

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002760

miR-217 靶向 E2F3 抑制非小细胞肺癌细胞增殖并诱导凋亡

朱 岩, 王保收, 何金龙, 李耀杰

(开封市中心医院心胸血管外科, 开封 475000)

【摘要】目的:研究 miR-217 对非小细胞肺癌细胞增殖和凋亡的作用及机制。**方法:**RT-qPCR 检测非小细胞肺癌组织和细胞中 miR-217 与 E2F3 mRNA 的表达, 利用 Lipofectamine 2000 将 miR-NC、miR-217 mimic、miR-217 inhibitor、pc-NC、pc-E2F3 质粒分别或联合转染进入非小细胞肺癌 SK-MES-1 或 A549 细胞, 克隆形成实验检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, 双荧光素酶报告检测靶向关系, Western blot 检测 E2F3 蛋白相对表达水平。**结果:**miR-217 在非小细胞肺癌组织和细胞中均明显下调 ($P<0.01$)。与 Control 组相比, miR-217 mimic 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 或 A549 细胞克隆数目明显减少, 细胞凋亡率升高 ($P<0.01$), miR-217 inhibitor 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 或 A549 细胞克隆数目明显增加, 细胞凋亡率降低 ($P<0.01$)。miR-217 靶向下调 E2F3。共转染 pc-E2F3 后逆转 miR-217 对非小细胞肺癌 SK-MES-1 或 A549 细胞增殖和凋亡的作用。**结论:**miR-217 过表达靶向 E2F3 抑制非小细胞肺癌 SK-MES-1 或 A549 细胞增殖并诱导其凋亡。

【关键词】miR-217; E2F3; 非小细胞肺癌; 增殖; 凋亡

【中图分类号】R734.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-06-09

Effect of miR-217 targeting E2F3 on inhibiting the proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer cells

Zhu Yan, Wang Baoshou, He Jinlong, Li Yaojie

(Department of Cardiothoracic and Vascular Surgery, Kaifeng Central Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the effect and mechanism of miR-217 on proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer cells. **Methods:** The expression levels of miR-217 and E2F3 mRNA in non-small cell lung cancer tissues and cells were detected by RT-qPCR. miR-NC, miR-217 mimic, miR-217 inhibitor, pc-NC, pc-E2F3 plasmids were transfected into non-small cell lung cancer SK-MES-1 or A549 cells, respectively or in combination, using Lipofectamine 2000. Cell proliferation was detected by clone formation experiments, apoptosis was detected by flow cytometry, targeting relationship was detected by dual luciferase report, and the relative expression level of E2F3 protein was detected by Western blot. **Results:** miR-217 was significantly down-regulated in non-small cell lung cancer tissues and cells ($P<0.01$). Compared with Control group, the number of cloned cells of SK-MES-1 or A549 cells in miR-217 mimic group significantly decreased, and the apoptosis rate increased significantly ($P<0.01$); the number of cloned cells of SK-MES-1 or A549 cells of non-small cell lung cancer in miR-217 inhibitor group significantly increased and the apoptosis rate decreased ($P<0.01$). miR-217 targeted down-regulation of E2F3. Co-transfection of pc-E2F3 reversed the effects of miR-217 on proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer SK-MES-1 or A549 cells. **Conclusion:** Overexpression of miR-217 inhibits the proliferation and induces apoptosis of non-small cell lung cancer SK-MES-1 or A549 cells by targeting E2F3.

【Key words】miR-217; E2F3; non-small cell lung cancer; proliferation; apoptosis

肺癌是最常见和最严重的癌症之一。据统计, 每年死于肺癌的人数多于乳腺癌、结肠癌和前列腺

癌的总和^[1]。非小细胞肺癌约占所有肺癌病例的85%。虽然随着医疗技术的不断进步, 非小细胞肺癌发生率不断减少, 但是由于缺乏早期非小细胞肺癌筛查的方法, 错过最佳治疗时期, 非小细胞肺癌患者的5年生生存率仍然很低^[2]。因此, 迫切需要研究导致肺癌发生的分子机制, 并确定可提高肺癌患者生存率的

作者介绍: 朱 岩, Email: zhuyan12020@163.com,

研究方向: 心胸血管外科。

基金项目: 河南省科技厅科技攻关资助项目 (编号: 182102310446)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210319.1535.004.html>

(2021-03-23)

新治疗靶点。众多研究表明,miR 是非小细胞肺癌的潜在标志物,miRs 可以调节包括非小细胞肺癌在内的多种癌症细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭等。已有研究表明,miR-217 在甲状腺癌、胃癌、卵巢癌等多种肿瘤中存在表达失调,可抑制相关肿瘤细胞的生长,发挥抑癌效应^[3-5]。Guo JH 等^[6]研究表明,miR-217 在肺癌中经常被下调,上调 miR-217 增强了 SPC-A-1 和 A549 细胞对顺铂的敏感性。因此,预测 miR-217 对非小细胞肺癌具有抑制作用。肿瘤细胞的无限增殖和阻止程序性死亡是肿瘤细胞发展的两大表征。本文主要研究 miR-217 对非小细胞肺癌细胞增殖凋亡的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

RPMI1640 培养基(上海慧颖生物科技有限公司,货号:C21700500BT),胎牛血清、青霉素和链霉素双抗溶液(上海素尔生物科技有限公司,货号:16000-044,15140122),miR-NC、miR-217 mimic、miR-217 inhibitor、pc-NC、pc-E2F3 质粒及各种引物由河南省生物工程技术研究中心设计并合成,Lipofectamine 2000 转染试剂(上海违进生物科技有限公司,货号:11668-019),cDNA 逆转录试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司,货号:BTN60906-XHJ),SYBR-Green PCR 试剂盒(上海天筛科技有限公司,货号:QST-100C),双荧光素酶报告基因检测试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司,货号:11402ES60),BCA 试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0011-1),辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗、E2F3 兔来源的单克隆抗体(上海艾博抗生物科技有限公司,货号:ab6728,ab152126)。CytoFLEX 流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司,Gel Doc XR+凝胶成像系统购自美国伯乐公司。

1.2 组织来源

收集非小细胞肺癌患者肿瘤组织及肿瘤相邻的正常组织。所有患者均签署知情同意书。本研究根据《赫尔辛基宣言》的道德准则进行,并通过开封市中心医院伦理委员会和临床医学学院的批准。

1.3 细胞及培养

正常肺细胞系(BEAS-2B)和非小细胞肺癌细胞系(A549、H1703、SK-MES-1、L78、PGCL3 和 H460)购自美国典型培养物保藏中心。所有细胞在含体积分数为 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 g/mL 链霉素的 RPMI1640 培养基中,于温度为 37℃、体积分数为 5%CO₂ 条件下培养。

1.4 RT-qPCR 检测 miR-217-5p 与 E2F3 mRNA 的表达

将所有组织样品剪碎并研磨,用 QIAzol 裂解试剂提取总

RNA,并用 cDNA 逆转录试剂盒合成 cDNA。对于细胞培养,将各细胞分别接种在 6 孔板中,当细胞达到近 90%融合时,用 QIAzol 裂解试剂提取总 RNA,再通过 cDNA 逆转录试剂盒合成 cDNA,并按照 SYBR-Green PCR 试剂盒说明书操作进行 RT-qPCR 测定。反应条件为:52℃ 2 min,95℃ 10 min,96℃ 15 s 和 60℃ 1 min 的 40 个循环,用 U6 标准化,使用 2^{-ΔΔCt} 方法计算。miR-217 的上游引物序列:5'-ACACTCCAGCT-GGGTACTGCATCAGGAAGT-3',miR-217 的下游引物序列:5'-TGGTGTCGTGGAGTTCG-3';E2F3 的上游引物序列:5'-GATGGGGTCAGATGGAGAGA-3';E2F3 的下游引物序列:5'-GAGACACCTGGCATTGTTT-3';U6 的上游引物序列:5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3',U6 的下游引物序列:5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'。

1.5 细胞转染

取对数期细胞接种于 6 孔板,每孔约 1 × 10⁶ 个细胞,于温度为 37℃、体积分数为 5%CO₂ 条件下培养。当达到 80%融合,根据 Lipofectamine 2000 说明书将 100 nmol/L 的 miR-NC、miR-217 mimic、miR-217 inhibitor、pc-NC、pc-E2F3 质粒分别或联合转染进入 SK-MES-1 或 A549 细胞。

1.6 克隆形成实验检测细胞增殖

将各转染细胞接种于 6 孔板,每孔约 1 × 10⁶ 个细胞,于温度为 37℃、体积分数为 5%CO₂ 条件下培养。直到生长至可见细胞群落,弃培养液,用 100%甲醇固定菌落,0.25%结晶紫染色 30 min,清水清洗。将孔板倒置并叠加一张带网格的透明胶片,直接计数克隆数。

1.7 流式细胞术检测细胞凋亡

将各转染细胞培养 48 h 后,用胰酶消化,离心力为 3 500g,离心 5 min,再按 1 × 10⁶ 个细胞/mL 的浓度重悬。细胞悬液中加入 5 L FITC 标记的 Annexin-V 和 5 L 碘化丙啶,暗处理 15 min,然后用 CytoFLEX 流式细胞仪分析细胞凋亡情况。细胞凋亡率(%)=早期细胞凋亡率(%) + 晚期细胞凋亡率(%)。

1.8 双荧光素酶报告检测 miR-217 和 E2F3 的靶向关系

收集生长至对数期的 A549 和 SK-MES-1 细胞并接种在 6 孔板中,培养 24 h。将 1 g 萤火虫荧光素酶报告基因构建体 PGL3-E2F3-WT(E2F3 野生型)或 PGL3-E2F3-MUT(E2F3 突变型)以及 miR-217 mimic 或 miR-NC 和 PRL-CMV 海藻荧光素酶报告质粒转染细胞。转染 48 h 后,细胞裂解 15 min,双荧光素酶检测系统测量荧光素酶的相对活性,荧光素酶的相对活性为萤火虫荧光素酶活性和肾荧光素酶活性比值。

1.9 Western blot 检测 E2F3 蛋白相对表达水平

收集各转染细胞,加含蛋白酶抑制剂的 RIPA 细胞裂解液,并在冰上裂解。离心力为 15 000g 离心 10 min,收集上清。通过 BCA 试剂盒检测上清中蛋白质浓度,并添加蛋白上样的缓冲液以制备蛋白样品。每孔上样 30 μg 蛋白,使用

12% SDS-PAGE 分离后转膜,接着,使用 5%脱脂牛奶室温下封闭 1 h,再加入兔来源的单克隆一抗(E2F3 1:1 000、GAPDH 1:1 000),4℃孵育 12 h,洗膜缓冲液洗 3 次;加入山羊抗兔多克隆二抗(1:2 000),室温下孵育 1 h 后,加显影液,于 Gel Doc XR+凝胶成像系统中曝光,使用软件 Image-Pro Plus 6.0 分析蛋白条带,蛋白的相对表达水平为目标蛋白积分光密度值与内参蛋白 GAPDH 积分光密度值比值。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行统计学分析;图形采用 Graph-Pad Prism 6.0 构建。实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。数据经 Shapiro-Wilk 检验发现均呈正态分布;多组比较行 One-Way ANOVA 分析;2 组比较使用 SNK 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

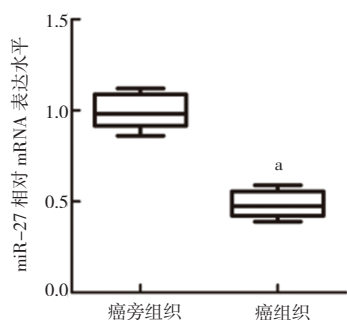
2.1 miR-217 在非小细胞肺癌中表达情况

为了明确 miR-217 在非小细胞肺癌中的表达情况,本研究检测了癌旁组织和癌组织、正常细胞和肺癌细胞中 miR-217 的表达水平。与癌旁组织相比,miR-217 在非小细胞肺癌组织中表达下调($P<0.01$)(图 1A);与正常肺细胞 BEAS-

2B 相比,非小细胞肺癌细胞 A549、H1703、SK-MES-1、L78、PGCL3 和 H460 中 miR-217 表达下调($P<0.01$)(图 1B)。选择非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞进行后续实验。为了验证 miR-217 表达对非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞生物学行为的影响,对细胞进行了分组转染。与 Control 组相比,miR-NC 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞中 miR-217 表达并无变化,miR-217 mimic 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞中 miR-217 表达上调($P<0.01$),miR-217 inhibitor 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞中 miR-217 表达下调($P<0.01$)(图 1C、D),表明转染成功,可进行后续试验。

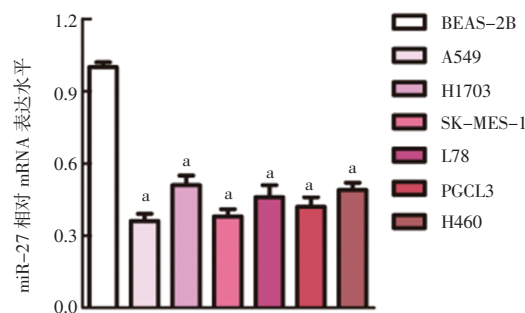
2.2 miR-217 抑制 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖

为了探究 miR-217 过表达对非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖的影响,运用克隆形成实验检测各组细胞的增殖能力。与 Control 组相比,miR-NC 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞克隆数目无明显变化,miR-217 mimic 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞克隆数目减少($P<0.01$),miR-217 inhibitor 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞克隆数目增加($P<0.01$)(图 2)。这些结果表明 miR-217 抑制非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖。



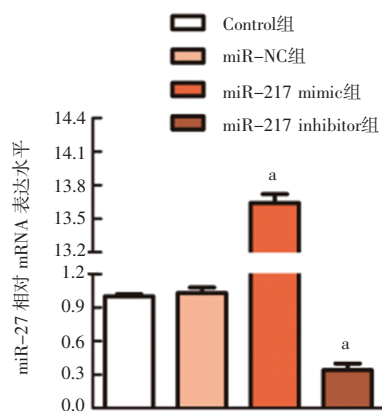
注:a,与正常肺细胞 BEAS-2B 相比, $P<0.01$

A. 非小细胞肺癌组织中 miR-217 mRNA 的表达水平



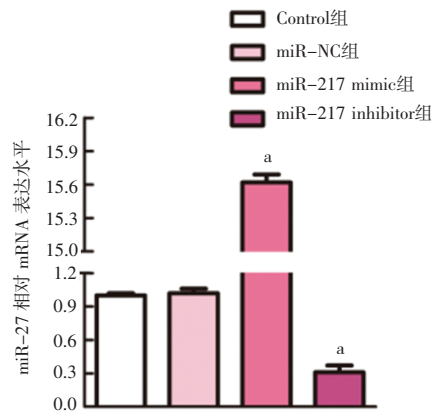
注:a,与正常组织相比, $P<0.01$

B. 非小细胞肺癌细胞中 miR-217 mRNA 的表达水平



注:a,与 Control 组相比, $P<0.01$

C. 转染后 SK-MES-1 细胞中 miR-217 mRNA 的表达水平



注:a,与 Control 组相比, $P<0.01$

D. 转染后 A549 细胞中 miR-217 mRNA 的表达水平

图 1 RT-qPCR 检测 miR-217 mRNA 的表达水平 ($n=9$)

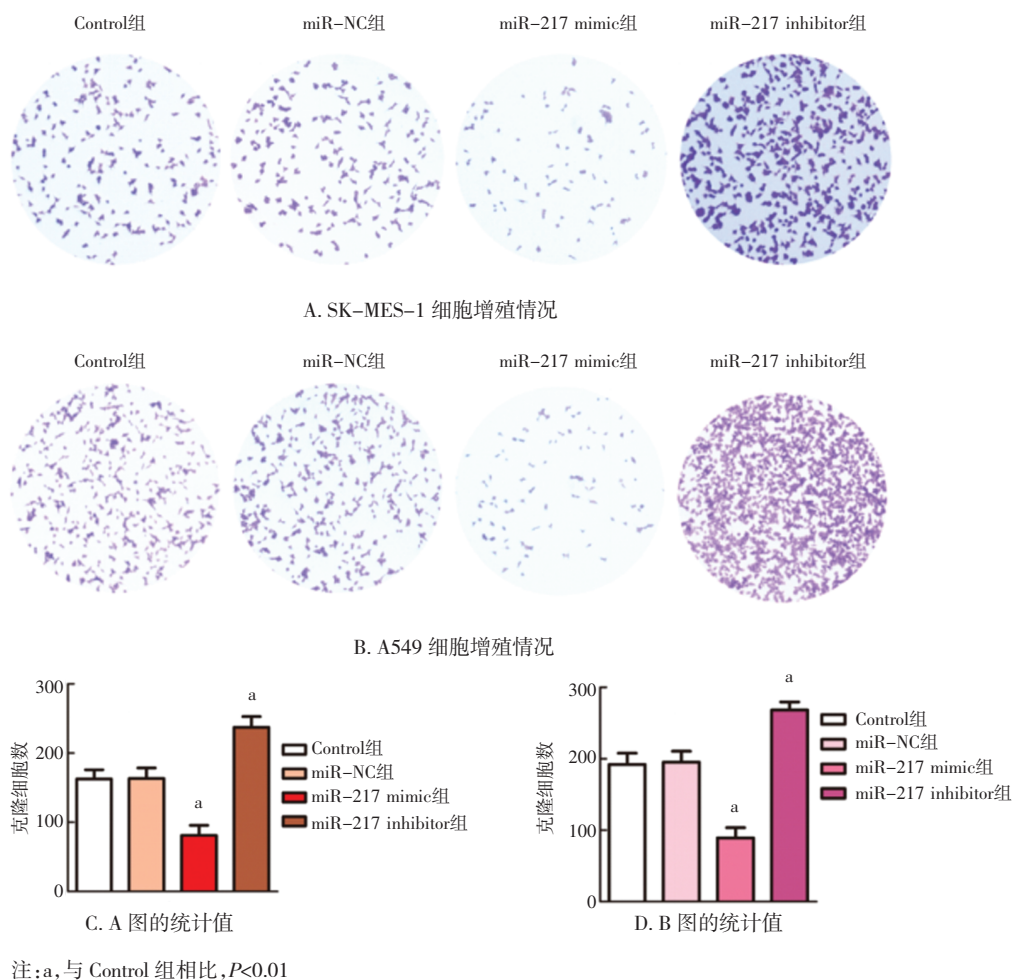


图2 克隆形成实验检测非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖情况 ($n=9$)

2.3 miR-217 促进 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡

为了探究 miR-217 过表达对非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡的影响,运用流式细胞术评估各组细胞的凋亡水平。与 Control 组相比,miR-NC 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡率无明显变化,miR-217 mimic 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡率升高 ($P < 0.01$),miR-217 inhibitor 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡率降低 ($P < 0.01$) (图 3)。这些结果表明 miR-217 促进非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡。

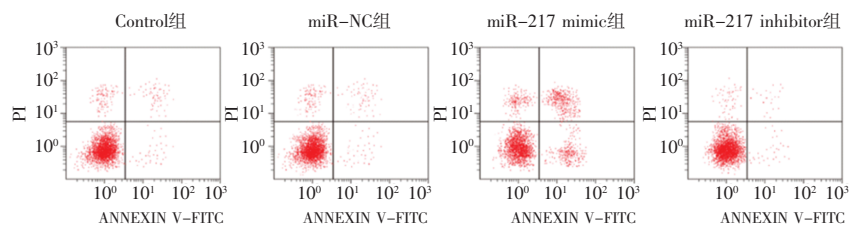
2.4 miR-217 与 E2F3 存在靶向关系

为了探究 miR-217 对非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖抑制和凋亡促进的相关机制,研究了 miR-217 与 E2F3 在非小细胞肺癌中的相关性。通过 TargetScan 数据库的预测,miR-217 与 E2F3 3'UTR 区存在结合位点(图 4A)。通过双荧光素酶报告基因实验验证靶向关系的结果表明,在含有野生型 E2F3 质粒的细胞中,miR-217 高表达显著抑制荧光素酶活性 ($P < 0.01$),但在含有突变型 E2F3 质粒的细胞中,miR-217 高表达对荧光素酶活性并无影响(图 4B)。RT-qPCR 评估 E2F3 表达的结果表明,与邻近的正常组织相比,miR-217

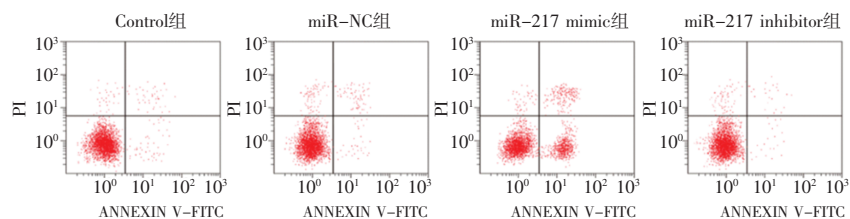
在非小细胞肺癌组织中 E2F3 明显上调 ($P < 0.01$);在非小细胞肺癌组织中 miR-217 与 E2F3 的表达呈负相关 ($r = -0.6649$) (图 4C、D)。与 Control 组相比,miR-NC 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞 E2F3 表达无明显变化,miR-217 mimic 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞 E2F3 表达降低 ($P < 0.01$),miR-217 inhibitor 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞 E2F3 表达升高 ($P < 0.05$) (图 4E、F)。这些结果表明 miR-217 与 E2F3 存在良好的靶向关系。

2.5 E2F3 过表达削弱 miR-217 对 A549 和 SK-MES-1 细胞增殖抑制和凋亡促进作用

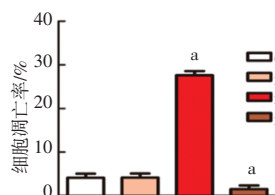
为了进一步验证 miR-217 靶向 E2F3 实现对非小细胞肺癌 A549 和 SK-MES-1 细胞增殖抑制和凋亡促进作用,本实验建立了 miR-217 mimic 与 pc-NC 共转染、miR-217 mimic 与 pc-E2F3 共转染细胞。与 miR-217 mimic+pc-NC 组相比,miR-217 mimic+pc-E2F3 组非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞中 E2F3 表达升高 ($P < 0.01$),克隆细胞数目增多 ($P < 0.01$),细胞凋亡率降低 ($P < 0.01$) (图 5~图 7)。这些结果表明 E2F3 过表达可削弱 miR-217 对 A549 和 SK-MES-1 细胞的增殖抑制和凋亡促进作用。



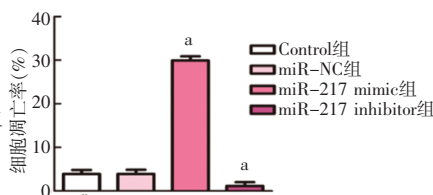
A. SK-MES-1 细胞凋亡情况



B. A549 细胞凋亡情况



C. A 图的统计值



D. B 图的统计值

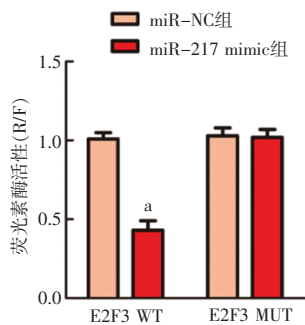
注:a,与 Control 组相比, $P<0.01$ 图 3 通过流式检测非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡情况 ($n=9$)

hsa-miR-217 3' AGGUUAGUCAAGGACUACGUCAU

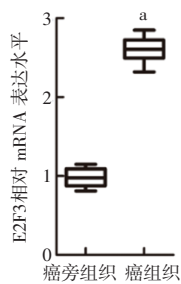
E2F3 WT 5' ...AUCUGUAAAUAAAAUUGCAGAU...

E2F3 MUT 5' ...AUCUGUAAAUAAAAUACGUCAAU...

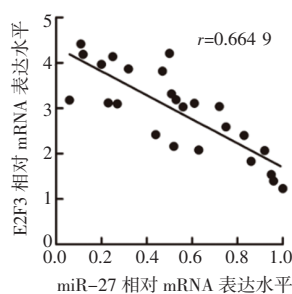
A. TargetScan 预测 miR-217 与 E2F3 的靶向关系



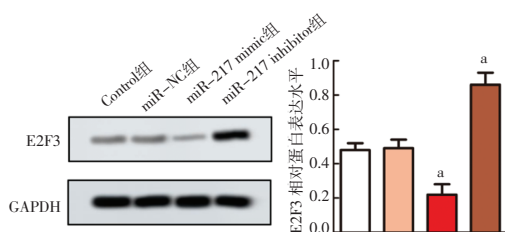
B. 双荧光素酶报告基因实验结果



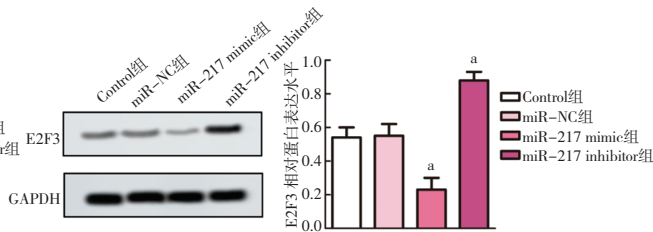
C. 非小细胞肺癌组织中 E2F3 表达



D. 非小细胞肺癌组织中 miR-217 与 E2F3 相关性

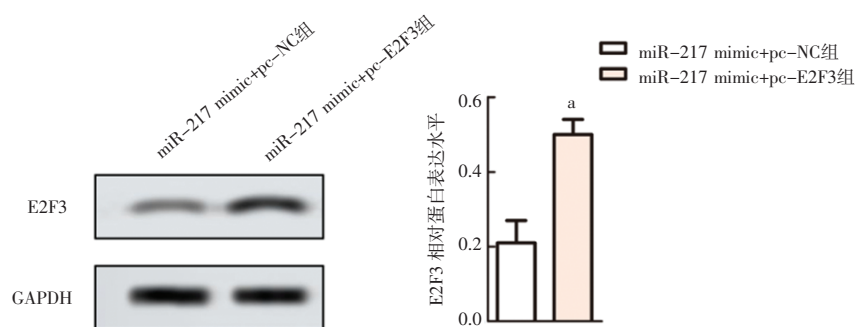


E. SK-MES-1 细胞中 E2F3 蛋白表达

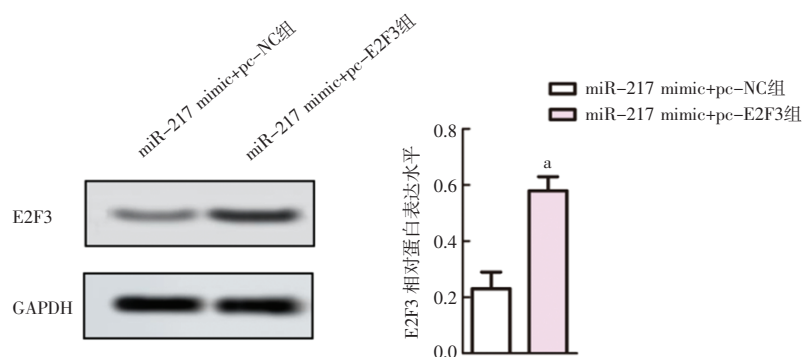


F. A549 细胞中 E2F3 蛋白表达

注:a,与 Control 组相比, $P<0.01$ 图 4 miR-217 与 E2F3 靶向关系 ($n=9$)

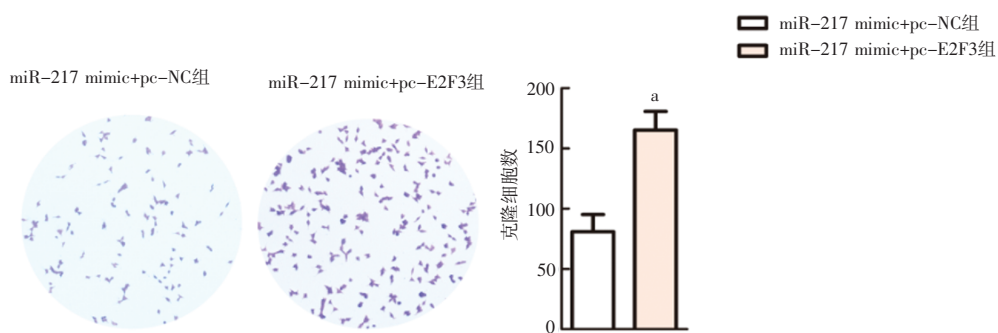


A. SK-MES-1 细胞中 E2F3 蛋白表达水平

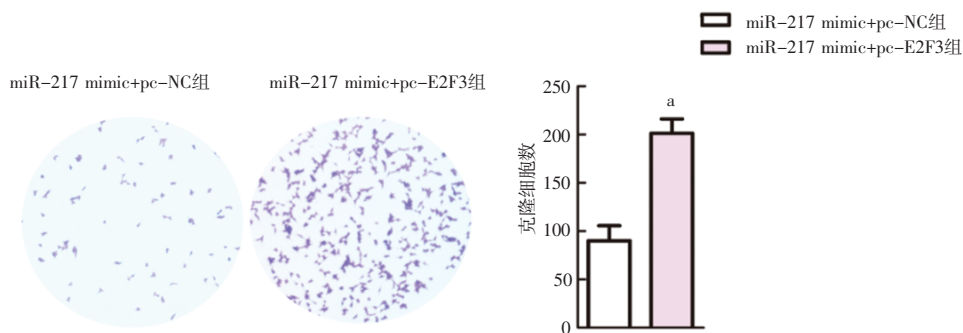


B. A549 细胞中 E2F3 蛋白表达水平

注:a,与 miR-217 mimic+pc-NC 组相比, $P < 0.01$

图 5 Western blot 检测非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞 E2F3 转染情况 ($n=9$)

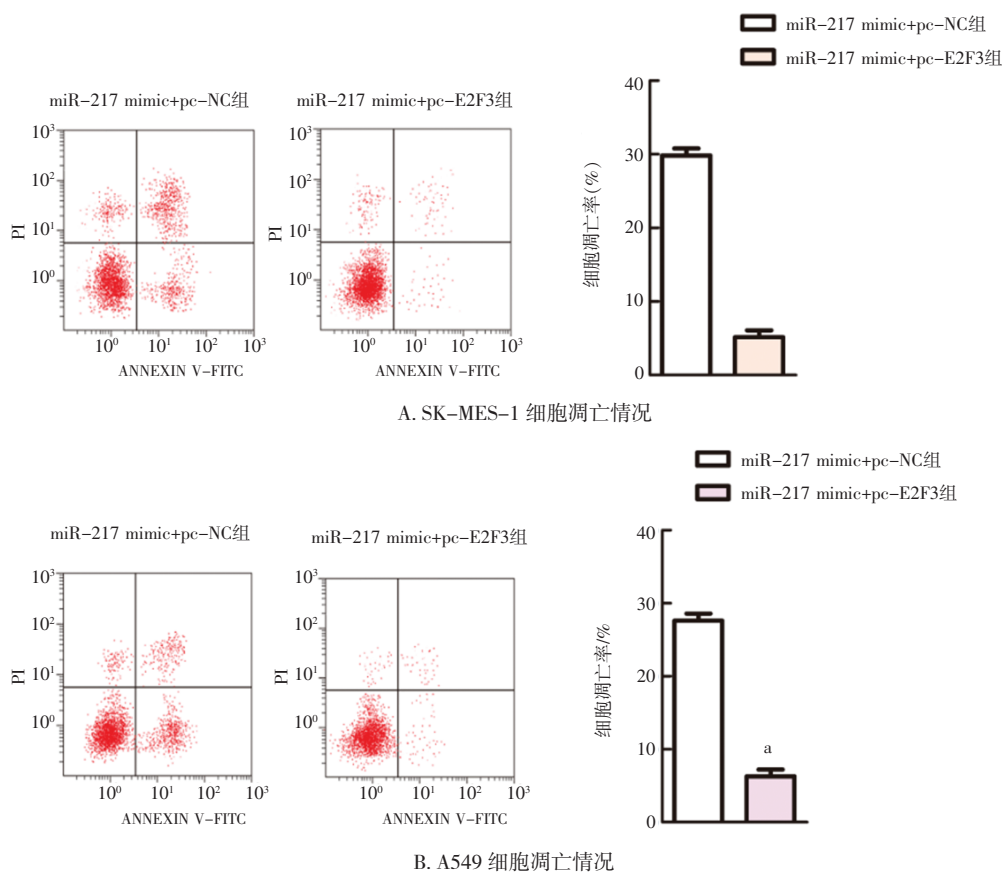
A. SK-MES-1 细胞增殖情况



B. A549 细胞增殖情况

注:a,与 miR-217 mimic+pc-NC 组相比, $P < 0.01$

图 6 E2F3 对 miR-217 过表达非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖的影响 ($n=9$)



注: a, 与 miR-217 mimic+pc-NC 组相比, $P < 0.01$

图 7 E2F3 对 miR-217 过表达非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡的影响 ($n=9$)

3 讨论

手术切除和化疗是治愈非小细胞肺癌的最有前途的方法, 尽管近年来取得非常大的进步, 但对非小细胞肺癌化疗的耐药性仍是提高患者长期疗效的主要障碍之一, 且总体 5 年生存率仍很低^[7]。因此, 亟需深入了解非小细胞肺癌发病机制及寻找非小细胞肺癌发病和发展的重要分子生物学标志。miRNA 是用于癌症分子诊断和靶向分子治疗的出色工具^[8]。miRNA 具有多种生物学功能, 如调节细胞增殖、分化、转移、侵袭和细胞凋亡等。miRNA 的表达情况与人类多种癌症的发生、发展、诊断和预后相关。例如, miR-873、miR-449、miR-141 等在非小细胞肺癌中发挥抑癌作用, miR-21、miR-155、miR-19b 等在非小细胞肺癌中发挥致癌作用^[9-11]。虽有部分研究表明 miR-217 具有致癌作用, 如在肝细胞癌中, miR-217 靶向 DKK1 通过激活 Wnt 信号通路来

促进癌干细胞特性^[12]。但多数研究表明 miR-217 具有抑癌作用, 如在喉癌中, miR-217 能够有效抑制多种转移性特征, 包括细胞迁移、侵袭、增殖、凋亡、EMT 及血管生成。这些作用是通过下调 miR-217 靶基因、aeg1 和 PD-L1 来实现的^[13]; 在三阴性乳腺癌中, miR-217 通过靶向 KLF5 抑制三阴性乳腺癌细胞的生长、迁移和侵袭^[14]。本研究发现, 非小细胞肺癌组织和细胞 A549、H1703、SK-MES-1、L78、PG-CL3 和 H460 中 miR-217 表达下调, 预测 miR-217 在非小细胞肺癌中发挥抑癌作用。生物体内各种类型的组织细胞通过增殖和凋亡协调发展来维持细胞数目的平衡, 但是癌症细胞存在明显的增殖和凋亡失调(过度增殖和细胞凋亡抑制)现象^[15]。肿瘤细胞的增殖情况和凋亡情况对癌症的治疗至关重要。本研究发现, miR-217 过表达明显抑制非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖, 并诱导非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡, miR-217 低表达明显诱导非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增

殖,并抑制非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞凋亡。

为了更好地了解 miR-217 对非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖和凋亡的作用机制,本研究使用 TargetScan 数据库预测 miR-217 的靶基因,发现 miR-217 与 E2F3 3'UTR 区存在结合位点,并通过双荧光素酶报告实验发现在含有野生型 E2F3 质粒细胞中,miR-217 高表达明显抑制荧光素酶活性,但在含有突变型 E2F3 质粒细胞中,miR-217 高表达对荧光素酶活性并无影响,说明 miR-217 与 E2F3 直接靶向结合。E2F3 是 E2F 家族转录激活因子之一^[16]。众所周知,E2F 家族是一个转录调节家族,涉及许多生物学过程,如细胞周期进程、DNA 复制、DNA 修复和细胞凋亡等^[17]。E2F3 具有致癌特性,最终导致 G₁/S 相转变的增强,进而导致细胞不受控制的增殖,并阻止细胞凋亡进程^[18]。已有研究表明,在非小细胞肺癌患者中,将 E2F3 的过度表达和随后的 E2F3 信号通路的激活受微 RNA(miR-377-3p)的调节^[19]。同 miR-217 通过靶向 E2F3 抑制胰腺癌细胞增殖和侵袭一样^[20],本研究发现共转染 pc-E2F3 逆转了 miR-217 对非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖和凋亡的作用,说明 miR-217 过表达靶向 E2F3 抑制非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖并诱导其凋亡。

综上所述,miR-217 过表达靶向 E2F3 抑制非小细胞肺癌 SK-MES-1 和 A549 细胞增殖并诱导其凋亡,因此 miR-217 和 E2F3 有望成为非小细胞肺癌的治疗靶点。本试验仅为体外细胞实验,有待进一步行动物体内实验及相关的分子信号通路研究。

参 考 文 献

- [1] Yakal S, Sofyali S, Özkan B, et al. Oxygen uptake efficiency slope and prediction of post-operative morbidity and mortality in patients with lung cancer[J]. *Lung*, 2018, 196(2): 255-262.
- [2] Medysky ME, Dieckmann NF, Winters-Stone KM, et al. Trajectories of self-reported physical functioning and symptoms in lung cancer survivors[J]. *Cancer Nurs*, 2021, 44(2): E83-E89.
- [3] Jiang B, Zhu SJ, Xiao SS, et al. miR-217 inhibits M2-like macrophage polarization by suppressing secretion of interleukin-6 in ovarian cancer[J]. *Inflammation*, 2019, 42(5): 1517-1529.
- [4] Lin YQ, Cheng KL, Wang TT, et al. miR-217 inhibits proliferation, migration, and invasion via targeting AKT3 in thyroid cancer[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2017, 95(2): 1718-1724.
- [5] Safaralizadeh R, Ajami N, Nemati M, et al. Disregulation of miR-216a and miR-217 in gastric cancer and their clinical significance[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2019, 50(1): 78-83.
- [6] Guo JH, Feng ZJ, Huang ZA, et al. microRNA-217 functions as a tumour suppressor gene and correlates with cell resistance to cisplatin in lung cancer[J]. *Mol Cells*, 2014, 37(9): 664-671.
- [7] Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(20): 1919-1929.
- [8] Xu S, Shi L. High expression of miR-155 and miR-21 in the recurrence or metastasis of non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(1): 758-763.
- [9] Jin SD, He J, Li J, et al. miR-873 inhibition enhances gefitinib resistance in non-small cell lung cancer cells by targeting glioma-associated oncogene homolog 1[J]. *Thorac Cancer*, 2018, 9(10): 1262-1270.
- [10] Yang D, Li JS, Xu QY, et al. Inhibitory effect of miR-449b on cancer cell growth and invasion through LGR4 in non-small-cell lung carcinoma[J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(4): 582-589.
- [11] Baumgartner U, Berger F, Hashemi Gheini A, et al. miR-19b enhances proliferation and apoptosis resistance via the EGFR signaling pathway by targeting PP2A and BIM in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 44.
- [12] Jiang CL, Yu M, Xie XY, et al. miR-217 targeting DKK1 promotes cancer stem cell properties via activation of the Wnt signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4): 2351-2359.
- [13] Miao SS, Mao XH, Zhao S, et al. miR-217 inhibits laryngeal cancer metastasis by repressing AEG-1 and PD-L1 expression[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(37): 62143-62153.
- [14] Zhou WH, Song FF, Wu QJ, et al. miR-217 inhibits triple-negative breast cancer cell growth, migration, and invasion through targeting KLF5[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0176395.
- [15] 伍丹丹, 董卫国, 马静静, 等. 陈皮素对胰腺癌 Panc-1 细胞增殖和凋亡影响及机制探讨[J]. *医学分子生物学杂志*, 2018, 15(3): 125-130.
- [16] Wu DD, Dong WG, Ma JJ, et al. Effects of hesperetin on proliferation and apoptosis of pancreatic cancer Panc-1 cells and its mechanism[J]. *J Med Mol Biol*, 2018, 15(3): 125-130.
- [17] 朱春伟, 周东. miR-122 通过调控 E2F3 的表达对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响[J]. *医学分子生物学杂志*, 2018, 15(6): 384-388.
- [18] Zhu CW, Zhou D. Effect of miR-122 on proliferation and invasiveness of glioma cells by regulating E2F3 expression[J]. *J Med Mol Biol*, 2018, 15(6): 384-388.
- [19] Feng ZC, Peng C, Li DJ, et al. E2F3 promotes cancer growth and is overexpressed through copy number variation in human melanoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 5303-5313.
- [20] Sun FB, Lin Y, Li SJ, et al. miR-210 knockdown promotes the development of pancreatic cancer via upregulating E2F3 expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(24): 8640-8648.
- [21] Al Ahmed HA, Nada O. E2F3 transcription factor: a promising biomarker in lung cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2017, 19(1): 21-26.
- [22] Yang J, Zhang HF, Qin CF. microRNA-217 functions as a prognosis predictor and inhibits pancreatic cancer cell proliferation and invasion via targeting E2F3[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(18): 4050-4057.

(责任编辑:周一青)