

The Low Expression of miR-210-3p Regulates the Proliferation and Migration of GH3 and MMQ Cell Lines in Rat Pituitary Adenoma

Chenghao Wang^{1*}, Weikang Tan¹, Yanan Jiang², Jianpeng Wang¹, Weicheng Yao^{1#}

¹Department of Neurosurgery, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

²Laboratory of Immunology, Binzhou Medical University, Yantai Shandong

Email: 18953505780@189.cn, 576306132@qq.com, 562652615@qq.com, 768113812@qq.com,

[#]Yaoweicheng888@126.com

Received: Jun. 5th, 2020; accepted: Jul. 1st, 2020; published: Jul. 8th, 2020

Abstract

Objective: To investigate the role of miR-210-3p in regulating the proliferation and migration of GH3 and MMQ cell lines. **Methods:** The cultured rat pituitary adenoma MMQ and GH3 cell lines were randomly divided into the low-expression miR-210-3p group and the negative control group. The expression of miR-210-3p was transfected with miR-210-3p inhibitor and miR-210-3p NC, respectively. After transfection, proliferation capacity of CCK8 was detected at 24 h, 48 h and 72 h, respectively. Transwell was used to detect the migration ability of pituitary tumor cells in rats. The protein expression of fgfr1-1 in the low miR-210-3p group and the negative control group was detected by western-blotting technique. The target genes of miR-210-3p were verified by double luciferase assay. **Results:** After transfection with the low expression virus, the decreased cell proliferation of the pituitary adenoma cell lines MMQ and GH3 was significantly lower than that of the negative control group ($P < 0.05$). Compared with the negative control group, MMQ and GH3 pituitary adenoma cell lines in the low-expression miR-210-3p group showed decreased cell migration, $P < 0.05$, which was statistically significant. Compared with the control group, the expression of target gene protein was different in the transfected low-expression virus group ($P < 0.05$). miR-210-3p can bind to 3'-utr of FGFR1-1 mRNA, and FGFR1-1 is the target gene of miR-210-3p. **Conclusion:** The low expression of miR-210-3p inhibited the proliferation and migration of MMQ and cells.

Keywords

miR-210-3p, FGFR1-1, Rat Pituitary Adenoma Cell Line, Proliferation, Migration

*第一作者。

#通讯作者。

低表达miR-210-3p调控大鼠垂体瘤GH3与MMQ细胞株增殖与迁移

王成浩^{1*}, 谭维康¹, 蒋亚楠², 王建鹏¹, 姚维成^{1#}

¹青岛大学附属医院神经外科, 山东 青岛

²滨州医学院免疫学实验室, 山东 烟台

Email: 18953505780@189.cn, 576306132@qq.com, 562652615@qq.com, 768113812@qq.com,

[#]Yaoweicheng888@126.com

收稿日期: 2020年6月5日; 录用日期: 2020年7月1日; 发布日期: 2020年7月8日

摘要

目的: 探讨低表达miR-210-3p对大鼠垂体瘤GH3和MMQ细胞株的增殖与迁移的作用。方法: 将培养好的大鼠垂体瘤MMQ与GH3细胞株随机分为低表达miR-210-3p组和阴性对照组, 分别转染miR-210-3p inhibitor和miR-210-3p NC, 荧光定量PCR检测实验组与对照组的miR-210-3p的表达; 转染后24 h、48 h、72 h分别进行CCK8检测增殖能力; 用Transwell来检测大鼠垂体瘤细胞的迁移能力; 用Western-blotting技术分别检测低表达miR-210-3p组和阴性对照组的FGFRL-1的蛋白表达; 用双荧光素酶实验验证miR-210-3p的靶基因。结果: 转染低表达病毒后MMQ与GH3垂体瘤细胞株的细胞增殖能力下降较阴性对照组比较差异, $P < 0.05$, 有统计学意义; 低表达miR-210-3p组MMQ与GH3垂体瘤细胞系与阴性对照组相比细胞迁移能力下降, $P < 0.05$, 有统计学意义; 转染低表达病毒组的细胞株与对照组相比, 靶基因蛋白表达有差异, $P < 0.05$; miR-210-3p可与FGFRL-1 mRNA的3'-UTR结合, FGFRL-1为miR-210-3p的靶基因。结论: miR-210-3p低表达抑制大鼠垂体瘤细胞的增殖与迁移。

关键词

miR-210-3p, FGFRL-1, 大鼠垂体瘤细胞株, 增殖, 迁移

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

垂体腺瘤是颅内常见的中枢神经系统肿瘤[1], 虽然垂体瘤是良性肿瘤, 但其常呈侵袭性生长, 常累及周围重要的结构, 导致内分泌异常[2] [3]、视力障碍以及颅内压增高等各种并发症[4], 目前仍缺乏针对侵袭性垂体腺瘤的有效药物[5]。近年来, 随着人们对分子生物学的研究进展, 我们发现微小RNA (后简称 miR)在人体的疾病发展与转归中起着不可或缺的作用, 微小RNA 是一类由 17~27 个核苷酸组成的内源性非编码小RNA [6], 许多真核微生物都有表达, 最早在线虫体内发现。MiRNAs 通过结合目的基因 mRNA 3'非编码区, 使目的基因 mRNA 降解或抑制 mRNA 翻译[7]。miR-210-3p 基因位于第 11 号染色体短臂的末端(11p15.5), 目前发现的 miR-210 靶基因已达 50 余个[8]。miR-210 通过调控这些基因的表达,

广泛参与体内各种生理及病理代谢过程(如多种成体干细胞的发育、胚胎的发育、细胞生长和凋亡[8]、细胞分化、血管生成[9]、免疫系统的调控及肿瘤的发生、发展等) [10]。据报道, miR-210-3p 与许多肿瘤的表达有异常表达, 如胰腺癌、乳腺癌以及肾透明细胞癌。但是在垂体腺瘤中的表达还未见报道, miR-210 在垂体腺瘤的作用机制还有待阐明[17]。我们通过 TargetScan 7.2 预测的 miR-210-3p 的靶基因为 FGFRL-1, FGFRL-1 是一种单通道 I 型膜蛋白, 属于 FGF 受体家族, 它们调节大多数细胞类型[11]的生长、凋亡、分化和迁移。FGFRL1 对细胞增殖有负作用[12]。2018 年 9 月至 2019 年 12 月我们拟在分子生物学角度, 探讨低表达 miR-210-3p 对大鼠垂体瘤 MMQ 与 GH3 细胞的增殖与迁移作用与机制。

2. 材料与方法

2.1. 细胞、特殊试剂来源

大鼠垂体瘤细胞系 MMQ 与 GH3 购于 ATCC 细胞库。特殊试剂和实验材料: FGFRL1 一抗(Abcam) ab95940; CCK-8 试剂盒(东仁化学); Lipofectamine3000 (Thermo); Transwell (Millipore); 荧光定量 PCR 试剂盒(Takara); 反转录试剂盒(Takara); 双荧光素酶试剂盒(Promega) Dual-Luciferase Reporter Assay System。

2.2. 细胞培养、转染与分组

将 MMQ 与 GH3 细胞株于 DMEM+10%FBS 培养基中培养, 培养环境温度为 37℃, 培养二氧化碳浓度为 5%。当细胞密度大于 30%时, 将细胞随机分为阴性对照组与低表达组。使用 Lipofectamine3000 分别转染 miR-210-3p inhibitor 和 miR-210-3p NC。分别于转染的 24 h、48 h 收集细胞(引物序列见表 1)。采用 qPCR 技术检测 MMQ 与 GH3 细胞中的 miR-210-3p 表达, 低表达组的 miR-210-3p 表达低于阴性对照组, 表面转染成功。

Table 1. Primer sequence

表 1. 引物序列

Gene	Upstream primer	Downstream primer
miR-210-3p	5'-TGCGGCTGTGCGTGTGACAGCGG-3'	5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'
GAPDH	5'-AAGAAGGTGGTGAAGCAGGC-3'	5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'

(60℃退火 30 s)。

2.3. MMQ 与 GH3 细胞增殖测定

接种细胞于 96 孔板内(分别于接种后 24 h、48 h、72 h 进行 CCK-8 检测), 每组细胞设置 3 个复孔; 进行 CCK-8 检测前, 向待测孔内加入 10 μL CCK-8 检测液, 避光放入 37℃培养箱孵育 2 h 后将 96 孔板放入酶标仪检测。

2.4. MMQ 与 GH3 细胞迁移检测

将低表达 miR-210-3p 组和阴性对照的细胞在转染 12 h 后, 离心, 去上清, 以 500 μL 无血清培养基重悬细胞, 并进行细胞计数; 然后将各组细胞加入 Transwell 小室内, 每室加入 2×10^5 个细胞。小室置于 24 孔板中, 板内下室加入 600 μL 含血清完全培养基, 继续培养 48 h 后将 24 孔培养皿内的细胞悬液充分轻柔吹打均匀, 用等体积 PBS 在清洗相应的孔, 与悬液合并加入流式管, 上机检测管内细胞数目。

2.5. MMQ 与 GH3 细胞中的 FGFRL-1 蛋白表达检测

采用 Western-blotting 技术, 在转染 48 h 后收集细胞, 根据试剂盒说明书提取总蛋白并变性, 完成常规电泳、转膜、封闭后行 Western-blotting 显影, 显影后使用 Image J 软件计算相对灰度值。

2.6. miR-210-3p 靶基因预测与验证

采用 TargetScan 7.2 预测 miR-210-3p 的下游靶基因, 然后采用双荧光素酶实验, 收集 miR-210-3p 低表达组与阴性对照组的细胞, 加入 1×Passive Lysis Buffer, 裂解 15 分钟后向检测管内加入 100 μ L 的 LAR II (将 Luciferase Assay Substrate 溶解于 Luciferase Assay Buffer II 中), 随后上机设置程序; 向上述每一个检测管内加入 20 μ L 对应的步骤 4 中得到的细胞裂解液, 并检测萤火虫荧光素酶活性; 向每一个检测管中加入 100 μ L 的 1×Stop & Glo Reagent, 并检测海肾荧光素酶活性。

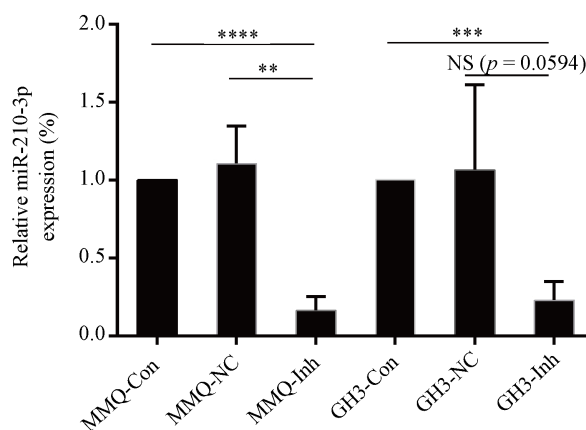
2.7. 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件计量资料用均数 \pm 标准差(SD)表示, 并采用两样本 t 检验(College Station, TX, USA)进行数据分析, P 值 <0.05 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 细胞转染情况

qPCR 检测大鼠垂体瘤 MMQ 与 GH3 细胞株中的 miR-210-3p 的表达, 其中, 低表达病毒组的 MMQ 细胞系 miR-210-3p 显著下降($P < 0.05$), GH3 细胞系 $P = 0.0594$, 较 MMQ 组稍有差异, NC 组与空白组(阴性对照组)对比 miR-210-3p 的表达无差异($P > 0.05$)表面细胞转染成功(见图 1)。



Note: *. $P < 0.05$. **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

Figure 1. Expression of mir-210-3p in the two groups of pituitary tumor cell lines after transfection with inhibitor

图 1. 转染 inhibitor 后两组垂体瘤细胞株的 miR-210-3p 的表达情况

3.2. 细胞增殖情况

我们利用 CCK-8 检测了 MMQ 与 GH3 细胞株的增殖情况, 低表达 miR-210-3p 后的 MMQ 与 GH3 细胞株细胞增殖能力较阴性对照组下降($P < 0.05$), 而 NC 组与空白对照组(阴性对照组)相比, 增殖情况不存在差异(见图 2)。

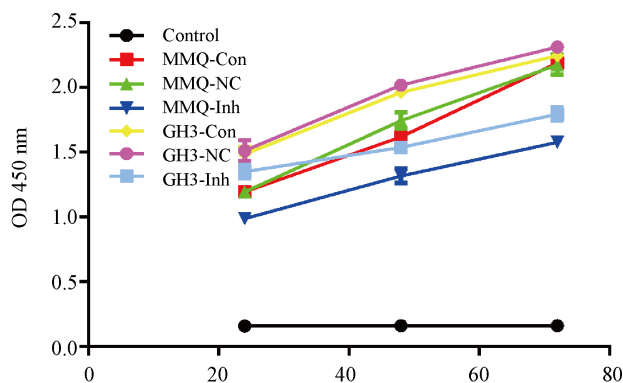
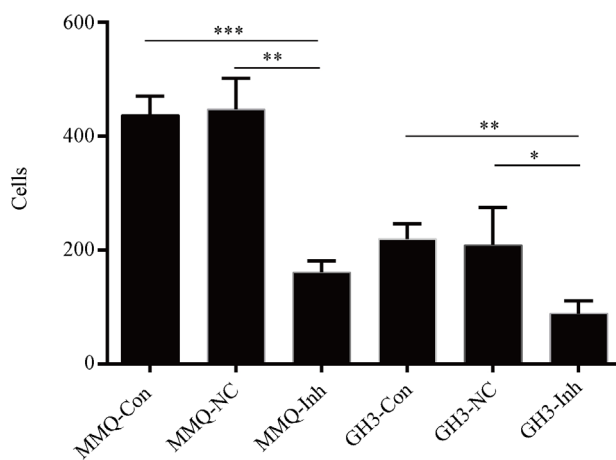


Figure 2. The effect of low expression of mir-210-3p on MMQ and GH3 cell lines. After low expression of mir-210-3p, the proliferation of GH3 and MMQ cell lines decreased gradually with the extension of time

图 2. 低表达 miR-210-3p 对 MMQ 与 GH3 细胞株的影响, 低表达 miR-210-3p 后, GH3 和 MMQ 细胞株的增殖随着时间延长, 逐渐下降

3.3. 细胞迁移情况

我们采用 Transwell 法检测了 MMQ 细胞与 GH3 细胞跨 Matrigel 胶的移行能力, 结果显示, 低表达 miR-210-3p 组的细胞迁移跨胶能力下降($P < 0.05$), 但在 NC 组与空白组中, GH3 细胞与 MMQ 细胞的迁移能力较强, NC 组与空白组(阴性对照组)对比无明显差异(见图 3)。



Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

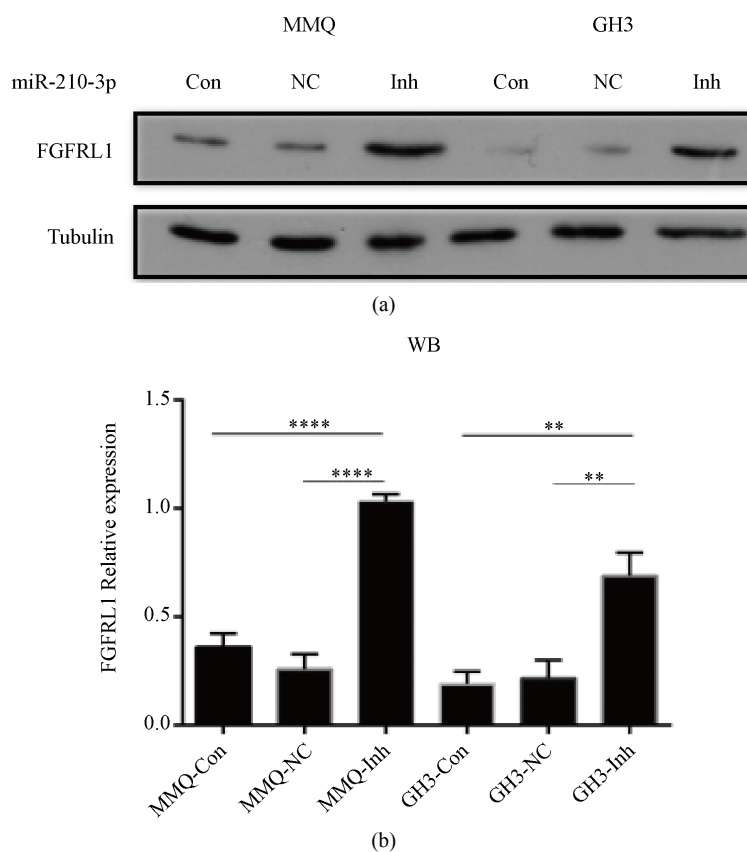
Figure 3. The effect of low expression of mir-210-3p on the migration ability of MMQ and GH3 cell lines, while the migration ability of MMQ and GH3 cell lines with low expression of Mir-210-3p was decreased

图 3. 低表达 miR-210-3p 后对 MMQ 和 GH3 细胞株迁移能力的影响, 低表达 miR-210-3p 的 MMQ 与 GH3 细胞株迁移能力下降

3.4. 细胞中相关蛋白表达情况

我们采用 Western-blotting 检测低表达 miR-210-3p 后, GH3 与 MMQ 细胞中的靶基因 FGFRL-1 蛋白

表达, 结果显示低表达 miR-210-3p 组的 MMQ 与 GH3 细胞中, 靶基因 FGFR1 的蛋白表达明显高于 NC 组与空白组($P < 0.05$), NC 组与空白对照组(阴性对照组)对比无明显差异, 内参为 Tubulin (见图 4)。



Note: *. $P < 0.05$. **. $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

Figure 4. The protein expression of target gene FGFR1-1

图 4. 靶基因 FGFR1-1 的蛋白表达情况

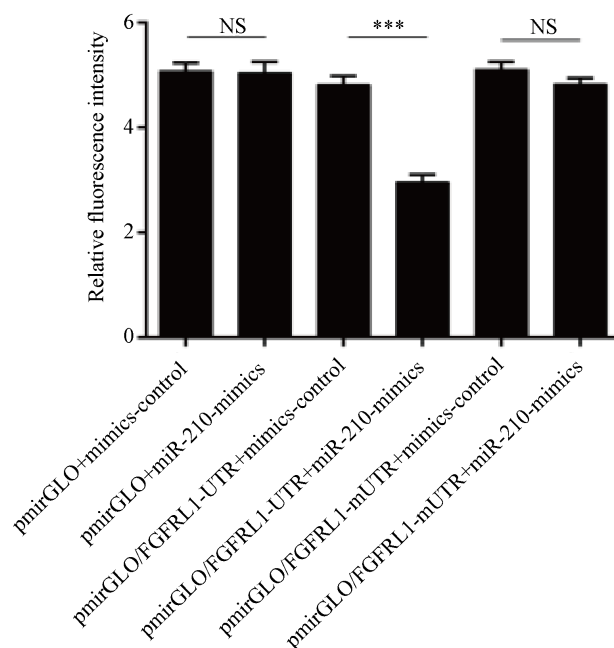
3.5. miR-210-3p 与 FGFR1 靶点预测与双荧光素酶报告

我们通过 TargetScan7.2 在线预测软件发现 miR-210-3p 与 FGFR1 之间存在靶向结合位点(见图 5)。因此, 我们通过双荧光素酶报告进行了验证, 结果显示 pmirGLO/FGFR1-1-UTR+miR-210-mim 组中荧光素酶活性明显低于无关序列组($P < 0.05$), 结果进一步确定了 miR-210-3p 的靶基因是 FGFR1 (见图 6)。

Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	
Positon 234-240 of FGFR1 3' UTR	5' ...CCUGAAGGCACACGUACGCACAC...
hsa-miR-210-3P	3' AGUCGGCGACAGUGUGCGUGUC
Positon 242-248 of FGFR1 3' UTR	5' ...CACACGUACGCACACACGCACAU...
hsa-miR-210-3P	3' AGUCGGCGACAGUGUGCGUGUC

Figure 5. TargetScan7.2 software predicted target genes

图 5. TargetScan7.2 软件预测靶基因



Note: *. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$.

Figure 6. Double luciferase reporter gene

图 6. 双荧光素酶报告基因

4. 讨论

我们知道垂体腺瘤是常见的颅内良性肿瘤，近年来，随着体检的普及与人们对健康的重视，垂体瘤的检出率越来越高，针对垂体瘤的治疗，我们现在还是手术为主，但是该疾病的复发和周围侵袭是影响垂体瘤治疗的一大关键因素。这提示我们是否可以从分子生物学角度来考虑疾病的诊疗，目前对于 miRNA 是否参与垂体瘤发生发展的作用机制较少[13][14]，而 miR-210-3p 是否参与垂体瘤腺瘤的发病和进展我们尚且未见相关文献报道。此次我们在大鼠垂体瘤 MMQ 与 GH3 细胞系中先进行了初步探索，发现了 miR-210-3p 与 MMQ 与 GH3 垂体瘤细胞的增殖与迁移有一定相关性，我们知道，垂体腺瘤的发展过程中，垂体腺瘤细胞数目和迁移能力均可影响到垂体瘤的进展，通俗来讲，数目越多，垂体瘤越大，迁移能力越强，越容易向周围组织侵袭。所以，一定程度上我们可以说垂体瘤细胞的增殖活力，可反映垂体瘤的复发程度。本研究发现，低表达 miR-210-3p 可抑制大鼠 MMQ 与 GH3 垂体瘤细胞的增殖和迁移，提示 miR-210-3p 可能通过干预垂体瘤细胞的增殖从而参与垂体瘤的形成过程。

关于 miRNA 我们知道它的主要作用途径是通过作用于靶蛋白 mRNA 抑制靶基因 RNA 转录后的基因表达，从而来影响对应靶蛋白及相关的信号通路[15]。Amaral 等[16]发现，多种 microRNA 可以通过调节靶基因表达水平，从而参与 ACTH 分泌型垂体腺瘤发病过程。本研究结果显示，低表达 miR-210-3p 后，MMQ 与 GH3 细胞中 FGFRL-1 的表达增加，而 FGFRL-1 在相关研究[9]中发现 FGFRL-1 是一种单通道 I 型膜蛋白，属于 FGF 受体家族，成熟的 FGFRL-1 由 354 个氨基酸胞外结构、3 个类似 IgG 的 c2 型结构域、21 个氨基酸跨膜段和 134 个氨基酸胞质结构组成。调节大多数细胞类型的生长、凋亡、分化和迁移，细胞中 FGFRL-1 的表达量与细胞增殖能力呈反比[10]。本研究结果提示 miR-210-3p 在 MMQ 与 GH3 垂体瘤细胞系中，能通过调节靶基因 FGFRL-1 的表达来影响垂体瘤细胞的增殖与迁移，参与垂体瘤细胞的病理生理过程。在预测软件 TargetScan7.2 中我们发现了 miR-210-3p 的靶基因是 FGFRL-1，相关研究表明 FGFRL-1 参与了多种肿瘤的发生以及发展[10]。我们知道侵袭性垂体瘤是神经外科非常棘手的问题，

因为肿瘤侵袭性生长使得外科手术无法全切除, 导致肿瘤复发。尽管肿瘤发生和发展的机制尚不清楚, 但肿瘤部分生物学特性已经阐明, 一些基因表达改变在肿瘤发生中起重要作用。一些基因表达改变与垂体腺瘤侵袭性相关, 如成纤维生长因子(fibroblast growth factors, FGF)和成纤维生长因子受体(fibroblast growth factor receptors, FGFR)基因表达水平改变与垂体腺瘤侵袭性相关。与非侵袭性垂体腺瘤相比, FGF 基因在侵袭性垂体腺瘤表达上调[1]。在垂体瘤细胞中, FGFR 基因过表达可诱导细胞侵袭性生长[18]。本研究采用了双荧光素酶报告实验进一步证实了 FGFR1 是 miR-210-3p 的靶基因, miR-210-3p 可调节 FGFR1 且 miR-210-3p 在 GH3 和 MMQ 细胞中的表达水平与 FGFR1 呈反比。

本研究的通过低表达 GH3 与 MMQ 大鼠垂体瘤细胞中的 miR-210-3p, 研究其对 MMQ 和 GH3 细胞生物学行为的影响, 结果证实, 低表达 miR-210-3p 能够抑制大鼠 MMQ 和 GH3 垂体瘤细胞的增殖与迁移, 但是本实验未在人体组织和人体垂体瘤组织中验证, 只是初步在动物肿瘤细胞模型上进行了初步研究, 后续会在垂体瘤肿瘤组织层面进行相关研究与实验。初步我们得出的结论是低表达 miR-210-3p 抑制了大鼠垂体瘤 MMQ 和 GH3 细胞的增殖与迁移, miR-210-3p 可能成为治疗垂体瘤的一个潜在靶点。

基金项目

国家自然科学基金青年项目(81602182)。

致谢

感谢姚维成主任在文章撰写过程的指导, 感谢王建鹏主任的国家自然科学基金青年项目(81602182, miR-340 通过 Notch 信号通路介导 GSCs 的“干性”抑制)以及同门谭维康的实验帮助和蒋亚楠的作图帮助。

参考文献

- [1] 王忠诚. 王忠诚神经外科学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2005: 620.
- [2] Rey, J.A., Bello, M.J., de Campos, J.M., *et al.* (1986) A Case of Pituitary Adenoma with 58 Chromosomes. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **23**, 171-174. [https://doi.org/10.1016/0165-4608\(86\)90415-2](https://doi.org/10.1016/0165-4608(86)90415-2)
- [3] Roelfsema, F., Biermasz, N.R. and Pereira, A.M. (2012) Clinical Factors Involved in the Recurrence of Pituitary Adenomas after Surgical Remission: A Structured Review and Meta-Analysis. *Pituitary*, **15**, 71-83. <https://doi.org/10.1007/s11102-011-0347-7>
- [4] Day, P.F., Loto, M.G., Glerean, M., *et al.* (2016) Incidence and Prevalence of Clinically Relevant Pituitary Adenomas: Retrospective Cohort Study in a Health Management Organization in Buenos Aires, Argentina.
- [5] Yang, W. (2011) Progress on Hypoxic Regulatory Factor miR-210. *Chinese Journal of Pathophysiology*, **27**, 813.
- [6] 杨巍. 缺氧调控因子 miR-210 的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(4): 813.
- [7] Giannakakis, A., Sandaltzopoulos, R., Greshock, J., *et al.* (2007) miR-210 Links Hypoxia with Cell Cycle Regulation and Is Deleted in Human Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Biology & Therapy*, **7**, 255. <https://doi.org/10.4161/cbt.7.2.5297>
- [8] Fasanaro, P., Alesandra, Y., Stefano, V., *et al.* (2008) MicroRNA-210 Modulates Endothelial Cell Response to Hypoxia and Inhibits the Receptor Tyrosine Kinase Ligand Ephrin-A3. *Journal of Biological Chemistry*, **283**, 15878-15883. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800731200>
- [9] Gee, H.E., Camps, C., Buffa, F.M., Patiar, S., Winter, S.C., Betts, G., Homer, J., Corbridge, R., Cox, G., West, C.M., Ragoussis, J. and Harris, A.L. (2010) hsa-mir-210 Is a Marker of Tumor Hypoxia and a Prognostic Factor in Head and Neck Cancer. *Cancer*, **116**, 2148-2158. <https://doi.org/10.1002/cncr.25009>
- [10] Ho, A.S., Huang, X., Cao, H., Christman-Skieller, C., Bennewith, K., Le, Q.T. and Koong, A.C. (2010) Circulating miR-210 as a Novel Hypoxia Marker in Pancreatic Cancer. *Translational Oncology*, **3**, 109-113. <https://doi.org/10.1593/tlo.09256>
- [11] di Martino, E., Taylor, C.F., Roulson, J.A. and Knowles, M.A. (2013) An Integrated Genomic, Transcriptional and Protein Investigation of FGFR1 as a Putative 4p16.3 Deletion Target in Bladder Cancer. *Genes Chromosomes Cancer*,

52, 860-871. <https://doi.org/10.1002/gcc.22082>

- [12] Schild, C. and Trueb, B. (2005) Aberrant Expression of FGFR1, a Novel FGF Receptor, in Ovarian Tumors. *International Journal of Molecular Medicine*, **16**, 1169-1173. <https://doi.org/10.3892/ijmm.16.6.1169>
- [13] 徐川, 张怀璧, 康继辉, 等. miRNA 在 PRL 型垂体瘤患者血清中的表达[J]. 世界中西医结合杂志, 2015(4): 543-548.
- [14] Palumbo, T., Faucz, F.R., Azevedo, M., *et al.* (2013) Functional Screen Analysis Reveals miR-26b and miR-128 as Central Regulators of Pituitary Somatotrophic Tumor Growth through Activation of PTEN-AKT Pathway. *Oncogene*, **32**, 1651-6459. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.190>
- [15] Tsuchiya, S., Fujiwara, T., Sato, F., Shimada, Y., Tanaka, E., Sakai, Y., Shimizu, K. and Tsujimoto, G. (2011) MicroRNA-210 Regulates Cancer Cell Proliferation through Targeting Fibroblast Growth Factor Receptor-Like 1 (FGFR1). *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 420-428. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.170852>
- [16] Amaral, F.C., Torres, N., Saggioro, F., *et al.* (2009) MicroRNAs Differentially Expressed in ACTH-Secreting Pituitary Tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **94**, 320-323. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1451>
- [17] Li, S., Yang, J., Wang, J., *et al.* (2018) Down-Regulation of miR-210-3p Encourages Chemotherapy Resistance of Renal Cell Carcinoma via Modulating ABCC1. *Cell & Bioscience*, **8**, 9. <https://doi.org/10.1186/s13578-018-0209-3>
- [18] Morita, K., Takano, K., Yasufuku-Takano, J., *et al.* (2008) Expression of Pituitary Tumour-Derived, N-Terminally Truncated Isoform of Fibroblast Growth Factor Receptor 4 (ptd-FGFR4) Correlates with Tumour Invasiveness But Not with G-Protein Alpha Subunit (Gsp) Mutation in Human GH-Secreting Pituitary Adenomas. *Clinical Endocrinology*, **68**, 435-441.