

RNAi 抑制 galectin-3 基因表达对宫颈癌细胞增殖及凋亡的影响机制

刘娟妮, 陈琳, 杨婷, 张艺博, 闫飞艳

西安医学院第二附属医院, 陕西 西安 710038

摘要: **目的** 探讨 RNAi 抑制半乳糖凝集素 (galectin-3) 基因表达对宫颈癌细胞增殖及凋亡的影响及机制。 **方法** 提取宫颈癌组织和相应的癌旁组织中的总蛋白, Western blot 检测 galectin-3 的蛋白表达; 人宫颈癌 HeLa 细胞分为正常对照组、siRNA-control 组和 siRNA-galectin-3 组, 各组细胞转染 48 h 后, Western blot 检测 galectin-3 的蛋白表达; CCK8 实验和流式细胞仪分别检测细胞的增殖及凋亡情况; Western blot 检测 ki67、PCNA、cleaved caspase3、 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达。 **结果** galectin-3 在宫颈癌组织中的蛋白表达显著高于癌旁组织 ($P < 0.01$); 转染 siRNA-galectin-3 能显著降低 galectin-3 的蛋白表达; 与正常对照组和 siRNA-control 组比较, siRNA-galectin-3 组细胞存活率显著降低, 细胞凋亡率显著升高, ki67、PCNA 阳性细胞数及 ki67、PCNA、 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达显著降低, cleaved caspase3 蛋白显著上调表达 ($P < 0.01$)。 **结论** RNAi 抑制 galectin-3 基因表达可降低宫颈癌细胞的增殖, 诱导细胞的凋亡, 其机制与抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

关键词: galectin-3 基因; RNA 干扰; 宫颈癌; 增殖; 凋亡; Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2017)12-1525-05 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.12.034

Effect and mechanism of silencing galectin-3 gene expression by RNA interference on the proliferation and apoptosis of cervical carcinoma cell line

LIU Juan-ni, CHEN Lin, YANG Ting, ZHANG Yi-bo, YAN Fei-yan

The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China

Corresponding author: CHEN Lin, E-mail: yousiliaz@163.com

Abstract: **Objective** To explore the effect and mechanism of silencing galectin-3 gene expression by RNA interference on the proliferation and apoptosis of cervical carcinoma cell line. **Methods** The total protein in the cervical cancer tissues and the corresponding cancer-adjacent tissues was extracted, and then the expression of galectin-3 protein was detected by Western blot. Human cervical carcinoma HeLa cells were divided into the normal control group, the siRNA-control group and the siRNA-galectin-3 group, and the cells in each group were transfected for 48 hours, then the expression of galectin-3 protein was detected by Western blot. Cell proliferation and cell apoptosis were respectively detected by CCK8 assay and flow cytometry. The expression of ki67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), cleaved caspase3, β -catenin and cyclin D1 proteins were detected by Western blot.

Results The expression of galectin-3 protein was significantly higher in the cervical carcinoma tissues than in the paracancerous tissues ($P < 0.01$). siRNA-galectin-3 transfection could significantly reduce the expression of galectin-3 protein. The cell survival rate in the siRNA-galectin-3 group decreased significantly as compared with the normal control group and the siRNA-control group, while the cell apoptosis rate increased significantly. The number of positive cells of ki67 and PCNA and the expression of ki67, PCNA, β -catenin and cyclin D1 proteins in the siRNA-galectin-3 group significantly reduced as compared with the normal control group and the siRNA-control group, while the expression of cleaved caspase3 was significantly up-regulated ($P < 0.01$).

Conclusions Inhibition of galectin-3 gene expression by RNA interference can reduce the proliferation of cervical cancer cells and induce cell apoptosis, and the mechanism may be related to the inhibition of Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: galectin-3 gene; RNA interference; cervical cancer; proliferation; apoptosis; Wnt/ β -catenin signaling pathway

基金项目: 西安医学院科研基金 (No. 12EFYFC03)

作者简介: 刘娟妮 (1976-), 女, 陕西西安人, 本科学历, 主治医师, 研究方向: 妇科肿瘤。

通信作者: 陈琳, E-mail: yousiliaz@163.com。

宫颈癌是常见的女性恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率位居女性恶性肿瘤的第 2 位, 严重威胁着女性健康。宫颈癌的发生涉及抑癌基因的失活、癌基因的激活、表观遗传学改变、免疫改变等, 是一个由多阶段、

多基因的网络调控过程^[1]。从分子水平上阐述其发病机制对于该病的治疗具有重要意义。半乳糖凝集素(galectin-3)是凝集素家族中的一员,在细胞质中广泛存在,与相应的配体结合并相互作用影响细胞的生长及分化、新生血管形成、细胞凋亡、肿瘤浸润转移等^[2]。在前列腺癌、肺癌等多种肿瘤中高表达,影响肿瘤的发生发展^[3-4]。有研究显示,抑制 galectin-3 的表达可影响肿瘤的增殖和凋亡^[5]。但 galectin-3 对宫颈癌的影响研究较少。本研究从 RNA 干扰角度探讨 galectin-3 对宫颈癌细胞增殖凋亡的影响,并进一步探讨其机制,以期能否作为宫颈癌诊断及治疗的靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 选择西安医学院第二附属医院 2015 年 6 月-2016 年 6 月间手术切除的宫颈癌及相应的癌旁组织标本,共 55 例,年龄 35~78 岁。所有肿瘤标本在患者进行手术和放化疗前进行采集。所有样本的采集均经过患者和家属同意及医院的伦理学通过。人宫颈癌 HeLa 细胞购自中国科学院细胞库。

1.2 主要试剂和仪器 胰酶、胎牛血清、RPMI1640 培养基、青链霉素均购自美国 Gibco 公司;siRNA 购自美国 Zymed 公司;细胞凋亡试剂盒购自美国 Biovision 公司;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid,BCA)蛋白定量试剂盒和 ECL 发光试剂盒购自美国 Pierce;RIPA 裂解液购自碧云天生物有限公司;CCK8 试剂购自江苏凯基生物技术股份有限公司;galectin-3、ki67、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)、活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase 3,cleaved caspase-3)、 β -连环蛋白(β -catenin)、细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)单克隆抗体均购自美国 abcam 公司;CO₂ 细胞培养箱购自美国西盟公司;倒置显微镜购自日本 OLYMPUS;流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司;电泳凝胶图像分析系统、聚丙烯酰胺凝胶电泳仪均购自 Bio-Rad 公司。

1.3 galectin-3 基因在宫颈癌中的表达 取出保存在液氮中的宫颈癌组织和相应的癌旁组织标本,置于预冷的研钵中研磨成粉末,转移粉末至一个新的离心管中,加入适量的裂解液置于冰上反应 15 min,4 ℃,12 000 rpm/min 离心 15 min,收集蛋白。BCA 法测定提取的蛋白浓度。蛋白样品与上样缓冲液按照 1:5 的比例混匀,100 ℃沸水中煮沸变性 5 min,每孔加入 40 μ g 蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-

PAGE),电泳分离的蛋白转移至 PVDF 膜上,用含有 5%脱脂奶粉的分泌液置于室温条件下封闭 2 h,加入一抗(1:500 稀释的 galectin-3 和 1:1 000 稀释的 GAPDH),于 4 ℃孵育过夜,次日,TBST 洗膜 3 次,每次洗涤 5 min,加入 1:1 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG,室温置于摇床上孵育 1 h,TBST 洗膜,ECL 化学发光剂显色,室温避光环境中显影,定影。以 GAPDH 作为内参,分析 galectin-3 的蛋白表达水平。

1.4 细胞培养 取出保存在液氮罐中的人宫颈癌 HeLa 细胞,37 ℃的水浴锅中解冻,期间轻摇冻存管使其在 1 min 内溶解。取溶解后的细胞在 RPMI1640 细胞培养液中(含有 10%胎牛血清、100 mg/L 青霉素及 100 mg/L 链霉素),于 37 ℃、5% CO₂、95%饱和湿度的恒温培养箱中培养。细胞生长融合度达到 80% 以上时进行消化,根据实验需要进行传代。

1.5 细胞转染及转染后细胞中 galectin-3 的蛋白表达 HeLa 细胞分为三组:正常对照组、转染 siRNA-control 的阴性对照组和转染 siRNA-galectin-3 基因的沉默组。取传代后生长至稳定状态的细胞,以 1×10^6 个/孔接种于 6 孔细胞培养板中,细胞生长密度达到 90% 以上时进行转染。转染按照 Lipofectamine™ 2000(美国,Invitrogen 公司)说明书的操作方法进行操作。取转染后 48 h 的细胞,RIPA 裂解液提取细胞中的总蛋白。BCA 法检测蛋白的浓度。按照 1.3 方法检测各组细胞中 galectin-3 的蛋白表达。

1.6 CCK8 实验检测细胞增殖 取转染后的各组细胞,以每孔 5×10^3 个细胞接种于 96 孔细胞培养板中,每孔设置 5 个重复孔,置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养。48 h 后加入 CCK8 试剂(10 μ l/孔),于 37 ℃、5% CO₂ 条件下继续培养 2 h。酶标仪测定各个孔在 450 nm 波长处的吸光度(A)值。计算细胞增殖率。细胞增殖率=(转染组细胞 A/对照组细胞 A)×100%。

1.7 流式细胞仪检测细胞凋亡 收集转染 48 h 的各组细胞,预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,加入结合缓冲液 250 μ l 重悬细胞,制成单细胞悬液,并调整细胞的浓度为每毫升含有 1×10^6 个细胞。将 100 μ l 的细胞悬液加入流式管中,加入 Annexin V-FITC 5 μ l 及 PI 10 μ l,充分混合均匀后置于室温避光环境中孵育 15 min,加入 400 μ l 的 PBS 于反应管中。1 h 内上机检测(按照细胞凋亡试剂盒的操作说明进行操作),计算细胞凋亡率。

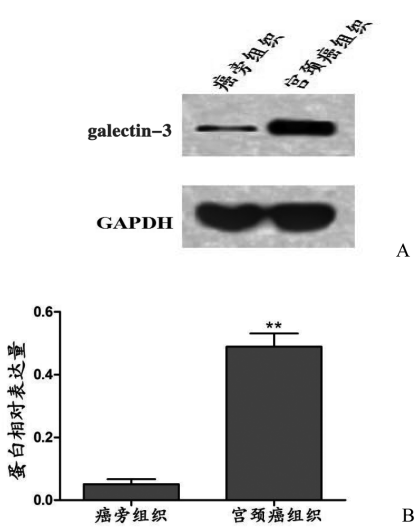
1.8 ki67、PCNA、cleaved caspase3、 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达检测 收集转染 48 h 的各组细胞,提取细胞中的蛋白。采用免疫荧光检测 ki67、PCNA 表达,

按照 1.3 方法检测 ki67、PCNA、cleaved caspase3、 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达。

1.9 统计学方法 所有实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,各组间差异比较采用单因素方差分析,两组比较采用 LSD 法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌组织中 galectin-3 的蛋白表达 提取宫颈癌组织及相应的癌旁组织中的总蛋白,Western blot 检测 galectin-3 的蛋白表达,galectin-3 在宫颈癌组织中的蛋白表达显著高于癌旁组织($P<0.01$)。见图 1。



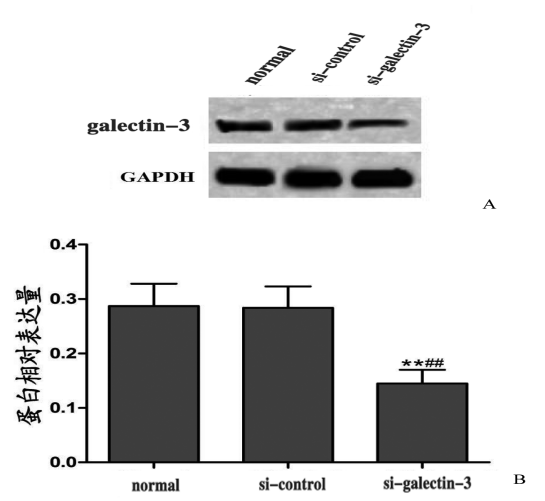
注:A:Western blot 检测宫颈癌组织中 galectin-3 的蛋白表达;B:galectin-3 的蛋白相对表达量;与癌旁组织比较, ** $P<0.01$ 。

图 1 宫颈癌组织中 galectin-3 的蛋白表达($n=55$)

2.2 转染 siRNA-galectin-3 后 HeLa 细胞中 galectin-3 的蛋白表达 HeLa 细胞分为三组:正常对照组、转染 siRNA control 的阴性对照组和转染 siRNA-galectin-3 基因的沉默组。转染 48 h 后,Western blot 检测各组细胞中 galectin-3 的蛋白表达,正常对照组与 si-control 组 galectin-3 的蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$),si-galectin-3 组 galectin-3 的蛋白表达显著低于正常对照组和 si-control 组($P<0.01$)。见图 2。

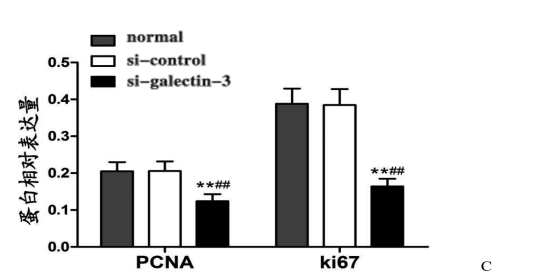
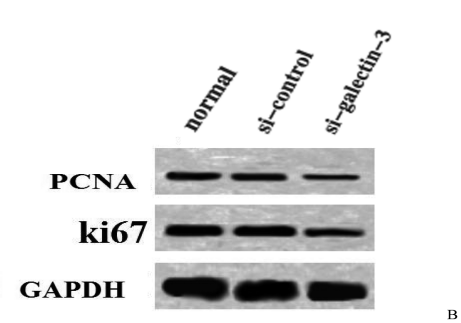
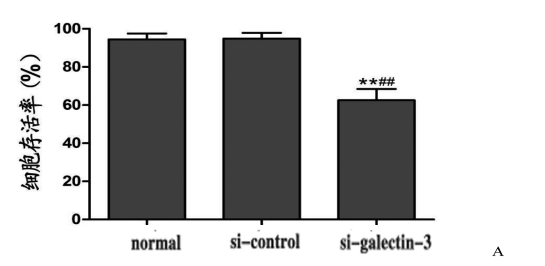
2.3 转染 siRNA-galectin-3 降低 HeLa 细胞增殖 CCK8 实验检测转染 48 h 后的各组 HeLa 细胞的增殖情况,与正常对照组和 si-control 组比较,si-galectin-3 组细胞存活率显著降低($P<0.01$)。进一步检测增殖相关蛋白 ki67 和 PCNA 的蛋白表达,免疫荧光检测结果显示,si-galectin-3 组 ki67 和 PCNA 阳性细胞数均低于正常对照组和 si-control 组,Western blot 检测结果显示,si-galectin-3 组 ki67 和 PCNA 蛋白均显著低

于正常对照组和 si-control 组($P<0.01$)。见图 3。



注:A:Western blot 检测各组宫颈癌细胞中 galectin-3 的蛋白表达;B:galectin-3 的蛋白相对表达量;与 normal 组比较, ** $P<0.01$;与 si-control 组比较,## $P<0.01$ 。

图 2 转染 siRNA-galectin-3 后 HeLa 细胞中 galectin-3 的蛋白表达

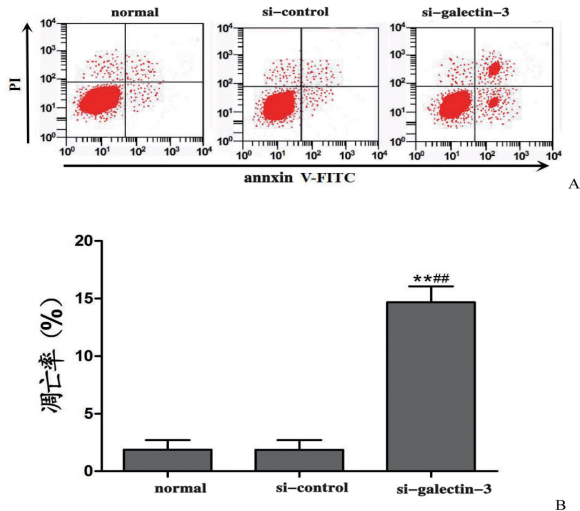


注:A:细胞存活率;B:Western blot 检测结果图;C:蛋白相对表达量;与 normal 组比较, ** $P<0.01$;与 si-control 组比较,## $P<0.01$ 。

图 3 转染 siRNA-galectin-3 对 HeLa 细胞增殖的影响

2.4 转染 siRNA-galectin-3 促进 HeLa 细胞凋亡 流式细胞仪检测转染 48 h 后的各组 HeLa 细胞的凋亡

情况,与正常对照组和 si-control 组比较,si-galectin-3 组细胞凋亡率显著升高($P<0.01$)。见图 4。



注:A:流式细胞仪检测结果图;B:细胞凋亡率;与 normal 组比较, * $P<0.01$;与 si-control 组比较,## $P<0.01$ 。

图 4 转染 siRNA-galectin-3 对 HeLa 细胞凋亡的影响

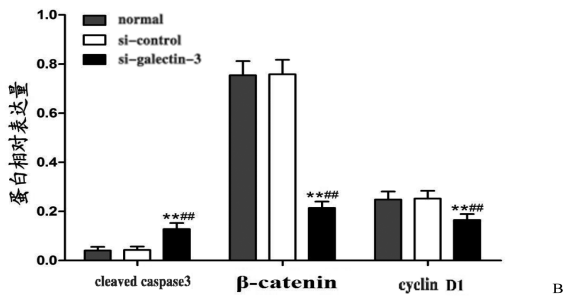
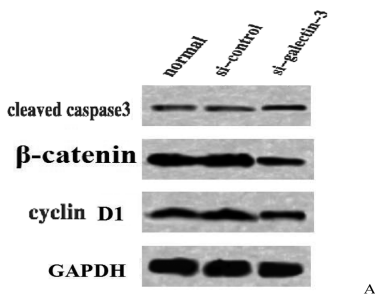
见图 5。

3 讨论

半乳糖凝集素(galectins)是一类能与 β -半乳糖苷成分结合的可溶性凝集素,galectin-3 是该家族研究最多的一个成员,定位于 14q21-22 染色体,参与细胞的生长和凋亡、新生血管形成、细胞粘附、肿瘤转移浸润等生理病理过程^[6]。研究显示,galectin-3 在甲状腺、大肠癌等肿瘤中表达明显升高,影响肿瘤进展、浸润、转移、复发等^[7-8]。胃癌细胞中以 siRNA 干扰 galectin-3 的表达后可显著降低肿瘤的增殖,并诱导细胞凋亡,增强化疗药物的敏感性^[9]。乳腺癌细胞中用 RNA 干扰技术抑制 galectin-3 的表达可降低肿瘤细胞的侵袭及迁移能力,诱导细胞的凋亡^[10]。关于 galectin-3 对宫颈癌的增殖及凋亡的研究尚不清楚。

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是一种高效、可行的抑制基因表达的手段,目前已在信号转导、基因治疗等领域中得到广泛的应用^[11]。本研究通过 RNA 干扰技术抑制 galectin-3 的表达,研究其对宫颈癌细胞增殖凋亡的影响,结果显示,宫颈癌细胞的增殖明显降低,细胞的凋亡率明显升高。肿瘤增殖抗原 ki67 是反映细胞增殖的核抗原,与肿瘤的转移、复发、浸润性、恶性程度等密切相关,是重要的肿瘤细胞增殖标志物,可以客观的标记肿瘤的增殖能力^[12]。PCNA 是 DNA 细胞合成必不可少的因子,在增殖细胞的组织中可检测出 PCNA 的阳性表达,已有研究显示其在胃癌、肝癌等多种恶性肿瘤中表达量增高^[13]。caspase-3 是 caspase 家族的关键酶,处于 caspase 级联反应的下游,是细胞凋亡过程中的关键执行者,是多种凋亡刺激信号的最终汇集点,其活性是凋亡进入不可逆阶段的标志^[14-15]。本研究进一步检测 ki67、PCNA、cleaved caspase3 蛋白表达,结果显示,抑制 galectin-3 的表达后 ki67、PCNA 蛋白显著下调表达,cleaved caspase3 蛋白显著上调表达。

Wnt 信号通路是一条高度保守的与机体平衡及细胞的增殖和分化密切相关的信号通路,Wnt/ β -catenin 信号通路是 Wnt 信号通路中的一条经典信号通路,调控细胞的增殖、凋亡、分化、粘附、胚胎发育等过程^[16]。正常的成熟细胞中,Wnt/ β -catenin 信号通路处于关闭状态,而在胃癌、宫颈癌等肿瘤细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路异常激活,可通过影响细胞的增殖、凋亡、细胞周期、细胞粘附等参与肿瘤的发生^[17-18]。有研究显示,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路可降低肿瘤的发生发展^[19]。本研究抑制 galectin-3 的表达后检测



注:A:Western blot 检测结果图;B:蛋白相对表达量;与 normal 组比较, * $P<0.01$;与 si-control 组比较,## $P<0.01$ 。

图 5 转染 siRNA-galectin-3 对 cleaved caspase3、 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达的影响

2.5 转染 siRNA-galectin-3 对 cleaved caspase3、 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达的影响 各组细胞转染 48 h 后,Western blot 检测凋亡相关蛋白 cleaved caspase3 及 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白 β -catenin、cyclin D1 的蛋白表达,与正常对照组和 si-control 组比较,si-galectin-3 组 cleaved caspase3 蛋白表达显著上调,而 β -catenin、cyclin D1 蛋白表达显著下调($P<0.01$)。

湖南省儿童医院手足口病住院 病例病原学检测结果分析

李梨平, 叶志纯, 陈梦施, 舒孝文, 易思思

湖南省儿童医院儿科研究所, 湖南 长沙 410007

摘要: **目的** 了解 2015–2016 年湖南省手足口病患儿的病原构成, 为手足口病临床救治提供依据。 **方法** 采集 2015 年 4 月–2016 年 4 月该院 0~5 岁手足口病住院患儿的咽拭子标本提取病毒 RNA, 用肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71)、柯萨奇病毒 A 组 16 型 (coxsackievirus A16, CA16) 及通用型肠道病毒 (EV) 核酸检测试剂盒进行病原学检测, 并对通用型肠道病毒核酸 (EV-RNA) 阳性的标本测序确定型别。 **结果** 共纳入患儿 1 226 名, 男 778 例, 女 448 例。CA16-RNA 阳性占 7.2%, EV71-RNA 阳性占 19.0%, EV-RNA 阳性占 73.8%。不同性别患儿各病毒构成差异无统计学意义 ($P>0.05$), 不同年龄组、轻重型病例患儿各病毒构成差异有统计学意义 ($P<0.05$)。0~岁组 EV71-RNA (9.7%) 构成比低于 4~岁组 (33.7%) 与 1~岁组 (18.9%), 而 EV-RNA 构成比 (84.5%) 高于 4~岁组 (58.6%) 与 1~岁组 (73.6%) ($P<0.0125$), 重型病例组患儿 EV71-RNA 构成 (28.8%) 高于轻型病例组 (13.3%), 而 EV-RNA (78.9%) 低于轻型病例组 (65.0%) ($P<0.05$)。春季 CA16-RNA 与 EV71-RNA 构成比明显高于其他季节, 而 EV-RNA 的构成比低于其他季节 ($P<0.05$)。对通用型肠道病毒阳性标本测序分型发现其亚型主要为 CA6 (69.4%)、CA10 (14.7%)、CA2 (8.5%), 同时检测到

作者简介: 李梨平 (1962–), 女, 湖南湘乡人, 学士, 主任技师, 研究方向: 儿童病毒性疾病。

Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白 β -catenin、cyclin D1 的蛋白表达, 结果显示, β -catenin、cyclin D1 的蛋白表达均显著下调。

综上所述, RNA 干扰 galectin-3 的表达可通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路降低宫颈癌细胞的增殖, 促进细胞的凋亡。该研究为宫颈癌的分子诊断及靶向治疗提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] Barillari G, Palladino C, Bacigalupo I, et al. Entrance of the Tat protein of HIV-1 into human uterine cervical carcinoma cells causes upregulation of HPV-E6 expression and a decrease in p53 protein levels [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(4):2389–2394.
- [2] Park AM, Hagiwara S, Hsu DK, et al. galectin-3 plays an important role in innate immunity to gastric infection by *Helicobacter pylori* [J]. *Infect Immun*, 2016, 84(4):1184–1193.
- [3] Nakajima K, Kho DH, Yanagawa T, et al. galectin-3 cleavage alters bone remodeling: Different outcomes in breast and prostate cancer skeletal metastasis [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(6):1391–1402.
- [4] Wang T, Chu Z, Lin H, et al. galectin-3 contributes to cisplatin-induced myeloid derived suppressor cells (MDSCs) recruitment in Lewis lung cancer-bearing mice [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(6):4069–4076.
- [5] Chung LY, Tang SJ, Wu YC, et al. galectin-3 augments tumor initiating property and tumorigenicity of lung cancer through interaction with β -catenin [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7):4936–4952.
- [6] D'Alessandria C, Braesch-Andersen S, Bejo K, et al. Noninvasive *in vivo* imaging and biologic characterization of thyroid tumors by immunopET targeting of galectin-3 [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(12):3583–3592.
- [7] Sciacchitano S, Lavra L, Olivieri A, et al. Combined clinical and ultrasound follow-up assists in malignancy detection in galectin-3 negative Thy-3 thyroid nodules [J]. *Endocrine*, 2016, 54(1):139–147.
- [8] Shimura T, Shibata M, Gonda K, et al. Elevated serum galectin-3 is associated with poor prognosis in patients with colorectal carcinoma [J]. *Ann Cancer Res*, 2016, 24(1):12–16.
- [9] Subhash VV, Ho B. Galectin-3 acts as an enhancer of survival respon-

ses in *H. pylori*-infected gastric cancer cells [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2016, 32(1):23–35.

- [10] Shetty P, Bargale A, Patil B R, et al. Cell surface interaction of annexin A2 and galectin-3 modulates epidermal growth factor receptor signaling in Her-2 negative breast cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 411(1–2):221–233.
- [11] Liu YC, Ma WH, Ge YL, et al. RNAi-mediated gene silencing of vascular endothelial growth factor C suppresses growth and induces apoptosis in mouse breast cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5):3896–3904.
- [12] Abubakar M, Howat WJ, Daley F, et al. High - throughput automated scoring of Ki67 in breast cancer tissue microarrays from the Breast Cancer Association Consortium [J]. *J Pathol Clin Res*, 2016, 2(3):138–153.
- [13] Yoshizawa K, Yuki M, Kinoshita Y, et al. Characterization of mammary adenocarcinomas in male rats after N-methyl-N-nitrosourea exposure-potential for human male breast cancer model [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2016, 68(5):263–270.
- [14] 王灯亮, 余良宏, 林章雅, 等. 辛伐他汀体外对人 U251 脑胶质瘤细胞增殖及凋亡的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(12):2837–2840.
- [15] Liu C, Vojnovic D, Kochevar I E, et al. UV-A irradiation activates Nrf2-regulated antioxidant defense and induces p53/caspase3-dependent apoptosis in corneal endothelial cells UV-A activates Nrf2 and induces p53 in corneal endothelial cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(4):2319–2327.
- [16] Ye S, Zhang D, Cheng F, et al. Wnt/ β -catenin and LIF - Stat3 signaling pathways converge on Sp5 to promote mouse embryonic stem cell self-renewal [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(2):269–276.
- [17] McCracken KW, Aihara E, Martin B, et al. Wnt/ β -catenin promotes gastric fundus specification in mice and humans [J]. *Nature*, 2017, 541(7636):182–187.
- [18] Xu R, Hu J, Zhang T, et al. TRIM29 overexpression is associated with poor prognosis and promotes tumor progression by activating Wnt/ β -catenin pathway in cervical cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):28579–28591.
- [19] Chai S, Ng KY, Tong M, et al. Octamer 4/microRNA - 1246 signaling axis drives Wnt/ β -catenin activation in liver cancer stem cells [J]. *Hepatology*, 2016, 64(6):2062–2076.

收稿日期: 2017-04-13