

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.21.005

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210920.0910.008.html\(2021-09-22\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210920.0910.008.html(2021-09-22))

miR-1-3p 抑制肝癌细胞 SMMC-7721 增殖、迁移并诱导其凋亡^{*}

刘雨潭¹,孔艺璇¹,王一同¹,苏静慧¹,卢鸿健¹,王梅梅¹,熊亚南^{1△},章广玲^{2,3}

(1. 河北省慢性肝病重点实验室/唐山市慢性病临床基础研究重点实验室/华北理工大学基础医学院, 河北 唐山 063000; 2. 华北理工大学临床医学院, 河北 唐山 063000; 3. 河北省
医工融合精准医疗重点实验室, 河北 唐山 063000)

[摘要] **目的** 探讨在肝癌细胞 SMMC-7721 中微小 RNA(miR)-1-3p 的表达变化对其增殖、迁移和凋亡的影响及 miR-1-3p 的作用机制。**方法** 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 miR-1-3p 和 CAAP1 的相对表达量; SMMC-7721 细胞按 miR-1-3p 过表达载体(miR-1-3p 组)、pcDNA3 组、miR-1-3p inhibitor 组和 NC inhibitor 组(对照组)分别转染, 采用 qRT-PCR 检测转染效果, CCK-8 实验检测细胞增殖能力, 克隆形成实验观察并比较组间克隆形成率, 流式细胞术和 Western blot 检测细胞凋亡及 CAAP1 蛋白表达, 划痕和 Transwell 实验观察 SMMC-7721 迁移和侵袭。利用 miRDB、TargetScan、miRanda 数据库预测 miR-1-3p 靶基因, 双荧光素酶报告验证 miR-1-3p 和 CAAP1 靶向性。**结果** miR-1-3p 在 SMMC-7721 细胞中的表达明显低于正常肝细胞 LO2, 差异有统计学意义($P < 0.05$); miR-1-3p 上调, SMMC-7721 增殖、迁移和侵袭能力显著下降, 凋亡显著增强, 而下调 miR-1-3p 的表达则作用相反; miR-1-3p 和 CAAP1 具有靶向性; miR-1-3p 过表达明显抑制 CAAP1 表达。**结论** miR-1-3p 上调可能通过与 CAAP1 的 3'-UTR 结合抑制 SMMC-7721 细胞增殖、侵袭、迁移。

[关键词] 肝肿瘤; 肝癌细胞; 增殖; 迁移; 凋亡; miR-1-3p

[中图分类号] R735.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)21-3622-07

MiR-1-3p inhibits proliferation and migration of liver cancer SMMC-7721 cells and induces their apoptosis^{*}

LIU Yutan¹, KONG Yixuan¹, WANG Yitong¹, SU Jinghui¹, LU Hongjian¹,
WANG Meimei¹, XIONG Yanan^{1△}, ZHANG Guangling^{2,3}

(1. Hebei Provincial Key Laboratory for Chronic Diseases/Tangshan Municipal Key Laboratory for Clinical and Basic Research on Chronic Diseases/School of Basic Medical Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China;
2. Clinical School of Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China; 3. Hebei Provincial Key Laboratory of Medical-Industrial Integration Precision Medicine, Tangshan, Hebei 063000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of miR-1-3p expression change in hepatocellular carcinoma (HCC) SMMC-7721 cells on their proliferation, migration and apoptosis and the action mechanism of miR-1-3p. **Methods** The relative expression levels of miR-1-3p and CAAP1 were detected by the real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). SMMC-7721 cells were transfected according to miR-1-3p overexpression vector (miR-1-3p group), pcDNA3 group, miR-1-3p inhibitor group and NC inhibitor group(control group), respectively. The qRT-PCR assay was used to detect the transfection effect. The CCK-8 assay was used to detect the proliferation ability of cells. The clone formation rates were observed and compared among the groups by the clone formation experiment. The cell apoptosis and CAAP1 protein expression were detected by flow cytometry and Western blot. The migration and invasion of SMMC-7721 were observed by the scratches and Transwell experiment. The MiRDB, TargetScan and miRanda databases were used to predict miR-1-3p target

^{*} 基金项目: 河北省自然科学基金项目(H2021209026); 河北省人力资源和社会保障厅(C20210340); 河北省唐山市科学技术研究与发展计划项目(19130204C); 政府资助临床医学优秀人才培养项目(冀财预复[2020]397号); 河北省重点研发计划项目(213777115D)。 作者简介: 刘雨潭(1994—), 硕士, 主要从事肿瘤学研究。 △ 通信作者, E-mail: 492377@qq.com。

genes, and the dual-luciferin reports were used to verify the targeting of miR-1-3 and CAAP1. **Results** The expression of miR-1-3p in SMMC-7721 cells was significantly lower than that of normal liver cells LO2, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); when miR-1-3p was up-regulated, the proliferation, migration and invasion abilities of SMMC-7721 were significantly decreased, and the apoptosis was significantly enhanced, while the down-regulating the expression of miR-1-3p had an opposite effect. MiR-1-3p and CAAP1 were targeted. The overexpression of miR-1-3p significantly inhibited the expression of CAAP1. **Conclusion** The up-regulation of miR-1-3p may inhibit the proliferation, invasion and migration of SMMC-7721 cells by binding to CAAP1's 3'-UTR.

[Key words] hepatoma; hepatocellular carcinoma cells; proliferation; migration; apoptosis; miR-1-3p

肝癌是仅次于肺癌、结肠癌和胃癌的第 4 类癌症相关致死原因,肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的肝癌类型,占 75%~90%,患者被检出时多数已处于晚期,因此,治疗及预后效果均较差^[1-3];寻找早诊断、早治疗的靶点是目前研究的热点之一。微小 RNA(micro RNA, miRNA)是一组 20~22 碱基长度的非编码 RNA 分子,是转录后水平上基因表达的负调控因子。miRNAs 异常表达常见于多种人类恶性肿瘤。有研究表明,miRNA 在细胞凋亡和生长乃至癌的转移和侵袭过程中具有关键作用^[4-5]。其中 miR-1-3p 参与了包括前列腺癌、膀胱癌、肺癌、结直肠癌等癌症的发生、发展^[6-9];但在肝癌发病过程中的作用知之甚少。本研究通过检测 miR-1-3p 及其预测靶基因在肝癌细胞系 SMMC-7721 中的表达水平,并结合过表达和敲低表达技术,探讨了 miR-1-3p 对该肿瘤细胞系生物学行为的影响及其作用机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

质粒 pcDNA3 和 pcDNA3/pri-miR-1-3p 均由天津医科大学生命科学中心实验室汤华教授赠予,NC inhibitor、miR-1-3p inhibitor 均购自锐博生物公司;实验用 LO2 和 SMMC-7721 细胞系均购自中国科学院上海细胞库,杜氏改良 Eagle 培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)、胰酶、抗青霉素和链霉素双抗均购自美国 Gibco 公司,实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)试剂盒、Lipofectamine 2000 Reagent、Trizol Reagent、Opti-MEM 细胞培养基均购自美国 Invitrogen 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞转染

收集细胞后按 8×10^5 个/孔,体积为 100 μ L 均匀接种于 6 孔板。补充含 10% 血清的 DMEM,5% 二氧化碳、37 $^{\circ}$ C 过夜。细胞密度到达板底面积的 70%~90%。按照 Lipofectamine 2000 说明书分组转染人肝癌细胞系 SMMC-7721:分为转染 pcDNA3/pri-miR-

1-3p 质粒(miR-1-3p 组)、转染 pcDNA3 空载质粒(pcDNA3 组)、转染 miR-1-3p inhibitor(miR-1 inhibitor 组)及其对照(NC inhibitor 组)。

1.2.2 分析 miR-1-3p 水平和临床信息

登录 TCGA 数据门户下载肝癌相关 miRNA 和临床信息。对比 miR-1-3p 在正常肝组织、原发及复发性肝癌组织中的水平,并对不同分期 miR-1-3p 的表达进行比较分析。采用单因素生存分析比较 miR-1-3p 与肝癌患者总生存率(overall survival, OS)的关系。

1.2.3 qRT-PCR 检测 miR-1-3p 及 CAAP1 mRNA 的相对表达水平

转染 48 h 后 TRIzol 法提取总 RNA,逆转录合成 cDNA。使用 qRT-PCR 法测定 miR-1-3p 和 CAAP1 相对表达水平。使用时将获得的逆转录产物反应液稀释 50 倍后作为模板,U6 的上下游引物和所有 miRNA 的下游引物由 miRNA 第一链 cDNA 合成试剂盒提供。miR-1-3p 上游:5'-GCC GTG GAA TGT AAA GAA GTA TG-3',CAAP1 上游:5'-CTC CTT GCA GCA GGA AAC TA-3',CAAP1 下游:5'-ATG ACA CAG TCA GGT CCA GT-3'。

1.2.4 CCK-8 实验检测增殖能力

细胞按照 5×10^3 个/孔均匀接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,培养过夜。分别于转染后 0、24、48、72、96 h 吸净原培养液,每孔加入 100 μ L 培养液和 10 μ L CCK-8 试剂,37 $^{\circ}$ C 孵育 3 h 后使用酶标仪在波长 450 nm 处检测每孔的吸光度值^[10]。

1.2.5 集落形成能力检测

SMMC-7721 转染 48 h 后 800 个/孔接种于 12 孔板,5% 二氧化碳、37 $^{\circ}$ C 继续培养 14 d,吸出每孔培养液,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)冲洗,再用 1% 结晶紫进行染色,细胞数大于或等于 50 可视为集落,观察并计数^[11]。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡

SMMC-7721 转染 48 h 后重悬细胞,使用 Annexin V-FITC 试剂盒进行细胞凋亡检测,加入 Annexin V-FITC 和 PI staining solution 各 5 μ L,轻轻混匀,

室温放置,避光作用 10 min 后用仪器检测染色细胞。

1.2.7 Western blot 检测蛋白水平

SMMC-7721 转染 48 h 后吸弃原培养基,PBS 冲洗 3 次,加入 300 μ L RIPA 裂解液,冰浴摇 30 min,14 000 r/min 离心。在 10%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺上分离且转移到聚丙烯酰胺膜上,加入抗 caspase-3(1 : 200)或抗 CAAP1(1 : 500),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。用 TBST 洗 3 次,在室温下与羊抗兔(1 : 2 000)孵育 2 h。1 $\times$ TBST 冲洗 4 次,每次 5 min,同时配制 ECL 显色液,避光。聚丙烯酰胺膜于显影液反应大概 1 min 后采用凝胶成像仪成像。采用 ImageJ 软件分析条带灰度。

1.2.8 划痕实验检测迁移能力

SMMC-7721 转染 48 h 后消化并计数,向 24 孔板中加入 500 μ L 细胞悬液(8×10^4 个),每组 3 个复孔,于培养箱 24 h。用 100 μ L 枪头尖端进行划痕创面处理,PBS 清洗 3 次,加入新鲜培养基,在倒置相差显微镜下观察并拍照,培养 24 h,用 PBS 洗 3 次,计算细胞迁移的平均距离和标准差并绘制柱状图。

1.2.9 Transwell 检测迁移和侵袭能力

1.2.9.1 迁移能力

SMMC-7721 细胞分组转染 48 h 后用 PBS 清洗 2 次,0.25%胰酶消化、计数,按照 5×10^4 个/孔量至 1.5 EP 管中,离心后用 200 μ L DMEM 重悬细胞,移入 Transwell 上层小室,迁移下室加 600 μ L 20%血清的 DMEM,于培养箱中培养 24 h,结晶紫染色,显微镜计数。

1.2.9.2 侵袭能力

先在上层小室预铺一层 metrigel 胶(1 mg/mL),通过细胞计数板计数,按照 1×10^5 个/孔的量至 1.5 EP 管中,离心后用 200 μ L DMEM 重悬细胞移入 Transwell 上室,加 600 μ L 含 30%血清的 DMEM 进行侵袭实验。培养 24 h 后用棉签轻轻擦去小室膜上方的细胞,结晶紫染色,显微镜计数。

1.2.10 双荧光素酶报告载体实验验证 CAAP1 是 miR-1-3p 的直接靶基因

构建双荧光报告载体 pcDNA3/EGFP-miR-1-CAAP1-3'UTR 和 pcDNA3/EGFP-miR-1-CAAP1-3'UTR-mut 载体,与 pri-miR-1-3p 共转染 SMMC-7721 细胞在 48 孔板中。转染 48 h 后用 RIPA 裂解液裂解细胞。测定蛋白样品中 EGFP(报告分子)和 RFP(内参)表达强度。

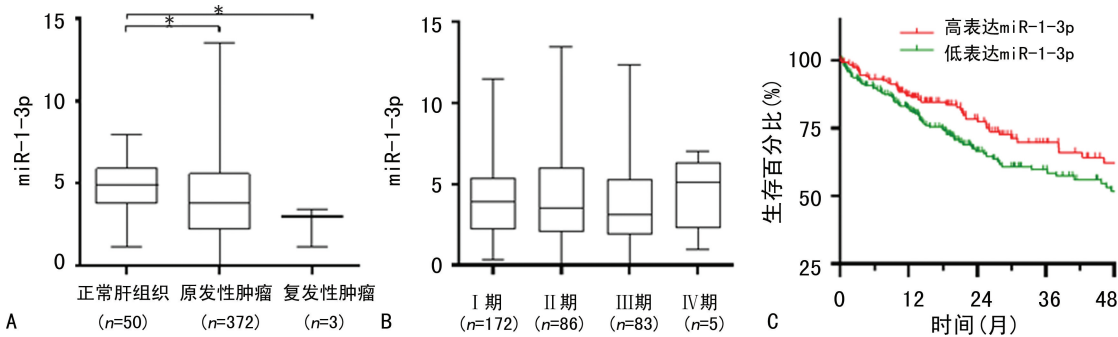
1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-1-3p 在 HCC 中表达与预后的关系

原发性和复发性肿瘤中 miR-1-3p 的表达较正常组织明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1A;miR-1-3p 在不同肝癌分期中的表达无显著差异,见图 1B;miR-1-3p 低表达水平与较短总生存期相关($P<0.05$),见图 1C。



A: 肝癌组织与正常肝组织比较;B: 在不同肝癌分期组织中的表达;C: miR-1-3p 高表达患者与 miR-1-3p 低表达患者比较;*: $P<0.05$ 。

图 1 miR-1-3p 在肝癌组织中的表达及其与患者预后的关系

2.2 miR-1-3p 在 SMMC-7721 细胞和 LO2 细胞中的表达

SMMC-7721 中 miR-1-3p 相对表达水平明显低于 LO2,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

2.3 过表达或沉默内源性 miR-1-3p 后 SMMC-7721 中 miR-1-3p 的表达

miR-1-3p 组 miR-1-3p 表达水平较 pcDNA3 组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);miR-1 in-

hibitor 组 miR-1-3p 表达水平较 NC inhibitor 组明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

2.4 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞增殖的影响

miR-1-3p 过表达抑制了 SMMC-7721 细胞增殖,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 4A;沉默 miR-1-3p 后促进了细胞的增殖,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 4B。

2.5 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞集落形成能力的

影响

SMMC-7721 中上调 miR-1-3p 组集落数明显少于 pcDNA3 组,差异有统计学意义($P<0.05$);沉默 miR-1-3p 后集落形成数较 NC inhibitor 组明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 5。

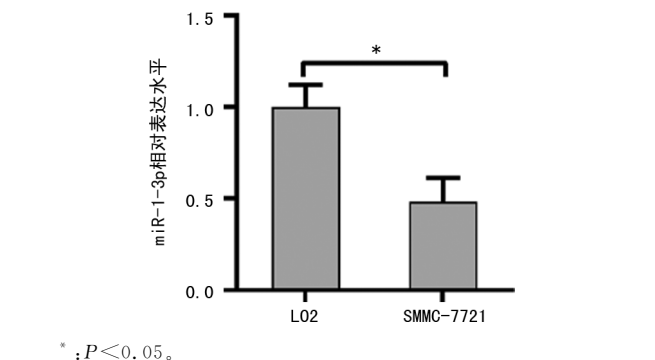


图 2 miR-1-3p 在 L02 和 SMMC-7721 细胞中的表达

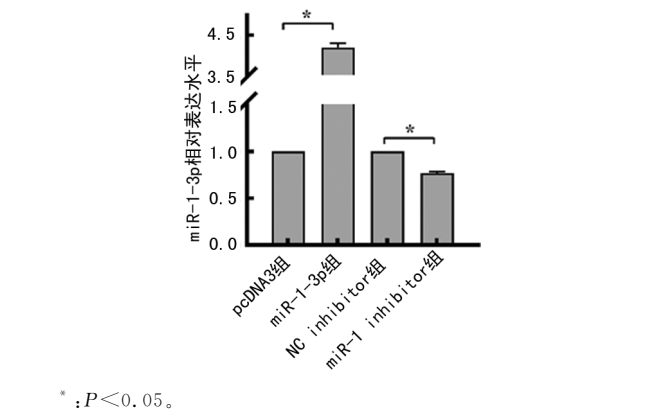
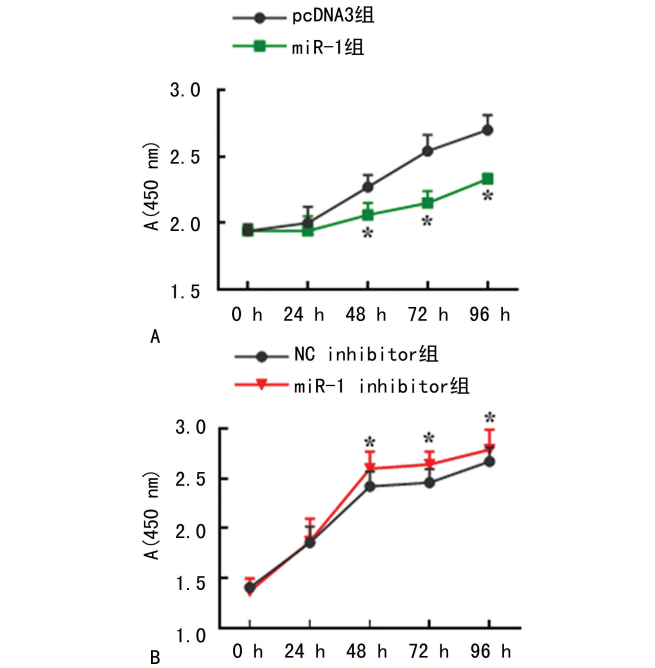


图 3 SMMC-7721 细胞各转染组 miR-1-3p 的表达

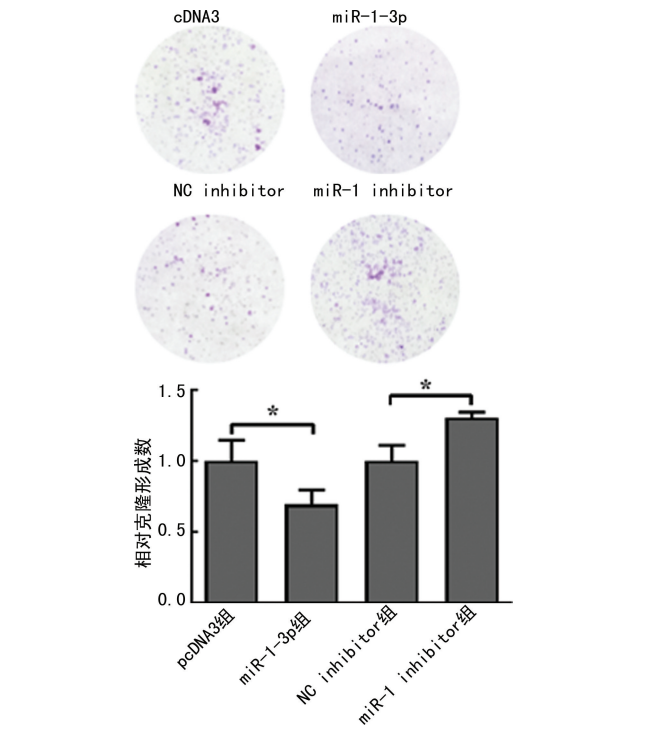


A: miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞增殖的影响; B: 干扰 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞增殖的影响; * : $P<0.05$ 。

图 4 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞增殖的影响

2.6 miR-1-3p 对 SMMC-7721 凋亡的影响

与 pcDNA3 组比较,miR-1-3p 组明显增强了细胞凋亡,差异有统计学意义($P<0.05$)。沉默 miR-1-3p 后 SMMC-7721 凋亡率明显低于 NC inhibitor 组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 6A;与 pcDNA3 组比较,miR-1-3p 组 cleaved caspase3 蛋白水平明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与 NC inhibitor 组比较,沉默 miR-1-3p 后 cleaved caspase3 蛋白水平明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 6B。



* : $P<0.05$ 。
图 5 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞集落形成能力的影响

2.7 miR-1-3p 对 SMMC-7721 迁移能力的影响

miR-1-3p 组细胞迁移距离和迁移量均较 pcDNA3 组明显减少,差异均有统计学意义($P<0.05$);沉默 miR-1-3p 后细胞迁移距离和迁移量均较 NC inhibitor 组明显增多,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 7。

2.8 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞侵袭能力的影响

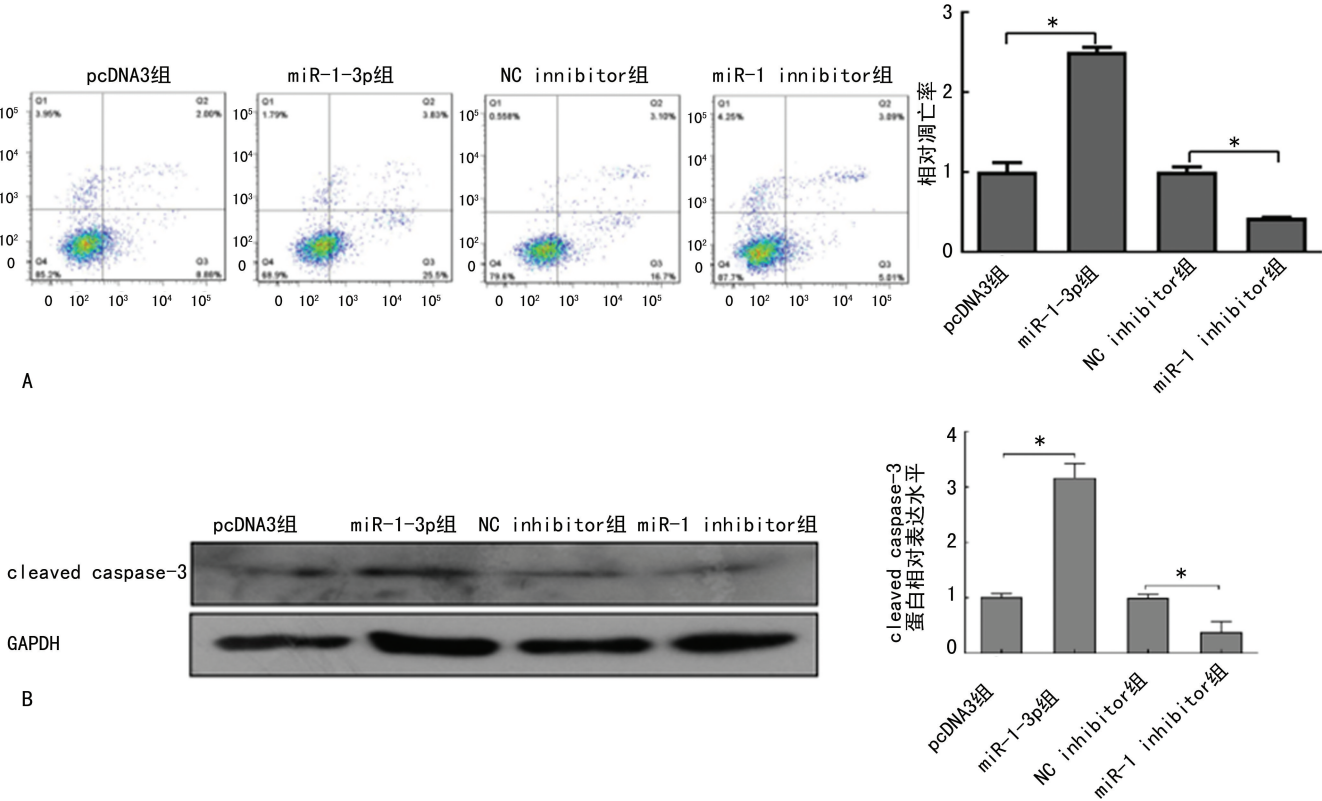
miR-1-3p 组 SMMC-7721 侵袭量较 pcDNA3 组明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$);沉默 miR-1-3p 后细胞侵袭量较 NC inhibitor 组明显增多,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 8。

2.9 miR-1-3p 对 CAAP1 靶向作用

利用 miRDB、TargetScan、miRanda 数据库预测 miR-1-3p 与 CAAP1-3'UTR 上存在高度保守的互补序列,见图 9A;miR-1-3p 与 CAAP1-3'UTR-EGFP 共转染组 EGFP/RPF 荧光强度比值明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 9B;当 CAAP1 的 3'

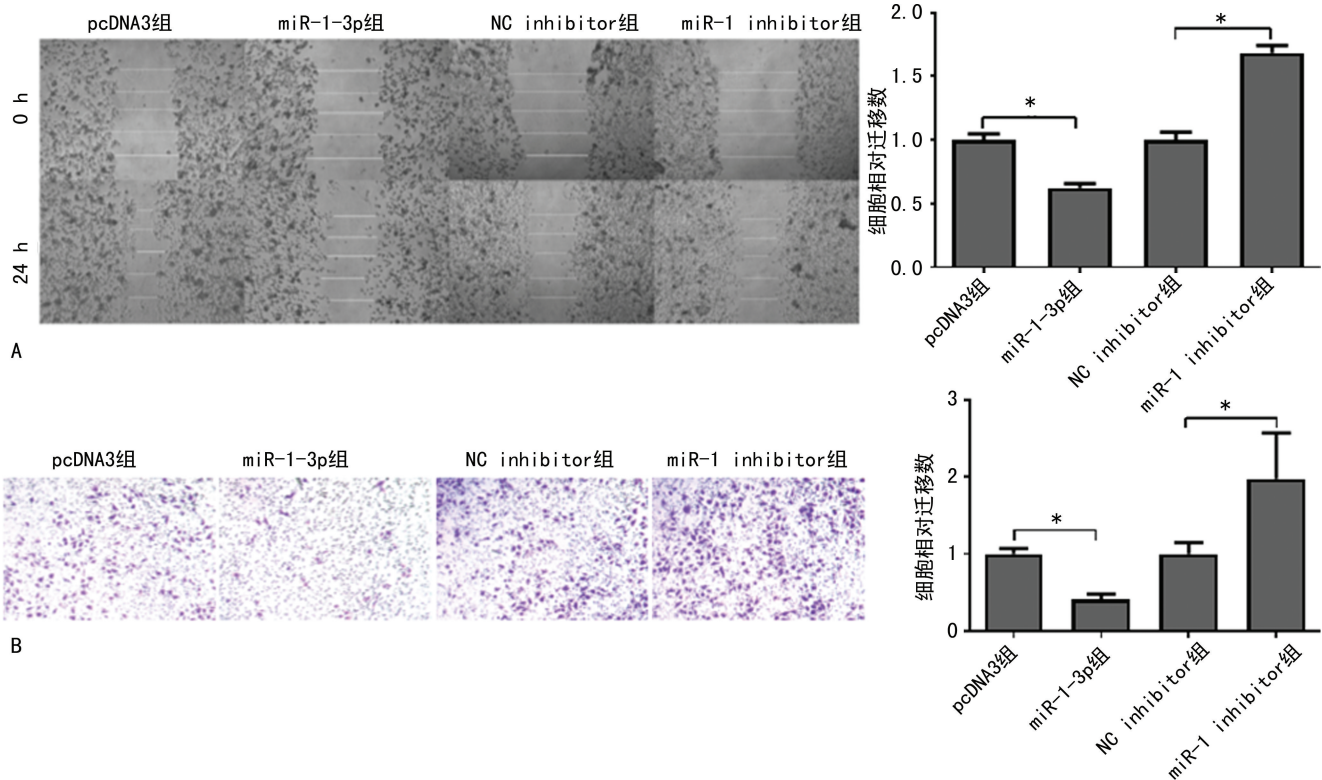
UTR 与 miR-1-3p 结合区域突变后过表达 miR-1-3p 不能影响 EGFP/RPF 荧光强度。上调 miR-1-3p 可明显降低 CAAP1 mRNA 和蛋白表达;相反下调

miR-1-3p 表达可提高 SMMC-7721 细胞中 CAAP1 mRNA 和蛋白相对表达水平,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),见图 9C、D。



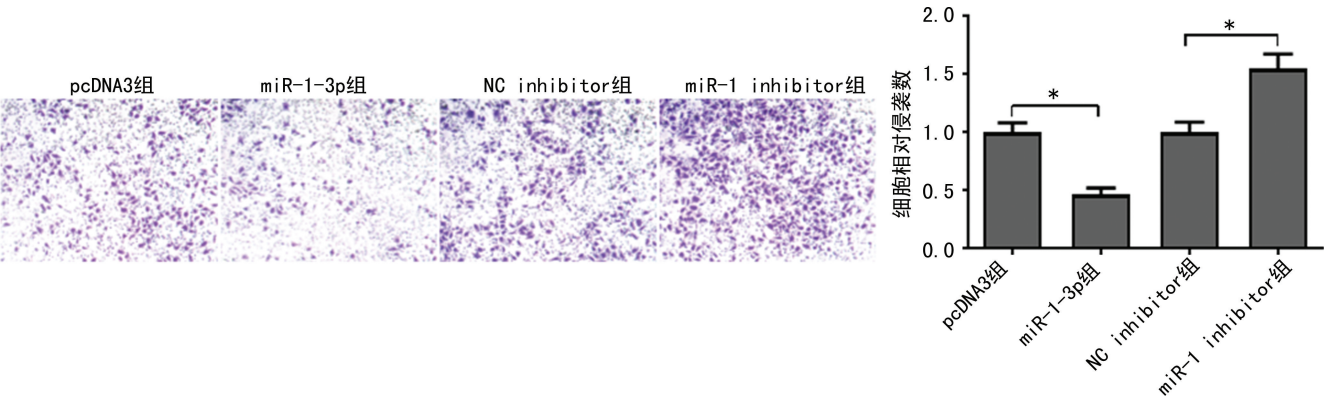
A:流式细胞术检测;B:Western blot 检测;*: $P<0.05$ 。

图 6 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞凋亡的影响



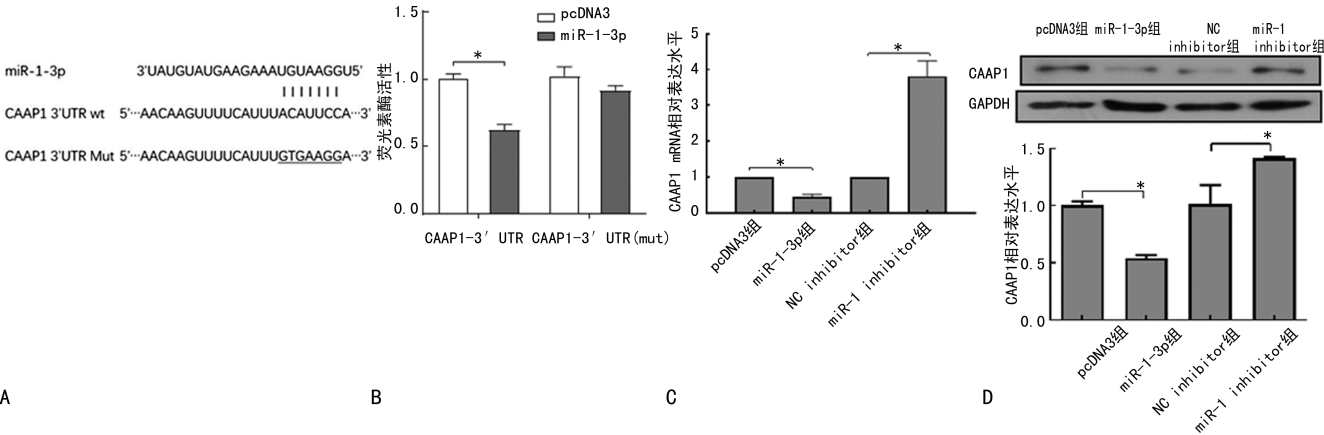
A:划痕实验;B:Transwell 实验;*: $P<0.05$ 。

图 7 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞迁移能力的影响(100×)



*: $P < 0.05$.

图 8 miR-1-3p 对 SMMC-7721 细胞侵袭能力的影响(×100)



A: 序列比对; B: 荧光素酶报告; C: RT-qPCR 检测; D: Western blot 检测; *: $P < 0.05$.

图 9 SMMC-7721 细胞中 miR-1-3p 靶向 CAAP1

3 讨 论

miRNA 过度表达或下调导致蛋白质表达失调,从而通过调节细胞增殖、血管生成和侵袭而导致肿瘤的发生^[12]。miRNAs 在许多肿瘤发生、发展过程中均被下调,包括肝癌^[13]。基于 miRNA 的肝癌发生、发展机制及治疗靶点研究将会对肝癌的预防、诊治具有重大意义。以往研究证实,miR-1-3p 在多种癌症组织中呈现低表达,通过人为干预致其过表达可抑制多种癌细胞的增殖和迁移^[6-9]。然而,在肝癌细胞增殖、迁移乃至侵袭过程中 miR-1-3p 及其下游靶基因的作用有待于深入研究。

本研究中首先通过对 TCGA 数据库肝癌相关临床数据进行初步统计和分析,结果显示,与正常对照组比较,miR-1-3p 在 HCC 患者中表达下调,且 HCC 患者 miR-1-3p 低表达预示生存率降低,意味着 miR-1-3p 在 HCC 的发生、发展中可能具有关键作用。在此基础上本研究进一步通过体外培养肝癌细胞系 SMMC-7721 并给予 miR-1-3p 干预,结果显示,miR-1-3p 不仅抑制肝癌细胞 SMMC-7721 的增殖乃至集落的形成,对其迁移、侵袭能力也表现出一定的拮抗作用,同时促进了该细胞的凋亡。为进一步探索

miR-1-3p 对上述生物学功能的具体机制,尤其是关键靶向基因,本研究利用 miRDB、TargetScan、miRanda 数据库筛选并推测 miR-1-3p 潜在靶向调控基因之一为 CAAP1。CAAP1 mRNA 和蛋白质水平上不同程度表达于人类来源的每个正常(成人和胎儿)和癌症组织中,并表现出具有几个良好保守结构域的进化保留结构。具体而言,通过生物信息学分析预测 CAAP1 的中心区域与意味着在凋亡信号传导中起作用的死亡效应域共享结构相似性。其作用需要相互依赖的 caspase 激活网络。在 A-549、MCF-7/casp3-10b 细胞系中抑制 CAAP 表达可诱导细胞凋亡^[14]。在 Sézary 综合征检测到 CAAP1 表达水平的变化。不同研究表明,CAAP1 在不同疾病中表现出致癌基因的作用^[15]。本研究双荧光报告载体实验双荧光素酶报告载体实验结果显示,miR-1-3p 直接与 CAAP1 的 3'-UTR 结合,证实 miR-1-3p 与 CAAP1 的靶向关系。qRT-PCR 和 Western blot 实验证实,miR-1-3p 在 mRNA 乃至蛋白表达水平上负调控 CAAP1 表达。

综上所述,本研究在证实了 miR-1-3p 对肝癌细胞 SMMC-7721 的增殖、迁移和侵袭的明显抑制作用基础上发现其作用机制可能是通过负调控 CAAP1 的

表达抑制肝癌细胞的上述恶性生物学行为。提示 miR-1-3p 可能成为 HCC 新的治疗靶点,为 HCC 临床靶向治疗提供了理论和实验依据。

参考文献

[1] ALTEKRUSE S F, MCGLYNN K A, DICLIE L A, et al. Hepatocellular carcinoma confirmation treatment, and survival in surveillance, epidemiology, and end results registries, 1992—2008[J]. *Hepatology*, 2012, 55(2):476-482.

[2] WANG J, HE H, JIANG Q, et al. CBX6 Promotes HCC Metastasis Via Transcription Factors Snail/Zeb1-Mediated EMT Mechanism [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 12489-12500.

[3] HOU Z H, XU X W, FU X Y, et al. Long non-coding RNA MALAT1 promotes angiogenesis and immunosuppressive properties of HCC cells by sponging miR-140 [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(3):C649-663.

[4] NI J S, ZHENG H, OU Y L, et al. miR-515-5p suppresses HCC migration and invasion via targeting IL6/JAK/STAT3 pathway[J]. *Surg Oncol*, 2020, 34:113-120.

[5] CHENG Y, DONG L, ZHANG J, et al. Recent advances in microRNA detection[J]. *Analyst*, 2018, 143(8):1758-1774.

[6] KE J, ZHANG B H, LI Y Y, et al. MiR-1-3p suppresses cell proliferation and invasion and targets STC2 in gastric cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2019, 23(10):8870-8877.

[7] YANG C H, WANG Y, SIMS M, et al. MicroRNA-1 suppresses glioblastoma in preclinical models by targeting fibronectin [J]. *Cancer Lett*, 2019, 465(8):59-67.

[8] LIU J, HUANG Y, CHENG Q, et al. miR-1-3p suppresses the epithelial-mesenchymal transi-

tion property in renal cell cancer by downregulating Fibronectin 1 [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11(8):5573-5587.

[9] LIU M K, MA T, YU Y, et al. MiR-1/GOLPH3/Foxo1 signaling pathway regulates proliferation of bladder cancer [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18(8):1-8.

[10] XIAO G, WANG Q, LI B, et al. MicroRNA-338-3p suppresses proliferation of human liver cancer cells by targeting SphK2 [J]. *Oncol Res*, 2018, 26:1183-1189.

[11] ZHAO J L, ZHANG L, GUO X, et al. miR-212/132 Downregulates SMAD2 Expression to Suppress the G1/S Phase Transition of the Cell Cycle and the Epithelial to Mesenchymal Transition in Cervical Cancer Cells [J]. *IUBMB Life*, 2015, 67:380-394.

[12] SLACK F J, CHINNAIYAN A M. The Role of Non-coding RNAs in Oncology [J]. *Cell*, 2019, 179:1033-1055.

[13] HUANG Y, LIU J, FAN L, et al. miR-663 overexpression induced by endoplasmic reticulum stress modulates hepatocellular carcinoma cell apoptosis via transforming growth factor beta 1 [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9:1623-1633.

[14] ZHANG Y, JOHANSSON E, MILLER M L, et al. Identification of a conserved anti-apoptotic protein that modulates the mitochondrial apoptosis pathway [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9):e25284.

[15] IZYKOWSKA K, PRZYBYLSKI G K, GAND C, et al. Genetic rearrangements result in altered gene expression and novel fusion transcripts in Sézary syndrome [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(24):39627-39639.