

·专题·

慢病毒 sh-SIRT1 载体对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

李新¹, 田蜜², 王程¹

(1.荆门市第二人民医院甲乳外科,湖北 荆门 448000;

2.荆门市公安局法医鉴定中心,湖北 荆门 448000)

摘要:目的 探讨慢病毒 sh-SIRT1 载体对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。方法 收集 2017 年 1 月~2019 年 12 月荆门市第二人民医院确诊的 80 例乳腺癌患者的癌组织及癌旁正常组织,采用 qPCR 方法检测 SIRT1 基因的表达水平,qPCR 和免疫印迹方法检测慢病毒 sh-SIRT1 载体的有效性,MTT 法检测乳腺癌细胞活性,Transwell 法检测乳腺癌细胞的侵袭和迁移,Western Blot 检测乳腺癌细胞 EMT 相关蛋白的表达。结果 SIRT1 在乳腺癌中呈高度表达,癌旁组织中呈低表达;与人乳腺上皮细胞(MCF-10A)相比,乳腺癌细胞系(MDA-MB-231,SK-BR-3)中 SIRT1 的基因表达增加。不同年龄、吸烟行为、酗酒行为间 SIRT1 表达比较,差异无统计学意义($P>0.05$);不同 T 分期、N 分期、M 分期间 SIRT1 表达比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。MTT 法检测显示,在 MDA-MB-231 细胞和 SK-BR-3 细胞中 sh-SIRT1 可抑制乳腺癌细胞的增殖;Transwell 法检测显示,在 MDA-MB-231 细胞中 sh-SIRT1 可抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭;Western Blot 检测显示,sh-SIRT1 可抑制 α -catenin、PTEN 和 E-cadherin 表达下调,促进 N-cadherin、 β -catenin 和 Vimentin 表达上调。结论 SIRT1 在乳腺癌细胞中高表达,慢病毒 sh-SIRT1 载体可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

关键词:shRNA 慢病毒载体;SIRT1;乳腺癌;增殖

中图分类号:R737.9

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.06.001

文章编号:1006-1959(2021)06-0001-05

Effects of Lentiviral sh-SIRT1 Vector on the Proliferation, Migration and Invasion of Breast Cancer Cells

LI Xin¹,TIAN Mi²,WANG Cheng¹

(1.Department of Thoracic and Breast Surgery,Jingmen Second People's Hospital,Jingmen 448000,Hubei,China;

2.Forensic Appraisal Center of Jingmen Public Security Bureau,Jingmen 448000,Hubei,China)

Abstract:Objective To investigate the effect of lentiviral sh-SIRT1 vector on the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells. Methods Collected the cancer tissues and adjacent normal tissues of 80 breast cancer patients diagnosed in Jingmen Second People's Hospital from January 2017 to December 2019. qPCR method was used to detect the expression level of SIRT1 gene, qPCR and western blot methods were used to detect the effectiveness of lentiviral sh-SIRT1 vector, MTT method was used to detect breast cancer cell viability, the Transwell method was used to detect breast cancer cell invasion and migration, and Western Blot was used to detect breast cancer. Expression of EMT-related proteins in cells. Results SIRT1 was highly expressed in breast cancer and low in adjacent tissues; compared with human breast epithelial cells (MCF-10A),increased expression of SIRT1 gene in breast cancer cell lines (MDA-MB-231, SK-BR-3);There was no statistically significant difference in the expression of SIRT1 among different ages, smoking behaviors, and alcohol abuse behaviors ($P>0.05$).Comparison of SIRT1 expression during different T stage, N stage and M stage, the difference was statistically significant ($P<0.05$);MTT assay found that sh-SIRT1 could inhibit the proliferation of breast cancer cells in MDA-MB-231 cells and SK-BR-3 cells;Transwell assay found that sh-SIRT1 could inhibit the migration and invasion of breast cancer cells in MDA-MB-231 cells.Western Blot detection found that sh-SIRT1 could inhibit the down-regulation of α -catenin, PTEN and E-cadherin expression, and promote the up-regulation of N-cadherin, β -catenin and Vimentin expression.Conclusion SIRT1 is highly expressed in breast cancer cells. The lentiviral sh-SIRT1 vector can inhibit the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells.

Key words:shRNA lentiviral vector;SIRT1;Breast cancer;Proliferation

乳腺癌(breast cancer)是女性最常见的恶性肿瘤,严重影响女性身心健康^[1-3]。据统计^[4,5],世界乳腺癌发病率呈上升趋势,我国乳腺癌发病率的增长速度高于世界平均增长速度。近年来随着分子靶向治疗在乳腺癌中的作用越来越受到研究者重视,基因靶向治疗已逐渐成为乳腺癌研究热点^[6,7]。沉默信息调节因子 1(SIRT1)是 Sirtuin 家族的第一个成员,参

与肿瘤等多种疾病的发生,影响疾病的发展和耐药性^[8-10]。研究表明^[11],siRNA-SIRT1 干扰宫颈癌细胞 SIRT1 的表达,可抑制宫颈癌细胞的迁移能力;另有研究发现^[12],顺铂联合 siRNA-SIRT1 可降低宫颈癌细胞耐药基因的表达水平,从而提高宫颈癌细胞对顺铂的敏感性。因此,本研究通过构建 SIRT1 基因的 shRNA 慢病毒载体,观察 SIRT1 在乳腺癌细胞中的表达变化,探讨 SIRT1 在乳腺癌中的作用及机制,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月~2019 年 12 月荆门市第二人民医院确诊的 80 例乳腺癌患者的癌组

基金项目:湖北省自然科学基金项目(编号:2019CFC854)

作者简介:李新(1980.6-),男,湖北荆门人,硕士,副主任医师,主要从事乳腺肿瘤的研究

通讯作者:王程(1968.9-),男,湖北荆门人,本科,副主任医师,主要从事普外肿瘤的研究

织及癌旁正常组织。纳入标准:符合乳腺癌的诊断标准^[13];排除标准:精神病患者;患有其他肿瘤;有手术、化疗、放疗或抗生素治疗史的患者及不配合治疗者。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 乳腺癌细胞株 [MDA-MB-231 (BNCC337893)、SK-BR-3 (BNCC100524)] 和人正常乳腺细胞 [MCF10A (BNCC100439)] 均从 Bena 培养库中购买,在 37℃ 5%CO₂ 的细胞培养箱中培养细胞。乳腺癌细胞系的培养体系为 1640 培养基 (Hyclone 公司)+10%胎牛血清溶液 (Gibco 公司)+1%青霉素/链霉素溶液 (100X, Solarbio 公司), MCF-10A 细胞系的培养体系为 DMEM 培养基 (Hyclone 公司)+10%胎牛血清溶液 (Gibco 公司)+1%青霉素/链霉素溶液 (100X, Solarbio 公司)。随后实验将在细胞培养密度达到 80%~90%后进行,转染前 1 d,采用无血清培养基代替完全培养基,转染时将 1×10⁵ 细胞/孔的细胞接种到 6 孔板上。用 Lipofectamine 2000 转染试剂盒 (Invitrogen, USA) 转染细胞株,转染 4~6 h 后,换成新鲜完全培养基。在乳腺癌细胞系中表达 sh-SIRT1 后,观察乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。

1.2.2 慢性病毒空载体的包装及病毒滴度的测定 从 Gen-Bank 中查找 SIRT1 基因的序列 (NM001033578.2), 给人类 SIRT1 基因设计一个特殊的 sh-RNA 序列,阴性对照 (NC) 作为对照。利用北京 Berry 基因组学构建 SIRT1 基因的 shRNA 慢性病毒表达载体,并采用克隆 PCR 法筛选重组克隆进行比对鉴定。将绿色荧光蛋白 (GFP) 与慢性病毒包装质粒共转染 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞。转染 1 d 后,改变培养基,培养 2 d 后,收集慢性病毒浓缩液感染的 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞,荧光显微镜下观察 GFP 表达,评价病毒感染效率。另采用含 10% FBS、100 U/ml 青霉素和 100 U/ml 链霉素的 DMEM 培养基,用常规液体交换法传代感染 SIRT1-shRNA 慢性病毒的 SK-BR-3 和 MDA-MB-231 细胞。将细胞移植到 6 孔板中,每孔 2×10⁵ 个细胞。第 2 天,当细胞生长密度达到 50%左右时,在细胞培养液 (10% FBS、4 μg/ml 多胺) 中感染相应滴度的病毒溶液。

1.2.3 定量聚合酶链反应 (qPCR) 采用 Trizol 纯化组织或细胞的总 RNA。用总外显子 RNA 和蛋白质分离试剂盒 (货号 4478545, Invitrogen) 纯化外显子总 RNA。用紫外分光光度计在 260~280 nm 处检测总 RNA 的浓度和纯度,选择 OD₂₆₀/OD₂₈₀>1.8 进行 qPCR 检测。采用 Fast-King 一步反转录荧光定量试剂盒 (北京天根公司,产品目录号 FP314) 和 ABI-

PRISM 7000 (美国应用生物系统公司) 对总 RNA 进行反转录、PCR 扩增和荧光定量。SIRT1 和 mRNA 引物由上海桑根生物科技有限公司设计合成。反应体系严格按照试剂盒说明书 (50 μl) 进行:上下游引物 1.25 μl, 探针 1.0 μl, RNA 模板 10 μg, 50×ROX 参比染料 ROX 5 μl, 50 μl 总反应体系中加入无 RNase dd H₂O。反应过程:50℃ 反转录 30 min; 95℃ 预变性 3 min; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 40 个循环。结果用 ABI 棱镜 7000 仪器进行分析,观察 SIRT1 在乳腺癌组织或细胞系中的基因表达水平。采用类似的方法^[14],用 qPCR 的方法检测乳腺癌组织和癌旁组织中 SIRT1 的表达,癌组织中 SIRT1 的表达大于癌旁组织的平均值一倍以上视为高表达,其余认为是低表达,内参基因为 GAPDH。

1.2.4 免疫印迹 收集细胞裂解液,以 1,2000 r/min 离心 15 min。取上清液,SDS-PAGE 电泳分离蛋白。将蛋白质转移到 NC 膜上,在室温下放置 1 h (用 5% 脱脂牛奶溶液封闭)。加入 SIRT1、α-catenin、PTEN、E-cadherin、N-cadherin、β-catenin、Vimentin 和 GAPDH 等抗体,放置在 4℃ 下过夜。用 PBST 溶液清洗 NC 膜 3 次,加入相应二抗 (HRP 交联),室温孵育 1 h。最后,用 PBST 溶液清洗 NC 膜,并用增强化学发光法进行可视化处理。内参蛋白为 GAPDH,待测蛋白的相对表达水平=待测条带的灰度值/GAPDH 条带的灰度值,观察 SIRT1 蛋白及 ECT 相关蛋白在乳腺癌组织或细胞系中的表达水平。

1.2.5 细胞迁移和侵袭 采用胰蛋白酶酶解法制备细胞悬液。将细胞接种于 2×10⁴ 细胞/孔的移行上腔 (含 200 μl 10%胎牛血清+1% DMEM 培养基),并将 DMEM 培养基 (含 10%胎牛血清,总体积 500 μl) 加入下腔。细胞培养 24 h 后,取上腔液,擦去腔壁细胞。用 4%的多聚甲醛固定细胞 20 min。0.1%结晶紫染色 10 min, PBS 缓冲液洗涤。在 200 倍显微镜下采集细胞迁移图像。随机选取 5 个视野计算细胞数,取平均值作为细胞数,实验重复 3 次。在上述步骤上,用 8%的基质胶铺贴用于侵袭实验,每孔细胞数增加到 5×10⁴ 个,观察 sh-SIRT1 在乳腺癌细胞中的转移能力。

1.2.6 MTT 法检测细胞活性 用胰蛋白酶酶解法对细胞进行消化,将细胞离心除去酶液,加入新鲜培养基,吹制细胞悬液。取 4 个 96 孔板,按每孔 5×10³ 孔/100 μl 的规格接种细胞,每组 3 孔。每 24 h 取一孔板,加入 5 mg/ml MTT 溶液 10 μl/孔,继续培养 1 h,取出培养基,用酶标仪在 570 nm 处测定 OD 值。实验重复 3 次,观察细胞活性-时间曲线,分析 sh-SIRT1 在乳腺癌细胞中的增殖能力。

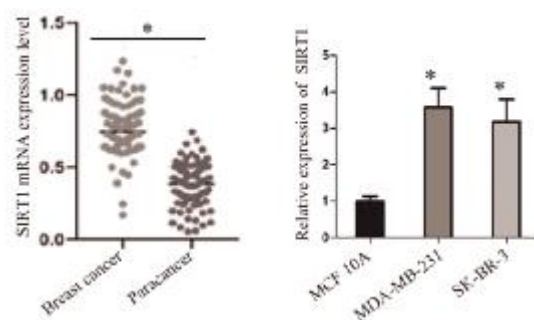
1.3 统计学方法 数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行处理。计数资料以(n)表示,采用 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SIRT1 在乳腺癌中的表达情况 SIRT1 在乳腺癌中呈高度表达,癌旁组织中呈低表达;与人乳腺上皮细胞(MCF-10A)相比,乳腺癌细胞系(MDA-MB-231、SK-BR-3)中 SIRT1 的基因表达增加,见图 1。

2.2 SIRT1 表达与临床特征的关系 不同年龄、吸烟行为、酗酒行为间 SIRT1 表达比较,差异无统计学意义

($P > 0.05$);不同 T 分期、N 分期、M 分期间 SIRT1 表达比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。



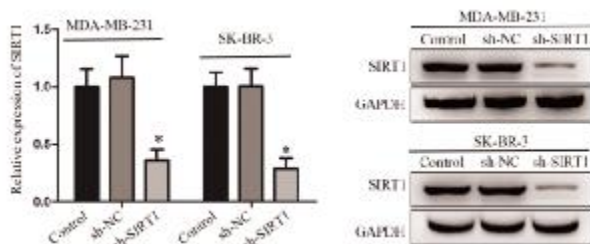
注: * $P < 0.05$

图 1 SIRT1 在乳腺癌中的表达情况

表 1 SIRT1 表达与临床特征的关系[n(%)]

项目	n	SIRT1 低表达	SIRT1 高表达	χ^2	P
年龄(岁)				1.270	0.260
≤45	45	25(62.50)	20(50.00)		
>45	35	15(37.50)	20(50.00)		
吸烟				1.289	0.256
是	47	21(52.50)	26(65.00)		
否	33	19(47.50)	14(35.00)		
酗酒				0.051	0.822
是	45	23(57.50)	22(55.00)		
否	35	17(42.50)	18(45.00)		
T 期				20.830	0.001
T ₁ /T ₂	48	34(85.00)	14(35.00)		
T ₃ /T ₄	32	6(15.00)	26(65.00)		
N 期				7.231	0.007
N ₀	45	30(66.67)	15(37.50)		
N ₁	35	15(33.33)	25(62.50)		
M 期				21.330	0.001
M ₀	50	35(87.50)	15(37.50)		
M ₁	30	5(12.50)	25(62.50)		

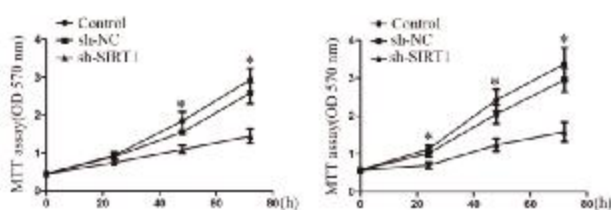
2.3 构建慢病毒载体 sh-SIRT1 细胞系 在 MDA-MB-231 细胞系和 SK-BR-3 细胞系中构建了 sh-SIRT1 的慢病毒表达体系;qPCR 和 Western Blot 检测发现,构建的两个细胞系中 SIRT1 基因水平和蛋白水平表达均明显下降,见图 2。



注: * $P < 0.05$

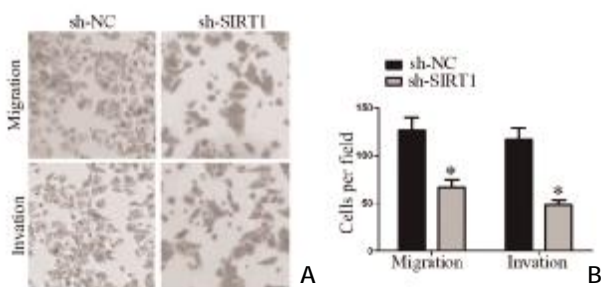
图 2 构建 sh-SIRT1 的慢病毒表达细胞系

2.4 sh-SIRT1 对乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭的影响 MTT 法检测显示,在 MDA-MB-231 细胞和 SK-BR-3 细胞中 sh-SIRT1 可抑制乳腺癌细胞的增殖(图 3)。Transwell 法检测显示,在 MDA-MB-231 细胞中 sh-SIRT1 可抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭(图 4)。



注: * $P < 0.05$

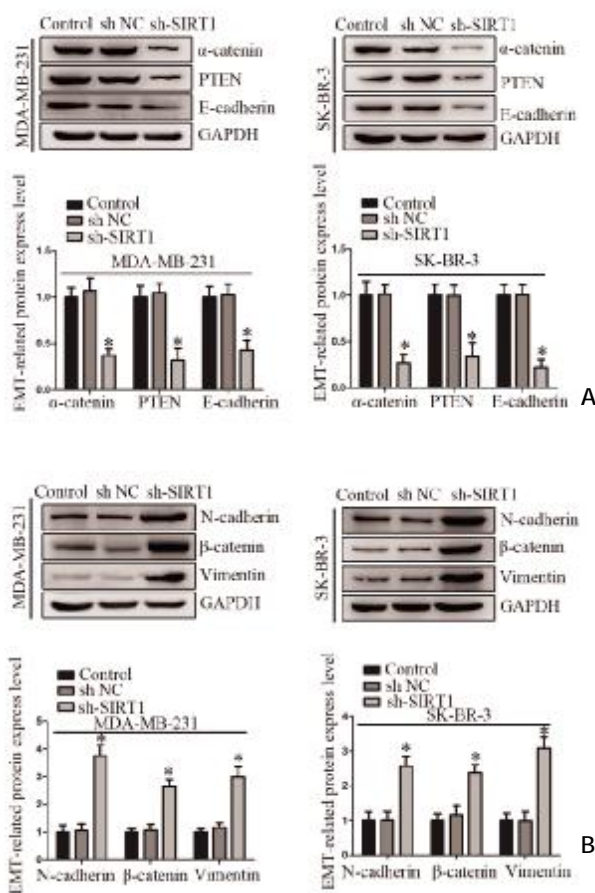
图 3 sh-SIRT1 对乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭的影响



注:A:0.1%结晶紫染色 10 min($\times 200$);B: $^*P<0.05$

图4 sh-SIRT1对MDA-MB-231细胞迁移和侵袭的影响

2.5 sh-SIRT1对乳腺癌细胞EMT过程的影响
Western Blot检测显示,sh-SIRT1可抑制 α -catenin、PTEN和E-cadherin表达下调(图5A),促进N-cadherin、 β -catenin和Vimentin表达上调(图5B)。



注: $^*P<0.05$

图5 sh-SIRT1对乳腺癌细胞EMT的影响

3 讨论

慢性病毒载体是目前最适合体内基因转化甚至基因治疗的载体工具^[15,16]。研究表明^[17],慢性病毒载体是在免疫缺陷病毒的基础上发展起来的一种基因治疗载体,属于自杀病毒。慢性病毒载体能产生表达shRNA的高滴度病毒,诱导基因表达的沉默功能,成为沉默细胞基因,其介导的RNA干扰技术对基因治疗的发展具有重要意义^[18,19]。

本研究结果发现,SIRT1基因在乳腺癌组织中

呈高表达,在乳腺癌细胞系SK-BR-3和MDA-MB-231中也呈高表达,表明SIRT1在乳腺癌中上调。此外,通过对80例乳腺癌患者临床特征进行分析,结果发现SIRT1在T₃/T₄、N₁和M₁中高表达,而与年龄、吸烟和酗酒无相关关系,这也提示SIRT1参与了乳腺癌的转移进展过程。此外,本研究成功构建了慢病毒载体sh-SIRT1细胞系,并发现sh-SIRT1可以抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,这与SIRT1在乳腺癌的发病与转移中具有高表达相一致。SIRT1是一个组蛋白脱乙酰化酶家族,参与不同细胞中各种蛋白质的乙酰化修饰^[20]。有研究表明^[21],SIRT1通过调节谷氨酰胺代谢,抑制细胞生长、增殖和转化,从而发挥其促癌作用。另有研究表明,SIRT1通过乙酰化细胞核中的靶蛋白改变细胞活性并影响其细胞内功能^[22],恶性肿瘤的侵袭转移与SIRT1表达的上调密切相关,SIRT1下调会抑制肝癌和卵巢癌细胞的生长^[23],与胰腺癌^[24]、肝癌^[25]和肺癌^[26]等均密切相关。Wu SH等^[27]研究表明,shRNA慢病毒载体对CCR3基因表达的抑制作用可以有效地减少肥大细胞在局部组织中的迁移、浸润和脱颗粒,减轻变应性鼻炎小鼠的炎症反应。本研究通过建立shRNA慢病毒载体进一步补充了SIRT1对乳腺癌细胞的生物学功能。同时,通过shRNA慢病毒载体干扰SK-BR-3和MDAMB-231细胞中SIRT1的表达,观察了sh-SIRT1对乳腺癌细胞EMT过程的影响,结果表明EMT相关蛋白 α -catenin、PTEN和E-cadherin在乳腺癌细胞中出现表达下调,N-cadherin、 β -catenin和Vimentin出现表达上调,这为SIRT1参与乳腺癌的发生发展及转移提供了依据。研究报道^[28,29],SIRT1的mRNA和蛋白水平降低,从而抑制EMT并影响EMT相关分子,包括PTEN和E-cadherin。Qi HF等^[30]通过双荧光素酶报告基因检测证实了SIRT1是miR-448的直接靶点,激活SIRT1将逆转miR-448模拟物诱导的非小细胞肺癌细胞EMT生长抑制能力,并起到破坏作用。以上结果表明,慢病毒sh-SIRT1干扰SIRT1表达, α -catenin、PTEN、E-cadherin等细胞间聚集的粘附分子表达水平上调,最终抑制乳腺癌细胞EMT的增殖。慢病毒sh-SIRT1干扰SIRT1,会抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。然而,本研究中SIRT1慢病毒载体与乳腺癌细胞增殖的关系只是初步研究,在未来的实验设计中SIRT1所涉及的信号通路可以作为SIRT1致癌网络的补充。

综上所述,SIRT1在乳腺癌细胞中高表达,慢病毒sh-SIRT1载体可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。因此,SIRT1基因shRNA慢病毒载体在乳腺癌靶向治疗中具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] Von Minckwitz G, Huang CS, Mano MS, et al. Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer [J]. *New England Journal of Medicine*, 2019, 380(7): 617-628.
- [2] Yanes T, Young MA, Meiser B, et al. Clinical applications of polygenic breast cancer risk: a critical review and perspectives of an emerging field [J]. *Breast Cancer Research*, 2020, 22(1): 10.
- [3] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Type and timing of menopausal hormone therapy and breast cancer risk: individual participant meta-analysis of the worldwide epidemiological evidence [J]. *Lancet*, 2019, 394(10204): 1159-1168.
- [4] Andre F, Ciruelos E, Rubovszky G, et al. Alpelisib for PIK3CA-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer [J]. *New England Journal of Medicine*, 2019, 380(20): 1929-1940.
- [5] 姚颖, 吴承玉. 体质与乳腺癌的相关性研究 [J]. *中国临床研究*, 2015, 28(4): 517-519.
- [6] Robson M, Im SA, Senkus E, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation [J]. *New England Journal of Medicine*, 2017, 377(6): 523-533.
- [7] Bertucci F, Ng CKY, Patsouris A, et al. Genomic characterization of metastatic breast cancers [J]. *Nature*, 2019, 569(7757): 560-564.
- [8] Cheng FF, Su L, Yao C, et al. SIRT1 promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis in colorectal cancer by regulating Fra-1 expression [J]. *Cancer Letters*, 2016, 375(2): 274-283.
- [9] Buhrmann C, Shayan P, Popper B, et al. Sirt1 Is Required for Resveratrol-Mediated Chemopreventive Effects in Colorectal Cancer Cells [J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 21.
- [10] Lee YH, Song NY, Suh J, et al. Curcumin suppresses oncogenicity of human colon cancer cells by covalently modifying the cysteine 67 residue of SIRT1 [J]. *Cancer Letters*, 2018(431): 219-229.
- [11] So D, Shin HW, Kim J, et al. Cervical cancer is addicted to SIRT1 disarming the AIM2 antiviral defense [J]. *Oncogene*, 2018, 37(38): 5191-5204.
- [12] Ferrer CM, Lu TY, Bacigalupa ZA, et al. O-GlcNAcylation regulates breast cancer metastasis via SIRT1 modulation of FOXM1 pathway [J]. *Oncogene*, 2017, 36(4): 559-569.
- [13] Campochiaro PA, Lauer AK, Sohn EH, et al. Lentiviral Vector Gene Transfer of Endostatin/Angiostatin for Macular Degeneration (GEM) Study [J]. *Human Gene Therapy*, 2017, 28(1): 99-111.
- [14] Igci M, Kalender ME, Borazan E, et al. High-throughput screening of Sirtuin family of genes in breast cancer [J]. *Gene*, 2016, 586(1): 123-128.
- [15] Doering CB, Denning G, Shields JE, et al. Preclinical Development of a Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Bioengineered Factor VIII Lentiviral Vector Gene Therapy for Hemophilia A [J]. *Human Gene Therapy*, 2018, 29(10): 1183-1201.
- [16] Charrier S, Lagresle-Peyrou C, Poletti V, et al. Biosafety Studies of a Clinically Applicable Lentiviral Vector for the Gene Therapy of Artemis-SCID [J]. *Molecular Therapy Methods & Clinical Development*, 2019(15): 232-245.
- [17] Farinelli G, Hernandez RJ, Rossi A, et al. Lentiviral Vector Gene Therapy Protects XCGD Mice From Acute Staphylococcus aureus Pneumonia and Inflammatory Response [J]. *Molecular Therapy*, 2016, 24(10): 1873-1880.
- [18] Estiri H, Fallah A, Soleimani M, et al. Stable Knockdown of Adenosine Kinase by Lentiviral Anti-ADK miR-shRNAs in Wharton's Jelly Stem Cells [J]. *Cell J*, 2018, 20(1): 1-9.
- [19] Shimizu S, Yadav SS, An DS. Stable Delivery of CCR5-Directed shRNA into Human Primary Peripheral Blood Mononuclear Cells and Hematopoietic Stem/Progenitor Cells via a Lentiviral Vector [J]. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 2016(1364): 235-248.
- [20] McAndrews KM, Lebleu VS, Kalluri R. SIRT1 Regulates Lysosome Function and Exosome Secretion [J]. *Developmental Cell*, 2019, 49(3): 302-303.
- [21] Kulkarni CA, Milliken AS, Brookes PS. Role of Acidic pH in Linking SIRT1 and Cardioprotective Metabolism [J]. *Circulation Research*, 2019(125): 1.
- [22] Foteinou PT, Venkataraman A, Francey LJ, et al. Computational and experimental insights into the circadian effects of SIRT1 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(45): 11643-11648.
- [23] Chen XJ, Huan HB, Liu CG, et al. Deacetylation of beta-catenin by SIRT1 regulates self-renewal and oncogenesis of liver cancer stem cells [J]. *Cancer Letters*, 2019(463): 1-10.
- [24] 田舍, 江建新, 喻超, 等. SIRT1 通过调节 FOXO1/RAB7 信号通路促进低氧诱导的胰腺癌细胞自噬 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(9): 1545-1550.
- [25] 林治华, 王俊伟, 邓雅庭, 等. SIRT1 与肝细胞癌病理及预后的研究进展及靶向治疗展望 [J]. *重庆理工大学学报: 自然科学*, 2019, 33(7): 221-227.
- [26] 臧宇, 傅恩清. 同步放化疗联合甘氨酸双唑钠治疗难治性非小细胞肺癌的疗效及对 microRNA-21 和 SIRT1 表达的影响 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2019, 26(8): 7-10.
- [27] Wu SH, Tang SY, Peng HS, et al. Effects of lentivirus-mediated CCR3 RNA interference on the function of mast cells of allergic rhinitis in mice [J]. *International Immunopharmacology*, 2020(78): 9.
- [28] He SX, Wang ZH, Tang H, et al. MiR-217 Inhibits Proliferation, Migration, and Invasion by Targeting SIRT1 in Osteosarcoma [J]. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 2019, 34(4): 264-270.
- [29] Liu H, Liu N, Zhao Y, et al. Oncogenic USP22 supports gastric cancer growth and metastasis by activating c-Myc/NAMPT/SIRT1-dependent FOXO1 and YAP signaling [J]. *Ag-ing (Albany NY)*, 2019, 11(21): 9643-9660.
- [30] Qi HF, Wang HF, Pang DB. miR-448 promotes progression of non-small-cell lung cancer via targeting SIRT1 [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2019, 18(3): 1907-1913.

收稿日期: 2020-11-13; 修回日期: 2020-12-18

编辑/王海静