

miR-29a 促进人乳腺癌 MCF-7 细胞体外迁移和侵袭的机制

吴悠, 汤婷婷, 朱琴华, 金亮*, 潘怡**

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

摘要 探讨微小核酸 miRNA-29a 对人乳腺癌细胞 MCF-7 体外迁移和侵袭的促进作用及其机制。采用 miR-29a 模拟物及 miR-29a 抑制剂分别上调和下调 miR-29a 的表达; 采用细胞划痕法和 Transwell 小室法检测 miR-29a 对细胞迁移和侵袭能力的影响; 采用 Targetscan7.1 数据库预测 miR-29a 的靶基因; 荧光素酶报告法验证 miR-29a 的靶基因; Western blot 和实时荧光定量 PCR 验证其表达结果。结果表明: miR-29a 可显著促进 MCF-7 细胞的迁移和侵袭能力。Targetscan 软件预测 *HBPI* 可能为 miR-29a 的靶基因, 荧光素酶报告实验显示 miR-29a 靶向 *HBPI* 基因的 3'-UTR 区。Western blot 和实时荧光定量 PCR 结果显示, miR-29a 下调了 *HBPI* 蛋白水平的表达, 而 mRNA 水平则无明显变化。研究结果揭示在乳腺癌中高表达的 miR-29a 通过下调 *HBPI*, 从而使乳腺癌细胞获得高的迁移和侵袭能力, 促进乳腺癌的转移。

关键词 miR-29a; 乳腺癌; MCF-7 细胞; 肿瘤转移; 迁移; 侵袭; *HBPI* 蛋白

中图分类号 Q789; R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2018)03-0348-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20180314

引用本文 吴悠, 汤婷婷, 朱琴华, 等. miR-29a 促进人乳腺癌 MCF-7 细胞体外迁移和侵袭的机制[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 348–353.

Cite this article as: WU You, TANG Tingting, ZHU Qinhu, *et al.* Mechanisms of miR-29a in migration and invasion of breast cancer MCF-7 cells *in vitro*[J]. *J China Pharm Univ*, 2018, 49(3): 348–353.

Mechanisms of miR-29a in migration and invasion of breast cancer MCF-7 cells *in vitro*

WU You, TANG Tingting, ZHU Qinhu, JIN Liang*, PAN Yi**

School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The aim of this study was to investigate the effect and mechanisms of miR-29a in migration and invasion of human breast cancer MCF-7 cells *in vitro*. MCF-7 cells were treated with miR-29a mimic or miR-29a inhibitor to up-regulate/down-regulate the expression level of miR-29a. Wound-healing assay and transwell chamber were employed to determine cell migration and invasion *in vitro*. The target gene of miR-29a was predicted with the Targetscan7.1 database and verified through luciferase reporter method. The effects of miR-29a on the expression of the potential target were detected by Western blot and real-time PCR. Results showed that *in vitro* migration and invasion ability of MCF-7 cells was increased significantly by miR-29a, which could target *HBPI* in the 3'-UTR region. The protein expression of *HBPI* was decreased by miR-29a overexpression. However, the alteration of miR-29a had no significant effect on the expression of *HBPI* mRNA. The results validated that miR-29a, highly expressed in breast cancer, could down-regulate *HBPI*, which in turn promotes migration and invasion ability of breast cancer cells, thus promoting breast cancer metastasis.

Key words miR-29a; breast cancer; MCF-7 cells; cancer metastasis; migration; invasion; *HBPI* protein

收稿日期 2018-01-24 **通信作者** * Tel: 025-83271152 E-mail: ljstemcell@cpu.edu.cn

** Tel: 025-83271152 E-mail: 1020162543@cpu.edu.cn

基金项目 国家高技术研究发展计划(“八六三”计划)资助项目(No. 2015AA020314); 国家自然科学基金资助项目(No. 81570696, No. 81702941); 江苏省高校“青蓝工程”资助项目; 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(No. 2632017PY06)

This study was supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, No. 2015AA020314); the National Natural Science Foundation of China (No. 81570696, No. 81702941); the Qing-Lan Project for Universities of Jiangsu Province; and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. 2632017PY06)

乳腺癌是一种发生在乳腺上皮组织的恶性肿瘤,是全世界女性中发病率和死亡率最高的肿瘤。乳腺癌细胞转移造成的疾病是绝大多数乳腺癌患者死亡的根本原因^[1],因此寻找抑制乳腺癌细胞转移的潜在药物十分必要。

微小核糖核酸(miRNA)是一类由内源基因编码的长度为 18~24 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子。miRNA 与乳腺癌的发生发展、侵袭与转移、血管生成、细胞周期、细胞凋亡等密切相关^[2]。不同的 miRNA 在肿瘤中的表达情况不同,对肿瘤的发生及转移也起到不同的作用^[3]。研究表明,miR-29a 在乳腺癌组织中有所升高,并促进了乳腺癌细胞的增殖和转移^[4-5]。因此,本研究考察 miR-29a 对乳腺癌转移的生物学作用,研究 miR-29a 调控乳腺癌转移的新机制,为抗乳腺癌的药物筛选提供了实验依据和新思路。

1 材 料

1.1 试 剂

DMEM 高糖培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司);Lipofectamine 2000、Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司);苯甲基磺酰氟(PMSF)、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、胰蛋白酶、双荧光素酶报告基因检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);兔抗人 GAPDH 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG(美国 CST 公司);兔抗人 HBPI 多克隆抗体(美国 SAB 公司);miR-29a 模拟物、miR-29a 抑制剂、模拟物阴性对照、抑制剂阴性对照、miRNA 实时荧光定量 RT-PCR 定量试剂盒(上海吉玛制药技术公司)。

1.2 仪 器

实时荧光定量 PCR 仪(美国 Roche 公司);酶标仪(美国 Biotek 公司);显微图象采集系统(日本 Olympus 公司)。

1.3 细 胞

人乳腺癌细胞株 MCF-7、人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231、人胚肾细胞系 HEK-293T 由中国药科大学生物技术中心保存。

2 方 法

2.1 细胞培养

用含 10% 胎牛血清 + 1% 青链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养,待细胞融合率达 90% 以上时,用胰蛋白酶消化,按照 1:3 的比例传代。将细胞以每孔 2 × 10⁵ 个的细胞比例种于 6 孔板,置于细胞培养箱中继续培养用于后续实验。

2.2 RT-qPCR 实验

用 Trizol 法提取总 RNA,进行反转录得到 cDNA,然后以 cDNA 为模板进行 qPCR 反应,检测其中 miR-29a 和 HBPI 基因 mRNA 水平的表达,qPCR 反应数据以循环阈值(Ct)记录,实验结果利用 ΔΔCt 法进行计算,miR-29a 以 u6 为内参,HBPI 以 GAPDH 为内参,相对定量各实验组样品内 miR-29a 和 HBPI 基因的表达(miR-29a 和 u6 的引物来自 miRNA 实时荧光定量 RT-qPCR 定量试剂盒;HBPI 和 GAPDH 引物序列见表 1)。

Table 1 Primer sequences used for qPCR

Primer	Sequence (5'→3')
GAPDH-F	GGAGCGAGATCCCTCCAAAT
GAPDH-R	GGCTGTTGTCATCTTCTCATGG
HBPI-F	TCATCACCATTGGAAGGAGGA
HBPI-R	TTGCACCATCCCAATCATCA

2.3 细胞转染

将 miR-29a 模拟物、miR-29a 抑制剂、模拟物阴性对照、抑制剂阴性对照(序列见表 2)干粉瞬时离心后,用含 RNA 酶抑制剂的 ddH₂O 溶解,在避光的条件下吹打混匀,配制成终浓度为 20 μmol/L 的工作液(使用时的终浓度均为 100 nmol/L),-20 ℃贮存。取“2.1”项中所述种于 6 孔板的细胞,按照 Lipofectamine 2000 试剂说明书进行转染,6 h 后更换为新的 DMEM 培养液,继续培养用于后续实验。

2.4 划痕愈合迁移实验

将种植于 6 孔板中的细胞按照“2.3”项下方法转染 24 h 后,利用 1 mL 枪头在细胞层中形成划痕,于 0,48 h 在显微镜下观察细胞迁移情况,随机

选取3处进行拍照。每组细胞设3个复孔。

Table 2 Sequences of miR-29a mimic/inhibitor and their controls

Primer	Sequence (5'→3')
miR-29a mimic	Sense UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA
	Antisense ACCGAUUUCAGAUUGGUGCUAUU
Control mimic	Sense UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	Antisense ACGUGACACGUUCGGAGAATT
miR-29a inhibitor	UAACCGAUUUCAGAUUGGUGCUA
Control inhibitor	CAGUACUUUUGUGUAGUACAA

2.5 Transwell 小室侵袭实验

按照“2.3”项下方法转染细胞24 h后,将细胞进行消化,加入无血清 DMEM 培养基吹打混匀,调整细胞的浓度为每毫升 5×10^5 个,在 Transwell 小室的下室加入含 5% FBS 的 DMEM 培养基 800 μ L,在上室加入混匀的细胞悬液 200 μ L(在实验前 4~6 h 将 matrigel 胶储液用无血清及抗生素的 DMEM 培养基按 1:6 进行稀释,以每孔 50 μ L 的体积加入到 Transwell 侵袭小室中),置于培养箱培养 36~48 h 后,经 4% 多聚甲醛固定 20 min 和结晶紫染色

Table 3 Primer sequences used for luciferase report assay

Primer	Sequence (5'→3')
HBPI-WF	CTAGTCTAATAATAGGCTTGAAAATTGATATCCTGTGGTGCTAAAGTACAGTAGAAAGA
HBPI-WR	AGCTTCTTTCTACTGTACTTTAGCACACAGGATATCAATTTCAAGCCTATTATTACA
HBPI-MF	CTAGTCTAATAATAGGCTTGACGCCAGCGTACTCTAGATGCCAGTACAGTAGAAAGA
HBPI-MR	AGCTTCTTTCTACTGTACTGGCATCTAGACTACGCCTGGCGCTCAAGCCTATTATTACA

2.7 Western blot 实验

细胞转染 48 h 后,收集细胞裂解提取蛋白,加入上样缓冲液,100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min,10% SDS-PAGE 电泳分离蛋白质,再转印至 PVDF 膜上,将膜置于含 50 g/L 脱脂牛奶的 TBST 室温封闭 1 h;再分别加入相应的兔抗人 HBPI 抗体及兔抗人 GAPDH 抗体,4 $^{\circ}$ C 过夜,次日以 TBST 洗涤 3 次,加入 HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体室温孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次, ECL 显色系统定影显色,观察条带并进行灰度扫描。以 GAPDH 作为内参对照。

2.8 数据统计

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 GraphPad Prism 5 统计软件进行数据统计及图像处理。两组间的比较用配对 t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 miR-29a 在不同乳腺癌细胞系中的表达

MDA-MB-231 属于高转移性恶性乳腺癌细胞系, MCF-7 为原位 ER 阳性乳腺癌细胞系,恶性程

度较 MDA-MB-231 低,本研究比较了不同乳腺癌细胞系中 miR-29a 的表达水平。RT-qPCR 检测结果(图 1)显示, miR-29a 在 MDA-MB-231 中的表达明显高于在 MCF-7 中, miR-29a 在恶性程度更高的 MDA-MB-231 中表达较高提示 miR-29a 的潜在促肿瘤作用。

2.6 靶基因预测和荧光素酶报告实验

通过生物信息预测数据库 Targetscan7.1 对 miR-29a 进行检索,预测其靶基因,然后将预测到的靶基因 HBPI 作为研究对象。人工合成野生型片段(HBPI-WF/WR),并引入 *Spe* I 和 *Hind* III 限制性核酸内切酶位点;在野生序列基础上,另外设计合成了种子序列互补序列的突变位点,合成突变型片段(HBPI-MF/MR)(具体序列见表 3,粗体表示酶切位点)。包含目标基因的片段经退火后导入 pMIR-REPORT 质粒。将生长良好的 HEK-293T 细胞种于 24 孔板中,于 24 孔板的每一孔中,分别共转染荧光素酶质粒(或相对应的突变质粒) 1 μ g、海肾荧光素酶质粒 0.3 μ g 以及相应量的 miR-29a 模拟物或 miR-29a 抑制剂或各自对应的阴性对照。转染 48 h 后按照试剂盒说明书检测荧光水平以及进行数据计算。

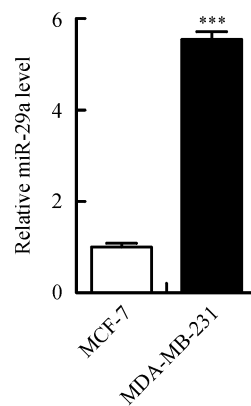


Figure 1 Expression of miR-29a in different breast cancer cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

*** $P < 0.001$ vs MCF-7 group

3.2 过表达和敲除 miR-29a 的转染效率验证

将 miR-29a 模拟物、miR-29a 抑制剂及其阴性对照转染乳腺癌细胞 MCF-7,细胞转染 48 h 后,RT-qPCR 检测结果(图 2)显示,与模拟物阴性对照组相比,转染 miR-29a 模拟物的细胞中 miR-29a 的表达水平上调,差异有统计学意义;与抑制剂阴性对照组相比,转染 miR-29a 抑制剂的细胞中 miR-29a 的表达水平下调,差异有统计学意义。总之,以上结果说明有效地实现了 miR-29a 的过表达和敲除。

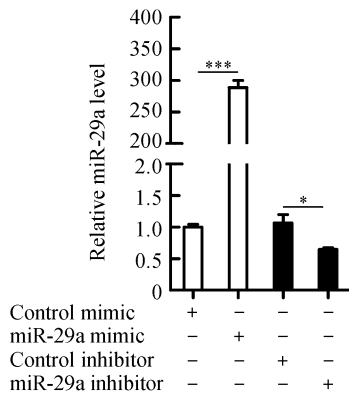


Figure 2 Transfection efficiency of miR-29a in MCF-7 cells after treated with miR-29a mimic/inhibitor ($\bar{x} \pm s, n=3$)
*** $P < 0.001$ vs control mimic group; * $P < 0.05$ vs control inhibitor group

3.3 miR-29a 对人乳腺癌 MCF-7 细胞的体外侵袭和迁移的促进作用

体外迁移实验结果显示,与模拟物阴性对照组相比,过表达 miR-29a 的细胞划痕间隙变化显著升高(图 3-A);与抑制剂阴性对照组相比,敲除 miR-29a 的细胞划痕间隙变化显著降低(图 3-B)。体外侵袭实验结果显示,过表达 miR-29a 的细胞迁移和侵袭数增多(图 4-A);相应的,敲除 miR-29a 的细胞侵袭数减少(图 4-B),差异有统计学意义。

3.4 靶基因预测及 HBP1 的荧光素酶验证

通过预测分析,miR-29a 序列与 HBP1 3'非翻译区(3'-UTR)存在一个互补结合区,HBP1 可能为 miR-29a 的特异性靶基因。本研究进行了荧光素酶报告实验,实验结果(图 5)表明 HBP1 为 miR-29a 的直接靶基因,miR-29a 与 HBP1 的 3'-UTR 区

存在直接靶向作用。

3.5 Western blot 和 RT-qCR 检测 HBP1 蛋白水平和转录水平的表达

Western blot 结果(图 6)显示,过表达和敲除 miR-29a 分别可下调和上调 HBP1 在蛋白水平的表达。然而,RT-qPCR 结果(图 7)显示,miR-29a 的过表达和敲除对 HBP1 的 mRNA 水平没有影响。

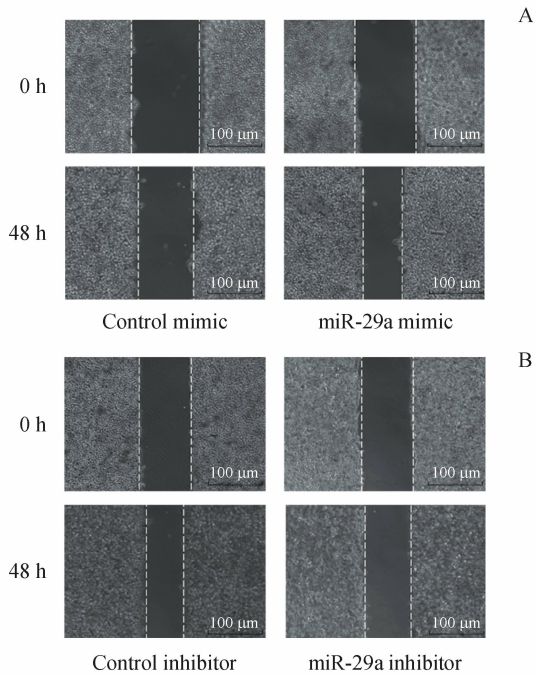


Figure 3 Effects of miR-29a mimic (A) and inhibitor (B) on the migration of MCF-7 cells

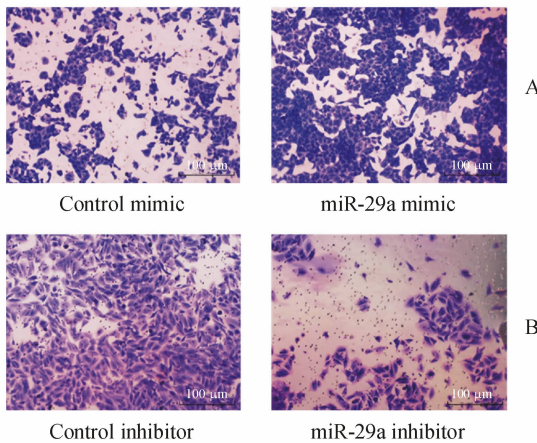


Figure 4 Effects of miR-29a mimic (A, 36 h) and inhibitor (B, 48 h) on the invasion of MCF-7 cells

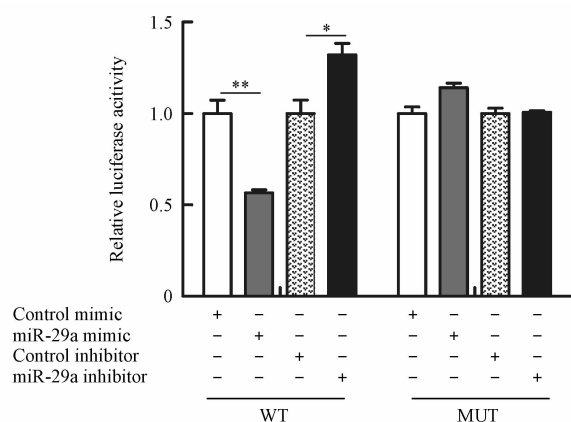


Figure 5 Luciferase reporter assay after transfection ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 ** $P < 0.01$ vs control mimic/WT group; * $P < 0.05$ vs control inhibitor/WT group

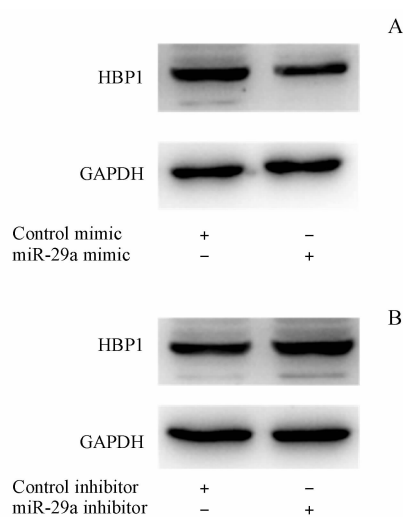


Figure 6 Effects of miR-29a mimic (A) and inhibitor (B) on the protein expression of HBPI in MCF-7 cells

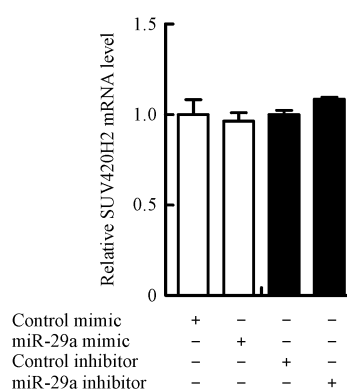


Figure 7 Effects of miR-29a on the mRNA expression of HBPI in MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

miRNA 参与细胞增殖、迁移、分化和细胞周期

等多种生物过程。miRNA 主要通过结合靶基因的 3'非翻译区(3'-UTR)来控制其靶 mRNA 的表达,单个基因的 UTR 区可以具有多个 miRNA 的结合位点或者某一个 miRNA 的多个结合位点,这表明由这些 miRNA 通过复杂的转录后调控影响基因表达^[6]。

miR-29a 位于染色体 7q32.3 负链的普通型脆性位点 FRA7H 内,可能与肿瘤密切相关^[7]。miR-29a 被报道在多种肿瘤中低表达且是抑癌因子,如胃癌^[8]、胰腺癌^[9]、宫颈癌^[10]、前列腺癌^[11]、食管癌^[12]等;然而 miR-29a 也被报道在乳腺癌^[4]、结肠癌^[13]中表达上调,作为促癌基因促进了肿瘤的发生及发展。本研究首先通过实时荧光定量 RT-qPCR 检测了乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDA-MB-231 中 miR-29a 的表达水平,发现与 MCF-7 细胞相比,miR-29a 在 MDA-MB-231 中的表达上调,因为相比 MCF-7 细胞,MDA-MB-231 转移性和恶性程度更高,这提示 miR-29a 在乳腺癌发生和发展过程中可能起促进的作用。为了进一步明确 miR-29a 在乳腺癌中的作用,本研究以 MCF-7 细胞作为研究对象,通过脂质体法将 miR-29a mimic 及 miR-29a inhibitor 及其相应的阴性对照转染至细胞中,通过划痕实验和 Transwell 实验发现,与阴性对照组相比较,转染 miR-29a mimic 后细胞的迁移和侵袭的能力增加,而转染 miR-29a inhibitor 后细胞的迁移和侵袭的能力减少,这表明 miR-29a 对乳腺癌细胞迁移和侵袭能力具有正向调控作用。

此外,为了进一步研究 miR-29a 调控肿瘤转移的机制,本研究用目前常用的 miRNA 靶基因预测软件 Targetscan 7.1 对 miR-29a 的靶基因进行预测,发现 HBPI 的 3'-UTR 区域存在与 miR-29a 不完全配对的序列,这说明 HBPI 有可能是 miR-29a 的靶基因。HBPI(HMG 盒转录因子 1),是一种核蛋白,人体多种组织中均有表达^[14],如大脑、子宫、睾丸、肺以及心脏等。HBPI 是一种重要的肿瘤抑制因子,其抑制肿瘤机制有多种^[15]:HBPI 抑制转录因子 c-Myc 的活性及表达;通过与 p38-MAPK 通路作用调控细胞周期的阻滞;参与 Ras 介导的早衰;HBPI 还可阻滞 Wnt-β 连环蛋白信号通路从而抑制 G₁ 进程,进而抑制肿瘤细胞生长。一些临床研究表明,在浸润性乳腺癌中发生 HBPI 的突变或表达减少,并且 HBPI 可能调节几种类型的乳腺癌

的增殖和侵袭^[16-17]。HBP1是通过抑制LEF/TCF转录因子抑制Wnt/b-catenin信号传导^[18],而Wnt信号通路是会进一步影响肿瘤细胞的侵袭和转移的^[19-20]。综合以上几点推测,HBP1通过Wnt信号通路抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭,因此选择HBP1基因作为下一步研究的对象。

为了验证miR-29a与HBP1之间是否存在调控的关系,本研究先进行了荧光素酶报告基因验证实验,发现miR-29a直接与HBP1基因的3'-UTR区域相结合,然后又检测了miR-29a变化后HBP1的表达情况。Western blot结果显示,与阴性对照组相比较,当细胞转染miR-29a mimic后,HBP1蛋白质的表达下调,而细胞转染miR-29a inhibitor后,HBP1蛋白质的表达上调,说明miR-29a可负向调控HBP1蛋白的表达。然而,RT-qPCR的结果显示,过表达或敲除miR-29a后,HBP1在mRNA水平上的表达没有变化,说明miR-29a调控HBP1的表达是通过结合HBP1的mRNA抑制其蛋白水平表达,而非使其mRNA降解,这符合miRNA调控靶基因的一般规律。

综合以上实验结果,本研究推测,在乳腺癌中高表达的miR-29a通过下调HBP1,从而使乳腺癌细胞获得高的迁移和侵袭能力,促进乳腺癌的转移,其具体机制可能是通过Wnt信号通路,还有待进一步实验研究确认。

参考文献

- [1] Redig AJ, McAllister SS. Breast cancer as a systemic disease: a view of metastasis[J]. *J Intern Med*, 2013, **274**(2): 113-126.
- [2] Zhang K, Zhang Y, Liu C, et al. MicroRNAs in the diagnosis and prognosis of breast cancer and their therapeutic potential[J]. *Int J Oncol*, 2014, **45**(3): 950-958.
- [3] Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. microRNAs in cancer[J]. *Annu Rev Pathol*, 2014, **9**: 287-314.
- [4] Pei YF, Lei Y, Liu XQ. MiR-29a promotes cell proliferation and EMT in breast cancer by targeting ten eleven translocation 1[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, **1862**(11): 2177-2185.
- [5] Rostas JW, Pruitt HC, Metge BJ, et al. microRNA-29 negatively regulates EMT regulator N-myc interactor in breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2014, **13**: 200.
- [6] Shukla GC, Singh J, Barik S. MicroRNAs: processing, maturation, target recognition and regulatory functions[J]. *Mol Cell Pharmacol*, 2011, **3**(3): 83-92.
- [7] Debacker K, Kooy RF. Fragile sites and human disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(2): 150-158.
- [8] Chen L, Xiao H, Wang ZH, et al. miR-29a suppresses growth and invasion of gastric cancer cells *in vitro* by targeting VEGF-A[J]. *BMB Rep*, 2014, **47**(1): 39-44.
- [9] Tréhoux S, Lahdaoui F, Delpu Y, et al. Micro-RNAs miR-29a and miR-330-5p function as tumor suppressors by targeting the MUC1 mucin in pancreatic cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1853**(10 Pt A): 2392-2403.
- [10] Yamamoto N, Kinoshita T, Nohata N, et al. Tumor-suppressive microRNA-29a inhibits cancer cell migration and invasion via targeting HSP47 in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2013, **43**(6): 1855-1863.
- [11] Pasqualini L, Bu H, Puhr M, et al. miR-22 and miR-29a are members of the androgen receptor cistrome modulating LAMC1 and Mcl-1 in prostate cancer[J]. *Mol Endocrinol*, 2015, **29**(7): 1037-1054.
- [12] Liu C, Duan P, Li B, et al. miR-29a activates Hes1 by targeting Nfia in esophageal carcinoma cell line TE-1[J]. *Oncol Lett*, 2015, **9**(1): 96-102.
- [13] Tang W, Zhu Y, Gao J, et al. MicroRNA-29a promotes colorectal cancer metastasis by regulating matrix metalloproteinase 2 and E-cadherin via KLF4[J]. *Br J Cancer*, 2014, **110**(2): 450-458.
- [14] Shih HH, Xiu M, Berasi SP, et al. HMG box transcriptional repressor HBP1 maintains a proliferation barrier in differentiated liver tissue[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, **21**(17): 5723-5732.
- [15] Huang JS, Xiao R, Pang Y, et al. HBP1—an important tumor inhibitor[J]. *Chin J Biochem Mol Biol* (中国生物化学与分子生物学报), 2012, **28**(10): 913-918.
- [16] Paulson KE, Rieger-Christ K, McDevitt MA, et al. Alterations of the HBP1 transcriptional repressor are associated with invasive breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, **67**(13): 6136-6145.
- [17] Yee AS, Paulson EK, McDevitt MA, et al. The HBP1 transcriptional repressor and the p38 MAP kinase: unlikely partners in G1 regulation and tumor suppression[J]. *Gene*, 2004, **336**(1): 1-13.
- [18] Sampson EM, Haque ZK, Ku MC, et al. Negative regulation of the Wnt/b-catenin pathway by the transcriptional repressor HBP1[J]. *EMBO J*, 2001, **20**(16): 4500-4511.
- [19] Qin X, Zhang H, Zhou X, et al. Proliferation and migration mediated by Dkk-1/Wnt/b-catenin cascade in a model of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Transl Res*, 2007, **150**(5): 281-294.
- [20] Wang Z, Ma Q. Beta-catenin is a promising key factor in the SDF-1/CXCR4 axis on metastasis of pancreatic cancer[J]. *Med Hypotheses*, 2007, **69**(4): 816-820.