

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.10.1231

• 论 著 •

Musashi-1 在肝细胞肝癌中的表达及其与临床预后的关系

刘琛,董立巍,潘宇飞,谈冶雄*

第二军医大学东方肝胆外科医院生物信号转导研究室,上海 200438

【摘要】 目的 研究 Musashi-1 在肝细胞肝癌患者癌组织及癌旁组织中的表达,探讨其与临床预后的关系及对肝癌细胞转移侵袭的影响。**方法** 收集我院 2000 年 6 月至 2010 年 6 月间 138 例行根治性肝细胞肝癌切除术患者的术中肝癌以及癌旁样本,利用免疫组织化学方法检验癌组织与癌旁组织中 Musashi-1 的表达水平;通过 Pearson χ^2 检验和 Fisher 精确检验分析 Musashi-1 与患者临床特征以及预后之间的关系。利用 qPCR 检测癌组织和癌旁组织中 CD133 的表达并对癌组织中 Musashi-1 与 CD133 的表达水平进行相关性分析。构建稳定过表达 Musashi-1 的人肝癌细胞系 SMMC-7721 细胞,利用 Sphere 成球实验检测 Musashi-1 对肿瘤细胞成球能力的影响,利用肿瘤侵袭实验探究 Musashi-1 对肿瘤细胞侵袭能力的影响。**结果** 138 例肝细胞肝癌患者中有 105 例(76.1%)癌组织中 Musashi-1 的表达高于癌旁组织($P < 0.05$)。Musashi-1 的表达与甲胎蛋白(AFP)水平、腹水、远处转移有关($P < 0.05$),而与性别、年龄、乙肝病史、肿瘤大小、子灶、门静脉癌栓、镜下癌栓等无关。Musashi-1 的表达水平对患者总体生存率和无瘤生存率有显著影响($P < 0.05$)。肝癌组织中 CD133 mRNA 的表达高于癌旁组织($P < 0.05$),且 CD133 的表达与 Musashi-1 的表达呈正相关($R^2 = 0.78, P < 0.001$)。体外实验证实过表达 Musashi-1 的 SMMC-7721 细胞的成球能力和侵袭能力增强。**结论** Musashi-1 在肝细胞肝癌中表达增加,对肝细胞肝癌的进展可能具有促进作用,其表达水平可以为判断预后提供参考。

【关键词】 肝肿瘤;肝细胞癌;Musashi-1;肿瘤干细胞;预后;肿瘤转移

【中图分类号】 R 735.7 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 0258-879X(2017)10-1231-07

Expression of Musashi-1 in hepatocellular carcinoma and its relationship with clinical prognosis

LIU Chen, DONG Li-wei, PAN Yu-fei, TAN Ye-xiong*

Signal Transduction Laboratory, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

【Abstract】 Objective To study the expression of Musashi-1 in tumor tissues and adjacent non-tumor tissues of patients with hepatocellular carcinoma (HCC), and to explore the relationship between Musashi-1 and clinical prognosis and the effect of Musashi-1 on the metastasis and invasion of HCC cells. **Methods** We collected HCC tissues and adjacent non-tumor tissues from 138 patients undergoing radical resection of HCC in our hospital from June 2000 to June 2010. The expression of Musashi-1 in all tissues was detected by immunohistochemical method. The relationship between Musashi-1 expression and clinical characteristics and prognosis was analyzed by Pearson χ^2 test and Fisher exact test. The expression of CD133 in HCC tissues and adjacent non-tumor tissues was detected by qPCR and the correlation between Musashi-1 and CD133 in tumor tissues was analyzed. Finally, we constructed SMMC-7721 cells with stable overexpression of Musashi-1, determined the effect of Musashi-1 on the sphere-forming potential of SMMC-7721 cells using Sphere formation assay, and detected the effect of Musashi-1 on the ability of cell invasion by tumor invasion experiment. **Results** Musashi-1 was highly expressed in 105 (76.1%) HCC tissues compared with the adjacent non-tumor tissues ($P < 0.05$). The expression of Musashi-1 was related to α -fetoprotein (AFP) level, ascites and distant metastasis (all $P < 0.05$), but not to gender, age, HBV contagious history, tumor size, tumor foci, portal vein tumor thrombus or microscopic tumor thrombus ($P > 0.05$). Spearman analysis indicated that HCC patients with higher Musashi-1 expression have significantly worse overall survival rate ($P < 0.05$) and disease-free survival ($P < 0.05$)

【收稿日期】 2017-04-15 **【接受日期】** 2017-06-29

【基金项目】 上海市优秀学科带头人计划(14XD1400100). Supported by Leading Scientist Plan of Shanghai (14XD1400100).

【作者简介】 刘琛,硕士. E-mail: lejhon2009@126.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81875362, E-mail: yxtan1214@163.com

compared with those with low Musashi-1 expression. The expression of CD133 mRNA in HCC tissues was significantly higher than that in the adjacent non-tumor tissues ($P < 0.05$), and CD133 expression was positively correlated with Musashi-1 expression ($R^2 = 0.78$, $P < 0.001$). *In vitro* experiments confirmed that overexpression of Musashi-1 enhanced the sphere-forming potential and invasive ability of SMMC-7721 cells. **Conclusion** Musashi-1 has higher expression in HCC tissues and may promote HCC progression and metastasis. High level of Musashi-1 may indicate poor prognosis, providing a reference for prognosis judgment in HCC patients.

[Key words] liver neoplasms; hepatocellular carcinoma; Musashi-1; neoplastic stem cells; prognosis; neoplasm metastasis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(10): 1231-1237]

原发性肝癌是一种发病率和致死率相对较高的常见肿瘤,已成为全球范围内的肿瘤相关死亡的第三大重要因素^[1]。原发性肝癌中 70%~85%的组织学类型是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[2]。虽然近年在 HCC 的流行病学、发病机制以及诊疗方面都取得一定进展,但其高复发和高转移率仍严重影响患者预后^[3-4]。探索 HCC 发生、发展、转移和复发的机制对于控制肿瘤进展、改善患者预后具有重要的临床意义^[5]。肿瘤干细胞(tumor stem cell, TSC)对包括 HCC 在内的肿瘤的复发与转移起着重要的作用,因而,对肿瘤的诊断、治疗以及预后评估需要将 TSC 及其相关指标纳入考虑范围^[6]。

Musashi-1 是最先在果蝇体内被确认的一种 RNA 结合蛋白^[7],之后被用作神经干细胞的标志物^[8]。越来越多的证据显示, Musashi-1 在多种肿瘤中高表达,包括视网膜母细胞瘤、肺癌、食管腺癌、胶质瘤、胃肠道肿瘤等^[9-14]。在这些肿瘤中, Musashi-1 多与 TSC 相关并影响肿瘤的发生与转移。本研究主要探索 Musashi-1 在 HCC 中的表达及其与肝癌组织中公认 TSC 标志物 CD133 的关系,初步探讨其对 HCC 发生、发展、转移、复发的影响及其与 HCC 患者预后的关系。

1 材料和方法

1.1 标本来源 收集 138 例于 2000 年 6 月至 2010 年 6 月在我院行根治性 HCC 切除术患者的术中肿瘤标本及其相应的癌旁标本,患者均为随机选择。纳入标准:(1)术前均未接受其他抗肿瘤治疗;(2)均接受根治性 HCC 切除术;(3)术后病理报告证实为 HCC;(4)患者本人同意参加研究。排除标准:(1)围手术期死亡病例;(2)患者伴有其他严重的系统性疾病。将所收集的每例标本均分为 2 份,1 份用甲醛溶液固定后石蜡包埋以待切片,另 1 份新鲜组织样本迅速用液氮冷冻后储存于一 80 ℃ 冰箱。本研究通过第二军医大学东方肝胆外科医院伦理委员会批准,所有登记的患者均签署知情同意书。

1.2 免疫组织化学染色检测 Musashi-1 表达 石蜡

组织块预先置于一 20 ℃ 冷冻处理后,用 Leica 石蜡切片机切片,层厚 5 μm,贴于载玻片上,68 ℃ 烤箱烘烤约 1 h 后用全自动免疫组化仪器脱蜡,二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水,3%过氧化氢甲醇溶液抗原灭活 20 min,用酸性修复液修复抗原,1%小牛血清白蛋白(BSA) 37 ℃ 封闭 30 min。加入按 1:50 比例稀释的 Musashi-1 抗体(英国 Abcam 公司, ab52865),4 ℃ 过夜;第 2 天复温 15 min, PBS 漂洗 4 次,加入二抗于 37 ℃ 下孵育 30 min, DAB 显色后用 ddH₂O 终止反应,并用苏木精复染约 10 min, 盐酸乙醇分化后冲洗返蓝,梯度乙醇脱水后中性树脂封片。将免疫组织化学染色标本按以下标准评分:出现棕黄色颗粒的所有细胞(包括细胞膜、细胞质、细胞核)均判定为 Musashi-1 阳性细胞。根据染色的深浅程度,将阳性强度分为 3 个等级:0, 阴性, 淡黄色;1, 弱阳性, 黄或深黄色;2, 阳性, 褐或棕褐色。根据阳性细胞所占每个视野的范围分为 4 个等级:0, <25%;1, ≥25% 且 <50%;2, ≥50% 且 <75%;3, ≥75%。染色评分即视野中范围等级与强度等级的乘积。将总评分 <4 定义为低表达, ≥4 为高表达。所有免疫组化染色评分均由 2 位观察者独立完成。

1.3 蛋白质印迹实验检测 Musashi-1 表达 取大小约 5 mm×5 mm×5 mm 的新鲜组织,加入 RAIP 裂解液 500 μL,匀浆后转移到新的 EP 管中,4 ℃、12 000×g 离心 15 min,取上清用 BCA 法进行蛋白定量,然后进行 10% SDS-PAGE,用湿转仪将蛋白转移至硝酸纤维素膜上,5% BSA 溶液封闭,于室温分别标记一抗 Musashi-1(英国 Abcam 公司, ab52865; 1:1 000 稀释)、内参抗体 GAPDH(美国 CST 公司, 51332; 1:1 000 稀释) 3 h,对应的二抗室温标记 1 h, TBST 洗 3 次,每次 5 min。用 LICOR Odyssey Clx 扫描仪检测膜上的蛋白并进行半定量分析。

1.4 RNA 的抽提、反转录、qPCR 实验 分别取绿豆大小(约 50 mg)的新鲜癌组织及相应的癌旁组织置入 2 mL EP 管中,用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)提取总 RNA。取约 2 μg RNA 70 ℃ 变性,37 ℃ 反转录 1 h。使用罗氏 LightCycler 480 qPCR 系统

检测组织样品中 *Musashi-1* 和 *CD133* mRNA 的表达。*Musashi-1* 引物序列: 正向 5'-GCG ACA CTG CTG GAC AGG AAT TA-3', 反向 5'-CTG GTC CAT GAA AGT GAC GAA-3'; *CD133* 引物序列: 正向 5'-TTC TTG ACC GAC TGA GAC CCA-3', 反向 5'-TCA TGT TCT CCA ACG CCT CTT-3'; 内参基因 β *actin* 的引物序列: 正向 5'-CCA CCC ATG GCA AAT TTC-3', 反向 5'-GCC CAG GAT GCC CTT GA-3'。qPCR 反应条件: 95 °C 5 min, 1 个循环; 95 °C 30 s, 56 °C 40 s, 72 °C 40 s, 40 个循环; 95 °C 15 s, 60 °C 30 s, 95 °C 15 s, 1 个循环。

1.5 构建过表达 *Musashi-1* 的肝癌细胞系 将人肝癌细胞系 SMMC-7721 细胞(我院生物信号转导室细胞库)接种于含 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的 DMEM 培养液中, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 按照 1:3 传代。将细胞接种至 6 孔细胞培养板, 待细胞生长至 50% 融合时, 换无血清培养液, 按 3×10⁶ TU/mL 浓度分别加入 ov-NC、ov-*Musashi-1* 慢病毒(上海吉凯基因化学技术有限公司)以及增敏剂[polybrene, 吉满生物科技(上海)有限公司, 终浓度 10 μg/mL], 约 8 h 后换液, 待细胞生长至 90% 融合后逐步扩增并使用嘌呤霉素筛选。通过蛋白质印迹法检验细胞中 *Musashi-1* 的过表达效果。

1.6 Sphere 成球实验 用 6 孔低黏附细胞培养板(每孔加入 2 mL 含 10% BSA 的 DMEM 培养液)培养过表达 *Musashi-1* 的 SMMC-7721 细胞。5% 胰酶消化细胞后计数细胞, 每孔内接种 4 000 个细胞, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养 10~14 d 后, 用倒

置显微镜观察细胞球的形成数量。

1.7 肿瘤侵袭实验 24 孔细胞培养板每孔加 700 μL 含 10% BSA 的 DMEM 培养液, 其上放置 Transwell 小室, 小室内加入 500 μL 含有 10⁵ 个细胞的无血清 DMEM 悬液。培养 12 h 后固定, 结晶紫染色, 洗净后显微镜下观察, 选取 5 个视野计数细胞取平均值。

1.8 统计学处理 所有实验均重复 3 次以上。应用 SPSS 22.0 软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验。采用 Pearson χ^2 检验和 Fisher 精确检验对 *Musashi-1* 与 HCC 患者临床病理指标的关系进行单因素分析。使用 Kaplan-Meier 生存分析法绘制生存曲线。*CD133* 与 *Musashi-1* 的相关性分析采用直线相关统计学方法。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 *Musashi-1* 在 HCC 癌组织及癌旁组织中的表达 免疫组织化学染色检测结果显示 *Musashi-1* 在癌组织中的表达主要集中在细胞质以及细胞核(图 1A)。所检测的 138 例样本中 105 例(76.1%)癌组织中 *Musashi-1* 的表达较癌旁组织升高, 差异有统计学意义(5.50±0.26 vs 1.20±0.50, $P < 0.05$)。选取其中 30 例患者的癌组织与癌旁组织进行蛋白质印迹分析及 qPCR, 结果显示癌组织中 *Musashi-1* 蛋白和 mRNA 的表达水平均高于癌旁组织(P 均 < 0.01 , 图 1B~1D)。以上结果表明 HCC 癌组织中 *Musashi-1* 的表达升高。

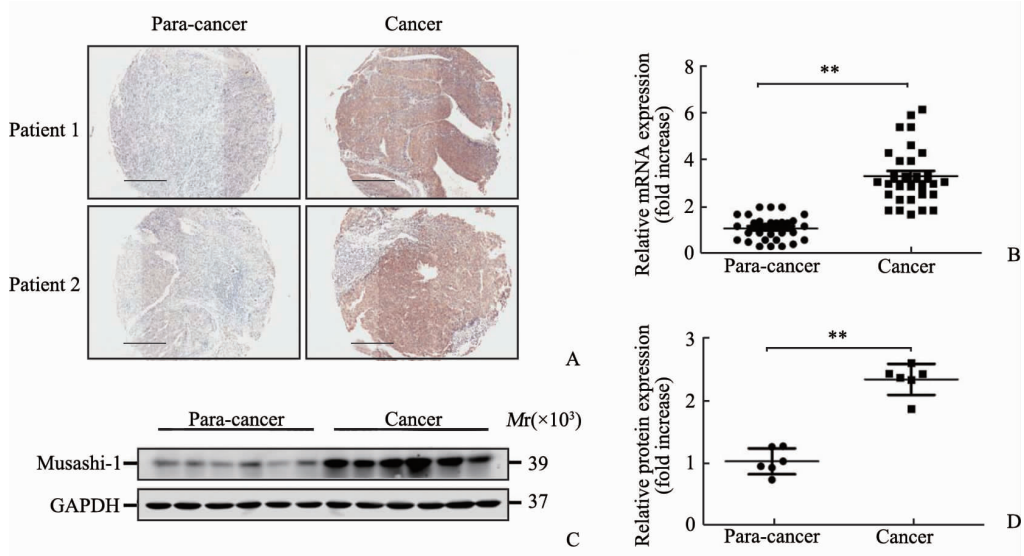


图 1 HCC 患者癌组织和癌旁组织中 *Musashi-1* 的表达

Fig 1 Expression of *Musashi-1* in tumor and adjacent non-tumor tissues of HCC patients

A: Immunohistochemistry showed that *Musashi-1* was highly expressed in tumor tissues than in adjacent non-tumor tissues. Scale bar=500 μm; B: The mRNA expression of *Musashi-1* in 30 pairs HCC tissues and adjacent non-tumor tissues were analyzed by qPCR (** $P < 0.01$); C, D: Western blotting showed *Musashi-1* protein expression in 6 pairs HCC tissues and adjacent non-tumor tissues (** $P < 0.01$). HCC: Hepatocellular carcinoma

2.2 Musashi-1 的表达与 HCC 患者临床病理指标的关系 Musashi-1 表达水平的高低与患者的甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)水平、腹水、远处转移有关 ($P < 0.05$),而与性别、年龄、乙肝病史、肿瘤大小、

子灶、门静脉癌栓、镜下癌栓等无关 ($P > 0.05$),见表 1。提示 Musashi-1 的高表达可能与肿瘤的转移以及恶性转化有关。

表 1 HCC 组织中 Musashi-1 的表达与临床病理指标的关系

Tab 1 Correlation of Musashi-1 expression in HCC tissues with its clinical characteristics

Variable	N	Musashi-1 expression		χ^2 value	P value
		Low	High		
Gender				0.751	0.386
Male	119	50	69		
Female	19	10	9		
Age				0.847	0.357
≤ 50 years	79	37	42		
> 50 years	59	23	36		
HBV history				0.018	1.000
No	12	5	7		
Yes	126	55	71		
AFP				12.273	< 0.001
$\leq 20 \mu\text{g/L}$	64	38	26		
$> 20 \mu\text{g/L}$	74	22	52		
HBsAg				0.003	1.000
Negative	25	11	14		
Positive	113	49	64		
HBsAb				1.277	0.348
Negative	127	57	70		
Positive	11	3	8		
HBeAg				0.018	1.000
Negative	126	55	71		
Positive	12	5	7		
HBeAb				0.809	0.393
Negative	63	30	33		
Positive	75	30	45		
HBcAb				1.258	0.294
Negative	8	5	3		
Positive	130	55	75		
Tumor size				0.539	0.493
≤ 5 cm	22	8	14		
> 5 cm	116	52	64		
Ascites				4.067	0.044
No	67	35	32		
Yes	71	25	46		
Distant transfer				6.336	0.012
No	57	32	25		
Yes	81	28	53		
Tumor foci				2.421	0.156
No	52	27	25		
Yes	86	33	53		
PVTT				3.627	0.057
No	37	21	16		
Yes	101	39	62		
Microscopic tumor thrombus				0.775	1.000
No	1	0	1		
Yes	137	60	77		

HCC: Hepatocellular carcinoma; HBV: Hepatitis B virus; AFP: α -Fetoprotein; HBsAg: Hepatitis B surface antigen; HBsAb: Hepatitis B surface antibody; HBeAg: Hepatitis B e antigen; HBeAb: Hepatitis B e antibody; HBcAb: Hepatitis B core antibody; PVTT: Portal vein tumor thrombus

2.3 Musashi-1 表达与 HCC 患者预后的关系 根据 Musashi-1 的差异表达绘制 Kaplan-Meier 生存曲线, 统计分析结果表明 Musashi-1 高表达患者的总体生存率和无瘤生存率较低表达患者均降低 ($P < 0.05$, 图 2), 说明 Musashi-1 的高表达与患者的总体生存呈负相关, 与复发呈正相关。

2.4 HCC 癌组织和癌旁组织中 CD133 的表达及其与 Musashi-1 的相关性 通过 qPCR 检测 30 例

HCC 癌组织以及相应癌旁组织中 CD133 的 mRNA 表达水平, 结果显示癌组织中的 CD133 mRNA 的表达高于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。将 30 例癌组织及癌旁组织中的 CD133 与 Musashi-1 行相关性分析后发现, Musashi-1 的表达与 CD133 的表达呈正相关 ($R^2 = 0.78$, $P < 0.001$), 见图 3。这一结果提示 Musashi-1 的高表达可能与 HCC 癌细胞的干性相关。

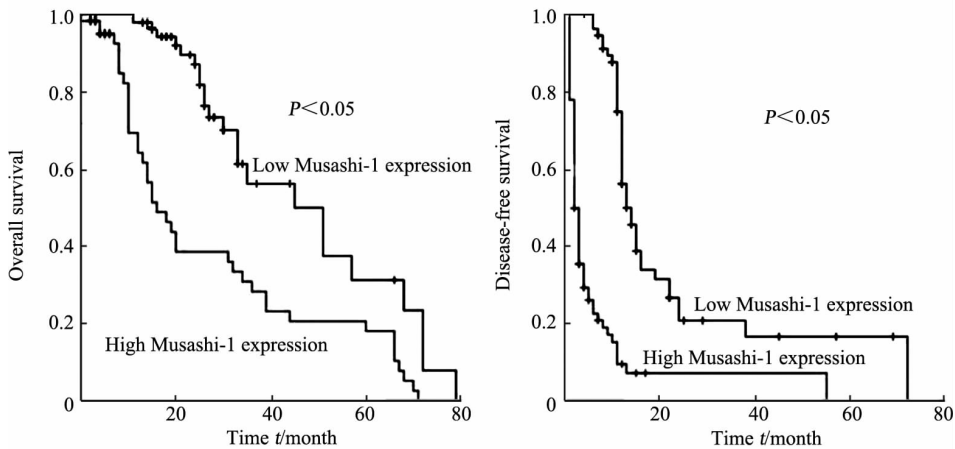


图 2 Musashi-1 的表达与 HCC 患者预后的关系

Fig 2 Correlation of Musashi-1 expression with prognosis of HCC patients

HCC: Hepatocellular carcinoma. $n=60$ in low Musashi-1 expression group; $n=78$ in high Musashi-1 expression group

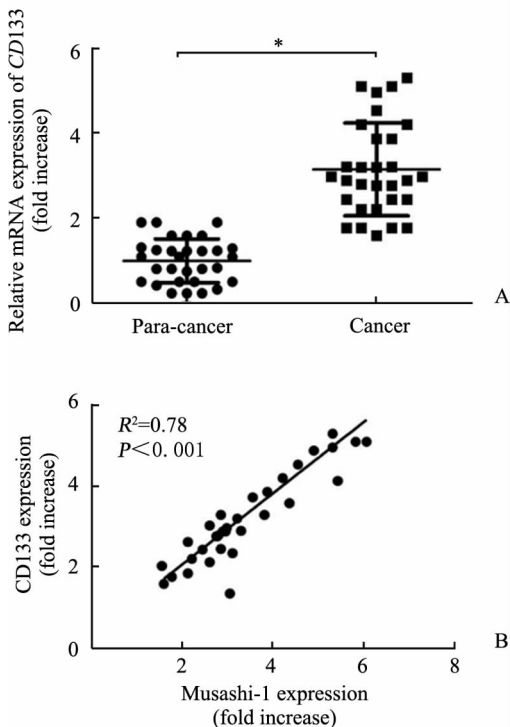


图 3 CD133 在 HCC 癌组织中的表达 (A) 及其与 Musashi-1 表达的相关性 (B)

Fig 3 Expression of CD133 in HCC tissues (A) and its relationship with Musashi-1 expression (B)

HCC: Hepatocellular carcinoma. * $P < 0.05$. $n=30$

2.5 过表达 Musashi-1 对 SMMC-7721 细胞干性及侵袭转移能力的影响 在体外利用人肝癌细胞系 SMMC-7721 细胞建立了稳定过表达 Musashi-1 的细胞系 (图 4A)。利用该细胞系进行 Sphere 成球实验, 结果显示: 相较对照细胞, 稳定过表达 Musashi-1 的 SMMC-7721 细胞的成球能力增强 (图 4B)。通过 Transwell 实验对建立的 Musashi-1 过表达细胞进行肿瘤侵袭能力检测, 结果显示过表达 Musashi-1 后, 肿瘤细胞的侵袭能力增强 (图 4C)。以上结果提示, Musashi-1 的表达与肿瘤细胞的干性以及侵袭、转移能力存在密切的关系。

3 讨论

研究发现在人中枢神经系统肿瘤中高表达的 Musashi-1 同样也是一种重要的神经干细胞或神经前体细胞标志物, 也有越来越多的研究发现 Musashi-1 在 TSC 中高表达^[15-18]。除此之外, Musashi-1 可以作为转录调节因子调节相关 mRNA 的功能以及保持细胞的干性和自我更新能力, Musashi-1 表达的高低也是一些恶性肿瘤预后评估的一个潜在因子^[19-21]。有研究报道, 作为 TSC 的标

志物, Musashi-1 可通过 Notch-1 信号通路对子宫内膜癌细胞的细胞周期以及细胞凋亡进行调节^[22]。最近, Fox 等^[23]发现在胰腺癌的治疗耐受性的发生

中 Musashi-1 起着重要的调节作用, 即可促进胰腺癌对化疗及放疗产生耐受。

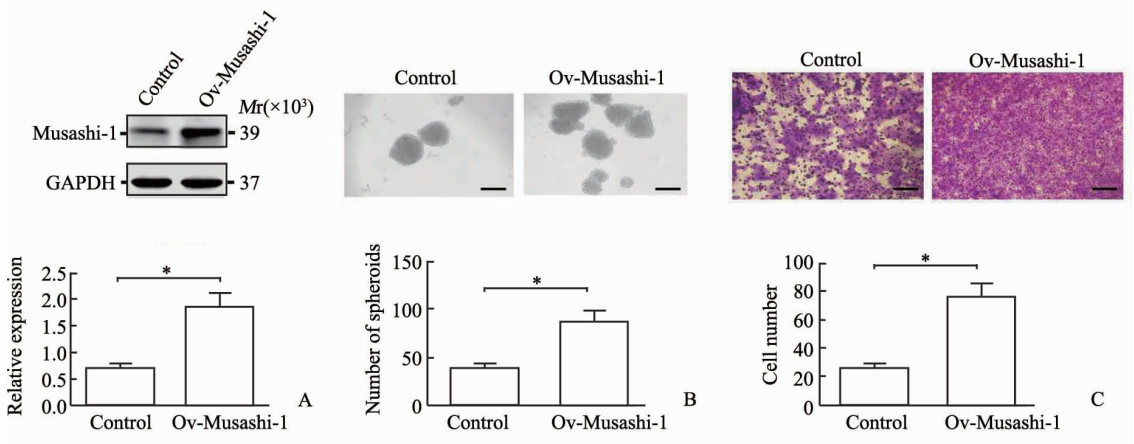


图 4 过表达 Musashi-1 SMMC-7721 细胞系的鉴定、Sphere 成球实验以及肿瘤侵袭实验结果

Fig 4 Definition of SMMC-7721 ov-Musashi-1 cell line, Sphere formation assay and Transwell assay

A; Musashi-1 in SMMC-7721 ov-Musashi-1 cell was overexpressed; B; Sphere formation assay showed that the sphere-forming potential of SMMC-7721 ov-Musashi-1 cell was increased; C; SMMC-7721 ov-Musashi-1 cell migrated more actively than control. Scale bar=500 μm. * P<0.05. n=4, $\bar{x} \pm s$

本研究发现, Musashi-1 在 HCC 中的转录及翻译水平均升高, 而且其高表达与 HCC 患者的预后密切相关。同时, Musashi-1 的高表达与患者的 AFP 水平、腹水、远处转移均相关, 而与性别、年龄、乙肝病史、肿瘤大小、子灶、门静脉癌栓和镜下癌栓等无明显相关性, 提示 Musashi-1 与肿瘤的复发转移、恶性转化有关。另外, Musashi-1 高表达的癌组织中 TSC 标志物 CD133 的表达也升高, 并且二者具有相关性, 说明 Musashi-1 对 HCC 的 TSC 自我更新能力的维持可能具有重要调节作用。体外实验也显示, 慢病毒过表达 Musashi-1 的肝癌细胞系 SMMC-7721 细胞的成球能力和侵袭能力更强, 说明 Musashi-1 对于肿瘤细胞干性的获得以及转移能力的增强具有促进作用。

总结实验结果以及对临床病理相关资料进行分析后, 我们发现 Musashi-1 在 HCC 癌组织中高表达, 高表达 Musashi-1 的 HCC 患者更容易发生复发转移并且预后更差。此外, Musashi-1 在维持肝癌细胞干性和促进肝癌细胞转移中有着重要的调节作用。这些结果提示, Musashi-1 可能是调节 HCC 恶性转化以及复发转移的重要因子, 具体有待进一步的深入研究。

[参考文献]

[1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, FERLAY J,

WARD E, FORMAN D. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61: 69-90.

[2] SERAG H B, RUDOLPH K L. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis [J]. Gastroenterology, 2007, 132: 2557-2576.

[3] 赵建军, 阎涛, 毕新宇, 赵宏, 黄振, 周健国, 等. 血清癌胚抗原水平与肝细胞肝癌预后的相关性分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2014, 36: 430-434.

[4] 曲强, 芮静安, 王少斌, 陈曙光, 周立, 韩凯, 等. 肝细胞肝癌临床分期系统的比较[J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28: 155-158.

[5] EL-SERAG H B, MARRERO J A, RUDOLPH L, REDDY K R. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2008, 134: 1752-1763.

[6] SAGAR J, CHAIB B, SALES K, WINSLET M, SEIFALIAN A. Role of stem cells in cancer therapy and cancer stem cells: a review[J/OL]. Cancer Cell Int, 2007, 7: 9. doi: 10.1186/1475-2867-7-9.

[7] NAKAMURA M, OKANO H, BLENDY J A, MONTELL C. Musashi, a neural RNA-binding protein required for *Drosophila* adult external sensory organ development[J]. Neuron, 1994, 13: 67-81.

[8] NAKANO A, KANEMURA Y, MORI K, KODAMA E, YAMAMOTO A, SAKAMOTO H, et al. Expression of the neural RNA-binding protein Musashi1 in pediatric brain tumors [J]. Pediatr Neurosurg, 2007, 43: 279-284.

- [9] SEIGEL G M, HACKAM A S, GANGULY A, MANDELL L M, GONZALEZ-FERNANDEZ F. Human embryonic and neuronal stem cell markers in retinoblastoma[J]. *Mol Vis*, 2007, 13: 823-832.
- [10] CHEN H Y, LIN L T, WANG M L, LEE S H, TSAI M L, TSAI C C, et al. Musashi-1 regulates AKT-derived IL-6 autocrine/paracrine malignancy and chemoresistance in glioblastoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 42485-42501.
- [11] WANG X, HU J F, TAN Y, CUI J, WANG G, MRSNY R J, et al. Cancer stem cell marker *Musashi-1* rs2522137 genotype is associated with an increased risk of lung cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e95915. doi: 10.1371/journal.pone.0095915.
- [12] MOKROWIECKA A, VEITS L, FALKEIS C, MUSIAL J, KORDEK R, LOCHOWSKI M, et al. Expression profiles of cancer stem cell markers; CD133, CD44, Musashi-1 and EpCAM in the cardiac mucosa-Barrett's esophagus-early esophageal adenocarcinoma-advanced esophageal adenocarcinoma sequence[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213: 205-209.
- [13] CHIOU G Y, YANG T W, HUANG C C, TANG C Y, YEN J Y, TSAI M C, et al. Musashi-1 promotes a cancer stem cell lineage and chemoresistance in colorectal cancer cells [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 2172. doi: 10.1038/s41598-017-02057-9.
- [14] CHEN P X, LI Q Y, YANG Z. Musashi-1 expression is a prognostic factor in ovarian adenocarcinoma and correlates with ALDH-1 expression[J]. *Pathol Oncol Res*, 2015, 21: 1133-1140.
- [15] WANG X Y, PENALVA L O, YUAN H, LINNOILA R I, LU J, OKANO H, et al. Musashi1 regulates breast tumor cell proliferation and is a prognostic indicator of poor survival [J/OL]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 221. doi: 10.1186/1476-4598-9-221.
- [16] YODAA, SAWA H, OKANO H. MSI-1, a neural RNA-binding protein, is involved in male mating behaviour in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Genes Cells*, 2000, 5: 885-895.
- [17] HAN Y M, PARK J M, CHOI Y S, JIN H, LEE Y S, HAN N Y, et al. The efficacy of human placenta-derived mesenchymal stem cells on radiation enteropathy along with proteomic biomarkers predicting a favorable response[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 105. doi: 10.1186/s13287-017-0559-5.
- [18] FLÜHC, HATTERMANN K, MEHDORN H M, SYNOWITZ M, HELD-FEINDT J. Differential expression of CXCR4 and CXCR7 with various stem cell markers in paired human primary and recurrent glioblastomas[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48: 1408-1416.
- [19] LIU N, CHEN T, WANG X, YANG D, XUE B, ZHU H. Msi1 confers resistance to TRAIL by activating ERK in liver cancer cells[J]. *FEBS Lett*, 2015, 589: 897-903.
- [20] CHEN K, GAO Q, ZHANG W, LIU Z, CAI J, LIU Y, et al. Musashi1 regulates survival of hepatoma cell lines by activation of Wnt signalling pathway[J]. *Liver Int*, 2015, 35: 986-998.
- [21] SANCHEZ-DIAZ P C, BURTON T L, BURNS S C, HUNG J Y, PENALVA L O. Musashi1 modulates cell proliferation genes in the medulloblastoma cell line Daoy[J/OL]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 280. doi:10.1186/1471-2407-8-280.
- [22] GÖTTE M, GREVE B, KELSCH R, MÜLLER-UTHOFF H, WEISS K, KHARABI MASOULEH B. 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: 2042-2049.
- [23] FOX R G, LYTLE N K, JAQUISH D V, PARK F D, ITO T, BAJAJ J, et al. Image-based detection and targeting of therapy resistance in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2016, 534: 407-411.

[本文编辑] 杨亚红