DOI:10.16016/j.2097-0927.202109167

miR-409-3p 靶向 ZEB1 负性调控卵巢浆液性癌 HO-8910 细胞上皮间质转化

朱 静,张龙辉,谢荣凯 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院妇产科

[摘要] **目的** 探讨 miR-409-3p 靶向 ZEB1 对卵巢浆液性癌 HO-8910 细胞上皮间质转化的影响及作用机制。**方法** 利用脂质体分别将对照 mimics 和 miR-409-3p mimics 转染入 HO-8910 细胞中,qRT-PCR 检测其转染效率,Western blot 检测各组细胞中 ZEB1、E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平,双荧光素酶报告基因实验检测 miR-409-3p 与 ZEB1 之间的靶向调控作用,Transwell 侵袭和迁移实验分别各组细胞的侵袭和迁移能力变化。**结果** 与 mimics 对照组相比,miR-409-3p 过表达组中 miR-409-3p 表达显著升高($P<0.05$),E-cadherin 蛋白表达显著增加($P<0.05$),ZEB1、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达明显减少($P<0.05$),上皮间质转化进程被阻断。双荧光素酶报告基因实验结果显示 ZEB1 是 miR-409-3p 的直接作用靶点,过表达 ZEB1 可逆转转染 miR-409-3p mimics 介导的对细胞侵袭、迁移及上皮间质转化的抑制作用($P<0.05$)。**结论** 过表达 miR-409-3p 通过抑制 ZEB1 蛋白表达,负性调控卵巢浆液性癌 HO-8910 细胞上皮间质转化,抑制肿瘤细胞的侵袭和转移。

[关键词] miR-409-3p;卵巢浆液性癌;侵袭和转移;上皮间质转化
[中图法分类号] R394-33;R73-362;R737.31 [文献标志码] A

Mechanism of miR-409-3p negatively regulating epithelial mesenchymal transition of ovarian serous carcinoma HO-8910 cells by targeting ZEB1

ZHU Jing, ZHANG Longhui, XIE Rongkai Department of Gynecology and Obstetrics, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of miR-409-3p on epithelial mesenchymal transition (EMT) of ovarian serous carcinoma HO-8910 cells by targeting ZEB1 and its underlying mechanism. **Methods** Control mimics and miR-409-3p mimics were transfected into HO-8910 cells by liposomes respectively, and qRT-PCR was adopted to detect the transfection efficiency. The expression of ZEB1, E-cadherin, N-cadherin, and Vimentin proteins in each cell group were examined by Western blotting, and the targeted regulation of ZEB1 by miR-409-3p was determined by dual luciferase reporter assay. Transwell invasion and migration assay was performed to observe the changes of invasion and migration abilities of the cells in each group. **Results** As compared with the control group, the expression of miR-409-3p was increased significantly in the miR-409-3p overexpression group ($P<0.05$), along with the elevation of E-cadherin expression ($P<0.05$), while the levels of ZEB1, N-cadherin and Vimentin were decreased remarkably ($P<0.05$), suggesting that the EMT process of HO-8910 cells was blocked. Furthermore, the results of dual luciferase reporter assay showed that ZEB1 was the direct target of miR-409-3p; overexpression of ZEB1 reversed the miR-409-3p mimics mediated repression of cell invasion, migration as well as EMT process ($P<0.05$). **Conclusion** Overexpression of miR-409-3p negatively regulates the EMT process by inhibiting ZEB1 expression, and thus suppresses the invasion and metastasis of ovarian serous carcinoma HO-8910 cells.

[**Key words**] miR-409-3p; ovarian serous carcinoma; invasion and migration; epithelial mesenchymal transition

Corresponding author: XIE Rongkai, E-mail: xrkai@163.com

[通信作者] 谢荣凯,E-mail:xrkai@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

卵巢浆液性癌作为卵巢癌最常见的病理类型,占上皮性卵巢癌的75%~80%,且由于大多数卵巢浆液性癌患者在就诊时已进展到晚期,即使通过手术也很难完全切除,使其成为最致命的妇科恶性肿瘤[1]。因此,了解卵巢浆液性癌恶性进展的分子机制对于其临床诊疗具有重要意义。既往研究表明,微小RNA(microRNAs, miRNAs)通过与靶基因mRNA 3′-UTR互补结合(完全或不完全),负性调控基因的表达,在机体正常生理过程中发挥着重要作用[2],然而,大量的研究证实在恶性肿瘤细胞中miRNAs异常表达,通过靶向调控众多癌基因或抑癌基因,进而促进肿瘤的恶性进展[3]。此外,miRNAs可以作为肿瘤标志物,对于临床早期诊断和预后评价具有重要意义[4]。

研究表明,miR-409-3p作为一种肿瘤抑癌因子,在乳腺癌、膀胱癌、非小细胞肺癌和神经胶质瘤等恶性肿瘤中表达下调,通过靶向多种癌基因调控肿瘤细胞的恶性增殖、侵袭和转移等行为[5-8]。在卵巢浆液性癌中,课题组先前的研究证实,miR-409-3p在肿瘤组织和细胞中均呈低表达状态,与肿瘤患者FIGO分期、腹腔大网膜转移以及预后不良密切相关,外源性增加卵巢浆液性癌HO-8910细胞中miR-409-3p表达可显著抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭能力[9],然而其分子机制目前尚不清楚。在本研究中,通过将miR-409-3p mimics转染入HO-8910细胞中以过表达miR-409-3p,拟在分子水平上探讨miR-409-3p对细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)的影响以及与ZEB1相互作用关系,进而为阐明卵巢浆液性癌的发病机制和探索诊疗新靶点提供线索。

1 材料与方法

1.1 材料

miR-409-3p mimics和ZEB1过表达重组载体(pcZEB1)由上海吉凯基因化学技术有限公司合成并构建,0.8 μm Transwell小室购自美国Millipore公司,TRIzol试剂和脂质体Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司,Prime Script RT和SYBR Green PCR试剂盒购自日本TaKaRa公司,双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司,ZEB1、E-cadherin、N-cadherin和Vimentin单克隆抗体购自美国Cell signaling公司,GAPDH单克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司,胎牛血清和RPMI1640培养液购自美国Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 人卵巢浆液性癌细胞HO-8910由陆军军医大学第二附属医院中心实验室保存并传代,细胞培养于含10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、100 μg/mL链霉素和10 U/mL青霉素的RPMI1640培养液中。取对数生长期HO-8910细胞(1×10^5)接种于6孔细胞培养板,待细胞汇合度达到70%左右时,按照Lipofectamine™ 2000产品手册,分别将对照mimics和miR-409-3p mimics转染或与pcZEB1共转染入HO-8910细胞中,待细胞贴壁后更换新鲜培养液,48 h后进行后期实验。

1.2.2 qRT-PCR 采用TRIzol试剂提取各组细胞总RNA,琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,取1 μL按照Prime Script RT逆转录试剂盒操作手册反转录合成cDNA。采用SYBR Green PCR试剂盒进行qRT-PCR,U6 snRNA作为内参,反应条件为:95 ℃ 10 min;95 ℃ 10 s,65 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40个循环,每个样品做3个复孔,反应结束后,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算并分析实验结果,用于本研究的扩增引物见表1。

表1 扩增引物序列与片段长度

引物名称	序列(5′→3′)	长度/bp
miR-409-3p上游引物	GCGAATGTTGCTCGGTGA	18
miR-409-3p下游引物	GTGCAGGGTCCGAGGT	16
U6上游引物	CTCGCTTCGGCAGCACA	17
U6下游引物	ACGCTTCACGAATTTGCGT	19

1.2.3 Transwell法检测细胞侵袭和迁移能力 将转染48 h后的各组细胞使用不含FBS的RPMI1640细胞培养液重悬,以1×10^4/孔接种入预先铺入基质胶的Transwell小室上室中(迁移实验中不铺入基质胶),下室加入600 μL含有15% FBS的新鲜培养液,37 ℃、5%CO_2细胞培养箱中培养24 h,PBS漂洗2次,4%多聚甲醛室温固定15 min,PBS再次漂洗2次,采用0.1%结晶紫染色20 min,棉签擦除小室上室未迁移细胞,显微镜下观察并拍照。

1.2.4 Western blot 收集各组细胞,加入裂解液冰上裂解细胞30 min,12 000 r/min、4 ℃离心10 min取上清,采用BCA法测定蛋白浓度,加入上样缓冲液煮沸变性后进行SDS-PAGE电泳,并将蛋白印迹电转至PVDF膜。采用5% 脱脂牛奶在室温封闭1 h,分别加入ZEB1(1∶1 000)、E-cadherin(1∶500)、N-cadherin

(1∶500)、Vimentin(1∶800)和 GAPDH(1∶2 000)一抗 4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗 5 次,每次 5 min,加入二抗在室温孵育 1 h,TBST 洗 5 次,每次 5 min,加入 ECL 化学发光液,凝胶成像系统显影,Quantity One 软件分析各目的蛋白的相对表达量。

1.2.5　双荧光素酶报告基因分析　　采用 Targetscan Human7.2(http://www.target-scan.org)在线工具对 miR-409-3p 进行靶基因的预测及结合位点分析。根据结合位点信息分别构建含有 ZEB1 3′- UTR 区域(WT)和与 miR-409-3p 互补配对突变 3′- UTR 区域(MUT)的荧光素酶报告质粒 p-MIR-ZEB1^{WT} 和 p-MIR-ZEB1^{MUT},并与 miR-409-3p mimics 共转染至 HO-8910 细胞,细胞培养箱中连续培养 48 h 后,裂解细胞,采用双荧光素酶报告基因试剂盒检测各组荧光素酶活性变化。

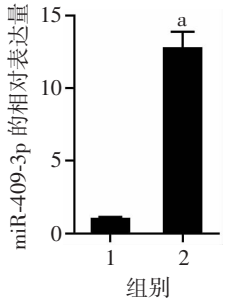
1.3　统计学分析

计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 软件进行统计学分析,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两多重比较采用 LSD-t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　HO-8910 细胞中 miR-409-3p mimics 转染效率验证

qRT-PCR 结果显示,在 HO-8910 细胞中转染 miR-409-3p mimics 后,细胞内 miR-409-3p 相对表达水平显著增加($P<0.05$,图 1),差异具有统计学意义。

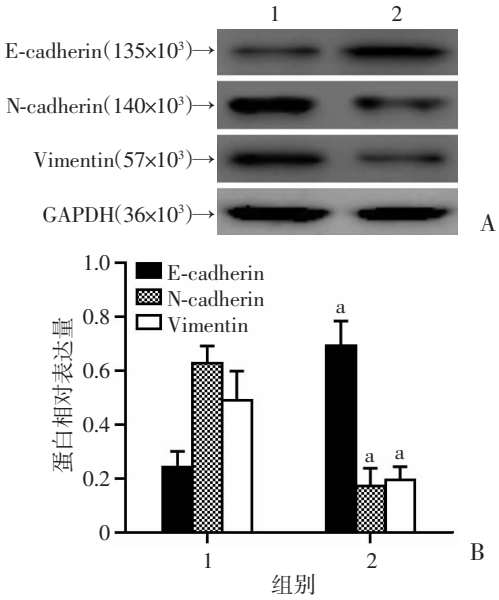


1:mimics 对照组;2:miR-409-3p 过表达组;a:$P<0.05$,与 mimics 对照组比较

图 1　miR-409-3p mimics 转染后 HO-8910 细胞中 miR-409-3p 的表达水平

2.2　过表达 miR-409-3p 对 HO-8910 细胞上皮间质转化进程的影响

与 mimics 对照组相比,miR-409-3p 过表达组中 N-cadherin、Vimentin 蛋白相对表达量明显降低,E-cadherin 蛋白相对表达量明显增加($P<0.05$,图 2),差异具有统计学意义。

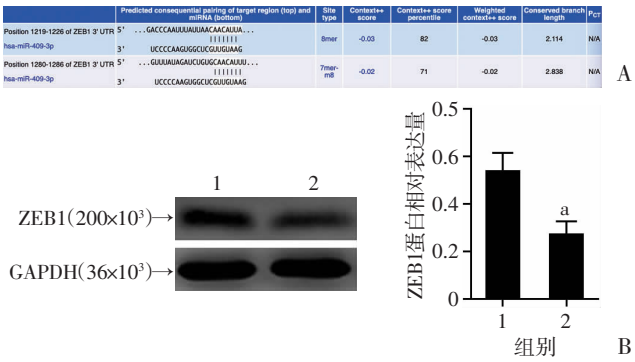


1:mimics 对照组;2:miR-409-3p 过表达组;a:$P<0.05$,与 mimics 对照组比较;A:Western blot 结果;2:蛋白相对表达量

图 2　miR-409-3p mimics 转染后 HO-8910 细胞中 EMT 标志物蛋白表达水平变化

2.3　过表达 miR-409-3p 对 HO-8910 细胞中转录因子 ZEB1 蛋白表达的影响

生物信息学分析结果显示,转录因子 ZEB1 可能为 miR-409-3p 的靶基因(图 3A);Western blot 结果进一步显示,与 mimics 对照组相比,miR-409-3p 过表达组中 ZEB1 蛋白相对表达量显著降低($P<0.05$,图 3B),差异具有统计学意义。

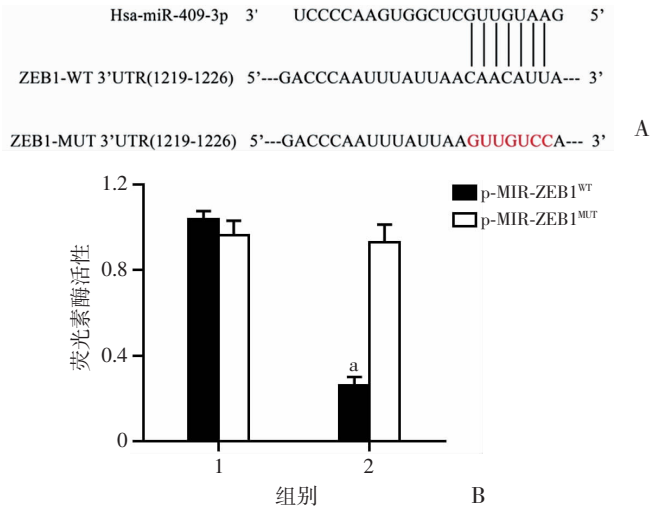


A:Targetscan Human7.2 靶向基因预测结果;B:Western blot 检测各组 ZEB1 蛋白的表达水平　1:mimics 对照组;2:miR-409-3p 过表达组;a:$P<0.05$,与 mimics 对照组比较

图 3　生物信息学分析及转染 miR-409-3p mimics 对 HO-8910 细胞中 ZEB1 蛋白表达的影响

2.4 双荧光素酶报告基因分析 miR-409-3p 与 ZEB1 相互作用验证

如图 4A 所示,miR-409-3p 与 ZEB1 3′- UTR 存在互补结合位点,将 miR-409-3p-mimics 和对照 mimics 分别与 p-MIR-ZEB1^{WT} 和 p-MIR-ZEB1^{MUT} 共转染入 HO-8910 细胞后,双荧光素酶报告基因分析结果显示,miR-409-3p-mimics 和 p-MIR-ZEB1^{WT} 相对荧光素酶活性显著降低(P<0.05),差异具有统计学意义,而 miR-409-3p-mimics 与 p-MIR-ZEB1^{MUT} 相对荧光素酶活性无明显变化(P>0.05,图 4B)。

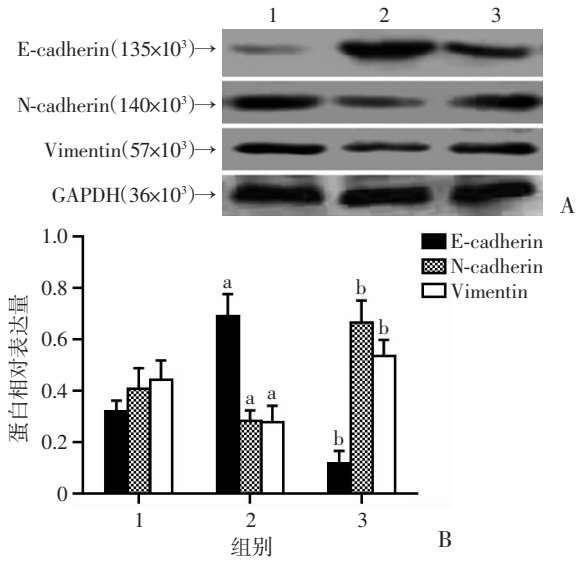


A: miR-409-3p 和 ZEB1 3′-UTR 之间相互作用位点示意图; B: 双荧光素酶报告分析结果 1: mimics 对照组; 2: miR-409-3p 过表达组;a: P<0.05, 与 mimics 对照组比较

图 4 miR-409-3p 与 ZEB1 相互作用分析

2.5 miR-409-3p 靶向 ZEB1 调控 HO-8910 细胞上皮间质转化

与 miR-409-3p 过表达组相比,miR-409-3p mimics 与 pcZEB1 共转染组中 HO-8910 细胞间质标志物 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达显著增加,上皮标志物 E-cadherin 蛋白表达显著减少(P<0.05,图 5),差异具有统计学意义。

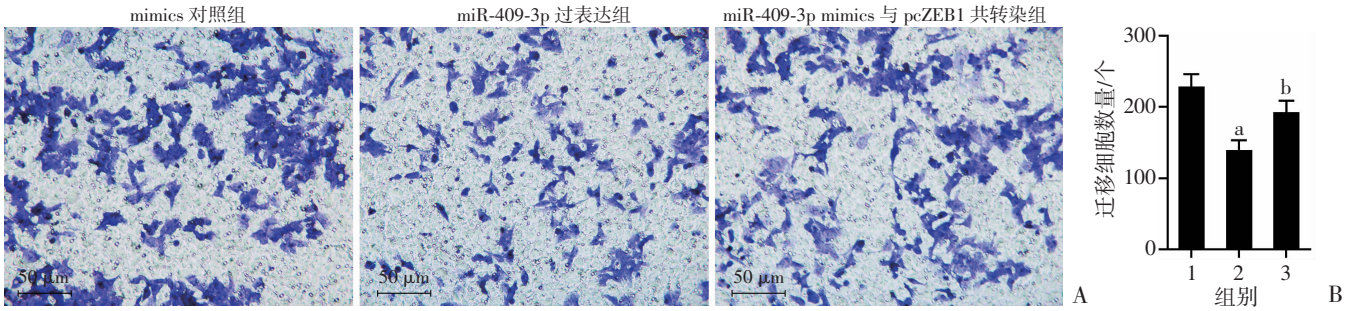


1: mimics 对照组;2: miR-409-3p 过表达组;3: miR-409-3p mimics 与 pcZEB1 共转染组;a: P<0.05, 与 mimics 对照组比较;b:P<0.05, 与 miR-409-3p 过表达组比较;A:Western blot 结果;2:蛋白相对表达量

图 5 共转染 miR-409-3p mimics 和 pcZEB1 对 HO-8910 细胞 EMT 进程的影响

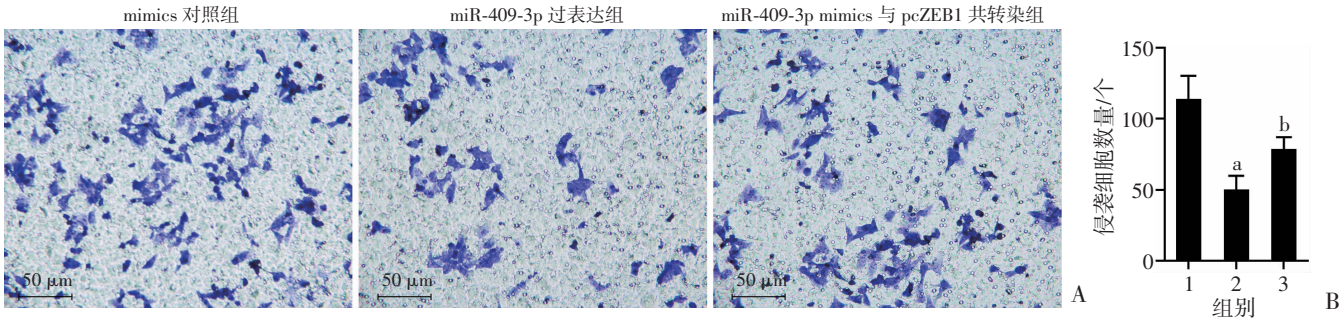
2.6 共转染 miR-409-3p mimics 和 pcZEB1 对 HO-8910 细胞迁移能力的影响

Transwell 迁移实验结果显示,与 mimics 对照组相比,miR-409-3p 过表达组中 HO-8910 细胞迁移数量明显减少;与 miR-409-3p 过表达组相比,miR-409-3p mimics 与 pcZEB1 共转染组中 HO-8910 细胞迁移数量增加(P<0.05,图 6),差异具有统计学意义。



1: mimics 对照组;2: miR-409-3p 过表达组;3: miR-409-3p mimics 与 pcZEB1 共转染组;a: P<0.05, 与 mimics 对照组比较;b:P<0.05, 与 miR-409-3p 过表达组比较;A:结晶紫染色结果;B:迁移细胞数量的比较

图 6 共转染 miR-409-3p mimics 和 pcZEB1 对 HO-8910 细胞迁移能力的影响



1: mimics 对照组;2: miR-409-3p 过表达组;3: miR-409-3p mimics 与 pcZEB1 共转染组;a: $P<0.05$, 与 mimics 对照组比较;b:$P<0.05$, 与 miR-409-3p 过表达组比较;A:结晶紫染色结果;B:侵袭细胞数量的比较

图 7 共转染 miR-409-3p mimics 和 pcZEB1 对 HO-8910 细胞的侵袭能力的影响

2.7 共转染 miR-409-3p mimics 和 pcZEB1 对 HO-8910 细胞侵袭能力的影响

Transwell 侵袭实验结果显示,与 mimics 对照组相比,miR-409-3p 过表达组中穿过基底膜的 HO-8910 细胞数量明显减少;与 miR-409-3p 过表达组相比,miR-409-3p mimicss 与 pcZEB1 共转染组中穿过基底膜的 HO-8910 细胞数量明显增加($P<0.05$,图 7),差异具有统计学意义。

3 讨论

一直以来,卵巢癌高致死率是临床上妇科肿瘤关注的热点,究其根源在于卵巢癌细胞极易发生盆腹腔内侵袭播散和腹膜后淋巴结转移,因此,如何抑制卵巢癌细胞的侵袭和转移,对于临床卵巢癌的治疗、改善预后不良、延长患者生存时间具有重要意义[1]。研究表明,miRNAs 在卵巢癌细胞侵袭转移中发挥着十分重要的调控作用,miRNAs 可通过作用于不同的靶基因,改变肿瘤细胞形态及迁移能力、破坏细胞外基质及增加肿瘤血管的形成,进而促进肿瘤的浸润和转移[10]。EMT 是上皮细胞在正常或特定病理状态下失去极性和细胞间粘附向间质细胞转化的现象,在肿瘤恶性进展过程中,肿瘤细胞劫持该过程,改变自身细胞形态,进而增加其侵袭性和转移能力[11],其主要特征为上皮细胞标志物 E-cadherin 蛋白的丢失和间质细胞标志物 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达的降低。已有大量证据表明,miRNAs 在卵巢癌 EMT 进程中发挥着重要的调节作用,促进或抑制肿瘤细胞的侵袭与转移[12-13]。在本研究中,为了探索 miR-409-3p 是否参与了卵巢浆液性癌 HO-8910 细胞 EMT 进程,通过对 HO-8910 细胞进行转染 miR-409-3p mimics 后发现,HO-8910 细胞中 E-cadherin 蛋白表达明显增加,N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达明显减少,EMT 进程被阻断,表明在卵巢浆液性癌中,miR-409-3p 可能作为肿瘤 EMT 的一个负性调控因子,参与了卵巢浆液性癌的恶性进展。

既往研究表明,EMT 进程受到一系列包括 SNAIL,ZEB1/2 和 TWIST1/2 等转录因子的调控,诱导间质细胞标志物的表达,抑制上皮细胞标志物的表达[14]。ZEB1 是由 Zfhxla 基因编码的细胞核转录因子,其作为 EMT 重要的调节因子,通过抑制 EMT 关键分子 E-cadherin、Plakophilin 和 ZO3 蛋白的表达和诱导 Vimentin 和 N-cadherin 蛋白的表达,促进肿瘤细胞的侵袭与转移[15]。研究表明,在卵巢癌中,高表达的 ZEB1 与肿瘤的恶性以及患者预后不良密切相关[16],miR-101、miR-1236-3p 通过靶向 ZEB1 3′-UTR,调控 EMT 进程,促进卵巢浆液性癌细胞的侵袭与转移[17-18]。在本研究中,通过检索 miRNAs 靶基因预测数据库发现,miR-409-3p 与 ZEB1 3′-UTR 存在互补结合位点,且过表达 miR-409-3p 可以显著降低 HO-8910 细胞中 ZEB1 蛋白的表达水平。由此提示 ZEB1 可能为 miR-409-3p 的下游靶点。为了验证这一推测,本研究采用双荧光素酶报告基因实验结果显示 miR-409-3p 与 p-MIR-ZEB1^{WT} 存在显著的荧光素酶活性变化,而与突变体 p-MIR-ZEB1^{MUT} 之间无明显的荧光素酶活性变化,表明过表达 miR-409-3p 可以靶向 ZEB1 mRNA 3′ UTR 区负性调控其表达。此外,本研究进一步通过构建 ZEB1 过表达重组载体并与 miR-409-3p mimics 共转染入 HO-8910 细胞中,研究发现,与 mimics 对照组相比,miR-409-3p 过表达组中 E-cadherin 蛋白表达增加,N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达明显减少,HO-8910 细胞的侵袭和迁移能力显著降低,而共转染组中上述指标呈相反结果,由此表明过表达 miR-409-3p 通过抑制 ZEB1 转录后翻译,负性调节 HO-8910 细胞的

侵袭、迁移和 EMT 进程,过表达 ZEB1 逆转了转染 miR-409-3p mimics 介导的 HO-8910 细胞 EMT 进程的抑制作用,促进肿瘤细胞的侵袭和迁移。

综上,本研究结果证实卵巢浆液性癌中,过表达 miR-409-3p 可以通过抑制 ZEB1 蛋白表达,负性调控卵巢浆液性癌 HO-8910 细胞 EMT 进程,抑制肿瘤细胞的侵袭和转移,为卵巢浆液性癌的临床靶向治疗提供新的靶点,同时也为阐明卵巢浆液性癌的侵袭和转移的分子机制提供新的线索。

参考文献:

[1] LISIO M A, FU L L, GOYENECHE A, *et al*. High-grade serous ovarian cancer: basic sciences, clinical and therapeutic standpoints[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(4): 952. DOI:10.3390/ijms20040952.

[2] LU T X, ROTHENBERG M E. MicroRNA[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(4): 1202-1207. DOI:10.1016/j.jaci.2017.08.034.

[3] LEE Y S, DUTTA A. MicroRNAs in cancer[J]. Annu Rev Pathol, 2009, 4: 199-227. DOI:10.1146/annurev.pathol.4.110807.092222.

[4] MISHRA S, YADAV T, RANI V. Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016, 98: 12-23. DOI:10.1016/j.critrevonc.2015.10.003.

[5] LIAN J, LIN S H, YE Y, *et al*. Serum microRNAs as predictors of risk for non-muscle invasive bladder cancer[J]. Oncotarget, 2018, 9(19): 14895-14908. DOI:10.18632/oncotarget.24473.

[6] VENKATADRI R, MUNI T, IYER A K, *et al*. Role of apoptosis-related miRNAs in resveratrol-induced breast cancer cell death[J]. Cell Death Dis, 2016, 7: e2104. DOI:10.1038/cddis.2016.6.

[7] ZHOU X, WEN W, SHAN X, *et al*. A six-microRNA panel in plasma was identified as a potential biomarker for lung adenocarcinoma diagnosis[J]. Oncotarget, 2017, 8(4): 6513-6525. DOI:10.18632/oncotarget.14311.

[8] CAO Y D, ZHANG L, WEI M H, *et al*. MicroRNA-409-3p represses glioma cell invasion and proliferation by targeting high-mobility group nucleosome-binding domain 5[J]. Oncol Res, 2017, 25(7): 1097-1107. DOI: 10.3727/096504017X14836170586829.

[9] 朱静,张龙辉,谢荣凯. miR-409-3p 在卵巢浆液性癌中的表达及对 HO-8910 细胞生物学特性的影响[J]. 第三军医大学学报,2020,42(22):2244-2250. DOI:10.16016/j.1000-5404.202007047.
ZHU J,ZHANG L H,XIE R K. Expression of miR-409-3p in ovarian serous carcinoma and its effect on biological behaviors of HO-8910 cells[J]. J Third Mil Med Univ, 2020,42(22): 2244-2250. DOI:10.16016/j.1000-5404.202007047.

[10] BRAGA E A, FRIDMAN M V, KUSHLINSKII N E. Molecular mechanisms of ovarian carcinoma metastasis: key genes and regulatory microRNAs[J]. Biochemistry (Mosc), 2017, 82(5): 529-541. DOI: 10.1134/s0006297917050017.

[11] PASTUSHENKO I, BLANPAIN C. EMT transition states during tumor progression and metastasis[J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(3): 212-226. DOI:10.1016/j.tcb.2018.12.001.

[12] WANG D, LIU Z, YAN Z, *et al*. MiRNA-155-5p inhibits epithelium-to-mesenchymal transition (EMT) by targeting GSK-3β during radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. Arch Biochem Biophys, 2021, 697: 108699. DOI: 10.1016/j.abb.2020.108699.

[13] ZHANG L Y, CHEN Y, JIA J, *et al*. MiR-27a promotes EMT in ovarian cancer through active Wnt/β-catenin signalling by targeting FOXO1[J]. Cancer Biomark, 2019, 24(1): 31-42. DOI:10.3233/cbm-181229.

[14] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(3): 178-196. DOI: 10.1038/nrm3758.

[15] CARAMEL J, LIGIER M, PUISIEUX A. Pleiotropic roles for ZEB1 in cancer[J]. Cancer Res, 2018, 78(1): 30-35. DOI:10.1158/0008-5472.can-17-2476.

[16] WEI L, HE Y, BI S, *et al*. miRNA-199b-3p suppresses growth and progression of ovarian cancer via the CHK_1/E-cadherin/EMT signaling pathway by targeting ZEB1[J]. Oncol Rep, 2021, 45(2): 569-581. DOI:10.3892/or.2020.7895.

[17] GUO F, COGDELL D, HU L, *et al*. MiR-101 suppresses the epithelial-to-mesenchymal transition by targeting ZEB1 and ZEB2 in ovarian carcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 31(5): 2021-2028. DOI:10.3892/or.2014.3106.

[18] WANG Y, YAN S, LIU X, *et al*. miR-1236-3p represses the cell migration and invasion abilities by targeting ZEB1 in high-grade serous ovarian carcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 31(4): 1905-1910. DOI:10.3892/or.2014.3046.

(**收稿**:2021-09-22;**修回**:2021-12-09)

(编辑 王 红)