

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.002

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.002

Fascin shRNA 通过 Notch1 信号通路调控 结直肠癌细胞的生长

余伟, 张志标, 马达

(汉川市人民医院普外二科, 湖北 汉川 431600)

[摘要] 目的: 研究聚束蛋白(Fascin)shRNA对结直肠癌细胞生长的影响。方法: 结直肠癌细胞HT29感染Fascin shRNA和shRNA control慢病毒, real-time PCR和Western印迹法分别测定细胞中Fascin mRNA和蛋白的表达水平, 同时用Western印迹法检测细胞中的Notch1蛋白水平。用Notch1信号通路抑制剂DAPT处理下调Fascin后的HT29细胞, MTT测定细胞增殖, 流式细胞术检测细胞周期, Western印迹法检测周期蛋白p27、细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)表达水平。结果: Fascin shRNA慢病毒感染后的细胞中Fascin转录和表达水平均降低, 而shRNA control慢病毒感染对细胞中的Fascin表达水平没有影响。沉默Fascin的细胞增殖能力降低, 细胞G₀/G₁比例升高, 细胞中Cyclin D1蛋白水平降低, p27蛋白水平升高。沉默Fascin能够降低细胞中Notch1蛋白水平, 并且Notch1信号通路抑制剂DAPT可以协同沉默Fascin, 进一步抑制结直肠癌细胞增殖, 阻滞结直肠癌细胞周期, 减少Cyclin D1蛋白表达, 促进p27蛋白表达。结论: Fascin shRNA通过抑制Notch1信号通路阻碍结直肠癌细胞增殖, 将细胞周期阻滞在G₀/G₁期。

[关键词] 结直肠癌; 增殖; Notch1信号通路; Fascin

Fascin shRNA regulates the growth of colorectal cancer cells through Notch I signaling pathway

YU Wei, ZHANG Zhibiao, MA Da

(Second Department of General Surgery, Hanchuan People's Hospital, Hanchuan Hubei 431600, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effect of Fascin shRNA on the growth of colorectal cancer cells. **Methods:** Colorectal cancer cells HT29 infected with Fascin shRNA and shRNA control lentivirus, real-time PCR and Western blot were used to measure the expression of Fascin mRNA and protein, at the same time, the level of Notch1 protein was detected by Western blot, Notch1 signaling pathway inhibitor DAPT was used to the HT29 cells after downregulate Fascin. Cell proliferation, cell cycle, the expression levels of cyclin p27 and Cyclin D1 were detected by MTT assay, flow cytometry, and Western blot, respectively. **Results:** After Fascin shRNA lentivirus infection, Fascin transcription and expression levels were reduced. However, shRNA control lentivirus had no effect on Fascin expression. The cell proliferation ability of silent Fascin was reduced, the

收稿日期 (Date of reception): 2018-09-13

通信作者 (Corresponding author): 张志标, Email: 1557666150@qq.com

proportion of G_0/G_1 in cells increased, the level of Cyclin D1 protein in the cells decreased, the level of p27 protein was increased. Silencing Fascin reduced the level of Notch1 protein in cells. Moreover, Notch1 signaling pathway inhibitor DAPT coexisted with silencing Fascin to further inhibit the proliferation of colorectal cancer cells, the cell cycle of colorectal cancer was blocked, the expression of Cyclin D1 protein reduced, the expression of p27 protein promoted. **Conclusion:** Fascin shRNA can inhibit proliferation and blocked cell cycle of colorectal cancer cells by inhibiting Notch1 signaling pathway.

Keywords colorectal cancer; proliferation; Notch1 signaling pathway; Fascin

结直肠癌是消化道常见恶性肿瘤之一, 是一种世界范围内恶性肿瘤, 与饮食、环境、生活方式等有关。随着分子生物学及临床诊疗技术的不断发展, 结直肠癌的治疗技术已经得到很大提高, 但是由于结直肠癌发展速度较快, 且早期的发病症状较为隐匿, 结直肠癌严重威胁着患者的健康, 探讨结直肠癌发病机制尤为重要^[1]。聚束蛋白(Fascin)最初是在海胆的卵母细胞中发现的, 能够与肌动蛋白结合, 因此命名为Fascin, 在脊柱动物中又称为Fascin-1, 其在充间质组织、神经系统广泛表达, 参与细胞的生长等过程^[2-4]。Fascin在单纯的柱状上皮如胆管、卵巢、结肠等中表达水平极低甚至不表达, 而在结直肠癌细胞、卵巢癌细胞等肿瘤细胞中表达水平升高^[5-7]。Fascin调控肿瘤细胞表型与Notch1有关, Fascin可以调控乳腺癌细胞干细胞特性, 作用机制与激活Notch1有关^[8]。本研究旨在明确Fascin对结直肠癌细胞增殖的影响, 以期阐明结直肠癌的发病机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

结直肠癌细胞HT29购自美国ATCC公司; PL0401062 p27抗体、PL0502539细胞周期蛋白D1(cyclin D1)抗体、PL0502349 Notch1抗体、PL0402214 Fascin抗体购自加拿大PL Laboratories; Notch1信号通路抑制剂DAPT购自美国Sigma公司; Fascin shRNA和shRNA control慢病毒由上海吉凯基因构建, Fascin shRNA序列为5'-ACTATAAC-AAGGTGGCCAT-3', shRNA control序列为5'-GTT-CTCCGAACGTGTACAGT-3'; Real-time PCR试剂盒购自美国SinoBio公司; cDNA第一链合成试剂盒购自北京TIANGEN; Fascin和 β -actin由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 慢病毒感染

HT29细胞感染Fascin shRNA和shRNA control

慢病毒, 病毒感染复数为10, 感染前将细胞种植到6孔板内, 培养密度为40%时, 将上清吸除, 加入病毒颗粒继续培养24 h, 更换细胞培养液, 3 d后, 嘌呤霉素筛选稳定感染的细胞进行传代培养。稳定感染shRNA control慢病毒的细胞记为阴性组, 稳定感染Fascin shRNA慢病毒的细胞记为干扰组, 没有感染慢病毒的细胞记为对照组。用Real-time PCR和Western印迹法检测干扰效果。

1.3 Realtime PCR

取各组细胞, 用移液枪把将培养液吸除以后, 加入冰预冷的生理盐水将细胞洗涤, 添加TRIzol裂解液, 置于冰上充分裂解细胞, 按照细胞总RNA提取试剂盒提取细胞中的总RNA, RNA以75%的乙醇洗涤以后, 用DEPC水溶解, 检测提取的RNA的 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 的比值在1.8~2.0。取RNA, 反转录合成cDNA, 步骤同cDNA第一链合成试剂盒。以Realtime PCR测定目的基因的转录水平, β -actin为内参, 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$, 15 s; 60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s; 共40个循环。引物参考文献[4], Fascin F-5'-AGGCGGCCAACGAGAGGAAC-3', R-5'-ACGATGATGGGGCGGTTGAT-3'; β -actin F-5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAAT-3', R-5'-AAAGAAAGGGTGTAACGCA-3'。

1.4 Western 印迹法

细胞蛋白提取: 取各组细胞, 将细胞培养液倒掉以后, 添加PBS洗涤2次, 加入100 μL 的裂解液, 置于冰上充分裂解30 min, 置于4 $^{\circ}\text{C}$ 离心机中, 高速(12 000 r/min)离心10 min, 细胞总蛋白存在于上清溶液中。以常规BCA法检测蛋白浓度后, 将蛋白样品保存在-80 $^{\circ}\text{C}$ 。蛋白变性: 取蛋白样品同上样缓冲液混合煮沸5 min以后, 使蛋白完全变性。SDS-PAGE电泳: 按照每个泳道上样量为30 μg , 在浓缩胶中电压调整为80 V, 在分离胶中电压调整为120 V, 电泳时间约为2.5 h。转膜: 取出凝胶, 在4 $^{\circ}\text{C}$, 100 V电压条件下, 把蛋白转

移到PVDF膜上。封闭：用5%牛血清白蛋白为封闭液，将PVDF膜置于其中，在室温中孵育2 h。抗体孵育：将PVDF膜置于一抗稀释液中(Fascin以1:200稀释，p27抗体以1:400稀释，Cyclin D1抗体以1:800稀释，Notch1抗体以1:400稀释)，在4℃过夜，将PVDF膜放在1:3 000稀释的二抗中，在37℃孵育1.5 h。显色：ECL发光，暗室中曝光， β -actin为内参，对蛋白进行定量。

1.5 细胞分组

HT29细胞分为对照组、阴性组、干扰组、干扰+DAPT组，对照组、阴性组、干扰组细胞分组方法同1.2。干扰组、干扰+DAPT组细胞为稳定感染Fascin shRNA慢病毒的细胞，同时在干扰+DAPT组细胞培养液中加入8 μ mol/L的Notch1信号通路抑制剂DAPT。以Western印迹法测定对照组、阴性组、干扰组、干扰+DAPT组细胞中Notch1蛋白表达水平，步骤同1.4。

1.6 MTT 法测定细胞增殖

对照组、阴性组、干扰组、干扰+DAPT组细胞以每孔4 000个细胞接种到96孔板内，培养2 d以后，在每孔中加入20 μ L的MTT溶液，孵育4 h以后，把上清吸除掉。在每个孔内加入150 μ L的DMSO溶液，继续孵育10 min。置于酶标仪检测490 nm的OD值。

1.7 流式细胞术测定细胞周期

收集对照组、阴性组、干扰组、干扰+DAPT组细胞，用PBS将细胞洗涤3次以后，转移至流式管中，1 000 r/min离心10 min，倒掉上清溶液，加入预冷的75%的甲醇溶液，置于4℃条件下过夜反应后，于离心机中，1 000 r/min离心10 min，加入碘化丙啶，置于4℃孵育30 min，立即用流式细胞仪测定细胞周期。

1.8 Western 印迹法检测细胞中 p27 和 Cyclin D1 蛋白表达水平

收集对照组、阴性组、干扰组、干扰+DAPT组细胞，用Western印迹法检测细胞中p27和Cyclin D1蛋白表达水平，步骤同1.4。

1.9 统计学处理

采用SPSS 21.0统计软件进行数据分析，计量

资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示，多组比较采用单因素方差分析，组间比较采用SNK-*q*检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Fascin shRNA 下调结肠癌细胞中 Fascin 表达

结肠癌细胞感染Fascin shRNA慢病毒后，细胞中的Fascin mRNA和蛋白水平均降低，而感染shRNA control慢病毒后的细胞中Fascin表达水平没有变化(图1，表1)。



图1 慢病毒感染下调结肠癌细胞中Fascin的表达

Figure 1 Downregulation of Fascin expression in colorectal cancer cells by lentivirus infection

表1 各组结肠癌细胞中Fascin的表达水平($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Expression level of Fascin in colorectal cancer cells ($\bar{x}\pm s$)

组别	Fascin mRNA	Fascin 蛋白
对照组	1.00	0.45 $\pm$ 0.06
阴性组	0.98 $\pm$ 0.12	0.43 $\pm$ 0.07
干扰组	0.41 $\pm$ 0.06*	0.18 $\pm$ 0.03*
<i>F</i>	56.117	21.670
<i>P</i>	<0.001	0.002

与对照组相比，* $P<0.05$

Compared with the control group, * $P<0.05$.

2.2 Notch1 信号通路抑制剂协同沉默 Fascin 下调结肠癌细胞中 Notch1 的表达

沉默Fascin后的结肠癌细胞中Notch1蛋白水平降低，提示沉默Fascin可以抑制结肠癌细胞中Notch1信号通路的激活。Notch1信号通路抑制剂DAPT可以协同沉默Fascin降低结肠癌细胞中Notch1蛋白表达(图2，表2)。

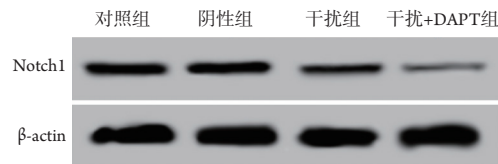


图2 Notch1信号通路抑制剂协同沉默Fascin下调结直肠癌细胞中Notch1的表达

Figure 2 Notch1 signaling pathway inhibitor co silencing Fascin down-regulation of Notch1 expression in colorectal cancer cells

表2 各组结直肠癌细胞中Notch1蛋白表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Expression level of Notch1 protein in colorectal cancer cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	Notch1
对照组	0.45 ± 0.08
阴性组	0.47 ± 0.06
干扰组	0.30 ± 0.03*
干扰+DAPT组	0.19 ± 0.02*
F	18.575
P	0.001

与对照组相比, * $P < 0.05$; 与干扰组相比, * $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the interfere group, * $P < 0.05$.

2.3 Notch1 信号通路抑制剂协同沉默 Fascin 抑制结直肠癌细胞增殖

沉默Fascin后的结直肠癌细胞OD值降低, 提示沉默Fascin可以抑制结直肠癌细胞增殖。Notch1信号通路抑制剂DAPT可以协同沉默Fascin降低结直肠癌细胞OD值, 抑制细胞增殖(表3)。

表4 各组结直肠癌细胞周期比例($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Cell cycle proportion of colorectal cancer in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞周期/%		
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照组	58.87 ± 5.16	23.54 ± 2.36	17.99 ± 1.62
阴性组	56.95 ± 3.58	24.87 ± 2.69	18.17 ± 1.74
干扰组	63.82 ± 2.10*	14.26 ± 1.54*	27.27 ± 1.42*
干扰+DAPT组	69.47 ± 3.51*	10.17 ± 1.40*	29.36 ± 2.11*
F	11.536	35.714	35.297
P	0.003	<0.001	<0.001

与对照组相比, * $P < 0.05$; 与干扰组相比, * $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the interfere group, * $P < 0.05$.

表3 各组结直肠癌细胞OD值($\bar{x} \pm s$)

Table 3 OD values of colorectal cancer cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	OD
对照组	0.29 ± 0.03
阴性组	0.28 ± 0.04
干扰组	0.20 ± 0.02*
干扰+DAPT组	0.14 ± 0.01*
F	15.429
P	0.001

与对照组相比, * $P < 0.05$; 与干扰组相比, * $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the interfere group, * $P < 0.05$.

2.4 Notch1 信号通路抑制剂协同沉默 Fascin 阻滞结直肠癌细胞周期

沉默Fascin后的结直肠癌细胞G₀/G₁期细胞比例升高, 提示沉默Fascin可以将结直肠癌细胞周期阻滞在G₀/G₁期。Notch1信号通路抑制剂DAPT可以协同沉默Fascin将结直肠癌细胞周期阻滞在G₀/G₁期, 阻碍细胞周期进程(表4)。

2.5 Notch1 信号通路抑制剂协同沉默 Fascin 促进结直肠癌细胞中 p27 表达并抑制 Cyclin D1 表达

沉默Fascin后的结直肠癌细胞中Cyclin D1蛋白水平降低, p27蛋白水平升高, 沉默Fascin可以通过抑制Cyclin D1蛋白表达, 促进p27蛋白表达阻滞细胞周期。Notch1信号通路抑制剂DAPT可以协同沉默Fascin减少结直肠癌细胞表达Cyclin D1, 诱导p27表达(图3, 表5)。

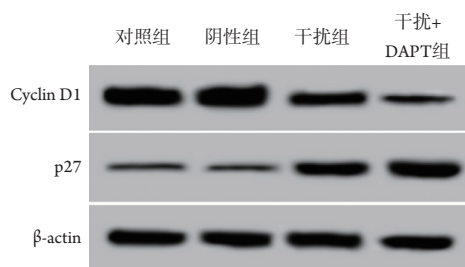


图3 Notch信号通路抑制剂协同沉默Fascin减少结直肠癌细胞中Cyclin D1表达并促进p27表达

Figure 3 Notch signaling pathway inhibitors cooperate with silencing Fascin to reduce Cyclin D1 expression and promote p27 expression in colorectal cancer cells

表5 各组结直肠癌细胞中p27、Cyclin D1蛋白水平($\bar{x} \pm s$)

Table 5 p27, Cyclin D1 protein levels in colorectal cancer cells($\bar{x} \pm s$)

组别	p27蛋白	Cyclin D1蛋白
对照组	0.21 ± 0.02	1.15 ± 0.10
阴性组	0.20 ± 0.03	1.13 ± 0.14
干扰组	0.84 ± 0.06*	0.82 ± 0.06*
干扰+DAPT组	1.08 ± 0.11 [#]	0.38 ± 0.04 [#]
F	140.912	44.667
P	0.000	0.000

与对照组相比, * $P < 0.05$; 与干扰组相比, [#] $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the interfere group, [#] $P < 0.05$.

3 讨论

人类的Fascin基因定位于7q22染色体上, 其编码的蛋白质可以特异性地与肌动蛋白结合, 促进平行排列的激动蛋白束形成, 其定位于激动蛋白束的核心, Fascin蛋白的N端含有11~50个氨基酸, 其位于第39位的丝氨酸高度保守, 是蛋白激酶C的磷酸化位点, 能够调控细胞的生长等特性^[9-11]。Fascin在胶质细胞、平滑肌细胞、内皮细胞等细胞中有表达, 在上皮细胞系中几乎不表达^[12]。研究^[13-14]表明: Fascin在几乎所有的肿瘤细胞中均呈现高表达, 并且与肿瘤的预后、分期等具有相关性, 还能够调控肿瘤细胞如胃癌、卵巢癌的增殖能力, 在肿瘤的发生过程中发挥癌基因的作用。本研究表明: 沉默Fascin后的结直肠癌细胞的增殖能力降低, 同时细胞周期被阻滞, 说明沉默Fascin可以通过阻滞细胞周期抑制结直肠癌细胞的增殖。

细胞周期与增殖具有直接关系, 与细胞凋亡、分化等具有间接联系, 其是生命科学领域研究的重要内容, 细胞周期包括G₁期、S期、G₂期及M期, 细胞按照上述时相发生细胞形态学变化, 在细胞周期进程中, G₁到S期, G₂到M期是较为重要的转接点, 受到多种调控因子的调控作用^[15-16]。Cyclin是一种正调控因子, 可以促进细胞周期进展, 在整个细胞周期中含量随着周期进展而不断变化, 其中CyclinD1在G₁期合成, 主要作用为促进G₁期向S期转换^[17]。p27是细胞周期的抑制因子, 能够抑制细胞周期促进因子的活性, 阻滞细胞周期进展, 具有抑癌基因的活性^[18]。有研究^[19]显示: Fascin下调后的胆管癌细胞G₁期比例升高, 沉默Fascin具有抑制细胞周期进程的作用。本研究结果显示: Fascin下调后的结直肠癌细胞周期G₀/G₁期比例升高, 说明沉默Fascin具有阻滞肿瘤细胞周期的作用。

在人类的T淋巴瘤母细胞白血病中Notch1表达水平升高后可以促进正常的细胞向恶性细胞转化, 在肾癌、宫颈癌、子宫内膜癌等中已经得到证实^[20-22]。Notch1在人类的正常组织生长发育中有重要作用, 与细胞的生长、分化等有关, 其是一个具有多种功能的信号转导通路^[23-24]。Notch1信号通路的激活水平同Fascin的表达有关, 对于二者之间的相互调控作用报道不同, Fascin可以激活Notch1信号通路维持乳腺癌干细胞特性, 而在胃癌细胞发现Notch1信号通路可以靶向Fascin影响肝癌细胞的生长^[8,25]。本研究结果显示: 沉默Fascin后的结直肠癌细胞中Notch1信号通路激活水平降低, 用Notch1信号通路抑制剂可以进一步促进沉默Fascin对结直肠癌细胞增殖和细胞周期的影响, 提示沉默Fascin可以通过抑制Notch1信号通路阻碍结直肠癌细胞的增殖。

综上, 沉默Fascin能够将细胞周期阻滞在G₀/G₁期, 抑制结直肠癌细胞的增殖, 作用机制与抑制Notch1信号通路激活有关, 靶向Fascin和Notch1信号通路抑制剂可能是治疗结直肠癌的有效途径, 这对于以后研究Fascin在肿瘤发生中的作用机制具有重大意义, 后续会在多株结直肠癌细胞中进行验证。

参考文献

- Malapelle U, Pisapia P, Sgariglia R, et al. Less frequently mutated genes in colorectal cancer: evidences from next-generation sequencing of 653 routine cases[J]. J Clin Pathol, 2016, 69(9):767-771.

2. Winkelman JD, Suarez C, Hocky GM, et al. Fascin- and α -actinin-bundled networks contain intrinsic structural features that drive protein sorting[J]. *Curr Bio*, 2016, 26(20): 2697-2706.
3. Qian CJ, Chen YY, Zhang X, et al. Notch4 inhibition reduces migration and invasion and enhances sensitivity to docetaxel by inhibiting Akt/fascin in pancreatic cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 3499-3505.
4. Villari G, Jayo A, Zanet J, et al. A direct interaction between fascin and microtubules contributes to adhesion dynamics and cell migration[J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(24): 4601-4614.
5. Oh SY, Kim YB, Suh KW, et al. Prognostic impact of fascin-1 expression is more significant in advanced colorectal cancer[J]. *J Surg Res*, 2012, 172(1): 102-108.
6. Yao J, Qian CJ, Ye B, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 signaling upregulates fascin via nuclear factor- κ B in gastric cancer: Implications in cell invasion and migration[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(3): 902-908.
7. Chauhan SC, Vannatta K, Ebeling MC, et al. Expression and functions of transmembrane mucin MUC13 in ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(69): 765-774.
8. Barnawi R, Al-Khaldi S, Majed SG, et al. Fascin is critical for the maintenance of breast cancer stem cell pool predominantly via the activation of the Notch self-renewal pathway[J]. *Stem Cells*, 2016, 34(12): 2799-2813.
9. Qian CJ, Chen YY, Zhang X, et al. Notch4 inhibition reduces migration and invasion and enhances sensitivity to docetaxel by inhibiting Akt/fascin in pancreatic cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 3499-3505.
10. Alalwan MM, Rowden G, Lee TD, et al. Fascin is involved in the antigen presentation activity of mature dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2001, 166(1): 338-345.
11. Adams JC, Schwartz MA. Stimulation of Fascin spikes by thrombospondin-1 is mediated by the Gtpases Rac and Cdc42[J]. *J Cell Biol*, 2000, 150(4): 807-822.
12. Kim SJ, Kim DC, Kim MC, et al. Fascin expression is related to poor survival in gastric cancer[J]. *Pathol Int*, 2012, 62(12): 777-784.
13. Zheng H, Zhao S. The meta and bioinformatics analysis of fascin expression in gastric cancer: a potential marker for aggressiveness and worse prognosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(62): 105574-105583.
14. Zheng HC, Zhao S. The meta and bioinformatics analysis of fascin expression in gastric cancer: a potential marker for aggressiveness and worse prognosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(62): 105574-105583.
15. 史志猛, 于红刚. Notch1信号通路在消化系统恶性肿瘤发病中的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(10): 16-18.
SHI Zhimeng, YU Honggang. Notch1 signaling pathway in the pathogenesis of digestive system malignancies[J]. *Journal of Medical Research*, 2016, 45(10): 16-18.
16. Tőkés T, Tőkés AM, Szentmártoni G, et al. Expression of cell cycle markers is predictive of the response to primary systemic therapy of locally advanced breast cancer[J]. *Virchows Arch*, 2016, 468(6): 675-686.
17. Gf DE, Sempereon SC, Niwa AM, et al. Roles of chlorophyllin in cell proliferation and the expression of apoptotic and cell cycle genes in HB4a non-tumor breast cells[J]. *Toxicol Mech Methods*, 2016, 26(5): 348-354.
18. Nahum A, Hirsch K, Danilenko M, et al. Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes[J]. *Oncogene*, 2001, 20(26): 3428-3436.
19. 李健. RNA干扰沉默Fascin基因对人胆管癌细胞QBC939增殖和凋亡的影响[D]. 衡阳: 南华大学, 2013.
LI Jian. Effect of RNA interference of Fascin gene silencing on apoptosis and proliferation of human cholangiocarcinoma cell line QBC939 in vitro[D]. Hengyang: South China University, 2013.
20. Liu S, Ma X, Ai Q, et al. NOTCH1 functions as an oncogene by regulating the PTEN/PI3K/AKT pathway in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(6): 938-948.
21. Talora C, Sgroi DC, Crum CP, et al. Specific down-modulation of Notch1 signaling in cervical cancer cells is required for sustained HPV-E6/E7 expression and late steps of malignant transformation[J]. *Genes Dev*, 2002, 16(17): 2252-2263.
22. Götte M, Greve B, Kelsch R, et al. The adult stem cell marker Musashi-1 modulates endometrial carcinoma cell cycle progression and apoptosis via Notch-1 and p21WAF1/CIP1[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(8): 2042-2049.
23. Redmond L, Oh SR, Hicks C, et al. Nuclear Notch1 signaling and the regulation of dendritic development[J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3(1): 30-40.
24. Breit S, Stanulla M, Flohr T, et al. Activating NOTCH1 mutations predict favorable early treatment response and long-term outcome in childhood precursor T-cell lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2006, 108(4): 1151-1157.
25. 周亮. Notch信号通路参与肝癌细胞侵袭迁移的机制研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
ZHOU Liang. The mechanism of Notch signaling pathway participating in hepatocellular carcinoma cells invasion and migration[D]. Xi'an: The Fourth Military Medical University, 2013.

本文引用: 余伟, 张志标, 马达. Fascin shRNA通过Notch1信号通路调控结直肠癌细胞的生长[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(2): 238-243. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.002

Cite this article as: YU Wei, ZHANG Zhibiao, MA Da. Fascin shRNA regulates the growth of colorectal cancer cells through Notch1 signaling pathway[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(2): 238-243. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.002