·论　　著·

miR-567 通过调控 CDK8 在 NSCLC 增殖、迁移和细胞周期中的作用及其临床相关性研究*

李海洋[1]，赵振山[2]，李　静[1]，戎　瑶[1]，郑爱民[3]，郝孟辉[2]，田发明[4]

1. 开滦总医院肿瘤内科，河北唐山 063000；2. 开滦总医院胸外科，河北唐山 063000；
3. 唐山市人民医院肿瘤科，河北唐山 063000；4. 华北理工大学基础医学院，河北唐山 063000

摘　要：目的　探讨微小 RNA（miR）-567 通过调控周期蛋白依赖性激酶 8（CDK8）在非小细胞肺癌（NSCLC）增殖、迁移和细胞周期中的作用及其临床相关性研究。**方法**　收集 40 例 NSCLC 患者的肿瘤组织和临近癌旁组织，采用实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测 miR-567 和 CDK8 的表达。将 miR-NC mimic、miR-567 mimic、oe-NC 和 oe-CDK8 转染至 A549 和 H1975 细胞中，使用 qRT-PCR 检测 miR-567 和 CDK8 的表达，CCK-8 法检测细胞增殖水平，Transwell 法检测细胞迁移水平，流式细胞术检测细胞周期变化。通过荧光素酶报告基因实验检测 miR-567 与 CDK8 的靶向性。**结果**　在 NSCLC 患者的肿瘤组织中，miR-567 表达降低，而 CDK8 表达升高，二者呈负相关（$P<0.05$）。在 A549 和 H1975 细胞中，miR-567 mimic 组相较于 miR-NC mimic 组，miR-567 表达升高，CDK8 表达降低，细胞增殖和迁移水平降低，细胞 G1 期比例升高，S 期比例降低；miR-567 mimic 组在正常型 CDK8 中，荧光强度低于 miR-NC mimic 组；miR-567 mimic＋oe-CDK8 组相较于 miR-567 mimic＋oe-NC 组，CDK8 表达升高，细胞增殖和迁移水平升高，细胞 G1 期比例降低，S 期比例升高。**结论**　miR-567 通过靶向抑制 CDK8 表达，控制肿瘤细胞在 S 期阻滞，从而抑制 NSCLC 的增殖和迁移能力。

关键词：非小细胞肺癌；　细胞周期；　细胞周期蛋白依赖性激酶 8；　微小 RNA-567

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2024.03.015　　**中图法分类号：**R734.2

文章编号：1673-4130(2024)03-0335-07　　**文献标志码：**A

Study on the role of miR-567 in proliferation, migration and cell cycle of NSCLC through regulation of CDK8 and its clinical relevance*

LI Haiyang[1], *ZHAO Zhenshan*[2], *LI Jing*[1], *RONG Yao*[1], *ZHENG Aimin*[3], *HAO Menghui*[2], *TIAN Faming*[4]

1. *Department of Oncology, Kailuan General Hospital, Tangshan, Hebei, 063000, China*;
2. *Department of Thoracic Surgery, Kailuan General Hospital, Tangshan, Hebei* 063000, *China*; 3. *Department of Oncology, Tangshan People's Hospital, Tangshan, Hebei* 063000, *China*; 4. *School of Medicine Basic Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei* 063000, *China*

Abstract: Objective　To investigate the role of microRNA (miR)-567 in the proliferation, migration and cell cycle of non-small cell lung cancer (NSCLC) through regulation of cyclin dependent kinase 8 (CDK8) and its clinical relevance. **Methods**　Tumor tissues and adjacent tissues of 40 NSCLC patients were collected, and the expressions of miR-567 and CDK8 were detected by real-time quantitative fluorescent PCR (qRT-PCR). miR-NC mimic, miR-567 mimic, oe-NC, and oe-CDK8 were transfected into A549 and H1975 cells. The expressions of miR-567 and CDK8 were detected using qRT-PCR. Cell proliferation was detected by CCK-8 method, and cell migration was detected by Transwell assay. Cell cycle changes were detected by flow cytometry. The targeting of miR-567 and CDK8 was detected by luciferase reporter gene assay. **Results**　In the tumor tissues of NSCLC patients, the expression of miR-567 was decreased, while the expression of CDK8 was increased, and the two were negatively correlated ($P<0.05$). In A549 and H1975 cells, miR-567 mimic group was compared with miR-NC mimic group, the expression of miR-567 was increased, the expression of CDK8 was decreased, the proliferation and migration levels of cells were decreased, the proportion of G1 phase was increased, and the proportion of S phase was decreased. The fluorescence intensity of miR-567 mimic group

*　**基金项目：**河北省医学科学研究计划项目（20221570）。

作者简介：李海洋，女，副主任医师，主要从事肿瘤学研究。

was lower than that of miR-NC mimic group in normal CDK8. miR-567 mimic+oe-CDK8 group was compared with miR-567 mimic+oe-NC group, the expression of CDK8 was increased, the proliferation and migration levels of cells were increased, the proportion of cells in G1 phase was decreased, and the proportion of cells in S phase was increased. **Conclusion** miR-567 can inhibit NSCLC proliferation and migration by targeting CDK8 expression and controlling tumor cell arrest in the S phase.

Key words: non-small cell lung cancer; cell cycle; cyclin dependent kinase 8; microRNA-567

肺癌是威胁人类生命的主要癌症类型，非小细胞肺癌（NSCLC）占所有肺癌病例的 85%，且 NSCLC 患者诊断时通常为处于疾病晚期[1]。与小细胞肺癌相比，NSCLC 对化疗或放疗相对不敏感，虽然有关 NSCLC 治疗的抗癌药物的研究很多，但因耐药、转移、复发等原因导致 NSCLC 患者预后差，存活率低[2]。因此，迫切需要发现新的生物标志物和检测靶点用于 NSCLC 患者的诊断和治疗。据研究报道，NSCLC 中存在微小 RNA（miRNA）失调，miRNA 可以通过靶向致癌基因或抑癌基因，调节细胞增殖、细胞周期和细胞凋亡来参与癌症的发展[3-5]。miR-567 由位于染色体 3q13.2 上的 miR-567 基因编码[6]。最近研究表明，miR-567 在乳腺癌和骨肉瘤等癌症中发挥重要作用[7-8]。然而，miR-567 在 NSCLC 中的作用仍未阐明。先前的研究结果证实了 miR-567 可通过调节多种细胞周期蛋白，细胞周期蛋白依赖激酶（CDKs）影响细胞增殖和细胞周期[9]。细胞周期蛋白依赖性激酶 8（CDK8）是 CDKs 的重要成员，参与调节多种癌症信号通路的致癌基因[10]。但 CDK8 在 NSCLC 中的表达模式和功能至今仍未明确，miR-567 是否介导 CDK8 参与 NSCLC 进程尚未可知。本研究旨在探讨 miR-567 对 A549 NSCLC 细胞增殖、迁移和凋亡的潜在调控作用，并明确 miR-567 对 CDK8 基因的靶向调节作用，阐明可能有助于 NSCLC 治疗的相关分子机制，以期为临床 NSCLC 的诊断和药物治疗提供新的靶位点和分子治疗方向。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2020 年 8 月至 2022 年 8 月于开滦总医院进行手术的 40 例 NSCLC 患者的肿瘤组织及其癌旁组织（距肿瘤边缘≥3 mm），患者此前均未接受放疗和化疗。取样后立即放在冻存管并置于液氮中。40 例 NSCLC 患者中男 30 例，年龄为（57.46±7.14）岁；女 10 例，年龄为（59.23±5.86）岁。所有患者术前均已签署知情同意书。本研究在开滦总医院伦理委员会的监督下获得批准和实施。

1.2 仪器与试剂 人 NSCLC 细胞株 A549 和 H1975 均购自 American type culture collection（ATCC）；RevertAid™ 第一链 cDNA Synthesis 试剂盒（货号：K1621）购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；SYBR® Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒（货号：AG11701）购自湖南艾科瑞生物工程有限公司；PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成；DMEM（货号：PM150210B）和 0.25% 胰酶消化液（货号：PB180223）购自武汉普诺赛生命科技有限公司；miR-NC mimic、miR-567 mimic、oe-NC 和 oe-CDK8 质粒由广州锐博生物科技有限公司合成；荧光素酶报告质粒由上海吉玛基因公司提供；荧光素酶报告基因检测试剂盒（货号：RG027）购自上海碧云天生物技术有限公司；Trizol 试剂（货号：15596-026）、Lipofectamine 2000（货号：11668-027）购自美国 Invitrogen；CCK-8（货号：ck04）购自日本同仁化学研究所；Transwell 小室（规格：3422）购自美国 Corning 公司；细胞周期检测试剂盒（货号：E-CK-A351）购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司。高速离心机（型号：Microfuge16）购自贝克曼库尔特国际贸易（上海）有限公司；实时荧光定量 PCR 仪（型号：CFX Connect）购自美国 BIO-RAD；显微镜（型号：BX41）购自日本 Olympus；Spark 多功能酶标仪购自瑞士 TECAN；流式细胞仪（型号：DxFLEX）购自贝克曼库尔特国际贸易（上海）有限公司。

1.3 方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测基因表达水平 使用 Trizol 试剂提取肿瘤组织或培养细胞中的总 RNA，并使用酶标仪检测所有样品的 RNA 浓度和纯度。提取的 RNA 样品应保存在 −80 ℃。使用 RevertAid™ 第一链 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA。然后根据 SYBR® Green Pro Taq HS 预混型 qRT-PCR 试剂盒的说明书，按照说明书配制 qRT-PCR 反应体系。内参基因甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）应用于计算 mRNA 的最终表达量，计算方法为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$。引物序列为 miR-567 上游：5′-ACAGGACACTATGTTCTTCCAGG-3′；下游：5′-AAAGTTTTGCATGTTCTTCCAGT-3′。CDK8 上游：5′-GCCGGTTGTCAAATCCCTTAC-3′；下游：5′-TGTGACTGCTGTCTTGATTCCCT-3′。GAPDH 上游：5′-TTGCAACCGGGAAGGAAATG-3′；下游：5′-TGGAATTTGCCATGGGTGGA-3′。

1.3.2 细胞培养 从 4 ℃取出 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基，迅速取出冻存的 A549 和 H1975 细胞，加入含 5 mL DMEM 培养基的离心管中离心，弃掉上清，加入含 10% 血清的新鲜培养基，置于 37 ℃、5%CO_2 的细胞培养箱中培养。当细胞生长至 70%～80% 时，使用 0.25% 胰酶消化液消化细胞，加入含 10% 血清的培养基终止消化，离心沉淀细胞，去除胰

酶，加入新鲜培养基重悬细胞沉淀。根据培养基颜色变化更换培养基。细胞的传代培养应在对数生长期进行。

1.3.3 细胞转染　设计合成 miR-567 的反义寡核苷酸序列（miR-567 mimic）和过表达 CDK8 的质粒（oe-CDK8）。在 6 孔板中培养 A549 和 H1975 细胞，待细胞生长至 50%～60% 融合度时，将细胞分成 4 组：miR-NC mimic 组（转染 miR-NC mimic）、miR-567 mimic 组（转染 miR-567 mimic）、miR-567 mimic＋oe-NC 组（转染 miR-567 mimic 和 oe-NC）和 miR-567 mimic＋oe-CDK8 组（转染 miR-567 mimic 和 oe-CDK8）。采用 Lipofectamine 2000 瞬时转染技术，按照说明书的步骤进行转染。

1.3.4 CCK-8 法检测细胞增殖水平　将来自不同处理组的 A549 和 H1975 细胞接种到 96 孔板中，每孔细胞数目为 2×10^3 个，并在含有 5%CO_2 的 37 ℃培养箱中培养。在第 0、24、48 或 72 小时将 10 μL CCK-8 溶液小心添加到细胞中（注意不要在孔中生成气泡）。在培养箱中继续孵育 2 h 后，使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度（A）值。

1.3.5 Transwell 法检测细胞迁移能力　将带有 8 μm 孔径聚碳酸酯膜过滤器的 Transwell 小室置于标准 24 孔细胞培养板中。然后，在上室加入 200 μL（含 5×10^5 个细胞）细胞悬液（无血清 DMEM 培养基重悬）。在下室加入 800 μL 含 10% 胎牛血清的 DMEM。将 24 孔板在含有 5%CO_2 的 37 ℃培养箱中培养 24 h。培养结束后，下室细胞用 4%多聚甲醛固定并用结晶紫染色。PBS 清洗 3 次后在显微镜下拍照并计数。

1.3.6 流式细胞术检测细胞周期　按照细胞周期检测试剂盒的说明书操作。将不同处理后的对数生长期 A549 和 H1975 细胞进行胰酶消化成单细胞悬液，用预冷的 PBS 溶液漂洗 2 次，以 1 500 r/min 的速度离心 10 min，弃去上清后，加入 100 μL 稀释好的 binding buffer 重悬细胞，然后分别加入 5 μL RNAase PI 染色液。在避光条件下，在 37 ℃ 孵育 30 min 后，加入 500 μL 稀释好的 binding buffer。将样品使用单细胞筛网过滤后，使用流式分析仪进行检测。

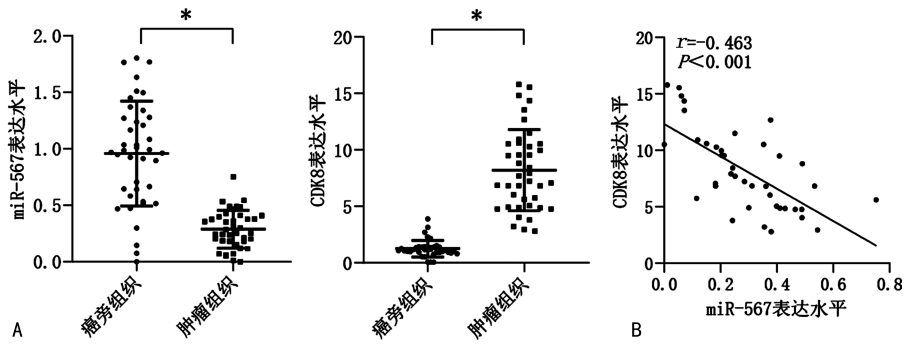
1.3.7 生物信息学预测　为了预测 miR-567 可能的靶基因，使用了 3 个在线软件程序，包括 TargetScan（http://www.TargetScan.org/），miRDB（http://miRDB.org/miRDB/）和 Diana Tools（http://Diana.imis.athena-innovation.gr/dianatools/）进行生物信息学预测。

1.3.8 荧光素酶报告基因实验　构建包含 miR-567 与 CDK8 3′UTR 区结合位点的正常型 CDK8 载体质粒和突变结合位点的 CDK8-MUT 载体质粒。将处于对数生长期的 A549 和 H1975 细胞以 3×10^5/孔的密度接种于 24 孔板中，分别将正常型 CDK8 或突变型 CDK8 同 miR-567 mimics 或 miR-567 NC 一起转染至 A549 和 H1975 细胞。48 h 后，将细胞裂解并检测荧光素酶活性。计算公式：相对荧光素酶活性＝萤火虫荧光素酶活性/海肾荧光素酶活性。

1.4 统计学处理　使用 GraphPad Prism 8.0 软件统一处理数据。两个参数之间的相关性分析采用 Pearson 相关系数法，计算相关系数（r）和双尾 P 值。多组间的比较采用单因素方差分析（One-way ANOVA）和 Tukey 多重比较，两组之间的比较采用 t 检验进行。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 NSCLC 患者肿瘤组织中 miR-567 和 CDK8 表达变化　qRT-PCR 结果显示，与癌旁组织比较，肿瘤组织中 miR-567 表达降低，CDK8 表达升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），见图 1A。Pearson 相关系数分析结果显示，在肿瘤组织中 miR-567 和 CDK8 表达呈负相关（$P<0.05$）。见图 1B。



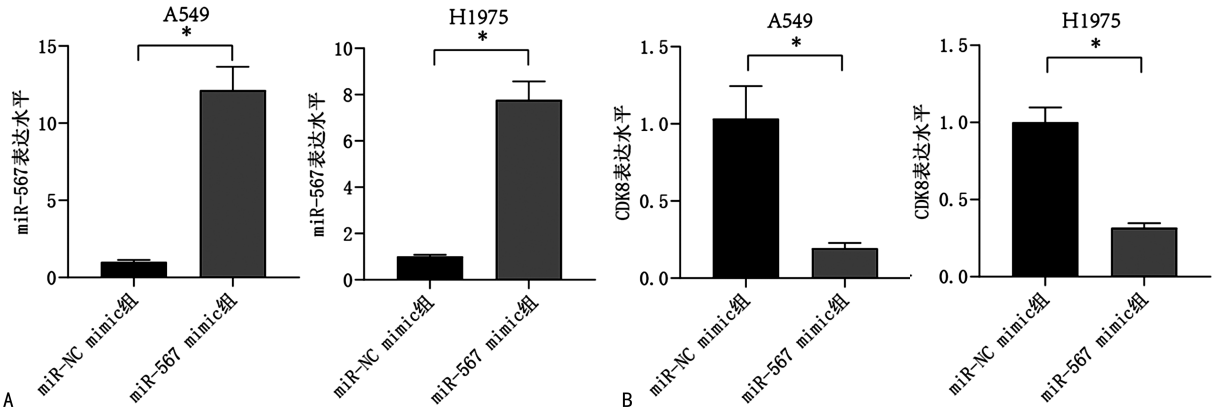
注：A 为 qRT-PCR 检测 miR-567 和 CDK8 表达；B 为 Pearson 相关系数分析 miR-567 和 CDK8 表达相关性；与癌旁组织比较，* $P<0.05$。

图 1　NSCLC **肿瘤组织和癌旁组织中** miR-567 **和** CDK8 **表达差异**

2.2 过表达 miR-567 抑制 NSCLC 细胞 CDK8 表达　qRT-PCR 结果显示，在 A549 和 H1975 细胞中与 miR-NC mimic 组比较，miR-567 mimic 组 miR-567 表达升高，CDK8 表达降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 2。

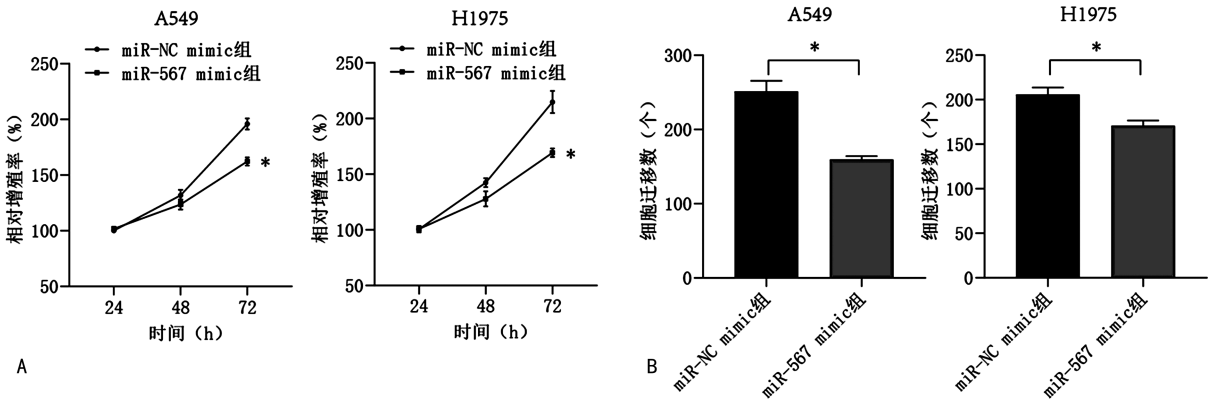
2.3 过表达 miR-567 抑制 NSCLC 细胞增殖和细胞迁移　CCK-8 法结果显示，在 A549 和 H1975 细胞中与 miR-NC mimic 组比较，miR-567 mimic 组细胞增

殖水平降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 3A。Transwell 法结果显示，与 miR-NC mimic 组比较，miR-567 mimic 组细胞迁移水平降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 3B。



注：A 为 qRT-PCR 检测 miR-567 表达；B 为 qRT-PCR 检测 CDK8 表达；与 miR-NC mimic 组比较，* $P<0.05$。

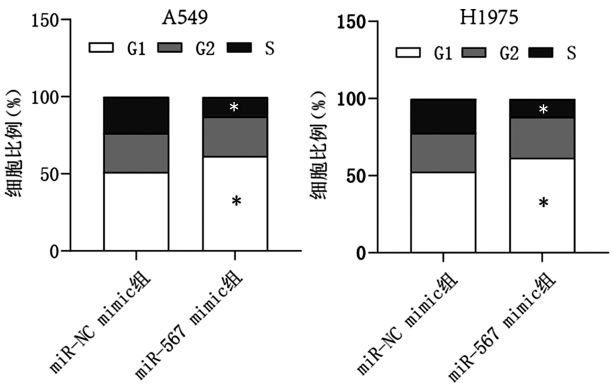
图 2　过表达 miR-567 对 NSCLC 细胞 CDK8 表达的影响



注：A 为 CCK-8 法检测细胞增殖水平；B 为 Transwell 法检测细胞迁移水平；与 miR-NC mimic 组比较，* $P<0.05$。

图 3　过表达 miR-567 对 NSCLC 细胞增殖和迁移的影响

2.4　过表达 miR-567 阻滞 NSCLC 细胞周期　流式细胞术结果显示，在 A549 和 H1975 细胞中与 miR-NC mimic 组比较，miR-567 mimic 组细胞 G1 期比例升高，S 期比例降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 4。



注：与 miR-NC mimic 组比较，* $P<0.05$。

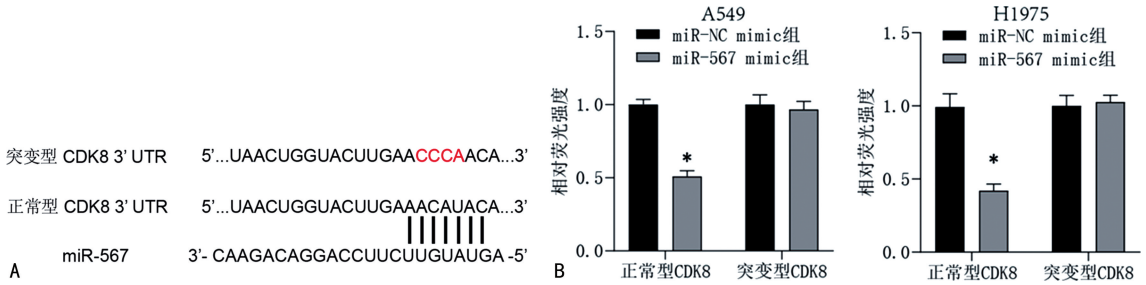
图 4　过表达 miR-567 对 NSCLC 细胞周期的影响

2.5　miR-567 靶向结合 CDK8　生物信息学预测结果显示，miR-567 与 CDK8 具有 7 个连续的碱基结合位点，具有可能的靶向性。见图 5A。通过荧光素酶报告基因实验，发现在含有正常型 CDK8 的 A549 和 H1975 细胞中，miR-567 mimic 组荧光强度显著低于 miR-NC mimic 组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。而在突变型 CDK8 中，miR-567 mimic 组和 miR-NC mimic 组荧光强度比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。见图 5B。

2.6　过表达 CDK8 促进 NSCLC 细胞增殖和细胞迁移　qRT-PCR 结果显示，在 A549 和 H1975 细胞中，miR-567 mimic＋oe-CDK8 组 miR-567 表达与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），见图 6A；在 A549 和 H1975 细胞中与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，miR-567 mimic＋oe-CDK8 组 CDK8 表达升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），见图 6B。CCK-8 法结果显示，与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，miR-567 mimic＋oe-CDK8 组细胞增殖水平升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 7A。Transwell 法结果显示，与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，miR-567 mimic＋oe-CDK8 组细胞迁移水平升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 7B。

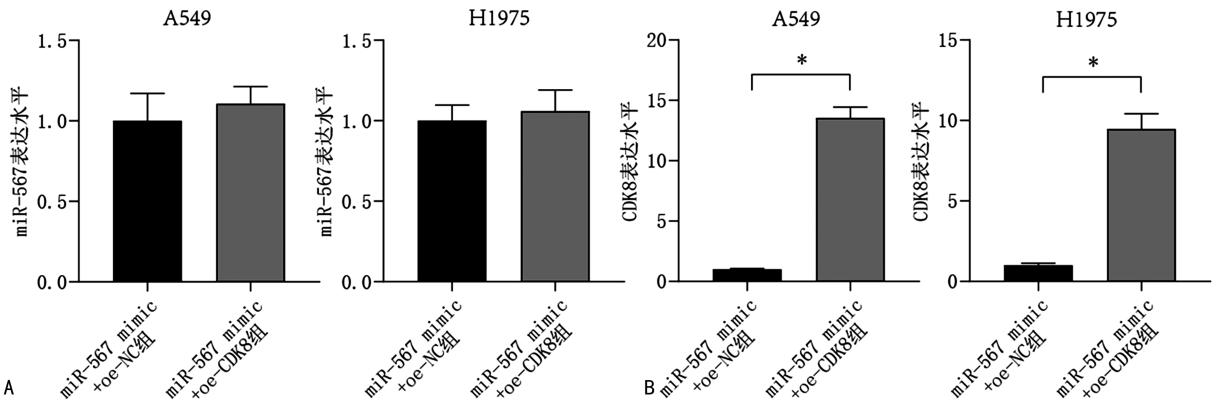
2.7　过表达 CDK8 促进 NSCLC 细胞周期　流式细

胞术结果显示，在 A549 和 H1975 细胞中与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，miR-567 mimic＋oe-CDK8 组细胞 G1 期比例降低，S 期比例升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 8。



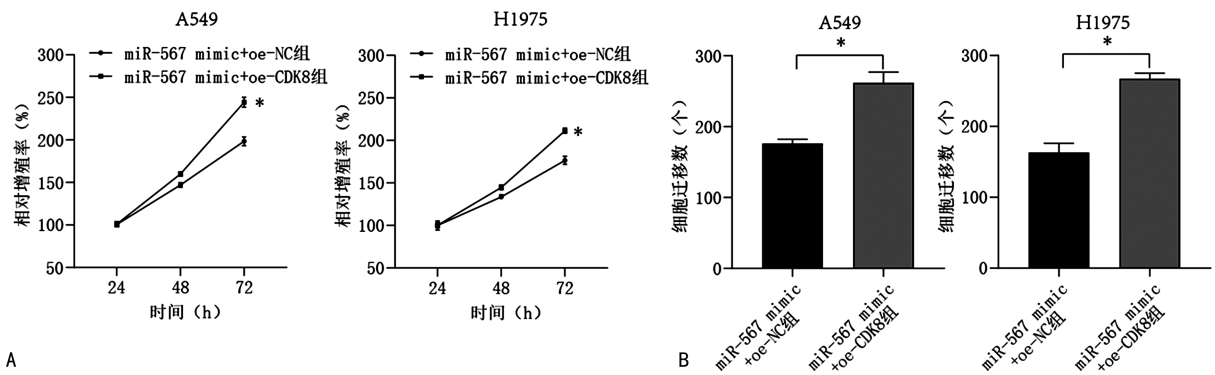
注：A 为 miR-567 与 CDK8 结合位点；B 为荧光素酶报告基因实验检测 miR-567 和 CDK8 结合情况；与 miR-NC mimic 组比较，* $P<0.05$。

图 5　miR-567 靶向 CDK8



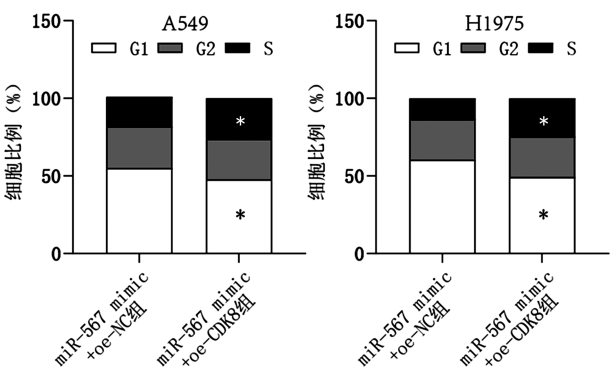
注：A 为 qRT-PCR 检测 miR-567 表达；B 为 qRT-PCR 检测 CDK8 表达；与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，* $P<0.05$。

图 6　过表达 CDK8 的 NSCLC 细胞鉴定



注：A 为 CCK-8 法检测细胞增殖水平；B 为 Transwell 法检测细胞迁移水平；与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，* $P<0.05$。

图 7　过表达 CDK8 对 NSCLC 细胞增殖和迁移的影响



注：与 miR-567 mimic＋oe-NC 组比较，* $P<0.05$。

图 8　过表达 CDK8 对 NSCLC 细胞周期的影响

3　讨　论

目前，NSCLC 患者的预后情况并不乐观，转移和复发是 NSCLC 患者死亡的主要原因，而临床治疗效果的提高在很大程度上依赖于新靶点和生物标志物的发现[11]。不同类型的肺癌治疗方法不同，根据相关生物标记物确定亚型，进而实现精准靶向治疗。

miRNA 是基因转录后水平上重要的表达调控因子[12]，大约 30％的 mRNA 由 miRNAs 进行调控。多项研究结果显示，miRNAs 在肿瘤细胞生长、增殖和分化等多种生物和病理过程中发挥了重要作用，miRNAs 可作为癌症等多种疾病的生物标志物和潜在治疗靶点[13]。并且有研究表明，miRNAs 的异常表达通

过靶向抑癌基因或癌基因参与了癌症的进展[14]。因此，miRNAs 可作为致癌基因或肿瘤抑制因子，并有望成为临床诊断的候选生物标志物，包括识别癌症类型或肿瘤亚型。有研究表明，miRNA 的异常表达通过靶向肿瘤抑制基因或癌基因参与癌症进展[15]。有研究表明，miR-567 可以抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭，从而缓解骨肉瘤的疾病发展[8]。关于 miR-567 在 NSCLC 中作为致癌基因或抑癌基因的生物学作用的研究鲜见报道。基于综合生物信息学分析，有一项研究预测 miR-567 可能是 NSCLC 的推定生物标志物[16]。因此，本研究探讨了 miR-567 在 NSCLC 细胞中的作用，并阐明了其在 NSCLC 治疗中可能相关的分子机制。

本研究检测 miR-567 在 NSCLC 肿瘤组织中的表达模式，初步探讨 miR-567 参与 NSCLC 发生发展的可能性。本研究结果表明，与癌旁组织相比，miR-567 表达在 NSCLC 肿瘤组织中显著降低。异常的细胞增殖和细胞周期状态是癌症的诱发因素之一[17]。本研究分析发现，过表达 miR-567 显著抑制 NSCLC 细胞增殖和迁移，并阻滞细胞周期。这一结果表明，miR-567 可能是 NSCLC 细胞的肿瘤抑制因子，并可能成为 NSCLC 的新型的生物标志物。一项研究发现，miR-567 通过阻止胃癌细胞的增殖发挥肿瘤抑制因子的作用[9]。LIU 等[8]发现 miR-567 上调对骨肉瘤细胞增殖具有抑制作用，表明其作为肿瘤抑制因子的功能。细胞周期由不同的阶段组成，包括静息 Gap1 阶段（G1 期）、DNA 合成阶段（S 期）、Gap2 阶段（G2 期）和有丝分裂阶段（M 期）[18]。本研究结果表明，miR-567 上调显著增加 G1 期的细胞群，显著减少 S 期细胞群。表明 miR-567 通过诱导细胞周期停滞抑制 NSCLC 细胞的增殖和迁移。

CDKs 是参与细胞周期和细胞增殖控制的核心蛋白，CDKs 失调会破坏正常的细胞分化、增殖、细胞周期和细胞凋亡，从而导致疾病和癌症的发生[19]。CDK8 被认为是一种抑制细胞凋亡的致癌基因，异常的 CDK8 表达通常与癌症发展有关[20]。近期研究表明，CDK8 可通过 β-catenin 信号轴促进胰腺癌细胞的血管生成，从而加速肿瘤发展[21]。本研究发现，CDK8 在 NSCLC 患者的肿瘤组织中表达上调，miR-567 与 CDK8 表达呈负相关。miRDB 程序及 TargetScan 和 Diana Tools 等生物信息学预测发现 CDK8 是 miR-567 的靶基因，说明 miR-567 可能对于 CDK8 具有靶向负调控作用。为了证实这一推测，本研究评估了 NSCLC 细胞中 miR-567 过表达后 CDK8 的表达水平，以及过表达 CDK8 对于 miR-567 表达的影响。结果显示，miR-567 的过表达显著降低了 CDK8 mRNA 的表达水平，同时，CDK8 过表达逆转了上调 miR-567 对 NSCLC 细胞增殖、迁移的抑制作用及对细胞周期的阻止作用。这些发现表明 CDK8 是 miR-567 的靶基因，miR-567 通过靶向负调控 CDK8 的表达抑制 NSCLC 的发生发展。

综上所述，本研究拟通过细胞转染技术使人 NSCLC 细胞株 A549 和 H1975 过表达 miR-567，研究 miR-567 对 A549 和 H1975 细胞增殖、迁移和细胞周期的作用，并进一步验证 miR-567 与 CDK8 基因的靶向调节关系，探讨 miR-567 的作用机制，从而为 NSCLC 临床治疗提供新的靶点，可为相关后续研究提供一定的实验依据和技术支持。

参考文献

[1] KRISHNAMOORTHY V, VILWANATHAN R. Silencing sirtuin 6 induces cell cycle arrest and apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines[J]. Genomics, 2020, 112(5): 3703-3712.

[2] ZHANG N, SONG Y, XU Y, et al. MED13L integrates mediator-regulated epigenetic control into lung cancer radiosensitivity[J]. Theranostics, 2020, 10(20): 9378-9394.

[3] LEMJABBAR-ALAOUI H, HASSAN O U, YANG Y W, et al. Lung cancer: biology and treatment options[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1856(2): 189-210.

[4] ELSHAFEI A, SHAKER O, ABD EL-MOTAAL O, et al. The expression profiling of serum miR-92a, miR-375, and miR-760 in colorectal cancer: an Egyptian study[J]. Tumour Biol, 2017, 39(6): 1010428317705765.

[5] ZHOU K, LIU M, CAO Y. New insight into microRNA functions in cancer: oncogene-microRNA-tumor suppressor gene network[J]. Front Mol Biosci, 2017, 4(1): 46.

[6] EL-MURR N, ABIDI Z, WANHERDRICK K, et al. MiRNA genes constitute new targets for microsatellite instability in colorectal cancer[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31862.

[7] BERTOLI G, CAVA C, DICEGLIE C, et al. MicroRNA-567 dysregulation contributes to carcinogenesis of breast cancer, targeting tumor cell proliferation, and migration [J]. Breast Cancer Res Treat, 2017, 161(3): 605-616.

[8] LIU D, ZHANG C, LI X, et al. MicroRNA-567 inhibits cell proliferation, migration and invasion by targeting FGF5 in osteosarcoma[J]. EXCLI J, 2018, 17(1): 102-112.

[9] ZHANG F, LI K, YAO X, et al. A miR-567-PIK3AP1-PI3K/AKT-c-Myc feedback loop regulates tumour growth and chemoresistance in gastric cancer[J]. EBioMedicine, 2019, 44(1): 311-321.

[10] FIRESTEIN R, BASS A J, KIM S Y, et al. CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates beta-catenin activity[J]. Nature, 2008, 455(7212): 547-551.

[11] SUN Y, LI Z, JIAN H, et al. Impact of KRAS mutation subtypes and co-occurring mutations on response and outcome in advanced NSCLC patients following first-line treatment[J]. J Clin Med, 2022, 11(14): 4003.

（下转第 346 页）

感染学杂志,2022,32(13):1931-1935.
[5] 徐建英. IRAK1、TRAF6 表达量与口腔扁平苔藓病灶内炎症反应、免疫应答的相关性研究[J]. 海南医学院学报,2017,23(15):2165-2168.
[6] 韩冬,王雪松,陈炜,等. 脓毒症患者死亡危险因素及其与 Toll 样受体基因多态性相关分析[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(23):3548-3552.
[7] 唐永军,张红玉,吴勤奋. 血清 miR-98-5p、TRAF6 mRNA 表达与脓毒症并发肺损伤的关系[J]. 山东医药,2022,62(25):11-15.
[8] 中国医师协会急诊医师分会. 中国急诊感染性休克临床实践指南[J]. 中华急诊医学杂志,2016,25(3):193-206.
[9] KNAUS W A, DRAPER E A, WAGNER D P, et al. APACHEⅡ: a severity of disease classification system[J]. Crit Care Med, 1985, 13(10): 818-829.
[10] 武道荣,闫雪波,方磊,等. qSOFA 评分联合 IL-6、PCT、CRP 对 ICU 感染性休克患者病情及预后的评估价值[J]. 安徽医学,2021,42(8):850-854.
[11] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-DDCt method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
[12] JULIÁN-JIMÉNEZ A, SUPINO M, LÓPEZ TAPIA J D, et al. Sepsis in the emergency department: key points, controversies, and proposals for improvements in Latin America[J]. Emergencias, 2019, 31(2): 123-135.
[13] VASQUES-NOVOA F, LAUNDOS T L, CERQUEIRA R J, et al. MicroRNA-155 amplifies nitric oxide/cgmp signaling and impairsvascular angiotensin Ⅱ reactivity in septic shock[J]. Crit Care Med, 2018, 46(9): 945-954.
[14] ROBERTS R J, MIANO T A, HAMMOND D A, et al. Evaluation of vasopressor exposure and mortality in patients with septic shock[J]. Crit Care Med, 2020, 48(10): 1445-1453.
[15] 王小燕,翁剑青. 感染性休克患者炎症因子水平变化及其临床价值[J/CD]. 现代医学与健康研究电子杂志,2022,6(15):99-102.
[16] LIU G J, ZHANG Q R, GAO X, et al. MiR-146a ameliorates hemoglobin-induced microglial inflammatory response via TLR4/IRAK1/TRAF6 associated pathways[J]. Front Neurosci, 2020, 14(1): 311.
[17] 龙瑞文,周烨,吕蔚然,等. 类风湿关节炎患者外周血 miR-146a、miR-155、Ets-1 以及 IRAK1 的表达及临床意义[J]. 现代免疫学,2017,37(2):115-120.
[18] 沈敦隽,王听,黄晓林. 子痫前期患者血清 FOXA1、TRAF6 水平及预测不良妊娠结局价值[J]. 中国计划生育学杂志,2022,30(11):2604-2610.
[19] 周辉,唐欣轶,郭燕. miR-146a 在口腔扁平苔藓患者外周血及组织中表达及与 IRAK1 和 TRAF6 表达的相关性[J]. 口腔医学研究,2016,32(9):949-952.
[20] 聂廷芬,郑宝勇,张彦秀. 茶多酚联合 CO_2 激光治疗尖锐湿疣的效果及对患者 IRAK1、IRAK4、TRAF6 的影响[J]. 广东医学,2021,42(5):590-593.

(收稿日期:2023-05-26 修回日期:2023-11-20)

(上接第 340 页)

[12] VARELA-MARTÍNEZ E, BILBAO-ARRIBAS M, ABENDAÑO N, et al. Identification and characterization of miRNAs in spleens of sheep subjected to repetitive vaccination[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 6239.
[13] GUPTA J, ABDULSAHIB W K, TURKI JALIL A, et al. Prostate cancer and microRNAs: new insights into apoptosis[J]. Pathol Res Pract, 2023, 245(1): 154436.
[14] SHI Y, LIU Z, LIN Q, et al. miRNAs and cancer: key link in diagnosis and therapy[J]. Genes(Basel), 2021, 12(8): 1289.
[15] LI B, CAO Y, SUN M, et al. Expression, regulation, and function of exosome-derived miRNAs in cancer progression and therapy[J]. FASEB J, 2021, 35(10): e21916.
[16] SHAO Y, LIANG B, LONG F, et al. Diagnostic microRNA biomarker discovery for non-small-cell lung cancer adenocarcinoma by integrative bioinformatics analysis[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017(1): 2563085.
[17] WANG J, WANG G, MA H, et al. Enhanced expression of cyclins and cyclin-dependent kinases in aniline-induced cell proliferation in rat spleen[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 250(2): 213-220.
[18] CHULU J L, LIU H J. Recent patents on cell cycle regulatory proteins[J]. Recent Pat Biotechnol, 2009, 3(1): 1-9.
[19] NILMANI, D'COSTA M, BOTHE A, et al. CDK regulators-Cell cycle progression or apoptosis-scenarios in normal cells and cancerous cells[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2023, 135(1): 125-177.
[20] DU Q, LIU W, MEI T, et al. Prognostic and immunological characteristics of CDK1 in lung adenocarcinoma: a systematic analysis[J]. Front Oncol, 2023, 13(1): 1128443.
[21] WEI R, KONG L, XIAO Y, et al. CDK8 regulates the angiogenesis of pancreatic cancer cells in part via the CDK8-β-catenin-KLF2 signal axis[J]. Exp Cell Res, 2018, 369(2): 304-315.

(收稿日期:2023-07-13 修回日期:2023-12-01)