

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.15.002

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220509.1641.002.html\(2022-05-10\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220509.1641.002.html(2022-05-10))

miRNA-185-5p 通过靶向 YWHAZ 对人非小细胞肺癌细胞 A549 恶性生物学行为的影响*

李奇炯¹, 颜伏归²

(1. 浙江大学附属第二医院呼吸与危重医学科, 杭州 310000; 2. 浙江大学临床医学系, 杭州 310058)

[摘要] **目的** 探讨微 RNA (miRNA)-185-5p 通过调控酪氨酸 3/色氨酸 5-单加氧酶激活蛋白 (YWHAZ) 对人非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞系 A549 增殖、侵袭凋亡和上皮间质转化的影响。**方法** 获取 GSE152702 数据集, 识别在 NSCLC 患者和健康者血液中差异性表达的 miRNA, 收集 2018 年 7 月至 2019 年 9 月在浙江大学附属第二医院确诊为 NSCLC 患者的癌组织及癌旁组织, 使用 RT-qPCR 法检测 miRNA-185-5p 在 NSCLC 癌组织和细胞系中的表达情况。采用脂质体转染法, 分别将 miRNA-NC、miRNA-185-5p 模拟物、miRNA-185-5p 抑制剂和 miRNA-185-5p 模拟物 + pcDNA3.0-YWHAZ 转染至人 NSCLC 细胞 A549 中, Transwell 实验检测各组 A549 细胞的侵袭能力, CCK-8 实验检测各组 A549 细胞的增殖能力, 脱氧核糖核酸末端转移酶介导的缺口末端标记 (TUNEL) 检测各组 A549 细胞的凋亡率, Western blot 实验检测各组细胞中 YWHAZ 和上皮间质转化相关蛋白 E-cadherin 和 Vimentin 的表达情况。检索 StarBase、TargetsCan 和 Human protein Atlas 数据库, 韦恩图绘制与 miRNA-185-5p 含潜在互补结合位点及与 NSCLC 患者预后不良有关的基因。检索 GEPIA 数据库识别 YWHAZ 表达与肺鳞癌、肺腺癌患者预后的关系。生物学信息技术预测和双荧光素酶报告基因实验验证 miRNA-185-5p 和 YWHAZ 之间的关系。**结果** GSE152702 数据集显示 miRNA-185-5p 在 NSCLC 患者中明显下调, miRNA-185-5p 在 NSCLC 癌组织中的表达水平低于癌旁组织 ($P < 0.01$)。miRNA-185-5p 在 NSCLC 细胞株中的表达水平低于正常人肺上皮细胞株 ($P < 0.05$), 与 miRNA-NC 组比较, miRNA-185-5p 模拟物组 miRNA-185-5p 表达水平明显升高 ($P < 0.05$), YWHAZ 表达水平明显降低 ($P < 0.01$), miRNA-185-5p 抑制剂组中 miRNA-185-5p 表达水平明显降低 ($P < 0.05$), YWHAZ 表达水平明显升高 ($P < 0.01$)。过表达 miRNA-185-5p 能明显抑制 A549 细胞增殖、侵袭和上皮间质转化, 并促进细胞凋亡 ($P < 0.05$)。GEPIA 数据库显示, YWHAZ 在肺鳞癌和肺腺癌患者中明显上调, 且与患者预后不良有关。YWHAZ 可与 miRNA-185-5p 靶向结合, 过表达 YWHAZ 可部分逆转 miRNA-185-5p 模拟物对 A549 细胞增殖、侵袭和上皮间质转化的抑制作用, 以及对细胞凋亡的促进作用。**结论** miRNA-185-5p 在 NSCLC 癌组织及细胞中明显下调, 过表达 miRNA-185-5p 能明显抑制 A549 细胞增殖、侵袭和上皮间质转化的能力, 并促进细胞凋亡, 其机制可能与调控 YWHAZ 的表达有关。

[关键词] 非小细胞肺癌; 微 RNA-185-5p; 侵袭; 上皮间质转化; 酪氨酸 3/色氨酸 5-单加氧酶激活蛋白

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)15-2525-07

Effects of miRNA-185-5p on malignant biological behaviors of non-small cell lung cancer cell A549 by targeting YWHAZ*

LI Qijiong¹, YAN Fugui²

(1. Department of Respiratory and Critical Medicine, Second Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310000, China; 2. Faculty of Clinical Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of microRNA (miRNA)-185-5p on the proliferation, invasion, apoptosis and epithelial-mesenchymal transition of non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line (A549) by regulating tyrosine 3/tryptophan 5-mono-oxygenase activator protein (YWHAZ) expression. **Methods** The GSE152702 dataset was obtained to identify differentially expressed miRNAs between the blood of NSCLC patients and the blood of normal person. The cancer tissues and paracancerous tissues of the patients with definitely diagnosed NSCLC in this hospital from July 2018 to September 2019 were collected. The expression of miRNA-185-5p in NSCLC cancer tissues and cell lines was detected by RT-qPCR. miRNA-NC,

* 基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目 (LY19H010004)。 作者简介: 李奇炯 (1984—), 主治医师, 学士, 主要从事呼吸内科疾病的诊治研究。

miRNA-185-5p mimics, miRNA-185-5p inhibitors and miRNA-185-5p mimics + pcDNA3.0-YWHAZ were transfected into NSCLC A549 cells, respectively. The Transwell assay was used to detect the invasion ability of A549 cells, the CCK-8 assay was used to detect the proliferation ability of A549 cells, and the TUNEL assay was used to detect the apoptosis rate of A549 cells in each group. The Western blot assay was used to detect the expressions of YWHAZ, E-cadherin and Vimentin in each group. The StarBase, Targetscan, and Human Protein Atlas databases were searched, and the Venn diagram was used to obtain the genes that contained potential complementary binding sites with miRNA-185-5p and were associated with poor prognosis of NSCLC patients. The GEPIA database was retrieved to identify the relationship between the YWHAZ expression and the prognosis of the patients with lung squamous cell carcinoma and lung adenocarcinoma. The relationship between miRNA-185-5p and YWHAZ was predicted by bioinformatics analysis and verified by the dual luciferase reporter assay. **Results** The GSE152702 dataset showed that miRNA-185-5p was significantly down-regulated in the patients with NSCLC. In addition, the expression level of miRNA-185-5p in NSCLC tissues was lower than that in paracancerous tissues ($P < 0.01$). The expression of miRNA-185-5p in NSCLC cell lines was lower than that in normal lung epithelial cell lines ($P < 0.05$). Compared with the miRNA-NC group, the expression level of miRNA-185-5p in the miRNA-185-5p mimic group was significantly increased ($P < 0.05$). The expression level of YWHAZ was significantly decreased ($P < 0.01$), the expression level of miRNA-185-5p in the miRNA-185-5p inhibitor group was significantly decreased ($P < 0.05$), and the expression level of YWHAZ was significantly increased ($P < 0.01$). Overexpression of miRNA-185-5p significantly inhibited the proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transformation of A549 cells, and promoted cell apoptosis ($P < 0.05$). The GEPIA database showed that YWHAZ was significantly upregulated in the patients with lung squamous cell carcinoma and lung adenocarcinoma, moreover was associated with the poor prognosis. YWHAZ could be targeted to bind to mir-185-5p, and over-expressing YWHAZ could partially reverse the inhibitory effects of miRNA-185-5p mimics on the proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition of A549 cells, as well as the promotion effect on apoptosis. **Conclusion** miRNA-185-5p is significantly down-regulated in NSCLC tissues and cells. Overexpression of miRNA-185-5p can significantly inhibit the proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transformation of A549 cells, and promote cell apoptosis. The mechanism may be related to the regulation of YWHAZ expression.

[Key words] non-small cell lung cancer; microRNA-185-5p; invasion; epithelial-mesenchymal transition; tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta

肺癌是世界范围内发病率和病死率最高的肿瘤,其中非小细胞肺癌(NSCLC)占肺癌患者的80%~85%^[1-2]。尽管目前手术治疗和靶向疗法取得了极大的进展,然而晚期肺癌患者生存率仍然较低,且超过一半的患者在确诊时已经出现远处转移,因此,有必要识别NSCLC患者新生标志物和潜在的治疗靶点^[3-4]。微RNA(miRNA)是为17~25个核苷酸的小型非编码RNA,在肿瘤细胞增殖、凋亡等生物学活动中发挥着重要作用^[5]。有研究发现,miRNA-185-5p在肝癌细胞和肝癌组织中低表达,而过表达miRNA-185-5p能明显抑制肝癌细胞的迁移和侵袭^[6]。但miRNA-185-5p在NSCLC中的表达及其作用尚不清晰。本研究旨在识别miRNA-185-5p在NSCLC中的表达,并探讨miRNA-185-5p对NSCLC细胞增殖、凋亡、侵袭和上皮间质转化的影响及作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

(1)临床标本:2018年7月至2019年9月收集40例NSCLC患者癌组织和癌旁组织标本。其中男27例,女13例,年龄39~72岁。所有组织标本在获得

后立即置于液氮保存。(2)细胞系及试剂:人NSCLC细胞株HCC827、NCL-H358、NCL-H1299、A549、人正常肺上皮细胞BEAS-2B和RPMI-1640培养基均购自美国典型培养物保藏中心(ATCC),胎牛血清、miRNA-NC、miRNA-185-5p模拟物、miRNA-185-5p抑制剂、酪氨酸3/色氨酸5-单加氧酶激活蛋白(YWHAZ)过表达质粒及PCR引物均购于上海吉玛生物工程有限公司;Lipofectamine™ 2000转染试剂盒和RevertAid RT反转录试剂盒购于美国ThermoFisher科技有限公司;CCK-8试剂盒和脱氧核糖核酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司;双荧光素酶报告基因检测实验试剂盒购于美国Promega公司;兔多抗E-cadherin、兔单抗Vimentin、兔多抗YWHAZ和山羊抗兔IgG H&L抗体均购于武汉爱博泰克生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染

将NSCLC细胞株HCC827、NCL-H358、NCL-H1299、A549和人正常肺上皮细胞BEAS-2B接种于

含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,置于 37℃,5% CO₂ 的培养箱中常规培养。取对数生长期的 A549 细胞以 2×10⁵ 个/孔的密度接种于 6 孔板上,根据 Lipofectamine™ 2000 说明书进行操作,分别将 miRNA-NC、miRNA-185-5p 模拟物、miRNA-185-5p 抑制剂、miRNA-185-5p 模拟物和 pcDNA 3.0-YWHAZ 共转染入细胞,设为 miRNA-NC 组、miRNA-185-5p 模拟物组、miRNA-185-5p 抑制剂组和 miRNA-185-5p 模拟物+pcDNA3.0-YWHAZ 组。

1.2.2 RT-qPCR 检测 miRNA-185-5p 和 YWHAZ 的表达

使用 TRIzol 试剂提取 NSCLC 癌组织和细胞总 RNA,检测浓度后,反转录为 cDNA。miRNA-185-5p 引物:5'-UGG AGA GAA AGG CAG UUC CUG A-3';YWHAZ 引物。上游:5'-AAA TGA AAG GAG ACT ACT ACC GCT A-3',下游:5'-AGA CCC AAT CTG ATA GGA TGT GTT G-3';GAPDH 引物。上游:5'-GTC GGA GTC AAC GGA TTT G-3',下游:5'-GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC-3';U6 引物。上游:5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3',下游:5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。扩增条件:94℃预变性 30 s;94℃变性 10 s,60℃退火 15 s,72℃延伸 25 s,扩增 40 个循环。采用 2^{-ΔΔCt} 的方法处理数据。

1.2.3 Transwell 侵袭实验检测细胞侵袭能力

取各组对数生长期的 A549 细胞,以 3×10⁴ 个/孔的密度接种于预涂基质胶的 Transwell 小室上室,每个上室滴加 150 μL 细胞悬液和无血清培养基,在小室下室加入 500 μL 含 10% 胎牛血清的培养基,24 h 后,将下室细胞用 4% 多聚甲醛固定 15 min,用结晶紫染液染色。在 100 倍光学显微镜下观察,每孔随机选取 3 个视野,计数并取平均数。

1.2.4 CCK-8 检测细胞增殖能力

取对数生长期的各组 A549 细胞,以 5×10³ 个/孔的密度接种于 96 孔细胞板上,每孔 150 μL 细胞悬液。分别于接种后 24、48、72 h 加入 10 μL CCK-8 试剂,培养箱内培养 1 h 后,酶标仪检测每孔细胞在 450 nm 处的吸光度(A)值。

1.2.5 TUNEL 检测细胞凋亡

用 4% 多聚甲醛于室温下固定 40 min,PBS 洗涤 3 次,用含 0.3% Triton X-100 的 PBS 重悬细胞,5 min 后向每个样品加 50 μL TUNEL 检测液,在 37℃下避光孵育 60 min,孵育结束后,PBS 洗涤 3 次,用 DAPI 染色后在荧光显微镜下观察计数细胞,并计算细胞凋亡率。细胞凋亡率(%)=(凋亡阳性细胞数/细胞总数)×100%。

1.2.6 Western blot 实验检测目标蛋白表达

收集转染后各组 A549 细胞,提取蛋白样品。取 20 μL 总蛋白上样于 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)胶上电泳分离蛋白,转膜。

室温下,采用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h。洗膜后,加入一抗在 4℃下孵育过夜,洗膜,加入二抗在室温下孵育 1.5 h。洗膜后,ECL 显影,采用图像分析软件 ImageJ 对 Western blot 实验所得结果图像进行灰度分析。

1.2.7 生物学信息技术预测和双荧光素酶报告基因实验验证

使用 StarBase 在线数据库预测 miRNA-185-5p 的靶基因。取对数生长期的 A549 细胞,随机分为 4 组:野生型+miRNA-185-5p 组(共转染野生型载体质粒和 miRNA-185-5p)、野生型+miRNA-NC 组(共转染野生型载体质粒和 miRNA-NC)、突变型+miRNA-185-5p 组(共转染突变型载体质粒和 miRNA-185-5p 模拟物)、突变型+miRNA-NC 组(共转染突变型载体质粒和 miRNA-NC)。检测各组 A549 细胞萤火虫荧光素酶活性和海肾荧光素酶活性。

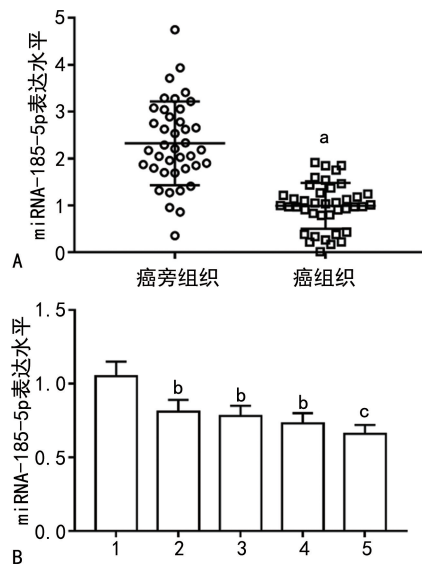
1.3 统计学处理

采用 SPSS24.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA)检验,组间有明显差异后,两两比较采用最小显著性差异法(LSD)检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-185-5p 在 NSCLC 组织中的表达

通过分析 GSE152702 数据集发现,miRNA-185-5p 在 NSCLC 患者血浆中的表达水平明显低于健康者。RT-qPCR 实验结果显示,与癌旁组织比较,NSCLC 癌组织中 miRNA-185-5p 表达水平明显降低($P < 0.01$),见图 1A。与正常人肺上皮细胞 BEAS-2B 比较,NSCLC 各细胞株 miRNA-185-5p 表达水平明显降低,其中 A5495 细胞 miRNA-185-5p 表达水平最低,见图 1B。故选择 A5495 细胞进行后续实验。



A: NSCLC 癌组织与癌旁组织 miRNA-185-5p 表达水平比较;B: 各组细胞株 miRNA-185-5p 表达水平比较;1: BEAS-2B;2: HCC827;3: NCL-H358;4: NCL-H1299;5: A5495;^a: $P < 0.01$,与癌旁组织比较;^b: $P < 0.05$,^c: $P < 0.01$,与 BEAS-2B 比较。

图 1 miRNA-185-5p 在 NSCLC 组织和细胞中的表达

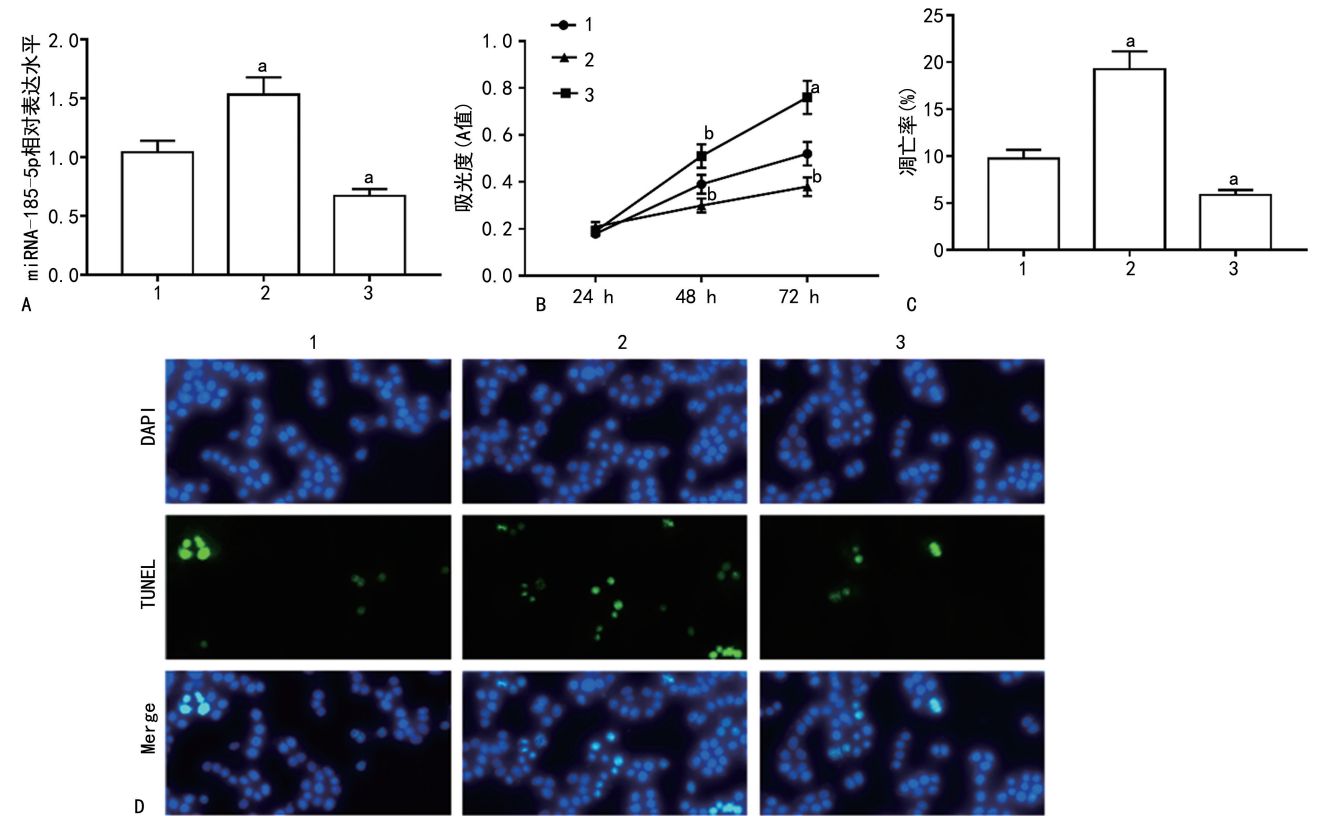
2.2 各组 A549 细胞 miRNA-185-5p 表达水平及细胞增殖和凋亡率比较

RT-qPCR 实验结果显示,与 miRNA-NC 组比较,miRNA-185-5p 模拟物组 miRNA-185-5p 表达水平明显升高($P<0.05$),miRNA-185-5p 抑制剂组 miRNA-185-5p 表达水平明显降低($P<0.05$),见图 2A。CCK-8 实验检测各组 A549 细胞的增殖能力,第 48 小时开始,与 miRNA-NC 组比较,miRNA-185-5p 模拟物组增殖能力明显降低($P<0.05$),miRNA-185-5p 抑制剂组增殖能力明显升高($P<0.05$),见图 2B。TUNEL 实验结果显示,与 miRNA-NC 组比较,miRNA-185-5p 模拟物组细胞凋亡率明显升高($P<$

0.05),miRNA-185-5p 抑制剂组细胞凋亡率明显降低($P<0.01$),见图 2C、D。

2.3 各组 A549 细胞侵袭和上皮间质转化相关蛋白表达水平比较

与 miRNA-NC 组相比,miRNA-185-5p 模拟物组穿膜细胞数明显降低($P<0.05$),E-cadherin 表达水平明显升高($P<0.01$),Vimentin 表达水平明显降低($P<0.05$);miRNA-185-5p 抑制剂组穿膜细胞数明显升高($P<0.01$),E-cadherin 表达水平明显降低($P<0.01$),Vimentin 表达水平明显升高($P<0.01$),见图 3。



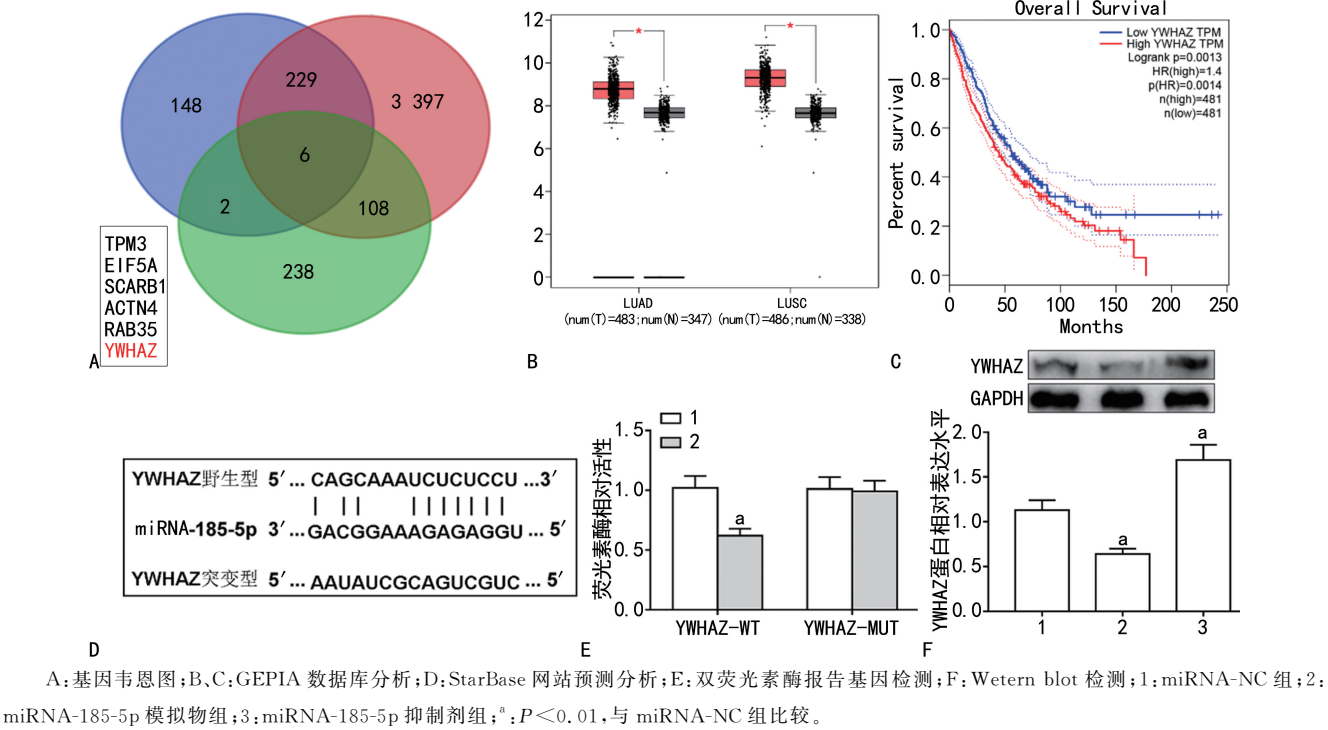
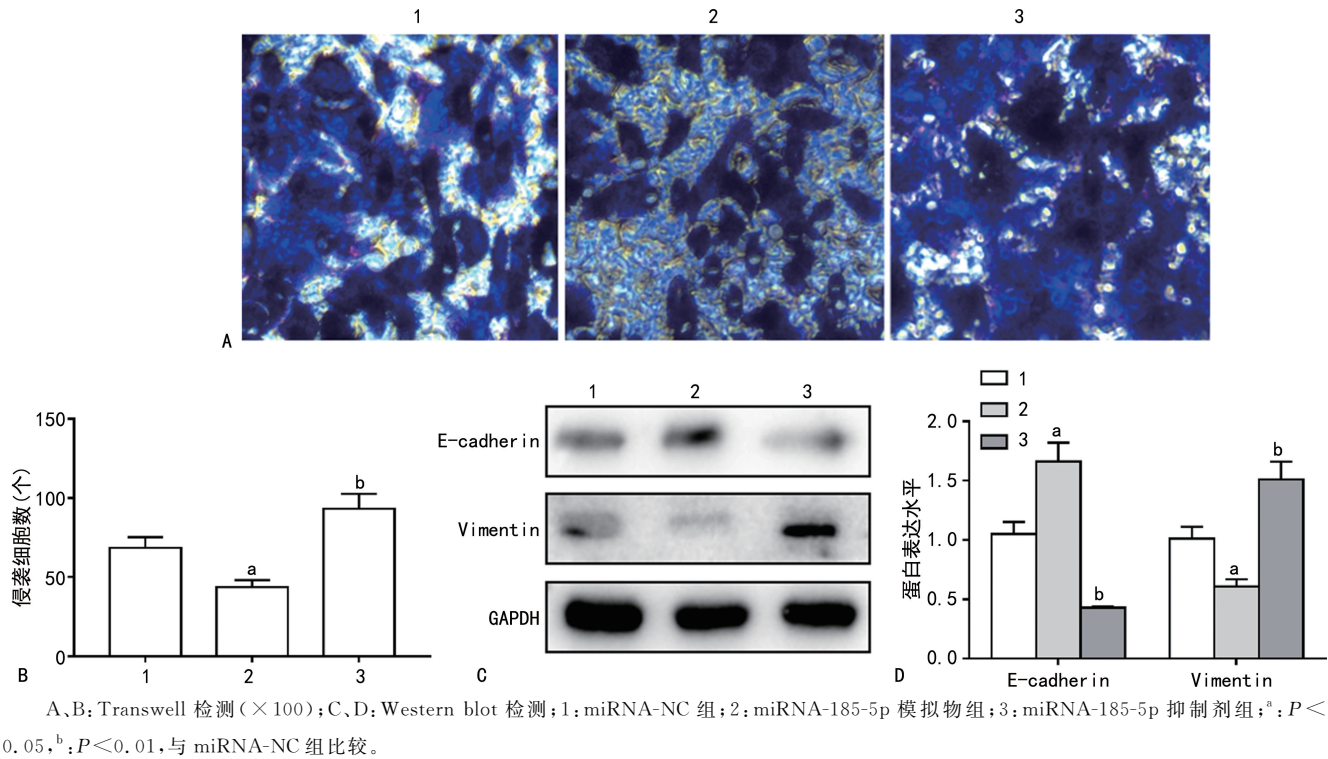
A:RT-qPCR 检测;B:CCK-8 检测;C、D:TUNEL 检测细胞凋亡率及显微镜观察($\times 100$);1:miRNA-NC 组;2:miRNA-185-5p 模拟物组;3:miRNA-185-5p 抑制剂组;^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,与 miRNA-NC 组比较。

图 2 各组 A549 细胞 miRNA-185-5p 表达水平及细胞增殖和凋亡率比较

2.4 StarBase 数据库在线预测 miRNA-185-5p 靶向调控 YWHAZ 表达水平

通过 StarBase 数据库对 miRNA-185-5p 靶基因进行检索,发现有 3 740 个基因,通过 Targetscan 数据库检索发现有 385 个基因,随后通过 Human protein Atlas 数据库检索与 NSCLC 不良预后有关的基因,发现有 297 个基因,将检索出的基因制作韦恩图,见图 4A。通过 GEPIA 数据库分析 YWHAZ 在肺鳞癌和肺腺癌中的表达及与预后的相关性,发现 YWHAZ 在肺腺癌和肺鳞癌中均高表达,且与预后不良有关,见图 4B、C。StarBase 网站预测分析显示,

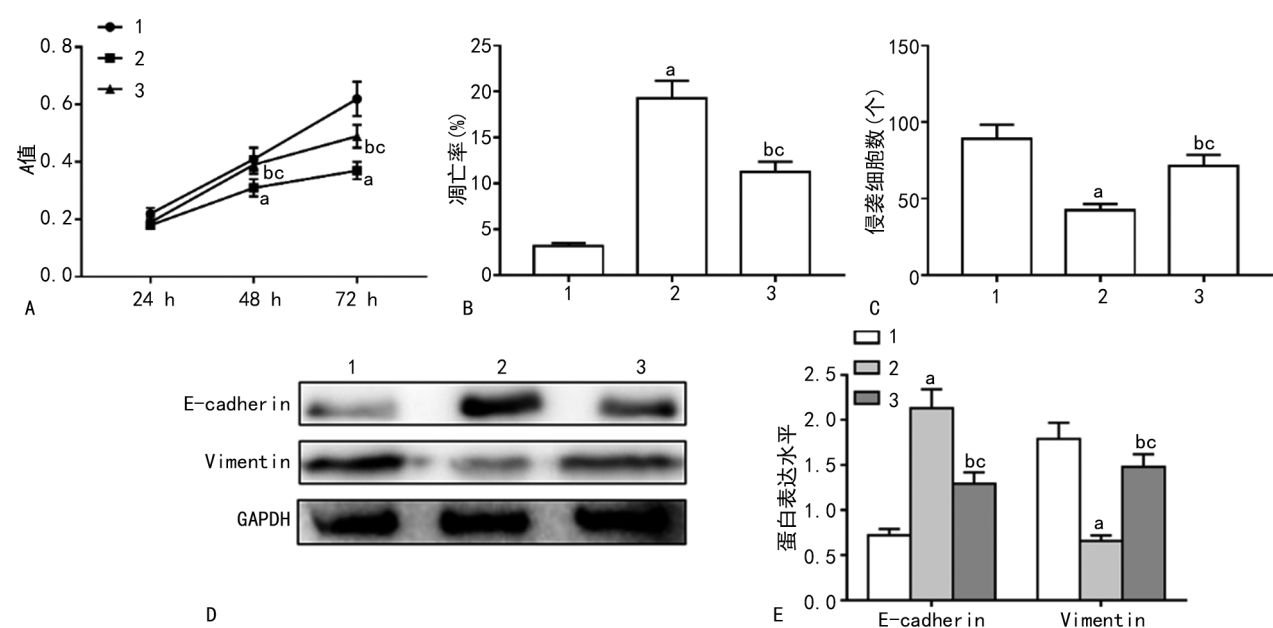
YWHAZ-3'UTR 中部分核苷酸序列能与 miRNA-211-5p 形成互补配对,见图 4D。通过双荧光素酶报告基因实验发现,与 miRNA-NC 组相比较,miRNA-185-5p 模拟物组 WT 载体的细胞萤光素酶相对活性明显降低($P<0.05$),而 MUT 荧光素酶相对活性则无明显差异($P>0.05$),见图 4E。Western blot 实验结果显示,与 miRNA-NC 组相比较,miRNA-185-5p 模拟物组细胞中 YWHAZ 蛋白表达水平明显降低($P<0.01$),而 miRNA-185-5p 抑制剂组细胞中 YWHAZ 蛋白表达水平明显升高($P<0.01$),见图 4F。



2.5 miRNA-NC 组、miRNA-185-5p 模拟物组及 miRNA-185-5p 模拟物 + pcDNA3.1-YWHAZ 组 A549 细胞侵袭、增殖及上皮间质转化相关蛋白表达水平比较

miRNA-NC 组比较, miRNA-185-5p 模拟物组 48 h 后细胞增殖能力明显下降 ($P<0.05$), 细胞凋亡率明显升高 ($P<0.05$), 侵袭细胞数明显减少 ($P<0.05$), E-cadherin 表达水平明显升高 ($P<0.05$), Vi-

mentin 表达水平明显降低 ($P<0.05$); 与 miRNA-185-5p 模拟物组比较, miRNA-185-5p 模拟物 + pcDNA3.1-YWHAZ 组 48 h 后细胞增殖能力明显升高 ($P<0.05$), 细胞凋亡率明显降低 ($P<0.05$), 侵袭细胞数明显增加 ($P<0.05$), E-cadherin 表达水平明显降低 ($P<0.05$), Vimentin 表达水平明显升高 ($P<0.05$), 见图 5。



A:细胞增殖曲线图;B:细胞凋亡检测;C:侵袭细胞检测;D、E: Western blot 检测;1: miRNA-NC 组;2: miRNA-185-5p 模拟物组;3: miRNA-185-5p 模拟物+pcDNA3.1-YWHAZ 组;^a: $P<0.01$,^b: $P<0.05$,与 miRNA-NC 组比较;^c: $P<0.05$,与 miRNA-185-5p 模拟物组比较。

图 5 miRNA-NC 组、miRNA-185-5p 模拟物组及 miRNA-185-5p 模拟物+pcDNA3.1-YWHAZ 组 A549 细胞侵袭、增殖及上皮间质转化相关蛋白表达水平比较

3 讨 论

NSCLC 是人类最常见的恶性肿瘤,也是肿瘤相关死亡最常见的原因;NSCLC 的常规治疗手段包括手术治疗、放疗和化疗^[1-2]。然而很多患者确诊时已经为疾病进展期,错过了手术时机;发生远处转移和术后复发的 NSCLC 患者,预后极差^[1-2]。因此,阐明 NSCLC 发生和发展的分子机制,对于提高 NSCLC 的诊疗和治疗具有重要意义。

miRNA 通过与靶基因 3'非翻译区结合,调控靶基因的表达,发挥着抑癌或促癌的作用^[7-9]。有研究发现,miRNA-939 在 NSCLC 患者中高表达,抑制 miRNA-939 能明显降低 NSCLC 侵袭和上皮间质转化的能力^[10]。另有研究发现,miRNA-185-5p 在 NSCLC 中低表达,而上调 miRNA-185-5p 的表达,会抑制 NSCLC 细胞的增殖、侵袭、迁移,并促进细胞凋亡^[11]。本研究结果与之类似,发现 miRNA-185-5p 在 NSCLC 组织及细胞系中明显下调,进一步通过实验发现,过表达 miRNA-158-5p 能明显抑制 NSCLC 细胞侵袭、增殖和上皮间质转化的能力,并促进凋亡,结果显示 miRNA-158-5p 在 NSCLC 中发挥着抑癌基因的作用。本研究结果提示,外源性诱导 miRNA-158-5p 可能是治疗 NSCLC 的潜在思路。

YWHAZ 是许多信号转导通路的中心枢纽蛋白,参与癌细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡的调控^[12]。有研究报道显示,YWHAZ 在上皮性卵巢癌细胞中呈高表达,敲低 YWHA 的表达,能明显降低上皮性卵巢癌细胞增殖和侵袭能力^[13]。在人骨肉瘤细胞中,通过下调 YWHAZ 的表达,能抑制人骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭等恶性表型^[14]。DENG 等^[15]研究报道,YWHAZ 的表达在 NSCLC 组织中明显上调,且其高

表达与患者的临床分期、淋巴结转移和远处转移有关,提示患者的不良预后;沉默 YWHAZ 的表达能明显抑制 NSCLC 细胞的迁移和侵袭能力。本研究发现,miRNA-158-5p 与 YWHAZ 存在靶向关系,miRNA-158-5p 可负向调控 YWHAZ 的表达,上调 YWHAZ 可逆转过表达 miRNA-211-5p 对 NSCLC 细胞侵袭、增殖的抑制作用和凋亡的促进作用。本研究结果显示,在 NSCLC 细胞中,miRNA-158-5p 与 YWHAZ 之间存在调控关系。本研究不仅帮助阐明了 miRNA-158-5p 抑制 NSCLC 细胞恶性表型的可能分子机制,也助于解释 YWHAZ 在 NSCLC 组织中表达紊乱的可能原因。

本研究有一些局限性,(1)在本研究中,miRNA-158-5p 在 NSCLC 组织中的表达水平和患者的预后关系尚不明确。(2)本研究生物信息学分析提示,miRNA-158-5p 有多个候选的靶基因,miRNA-158-5p 可能通过除 YWHAZ 之外的其他靶基因调控 NSCLC 细胞的恶性生物学行为,这些潜在的 miRNA-158-5p 靶基因还有待后续研究进一步验证。(3)针对 miRNA-158-5p 的生物学功能,本研究仅设计了细胞实验,在后续工作中,动物实验将有助于进一步明确 miRNA-158-5p 在 NSCLC 中的抑癌特性。

综上所述,本研究探索了 miRNA-158-5p 在 NSCLC 中的表达和功能,并证实 miRNA-158-5p 可通过调控 YWHAZ 抑制 NSCLC 细胞侵袭、增殖,并促进凋亡。本研究结果显示,miRNA-158-5p/YWHAZ 轴在 NSCLC 发生、发展过程中的意义,为 NSCLC 的诊断和治疗提供了潜在的标志物和靶点。

参考文献

[1] CHEN Z, FILLMORE C M, HAMMERMAN P

- S, et al. Non-small-cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(8):535-546.
- [2] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(1):19-28.
- [3] 杜洋, 范承娟, 申维喜, 等. 非小细胞肺癌免疫治疗研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(13):2368-2371.
- [4] 熊梦婷. I 期非小细胞肺癌治疗研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2020, 47(21):1131-1134.
- [5] LEE Y S, DUTTA A. MicroRNAs in cancer[J]. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4:199-227.
- [6] NIU Y, TANG G. miR-185-5p targets ROCK2 and inhibits cell migration and invasion of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(6):5087-5093.
- [7] 穆红, 杨磊. 脓毒症相关微小 RNA 标志物功能机制研究进展与诊疗价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(12):1007-1013.
- [8] 李元宏, 李卫萍, 任来峰, 等. miR-103 通过抑制 FBW7 的表达促进肝癌细胞增殖[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2014, 35(4):500-505.
- [9] 程刚, 高振. 抑癌基因 miR-195 对口腔癌细胞 CAL27 生物学特性的影响[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(10):4689-4693.
- [10] 陈爱东, 魏磊, 刘胜平, 等. miR-939 对非小细胞肺癌侵袭能力及上皮细胞-间充质转化过程的影响[J]. *南京医科大学学报*, 2018, 38(8):1054-1058.
- [11] WANG D, ZHANG S, ZHAO M, et al. LncRNA MALAT1 accelerates non-small cell lung cancer progression via regulating miR-185-5p/MDM4 axis[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(23):9138-9149.
- [12] GAN Y, YE F, HE X X. The role of YWHAZ in cancer: a maze of opportunities and challenges[J]. *J Cancer*, 2020, 11(8):2252-2264.
- [13] YANG B, SUN L, LIANG L. MiRNA-802 suppresses proliferation and migration of epithelial ovarian cancer cells by targeting YWHAZ[J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1):100.
- [14] GONG Y, WEI Z, LIU J. MiRNA-1225 inhibits osteosarcoma tumor growth and progression by targeting YWHAZ[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14(14):15-27.
- [15] DENG Y, ZHENG J, MA J. The clinical and prognostic significance of YWHAZ in non-small-cell lung cancer patients: Immunohistochemical analysis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4):6290-6298.

(收稿日期:2021-10-11 修回日期:2022-05-07)

(上接第 2524 页)

- [10] KIM D Y, LEE J H, GOH M J, et al. Clinical significance of an increased cochlear 3D fluid-attenuated inversion recovery signal intensity on an MR imaging examination in patients with acoustic neuroma[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2014, 35(9):1825-1829.
- [11] 陈慧, 周俊芬, 罗建国. 神经纤维瘤病 II 型的 CT、MRI 表现[J]. *临床放射学杂志*, 2017, 36(12):1896-1899.
- [12] 董元训, 王雄伟, 胡火军, 等. 面神经电生理监测在听神经瘤术中的应用研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(3):343-344.
- [13] 娄云重, 刘颖, 江华, 等. 基于 MRI 和深度学习的桥小脑角区脑膜瘤与听神经瘤分类算法研究[J]. *波谱学杂志*, 2020, 37(3):300-310.
- [14] KABASHI S, UGUREL M S, DEDUSHI K, et al. The role of magnetic resonance imaging (MRI) in diagnostics of acoustic schwannoma[J]. *Acta Inform Med*, 2020, 28(4):287-291.
- [15] 曾少华, 杨智云. 3D-SPACE 及微小表面线圈联合 3D-DESS 对听神经瘤周围神经的术前评估[J]. *肿瘤影像学*, 2019, 28(1):32-36.
- [16] COELHO D H, TANG Y, SUDDARTH B, et al. MRI surveillance of vestibular schwannomas without contrast enhancement: Clinical and economic evaluation[J]. *Laryngoscope*, 2018, 128(1):202-209.
- [17] CHAKRABARTY S, SOTIRAS A, MILCHENKO M, et al. MRI-based identification and classification of major intracranial tumor types by using a 3D convolutional neural network: a retrospective multi-institutional analysis[J]. *Radiol Artif Intell*, 2021, 3(5):e200301.
- [18] LI C, TANG Y, GE H, et al. Sectional anatomy of the abducens nerve: according to 3D-SPACE magnetic resonance sequences correlated with cryosectional specimens[J]. *Surg Radiol Anat*, 2015, 37(8):921-929.
- [19] 赵质彬, 祝园平, 符一飞, 等. 以突发听力下降为首发症状的听神经瘤临床特征分析[J]. *中华耳科学杂志*, 2021, 19(4):696-700.
- [20] 于福超, 苏少波, 马俊, 等. 基于弥散张量成像重建听神经瘤患者面神经的研究[J]. *中华神经外科杂志*, 2017, 33(5):475-478.

(收稿日期:2021-10-28 修回日期:2022-04-01)