

生物信息分析

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002648

microRNAs 调控基质金属蛋白酶与乳腺癌发生发展和转移的生物信息学分析

刘婧婷¹, 隆建萍², 刘倩³, 王燕侠³, 金凤玲¹, 林碧玉¹

(1. 兰州大学第一临床学院, 兰州 730000; 2. 甘肃省妇幼保健院乳腺一科, 兰州 730050;

3. 甘肃省妇幼保健院妇幼保健科研中心, 兰州 730050)

【摘要】目的:利用生物信息学方法研究 microRNAs 调控基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)乳腺癌的潜在靶向基因、信号传导通路及分子机制。**方法:**从 GEO 和 TCGA 数据库下载正常乳腺组织和乳腺癌样本的基因芯片;使用 R 软件包 limma 分析正常乳腺组织和乳腺癌样本之间的差异表达基因;对筛选出的差异表达基因进行 KEGG 信号通路富集分析。**结果:**通过对差异基因的趋势分析,筛选出 544 个显著上调的基因及 1 030 个显著下调的基因,其中 MMP1/3/9/11/13/28 可能为介导乳腺癌浸润性进展的相关基因。生存分析表明,乳腺癌 MMP1/3/9/11/13 高表达与不良预后相关,且 MMP1 高表达是影响乳腺癌的独立危险因素($P<0.01$)。**结论:**本研究的整合生物信息学分析表明,MMPs 在乳腺癌等多种癌组织中表达升高,并且 MMPs 表达明显影响乳腺癌患者预后,与其他 MMPs 相比,MMP1 可能是乳腺癌患者靶向治疗的合适靶点。

【关键词】乳腺癌;基质金属蛋白酶;生物信息学**【中图分类号】**R737.9**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-12-20

Bioinformatics analysis of microRNAs regulation of matrix metalloproteinases in the occurrence, progression and metastasis of breast cancer

Liu Jingting¹, Long Jianping², Liu Qian³, Wang Yanxia³, Jin Fengling¹, Lin Biyu¹

(1. The First Clinical Medical College, Lanzhou University; 2. Department of Breast Surgery, Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital; 3. Maternal and Child Health Care Research Center, Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital)

【Abstract】Objective: To explore the potential target genes, signal transduction pathways and molecular mechanisms of MicroRNAs regulating matrix metalloproteinases (MMPs) in breast cancer using bioinformatics analysis. **Methods:** Gene chips samples of normal mammary gland tissues and breast cancer tissues were downloaded from GEO database and TCGA database. The differentially expressed genes between normal tissue samples and breast cancer tissues were analyzed by R software package Limma. KEGG pathway analysis was performed for the screened differentially expressed genes. **Results:** Through trend analysis of differentially expressed genes, 544 significantly up-regulated genes and 1 030 significantly down-regulated genes were screened, among which MMP1/3/9/11/13/28 could be related genes that mediate invasive progression of breast cancer. Survival analysis showed that the high expression of MMP1/3/9/11/13 was associated with poor prognosis, and the high expression of MMP1 was an independent risk factor for breast cancer ($P<0.01$). **Conclusion:** The integrative bioinformatics analysis performed in the present study suggests that the expression of MMPs is increased in breast cancer and other cancer tissues, and the expression of MMPs can significantly affect the prognosis of breast cancer patients. Compared with other MMPs, MMP1 may be an appropriate target for targeted therapy in patients with breast cancer.

【Key words】breast cancer; matrix metalloproteinases; bioinformatics

作者介绍: 刘婧婷, Email: liujt19@lzu.edu.cn,

研究方向: 妇科常见肿瘤临床检验诊断。

通信作者: 金凤玲, Email: 1260961695@qq.com。

基金项目: 甘肃省科技计划自然科学基金立项资助项目(编号: 17JR5RA030)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200929.1729.008.html>

(2020-09-30)

乳腺癌(breast cancer, BC)是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,2018年新诊断的乳腺癌约210万例,全球死亡人数626 679人^[1]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是侵袭性和转移性肿瘤中最丰富的一类非丝氨酸蛋白酶,可以调节肿瘤进展过程中微环境的各种变化^[2]。然而,MMPs的差异表达及其在乳腺癌中的预后价值仍有待阐明。本研究利用大样本、高通量多数据库分析不同癌组织及乳腺癌中的MMPs表达情况及临床意义,以期探索乳腺癌的发生、发展、预后判断等提供依据。

1 数据来源与方法

1.1 数据库

基因表达数据取自公共基因芯片数据库(gene expression omnibus, GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)。检索词为“breast cancer”和“Homo sapiens[porgn:_txid9606]”,总共检索到2 235个关于人乳腺癌系列。仔细筛选后选择4个基因表达谱(GSE29431、GSE42568、GSE61304和GSE10810),这4个数据库基于平台GPL570([HG-U133_Plus_2]Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array)。从TCGA(the cancer genome atlas)数据库下载原始数据,通过RSEM标准化。纳入的数据基本信息见表1。

1.2 寻找差异基因

从GEO和TCGA数据库下载的乳腺癌相关微阵列数据使用R软件处理(版本3.6.1, <https://cran.r-project.org/>)。使用limma包在R软件中分析乳腺癌组织与正常乳腺组织之间的差异基因,计算FC值,并根据 $P < 0.01$ 和 $|\log FC| \geq 2$ 的标准进一步选择。在GEPiA(gene expression profiling interactive analysis)数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)验证所选取的差异基因(differentially expressed genes, DEGs)在不同肿瘤中的表达情况^[3]。

1.3 Kaplan-Meier Plotter数据挖掘和处理分析

Kaplan-Meier Plotter(www.kmplot.com)是一个在线工具,能够评估21种癌症类型中54 000多个基因对生存率的影响,数据集包括乳腺癌(6 234例)、卵巢癌(2 190例)、肺癌

(3 452例)和胃癌(1 440例)^[4]。本文使用Kaplan-Meier Plotter用于评价MMPs mRNA转录水平的预后价值。为了评估乳腺癌患者的整体生存率(overall survival, OS)和无远处转移生存期(distant metastasis-free survival, DMFS),根据中位基因表达将所选取的样本分为2组,采用Kaplan-Meier绘图仪计算MMPs表达中位数,将样本分为高表达组和低表达组,采用log-rank检验分析Kaplan-Meier生存曲线,计算95%可信区间内的危险率(hazard ratio, HR),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 DEGs的功能富集分析

使用基因本体(gene ontology, GO)数据库来分析3个独立类别的丰富基因功能:生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞成分(cellular component, CC)^[5]。使用基因组百科全书数据库(kyoto encyclopedia of genes and genome, KEGG)数据库分析基因的相关通路^[6]。使用DAVID(database for annotation visualization and integrated discovery)在线工具(<https://david.ncifcrf.gov/summary>)进行DEGs的GO和KEGG信号通路分析^[7], $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.5 蛋白-蛋白相互作用网络分析

STRING(the search tool for the retrieval of interacting genes, <https://string-db.org/>)在线工具用于检测DEGs之间的蛋白质相互作用,用组合得分 > 0.9 提取蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI),通过Cytoscape软件进行可视化PPI网络^[8]。利用Cytoscape软件中的MCODE(molecular complex detection technology)插件构建PPI网络中的功能模块, CytoHubba插件用于计算每个蛋白质节点MCC,前十个基因被确定为关键基因。

2 结果

2.1 乳腺癌患者中的DEGs

根据 $P < 0.05$ 和 $|\log FC| \geq 2$ 的标准,在基因芯片GSE29431、GSE42568、GSE61304中、GSE10810中,共有1 574个DEGs,其中显著上调的有544个,包括细胞外基质金属蛋白酶家族成员MMP-1、MMP-3、MMP-9、MMP-11、MMP-13,显著下调的有1 030个,包括MMP-28。随后进行维恩分析以得到DEGs维恩图,如图1所示。

表1 本文纳入的乳腺癌基因芯片基本信息

数据库	基因芯片	样本信息	
		正常乳腺组织	乳腺癌组织
GEO	GSE29431	[HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	
	GSE42568	12	54
	GSE61304	17	104
	GSE10810	58	4
TCGA	高通量测序	27	31
		112	1 093

注:GEO—Gene Expression Omnibus,公共基因芯片数据库

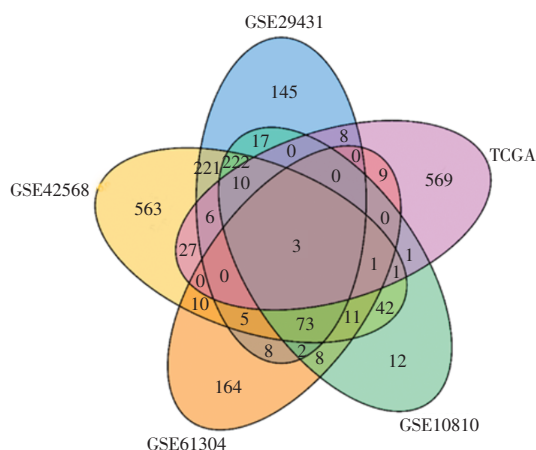
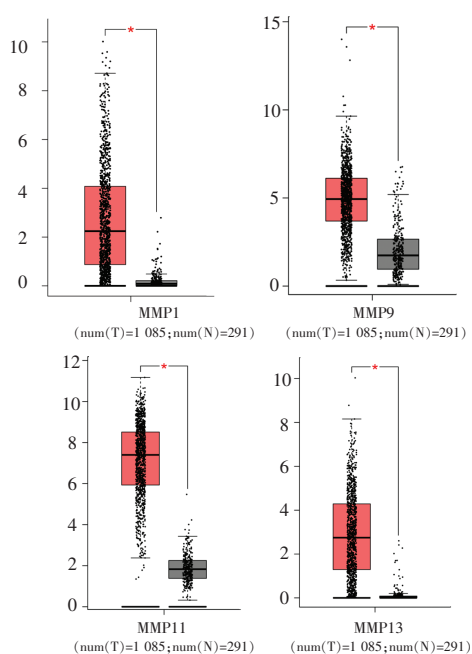


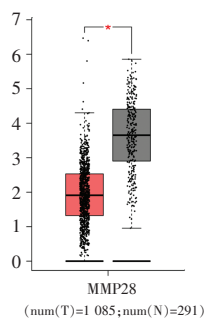
图 1 乳腺癌基因芯片数据集中 DEGs 分析

2.2 MMPs 在乳腺癌组织和正常乳腺组织之间的表达差异

TCGA 数据库中 MMPs 在乳腺癌组织与正常组织的表达有差异,其中,MMP1/MMP9/MMP11/MMP13 乳腺癌表达量明显高于正常组织(图 2A),MMP28 表达量明显高于正常组织(图 2B)。



A. MMP1/9/11/13 在 1376 个样本中的表达情况



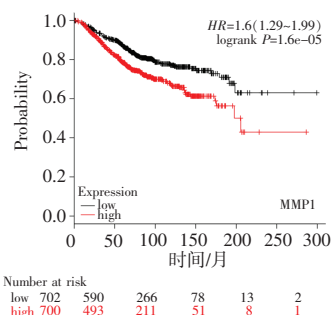
B. MMP28 在 1376 个样本中的表达情况

注:T 指肿瘤组织;N 指正常组织

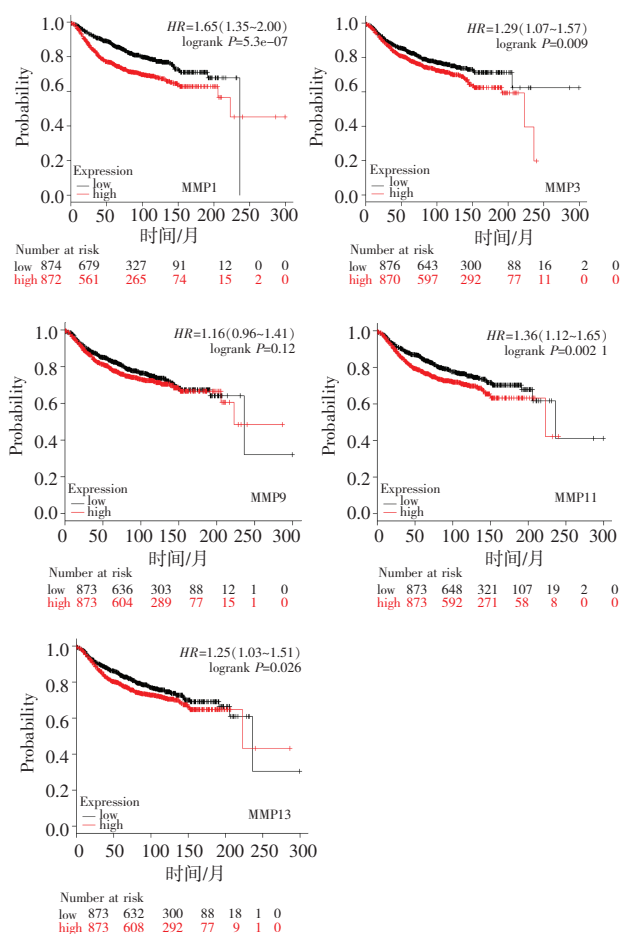
图 2 MMPs 基因在 TCGA 数据库中乳腺癌组织和正常组织表达差异

2.3 MMPs 对乳腺癌预后的影响

Kaplan-Meier Plotter 分析提示,MMPs 的表达水平与乳腺癌患者的总生存时间存在关联。与 MMP1 高表达组比较,MMP1 低表达组乳腺癌患者的 OS 更长($n=1402$),预后更佳(图 3A)。MMP1/3/9/11/13 表达降低的乳腺癌患者 DMFS 更高($n=1746$),如图 3B 所示。



A. MMP1 表达与乳腺癌患者总体生存期的相关性



B. MMP1/3/9/11/13 表达与乳腺癌患者无远处转移生存期的相关性

图 3 MMP1/3/9/11/13 在乳腺癌患者中的预后价值

2.4 DEGs 的 GO 富集分析和通路分析

使用 DAVID 在线网站进行 DEGs 的 GO 富集分析,共有 1480 个基因的探针号能够被识别。控制检验 $P \leq 0.01$,筛选 MMPs 相关的 DEGs 得到:①分子功能(MF)主要作用于蛋白

质结合、钙离子结合、胶原蛋白结合、金属内肽酶与金属肽酶的激活(图 4A);②细胞成分(CC)作用点主要作用于细胞质、细胞外泌体、高尔基体、细胞外基质、胶原蛋白聚合物(图 4B);③生物过程(BP)中主要作用于对细胞骨架的形成、内皮细胞的分化、软骨内骨化、骨盐沉积、白细胞迁移、脂肪细胞分化的负调控、细胞对一氧化氮的反应(图 4C)。使用 DAVID 在线网站进行 KEGG 信号传导通路分析,控制 $P \leq 0.01$,得到 55 种信号传导通路,其中与 MMPs 相关的有 5 种,详见表 2。

2.5 MMPs 蛋白相互作用网络预测及功能分析

PPI 网络共涉及 1 427 个节点和 12 789 个边缘,通过 PPI 网络中的连通度评估了 MCC 前 30 个基因。结果显示 KIF20A 是最突出的基因(Rank=1),其次是 *MAD2L1*、*CDK1*、*UBE2C*、*CDC20*、*CCNB2*、*CCNA2*、*BUB1B*、*CDC45*、*CCNB1*、*CDCA8*(Rank=2);*BIRC5*、*DLGAP5*、*TPX2*、*TTK*、*TOP2A*、*NUSAP1*、*PBK*、*ASPM*、*RRM2*、*MELK*、*CEP55*(Rank=12);*KIF2C*、*HMMR*、*CENPF*、*MKI67*(Rank=23);*KIAA0101*(Rank=27);*AURKA*(Rank=28);*PRC1*(Rank=29);*ZWINT*(Rank=30)。

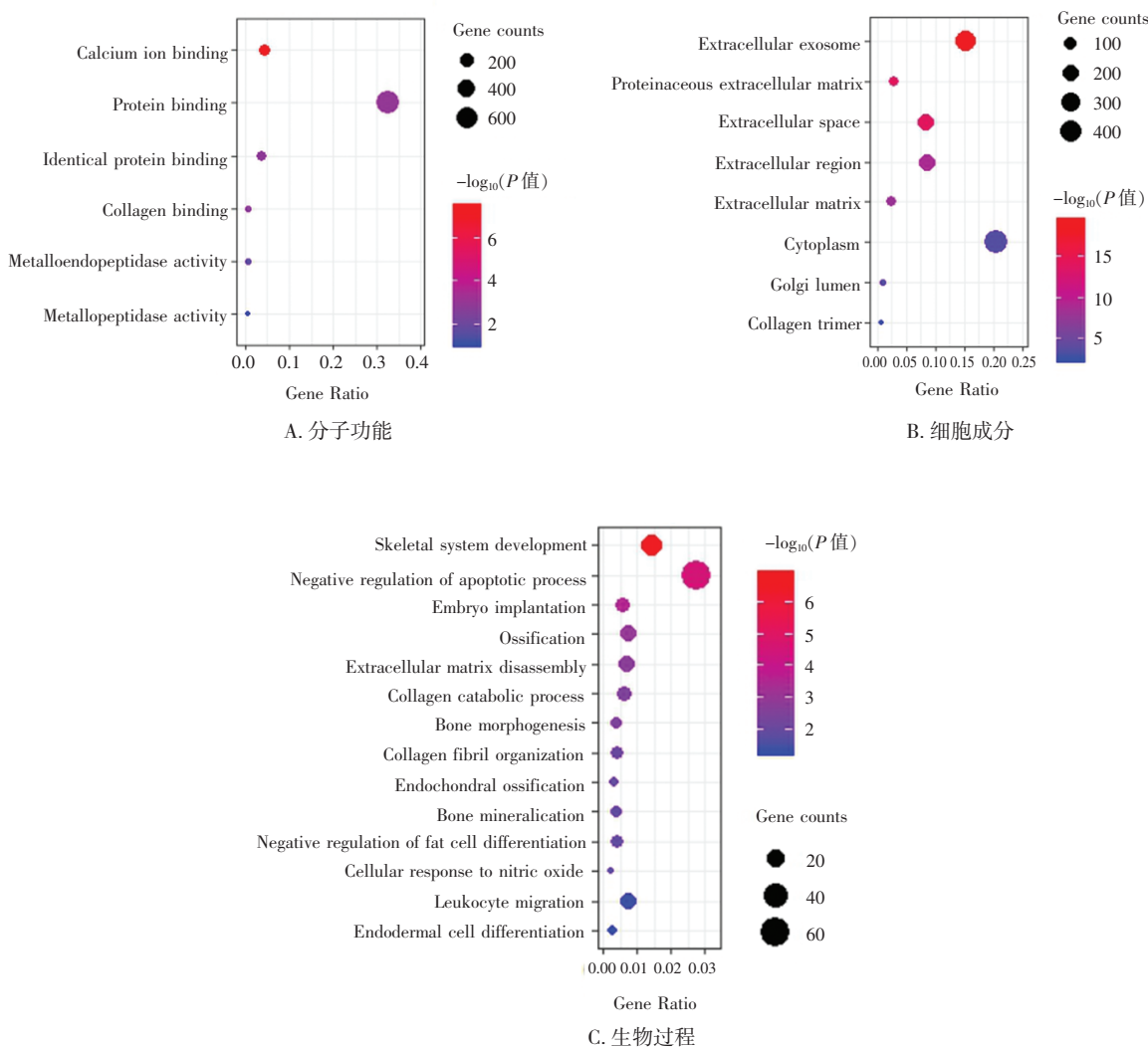


图 4 乳腺癌中 DEGs 的 GO 功能分析

表 2 KEGG 信号传导通路分析

生物学通路	基因数量	富集倍数	假发现率	基因名称
PPAR信号通路	21	3.61	6.42E-04	<i>MMP1</i> 、 <i>PCK1</i> 、 <i>ACSL1</i> 、 <i>CD36</i> 、 <i>SORBS1</i> 、 <i>PLIN1</i> 等
肿瘤信号通路	58	1.70	0.07	<i>MMP9</i> 、 <i>STAT5A</i> 、 <i>FOXO1</i> 、 <i>LPAR2</i> 、 <i>MMP1</i> 、 <i>ERBB2</i> 、 <i>EGLN3</i> 、 <i>STAT1</i> 、 <i>FZD4</i> 、 <i>COL4A5</i> 、 <i>LAMA2</i> 等
肿瘤中的蛋白聚糖	32	1.84	1.24	<i>MMP9</i> 、 <i>ERBB2</i> 、 <i>RRAS</i> 、 <i>FGF2</i> 、 <i>TWIST2</i> 、 <i>TWIST1</i> 、 <i>FN1</i> 、 <i>EGFR</i> 等
白细胞迁移	17	1.70	40.21	<i>CLDN8</i> 、 <i>OCLN</i> 、 <i>MMP9</i> 、 <i>CXCL12</i> 、 <i>MAPK13</i> 、 <i>RAPGEF3</i> 、 <i>JAM2</i> 、 <i>RHOH</i> 等
肿瘤中的转录失调	21	1.45	68.62	<i>MMP9</i> 、 <i>ARNT2</i> 、 <i>PPARG</i> 、 <i>TGFBR2</i> 、 <i>MMP3</i> 、 <i>WT1</i> 、 <i>IGF1R</i> 、 <i>CDKN2C</i> 等

3 讨论

MMPs被认为是与肿瘤发生相关的一个重要蛋白酶家族,是肿瘤进展的关键介质,可介导肿瘤进展过程中微环境中的炎症、血管生成、增殖、迁移、黏附等过程^[9]。由于其在癌症中的作用,MMPs被推测为一种有效的肿瘤治疗靶点。尽管最近的研究表明了 MMPs 的复杂作用,但不同的 MMPs 在乳腺癌进展和转移中的作用仍然存在争议。

研究表明,乳腺癌组织中 MMP1 mRNA 表达量高于正常乳腺组织^[10]。此外,乳腺癌患者的不良预后与 MMP1 高表达相关,这与本研究发现一致^[11]。Kulić A 等^[12]的研究表明,MMP1 低表达患者的 5 年生存率明显低于 MMP1 高表达患者,这表明血清 MMP1 低表达对预后的影响较差。MMP3 是 microRNA-519d 的直接下游靶点,是 microRNA-519d 在乳腺癌中的致癌作用的执行分子^[13]。小鼠模型的动物实验显示,过氧化物酶诱导了 MMP3 基因的转录,进而促进了肿瘤的生长、侵袭和转移^[14]。研究表明,MMP9 主要表达于增殖细胞核抗原阳性区域,并介导不同的信号通路促进或抑制乳腺癌的进展或转移^[15]。Wang X 等^[16]报道 KLF-8 可激活 MMP9,作为一种新的信号转导机制参与乳腺癌的侵袭转移。MMP9 的定位通过与细胞表面存在的 CD44 结合而实现,这是诱导癌细胞侵袭和血管生成活性的关键步骤^[17]。然而,在另 1 项研究中,重组 WNT-5A 被证明可以激活乳腺癌细胞中的 CD42,而 WNT-5A 信号通路和活化的 CDC42 可降低 MMP9 的活性,从而抑制乳腺癌细胞的远处转移^[18]。研究表明,MMP11 在上皮细胞相关肿瘤的基质成纤维细胞中表达,高水平的 MMP11 与癌症的进展和乳腺癌的不良预后有关^[19]。已有多项研究表明,MMP13 在乳腺癌组织中高度表达,是乳腺癌诊断的潜在肿瘤标志物,也是乳腺癌骨转移的治疗靶点^[20-21]。MMP13 与上皮间质化过程有密切关系,可能在促进肿瘤的侵袭转移或增加细胞外基质中发挥作用^[22]。

miRNA 是转录后水平基因表达最重要的一类分子,通常由 19~21 个核苷酸组成。一个 miRNA 可以有多个靶基因,并且几个 miRNA 也可以调节同一个基因。因此,miRNAs 也可能在癌症的发展和进展中发挥关键作用。然而,越来越多的研究表明,

miRNA 可能作为 oncomiRs 或肿瘤抑制因子 miRNA^[23]。oncomiR 是一种特殊的与肿瘤发生相关的 miRNA,在肿瘤发生、恶性转化和转移过程中升高;而肿瘤抑制因子 miRNA 可以抑制肿瘤的形成,并且在肿瘤的发展过程中表达降低^[24]。在肿瘤发展和转移中,特别是乳腺癌中,已经发现许多调控 MMPs 的 miRNA。研究表明,MMPs 和 miRNA 之间的相互作用与癌症进展、侵袭和迁移有关^[25]。

Liu X 等^[26]研究表明,miR-222 可以通过调节超氧化物歧化酶 2(superoxide dismutase 2,SOD2)调控 MMP1 的表达,进而抑制肿瘤细胞入侵和迁移。在乳腺肿瘤向骨转移过程中,MMP1 的低表达与 miR-224 的异位表达相关,以 Raf 激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein,RKIP)为靶点,控制乳腺癌细胞的侵袭和转移^[27]。研究表明,miRNA 在主要癌症过程中调控 MMP9 的表达,包括肿瘤的发展、进展、血管生成、侵袭和转移。miR-206 可以下调 MMP9 和 MMP2 的蛋白表达^[28],miR-182 也被证明通过靶向作用于乳腺癌细胞系中的 MMP 抑制剂 RECK 蛋白来增加 MMP-9 活性,从而导致细胞侵袭、迁移和转移^[29]。

本研究中,MMP1/3/9/11/13 mRNA 水平在乳腺癌中显著过表达,提示转移性肿瘤快速生长。此外,MMP1/3/9/11/13 表达降低的乳腺癌患者无远处转移生存期更高。因此,这些基质金属蛋白酶可能被认为是潜在的治疗靶点。本研究系统分析了乳腺癌中由 GEO 数据库分析所得的差异表达 MMPs 的转录表达和预后价值,为深入了解乳腺癌分子生物学的复杂机制提供了依据。综合生物信息学分析表明,与其他基质金属蛋白酶相比,MMP1/9/13 可能是治疗乳腺癌的潜在靶点。然而,关于 MMP 调控的几种 miRNAs 及其参与机制仍不清楚,需要进行大量的研究来发现这些机制,从而找到合适的癌症临床治疗方法。

参考文献

- [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: 394-424.
- [2] Endres M, Kneitz S, Orth MF, et al. Regulation of matrix metalloproteinases (MMPs) expression and secretion in MDA-MB-231 breast cancer cells by LIM and SH3 protein 1 (LASP1)[J]. Oncotarget, 2016, 7

- (39):64244–64259.
- [3] Tang Z, Li C, Kang B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1):98–102.
- [4] Györfy B, Lanczky A, Eklund AC, et al. An online survival analysis tool to rapidly assess the effect of 22,277 genes on breast cancer prognosis using microarray data of 1,809 patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 123(3):725–731.
- [5] Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The gene ontology consortium[J]. *Nat Genet*, 2000, 25(1):25–29.
- [6] Ogata H, Goto S, Sato K, et al. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(1):29–34.
- [7] Dennis G Jr, Sherman BT, Hosack DA, et al. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery[J]. *Genome Biol*, 2003, 4(5):3.
- [8] Doerks T, Copley RR, Schultz J, et al. Systematic identification of novel protein domain families associated with nuclear functions[J]. *Genome Res*, 2002, 12(1):47–56.
- [9] Javadian M, Gharibi T, Shekari N, et al. The role of microRNAs regulating the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in breast cancer development, progression, and metastasis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 8:5399–5412.
- [10] Kohrmann A, Kammerer U, Kapp M, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer and breast cancer cell lines: new findings and review of the literature[J]. *BMC Cancer*, 2009, 9(1):188.
- [11] Bostrom P, Soderstrom M, Vahlberg T, et al. MMP-1 expression has an independent prognostic value in breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11(1):348.
- [12] Kulić A, Dedić Plavetić N, Vrbanc J, et al. Low serum MMP-1 in breast cancer: a negative prognostic factor[J]. *Biomarkers*, 2012, 17(5):416–421.
- [13] Chu C, Liu X, Bai X, et al. MiR-519d suppresses breast cancer tumorigenesis and metastasis via targeting MMP3[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(2):228–236.
- [14] Panaogopoulos V, Leach DA, Zinonos I, et al. Inflammatory peroxidases promote breast cancer progression in mice via regulation of the tumour microenvironment[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(4):1191–1200.
- [15] Liu B, Cui J, Sun J, et al. Immunolocalization of MMP9 and MMP2 in osteolytic metastasis originating from MDA-MB-231 human breast cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(2):1099–1106.
- [16] Wang X, Lu H, Urvalek AM, et al. KLF8 promotes human breast cancer cell invasion and metastasis by transcriptional activation of MMP9[J]. *Oncogene*, 2010, 30:1901–1911.
- [17] Chetty C, Vanamala SK, Gondi CS, et al. MMP-9 induces CD44 cleavage and CD44 mediated cell migration in glioblastoma xenograft cells[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(2):549–559.
- [18] Prasad CP, Chaurasiya SK, Axelsson L, et al. WNT-5A triggers Cdc42 activation leading to an ERK1/2 dependent decrease in MMP9 activity and invasive migration of breast cancer cells[J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(5):870–883.
- [19] de Vega RG, Sanchez MLF, Eiro N, et al. Multimodal laser ablation/desorption imaging analysis of Zn and MMP-11 in breast tissues[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(3):913–922.
- [20] Chang HJ, Yang MJ, Yang YH, et al. MMP13 is potentially a new tumor marker for breast cancer diagnosis[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(5):1119–1127.
- [21] Nannuru KC, Futakuchi M, Varney ML, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-13 regulates mammary tumor-induced osteolysis by activating MMP9 and transforming growth factor- β signaling at the tumor-bone interface[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(9):3494–3504.
- [22] Kotepui M, Punsawad C, Chupeerach C, et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-13 in association with invasion of breast cancer[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2016, 20(3):225–228.
- [23] Asghari F, Haghnava N, Baradaran B, et al. Tumor suppressor microRNAs: targeted molecules and signaling pathways in breast cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 81:305–317.
- [24] Svoronos AA, Engelman DM, Slack FJ. OncomiR or tumor suppressor? The duplicity of microRNAs in cancer[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(13):3666–3670.
- [25] Li L, Li H. Role of microRNA-mediated MMP regulation in the treatment and diagnosis of malignant tumors[J]. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(9):796–805.
- [26] Liu X, Yu J, Jiang L, et al. MicroRNA-222 regulates cell invasion by targeting matrix metalloproteinase 1 (MMP1) and manganese superoxide dismutase 2 (SOD2) in tongue squamous cell carcinoma cell lines[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2009, 6(3):131–139.
- [27] Huang L, Dai T, Lin X, et al. MicroRNA-224 targets RKIP to control cell invasion and expression of metastasis genes in human breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425(2):127–133.
- [28] Liu H, Cao YD, Ye WX, et al. Effect of microRNA-206 on cytoskeleton remodelling by downregulating CDC42 in MDA-MB-231 cells[J]. *Tumori*, 2010, 96(5):751–755.
- [29] Chiang CH, Hou MF, Hung WC. Up-regulation of miR-182 by β -catenin in breast cancer increases tumorigenicity and invasiveness by targeting the matrix metalloproteinase inhibitor RECK[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(4):3067–3076.

(责任编辑:张学颖)