

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.15.007

Kin17 在非小细胞肺癌侵袭转移中的作用及其机制研究 *

吕俊宏¹ 彭盘俐² 韦文姜³ 林少欢¹ 曾 涛⁴

(1 广东省第二人民医院心胸外科 广东 广州 510037; 2 广东省第二人民医院肿瘤二科 广东 广州 510037;

3 广东省第二人民医院介入科 广东 广州 510037; 4 广东医科大学检验系 广东 湛江 524023)

摘要 目的:探究核蛋白 17(Kin17)在非小细胞肺癌侵袭转移中的作用及其机制研究。**方法:**采用核糖核苷酸测序(RNA-seq)技术比较 A549-KD 组细胞与 A549-NC 组细胞中的信使 RNA(mRNA)表达谱,从中筛选出表达差异较大的基因。采用蛋白免疫印迹(Western blot)方法对 A549-NC 组、A549-KD 组和 A549-KD+ 信号转导与转录激活因子 3(STAT3)组细胞中 Kin17、STAT3、磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、碱性螺旋-环-螺旋转录因子(Twist)和转录因子(Snail)表达水平进行检测,采用划痕实验检测细胞侵袭能力,采用 Transwell 实验检测细胞迁移能力,采用免疫荧光实验检测 Kin17 和 STAT3 蛋白在细胞中的定位情况。**结果:**与 A549-NC 组相比,A549-KD 组的 STAT3 表达水平下降($P<0.05$)。A549-KD 组 E-cadherin 表达水平高于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组,而 Vimentin、Twist 和 Snail 表达水平低于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组($P<0.05$)。A549-KD 组划痕愈合率、细胞迁移率低于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组($P<0.05$)。Kin17 和 STAT3 蛋白共定位于细胞核中。**结论:**在非小细胞肺癌中 Kin17 可能通过促进 STAT3 表达水平以促进非小细胞肺癌细胞上皮-间质转化(EMT)、侵袭和转移,Kin17 及 STAT3 在非小细胞肺癌患者诊断和治疗中具有一定临床价值。

关键词:非小细胞肺癌;侵袭;转移;核蛋白 17;信号转导与转录激活因子 3;上皮-间质转化

中图分类号:R-33;R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)15-2838-05

The Role and Mechanism of Kin17 in Invasion and Metastasis of Non-small Cell Lung Cancer*

LV Jun-hong¹, PENG Pan-li², WEI Wen-jiang³, LIN Shao-huan¹, ZENG Tao⁴

(1 Department of Cardio-Thoracic Surgery, The Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong, 510037, China; 2 Second Department of Oncology, The Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong, 510037, China; 3 Department of Interventional, The Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong, 510037, China; 4 Department of Laboratory, Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong, 524023, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role and mechanism of Kin17 in invasion and metastasis of non-small cell lung cancer.

Methods: The Messenger RNA (mRNA) expression profiles of A549-KD cells and A549-NC cells were compared by Ribonucleotide sequencing (RNA-seq), and the genes with different expressions were screened out. Expression level of Kin17, activator of transcription 3 (STAT3), glycerol phosphate aldehyde dehydrogenase (GAPDH), E-cadherin (E-cadherin), Vimentin (Vimentin), Basic helix loop helix transcription factor (Twist) and transcription factor (Snail) in A549-NC group, the A549-KD group and A549-KD+STAT3 group was tested by Western blot (Western blot). Cell invasive ability of each group was detected by scratch experiment. Cell migration ability of each group was detected by Transwell experiment. The position of Kin17 and STAT3 was detected by immunofluorescence experiment.

Results: Compared with A549-NC group, STAT3 expression in A549-KD group decreased ($P<0.05$). The expression level of E-cadherin in A549-KD group was higher than that in A549-NC group and A549-KD+STAT3 group, while the expression levels of vimentin, twist and snail were lower than that in A549-NC group and a549-kd + STAT3 group ($P<0.05$). The scratch healing rate and cell migration rate of a549-kd group were lower than those of a549-nc group and a549-kd + STAT3 group ($P<0.05$). Kin17 and STAT3 are Co located in the nucleus.

Conclusion: Kin17 may promote EMT, invasion and metastasis of NSCLC cells by promoting the expression level of STAT3 in NSCLC. Kin17 and STAT3 have certain clinical value in the diagnosis and treatment of NSCLC patients.

Key words: Non-small cell lung cancer; Attacks; Transfer; nuclear immunological kinship to Rec A Protein; Signal transduction and transcriptional activator 3; Epithelial-mesenchymal transition

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)15-2838-05

* 基金项目:广东省医学科研基金项目(20191119201823122)

作者简介:吕俊宏(1979-),男,硕士,副主任医师,研究方向:肺癌诊治,E-mail:13533921920@139.com

(收稿日期:2020-02-23 接受日期:2020-03-18)

前言

2018 年全球肺癌的新发病例数约为 209 万人, 占恶性肿瘤新发病例数的 11.6%。而死亡病例数约为 176 万人, 占恶性肿瘤死亡病例数的 18.4%。肺癌的发病率和死亡率均排在恶性肿瘤的首位, 严重影响人们的生命健康^[1,2]。肺癌中 85% 以上的癌症亚型为非小细胞肺癌, 容易产生肺转移、脑转移和骨转移, 并且患者的预后较差^[3,4]。核蛋白 17 (nuclear immunological kinship to Rec A Protein, Kin17) 参与 DNA 复制和修复过程, 正常组织细胞中表达水平较低^[5], 而在乳腺癌和宫颈癌患者中 Kin17 的表达水平明显上调^[6,7], 并已有研究显示在非小细胞肺癌患者中 Kin17 表达水平明显上调, 且与患者的不良预后密切相关^[8]。目前对于 Kin17 在非小细胞肺癌中侵袭转移中的作用及其分子机制仍然缺乏了解, 本研究使用 siRNA 在 A549 非小细胞肺癌细胞中对 Kin17 表达进行敲降, 并进一步通过核糖核苷酸测序(Ribonucleotide sequencing, RNA-seq)、划痕实验和细胞迁移侵袭(Transwell)实验验证 Kin17 功能, 旨在探讨 Kin17 在非小细胞肺癌侵袭转移中的作用及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞、试剂和仪器

肺癌细胞 A549 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。DMEM 高糖培养基(货号: SH30022.01B)和胎牛血清(货号: 30070.03)均购自美国 Hyclone 生物科技有限公司, Kin17(货号 ab3747)、信号转导与转录激活因子 3(Signal transduction and transcriptional activator 3, STAT3)(货号 ab76315)、磷酸甘油醛脱氢酶(reduced glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(货号 ab181602)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)(货号 ab194982)、波形蛋白(Vimentin)(货号 ab92547)、碱性螺旋-环-螺旋转录因子(Twist)(货号 ab187008)和转录因子(Snail)(货号 ab229701)抗体均购自美国 Abcam 生物科技有限公司。Lipofectamine3000 脂质体转染试剂盒(货号: L3000001)购自美国赛默飞世尔科技有限公司。激光共聚焦显微镜(型号: LSM800)购自美国蔡司仪器科技有限公司。

1.2 siRNA 及质粒转染肺癌细胞

转染前 1d 将 A549 细胞铺种于 6 孔板中, 8×10^5 个细胞/孔, 共铺种 9 孔, 每孔培养基为 2 mL。铺种细胞 16h 后进行转染, 细胞分为 A549-NC 组、A549-KD 组和 A549-KD+STAT3 组, 每组转染 3 孔。A549-NC 组、A549-KD 组和 A549-KD+STAT3 组在加入脂质体试剂的基础上, 分别加入 20 pmol 阴性对照 NC-siRNA、Kin17-siRNA 和 Kin17-siRNA+STAT3 质粒, 转染过程严格按照 Lipofectamine3000 脂质体转染试剂盒进行。转染 4h 后更换培养基, 培养至 48h-72h 可进行后续检测。

1.3 RNA-seq 检测

收集 1×10^6 个 A549 细胞, 加入 500 μ L 的 Trizol 溶液, 充分震荡混匀, 冰上裂解细胞 30 min。加入 200 μ L 的氯仿, 震荡混匀后静置 5 min。12000 r/min, 离心 20 min。将上清液转移至另一洁净离心管中, 加入 500 μ L 异丙醇, 充分震荡后置于 -20℃ 冰箱中放置 1h。12000 r/min, 离心 20 min。去除上清液, 加入 500 μ L 75% 的乙醇冲洗沉淀 3 次, 5000 r/min 离心 3min。将

多余的 75% 的乙醇吸尽, 置于室温下干燥。加入 50 μ L 蒸馏水溶解后冻存于 -80℃ 冰箱中。将提取的 RNA 样本寄送至苏州金唯智生物科技有限公司进行 RNA 高通量测序, A549-NC 组和 A549-KD 组各寄送 3 个平行样品。根据 RNA-seq 测序结果绘制热图进行可视化分析。

1.4 肺癌细胞中蛋白表达的蛋白免疫印迹(Western blot)检测

收集肺癌细胞于离心管中, 5000 rpm 离心 10 min 后弃去上清液, 加入细胞裂解液并用移液器反复吹打重悬细胞, 冰上裂解 30 min 后 12000 rpm 离心 10 min。将上清液转移至另一干净离心管中, 采用二喹啉甲酸蛋白定量试剂盒测定上清液中蛋白浓度。行 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 采用湿转法将蛋白转至聚偏二氟乙烯(Polyvinylidene Fluoride, PVDF)膜上, 将 PVDF 膜浸没于 5% 脱脂奶粉中封闭 1h。PBST 冲洗 PVDF 膜 3 次后根据蛋白大小裁剪 PVDF 膜, 在蛋白对应位置条带上滴加一抗, 4℃ 孵育过夜。次日弃去一抗, 使用 PBS-吐温缓冲液(PBS-tween buffer, PBST)冲洗 3 次 PVDF 膜, 并在膜上滴加二抗(1:5000)稀释, 室温孵育 1h, PBST 冲洗 3 次后。ECL 化学发光显色试剂盒显影。以显影条带的灰度值作为蛋白的蛋白表达量, 实验进行 3 次重复。

1.5 划痕实验检测肺癌细胞的侵袭能力

实验前 1d 将 A549 细胞铺种于 6 孔板中, 1.5×10^6 个细胞/孔, A549-NC 组、A549-KD 组和 A549-KD+STAT3 组三组各铺 3 个孔。实验当天使用枪头于 6 孔板中做 "+" 字划痕, 使用 PBS 缓冲液将脱落细胞冲洗干净后, 拍照并记录划痕的宽度, 加入 2 mL 全培养基进行培养。24h 后, 拍照并记录划痕的宽度。划痕愈合率 = (0h 划痕宽度 - 24h 划痕宽度) / 0h 划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.6 Transwell 实验检测肺癌细胞的迁移能力

Transwell 小室中加入 2×10^6 个 A549 细胞, 各组细胞设置 3 个复孔。细胞转染后培养 72h。24 孔板加入 10% 结晶紫溶液, 用棉签将小室上层的细胞刮除干净后将小室置于 10% 结晶紫溶液中反应 20 min, 取出小室并用 PBS 冲洗 3 次, 晾干后于倒置显微镜下拍照。每孔小室加入 30% 的醋酸, 室温反应 30 min, 充分震荡后于 570 nm 波长下读取吸光值。细胞迁移率 = 570 nm 吸光值 / 10.89 $\times 100\%$, 其中 10.89 为野生型 A549 细胞在相同实验条件下测得的 570 nm 波长下吸光值。

1.7 免疫荧光共定位分析

实验前 2 d 于免疫荧光小室中加入 2×10^4 个 A549 细胞。实验当天将培养基吸出, 加入甲醇固定细胞 2 min。PBS 冲洗三次, 每次 5 min。使用 2% BSA 封片处理 1 h, 吸出 2% BSA 后, PBS 冲洗三次, 每次 5 min。加入 300 μ L 的 Kin17 抗体, 4℃ 孵育 2 h。吸出 Kin17 抗体, PBS 冲洗三次, 每次 5 min。加入带绿色荧光的异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)-二抗, 4℃ 孵育 2 h。吸出二抗, PBS 冲洗三次, 每次 5 min。加入 300 μ L 的 STAT3 抗体, 4℃ 孵育 2 h。吸出 STAT3 抗体, PBS 冲洗三次, 每次 5 min。加入带红色荧光的四乙基若丹明异硫氰酸盐(tetraethyl rhodamine isothiocyanate, TRITC)-二抗, 4℃ 孵育 2 h。吸出二抗, PBS 冲洗三次, 每次 5 min。最后使用核染料二氨基苯基吡啶(diaminophenylindoles, DAPI)对细胞核进行染色, 染色 5 min, PBS 冲洗三次, 每次 5 min。置于激光共聚焦显

显微镜下观察并拍照。

1.8 统计学分析

采用 SPSS20.0 对数据进行统计学分析。计量资料采用平均值±标准差表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,三组间比较则采用方差分析。采用 R 语言软件对 RNA-seq 结果进行可视化处理, $P<0.05$ 则表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 A549-NC 组和 A549-KD 组细胞中差异表达基因分析

RNA-seq 结果显示,A549-NC 组和 A549-KD 组细胞中 STAT3、细胞外信号调节激酶(Extracellular Signal Regulated Kinase, ERK)、Janus 激酶(Janus kinase, JAK)和丝裂原激活的蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)等基因的表

达水平比较,组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。选择 A549-NC 组和 A549-KD 组细胞表达差异最大的 STAT3 基因作为 Kin17 的靶基因并进行后续实验,其中 A549-KD 组细胞中 STAT3 表达水平为 1.04 ± 0.09 ,低于 A549-NC 组的 10.69 ± 0.47 ,差异有统计学意义($t=20.541, P=0.000$)。

2.2 细胞中上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关蛋白表达水平比较

A549-KD 组 E-cadherin 表达水平高于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组,而 Vimentin、Twist 和 Snail 表达水平低于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组($P<0.05$)。A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组的 E-cadherin、Vimentin、Twist、Snail 和 GAPDH 表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 细胞中 EMT 相关蛋白表达水平比较

Table 1 Comparison of EMT related protein expression levels in cells

Groups	E-cadherin	Vimentin	Twist	Snail	GAPDH
A549-NC group	1.47±0.35	10.31±0.67	7.64±0.39	8.18±0.41	10.08±0.61
A549-KD group	8.43±0.45 ^a	1.28±0.34 ^a	0.99±0.22 ^a	1.16±0.26 ^a	10.05±0.55
A549-KD+STAT3 group	1.50±0.26 ^b	10.12±0.78 ^b	7.49±0.29 ^b	8.46±0.31 ^b	10.09±0.56
F	65.013	71.291	57.859	48.781	0.098
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.581

Note: Compared with A549-NC group, ^a $P<0.05$; Compared with A549-KD group, ^b $P<0.05$.

2.3 细胞的划痕宽度和划痕愈合率比较

三组细胞 0h 划痕宽度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。A549-KD 组 24h 划痕宽度大于 A549-NC 组和 A549-KD+

STAT3 组,划痕愈合率低于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 细胞的划痕宽度和划痕愈合率比较

Table 2 Comparison of scratch width and scratch healing rate of cells

Groups	0h scratch width(μm)	24h scratch width(μm)	scratch healing rate(%)
A549-NC group	10.21±1.85	1.85±0.31	81.27±2.71
A549-KD group	10.45±1.76	7.23±1.59 ^a	29.49±1.85 ^a
A549-KD+STAT3 group	10.35±1.80	1.93±0.48 ^b	80.59±2.44 ^b
F	0.249	8.137	9.814
P	0.815	0.000	0.000

Note: Compared with A549-NC group, ^a $P<0.05$; Compared with A549-KD group, ^b $P<0.05$.

2.4 细胞迁移率比较

A549-KD 组细胞迁移率低于 A549-NC 组和 A549-KD+STAT3 组($P<0.05$)。见表 3。

2.5 Kin17 和 STAT3 蛋白在细胞内定位情况分析

免疫荧光结果显示 Kin17 和 STAT3 蛋白存在相互作用,并且共定位于细胞核内,见图 1。

3 讨论

近年来非小细胞肺癌的发病率和死亡率逐年攀升,对人们的生命健康和日常生活造成严重影响^[9]。非小细胞肺癌细胞的侵袭转移对患者预后的影响较大^[10],因此寻找与非小细胞肺癌

表 3 细胞的细胞迁移率比较

Table 3 Comparison of cell mobility

Groups	Cell mobility(%)
A549-NC group	75.62±2.35 ^a
A549-KD group	21.84±1.64
A549-KD+STAT3 group	74.89±2.26 ^a
F	12.115
P	0.000

Note: Compared with A549-KD group, ^a $P<0.05$.

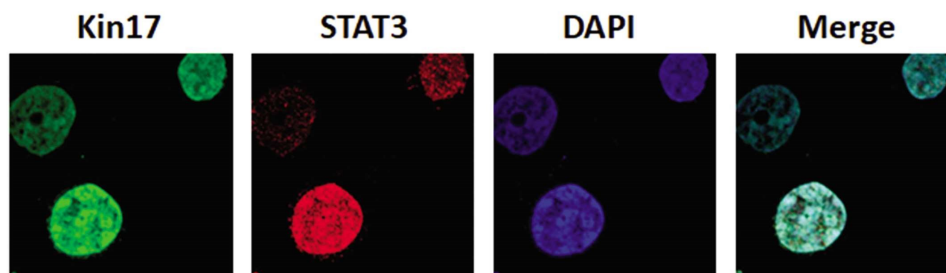


图1 Kin17 和 STAT3 蛋白的免疫荧光结果

Fig. 1 Immunofluorescence results of Kin17 and STAT3 proteins

转移相关的潜在治疗靶点具有重要意义。Kin17 主要分布于细胞核中,已有的研究报道显示 Kin17 是一种 DNA/RNA 结合蛋白,参与基因的转录调控^[1]。同时,Le MX 等人^[12]的研究发现 Kin17 在 DNA 的损伤修复过程中发挥重要作用,Kin17 能够通过促进同源末端重组修复来修复断裂的双链 DNA^[13]。已有的研究报道显示 Kin17 主要起到促癌基因的作用,能够促进肿瘤的增殖和转移^[14,15]。

本研究通过 RNA-seq 实验和 Western blot 实验发现 A549 细胞中敲降 Kin17 会引起 STAT3 基因表达水平的下调,实验结果表明在 A549 细胞中 STAT3 是 Kin17 的下游靶基因。分析其原因可能是由于 Kin17 在肿瘤转移中起到重要作用,而已有的研究报道显示 STAT3 也与肿瘤转移密切相关^[16,17],因此在非小细胞肺癌转移过程中,Kin17 和 STAT3 起到协同促进肿瘤转移的作用。进一步研究结果发现敲降 Kin17 后 E-cadherin 上调,而 Vimentin、Twist 和 Snail 下调,在敲降 Kin17 后过表达 STAT3 使得 EMT 相关蛋白的表达纠正到未敲降前水平,该实验结果表明敲降 Kin17 会抑制非小细胞肺癌细胞发生 EMT,过表达 STAT3 能够纠正 Kin17 敲降对 EMT 的抑制作用,即 Kin17 可能是通过上调 STAT3 表达来促进非小细胞肺癌细胞的 EMT。分析其原因可能是由于 STAT3 的表达受到多种分子调控,已有的研究报道显示 STAT3 基因的转录受到受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase,RTK) 和同源转录因子 3 (DLX3) 等分子的调节^[18-20],Kin17 可能与 RTK 和 DLX3 分子结合,进而共同调节 STAT3 基因的转录^[21]。而 STAT3 在肿瘤 EMT 过程中发挥重要作用,如 Wu C 等人^[22]及 Xiang Y 等人^[23]的研究均显示 STAT3 能够促进肿瘤细胞的 EMT 过程,进而促进肿瘤转移。因此 Kin17 在非小细胞肺癌中可能通过调控 STAT3 的表达水平间接调控非小细胞肺癌细胞的 EMT 过程,进而促进非小细胞肺癌转移^[24]。进一步通过划痕实验和 transwell 实验验证敲降 Kin17 会抑制 A549 细胞的侵袭和迁移,并且过表达 STAT3 能够纠正 Kin17 敲降对 A549 细胞的侵袭和迁移的抑制作用,Kin17 可能是通过上调 STAT3 表达来促进非小细胞肺癌细胞的侵袭和迁移。可能是由于 STAT3 在肿瘤侵袭和转移中具有重要作用,如 Kang DY 等人^[25]及 Zheng B 等人^[26]的研究均显示 STAT3 能够促进肿瘤细胞的侵袭和转移,因此 Kin17 在非小细胞肺癌中可能通过调控 STAT3 的表达水平间接调控非小细胞肺癌细胞的侵袭和转移^[27]。最后本研究通过免疫荧光实验对 Kin17 和 STAT3 蛋白在细胞内的定位情况进行检测,发现 Kin17 和 STAT3 蛋白均分布在细胞核中,并且

二者之间存在共定位,即 Kin17 和 STAT3 蛋白之间能够相互结合形成蛋白质复合体,进而调节细胞的生命活动。可能是由于 Kin17 是一种 DNA/RNA 结合蛋白,其主要通过结合细胞核中的 DNA 和 RNA 对基因的转录过程进行调节,而已有的研究显示 STAT3 蛋白在基因转录中也发挥重要作用,STAT3 蛋白作为转录因子能够促进白介素-6(interleukin-6, IL-6)和性别决定区相关高迁移率族盒蛋白 4(SOX4)等基因的转录^[28-30],因此在非小细胞肺癌中 Kin17 和 STAT3 蛋白在基因的转录调控中可能具有一定的协同作用,二者通过蛋白之间的结合形成转录调节复合蛋白,进而调节 IL-6 和 SOX4 等基因的转录,促进非小细胞肺癌的发生发展。

综上所述,在非小细胞肺癌中 Kin17 可能通过促进 STAT3 表达水平以促进非小细胞肺癌细胞 EMT、侵袭和转移,Kin17 及 STAT3 可以作为非小细胞肺癌细胞侵袭和转移的潜在治疗靶点,在非小细胞肺癌患者治疗中具有一定临床价值。

参考文献(References)

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424
- [2] Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments [J]. Lancet, 2017, 389(10066): 299-311
- [3] Yang J, Zhang Y, Sun X, et al. The prognostic value of multiorgan metastases in patients with non-small cell lung cancer and its variants: a SEER-based study[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 144(9): 1835-1842
- [4] Cheng H, Perez-Soler R. Leptomeningeal metastases in non-small-cell lung cancer[J]. Lancet Oncol, 2018, 19(1): e43-e55
- [5] Yuzhao Zhang, Senlin Huang, Hongyi Gao, et al. Upregulation of KIN17 Is Associated With Non-Small Cell Lung Cancer Invasiveness [J]. Oncol Lett, 2017, 13(4): 2274-2280
- [6] Xiang Gao, Zhenping Liu, Meifeng Zhong, et al. Knockdown of DNA/RNA-binding Protein KIN17 Promotes Apoptosis of Triple-Negative Breast Cancer Cells[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1): 288-293
- [7] 陈娜, 鄢红艺, 吴坤河, 等. Kin17 在宫颈癌中的表达及意义[J]. 热带医学杂志, 2016, 7(1): 25-27
- [8] Yuzhao Zhang, Hongyi Gao, Xiang Gao, et al. Elevated Expression of Kin17 in Cervical Cancer and Its Association With Cancer Cell Proliferation and Invasion[J]. Int J Gynecol Cancer, 2017, 27 (4): 628-633
- [9] Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer:

- Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment [J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(8): 1623-1640
- [10] 许子寒, 郑林鹏, 杨峤, 等. 非小细胞肺癌的转移特征及预后分析 [J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(9): 871-876
- [11] Anelise C Ramos, Vanessa P Gaspar, Sabrina M G Kelmer, et al. The kin17 Protein in Murine Melanoma Cells [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16 (11): 27912-27920
- [12] Le MX, Haddad D, Ling AK, et al. Kin17 facilitates multiple double-strand break repair pathways that govern B cell class switching[J]. Sci Rep, 2016, 6(10): 37215
- [13] 王旭, 孟祥宁. 错配修复在 DNA 双链断裂修复中的作用[J]. 国际遗传学杂志, 2018, 41(4): 279-283, 288
- [14] Zhang Y, Gao H, Gao X, et al. Elevated Expression of Kin17 in Cervical Cancer and Its Association With Cancer Cell Proliferation and Invasion[J]. Int J Gynecol Cancer, 2017, 27(4): 628-633
- [15] Verhaak RGW, Bafna V, Mischel PS. Extrachromosomal oncogene amplification in tumour pathogenesis and evolution [J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(5): 283-288
- [16] Lin XL, Liu M, Liu Y, et al. Transforming growth factor β 1 promotes migration and invasion in HepG2 cells: Epithelial to mesenchymal transition via JAK/STAT3 signaling [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(1): 129-136
- [17] 张泽亮. AFP 通过激活 STAT3 的磷酸化促进肝癌细胞的增殖[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(10): 796-800
- [18] Zhao C, Li H, Lin HJ, et al. Feedback Activation of STAT3 as a Cancer Drug-Resistance Mechanism[J]. Trends Pharmacol Sci, 2016, 37(1): 47-61
- [19] Bhattacharya S, Kim JC, Ogawa Y, et al. DLX3-Dependent STAT3 Signaling in Keratinocytes Regulates Skin Immune Homeostasis[J]. J Invest Dermatol, 2018, 138(5): 1052-1061
- [20] Murone M, Vaslin Chessex A, Attinger A, et al. Debio 0617B Inhibits Growth of STAT3-Driven Solid Tumors through Combined Inhibition of JAK, SRC, and Class III/V Receptor Tyrosine Kinases [J]. Mol Cancer Ther, 2016, 15(10): 2334-2343
- [21] 刘彬, 胡晨曦, 刘亮, 等. STAT-3 介导的非依赖 VEGFR-2 通路对 NSCLC 细胞放射敏感性影响的研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2017, 26(8): 938-944
- [22] Wu C, Zhu X, Liu W, et al. NFIB promotes cell growth, aggressiveness, metastasis and EMT of gastric cancer through the Akt/Stat3 signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2018, 40(3): 1565-1573
- [23] Xiang Y, Liao XH, Yu CX, et al. MiR-93-5p inhibits the EMT of breast cancer cells via targeting MKL-1 and STAT3[J]. Exp Cell Res, 2017, 357(1): 135-144
- [24] 郭伟峰, 何约明, 庄锡彬, 等. CXCR4 siRNA 通过抑制 STAT3 信号通路抑制肺癌细胞活力[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(7): 1264-1269
- [25] Kang DY, Sp N, Kim DH, et al. Salidroside inhibits migration, invasion and angiogenesis of MDA MB 231 TNBC cells by regulating EGFR/Jak2/STAT3 signaling via MMP2[J]. Int J Oncol, 2018, 53(2): 877-885
- [26] Zheng B, Ren T, Huang Y, et al. Apatinib inhibits migration and invasion as well as PD-L1 expression in osteosarcoma by targeting STAT3[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(2): 1695-1701
- [27] 赵振兴, 赵振山, 李海洋, 等. 华蟾素通过 miR-106a-5p/STAT3 信号通路调控肺癌细胞增殖和凋亡的机制研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(11): 1145-1149
- [28] Yin Z, Ma T, Lin Y, et al. IL-6/STAT3 pathway intermediates M1/M2 macrophage polarization during the development of hepatocellular carcinoma [J]. J Cell Biochem, 2018, 119 (11): 9419-9432
- [29] Wang H, Huo X, Yang XR, et al. STAT3-mediated upregulation of lncRNA HOXD-AS1 as a ceRNA facilitates liver cancer metastasis by regulating SOX4[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 136
- [30] 朱兴业, 赵明, 汪大伟, 等. PTPN9 的表达下调通过抑制 STAT3 活化促进结直肠癌细胞凋亡 [J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(2): 231-235, 206