

• 基础研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.07.003
网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250328.1900.029\(2025-03-31\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250328.1900.029(2025-03-31))

miRNA-141-3p 靶向 PHLPP2 基因对前列腺癌增殖与侵袭的影响^{*}

郭 辉,孙 博,刘川海,孙家各,张润泽,叶学荣,刘德忠,张晓毅[△]
(火箭军特色医学中心泌尿外科,北京 100088)

[摘要] **目的** 探究外泌体 miRNA-141-3p 在诱导前列腺癌(PCa)细胞增殖和侵袭中的作用及生物学机制。**方法** 利用实时荧光定量 PCR(qPCR)分析 33 例 PCa 患者肿瘤组织与瘤旁组织、人 PCa 细胞 VCap 和正常前列腺细胞 RWPE-2 外泌体中 miRNA-141-3p 表达水平;利用网络预测并采用双荧光素酶报告基因实验验证 miRNA-141-3p 的直接作用靶点;通过脂质体转染法将 miRNA-141-3p inhibitor 质粒(miRNA-141-3p inhibitor 组)和阴性对照质粒(阴性对照组)转入人 PCa 细胞 VCap 中,采用噻唑蓝(MTT)、细胞划痕、Transwell 侵袭实验分别检测两转染组细胞增殖、迁移和侵袭能力;采用 qPCR 和 Western blot 分别检测 VCap 和 RWPE-2 细胞及两转染组细胞中同源血小板富亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2(PHLPP2)、E-钙黏蛋白(E-Cadherin)、波形蛋白(Vimentin)mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 肿瘤组织外泌体源性 miRNA-141-3p 表达水平较瘤旁组织明显增加($P<0.05$);VCap 细胞外泌体源性 miRNA-141-3p 表达水平也较 RWPE-2 细胞明显增加($P<0.05$);双荧光素酶报告基因实验证实 miRNA-141-3p 的直接作用靶点是 PHLPP2 基因。VCap 细胞中外泌体源性 PHLPP2、E-Cadherin mRNA 及蛋白表达水平低于 RWPE-2 细胞,Vimentin mRNA 及蛋白表达水平高于 RWPE-2 细胞,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$);miR-141-3p inhibitor 组外泌体源性 miR-141-3p、Vimentin mRNA 表达水平、MTT 实验细胞增殖速率、细胞划痕实验迁移细胞数、Transwell 侵袭实验穿膜细胞数较阴性对照组均明显下降,PHLPP2 mRNA、E-Cadherin mRNA 表达水平较阴性对照组明显上升,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** miR-141-3p 可以靶向作用于 PHLPP2 促进人 PCa 细胞增殖、迁移。

[关键词] 外泌体;miRNA-141-3p;前列腺癌;增殖;侵袭;富亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2
[中图法分类号] R737.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)07-1534-07

The impact of miRNA-141-3p targeting the PHLPP2 gene on the proliferation and invasion of prostate cancer^{*}

GUO Hui,SUN Bo,LIU Chuanhai,SUN Jiage,ZHANG Runze,
YE Xuerong,LIU Dezhong,ZHANG Xiaoyi[△]

(Department of Urology,Rocket Force Characteristic Medical Center,Beijing 100088,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the role and biological mechanism of exosomal miRNA-141-3p in inducing the proliferation and invasion of prostate cancer (PCa) cells. **Methods** The expression level of miRNA-141-3p in tumor tissues and adjacent tissues from 33 PCa patients,as well as in exosomes of human PCa cells VCap and normal prostate cells RWPE-2,was analyzed using quantitative real-time PCR (qPCR). The direct target of miRNA-141-3p was predicted through bioinformatic analysis and verified using a dual-luciferase reporter gene assay. miRNA-141-3p inhibitor plasmid (miRNA-141-3p inhibitor group) and negative control plasmid (negative control group) were transfected into human PCa cells VCap via lipofection. Cell proliferation,migration,and invasion abilities in the miRNA-141-3p inhibitor group and negative control group were detected using MTT assay,wound healing assay,and Transwell assay,respectively. The mRNA expression levels of PHLPP2,E-Cadherin,and Vimentin were measured by qPCR,and the protein expression levels by Western blot,in VCap and RWPE-2 cells as well as in the miRNA-141-3p inhibitor group and negative control group. **Results** The expression level of exosomal miRNA-141-3p in tumor tissues was significantly higher than in adjacent tissues ($P<0.05$). Dual-luciferase reporter assay confirmed that PHLPP2 is the direct target gene of miRNA-141-3p. The expression levels of exosomal PHLPP2,E-Cadherin mRNA and protein in VCap cells were lower than in RWPE-2 cells,while the expression levels of Vimentin mRNA and protein were high-

^{*} 基金项目:北京市自然科学基金项目(6172118)。 [△] 通信作者,E-mail:doctorzhxy@163.com。

er than in RWPE-2 cells, with statistically significant intergroup differences ($P=0.012$). In the miR-141-3p inhibitor group, exosomal miR-141-3p, Vimentin mRNA expression level, cell proliferation rate (MTS assay), migrating cell count (scratch assay), and transmembrane cell count (Transwell invasion assay) were significantly decreased compared to the negative control group, while PHLPP2 mRNA and E-Cadherin mRNA expression levels were significantly increased, with statistically significant intergroup differences ($P<0.05$).

Conclusion miR-141-3p promotes proliferation and migration of human PCa cells by targeting PHLPP2.

[Key words] exosomes; miR-141-3p; prostate cancer; proliferation; invasion; PHLPP2

前列腺癌(prostate cancer, PCa)作为老年男性中最常见的恶性肿瘤之一,其诊断和治疗面临着重大挑战。尽管血清前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)检测在临床上已被广泛应用,但其在确保早期发现和减少过度治疗方面存在局限,主要是因为 PSA 检测的特异度不足,这仍然是亟待解决的问题^[1]。此外,激素治疗虽然初期效果明显,但部分患者最终会发展成为转移性去势抵抗性前列腺癌(metastatic castration resistant prostate cancer, mCRPC),处于此阶段的患者存活率低,迫切需要更有效的诊断和治疗方法^[2]。

随着研究的深入,近期研究发现外泌体及其载有的微 RNA (microRNA, miRNA) 在细胞通讯中的作用被认为是肿瘤发生、发展的关键因素^[3-4]。miR-141-3p 是一种在 PCa 中表达水平上调的高度保守 miRNA, 其已被发现与疾病密切相关^[5]。在 PCa 研究中, miR-141-3p 的表达水平增高与疾病的临床进展和不良预后有关^[6]。它通过靶向抑制多个抗癌基因和信号通路促进肿瘤细胞的增殖、存活和侵袭^[7]。同时有研究显示,在食管癌中 miR-141-3p 能够靶向同源血小板富亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2 (PH domain leucine-rich repeat-containing protein phosphatase 2, PHLPP2) 进而抑制肿瘤侵袭^[8]。然而,故本研究旨在探讨 miR-141-3p 对 PCa 增殖、迁移和侵袭能力的影响及其可能的机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2022 年 1 月至 2023 年 12 月在本院泌尿外科就诊的 33 例 PCa 患者为研究对象。纳入标准:(1) 年龄 55~85 岁;(2) PCa 病灶未接受射频消融、微波消融、无水乙醇注射、化学药物和靶向药物等治疗;(3) 均为首次接受治疗,且无远处器官转移;(4) 无精神疾病或意识障碍。排除标准:(1) 存在进展期代谢性疾病;(2) 存在有症状的脑血管或外周血管病变;(3) 合并远处转移;(4) 预计生存期<6 个月;(5) 合并严重心、肝、肾功能障碍、凝血系统功能异常及严重脑功能障碍;(6) 有 PCa 以外的其他恶性肿瘤病史。本研究已通过本院伦理委员会审批(审批号: KY2025034), 患者均知情同意参与本研究。

1.2 细胞、试剂与材料

VCap、RWPE-2 细胞均购自美国 ATCC 细胞库。Opti-MEM 培养基、DMEM 培养基购自美国 Gibco

公司, 胰酶-乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)、胎牛血清、噻唑蓝(thiazolyl blue tetrazolium bromide, MTT) 试剂盒购自北京利维宁生物科技有限公司, 无 RNase 水、RNA 提取试剂盒购自江苏康为世纪生物科技股份有限公司, RIPA 细胞裂解液购自北京博迈德基因技术有限公司, 脱氧核苷酸末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick-end labeling, TUNEL) 细胞凋亡检测试剂盒、实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 试剂盒、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP) 标记羊抗兔抗体购自上海碧云天生物技术有限公司, 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS) 购自美国 Sigma 公司, PHLPP2 抗体、E-钙黏蛋白(E-cadherin) 抗体、波形蛋白(Vimentin) 抗体、 β -actin 抗体购自美国 Abcam 公司, Lipofectamine™ 2000 转染试剂购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 方法

1.3.1 组织获取和细胞培养

手术中取 0.5 cm×0.5 cm 大小肿瘤组织, 并于距离肿瘤组织边缘 2 cm 处切取相同大小瘤旁组织。将上述组织剪碎并加入胰蛋白酶消化组织。VCap、RWPE-2 细胞转入 T25 培养瓶, 于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱用 Opti-MEM 培养基进行培养, 隔日检查细胞的生长状态、外形和密度, 按需更换新鲜培养液。当细胞生长融合至 80% 时, 移除原培养液并用 PBS 清洗两遍, 向培养瓶加入温度调至 37℃ 的 0.25% 胰酶-EDTA 溶液进行细胞消化。待细胞呈圆形、少许细胞从培养瓶底部脱落时, 添加完全培养基终止消化。细胞悬液随后被转移至离心管中, 800 r/min 离心 5 min 后, 弃掉上清液并重新悬浮细胞于新的完全培养基中, 再按比例分配到培养瓶中继续培养。

1.3.2 双荧光素酶报告基因实验鉴定直接靶点

利用 Target Scan 网站 (<http://www.targetscan.org>) 对 miR-141-3p 的靶基因进行预测分析, 结果提示 miR-141-3p (3'-GCG GCG GTA ACA CTG TCT GG-5') 与 PHLPP2 的 3'-UTR 存在潜在结合位点。用 miR-141-3p 对应靶基因 3'-UTR 位点及附近序列构建含有荧光素酶报告基因的 pmirGlo 载体作为野生型 PHLPP2-WT 质粒; 将 miR-141-3p 对应靶基因 3'-UTR 位点作碱基突变后构建突变型 PHLPP2-MUT 质粒。随后将两种质粒分别转染入

VCap 细胞,同时将 miR-141-3p mimics 和阴性对照 (NC mimics) 进行对比转染。继续培养 24 h 后弃掉培养基, PBS 清洗 3 次后,培养板每孔中加入 400 μ L PLB 缓冲液,室温条件下孵育 15 min,收集细胞裂解液。随后采用双荧光素酶试剂盒检测海肾和萤火虫荧光素酶强度:将细胞裂解液置于 96 孔板中,每孔 20 μ L,分别在不同培养孔中加入 100 μ L Luciferase Assay Reagent II 试剂,吹打均匀后用酶标仪在 560 nm 波长下检测萤火虫荧光素酶强度;在每孔中加入 100 μ L Stop&Glo Reagent 试剂,用酶标仪在 450 nm 波长下检测海肾荧光素酶强度,每个培养孔测量 3 次。将两次测量的荧光素酶强度进行记录,并计算相对荧光强度。

1.3.3 细胞转染与分组

根据实验需求设计并构建 miR-141-3p inhibitor 质粒及其阴性对照质粒。将 VCap 细胞置于完全培养基中重悬,制成 1×10^6 /L 的 VCap 细胞悬液并接种到 12 孔板中。取 25 μ L Opti-MEM 培养基加入 1.5 μ L LipofectamineTM 2000 试剂混合,另取 25 μ L Opti-MEM 培养基加入 1 μ g miR-141-3p inhibitor 质粒 (inhibitor 组) 或阴性对照质粒 (阴性对照组) 混合,将上述溶液按 1:1 混合后,室温孵育 5 min,而后缓慢滴入 12 孔板细胞中,每孔加入 5 μ L,随后置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下继续培养 48 h。生长至 70%~90% 融合度后收集细胞进行传代培养,进行下一步实验。

1.3.4 外泌体提取与鉴定

采用超速离心法从 VCap 和 RWPE-2 细胞培养液中分离外泌体:细胞生长融合至约 50% 时,更换为不含外泌体的完全培养基,继续培养 24 h 后收集上清液,并在 4 $^{\circ}$ C 下按以下顺序进行离心:首先 1 000 r/min 离心 10 min,接着 5 000 r/min 离心 10 min,然后 10 000 r/min 离心 30 min,最终 100 000 r/min 离心 90 min 以沉淀外泌体。收集沉淀并用 PBS 重悬,并再次进行高速离心以进一步纯化外泌体。最后,加入 100 μ L PBS 将外泌体重悬并储存于 4 $^{\circ}$ C 下备用。

1.3.5 qPCR 检测 miR-141-3p 及表达

收集肿瘤、癌旁组织和对数生长期的各组 VCap 细胞,使用 TRIzol 试剂盒提取组织和细胞总 RNA,利用分光光度计检测 RNA 纯度和浓度,使用 Taqman 试剂盒进行反转录获得 cDNA。以 cDNA 为模板,参照试剂盒配置成 20 μ L 反应体系,反应条件按试剂盒说明书设定。引物序列如下:miR-141-3p 正向为 5'-TGG TAG AAA TGG TCT GTC ACA-3',反向为 5'-GAG CCT GGG ACG TGA CC-3',PHLPP2 正向为 5'-TGG AAG TGG TCC AGG AGT CG-3',反向为 5'-CAC ACC GAC ACT ACG ACC T-3',E-Cadherin 正向为 5'-TCC AAA AAT CCT TTA CCC GGA AA-3',反向为 5'-TCG GAG ACC TAT CTC TTG CGT-3',Vimentin 正向为 5'-CAC AAG GAC CAG CGA ACC G-3',反向为 5'-CAC ACA CCT

CCA CGG TCC T-3'。反应体系如下:TB Green Premix Ex Taq II 10.0 μ L,正反向引物各 0.8 μ L,cDNA 2.0 μ L,ROX Reference Dye II 0.4 μ L、无 RNase 水 6.0 μ L。反应条件如下:95 $^{\circ}$ C 30 s,循环 1 次;95 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,循环 40 次。

1.3.6 Western blot 法检测蛋白表达水平

取对数生长期的各组 VCap 细胞加入 RIPA 细胞裂解液裂解细胞并提取总蛋白,按比例加入 5 $\times$ Loading Buffer 配置成蛋白样品进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE),切胶后转移至聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜,5% 脱脂牛奶室温封闭孵育 2 h 后加入 PHLPP2 抗体 (稀释比 1:500)、Vimentin 抗体 (稀释比 1:500)、E-Cadherin 抗体 (稀释比 1:1 000) 和 β -actin (稀释比 1:2 000) 抗体于 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育过夜, TBST 清洗后加入二抗于室温下孵育 1 h, TBST 清洗后加入增强化学发光液 (enhanced chemiluminescence, ECL) 进行曝光,以 β -actin 为内参。

1.3.7 MTT 法检测细胞增殖

取对数生长期的各组 VCap 细胞置于完全培养基中重悬,制成 1×10^6 /L 的细胞悬液并接种到 96 孔板中,每孔 100 μ L,各组细胞每时间组设置 5 个复孔,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养,在 0、12、24、36、48 h 的时间点,向 96 孔板细胞加入 20 μ L MTT 溶液 (5 mg/mL)。继续培养 2 h 后再加入 150 μ L 的二甲基亚砜以溶解形成的沉淀,使用酶标仪在 490 nm 波长下测量吸光度 [$A_{(490)}$] 值。

1.3.8 细胞划痕实验

取对数生长期的各组 VCap 细胞置于完全培养基中重悬,制成 1×10^6 /L 的细胞悬液并接种到 6 孔板中,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养过夜。待细胞贴壁生长后,使用 20 μ L 吸头在孔板内划线并标注相应位置,使用 PBS 清洗 3 次后置于培养箱中继续培养,24 h 后于镜下观察细胞迁移情况。

1.3.9 Transwell 侵袭实验

取对数生长期的各组 VCap 细胞,置于完全培养基中重悬,制成 1×10^6 /L 的细胞悬液并接种至铺有 Matrigel 胶的 Transwell 小室的上室中,每孔 100 μ L,置于培养箱中继续培养 24 h,随后加入 PBS 清洗,使用棉签擦去未迁移至下室的细胞,每孔加入 100 μ L 4% 多聚甲醛固定 30 min。室温下晾干后加入 0.1% 结晶紫染色 20 min,再次用 PBS 洗去多余的染料并晾干。于光镜下观察并拍摄染色结果,随机选择 5 个视野统计穿膜细胞数。

1.4 统计学处理

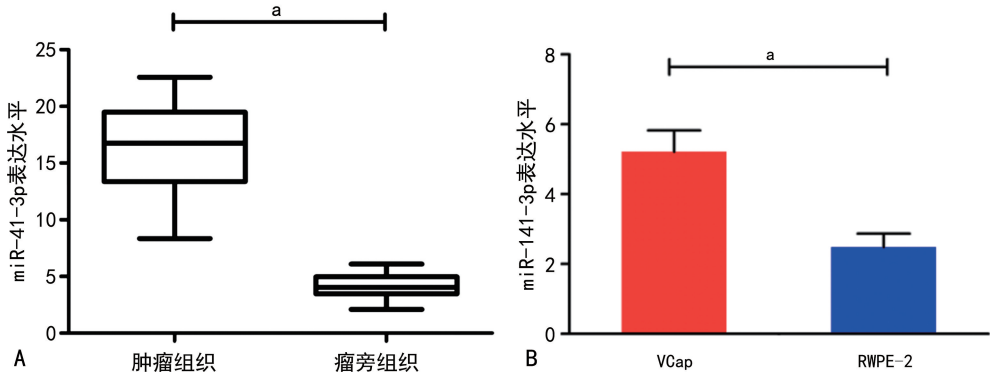
采用 SPSS24.0 软件进行数据统计学分析。正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用 t 检验,多组间比较时采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肿瘤组织与癌旁组织中 miRNA-141-3p 表达水平比较

RT-qPCR 结果显示,与瘤旁组织比较,肿瘤组织

中外泌体源性 miRNA-141-3p 表达水平上调,差异有统计学意义($t = 16.589, P < 0.001$);与 RWPE-2 细胞比较,VCap 细胞外泌体源性 miR-141-3p 表达水平上调,差异有统计学意义,见图 1。



A:肿瘤及肿瘤旁组织外泌体源性 miR-141-3p 表达水平比较;B:VCap 及 RWPE-2 细胞外泌体源性 miR-141-3p 表达水平比较;^a: $P < 0.05$ 。

图 1 肿瘤组与瘤旁组织、VCap 与 RWPE-2 细胞外泌体源性 miR-141-3p 表达水平分析

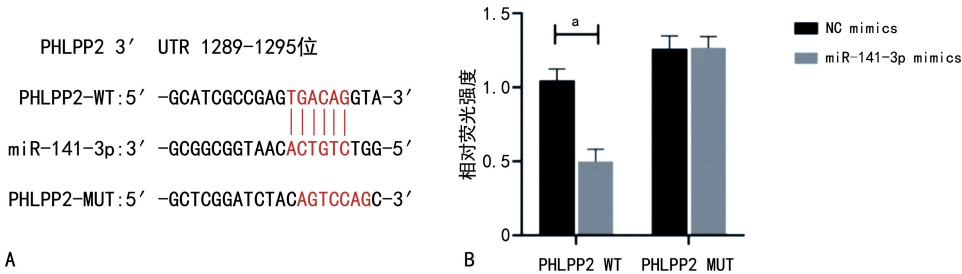
2.2 PHLPP2 基因是 miRNA-141-3p 的直接作用靶点验证

通过 Target Scan 网站预测结果提示 miR-141-3p 与 PHLPP2 存在潜在结合位点,见图 2A。双荧光素酶报告基因实验结果表明,PHLPP2-WT 组中,miR-141-3p mimics 共转染组相对较 NC mimics 共转染组相对荧光强度明显降低($P < 0.05$)。PHLPP2-MUT 组中,miR-141 3p mimics 共转染组相对荧光强度与 NC mimics 共转染组比较,差异无统计学意义($P >$

0.05),见图 2B。

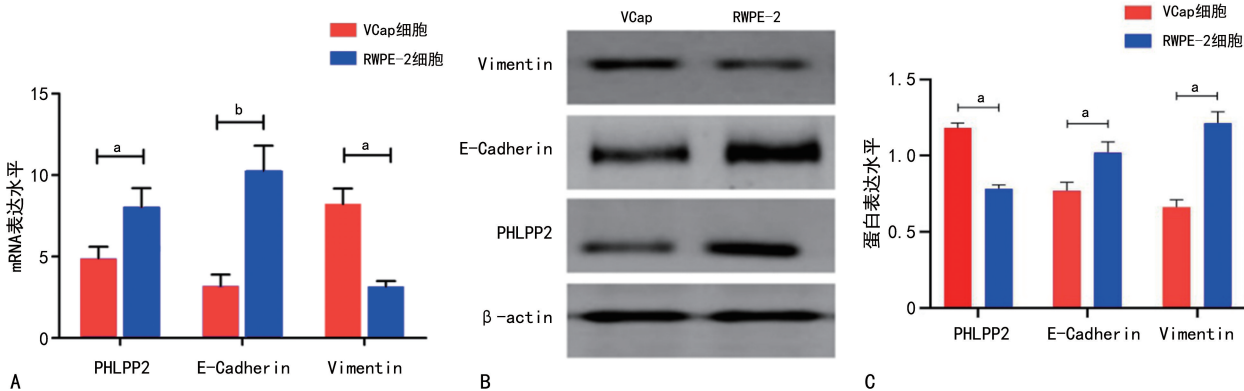
2.3 VCap、RWPE-2 细胞外泌体源性 PHLPP2、E-Cadherin、Vimentin mRNA 及蛋白表达水平比较

qPCR 及 Western blot 结果表明,VCap 细胞中 PHLPP2、E-Cadherin mRNA 及蛋白表达水平均较 RWPE-2 细胞降低,Vimentin mRNA 及蛋白表达水平较 RWPE-2 细胞升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。



A:PHLPP2 与 miRNA-141-3p 的结合位点示意图;B:PHLPP2-WT 和 PHLPP2-MUT 质粒转染 VCap 细胞后双荧光素酶报告实验相对荧光强度;^a: $P < 0.05$ 。

图 2 miRNA-141-3p 作用靶点预测及鉴定



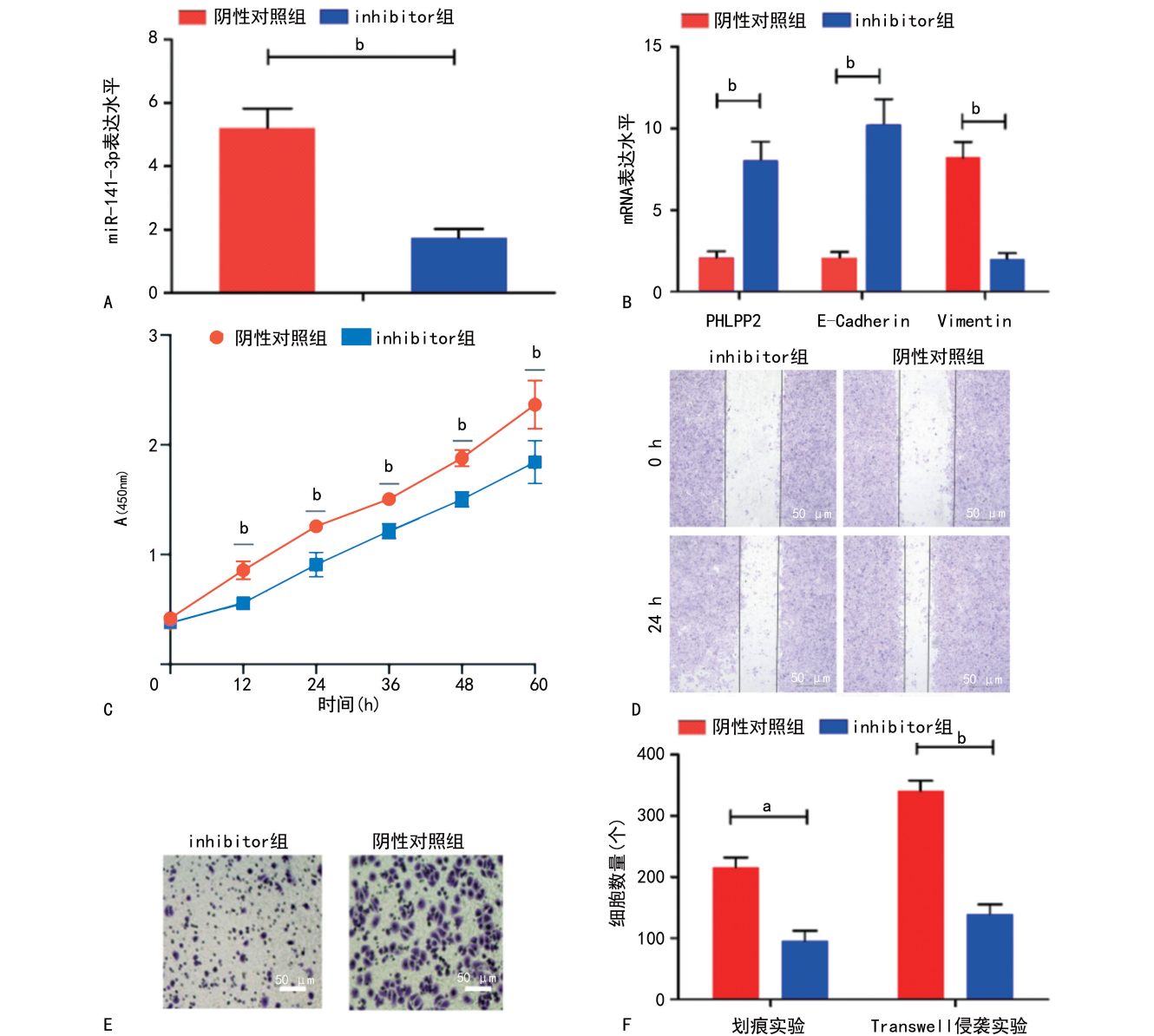
A:qPCR 定量分析;B:Western blot 图;C:Western blot 定量分析;^a: $P < 0.05$; ^b: $P < 0.001$ 。

图 3 VCap、RWPE-2 细胞外泌体中 PHLPP2、E-Cadherin、Vimentin mRNA 及蛋白表达水平比较

2.4 沉默 miRNA-141-3p 对 VCap 细胞的增殖、迁移、侵袭的影响

采用 miR-141-3p inhibitor 处理后, inhibitor 组细胞外泌体源性 miR-141-3p 表达水平较阴性对照明显下降, 组间比较差异有统计学意义($t=5.213, P=0.026$), 见图 4A; inhibitor 组细胞 PHLPP2、E-Cadherin mRNA 表达水平较阴性对照组升高($t=4.940、5.109, P=0.007、0.006$)、Vimentin mRNA 表达水

平较阴性对照明显降低, 组间比较差异有统计学意义($t=6.176, P=0.034$), 见图 4B; inhibitor 组细胞增殖速率较阴性对照组降低, 组间比较差异有统计学意义($P<0.001$); inhibitor 组细胞迁移数量、透过基质的细胞数较阴性对照也明显降低, 组间比较差异有统计学意义($t=13.652、15.204, P<0.05、P<0.001$), 见图 4C~F。



A: 两组细胞 miR-141-3p 表达水平比较; B: 两组细胞 PHLPP2、E-Cadherin、Vimentin mRNA 表达水平比较; C: MTT 实验; D: 划痕实验; E: Transwell 侵袭实验; F: 划痕实验与 Transwell 侵袭实验定量分析比较; ^a: $P<0.05$; ^b: $P<0.001$ 。

图 4 miRNA-141-3p 对 PCa 细胞的增殖和迁移的影响

3 讨论

PCa 是起源于上皮细胞的泌尿系统恶性肿瘤, 也是男性肿瘤死亡的第五大原因。流行病学研究指出, PCa 的平均发病年龄超过 55 岁, 并随年龄增长呈直线上升趋势; 2022 年东亚地区 PCa 的发病率为 16.8/10 万, 死亡率为 4.7/10 万, 严重威胁老年男性的生命健康^[9]。尽管手术已经成为治疗 PCa 的标准治疗方

案, 然而现阶段仍缺乏对转移性 PCa 有效的治疗手段。

外泌体是一种细胞内的溶酶体微粒通过内陷机制形成的囊泡结构, 其中可携带蛋白、核酸片段等, 参与肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭和耐药性等病理过程^[10]; 还可作为细胞间信号传递载体, 介导免疫调节、炎症反应和纤溶过程等, 进一步影响疾病进程^[11]; 外泌体

内携带的癌症突变基因片段、mRNA 及非编码 RNA 等独有的生物标志物可用于疾病早期诊断。miRNA-141-3p 在细胞中作用十分广泛,研究证实,非小细胞肺癌外泌体中 miRNA-141-3p 的表达水平与肿瘤的早期进展密切相关,并且其高表达与不良预后相关^[12]。在卵巢癌中,miR-141-3p 通过影响特定的细胞通路促进疾病进展,促进 M2 型巨噬细胞极化,进而调节肿瘤细胞增殖过程^[13]。胡德超等^[14]通过分析 PCa 患者与健康人血液和尿液中的外泌体,指出 miRNA-141 和 miRNA-375 可能是 PCa 的诊断标志物。相比血液,尿液外泌体内的 mRNA 成分可以区分 PCa 和良性前列腺增生,甚至有潜力替代传统的病理活检进行 PCa 的鉴别^[15]。在 PCa 的研究中,miR-141-3p 同样显示出在肿瘤转移和骨转移微环境调节中的重要性,其表达水平与肿瘤的恶性程度、转移潜力及患者预后紧密关联^[16]。

miR-141-3p 通过靶向多个信号通路和 mRNA 分子,调节肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭等生物学特性。在某些胃肠道肿瘤中,miR-141-3p 的作用机制涉及调控 Yes 关联蛋白 1(Yes-associated protein 1,YAP1)基因,进而影响肿瘤微环境^[17]。miR-141-3p 减少 YAP1 在细胞核的积聚,影响细胞周期进程,从而抑制肿瘤细胞的增殖能力。在调控肿瘤细胞生长和扩散方面,miR-141-3p 通过靶向特定基因来调节肿瘤细胞的行为。叉头框蛋白 O1(forkhead box protein O1,FOXO1)在 PCa 细胞周期控制和凋亡过程中扮演着重要角色,miR-141-3p 能够直接靶向 FOXO1 的 3' 非翻译区,抑制 FOXO1 表达,进而推动细胞周期进程和抑制凋亡,促进 PCa 细胞的增殖^[18]。

PHLPP2 是一种磷酸激酶,可直接将 Akt 去磷酸化从而抑制 Akt 信号转导,促进细胞凋亡,发挥其抑癌基因的功能^[19]。有研究指出,PHLPP2 通过抑制 PI3K/Akt 通路进而抑制 HUVEC 增殖,减少肿瘤细胞内血管生成,降低肿瘤细胞的转移能力^[20]。舌癌和膀胱癌细胞中的 PHLPP2 低表达预示不良预后,而在胶质瘤和部分结直肠癌中,PHLPP2 反而通过非催化功能促进肿瘤生存^[21]。这种对肿瘤发展的双向性可能源于组织特异性微环境或突变背景差异。在下游的分子生物学机制中,PHLPP2 与泛素特异性肽酶 12(ubiquitin specific peptidase 12,USP12)、泛素特异性肽酶 46(ubiquitin specific peptidase 46,USP46)、WD 重复结构域蛋白 20(WD repeat domain 20,WDR20)等多种泛素化蛋白相关,进而发挥对下游信号通路的调节作用,具体机制仍有待进一步阐明。

E-Cadherin 是一种钙依赖性跨膜黏附蛋白,其通过胞外结构域形成同源二聚体连接相邻细胞^[22]。E-Cadherin 蛋白的胞内结构域结合 β -catenin 和 α -catenin,锚定于肌动蛋白细胞骨架,进而发挥维持上皮细

胞极性和组织完整性的作用。在肿瘤发生中,E-Cadherin 的表达缺失是上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)的核心特征,直接导致细胞黏附丧失、运动性增强和转移潜能提升。E-Cadherin 低表达与高侵袭性表型紧密相关,研究证实 E-Cadherin 失活可能与遗传突变、表观遗传沉默、转录抑制和翻译后修饰等机制相关^[23]。

Vimentin 是一种中间丝蛋白,主要在间充质细胞中高表达。Vimentin 蛋白在细胞中能够维持细胞机械稳定性、调控细胞器定位、介导定向迁移参与组织修复^[24]。Vimentin 蛋白广泛参与 EMT 进程,其能够重组细胞骨架,增强肿瘤细胞伪足形成,促进血管生成拟态,进而促进肿瘤细胞发生 EMT^[25]。

本研究旨在研究分析 PCa 患者实体肿瘤中外泌体 miR-141-3p 的表达差异,并探讨其能否作为早期诊断和预后评估的潜在生物标志物。研究结果证实,实体肿瘤样本中外泌体 miR-141-3p 的表达水平相较癌旁组织明显增加;细胞实验结果提示,前列腺癌 VCap 细胞中 miR-141-3p 表达水平明显高于正常前列腺 RWPE-2 细胞。机制上,miR-141-3p 通过靶向抑制 PHLPP2 表达水平,抑制细胞凋亡途径,降低 PHLPP2 和 E-Cadherin 表达水平,激活肿瘤细胞的 EMT 进程,进而促进 PCa 细胞增殖、侵袭及迁移能力,这一结果与 miR-141-3p 在促进其他类型肿瘤发展中作为肿瘤促进因子的角色一致。本研究进一步证实了 miR-141-3p 在 PCa 发展中的潜在重要作用,提示了 miR-141-3p 在早期识别 PCa 和影响肿瘤进展中的应用价值,为改善 PCa 治疗现状和预后评估提供一种新的抗肿瘤途径和作用靶点。

参考文献

- [1] 朱培江,周密,黄华建,等. 前列腺特异性抗原前体及前列腺健康指数相关参数诊断血清总前列腺特异性抗原灰区前列腺癌患者的临床价值[J]. 中国性科学,2024,33(9):14-18.
- [2] 邱衍怡,周晓辉. 去势抵抗性前列腺癌(CRPC)的形成机制及其免疫治疗研究进展[J]. 药学研究,2024,43(7):671-676.
- [3] 郎芯悦,张秋荣,徐金格. 外泌体在多发骨髓瘤发病机制中的研究进展[J]. 中国实验血液学杂志,2024,32(5):1614-1617.
- [4] 马莉莉,李子沐,王亮,等. 食管癌患者血清外泌体通过 Wnt/ β -catenin 和 PI3K-Akt 信号通路促进癌细胞增殖及迁移[J]. 现代肿瘤医学,2024,32(20):3823-3828.
- [5] 刘彼得,靳宏勇,王书恒,等. miR-141-3p、KLF9 异常表达对前列腺癌细胞株药物敏感性和雄激素受体表达的影响及靶向关系[J]. 山东医药,

- 2024,64(15):1-8.
- [6] 袁跃西,罗化,杨继承,等. miR-141-3p 通过靶向调控 ATG7 影响顺铂耐药非小细胞肺癌细胞的转移活性[J]. 解剖科学进展,2024,30(5):503-506.
- [7] GUERRERO-OCHOA P, RODRÍGUEZ-ZAPATER S, ANEL A, et al. Prostate cancer and the mevalonate pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2024,25(4):2152.
- [8] ISHIBASHI O, AKAGI I, OGAWA Y, et al. MiR-141-3p is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and targets pleckstrin homology domain leucine-rich repeat protein phosphatase-2, a negative regulator of the PI3K/Akt pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,501(2):507-513.
- [9] 潘瑜,李想. 血清 PSA、睾酮、碱性磷酸酶联合检测对前列腺癌诊断及预后判断的临床价值[J]. 浙江创伤外科,2024,29(9):1610-1612.
- [10] 高心雨,毛子俊,黄圣喆,等. 肿瘤干细胞源性的外泌体促进结直肠癌细胞的化疗耐药和侵袭[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2024,40(8):1119-1131.
- [11] 杜文雅,马枫茜,代禹美,等. 外泌体来源 miRNA 在微生物感染中的作用研究进展[J]. 中国病原生物学杂志,2024,19(6):729-732.
- [12] 夏瑶,徐蕾,唐志贤,等. lncRNA-DINO 靶向 miR-141 调控 Keap1-Nrf2 通路促进非小细胞肺癌化疗耐药的机制研究[J]. 岭南现代临床外科,2022,22(5):480-485.
- [13] ZHAO J, LIU L, ZHAO W, et al. miR-141-3p accelerates ovarian cancer progression and promotes M2-like macrophage polarization by targeting the Keap1-Nrf2 pathway[J]. *Open Med (Wars)*, 2023,18(1):20230729.
- [14] 胡德超,逯小飞,周本正. 尿液外泌体 PCA3 对 PSA 10~20 ng/mL 区间患者前列腺癌的诊断效能[J]. 湖北医药学院学报,2023,42(2):148-152.
- [15] FAMILTSEVA A, JEREMIC N, TYAGI S C. Exosomes: cell-created drug delivery systems[J]. *Mol Cell Biochem*, 2019,459(1):1-6.
- [16] 游曼清,何兵,杨扬,等. 肺癌患者血清中 miR-141-3p、NRSN2 表达水平与骨转移的相关性研究[J]. 临床肺科杂志,2024,29(8):1248-1253.
- [17] 庄鹏飞. 癌相关成纤维细胞来源外泌体上调 miR-145-5p 促进前列腺癌 PC3 细胞对多西他赛的化疗耐药性[D]. 福州:福建医科大学,2021.
- [18] VYAVAHARE S, KUMAR S, SMITH K, et al. Inhibiting microRNA-141-3p improves musculoskeletal health in aged mice[J]. *Aging Dis*, 2023,14(6):2303-2316.
- [19] 梁艳均,吴桂全,漆勇,等. miRNA-195 通过靶向抑制 PH 结构域富亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2 表达参与香烟烟雾诱导急性肺损伤机制研究[J]. 陕西医学杂志,2023,52(5):523-525.
- [20] PARIAL R, LI H, LI J, et al. Role of epigenetic m6A RNA methylation in vascular development: mettl3 regulates vascular development through PHLPP2/mTOR-Akt signaling[J]. *FASEB J*, 2021,35(5):e21465.
- [21] JIN H, M A J, XU J, et al. Oncogenic role of MIR516A in human bladder cancer was mediated by its attenuating PHLPP2 expression and BECN1-dependent autophagy[J]. *Autophagy*, 2021,17(4):840-854.
- [22] 张宁,杨俊红,乔孟晗,等. Yes 相关蛋白 1 和 E 钙黏蛋白在小细胞肺癌组织中的表达及临床意义[J]. 肿瘤基础与临床,2025,38(1):1-4.
- [23] BALAMURUGAN K, PORIA D K, SEHAR-EEN S W, et al. Stabilization of E-cadherin adhesions by COX-2/GSK3 β signaling is a targetable pathway in metastatic breast cancer[J]. *JCI Insight*, 2023,8(6):e156057.
- [24] HU W M, LI M, NING J Z, et al. FAM171B stabilizes vimentin and enhances CCL2-mediated TAM infiltration to promote bladder cancer progression[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023,42(1):290.
- [25] CHEN G, GAO C, JIANG S, et al. *Fusobacterium nucleatum* outer membrane vesicles activate autophagy to promote oral cancer metastasis[J]. *J Adv Res*, 2024,56:167-179.

(收稿日期:2024-11-18 修回日期:2025-03-28)

(编辑:姚雪)