

miR-145 靶向 Glut1 调节 Akt 通路对乳腺癌细胞增殖和迁移的影响

王 敬¹, 邢惠海², 徐书方³, 白 雪³, 荆 娇³, 贾丽丽³, 张玉清³
(1. 河北大学附属医院, 河北 保定 071000; 2. 石家庄人民医学高等专科学校, 河北 石家庄 050091; 3. 石家庄医学高等专科学校, 河北 石家庄 050599)

摘 要: [目的] 探讨微小 RNA-145(miR-145)对葡萄糖转运蛋白 1(Glut1)表达和丝氨酸激酶(Akt)信号通路的调节作用, 以及其对乳腺癌细胞增殖和迁移的影响。[方法] 2018 年 2 月至 2019 年 2 月 20 例乳腺癌样本及其癌旁组织样本进行 Glut1 的免疫组化染色, 同时采用荧光定量 PCR 对组织样本中 Glut1 和 miR-145 基因表达水平进行检测。采用蛋白免疫印迹实验检测不同乳腺癌细胞株中 Glut1 蛋白的表达, 选择 Glut1 表达量较高的 MDA-MB-231 细胞用于后续实验。采用双荧光素酶报告基因实验验证 miR-145 对 Glut1 的转录调控, 采用磺酰罗丹明 B(SRB)实验和细胞迁移侵袭(Transwell)实验验证 miR-145 对乳腺癌细胞增殖和迁移能力的影响, 采用 Western blot 实验验证 Akt 信号通路蛋白的表达。[结果] 与癌旁组织相比, 乳腺癌组织中 Glut1 蛋白和基因表达明显提高($t=7.230, P=0.002$), 而乳腺癌组织中 miR-145 表达明显下降($t=4.246, P=0.013$)。乳腺癌细胞中 miR-145 后 Glut1 表达明显下降($t=7.664, P=0.002$), 并且 miR-145 对 Glut1 基因转录具有一定抑制作用, 并且抑制效应依赖于 Glut1 基因的 3'-UTR 区域。乳腺癌细胞中 miR-145 后细胞在 3d 和 4d 的增殖能力($t=7.746$ 和 $8.086, P=0.001$ 和 0.001)以及迁移能力明显下降($t=4.960, P=0.008$), 并且 Akt 蛋白的磷酸化水平明显下降($t=5.406, P=0.006$)。[结论] 在乳腺癌中 Glut1 表达和 Akt 信号通路的活化能够被 miR-145 所抑制, 并且 miR-145 能够抑制乳腺癌细胞增殖和迁移。

关键词: 微小 RNA-145; 葡萄糖转运蛋白 1; Akt 信号通路; 乳腺癌; 增殖; 迁移

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)05-0418-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.05.B010

Effect of miR-145 on Proliferation and Migration of Breast Cancer Cells Through Targeting Glut1 to Regulate Akt Pathway

WANG Jing¹, XING Hui-hai², XU Shu-fang³, BAI Xue³, JING Jiao³, JIA Li-li³, ZHANG Yu-qing³

(1. Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, China; 2. Shijiazhuang People's Medical College, Shijiazhuang 050591, China; 3. Shijiazhuang Medical College, Shijiazhuang 050599, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effect of miR-145 on proliferation and migration of breast cancer cells and its mechanism. [Methods] Twenty patients with breast cancer admitted in Affiliated Hospital of Hebei University from February 2018 to February 2019 were enrolled. The expression of Glut1 in cancer tissue and pericancerous tissue was detected with immunohistochemistry and the expression levels of Glut1 and miR-145 mRNA were detected by fluorescence quantitative RT-PCR. Breast cancer MDA-MB-231 cells were transfected with miR-145. The transcriptional regulation of miR-145 on Glut1 was verified by double luciferase reporter gene assay, the effects of miR-145 on proliferation and migration of transfected MDA-MB-231 cells were verified by SRB assay and transwell assay, and the expression of Akt signaling protein was verified by Western blot assay. [Results] Compared with pericancerous tissues, Glut1 protein and mRNA in breast cancer tissues were significantly increased ($t=7.230, P=0.002$), while miR-145 expression in breast cancer tissues was significantly decreased ($t=4.246, P=0.013$). Glut1 expression was significantly decreased after transfection of miR-145 in MDA-MB-231 cells ($t=7.664, P=0.002$), and the inhibitory effect was dependent on the 3'-UTR region of Glut1 gene. The proliferation ($t=7.746, 8.086, P=0.001, 0.001$) and migration ($t=4.960, P=0.008$) of breast cancer cells transfected with miR-145 decreased significantly, and the phosphorylation level of Akt also decreased significantly ($t=5.406, P=0.006$). [Conclusion] Glut1 expression and the activation of Akt signaling pathway can be inhibited by miR-145, leading to inhibiting the proliferation and migration of breast cancer cells.

Subject words: microRNA-145; glucose transporter 1; Akt signaling pathway; breast cancer; proliferation; migration

基金项目: 河北省卫生计生科技基金项目(20171007)

通信作者: 张玉清, 讲师, 本科; 石家庄医学高等专科学校病理教研室, 河北省石家庄市灵寿县

三圣院乡同下村北同新路 1 号(050599); E-mail: 13582366215@163.com

收稿日期: 2019-10-29; **修回日期:** 2019-12-02

研究报告乳腺癌发生发展过程中一系列微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 表达水平异常, 并且部分 miRNA 可以作为乳腺癌的生物标志物, 用于乳腺癌的诊断和治疗^[1]。miRNA 是一种长度 18~24nt 单链 RNA 分子, 通过与基因 mRNA 序列结合来调节基因表达^[2]。miR-145 与肺癌和胃癌等肿瘤的发生发展密切相关, 能够抑制肿瘤细胞的侵袭和转移, 并作为肿瘤的诊断分子^[3-4]。葡萄糖转运蛋白 1 (glucose transporter 1, Glut1) 主要分布于细胞膜上, 参与葡萄糖运输和糖酵解过程。在前列腺癌和肺癌中 Glut1 表达上调, 参与肿瘤细胞周期调控和糖代谢过程, 与肺癌患者的不良预后密切相关, 可以作为肺癌的预后标志物^[5-6]。本研究旨在揭示 miR-145 和 Glut1 在乳腺癌中表达及对乳腺癌增殖迁移的影响, 并对其作用机制进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 临床样本收集

2018 年 2 月至 2019 年 2 月我院诊治的 20 例乳腺癌患者行乳腺癌根治术, 手术切除的乳腺癌组织及距离肿瘤组织 5cm 以上的正常组织作为癌旁组织。纳入标准: (1) 入院前未进行放化疗治疗; (2) 患者适宜手术治疗; (3) 无全身性炎症反应。排除标准: (1) 乳腺癌复发患者; (2) 合并有其他肿瘤; (3) 入院前 5 个月接受过抗炎治疗和抗感染治疗。手术切除乳腺癌组织和癌旁组织后立即将组织样本放入 10% 中性甲醛中固定。

1.2 实验细胞系和试剂

人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、MDA-MB-453、MCF-7 和 BT474 购自中科院典型培养物保藏委员会细胞库, 均为贴壁细胞, 培养基选用 DMEM 高糖培养基, 加入胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 至 10% 浓度和链霉素/青霉素双抗混合液至 1% 浓度。抗 Glut1、抗 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、抗 p-丝苏氨酸激酶 (serine-threonine protein kinase, Akt) 和抗 Akt 抗体均购自美国 Abcam 生物科技公司。miR-145-mimic 购自苏州金唯智生物技术有限公司。Transwell 小室 (孔径 0.4μm, 滤膜直径 12mm) 购自康宁生命科学有限公司。荧光定量 PCR 试剂盒和逆转录试剂盒购

自宝日医生物技术 (北京) 有限公司。总 RNA 纯化试剂盒和二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量试剂盒购自默克生物科技有限公司。细胞裂解液 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 购自碧云天生物技术有限公司。

1.3 免疫组化染色

组织固定 24h 后依次经 70%、85%、95% 和 100% 乙醇处理 1h 脱水, 异丙醇处理 1h 透明后进行石蜡包埋。包埋后对组织样本进行切片, 切片厚度在 5μm 左右, 并将组织切片放置在载玻片上, 依次经二甲苯、酒精梯度和蒸馏水处理 15min 脱蜡。将组织切片浸没在柠檬酸钠缓冲液中并放置于高压锅中, 高压处理 10min 进行高压抗原修复, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer solution, PBS) 冲洗 3 次, 5min/次。于组织切片中滴加按 1:50 比例稀释的抗 Glut1、抗 GAPDH、抗 p-Akt 和抗 Akt 一抗溶液, 4℃孵育过夜。PBS 冲洗 3 次, 5min/次。于组织切片中滴加二抗溶液, 室温孵育 30min 后用 PBS 冲洗 3 次, 5min/次。滴加二氨基联苯胺将组织切片覆盖, 显色反应 20min 后用 PBS 冲洗 3 次, 5min/次。加入苏木精复染 10min, 染色结束后酒精脱水, 与组织切片上滴加中性树胶完成封片, 封片结束后于显微镜下观察染色情况。

1.4 荧光定量 PCR 检测 Glut1 和 miR-145 表达

收集 1×10^6 个细胞用于 Glut1 mRNA 水平检测, 1000rpm 离心后将上清液弃去, 使用总 RNA 纯化试剂盒提取细胞中 RNA。使用逆转录试剂盒将提取得到的 RNA 逆转录为 cDNA 后, 使用荧光定量 PCR 试剂盒进行定量 PCR 反应。反应体系为 SYBR mix 12.5μl, 正向引物 1μl, 反向引物 1μl, DNA 模板 2μl, 双蒸水 8.5μl, 总体系 25μl。PCR 扩增采用两步法扩增, 程序如下: 95℃, 30s; 95℃, 5s, 60℃, 30s, 此步骤进行 40 个循环。另收集 1×10^6 个细胞用于 miR-145 水平检测, 采用组织细胞 miRNA 提取试剂盒提取 miRNA, 采用一步法 miRNA 反转录试剂盒对 miR-145 进行反转录, 采用 SYBR Green miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒对 miR-145 水平进行检测。

miRNA 反转录体系: miRNA 5μl, 反转录缓冲液 5μl, 10×miRNA 反转录引物 2μl, 水 8μl。反转录条件: 37℃, 60min; 95℃, 5min。miRNA 荧光定量反应体系为 SYBR mix 10μl, 正向引物 0.4μl, 反向引物

0.4 μ l, DNA 模板 2.2 μ l, 双蒸水 7 μ l, 总体积 20 μ l。PCR 扩增采用两步法扩增, 程序如下: 95 $^{\circ}$ C, 15min; 95 $^{\circ}$ C, 10s, 60 $^{\circ}$ C, 30s, 此步骤进行 35 个循环。miR-145 正向引物: 5'-GGAGGCAGGTCAAAA-GGGTCCT-3', miR-145 反向引物: 5'-AAAGCCTAA-CTGGCATC-CTCC-3'。miR-145 的内参基因选择 U6, 正向引物: 5'-GTGCTCGCTTCGGCAGCACATATAC-3'。Glut1 正向引物: 5'-GGGCTCTCCATGCATTC-AAAC-3', 反向引物: 5'-CACCTTCCCTCCAACCAGT-TGC-3', 内参基因选择 GAPDH, 上游引物: 5'-CTTTGGTATCGTG-GAAGGACTC-3', 反向引物: 5'-GTAGAGGCAGGGA-TGATGTTCT-3'。根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 Glut1 和 miR-145 的相对表达量, 每个样本实验 3 次。

1.5 蛋白免疫印迹检测蛋白表达量

收集 1×10^6 个细胞, 1000rpm 离心后将上清液弃去, 沉淀中加入 RIPA 细胞裂解液 200 μ l 并用枪头反复吹打直至将沉淀完全重悬。4 $^{\circ}$ C 裂解 30min 后, 4 $^{\circ}$ C, 10 000rpm 离心 10min, 将上清液转移至另一干净 EP 管中。通过 BCA 蛋白定量试剂盒检测细胞裂解液中蛋白浓度。进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 每孔蛋白上样量为 10 μ g, 120V 电泳 50min 后通过湿转法将蛋白转至聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride membrane, PVDF) 膜上。将 PVDF 膜取出并浸泡于 5% 脱脂奶粉中封闭 1h, 使用 PBS-吐温 20 洗涤剂 (PBS-tween20, PBST) 冲洗 PVDF 膜 3 次, 10min/次。抗 Glut1 和抗 GAPDH 按 1:500 比例稀释、抗 p-Akt 和抗 Akt 按 1:100 比例稀释, 稀释液为 3% BSA。将各蛋白所处位置处的 PVDF 膜裁下并浸泡于对应蛋白的一抗溶液中, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。PBST 冲洗 3 次, 10min/次。加入二抗溶液室温孵育 30min, 孵育结束后用 PBST 冲洗 3 次, 10min/次, 化学发光检测蛋白表达。

1.6 双荧光素酶报告基因实验

将 Glut1 基因的 3'-端非编码区 (3'-untranslated region, 3'-UTR) 以及突变型 3'-UTR (3'-UTRm) 构建到荧光素酶报告基因载体 pReporter 上, 将 pReporter 和 miR-145-mimic 共转染到 MDA-MB-231 细胞中, 72h 后收集细胞。按照荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书检测细胞中的荧光素酶活性, 相对荧

光素酶活性 = 萤火虫荧光素酶荧光值 / 海肾荧光素酶荧光值。

1.7 磺酰罗丹明 B 实验检测细胞增殖

将 MDA-MB-231 细胞铺种于 96 孔板中, 每组设置 3 个复孔。将细胞分为阴性对照和 miR-145-mimic 组, 细胞转染后连续培养 0、1、2、3、4d。将每孔细胞培养基弃去, 加入 10% 三氯醋酸固定 10min。PBS 冲洗 3 次后加入 SRB 溶液反应 30min, 将 SRB 吸走, 使用 1% 醋酸溶液冲洗 3 次。晾干后每孔加入 100 μ l 10mM Tris 碱溶液溶解 30min, 于酶标仪 530nm 波长处检测吸光度, 以吸光度值为纵坐标, 以时间为横坐标做生长曲线图。

1.8 细胞迁移侵袭实验检测乳腺癌细胞的迁移能力

Transwell 小室中加入 2×10^6 个 MDA-MB-231 细胞, 将细胞分为阴性对照组和 miR-145-mimic 组, 各组细胞设置 3 个复孔。细胞转染后培养 72h。24 孔板加入 10% 结晶紫溶液, 用棉签将小室上层的细胞刮除干净后将小室置于 10% 结晶紫溶液中反应 20min, 取出小室并用 PBS 冲洗 3 次, 晾干后于倒置显微镜下拍照。每孔小室加入 30% 醋酸, 室温反应 30min, 充分震荡后于 570nm 波长下读取吸光值。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 20.0 对数据进行统计学分析。Glut1 和 miR-145 相对表达量等计量资料采用平均值 $\pm$ 标准差表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 柱状图及生长曲线绘制采用 Graphpad 软件。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 乳腺癌中 miR-145 和 Glut1 差异性表达

Glut1 蛋白分布于细胞膜上, 在乳腺癌组织中表达水平明显提高, 免疫组化结果见 Figure 1A。乳腺癌组织中 Glut1 基因表达水平明显高于癌旁组织 ($t=7.230, P=0.002$), 而 miR-145 明显低于癌旁组织 ($t=4.246, P=0.013$) (Figure 1B)。

2.2 Glut1 在不同乳腺癌细胞株中表达

与 MDA-MB-453、MCF-7 和 BT474 乳腺癌细胞株相比, Glut1 蛋白在 MDA-MB-231 细胞株中表达量最高 ($F=11.849, P<0.001$) (Figure 2)。因此后续实验选择乳腺癌细胞 MDA-MB-231 作为实验材料。

2.3 miR-145 对 Glut1 基因调控

与对照组相比,乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中转染 miR-145 后, Glut1 mRNA 水平明显下降 ($t=7.664, P=0.002$)。采用双荧光素酶报告基因实验,发现过表达 miR-145 后,MDA-MB-231 乳腺癌细胞中 Glut1 基因的转录功能明显下降,将 Glut1 的 3'-UTR 区域突变后,miR-145 对 Glut1 基因的转录抑制作用消失(Figure 3)。

2.4 过表达 miR-145 后乳腺癌细胞增殖能力的变化

miR-145-mimic 组 3d 和 4d 的细胞数量明显少于阴性对照组,组间差异具有统计学意义($t=7.746$ 和 $8.086, P=0.001$ 和 0.001)(Figure 4)。

2.5 过表达 miR-145 后乳腺癌细胞迁移能力的变化

miR-145-mimic 组前迁移细胞数量明显少于阴性对照组,组间差异具有统计学意义($t=4.960, P=0.008$)(Figure 5)。

2.6 过表达 miR-145 后 Akt 信号通路蛋白水平的变化

miR-145-mimic 组 p-Akt 的蛋白水平明显低于阴性对照组,组间差异具有统计学意义($t=5.406, P=0.006$),而 Akt 总蛋白水平两组间差异无统计学意义($t=0.330, P=0.758$)(Figure 6)。

3 讨论

细胞中存在复杂的 miRNA 调控网络,在细胞代谢、分裂和物质运输等过程中 miRNA 均发挥一定调节作用^[7]。miRNA 表达异常与肿瘤发生发展密切相关,在肿瘤诊断和治疗中具有重要的临床意义^[8]。

Glut1 属于葡萄糖转运蛋白家

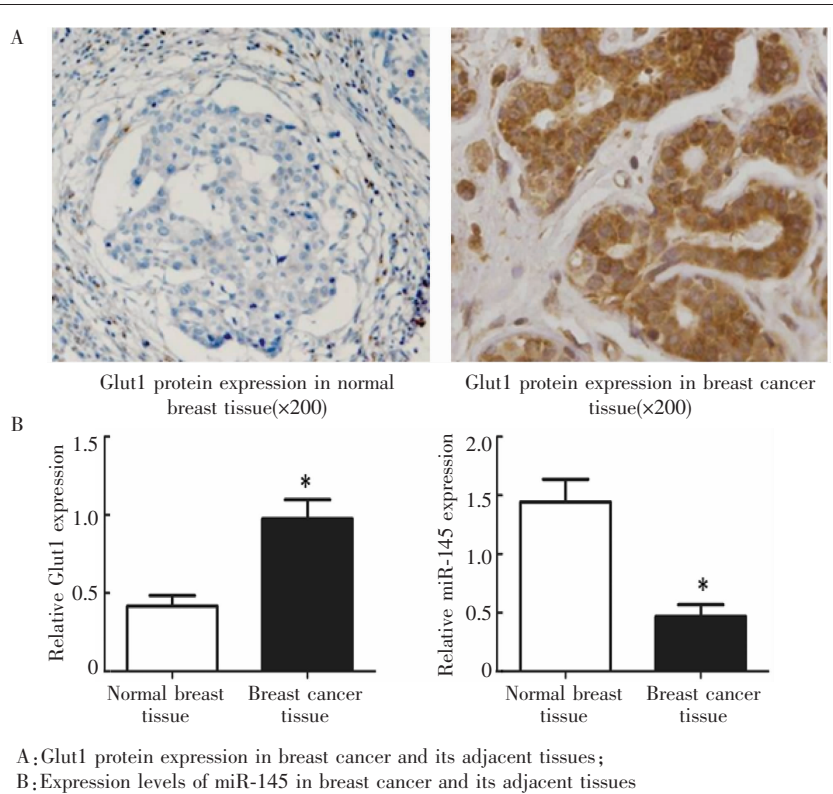


Figure 1 Comparison of miR-145 and Glut1 expression levels in breast cancer and its adjacent tissues

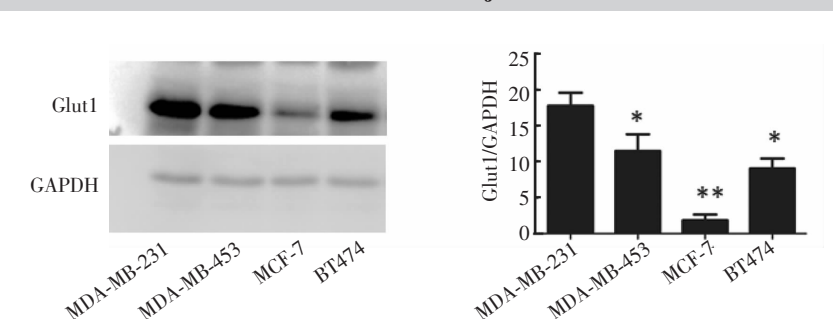


Figure 2 Glut1 expression in different breast cancer cell lines

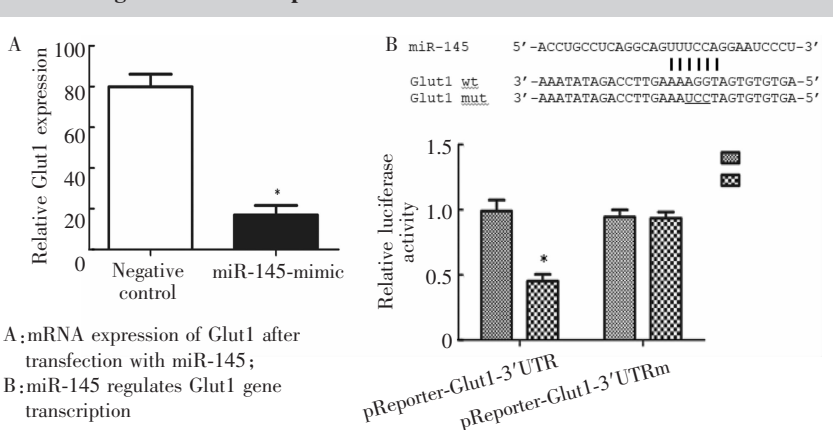
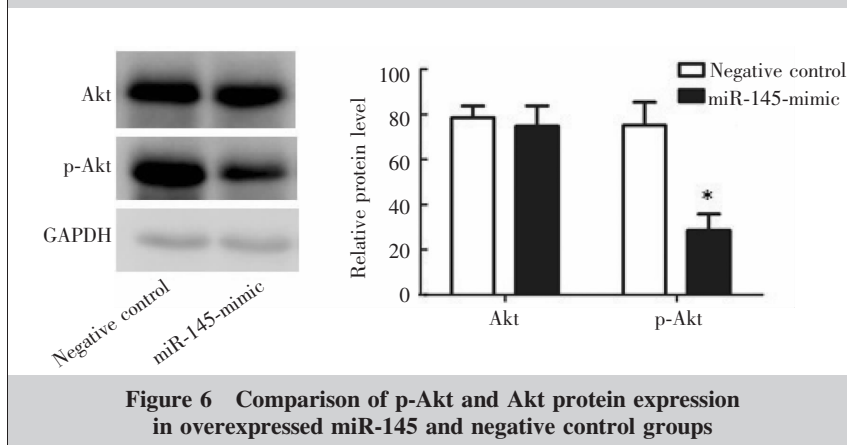
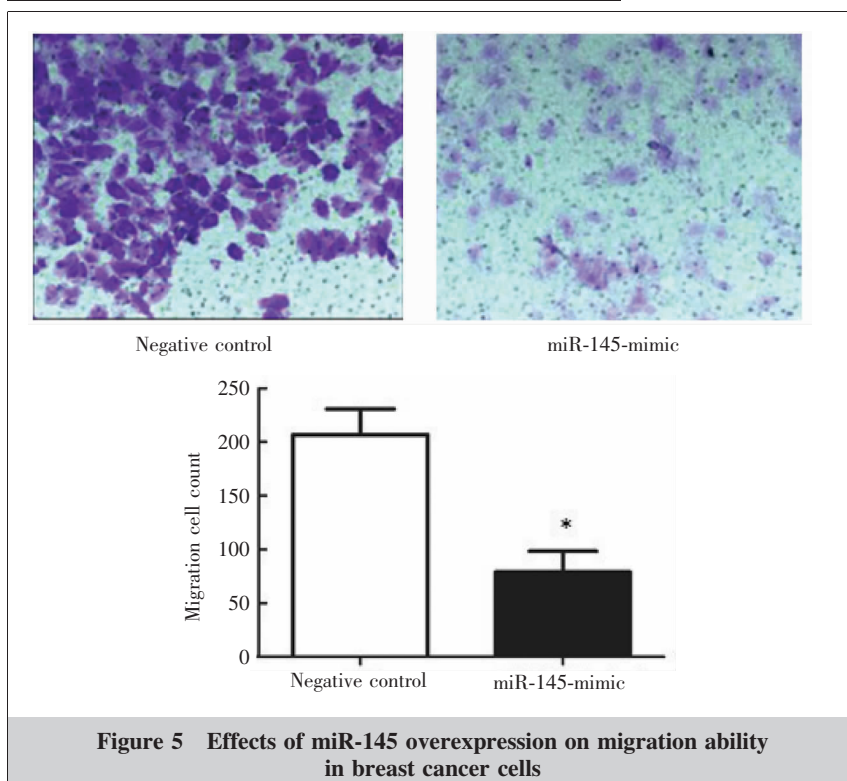
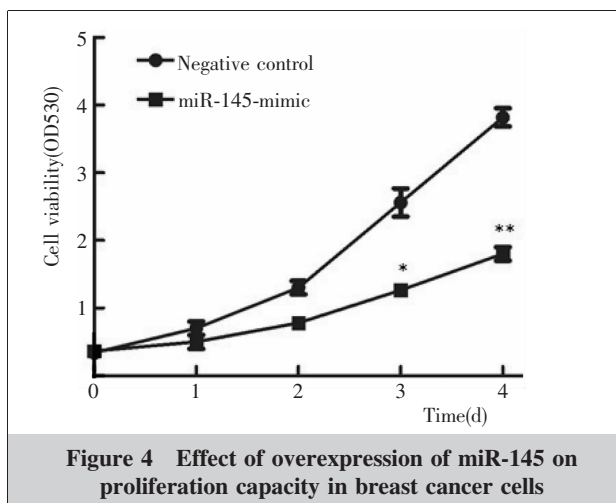


Figure 3 The targeted relationship of miR-145 and Glut1



族成员,以四聚体形式存在于细胞膜上,负责葡萄糖运输,在胰腺癌等肿瘤细胞代谢、增殖和转移中发挥重要作用^[9]。本研究发现乳腺癌组织中 Glut1 表达上调,而 miR-145 表达下调。Shen 等^[10]发现胃癌中 miR-145 表达量下调,并且 miR-145 能够抑制胃癌细胞增殖,促进细胞凋亡,在胃癌中 miR-145 起到抑癌基因的作用。Chen 等^[11]发现在膀胱癌中 Glut1 能够促进膀胱癌细胞摄取葡萄糖,进而促进肿瘤细胞增殖,在膀胱癌中 Glut1 起到癌基因的作用。在乳腺癌中 miR-145 作为抑癌基因,其表达量会下调,而 Glut1 作为癌基因,其表达量会上调。本研究进一步发现在乳腺癌细胞中 miR-145 会抑制 Glut1 表达,

并且将 Glut1 的 3'-UTR 区域突变后,miR-145 对 Glut1 基因的转录抑制作用消除。实验结果表明,miR-145 能够抑制 Glut1 基因的转录,并且 miR-145 对 Glut1 基因的转录抑制作用依赖于 Glut1 基因的 3'-UTR 区域。Geissler 等^[12]发现 mRNA 的 3'-UTR 区域对于 mRNA 的稳定性极为重要,3'-UTR 部分区域的突变会造成 mRNA 迅速降解,导致基因转录水平下调。因此,在乳腺癌细胞中 miR-145 与 Glut1 mRNA 的 3'-UTR 结合会导致 Glut1 mRNA 迅速降解,从而下调 Glut1 基因转录水平。

本研究进一步发现 miR-145 能够抑制乳腺癌细胞增殖。Feng 等^[13]发现在直肠癌中 Glut1 通过促进直肠癌细胞摄取葡萄糖而加快肿瘤细胞增殖,并且 Glut1 表达水平升高与直肠癌患者复发和不良预后密切相关。Qiong 等^[14]发现在食管癌中 SMAD 家族成员 5 (SMAD family member 5, SMAD5) 是 miR-145 的直接作用靶点,miR-145 过表达能够明显抑制 SMAD5 表达,进而抑制食管癌细胞增殖。本研究证实了 miR-145 过表达会抑制 Glut1 基因转录。因此,在乳腺癌中 miR-145 可能通过靶向

Glut1 并抑制其转录,进而抑制乳腺癌细胞增殖;同时 miR-145 也可能通过作用于 SMAD5 等癌基因并促进其 mRNA 降解,进而抑制乳腺癌细胞增殖。本研究发现 miR-145 能够抑制乳腺癌细胞迁移。Jiang 等^[15]发现在非小细胞肺癌中 Glut1 蛋白的葡萄糖转运功能受到核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号通路的调节,抑制 NF- κ B 信号通路会下调肿瘤细胞的糖酵解水平,进而抑制肿瘤细胞的侵袭和转移。Sheng 等^[16]发现在直肠癌中 miR-145 能够抑制 p21 激活激酶 4(p21 activated kinase 4, PAK4) 基因表达,进而抑制 PAK 信号通路的活化,导致直肠癌细胞的侵袭和转移能力下降。因此,在乳腺癌中 miR-145 会抑制 Glut1 蛋白的表达,导致乳腺癌细胞的糖酵解水平下降。肿瘤细胞在迁移过程中需要消耗大量能力,而糖酵解是肿瘤细胞产生能量的主要途径,能量供给下降会导致乳腺癌细胞的迁移能力明显下降。同时 miR-145 也可能通过抑制乳腺癌细胞中 PAK4 基因的转录来抑制细胞中 PAK 信号通路的活化,导致乳腺癌细胞迁移能力下降。本研究进一步发现,在乳腺癌细胞中 miR-145 能够抑制 Akt 蛋白的磷酸化,实验结果表明 miR-145 能够抑制 Akt 信号通路的活化。Phadngam 等^[17]发现在卵巢癌中 Glut1 的表达受到 Akt 信号通路调控,PTEN 通过抑制 Akt 蛋白磷酸化抑制 Glut1 蛋白表达和细胞膜定位,导致卵巢癌细胞代谢紊乱,进而抑制卵巢癌细胞增殖。在乳腺癌细胞中,miR-145 可能通过抑制 Akt 蛋白磷酸化以抑制 Glut1 蛋白表达和细胞膜定位,进而抑制乳腺癌细胞的代谢,导致乳腺癌细胞增殖和迁移能力下降。

综上所述,miR-145 在乳腺癌中能够抑制 Glut1 的表达和 Akt 信号通路的活化,进而抑制乳腺癌细胞增殖和迁移。

参考文献:

- [1] Adhami M, Haghdoust AA, Sadeghi B, et al. Candidate miRNAs in human breast cancer biomarkers: a systematic review[J]. Breast Cancer, 2018, 25(2): 198–205.
- [2] Backes C, Meese E, Keller A. Specific miRNA disease biomarkers in blood, serum and plasma: challenges and prospects[J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20(6): 509–518.
- [3] Sui A, Zhang X, Zhu Q. Diagnostic value of serum miR197 and miR145 in non-small cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 17(3): 3247–3252.
- [4] Lei C, Du F, Sun L, et al. miR-143 and miR-145 inhibit gastric cancer cell migration and metastasis by suppressing MYO6[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10): e3101.
- [5] Xiao H, Wang J, Yan W, et al. GLUT1 regulates cell glycolysis and proliferation in prostate cancer[J]. Prostate, 2018, 78(2): 86–94.
- [6] Zhang B, Xie Z, Li B. The clinicopathologic impacts and prognostic significance of GLUT1 expression in patients with lung cancer: a meta-analysis[J]. Gene, 2019, 689(8): 76–83.
- [7] Pu M, Chen J, Tao Z, et al. Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression [J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(3): 441–451.
- [8] Qadir MI, Faheem A. miRNA: a diagnostic and therapeutic tool for pancreatic cancer[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2017, 27(3): 197–204.
- [9] Nagarajan A, Dogra SK, Sun L, et al. Paraoxonase 2 facilitates pancreatic cancer growth and metastasis by stimulating GLUT1-mediated glucose transport[J]. Mol Cell, 2017, 67(4): 685–701.
- [10] Shen F, Liu P, Xu Z, et al. CircRNA_001569 promotes cell proliferation through absorbing miR-145 in gastric cancer [J]. J Biochem, 2019, 165(1): 27–36.
- [11] Chen J, Cao L, Li Z, et al. SIRT1 promotes GLUT1 expression and bladder cancer progression via regulation of glucose uptake[J]. Hu Cell, 2019, 32(2): 193–201.
- [12] Geissler R, Grimson A. A position-specific 3' UTR sequence that accelerates mRNA decay[J]. RNA Biol, 2016, 13(11): 1075–1077.
- [13] Feng W, Cui G, Tang CW, et al. Role of glucose metabolism related gene GLUT1 in the occurrence and prognosis of colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(34): 56850–56857.
- [14] Qiong Z, Huaiyong G, Wenqing S, et al. MicroRNA-145 promotes esophageal cancer cells proliferation and metastasis by targeting SMAD5[J]. Scand J Gastroenterol, 2018, 53(7): 769–776.
- [15] Jiang J, Geng G, Yu X, et al. Repurposing the anti-malarial drug dihydroartemisinin suppresses metastasis of non-small-cell lung cancer via inhibiting NF- κ B/GLUT1 axis [J]. Oncotarget, 2016, 7(52): 87271–87283.
- [16] Sheng N, Tan G, You W, et al. MiR-145 inhibits human colorectal cancer cell migration and invasion via PAK4-dependent pathway[J]. Cancer Med, 2017, 6(6): 1331–1340.
- [17] Phadngam S, Castiglioni A, Ferraresi A, et al. PTEN dephosphorylates AKT to prevent the expression of GLUT1 on plasmamembrane and to limit glucose consumption in cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 84999–85020.