

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.13.006

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210426.1623.002.html\(2021-04-27\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210426.1623.002.html(2021-04-27))

miR-4458 靶向 STAT3 对结直肠癌细胞增殖、凋亡及上皮间质转化的影响^{*}

颜超,赵强

(四川省德阳市第二人民医院普外科 618000)

[摘要] **目的** 探讨 miR-4458 对人结肠癌细胞(HT-29)增殖、凋亡及上皮间质化(EMT)的影响及其作用机制。**方法** 体外培养 HT-29 细胞,分为对照组、miR-4458 阴性对照(NC)组和 miR-4458 模拟物(mimics)组,另将人正常结肠上皮细胞(HCoEpiC)设置为正常组。逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)法检测正常组、各组 HT-29 细胞、结肠癌组织及癌旁组织中 miR-4458 和信号转导与转录激活因子(STAT3)mRNA 表达水平;细胞计数试剂盒(CCK-8)法检测各组 HT-29 细胞存活率变化;划痕实验和 Transwell 实验分别检测各组细胞迁移和侵袭变化;Western blot 检测各组 HT-29 细胞上皮型钙粘蛋白(E-cadherin)、神经性钙粘蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(Vimentin)表达变化;双荧光素酶报告实验验证 miR-4458 与 STAT3 的靶向关系。**结果** 与癌旁组织和正常组细胞相比,结肠癌组织和细胞中 miR-4458 均低表达,STAT3 mRNA 均高表达。Targetsan human 数据库预测 miR-4458 与 STAT3 mRNA 3'UTR 区有结合位点。与 STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 NC 组比较,STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 mimics 组荧光素酶活性降低($P<0.05$)。与对照组和 miR-4458 NC 组相比,miR-4458 mimics 组细胞 miR-4458 表达、凋亡率、E-cadherin 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$),存活率、划痕迁移率、侵袭数量、STAT3 mRNA 和蛋白表达、N-cadherin、Vimentin 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。此外,体内实验证实,过表达 miR-4458 可显著抑制 HT-29 移植瘤的生长。**结论** miR-4458 可能通过靶向抑制 STAT3 表达,抑制人结直肠癌细胞的增殖、凋亡和上皮间质化行为。

[关键词] miR-4458;信号转导与转录激活因子;结肠癌细胞;增殖;凋亡;上皮间质化

[中图法分类号] R735.3+7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)13-2187-07

Effects of miR-4458 targeting STAT3 on proliferation,apoptosis and epithelial mesenchymal transition of colorectal cancer cells^{*}

YAN Chao,ZHAO Qiang

(Department of General Surgery,Deyang Municipal Second People's Hospital,Deyang,Sichuan 618000,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of miR-4458 on the proliferation,apoptosis and epithelial mesenchymal transition (EMT) of human colorectal cancer cell line HT-29 and its mechanism. **Methods** The HT-29 cells were cultured in vitro and divided into the control group,miR-4458 negative control (NC) group and miR-4458 mimics group. In addition,the human normal colonic epithelial cells (HCoEpiC) served as the normal group. The expression levels of miR-4458 and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) mRNA in the normal group,HT-29 cells of each group,colon cancer tissues and paracancerous tissues were detected by real time quantitative PCR (RT-qPCR);the survival rate of HT-29 cells was detected by cell counting Kit (CCK-8);the cell migration and invasion in each group were detected by the scratch and Transwell test;the expression levels of E-cadherin,N-cadherin and Vimentin in HT-29 cells were detected by Western blot;the targeting relationship between miR-4458 and STAT3 was verified by the double luciferase reporter assay. **Results** Compared with paracancerous tissues and HCoEpiC cells,the miR-4458 expression level in colon cancer tissues and cells was lower and STAT3 mRNA was highly expressed. The binding site of miR-4458 with STAT3 mRNA 3'UTR region was predicted by Targetsan human database. Compared with the STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 NC group,the luciferase activity of the STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 mimics group was decreased ($P<0.05$). Compared with the control group and miR-4458 NC group,the miR-4458 expression level,apoptosis rate and E-cadherin protein expression level of HT-29 cells in the miR-4458

^{*} 基金项目:2017 年四川省卫生和计划生育委员会科研课题(17PJ376)。 作者简介:颜超(1984—),主治医师,本科,主要从事胃肠肿瘤研究。

mimics group were significantly increased ($P < 0.05$), the cell survival rate, scratch migration rate, invasion number, STAT3 mRNA and protein expression levels, N-cadherin and Vimentin protein expression levels were significantly decreased ($P < 0.05$). In addition, the in vivo experiments confirmed that the overexpression of miR-4458 could significantly inhibit the growth of HT-29 xenograft tumors. **Conclusion** miR-4458 may inhibit the proliferation, apoptosis and epithelial mesenchymal behavior of human colorectal cancer cells by targeting inhibiting the STAT3 expression.

[Key words] miR-4458; signal transducer and activator of transcription; colon cancer cells; proliferation; apoptosis; epithelial mesenchymal transition

结直肠癌(CRC)是全球癌症相关发病率和病死率高的主要原因^[1-2]。此外,大部分CRC患者初次诊断时即为晚期,且具有高转移性和复发性,严重威胁人类的生命健康,因此探索新的生物标记物用于改善临床CRC诊断和治疗效果至关重要^[3]。细胞侵袭和迁移行为是影响肿瘤转移的重要因素,而靶向驱动调控基因可能是治疗恶性肿瘤疾病并提高生存率的理想策略^[4]。微小RNA(miRNA)是内源性非编码小RNA,可以在转录水平上调节靶mRNA表达,参与疾病发展进程^[5]。QIN等^[6]研究发现,miR-4458在结肠癌细胞被下调,过表达miR-4458可以抑制细胞增殖、糖酵解和乳酸形成,但miR-4458对结肠癌细胞凋亡、侵袭和迁移影响及其作用机制尚未阐明。本研究旨在探索miR-4458过表达对CRC细胞系人结肠癌细胞(HT-29)凋亡、侵袭、迁移及上皮间质化(EMT)影响,并初步探索其作用机制,以期为开发CRC临床诊断和治疗新方法提供思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

1.1.1 主要材料

人结肠癌细胞(HT-29, TCHu103)和人正常结肠上皮细胞(HCoEpiC, C1388)购于中国科学院细胞库; miR-4458 mimics、miR-4458 NC由广州市锐博生物科技有限公司设计合成; miR-4458、STAT3、U6、GADPH引物序列由上海生工生物工程有限公司设计合成;细胞计数试剂盒(Cell Counting Kit 8, CCK-8, CA1210)、RPMI 1640培养基(10491)、Matrigel胶(356234)、Trizol试剂盒(15596-018)、RIPA裂解液(R0010)、ECL发光液(PE0010)购于北京Solarbio公司;胎牛血清(C0227)、上皮型钙粘蛋白(E-cadherin, AF0138)和波形蛋白(Vimentin)鼠抗人单克隆抗体(AF0318)、神经性钙黏附蛋白(N-cadherin)兔抗人多克隆抗体(AF0243)购于上海碧云天公司; PureLink™ RNA Mini试剂盒(12183025)、山羊抗兔IgG(H+L, A32731)和山羊抗小鼠IgG(H+L)二级抗体(A32723)购于美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.1.2 主要仪器

MA100N型倒置显微镜由日本Nikon公司生产; ELX-8081U型酶标仪和Gel DocTMXR+型凝胶成像仪由美国Bio-Rad公司生产; 5333型PCR仪由德

国Eppendorf公司生产; SG160型二氧化碳细胞培养箱由江苏博赛斯仪器制造有限公司生产。

1.1.3 实验动物

18只8周龄SPF级雌性BALB/c小鼠, 体重(20.0±1.8)g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可证号SCXK(沪)2017-0011。经本院动物伦理委员会批准, 并遵守3R保护原则进行实验。

1.2 方法

1.2.1 CRC肿瘤组织

采集2019年1月1日至12月31日本院40例结肠癌患者肿瘤组织和癌旁正常组织, 均储存于液氮中。患者手术前未接受过放射疗法或化学疗法。该研究得到本院伦理委员会的批准。

1.2.2 细胞培养

HT-29细胞和HCoEpiC细胞均接种于补充10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中, 于37℃、5%CO₂环境培养, 培养至3~5代, 消化收集细胞, 用于后续实验。

1.2.3 细胞分组及转染

将HT-29细胞分为对照组、miR-4458阴性对照组(NC)组和miR-4458模拟物(mimics)组, 按照Lipofectamine 2000说明书将miR-4458 mimics和miR-4458 NC转染细胞6h, 对照组不做转染处理, 然后更换新鲜培养液孵育24h, 收集后用于后续实验。另取1.2.2 HCoEpiC细胞设置为正常组。

1.2.4 HE染色

将1.2.1收集的CRC癌组织和癌旁组织制成厚度为3mm的组织切片, 根据HE染色试剂盒说明书步骤对上述组织进行染色, 显微镜下观察组织病理状态。

1.2.5 逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)实验

根据PureLink™ RNA Mini试剂盒说明书, 从冷冻组织(每个组织最多30mg)和1.2.3各组细胞提取总RNA, 分别逆转录后, 进行PCR扩增。以U6、GADPH为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分别计算miR-4458和STAT3 mRNA相对表达量。PCR反应条件: 95℃预变性3min, 95℃变性20s, 58℃退火30s, 62℃延伸30s, 共40次循环。其中每组细胞RNA检测实验设置3个复孔, 实验重复6次。miR-4458、STAT3、U6、GADPH引物序列见表1。

表 1 miR-4458、STAT3、U6 和 GADPH 引物序列

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
miR-4458	CGAGAGGTAGGTGTGGAAGAA	TGGTGTCTGGAGTCG
STAT3	CTTTGAGACCGAGGTGTATCACC	GGTCAGCATGTTGTACCACAGG
U6	TCAGTTTGCTGTTCTGGGTG	CGGTTGGCTGGAAAGGAG
GADPH	GAGTCAACGATTGTGGTCGT	GACAAGCTTCCCCTTCTCAG

1.2.6 移植瘤模型的建立

将对照组、miR-4458 NC 组和 miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞培养至对数期,调整浓度为 1.8×10^7 个/mL,分别取 125 μ L 接种于小鼠右前肢腋下,每组 6 个平行,每周检测裸鼠移植瘤瘤体大小,6 周后颈椎脱臼法处死小鼠,分离皮下移植瘤,计算各组各小鼠肿瘤体积,计算平均值。各组小鼠肿瘤体积均值=长 $\times$ 宽 $\times$ 0.5/6。

1.2.7 双荧光素酶报告基因检测实验

经 Targetscan Human 数据库预测显示,miR-4458 与 STAT3 mRNA 3'UTR 区有结合位点,见图 1。将含有预测的 miR-4458 结合位点的 STAT3 3'UTR 序列和突变型 STAT3 3'UTR 序列克隆至 pGL3 报告载体,得到野生型 STAT3-3'UTR-WT 和突变型 STAT3-3'UTR-MUT 质粒。取上述质粒 0.5 μ g,均与 miR-4458 mimics、miR-4458 NC 共转染 HT-29 细胞 24 h,分为 STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 NC 组、STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 mimics 组、STAT3-3'UTR-MUT+miR-4458 mimics 组和 STAT3-3'UTR-MUT+miR-4458 NC 组,根据说明书制备细胞提取物,测量各组荧光素酶活性,以上实验重复 6 次。

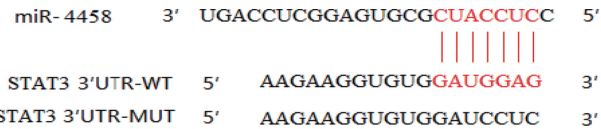


图 1 miR-4458 与 STAT3 mRNA 结合位点预测

1.2.8 CCK-8 实验

参照文献[7]方法,检测 1.2.3 各组 HT-29 细胞在转染 6、12、24 和 48 h 时的增殖变化情况,每组 6 个复孔,实验重复 6 次。

1.2.9 Annexin V-FITC/PI 实验

严格按照试剂盒说明书,对 1.2.3 各组 HT-29 细胞进行 Annexin V-FITC 和 PI 染色处理,于流式细胞仪上检测凋亡情况,每组 3 个复孔,实验重复 6 次。

1.2.10 划痕实验

待 1.2.3 各组 HT-29 细胞长满后,用 200 μ L 枪头垂直划痕,记录划痕情况,加入含有胎牛血清的培养基培养 24 h,拍照记录各组迁移情况,分析计算迁移率。迁移率=(0 h 划痕距离-24 h 划痕距离)/0 h

划痕距离 $\times$ 100%,每组 3 个复孔,实验重复 6 次。

1.2.11 Transwell 侵袭实验

用无血清的培养基调整 1.2.3 各组 HT-29 细胞密度为 1×10^6 个/mL,取 200 μ L 添加至含有 Matrigel 凝胶的上室,下室添加 500 μ L 完全培养基,培养 24 h。取出小室,固定,结晶紫染色,随机抽取 6 个视野拍照并计数,每组 3 个复孔,实验重复 6 次。

1.2.12 Western blot 实验

低温裂解各组 HT-29 细胞分别获得总蛋白,并检测蛋白浓度。经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离裂解蛋白、转膜、封闭后,加入一抗 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 和 GADPH (1:1 000),孵化过夜,添加二抗(1:5 000),共孵育 2 h,加入 ECL,暗室曝光显影,分析条带密度进行定量分析,每组 3 个复孔,实验重复 6 次。

1.3 统计学处理

以统计学软件 SPSS 22.0 分析实验数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 描述,多组间比较使用单因素方差分析,进一步两组间比较行 SNK-*q* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-4458 和 STAT3 在 CRC 患者癌组织和癌旁组织的表达情况

CRC 患者癌旁组织与癌组织病理检查显示,与癌旁组织相比,癌组织中 miR-4458 表达显著降低($P<0.05$),STAT3 mRNA 显著升高($P<0.05$),见图 2。

2.2 各组细胞 miR-4458 表达水平情况

与正常组相比,对照组 miR-4458 表达显著降低($P<0.05$),STAT3 mRNA 表达显著升高($P<0.05$);与对照组和 miR-4458 NC 组相比,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞 miR-4458 表达水平显著升高($P<0.05$),STAT3 mRNA 表达显著降低,见表 2。

2.3 双荧光素酶报告基因检测系统验证 miR-4458 与 STAT3 靶向关系

双荧光素酶报告基因检测结果显示,与 STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 NC 组(0.82 ± 0.09)比较,STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 mimics 组(0.17 ± 0.02)荧光素酶活性降低($P<0.05$);STAT 3-3'UTR-MUT+miR-4458 mimics 组(0.75 ± 0.04)和 STAT3-3'UTR-MUT+miR-4458 NC 组(0.71 ± 0.05)差异无

统计学意义($P>0.05$)。

2.4 过表达 miR-4458 对 HT-29 瘤体生长的抑制作用

与对照组[(221.14±40.25)mm³]和 miR-4458

NC 组[(242.46±45.08)mm³]相比,miR-4458 mimics 组[(29.92±5.47)mm³]小鼠 HT-29 移植瘤体积显著缩小($P<0.05$),见图 3。

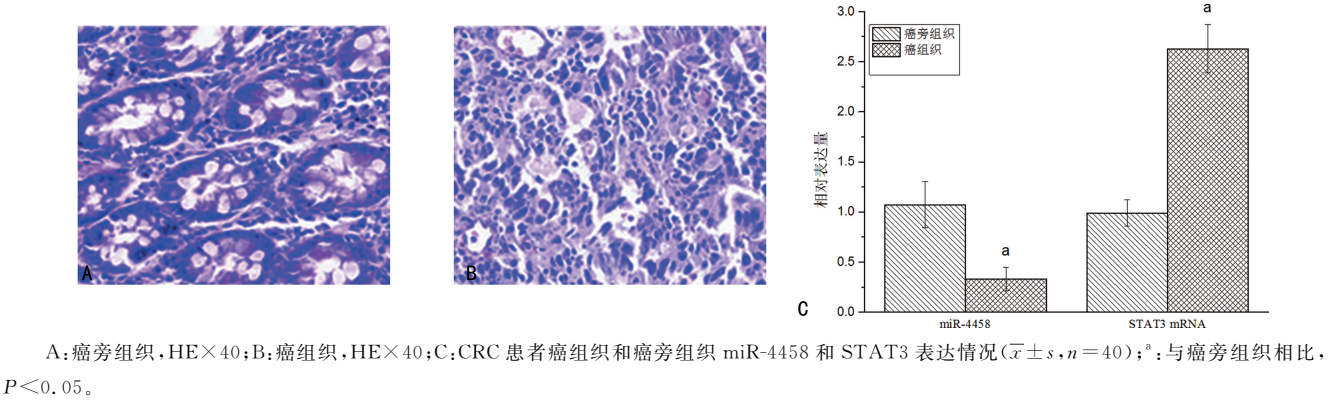


图 2 miR-4458 和 STAT3 在 CRC 患者癌组织和癌旁组织的表达

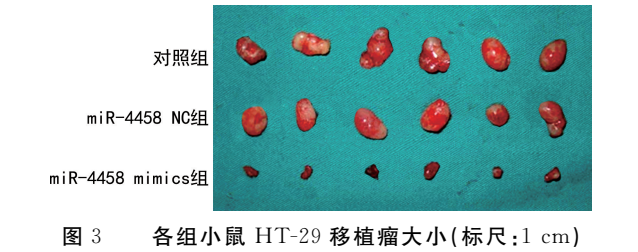
表 2 各组细胞 miR-4458 表达情况($\bar{x}\pm s, n=6$)		
组别	miR-4458	STAT3 mRNA
正常组	1.10±0.08	1.08±0.05
对照组	0.52±0.04 ^a	2.11±0.04 ^a
miR-4458 NC 组	0.49±0.05	2.08±0.06
miR-4458 mimics 组	0.84±0.03 ^{bc}	0.92±0.05 ^{bc}

^a:与正常组相比, $P<0.05$; ^b:与对照组相比, $P<0.05$; ^c:与 miR-4458 NC 组相比, $P<0.05$ 。

NC 组相比,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞增殖活性显著降低($P<0.05$),见图 4。

2.6 miR-4458 mimics 转染对 HT-29 细胞凋亡的影响

与对照组和 miR-4458 NC 组相比,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞凋亡率显著升高($P<0.05$),见图 5。



2.5 miR-4458 mimics 转染对 HT-29 细胞增殖影响

随培养时间的延长,各组细胞的增殖活性呈时间依赖性增加趋势;相同时间下,与对照组和 miR-4458

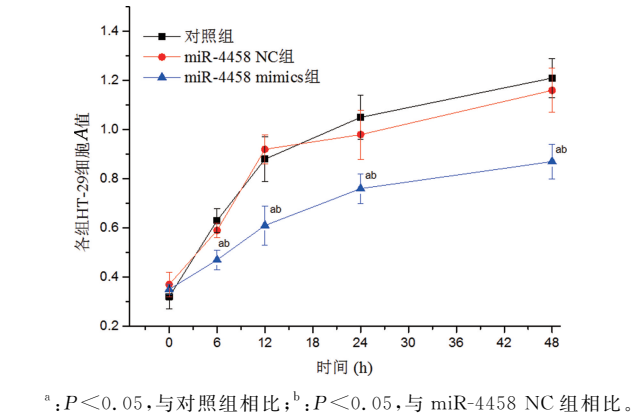


图 4 各组 HT-29 细胞增殖变化曲线($\bar{x}\pm s, n=6$)

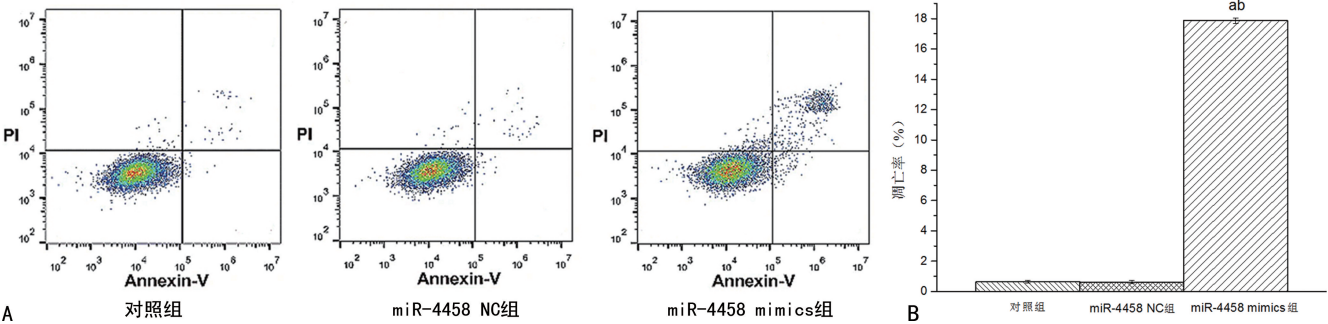


图 5 miR-4458 mimics 转染对 HT-29 细胞凋亡的影响

2.7 miR-4458 mimics 转染对 HT-29 细胞迁移能力的影响

相同迁移时间下,与对照组和 miR-4458 NC 组相比,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞迁移率显著降低($P<0.05$),见图 6、表 3。

2.8 miR-4458 mimics 转染对 HT-29 细胞侵袭能力的影响

与对照组(308.96 ± 21.07)个和 miR-4458 NC 组(296.82 ± 27.35)个相比,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞侵袭数量(95.86 ± 22.52)个显著降低($P<0.05$),见图 7。

2.9 miR-4458 mimics 转染对 HT-29 细胞 EMT 相

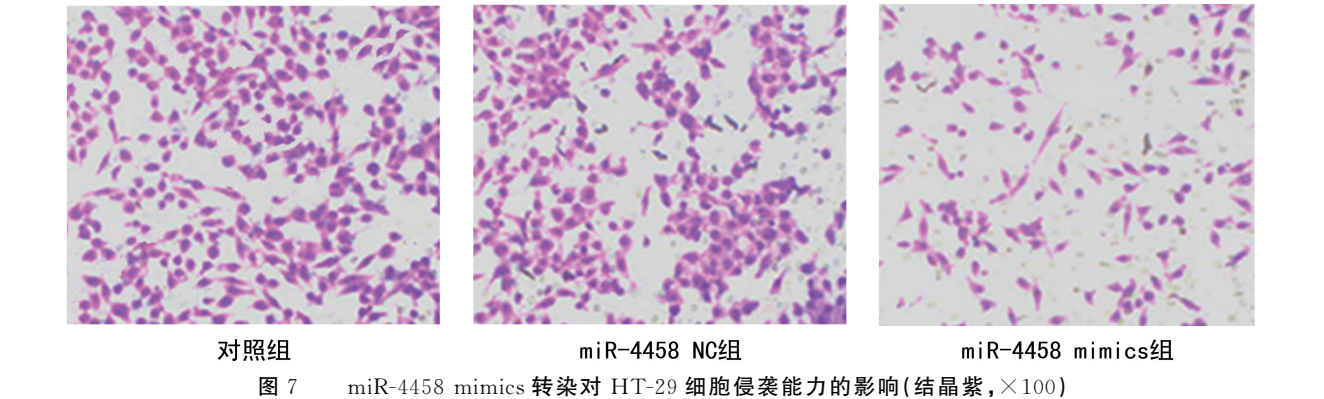
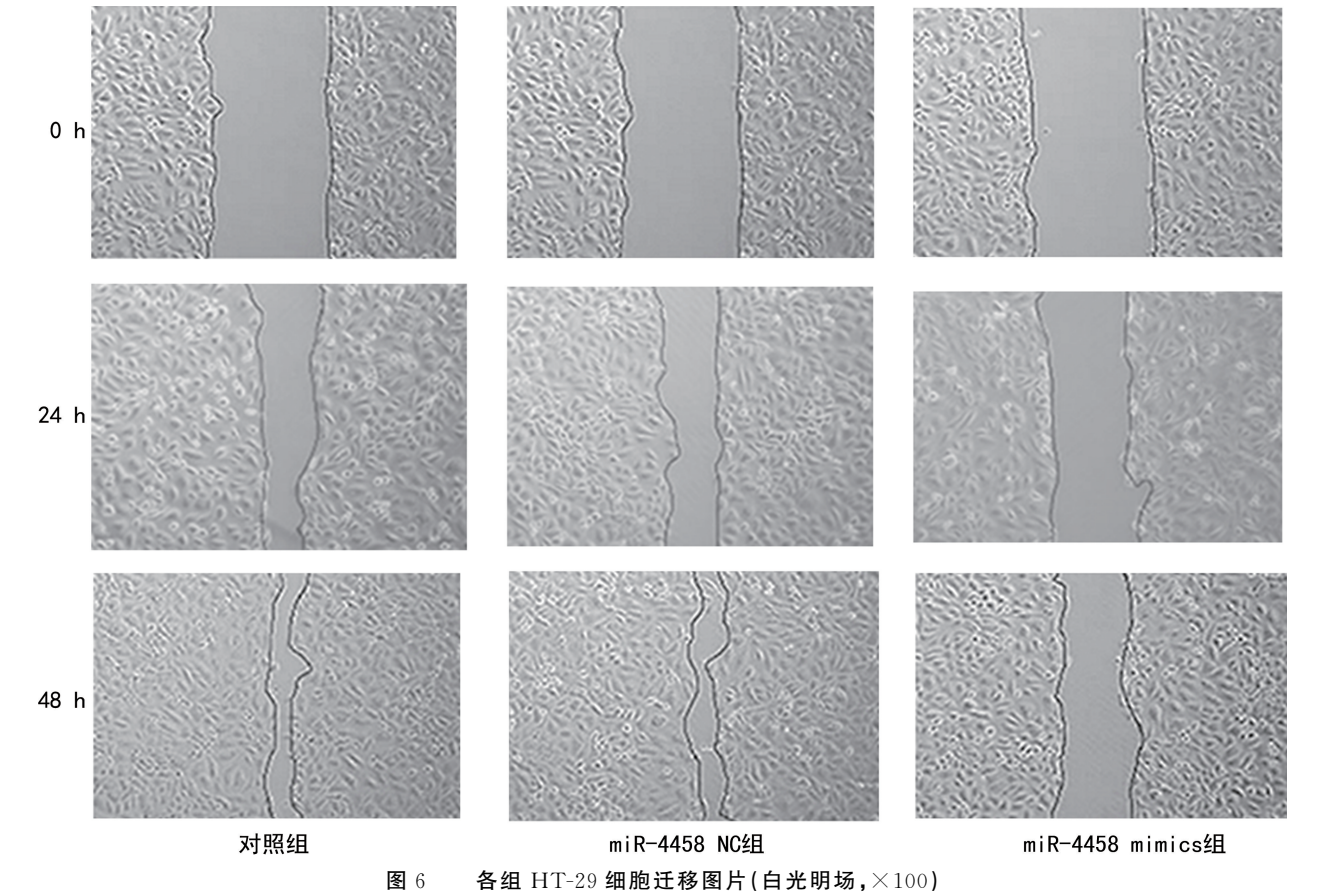
关蛋白表达的影响

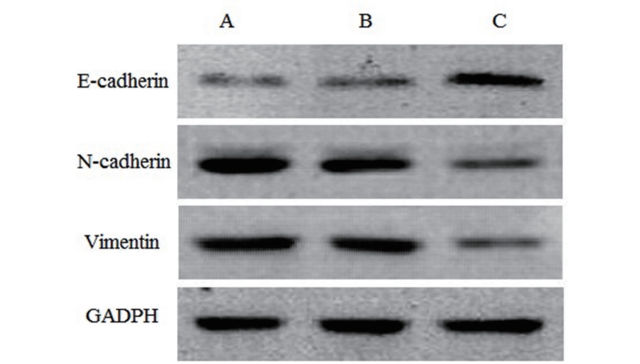
与对照组和 miR-4458 NC 组相比,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞中 E-cadherin 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$),N-cadherin 及 Vimentin 蛋白表达量显著降低($P<0.05$),见图 8、表 4。

表 3 miR-4458 mimics 转染 HT-29 细胞的迁移率
($\bar{x}\pm s, \%, n=6$)

组别	24 h	48 h
对照组	43.25 $\pm$ 3.04	73.13 $\pm$ 2.24
miR-4458 NC 组	39.99 $\pm$ 4.32	70.46 $\pm$ 3.21
miR-4458 mimics 组	10.92 $\pm$ 1.36 ^{ab}	19.72 $\pm$ 2.39 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与对照组相比;^b: $P<0.05$,与 miR-4458 NC 组相比。





A: 对照组; B: miR-4458 NC 组; C: miR-4458 mimics 组。
图 8 各组 HT-29 细胞 E-cadherin、N-cadherin 及 Vimentin 蛋白表达电泳图

表 4 各组细胞 E-cadherin、N-cadherin 及 Vimentin 蛋白表达情况($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	E-Cadherin	N-Cadherin	Vimentin
对照组	0.23±0.03	1.22±0.05	1.21±0.03
miR-4458 NC 组	0.27±0.03	1.17±0.03	1.18±0.04
miR-4458 mimics 组	0.92±0.04 ^{ab}	0.35±0.04 ^{ab}	0.32±0.02 ^{ab}

^a: $P<0.05$, 与对照组相比; ^b: $P<0.05$, 与 miR-4458 NC 组相比。

3 讨 论

目前,用于诊断和检测从腺瘤到 CRC 进展的常规方法为结肠镜检查 and 粪便潜血测试(FOBT),但结肠镜检查价格昂贵且具有侵入性,FOBT 灵敏度低,而 miRNA 可能是一种新的检测方式^[8]。此外,miRNA 是介导肠内动态平衡的关键分子调节剂,与 CRC 进展密切相关^[9]。本研究发现,miR-4458 在结肠癌细胞和肿瘤组织中均低表达,转染 miR-4458 mimics 后,HT-29 细胞 miR-4458 表达水平显著增高,提示转染成功,同时过表达 miR-4458 能够显著抑制 HT-29 移植瘤体生长,miR-4458 可能与结直肠癌的发生、发展密切相关。

STAT3 是恶性肿瘤中公认的促癌蛋白,在癌症侵袭性方面起重要调节作用,并影响肿瘤细胞的 EMT 过程^[10-12]。本研究结果显示,STAT3 在结肠癌细胞和肿瘤组织中均高表达,转染 miR-4458 mimics 后,结肠癌 HT-29 细胞中 STAT3 mRNA 表达显著降低,提示 miR-4458 与 STAT3 可能存在靶向关系。经 Targetscan Human 数据库预测,miR-4458 与 STAT3 mRNA 3'UTR 区存在结合位点,且双荧光素酶基因检测报告显示,与 STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 NC 组比较,STAT3-3'UTR-WT+miR-4458 mimics 组荧光素酶活性降低,表明 miR-4458 与 STAT3 存在靶向关系。在三阴性乳腺癌和乳腺癌细胞中,激活 STAT3 有助于促进癌细胞的迁移、侵袭和 EMT 进程^[10-11]。另有研究显示,STAT3 是转化生长因子-β1 诱导的肝癌细胞 EMT 和肝癌转移的正调节剂,因此推测 miR-4458 可能通过靶向抑制 STAT3 表达,抑制 HT-29 细胞的恶性生物学行为,但需进一步验证^[12]。

WU 等^[13]研究发现,miR-4458 在乳腺癌肿瘤组织和细胞中低表达,模拟 miR-4458 能够显著抑制细胞迁移和侵袭;此外,过表达 miR-4458 能够抑制肝癌细胞的侵袭、迁移和 EMT,且肝癌组织中较低的 miR-4458 水平与不良预后相关^[14-15]。本研究发现,与对照组和 miR-4458 NC 组相比,上调 miR-4458 水平可显著降低 HT-29 细胞增殖、迁移和侵袭行为,诱导细胞凋亡,提示 miR-4458 可能是治疗 CRC 肿瘤的目标 miRNA,也可能与 CRC 预后相关。结肠癌具有很高的肿瘤侵袭性,这被认为是其最致命属性^[16]。其中,EMT 参与调控肿瘤细胞和微环境间的相互作用,在肿瘤转移中至关重要^[17-18]。细胞黏附分子 E-cadherin 表达下降和间充质标记物 Vimentin、N-cadherin 表达增加是细胞运动能力提高,EMT 发生的标志^[19]。本实验结果显示,miR-4458 mimics 组 HT-29 细胞 E-cadherin 蛋白表达显著增加,而 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达明显减少,提示上调 miR-4458,可明显降低 HT-29 细胞运动相关的蛋白质表达,阻抑 EMT 进程。另有研究证实,防止 STAT3 活化与抑制大肠癌细胞 EMT 和肿瘤转移相关^[20],因此推测 miR-4458 可能通过靶向抑制 STAT3 表达,抑制 HT-29 细胞的迁移、侵袭和 EMT 行为,miR-4458 可能是治疗 CRC 肿瘤的新靶点。

综上所述,miR-4458 可能通过靶向抑制 STAT3 表达,抑制 HT-29 细胞增殖、凋亡和 EMT,为临床治疗 CRC 提供了新的靶标。但鉴于 CRC 发病机制复杂,可能涉及多种通路,本课题将联合小鼠模型和临床试验对 miR-4458 的调控机制进行更深入研究。

参考文献

[1] ROSLAN N H, MAKPOL S, MOHD YUSOF Y A. A review on dietary intervention in obesity associated colon cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2019, 20(5): 1309-1319.

[2] DEKKER E, TANIS PJ, VLEUGELS J L, et al. Colorectal cancer [J]. Lancet, 2019, 394 (1207): 1467-1480.

[3] ZENG K, CHEN X X, XU M, et al. CircHIPK3 promotes colorectal cancer growth and metastasis by sponging miR-7[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(4): 417.

[4] HE P Y, YIP W K, JABAR M F, et al. Effect of the miR-96-5p inhibitor and mimic on the migration and invasion of the SW480-7 colorectal cancer cell line[J]. Oncol Lett, 2019, 18(2): 1949-1960.

[5] GUO X, ZHU Y, HONG X, et al. miR-181d and c-myc-mediated inhibition of CRY2 and FBXL3 reprograms metabolism in colorectal cancer[J].

- Cell Death Dis, 2017, 8(7): e2958.
- [6] QIN Y, CHENG C Y, LU H, et al. miR-4458 suppresses glycolysis and lactate production by directly targeting hexokinase2 in colon cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(1): 37-43.
 - [7] 潘勇, 贾贵清, 王凯. AS-miR-21 对直肠癌 HT29 细胞系增殖、侵袭与迁移的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(6): 702-706.
 - [8] LIU G, LI B Q. Role of miRNA in transformation from normal tissue to colorectal adenoma and cancer[J]. J Cancer Res Ther, 2019, 15(2): 278-285.
 - [9] DONG J, TAI J W, LU L F. miRNA-Microbiota interaction in gut homeostasis and colorectal cancer[J]. Trends Cancer, 2019, 5(11): 666-669.
 - [10] MA J H, QI J, LIN S Q, et al. STAT3 targets ERR- α to promote Epithelial-Mesenchymal transition, migration, and invasion in Triple-Negative breast cancer cells[J]. Mol Cancer Res, 2019, 17(11): 2184-2195.
 - [11] HAN M, WANG Y, GUO G C, et al. microRNA-30d mediated breast cancer invasion, migration, and EMT by targeting KLF11 and activating STAT3 pathway[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(10): 8138-8145.
 - [12] WANG B, LIU T, WU J C, et al. STAT3 aggravates TGF- β 1-induced hepatic epithelial-to-mesenchymal transition and migration[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 98(5): 214-221.
 - [13] WU J, MIAO J, DING Y, et al. MiR-4458 inhibits breast cancer cell growth, migration, and invasiveness by targeting CPSF4[J]. Biochem Cell Biol, 2019, 97(6): 722-730.
 - [14] ZHANG Y, SHI K, LIU H, et al. miR-4458 inhibits the epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells by suppressing the TGF- β signaling pathway via targeting TGFBR1[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2020, 52(5): 554-562.
 - [15] TANG D, SUN B, YU H, et al. Tumor-suppressing effect of miR-4458 on human hepatocellular carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(5): 1797-1807.
 - [16] XU Y, ZHANG X, HU X, et al. The effects of lncRNA MALAT1 on proliferation, invasion and migration in colorectal cancer through regulating SOX9[J]. Mol Med, 2018, 24(1): 52.
 - [17] SUAREZ-CARMONA M, LESAGE J, CATALDO D, et al. EMT and inflammation: inseparable actors of cancer progression[J]. Mol Oncol, 2017, 11(7): 805-823.
 - [18] HSIEH C H, TAI S K, YANG M H. Snail-overexpressing cancer cells promote M2-like polarization of tumor-associated macrophages by delivering MiR-21-abundant exosomes[J]. Neoplasia, 2018, 20(8): 775-788.
 - [19] JIANG J, LI X L, YIN X M, et al. Association of low expression of E-cadherin and β -catenin with the progression of early stage human squamous cervical cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 17(6): 5729-5739.
 - [20] LI H, ROKAVEC M, JIANG L C, et al. Antagonistic effects of p53 and HIF1A on microRNA-34a regulation of PPP1R11 and STAT3 and hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer cells[J]. Gastroenterology, 2017, 153(2): 505-520.
- (收稿日期: 2020-08-30 修回日期: 2021-02-08)
-
- (上接第 2186 页)
- [13] GIBIER J B, HÉMON B, FANCHON M, et al. Dual role of MUC1 mucin in kidney ischemia-reperfusion injury: nephroprotector in early phase, but pro-fibrotic in late phase[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(6): 1336-1349.
 - [14] CHEN J, ZHANG H, HU J C, et al. Hydrogen-Rich saline alleviates kidney fibrosis following AKI and retains klotho expression[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 499.
 - [15] LIU J, KUMAR S, DOLZHENKO E, et al. Molecular characterization of the transition from acute to chronic kidney injury following ischemia/reperfusion[J]. JCI Insight, 2017, 2(18): 94716.
 - [16] FU Y, TANG C Y, CAI J, et al. Rodent models of AKI-CKD transition[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2018, 315(4): F1098-1106.
 - [17] JADOT I, COLOMBARO V, MARTIN B, et al. Restored nitric oxide bioavailability reduces the severity of acute-to-chronic transition in a mouse model of aristolochic acid nephropathy[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183604.
- (收稿日期: 2020-10-11 修回日期: 2021-03-05)