

引文格式:王建民,高鹏,刘杰慧,张加宾. miR-373 在视网膜母细胞瘤 Y79 细胞中的表达及其抑制侵袭及迁移能力的实验研究[J]. 眼科新进展,2018,38(10):947-950. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0224

【实验研究】

# miR-373 在视网膜母细胞瘤 Y79 细胞中的表达及其抑制侵袭及迁移能力的实验研究

王建民 高鹏 刘杰慧 张加宾

## Expression of miR-373 in retinoblastoma Y79 cells and its inhibitory effect on cell invasion and migration

WANG Jian-Min, GAO Peng, LIU Jie-Hui, ZHANG Jia-Bin

**[Abstract] Objective** To investigate the expression of miR-373 in retinoblastoma (RB) cells, and its effect on the invasion and migration of RB Y79 cell as well as the relevant mechanisms. **Methods** Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of miR-373 in RB cell lines, RB Y79 and SO-RB50, as well as human normal retinal vascular endothelial cell line, ACBRI-181. miR-373 inhibitor (miR-373 inhibitor group) and inhibitor-NC (NC group) were separately transfected into Y79 cells using liposome transfection. Afterwards, Transwell assay was utilized to determine the changes of invasion and migration of Y79 cells. Western blot was used to detect the expressions of epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers, including E-Cadherin, Vimentin and N-Cadherin, in Y79 cells. **Results** The results of qRT-PCR showed that the relative expression of miR-373 in the RB cell line, Y79 and SO-RB50, was  $6.21 \pm 0.34$  and  $5.40 \pm 0.38$ , respectively, which was significantly higher than that in the normal retinal vascular endothelial cell line ACBRI-181 ( $1.02 \pm 0.04$ ) (both  $P < 0.05$ ). The Transwell test showed that the number of migratory cells in the miR-373 inhibitor group ( $74 \pm 13$ ) was significantly lower than that of the NC group ( $180 \pm 17$ ) ( $P < 0.05$ ), and the number of invasive cells in the miR-373 inhibitor group ( $51 \pm 9$ ) was significantly lower than that of the NC group ( $113 \pm 14$ ) ( $P < 0.05$ ). The results of Western blot showed that the expression of E-Cadherin protein in the miR-373 inhibitor group ( $0.40 \pm 0.08$ ) was significantly higher than that in the NC group ( $0.20 \pm 0.06$ ) ( $P < 0.05$ ), and the expression of Vimentin protein ( $0.17 \pm 0.06$ ) was also significantly lower than that of the NC group ( $0.51 \pm 0.10$ ) ( $P < 0.05$ ), and the expression of N-Cadherin protein ( $0.12 \pm 0.06$ ) was also significantly lower than that of NC group ( $0.33 \pm 0.08$ ) ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of miR-373 abnormally increases in RB cells. Down-regulation of miR-373 expression can inhibit the invasion and migration abilities of RB Y79 cells by the regulation of EMT, which provides a novel potential target for targeted therapy of RB.

作者简介:王建民,男,1982年8月出生,硕士,主治医师。主要研究方向:眼科肿瘤。联系电话:15315135968; E-mail: wangjianminyk@yeah.net; ORCID: 0000-0002-1007-0884

About WANG Jian-Min: Male, born in August, 1982. Master degree. Tel: 15315135968; E-mail: wangjianminyk@yeah.net; ORCID: 0000-0002-1007-0884

收稿日期:2018-03-19  
修回日期:2018-04-18  
本文编辑:方红玲  
作者单位:271100 山东省莱芜市,泰山医学院附属莱芜医院眼科(王建民,高鹏,张加宾);250013 山东省济南市,山东大学附属济南市中心医院眼科(刘杰慧)

Received date: Mar 19, 2018  
Accepted date: Apr 18, 2018  
From the Department of Ophthalmology, Laiwu Hospital Affiliated to Taihsan Medical University (WANG Jian-Min, GAO Peng, ZHANG Jia-Bin), Laiwu 271100, Shandong Province, China; Department of Ophthalmology, Jinan Central Hospital Affiliated to Shandong University (LIU Jie-Hui), Jinan 250013, Shandong Province, China

**[Key words]** retinoblastoma; miR-373; invasion; migration; epithelial-mesenchymal transition

**【摘要】** 目的 观察 miR-373 在视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 细胞中的表达及其对 RB Y79 细胞侵袭及迁移能力的影响和相关机制。方法 采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 miR-373 在 RB 细胞系 RB Y79、SO-RB50 和人正常视网膜血管内皮细胞系 ACBRI-181 中的表达水平,并应用脂质体转染法将 miR-373 抑制物 (miR-373 抑制物组) 和阴性对照 (NC 组) 分别转染至 Y79 细胞,Transwell 实验检测 Y79 细胞侵袭和迁移能力的变化,Western blot 检测 Y79 细胞中上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 相关标志物 E-Cadherin、Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白的表达变化。结果 qRT-PCR 结果显示, RB 细胞系 Y79、SO-RB50 中 miR-373 的相对表达量分别为  $6.21 \pm 0.34$ 、 $5.40 \pm 0.38$ , 明显高于人正常视网膜血管内皮细胞系 ACBRI-181 中 miR-373 的相对表达量 ( $1.02 \pm 0.04$ ) (均为  $P < 0.05$ )。Transwell 实验显示, miR-373 抑制物组迁移细胞数 ( $74 \pm 13$ ) 个, 明显低于 NC 组 ( $180 \pm 17$ ) 个 ( $P < 0.05$ ), miR-373 抑制物组侵袭细胞数 ( $51 \pm 9$ ) 个明显低于 NC 组 ( $113 \pm 14$ ) 个 ( $P < 0.05$ )。Western blot 结果显示, miR-373 抑制物组 E-Cadherin 蛋白的表达 ( $0.40 \pm 0.08$ ) 明显高于 NC 组 ( $0.20 \pm 0.06$ ) ( $P < 0.05$ ), Vimentin 蛋白的表达 ( $0.17 \pm 0.06$ ) 也明显低于 NC 组 ( $0.51 \pm 0.10$ ) ( $P < 0.05$ ), N-Cadherin 蛋白的表达 ( $0.12 \pm 0.06$ ) 也明显低于 NC 组 ( $0.33 \pm 0.08$ ) ( $P < 0.05$ )。结论 miR-373 在 RB 细胞中表达异常增高,降低 miR-373 的表达能够通过调控 EMT 抑制 RB Y79 细胞的侵袭和迁移能力,为 RB 的靶向治疗提供了新的潜在靶点。

**【关键词】** 视网膜母细胞瘤; miR-373; 侵袭; 迁移; 上皮间质转化

**【中图分类号】** R774

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是儿童最常见、危害最大的眼内恶性肿瘤,恶性程度高,严重危害患儿视力并威胁患儿的生命<sup>[1]</sup>,并且其发病率逐年上升<sup>[2]</sup>。随着分子生物学的发展,分子靶向治疗已成为有较好前景的新的肿瘤治疗模式。目前 RB 发病及进展机制不明,尚缺乏有效的分子靶向治疗靶点。miRNA 是一类非编码小分子 RNA,在机体各种生物学调节过程中发挥着重要的作用,近年来发现 miRNA 表达异常与恶性肿瘤密切相关<sup>[3-4]</sup>。miR-373 属于 miRNA 家族重要成员之一,研究表明 miR-373 在多种恶性肿瘤中表达异常,影响肿瘤细胞的侵袭及迁移能力<sup>[5-7]</sup>,但目前 miR-373 在 RB 中的相关研究甚少。Yang 等<sup>[8]</sup>和 Zhao 等<sup>[9]</sup>研究发现,miR-373 在 RB 组织中表达水平明显增高,推测 miR-373 与 RB 的发生发展有关,但其具体的作用机制尚不清楚。本研究利用 qRT-PCR 检测 miR-373 在 RB 细胞系中的表达情况,并探讨其对 RB 细胞侵袭及迁移能力的影响和可能的分子机制。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂** miR-373 抑制物 (miR-373 inhibitor) 及阴性对照 (inhibitor-NC) 均购自上海吉玛制药公司,Trizol 试剂及 Lipofectamine<sup>TM</sup>2000 购自美国 Invitrogen 公司, RNA 逆转录试剂盒和 qRT-PCR 试剂盒购自大连宝生生物工程公司,miR-373 及 U6 引物由广东锐博生物公司设计合成,Transwell 小室购自美国 Corning 公司,基质胶购自美国 BD 公司,一抗 E-Cadherin、Vimentin、N-Cadherin 和 GAPDH 均购自美国 CST 公司,二抗购自美国 Santa Cruz 公司。

**1.2 细胞培养和转染** 人 RB 细胞系 Y79、SO-RB50 和人正常视网膜血管内皮细胞系 ACBRI-181 均购自美国 ATCC 菌种保藏中心,Y79 和 SO-RB50 细胞在 RPMI1640 培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清) 中培养,人正常视网膜血管内皮细胞系 ACBRI-181 在 MCDB-131 培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清) 中培养。取生长状态良好的 Y79 细胞,接种于 6 孔细胞培养板,培养 24 h 后进行细胞转染操作,操作严格按照 Lipofectamine<sup>TM</sup>2000 说明书操作将 miR-373 inhibitor 及 inhibitor-NC 转染至 Y79 细胞,转染后 6 h 更换新鲜培养液。转染后细胞分为 miR-373 抑制物组和 NC 组,细胞转染后 24 h 采用 qRT-PCR 检测转染效率,进行后续细胞实验。

**1.3 qRT-PCR 实验** 严格按照 Trizol 试剂说明书提取 Y79 细胞总 RNA,利用紫外分光光度计和甲醛琼脂糖变性对提取的总 RNA 进行纯度和含量鉴定。各组取 1  $\mu$ g 总 RNA,严格按逆转录试剂盒说明书提供的方法合成 cDNA,以 cDNA 为模板,取 PCR 引物按照 qRT-PCR 试剂盒说明书配置反应体系,应用 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应。miR-373 上游引物:5'-GACGGCTCGAGGACCAAGG-

GGCTGTATGCAC-3',下游引物:5'-GCCAGAAGCTTCCTGCCCTGTTCATCTGCAGG-3',反应条件:95  $^{\circ}$ C 30 s,95  $^{\circ}$ C 5 s,60  $^{\circ}$ C 20 s,共 40 个循环,反应结束后记录 PCR 仪扩增曲线显示的 Ct 值,以 U6 作为内参基因,miR-373 相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算,实验重复 3 次。

**1.4 Transwell 侵袭和迁移实验** 将基质胶均匀涂抹 Transwell 小室上室,将其放置过夜成膜。第 2 天取 200  $\mu$ L 含有  $100 \times 10^3$  个 Y79 细胞的无血清 DMEM 培养基加入 Transwell 小室的上室,小室的下室加入 500  $\mu$ L 含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,于 37  $^{\circ}$ C、含体积分数 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h 后取出小室,棉签轻轻擦弃小室上室的细胞,40 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 多聚甲醛固定 30 min,PBS 缓冲液清洗 2 遍,染色 30 min 后再用 PBS 缓冲液清洗 2 遍,室温风干,光学显微镜下观察,并随机取 5 个高倍视野计算细胞数。迁移实验时 Transwell 小室上室面不给予基质胶包被,余操作同侵袭实验。实验重复 3 次。

**1.5 Western blot 实验** 应用 RIPA 细胞裂解液裂解细胞抽提 Y79 细胞总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度。每个样本取 20  $\mu$ g 总蛋白上样,100 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> SDS-PAGE 分离,湿转法电转移至 PVDF 膜,50 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 脱脂奶粉封闭 2 h,缓冲液洗涤 3 遍,加入一抗 E-Cadherin、Vimentin、GAPDH,4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,缓冲液洗涤 3 遍,加入二抗,室温孵育 2 h 后增强发光法 (ECL) 显影。应用 Quantity One 软件分析条带灰度值,目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带灰度值 / GAPDH 条带灰度值,实验重复 3 次。

**1.6 统计学方法** 本研究采用 SPSS 20.0 进行数据分析,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验或单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 miR-373 在 RB 细胞中的表达** qRT-PCR 结果显示, RB 细胞系 Y79、SO-RB50 和人正常视网膜血管内皮细胞系 ACBRI-181 中 miR-373 的相对表达量分别为  $6.21 \pm 0.34$ 、 $5.40 \pm 0.38$ 、 $1.02 \pm 0.04$ 。与细胞系 ACBRI-181 相比,细胞系 Y79 和 SO-RB50 中 miR-373 的表达水平明显上调 (均为 *P* < 0.01)。

**2.2 转染 miR-373 inhibitor 对 Y79 细胞中 miR-373 表达的影响** qRT-PCR 结果显示,miR-373 抑制物组和 NC 组 Y79 细胞中 miR-373 的相对表达量分别为  $0.22 \pm 0.09$ 、 $1.01 \pm 0.03$ 。miR-373 抑制物组明显低于 NC 组细胞 (*P* < 0.01),证明 miR-373 inhibitor 转染成功,转染效率高。

**2.3 下调 Y79 细胞中 miR-373 的表达对细胞的侵袭和迁移能力的影响** Transwell 迁移和侵袭实验结果如图 1 所示,miR-373 抑制物组和 NC 组迁移细胞数分别为 ( $74 \pm 13$ ) 个、( $180 \pm 17$ ) 个,miR-373 抑制物组明显少于 NC 组 (*P* < 0.05); miR-373 抑制物组

和 NC 组侵袭细胞数分别为  $(51 \pm 9)$  个、 $(113 \pm 14)$  个,miR-373 抑制物组明显少于 NC 组 ( $P < 0.05$ )。

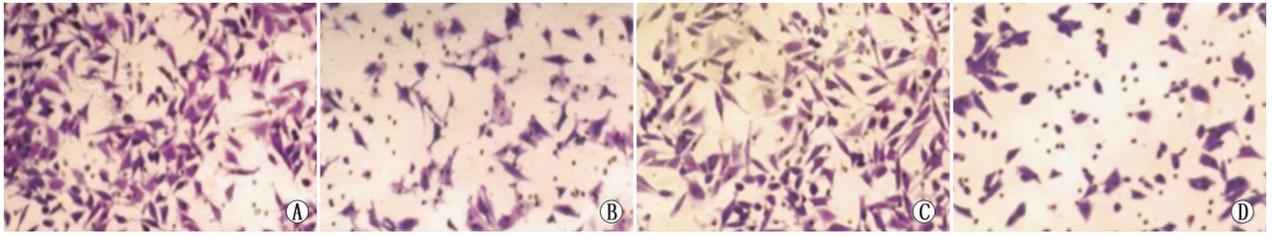


图1 下调 Y79 细胞中 miR-373 的表达对细胞的侵袭和迁移影响。A:NC 组迁移实验;B:miR-373 抑制物组迁移实验;C:NC 组侵袭实验;D:miR-373 抑制物组侵袭实验

**2.4 miR-373 调控 EMT 相关 E-Cadherin、Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白的表达** Western blot 结果如图 2 所示,miR-373 抑制物组与 NC 组 E-Cadherin 蛋白的相对表达量分别为  $0.40 \pm 0.08$ 、 $0.20 \pm 0.06$ ;与 NC 组比较,miR-373 抑制物组 E-Cadherin 蛋白的表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ )。miR-373 抑制物组与 NC 组 Vimentin 蛋白的相对表达量分别为  $0.17 \pm 0.06$ 、 $0.51 \pm 0.10$ ,miR-373 抑制物组与 NC 组 N-Cadherin 蛋白的相对表达量分别为  $0.12 \pm 0.06$ 、 $0.33 \pm 0.08$ 。与 NC 组比较,miR-373 抑制物组 Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白的表达水平均明显降低(均为  $P < 0.05$ )。

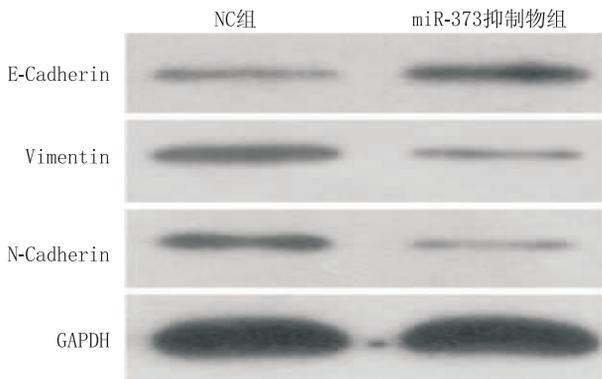


图2 2组中 E-Cadherin、Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白的表达

### 3 讨论

RB 是目前最常见的眼内恶性肿瘤,在中国每年约 1000 例新发病例,传统治疗模式常采用眼球摘除术、放疗及化疗等,严重影响患者视力和生存质量。近年来基因靶向治疗的发展为 RB 的治疗提供了新的方向。目前研究已证实许多 miRNA 在 RB 的发生发展中发挥着重要的作用,参与调控癌细胞的迁移、侵袭、增殖、凋亡、细胞周期等肿瘤生物学行为。Zhao 等<sup>[10]</sup>报道 miR-320 在 RB 组织和细胞系中表达明显下调,上调 RB 细胞中 miR-320 的表达可以抑制细胞的增殖、侵袭和迁移能力。Gui 等<sup>[11]</sup>发现 miR-21 在 RB 组织中表达明显上调,抑制 miR-21 的表达

结果提示下调 Y79 细胞 miR-373 的表达能够抑制细胞的迁移和侵袭能力。

可以通过 PTEN/PI3K/AKT 通路抑制癌细胞的增殖、侵袭及迁移,促进其凋亡。Sun 等<sup>[12]</sup>研究证实 miR-145 在 RB 组织和细胞系中表达降低,miR-145 能够通过下调 ADAM19 抑制 RB 细胞的增殖和侵袭。miR-373 定位于染色体 19q13.42,与 miR-371a、miR-371b、miR-372 同属于 miR-371-373 族<sup>[13]</sup>。近期研究发现 miR-373 在多种肿瘤细胞中均出现表达异常,与恶性肿瘤发生发展关系密切。miR-373 在胃癌<sup>[5]</sup>、纤维肉瘤<sup>[14]</sup>、精原细胞瘤<sup>[15]</sup>、膀胱癌<sup>[16]</sup>中表达升高,起着癌基因的作用。但 miR-373 在肝门胆管癌<sup>[7]</sup>、结肠癌<sup>[16]</sup>、胶质瘤<sup>[17]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[18]</sup>等肿瘤中表达降低,起着抑癌基因的作用,因此可见 miR-373 在恶性肿瘤中的作用机制复杂,既有异常高表达,又有异常低表达。目前有关 miR-373 在 RB 中的研究甚少,并且作用机制尚不明确。本研究通过 qRT-PCR 检测 miR-373 在 RB 细胞系 Y79、SO-RB50 和人正常视网膜血管内皮细胞系 ACBRI-181 中的表达水平,发现 miR-373 在 RB 细胞系表达水平明显增高,提示 miR-373 在 RB 的发生发展中可能起着癌基因的作用。

侵袭与转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,研究发现 miR-373 可以通过影响肿瘤细胞的侵袭及迁移参与肿瘤的发生发展<sup>[19]</sup>。为了观察 miR-373 对 RB 细胞侵袭和迁移能力的影响,本研究中我们通过 Transwell 侵袭和迁移实验发现,下调 Y79 细胞中 miR-373 的表达能够明显减少穿膜细胞的数量,证实抑制 miR-373 的表达能够明显抑制 Y79 细胞的侵袭和迁移能力。EMT 在肿瘤的侵袭和迁移中激活是上皮细胞获得间质细胞特性的过程,也是肿瘤细胞获得侵袭性的关键分子事件,在恶性肿瘤的侵袭和迁移中发挥着重要作用<sup>[20]</sup>。较多的研究已表明 miR-373 可以通过调控 EMT 影响恶性肿瘤的迁移及侵袭能力。E-Cadherin 蛋白是 EMT 过程中的上皮性标志蛋白,Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白是 EMT 过程中间质性标志蛋白,其异常表达被认为是 EMT 的分子标志<sup>[21]</sup>。Chen 等<sup>[22]</sup>研究发现 miR-373 能够通过靶向调控 TXNIP 基因的表达诱导乳腺癌细胞 EMT 发生,E-Cadherin 蛋白下降,Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白水

平上升,促进癌细胞的侵袭和迁移能力。舌鳞状细胞癌<sup>[23]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[24]</sup>、胰腺癌<sup>[25]</sup>中也发现 miR-373 可以诱导癌细胞 EMT 的发生,从而促进癌细胞的侵袭和迁移能力。但目前 miR-373 是否能够通过诱导 EMT 影响 RB 的侵袭及迁移能力尚未见相关报道。本研究中我们发现下调 Y79 细胞中 miR-373 的表达,伴随着肿瘤细胞侵袭和迁移能力的下降,细胞中 E-Cadherin 的表达明显上升,同时 Vimentin 和 N-Cadherin 蛋白的表达明显下降,证实抑制 miR-373 能够通过调控 EMT 降低 Y79 细胞的侵袭和迁移能力。

综上所述,miR-373 在 RB 细胞中表达明显增高,下调 RB 细胞中 miR-373 的表达水平可以通过调控 EMT 抑制癌细胞的侵袭和迁移能力,miR-373 可能成为 RB 基因治疗的新的潜在分子靶点。

## 参考文献

- ABRAMSON D H. Retinoblastoma in the 20th century: past success and future challenges the Weisenfeld lecture[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(8): 2683-2691.
- KIVELÄ T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death[J]. *Br J Ophthalmol*, 2009, 93(9): 1129-1131.
- GRUBER A R, MARTIN G, MÜLLER P, SCHMIDT A, GRUBER A J, GUMIENNY R, et al. Global 3' UTR shortening has a limited effect on protein abundance in proliferating T cells[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5465.
- ZHOU P, XU W, PENG X, LUO Z, XING Q, CHEN X, et al. Large-scale screens of miRNA-mRNA interactions unveiled that the 3' UTR of a gene is targeted by multiple miRNAs[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68204.
- ZHANG X, LI X, TAN Z, LIU X, YANG C, DING X, et al. MicroRNA-373 is upregulated and targets TNFAIP1 in human gastric cancer, contributing to tumorigenesis[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(5): 1427-1434.
- GUANCIAL E A, BELLMUNT J, YE H S, ROSENBERG J E, BERMAN D M. The evolving understanding of microRNA in bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(1): e31-40.
- CHEN Y J, LUO J, YANG G Y, YANG K, WEN S Q, ZOU S Q. Mutual regulation between microRNA-373 and methyl-CpG-binding domain protein 2 in hilar cholangiocarcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(29): 3849-3861.
- YANG Y, MEI Q. miRNA signature identification of retinoblastoma and the correlations between differentially expressed miRNAs during retinoblastoma progression[J]. *Mol Vis*, 2015, 21: 1307-1317.
- ZHAO J J, YANG J, LIN J, YAO N, ZHU Y, ZHENG J, et al. Identification of miRNAs associated with tumorigenesis of retinoblastoma by miRNA microarray analysis[J]. *Childs Nerv Syst*, 2009, 25(1): 13-20.
- ZHAO Y, ZHANG S, ZHANG Y. MicroRNA-320 inhibits cell proliferation, migration and invasion in retinoblastoma by targeting specificity protein 1[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 2191-2198.
- GUI F, HONG Z, YOU Z, WU H, ZHANG Y. MiR-21 inhibitor suppressed the progression of retinoblastoma via the modulation of PTEN/P13K/AKT pathway[J]. *Cell Biol Int*, 2016, 40(12): 1294-1302.
- SUN Z, ZHANG A, JIANG T, DU Z, CHE C, WANG F. MiR-145 suppressed human retinoblastoma cell proliferation and invasion by targeting ADAM19[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14521-14527.
- NIKAKI A, PIPERI C, PAPAVALASSILIOU A G. Role of microRNAs in gliomagenesis: targeting miRNAs in glioblastoma multimodal therapy[J]. *Exp Opin Invest Drugs*, 2012, 21(10): 1475-1488.
- LIU P, WILSON M J. miR-520c and miR-373 upregulate MMP9 expression by targeting mTOR and SIRT1, and activate the Ras/Raf/MEK/Erk signaling pathway and NF- $\kappa$ B factor in human fibrosarcoma cells[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(2): 867-876.
- BING Z, MASTER S R, TOBIAS J W, BALDWIN D A, XU X W, TOMASZEWSKI J E. MicroRNA expression profiles of seminoma from paraffin-embedded formalin-fixed tissue[J]. *Virchows Arch*, 2012, 461(6): 663-668.
- TANAKA T, ARAI M, WU S, KANDA T, MIYAUCHI H, IMAZeki F. Epigenetic silencing of microRNA-373 plays an important role in regulating cell proliferation in colon cancer[J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(5): 1329-1335.
- WEI F, WANG Q, SU Q, HUANG H, LUAN J, XU X, et al. miR-373 inhibits glioma cell U251 migration and invasion by down-regulating CD44 and TGFBR2[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(8): 1389-1397.
- SEOL H S, AKIYAMA Y, SHIMADA S, LEE H J, KIM T I, CHUN S M, et al. Epigenetic silencing of microRNA-373 to epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer through IRAK2 and LAMP1 axes[J]. *Cancer Lett*, 2014, 353(2): 232-241.
- WEI F, CAO C, XU X, WANG J. Diverse functions of miR-373 in cancer[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 162.
- KATSUNO Y, LAMOUILLE S, DERYNCK R. TGF- $\beta$  signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression[J]. *Curr Opin Oncol*, 2013, 25(1): 76-84.
- VOULGARIS A, PINTZAS A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2): 75-90.
- CHEN D, DANG B L, HUANG J Z, CHEN M, WU D, XU M L, et al. MiR-373 drives the epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis via the miR-373-TXNIP-HIF1 $\alpha$ -TWIST signaling axis in breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 32701-32712.
- WENG J, ZHANG H, WANG C, LIANG J, CHEN G, LI W, et al. miR-373-3p targets DKK1 to promote emt-induced metastasis via the wnt/ $\beta$ -catenin pathway in tongue squamous cell carcinoma[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 6010926.
- WANG L, QU J, ZHOU L, LIAO F, WANG J. MicroRNA-373 inhibits cell proliferation and invasion via targeting BRF2 in human non-small cell lung cancer A549 cell line[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 6010926.
- NAKATA K, OHUCHIDA K, MIZUMOTO K, AISHIMA S, ODA Y, NAGAI E, et al. Micro RNA-373 is down-regulated in pancreatic cancer and inhibits cancer cell invasion[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(Suppl 4): S564-574.