

miR-200a通过 β -catenin/TCF-4信号通路抑制胃癌细胞系生长侵袭能力的体外研究*

苏娟 张庆瑜 康春生 张安玲 王涛 张洁

摘要 目的:研究miR-200a通过 β -catenin/TCF-4信号通路对SGC7901胃癌细胞增殖活性及侵袭迁移能力的影响。方法:化学合成miR-200a mimics,采用脂质体Lipofectamine 2000转染胃腺癌细胞SGC7901,qRT-PCR检测转染效果,细胞免疫荧光、Western blot检测转染后目的蛋白的表达, TOP/FOP荧光素酶检测 β -catenin/TCF-4活性,Transwell、划痕实验检测细胞迁移侵袭能力、MTT法检测细胞的增殖活性,流式细胞术检测细胞周期分布的改变。结果:脂质体介导的miR-200a mimics转染SGC7901后, β -catenin/TCF-4蛋白的表达均降低, β -catenin的表达出现了细胞核向胞浆的转移。TOP荧光素酶活性下降2.27倍,而FOP荧光素酶活性基本不变。转染miR-200a mimics组细胞的增殖活性、迁移、侵袭能力比空白组和阴性对照组明显下降,细胞周期出现G₀/G₁期阻滞。结论:提高miR-200a表达可以降低 β -catenin/TCF-4信号通路的活性,抑制SGC7901的生长侵袭迁移能力。

关键词 miRNA-200a β -catenin/TCF-4 胃癌 侵袭

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.02.002

MiR-200a Inhibits the Proliferative and Invasive Ability of Human Gastric Cancer Cell Line *in vitro* Through β -catenin/TCF-4 Signaling Pathway

Juan SU, Qingyu ZHANG, Chunsheng KANG, Anling ZHANG, Tao WANG, Jie ZHANG

Correspondence to: Qingyu ZHANG, E-mail: zhangqy@tjmu.edu.cn

Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81172356) and the Technology Commission Foundation of Tianjin (No. 10jczdjc18500)

Abstract Objective: To explore the effect of miR-200a on the proliferative and invasive activities of gastric carcinoma cell line SGC7901 through β -catenin/TCF-4 signaling. **Methods:** miR-200a mimics were synthesized chemically and transfected into human gastric cancer cell line SGC7901 by Lipofectamine 2000. Real-time PCR was subsequently performed to detect the transfection effect. The expression of target protein was detected by immunofluorescence assay and Western blot. pTopFlash/pFopFlash luciferase vectors were used as a measure of β -catenin/TCF complex activity. Finally, scratch test, transwell cell invasion, MTT, and flow cytometry were used to detect the migratory, invasive, and proliferative activity of the tumor cells. **Results:** The location of β -catenin in cells shifted from the nucleus to the cytoplasm when the miR-200a expression increased. At the same time, TCF-4 decreased in the nucleus. The transfection induced a 2.27-fold increase in the luciferase activity of TopFlash luciferase vector, but did not affect the FopFlash luciferase vector. The proliferation rate, as well as migratory and invasive abilities of SGC7901, were obviously decreased when miR-200a expression was upregulated, and the miR-200a mimics led to G₀/G₁-phase entry. **Conclusion:** Over-expression of miR-200a could suppress the activity of the β -catenin/TCF-4 pathway, consequently inhibiting the proliferation and migratory as well as invasive ability of gastric carcinoma cells.

Keywords MiRNA-200a; β -catenin/TCF-4; Gastric carcinoma; Invasion

miRNA是一类长度为22nt的非编码小分子RNA,其以特异性序列的形式调节转录后的基因表达,从而影响细胞的分化、存活和对外环境的应答^[1],最近研究证实miR-200家族在许多肿瘤细胞中表达下调^[2],且与肿瘤的侵袭转移密切相关^[3],miR-200家族成员包括miR-200a、miR-200b、miR-429、miR-200c和miR-141,

这些成员的表达下调导致细胞的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal-transition, EMT),增加了癌症发展中的转移和侵袭能力。目前国内外对于miR-200家族在肿瘤发生发展中的作用机制的文献报道较少。近年来,miRNA mimics作为人工合成的外源性miRNA已成功应用于沉默预期靶基因的表达及其功能研究,因此,

作者单位:天津医科大学总医院消化内科,天津市神经病学研究所神经肿瘤实验室(天津市300052)

* 本文课题受国家自然科学基金(编号:81172356)和天津市基础重点基础科技项目基金(编号:10jczdjc18500)资助

通信作者:张庆瑜 zhangqy@tjmu.edu.cn

本研究应用 miR-200a mimics 模拟内源性 miR-200a, 上调其在胃癌细胞系 SGC7901 中的表达, 以研究其对胃癌细胞的生物学行为的影响, 并对其作用机制进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

qRT-PCR 试剂、PCR 引物、miR-200 mimics 均购自上海吉玛制药技术有限公司。 β -catenin 单克隆抗体购自 Abcam 公司, TCF-4 单克隆抗体及相应二抗及荧光二抗均购自 Santa cruz 公司, 免疫印迹化学发光 (ECL) 系统购自美国 Syngene 公司。Top/Fop Flash 质粒, 聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜购自美 Millipore 公司。细胞外基质 (ECM) 膜为美国 Sigma 公司产品。Transwell 侵袭小室为美国 Costar 公司产品。脂质体 Lipofectamine2000 购自 Invitrogen 公司。人胃癌细胞株 SGC7901 由第三军医大学樊代明院士馈赠。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染 SGC7901 使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 37℃、5% CO₂ 饱和湿度条件下培养。将处于对数期生长的细胞消化后接种于 6 孔细胞培养板中, 细胞为 (2~3) × 10⁵ 个/孔, 待细胞融合 60%~70%, 根据 Lipofectamine2000 说明书分别将无义序列及 miR-200a mimics 转染 SGC7901 细胞。实验分 3 组: 空白组 (control)、阴性对照组 (scramble) 和 miR-200a mimics 组 (miR-200a)。

1.2.2 qRT-PCR 检测 SGC7901 转染后 miR-200a 的表达变化 应用 Trizol 法提取细胞总 RNA, miR-200a 特异逆转录引物, M-MLV 逆转录酶逆转录合成 cDNA。所得 cDNA 置于 -20℃ 保存。qRT-PCR 检测各组的 miR-200a 的表达。反应条件: 95℃, 10 min; 95℃, 15 s; 65℃, 30 s; 72℃ 30 s; 40 个循环; 72℃, 10 min。数据采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法进行分析。

1.2.3 细胞免疫荧光 细胞转染后 24 h, 0.25% 胰酶消化细胞爬片, 37℃ 温箱孵育 48h, 弃培养基, PBS 洗涤 3 次, 4% 多聚甲醛室温固定 20 min, PBS 洗涤 3 次, 20℃ 冰冻保存。检测时取出冻存细胞爬片, 室温解冻后, 1% Triton 破膜 10 min; 1% 牛血清白蛋白 (BSA) 封闭 30 min; 加 1:100 稀释的一抗, 4℃ 过夜。次日 PBS 洗涤, 加入 FITC 标记的二抗 (1:100), 37℃ 避光孵育 1 h, DAPI 避光染核 10 min, 封片在共聚焦显微镜 (LeiCa microsystem Heidelberg GmbH, Germany) 下观察染色结果。

1.2.4 Western blot 收集转染 48h 后的细胞, 细胞裂解液 RIPA 裂解提取总蛋白。SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 恒压 80V 电转移至 PVDF 印迹膜。BSA 封闭 1h 后, 加入兔抗人 β -catenin/TCF-4 抗体 (1:1 000 稀

释), 4℃ 孵育过夜。次日室温复温 30 min 后 PBST 洗膜, 用辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:1 000 稀释), 室温孵育 1 h。用化学发光法显色, 凝胶成像系统采集成像。目的蛋白相对表达量 = 目的条带的灰度值 / 同一样本内参的灰度值。

1.2.5 Transwell 侵袭实验 在具有 8 μ m 小孔聚碳酸酯滤膜的培养小室上铺用预冷无血清 DMEM 培养基稀释的 Matrigel 基质胶 (matrigel : DMEM = 1 : 2), 接种 100 μ L 无血清培养基稀释 SGC7901 细胞 (10 × 10⁵ 个/mL), 下室加入 600 μ L 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 每组设 3 个复孔。37℃、5% CO₂ 条件下培养 24 h 后, 取出 Transwell 小室, 弃去孔中培养液, 用 PBS 洗涤 2 次, 0.1% 结晶紫染色 5 min, 用棉签轻轻擦掉上层未迁移细胞, 用 PBS 洗涤。100 倍显微镜下随机计数 5 个视野细胞数, 取平均数为每组穿过小室细胞数。

1.2.6 划痕实验 将已转染的细胞放入 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育。次日用 200 μ L 微量移液头在 6 孔板内垂直划痕, PBS 液洗涤 2 次后加入无血清培养基, 在倒置显微镜下观察 0、24 和 48 h 后划痕中细胞的迁移情况并拍照。

1.2.7 MTT 实验 取对数生长期细胞, 常规胰酶消化制成单细胞悬液, 细胞以 4 × 10³ 个/孔接种于 96 孔培养板中, 每孔加入 100 μ L 培养基, 5% CO₂, 37℃ 培养箱内培养 24 h 后转染。取 3 组细胞其吸光度值, 每组 3 个复孔, 每 24 h 测一次。测时每孔加入 20 μ L MTT (5 mg/mL), 温育 4 h 后, 弃去培养基, 加入 200 μ L DMSO, 振荡 10 min。在酶标仪上测 590 nm 处各孔的吸光值 (OD₅₇₀), 按下列公式计算生长抑制率 (IR): 抑制率 (%) = [1 - (实验组 OD₅₇₀ 值 / 对照组 OD₅₇₀ 值)] × 100%。

1.2.8 流式细胞术分析细胞周期 将 6 孔板中的各组细胞用 0.25% 胰酶消化后收集至 EP 管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 用 PBS 洗涤 2 遍, 75% 乙醇 4℃ 固定消化后的单细胞悬液过夜, RNase A (1 mg/mL) 200 μ L 37℃ 孵育 30 min, 与 PI 染色液 800 μ L 混匀后 4℃ 避光染色 30 min, 应用 FACSCalibur (BD 公司, 美国) 流式细胞仪在 488 nm 检测。

1.2.9 TOP/FOP 荧光素酶试验 处于对数生长期的 SGC7901 细胞常规消化后接种于 96 孔细胞培养板中, 3 × 10³ 个/孔。待细胞融合 60%~70%, 根据 Lipofectamine2000 说明书分别将 miR-200a mimics 转染 SGC7901 细胞, 24 h 后转染 TOP/FOP 荧光素酶报告质粒, 每孔 0.2 μ g TOP/FOP 质粒, 0.25 μ L Lipofectamine2000, 实验分 5 组: 空白组 (control)、TOP、FOP、TOP+miR-200a、FOP+miR-200a 组, 每组设 3 个复孔。

1.3 统计学方法

SPSS11.0 软件对所有数据进行统计学处理, 选用

方差分析、 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异统计学意义。

2 结果

2.1 qRT-PCR检测转染后miR-200a的表达情况

qRT-PCR结果显示转染后, 实验组miR-200a的表达水平较空白组及阴性对照组(表1)升高约38倍, miRNAs mimics转染成功, 可满足后续实验需要。

2.2 转染前后细胞迁移和侵袭能力的变化

体外划痕实验结果显示, 转miR-200a mimics组SGC7901细胞的运动速度明显慢于空白组和无义序列组细胞, 转miR-200a mimics组48 h后细胞划痕依然明显, 而空白组和阴性对照组细胞已基本长满。

Transwell体外侵袭实验转染后发现各组穿过微孔的平均细胞数(表2)。空白组和阴性对照组细胞数差异无统计学意义, 而转miR-200a mimics组细胞数明显少于空白组和阴性对照组, 较之分别降低了38.60%和36.64%。

2.3 细胞增殖活性分析

与空白组和阴性对照组相比, 转miR-200a mimics组细胞自第2天起增殖速率呈下降趋势, 3组之间细胞增殖率除第1天差异无统计学意义($P > 0.05$), 其

余各时限比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 空白组和阴性对照组增殖率变化差异无统计学意义($P > 0.05$, 表3)。

表1 qRT-PCR检测转染miR-200a mimics后的ct值变化

Table 1 Changes of the CT value after transfection of miR-200a detected by the real-time quantity PCR

| 分组 | Δct | $\Delta\Delta ct$ | $2^{-\Delta\Delta ct}$ |
|------------------|------------------|--------------------|------------------------|
| 空白组 | 16.589 ± 0.010 1 | 0 | 1 |
| scramble组 | 16.503 ± 0.025 2 | -0.085 7 ± 0.031 9 | 1.061 2 |
| miR-200a mimics组 | 11.343 ± 0.005 8 | -5.245 7 ± 0.015 0 | 37.941 4 |

表2 Transwell法检测SGC7901细胞转染miR-200a mimics后侵袭能力结果分析 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Invasive ability of gastric cancer cells SGC7901 after transfection detected by transwell assay

| 分组 | 穿过基质膜的细胞数 | F | P |
|-----------|----------------|-------|-------|
| 空白组 | 133.00 ± 10.82 | | |
| scramble组 | 128.33 ± 9.07 | 29.76 | 0.001 |
| miR-200a组 | 81.67 ± 6.66 | | |

表3 SGC7901细胞转染miR-200a mimics后MTT检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Results of MTT after transfection of miR-200a mimics

| 时间/d | 活细胞比率/% | | | F | p |
|------|-------------|-----------|-----------|--------|-------|
| | 空白组 | scramble组 | miR-200a组 | | |
| d1 | 100 ± 0.000 | 100 ± 5.6 | 85 ± 18.5 | 0.223 | 0.807 |
| d2 | 100 ± 0.000 | 95 ± 9.9 | 91 ± 8.5 | 1.550 | 0.287 |
| d3 | 100 ± 0.000 | 98 ± 9.1 | 83 ± 4.8 | 7.244 | 0.025 |
| d4 | 100 ± 0.000 | 100 ± 4.7 | 74 ± 3.2 | 35.414 | * |
| d5 | 100 ± 0.000 | 100 ± 9.5 | 72 ± 2.9 | 32.465 | 0.001 |
| d6 | 100 ± 0.000 | 99 ± 7.8 | 69 ± 4.1 | 61.627 | * |
| d7 | 100 ± 0.000 | 97 ± 12.4 | 67 ± 2.9 | 37.660 | * |

*: $P < 0.001$

流式细胞术分析细胞周期, 转染后SGC7901细胞空白组、scramble组和miR-200a组G₀/G₁期分别50.2%、52.9%和65.2%, S期分别为29.4%、28.1%和24.3%; G₂/M期分别为20.4%、19.0%和10.5%; 表明上调miR-200a的表达使细胞周期阻滞在G₀/G₁期, 细胞增殖能力受抑制。

2.4 转染后β-catenin/TCF-4通路及相关蛋白表达的变化

本研究运用Western blot及免疫荧光法检测转染miR-200a后, β-catenin和TCF-4表达量及细胞定位的变化。蛋白杂交结果显示(图1), SGC7901细胞中β-catenin/TCF-4及生物学相关蛋白的表达明显低于

阴性对照组和空白组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。细胞共聚焦(图2)结果则表明在SGC7901细胞中增加miR-200a后, β-catenin被敲低并出现了细胞核向胞浆的转移, TCF-4的表达也出现了下调。

2.5 TOP/FOP荧光素酶试验

TOP/FOP荧光素酶试验是检测β-catenin和TCF-4活性的经典试验。通过转染miR-200a mimics 24 h后转染TOP/FOP荧光素酶报告质粒, 48 h后检测荧光素酶活性。TOP+miR-200a组与TOP组相比荧光素酶活性下降2.27倍, 而FOP+miR-200a组与FOP组相比荧光素酶活性基本不变(图3)。

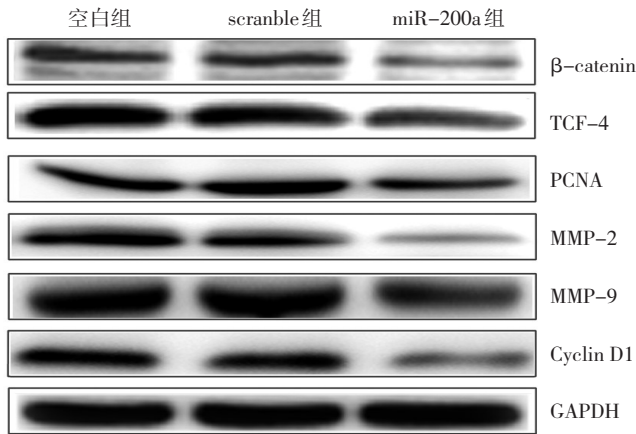


图1 Western blot 检测转染后 β-catenin/TCF-4 通路及相关蛋白表达
Figure 1 The expression of purpose proteins detected by Western blot

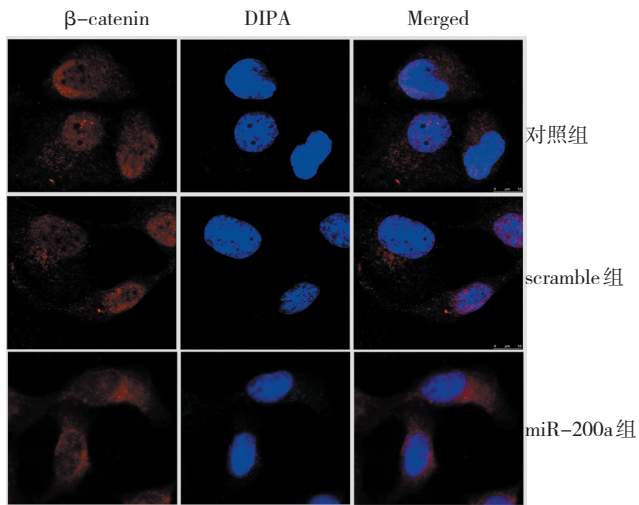


图2 免疫荧光检测 SGC7901 细胞 β-catenin 的表达 (×200)
Figure 2 Changes in cellular localization of β-catenin in SGC7901 cells detected by immunofluorescence

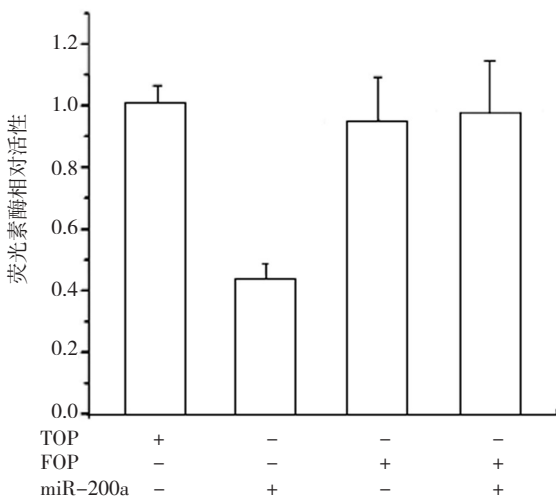


图3 TOP/FOP 荧光素酶试验检测 β-catenin/TCF-4 活性
Figure 3 The activity of β-catenin/TCF complex detected by pTop-Flash/ pFopFlash luciferase vectors

3 讨论

胃癌是一种常见的严重威胁人类生命健康的恶性肿瘤,占胃恶性肿瘤的95%。胃癌在我国发病率很高,其发生、发展是一个多基因、多途径、多阶段的复杂过程。近年来的研究表明,miRNA的异常表达与肿瘤发生、发展和侵袭转移密切相关,成为近几年的研究热点。最近研究表明 miR-200 家族在鼻咽癌^[3]、宫颈癌^[4]等多种人类肿瘤表达下调,并且在鼻咽癌细胞系中其内源性 miR-200a 的表达随细胞分化程度的增加而增加。Du 等^[5]对胃癌及胃癌细胞系的研究发现,miR-200 家族成员在胃癌及胃癌细胞系中均表达下调。miR-200 家族过度表达时可抑制多种实体细胞增殖、转移和侵袭能力^[3-8]。为了探讨 miR-200 对胃癌细胞系生物学行为能力的影响,本研究向胃癌细胞系 SGC7901 中导入 miR-200a 的 mimics,发现增加胃癌细胞系 SGC7901 中 miR-200a 的表达后,肿瘤细胞的侵袭、迁移能力明显下降;同时,也抑制了胃癌细胞的增殖能力。表明 miR-200a 在细胞恶性转化过程中可能起着抑制癌细胞作用。

miR-200 家族发挥其抑癌作用的机制目前还不十分清楚。有研究表明,miR-200 家族成员可以抑制 EMT 过程。EMT,即上皮细胞在形态学上发生向成纤维细胞或间充质细胞表型转变的过程。EMT 过程中细胞间黏附减弱、运动性增强,且细胞间紧密连接及细胞极性均被破坏。越来越多的证据表明,EMT 是许多肿瘤侵袭和转移早期的一个重要的过程^[9,10],且能明显推进恶性肿瘤的演进。miR-200 家族成员可以抑制 EMT 过程,其主要通过抑制 ZEB1 和 ZEB2 进而抑制 E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达。E-cadherin 属于 I 型膜蛋白,它与 N-cadherin, P-cadherin 及 catenin (包括 α-, β-, γ- 及 P120) 构成 cadherin/catenin 复合体,是一组与细胞间紧密连接,维持细胞极性,保持组织结构完整密切相关的蛋白复合体。β-catenin 作为 cadherin/catenin 复合体的组成部分之一,其最初是在研究细胞间的黏附分子钙黏蛋白(cadherin)时发现其结合在 E-cadherin 的胞浆区^[6-7],近年来已证明 cadherin/catenin 复合体调控细胞与细胞之间黏附并影响细胞的迁移,而 β-catenin 在 cadherin/catenin 复合体中通过通过 α-catenin—细胞骨架肌动蛋白(actin)连接 cadherins,在 cadherins 的结构和功能方面发挥了基本的作用。酪氨酸通过胞浆激酶 Fer/Scr/表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)对 β-catenin 的磷酸化作用可破坏 β-catenin 与 cadherin 的结合,表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)通过胞浆酪氨酸激酶 Fer/Scr 对 β-catenin 的磷酸化作用可破坏

β -catenin与cadherin的结合,导致胞浆游离 β -catenin增加并转运入胞核^[11],发挥其转录激活作用。 β -catenin不仅参与cadherins/catenin复合体的组成也是Wnt通路的关键组成部分, β -catenin/TCF-4作为经典的Wnt通路在胚胎发育过程中具有至关重要的作用,而且还与众多不同的组织干细胞进行自我更新和分化,以及与多种人类疾病的发生发展密切相关。当Wnt信号通路激活时,使在胞浆内累积 β -catenin转位入核并与核内转录因子TCF/LEF相互作用,激活下游靶基因的转录,引发生物学效应。

Xia等^[3]在对鼻咽癌的研究中用荧光素酶报告实验证明 β -catenin为miR-200a的直接靶点之一,在Saydam等^[12]研究脑膜瘤细胞系时也得到证实。本实验在增加胃癌细胞内miR-200a表达后,发现 β -catenin的表达被抑制,而且其下游信号分子TCF-4核内表达量减少。应用TOP/FOP实验检测 β -catenin信号通路活性后发现,该信号通路的活性明显降低。根据我们实验及先前相关研究结果分析,miR-200a对 β -catenin/TCF-4的调节可能有两种机制:一种是miR-200a通过其靶基因ZEB1/ZEB2调节cadherin复合体,从而影响Wnt/ β -catenin/TCF-4信号通路的活性;另一个机制则是通过直接抑制其靶基因 β -catenin的表达,进而引起细胞内 β -catenin分布改变从而抑制Wnt/ β -catenin/TCF-4信号通路的活性。Wnt/ β -catenin/TCF-4信号通路活性的降低引起的对下游靶基因(c-myc、cyclinD1、MMP2、ITF-2等)的影响及cadherins复合体功能改变引起的细胞间黏附能力的增加,其共同作用降低了SGC-7901细胞的癌性生物学特征。

综上所述,调节细胞生物学行为的信号通路还有许多,这些信号传导通路存在许多交叉,之间的相互作用是否与miR-200a的调控有关有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Dykxhoorn DM, Chowdhury D, Lieberman J. RNA interference and cancer: endogenous pathways and therapeutic approaches[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2008, 615: 299-329.
- 2 Gregory PA, Bracken CP, Bert AG, et al. MicroRNAs as regulators of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(20): 3112-3118.
- 3 Xia H, Ng SS, Jiang S, et al. miR-200a-mediated downregulation of ZEB2 and CTNBN1 differentially inhibits nasopharyngeal carcinoma cell growth, migration and invasion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 535-541.
- 4 Hu X, Schwarz JK, Lewis JS Jr, et al. A microRNA expression signature for cervical cancer prognosis[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(4): 1441-1448.
- 5 Du Y, Xu Y, Ding L, et al. Down-regulation of miR-141 in gastric

- 6 Park SM, Gaur AB, Lengyel E, et al. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(7): 894-907.
- 7 Adam L, Zhong M, Choi W, et al. miR-200 expression regulates epithelial-to-mesenchymal transition in bladder cancer cells and reverses resistance to epidermal growth factor receptor therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(16): 5060-5072.
- 8 Tryndyak VP, Ross SA, Beland FA, et al. Down-regulation of the microRNAs miR-34a, miR-127, and miR-200b in rat liver during hepatocarcinogenesis induced by a methyl-deficient diet Molecular carcinogenesis[J]. *Mol Carcinog*, 2009, 48(6): 479-487.
- 9 Cardiff RD. Epithelial to mesenchymal transition tumors: fallacious or snail's pace[J]? *Clin Cancer Res*, 2005, 11(24): 8534-8553.
- 10 Thompson EW, Newgreen DF, Tarin D. Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial-mesenchymal transition[J]? *Cancer Res*, 2005, 65(14): 5991-5995.
- 11 Huang K, Zhang JX, Han L, et al. MicroRNA roles in beta-catenin pathway[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 252-263.
- 12 Saydam O, Shen Y, Wurdinger T, et al. Downregulated microRNA-200a in meningiomas promotes tumor growth by reducing E-cadherin and activating the Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(21): 5923-5940.

(2011-07-24收稿)

(2011-12-13修回)

(杨红欣校对)