

• 论 著 •

miR-1225-5p 靶向调控 S100A9 抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究

王华忠, 于江, 苏晓玲, 成薇, 陈益国[△]

(中国人民解放军联勤保障部队第九二二医院检验科, 湖南衡阳 421001)

摘要:目的 探讨 miR-1225-5p 对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及作用机制。方法 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测肝癌细胞系 Huh7、MHCC97H 和 MHCCLM3 及正常肝细胞系 THLE-2 中 miR-1225-5p 和 S100 钙结合蛋白 A9(S100A9)mRNA 表达水平。采用 Western blot 试验检测 S100A9 的表达水平。以 Huh7 细胞作为研究对象, 分别转染 miR-1225-5p 模拟物(mimics)、S100A9 的小干扰 RNA 至 Huh7 细胞, 四甲基噻唑蓝染色法检测 miR-1225-5p 过表达或下调 S100A9 表达对 Huh7 细胞增殖的影响, Transwell 检测 miR-1225-5p 过表达或下调 S100A9 表达对 Huh7 细胞迁移和侵袭的影响, Western blot 试验检测 miR-1225-5p 过表达或下调 S100A9 表达对 Huh7 细胞细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)、p21、p27、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、MMP-9、MMP-14 蛋白表达的影响。生物信息学软件预测 S100A9 的 3'非翻译区中含有与 miR-1225-5p 互补的核苷酸序列, 双荧光素酶报告基因试验验证 miR-1225-5p 与 S100A9 的靶向关系。结果 与正常肝细胞 THLE-2 比较, 肝癌细胞系 Huh7、MHCC97H 和 MHCCLM3 中 miR-1225-5p 表达水平均降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$), S100A9 mRNA 和 S100A9 表达水平均升高, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。过表达 miR-1225-5p 或下调 S100A9 表达均可抑制 Huh7 细胞增殖、迁移和侵袭, 以及 CyclinD1、MMP-2、MMP-9、MMP-14 蛋白表达($P<0.05$), 促进 p21 和 p27 蛋白的表达($P<0.05$)。miR-1225-5p 在 Huh7 细胞中负调控 S100A9 表达, 过表达 S100A9 逆转了 miR-1225-5p 过表达对 Huh7 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。结论 miR-1225-5p 过表达可能通过下调 S100A9 的表达抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

关键词:miR-1225-5p; S100 钙结合蛋白 A9; 肝癌; 细胞增殖; 迁移; 侵袭

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.15.015

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2020)15-1857-06

文献标识码:A

Mechanism research of miR-1225-5p inhibiting proliferation, migration and invasion of hepatoma cells by targetedly regulating S100A9

WANG Huazhong, YU Jiang, SU Xiaoling, CHENG Wei, CHEN Yiguo[△]

(Department of Clinical Laboratory, the 922nd Hospital of the People's Liberation Army Joint Service Support Force, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect and mechanism of miR-1225-5p on proliferation, migration and invasion of hepatoma cells. **Methods** The mRNA expression levels of miR-1225-5p and S100 calcium binding protein A9 (S100A9) in hepatoma cell lines Huh7, MHCC97H and MHCCLM3 and normal liver cell line THLE-2 were detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The expression of S100A9 was detected by Western Blot. miR-1225-5p mimics or small interfering RNA of S100A9 was transfected to Huh7 cells, and tetramethylthiazole blue staining was used to detect the effect of overexpression of miR-1225-5p or down-regulation of S100A9 expression on the proliferation of Huh7 cells. Transwell was used to detect the effect of overexpression of miR-1225-5p or down-regulation of S100A9 expression on the migration and invasion of Huh7 cells, and Western Blot was used to detect the effect of overexpression of miR-1225-5p or down-regulation of S100A9 expression on the protein expression CyclinD1, p21, p27, matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9, MMP-14. The bioinformatics software was used to predict that the 3'untranslated coding region of S100A9 contained a nucleotide sequence complementary to miR-1225-5p, and the dual luciferase reporter gene assay was used to verify the targeting relationship between miR-1225-5p and S100A9. **Results** Compared with

作者简介:王华忠,男,主管技师,主要从事基础与临床分子生物学研究。 [△] **通信作者,** E-mail: wangfff012@163.com。

本文引用格式:王华忠,于江,苏晓玲,等. miR-1225-5p 靶向调控 S100A9 抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(15): 1857-1862.

THLE-2 in normd liver cells, the expression levels of miR-1225-5p in hepatoma cell lines Huh7, MHCC97H and MHCCLM3 were decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expression levels of S100A9 mRNA and S100A9 were increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Overexpression of miR-1225-5p or down-regulation of S100A9 could inhibit the proliferation, migration and invasion of Huh7 cells and the protein expression of CyclinD1, MMP-2, MMP-9 and MMP-14 ($P < 0.05$), and promote the protein expression of p21 and p27 ($P < 0.05$). miR-1225-5p negatively regulated S100A9 expression in Huh7 cells, and overexpression of S100A9 reversed the inhibitory effect of overexpression of miR-1225-5p on proliferation, migration and invasion of Huh7 cells. **Conclusion** Overexpression of miR-1225-5p may inhibit the proliferation, migration and invasion of hepatoma cells by down-regulating the expression of S100A9.

Key words: miR-1225-5p; S100 calcium binding protein A9; liver cancer; cell proliferation; migration; invasion

肝癌是世界范围内常见的恶性肿瘤,其发病率和病死率均较高^[1]。由于肝癌患者早期无明显症状,多数患者在确诊时已处于晚期^[2]。肝癌的治疗方法主要有外科手术、放疗和化疗、靶向药物治疗等,但术后易复发和转移,预后较差^[3]。肝癌的发生和发展涉及多种因素,与多种基因表达失控有关^[4]。从分子水平探讨肝癌发生和发展机制,对肝癌的靶向分子治疗有重要意义。微小 RNA(miRNA)是一类小分子单链非编码 RNA,其通过与靶 mRNA 的 3' 非翻译区(3' UTR)靶向结合抑制靶 mRNA 表达或降解 mRNA,参与调控基因的表达,其在细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭等生物学行为中发挥重要作用^[5]。miR-1225-5p 是近年来新发现的一种 miRNA,有研究显示,其参与胃癌、前列腺癌、乳腺癌等肿瘤细胞的增殖、迁移、凋亡等^[6-8],与肿瘤的发生和发展密切相关。但目前 miR-1225-5p 对肝癌细胞生物学行为的影响还未知。生物信息学软件预测显示, S100 钙结合蛋白 A9 (S100A9)的 3'UTR 中含有与 miR-1225-5p 互补的核苷酸序列,提示 S100A9 是 miR-1225-5p 的靶基因。S100A9 是钙结合蛋白 S100 蛋白家族成员之一,参与细胞生长、分化、凋亡、炎症反应等生命活动。有研究显示, S100A9 在肝癌患者血清和细胞中表达水平升高,其可促进肝癌细胞的存活和侵袭^[9-10]。本研究主要探讨 miR-1225-5p 对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响,以及其是否通过调控 S100A9 表达发挥作用,以期为肝癌的靶向分子治疗提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞和试验试剂 肝癌细胞系 Huh7、MHCC97H 和 MHCCLM3 及正常肝细胞系 THLE-2(中国科学院上海细胞库);胎牛血清(FBS)和 RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司);四甲基噻唑蓝(MTT)和胰蛋白酶(美国 Sigma 公司);Lipofectamine™ 2000 试剂盒和 Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司);反转录试剂盒和 PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);PCR 引物(上海生工生物工程有限公司);鼠抗人

细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)、p21、p27 单克隆抗体(上海长岛生物技术有限公司);鼠抗人基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、MMP-9、MMP-14 单克隆抗体(北京中彬金桥生物技术有限公司);miR-1225-5p 模拟物(mimics)及模拟阴性对照物、miR-1225-5p 抑制剂及阴性对照和 S100A9 过表达载体(上海英骏生物技术有限公司);BCA 蛋白测定试剂盒(上海碧云天公司);双荧光素酶活性检测试剂盒(美国 Promega 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 各细胞均用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。每隔 2 d 更换 1 次新鲜培养基。当细胞融合度达到 80%左右时,吸弃培养基,加入适量磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞,然后加入 0.25%胰蛋白酶溶液消化细胞,进行传代培养。

1.2.2 细胞分组和转染 对数生长期的 Huh7 细胞以每孔 1×10^5 个接种于 6 孔板中,当细胞融合度达到 60%时,更换为无 FBS 的培养基。参照 Lipofectamine™ 2000 试剂盒操作说明执行,将 miR-1225-5p mimics(miR-1225-5p 组)、模拟阴性对照物(miR-NC 组)、miR-1225-5p 抑制剂(anti-miR-1225-5p 组)、抑制剂阴性对照序列(anti-miR-NC 组)、S100A9 的小干扰 RNA(si-S100A9 组)、siRNA 阴性对照(si-NC 组)及 miR-1225-5p mimics 与 S100A9 过表达载体(miR-1225-5p+pcDNA-S100A9 组)、miR-1225-5p mimics 与空载体(miR-1225-5p+pcDNA 组)分别转染至 Huh7 细胞。转染 48 h 后,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)或 Western blot 试验分别检测细胞中 miR-1225-5p 和 S100A9 水平并评价转染效果。

1.2.3 qRT-PCR 检测 miR-1225-5p 和 S100A9 mRNA 表达水平 Trizol 试剂提取各组细胞中总 RNA,微量核酸仪测量 RNA 水平及 A_{260}/A_{280} 。采用反转录试剂盒将提取的 RNA 反转录为 cDNA,再以 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增。PCR 总反应体系为 20 μL,扩增条件为 95 °C 20 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s,

72 ℃ 30 s, 共进行 35 个循环。miR-1225-5p 上游引物 5'-GTG GGT ACG GCC CAG TGG GGG G-3', 下游引物 5'-CCC CCC ACG GGC CGT ACC CAC-3'; S100A9 上游引物 5'-CGG GAT CCA TGG CTG CCA AAA CAG GA-3', 下游引物 5'-GCT CTA GAT TAC TTC CCA CAG CCT TT-3'; U6 上游引物 5'-ACG CAA ATT CGT GAA GCG TT-3', 下游引物 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'; GAPDH 上游引物 5'-CCA TGG AGA AGG CTG GGG-3', 下游引物 5'-CAA AGT TGT CAT GGA TGA CC-3'。miR-1225-5p 以 U6 作为内参, S100A9 以 GAPDH 作为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-1225-5p 和 S100A9 mRNA 的相对表达水平。

1.2.4 Western blot 试验检测蛋白表达 加入含蛋白酶抑制剂的蛋白裂解液, 提取细胞中总蛋白。以 BCA 蛋白试剂盒定量后, 取适量蛋白, 100 ℃ 煮沸 5 min。蛋白变性后, 进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 每泳道 30 μg 蛋白。电泳结束后, 湿转至硝酸纤维素膜, 5% 脱脂牛奶中封闭, 时间为 2 h。各组分别加入一抗, 4 ℃ 孵育过夜。再加辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗 IgG, 室温孵育 1 h。最后加入化学发光试剂, 避光显影, 凝胶成像系统曝光拍照。

1.2.5 MTT 检测 Huh7 细胞增殖 转染后的各组 Huh7 细胞, 以每孔 1×10^3 个接种于 96 孔板中, 于培养箱中分别培养 24、48、72 h。每孔加入 20 μL 的 MTT 溶液 (5 g/L)。于培养箱中继续培养 4 h 后吸弃培养基, 加入 150 μL 二甲基亚砷。结晶紫充分溶解后, 振荡混合均匀, 于酶标仪 490 nm 处测定 A 值。

1.2.6 Transwell 检测 Huh7 细胞的迁移和侵袭能力 转染后的各组 Huh7 细胞, 用不含 FBS 的 RPMI 1640 培养基调整浓度为每毫升 5×10^4 个。细胞迁移试验: Transwell 上室直接加入 100 μL 细胞悬液, 下室加入 500 μL 含 FBS 的 RPMI 1640 培养基, 置于培养箱中培养 48 h。培养结束后, 经多聚甲醛固定、结晶紫染色, 于倒置显微镜观察, 随机选取 5 个视野, 计数。细胞侵袭试验: 将 Matrigel 基质胶用 RPMI 1640 培养基以 1:8 的比例稀释, 铺于 Transwell 上室, 自然晾干后再加入 100 μL 细胞悬液, 后续操作步骤与细胞迁移试验相同。

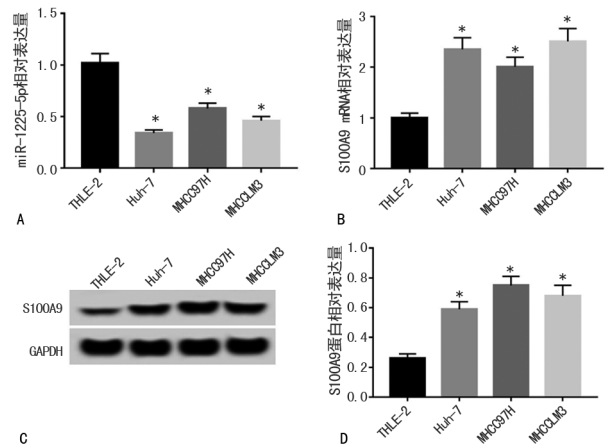
1.2.7 双荧光素酶报告基因试验验证 miR-1225-5p 与 S100A9 的靶向关系 PCR 扩增含有 miR-1225-5p 结合位点的 S100A9 的 3'UTR 序列, 并将其插入 psi-CHECK 载体中, 构建 S100A9 野生型质粒 (S100A9-WT)。同时利用基因定点突变技术, 将结合位点突变后, 插入 psi-CHECK 载体, 构建 S100A9 突变型质粒 (S100A9-MUT)。分别将 S100A9-WT、S100A9-MUT 与 miR-1225-5p mimics、模拟阴性对照物共转染至 Huh7 细胞。转染 48 h 后, 收集细胞。采用细胞

裂解液裂解细胞, 取上清液, 参照双荧光素酶活性检测试剂盒操作说明, 检测各组的荧光素酶活性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析处理。多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

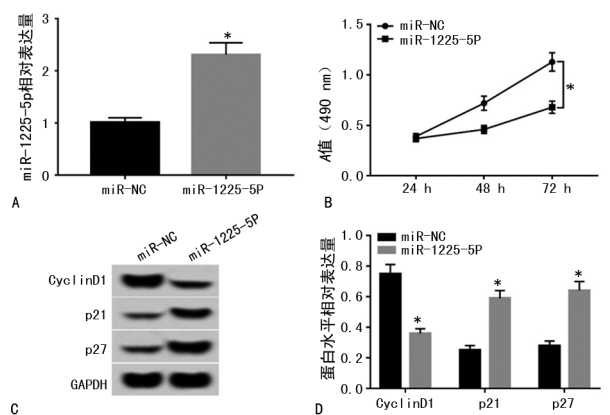
2 结果

2.1 miR-1225-5p 和 S100A9 在肝癌细胞和正常肝细胞中的表达水平比较 与正常肝细胞 THLE-2 比较, 肝癌细胞系 Huh7、MHCC97H 和 MHCCLM3 中 miR-1225-5p 表达水平均降低, S100A9 mRNA 和 S100A9 表达水平均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。选择肝癌细胞系 Huh7 用于后续试验, 见图 1。



注: A 为 miR-1225-5p 在肝癌细胞系中的表达; B 为 S100A9 mRNA 在肝癌细胞系中的表达; C 和 D 为 S100A9 蛋白在肝癌细胞系中的表达。与正常肝细胞 THLE-2 比较, * $P < 0.05$ 。

图 1 miR-1225-5p 和 S100A9 在肝癌细胞系中的表达水平比较



注: A 为 miR-1225-5p 相对表达量; B 为 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞增殖的影响; C 和 D 为 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞增殖相关蛋白表达的影响。与 miR-NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

图 2 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞增殖的影响

2.2 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞增殖的影响 miR-1225-5p 组 Huh7 细胞中 miR-1225-5p 水平明显高于 miR-NC 组, 差异有统计学意义 ($P <$

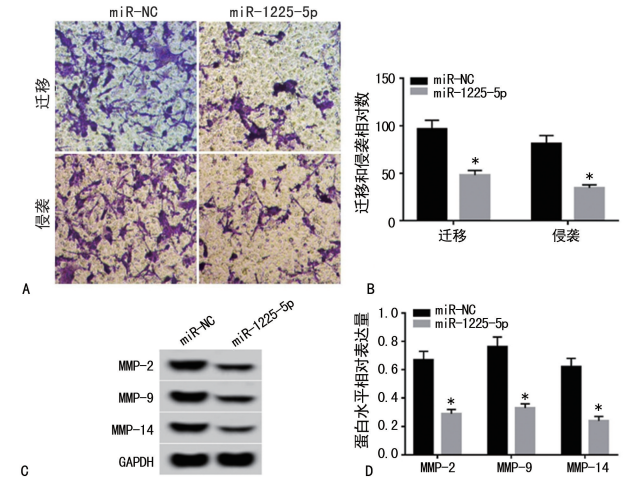
0.05),表明 miR-1225-5p mimics 转染成功,Huh7 细胞中 miR-1225-5p 过表达。与 miR-NC 组比较,miR-1225-5p 组 Huh7 细胞培养 48、72 h 后 A 值、CyclinD1 水平均降低,p21 和 p27 蛋白水平均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 2。

2.3 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞迁移和侵袭的影响 与 miR-NC 组比较,miR-1225-5p 组 Huh7 细胞迁移和侵袭数量、MMP-2、MMP-9 和 MMP-14 水平均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 3。

2.4 下调 S100A9 表达对肝癌 Huh7 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 si-S100A9 组 Huh7 细胞中 S100A9 水平明显低于 si-NC 组,差异均有统计学意义($P<0.05$),表明 S100A9 siRNA 转染成功,Huh7 细胞中 S100A9 表达下调。与 si-NC 组比较,si-S100A9 组 Huh7 细胞培养 48、72 h 后 A 值、迁移和侵袭数量、CyclinD1、MMP-2 和 MMP-9 水平均降低,p21 蛋白水平升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。

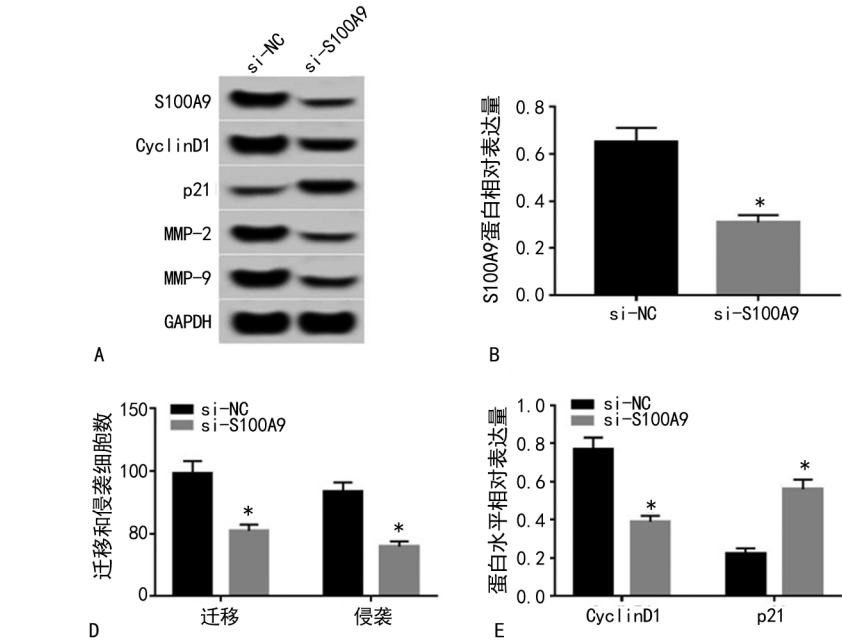
2.5 miR-1225-5p 靶向调控 S100A9 的表达 生物信息学软件预测显示,S100A9 的 3'UTR 中含有与 miR-1225-5p 互补的核苷酸序列。双荧光素酶活性检测结果显示,miR-1225-5p mimics 可降低 S100A9 的 3'UTR 野生型质粒荧光素酶活性($P<0.05$),而对 S100A9 的 3'UTR 突变型质粒荧光素酶活性物无明显影响($P>0.05$),说明 miR-1225-5p 可与 S100A9 的 3'UTR 靶向结合。Western blot 试验检测结果显示,miR-1225-5p 组 S100A9 水平低于 miR-NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$),anti-miR-1225-5p 组 S100A9 水平高于 anti-miR-NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$),进一步说明 miR-1225-5p 在 Huh7 细胞中负调控 S100A9 的表达。见图 5。

与 miR-NC 组比较,miR-1225-5p 组 Huh7 细胞培养 48、72 h 后 A 值、迁移和侵袭细胞数量、CyclinD1、MMP-2 和 MMP-9 水平均降低,p21 蛋白水平升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。



注:A 和 B 为 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞迁移和侵袭的影响;C 和 D 为 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞迁移和侵袭相关蛋白表达的影响。与 miR-NC 组比较,* $P<0.05$ 。

图 3 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞迁移和侵袭的影响



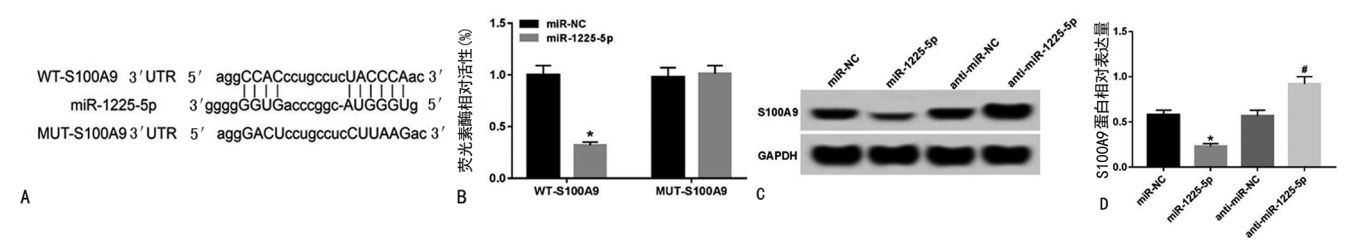
注:A 为增殖、迁移和侵袭相关蛋白表达情况;B 为 S100A9 相对表达量;C 为下调 S100A9 表达对肝癌 Huh7 细胞增殖的影响;D 为下调 S100A9 表达对肝癌 Huh7 细胞迁移和侵袭的影响;E 为下调 S100A9 表达对肝癌 Huh7 细胞增殖相关蛋白表达水平的影响;F 为下调 S100A9 表达对肝癌 Huh7 细胞迁移和侵袭相关蛋白表达的影响。与 si-NC 组比较,* $P<0.05$ 。

图 4 下调 S100A9 表达对肝癌 Huh7 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

2.6 S100A9 过表达逆转了 miR-1225-5p 过表达对肝癌 Huh7 细胞增殖、迁移和侵袭作用 与 miR-1225-5p + pcDNA 组比较,miR-1225-5p + pcDNA-

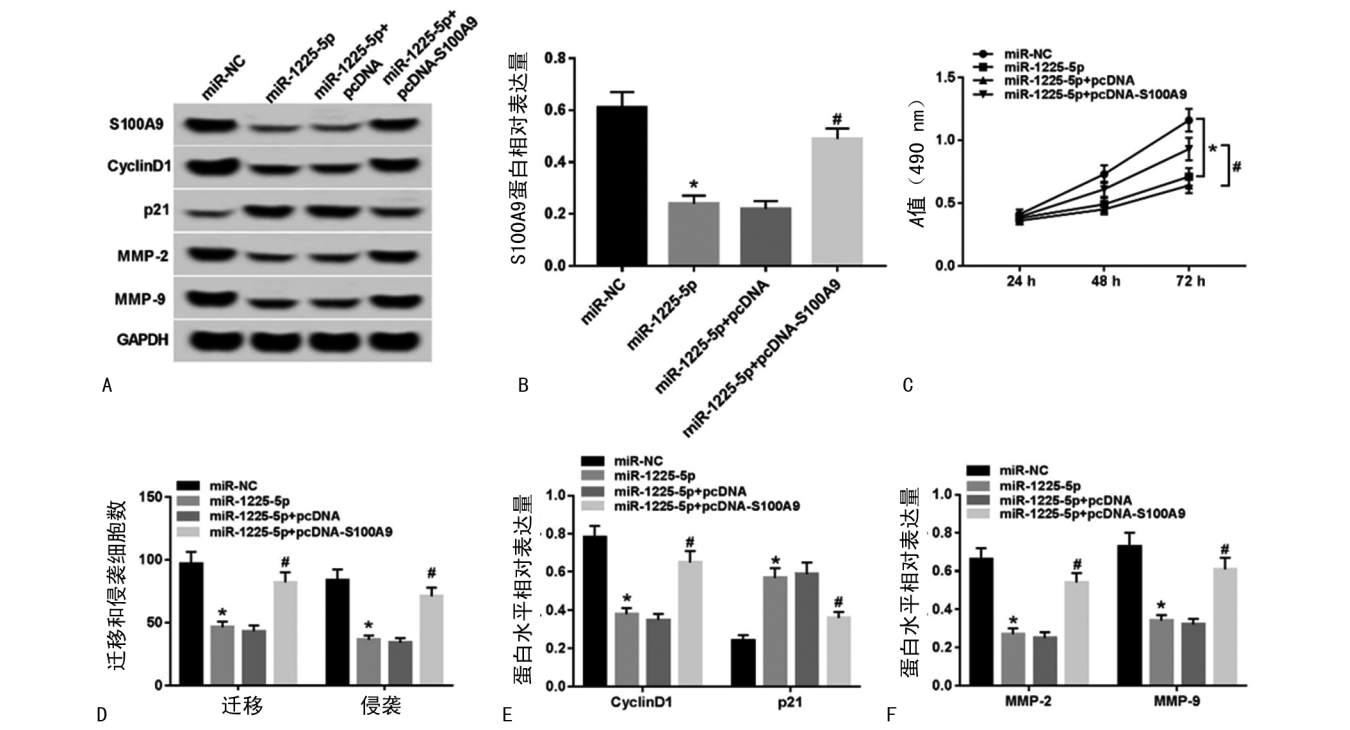
S100A9 组 Huh7 细胞培养 48、72 h 后 A 值、迁移和侵袭细胞数量、CyclinD1、MMP-2 和 MMP-9 水平均升高,p21 蛋白水平降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 6。

0.05)。见图 6。



注:A为S100A9的3'UTR中含有与miR-1225-5p互补的核苷酸序列;B为双荧光素酶报告试验;C和D为miR-1225-5p对S100A9表达的影响。与miR-NC组比较,* $P<0.05$;与anti-miR-NC组比较,# $P<0.05$ 。

图5 miR-1225-5p靶向调控S100A9的表达



注:A为免疫印迹图;B为S100A9蛋白相对表达量;C和D为S100A9过表达逆转了miR-1225-5p过表达对肝癌Huh7细胞增殖、迁移和侵袭作用;E和F为S100A9过表达逆转了miR-1225-5p过表达对肝癌Huh7细胞增殖,迁移和侵袭相关蛋白表达的作用。与miR-NC组比较,* $P<0.05$;与miR-1225-5p+pcDNA组比较,# $P<0.05$ 。

图6 S100A9过表达逆转了miR-1225-5p过表达对肝癌Huh7细胞增殖、迁移和侵袭作用

3 讨论

miRNA是一类长度为18~25个核苷酸的小分子RNA,广泛存在于真核生物体中,其表达与肿瘤、心脑血管疾病等密切相关,可作为疾病诊断和治疗的靶向指标^[11-12]。随着对miRNA的深入研究发现,miR-1225-5p与肿瘤的发生和发展密切相关。WANG等^[13]研究显示,miR-1225-5p在甲状腺癌组织和细胞系中表达下调,miR-1225-5p过表达可明显抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,并促进肿瘤细胞凋亡。SUN等^[14]研究显示,miRNA-1225-5p过表达通过靶向下调细胞分裂周期14B蛋白表达抑制喉癌细胞增殖,阻滞肿瘤细胞周期,并诱导细胞凋亡。目前少见miR-1225-5p影响肝癌细胞生物学行为的相关报道。

本研究结果显示,与正常肝细胞比较,肝癌细胞

系中miR-1225-5p表达水平降低,提示miR-1225-5p作为抑癌基因参与肝癌的发生和发展。转染miR-1225-5p mimics至肝癌Huh7细胞,Huh7细胞的增殖能力降低,迁移和侵袭细胞数减少,CyclinD1、MMP-2和MMP-9表达水平降低,而p21和p27蛋白表达水平升高,与相关研究结果一致^[15-16],说明miR-1225-5p过表达可抑制肝癌细胞Huh7增殖、迁移和侵袭。

miRNA通常在转录后调控靶基因的表达,进而影响细胞的生物学行为^[16]。为了进一步探讨miR-1225-5p抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用机制,本研究通过生物信息学软件预测显示,S100A9的3'UTR中含有与miR-1225-5p互补的核苷酸序列,提示miR-1225-5p可能调控S100A9表达。进一步通过双荧光素酶活性检测和Western blot试验证实,miR-

1225-5p 在肝癌 Huh7 细胞中靶向负调控 S100A9 表达。S100A9 是一种钙结合蛋白,参与下咽癌、膀胱癌、非小细胞肺癌等肿瘤的发生和发展^[17-19]。HUANG 等^[20]研究显示,S100A9 在肝细胞癌中表达水平升高,且高表达的患者预后较差,其可作为肝细胞癌早期诊断的生物学标志物。蔡琰^[21]研究发现,S100A9 可能通过激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶通路促进鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究结果显示,肝癌细胞系中 S100A9 mRNA 和 S100A9 表达水平高于正常肝细胞,提示 S100A9 在肝癌发展过程中发挥重要作用。转染 S100A9 的小干扰 RNA 抑制 S100A9 表达后,肝癌细胞 Huh7 的增殖能力降低,迁移和侵袭细胞数减少,CyclinD1、MMP-2 和 MMP-9 表达水平降低,而 p21 蛋白表达水平升高,与相关研究结果一致^[22],说明下调 S100A9 表达可抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。本研究结果显示,过表达 S100A9 逆转了 miR-1225-5p 过表达对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用,提示 miR-1225-5p 通过下调 S100A9 表达影响肝癌细胞的生物学行为。

4 结 论

miR-1225-5p 在肝癌细胞系中表达水平降低,过表达 miR-1225-5p 可抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭,其可能通过靶向下调 S100A9 表达发挥作用,为肝癌的靶向分子治疗提供一定的新思路。本研究还存在一定的不足之处,接下来将通过裸鼠移植瘤试验进一步探讨 miR-1225-5p 对肝癌的影响。

参考文献

- [1] 刘军灵,秦斌,郑振东.肠道微生物稳态与肝癌关系的研究进展[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(11):103-108.
- [2] 鲁磊,肖开银,朱广志,等.原发性肝细胞癌根治术后行肝动脉化疗栓塞术生存分析[J].中华肿瘤防治杂志,2018,25(4):263-269.
- [3] 李相成,王宏伟,李长贤.肝癌综合治疗的现状与展望[J].中华消化外科杂志,2018,17(5):433-436.
- [4] 陈伟.全基因组和外显子组测序在肝癌研究中的应用进展[J].中华肝胆外科杂志,2017,23(11):784-789.
- [5] SHI C,ZHANG Z. MicroRNA-362 is downregulated in cervical cancer and inhibits cell proliferation, migration and invasion by directly targeting SIX1[J]. Oncol Rep, 2017,37(1):501-509.
- [6] ZHENG H,ZHANG F,LIN X,et al. MicroRNA-1225-5p inhibits proliferation and metastasis of gastric carcinoma through repressing insulin receptor substrate-1 and activation of β -catenin signaling[J]. Oncotarget,2016,7(4):4647-4663.
- [7] WALTERING K K,PORKKA K P,JALAVA S E,et al. Androgen regulation of micro-RNAs in prostate cancer[J]. Prostate,2015,71(6):604-614.
- [8] FISHER J N,TERAO M,FRATELLI M,et al. MicroRNA networks regulated by all-trans retinoic acid and Lapatinib control the growth, survival and motility of breast cancer cells[J]. Oncotarget,2015,6(15):13176-13200.
- [9] 武睿,周兰,崔鲂. S100A9 促进肝癌细胞 HepG2 的存活与侵袭依赖于 RAGE[J]. 中国生物工程杂志,2015,35(5):8-14.
- [10] 邓丹,李远发,陈瑞红,等.血清 S100A8 和 S100A9 对原发性肝癌的临床诊断价值[J]. 实用癌症杂志,2016,31(10):1597-1600.
- [11] JUAN C,HUA Q,RUPING Z,et al. MiRNA-489 as a biomarker in diagnosis and treatment of cervical cancer[J]. Bratisl Lek Listy,2018,119(5):278-283.
- [12] CHENG H L,FU C Y,KUO W C,et al. Detecting miRNA biomarkers from extracellular vesicles for cardiovascular disease with a microfluidic system[J]. Lab Chip, 2018,18(19):2917-2925.
- [13] WANG S M,CHEN X H,ZHANG Z W,et al. MicroRNA-1225-5p inhibits the development and progression of thyroid cancer via targeting sirtuin 3[J]. Pharmazie,2019,74(7):423-427.
- [14] SUN P,ZHANG D,HUANG H P,et al. MicroRNA-1225-5p acts as a tumor-suppressor in laryngeal cancer via targeting CDC14B[J]. Biol Chem,2019,400(2):237-246.
- [15] ZHENG H Y,ZHANG F X,LIN X J,et al. MicroRNA-1225-5p inhibits proliferation and metastasis of gastric carcinoma through repressing insulin receptor substrate-1 and activation of β -catenin signaling[J]. Oncotarget, 2016,7(4):4647-4663.
- [16] LIU R,DENG D,LIU X,et al. A miR-18a binding-site polymorphism in CDC42 3'UTR affects CDC42 mRNA expression in placentas and is associated with litter size in pigs[J]. Mamm Genome,2018,30(9):34-41.
- [17] WU P,QUAN H,KANG J,et al. Downregulation of calcium binding protein S100A9 inhibits hypopharyngeal cancer cell proliferation and invasion ability through inactivation of NF- κ B signaling[J]. Oncol Res,2017,25(9):1479-1488.
- [18] YASAR O,AKCAY T,OBEK C,et al. Significance of S100A8,S100A9 and calprotectin levels in bladder cancer[J]. Scand J Clin Lab Invest,2017,77(6):1-5.
- [19] HUANG H,HUANG Q,TANG T,et al. Clinical significance of calcium-binding protein S100A8 and S100A9 expression in non-small cell lung cancer[J]. Thorac Cancer, 2018,9(7):800-804.
- [20] HUANG C H,KUO C J,LIANG S S,et al. Onco-proteogenomics identifies urinary S100A9 and GRN as potential combinatorial biomarkers for early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Bba Clin,2015,3(9):205-213.
- [21] 蔡琰. S100A8/S100A9 通过 p38MAPK 通路调控 EMT 促进鼻咽癌细胞侵袭迁移[D]. 南宁:广西医科大学,2017.
- [22] WU R,DUAN L,CUI F,et al. S100A9 promotes human hepatocellular carcinoma cell growth and invasion through RAGE-mediated ERK1/2 and p38 MAPK pathways[J]. Exp Cell Res,2015,334(2):228-238.