

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.16.009

## SMC4 对人乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响及其机制研究\*

郑世杨,黄泽楠,李 玺<sup>△</sup>

(中山大学附属第三医院甲乳外科,广州 510000)

**[摘要]** **目的** 探讨敲低染色体结构维持蛋白 4(SMC4)基因的表达对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖、迁移和侵袭能力的影响及其可能的机制。**方法** 用定量 PCR(qPCR)法检测 20 例乳腺癌患者乳腺癌组织及对应癌旁组织中 SMC4 的表达情况,并用 qPCR 及蛋白质印迹法(Western blot)检测人乳腺上皮细胞(MCF10A)及人乳腺癌细胞(MDA-MB-231、T47D、SK-BR-3、MCF7、MDA-MB-468)中 SMC4 的表达情况。用小分子干扰 RNA(siRNA)特异性干扰 MDA-MB-231 中 SMC4 的表达后,用 qPCR 及 Western blot 检测干扰效果,用 CCK8 及平板克隆实验检测其增殖与克隆形成能力,Transwell 小室检测其迁移及侵袭能力,用 Western blot 检测可能影响的通路蛋白表达情况。**结果** SMC4 在乳腺癌组织中的表达明显高于癌旁组织( $t=3.265, P<0.05$ )。SMC4 在乳腺癌细胞系中的表达明显高于 MCF10A。在成功用 siRNA 干扰 SMC4 表达后,MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移及侵袭能力均明显下降( $P<0.05$ ),且磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)及磷酸化磷脂酰肌醇-3-激酶(p-PI3K)的表达同样明显降低( $P<0.05$ ),而 AKT 及 PI3K 的表达则无明显影响。**结论** 干扰 SMC4 基因的表达可抑制 MDA-MB-231 的增殖、迁移及侵袭能力,其机制可能与 PI3K/AKT 信号通路的激活相关。

**[关键词]** 乳腺肿瘤;染色体结构维持蛋白 4;细胞增殖;迁移;肿瘤侵袭;RNA 干扰

**[中图分类号]** R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)16-2148-05

The effect and underline mechanism of SMC4 on the proliferation,migration and invasion of human breast cancer cell MDA-MB-231\*

ZHENG Shiyang, HUANG Ze'nan, LI Xi<sup>△</sup>

(Department of Thyroid and Breast Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangdong, Guangzhou 510000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect of down-regulation of structural maintenance of chromosome 4 (SMC4) on proliferation,migration and invasion capability of human breast cancer cell line MDA-MB-231 and its possible mechanism. **Methods** The expressions of SMC4 in breast cancer tissues and the corresponding adjacent tissues from 20 patients with breast cancer were detected by qPCR. The expressions of SMC4 in human mammary epithelial cell line (MCF10A) and breast cancer cell lines (MDA-MB-231, T47D, SK-BR-3, MCF7 and MDA-MB-468) were detected by qPCR and western blot. After down-regulated the expression of SMC4 in MDA-MB-231 by small interfering RNA (siRNA), qPCR and western blot were used to determine the effect of transfection, CCK8 and clone formation assay were used to detect the proliferation and clonogenicity, Transwell chamber assay was used to detect the migration and invasion, and the possible pathway associated proteins were detected by western blot. **Results** The expression level of SMC4 in breast cancer tissues was higher than that in corresponding adjacent tissues ( $P<0.05$ ). The expression levels of SMC4 in breast cancer cell lines (MDA-MB-231, T47D, SK-BR-3, MCF7 and MDA-MB-468) were higher than that in MCF10A ( $P<0.05$ ). After successfully down-regulated SMC4 expression by siRNA, the proliferation, migration and invasion capability of MDA-MB-231 were significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the expressions of p-AKT and p-PI3K were significantly decreased ( $P<0.05$ ), whereas the expressions of AKT and PI3K were not significantly affected. **Conclusion** Down-regulating the expression of SMC4 can inhibit proliferation, migration and invasion capability of MDA-MB-231, which may be related to the activation of PI3K/AKT signaling pathway.

**[Key words]** breast neoplasms; structural maintenance of chromosome 4; cell proliferation; migration; neoplasm invasiveness; RNA interference

\* 基金项目:广东省自然科学基金自由申请项目(2015A030313182);中山大学高校基本科研业务费重大项目培育和新兴学科、交叉学科资助计划项目(16ykjc20)。 作者简介:郑世杨(1992—),在读硕士,主要从事乳腺癌发生及发病机制研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: dr-lix@21cn.com。

乳腺癌是常见的恶性肿瘤之一,根据全球癌症报告,2016 年全球约 249 260 人诊断为乳腺癌,约占女性恶性肿瘤新发病例的 29%<sup>[1]</sup>。探究乳腺癌发生、发展的潜在机制,寻找新的治疗靶点仍是目前的研究热点。染色体结构维持蛋白 4 (structural maintenance of chromosome 4, SMC4) 是 SMC 的核心成员之一,在有丝分裂过程染色体的凝集和分离中发挥着重要作用<sup>[2-3]</sup>。此外,有研究指出 SMC4 可能参与各种非有丝分裂的染色体功能,如维持基因的沉默状态、DNA 修复等<sup>[4]</sup>。近年来研究发现,SMC4 在肝癌、结直肠癌、前列腺癌及胶质瘤等恶性肿瘤中均呈高表达,并与肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭密切相关<sup>[5-10]</sup>。目前,关于 SMC4 与乳腺癌的关系国内外鲜有报道。本研究着重检测 SMC4 在乳腺癌组织及其对应癌旁组织中的表达,并通过小分子干扰 RNA (siRNA) 特异性低 SMC4 表达来研究其对乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 的影响及潜在的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞株与组织标本** 人乳腺上皮细胞系 (MCF10A) 由本院疫苗研究所提供,人乳腺癌细胞株 (MDA-MB-231、T47D、SK-BR-3、MCF7、MDA-MB-468) 由中山大学肿瘤防治中心惠赠。20 份组织标本取自 2016 年 11 月至 2017 年 3 月在本院手术切除的乳腺癌患者,癌旁组织距离癌组织超过 3 cm,所有患者均由病理科确诊为浸润性乳腺癌,临床资料完整。在取得组织标本前患者均未接受过放化疗等其他抗肿瘤治疗。

**1.1.2 主要试剂** 胎牛血清 (FBS)、DMEM 高糖培养基、DMEM/F12 培养基及蛋白胰酶均购自美国 Gibco 公司,Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司,CCK-8 试剂购自日本东仁化学科技公司,反转录试剂盒及荧光定量 PCR 试剂盒购自德国 Roche 公司,兔抗人 SMC4 抗体购自美国 Abcam 公司,兔抗人磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)、磷酸化 PI3K (p-PI3K)、蛋白激酶 B (AKT)、磷酸化 AKT (p-AKT) 抗体均购自美国 CST 公司。引物由 Thermo Fisher Scientific 公司合成。SMC4 特异性 siRNA 由广州市锐博生物科技有限公司设计合成,其对应的靶序列是:5'-CCA CAA GAG TAG CAT ATC A-3',转染试剂购自广州市锐博生物科技有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 人乳腺癌细胞 (MDA-MB-231、T47D、SK-BR-3、MCF7、MDA-MB-468) 于含有 FBS (10%)、青霉素 (100 U/mL) 及链霉素 (100  $\mu$ g/mL) 的 DMEM 高糖培养基中,人乳腺上皮细胞系 (MCF10A) 于含有马血清 (5%)、胰岛素 (10  $\mu$ g/mL)、表皮生长因子 (20 ng/mL)、霍乱毒素 (100 ng/mL)、氢化可的松 (0.5  $\mu$ g/mL) 的 DMEM/F12 (1:1) 培养

基中,37  $^{\circ}$ C,5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱常规培养。

**1.2.2 瞬时转染** 将 MDA-MB-231 细胞接种到 6 孔板上,当细胞密度到达 50%~60% 时即可进行转染。设 si-SMC4 组及 siRNA si-NC 组,每孔按照 10  $\mu$ L 1 $\times$ riboFECT<sup>TM</sup> CP Buffer,5  $\mu$ L 20  $\mu$ mol/L siRNA 储存液及 10  $\mu$ L riboFECT<sup>TM</sup> CP Reagent 配置转染复合物,并在室温孵育 10~15 min。然后将每孔 24  $\mu$ L 加入 6 孔板中,置于 37  $^{\circ}$ C、体积分数 5%  $\text{CO}_2$  恒温培养箱中培养,6 h 后更换培养液,48、72 h 后分别提取 RNA 及蛋白进行后续实验。并设未转染细胞为对照组。

**1.2.3 RNA 提取及反转录** 将 20 份乳腺癌组织及其癌旁组织标本在液氮中研磨成粉末,用 Trizol 试剂提取组织粉末、细胞总 RNA,检测 RNA 浓度后,按照 Roche 反转录说明书将 RNA 反转录成 cDNA。

**1.2.4 定量 PCR (qPCR) 检测 SMC4 mRNA 在组织及细胞中的表达** 以反转录获得的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,检测 SMC4 mRNA 在乳腺癌组织、对应的癌旁组织及各细胞系中的表达情况,以 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内参,反应条件为:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95  $^{\circ}$ C 10 s,60  $^{\circ}$ C 15 s,72  $^{\circ}$ C 20 s,共 40 个循环,溶解曲线 95  $^{\circ}$ C 5 s,65  $^{\circ}$ C 1 min,72  $^{\circ}$ C 20 s,97  $^{\circ}$ C 每秒 0.11  $^{\circ}$ C 逐步降温,42  $^{\circ}$ C 冷却。以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  值表示 SMC4 mRNA 的相对表达水平。SMC4 的上游引物序列为:5'-GAC TGA ACA CGA TGA GGG TAT G-3';下游引物序列为:5'-CAA CTC TCC GAC ACA AGA CTT TA-3'。

**1.2.5 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测细胞内 SMC4 蛋白的表达** 用蛋白裂解液提取细胞总蛋白,根据二喹啉甲酸 (BCA) 法检测到的蛋白浓度调整上样量,配置浓度为 10% 的分离胶,每条泳道上样量为 50  $\mu$ g,依次进行蛋白电泳、转膜、封闭,加入 SMC4 一抗 (1:300)、PI3K (1:1 000)、p-PI3K (1:1 000)、AKT (1:1 000)、p-AKT (1:1 000) 及 GAPDH 一抗 (1:1 000),4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。二抗室温孵育 2 h,暗室内电化学发光 (ECL) 显色拍照。

**1.2.6 细胞增殖活性检测** 设 si-SMC4 组、si-NC 组及对照组,每组 5 个复孔。取转染 24 h 后细胞,消化重悬使细胞终浓度为  $1\times 10^4$  cells/mL,按 1 000 个/孔接种于 96 孔板中,置于 37  $^{\circ}$ C、体积分数 5%  $\text{CO}_2$  恒温培养箱培养,分别于 0、1、2、3、4、5、6、7 d 内取出 96 孔板,每孔加 10  $\mu$ L CCK8,再放回培养箱中孵育 3 h,用酶标仪检测各孔 450 nm 处吸光度值 ( $A_{450}$  值)。

**1.2.7 平板克隆实验** 取转染 24 h 后细胞,消化重悬,按 1 000 个/孔接种于 6 孔板中,转动吹打使细胞均匀分布,并置于细胞培养箱中培养 10~14 d,肉眼可见细胞集群后取出,磷酸盐缓冲液 (PBS) 小心浸洗 1 次,用冰甲醇固定 15 min,再用 PBS 浸洗 1 次,用 0.1% 结晶紫染色 30 min,流水缓慢洗去染色液,空气

干燥后,在显微镜下计算克隆数,最终计算克隆形成率。克隆形成率=(克隆数/接种细胞数)×100%。

**1.2.8 细胞迁移及侵袭实验** 将 600  $\mu$ L 含有 10% FBS 的 DMEM 培养基加入 24 孔板中,再将 Transwell 小室放入 24 孔板中,若为侵袭实验,则首先需在上室加入用无血清 DMEM 培养基稀释的 Matrigel (每孔 40  $\mu$ L,体积稀释比例为 1 : 6),置于细胞培养箱中 3~4 h,待凝固后再将小室转入已经加入 10% FBS 的 DMEM 培养基的 24 孔板中。取转染 24 h 后细胞消化,用 300  $\mu$ L 无血清 DMEM 培养基重悬  $5\times 10^4$  个细胞,并接种于 Transwell 上室,细胞培养 12 h 后去除小室,PBS 小心浸洗 1 次,用冰甲醇固定 15 min,再用 PBS 浸洗 1 次,用 0.1% 结晶紫染色 30 min,静水缓慢洗去染色液,再用棉签轻轻擦去上室未穿过小室膜的细胞,取放大倍数为 100 倍,镜下观察 5 个视野,计数平均细胞数。

**1.3 统计学处理** 各实验均独立重复 3 次,用 SPSS20.0 对实验数据进行统计分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,采用配对样本  $t$  检验进行配对样本间的比较。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 SMC4 mRNA 在乳腺癌组织及细胞水平的表达** 应用 qPCR 法检测 SMC4 mRNA 在 20 例患者乳腺癌组织及对应的癌旁组织中的表达,结果发现 SMC4 mRNA 在 70% 的乳腺癌组织中高表达,其表达水平明显高于癌旁组织( $t=3.265, P<0.05$ ),见图 1。用同样的方法检测人乳腺上皮细胞(MCF10A)及人乳腺癌细胞(MDA-MB-231、T47D、SK-BR-3、MCF7、MDA-MB-468)中 SMC4 mRNA 的表达情况,结果显示乳腺癌细胞中的 SMC4 mRNA 的表达均明显高于 MCF10A,其中 MDA-MB-231 细胞 SMC4 mRNA 表达水平最高,与 MCF10A 比较差异有统计学意义( $t=5.09, P<0.05$ ),见图 2A。

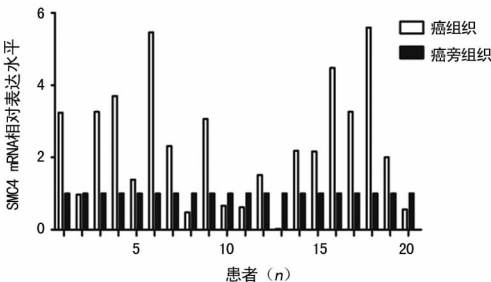
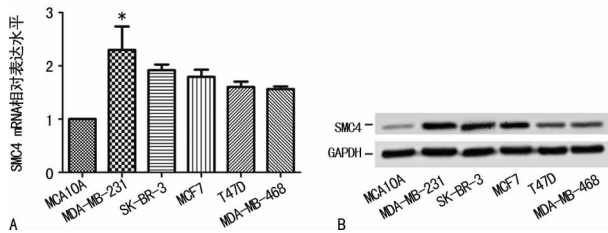


图 1 SMC4 mRNA 在乳腺癌组织及其对应的癌旁组织的表达情况

**2.2 SMC4 蛋白在细胞水平的表达** 应用 Western blot 检测人乳腺上皮细胞(MCF10A)及人乳腺癌细胞(MDA-MB-231、T47D、SK-BR-3、MCF7、MDA-MB-468)中 SMC4 蛋白表达情况,与 qPCR 结果一致,乳腺癌细胞中 SMC4 蛋白表达水平明显高于

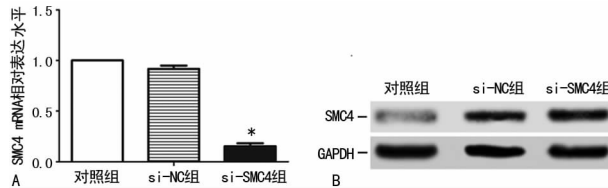
MCF10A,其中 MDA-MB-231 细胞 SMC4 蛋白水平最高,与 MCF10A 比较差异有统计学意义( $t=4.06, P<0.05$ ),见图 2B。



A: SMC4 mRNA; B: SMC4 蛋白; \*:  $P<0.05$ ,与 MCF10A 比较

图 2 SMC4 mRNA 及蛋白在 MCF10A 及各乳腺癌细胞系中的表达

**2.3 干扰 MDA-MB-231 中 SMC4 表达效果检测** 用特异性 siRNA 转染 MDA-MB-231 细胞后,与 si-NC 组相比,si-SMC4 组中 SMC4 mRNA 及蛋白水平明显降低,差异有统计学意义( $t=3.03, 4.19, P<0.05$ )。si-NC 组及对照组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 3A、B。



A: SMC4 mRNA; B: SMC4 蛋白; \*:  $P<0.05$ ,与 si-NC 组比较

图 3 siRNA 干扰后 MDA-MB-231 中 SMC4 mRNA 及蛋白表达情况

**2.4 SMC4 对 MDA-MB-231 增殖及克隆能力的影响** CCK8 增殖实验,结果显示,在干扰后第 3 天,si-SMC4 组( $0.540\pm 0.016$ )较 si-NC 组( $0.960\pm 0.040$ )增殖率明显下降,差异有统计学意义( $t=3.48, P<0.05$ );对照组与 si-NC 组无明显差异( $P>0.05$ ),见图 4。干扰 SMC4 表达可明显抑制 MDA-MB-231 细胞的克隆能力,相较于 si-NC 组[( $46.0\pm 2.0$ )%],si-SMC4 组[( $18.0\pm 1.9$ )%]克隆形成率明显降低( $t=19.01, P<0.05$ ),见图 5。

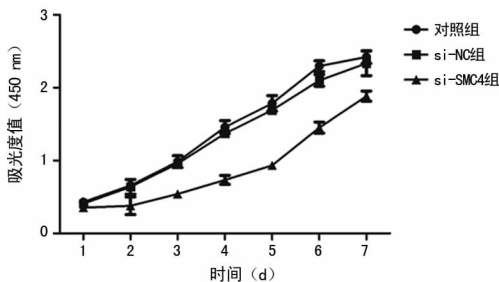
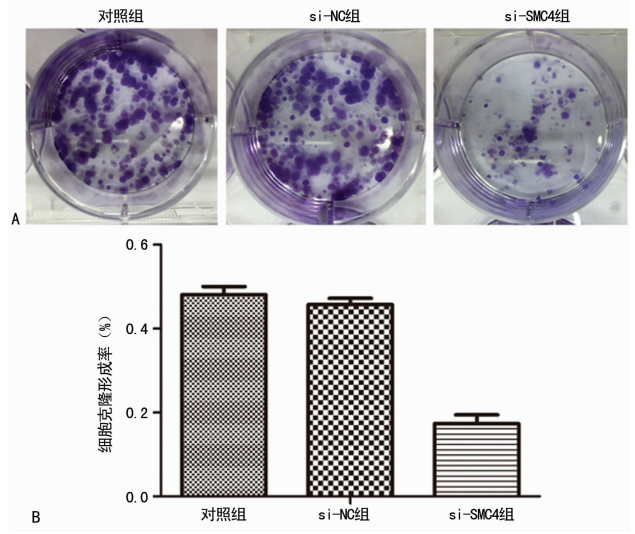


图 4 敲低 SMC4 表达对细胞增殖的影响

**2.5 SMC4 对 MDA-MB-231 迁移及侵袭能力的影响** 在 Transwell 迁移实验中,si-SMC4 组的穿膜细胞数明显低于 si-NC 组,差异有统计学意义( $t=10.18, P<0.05$ ),见图 6;在侵袭试验中,相较于 si-

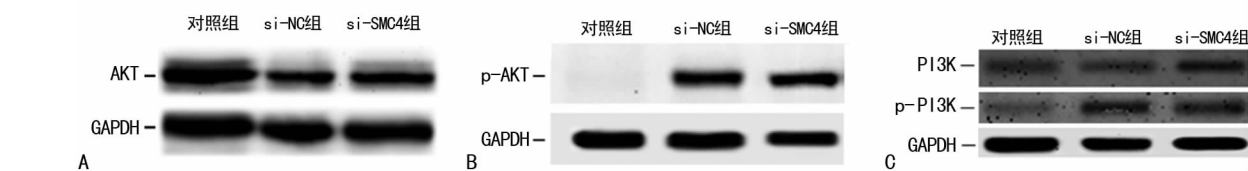
NC 组, si-SMC4 组的穿模细胞数明显减少, 差异均有统计学意义( $t=9.89, P<0.05$ ), 上述两种实验中 si-NC 组及对照组比较, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 见图 7。



A: 平板克隆实验中细胞克隆的代表图; B: 细胞克隆形成率; \*:  $P<0.05$ , 与 si-NC 组比较

图 5 敲低 SMC4 表达对细胞克隆形成的影响

**2.6 干扰 SMC4 表达后对 PI3K/AKT 通路的影响** 特异性干扰 SMC4 的 mRNA 及蛋白表达后, si-SMC4 组中 PI3K/AKT 通路的磷酸化蛋白水平均明显下降( $p$ -AKT:  $t=6.01, P<0.05$ ;  $p$ -PI3K:  $t=7.01, P<0.05$ ), 而未磷酸化的 AKT 及 PI3K 在 3 组细胞间的表达均无明显差异( $P>0.05$ ), 见图 8。

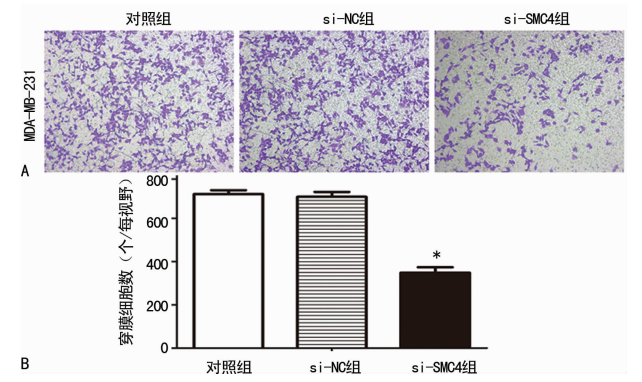


A: AKT 蛋白; B: p-AKT 蛋白; C: PI3K 与 p-PI3K 蛋白

图 8 敲低 SMC4 表达对 PI3K/AKT 通路的影响

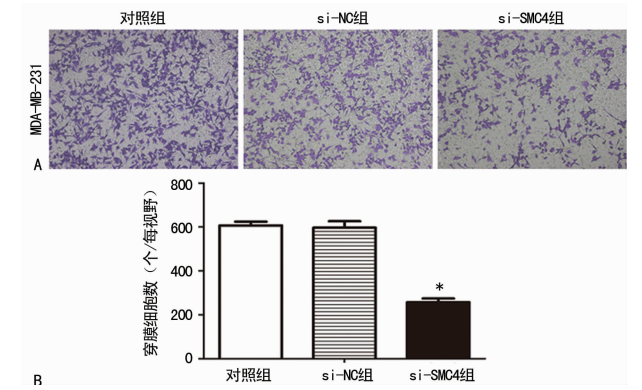
3 讨 论

本研究首次检测 SMC4 在乳腺癌组织及细胞中的表达, 发现 SMC4 mRNA 在乳腺癌组织中异常高表达, 在乳腺癌细胞系中, SMC4 mRNA 及蛋白表达均高于 MCF10A。此外, 本研究进一步分析 siRNA 干扰 SMC4 表达后对乳腺癌细胞的影响, 发现敲低 SMC4 后可以抑制 MDA-MB-231 的增殖、迁移及侵袭, 并且可能是通过抑制 PI3K/AKT 导致。SMC4 是染色体腺苷三磷酸(ATP)酶中 SMC 家族的重要组成部分之一, 研究表明 SMC4 在真核细胞染色体的凝集和分离中有重要作用<sup>[2]</sup>, 在细胞周期从 G<sub>1</sub> 期进展到 S 期时, SMC4 还是维系 S 期正常进展的重要蛋白之一<sup>[3]</sup>。有研究指出, SMC4 在肝癌组织中异常高表达, 并且与肿瘤低分化、血管侵犯明显相关<sup>[6-7]</sup>。在结直肠癌中, 过表达 SMC4 可以促进肿瘤



A: Transwell 实验中细胞迁移的代表图(龙胆紫染色,  $\times 100$ ); B: 穿膜细胞数; \*:  $P<0.05$ , 与 si-NC 组比较

图 6 敲低 SMC4 表达对细胞迁移的影响



A: 侵袭实验中细胞侵袭的代表图(龙胆紫染色,  $\times 100$ ); B: 穿膜细胞数; \*:  $P<0.05$ , 与 si-NC 组比较

图 7 敲低 SMC4 表达对细胞侵袭的影响

细胞增殖、迁移及侵袭<sup>[5,8]</sup>。在前列腺癌中, 高表达 SMC4 的患者有更高的肿瘤转移率及较差的预后<sup>[9]</sup>。JIANG 等<sup>[10]</sup>的研究显示, 上调 SMC4 的表达可能通过转化生长因子  $\beta$ (TGF- $\beta$ )/Smad 信号通路促进胶质瘤细胞的侵袭性。因此, SMC4 可能在肿瘤发生、发展中起重要作用。本研究通过应用 qPCR 检测 20 例患者乳腺癌组织及对应癌旁组织、乳腺上皮细胞系(MCF10A)、乳腺癌细胞系(MDA-MB-231、T47D、SK-BR-3、MCF7、MDA-MB-468)中 SMC4 的表达情况。结果发现, 组织水平中, SMC4 在癌组织中的表达明显高于癌旁组织( $P<0.05$ ); 在乳腺癌细胞系中 SMC4 的表达高于 MCF10A, 其中 MDA-MB-231 表达差异最为显著。与此同时, 本研究应用 Western blot 检测 SMC4 蛋白在细胞系中的表达情况, 与 qPCR 结果一致, SMC4 蛋白在乳腺癌细胞系中表达



较高,其中 MDA-MB-231 差异最为明显。为探究 SMC4 表达对乳腺癌细胞功能的影响,本研究选用 MDA-MB-231 细胞进行细胞功能实验。通过应用 siRNA 干扰 SMC4 的表达后,观察到处理组细胞的增殖速度、侵袭及迁移能力均较对照组明显降低。

在探究 SMC4 影响肿瘤细胞侵袭性的潜在机制时,笔者预测可能与 PI3K/AKT 信号通路相关。目前许多研究表明,PI3K/AKT 信号通路在肿瘤细胞的迁移、增殖、侵袭等方面有重要的作用。激活的 PI3K 使质膜上产生 3-磷酸磷脂酰肌醇(PIP3),PIP3 与 AKT 结合使其从细胞质转移到细胞膜上获得催化活性,由磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶(PDK)、激活 AKT(磷酸化),p-AKT 从细胞膜脱落后进入细胞质或细胞核,调控下游蛋白从而调控细胞生长、运动和凋亡等<sup>[11-12]</sup>。在肝癌、胃癌和结直肠癌等许多肿瘤中均有 p-AKT 的过度表达<sup>[13-15]</sup>。在本研究中,用特异性 SMC4 siRNA 转染 MDA-MB-231 细胞后,处理组的 p-PI3K 及 p-AKT 蛋白表达水平较对照组均明显减少。因此笔者推测,下调 SMC4 表达后抑制乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭可能与抑制了 PI3K/AKT 信号通路的激活相关。

综上所述,SMC4 在乳腺癌组织及细胞中均呈高表达,干扰 SMC4 mRNA 的表达可抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移及侵袭能力,其机制可能与 PI3K/AKT 信号通路的激活相关。基于本次研究的结果,随着以后相关实验的开展和研究,SMC4 有望成为新的治疗靶点。

## 参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
- [2] FREEMAN L, ARAGON-ALCAIDE L, STRUNNIKOV A. Strunnikov, The condensin complex governs chromosome condensation and mitotic transmission of rDNA[J]. J Cell Biol, 2000, 149(4): 811-824.
- [3] YU L, PEÑA CASTILLO L, MNAIMNEH S, et al. A survey of essential gene function in the yeast cell division cycle[J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(11): 4736-4747.
- [4] HIRANO T. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions[J]. Genes Dev, 2012, 26(15): 1659-1678.
- [5] FENG X D, SONG Q, LI C W, et al. Structural maintenance of chromosomes 4 is a predictor of survival and a novel therapeutic target in colorectal cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(21): 9459-9465.
- [6] ZHOU B, YUAN T, LIU M, et al. Overexpression of the structural maintenance of chromosome 4 protein is associated with tumor de-differentiation, advanced stage and vascular invasion of primary liver cancer[J]. Oncol Rep, 2012, 28(4): 1263-1268.
- [7] ZHOU B, CHEN H, WEI D, et al. A novel miR-219-SMC4-JAK2/Stat3 regulatory pathway in human hepatocellular carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2014, 33: 55.
- [8] JINUSHI T, SHIBAYAMA Y, KINOSHITA I, et al. Low expression levels of microRNA-124-5p correlated with poor prognosis in colorectal cancer via targeting of SMC4[J]. Cancer Med, 2014, 3(6): 1544-1552.
- [9] ZHAO S G, EVANS J R, KOTHARI V, et al. The landscape of prognostic outlier genes in high-risk prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(7): 1777-1786.
- [10] JIANG L, ZHOU J, ZHONG D, et al. Overexpression of SMC4 activates TGFbeta/Smad signaling and promotes aggressive phenotype in glioma cells[J]. Oncogenesis, 2017, 6(3): e301.
- [11] XUE G, RESTUCCIA D F, LAN Q, et al. Akt/PKB-mediated phosphorylation of Twist1 promotes tumor metastasis via mediating cross-talk between PI3K/Akt and TGF-beta signaling axes[J]. Cancer Discov, 2012, 2(3): 248-259.
- [12] HILDEBRANDT M A, LIPPMAN S M, ETZEL C J, et al. Genetic variants in the PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway predict head and neck cancer patient second primary tumor/recurrence risk and response to retinoid chemoprevention[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(13): 3705-3713.
- [13] CAO F, ZHANG C, HAN W, et al. p-Akt as a potential poor prognostic factor for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Oncotarget, 2017, 8(35): 59878-59888.
- [14] CHEN J S, WANG Q, FU X H, et al. Involvement of PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway in invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma: association with MMP-9[J]. Hepatol Res, 2009, 39(2): 177-186.
- [15] KHOR T O, GUL Y A, ITHNIN H, et al. Positive correlation between overexpression of phospho-BAD with phosphorylated Akt at serine 473 but not threonine 308 in colorectal carcinoma[J]. Cancer Lett, 2004, 210(2): 139-150.

(收稿日期: 2018-01-02 修回日期: 2018-03-10)

(上接第 2147 页)

- [10] NAM E J, YOON H, KIM S W, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(9): 2690-2695.
- [11] NICOLOSO M S, SPIZZO R, SHIMIZU M, et al. MicroRNAs—the micro-steering wheel of tumour metastases[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(4): 293-302.
- [12] 双婷, 吴建磊, 朱彦丽. 耐药与敏感卵巢癌组织中 microRNA 表达差异谱检测及分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(1): 33-35.

- [13] 黄华. MiR-1285 对胰腺癌细胞恶性生物学行为的影响及作用机制[D]. 北京: 北京协和医学院, 2015.
- [14] LAIOS A, O'TOOLE S, FLAVIN R, et al. Potential role of miR-9 and miR-223 in recurrent ovarian cancer[J]. Mol Cancer, 2008, 7: 35.
- [15] 田姝. MicroRNA-1285 靶向调控 p53 的实验研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010.

(收稿日期: 2018-01-04 修回日期: 2018-03-12)