论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.16.008

基于 miR-1285 在卵巢癌组织中的表达及对癌细胞增殖和凋亡的影响*

李 娜,熊 姣,王东红
(遵义医学院附属医院妇科,贵州遵义 563003)

[摘要] **目的** 探索人体卵巢癌细胞微 RNA-1285(miR-1285)的表达及其在卵巢癌病变细胞增殖与凋亡过程中的作用。**方法** 采用荧光定量 PCR 法检测卵巢癌患者卵巢癌组织和对应癌旁组织细胞中 miR-1285 的表达水平;同时在体外进行细胞实验,向人源 SKOV3 和 OVCAR3 卵巢癌细胞株转染 miR-1285 mimics,运用噻唑兰(MTT)法对转染 miR-1285 mimics 成功的两株人源卵巢癌细胞进行体外增殖活力的检测,同时通过流式细胞仪检测细胞凋亡的发生情况。**结果** 荧光定量 PCR 检测结果表明,miR-1285 在患者卵巢癌组织细胞中的表达水平低于其对应癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$);细胞体外转染 miR-1285 mimics 实验结果表明,相较于对照组的细胞株,转染 miR-1285 mimics 的细胞株 SKOV3,其细胞增殖能力明显下降($P<0.05$)、细胞凋亡率明显升高($P<0.05$);同样,转染 miR-1285 mimics 的细胞株 OVCAR3 其增殖能力也明显下降、细胞凋亡率明显升高,与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 在卵巢癌患者的癌细胞中,miR-1285 的表达明显降低,其可能参与卵巢癌的发生、发展,并且与卵巢癌细胞的增殖和凋亡密切相关。

[关键词] 卵巢肿瘤;微 RNA-1285;细胞增殖;细胞凋亡
[中图法分类号] R737.31 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2018)16-2144-04

Expression of miR-1285 in ovarian cancer tissues and its influence on proliferation and apoptosis of cancer cells*

LI Na, XIONG Jiao, WANG Donghong
(*Department of Gynaecology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou* 563003, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To explore the expression of microRNA-1285 (miR-1285) in ovarian cancer tissues, and to analyse the effects of miR-1285 expression on proliferation and apoptosis of human ovarian cancer cell lines in vitro. **Methods** The expressions of miR-1285 in cancer tissues and corresponding adjacent tissues from patients with ovarian cancer were detected by using fluorescence quantitative PCR. At the same time, human ovarian cancer cell lines, including SKOV3 and OVCAR3, were transfected with miR-1285 mimics in vitro, the proliferation activity of cells successfully transfected with miR-1285 was detected by MTT assay, and the apoptotic cells were detected by flow cytometry. **Results** The results of fluorescence quantitative PCR showed that, for patients with ovarian cancer, the expression level of miR-1285 in ovarian cancer tissues was lower than that in the corresponding adjacent tissues, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of experiment in vitro showed that compared with the control group, the proliferation activity of SKOV3 cells transfected with miR-1285 mimics was decreased, and the rate of apoptosis was significantly increased, there were statistically significant differences ($P<0.05$); similarly, compared with the control group, the proliferation activity of OVCAR3 cells transfected with miR-1285 mimics was decreased, and the rate of apoptosis was significantly increased, there were statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** The expression level of miR-1285 in tumor tissues of patients with ovarian cancer is decreased, which indicates that miR-1285 may be involved in the occurance and progression of ovarian cancer; the experiment in vitro shows that miR-1285 may be closely related to the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells.

[**Key words**] ovarian neoplasms; miRNA-1285; cell proliteration; apoptosis

微 RNAs(microRNAs,miRNAs)是一种小分子非编码 RNA,由 20~25 个核苷酸组成[1]。miRNAs 最早于 1993 年在真核生物中被发现,后续的研究表明其能通过碱基互补配对与目的基因 mRNA 的 5′端或 3′端相结合,介导目的基因 mRNA 的降解或者抑制其与转录因子的结合而降低目的基因 mRNA 的翻译过程,miRNAs 通过其基因调控的功能,广泛参与真核生物细胞内多种生物过程,包括细胞信号的传导、细胞增殖与分化、细胞周期的调控等,同时也与多种肿瘤的发生、发展过程密切相关,因此对于 miR-

* 基金项目:贵州省科技厅联合基金(黔科合 LH 字[2015]7450 号)。 作者简介,李娜(1980-),副教授,硕士,主要从事妇科肿瘤研究。

NAs 在生物体生长发育及癌症中的研究已成为生命科学领域研究的重点[2-5]。早期已有研究表明，miRNA-1285(miR-1285)在组织中的异常表达可能和多种类型的肿瘤发生密切相关，如胰腺癌、肝癌等[3-5]。为探讨 miR-1285 的表达水平在卵巢癌发生、发展过程中的作用，笔者利用荧光定量 PCR 的方法检测 miR-1285 在卵巢癌组织和癌旁组织中的表达，分析其与癌症发生的关系；同时运用体外细胞培养实验，观察 miR-1285 在人源的卵巢癌细胞(SKOV3、OVCAR3)增殖和凋亡过程中的作用，为探讨其在卵巢癌发生、发展过程中的分子机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 选取 40 例 2014 年 9 月至 2015 年 9 月来本院妇科就诊的卵巢癌患者组织切片标本，包括卵巢癌组织切片及对应癌旁组织切片，癌组织是指取自患者卵巢癌组织区域的细胞，癌旁组织是指在患者卵巢癌组织周围未发生坏死或癌变的正常卵巢组织细胞。本研究经本院伦理委员会审核批准，参与此次研究的所有患者均签署知情同意书，且均在术前 3 个月未接受任何关于抗癌治疗的药物或其他相关性治疗的手段。

1.1.2 细胞株及试剂 两株人源的卵巢癌细胞株(SKOV3、OVCAR3)购自中科院上海细胞库；RPMI-1640 细胞培养基(货号：SH30809)、DMEM 培养基(货号：SH30033)、胎牛血清(FBS，货号：SH30084)、0.25%的胰酶消化液(货号 SH30042)及 10×磷酸盐缓冲液(PBS，货号：SH30256))均购自美国 Hycolone 公司；TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription 试剂盒(货号：4366596)、TaqMan® Universal PCR Master Mix(货号：4324018)均购自美国 ABI 公司；Lipofectamine® 2000 Transfection Reagent(货号：11668027)购自美国 Invitrogen 公司；膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒(货号：556547)购自美国 BD 公司；噻唑蓝(MTT，货号：M2128)购自美国 Sigma 公司；TRIzol 试剂(货号：15596-026)购自美国 Invitrogen 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 (1)细胞复苏：首先取出冻存的两株人源卵巢癌细胞(SKOV3、OVCAR3)，迅速放置于 37 ℃水浴锅中融化，然后四度低速(300 r/min)离心 3 min，弃去上清液，加入 1 mL 含有 10% FBS 的 RPMI-1640 培养液将细胞重悬，然后置于培养皿中，放入含有 5% CO_2 的 37 ℃培养箱进行培养，当生长至合适的细胞密度(70%～80%)时，对其进行传代培养。(2)细胞转染：其中 miR-1285 mimics 及 mimics control 均在生工生物进行合成(表 1)，细胞转染严格按照美国 Invitrogen 公司的 Lipofectamine® 2000 Transfection Reagent 说明书进行操作。

1.2.2 卵巢癌细胞系全 RNA 的抽提 对转染 48 h 后的卵巢癌细胞经 0.25%胰酶消化，收集消化后的细胞悬液于 15 mL 离心管中；进行 4 ℃低速(1 000 r/min)离心 2 min，弃去上清液，置于冰上；加入 1 mL Trizol 裂解液，重悬并混匀细胞，置于冰上；向 Trizol 裂解液中加入 200 μL 氯仿，剧烈震荡细胞悬液，室温放置 5～10 min，然后采用四度，12 000 r/min 离心 15 min；取离心之后的上层水相，于 RNase-free 的 1.5 mL 离心管中，加入等体积异丙醇，充分震荡混匀后，于冰上放置 30～40 min；取出离心管，然后再四度，12 000 r/min 离心 15 min，得到 RNA 沉淀；采用 500 μL 75%乙醇对 RNA 沉淀进行两次洗涤，然后风干；加入 50 μL RNase-free 的水，室温溶解 RNA；采用 NanoDrop 对总抽提的 RNA 进行浓度测定，置于－20 ℃备用。

表 1 miR-1285 mimics 与 mimics control 的序列信息

名称	序列
miR-1285 mimics	正义链：5′-UCU GGG CAA CAA AGU GAG ACC U-3′
	反义链：5′-GUC UCA CUU UGU UGC CCA GAU U-3′
mimics control	正义链：5′-UUC UCC GAA CGU GUC ACG U-3′
	反义链：5′-ACG UGA CAC GUU CGG AGA A-3′

1.2.3 RNA 的反转录及荧光定量 PCR 按照美国 ABI 公司的 TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription 试剂盒操作说明书，对抽提的 RNA 进行体外反转录实验，得到 Cdna 产物；反应条件为：16 ℃孵育 30 min，42 ℃孵育 30 min，85 ℃加热 5 min，4 ℃保存。以得到的 cDNA 为模版，进行荧光定量 PCR，采用 TaqMan® Universal PCR Master Mix 20 μL 反应体系，在罗氏 LightCycler480 仪器上操作，以 U6 作为表达检测的内参，ΔCT 表示 miR-1285 的相对表达，其中 $\Delta CT = |CT_{miR-1285} - CT_{U6}|$；反应条件为：95 ℃预变性 10 min，95 ℃ 15 s，60 ℃ 30 s，70 ℃ 30 s 进行 40 个循环的扩增。

1.2.4 癌细胞增殖活力的 MTT 检测 首先对消化后的卵巢癌细胞进行血小板计数，然后将转染 miR-1285 mimics 及 mimics control 的细胞接种到 96 孔培养板上，其中每孔接种约 5×10^3 个细胞；在含5%CO_2 的 37 ℃培养箱进行一段时间的培养后(分别是 0、24、48、72 h)，加入 20 μL 5 mg/L MTT，放入培养箱继续培养 4 h；取出 96 孔培养板，将每孔中的液体吸出并加入 120 μL 二甲基亚砜进行溶解；混合均匀后，通过酶标仪检测其在 570 nm 处的吸光值(A_{570})，以反映细胞增殖能力的强弱。

1.2.5 癌细胞凋亡率的检测 将转染 miR-1285 mimics 及 mimics control 24 h 后的人源卵巢癌细胞取出，更换其培养液为不含 FBS 的无血清培养液，并将培养皿置于 37 ℃，含低浓度 CO_2(1% CO_2)的环境中，将卵巢癌细胞继续培养至 48 h；然后通过 100 μL 0.25%胰酶对贴壁的细胞进行消化，收集细胞于 1.5 mL 离心管中，并在避光环境中依次加入 5 μL Annexin V、5 μL PI，充分混匀后，在避光环境中室温孵

育 20 min，然后对细胞进行流式细胞仪分选检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件分析数据，计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，比较采用两独立样本 t 检验或配对 t 检验，多组间比较则采用单因素的方差分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 卵巢癌组织中 miR-1285 的表达水平 以癌细胞的 U6 作为内对照，对卵巢癌组织及对应癌旁组织中 miR-1285 的相对表达水平进行定量分析发现，相较于癌旁组织(5.41±1.25)，卵巢癌组织细胞中 miR-1285 表达水平(2.73±1.04)较低，差异有统计学意义($t=10.42$，$P<0.05$)。

2.2 转染 miR-1285 mimics 后人卵巢癌细胞的增殖活性 根据转染人源卵巢癌细胞系 SKOV3、OVCAR3 的情况不同，依次分为转染组(转染 miR-1285 mimics)、阴性对照组(转染 mimic control)和空白对照组(未转染任何 microRNA)。在转染后的 4 个时间段(0、24、48、72 h)，每个时间点取 15 份平行设置的细胞样品进行观察，对细胞采用 MTT 法检测其 A_{570} 值。结果表明，在 SKOV3 细胞系中，转染组的 A_{570} 值在 24 h 之后明显低于阴性对照组与空白对照组($P<0.05$)，而空白对照组和阴性对照组在 4 个时间点处的 A_{570} 值比较，差异无统计意义($P>0.05$)，见表 2；在 OVCAR3 细胞系中，转染组的细胞其 A_{570} 值在 48 h 之后明显低于阴性对照组与空白对照组($P<0.05$)，而空白对照组和阴性对照组在 4 个时间点处的 A_{570} 值比较，差异均无统计学意义($P>0.05$)，见表 3。

表 2 SKOV3 细胞系在各个时间点处的 A_{570} 值 ($n=15$，$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
转染组	0.55±0.11	0.43±0.04	0.31±0.08	0.22±0.03
阴性对照组	0.57±0.14	0.51±0.07*	0.47±0.11*	0.41±0.09*
空白对照组	0.61±0.11	0.52±0.12*	0.49±0.14*	0.43±0.06*
F	0.607	3.493	12.480	31.980
P	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

*：$P<0.05$，与转染组比较

表 3 OVCAR3 细胞系在各个时间点处的 A_{570} 值变化 ($n=15$，$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
转染组	0.62±0.14	0.53±0.09	0.41±0.06	0.29±0.07
阴性对照组	0.61±0.12	0.58±0.12	0.52±0.05*	0.44±0.10*
空白对照组	0.63±0.11	0.59±0.10	0.51±0.06*	0.42±0.06*
F	0.065	0.954	11.440	10.760
P	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

*：$P<0.05$，与转染组比较

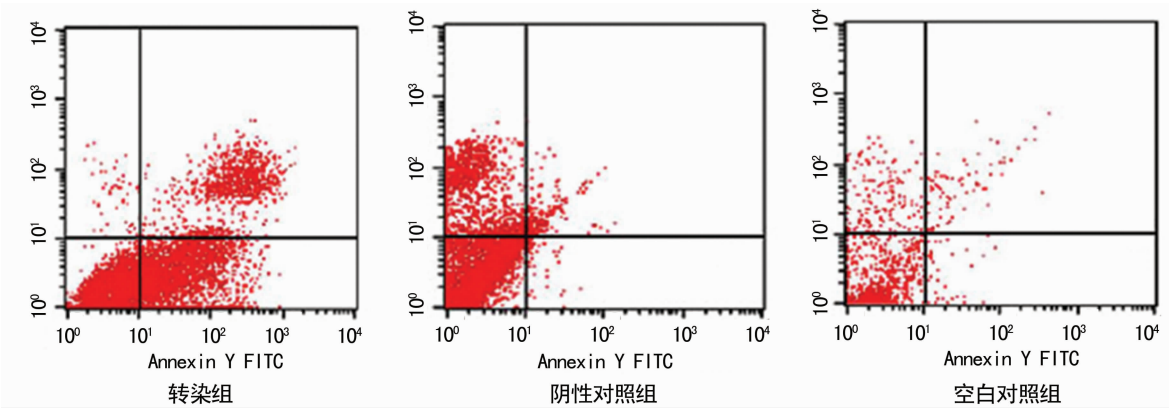

图 1 SKOV3 细胞系流式分选结果

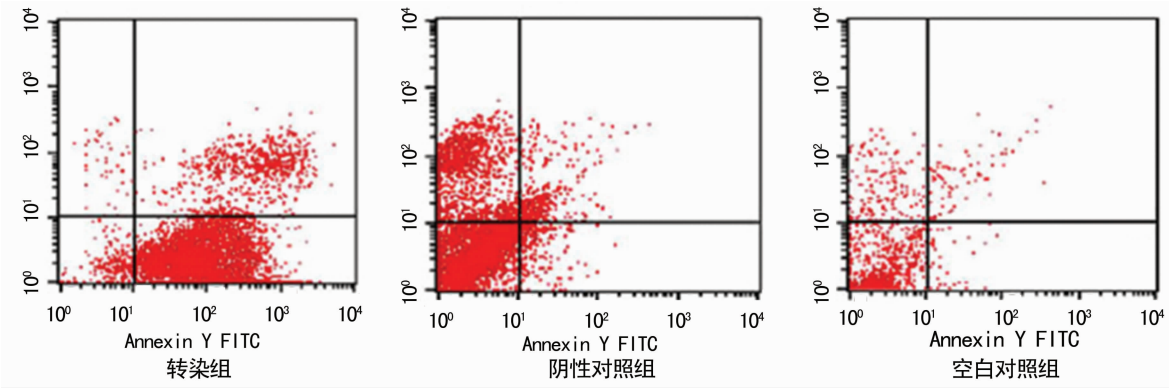

图 2 OVCAR3 细胞系流式分选结果

2.3 转染 miR-1285 mimics 后促进人卵巢癌细胞凋亡 对转染 miR-1285 mimics 48 h 后的细胞进行流式细胞分选发现(图 1)，SKOV3 细胞系的凋亡率升高，明显高于转染 mimic control 的阴性对照组，差异有统计学意义($P<0.05$)；而阴性对照组的细胞凋亡率与空白对照组无明显差异($P>0.05$)，见表 4。在

OVCAR3 细胞系中(图 2),转染 miR-1285 mimics 48 h 后,细胞的凋亡率也升高,明显高于转染 mimic control 的阴性对照组细胞,差异有统计学意义($P<0.05$),而阴性对照组的细胞凋亡率则与空白对照组无明显差异($P>0.05$),见表 4。

表 4 细胞凋亡率的比较($n=15$,$\bar{x}\pm s$,%)

组别	SKOV3 凋亡率	OVCAR3 凋亡率
转染组	21.12±2.17	18.16±1.87
阴性对照组	11.77±2.18*	9.21±1.32*
空白对照组	10.31±2.06*	8.98±1.86*
F	117.7	141.8
P	<0.05	<0.05

*:$P<0.05$,与转染组比较

3 讨 论

卵巢癌在女性生殖系统中发病率较高,属于常见恶性肿瘤,约占女性生殖系肿瘤的三分之一,其发病十分隐匿,对患者的早期诊断造成了较大的困难,临床上被诊断为卵巢癌的患者 70%以上已发生了盆腔等多处组织的转移,导致其 5 年生存率低于 30%[6]。临床上关于卵巢癌的发病病因还不是十分清楚,其病理也较为复杂,缺少有效的治疗手段,目前还未有明确的临床指标可对卵巢癌的诊断及治疗提供参考[7]。因此,对卵巢癌发病机制的研究显得尤为关键。miRNAs 是一类存在于细胞内,长度约为 22 个核苷酸的非编码单链小分子 RNA,自从 20 世纪 90 年代 LEE 等[5]在真核生物中发现了第一个 miRNA(Lin4)之后,学者们对 miRNAs 进行了一系列的后续研究,发现 miRNAs 通过碱基互补配对,与其靶基因结合,可调控基因的表达,从而参与细胞的增殖和分化[8]。在对癌症细胞的研究中发现,miRNAs 在癌症的发生、发展中起着十分重要的作用,其通过调控靶基因的表达,参与细胞内信号通路的传导,参与细胞周期的调控,介导细胞的凋亡过程等[9]。有研究报道,通过利用 miRNA 芯片技术,分别检测人源卵巢癌细胞系及正常卵巢上皮细胞中 miRNAs 的表达谱发现,一共检查到 173 个 miRNAs 的表达,其中在两种细胞系中共同表达的 miRNAs 共 160 个,有 35 个 miRNAs 表达差异有统计学意义($P<0.05$),其中表达下调的 miRNAs 有 31 个,表达上调的 miRNAs 有 4 个,在这 4 个下调的 miRNAs 中,包含两个具有抑制肿瘤发展的 miRNAs,分别是 let-7d 与 miRNA-127,暗示着 miRNAs 与卵巢癌的发生有一定的相关性[10]。有学者对 106 例卵巢癌患者进行分期,即早期组卵巢癌和晚期组卵巢癌患者,采用基因芯片技术检测卵巢癌组织中 miRNAs 的表达,发现两组存在 44 个 miRNAs 基因的表达差异,且在晚期卵巢癌患者中表达均下调,包括具有肿瘤抑制功能的 miR34a 及 miR15a 等,表明在卵巢癌的发展过程中 miRNAs 起着重要的作用[11]。

本研究发现,miR-1285 与卵巢癌的发生十分相关,其在卵巢癌组织中的表达水平明显低于癌旁组织;除此之外,细胞学实验证明,miR-1285 的表达升高,会致使癌细胞的增殖能力明显下降,同时导致癌细胞的凋亡率明显升高,表明 miR-1285 与卵巢癌的发生、发展过程密切相关,miR-1285 可能作为卵巢癌细胞中的抑癌因子,在癌细胞的凋亡过程中发挥功能。分析其发挥功能的可能机制:有研究发现在胰腺癌中 miR-1285 与相关蛋白结合,以 miRNA 诱导沉默复合体(miRISC)蛋白复合体的形式与靶基因 YAP1 的 mRNA 相结合,在转录水平抑制其翻译过程,从而达到抑癌的作用[12];另有研究报道,miR-34c 与 miR34b 通过调控靶基因 P53 的转录,导致卵巢癌的发生[13];miR214 则通过负调控第 10 号染色体缺失性磷酸酶-张力蛋白同源物基因(PTEN)的表达,参与蛋白激酶 B(AKT)通路,从而在卵巢癌的转移过程中起作用[14];miR-210 通过对靶基因组织缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)的调控,参与肿瘤转移时血管的生成[15]。

综上所述,miRNAs 通过调控不同的靶基因参与卵巢癌的发生、发展过程。本文通过对 40 例卵巢癌患者的研究发现,miR-1285 与卵巢癌的发生、卵巢癌细胞的增殖及凋亡密切相关,表明其在卵巢癌发生、发展中起着重要作用,但是至于该过程中的具体分子机制,还有待进一步的探索。本研究为了解 miR-1285 与卵巢癌发生的关系奠定了一定的理论基础和实验依据。

参考文献

[1] ZHANG B H,PAN X P,COBB G P,et al. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors[J]. Dev Bio,2007,30(2):1-12.

[2] CHENG H Y,OBRIETAN K. Revealing a role of microRNAs in the regulation of the biological clock[J]. Cell Cycle,2007,6(24):3034-3035.

[3] 李泽夏,刘海玲,吕辉,等. 与卵巢癌转移有关的 microRNA 研究进展[J]. 现代生物医学进展,2011,11(14):2793-2796.

[4] 朱清,许波,刘雨生. microRNA 在卵巢和卵巢癌中的表达及功能[J]. 安徽医科大学学报,2014,49(5):694-697.

[5] LEE R C,FEINBAUM R L,AMBROS V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell,1993,75(5):843-854.

[6] 李楠,张梦真. MicroRNA 在卵巢癌中的研究进展[J]. 现代妇产科进展,2013,22(9):765-766.

[7] IORIO M V,VISONE R,DI LEVA G,et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer[J]. Cancer Res,2007,67(18):8699-8707.

[8] KAWAMATA T,SEITZ H,TOMARI Y. Structural determinants of miRNAs for RISC loading and slicer-independent unwinding[J]. Nat Struct Mol Biol,2009,16(9):953-960.

[9] CORNEY D C,FLESKEN-NIKITIN A,GODWIN A K,et al. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth[J]. Cancer Res,2007,67(18):8433-8438.

(下转第 2152 页)

较高，其中 MDA-MB-231 差异最为明显。为探究 SMC4 表达对乳腺癌细胞功能的影响，本研究选用 MDA-MB-231 细胞进行细胞功能实验。通过应用 siRNA 干扰 SMC4 的表达后，观察到处理组细胞的增殖速度、侵袭及迁移能力均较对照组明显降低。

在探究 SMC4 影响肿瘤细胞侵袭性的潜在机制时，笔者预测可能与 PI3K/AKT 信号通路相关。目前许多研究表明，PI3K/AKT 信号通路在肿瘤细胞的迁移、增殖、侵袭等方面有重要的作用。激活的 PI3K 使质膜上产生 3-磷酸磷脂酰肌醇（PIP3），PIP3 与 AKT 结合使其从细胞质转移到细胞膜上获得催化活性，由磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶（PDK）、激活 AKT（磷酸化），p-AKT 从细胞膜脱落后进入细胞质或细胞核，调控下游蛋白从而调控细胞生长、运动和凋亡等[11-12]。在肝癌、胃癌和结直肠癌等许多肿瘤中均有 p-AKT 的过度表达[13-15]。在本研究中，用特异性 SMC4 siRNA 转染 MDA-MB-231 细胞后，处理组的 p-PI3K 及 p-AKT 蛋白表达水平较对照组均明显减少。因此笔者推测，下调 SMC4 表达后抑制乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭可能与抑制了 PI3K/AKT 信号通路的激活相关。

综上所述，SMC4 在乳腺癌组织及细胞中均呈高表达，干扰 SMC4 mRNA 的表达可抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移及侵袭能力，其机制可能与 PI3K/AKT 信号通路的激活相关。基于本次研究的结果，随着以后相关实验的开展和研究，SMC4 有望成为新的治疗靶点。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.

[2] FREEMAN L, ARAGON-ALCAIDE L, STRUNNIKOV A. Strunnikov, The condensin complex governs chromosome condensation and mitotic transmission of rDNA[J]. J Cell Biol, 2000, 149(4): 811-824.

[3] YU L, PEÑA CASTILLO L, MNAIMNEH S, et al. A survey of essential gene function in the yeast cell division cycle[J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(11): 4736-4747.

[4] HIRANO T. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions[J]. Genes Dev, 2012, 26(15): 1659-1678.

[5] FENG X D, SONG Q, LI C W, et al. Structural maintenance of chromosomes 4 is a predictor of survival and a novel therapeutic target in colorectal cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(21): 9459-9465.

[6] ZHOU B, YUAN T, LIU M, et al. Overexpression of the structural maintenance of chromosome 4 protein is associated with tumor de-differentiation, advanced stage and vascular invasion of primary liver cancer[J]. Oncol Rep, 2012, 28(4): 1263-1268.

[7] ZHOU B, CHEN H, WEI D, et al. A novel miR-219-SMC4-JAK2/Stat3 regulatory pathway in human hepatocellular carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2014, 33: 55.

[8] JINUSHI T, SHIBAYAMA Y, KINOSHITA I, et al. Low expression levels of microRNA-124-5p correlated with poor prognosis in colorectal cancer via targeting of SMC4[J]. Cancer Med, 2014, 3(6): 1544-1552.

[9] ZHAO S G, EVANS J R, KOTHARI V, et al. The landscape of prognostic outlier genes in high-risk prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(7): 1777-1786.

[10] JIANG L, ZHOU J, ZHONG D, et al. Overexpression of SMC4 activates TGFbeta/Smad signaling and promotes aggressive phenotype in glioma cells[J]. Oncogenesis, 2017, 6(3): e301.

[11] XUE G, RESTUCCIA D F, LAN Q, et al. Akt/PKB-mediated phosphorylation of Twist1 promotes tumor metastasis via mediating cross-talk between PI3K/Akt and TGF-beta signaling axes[J]. Cancer Discov, 2012, 2(3): 248-259.

[12] HILDEBRANDT M A, LIPPMAN S M, ETZEL C J, et al. Genetic variants in the PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway predict head and neck cancer patient second primary tumor/recurrence risk and response to retinoid chemoprevention[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(13): 3705-3713.

[13] CAO F, ZHANG C, HAN W, et al. p-Akt as a potential poor prognostic factor for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Oncotarget, 2017, 8(35): 59878-59888.

[14] CHEN J S, WANG Q, FU X H, et al. Involvement of PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway in invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma: association with MMP-9[J]. Hepatol Res, 2009, 39(2): 177-186.

[15] KHOR T O, GUL Y A, ITHNIN H, et al. Positive correlation between overexpression of phospho-BAD with phosphorylated Akt at serine 473 but not threonine 308 in colorectal carcinoma[J]. Cancer Lett, 2004, 210(2): 139-150.

（收稿日期：2018-01-02　修回日期：2018-03-10）

（上接第 2147 页）

[10] NAM E J, YOON H, KIM S W, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(9): 2690-2695.

[11] NICOLOSO M S, SPIZZO R, SHIMIZU M, et al. MicroRNAs--the micro-steering wheel of tumour metastases[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(4): 293-302.

[12] 双婷，吴建磊，朱彦丽. 耐药与敏感卵巢癌组织中 microRNA 表达差异谱检测及分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2013，29（1）：33-35.

[13] 黄华. MiR-1285 对胰腺癌细胞恶性生物学行为的影响及作用机制[D]. 北京：北京协和医学院，2015.

[14] LAIOS A, O'TOOLE S, FLAVIN R, et al. Potential role of miR-9 and miR-223 in recurrent ovarian cancer[J]. Mol Cancer, 2008, 7: 35.

[15] 田姝. MicroRNA-1285 靶向调控 p53 的实验研究[D]. 上海：复旦大学，2010.

（收稿日期：2018-01-04　修回日期：2018-03-12）