forma A, et al. Mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition and tumor microenvironment in helicobacter pylori-induced gastric cancer [J]. Cells, 2020, 9(4): 1055–1057.
- [19] Babaei G, Aziz SG, Jaghi NZZ. EMT, cancer stem cells and autophagy; The three main axes of metastasis [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133(3): 110909–110911.
- [20] Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis [J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(3): 212–226.
- [21] Roy S, Sunkara RR, Parmar MY, et al. EMT imparts cancer stemness and plasticity: new perspectives and therapeutic potential [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2021, 26(2): 238–265.
- [22] El Bezawy R, Cominetti D, Fenderico N, et al. miR-875-5p counteracts epithelial-to-mesenchymal transition and enhances radiation response in prostate cancer through repression of the EGFR-ZEB1 axis [J]. Cancer Lett, 2017, 395(2): 53–62.
- [23] Cao G, Li S, Shi H, et al. Schisandrin B attenuates renal fibrosis via miR-30e-mediated inhibition of EMT [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 385(9): 114769–11473.
- [24] Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition [J]. Cell Res, 2009, 19(2): 156–172.
- [25] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(3): 178–196.
- [26] Lee DG, Lee SH, Kim JS, et al. Loss of NDRG2 promotes epithelial-mesenchymal transition of gallbladder carcinoma cells through MMP-19-mediated Slug expression [J]. J Hepatol, 2015, 63(6): 1429–1439.
- [27] Fu X, Deng X, Xiao W, et al. Downregulation of NEAT1 sensitizes gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells to gemcitabine through modulation of the miR-506-3p/ZEB2/EMT axis [J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(8): 3841–3856.
- [28] Adachi Y, Takeuchi T, Nagayama T, et al. Zeb1-mediated T-cadherin repression increases the invasive potential of gallbladder cancer [J]. FEBS Lett, 2009, 583(2): 430–436.

[收稿日期] 2021–12–09

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11–2986/Q 国际刊号 ISSN 1005–4847 邮局代号 2–748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgxydw.cnjournals.com/>

期待您的来稿!