

研究论文

*LIN28*基因对人胰腺癌细胞PANC1和SW1990增殖和迁移的影响

卞石惠¹ 李杰¹ 龚爱华² 陈晖¹ 蒋小猛¹ 张尤历¹ 徐岷^{1*}(¹江苏大学附属医院, 镇江 212000; ²江苏大学, 镇江 212000)

摘要 该文目的为研究*LIN28*基因对人胰腺癌细胞增殖和迁移的影响, 揭示其在胰腺癌发生发展中的作用。实验发现, 胰腺癌细胞中*LIN28*的表达模式与细胞增殖和迁移能力有关, 将干扰质粒*LIN28* shRNA转染入*LIN28*高表达的PANC1细胞, 将过表达载体3×Flag-*LIN28*转染入低表达的SW1990细胞中, 采用RT-PCR和Western blot实验验证基因沉默或过表达的效果, 并运用CCK-8法分析细胞的增殖能力并绘制细胞生长曲线, Transwell实验检测细胞迁移率。结果显示, 下调*LIN28*后, PANC1细胞中*LIN28*基因的表达量明显降低, 细胞增殖减慢, 迁移减少; 而上调*LIN28*后, SW1990细胞中*LIN28*基因的表达量明显增高, 细胞增殖加快, 迁移增加。由此说明, 沉默*LIN28*基因可以抑制PANC1细胞增殖和迁移, 过表达*LIN28*基因可以促进SW1990细胞增殖和迁移, 这为阐明*LIN28*在胰腺癌演化过程中的机制奠定了实验基础。

关键词 *LIN28*; 胰腺癌; 细胞增殖; 细胞迁移

Effects of *LIN28* Gene on Proliferation and Migration of Human Pancreatic Cancer Cells PANC1 and SW1990

Bian Shihui¹, Li Jie¹, Gong Aihua², Chen Hui¹, Jiang Xiaomeng¹, Zhang Youli¹, Xu Min^{1*}(¹Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China; ²Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China)

Abstract The paper aimed at investigating the effects of *LIN28* expression in proliferation and migration of pancreatic cancer cells. The preliminary experiment results showed that the abilities of cell proliferation and migration of pancreatic cancer cells associated with the expression pattern of *LIN28* gene. Then the specific shRNA against *LIN28* and the expressing vector 3×Flag-*LIN28* were transiently transfected into the pancreatic cancer cells PANC1 and SW1990, respectively. The results of RT-PCR and Western blot demonstrated that the expression of *LIN28* was efficiently inhibited or enhanced at both mRNA and protein levels ($P < 0.05$). CCK-8 and transwell assays revealed that *LIN28* depletion decreased cell proliferation and migration rates on PANC1 cells ($P < 0.05$), and conversely *LIN28* overexpression increased cell proliferation and migration rates on SW1990 ($P < 0.05$). Taken together, our results suggested that the expression level of *LIN28* related to the activities of proliferation and migration of pancreatic cancer cells. This study will be an experimental support for clarifying the regulation role of *LIN28* in pancreatic cancer evolution.

Keywords *LIN28*; pancreatic cancer; cell proliferation; cell migration

收稿日期: 2014-07-10 接受日期: 2014-11-12

国家自然科学基金(批准号: 81472333)和江苏省自然科学基金(批准号: BK2013247)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0511-85026370, E-mail: peterxu1974@163.com

Received: July 10, 2014 Accepted: November 12, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81472333) and Natural Science Foundation of Jiangsu Province (Grant No.BK2013247)

*Corresponding author. Tel: +86-511-85026370, E-mail: peterxu1974@163.com

网络出版时间: 2015-01-19 15:36

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150119.1536.002.html>

胰腺癌是一种高度恶性的消化道肿瘤,发病率逐年上升,五年生存率约为4.1%,中位生存期仅3.9个月^[1],预后严重不良。在临床上,胰腺癌早期表现隐匿、诊断困难,多数就诊患者错失了手术机会。如果从肿瘤过度增殖和早期转移的分子机理角度寻找有效的阻断靶点,对于指导治疗以提高胰腺癌患者生存率具有重要意义。

*LIN28*是一种高度保守的RNA结合蛋白,参与调控多种重要的生物学功能。*LIN28*最重要的功能莫过于其维持干细胞干性的功能,将*LIN28*与其他3个因子*NANOG*、*OCT4*和*SOX2*共同转入到人体上皮细胞中,可将其重编程为多能干细胞^[2]。*LIN28*还参与调节葡萄糖代谢过程,过表达*LIN28*可以增强细胞对胰岛素的敏感性,抑制*LIN28*可以导致胰岛素抵抗和葡萄糖耐受不良^[3]。*LIN28*还是一种致癌因子,Viswanathan等^[4]发现,*LIN28*家族在人类原发性肿瘤和肿瘤细胞株中高表达,并与多种肿瘤如慢性粒细胞白血病、肝癌、卵巢癌、生殖细胞肿瘤、Wilm瘤等的晚期进展和早期复发相关。除此以外,有文献报道*LIN28*家族在乳腺癌^[5]、口腔鳞状细胞癌^[6]和胶质瘤^[7]等恶性肿瘤中也发挥了致癌作用。

然而,目前关于*LIN28*在胰腺癌发生发展中的生物学功能和分子调控的研究鲜有报道。本研究发现,*LIN28*在三种胰腺癌细胞系中差异表达,即*LIN28*在PANC1细胞中高表达,在SW1990和PaTu8988细胞中低表达。更重要的是,PANC1细胞的增殖率和迁移率明显高于其他两种细胞,推测胰腺癌细胞的生物学特性与*LIN28*的表达量有关。为了验证*LIN28*在胰腺癌细胞中促增殖、促迁移的作用,本研究首先应用RNAi技术,将构建好的*LIN28*特异性shRNA瞬转PANC1细胞,观察下调*LIN28*对PANC1细胞增殖和迁移的影响。另外,还将*LIN28*过表达载体瞬转*LIN28*低表达细胞株SW1990,观察过表达*LIN28*对SW1990细胞增殖和迁移能力的影响。本研究在两种胰腺癌细胞株中证明了*LIN28*的作用,为后续研究*LIN28*在胰腺癌演化过程中的作用机制奠定了实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和质粒 人胰腺癌细胞株SW1990、PaTu8988和PANC1由第二军医大学消化内科实验室

保存;pLKO.1-puro载体和*LIN28*过表达质粒3×Flag-*LIN28*由江苏大学医学院生物学实验室保存。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清FBS购自Gibco公司;DMEM培养基购自HyClone公司;转染试剂lipofectamine 2000购自Invitrogen公司;限制性内切酶*EcoR* I和*Age* I购自Fermentas公司;兔抗人*LIN28*抗体购自Cell Signaling公司;鼠抗人Flag抗体购自Santa Cruz公司;兔抗人GAPDH抗体购自Bioworld公司;CKK-8溶液购自南京诺唯赞生物科技有限公司;Transwell小室购自Corning公司;dsDNA oligos由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 RT-qPCR 提取细胞总RNA并逆转录成cDNA,定量PCR检测*LIN28*的表达。*LIN28*上游引物序列:5'-CGC TCG ACC CCC CAG TGG ATG-3',下游引物序列:5'-TGG GGT GGC AGC TTG CAT TCC-3'。*GAPDH*上游引物序列:5'-TGG GGA AGG TGA AGG TCG G-3',下游引物序列:5'-CTG GAA GAT GGT GAT GGG A-3'。

1.2.2 Western blot 裂解细胞时加入2×loading蛋白上样缓冲液,95 °C加热5 min,用10% SDS-PAGE蛋白电泳分离样品,湿转法转至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭2 h,加入一抗4 °C孵育过夜,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗室温孵育1 h,ECL化学发光检测显影,在凝胶成像系统上拍照并分析。

1.2.3 *LIN28*干扰质粒的构建 在Sigma公司官网搜索已在肺癌A549细胞中证实的*LIN28* shRNA的序列。*LIN28* shRNA上游引物序列:5'-CCG GCA CCT TTA AGA AGT CAG CCA ACT CGA GTT GGC TGA CTT CTT AAA GGT GTT TTT G-3',下游引物序列:5'-AAT TCA AAA ACA CCT TTA AGA AGT CAG CCA ACT CGA GTT GGC TGA CTT CTT AAA GGT G-3'。对照组*EGFP* shRNA上游引物序列:5'-CCG GTA CAA CAG CCA CAA CGT CTA TCT CGA GAT AGA CGT TGT GGC TGT TGT ATT TTT G-3',下游引物序列:5'-AAT TCA AAA ATA CAA CAG CCA CAA CGT CTA TCT CGA GAT AGA CGT TGT GGC TGT TGT A-3',引物退火形成带黏性末端的双链。*EcoR* I及*Age* I双酶切pLKO.1-puro载体并与双链DNA连接后转化感受态细胞,挑取克隆进行菌液PCR鉴定,所构建质粒经测序正确后用于细胞转染实验。

1.2.4 细胞转染 将对数生长期的PANC1细胞以 4×10^5 /孔铺于6孔板上,贴壁12 h后转染质粒,转染前1 h更换无血清培养基,每孔转质粒2.5 μ g,质粒与lipofectamine 2000质量体积比为1:3,溶于DMEM中,转染4~6 h后更换完全培养基。

1.2.5 CCK-8法检测细胞增殖能力 将转染12 h后的细胞用0.25%胰酶消化,1 $\times$ 磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗1次,以 1×10^3 /孔种于96孔板中,接种4板,每板分2组,同时设空白对照组(不加细胞),分别于1, 2, 3, 4 d加入10 μ L CCK-8溶液,避光孵育2 h后,在酶联免疫检测仪450 nm处测量各孔的吸光值。重复3次取平均值,以时间为横轴、吸光度为纵轴绘制生长曲线。

1.2.6 Transwell迁移实验检测细胞迁移能力 细胞转染48 h后,消化细胞并收集于EP管,PBS清洗1次,无血清DMEM重悬为 1×10^5 /孔,种入不含基质胶的侵袭小室(transwell)上层(100 μ L/孔),下层加入含有10% FBS的DMEM溶液,24 h后结晶紫染色并于显微镜下观察、拍照。

1.2.7 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。实验数据用均数 $\pm$ 标准差表示,两样本均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检测LIN28基因在三种胰腺癌细胞中的表达

荧光定量PCR结果表明,SW1990和PaTu8988细胞中LIN28基因的mRNA表达量明显低于PANC1细胞,差异有统计学意义($P < 0.05$)(图1A)。Western

blot检测结果证实,PANC1细胞中LIN28基因的蛋白表达量也明显高于SW1990和PaTu8988细胞(图1B)。

2.2 比较三种胰腺癌细胞的增殖和迁移能力

CCK-8结果显示,PANC1细胞的增殖速率明显高于SW1990和PaTu8988细胞,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而SW1990和PaTu8988两细胞间增殖速率无显著性差异(图2)。

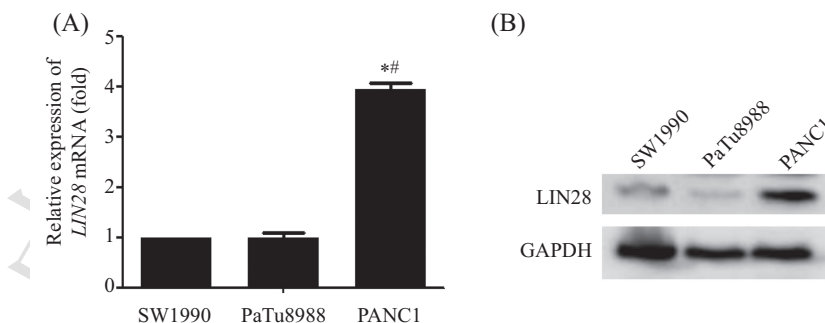
Transwell迁移实验结果显示,SW1990、PaTu8988、PANC1细胞穿膜细胞数分别为(25 ± 4)、(68 ± 7)、(155 ± 9.0)(图3)。PANC1细胞的穿膜细胞数明显高于SW1990和PaTu8988细胞,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 在PANC1细胞中鉴定LIN28基因干扰效果

本实验选取高表达LIN28的PANC1细胞进行基因沉默实验。转染72 h后,荧光定量PCR结果表明,与对照组(EGFP shRNA)相比,实验组(LIN28 shRNA)中LIN28的mRNA表达量明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)(图4A)。Western blot检测结果证实,实验组LIN28的蛋白表达量也明显降低(图4B)。由此说明,本研究所用的LIN28 shRNA能够特异且有效地抑制胰腺癌PANC1细胞中LIN28基因的表达。

2.4 下调LIN28基因对PANC1细胞增殖和迁移的影响

为分析沉默LIN28基因对PANC1细胞生长速率的影响,分别在质粒转染后的四个时间点检测96孔板中两组细胞的生长增殖情况。与对照组相比,实验组细胞的生长增殖减慢,在48 h即开始出现增殖



A: 荧光定量PCR检测LIN28基因在mRNA水平的表达。* $P < 0.05$, 与SW1990组比较, # $P < 0.05$, 与PaTu8988组比较; B: Western blot检测LIN28基因在蛋白水平的表达。

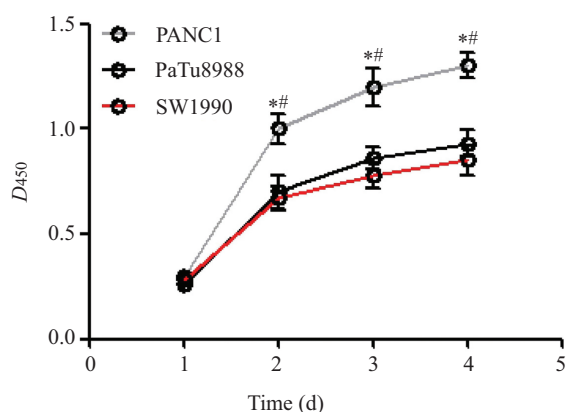
A: determination of LIN28 mRNA level by Real-time PCR. * $P < 0.05$ vs SW1990 group, # $P < 0.05$ vs PaTu8988 group; B: determination of LIN28 protein level by Western blot.

图1 LIN28在三种胰腺癌细胞中的表达

Fig.1 Expressions of LIN28 gene in three pancreatic cancer cells

抑制, 随时间延长抑制越明显 ($P<0.05$)。由此说明, 下调*LIN28*基因可以减慢PANC1细胞的增殖速率, 抑制其生长(图5)。

Transwell迁移实验结果显示, 实验组与对照组穿膜细胞数分别为(83 ± 5)、(35 ± 6), 两组差异有统计学意义 ($P<0.05$), 说明下调*LIN28*基因使PANC1细胞迁移能力减弱(图6)。

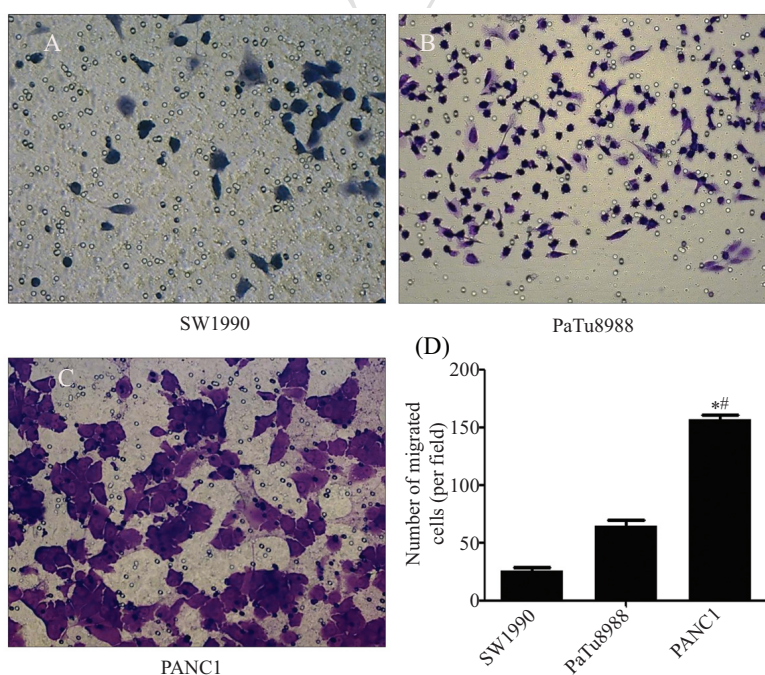


* $P<0.05$, 与SW1990组比较; # $P<0.05$, 与PaTu8988组比较。

* $P<0.05$ vs SW1990 group; # $P<0.05$ vs PaTu8988 group.

图2 三种胰腺癌细胞生长曲线图

Fig.2 Growth curves of three pancreatic cancer cells



A、B、C: 分别对SW1990、PaTu8988和PANC1细胞进行迁移实验。迁移的细胞用结晶紫染色30 min; D: 对SW1990、PaTu8988和PANC1细胞进行计数和分析。* $P<0.05$, 与SW1990组比较; # $P<0.05$, 与PaTu8988组比较。

A,B,C: SW1990, PaTu8988 and PANC1 cells were subjected to migration assays, respectively. The migrated cells were stained with crystal violet for 30 min; D: SW1990, PaTu8988 and PANC1 cells were counted and analyzed. * $P<0.05$ vs SW1990 group; # $P<0.05$ vs PaTu8988 group.

图3 三种胰腺癌细胞迁移力比较(200×)

Fig.3 Comparison of the migration force in three pancreatic cancer cells (200×)

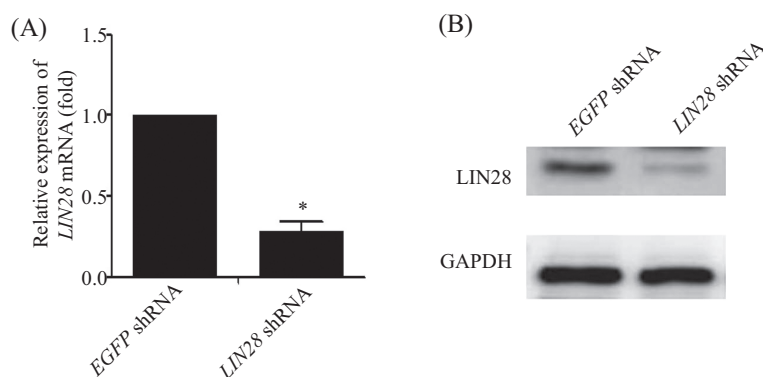
2.5 在SW1990细胞中鉴定*LIN28*基因过表达效果

本实验选取低表达*LIN28*的SW1990细胞进行基因过表达实验。转染72 h后, 荧光定量PCR结果表明(图7A), 与空载组(3×Flag-vector)相比, 实验组(3×Flag-*LIN28*)中*LIN28*基因的mRNA表达量增加约1 200倍, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。Western blot检测结果显示: 实验组标签蛋白Flag呈阳性, 而空载组Flag呈阴性, 说明实验组细胞表达融合蛋白Flag-*LIN28*(图7B)。由此说明, 本研究所用的3×Flag-*LIN28*质粒能够有效地增加胰腺癌SW1990细胞中*LIN28*基因的表达。

2.6 过表达*LIN28*基因对SW1990细胞增殖和迁移的影响

为分析过表达*LIN28*基因对SW1990细胞生长速率的影响, 分别在质粒转染后四个时间点(1, 2, 3, 4 d)检测96孔板中两组细胞的生长增殖情况。与空载组相比, 实验组细胞的生长增殖加快, 随时间延长增强越明显 ($P<0.05$)。由此说明, 过表达*LIN28*基因可以加快SW1990细胞的增殖速率, 促进其生长(图8)。

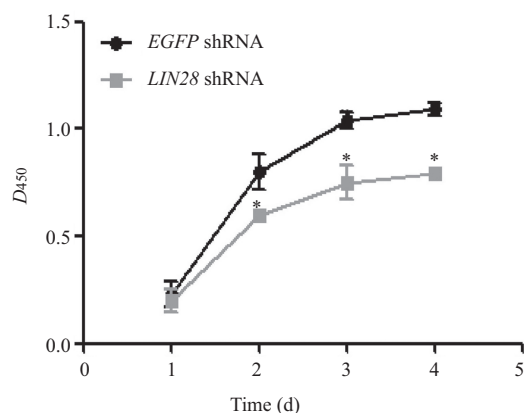
Transwell迁移实验结果显示: 实验组与空载组的穿膜细胞数分别为(110 ± 6)、(45 ± 3), 两组差



A: *LIN28* shRNA转染PANC1细胞后*LIN28*在mRNA水平的表达; B: *LIN28* shRNA转染PANC1细胞后*LIN28*在蛋白水平的表达。* $P<0.05$, 与EGFP shRNA组比较。

A: expressions of *LIN28* mRNA in PANC1 cells transfected by *LIN28* shRNA; B: expressions of *LIN28* protein in PANC1 cells transfected by *LIN28* shRNA. * $P<0.05$ vs EGFP shRNA group.

图4 shRNA介导的PANC1细胞*LIN28*表达抑制
Fig.4 shRNA-mediated *LIN28* depletion in PANC1 cells



* $P<0.05$, 与EGFP shRNA组比较。

* $P<0.05$ vs EGFP shRNA group.

图5 下调*LIN28*基因对PANC1细胞生长的影响

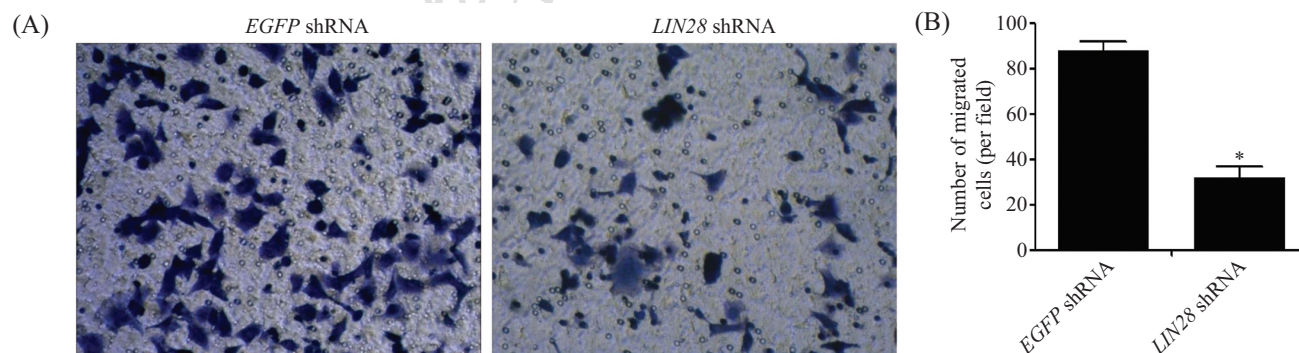
Fig. The effect of *LIN28* knockdown on cell growth of PANC1

异具有统计学意义($P<0.05$), 说明过表达*LIN28*使SW1990细胞迁移能力增强(图9)。

3 讨论

*LIN28*是一种高度保守的RNA结合蛋白, 在转录后水平选择性地阻断miRNA(microRNA, 微小RNA) let-7家族的生物合成过程^[8]。Let-7通过与靶mRNA(s)的特定序列结合, 诱导靶mRNA(s)的剪切或阻遏其翻译。由于*LIN28*对let-7的抑制作用使let-7下游癌相关基因去抑制, 从而促进肿瘤的恶性进程。

*LIN28*家族在恶性肿瘤发生发展过程中发挥重要的功能。Chang等^[9]发现, *LIN28B*在myc诱导的B细胞淋巴瘤模型中高表达, 成熟的let-7低表达。

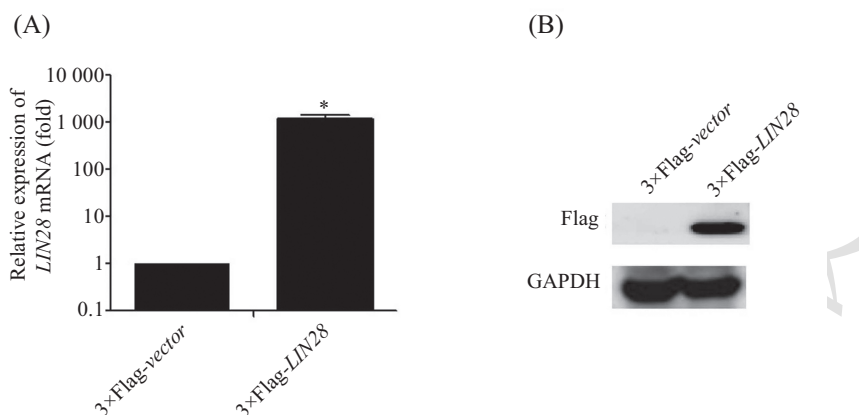


A: PANC1细胞转染EGFP shRNA或*LIN28* shRNA后进行迁移实验。迁移的细胞用结晶紫染色30 min; B: 对PANC1细胞进行计数和分析。* $P<0.05$, 与EGFP shRNA组比较。

A: PANC1 cells transfected with the EGFP shRNA or *LIN28* shRNA were subjected to migration assays. The migrated cells were stained with crystal violet for 30 min; B: PANC1 cells were counted and analyzed. * $P<0.05$ vs EGFP shRNA group.

图6 下调*LIN28*基因对PANC1细胞迁移的影响(200×)

Fig.6 The effect of *LIN28* knockdown on cell migration of PANC1 (200×)

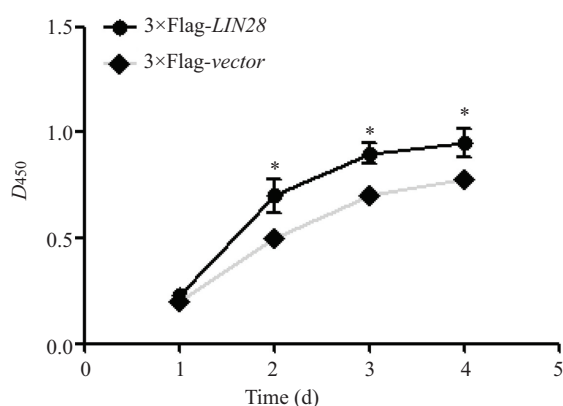


A: 荧光定量PCR检测*LIN28*在mRNA水平的表达; B: Western blot检测标签蛋白Flag的表达。* $P < 0.05$, 与3×Flag-vector组比较。

A: determination of *LIN28* mRNA level by Real-time PCR; B: determination of tag fusion protein Flag by Western blot. * $P < 0.05$ vs 3×Flag-vector group.

图7 表达载体介导的SW1990细胞*LIN28*表达增加

Fig.7 Expression vector-mediated *LIN28* over-expression in SW1990 cells



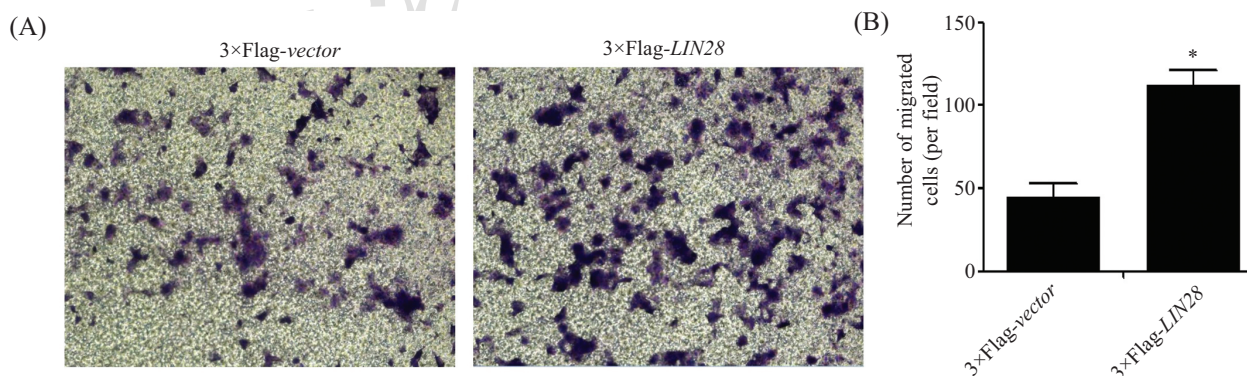
* $P < 0.05$, 与3×Flag-vector组比较。

* $P < 0.05$ vs 3×Flag-vector group.

图8 过表达*LIN28*基因对SW1990细胞生长的影响

Fig.8 The effect of *LIN28* over-expression on cell growth of SW1990

Myc是转录因子, 能与*LIN28B*的启动子区结合, 增强*LIN28B*的表达, 进而抑制let-7的成熟; 而let-7又能结合到*myc* mRNA的3'-UTR(3'非编码端), 抑制*myc*的表达。因此, *myc*/*LIN28*/let-7形成一个正反馈致癌环路, 从而增强*myc*介导的促增殖等致癌作用。*LIN28B*在结肠癌组织中高表达, 并通过对let-7的抑制而促进结肠癌的转移^[10-11]。*LIN28*对指导肿瘤放疗化疗也有重要意义。研究发现, 在高表达*LIN28*的乳腺癌细胞中干扰*LIN28*能增强放疗敏感性, 而在稳转*LIN28*的乳腺癌细胞系中过表达let-7a能够抑制放疗抵抗, 因此*LIN28*可能参与了乳腺癌的放疗抵抗^[12]。紫杉醇(paclitaxel, TAX)是治疗肝癌的化疗药物之一, 在肝癌细胞耐药株Hep3B/TAX中*LIN28*的表达异常增高, 而let-7家族表达量降低, 在该耐药株中抗



A: SW1990细胞转染3×Flag-vector或3×Flag-LIN28后进行迁移实验。迁移的细胞用结晶紫染色30 min; B: 对SW1990细胞进行计数和分析。* $P < 0.05$, 与3×Flag-vector组比较。

A: SW1990 cells transfected with the 3×Flag-vector or 3×Flag-LIN28 were subjected to migration assays. The migrated cells were stained with crystal violet for 30 min; B: SW1990 cells were counted and analyzed. * $P < 0.05$ vs 3×Flag-vector group.

图9 过表达*LIN28*基因对SW1990细胞迁移的影响(100×)

Fig.9 The effect of *LIN28* over-expression on cell migration of SW1990 (100×)

凋亡蛋白bcl-xL的表达量显著增加,推测LIN28/let-7/bcl-xL通路参与肝癌细胞的耐药过程^[13]。研究还指出,高表达LIN28的恶性肿瘤可能通过两条途径产生:一是由表达LIN28的干/祖细胞发生遗传突变而转化产生;二是由体细胞发生遗传突变激活LIN28的表达而形成^[14]。

通过预实验我们发现,LIN28在胰腺癌细胞PANC1中的表达远远高于SW1990和PaTu8988细胞,同时发现,PANC1细胞的增殖率和迁移率也高于另两种细胞,因此推测胰腺癌细胞的恶性程度与LIN28的表达模式有关。有研究发现,LIN28在高分化胃腺癌细胞株MKN28中的RNA和蛋白水平均低表达,而在低分化胃腺癌细胞株MKN45中高表达^[15]。因此,我们分别选择LIN28高表达的PANC1细胞和低表达的SW1990细胞进行沉默和过表达实验,来探讨LIN28对胰腺癌细胞增殖和迁移的影响。

我们分别设计并构建特异性干扰LIN28的shRNA和过表达LIN28的载体3×Flag-LIN28,分别瞬转入PANC1和SW1990细胞中。转染72 h后,荧光定量PCR和Western blot检测结果表明,LIN28基因在mRNA及蛋白水平均被明显抑制或增强,说明我们设计的干扰和过表达载体是有效的。在此基础上,我们分别采用CCK-8实验检测细胞增殖和迁移的变化,结果表明,LIN28的表达被抑制后,PANC1细胞的增殖和迁移能力明显降低;而增强LIN28的表达后,SW1990细胞的增殖和迁移能力明显增强。据报道,过表达LIN28能够提高食管癌细胞的增殖和侵袭力^[16]。尽管我们已经对LIN28基因在胰腺癌PANC1和SW1990中的作用有了初步认识,但是LIN28在胰腺癌中可能的分子机制还有待研究,今后我们将进一步研究LIN28基因在胰腺癌临床组织中的表达意义及LIN28/let-7信号通路在胰腺癌发病机制中的作用,以完善LIN28基因对乳腺癌的作用。

参考文献 (References)

- 1 Luo J, Xiao L, Wu C, Zheng Y, Zhao N. The incidence and survival rate of population-based pancreatic cancer patients: Shanghai Cancer Registry 2004-2009. *PLoS One* 2013; 8(10): e76052.
- 2 Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, *et al.* Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318(5858): 1917-20.
- 3 Zhu H, Shyh-Chang N, Segre AV, Shinoda G, Shah SP, Einhorn WS, *et al.* The LIN28/let-7 axis regulates glucose metabolism. *Cell* 2011; 147(1): 81-94.
- 4 Viswanathan SR, Powers JT, Einhorn W, Hoshida Y, Ng TL, Toffanin S, *et al.* LIN28 promotes transformation and is associated with advanced human malignancies. *Nat Genet* 2009; 41(7): 843-8.
- 5 Liu Y, Li H, Feng J, Cui X, Huang W, Li Y, *et al.* LIN28 induces epithelial-to-mesenchymal transition and stemness via downregulation of Let-7a in breast cancer cells. *PLoS One* 2013; 8(12): e83083.
- 6 Wu T, Jia J, Xiong X, He H, Bu L, Zhao Z, *et al.* Increased expression of LIN28B associated with poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2013; 8(12): e83869.
- 7 Qin R, Zhou J, Chen C, Xu T, Yan Y, Ma Y, *et al.* LIN28 is involved in glioma carcinogenesis and predicted outcomes of glioblastoma multiforme patients. *PLoS One* 2014; 9(1): e86446.
- 8 Thornton JE, Gregory RI. How does LIN28 let-7 control development and disease? *Trends Cell Biol* 2012; 22(9): 474-82.
- 9 Chang TC, Zeitels LR, Hwang HW, Chivukula RR, Wentzel EA, Dews M, *et al.* Lin-28B transactivation is necessary for Myc-mediated let-7 repression and proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(9): 3384-9.
- 10 King CE, Wang L, Winograd R, Madison BB, Mongroo PS, Johnstone CN, *et al.* LIN28B fosters colon cancer migration, invasion and transformation through let-7-dependent and -independent mechanisms. *Oncogene* 2011; 30(40): 4185-93.
- 11 King CE, Cuatrecasas M, Castells A, Sepulveda AR, Lee JS, Rustgi AK. LIN28B promotes colon cancer progression and metastasis. *Cancer Res* 2011; 71(12): 4260-8.
- 12 Wang LB, Yuan C, Lü KZ, Xie SD, Fu PF, Liu XJ, *et al.* LIN28 mediates radiation resistance of breast cancer cells via regulation of caspase, H2A.X and Let-7 signaling. *PLoS One* 2013; 8(6): e67373.
- 13 Tian N, Han Z, Li Z, Zhou M, Fan C. LIN28/let-7/Bcl-xL pathway: the underlying mechanism of drug resistance in Hep3B cells. *Oncol Rep* 2014; 32: 1050-6.
- 14 Viswanathan SR, Daley GQ. LIN28: A microRNA regulator with a macro role. *Cell* 2010; 140(4): 445-9.
- 15 罗 玄, 吴云林, 冯立新. LIN28对胃腺癌细胞株增殖周期的影响及机制. *内科理论与实践*(Luo Xuan, Wu Yunlin, Feng Lixin. Influence and mechanism of LIN28 on cell cycle regulation in gastric carcinoma cells. *J Intern Med Concepts Pract*) 2010; 5(1): 62-7.
- 16 Hamano R, Miyata H, Yamasaki M, Sugimura K, Tanaka K, Kurokawa Y, *et al.* High expression of LIN28 is associated with tumour aggressiveness and poor prognosis of patients in oesophagus cancer. *Br J Cancer* 2012; 106(8): 1415-23.