

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.16.002

Sfrp2 通过下调 Wnt/ β -catenin 通路抑制胶质瘤细胞系 U251 的迁移能力*

高亚飞¹ 鲁华山² 贺世明¹ 高立² 韩海静^{1Δ}

(1 西安国际医学中心神经外科 陕西 西安 710100;

2 空军军医大学唐都医院神经外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探讨使用 Wnt3a 蛋白受体竞争性抑制剂 Sfrp2 下调 Wnt 通路的关键蛋白 β -catenin 的表达对胶质瘤细胞 U251 线粒体功能以及细胞侵袭能力的影响。**方法:**使用外源性 Sfrp2 蛋白处理 U251 细胞,使用 Western Blot 技术,Mitotracker 线粒体形态学染色,划痕实验观测 Sfrp2 蛋白对 U251 细胞 Wnt 通路的表达,线粒体功能以及细胞迁移能力的影响,并使用 GSK-3 β 抑制剂 LiCl 上调 Wnt 通路进一步明确 Sfrp2 蛋白的作用机制。**结果:**Sfrp2 蛋白可引起 Wnt 通路的抑制($P<0.05$),线粒体分裂($P<0.01$)以及细胞迁移能力的下降($P<0.01$),而使用 LiCl 处理后,Wnt 通路重现上调($P<0.05$),线粒体分裂受到抑制($P<0.05$),细胞的迁移能力也再次恢复($P<0.05$)。**结论:**Sfrp2 可通过下调 Wnt 通路引起线粒体分裂进而抑制 U251 细胞的迁移能力。

关键词:Sfrp2 蛋白;Wnt 通路; β -catenin;胶质瘤;线粒体

中图分类号:R-33;R739.41;Q244 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2021)16-3007-04

Sfrp2 Functions as a Suppressor for Gliomas by Suppressing the Wnt/ β -catenin Signaling*

GAO Ya-fei¹, LU Hua-shan², HE Shi-ming¹, GAO Li², HAN Hai-jing^{1Δ}

(1 Department of Neurosurgery, Xi'an international medical center university, Xi'an, Shaanxi, 710100, China;

2 Department of Neurosurgery, Tangdu Hospital, Fourth military medical university, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role of Sfrp2, a protein competing with Wnt3a protein for Wnt ligands, on the invasion ability changing and mitochondria fission of U251 cells. **Methods:** Cells were treated with Sfrp2 and WB, Mitotracker stain, and wound healing study were performed to analyze the changing of migration ability and mitochondria fission in U251 cells. The LiCl was added to analyze its underlying mechanism. **Results:** The pretreatment of Sfrp2 in U251 cells induced the inhibition of Wnt signaling($P<0.05$), the decrease of migration ability ($P<0.01$) and mitochondria fission ($P<0.01$). Besides, the adding of LiCl before Sfrp2 could abrogate the inhibition of Wnt signaling($P<0.05$), the decrease of migration ability ($P<0.05$) and mitochondria fission($P<0.05$). **Conclusion:** Sfrp2 induced the mitochondria fission and decrease of migration ability in U251 cells in a Wnt signaling dependent manner.

Key words: Sfrp2; Wnt; β -catenin; Glioma; Mitochondria

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R739.41; Q244 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)16-3007-04

前言

胶质瘤是一种发源于中枢神经系统的恶性脑肿瘤^[1,2]。目前研究表明胶质瘤主要是由于先天遗传因素和环境致癌因素等各种因素共同作用引发的结果。胶质瘤发病率约为 4-5/100,000 人每年^[3]。尽管包括手术治疗,化疗,放疗等治疗及诊断方法不断改善,然而高级别胶质瘤患者的平均生存期依然只有约 9-12 个月^[4]。因此,进一步明确胶质瘤致病机理对其诊疗十分重要。

线粒体参与细胞内有氧呼吸过程。线粒体与肿瘤增殖,迁移,侵袭等行为的能量来源^[5-7]。通过抑制肿瘤细胞的线粒体功能来抑制其增殖,迁移,侵袭的能力成为一个新的研究热点^[8]。线粒体分裂通常会导致碎片状的无功能的线粒体,而线粒体融合

则通常会保障线粒体有氧呼吸等功能的正常进行^[9-11]。而研究显示 Wnt 通路在线粒体融合以及分裂中发挥了相当重要的作用^[12,13]。

Wnt 通路与肿瘤的早期发生,胚胎神经系统的发育密切相关^[14,15]。在经典 Wnt 通路中,Wnt3a 与 Frizzled 受体和 LRP5/6 受体结合,通过一系列信号传导导致降解 β -catenin 的 GSK-3 β -APC-axin 复合体失活, β -catenin 在胞浆内聚集后大量进入细胞核,诱发下游基因转录^[16,17]。细胞内内源性的 Sfrp2 蛋白以及 DKK1 蛋白可与 Wnt3a 竞争性结合细胞表面的受体^[18]。LiCl 可以抑制 GSK-3 β -APC-axin 复合体的功能而激活经典 Wnt 通路^[19]。

本研究中,我们利用外源性 Sfrp2 蛋白处理 U251 细胞,观测 Sfrp2 蛋白对 U251 细胞 Wnt 通路的表达,线粒体功能以及

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81971186)

作者简介:高亚飞(1978-),男,硕士研究生,研究方向:微创神经外科,电话:029-84717823, E-mail:gyf8869@126.com

Δ 通讯作者:韩海静(1986-),女,本科,研究方向:微创神经外科,电话:029-68301927, E-mail:408548569@qq.com

(收稿日期:2020-12-31 接受日期:2021-01-26)

细胞迁移能力的影响,并使用 GSK-3 β 抑制剂 LiCl 上调 Wnt 通路进一步明确 Sfrp2 蛋白的具体作用机制。

1 材料和方法

1.1 试剂

U251 细胞由第四军医大学第二附属医院神经外科实验室提供。LiCl(麦克林公司),DMEM(Thermo 公司),SFRP2(R&D system 公司),兔源性 β -catenin (abcam 公司),Mitotracker red 染料(Life 公司)。

1.2 方法

1.2.1 U251 细胞培养 U251 细胞培养于含有 10%胎牛血清的 DMEM(37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂)。生长到 70%左右时使用 0.25%的胰酶进行消化、离心、传代。

1.2.2 细胞分组 对照组的细胞不给予任何处理;Sfrp2 组的细胞给与 100 ng/mL Sfrp2 处理 24h;Sfrp2+LiCl 组的细胞在给与 100 ng/mL Sfrp2 处理 24h 之前给与 24h 的 1 mM 的 LiCl 处理 24h。

1.2.3 Western blot 将处理结束后的细胞用 PBS 进行清洗,清洗后使用细胞刮将 U251 细胞刮下离心后再裂解。于准备好的裂解液中加入 1/4 体积上样缓冲液于 100 $^{\circ}$ C 进行煮沸 10 min。使用 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,PVDF 膜转膜,5%脱脂牛奶封闭 2h,再加鼠源性 actin 抗体,兔源性 β -catenin 抗体于 4 $^{\circ}$ C 封闭过夜,然后使用 TBST 液体洗膜 5 分钟,重复 3 遍。待二抗孵育结束后 TBST 洗膜 5 分钟,重复 3 遍。ECL 显色,暗室曝光。

1.2.4 划痕实验 我们将 U251 细胞种植于 6 孔板上,在给予 Sfrp2 处理开始时使用 20 μ L 枪头于培养皿底部制造整齐划痕,对照组的细胞在同一时间段也制造划痕,待 24h 后用 PBS 洗涤细胞 3 次再置于显微镜下观察。

1.2.5 Mitotracker 染色 将细胞种植于共聚焦小皿内,然后按上文所述分为三组,分别接受不同处理,待处理结束后将 10 nM 的 Mitotracker red 染液加入种植有 U251 的共聚焦小皿内,于 33 $^{\circ}$ C 进行孵育 20 min。然后 4%多聚甲醛固定、DAPI 染色。洗涤后使用日本尼康公司激光共聚焦显微镜进行观察。我们将能包围线粒体的最小的椭圆的长轴和短轴进行比较,在每一次实验中将 20 个视野的数据进行统计^[20]。

1.2.6 统计学处理 数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)来表示,使用 SPSS13.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)。以 $P<0.05$ 为具有显著性差异。

2 结果

2.1 外源性 Sfrp2 可抑制 Wnt 通路的表达

我们将 U251 细胞分为三组,分别接受上文所述处理,待处理结束后使用 Western blot 技术检测细胞内 Wnt 通路关键蛋白 β -catenin 的表达变化,结果显示:相较于 Control 组的细胞,Sfrp2 组的细胞内 β -catenin 的表达显著下降,而在 Sfrp2 处理之前使用 LiCl 进行预处理 24h 则可以抵消 Sfrp2 所引起的 Wnt 通路的抑制。灰度分析的结果显示,差异具有统计学意义($P<0.05$, Fig.1A and B)。

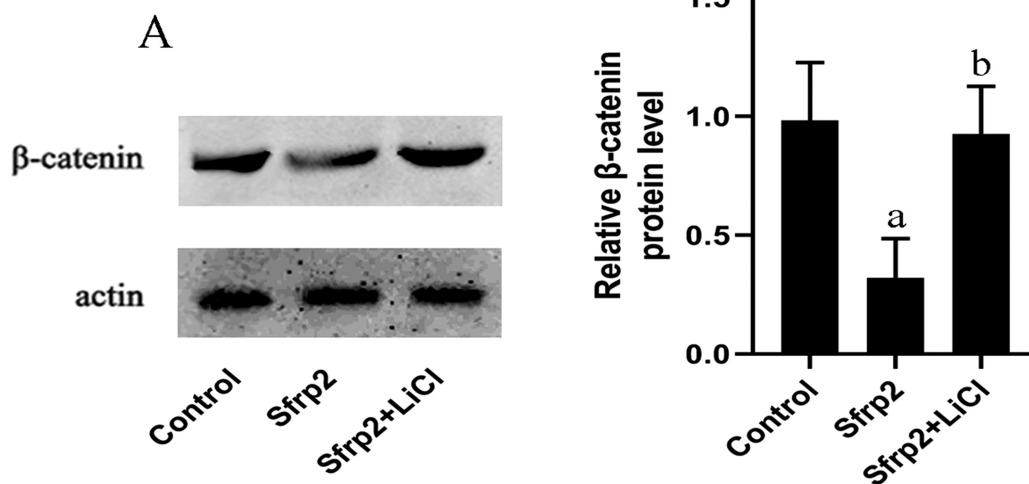


图 1 LiCl 预处理可抵消 Sfrp2 预处理对 Wnt 通路的抑制

Fig.1 The Sfrp2 induced Wnt signaling inhibition could be abrogated by LiCl pretreatment

Note: A: The level of β -catenin was analyzed by Western blot.

B: Relative amounts of β -catenin/actin level. n=3, a compared with control group $P<0.05$, b compared with Sfrp2 group $P<0.05$.

2.2 Sfrp2 可通过 Wnt 通路诱导线粒体分裂抑制 U251 细胞的迁移能力

我们使用划痕实验检测上述三组细胞的迁移能力的改变,结果显示:相较于 Control 组的细胞,24h 的 Sfrp2 蛋白处理可导致 U251 细胞迁移能力显著下降。而在使用 Sfrp2 进行处理之前使用 LiCl 进行预处理 24h 后,U251 细胞的迁移能力再次

恢复,差异具有统计学意义($P<0.05$, Fig.2A and B)。因为 Wnt 通路与线粒体的融合以及分裂有密切关系,且线粒体分裂可导致肿瘤细胞迁移能力的下降。因此我们观察了 Sfrp2 蛋白对 U251 细胞线粒体的影响,结果显示:相较于 Control 组的细胞,Sfrp2 组的细胞线粒体出现了大量的碎片,其长轴与短轴的比值显著下降,而在 Sfrp2 处理之前使用 LiCl 进行预处理 24h 则

可以抵消 Sfrp2 所引起的线粒体分裂, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$, Fig.3A and B)。

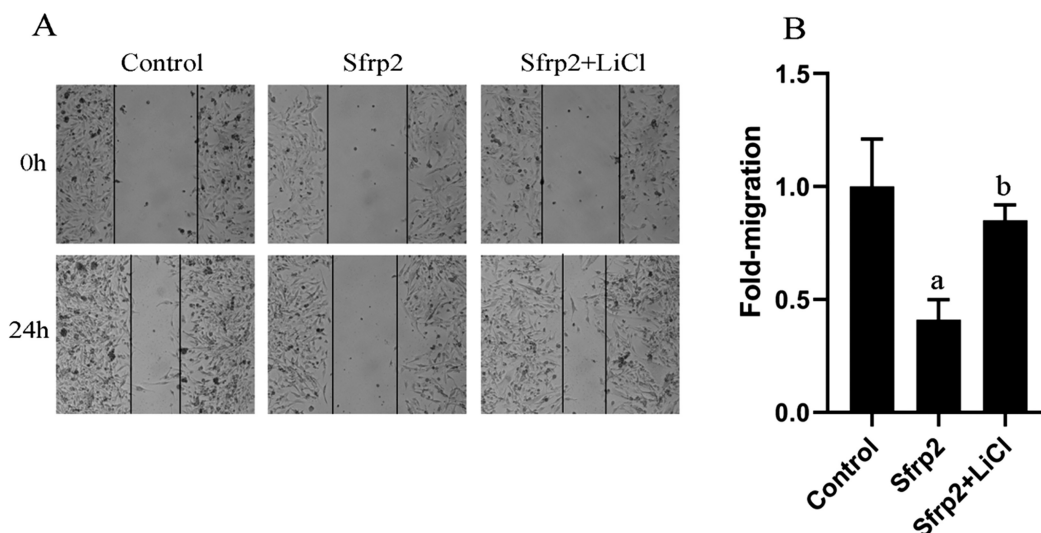


图 2 LiCl 预处理可抵消 Sfrp2 处理对 U251 细胞的迁移能力的抑制

Fig.2 LiCl pretreatment abrogate the low migration capacity of U251 cells induced by Sfrp2

Note: A: The migration capacity of U251 cells were measured by wound healing assay.

B: The Fold-migration. n=3, a compared with control group $P<0.05$, b compared with Sfrp2 group $P<0.05$.

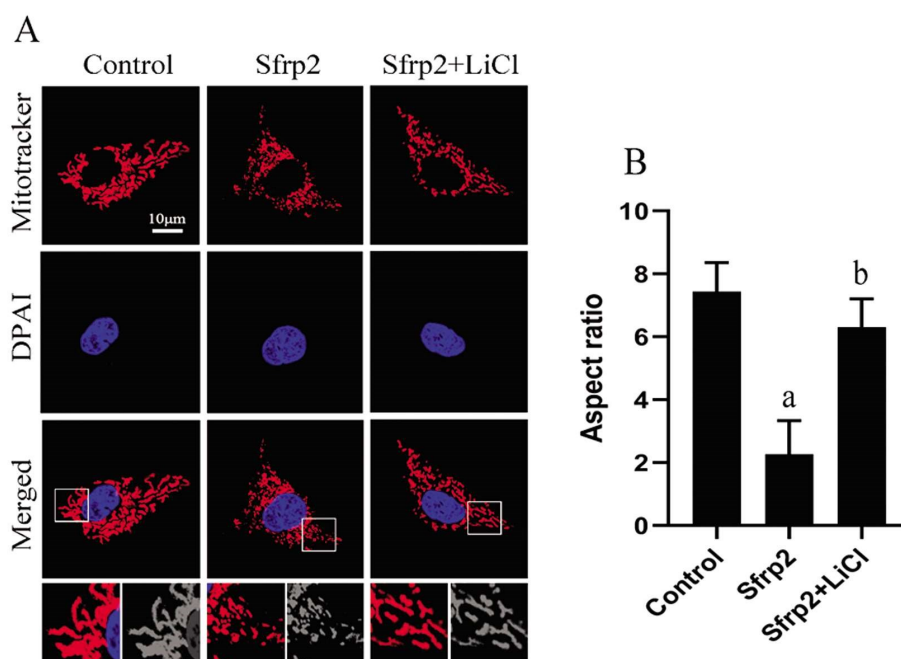


图 3 LiCl 预处理可抵消 Sfrp2 处理引起的 U251 细胞线粒体的分裂

Fig.3 The mitochondrial fission of U251 cells induced by Sfrp2 could be reversed by LiCl pretreatment

Note: A: The U251 cells were stained with Mitotracker(scale bar, 10 μ m).

B: The ratio of major and minor axes was analyzed. n=3, a compared with control group $P<0.01$, b compared with Sfrp2 group $P<0.05$.

3 讨论

Wnt 通路在肿瘤的发生,生长发育,中枢神经系统功能的维持中发挥了重要作用^[12,21]。研究显示在肿瘤细胞中,基因突变导致 Wnt 通路被过度激活, β -catenin 蛋白大量进入细胞核内,与转录因子形成 TCF/LEF- β -catenin 复合体,调节 TCF/LEF 转录调控^[22,23]。Sfrp2 是 Sfrp2 基因所编辑的一种蛋白质,Sfrp2 与 Wnt3a 竞争细胞表面受体结合位点而抑制 Wnt 通路^[18,24,25]。在

本实验中,我们使用 Sfrp2 处理胶质瘤细胞株 U251,结果表明,Sfrp2 蛋白预处理可引起 β -catenin 蛋白的表达显著下降,而使用 LiCl 处理后, β -catenin 蛋白的表达水平在 U251 细胞系中又再次上调。因此我们认为,在胶质瘤细胞中,Sfrp2 也可显著抑制 β -catenin 蛋白的表达,并且这种抑制作用是通过经典的 Wnt 通路来完成的。

胶质瘤是常见的一种颅内恶性肿瘤^[26]。研究显示,胶质瘤的发病普遍与遗传因素,生活环境因素,物理化学因素等密切

相关^[27]。Wnt 通路的激活与胶质瘤的发生密切相关^[22]。在胶质瘤的治疗中,其肿瘤细胞强大的增值,侵袭,迁移能力成为肿瘤复发的重要因素^[23]。而目前对肿瘤细胞具有高度增值,侵袭,迁移能力的具体分子学机制尚未阐述清楚,因此,我们探索了 Sfrp2 对 Wnt 通路的调节作用以及对胶质瘤细胞系迁移能力的影响。在我们的实验中,24h 的 Sfrp2 蛋白处理可导致 U251 细胞迁移能力显著下降。而在使用 SFRP2 进行处理之前使用 LiCl 进行预处理 24h 后,U251 细胞的迁移能力再次恢复,这证明了胶质瘤细胞的迁移能力的发挥主要是依靠经典 Wnt 通路来完成的。然而 Sfrp2 抑制 Wnt 通路后是如何影响胶质瘤细胞的迁移能力。为了探明这个问题,我们进行了线粒体形态学染色。

线粒体为细胞的生长,发育,增值,分化提供大量的 ATP,肿瘤细胞的线粒体十分发达^[11,28,29]。线粒体分裂诱导细胞的凋亡,线粒体融合保障线粒体有氧呼吸等功能的进行^[30]。研究显示,激活 Wnt 通路后,可以显著的促进线粒体融合,保障线粒体功能的正常进行。而当 Wnt 通路下调后,线粒体则发生分裂,最终使细胞走向凋亡^[16]。在本实验中,我们发现 Sfrp2 预处理可以导致细胞线粒体大量的碎片化,其长轴与短轴的比值显著下降,而在 Sfrp2 处理之前使用 LiCl 进行预处理 24h 则可以抵消 SFRP2 所引起的线粒体分裂。这说明 Sfrp2 可以通过诱导线粒体分裂进而降低肿瘤细胞的迁移能力,而 Wnt 通路在其中发挥了十分重要的作用。

综上所述,本实验通过 Western blot 技术发现 SFRP2 处理后 U251 细胞内 Wnt 通路发生下调。并且运用划痕实验和线粒体形态学染色发现 Sfrp2 处理后 U251 细胞的迁移能力发生显著下降且线粒体出现了大量的分裂,而 Wnt 通路在这些作用的发挥中具有重要的作用。本研究首次发现了 Sfrp2 作为 Wnt 通路的关键靶点,可能通过调控线粒体功能以及形态的变化对胶质瘤的治疗具有重要意义,本实验没有进行动物学实验,Sfrp2 对动物胶质瘤模型线粒体功能等的影响还有待于进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] 彭倩,韩刚,张志辰,等.胶质母细胞瘤差异表达基因的生物信息学分析[J].现代肿瘤医学,2020,28(23): 4073-4078
- [2] 刘璐,王雪梅,王岩,等.吴茱萸碱对胶质瘤 SHG-44 细胞凋亡的促进作用及其机制[J].中国医学科学院学报,2020,42(05): 591-595
- [3] Hua L, Huang L, Zhang X, et al. Knockdown of circular RNA CEP128 suppresses proliferation and improves cytotoxic efficacy of temozolomide in glioma cells by regulating miR-145-5p [J]. Neuroreport, 2019, 30(18): 1231-1238
- [4] LOHMEIER J, BOHNER G, SIEBERT E, et al. Quantitative biparametric analysis of hybrid (18)F-FET PET/MR-neuroimaging for differentiation between treatment response and recurrent glioma [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 14603
- [5] Liu Y, Zou J, Liu X, et al. MicroRNA-138 attenuates myocardial ischemia reperfusion injury through inhibiting mitochondria-mediated apoptosis by targeting HIF1- α [J]. Exp Ther Med, 2019,18(5): 3325-3332
- [6] JOHNSON M E, UHL C B, SPITTLER K H, et al. Mitochondrial injury and caspase activation by the local anesthetic lidocaine [J].

Anesthesiology, 2004, 101(5): 1184-1194

- [7] GANBOLD O, LEE S H, PAEK W K, et al. Mitochondrial DNA variation and phylogeography of native Mongolian goats [J]. Asian-Australas J Anim Sci, 2019, 33(6): 902-912
- [8] BAYSAL C, PEREZ-GONZALEZ A, ESEVERRI A, et al. Recognition motifs rather than phylogenetic origin influence the ability of targeting peptides to import nuclear-encoded recombinant proteins into rice mitochondria [J]. Transgenic Res, 2020, 291 (1) [Epub ahead of print]
- [9] He Y, Gan X, Zhang L, et al. CoCl₂ induces apoptosis via a ROS-dependent pathway and Drp1-mediated mitochondria fission in periodontal ligament stem cells [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2018, 315(3): C389-C397
- [10] Sarin M, Wang Y, Zhang F, et al. Alterations in c-Myc phenotypes resulting from dynamin-related protein 1 (Drp1)-mediated mitochondrial fission[J]. Cell Death Dis, 2013, 4: e670
- [11] ESTEVES A R, DOMINGUES A F, FERREIRA I L, et al. Mitochondrial function in Parkinson's disease cybrids containing an nt2 neuron-like nuclear background [J]. Mitochondrion, 2008, 8(3): 219-228
- [12] Guo Z, Zhou Y, Yang J, et al. Dendrobium candidum extract inhibits proliferation and induces apoptosis of liver cancer cells by inactivating Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 371-379
- [13] BERNKOPF D B, BEHRENS J. Feedback regulation of mitochondrial homeostasis via Wnt/beta-catenin signaling [J]. Mol Cell Oncol, 2018, 5(3): e1458015
- [14] Liang L, Tu Y, Lu J, et al. Dkk1 exacerbates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting the Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. J Cell Sci, 2019, 132(10)[Epub ahead of print]
- [15] MARCHETTI B. Wnt/beta-Catenin Signaling Pathway Governs a Full Program for Dopaminergic Neuron Survival, Neurorescue and Regeneration in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): 3743-3771
- [16] SINGH S, MISHRA A, MOHANBHAI S J, et al. Axin-2 knockdown promote mitochondrial biogenesis and dopaminergic neurogenesis by regulating Wnt/beta-catenin signaling in rat model of Parkinson's disease[J]. Free Radic Biol Med, 2018, 129: 73-87
- [17] 尚进,孙逸贤,曹秀丽,等.长链非编码 RNA 对神经干细胞的调控作用及其机制[J].神经解剖学杂志,2018,34(06): 761-765
- [18] Wang J C, Li Y Q, Feng D Y, et al. Loss of Sfrp2 contributes to the neurological disorders related with morphine withdrawal via Wnt/beta-catenin signaling[J]. Behav Brain Res, 2019, 359: 609-618
- [19] Liu X, Lu X, Song K, et al. Natural Functions of PLIN2 Mediating Wnt/LiCl Signaling and Glycogen Synthase Kinase 3 (GSK3)/GSK3 Substrate-Related Effects Are Modulated by Lipid [J]. Mol Cell Biol, 2016, 36(3): 421-437
- [20] Zeng W, Zhang W, Lu F, et al. Resveratrol attenuates MPP (+)-induced mitochondrial dysfunction and cell apoptosis via AKT/GSK-3 β pathway in SN4741 cells[J]. Neurosci Lett, 2017, 637: 50-56
- [21] 屈杜洁,郇宇,赵又谊,等. Wnt/ β -catenin 信号介导的小鼠海马神经元发生参与睡眠剥夺引起的学习记忆下降[J].神经解剖学杂志, 2019, 35(02): 134-140

- 粒体功能的干预研究[D]. 天津医科大学, 2019
- [13] Birkenfeld AL, Jordan J, Dworak M, et al. Myocardial metabolism in heart failure: Purinergic signalling and other metabolic concepts[J]. Pharmacol Ther, 2019, 194: 132-144
- [14] Patel DK, Strong J. The Pleiotropic Effects of Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors: Beyond the Glycemic Benefit[J]. Diabetes Ther, 2019, 10(5): 1771-1792
- [15] Verma S, Sharma A, Kanumilli N, et al. Predictors of heart failure development in type 2 diabetes: a practical approach [J]. Curr Opin Cardiol, 2019, 34(5): 578-583
- [16] Handelsman Y. Rationale for the Early Use of Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors in Patients with Type 2 Diabetes [J]. Adv Ther, 2019, 36(10): 2567-2586
- [17] Sharma A, Ezekowitz JA. Role of Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibition in the Treatment of Adults With Heart Failure [J]. Can J Diabetes, 2020, 44(1): 103-110
- [18] Scheen André J. SGLT-2 抑制剂恩格列净可减少心血管高危 2 型糖尿病患者的肾脏终点事件, 并抑制肾小球滤过率逐渐降低的进展[J]. 英国医学杂志中文版, 2017, 20(9): 528-529
- [19] Santos-Ferreira D, Gonçalves-Teixeira P, Fontes-Carvalho R. SGLT-2 Inhibitors in Heart Failure and Type-2 Diabetes: Hitting Two Birds with One Stone[J]. Cardiology, 2020, 145(5): 311-320
- [20] Alicic RZ, Neumiller JJ, Johnson EJ, et al. Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibition and Diabetic Kidney Disease[J]. Diabetes, 2019, 68(2): 248-257
- [21] Raz I, Cahn A. Heart failure: SGLT2 inhibitors and heart failure -- clinical implications[J]. Nat Rev Cardiol, 2016, 13(4): 185-156
- [22] Vaduganathan M, Butler J. SGLT-2 inhibitors in heart failure: a new therapeutic avenue[J]. Nature Medicine, 2019, 25(11): 1-2
- [23] Imprialos K, Stavropoulos K, Papademetriou V. Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors, Reverse J-Curve Pattern, and Mortality in Heart Failure[J]. Heart Fail Clin, 2019, 15(4): 519-530
- [24] Wang Y, Cheng C, Wang L, et al. Correction to: Anatomical variations in the origins of the celiac axis and the superior mesenteric artery: MDCT angiographic findings and their probable embryological mechanisms [J]. European Radiology, 2019, 29(12): e1007
- [25] 蒲阅丽, 刘淬平, 徐勇, 等. 恩格列净通过抑制细胞焦亡改善糖尿病小鼠肾脏损伤[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(2): 149-155
- [26] 吴易航, 张宇辉, 张健. SGLT2i 恩格列净对 2 型糖尿病患者心脏保护作用的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2020, 41, 225(8): 5-7+47
- [27] Seung-No, Hong, Yu-Lian, et al. Probable Roles of Coagulation Cascade and Fibrinolysis System in the Development of Allergic Rhinitis [J]. American journal of rhinology & allergy, 2019, 33(2): 137-144
- [28] Williams DM, Evans M. Are SGLT-2 Inhibitors the Future of Heart Failure Treatment. The EMPEROR-Preserved and EMPEROR-Reduced Trials[J]. Diabetes Ther, 2020, 11(9): 1925-1934
- [29] Lee PC, Ganguly S, Goh SY. Weight loss associated with sodium-glucose cotransporter-2 inhibition: a review of evidence and underlying mechanisms[J]. Obes Rev, 2018, 19(12): 1630-1641
- [30] Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D, Wie L, et al. Dapagliflozin a glucose-regulating drug with diuretic properties in subjects with type 2 diabetes[J]. Diabetes Obes Metab, 2013, 15(9): 853-862

(上接第 3010 页)

- [22] Huo X Y, Zhang X Y, Yuan F, et al. HOXB7 promotes proliferation and metastasis of glioma by regulating the Wnt/beta-catenin pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(6): 2476-2485
- [23] Hong X, Zhang Z, Pan L, et al. MicroRNA-301b promotes the proliferation and invasion of glioma cells through enhancing activation of Wnt/beta-catenin signaling via targeting Glypican-5[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 854: 39-47
- [24] 王琬, 贾朋丽, 田旭升, 等. 基于 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的电针抗抑郁中枢效应机制研究 [J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(06): 1011-1015
- [25] 赵轶男, 袁志, 毕龙, 等. LncRNA MEG3 通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路对骨关节炎软骨细胞增殖和凋亡的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(24): 4617-4623
- [26] Zhang J F, Zhang J S, Zhao Z H, et al. MicroRNA-770 affects proliferation and cell cycle transition by directly targeting CDK8 in glioma[J]. Cancer Cell Int, 2018, 18: 195
- [27] Wang J, Zou Y, Wu X, et al. DACH1 inhibits glioma invasion and tumor growth via the Wnt/catenin pathway [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 5853-5863
- [28] Qi Z, Shi W, Zhao Y, et al. Zinc accumulation in mitochondria promotes ischemia-induced BBB disruption through Drp1-dependent mitochondria fission[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 377: 114601
- [29] SOKOLOVA I M, SOKOLOV E P, HAIDER F. Mitochondrial Mechanisms Underlying Tolerance to Fluctuating Oxygen Conditions: Lessons from Hypoxia-Tolerant Organisms [J]. Integr Comp Biol, 2019, 59(4): 938-952
- [30] SHIMAUCHI T, NISHIMURA A, ISHIKAWA T, et al. Eco-pharma of approved drug focused on mitochondria fission [J]. Nihon Yakurigaku Zasshi, 2017, 149(6): 269-273