

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.09.006

· 基础研究 ·

hsa-miR-150-5p 靶向 *HIF1α* 对成胶质细胞瘤 U-251MG 细胞恶性生物学行为的影响

周江, 夏祥国, 陈礼刚, 罗鑫, 阿库布千, 郭张超(西南医科大学附属医院 神经外科, 四川 泸州 646000)

[摘要] **目的:** 探讨 hsa-miR-150-5p 靶向低氧诱导因子 1α(hypoxia inducibility factor 1, *HIF1α*) 对成胶质细胞瘤(glioblastoma, GBM)U-251MG 细胞恶性生物学行为的影响及其作用机制。**方法:** qRT-PCR 检测 miR-150-5p 及其 *HIF1α* mRNA 在 U-251MG 细胞中的表达水平, 荧光素酶报告实验验证 miR-150-5p 和 *HIF1α* 之间的生物学关系及 miR-150-5p 和 *HIF1α* 在 U-251MG 细胞中的生物学功能, Western blotting 检测 miR-150-5p 及 *HIF1α* 蛋白在 U-251MG 细胞中的表达, Transwell 实验检测 U-251MG 细胞的侵袭能力, 划痕实验检测 U-251MG 细胞的迁移能力。**结果:** miR-150 mimic 转染 U-251MG 细胞后, *HIF1α* mRNA 表达水平明显下调 ($P < 0.01$), *HIF1α* 蛋白水平也明显下调 ($P < 0.01$)。miR-150-5p 降低了 wt *HIF1α* 3'-UTR 转染细胞的荧光素酶活性 ($P < 0.05$), 证实 miR-150-5p 通过结合 *HIF1α* 的 3'-UTR 负调控 *HIF1α* 的表达。在 U-251MG 细胞中, miR-150-5p 过表达可明显抑制 *HIF1α* 蛋白表达、细胞侵袭和迁移 (均 $P < 0.05$)。**结论:** miR-150-5p 通过负调控 *HIF1α* 抑制 U-251MG 细胞的侵袭和转移, 表明 miR-150-5p 和 *HIF1α* 有可能是 GBM 潜在的治疗靶点。

[关键词] 成胶质细胞瘤; miR-150-5p; 低氧诱导因子 1α; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R392.11; R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)09-0878-06

Regulatory effect of hsa-miR-150-5p on malignant behaviors of glioblastoma U-251MG cells by targeting *HIF1α*

ZHOU Jiang, XIA Xiangguo, CHEN Ligang, LUO Xin, AKU Buqian, GUO Zhangchao (Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Southwestern Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect and possible mechanisms of has-miR-150-5p targeting *HIF1α* to regulate malignant biological behaviors of glioblastoma (GBM) U-251MG cells. **Methods:** Real-time quantitative PCR (RT-PCR) was used to detect the expression of miR-150-5p and hypoxia inducible factor 1 (*HIF1α*) in U-251MG cells. Luciferase report assay was carried out to verify the biological relationship between miR-150-5p and *HIF1α* and their biological functions in U-251MG cells. The protein expressions of miR-150-5p and *HIF1α* in U-251MG cells were detected by western blotting. The ability of cell migration was detected by wound healing test and cell invasion ability was detected by transwell test. **Results:** After miR-150-5p mimic transfection, the mRNA expression of *HIF1α* was significantly reduced in U-251MG cells ($P < 0.01$). Bioinformatics prediction and luciferase reporter assay demonstrated that miR-150-5p down-regulated *HIF1α* through directly binding to *HIF1α* 3'-untranslated region (3'-UTR) (all $P < 0.05$). In U-251MG cells, miR-150-5p over-expression significantly inhibited *HIF1α* expression, cell invasion and migration (all $P < 0.05$). **Conclusion:** miR-150-5p inhibits cell invasion and metastasis through negative regulation of *HIF1α*, indicating that miR-150-5p and *HIF1α* were both potential therapeutic targets for glioblastoma.

[Key words] glioblastoma(GBM); miR-150-5p; hypoxia inducible factor 1α(*HIF1α*); invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(7): 878-883. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.07.006]

成胶质细胞瘤(glioblastoma, GBM)是一种非常致命的脑癌,其特征是快速扩散、浸润性生长和高水平的细胞异质性^[1]。GBM患者通常在治疗后仅能存活1年^[2]。微小RNA(microRNA, miRNA)是一种小的非编码RNA,其转录的长度为18~24个核苷酸,可调控基因表达,参与调节细胞侵袭、迁移、分化和代谢^[3]。miRNA是由最初的转录本转化成短的茎环结构,然后加工为成熟的miRNA。单个miRNA具有调

节大量目标mRNA的能力,主要功能是下调基因表

[基金项目] 四川省卫生和计划生育委员会资助课题(No.1504122)。Project supported by the Health and Family Planning Commission of Sichuan Province (No.1504122)

[作者简介] 周江(1986-),男,硕士生,主要从事神经胶质瘤治疗的研究, E-mail: fuxin218766@sina.com

[通信作者] 夏祥国(XIA Xiangguo, corresponding author), 硕士, 教授, 硕士生导师, 主要从事神经胶质瘤治疗的研究, E-mail: 297341319@qq.com

达。根据其 mRNA 靶点的作用,miRNA 可以作为抑癌基因或癌基因^[4]。miR-150 是在各种癌症中被广泛研究的 miRNA 之一。研究^[5-8]表明,miR-150-5p 通过转染能抑制多种癌细胞的发展进程的多个阶段,如抑制结肠癌、GBM、肝癌、颈部鳞状细胞癌细胞增殖、侵袭和转移。本研究通过探讨 miR-150-5p 靶向 HIF1 α 对 GBM U-251MG 细胞增殖、侵袭和转移的影响及其作用机制,旨在为 GBM 的治疗提供新的参考依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系和主要试剂

GBM 细胞 U-251MG 购自 ATCC 公司,人类胚胎肾细胞系(HEK 293T)购自中国医学科学院细胞资源中心(CAMS)。培养基 MEM Eagles with Earle's Balanced Salts(MEM-EBSS)、胎牛血清、胰蛋白酶购自美国 GIBCO 公司, RNA 提取试剂盒 Direct-zol™ RNA MiniPrep kit 购自北京天漠科技有限公司,脂质体转染试剂盒 Lipofectamine RNAiMAX Kit 和 NCode™ miRNA 第一链 cDNA 合成试剂盒购自美国 Invitrogen 公司, SYBR Green Master mix、RevertAid™ H Minus First Strand cDNA 合成试剂盒购自美国赛默飞世尔公司,所有一抗 HIF1 α 、GAPDH 购自美国 CST 公司,二抗山羊抗兔 IgG-HRP 购自美国 Santa Cruz 公司, Transwell 小室及人工基底膜均购自美国 BD 公司。

1.2 细胞培养和分组

GBM 细胞 U-251MG 培养于含 10% 胎牛血清(FBS)和 1% 的双抗(青-链霉素)的 MEM-EBSS 培养液中,并置于 37℃、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养。后续细胞分组分为:U-251MG(不做任何转染),miR-150mimic(转染 miR-150-5p mimic),pc-HIF1 α (转染 HIF1 α 过表达 pcDNA 载体),mimic+pc-HIF1 α (同时转染 miR-150-5p mimic+HIF1 α 过表达 pcDNA 载体)。

1.3 miR-150-5p mimic 转染 U-251 MG 细胞

为了进一步验证 miR-150-5p 可以靶向下调 HIF1 α ,本研究构建了过表达 HIF1 α 的 pcDNA 载体。细胞分组分为:U-251MG(不做任何转染),miR-150 mimic(转染 miR-150-5p mimic),pc-HIF1 α (转染 HIF1 α 过表达 pcDNA 载体),mimic+pc-HIF1 α (同时转染 miR-150-5p mimic+HIF1 α 过表达 pcDNA 载体)。miR-150-5p mimic 和阴性对照(mimic-scramble)用于转染细胞。RNA 双链根据转染试剂盒说明书转入 U-251MG 细胞,转染后 8 h 更换培养基,进行后续实验。

1.4 qRT-PCR 检测转染 miR-150-5p 后 HIF1 α mRNA 在 U-251MG 细胞中的表达

收集上述 3 组细胞,根据说明书用 Direct-zol™ RNA MiniPrep kit (Zymo Research)试剂盒提取细胞总 RNA。取 1 μ g RNA 用 NCode™ miRNA 第一链 cDNA 合成试剂盒进行 miRNA 反转录成 20 μ l 体系 cDNA。使用 SYBR Green Master mix 和 CFX 96 Real-Time PCR 系统(Bio-rad)扩增 cDNA 模板。 β -actin 作为内参基因。使用的引物序列如下: β -actin 正向引物为 5'-TGAGACCTTCAACACCCAG-3';反向引物为 5'-GCCATCTCTTGCTCGAAGTC-3';HIF1 α 正向引物为 5'-TGCATCTCCATCTTCTACCCAAGT-3';反向引物为 5'-CCGACTGTGAGTGCCACTGT-3';miR-150-5p 正向引物为 5'-CTCCCAACCCTTGAC-CAGTG-3';反向引物为通用 qPCR 引物。为了探索 miR-150-5p 对胶质瘤细胞 U-251MG 的作用,采用 qRT-PCR 检测 miR-150-5p 及 HIF1 α mRNA 在 U-251MG 细胞中的表达情况。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算 miR-150-5p 及 HIF1 α mRNA 在 U-251MG 细胞中的表达量。实验重复 3 次。

1.5 Western blotting 检测 miR-150-5p 及 HIF1 α 蛋白在 U-251MG 细胞中的表达

U-251MG 细胞被转染 mimic 后,收集细胞,用 PBS 洗涤 2 次,用细胞裂解液在冰上裂解细胞 15 min;细胞悬液加入含有 SDS 的 5 \times loading 缓冲液在沸水中变性 10 min。细胞总蛋白用 BCA 试剂盒检测。上样等量(20 μ g)蛋白样品于分离胶上进行 SDS-PAGE,转移到 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉封闭后,PVDF 膜孵育一抗(抗体稀释用 5% 脱脂奶粉溶解于 TBST)4℃ 过夜,使用 HIF1 α (1:1 000)、GAPDH (1:1 000)抗体,二抗用山羊抗兔 IgG-HRP (1:5 000),GAPDH 作为上样量一致的参照。用 ECL 系统检测目标蛋白质。用 ImageJ 软件统计灰度值计算蛋白相对表达量。实验重复 3 次。

1.6 荧光素酶报告验证 miR-150-5p 与 HIF1 α 之间的生物学关系

荧光素酶报告检测中,HEK 293T 细胞因其令人满意的转染效率而被使用。为了验证 HIF1 α 是 miR-150-5p 的靶点,将 miR-150-5p mimic 和 HIF1 α 3'-UTR 野生型(wt)或突变型(mut)同时转染到 293T 细胞,采用 miR-150-5p 预测的 microRNA 结合序列,在 GV272 载体上克隆了包含预测结合位点或突变的 3'-未翻译区域(3'-UTR)的 HIF1 α 3'-UTR 的片段。经 DNA 测序验证后,使用脂质体 2000 根据说明书将该质粒(包含 miR-150 mimic 或不包含)被转染到 293T 细胞中,在转染后 48 h 收集细胞,用双荧光素酶报告系

统进行分析。实验重复3次。

1.7 Transwell实验检测U-251MG细胞的侵袭能力

为了验证 miR-150-5p 对胶质瘤细胞 U-251MG 生长的影响,转染 miR-150-5p mimic 到 U-251MG 细胞,采用 Transwell 法检测细胞侵袭。将小室放入培养板中,在上室加入 300 μ l 预温的无血清培养基,室温下静置 15~30 min,使基质胶再水化,再吸去剩余培养液。制备细胞悬液:用含 BSA 的无血清培养基将各组待测的细胞制成 1×10^6 个/ml 的悬液。接种细胞:取细胞悬液 100~200 μ l 加入 Transwell 上室中,并在下室中加入含 500 μ l 含 FBS 或趋化因子的培养基。培养细胞:在 37 $^{\circ}$ C 下培养 12~24 h,再用 0.5% 的结晶紫对上室底部细胞进行染色,并用棉签除去上室内侧的细胞。显微镜下观察细胞形态并统计下室细胞数量。实验重复3次。

1.8 划痕实验检测U-251MG细胞的细胞迁移能力

为了验证 miR-150-5p 对胶质瘤细胞 U-251MG 迁移的影响,采用划痕实验检测细胞迁移情况。将细胞密度为 1×10^6 /ml 的细胞悬液加入到 6 孔板中,过夜培养至形成单层细胞。在单层细胞上用 10 μ l 的枪头划横线,PBS 洗去脱落的细胞。此时显微镜下拍照

作为 0 h 的样本,伤痕间距为 a;加入无血清培养基继续培养 24 h 后再取出拍照作为 24 h 的样本,伤痕间距为 b。细胞迁移率($\%$)=(1-b)/a \times 100%。实验重复3次。

1.9 统计学处理

采用统计学分析软件 SPSS 25.0 和 GraphPad Prism 5.0 进行相应的统计分析和作图,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,通过相关性和线性回归分析处理,miR-150-5p 与 *HIF1 α* mRNA 之间的关系。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-150-5p 转染下调 U-251MG 细胞 *HIF1 α* mRNA 水平

qRT-PCR 检测结果(图 1A)显示,转染后 miR-150-5p 表达水平明显增加($P < 0.01$),说明转染成功;miR-150 mimic 转染后,*HIF1 α* mRNA 表达水平明显下调($P < 0.01$,图 1B)。表明 miR-150-5p 很可能靶向结合 *HIF1 α* ,导致 *HIF1 α* 转录后下调。

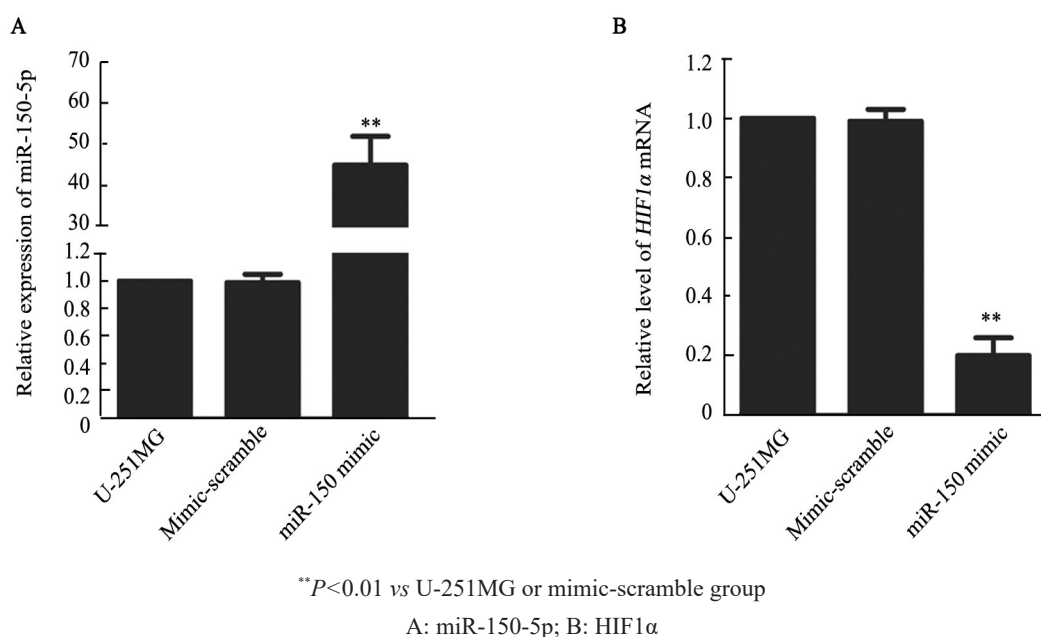


图1 miR-150-5p转染下调U-251MG细胞*HIF1 α* mRNA水平

Fig.1 Transfection of miR-150-5p down-regulated *HIF1 α* mRNA level in U-251MG cells

2.2 miR-150-5p 通过结合 *HIF1 α* 的 3'-UTR 负调控 *HIF1 α* 的表达

荧光素酶报告验证结果(图2)显示,miR-150-5p 降低了 wt *HIF1 α* 3'-UTR 转染细胞的荧光素酶活性($P < 0.05$),但在细胞转染 Mut *HIF1 α* 3'-UTR 的细胞中荧光素酶活性没有降低($P > 0.05$)。表明 miR-150-

5p 通过直接结合 *HIF1 α* 的 3'-UTR 来负调控 *HIF1 α* 基因的表达。

2.3 miR-150-5p 过表达下调 *HIF1 α* 蛋白的表达水平

Western blotting 检测结果(图3)显示,miR-150 mimic 下调了 U-251MG 细胞中 *HIF1 α* 蛋白表达水平,显著提升 pc-*HIF1 α* 组 *HIF1 α* 蛋白表达水平,miR-

150 mimic 可减少过表达造成的 HIF1α 升高 ($P < 0.01$)。表明 miR-150-5p 过表达显著抑制 HIF1α 蛋白的表达水平。

mimic 可抑制 HIF1α 过表达促进的细胞侵袭能力 (均 $P < 0.05$)。表明 miR-150-5p 可抑制 U-251MG 细胞侵袭能力。

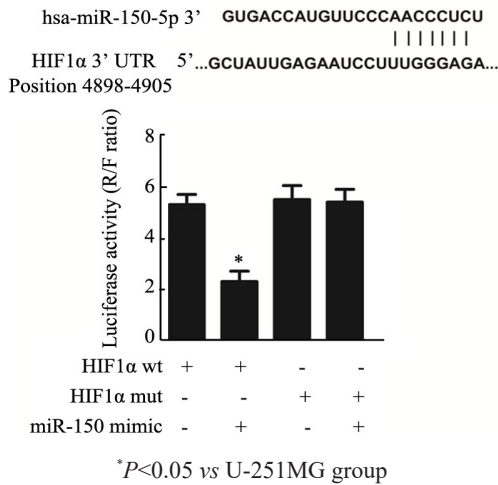
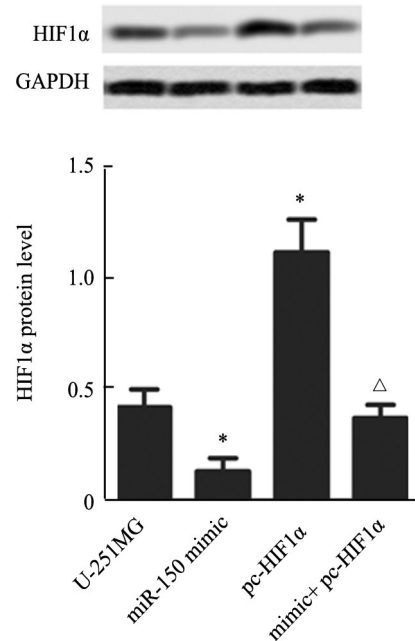


图2 miR-150-5p 负调控 HIF1α 基因的表达

Fig. 2 miR-150-5p negatively regulated expression of HIF1α gene

2.4 miR-150-5p 过表达抑制 U-251MG 细胞侵袭能力

Transwell 法检测结果 (图4) 显示, 与 U-251MG 组相比, miR-150 mimic 明显抑制 U-251MG 细胞侵袭, pc-HIF1α 明显增加 U-251MG 细胞侵袭, miR-150

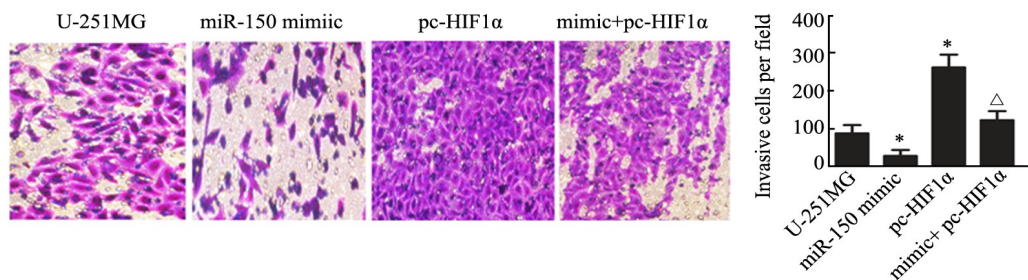


* $P < 0.05$ vs U-251MG group; $^{\Delta}P < 0.05$ vs pc-HIF1α group
 图3 miR-150-5p 过表达对 HIF1α 蛋白的表达水平的影响

Fig. 3 Effect of miR-150-5p over-expression on the expression level of HIF1α protein

2.4 miR-150-5p 过表达抑制 U-251MG 细胞侵袭能力

Transwell 法检测结果 (图4) 显示, 与 U-251MG 组相比, miR-150 mimic 明显抑制 U-251MG 细胞侵袭, pc-HIF1α 明显增加 U-251MG 细胞侵袭, miR-150



* $P < 0.05$ vs U-251MG group; $^{\Delta}P < 0.05$ vs pc-HIF1α group

图4 miR-150-5p 过表达对 U-251MG 细胞侵袭能力的影响 (×200)

Fig. 4 Effect of miR-150-5p over-expression on invasion of U-251MG cells (×200)

2.5 miR-150-5p 过表达抑制 U-251MG 细胞迁移能力

划痕实验检测结果 (图5) 显示, 与 U-251MG 组 24 h 比较, miR-150 mimic 组痕间距较宽, 表示 miR-150 mimic 明显抑制 U-251MG 细胞迁移 ($P < 0.05$); 而 pc-HIF1α 组痕间距较窄, 表示 pc-HIF1α 明显促进 U-251MG 细胞迁移, miR-150 mimic 可抑制 HIF1α 诱导的迁移增加 ($P < 0.05$)。表明过表达 miR-150-5p 可抑制 U-251MG 细胞迁移能力。

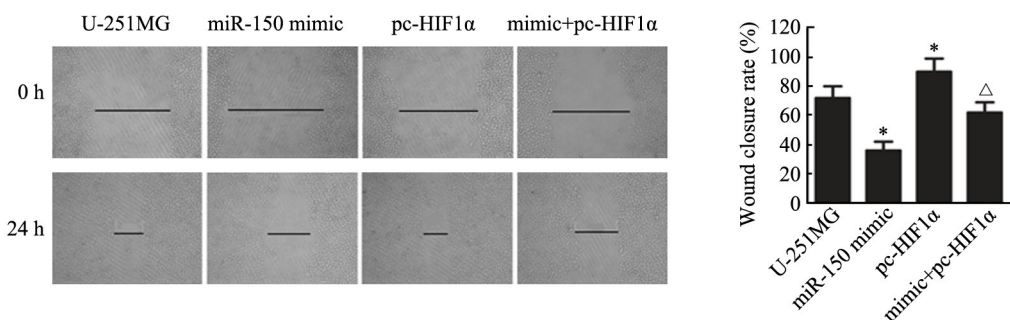
3 讨论

GBM 是一种高度侵袭性的癌症, 浸润周围正常

组织, 因此手术切除很少成功^[9]。在分子水平上, GBM 细胞迁移和侵袭的机制是高度复杂的, 并通过一系列因子介导或增强细胞运动、细胞外基质重塑和血管生成^[10]。到目前为止, 进一步确认参与这些过程的新生物分子对于发展靶向治疗胶质母细胞瘤至关重要。miRNA 可根据其靶基因的功能, 将其视为抑癌基因或癌基因^[11]。有许多研究^[12-14]表明, miRNA 通过靶向肿瘤和转移相关基因的表达来调控多种生物过程, 如侵袭和转移, 并且 miRNA 在 GBM 中表现出异常的表达模式。研究^[15]表明, miRNA 与 GBM 的发病机制有关, 因为 miRNA 在肿瘤形成过程中起着

关键作用。可见,miRNA 调控紊乱是 GBM 发病机制的关键机制之一。然而,miR-150-5p 及其在胶质瘤细胞中的直接作用靶点的作用尚不完全清楚。在本研究划痕实验检测结果显示,miR-150 mimic 明显抑

制 U-251MG 细胞迁移,pc-HIF1 α 明显促进 U-251MG 细胞迁移,表明过表达 miR-150-5p 可抑制 U-251MG 细胞迁移能力。



* $P < 0.05$ vs U-251MG group; $\Delta P < 0.05$ vs pc-HIF1 α group

图5 miR-150-5p 过表达对 U-251MG 细胞迁移能力的影响

Fig. 5 Effect of miR-150-5p over-expression on migration of U-251MG cells

GBM 通常展现出快速的细胞增殖和不充分的血管化,经常导致肿瘤区域的供氧不足^[16]。这种慢性暴露于极低水平的氧常常会产生坏死区,周围被密集的低氧肿瘤细胞包围。这些所谓的假性的 GBM 细胞可以表达低氧调节基因,控制与肿瘤侵袭性相关的关键过程,如血管生成、细胞外基质降解和侵袭性行为。缺氧也是肿瘤微环境的一个公认的组成部分,它与不同癌症类型的患者预后不良和抗肿瘤治疗有关。细胞对缺氧的反应通常是由 HIF 家族转录因子介导的^[17]。有研究^[18-19]显示,HIF- α 是肿瘤发展中很重要的低氧诱导因子,能促进上皮间充质转化,促进肿瘤的转移和侵袭,并且 HIF- α 自身作为转录因子,可以诱导血管内皮生长因子转录,促进血管生成和侵袭。研究^[20]表明,在 GBM 中 HIF- α 呈过表达状态,因此大量研究以 HIF1 α 作为抗肿瘤转移的靶点。本研究 Transwell 法检测结果显示,miR-150 mimic 明显抑制 U-251MG 细胞侵袭,pc-HIF1 α 明显增加 U-251MG 细胞侵袭,miR-150 mimic 可抑制 HIF1 α 过表达而提高 U-251MG 细胞侵袭能力。本研究扩展了 miR-150-5p 的作用和潜在的机制,增加 miR-150-5p 的作用靶点,即通过靶向 HIF- α 抑制 GBM 细胞的侵袭能力。

有多项研究^[5-8,21]表明,miR-150-5p 在结肠癌中能通过靶向 MUC4 抑制结肠癌细胞 HCT116 转移和侵袭;miR-150-5p 已经被证明可以靶向基质金属蛋白酶(MT1-MMP)抑制 U-251MG 细胞增殖和转移;也被证明可以靶向 MMP 14 抑制肝癌细胞 HepG2 侵袭;再有 miR-150-5p 和 miR-150-3p 在头颈部鳞状细胞癌中以 SPOCK1 为靶点,抑制癌细胞的侵袭性^[8];miR-

150 通过靶向 ZEB1 抑制 ESCC 和上皮性卵巢癌细胞侵袭。上述发现表明,miR-150-5p 是一种可能的肿瘤抑制因子,作用于不同类型的癌症。本研究表明,HIF1 α 是 miR-150-5p 的生物信息学靶标,荧光素酶分析验证 miR-150-5p 的 miR-binding 序列。Western blotting 检测进一步表明,miR-150-5p 显著抑制了 HIF- α 蛋白水平,由于 HIF- α 在肿瘤转移中的关键作用,提示 miR-150-5p 通过对 U-251MG 细胞中 HIF1 α 的负调控来抑制细胞转移。

综上,本研究证明了 miR-150-5p 结合到 HIF- α 的 3'-UTR 上,进而下调 HIF- α ,显示 miR-150-5p 通过下调 HIF1 α 抑制 GBM 的 U-251MG 细胞增殖和促进其凋亡。同时,本研究扩展了对 miRNA 和 HIF1 α 调控的认识,推测 miR-150-5p 和 HIF1 α 可能是 GBM 的新治疗靶点。

[参考文献]

- [1] EDER K, KALMAN B. Molecular heterogeneity of glioblastoma and its clinical relevance[J]. *Pathol Oncol Res*, 2014, 20(4): 777-787. DOI:10.1007/s12253-014-9833-3.
- [2] LUO J W, WANG X, YANG Y, et al. Role of micro-RNA (miRNA) in pathogenesis of glioblastoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(9): 1630-1639.
- [3] TANAKA H, SASAYAMA T, TANAKA K, et al. MicroRNA-183 upregulates HIF-1 α by targeting isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) in glioma cells[J]. *J Neurooncol*, 2013, 111(3): 273-283. DOI: 10.1007/s11060-012-1027-9.
- [4] SHENOUDA S K, ALAHARI S K. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28 (3/4): 369-378. DOI:10.1007/s10555-009-9188-5.
- [5] WANG W H, CHEN J, ZHAO F, et al. MiR-150-5p suppresses

- colorectal cancer cell migration and invasion through targeting MUC4[J]. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2014, 15(15): 6269-6273. DOI:10.7314/apjcp.2014.15.15.6269.
- [6] SAKR M, TAKINO T, SABIT H, et al. miR-150-5p and miR-133a suppress glioma cell proliferation and migration through targeting membrane-type-1 matrix metalloproteinase[J]. *Gene*, 2016, 587(2): 155-162. DOI:10.1016/j.gene.2016.04.058.
- [7] LI T, XIE J, SHEN C, et al. miR-150-5p inhibits hepatoma cell migration and invasion by targeting MMP14[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e115577[2018-04-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4280173/>. DOI:10.1371/journal.pone.0115577.
- [8] KOSHIZUKA K, HANAZAWA T, KIKKAWA N, et al. Antitumor miR-150-5p and miR-150-3p inhibit cancer cell aggressiveness by targeting SPOCK1 in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2018, 45(4): 854-865. DOI:10.1016/j.anl.2017.11.019.
- [9] ELSTNER A, HOLTKAMP N, VON DEIMLING A. Involvement of Hif-1 in desferrioxamine-induced invasion of glioblastoma cells[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2007, 24(1): 57-66. DOI:10.1007/s10585-007-9057-y.
- [10] MASHIMO T, PICHUMANI K, VEMIREDDY V, et al. Acetate is a bioenergetic substrate for human glioblastoma and brain metastases [J]. *Cell*, 2014, 159(7): 1603-1614. DOI:10.1016/j.cell.2014.11.025.
- [11] XIA Z, LIU F, ZHANG J, et al. Decreased expression of mirna-204-5p contributes to glioma progression and promotes glioma cell growth, migration and invasion [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132399[2018-04-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4489611/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0132399.
- [12] KIM T M, HUANG W, PARK R, et al. A developmental taxonomy of glioblastoma defined and maintained by MicroRNAs[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(9): 3387-3399. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-4117.
- [13] DONG H, SIU H, LUO L, et al. Investigation gene and microRNA expression in glioblastoma[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(Suppl 3): S16. DOI:10.1186/1471-2164-11-S3-S16.
- [14] CHIOCCA E A, LAWLER S E. The many functions of microRNAs in glioblastoma[J]. *World Neurosurg*, 2010, 73(6): 598-601. DOI: 10.1016/j.wneu.2010.06.047.
- [15] NOVAKOVA J, SLABY O, VYZULA R, et al. MicroRNA involvement in glioblastoma pathogenesis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 386(1): 1-5. DOI:10.1016/j.bbrc.2009.06.034.
- [16] VORDERMARK D. Hypoxia is important in the biology and aggression of human glial brain tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(10): 3966-3968. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-05-0097.
- [17] JOSEPH J V, CONROY S, PAVLOV K, et al. Hypoxia enhances migration and invasion in glioblastoma by promoting a mesenchymal shift mediated by the HIF1 α -ZEB1 axis[J]. *Cancer Lett*, 2015, 359(1): 107-116. DOI:10.1016/j.canlet.2015.01.010.
- [18] ZHANG W, SHI X, PENG Y, et al. HIF-1 α Promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis through direct regulation of ZEB1 in colorectal cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129603[2018-04-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4461314/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0129603.
- [19] YANG Y, SUN M, WANG L, et al. HIFs, angiogenesis, and cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(5): 967-974. DOI: 10.1002/jeb.24438.
- [20] CLARA C A, MARIE S K, DE ALMEIDA J R, et al. Angiogenesis and expression of PDGF-C, VEGF, CD105 and HIF-1 α in human glioblastoma[J]. *Neuropathology*, 2014, 34(4): 343-352. DOI: 10.1111/neup.12111.
- [21] YOKOBORI T, SUZUKI S, TANAKA N, et al. MiR-150 is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma via targeting the EMT inducer ZEB1[J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(1): 48-54. DOI:10.1111/cas.12030.

[收稿日期] 2018-04-04

[修回日期] 2018-07-29

[本文编辑] 王映红