

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.20.002

miR-195 通过下调 IGF-1R 的表达抑制胶质母细胞瘤的增殖和迁移 *

周 琪¹ 刘 昊² 都一鸣³ 陈 鑫³ 王泉雄^{3Δ}

(1 哈尔滨医科大学附属第一医院科研管理办公室 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 哈尔滨市第二医院重症医学科 黑龙江 哈尔滨 150090; 3 哈尔滨医科大学附属第一医院神经外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨 miR-195 对胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)增殖和迁移的影响,并阐明其分子调控机制。**方法:**采用 qRT-PCR 检测不同级别胶质瘤中 miR-195 的表达。将 miR-195 转染至胶质瘤 U251 细胞后,应用 qRT-PCR 验证转染效率,MTT 及划痕实验检测 U251 细胞的增殖及迁移能力的改变,qRT-PCR 及 Western blot 检测胰岛素样生长因子 1 受体 (Insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R) 的 mRNA 和蛋白表达;利用质粒转染过表达 miR-195 后,同时过表达 IGF-1R,再应用 MTT 及划痕实验检测 U251 细胞的增殖及迁移能力的变化。**结果:**随着胶质瘤级别的增加,miR-195 的表达逐渐降低,各级别胶质瘤中 miR-195 的表达差异有统计学意义($P<0.05$)。体外转染 miR-195 至 U251 细胞 24、48、72 h 后,转染组细胞活力和迁移能力均较对照组显著降低($P<0.05$),细胞中 IGF-1R 的 mRNA 和蛋白的表达也明显减少($P<0.05$);通过转染 IGF-1R 过表达质粒可显著逆转 miR-195 过表达对 U251 细胞增殖及迁移的抑制作用。**结论:**miR-195 可能通过下调 IGF-1R 的表达,进而抑制胶质母细胞瘤的增殖和迁移。

关键词:胶质母细胞瘤; MiR-195; 增殖; 迁移; IGF-1R

中图分类号:R-33; R739.41 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)20-3807-05

MiR-195 Inhibits the Proliferation and Migration of Glioblastoma Through Down-regulation the Expression of IGF-1R*

ZHOU Qi¹, LIU Hao², DU Yi-ming³, CHEN Xin³, WANG Xiao-xiong^{3Δ}

(1 Department of Scientific Research Management Office, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China; 2 Department of Critical Care Medicine, Second Hospital of Harbin, Harbin, Heilongjiang, 150090, China;

3 Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China.)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of miR-195 on the proliferation and migration of glioblastoma and to elucidate its molecular regulation mechanism. **Methods:** qRT-PCR was used to detect the expression of miR-195 in gliomas with different grades. After transfecting miR-195 into glioma U251 cells, qRT-PCR was used to verify the transfection efficiency, MTT and Scratch test were used to detect the proliferation and metastasis ability of U251 cells, and qRT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R). After overexpression of miR-195 by plasmid transfection, IGF-1R was overexpressed simultaneously, then the MTT and Scratch test were applied to detect the proliferation and metastasis ability of U251 cells. **Results:** The expression of miR-195 was gradually decreased with the increase of glioma grade. The expression of miR-195 was statistically significant between all grades of gliomas ($P<0.05$); After transfection of miR-195 to U251 cells for 24, 48 and 72 h in vitro, both of the cell viability and migration ability in transfected group were significantly lower than those in control group ($P<0.05$), and the expression of IGF-1R mRNA and protein were also decreased in transfected group ($P<0.05$); Transfection of IGF-1R overexpression plasmid significantly reversed the inhibitory effect of miR-195 overexpression on the proliferation and migration of U251 cells. **Conclusion:** miR-195 might inhibit the proliferation and migration of glioblastoma by down-regulating the expression of IGF-1R.

Key words: Glioblastoma; MiR-195; Proliferation; Metastasis; IGF-1R

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R739.41 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)20-3807-05

前言

胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)是中枢神经系统最常

见的恶性肿瘤^[1],对放、化疗极不敏感,预后非常差,中位总生存期仅为 16 个月左右^[2]。因此,亟需寻找到 GBM 生物标志物 and 有效治疗靶点,以促进早期诊断和改善 GBM 预后。

* 基金项目:黑龙江省卫计委科研项目(2016-021);中国博士后科学基金项目(2018M641847)

作者简介:周琪(1985-),女,硕士,助理研究员,主要研究方向:脑肿瘤与脑血管病的基础与临床研究,电话:18845166081,

E-mail:zhouqi67@163.com

Δ 通讯作者:王泉雄,男,博士,助理研究员,主要研究方向:脑肿瘤与脑血管病的基础与临床研究,

电话:15846506773, E-mail:captain_xiaoxiong.wang@yahoo.com

(收稿日期:2019-03-20 接受日期:2019-04-30)

目前,微小 RNA(microRNA,miR)作为 GBM 的诊断和治疗靶点备受关注,其为高度保守的、非编码 RNA 分子^[3],参与生物体几乎全部细胞过程的调节^[4],其表达异常也与各种类型癌症的发生和发展有关^[5]。近年来,越来越多的研究显示 miR-195 在肿瘤发生、发展中的作用^[6],且在胶质瘤中也发挥了一定作用^[7],但其对胶质瘤恶性程度的影响及其潜在的调节机制仍不完全清楚。本研究拟深入探索 miR-195 对 GBM 细胞增殖和迁移的影响,以期对 GBM 的靶向治疗提供新的临床依据与理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

细胞:人胶质母细胞瘤 U251 细胞购于赛百康生物技术公司。试剂及耗材:miR-195、AMO-195 购自苏州吉玛有限公司、IGF-1R 过表达质粒等购自上海生工有限责任公司;抗体均购自 Santa Cruz 生物技术公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 U251 细胞培养于含 10 %胎牛血清,1 %双抗的 DMEM 高糖培养液中,在恒温 37℃、5 %CO₂ 的细胞培养箱中培养。待细胞融合率达 80 %时进行传代,均选取处于对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 质粒转染 待细胞融合率达 60 %后,利用 X-treme 试剂(德国 Roche 公司)进行质粒转染,本研究主要将 miR-195、AMO-195 及 IGF-1R 过表达质粒等转入细胞中。

1.2.3 荧光实时定量 PCR 提取细胞 mRNA,逆转录 cDNA,配好反应体系后,置入 ABI7500 荧光定量 PCR 仪中进行 Real-time PCR 反应,使用 U6 作为 miRNA 定量的内参, β -actin 作为 mRNA 定量内参。反应条件:95℃ 10 min,95℃ 15 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,后 3 个温度呈 40 个循环。数据采用 2^{- $\Delta\Delta$} 法计算目的基因的相对含量。

1.2.4 Western blot 细胞处理后,加入裂解液(RIPA +1 %蛋白酶抑制剂)提取蛋白,用 BCA 试剂盒(中国碧云天公司)测定蛋白浓度,再用聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离目标蛋白质,最后在红外荧光扫描系统下扫描蛋白图像,并分析条带的光密度值。目标蛋白质抗体稀释浓度为:IGF-1R(1:1000),内参 β -actin(1:1000)。

1.2.5 MTT 实验 选对数生长期的细胞,以 5000 个/孔的密度种植于 96 孔板内。待细胞生长约达 70 %时,分别给予相应转染处理 24、48、72 小时后,每孔均加入 10 μ L 5 mg/mL MTT(美国 Sigma 公司),37℃ 孵育 4 小时后,轻轻吸取孔内液体,每孔避光加入 150 μ L DMSO,震荡 10 分钟后,用酶标仪于 490 nm 波长检测各孔所含吸光度值。

1.2.6 划痕实验 将细胞培养至完全汇合,用塑料划线器产生约 1 mm 宽的划痕,洗涤细胞,同时转染并在无血清培养基中培养。在划痕 0、24、48、72 小时后在显微镜下观察拍照。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计学分析。计量资料数据采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组均数比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 SNK 法(Student-Newman-Keuls),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-195 与胶质瘤恶性程度的相关性

为探究 miR-195 与胶质瘤恶性程度的相关性,我们首先在临床标本中检测了各级别胶质瘤中 miR-195 的表达,如图 1 所示,各级别胶质瘤中 miR-195 的表达差异具有统计学意义;随着胶质瘤级别的增加,miR-195 的表达逐渐降低,说明 miR-195 与胶质瘤恶性程度呈负相关性($P < 0.05$)。

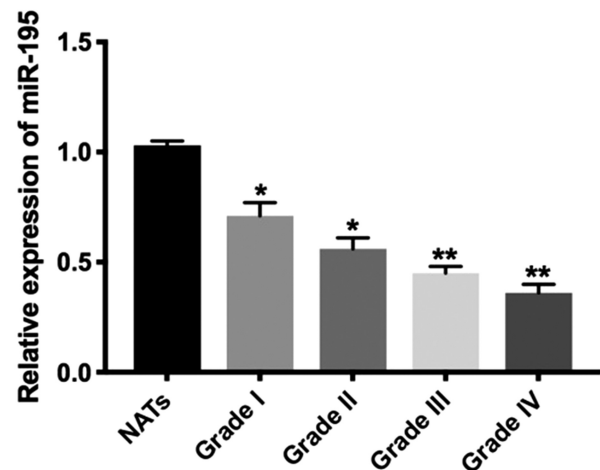


图 1 miR-195 在胶质瘤中的表达

Fig. 1 The expression of miR-195 in the glioma

注:平均值 $\pm$ SEM。n=3。*代表 $P < 0.05$,**代表 $P < 0.01$ 。

Note: Mean $\pm$ SEM. n=3. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.2 miR-195 抑制胶质母细胞瘤的增殖和迁移

因 miR-195 在 GBM 中表达降低,我们进一步检测了 miR-195 对 GBM 增殖和迁移的影响。我们将 NC、miR-195 和 miR-195 抑制剂(Amo-195)转入 U251 细胞中,MTT 检测结果显示:转染 miR-195 后 24 h、48 h 和 72 h,U251 细胞的细胞活力均较对照组显著降低($P < 0.05$),说明过表达 miR-195 可明显抑制 GBM 的细胞增殖(图 2A)。划痕实验结果显示:转染 miR-195 组 24 h、48 h 和 72 h 后,U251 细胞的迁移能力均相比于对照组显著降低($P < 0.05$),说明 miR-195 也可显著抑制 GBM 的细胞迁移(图 2B)。

2.3 miR-195 负向调控 IGF-1R 的表达

为进一步探索 miR-195 抑制 GBM 的增殖和迁移的机制,我们通过 TargetScan 预测到 miR-195 与胰岛素样生长因子受体 IGF-1R 的 3'UTR 具有互补结合区,初步推测 miR-195 可靶向抑制 IGF-1R。接下来,我们将 NC、miR-195 和 Amo-195 转入 U251 细胞,Real-time PCR 结果显示相比于 NC,转染 miR-195 组的 IGF-1R mRNA 表达显著降低,同时转染 Amo-195 组的 IGF-1R mRNA 表达水平有所恢复(图 3A);进一步通过 western blot 检测,发现与 NC 比,miR-195 过表达可显著降低 IGF-1R 的蛋白表达,同时转染 Amo-195 可明显恢复 IGF-1R 的表达(图 3B)。这些结果提示 miR-195 可负性调控 IGF-1R 的表达。

2.4 miR-195 通过靶向 IGF-1R 的表达调控胶质母细胞瘤的增殖和迁移

既然 miR-195 能够调控 IGF-1R,又能调节 GBM 的增殖和

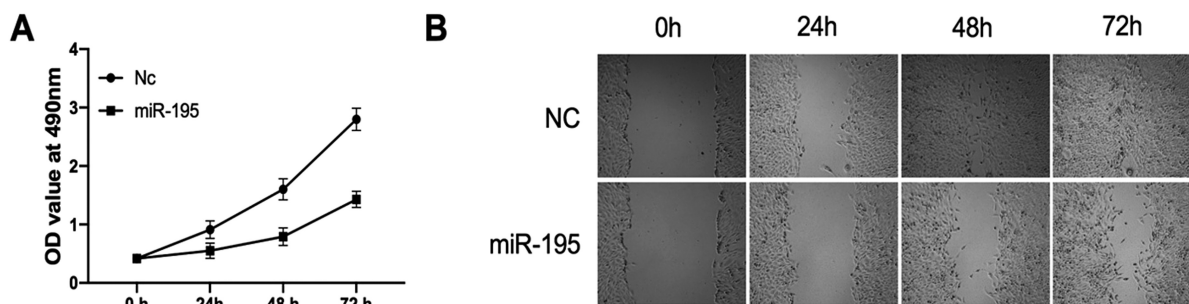


图2 miR-195 对 U251 细胞增殖和迁移的影响

Fig. 2 The effects of miR-195 on the proliferation and migration of U251 cells

注:(A)转染 miR-195 后 24、48、72 小时,MTT 实验检测 U251 细胞存活率。(B)划痕实验中,转染 NC 或 miR-195 组 U251 细胞的代表性图像,0 小时显示初始划痕。(× 200)

Note: (A) U251 were transfected with miR-195 for 24, 48 and 72 h. Cell viability was measured by MTT assay. (B) Representative Images of U251 cells transfected with NC or miR-195 showing initial scratch wounds at 0h.(× 200)

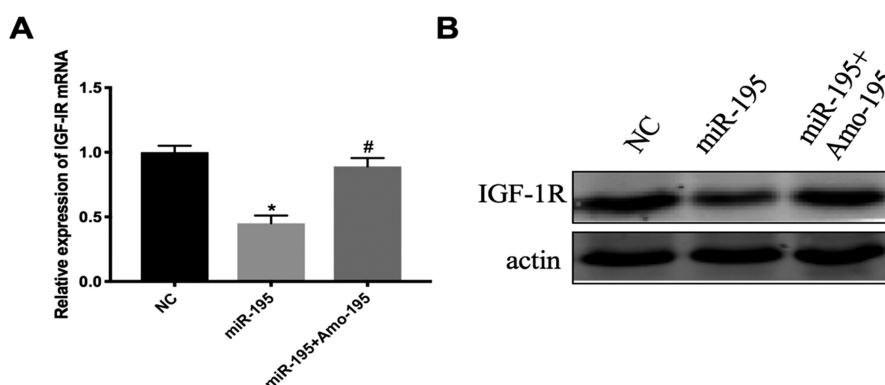


图3 miR-195 靶向调控 IGF-1R 的表达

Fig. 3 miR-195 targets the expression of IGF-1R

注:转染 NC,miR-195 或 miR-195+Amo-195 组 U251 细胞中 IGF-1R 的 mRNA(A)和蛋白(B)表达。平均值± SEM。n=3。

* 代表与 NC 组相比 $P<0.01$,# 代表与 miR-195 组相比 $P<0.05$ 。

Note: The mRNA (A) and protein (B) expression of IGF-1R in U251 cells transfected with NC, miR-195 or miR-195+Amo-195. Mean ± SEM. n=3.

* $P<0.01$ vs NC, # $P<0.05$ vs miR-195.

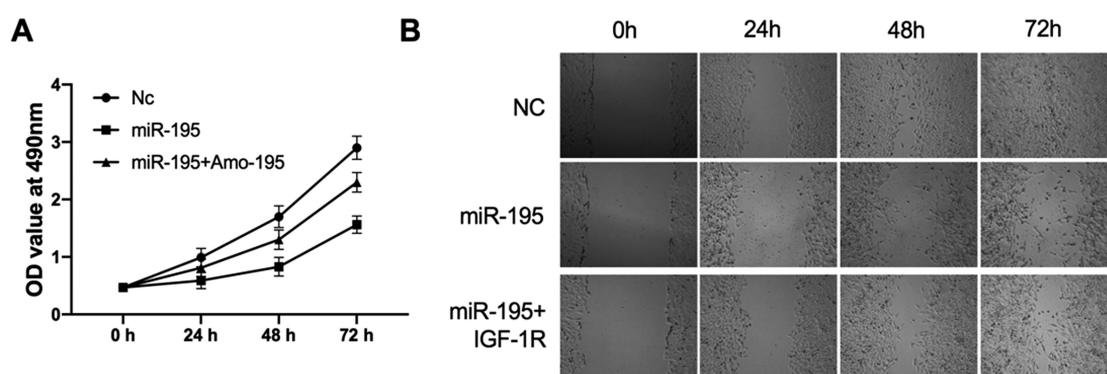


图4 IGF-1R 的过表达显著逆转 miR-195 对 U251 细胞增殖和迁移的影响

Fig. 4 Overexpression of IGF-1R abrogates the effect of miR-195 on U251 cells proliferation and migration

注:在转染 miR-195 后,用 IGF-1R 重组质粒共转染 U251 细胞 24 小时和 48 小时。(A)MTT 实验评估细胞增殖能力;(B)伤口愈合测定评估细胞迁移能力。(× 200)

Note: U251 cells were co-transfected with IGF-1R recombinant plasmid after transfecting miR-195 for 24 h and 48 h. (A) Cell viability was measured by MTT assay. (B) Cell migration capability was evaluated using Wound Healing Assay. (× 200)

迁移,那么 IGF-1R 是否是 miR-195 影响 GBM 增殖和迁移的关键分子呢?为验证这一想法,我们在过表达 U251 细胞内的

miR-195 后,转入 IGF-1R 的过表达质粒,再检测 U251 细胞的增殖和迁移的能力。结果显示过表达 miR-195 可以显著抑制

U251 细胞的增殖和迁移;而过表达 IGF-1R 后可逆转上述过程(图 4)。这些结果提示 miR-195 可能通过调控 IGF-1R 参与调控 GBM 的增殖和迁移。

3 讨论

胶质瘤是成人最常见的原发性颅内肿瘤^[1],世界卫生组织(WHO)根据组织学特征将其分为 I、II、III 和 IV 级^[6]。其中,IV 级胶质瘤又被称为胶质母细胞瘤 GBM,是恶性程度最高的胶质瘤。虽然随着显微神经外科技术和手术水平的提高以及术后放、化疗的应用,GBM 的五年存活率仍然很低^[9]。因此,积极寻求新的生物治疗靶点已成为近些年研究的重点和热点。近年来,microRNAs 作为肿瘤的抑癌因子或促癌因子的研究在全球范围内引起了极大的兴趣,几乎所有类型肿瘤都具有异常的 microRNAs 表达模式^[10]。有学者报道 miR-195 能广泛抑制多种肿瘤的细胞癌变过程^[6],也可抑制胶质瘤的生长和增殖^[11]。然而,截至目前,miR-195 的表达与胶质瘤恶性程度的关系、以及其对 GBM 的调控机制尚不明确。

大量证据显示 microRNA 在多种疾病进展中的发挥重要作用,几乎参与所有关键细胞过程中基因表达的转录后调控,如细胞增殖、分化、血管生成、迁移和细胞凋亡^[4]。其中,miR-195 属于 miR-15/107 家族成员之一,该家族广泛参与调节细胞分裂、凋亡、代谢、应激反应和血管生成等生理和病理过程^[12,13]。有研究报道 miR-195 在心脑血管疾病中起到保护作用,而在多种肿瘤中起到抑制作用,说明其不同疾病中发挥不同的作用^[14-16]。在肿瘤中,学者们发现 miR-195 广泛参与多种肿瘤的细胞癌变过程^[6]。例如,Ding 等证实 miR-195 通过直接靶向 IKK α 和 TAB3,降解多种 NF- κ B 下游效应物来抑制肝癌的发展^[17];Yongchun Z 等发现 miR-195 因其靶向 MYB 抑制 NSCLC 细胞增殖、迁移和侵袭而被用作肿瘤抑制剂^[18]。同时,胶质瘤相关研究表明在 GBM 患者中,miR-195 的表达相对较高的患者其总生存期越长^[19];上调 miR-195 可显著降低胶质瘤组织的增殖,阻滞细胞周期,抑制细胞的侵袭性^[20,21]。而我们研究得出的结论与此一致,在此基础上我们进一步通过实验还发现级别越高的胶质瘤细胞中其 miR-195 表达越低,提示 miR-195 的表达和临床胶质瘤标本恶性程度呈负相关,说明 miR-195 可参与到胶质瘤的恶性进展过程中。

研究表明 microRNA 是通过在转录后水平沉默或降解 mRNA 来调节基因表达,进而影响细胞相应生物学功能。基于此,我们在探索了 miR-195 调控胶质瘤的机制,首先通过在线 Targetscan 数据库检测发现 miR-195 与胰岛素样生长因子受体 IGF-1R 的 mRNA 具有靶向结合位点,推测其可能调控 IGF-1R 的表达,并通过 IGF-1R 影响 GBM 进展。胰岛素样生长因子受体家族在葡萄糖、蛋白质和脂质代谢中起着充分表征作用,从而参与能量平衡和细胞生长的调节^[22]。IGF-1R 是一种跨膜蛋白,其表达上调已经在许多癌症中被发现^[23]。据报道,IGF-1R 可通过激活 MAPK 激酶和 PI3K/AKT 途径发挥其作用^[24],且在胶质瘤等头部癌症中一些包括 CCND1 和 MMP-2/MMP-9 等在内的与细胞周期、入侵有关的基因均受 IGF-1R 的调控^[25,26]。研究显示胶质瘤的进展与 IGF-1R 表达水平升高有关,其在胶质瘤发生过程中对细胞增殖和存活发挥着关键的作用^[27,28]。且有

研究报道,在胶质瘤中,应用 IGF-1R 拮抗剂可以保护胶质瘤细胞免于凋亡^[23],这表明抑制 IGF-1R 可能是一种有效的抑制胶质瘤的方法。最近,有研究报道 miR-379 和 miR-182 等 miRNA 可以负向调节 IGF-1R,抑制非小细胞肺癌等肿瘤的进展^[29,30],这些研究均提示靶向 IGF-1R 的 microRNA 可能是癌症的潜在治疗剂。在本研究中,我们进一步证实 IGF-1R 为 miR-195 的直接靶基因,miR-195 可负向调节 GBM 中 IGF-1R 的 mRNA 和蛋白表达,在给予 miR-195 的同时给予 IGF-1R,可阻断 miR-195 对 GBM 增殖和迁移的抑制,说明 IGF-1R 确实参与了 miR-195 介导的 GBM 恶性表型的抑制过程。本研究也是首次描述 miR-195 通过调节 IGF-1R 来调控 GBM 的增殖和迁移,进一步扩展了 miR-195 的调控网络。

综上所述,miR-195 可能通过下调 IGF-1R 的表达,进而抑制胶质母细胞瘤的增殖和迁移。鉴于 miR-195 参与癌症发展的机制复杂,还有待于以后系统地加以探索研讨,以为临床治疗提供有力的基础依据。

参考文献(References)

- [1] Alexander BM, TF Cloughesy. Adult Glioblastoma [J]. J Clin Oncol. 2017, 35(21): 2402-2409
- [2] Jayamanne D, H Wheeler, R Cook, et al. Survival improvements with adjuvant therapy in patients with glioblastoma[J]. ANZ J Surg, 2018, 88(3): 196-201
- [3] Mohr AM, JL Mott. Overview of microRNA biology [J]. Semin Liver Dis, 2015, 35(1): 3-11
- [4] Zhao C, Y Zhang, AS Popel. Mechanistic Computational Models of MicroRNA-Mediated Signaling Networks in Human Diseases [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2)
- [5] Biswas S. MicroRNAs as Therapeutic Agents: The Future of the Battle Against Cancer [J]. Curr Top Med Chem, 2018, 18(30): 2544-2554
- [6] Yu W, X Liang, X Li, et al. MicroRNA-195: a review of its role in cancers [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 7109-7123
- [7] Jia Y, Y Tian, S An, et al. Effects of microRNA-195 on the Prognosis of Glioma Patients and the Proliferation and Apoptosis of Human Glioma Cells [J]. Pathol Oncol Res, 2019
- [8] Wesseling P, D Capper. WHO 2016 Classification of gliomas [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2018, 44(2): 139-150
- [9] Noch EK, R Ramakrishna, R Magge. Challenges in the Treatment of Glioblastoma: Multisystem Mechanisms of Therapeutic Resistance [J]. World Neurosurg, 2018, 116: 505-517
- [10] Shah MY, A Ferrajoli, AK Sood, et al. microRNA Therapeutics in Cancer - An Emerging Concept [J]. EBioMedicine, 2016, 12: 34-42
- [11] Hui W, L Yuntao, L Lun, et al. MicroRNA-195 inhibits the proliferation of human glioma cells by directly targeting cyclin D1 and cyclin E1 [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54932
- [12] He JF, YM Luo, XH Wan, et al. Biogenesis of MiRNA-195 and its role in biogenesis, the cell cycle, and apoptosis [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2011, 25(6): 404-408
- [13] Finnerty JR, WX Wang, SS Hebert, et al. The miR-15/107 group of microRNA genes: evolutionary biology, cellular functions, and roles in human diseases [J]. J Mol Biol, 2010, 402(3): 491-509
- [14] Chen X, XM Jiang, LJ Zhao, et al. MicroRNA-195 prevents dendritic degeneration and neuron death in rats following chronic brain

- hypoperfusion[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(6): e2850
- [15] Wang Y, X Zhang, C Zou, et al. miR-195 inhibits tumor growth and angiogenesis through modulating IRS1 in breast cancerl [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 8095-101
- [16] Li B, S Wang, S Wang. MiR-195 suppresses colon cancer proliferation and metastasis by targeting WNT3A1 [J]. *Mol Genet Genomics*, 2018, 293(5): 1245-1253
- [17] Ding J, S Huang, Y Wang, et al. Genome-wide screening reveals that miR-195 targets the TNF-alpha/NF-kappaB pathway by down-regulating IkappaB kinase alpha and TAB3 in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 58(2): 654-666
- [18] Yongchun Z, T Linwei, W Xicai, et al. MicroRNA-195 inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation, migration and invasion by targeting MYB1[J]. *Cancer Lett*, 2014, 347(1): 65-74
- [19] Lakomy R, J Sana, S Hankeova, et al. MiR-195, miR-196b, miR-181c, miR-21 expression levels and O-6-methylguanine-DNA methyltransferase methylation status are associated with clinical outcome in glioblastoma patientsl [J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(12): 2186-2190
- [20] Deng H, Y Guo, H Song, et al. MicroRNA-195 and microRNA-378 mediate tumor growth suppression by epigenetical regulation in gastric cancerl[J]. *Gene*, 2013, 518(2): 351-359
- [21] Zhang QQ, H Xu, MB Huang, et al. MicroRNA-195 plays a tumor-suppressor role in human glioblastoma cells by targeting signaling pathways involved in cellular proliferation and invasionl[J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(3): 278-287
- [22] Wang Y, V Buggia-Prevot, ME Zavorka, et al. Overexpression of the Insulin-Like Growth Factor II Receptor Increases beta-Amyloid Production and Affects Cell Viabilityl [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(14): 2368-2384
- [23] Zhou X, X Zhao, X Li, et al. PQ401, an IGF-1R inhibitor, induces apoptosis and inhibits growth, proliferation and migration of glioma cellsl[J]. *J Chemother*, 2016, 28(1): 44-49
- [24] Dai C, N Li, G Song, et al. Insulin-like growth factor 1 regulates growth of endometrial carcinoma through PI3k signaling pathway in insulin-resistant type 2 diabetesl [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(8): 3329-3336
- [25] Oh SH, JH Kang, J Kyu Woo, et al. A multiplicity of anti-invasive effects of farnesyl transferase inhibitor SCH66336 in human head and neck cancerl[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(3): 537-547
- [26] Jones RA, CI Campbell, JJ Petrik, et al. Characterization of a novel primary mammary tumor cell line reveals that cyclin D1 is regulated by the type I insulin-like growth factor receptorl [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(5): 819-828
- [27] Maris C, N D'Haene, AL Trepant, et al. IGF-1R: a new prognostic biomarker for human glioblastoma [J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(5): 729-737
- [28] Carrasco-Garcia E, I Martinez-Lacaci, L Mayor-Lopez, et al. PDGFR and IGF-1R Inhibitors Induce a G2/M Arrest and Subsequent Cell Death in Human Glioblastoma Cell Linesl [J]. *Cells*, 2018, 7 (9): pii: E131
- [29] Zhou F, L Nie, D Feng, et al. MicroRNA-379 acts as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by targeting the IGF1R-mediated AKT and ERK pathwaysl [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(3): 1857-1866
- [30] Wang X, H Li, L Cui, et al. MicroRNA-182 suppresses clear cell renal cell carcinoma migration and invasion by targeting IGF1Rl[J]. *Neoplasma*, 2016, 63(5): 717-725

(上接第 3848 页)

- [16] Grancini V, Trombetta M, Lunati M E, et al. Contribution of beta-cell dysfunction and insulin resistance to cirrhosis-associated diabetes: Role of severity of liver disease[J]. *J Hepatol*, 2015, 63(6): 1484-1490
- [17] Orsi E, Grancini V, Menini S, et al. Hepatogenous diabetes: Is it time to separate it from type 2 diabetes?[J]. *Liver Int*, 2017, 37(7): 950-962
- [18] Verhoeven Cornelia J, Farid Waqar R R, De Jonge Jeroen, et al. Biomarkers to assess graft quality during conventional and machine preservation in liver transplantation [J]. *Journal of Hepatology*, 2014, 61(3): 672-684
- [19] Robertson F P, Bessell P R, Diaz-Nieto R, et al. High serum Aspartate transaminase levels on day 3 postliver transplantation correlates with graft and patient survival and would be a valid surrogate for outcome in liver transplantation clinical trials [J]. *Transpl Int*, 2016, 29(3): 323-330
- [20] Kuo H T, Sampaio M S, Ye X, et al. Risk factors for new-onset diabetes mellitus in adult liver transplant recipients, an analysis of the Organ Procurement and Transplant Network/United Network for Organ Sharing database[J]. *Transplantation*, 2010, 89(9): 1134-1140
- [21] Liu C, Wang X, Chen Z, et al. Hepatic ischemia-reperfusion induces insulin resistance via down-regulation during the early steps in insulin signaling in rats[J]. *Transplant Proc*, 2008, 40(10): 3330-3334
- [22] Subramanian S, Trence D L. Immunosuppressive agents: effects on glucose and lipid metabolism [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2007, 36(4): 891-905; vii
- [23] Li D W, Lu T F, Hua X W, et al. Risk factors for new onset diabetes mellitus after liver transplantation: A meta-analysis [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(20): 6329-6340
- [24] Watt K. D, Pedersen R A, Kremers W K., et al. Evolution of causes and risk factors for mortality post-liver transplant: results of the NIDDK long-term follow-up study[J]. *Am J Transplant*, 2010, 10(6): 1420-1427