

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.07.006

网络首发 [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200311.1014.002.html\(2020-03-11\)](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200311.1014.002.html(2020-03-11))Fbxw7 上调对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞侵袭、
迁移及 MAPK/ERK 通路的影响*尚希,叶玉平,方红燕,江国斌[△]

(浙江省台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院乳腺甲状腺外科,浙江台州 318000)

[摘要] **目的** 探讨 F 框/WD-40 域蛋白 7(Fbxw7)对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞侵袭、迁移的影响,初步探究可能的作用机制。**方法** 体外培养乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,将 Fbxw7 过表达载体 pEZ-M02-Fbxw7 (Fbxw7 过表达组)、空载体(pEZ-M02)转染至 MDA-MB-231 细胞,另外以未进行转染的 MDA-MB-231 细胞作为空白组。Western blot 检测 Fbxw7、p-ERK、p-p38MAPK、cadherin、vimentin、N-cadherin 蛋白表达情况,CCK-8 法检测各组细胞增殖能力,Transwell 小室系统检测细胞迁移及侵袭能力。**结果** 与空白组和空载组相比,Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞中 Fbxw7 蛋白表达、增殖抑制率明显升高,细胞侵袭、迁移数量明显降低,p-ERK1/2、p-p38MAPK、vimentin、N-cadherin 蛋白表达明显降低,E-cadherin 蛋白表达明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 过表达 Fbxw7 后能抑制 MDA-MB-231 细胞增殖、侵袭、迁移,其可能是通过抑制 MAPK/ERK 通路发挥对乳腺癌细胞的抑制作用。

[关键词] 乳腺肿瘤;细胞增殖;侵袭;F 框/WD-40 域蛋白 7;胞外调节蛋白激酶;丝裂原活化蛋白激酶**[中图分类号]** R737.9**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)07-1058-05Effects of up-regulation of Fbxw7 on invasion, migration and MAPK/ERK
pathway of MDA-MB-231 cells*SHANG Xi, YE Yuping, FANG Hongyan, JIANG Guobin[△](Department of Breast and Thyroid Surgery, Enze Hospital of Enze Medical
Center (Group), Taizhou, Zhejiang 318000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of F-fox/WD-40 domain protein 7 (Fbxw7) on the invasion and migration of MDA-MB-231 cells in breast cancer, and to explore the possible mechanism. **Methods** MDA-MB-231 cells were cultured in vitro, and Fbxw7 overexpression vector pEZ-M02-Fbxw7 (the Fbxw7 overexpression group) and empty vector (pEZ-M02) were transfected into MDA-MB-231 cells. In addition, the non-transfected MDA-MB-231 cells were used as the blank group. Western blot was used to detect the expression of Fbxw7, p-ERK, p-p38MAPK, cadherin, vimentin and N-cadherin proteins; CCK-8 was used to detect the proliferation of cells; and Transwell chamber system was used to detect the migration and invasion of cells. **Results** Compared with the blank group and the empty-vector group, the expression of Fbxw7 protein and proliferation inhibition rate of MDA-MB-231 cells in the Fbxw7 overexpression group increased significantly, the numbers of cell invasion and migration decreased significantly, the expressions of p-ERK1/2, p-p38MAPK, vimentin and N-cadherin protein decreased significantly, and E-cadherin increased significantly with statistically difference ($P < 0.05$). **Conclusion** Fbxw7 overexpression can inhibit the proliferation, invasion and migration of MDA-MB-231 cells, which may play an inhibitory role on breast cancer cells by inhibiting MAPK/ERK pathway.

[Key words] breast neoplasms; cell proliferation; invasion; F-fox/WD-40 domain protein 7; extracellular regulatory protein kinase; mitogen activated protein kinase

乳腺癌属于妇科常见恶性肿瘤,发病率与病死率在女性所有肿瘤中位列第一,严重威胁女性身心健

* 基金项目:浙江省医学会临床科研项目(2018ZYC-A144)。 作者简介:尚希(1988-),住院医师,本科,主要从事乳腺甲状腺研究。

[△] 通信作者, E-mail: jianggb@enzemed.com。

康^[1]。当癌症转移以后,90%乳腺癌的患者会发生死亡,目前临床尚无根治乳腺癌的新方法,因此控制乳腺癌的转移及侵袭对于提高患者生存期具有重要的临床意义。乳腺癌的转移、侵袭过程涉及多种机制,是多因素、多基因共同作用的结果。F 框/WD-40 域蛋白 7(F-box and WD-40 domain protein 7, Fbxw7) 属于 F-box 蛋白家族成员之一,研究发现在多种实体瘤如胃癌、结肠癌及卵巢癌中具有抑癌基因的作用^[2-3]。近期研究发现乳腺癌患者肿瘤组织中 Fbxw7 表达明显低于癌旁组织,与患者临床分期、淋巴转移等参数密切相关^[4],然而其对乳腺癌细胞的影响、机制目前尚不明确。本研究通过体外培养乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,并转染 Fbxw7 过表达载体,旨在探究 Fbxw7 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的影响及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

乳腺癌 MDA-MB-231 细胞购于中科院上海生物细胞研究所。培养条件:采取含 10%胎牛血清及 100 U/mL 的双抗(青霉素/链霉素溶液)RPMI-1640 培养基,在 37 °C、5%CO₂ 潮湿培养箱中培养。

1.2 主要试剂与仪器

胎牛血清(10099-141)、青霉素/链霉素溶液(15140-122)购于美国 GIBCO 公司;RPMI-1640 培养基(R1145)、胰蛋白酶(T7409)购于美国 Sigma 公司;Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒(11668-019)购于美国 Invitrogen 公司;pEZ-M02 表达载体(EZ007)、EZRecombinase™ LR Cloning 试剂盒(RCBM-1001-020)购于美国 Gene Copoeia 公司;CCK-8 检测试剂盒(KTC011001)购于美国 Abbkine 公司;RIPA 裂解液(C1053)购于北京普利莱基因技术有限公司;二喹啉甲酸(BCA, AR0146)购于美国 BOSTER 生物公司;兔抗人 Fbxw7(ab105752)、细胞外调节蛋白激酶(ERK, ab53277)、p-ERK(ab79483)抗体、兔抗人 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK, ab31828)、β-actin(ab179467)、p-p38MPK(ab178867)抗体购于英国 Abcam 公司;GX71 型光学显微镜购于日本奥林巴斯公司;YH-RDY-CZ4 型垂直电泳仪购于北京中西远大科技有限公司;3412 型 Transwell 小室购于美国 Corning-Costar 公司。

1.3 方法

1.3.1 Fbxw7 过表达载体构建

将 Fbxw7 序列、载体 pEZ-M02 及 EZRecombinase™ LR Cloning 试剂盒进行连接反应。反应条件:室温下孵育 1 h,将反应产物转入大肠埃希菌 DH5α 进行转化反应,在琼脂糖平板中培养,挑选阳性克隆 pEZ-M02-Fbxw7 进行质粒提取。

1.3.2 细胞转染及分组

用含 10%胎牛血清及 100 U/mL 的双抗(青霉

素/链霉素溶液)RPMI-1640 培养基,在 37 °C、5%CO₂ 潮湿培养箱中培养乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,传代培养至第 3 代,收集处于对数生长期的 MDA-MB-231 细胞,将细胞浓度 5×10^5 个/孔接种至培养板,将培养液更换为不含胎牛血清的 RPMI-1640 培养基,孵育 1 h,当细胞融合度达到 70%~80%后参照脂质体转染试剂盒将 Fbxw7 过表达载体(Fbxw7 过表达组)、空载体(pEZ-M02)转染至 MDA-MB-231 细胞,另外以未进行转染的 MDA-MB-231 细胞作为空白组,3 组细胞继续培养 6 h,将培养基更换为含胎牛血清的培养基,继续孵育 48 h,收集各组细胞。

1.3.3 Western blot 检测细胞中 Fbxw7 蛋白表达

收集各组 MDA-MB-231 细胞,加入蛋白裂解液 RIPA,冰上反应 30 min,收集上清蛋白,采用 BCA 测定试剂盒检测蛋白浓度,统一选取 40 μg 蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),将分离后的蛋白移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,加入 5%脱脂奶粉进行封闭 2 h,加入稀释后的兔抗人 Fbxw7 抗体、β-actin 抗体(1:200),在 4 °C 摇床上振荡过夜,清洗膜,添加二抗稀释液(1:5 000)室温下孵育膜 2 h,清洗膜,ECL 发光显影试剂对膜进行显色反应,采用 Image-J 软件定量分析各蛋白相对表达水平,蛋白相对表达水平=目的条带扫描灰度值/β-actin 扫描灰度值,重复 3 次,求取平均值。

1.3.4 CCK-8 法检测细胞增殖能力

收集转染后各组细胞,制备单细胞悬液接种细胞培养板,细胞浓度 5×10^3 个,设定 6 个重复孔,各组细胞在培养箱内继续培养 24、48、72、96 h 后,每组细胞均加入 10 μL CCK-8 检测液,室温下继续孵育 2 h,采用酶标仪检测各孔 450 nm 波长处的光密度(OD)值,细胞增殖抑制率(%)=(1-实验组 OD/Control 组 OD)×100%。

1.3.5 Transwell 小室系统检测细胞迁移及侵袭能力

收集转染后各组细胞,细胞浓度调整为 1.5×10^5 个,将细胞接种于上室,培养液更换为不含胎牛血清的培养液,下室添加含胎牛血清的培养液,细胞孵育 24 h 后将小室取出,擦掉小室上室内细胞,采用无水甲醇固定 20 min,吉姆萨染色 25 min,置于光镜下观察穿膜细胞数量,重复统计 3 次,求取平均值。取出 Matrigel 胶,在 4 °C 下融化,与培养液按照 1:8 体积进行稀释,平铺在小室内,过夜晾干,上室加入不含胎牛血清的培养液,下室添加含胎牛血清的培养液,其余操作与迁移实验相同,在光镜下统计穿膜细胞数量,重复统计 3 次,求取平均值。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用 *q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结 果

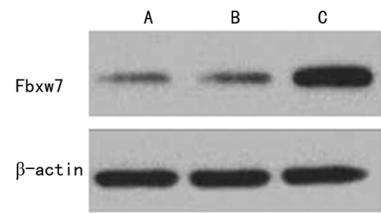
2.1 转染 Fbxw7 过表达载体后 MDA-MB-231 细胞中 Fbxw7 蛋白表达

与空白组 0.23 ± 0.04 和空载组 0.25 ± 0.05 相比, Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞中 Fbxw7 蛋白表达 1.27 ± 0.26 明显升高 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 转染 Fbxw7 过表达载体后对细胞增殖的影响

与空白组和空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-

MB-231 细胞增殖抑制率明显升高 ($P < 0.05$), 见表 1。



A: 空白组; B: 空载组; C: Fbxw7 过表达组。

图 1 各组 MDA-MB-231 细胞中 Fbxw7 蛋白表达

表 1 各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h	96 h
空白组	0.29 ± 0.04	0.28 ± 0.06	0.34 ± 0.08	0.42 ± 0.09
空载组	0.34 ± 0.07	0.39 ± 0.07	0.45 ± 0.06	0.46 ± 0.08
Fbxw7 过表达组	$13.18 \pm 3.13^*$	$19.58 \pm 4.15^*$	$28.76 \pm 5.39^*$	$33.23 \pm 8.42^*$

*: $P < 0.05$, 与空白组和空载组相比。

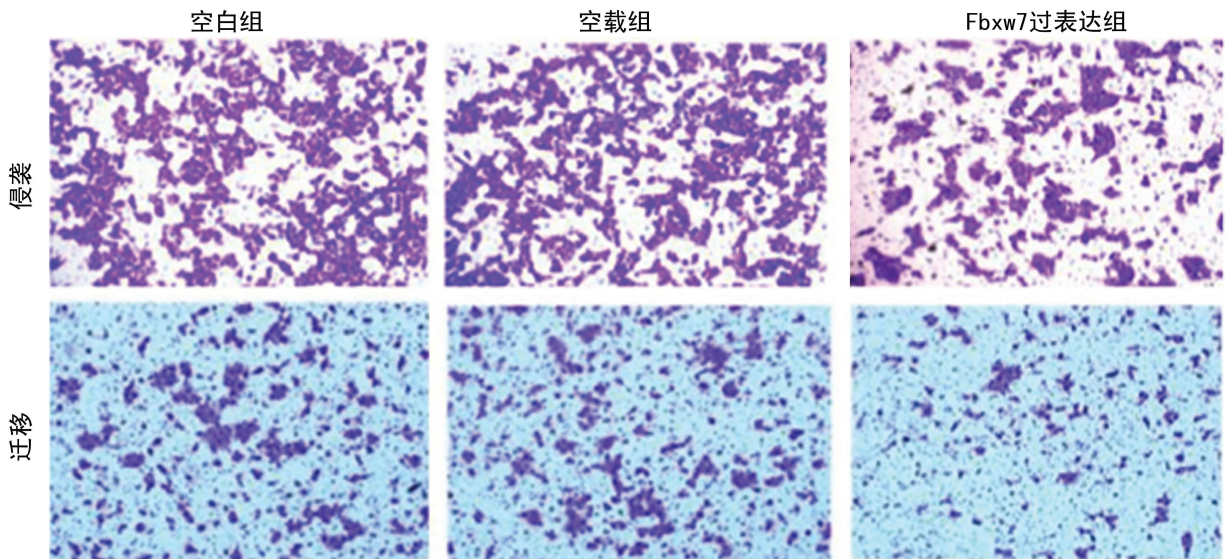


图 2 Transwell 小室系统检测细胞侵袭、迁移能力 ($\times 100$)

2.3 转染 Fbxw7 过表达载体后对细胞侵袭、迁移的影响

与空白组和空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞侵袭、迁移数量明显降低 ($P < 0.05$), 见表 2、图 2。

表 2 各组 MDA-MB-231 细胞侵袭、迁移数量比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

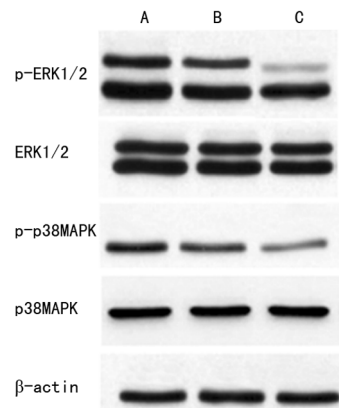
组别	细胞侵袭数量	细胞迁移数量
空白组	323.59 ± 27.57	165.47 ± 12.37
空载组	318.28 ± 30.26	159.64 ± 15.63
Fbxw7 过表达组	$196.68 \pm 25.34^*$	$61.24 \pm 6.75^*$

*: $P < 0.05$, 与空白组和空载组相比。

2.4 转染 Fbxw7 过表达载体后对细胞 MAPK/ERK 通路蛋白表达的影响

与空白组和空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-

MB-231 细胞中 p-ERK1/2、p-p38MAPK 蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$), 见表 3、图 3。



A: 空白组; B: 空载组; C: Fbxw7 过表达组。

图 3 各组检测 MDA-MB-231 细胞 p-ERK1/2、p-p38MAPK 等蛋白表达

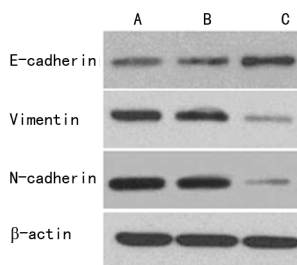
表 3 各组 MDA-MB-231 细胞 p-ERK1/2、p-p38MAPK 等蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	p-ERK1/2	ERK1/2	p-p38MAPK	p38MAPK
空白组	1.63±0.25	1.27±0.23	0.84±0.13	1.02±0.13
空载组	1.58±0.27	1.23±0.28	0.82±0.15	0.98±0.15
Fbxw7 过表达组	0.56±0.08*	1.26±0.27	0.41±0.09*	1.01±0.12

*: $P < 0.05$, 与空白组和空载组相比。

2.5 转染 Fbxw7 过表达载体后对细胞 E-cadherin、vimentin、N-cadherin 蛋白表达的影响

与空白组和空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞中 E-cadherin 蛋白表达明显升高, vimentin、N-cadherin 蛋白表达明显降低($P < 0.05$), 见表 4、图 4。



A: 空白组; B: 空载组; C: Fbxw7 过表达组。

图 4 各组 MDA-MB-231 细胞中 E-cadherin、vimentin、N-cadherin 蛋白表达

表 4 各组 MDA-MB-231 细胞 E-cadherin、vimentin、N-cadherin 蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	E-cadherin	vimentin	N-cadherin
空白组	0.43±0.06	0.78±0.08	1.08±0.12
空载组	0.46±0.08	0.74±0.07	1.04±0.11
Fbxw7 过表达组	0.95±0.13*	0.19±0.03*	0.13±0.04*

*: $P < 0.05$, 与空白组和空载组相比。

3 讨论

近年来乳腺癌发病率有升高的趋势, 其侵袭、转移属于多层次、多因素过程, 和遗传及基因异常表达密切相关。近期在遗传学、分子生物学、病理学等方面证实乳腺癌的侵袭过程涉及较多基因的异常改变, 是多种抑癌基因及促癌基因共同作用的结果, 然而对于影响乳腺癌侵袭、转移的具体分子发生机制尚未完全阐明^[5]。

泛素连接酶(E3)在细胞周期调控、增殖、凋亡中发挥重要的作用, 可通过识别特异底物结合后使其功能发生改变, 减弱对靶蛋白的调控能力, 进而聚集癌蛋白, 造成癌细胞增殖加速, 引发肿瘤^[6]。Fbxw7 属于 E3SCF 复合物重要成员, 具有抑癌基因的功能, 广泛参与细胞增殖、转移、侵袭等过程^[7-8]。FIORE 等^[9]研究发现在结直肠癌中过表达 Fbxw7 后能够提高肿瘤对 5-氟尿嘧啶的敏感性。有研究证实在乳腺癌、肺癌等癌症中 Fbxw7 基因的缺失或低表达^[10-11]。近期研究发现 Fbxw7 与肿瘤的侵袭、转移密切相关, HE 等^[12]研究发现 Fbxw7 可通过抑制肾癌细胞上皮-间质转化过程进而抑制肾癌的转移及侵袭。LIU 等^[13]

研究发现上调 Fbxw7 抑制肺癌的增殖和侵袭。这些研究说明, Fbxw7 基因的上调表达可影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移。为证实 Fbxw7 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的影响, 本研究将 Fbxw7 过表达载体转入 MDA-MB-231 细胞, 发现与空白组、空载组相比, Fbxw7 过表达组 Fbxw7 蛋白表达水平明显升高, 说明 Fbxw7 过表达载体转染成功。进一步研究发现与空白组、空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率升高, 侵袭、迁移能力降低, 表明上调 Fbxw7 表达后能够抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、侵袭、迁移, 推测 Fbxw7 上调表达后可能通过抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、侵袭进而发挥抑癌作用。

MAPK/ERK 通路是由激酶级联反应介导的信号传导通路, 经一系列级联反应将胞外刺激信号传导至细胞核, 激活靶基因转录, 参与细胞增殖、凋亡等生理病理过程^[14]。QIU 等^[15]研究发现肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子(TIPE1)主要通过 ERK 信号途径抑制乳腺癌细胞的侵袭和迁移, 抑制上皮细胞向间充质细胞的转化。YEH 等^[16]研究发现黄曲霉素通过 AKT/p38 MAPK/ERK1/2 信号通路诱导乳腺癌细胞周期阻滞和凋亡。这些研究均表明, MAPK/ERK 通路的激活与乳腺癌的增殖、侵袭相关。本研究发现与空白组、空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞 p-ERK1/2、p-p38MAPK 蛋白表达明显降低, 表明上调 Fbxw7 表达后能够抑制乳腺癌细胞 MAPK/ERK 通路的激活。JI 等^[17]研究发现胰腺癌中 Fbxw7 表达明显减低, 且上调 Fbxw7 蛋白表达后能够进一步抑制 MAPK/ERK 通路活性。本研究基于此推测, 上调 Fbxw7 表达后能够抑制乳腺癌细胞 MAPK/ERK 通路的激活进而抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、侵袭发挥抑癌作用。

上皮间质转化存在于肿瘤侵袭过程, 细胞会出现间质细胞特征, 如上皮细胞标志物 E-cadherin 表达缺失或降低, 间质细胞标志物 vimentin、N-cadherin 表达升高, 此时肿瘤细胞特征会发生一系列的变化, 细胞黏附力降低, 易从原发肿瘤部位脱离, 侵袭病灶周围器官、组织^[18]。研究发现乳腺癌细胞中 E-cadherin 表达上调, vimentin、N-cadherin 表达下调和乳腺癌细胞的迁移、侵袭有关^[19]。本研究发现与空白组、空载组相比, Fbxw7 过表达组 MDA-MB-231 细胞 E-cadherin 蛋白表达升高, vimentin、N-cadherin 蛋白表达降低, 推测上调 Fbxw7 表达后能够抑制乳腺癌细胞

MAPK/ERK 通路的激活进而抑制上皮间质转化,降低癌细胞侵袭,发挥抗肿瘤的作用。

综上所述,上调 Fbxw7 表达后能够抑制乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭,其机制可能与抑制 MAPK/ERK 通路有关,然而 Fbxw7 具体靶向哪些蛋白发挥对乳腺癌细胞的抑制作用,还有待后续深入研究。

参考文献

- [1] 陈万青,郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况[J]. 中国肿瘤临床,2015,42(13):668-674.
- [2] KUAI X, LI L, CHEN R, et al. SCFFBXW7/GSK3 β -Mediated GFI1 degradation suppresses proliferation of gastric cancer cells[J]. *Cancer Res*,2019,79(17):4387-4398.
- [3] KORPHAISARN K, PONGPAIBUL A, ROOT HUMNONG E, et al. High frequency of KRAS codon 146 and FBXW7 mutations in Thai patients with stage II - III colon cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2019,20(8):2319-2326.
- [4] 孙光荣,赵小波,杨敏,等. 乳腺超声 BI-RADS 分级与癌细胞增殖、侵袭的相关性研究[J]. 海南医学院学报,2018,24(2):269-272.
- [5] 曾慧娟,王少华. 乳腺癌骨转移分子机制研究进展[J]. 医学研究生学报,2015,28(4):432-436.
- [6] KWON D, KIM S M, JACOB P, et al. Induction via functional protein stabilization of hepatic cytochromes P450 upon gp78/autocrine motility factor receptor (AMFR) ubiquitin E3-Ligase genetic ablation in mice; therapeutic and toxicological relevance[J]. *Mol Pharmacol*,2019,96(5):641-654.
- [7] LU H, YAO B, WEN X, et al. FBXW7 circular RNA regulates proliferation, migration and invasion of colorectal carcinoma through NEK2, mTOR, and PTEN signaling pathways in vitro and in vivo[J]. *BMC Cancer*,2019,19(1):918.
- [8] LIU F, ZOU Y, WANG F, et al. FBXW7 mutations promote cell proliferation, migration, and invasion in cervical cancer[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*,2019,23(6):409-417.
- [9] FIORE D, PISCOPO C, PROTO M C, et al. N6-Isopentenyladenosine inhibits colorectal cancer and improves sensitivity to 5-Fluorouracil-Targeting FBXW7 tumor suppressor[J]. *Cancers (Basel)*,2019,11(10):1456-1468.
- [10] YANG T, REN C, LU C, et al. Phosphorylation of HSF1 by PIM2 induces PD-L1 expression and promotes tumor growth in breast cancer [J]. *Cancer Res*,2019,79(20):5233-5244.
- [11] XIAO G, LI Y, WANG M, et al. FBXW7 suppresses epithelial-mesenchymal transition and chemo-resistance of non-small-cell lung cancer cells by targeting snail for ubiquitin-dependent degradation[J]. *Cell Prolif*,2018,51(5):e12473.
- [12] HE H, DAI J, XU Z, et al. Fbxw7 regulates renal cell carcinoma migration and invasion via suppression of the epithelial-mesenchymal transition[J]. *Oncol Lett*,2018,15(3):3694-3702.
- [13] LIU X, MA J, XU F, et al. TINCR suppresses proliferation and invasion through regulating miR-544a/FBXW7 axis in lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*,2018,99(3):9-17.
- [14] ARTHUR J S, LEY S C. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity[J]. *Nat Rev Immunol*,2013,13(9):679-692.
- [15] QIU S, HU W, MA Q, et al. TIPE1 suppresses the invasion and migration of breast cancer cells and inhibits epithelial-to-mesenchymal transition primarily via the ERK signaling pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*,2019,51(9):915-924.
- [16] YEH H T, TSAI Y S, CHEN M S, et al. Flavopereirine induces cell cycle arrest and apoptosis via the AKT/p38 MAPK/ERK1/2 signaling pathway in human breast cancer cells[J]. *Eur J Pharmacol*,2019,863(9):172658.
- [17] JI S, QIN Y, SHI S, et al. ERK kinase phosphorylates and destabilizes the tumor suppressor FBW7 in pancreatic cancer[J]. *Cell Res*,2015,25(5):561-573.
- [18] XU X, GU J, DING X, et al. LINC00978 promotes the progression of hepatocellular carcinoma by regulating EZH2-mediated silencing of p21 and E-cadherin expression [J]. *Cell Death Dis*,2019,10(10):752.
- [19] RICHARDS E J, ZHANG G, LI Z P, et al. Long non-coding RNAs (LncRNA) regulated by transforming growth factor (TGF) β ; LncRNA-hit-mediated TGF β -induced epithelial to mesenchymal transition in mammary epithelia [J]. *J Biol Chem*,2015,290(11):6857-6867.