

HAI-1 对肾细胞癌细胞自噬及凋亡调控的初步研究

张靖华, 吴秋杰, 刘金瑞, 王鹏鸽, 孙夕然, 王长安
(河南省郑州市第七人民医院, 河南 郑州 450017)

摘要: [目的] 研究肝细胞生长因子激活因子 1 型抑制因子 (hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1, *HAI-1*) 对肾细胞癌细胞自噬和凋亡的影响, 探讨其发挥作用的可能机制。 [方法] QRT-PCR 检测 *HAI-1* 在肾细胞癌组织和细胞系中的表达水平, 选择低表达的肾细胞癌细胞系进行 *HAI-1* 过表达质粒的转染, 分为对照组 (NC 组) 和过表达质粒组 (OE-*HAI-1* 组)。QRT-PCR 检测 NC 组和 OE-*HAI-1* 组细胞中 *HAI-1* 的表达水平; MTS 实验检测 NC 组和 OE-*HAI-1* 组细胞的增殖率; Western blot 法检测 *HAI-1* 对肾细胞癌细胞中自噬相关蛋白表达水平的影响; 流式细胞仪检测 NC 组和 OE-*HAI-1* 组细胞凋亡率; Western blot 法检测 NC 组和 OE-*HAI-1* 组细胞中 caspase3、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达水平。 [结果] QRT-PCR 结果显示 *HAI-1* 在肾细胞癌组织中的表达低于其在癌旁组织中的表达, *HAI-1* 在肾细胞癌细胞系 ACHN、786-O 和 A-498 中的表达低于其在肾小管上皮细胞 HK-2 中的表达 ($P < 0.05$)。选择 *HAI-1* 表达最低的肾细胞癌细胞系 786-O 转染 *HAI-1* 过表达质粒, qRT-PCR 结果显示 OE-*HAI-1* 组细胞中 *HAI-1* 的表达增加 ($P < 0.05$); 与 NC 组相比, OE-*HAI-1* 组 786-O 细胞增殖能力下降。与 NC 组比较, OE-*HAI-1* 组和加入自噬激活剂 Rapamycin 的 OE-*HAI-1*+Rapamycin 组细胞中 Beclin1 和 LC3-II 蛋白表达降低, LC3-I 蛋白表达增加。与 OE-*HAI-1* 组相比, OE-*HAI-1*+Rapamycin 组 Beclin1 和 LC3-II 蛋白表达增加, LC3-I 蛋白表达降低。与 NC 组相比, OE-*HAI-1* 组细胞凋亡增加, 细胞中 caspase3 和 Bax 蛋白表达增加, Bcl-2 蛋白的表达降低。 [结论] *HAI-1* 在肾细胞癌组织和细胞系中表达降低, 并促进肾细胞癌细胞自噬和凋亡的发生。*HAI-1* 可能是治疗肾细胞癌的候选分子靶标。

关键词: 肾细胞癌; 肝细胞生长因子激活因子 1 型抑制因子; 自噬; 凋亡

中图分类号: R737.11 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2020)09-0715-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.09.A013

Effect of *HAI-1* on Autophagy and Apoptosis in Renal Cell Cancer Cells

ZHANG Jing-hua, WU Qiu-jie, LIU Jin-rui, WANG Peng-ge, SUN Xi-ran, WANG Chang-an
(Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou 450017, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effect of hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1 (*HAI-1*) on autophagy and apoptosis in renal cell carcinoma cells, and its possible mechanisms. [Methods] The expression levels of *HAI-1* were detected with qRT-PCR in renal cell carcinoma tissues and cell lines. The *HAI-1* plasmids (OE-*HAI-1* group) or blank plasmids (NC group) were transfected in low-expressing renal cell carcinoma cells. MTS was used to detect the cell proliferation rate; Western blot method was used to detect the effect of *HAI-1* on autophagy-related proteins expression in renal cell carcinoma cells; flow cytometry was used to detect apoptosis rates in NC group and OE-*HAI-1* group. The expressions of caspase3, Bax and Bcl-2 proteins were detected with Western blot. [Results] The qRT-PCR results showed that the expression of *HAI-1* in renal cell carcinoma tissues was lower than that in cancer adjacent tissues, and the expression of *HAI-1* in renal cell carcinoma cell lines ACHN, 786-O, and A-498 was lower than that in renal tubular epithelial HK-2 cells ($P < 0.05$). The renal cell carcinoma cell line 786-O with the lowest *HAI-1* expression was selected to transfect the *HAI-1* overexpression plasmid. The qRT-PCR results showed that *HAI-1* expression was increased in the OE-*HAI-1* cells ($P < 0.05$). Compared with the NC group, the expressions of Beclin1 and LC3-II proteins were decreased, and the expression of LC3-I protein was increased in the OE-*HAI-1* cells and OE-*HAI-1* + Rapamycin group. Compared with the OE-*HAI-1* group, the expressions of Beclin1 and LC3-II proteins were increased and the expression of LC3-I protein was decreased in the OE-*HAI-1* + Rapamycin group. Compared with the NC group, the apoptosis of the OE-*HAI-1* group was increased, the expression of caspase3 and Bax protein were increased, and the expression of Bcl-2 protein was decreased. [Conclusion] *HAI-1* expression is downregulated in renal cell carcinoma tissues and cell lines, resulting in the autophagy and apoptosis in renal cell carcinoma cells. *HAI-1* may be a candidate molecular target for the treatment of renal cell carcinoma.

Key words: renal cell carcinoma; hepatocyte growth factor activator type 1 inhibitor; autophagy; apoptosis

收稿日期: 2020-03-05; 修回日期: 2020-07-24

通信作者: 王长安, E-mail: wangchangan1964@163.com

肾细胞癌是指约 90% 肾实质产生的肾癌,约占所有成人恶性肿瘤的 3%,是泌尿系统癌症中第二常见的恶性肿瘤和第三大死亡原因,肾细胞癌的发病率在男性中更为突出,男女之比为 1.5:1,高发年龄段为 60~70 岁^[1-2]。尽管在肾细胞癌检测和治疗方面取得了惊人的进步,但由于肾细胞癌具有高转移性,恶性程度较高,患者的总生存率仍然很差^[3]。肾细胞癌的发病机制目前仍未阐明,因此研究肾细胞癌进展的分子机制对寻找新治疗方法、改善患者预后具有重要作用。肝细胞生长因子激活因子 1 型抑制因子 (hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1, HAI-1) 是 II 型跨膜丝氨酸蛋白酶 (Matriptase) 酶活性的抑制剂,在生理条件下严格调控 Matriptase 的酶活性, Matriptase 在肿瘤中高表达,并与肿瘤的恶性进展密切相关^[4-5]。研究报道 HAI-1 在膀胱癌和前列腺癌等泌尿系统肿瘤中发挥抑癌基因的作用^[6-7],但是其在肾细胞癌中发挥的作用未知。自噬和凋亡是两种细胞生理性死亡形式,其异常过程与肿瘤的发生发展密切相关,自噬和凋亡的调节可用作肿瘤治疗的有效干预策略^[8-9]。因此本文针对 HAI-1 对肾细胞癌自噬和凋亡的作用进行了研究。

1 材料与方法

1.1 临床样本收集

收集 2017 年 1 月至 2019 年 4 月期间入住郑州市第七人民医院的肾细胞癌患者手术标本 38 例,包括肾细胞癌组织和其配对的癌旁组织。患者手术前未接受过任何的治疗,患者及其家属均签署知情同意书,该操作符合赫尔辛基宣言并通过医院伦理审查。

1.2 主要实验试剂和材料

细胞培养基、胎牛血清 (FBS) 和胰酶,美国 Gibco 公司;肾细胞癌细胞系 ACHN、786-O、A-498 和肾小管上皮细胞 HK-2,美国 ATCC 细胞库;Trizol 试剂,美国 TaKaRa 公司;Bestar 1st Strand cDNA 合成试剂盒,中国上海 DBI[®] Bioscience 公司;OneStep RT-PCR Kit 试剂盒,德国 QIAGEN 公司;HAI-1 过表达质粒,中国广州瑞博公司;MTS 试剂,英国 Abcam 公司;蛋白裂解液,中国北京索莱宝公司;蛋白浓度检测试剂盒,中国上海碧云天试剂有限公司;

PVDF 膜,美国 Bio-Rad 公司;Beclin1、LC3-I、LC3-II、caspase3、Bcl-2 和 Bax 抗体,美国 Proteintech 公司;自噬激活剂 Rapamycin,美国 MedChemExpress 公司;细胞凋亡检测试剂盒,中国南京凯基公司。

1.3 QRT-PCR 检测 HAI-1 的表达水平

收集的新鲜肾细胞癌和癌旁组织经液氮冷冻后,采用研钵磨成粉后,加入 Trizol 试剂,冰上裂解 10min,加入氯仿后低温离心 30min,将上清液移至新的 EP 管中加入异丙醇低温离心 30min,经无水乙醇洗 1 次后得到组织 RNA。RNA 经 Bestar 1st Strand cDNA 合成试剂盒反转录为 RT-PCR 扩增模板 cDNA。根据 OneStep RT-PCR Kit 试剂盒说明书,按照 95℃ 5s, 95℃ 5s, 60℃ 30s, 进行 40 个扩增循环反应。根据各样品的循环阈值 (Ct, cycle threshold), 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 HAI-1 mRNA 的相对表达量, GAPDH 作为内参。HAI-1 引物 F: 5'-GGCAACAA-GAACAACCTTTGAGGA-3', R: 5'-CAATGCAGAT-GACCAGGAACAC-3', GAPDH 引物 F: 5'-GCACCG-TCAAGGCTGAGAAC-3', R: 5'-TGGTGAAGACGCC-AGTGGA-3'。

1.4 细胞培养和 HAI-1 过表达质粒转染

肾细胞癌细胞系 ACHN、786-O、A-498 和肾小管上皮细胞 HK-2 快速复苏后重悬至完全培养基中 (含有 10% 的 FBS), 放置在 37℃、5%CO₂ 培养箱中孵育。细胞长至 90% 时,按照 1:3 的比例进行传代,使其密度为 30%,进行后续实验。胰酶消化收集长满的各个细胞, PBS 洗 3 次后加入 Trizol 试剂,按照上文 1.3 中 qRT-PCR 实验方法,检测各个细胞中 HAI-1 的表达水平,并选择 HAI-1 低表达的肾细胞癌细胞,以 1.0×10^5 个细胞铺至 6 孔板中,分为 NC 组 (阴性对照组) 和 OE-HAI-1 组 (HAI-1 过表达质粒组),细胞贴壁后将 NC 和 HAI-1 过表达质粒与 lip2000 混匀后加入各组细胞中进行转染, 12h 更换新鲜培养基培养。

1.5 MTS 实验

HAI-1 低表达的肾细胞癌细胞,以每孔 1500 个细胞接种于 96 孔板中,分为 NC 和 OE-HAI-1 组,每组设置 5 个复孔。按照上文 1.4 中细胞转染的方法进行各组质粒的转染,在转染 48h 时每孔加入 20 μ l MTS 试剂,在培养箱中孵育 2h 后,检测各孔 490nm 处 OD 值 (吸光度)。细胞增殖率 = 实验组各孔 OD 平均值 / 对照组各孔 OD 平均值 $\times 100\%$ 。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡

胰酶消化收集转染 NC 和 HAI-1 过表达质粒 48h 的各组细胞, PBS 洗 3 次后, 加入细胞凋亡检测试剂缓冲液 500 μ l 重悬细胞, 并加入碘化丙啶(PI) 和 Annexin V-FITC 各 5 μ l 混匀后室温避光孵育 15min, 流式细胞仪上机进行检测, 获得各组细胞凋亡率。

1.7 Western blot 检测自噬和凋亡相关蛋白表达

胰酶消化收集转染 NC(NC 组)、HAI-1 过表达质粒转染 48h(OE-HAI-1 组) 及 HAI-1 过表达质粒转染的同时加入 5 μ mol/L 的自噬激活剂 Rapamycin(OE-HAI-1+Rapamycin 组) 处理的各组细胞, PBS 洗 3 次后, 加入蛋白裂解液, 冰上震荡裂解 15min 后, 高速进行离心, 获得蛋白裂解液, 采用蛋白浓度检测试剂盒测得蛋白浓度。上样行凝胶电泳分离蛋白, 湿性转 PVDF 膜, 5% 牛奶室温孵育 PVDF 膜 1h, 自噬相关蛋白一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗 3 次, 室温二抗孵育 1h, 化学发光法进行曝光, Image J 软件行蛋白灰度值分析。同时胰酶消化收集转染 NC 和 HAI-1 过表达质粒 48h 的各组细胞, 检测凋亡相关蛋白的表达。

1.8 统计学处理

用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。数据均以 $\bar{x}\pm s$ (均数 \pm 标准差) 表示, 独立样本 t 检验分析两组间的差异。 $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HAI-1 在肾细胞癌组织中的表达

QRT-PCR 检测 HAI-1 在 38 例肾细胞癌组织和癌旁组织中的表达水平, 结果显示 HAI-1 在肾细胞癌组织中的表达为 (0.73 ± 0.37) , 低于其在癌旁组织中的表达 (1.00 ± 0.29) ($t=3.41, P=0.001$)。见图 1 (Figure 1)。

2.2 HAI-1 在肾细胞癌细胞株中的表达

QRT-PCR 检测 HAI-1 在肾细胞癌细胞系 ACHN、786-O、A-498 和肾小管上皮细胞 HK-2 中的表达水平, 结果显示 HAI-1 在肾细胞癌细胞中的表达均低于在肾小管上皮细胞 HK-2 (1.00 ± 0.00) 中的表达 [(0.37 ± 0.04) vs (1.00 ± 0.00) , $t=3.11, P=0.011$; (0.21 ± 0.02) vs (1.00 ± 0.00) , $t=4.62, P=0.000$; (0.43 ± 0.02) vs (1.00 ± 0.00) , $t=2.95, P=0.020$], 其在 786-O 细胞中表达水平最低 (Figure 2)。

2.3 HAI-1 过表达质粒转染效率

选择 HAI-1 低表达的肾细胞癌细胞 786-O 转染 HAI-1 过表达质粒, 转染 48h 后 qRT-PCR 结果显示 HAI-1 在 NC 组细胞中的表达水平为 (1.00 ± 0.00) , OE-HAI-1 组细胞中的表达水平为 (8.15 ± 0.19) ($P<0.05$) (Figure 3)。表明 HAI-1 过表达质粒成功转染至 786-O 细胞中, 并促进 HAI-1 的表达。

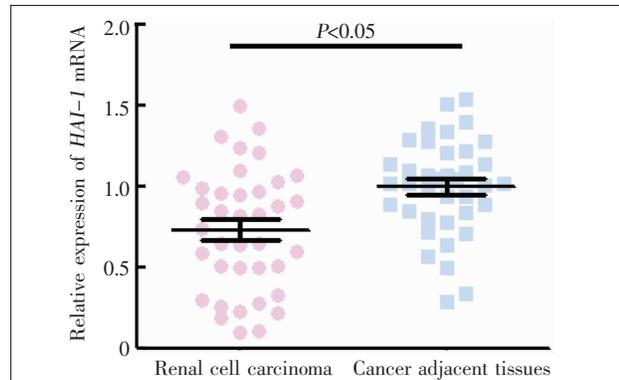
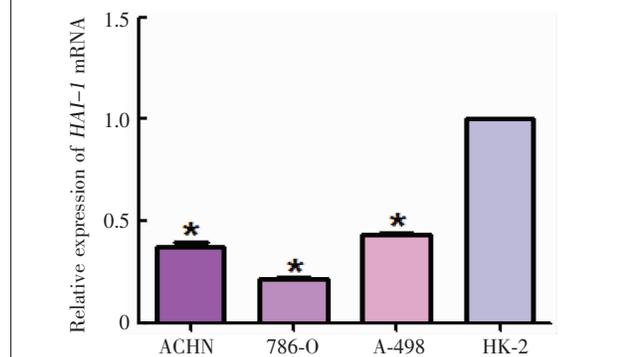


Figure 1 The expression level of HAI-1 in renal cell carcinoma tissues and cancer adjacent tissues by qRT-PCR (n=38)



Note: *: Compared with renal tubular epithelial cells HK-2, $P<0.05$

Figure 2 The expression level of HAI-1 in renal cell carcinoma cells lines by qRT-PCR

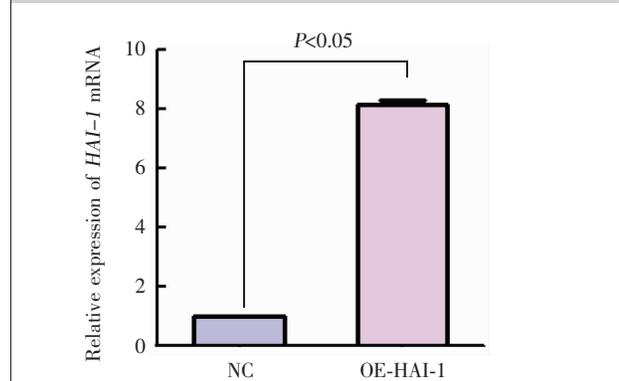


Figure 3 HAI-1 expression increasing in OE-HAI-1 group comparing with NC group by qRT-PCR

2.4 MTS 检测各组细胞增殖率

HAI-1 过表达质粒转染 786-O 细胞 48h 后, MTS 实验检测发现, 与 NC 组细胞 (100.00%±1.35%) 比较, OE-HAI-1 组细胞增殖率降低 (31.23%±4.67%) ($P<0.05$) (Figure 4)。

2.5 Western blot 实验检测各组细胞自噬相关蛋白表达

NC 组、OE-HAI-1 组及 OE-HAI-1 组转染的同

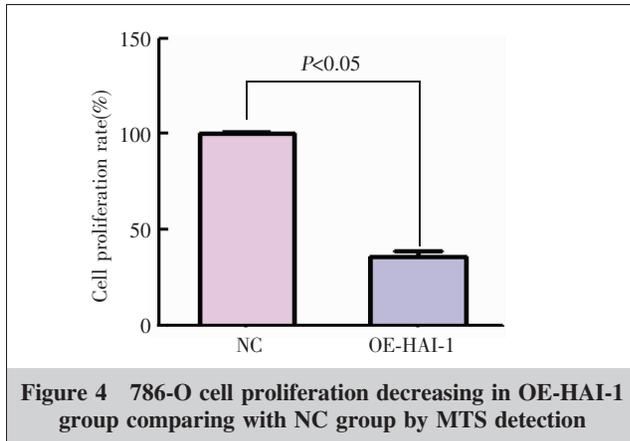
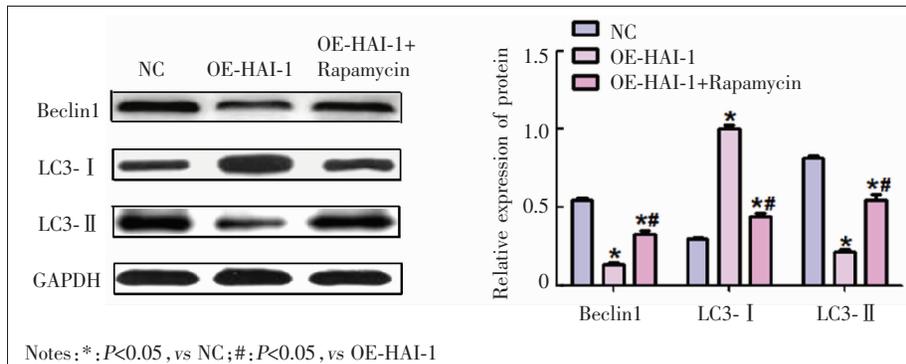


Figure 4 786-O cell proliferation decreasing in OE-HAI-1 group comparing with NC group by MTS detection



Notes: *: $P<0.05$, vs NC; #: $P<0.05$, vs OE-HAI-1

Figure 5 The effect of HAI-1 on autophagy detected by Western blot method

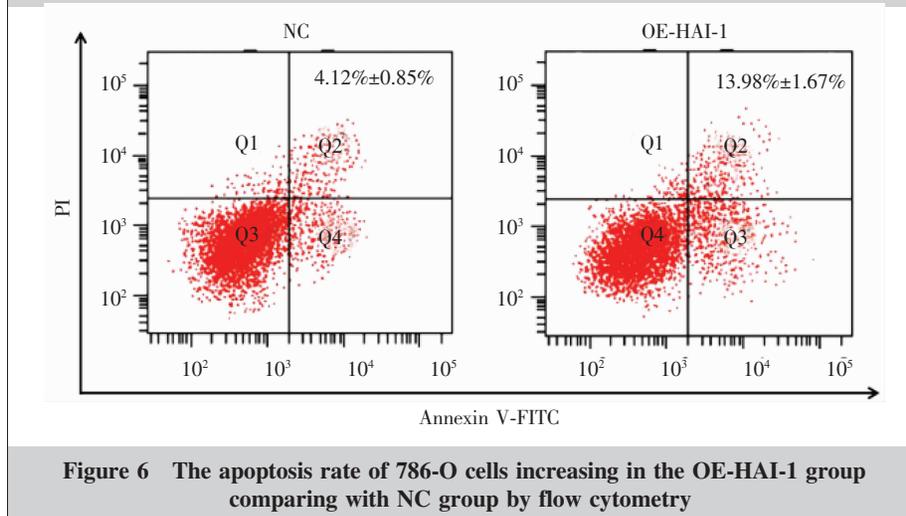


Figure 6 The apoptosis rate of 786-O cells increasing in the OE-HAI-1 group comparing with NC group by flow cytometry

时采用 5 μ mol/L 自噬激活剂 Rapamycin(OE-HAI-1+Rapamycin 组)作用 48h 后, Western blot 实验检测发现, 与 NC 组比较, OE-HAI-1 组和 OE-HAI-1+Rapamycin 组细胞中 Beclin1 和 LC3-II 蛋白表达降低, LC3-I 蛋白表达增加。与 OE-HAI-1 组相比, OE-HAI-1+Rapamycin 组 Beclin1 和 LC3-II 蛋白表达增加, LC3-I 蛋白表达降低 ($P<0.05$) (Figure 5)。

2.6 流式细胞仪检测各组细胞凋亡率

HAI-1 过表达质粒转染 786-O 细胞 48h 后, 流式细胞仪检测发现, 与 NC 组细胞凋亡率 (4.12%±0.85%) 比较, OE-HAI-1 组细胞凋亡率增加 (13.98%±1.67%) ($P<0.05$) (Figure 6)。

2.7 Western blot 实验检测各组细胞凋亡相关蛋白表达

HAI-1 过表达质粒转染 786-O 细胞 48h 后, Western blot 实验检测发现, 与 NC 组比较, 细胞中 caspase3 和 Bax 蛋白表达增加, Bcl-2 蛋白表达降低 ($P<0.05$) (Figure 7)。

3 讨论

肾细胞癌在临床上是一种常见的肾癌类型, 据统计占原发性肾肿瘤的 80%~85%, 并且发现其发病率有逐年增加的趋势^[1-2]。目前, 外科手术是早期肾细胞癌的主要治疗手段, 而晚期肾细胞癌常用的治疗手段包括化学疗法和放射疗法两种, 但是研究发现机体内的肿瘤细胞对这些治疗方法常出现抵抗, 导致治疗效果不理想^[10]。同时肾细胞癌早期很少会出现典型的临床症状或实验室异常, 约有三分之一的肾细胞癌患者在初诊时已发现癌细胞发生转移、扩散, 诊断为晚期, 而 90% 的肾细胞癌患者死亡与患者发生转移相关, 临床分期为 I 期的肾细

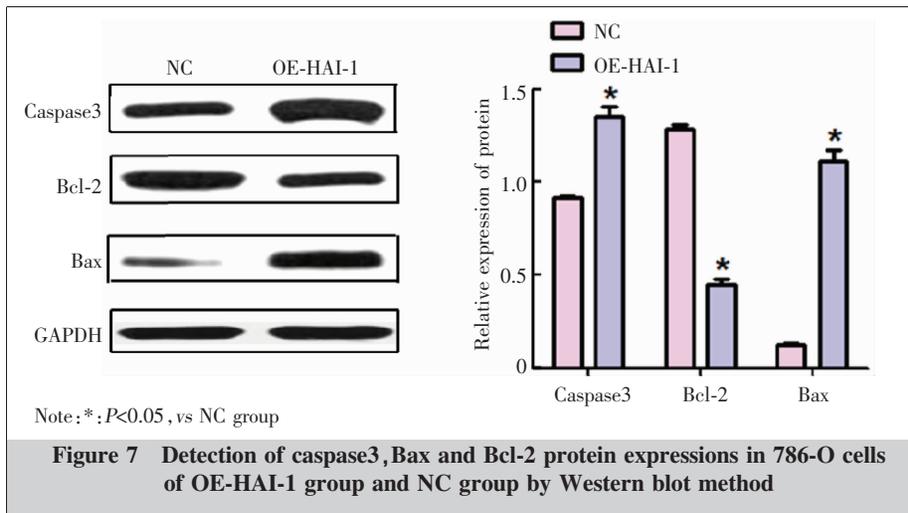


Figure 7 Detection of caspase3, Bax and Bcl-2 protein expressions in 786-O cells of OE-HAI-1 group and NC group by Western blot method

胞癌患者 5 年的生存率为 84%，IV 期的肾细胞癌患者 5 年生存率却仅为 6%^[3]，因此，新的治疗方法尤其是针对肾细胞癌晚期患者的治疗是直接影响患者预后的关键。研究报道表明，针对 mTOR 信号通路和低氧信号通路的分子靶向药物已经用于肾细胞癌患者晚期治疗，并且已经取得了较好的治疗效果^[10]，但是患者长期的预后效果未得到明显的改善，因此探索新的分子靶点是非常必要的，对有效治疗肾细胞癌晚期患者具有深远的意义。

肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 是一种多功能生长因子，主要由成纤维细胞分泌为无活性的单链前体，缺乏生物活性，其活化需要在激活剂 Matriptase 作用下，通过蛋白水解裂解才能被激活，活化后的 HGF 与其特异性受体酪氨酸激酶 MET (c-met 原癌基因产物) 结合可激活酪氨酸激酶活性，进而诱导激活环中的酪氨酸残基发生自磷酸化现象，进一步介导了下游通路的信号分子转导，已有大量文献报道，HGF/MET 信号轴的激活与肿瘤进展有密切关系，其中就包括肾细胞癌^[11-12]。换句话说，HGF/MET 信号通路激活，可大大升高肾细胞癌的发生概率，所以如果有效抑制 HGF/MET 信号通路的表达，可降低肾细胞癌的发病率。有研究表明，Matriptase 酶活性可被 HAI-1 抑制，HAI-1 由位于人类 15q15.1 染色体上的 *SPINT1* 基因编码，最初是从人胃癌细胞培养基中纯化得到的，具有两个功能性 Kunitz 型抑制剂结构域，在肿瘤中发挥抑癌作用^[5]。研究报道显示，HAI-1 在浸润性膀胱癌患者中表达明显降低，并且 HAI-1 低表达的患者的预后情况较

差^[6]。同样的，在前列腺癌细胞系中抑制 HAI-1 的表达可以促进肿瘤细胞的迁移、侵袭和转移能力^[7]。本文采用 qRT-PCR 检测 HAI-1 在肾细胞癌中的表达情况，研究发现 HAI-1 在肾细胞癌中的表达明显低于其配对的癌旁组织，并进一步检测了 HAI-1 基因在肾细胞癌细胞系中的表达情况，qRT-PCR 结果显示 HAI-1 在 3 株肾细胞癌细胞系中的表达均明显低于其

在肾小管细胞中的表达，与之前结论一致，综合以上结果表明 HAI-1 基因在肾细胞癌中扮演一种重要的角色，猜测 HAI-1 基因可能也是一种抑癌基因。

为了进一步研究 HAI-1 在肾细胞癌中发挥的作用以及作用机制，本文选择 HAI-1 表达水平最低的肾细胞癌细胞 786-O 进行 HAI-1 基因过表达质粒的转染，HAI-1 表达增加后，MTS 实验发现 786-O 细胞的增殖率降低，即存活细胞数量减少，说明 HAI-1 过表达会降低肾细胞癌细胞 786-O 的数量，从而减少肾细胞癌的发生，再次证明 HAI-1 在抗癌中的重要作用。

自噬和凋亡作为程序性细胞死亡的两种重要途径，在肿瘤发生发展中发挥重要作用^[8-9]。其中自噬在肿瘤进展和抑制中的双重作用仍然存在巨大争议，在肿瘤早期发生中，自噬作为一种生存途径和肿瘤控制机制，可以防止肿瘤的发生并抑制肿瘤的进展；但肿瘤发展到晚期时，自噬作为动态降解和再循环系统，又将会促进肿瘤的存活和生长，并通过促进转移而增加肿瘤的侵袭性。大量研究结果显示，自噬相关蛋白在自噬的调控过程中起着至关重要的作用，包括自噬起始、成核、延伸、成熟、融合和降解，并且对这些自噬凋亡相关蛋白的作用机制研究已取得很大的研究成果。其中具有代表性的蛋白包括肿瘤抑制基因 Beclin1，自噬相关蛋白 LC3-I 和 LC3-II，促凋亡蛋白 caspase3 和 Bax，抗凋亡蛋白 Bcl-2，梁若龙等^[13]的研究中，Beclin1 高表达时，LC3-II 蛋白的表达也增加，从而促进自噬活化^[13]。说明 Beclin1 促进 LC3-II 蛋白的表达，在自噬形成时，胞浆型

LC3 会酶解掉一小段多肽形成 LC3- I ,LC3- I 跟 PE 结合转变为(自噬体)膜型(即 LC3- II),因此, LC3- II/I 比值的大小可估计自噬水平的高低,LC3- II/I 比值越大,表示自噬越严重。而本文采用 Western blot 方法检测发现过表达 *HAI-1* 后 Beclin1 蛋白和 LC3- II 蛋白表达降低,而 LC3- I 蛋白表达增加,LC3- II/I 比值减少,而采用自噬激活剂 Rapamycin 处理后发现,过表达 *HAI-1* 后,Beclin1 蛋白和 LC3- II 蛋白表达降低的程度及 LC3- I 蛋白表达升高的程度有所恢复,表明 *HAI-1* 可通过调节 Beclin1、LC3- I 和 LC3- II 蛋白水平,抑制肾细胞癌自噬的发生。同时本文发现过表达 *HAI-1* 后,肾细胞癌细胞的凋亡率增加,促凋亡蛋白 caspase3 和 Bax 蛋白表达增加,抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。有研究表明,Bax 可以调控抗凋亡蛋白 Bcl-2 的活性,Bcl-2 蛋白表达降低和 Bax 蛋白表达增加,细胞凋亡增加^[14-15]。表明 *HAI-1* 通过调控凋亡蛋白促进细胞的凋亡。

综上所述,*HAI-1* 在肾细胞癌组织和细胞中低表达,会促进细胞自噬,抑制细胞凋亡,通过调控自噬和凋亡相关蛋白发挥相关作用。*HAI-1* 可能是治疗肾细胞癌的潜在分析靶点。

参考文献:

- [1] Rueckert J,Devitt K. Renal cell carcinoma with monosomy 8;a case series and review of the literature[J]. J Assoc Genet Technol,2018,44(1):5-9.
- [2] Capitanio U.Renal cancer [J]. Lancet,2016,387(10021):894-906.
- [3] Rossi SH,Klatte T,Usher-Smith J. Epidemiology and screening for renal cancer [J]. World J Urol,2018,36 (9): 1341-1353.
- [4] Matsumoto K,Umitsu M,De Silva DM,et al. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery[J]. Cancer Sci,2017,108(3):296-307.
- [5] Matthews AL,Noy PJ,Reyat JS.Regulation of A disintegrin and metalloproteinase (ADAM) family sheddases ADAM10 and ADAM17;the emerging role of tetraspanins and rhomboids[J]. Platelets,2017,28(4):333-341.
- [6] Snell KIE,Ward DG,Gordon NS,et al. Exploring the roles of urinary HAI-1,EpCAM & EGFR in bladder cancer prognosis & risk stratification[J]. Oncotarget,2018,9(38):25244-25253.
- [7] Tian ZY,Feng W,Zhu YQ,et al. Regulation mechanism of HAI-1 gene on the migration,invasion and proliferation of prostate cancer LNCaP cells[J]. Chinese Journal of Human Sexuality,2019,28(2):9-15.[田子阳,冯伟,朱元全,等. HAI-1 基因对前列腺癌 LNCaP 细胞迁移、侵袭和增殖的调控机制[J]. 中国性科学,2019,28(2):9-15.]
- [8] Feng MH,Li XJ. Correlation between androgen receptor signaling pathway and autophagy in the treatment of prostate cancer[J]. Translational Medicine Journal,2019,8(2):123-126.[冯梦晗,李小江.AR 信号通路自噬的相关性在前列腺癌治疗中的应用 [J]. 转化医学杂志,2019,8(2):123-126.]
- [9] Shafiee G,Saidijam M,Tayebinia H. Beneficial effects of genistein in suppression of proliferation,inhibition of metastasis,and induction of apoptosis in PC3 prostate cancer cells[J]. Arch Physiol Biochem,2020,1(1):1-9.
- [10] Wu CG. Status and progress of diagnosis and treatment of renal cell carcinoma [J]. China Modern Doctor,2017,55(36):165-168.[吴成光. 肾细胞癌的诊疗现状及进展[J]. 中国现代医生,2017,55(36):165-168.]
- [11] Guo BS,Xu HM,Ou Y. The progress of antibody-based anti-cancer drugs targeting HGF/c-Met signal pathway[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Biotechnology,2017,24(6):534-540.[郭斌生,徐寒梅,欧瑜. 靶向 HGF/c-Met 信号通路的抗体类抗肿瘤药物研究进展[J]. 药物生物技术,2017,24(6):534-540.]
- [12] Wang M,Sun Y,Xu J,et al. Preclinical studies using miR-32-5p to suppress clear cell renal cell carcinoma metastasis via altering the miR-32-5p/TR4/HGF/Met signaling[J]. Int J Cancer,2018,143(1):100-112.
- [13] Liang RL,Zeng Q,Wang HY,et al. NOD8 inhibits autophagy in human pancreatic cancer cells and effect of apoptosis on autophagy regulatd by NOD8 [J]. Chinese Journal of Pathophysiology,2019,35 (12):2215-2220.[梁若龙,曾琪,王晗月,等.NOD8 抑制人胰腺癌细胞自噬及凋亡对其自噬作用的影响 [J]. 中国病理生理杂志,2019,35(12):2215-2220.]
- [14] Chambers JS,Brend T. Cancer cell killing by target antigen engagement with engineered complementary intracellular antibody single domains fused to pro-caspase3[J]. Sci Rep,2019,9(1):8553.
- [15] Zhang Y,Yang L,Dai G. Knockdown of PHGDH potentiates 5-Fu cytotoxicity in gastric cancer cells via the Bcl-2/Bax/caspase-3 signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol,2018,11(12):5869-5876.