

· 论 著 ·

miR-129-3p 与 LPAR3 在肝癌细胞中的表达水平及其靶向关系研究^{*}

贾明君¹, 王义真², 常聪颖¹, 张银阁¹

1. 邢台市第二医院肝病一科, 河北邢台 054000; 2. 邢台市第三医院肝胆外科, 河北邢台 054000

摘 要:目的 探究微小 RNA(miR)-129-3p 与溶血磷脂酸受体 3(LPAR3)在肝癌细胞中的表达水平及其靶向调控机制。方法 细胞学实验:选取 3 种肝癌细胞系 HepG2、BEL-7402、SMMC-7721 及正常肝细胞系 HL-7702 作为研究对象,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测 miR-129-3p 与 LPAR3 的表达水平,生物信息学软件 DBmiR 预测 miR-129-3p 与 LPAR3 的靶向关系,并使用双荧光报告实验探究 miR-129-3p 与 LPAR3 在 4 种细胞系 HepG2、BEL-7402、SMMC-7721 和 HL-7702 的靶向关系。裸鼠荷瘤实验:将 20 只裸鼠分为野生组($n=10$)和 miR-129-3p 组($n=10$),分别接种野生型 HepG2 细胞和转染 miR-129-3p 的 HepG2 细胞,绘制肿瘤生长曲线并通过小动物活体成像检测肿瘤体积,qPCR 和 western blot 检测肿瘤组织 miR-129-3p、LPAR3 的表达水平及 PI3K/AKT 信号通路分子。结果 细胞实验表明,与对照细胞相比,3 种肝癌细胞中 miR-129-3p 显著低表达,LPAR3 显著高表达,差异有统计学意义($P<0.01$),生物信息学软件和双荧光报告实验证实 miR-129-3p 与 LPAR3 具有靶向调控关系($P<0.01$)。裸鼠荷瘤实验表明:与对照组相比,miR-129-3p 组肿瘤生长显著受到抑制,肿瘤体积显著降低,qPCR 和 Western blot 实验表明肿瘤组织中 miR-129-3p 显著升高,LPAR3、PI3K、AKT 表达水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。结论 miR-129-3p 在肝癌细胞中显著低表达,与 LPAR3 具有靶向调控关系;miR-129-3p 的高表达水平可以显著抑制肿瘤生长,其机制可能与 PI3K/AKT 信号通路的调控相关。

关键词:微小 RNA-129-3p; 肝癌; 溶血磷脂酸受体 3; 靶向调控; PI3K/AKT 信号通路

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.01.013

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2023)01-0069-05

文献标志码:A

Expression level and targeting relationship of miR-129-3p and LPAR3 in hepatoma cells^{*}

JIA Mingjun¹, WANG Yizhen², CHANG Congying¹, ZHANG Ying¹

1. No. 1 Department of Hepatology, Xingtai Second Hospital, Xingtai, Hebei 054000, China;

2. Department of Hepatobiliary Surgery, Xingtai Third Hospital, Xingtai, Hebei 054000, China

Abstract: Objective To investigate the expression level and targeted regulation mechanism of microRNA (miR)-129-3p and lysophosphatidic acid receptor 3 (LPAR3) in hepatoma cells. **Methods** Cytology experiment: three liver cancer cell lines HepG2, BEL-7402, SMMC-7721 and normal liver cell line HL-7702 were selected as the research objects. The expression levels of miR-129-3p and LPAR3 were detected by qPCR, the targeting relationship between miR-129-3p and LPAR3 was predicted by bioinformatics software DBmiR and double fluorescence report experiment was used to explore the targeting relationship between miR-129-3p and LPAR3 in four cell lines HepG2, BEL-7402, SMMC-7721 and HL-7702. Nude mice tumor bearing experiment: 20 nude mice were divided into two groups, wild group ($n=10$) and miR-129-3p group ($n=10$). The two groups were inoculated with wild type HepG2 cells and HepG2 cells transfected with miR-129-3p respectively. The tumor growth curve was drawn and the tumor volume was detected by small animal imaging in vivo. The expression levels of miR-129-3p, LPAR3 and PI3K/AKT signal pathway molecules in tumor tissues were detected by qPCR and Western blot. **Results** Compared with the control cells, the expression of miR-129-3p was significantly lower and LPAR3 was significantly higher in the three hepatoma cells ($P<0.01$). Bioinformatics software and double fluorescence report experiment confirmed that miR-129-3p had a targeted regulatory relationship with LPAR3 ($P<0.01$). The tumor bearing experiment in nude mice showed that compared with the control group, the tumor growth of miR-129-3p group was significantly inhibited and the tumor vol-

^{*} 基金项目:邢台市重点研发计划自筹项目(2021ZC090)。

作者简介:贾明君,女,主治医师,主要从事肝病方面的研究。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1176.R.20221214.1502.006.html>(2022-12-15)

ume was significantly reduced. qPCR and Western blot showed that the expression levels of miR-129-3p, LPAR3, PI3K and AKT in tumor tissues were significantly increased and the differences were statistically decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of miR-129-3p is significantly low in hepatoma cells and has a targeted regulatory relationship with LPAR3. The overexpression of miR-129-3p could significantly inhibit tumor growth, which may be related to the regulation of PI3K/AKT signal pathway.

Key words: microRNA-129-3p; liver cancer; lysophosphatidic acid receptor 3; targeted regulation; PI3K/AKT pathway

肝癌是发生在肝脏的恶性肿瘤,与饮酒、病毒性肝炎、食用霉变食物相关,患者早期常无特殊症状,是我国常见的恶性肿瘤之一^[1-2]。我国肝癌患者年龄为 40~50 岁,男性比女性多见,高发于东南沿海地区,其病因和发病机制尚未明确^[3-4]。研究表明表观遗传学尤其是微小 RNA(miRNA)在肝癌的发生发展中发挥着重要的调控作用^[5-6],如 miR-129 家族的 miR-129-5p 可通过靶向钙调素依赖性蛋白激酶 IV (CAMK4) 抑制肝癌生长^[7],或可通过抑制 Wnt 信号通路减弱肝癌细胞的增殖并促进其凋亡^[8],但 miR-129-3p 在肝癌中的表达水平情况尚不清晰。溶血磷脂酸受体 3 (LPAR3) 和 PI3K 信号通路参与多种癌症进展, LPAR3 异常表达参与调控了卵巢癌等癌症的耐药性^[9-10], PI3K/AKT 信号通路也参与了肝癌细胞的增殖、凋亡、侵袭等过程^[11-12],但 miR-129 是否可以通过靶向调控 LPAR3 并影响 PI3K/AKT 信号通路尚不清晰。因此,本研究将通过多种肝癌细胞系分析 miR-129-3p 和 LPAR3 的表达水平,探究其靶向关系,并通过裸鼠荷瘤实验确定 miR-129-3p 对肿瘤发展及 PI3K/AKT 信号通路的影响,为 miR-129-3p 在肝癌的作用提供分子机制和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 人肝细胞及肝癌细胞株 HL-7702、HepG2、BEL-7402、SMMC-7721 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库/中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

SPF 级雌性裸鼠, (20±2)g, 20 只, 购于北京科兴中维生物技术有限公司 [SYXK (京) 2019-0052], 18~22 ℃, 湿度 50%~60%, 氨浓度≤20 ppm, 换气次数 10~20 次/小时, 适应性饲养 1 周分为对照组和 miR-129-3p 组。

1.2 仪器与试剂 RPMI-1640 及 DMEM 购于美国

gibico 公司, 胎牛血清和青链霉素购于澳大利亚 Aus-bian 公司; 10 cm 培养皿、15 mL 离心管、1.5 mL EP 管等试验耗材购于美国 Corning 公司; miR-129-3p 质粒购于广州 Ribobio 公司; miR-129-3p、LPAR3、PI3K 及 AKT 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成; ABI 7500 qPCR 仪购于美国 ABI 公司; Western blot 电泳仪购于美国 bio-rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 qPCR 检测细胞及组织中 miR-129-3p、LPAR3、PI3K、AKT 表达 细胞采用 1 mL Trizol 提取总 RNA; 肿瘤组织采用液氮中进行研磨, 加入 1 mL Trizol 提取总 RNA; 严格按照 miRNA cDNA Synthesis Kit 试剂盒逆转录试剂盒和 SYBR Green PCR Master Mix Kit PCR 试剂盒进行逆转录并通过 qPCR 仪进行表达水平检测, 所有操作在冰上进行并避免 RNA 酶污染。7500 Fast 系统进行实时荧光定量 PCR 的条件: 预变性 95 ℃ 10 min, 变性 95 ℃ 10 s, 退火 60 ℃ 30 s, 延伸 72 ℃ 20 s, 35 个循环, 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并提供, 分别使用 U6 和 GHAPDH 分别作为内参, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-129-3p、LPAR3、PI3K、AKT 相对表达水平。见表 1。

1.3.2 荧光报告酶实验 MIRDB 生物信息学软件预测 miR-129-3p 在 LPAR3 上的结合关系, 荧光素酶报告实验验证 miR-129-3p 与 LPAR3 基因的靶向关系, 由广州 Ribobio 公司构建并提供 LPAR3 野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 报告基因质粒, 并分别与 miR-129-3p mimic 或 NC 质粒转染至细胞中。转染 48 h 后, 按照 Dual Luciferase reporter Assay System 说明书分别检测萤火虫荧光素酶活性和海肾荧光素酶活性, 以萤火虫荧光素酶/海肾荧光素酶比值表示荧光素酶相对活性, 实验重复 3 次。

表 1 qPCR 检测中不同基因的引物序列

基因名	引物序列(5'-3')	大小(bp)
miR-129-3p	F: 5'-ACA CTC CAG CTG GGA AGC CCT TAC CCC AA-3'	127
	R: 5'-TGG TGT CGT GGA GTC G-3'	
LPAR3	F: 5'-TCT TAG GAG CCT TCG TGG TGT-3'	131
	R: 5'-GCT GAT GCT GTC CTC CAG GTA-3'	
PI3K	F: 5'-GCC CAG GCT TAC TAC AGA C-3'	142
	R: 5'- AAG TAG GGA GGC ATC TCG-3'	

续表 1 qPCR 检测中不同基因的引物序列

基因名	引物序列(5'-3')	大小(bp)
AKT	F:5'- AGT CCC CAC TCA ACA ACT TCT-3'	138
	R:5'-GAA GGT GCG CTC AAT GAC TG-3'	
U6	F:5'-GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA AAA T-3'	121
	R:5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'	
β-actin	F:5'-CTC CAT CCT GGC CTC GCT GT-3'	129
	R:5'-GCT GTC ACC TTC ACC GTT CC-3'	

1.3.3 细胞培养及转染条件 各组细胞培养条件：RPMI-1640/DMEM 完全培养液（内含 10% 胎牛血清、青霉素 100 μg/mL、链霉素 100 μg/mL），置 CO₂ 培养箱内，5% CO₂，37℃ 静置培养；细胞转染：用胰酶消化细胞后重选，严格按照转染试剂盒 lipo3000（11668-027，Invitrogen 公司）说明书将 NC 和 miR-129-3p 质粒进行转染，6~8 h 后，更换成完全培养基重新加入完全培养基，置于 5% CO₂ 培养箱中 37℃ 培养，用于后续各组实验。

1.3.4 裸鼠荷瘤实验 将野生型人肝癌细胞 HEPG2 和转染 miR-129-3p 的细胞调整至 2×10⁷ 个/毫升的细胞悬液。将所得细胞悬液以 1 mL 无菌注射器接种于 20 只裸鼠右侧腋下皮下，注入细胞悬液每只裸鼠注射 0.2 mL。对照组（n=10）注射野生型 HEPG2 细胞，miR-129-3p 组裸鼠（n=10）注射转染 miR-129-3p 的 HEPG2 细胞，7 d 后测量肿瘤体积，建模成功的判断标准：皮下瘤块体积≥0.5 cm³，肿瘤生长达到标准的入组进入后续分组及实验，成瘤后每 3 天用游标卡尺测量皮下瘤块的长短径，计算肿瘤体积=长径×短径 2×1/2，连续 21 d，绘制两组裸鼠肿瘤生长曲线及每只裸鼠肿瘤生长曲线。

1.3.5 Western blot 检测蛋白表达 取适量肿瘤组织液氮下研磨，加入 1 mL RIPA 蛋白裂解液冰上提取细胞总蛋白，使用 BCA 法测定蛋白浓度。加入 5×SDS 的蛋白上样缓冲液 95℃ 10 min 煮沸后备用。将样品分别加入不同的泳道进行聚丙烯酰胺凝胶电泳，浓缩胶电压 80 V 10 min，分离胶电压 120 V 1.5 h，后转至 PVDF 膜，用 5% 脱脂奶粉封闭。加入特异性一抗 LPAR3 Antibody（1：1 000，PA5-27074，Thermer fisher，美国），PI3K Antibody（1：1 000，ab125633，abcam，英国），AKT（1：1 000，ab8805，abcam，英国）和 GAPDH（1：10 000，ab8245，abcam，英国）于 4℃ 冰箱过夜。TBST 洗膜 3 次，每次 5 min，加入特异性的羊抗兔二抗（1：2 000），孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次，每次 5 min，采用 ECL 化学发光液曝光显影，使用 Photoshop 图像分析软件系统进行半定量分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用 ANOVA 方差分析，以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-129-3p 在肝组织和癌旁组织中的表达比较 如表 2 所示与对照组正常肝细胞相比，肝癌细胞 HepG2、BEL-7402、SMMC-7721 中 miR-129-3p 相对表达水平显著降低，差异有统计学意义（*P* < 0.01）。

表 2 不同细胞系中 miR-129-3p 和 LPAR3 相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

项目	miR-129-3p	LPAR3
HL-7702	1.68±0.15	1.80±0.43
HepG2	0.77±0.14*	3.81±0.12*
BEL-7402	0.84±0.18**	4.18±0.27**
SMMC-7721	0.69±0.12**	3.68±0.37**
<i>F</i>	12.60	14.33
<i>P</i>	<0.01	<0.01

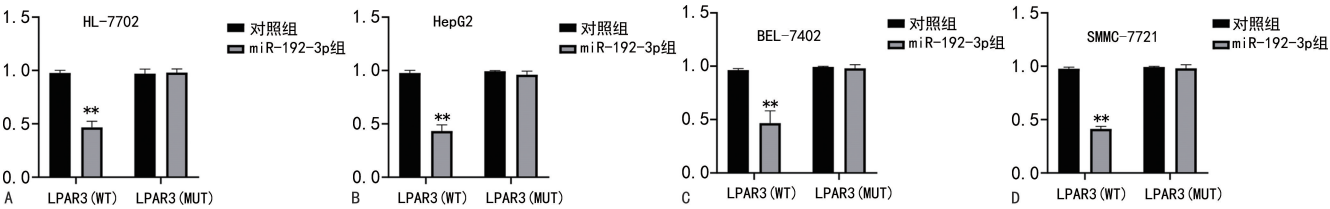
注：与 HL-7702 比较，* *P* < 0.05；** *P* < 0.01。

2.2 miR-129-3p 与 LPAR3 的靶向关系确定 生物信息学软件 MIRDB 预测 LPAR3 为 miR-129-3p 具有靶向关系，进一步通过荧光报告实验证实了在 HL-7702、HepG2、BEL-7402、SMMC-7721 4 种细胞系中 miR-129-3p 与 LPAR3 均具有靶向关系，差异具有统计学意义（*P* < 0.01），见图 1。

2.3 miR-129-3p 对裸鼠肿瘤生长的抑制作用 两组裸鼠荷瘤后精神状态均较好、活动频繁、饮食饮水量正常。荷瘤第 7 天对小鼠进行筛选，各组有 10 只裸鼠肿瘤体积≥0.5 cm³ 且大小均一，成瘤率为 71%，肿瘤体积未达到实验标准的未入组本试验。如图 2 所示，miR-129-3p 组裸鼠肿瘤体生长速度显著低于对照组，肿瘤积显著低于对照组，由此可见肿瘤生长受到显著抑制，差异有统计学意义（*P* < 0.01）。

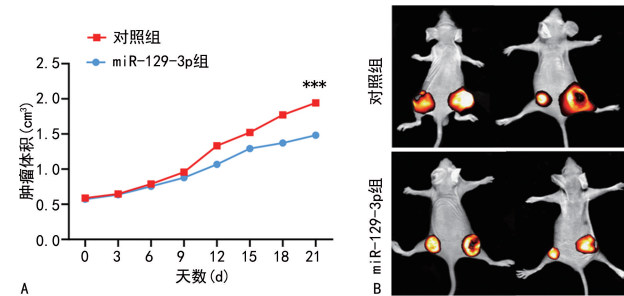
2.4 肿瘤组织 miR-129-3p、LPAR3、PI3K、AKT 的表达水平 与对照组相比，miR-129-3p 相对表达水平显著升高，LPAR3、PI3K、AKT 显著降低，差异有统

计学意义($P<0.01$),见表 3。



注:A 为 HL-7702 细胞;B 为 HepG2 细胞;C 为 BEL-7402 细胞;D 为 SMMC-7721 细胞。

图 1 miR-129-3p 与 LPAR3 的靶向关系



注:A 为肿瘤生长曲线;B 为小鼠活体成像。

图 2 miR-129-3p 对裸鼠肿瘤生长的抑制作用

表 3 qPCR 检测肿瘤组织 miR-129-3p、LPAR3、PI3K、AKT 相对表达水平($\bar{x}\pm s$)				
组别	miR-129-3p	LPAR3	PI3K	AKT
对照组	1.28±0.15	1.80±0.43	2.40±0.33	4.80±0.43
miR-129-3p 组	2.69±0.32**	0.68±0.37**	1.68±0.37**	2.21±0.31**
<i>t</i>	2.35	5.36	4.55	5.23
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组比较 * $P<0.05$; ** $P<0.01$ 。

2.5 肿瘤组织 LPAR3、PI3K、AKT 蛋白的相对表达水平 与对照组相比,miR-129-3p 组肿瘤组织 LPAR3、PI3K、AKT 显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 4。

表 4 肿瘤组织 LPAR3、PI3K、AKT 相对表达水平($\bar{x}\pm s$)			
组别	LPAR3	PI3K	AKT
对照组	1.87±0.63	1.40±0.13	1.80±0.23
miR-129-3p 组	1.31±0.37**	0.63±0.17**	0.51±0.11**
<i>t</i>	3.31	4.31	4.50
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组比较 * $P<0.05$; ** $P<0.01$ 。

3 讨 论

肝癌是肝脏恶性肿瘤,可分为原发性和继发性两大类。原发性肝脏恶性肿瘤起源于肝脏的上皮或间叶组织,是我国高发的危害极大的恶性肿瘤;继发性肝癌与原发性肝癌相比较为少见,继发性或称转移性肝癌系指全身多个器官起源的恶性肿瘤侵犯至肝脏,一般多见于胃、胆道、胰腺、结直肠、卵巢、子宫、

肺、乳腺等器官恶性肿瘤的肝转移^[13-14]。MiRNA 是多种癌症发生发展的重要调控分子,尤其是参与了肝脏细胞分化和组织发育过程中的基因的转录后调控过程^[15-16]。研究表明 miR-129 对肝脏疾病发展中具有调控作用,如 miR-129-5p 在非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 患者中显著异常表达,并且异常表达的 MiR-129-5p 在 NAFLD 患者可能是一种潜在的诊断生物标志物^[17],也有研究通过在碳 CCl₄ 大鼠模型证实了升高的 miR-129-5p 可通过 PEG3 的 NF- κ B 信号通路减轻肝纤维化^[18]。本研究通过 3 种肝癌细胞系及对照细胞系证实了 miR-129-3p 在 3 种肝癌细胞中均出现显著低表达,提示 miR-129-3p 可能对肝癌细胞具有抑制作用,因此本实验进行了裸鼠荷瘤实验进一步探究过表达 miR-129-3p 是否会干预肝癌细胞在小鼠体内的增殖,结果证实转染 miR-129-3p 的肝癌细胞在小鼠体内增殖显著降低,肿瘤生长受到显著抑制,由此提示:miR-129-3p 对肝癌的发生发展具有显著的抑制作用。

LPAR3 主要位于细胞的细胞质中,编码 G 蛋白耦联受体家族以及 EDG 蛋白家族的一个成员。该蛋白作为溶血磷脂酸的细胞受体发挥作用,并介导溶血磷脂酸诱发的钙动员。该受体主要与 G(q/11) α 蛋白结合可通过吸附 miRNA 影响基因表达,尤其可以激活 RAS/MAPK 和 PI3K/AKT 通路^[10-19]。研究表明上调的 miR-15b 通过靶向 LPAR3 抑制 PI3K/AKT 通路,进而缓解卵巢癌^[20],但是 miR-129-3p 是否可以靶向 LPAR3 进而调控 PI3K/AKT 从而发挥抑制肿瘤作用上不明确,因此本研究首先通过生物信息学分析软件 DBmiR 预测了 miR-129-3p 与 LPAR3 具有调控作用,本研究进一步在 3 种肝癌细胞和 1 种对照细胞中通过荧光报告实验证实了 miR-129-3p 与 LPAR3 的靶向作用,由此证实在细胞水平上,miR-129-3p 与 LPAR3 的调控作用。为了进一步在体内实验中证实这种靶向调控关系,本文通过裸鼠实验,分别荷瘤野生型 HepG2 和转染 miR-129-3p 的 HepG2 细胞,证实了在过表达 miR-129-3p 的小鼠肿瘤组织中,LPAR3 出现了显著低表达,这与细胞学实验结果

一致,进一步在体内实验证明了 miR-129-3p 与 LPAR3 的靶向作用。由于 LPAR3 可以调控 PI3K/AKT 信号通路活性^[20-21],本研究探究了肿瘤组织中的 PI3K/AKT 表达水平,结果证实低表达 LPAR3 会抑制 PI3K 和 AKT 的 mRNA 及蛋白表达水平,由此推测在肝癌细胞中,miR-129 的高表达会靶向 LPAR3 基因,调控 PI3K/AKT 信号通路,实现抑制肿瘤发展的作用。

综上所述,本研究通过细胞学实验和体内裸鼠荷瘤实验证实了 miR-129-3p 在肝癌细胞中低表达,miR-129-3p 可以通过靶向 LPAR3,抑制 PI3K/AKT 信号通路,实现抑制肿瘤的发生发展的作用。本研究可以进一步获取临床样本,探究 miR-129-3p 对 LPAR3 的靶向作用及下游信号通路的调控作用,完善 miR-129-3p 的调控机制和信号通路。

参考文献

[1] WANG C, CAO Y, YANG C, et al. Exploring liver cancer biology through functional genetic screens[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(10): 690-704.

[2] MARÍA D L A, FLORENCIA L. Role of eicosanoids in liver repair, regeneration and cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 192: 114732.

[3] YARA O A, ALIA Y, JAMES I K, et al. Targeting ency-sis in liver autoimmunity, transplantation, viral infection and cancer[J]. Front Immunol, 2021, 19(12): 662134.

[4] XIA C, DONG X, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determi-nants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.

[5] YE J, LIN Y, YU Y, et al. LncRNA NEAT1/microRNA-129-5p/SOCS2 axis regulates liver fibrosis in alcoholic steatohepatitis[J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 445.

[6] LI J C, LIU Y F, HUANG C, et al. Long noncoding RNA NEAT1 sponges miR-129 to modulate renal fibrosis by regulation of collagen type I [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2020, 319(1): F93-F105.

[7] LI Z Z, LU J Y, ZENG G, et al. MiR-129-5p inhibits liver cancer growth by targeting calcium calmodulin-dependent protein kinase IV (CAMK4)[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(11): 789.

[8] MAI Q C, MO Z Q, HE J, et al. MiR-129-2 weakens pro-liferation and promotes apoptosis of liver cancer cells by suppressing the Wnt signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(12): 6665-6673.

[9] LIU X M, YIN Z P, WU Y U, et al. Circular RNA lyso-phosphatidic acid receptor 3 (circ-LPAR3) enhances the cisplatin resistance of ovarian cancer[J]. Bioengineered,

2022, 13(2): 3739-3750.

[10] LI L, YIN Y, NAN F L, et al. Circ_LPAR3 promotes the progression of oral squamous cell carcinoma (OSCC)[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 22(589): 215-222.

[11] XU R Y, ZHANG Y C, LI A, et al. LY-294002 enhances the chemosensitivity of liver cancer to oxaliplatin by bloc-king the PI3K/AKT/HIF-1 α pathway[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(1): 508.

[12] WANG W N, YIN Q, GUO S S, et al. NEIL3 contributes toward the carcinogenesis of liver cancer and regulates PI3K/Akt/mTOR signaling[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(4): 1053.

[13] DMITRII S, DISHEN C, SCOTT A R, et al. Examining the gut-liver axis in liver cancer using organoid models [J]. Cancer Lett, 2021, 10(510): 48-58.

[14] MOHAMMED MI H C, CHRISTIANCEL J J S, NU-RUNNABI M. Recent advances in bionanomaterials for liver cancer diagnosis and treatment[J]. Biomater Sci, 2021, 9(14): 4821-4842.

[15] 任丽, 屈阿敏, 刘亚萍, 等. 下调 miR-129-5p 水平减轻酒精引起的 Caco-2 人肠上皮细胞屏障功能障碍[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(10): 892-896.

[16] CHANG J, ZHANG Y H, SHEN N H, et al. MiR-129-5p prevents depressive-like behaviors by targeting MAPK1 to suppress inflammation[J]. Exp Brain Res, 2021, 239(11): 3359-3370.

[17] ZHU Y Z, HU Y B, CHENG X Y, et al. Elevated miR-129-5p attenuates hepatic fibrosis through the NF- κ B signaling pathway via PEG3 in a carbon CCl₄ rat model[J]. J Mol Histol, 2021, 52(3): 491-501.

[18] WANG Y, FENG Y J, ZHANG H, et al. Clinical value and role of miR-129-5p in non-alcoholic fatty liver disease [J]. Horm Metab Res, 2021, 53(10): 692-698.

[19] J CHARNEL C BYRNES, WEI JIA, ALI A ALSHAM-RANI, et al. miR-122-5p expression and secretion in mel-anoma cells is amplified by the LPAR3 SH3-binding do-main to regulate Wnt1[J]. Mol Cancer Res, 2019, 17(1): 299-309.

[20] LI G C, QIN X L, SONG H H, et al. Upregulated mi-croRNA-15b alleviates ovarian cancer through inhibition of the PI3K/Akt pathway by targeting LPAR3[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 22331-22342.

[21] XIA W, JIE W. ZEB1-AS1/miR-133a-3p/LPAR3/EGFR axis promotes the progression of thyroid cancer by regu-lating PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Cancer Cell Int, 2020, 29(20): 94.