siRNA 沉默 Msi1 表达对宫颈癌 Hela 细胞增殖、迁移及侵袭的影响

赵芳　许春伟　魏建国　梁文清　吴芬英　王宁

【摘要】 **目的**　探讨 siRNA 沉默 Msi1 基因表达对人宫颈癌 Hela 细胞增殖、迁移及侵袭的影响。**方法**　针对 Msi1 基因 mRNA 序列设计合成 siRNA，转染人宫颈癌 Hela 细胞；实验分 Msi1 siRNA 组、空白对照组、脂质体组及阴性对照组；通过 RT-PCR 法检测 Msi1 基因在 mRNA 水平的表达；分别利用四甲基偶氮唑盐（MTT）比色试验、群体倍增时间及平皿克隆实验分析干扰 Msi1 基因对人宫颈癌 Hela 细胞的生长抑制效应；通过细胞划痕实验观察干扰 Msi1 对细胞迁移能力的影响；利用 Transwell 小室实验观察干扰 Msi1 对细胞侵袭能力的影响。**结果**　Msi1 siRNA 能有效抑制人宫颈癌 Hela 细胞中 Msi1 基因的表达；Msi1 siRNA 转染 Hela 细胞 24、48、72h 后，与其他各组比较，Msi1 siRNA 组 Hela 细胞的生长、增殖速度明显减缓（均 $P<0.05$）。空白对照组 Hela 细胞群体倍增时间为（20.18±0.01）h，而干扰 Msi1 基因处理后的 Hela 细胞，群体倍增时间延长至（35.68±0.04）h（$P<0.05$）；同时平皿克隆实验结果发现，Msi1 siRNA 处理后的 Hela 细胞与其他各组相比，Hela 细胞生长明显减慢（均 $P<0.05$）；细胞划痕实验和 Transwell 小室实验分别显示处理后的 Hela 细胞其迁移和侵袭能力均明显下降，与其他各组相比差异均有统计学意义（均 $P<0.05$）。**结论**　沉默 Msi1 基因表达对人宫颈癌 Hela 细胞的增殖、迁移及侵袭有负性调节作用。

【关键词】 宫颈癌　Msi1　siRNA　增殖　迁移　侵袭

Effect of Msi1 siRNA on proliferation, migration and invasion of Hela cells

ZHAO Fang, XU Chunwei, WEI Jianguo, et al. Department of Gynecology and Obstetrics, Shaoxing Central Hospital, Shaoxing 312030, China

【Abstract】 **Objective**　To investigate the effect of silencing Msi1 gene with siRNA on proliferation, migration and invasion of Hela cells. **Methods**　Msi1-specific siRNA was designed and synthesized, and the small interfering RNA was transfected into Hela cells to knockdown the Msi1 expression. The Hela cells divided into Msi1 siRNA group, blank control group, liposome group and negative control group. mRNA levels of Msi1 was detected by RT-PCR; MTT assay, cell average doubling time analysis and plate cloning experiment were employed to confirm Msi1 siRNA-induced cell growth inhibition in Hela cells. Cell migration and invasion were respectively detected by wound healing assay and Transwell assay. **Results**　RNA interference efficiently suppressed the Msi1 expression in Hela cells. After transfection with Msi1 siRNA for 24, 48 and 72h, proliferation rate of Hela cells was reduced(all $P<0.05$) , the average doubling time retarded from (20.18±0.01)h of normal cultured Hela cells to (35.68±0.04)h of Msi1 siRNA transfected Hela cells ($P<0.05$); the plate cloning assay showed that the growth rate of Msi1 siRNA group was lower than other groups(all $P<0.05$); wound healing assay and Transwell assay showed that the migration and invasion abilities of Hela cells were significantly reduced after Msi1 gene knockdowned (all $P<0.05$). **Conclusion**　Downregulation of Msi1 gene expression results in significant inhibition of proliferation, migration and invasion in Hela cells.

【Key words】 Uterine cervix cancer　Msi1　siRNA　Proliferation　Migration　Invasion

宫颈癌是全球女性第二种最常见的恶性肿瘤，宫颈癌的浸润和转移是肿瘤患者死亡的最主要原因之一。目前宫颈癌的综合治疗尽管包括手术、化疗及放疗等不同手段，但患者的 5 年生存率仍然未见明显提高[1]。近年来，宫颈癌发病呈年轻化趋势，并且出现易复发及易早期转移的特点，肿瘤一旦发生复发或远处转移，综合治疗效果极差。因此，在目前基因研究的基础上，寻找有效的基因治疗靶点，可能是提高患者预后的关键

doi：10.12056/j.issn.1006-2785.2018.40.12.2017-2476

作者单位：312030　绍兴市中心医院妇产科（赵芳、吴芬英）；福建省肿瘤医院分子实验室（许春伟）；绍兴市人民医院病理科（魏建国、梁文清）；绍兴市中医院病理科（王宁）

通信作者：王宁，E-mail：zf1982@163.com

《浙江医学》网址：www.zjyxzz.com

举措之一。而 Msi1 是最近才发现的一种特殊的RNA 结合蛋白,研究证明 Msi1 在中枢神经系统的发展和干细胞的生长增殖过程中均发挥着十分重要的作用[2]。近年来多项研究发现 Msi1 在多种恶性肿瘤中高表达[3-4]。研究认为 Msi1 基因不仅仅是不同肿瘤的肿瘤干细胞和(或)祖细胞的原始标志物[5],而且在多种肿瘤的发生、发展及恶性转归过程中可能作为一个主控调节者,扮演着十分重要的角色[6]。为此,本实验首先通过 RT-PCR 法检测 Msi1 在人宫颈癌 Hela 细胞中的表达情况,然后使用 siRNA 沉默 Msi1 的表达,采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色试验、群体倍增时间分析、平皿克隆实验、细胞划痕及 Transwell 小室侵袭实验等技术方法,研究沉默 Msi1 基因后对人宫颈癌 Hela 细胞增殖、迁移及侵袭的影响情况。

1 材料和方法

1.1 材料 人宫颈癌 Hela 细胞由南华大学肿瘤研究所提供;siRNA 片段的设计及合成均由上海锐博生物技术公司完成;转染过程中用到的 Lipo2000 脂质体转染试剂和 Trizol 试剂均来自美国 Invitrogen 公司;FBS 购自杭州四季青生物技术有限公司;逆转录试剂盒(ABScript Ⅱ cDNA 第一链合成试剂盒)购自美国 Promega 公司;Transwell 小室(聚碳酸酯微孔膜孔径 8μm)购自美国 Costar 公司;MTT 购自美国 Sigma 公司。

1.2 细胞培养 Hela 细胞常规培养在含 10%FBS 的 RPMI 1640 完全培养基中,放置于 37℃、5%CO_2、95%湿度的细胞培养箱中培养。当 Hela 细胞在培养瓶底部呈单层片状弥漫生长时,如果融合贴壁达到 80%时,则进行常规的细胞传代;Hela 细胞传代时常规吸去培养瓶中的陈旧培养液,用 0.25%胰蛋白酶及时消化,同时在倒置显微镜下观察,如果发现 Hela 细胞的胞质回缩,Hela 细胞之间的间隙逐渐增大后,立即倒去胰酶,防止细胞过度消化,立刻加入适量含血清的培养液,吹打 Hela 细胞成单细胞的悬液,然后常规传代分装继续培育,准备足够量的细胞进行后续实验。

1.3 RNA 干扰试验 首先配制 siRNA-Lipo2000 的混合液:(1)轻轻晃荡摇匀脂质体 Lipo2000,然后用不含血清的 DMEM 溶液稀释适量的 Lipo2000,放置于室温下孵育 3min;(2)用不含血清的 DMEM 稀释已备好的 siRNA 片段,最后将稀释的 siRNA 片段和稀释的 Lipo2000 轻轻混和摇匀,放置于室温下培养 20min,形成 siRNA-Lipo2000 融合的混和液。siRNA 转染细胞:首先取处于对数生长期的 Hela 细胞按照 5×10^5/孔的原则,接种于 6 孔板细胞培养器中,每孔中加入不含抗生素的培养基适量,待 Hela 细胞密度达 40%左右时及时进行转染。注意在加入混合液前,应该换用 1ml 无抗生素、无血清的培养基,将已备好的 siRNA-Lipo2000 混和液加入 6 孔中,轻轻摇晃孔板使其与细胞充分混和;最后放置于 37℃的 CO_2 培养箱中孵育 5h 后,更换含有血清的培养基继续培养,观察细胞铺满后备用。

1.4 RT-PCR 法检测宫颈癌 Hela 细胞中 Msi1 mRNA 表达水平 待 6 孔板中的 Hela 细胞转染 Msi1 siRNA 24h 后收集细胞,按 Trizol Rengent 试剂盒说明,立即提取 Hela 细胞的总 RNA,利用琼脂糖凝胶电泳实验初步评价 RNA 的质量。按照 Promega 两步法试剂盒提供的说明书进行 RT-PCR 实验。Msi1 上游引物为 5′-AGCATTATCATTACCACGCTCATTT-3′,下游引物为 3′-GATCCTTCAC CGTCTCGACCCTG-5′,扩增产物为 384bp;β-actin 上游引物为 5′-ATCTGGCACCACAC-CT-3′,下游引物为 5′-CGTCATACTCCTGCTT-3′,产物大小为 838bp。最后对 RT-PCR 的实验产物进行琼脂糖凝胶电泳实验,利用凝胶成像系统分析结果。

1.5 MTT 比色试验检测细胞增殖速度 将预备好的 Hela 细胞 1×10^5/m 接种于 96 孔板细胞培养器,在细胞培养箱中孵育 24h 后加入 siRNA-Lipo2000 混合液作为 Msi1 siRNA 组,同时设 4 个平行实验孔。另设空白对照组、脂质体组及阴性对照组,空白对照组在后续的实验过程中不添加任何试剂,脂质体组仅添加脂质体试剂,阴性对照组添加 FBS 作对照实验;分别放置培养箱中孵育 24、48、72h 后,加 MTT 溶液 20μl/孔(5mg/ml)。继续放置于培养箱中孵育 3h 后终止 Hela 细胞的培养,吸弃孔内液体,于每孔加入 100μl 二甲基亚砜,晃荡振荡 15min,然后置于酶标仪上测定各孔波长 570 时的吸光度(OD)值。

1.6 Hela 细胞群体倍增时间分析 常规取对数生长期的 Hela 细胞,按照 3×10^5/孔的原则,将 Hela 细胞接种于 24 孔细胞培养板培养 6h,待 Hela 细胞贴壁后更换成无抗生素、无血清的培养基继续培养,实验分组同前,Msi1 siRNA 组加入 siRNA-Lipo2000 混合液。培养 6h 后,更换成有血清的培养基继续培养,每 24h 取 4 复孔细胞计数,连续反复操作 96h,然后求其均值及标准差,最后绘制各组 Hela 细胞的生长曲线。肿瘤细胞群体倍增时间按公式计算:倍增时间=t×lg2/lg(Nt/N0)(Nt 为 t 时间的细胞数,N0 为初种细胞数)。

1.7 平皿克隆实验检测细胞克隆时间分析 常规取对数生长期的 Hela 细胞接种于 24 孔细胞培养板中,

《浙江医学》网址:www.zjyzz.com

待细胞基本完全贴壁后，更换用无血清、无抗生素的培养基继续培养，实验分组同前，Msi1 siRNA 组中加入均匀的 siRNA-Lipo2000 混合液，继续培养 6h 后，更换成含有血清的培养基继续孵育，每隔 48h 重复以上操作。按照以上培养原则继续培养 Hela 细胞 14d，最后弃去培养液，用 0.01mol/L PBS 浸洗 3 次后放于 95%的乙醇溶液中固定 8min，最后弃去固定液，然后加入适量甲基紫染色 15min，弃去甲基紫染液，放置于空气中充分干燥。肉眼观察不同实验组 Hela 细胞的克隆形成情况，并用数码相机拍照。

1.8　细胞划痕实验对细胞迁移能力分析　将 Hela 细胞按照 5×10^5/孔的原则，接种于 6 孔细胞培养板中，按照以上方法进行转染 Hela 细胞，并进行 Hela 细胞的培养，当细胞长至 95%左右时，用 10μl 的 Eppendorf Tip头在单层细胞上垂直划过，形成一个均匀的创伤通道。并利用新鲜配置的 PBS 溶液冲洗细胞 3 次后继续进行培养。24h 后在倒置显微镜下观察伤口通道的愈合情况。用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算划痕宽度。计算公式：迁移距离=初次划痕创伤通道之间的距离-24h 后创伤通道之间的距离，即迁移距离=原划痕宽度-现划痕宽度，迁移率=(原划痕宽度-现划痕宽度)/原划痕宽度。

1.9　细胞侵袭实验对细胞侵袭能力分析　首先将无血清的 RPMI 1640 培养基和 10mg/ml 的 Matrigel 以 5:1 的比例均匀充分混合后，以平均每孔 30μl 均匀平铺在 Transwell 小室的聚碳酸酯微孔膜上制作人工基底膜，然后置于细胞超净台内开启紫外灯照射 12h。在 Hela 细胞进行 Transwell 小室侵袭实验前 30min 时，必须重新成胶。将 Msi1 siRNA 组、空白对照组、脂质体组及阴性对照组的 Hela 细胞悬液 400μl 分别接种到成胶的 Transwell 小室内，然后将小室放入 24 孔细胞培养板；在 24 孔板内加入含趋化因子的培养基 500μl，然后再放置于 37℃，5%CO_2 饱和湿度条件下培养箱中培养 24h；最后将小室中的培养液迅速抽出，用棉签擦净上室的细胞，膜下层的 Hela 细胞再用 95%乙醇溶液固定 30min 后进行结晶紫溶液染色，最后在倒置显微镜下计数下层的 Hela 细胞数。计算公式为：侵袭抑制率=[(对照组穿膜细胞数-处理组穿膜细胞数)/对照组穿膜细数]×100%。

1.10　统计学处理　采用 SPSS 16.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD-t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　各组宫颈癌 Hela 细胞中 Msil mRNA 表达水平比较　空白对照组、脂质体组和阴性对照组 3 组之间 Msi1 mRNA 表达水平比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)，而 Msi1 siRNA 组与空白对照组、脂质体组和阴性对照组 Msi1 mRNA 表达水平比较，差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。转染 24h 后空白对照组、脂质体组、阴性对照组和 Msi1 siRNA 组细胞中 Msil mRNA 表达情况见图 1。

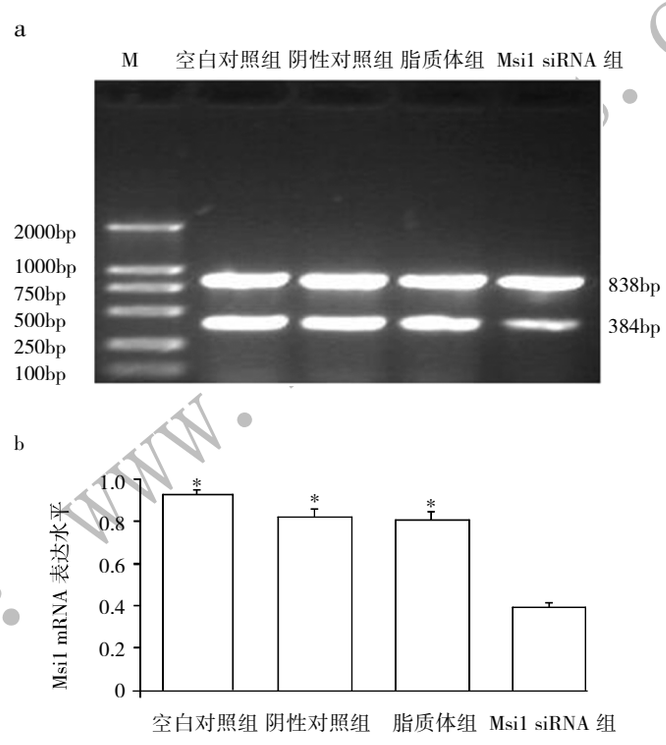

图 1　各组宫颈癌 Hela 细胞中 Msi1 mRNA 表达水平比较(a：电泳图显示各组 Msi1 mRNA 表达水平；b：柱状图显示 Msi1 mRNA 表达水平；与 Msi1 siRNA 组比较，*$P<0.05$)

2.2　Msi1 siRNA 对宫颈癌 Hela 细胞增殖的抑制作用　Msi1 siRNA 转染宫颈癌 Hela 细胞 24、48、72h 后，细胞的增殖速度显著降低，Msi1 siRNA 组与空白对照组、脂质体组和阴性对照组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)，脂质体组、空白对照组和阴性对照组 3 组之间比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)，见表 1。

表 1　Msi1 siRNA 转染 Hela 细胞后的 OD 值变化

组别	24h	48h	72h
Msi1 siRNA 组	0.51 ± 0.05	0.68 ± 0.04	1.10 ± 0.02
空白对照组	1.01 ± 0.02*	1.21 ± 0.03*	1.62 ± 0.03*
脂质体组	0.91 ± 0.04*	1.09 ± 0.04*	1.47 ± 0.04*
阴性对照组	0.83 ± 0.03*	0.94 ± 0.05*	1.42 ± 0.05*
P 值	<0.05	<0.05	<0.05

注：与 Msi1 siRNA 组比较，*$P<0.05$

2.3 Msi1 siRNA 对 Hela 细胞群体倍增时间的影响 Msi1 siRNA 组群体倍增时间较空白对照组、脂质体组和阴性对照组延长，差异均有统计学意义（均 $P<0.05$），见表 2。

表 2 Msi1 siRNA 对 Hela 细胞群体倍增时间的影响

组别	处理前细胞数（$\times 10^5$）	处理后细胞数（$\times 10^5$）	群体倍增时间（h）
Msi1 siRNA 组	1.0	1.60 ± 0.05	35.68 ± 0.04
空白对照组	1.0	2.33 ± 0.03*	20.18 ± 0.01*
脂质体组	1.0	1.95 ± 0.02*	23.21 ± 0.03*
阴性对照组	1.0	2.01 ± 0.04*	22.34 ± 0.02*
P 值		<0.05	<0.05

注：与 Msi1 siRNA 组比较，*$P<0.05$

2.4 平皿克隆实验分析 Msi1 siRNA 对宫颈癌 Hela 细胞形成克隆能力的影响 与空白对照组、脂质体组和阴性对照组比较，Msi1 siRNA 组 Hela 细胞的生长速度明显减慢，形成克隆的能力明显下降，而此结果与 MTT 结果保持一致，表明 Msi1 siRNA 作用于 Hela 细胞后，细胞生长增殖明显受到抑制，见图 2（插页）。

2.5 Msi1 siRNA 对宫颈癌 Hela 细胞迁移的影响 Msi1 siRNA 组 Hela 细胞迁移率均低于空白对照组、脂质体组和阴性对照组（均 $P<0.05$），见表 3。

表 3 Msi1 siRNA 对宫颈癌 Hela 细胞迁移的影响

组别	迁移距离（μm）		迁移率（%）
	0h	24h	
Msi1 siRNA 组	109.1 ± 0.69	80.5 ± 1.52	26.21 ± 1.38
空白对照组	106.1 ± 1.03	30.6 ± 2.23*	71.16 ± 1.53*
脂质体组	103.5 ± 0.75	36.3 ± 1.28*	64.93 ± 1.21*
阴性对照组	110.3 ± 0.85	35.5 ± 3.30*	67.82 ± 2.41*
P 值	>0.05	<0.05	<0.05

注：与 Msi1 siRNA 组比较，*$P<0.05$

2.6 Msi1 siRNA 对宫颈癌 Hela 细胞侵袭的影响 宫颈癌 Hela 细胞转染 Msi1 siRNA 后，Hela 细胞穿透聚碳酸脂膜的细胞均数均明显低于空白对照组、脂质体组和阴性对照组（均 $P<0.05$），侵袭抑制率均明显高于空白对照组、脂质体组和阴性对照组（均 $P<0.05$），见表 4。

表 4 Msi1 siRNA 对宫颈癌 Hela 细胞侵袭的影响

组别	侵袭细胞均数（个）	侵袭抑制率（%）
Msi1 siRNA 组	28.31 ± 1.43	61.33 ± 0.32
空白对照组	73.20 ± 1.43*	0.00 ± 0.00*
脂质体组	68.12 ± 2.12*	6.74 ± 0.21*
阴性对照组	69.51 ± 1.32*	5.04 ± 0.21*
P 值	<0.05	<0.05

注：与 Msi1 siRNA 组比较，*$P<0.05$

3 讨论

全球范围内宫颈癌是女性患者中发病率仅次于乳腺癌而位居第二位的恶性肿瘤，近年来宫颈癌的发病年龄一度呈现年轻化趋势，研究表明宫颈癌的发生也是一个多步骤、多基因参与的复杂过程，从不典型增生、原位癌到浸润性癌，经历了一个漫长的过程。近年来国外研究发现 Msi1 基因与多种恶性肿瘤的发生、发展、侵袭、转移等恶性行为密切相关[1-4]。

Msi1 是一类在神经系统发育过程中特异表达的 RNA 结合蛋白，其在线虫[7]、果蝇[8-9]的表达有较高的保守性和特殊性。研究表明哺乳动物中包含 Msi1 和 Msi2 两种结合蛋白，分别由 Msi1 和 Msi2 基因编码[10-11]。Glazer 等[12]研究发现 Msi1 基因不仅仅可作为肿瘤干细胞的标志物而影响神经发育，它还可能在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移过程中起十分重要的作用。有研究表明 Msi1 表达产物在胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、视网膜母细胞瘤、结肠癌、肝癌、胃癌、食管癌等多种恶性肿瘤中高表达，其通过促进恶性肿瘤细胞的增殖、抑制恶性肿瘤细胞的凋亡发挥作用[13-18]。目前 Msi1 在各种肿瘤细胞中的功能尚未被阐述清楚，有研究表明 Msi1 可以通过增强 Notch 通路的活性，并维护周期性依赖性蛋白激酶抑制剂 $p21^{CIP1}$ 的功能，从而达到维持肿瘤干细胞自我更新的能力，进一步调节其生长发育[19]。

本实验将 Msi1 siRNA 瞬时转染到人宫颈癌 Hela 细胞后，通过 RT-PCR 实验发现 Msi1 基因的表达水平显著下降；另外通过 MTT 实验进一步发现分别转染宫颈癌 Hela 细胞 24、48、72h 后，与空白对照组、脂质体组和阴性对照组相比，Msi1 siRNA 组 Hela 细胞的增殖速度明显降低；同时 Hela 细胞的群体倍增时间与其他各组相比明显延长，表明宫颈癌 Hela 细胞经 Msi1 siRNA 作用后，其细胞增殖周期延长，从而使得 Hela 细胞增殖速度明显减慢。同样平皿克隆实验结果也表明 Msi1 siRNA 组 Hela 细胞的生长明显减慢，形成克隆的能力显著下降。同时笔者通过细胞划痕实验和细胞侵袭实验分别显示：Msi1 siRNA 组 Hela 细胞迁移和侵袭能力都明显下降，以上结果表明沉默 Msi1 基因不仅可明显抑制 Hela 细胞的生长和增殖，而且还可以明显降低 Hela 细胞的迁移和侵袭能力。

《浙江医学》网址：www.zjyxzz.com

综上所述，Msi1 基因的表达与人宫颈癌 Hela 细胞的增殖、迁移及侵袭有着十分密切的关系。沉默人宫颈癌 Hela 细胞中 Msi1 基因的表达，会对 Hela 细胞的增殖、迁移及侵袭有着负性调节的作用，这一发现可能为治疗宫颈癌提供新的分子治疗靶点，并进一步启发抗肿瘤新药的研制。但是，肿瘤的发生、发展往往是多因素、多步骤共同启动进展的过程，并受到多种因子及涉及不同信号通路途径的调节过程，Msi1 基因能否作为一个恰当的关键点从而被用于宫颈癌的分子靶向治疗仍然有待于进一步研究。

4 参考文献

[1] Katanyoo K. Comparing treatment outcomes of stage IIIB cervical cancer patients between those with and without lower third of vaginal invasion[J]. J Gynecol Oncol,2017,28(6):e79. doi: 10.3802/jgo.2017.28.e79.

[2] Kawase S, Imai T, Miyauchi-Hara C, et al. Identification of a novel intronic enhancer responsible for the transcriptional regulation of musashi1 in neural stem/progenitor cells[J]. Mol Brain,2011,4:14. doi: 10.1186/1756-6606-4-14.

[3] Gong P, Wang Y, Gao Y, et al. Msi1 promotes tumor progression by epithelial-to-mesenchymal transition in cervical cancer [J]. Hum Pathol,2017,65:53-61. doi: 10.1016/j.humpath.

[4] 魏建国, 赵芳, 孙爱静. Msi1 siRNA 对人结肠癌 SW-480 细胞增殖的影响[J]. 临床与实验病理学杂志,2012,28(2):124 - 127. doi: 10.13315/j.cnki.cjcep.2012.02.028.

[5] Uren PJ, Vo DT, de Araujo PR, et al. RNA-Binding protein musashi1 Is a central regulator of adhesion pathways in glioblastoma [J]. Mol Cell Biol, 2015, 35(17):2965-2978. doi: 10.1128/MCB.00410-15.

[6] Chen K, Gao Q, Zhang W, et al. Musashi1 regulates survival of hepatoma cell lines by activation of Wnt signalling pathway [J]. Liver Int, 2015, 35(3):986-998. doi: 10.1111/liv.12458.

[7] Yoda A, Kouike H, Okano H, et al. Components of the transcriptional Mediator complex are required for asymmol/Letric cell division in C.elegans[J]. Development, 2005, 132(8):1885-1893. doi: 10.1242/dev.01776.

[8] Siddall NA, McLaughlin EA, Marriner NL, et al. The RNA-binding protein Musashi is required intrinsically to maintain stem cell identity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006,103(22):8402-8407. doi: 10.1073/pnas.0600906103.

[9] Nakamura M, Okano H, Blendy JA, et al. Musashi, a neural RNA-binding proteinrequired for Drosophila adult external sensory organ development[J]. Neuron, 1994, 13(1):67-81.

[10] Moghbeli M, Forghanifard MM, Aarabi A, et al.Clinicopathological sex- related relevance of musashi1 mRNA expression in esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. Pathol Oncol Res, 2014,20(2):427-433. doi: 10.1007/s12253-013-9712-3.

[11] Kudinov AE, Karanicolas J, Golemis EA, et al. Musashi RNA-binding proteins as cancer drivers and novel therapeutic targets[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(9):2143-2153. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2728.

[12] Glazer RI, Wang XY, Yuan H, et al. Musashi1: A stem cell marker no longer in search of a function[J]. Cell Cycle,2008,7(17):2635-2639. doi: 10.4161/cc.7.17.6522.

[13] Ying M, Wang S, Sang Y, et al. Regulation of glioblastoma stem cells by retinoic acid:role for Notch pathway inhibition[J]. Oncogene, 2011,30(31):3454-3467. doi: 10.1038/onc.2011.58.

[14] 魏建国, 赵芳, 孙爱静. Msi1 siRNA 对人结肠癌 SW-480 细胞迁移和侵袭能力的影响[J]. 医学研究杂志,2012,41(12):73-76.

[15] 王燕, 章建国, 张曙, 等.Msi1 基因沉默对人肝癌 HepG2 细胞的影响[J]. 交通医学, 2014, 28(2):115-118.

[16] Chen HY, Lin LT, Wang ML, et al. Musashi-1 enhances glioblastoma cell migration and cytoskeletal dynamics through translational inhibition of tensin3[J]. Sci Rep, 2017,7(1):8710. doi: 10.1038/s41598-017-09504-7.

[17] Qin G, Lian J, Yue D, et al. Musashi1, a potential prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2017, 38(3):1724-1732. doi: 10.3892/or.2017.5809.

[18] Ma L, Xu YL, Ding WJ, et al. Prognostic value of Musashi1 in endometrioid adenocarcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(5):4564-4572.

[19] Wang XY, Yin Y, Yuan H, et al. Musashi1 modulates mammary progenitor cell expansion through proliferin-mediated activation of the Wnt and Notch pathways[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(11):3589-3599. doi: 10.1128/MCB.00040-08.

（收稿日期：2017-10-17）
（本文编辑：陈丽）

（上接第 1306 页）

6071.doi:10.1002/cncr.27689.

[13] Ji Y, Zheng M, Ye S, et al. PTEN and Ki-67 expression is associated with clinicopathologic features of non-small cell lung cancer[J]. J Biomed Res, 2014, 28(6): 462-467.doi:10.7555/jbr.27.20130084.

[14] Zhao Y, Jing Z, Lv J, et al. Berberine activates caspase-9/cytochrome c-mediated apoptosis to suppress triple-negative breast cancer cells in vitro and in vivo[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95:18-24.doi:10.1016/j.biopha.2017.08.045.

（收稿日期：2017-09-05）
（本文编辑：陈丽）

《浙江医学》网址：www.zjyxzz.com