

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.07.042

◇临床医学◇

微RNA-21 调控的蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 蛋白 低表达促进肺癌发生发展的分子机制

饶钟鸣, 马慧, 关耀武

作者单位: 驻马店市中心医院胸外科, 河南 驻马店 463000

通信作者: 关耀武, 男, 副主任医师, 研究方向为肺癌发生发展的分子机制, E-mail: guanyao_wu@sina.com

摘要: **目的** 蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 蛋白在肺癌中异常低表达及促进肺癌发生发展的分子机制。 **方法** 预测靶向 MEG2 的 miRNAs; 分别运用蛋白质印迹法 (Western blot) 和 qRT-PCR 检测肺癌组织的 MEG2 蛋白、mRNA 和 miR-21 表达水平; 将肺癌细胞分为四组, 分别为过表达对照组、miR-21 过表达组、抑制对照组及 miR-21 抑制组, 在肺癌细胞中通过转染 miR-21 前体或反义 miR-21 以过表达或敲降 miR-21 以及利用荧光素酶报告方法检测 miR-21 对 MEG2 是否直接靶向。分别利用 CCK-8、Transwell 和细胞凋亡试剂盒检测 miR-21 通过调控 MEG2 对肺癌细胞增殖、侵袭以及凋亡的作用。 **结果** 预测发现 miR-21 在 MEG2 3' UTR 上有直接结合位点。蛋白质印迹法和 qRT-PCR 结果显示肺癌组织 MEG2 和 miR-21 呈负相关。过表达或敲降 miR-21 实验显示 MEG2 是 miR-21 的直接靶基因 (过表达组变化倍数: A549 0.26, H1975 0.18; 敲降组变化倍数: A549 2.48, H1975 2.18)。体外实验显示 miR-21 抑制 MEG2 的表达从而促进增殖 (对照 3.35, miR-21 过表达 4.78) 以及抑制凋亡 (对照 5.68, miR-21 过表达 3.28)。 **结论** miR-21-MEG2 形成的新调控轴直接参与调节肺癌的增殖、侵袭和凋亡。

关键词: 肺肿瘤/病因学; 蛋白酪氨酸磷酸酶, 非受体 2 型; 微RNA-21; 增殖; 侵袭; 凋亡

Molecular mechanism of low expression of protein tyrosine phosphatase MEG2 protein regulated by miR-21 to promote lung carcinoma development

RAO Zhongming, MA Hui, GUAN Yaowu

Author Affiliation: Department of Thoracic Surgery, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian, Henan 463000, China

Abstract: Objective To investigate The abnormally low expression of MEG2 protein in lung cancer and the molecular mechanism of promoting the development of lung cancer. **Methods** Bioinformatics were performed to predict the miRNAs targeting MEG2. Western blot and qRT-PCR were employed to analysis MEG2 protein, mRNA expression and miR-21 in lung cancer tissues. Lung cancer cells were divided into four groups, miR-NC, miR-21, anti-miR-NC and anti-miR-21 group, respectively, the direct correlation between miR-21 and MEG2 was monitored via overexpression or knockdown of miR-21 and luciferase reporter assay in lung cancer cells. The effects of miR-21-targeted MEG2 on proliferation, invasion and apoptosis of lung cancer cells were tested by CCK-8 assay, transwell assay and cell apoptosis kit. The impact of miR-21-targeted MEG2 on the growth of lung tumor was detected by CCK-8, Transwell and apoptosis kit. **Results** Bioinformatics prediction showed that miR-21 specifically bounded to MEG2 3' UTR. As expected, a negative correlation between MEG2 and miR-21 in lung cancer tissues was found via Western blot and qRT-PCR assays. We further experimentally validated MEG2 as a direct target of miR-21 by evaluating MEG2 expression in lung cancer cells after the overexpression or knockdown of miR-21 and by luciferase assay (Fold change in overexpression group: A549 0.26, H1975 0.18; Fold change in knockdown group: A549 2.48, H1975 2.18). Moreover, we showed that miR-21 promoted proliferation (control 3.35, miR-21 4.78) and inhibited apoptosis (control 5.68, miR-21 3.28) of lung cancer cells by inhibiting MEG2. **Conclusion** A new regulatory axis in which miR-21 and MEG2 directly regulate the proliferation, invasion and apoptosis of lung cancer cells and lung tumorigenesis was identified.

Key words: Lung neoplasms/etiology; Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2; miR-21; Proliferation; Invasion; Apoptosis

肺癌是全球发病率和死亡率最高的肿瘤, 而非小细胞肺癌 (NSCLC) 占其 75% ~ 80%^[1-2], 因此, 阐

明肺癌发病的分子机制对于肺癌的治疗具有重要意义。

据报道,多种基因改变与肺癌发生和肿瘤进展有关,一些致癌基因如 HER2、EGFR 等被过表达^[3-6]。相反,许多肿瘤抑制基因如 P53 等被灭活或下调^[7-8]。

MEG2 是蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)家族的成员^[9]。PTPs 在细胞酪氨酸磷酸化水平调节和多种生理过程的调控中发挥重要作用。最近的研究报道,MEG2 能够通过促进 EGFR 和 ErbB2 的去磷酸化,从而抑制 STAT3 的激活,是乳腺癌的负调控因子。另外,MEG2 在胃癌中也作为抑癌基因发挥功能,提示在恶性肿瘤中,MEG2 可能充当着病理因子的角色^[10-12]。虽然部分报道发现 MEG2 在肺癌中低表达^[13],但是对于 MEG2 在肺癌发生发展过程中异常低表达及作用机制尚不完全清楚。

miRNAs 是大小为 20~22 个核苷酸的非编码小 RNA,它通过与靶 mRNAs 3'-UTR 结合,导致 mRNA 降解或翻译抑制,从而沉默靶基因的表达^[14]。研究表明 miRNAs 参与各种细胞过程的调控,包括细胞增殖、分化、转移、凋亡、发育以及代谢^[14-15]。

本研究于 2015 年 6 月至 2018 年 6 月间在体内外实验上探究了 miR-21 作为肿瘤抑制因子是否可通过靶向 MEG2 从而影响肺癌细胞的增殖、侵袭和凋亡及其中分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系和人体组织 人肺癌细胞系, A549 和 H1975,均来自中国科学院上海细胞库,用 10% 胎牛血清的 DMEM(Gibco, Carlsbad, CA, USA)培养基,在含 5% 二氧化碳的加湿空气中 37 °C 培养。肺癌和癌旁组织从驻马店市中心医院病人的外科手术中获取,并同每个捐赠者都签署了一份签名同意的表格。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。7 例肺癌病人的临床信息分别如下:①男, 64 岁, II A 型;②女, 60 岁, I B 型;③男, 47 岁, II A 型;④男, 49 岁, II B 型;⑤女, 41 岁, I B 型;⑥男, 39 岁, III A 型;⑦男, 54 岁, III B 型。

1.2 RNA 提取和实时荧光定量 PCR 总 RNA 提取、逆转录和 TaqMan 实时聚合酶链反应(PCR)均按照生产商的说明书进行操作,如前所述。为了定量 MEG2 的 mRNA, 1 μ L 的总 RNA 用 oligo dT 和 Thermoscript (TaKaRa)进行逆转录,反应条件如下: 42 °C, 60 min, 85 °C, 5 min。SYBER Green 染料(Invitrogen)、MEG2 和 GAPDH 的特异引物用于 qRT-PCR。引物的序列如下:MEG2 正向引物为 5'-CCTGCCTTAGACTGGGACT-3', MEG2 反向引物为 5'-TTCGCTTTGTTAGCTTCACT-3'。

GAPDH 正向引物为 5'-GATATTGTTGCCATCAATGAC-3', GAPDH 反向引物为 5'-TTGATTTTGAGGGATCTCG-3'。MEG2 mRNA 的相对定量以 GAPDH 基因进行归一化处理。

1.3 miRNA 的过表达或敲降 合成的 RNA 分子,包括前体 miR-21、反义 miR-21 和无义对照 RNA(miR 前体对照和反义对照)购买于 GenePharma(上海)。细胞接种在 6 孔板中,将细胞分为四组,24 h 后细胞密度在 70% 时分别用 Lipofectamine 2000(Invitrogen)进行转染。每孔中前体 miR-21、反义 miR-21 和无义对照 RNA 的用量均为 100 pmol。24 h 后收集细胞进行 qRT-PCR 和蛋白质印迹法实验。

1.4 质粒的构建和 siRNA 干扰分析 MEG2 过表达质粒(pReceiver-M02-MEG2)购买于 GeneCopoeia (Germantown, MD, USA),空载质粒作为对照。2 种靶向人 MEG2 基因的 siRNAs (siRNA-1: 5'-ACAGUUUCAUAGAGCCAUGAAGUAU-3'; siRNA-2: 5'-ACUUUGCUGUAACCCUGUA-3')购买于 GenePharma,无义的 siRNA (GenePharma)作为对照。总 RNA 或蛋白质在转染后 24 h 或 48 h 提取。MEG2 蛋白表达水平用蛋白质印迹法进行检测。

1.5 荧光素酶报告实验 为了验证 miR-21 与 MEG2 的直接结合,我们进行了荧光素酶报告实验。由 GenePharma 直接合成 MEG2 的正常和突变的 3'-UTR 序列,然后插入 PGL3 质粒(Ambion)。293 T 细胞在 24 孔板中培养,每孔均用 Lipofectamine 2000 转染了 β -半乳糖苷酶(β -gal)表达质粒(Ambion)和 0.2 μ g 的萤火虫荧光素酶报告质粒,以及等量的前体 miR-21 和无义对照 RNA,其中 β -半乳糖苷酶质粒用作对照。24 h 后,这些细胞通过荧光素酶分析试剂盒(Promega, Madison, WI, USA)进行分析。

1.6 蛋白质印迹法实验 蛋白质水平通过蛋白质印迹法检测,并且用 GAPDH 抗体进行归一化处理。所用抗体如下:MEG2 抗体(Abcam ab32441, Cambridge, MA, USA)和 GAPDH 抗体(sc-365062; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)。运用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度分析。

1.7 细胞增殖实验 将 A549 细胞以 1×10^4 的密度接种在 96 孔板中,并在 12 h 后转染。经转染后,每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂盒中的 WST-8 溶液(Beyotime, China)。孵育 2 h,分别在 3 个时间点(0 h, 12 h 和 60 h)读取在 450 nm 下的吸光度值。计算出的相对细胞数值即为 60 h 和 12 h 的吸光度之比。

1.8 细胞侵袭和凋亡分析实验 A549 细胞的侵袭实验和凋亡分析分别用 Transwell Boyden Chamber

(6.5 mm, Costar, Corning, NY, USA) 和 Annexin V-FITC/PI staining 试剂盒(BD Biosciences, San Diego, CA, USA) 进行测试。总凋亡细胞是早期凋亡(PI-AV+)和晚期凋亡(PI+AV+)细胞的总和。

1.9 统计学方法 所有的蛋白质印迹图都代表了三次以上独立实验的结果。qRT-PCR、荧光素酶报告实验、细胞增殖和凋亡分析也均为重复3次的实验结果。所有结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间的检验方法为 Student's t-test,两组以上的检验方法为 one-way ANOVA,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌组织中蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 蛋白和 mRNA 水平变化不一致 首先,我们检测了7对人肺癌组织的 MEG2 蛋白水平(图1A)。我们发现,在肺癌组织中 MEG2 蛋白水平均被下调(变化倍数依次为:0.19,0.83,0.21,0.05,0.42,0.37,0.09),随后,我们用 qRT-PCR 检测同样的7对癌和癌旁组织的 MEG2 mRNA 水平。结果显示 MEG2 mRNA 水平在癌和癌旁组织之间差异无统计学意义(变化倍数依次为:0.95,1.02,0.98,0.96,0.99,0.93,0.98)。在肺癌组织中,MEG2 蛋白和 mRNA 水平之间的这种差异,提示了 MEG2 的调节机制存在转录后调控。

2.2 蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 抑制肺癌细胞增殖,促进肺癌细胞凋亡 MEG2 在肺癌组织中的异常表达提示 MEG2 可能发挥肿瘤抑制因子的作用,可能参与肺癌细胞增殖、凋亡或其他生理过程。因此,我们主要研究了 MEG2 对肺癌细胞增殖和凋亡的影响。首先,我们分别在 A549 细胞中改变 MEG2 的表达水平检测 MEG2 在肺癌细胞生长中的作用。通过构建过表达质粒和 siRNA 分别过表达或抑制 MEG2,功能实验检测显示过表达 MEG2 能抑制肺癌

细胞的增殖速率($P < 0.001$),促进肺癌细胞凋亡(细胞凋亡率:对照组 5.16,质粒组 17.82, $P = 0.000$),而转染了 MEG2 siRNA 的肺癌细胞增殖速率加快($P = 0.000$),凋亡减少(细胞凋亡率:对照组 5.88,质粒组 3.28, $P = 0.000$),见图1B~E。综上所述证明,MEG2 能够影响肺癌细胞的增殖和凋亡。

2.3 miR-21 作为靶向蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 的预测 microRNA miRNA 抑制 mRNA 的翻译是一种常见的转录后调控方式。为了确定哪些 miRNAs 可以在肺癌细胞中靶向 MEG2,我们运用了三种算法,TargetScan,miRanda 和 PicTar 进行预测分析。在候选的 miRNAs 中,miR-21 是一种在肺癌中普遍被上调的促癌因子^[16-17]。

2.4 肺癌组织中 miR-21 和蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 水平呈负相关 依据 miRNAs 与其目标基因的负相关表达模式,我们接着研究了 miR-21 在临床病人组织中是否与 MEG2 水平呈负相关。在检测了7对肺癌组织和癌旁组织中的 miR-21 水平后,发现 miR-21 在肺癌组织中显著升高(值:LN 组为 0.96 0.33 0.23 0.18 0.06 0.11 0.08;LC 组为 2.86 1.32 0.96 0.85 0.94 0.54 0.62; $P = 0.000$)。基于生物信息学预测和人肺癌组织中 miR-21 和 MEG2 水平呈负相关的结果,提示了 MEG2 是 miR-21 的潜在靶基因。

2.5 验证蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 是 miR-21 的直接靶基因 通过对人肺癌细胞系 A549 和 H1975 中 miR-21 的过表达或敲降,进一步证实 miR-21 和 MEG2 的直接相关性。如预期一样,A549 细胞和 H1975 细胞中转染 miR-21 mimic 后,miR-21 的水平显著提高,转染反义 miR-21 后 miR-21 水平急剧下降。对应的,在两种细胞中,miR-21 的过表达显著

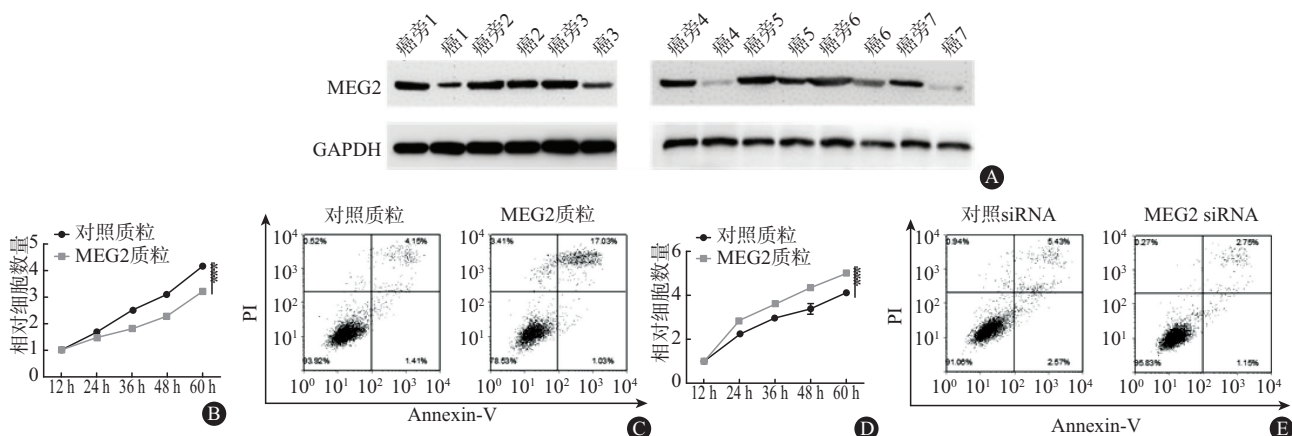


图1 肺癌组织中MEG2蛋白和mRNA表达水平及MEG2对肺癌细胞增殖和凋亡的影响:A为7对肺癌和癌旁组织MEG2的蛋白质印迹法代表图,B为在A549中过表达MEG2抑制细胞增殖($P = 0.001$),C为在A549中过表达MEG2促进细胞凋亡($P = 0.000$),D为在A549中敲降MEG2能促进细胞增殖($P = 0.001$),E为在A549中敲降MEG2能抑制细胞凋亡($P = 0.000$)

抑制了MEG2蛋白的表达(变化倍数:A549 0.26; H1975 0.18),促进Vimentin表达(变化倍数:A549 2.04; H1975 3.22);而miR-21的下调显著增加了肺癌细胞中的MEG2蛋白水平(变化倍数:A549 2.48; H1975 2.18)并抑制Vimentin表达(变化倍数:A549 0.16; H1975 0.08),见图2。

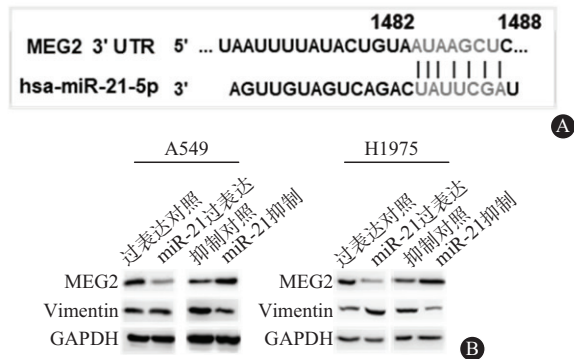


图2 miR-21直接转录后调控MEG2的表达:A为MEG2 3' UTR和miR-21形成双链的结合位点;B为A549细胞和H1975细胞转染了等量miR-21 mimics,反义miR-21(anti-miR-21)或无义对照RNA后蛋白质印迹法分析

为了证明miR-21对MEG2表达的负调控是通过miR-21与MEG2 mRNA 3' UTR预测位点的直接结合,我们进行了荧光素酶报告实验。在报告质粒中,我们把含有miR-21预测结合位点的全长3' UTR序列放置在萤火虫荧光素酶基因的下流。然后将重组质粒和miR-21 mimics共同转染进A549细胞。如预期一样,荧光素酶活性在共转入荧光素酶报告质粒和miR-21 mimics的细胞中显著减少(过表达:0.26, $P=0.001$;抑制:2.82, $P=0.036$)。然后我们引

入点突变,以消除miR-21与MEG2 3' UTR预测位点的结合。突变后的荧光素酶活性无论是在miR-21过表达还是敲降后均不受其影响。这一结果表明,该结合位点对miR-21和MEG2 mRNA之间的结合有着强烈的影响。综上所述,该结果证实了miR-21直接识别并结合到MEG2转录本的3' UTR区域进而抑制MEG2的翻译。

2.6 肺癌细胞中miR-21对蛋白酪氨酸磷酸酶MEG2的调控作用 我们进一步分析了miR-21通过抑制MEG2表达对肺癌细胞功能的影响。鉴于MEG2已报道能抑制细胞增殖,并促进凋亡^[18],我们猜测miR-21可能通过抑制MEG2表达,继而影响细胞的增殖和凋亡。如预期,A549细胞中miR-21过表达促进了细胞增殖($P=0.020$)并抑制了细胞凋亡(细胞凋亡率:对照5.68, miR-21过表达3.28; $P=0.000$);而抑制miR-21对肺癌细胞增殖($P=0.004$)和凋亡有相反的影响(细胞凋亡率:对照4.36, miR-21抑制13.08; $P=0.000$)。接着我们在A549细胞中进行了回复实验,蛋白分析结果显示,过表达miR-21能够减弱MEG2过表达质粒对MEG2的上调作用。更为重要的是,增殖和细胞凋亡分析显示,miR-21抵抗的MEG2过表达显著降低了miR-21对细胞增殖的促进($P=0.003$)作用和对凋亡的抑制作用(细胞凋亡率:对照5.21, miR-21过表达3.66, MEG2过表达11.88, miR-21+MEG2过表达4.02; $P=0.002$)。综上所述,MEG2对肺癌细胞的增殖和凋亡至关重要,而miR-21可能通过沉默MEG2进而促进肺癌细胞增殖,并抑制其凋亡。见图3。

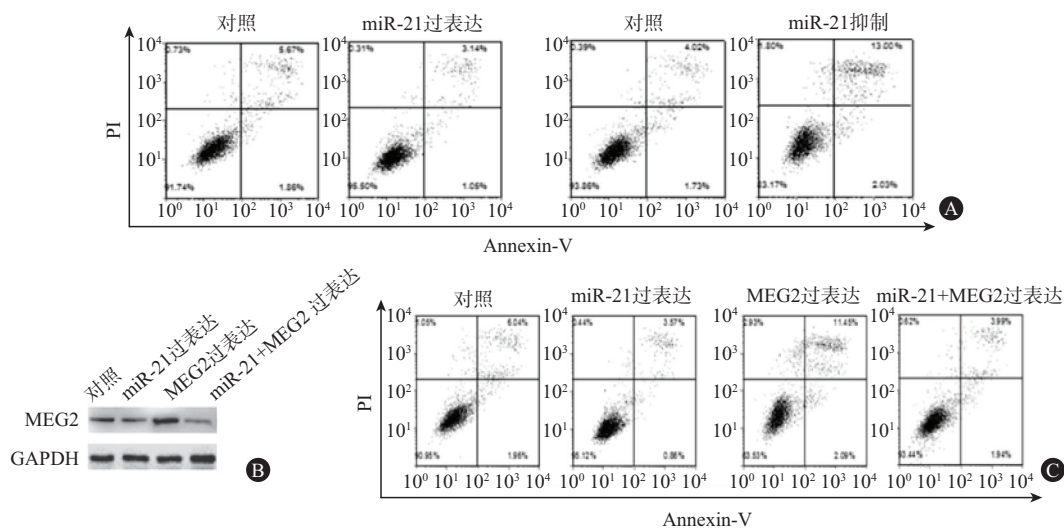


图3 miR-21和MEG2对肺癌细胞增殖和凋亡的影响:A为A549细胞转染了等量的miR-21 mimics或无义对照RNA、等量的反义miR-21或无义对照RNA后的24 h,分别进行了细胞凋亡检测($P=0.000$, $P=0.000$);B为A549细胞转染了等量的前体对照、miR-21 mimics、MEG2过表达质粒或miR-21 mimics和MEG2过表达质粒48 h,蛋白质印迹法分析MEG2蛋白表达变化;C为A549细胞转染了等量的前体对照、miR-21 mimics、MEG2过表达质粒或miR-21 mimics和MEG2过表达质粒后检测细胞的凋亡水平变化($P=0.002$)

2.7 信号转换器和转录激活因子3在转录水平促进miR-21的表达 我们进一步探究了miR-21在肺癌细胞中异常上调的分子机制,通过检索文献发现,转录因子STAT3可直接与miR-21启动子区结合进而促进miR-21的表达,为了在肺癌中验证这一现象,我们在A549细胞中分别用过表达质粒和siRNA上调和下调STAT3蛋白,然后检测miR-21的表达水平,结果发现上调STAT3可显著促进miR-21表达(变化倍数:3.79; $P=0.000$),而下调STAT3则显著抑制miR-21表达(变化倍数:0.42; $P=0.000$),说明在肺癌细胞中STAT3同样可直接促进miR-21的表达。

3 讨论

肺癌是全球发病率和死亡率最高的肿瘤,NSCLC约占所有原发性肺癌的75%~80%^[1-2]。新疗法的疗效目前仍然受到药物耐药性以及肿瘤细胞信号通路缺乏了解的限制。许多基因,如癌症抑制因子(抑癌基因)和癌症诱导因子(致癌基因)影响着肺癌的发生。蛋白酪氨酸磷酸酶(Protein Tyrosine Phosphatases, PTPs)是细胞功能的重要调控因子,PTPs失调是人类癌症的主要原因之一^[19-20]。蛋白酪氨酸磷酸酶MEG2(MEG2)是属于PTP组的细胞质磷酸酶^[21-22]。MEG2可以抑制STAT3(信号转换器和转录激活因子3)和ErbB家族[包括EGFR(表皮生长因子受体)和ErbB2]的去磷酸化,从而抑制受体酪氨酸激酶(RTK)的激活^[10-11]。MEG2蛋白在乳腺癌、前列腺癌、胃癌和肝癌中表达减少^[10, 23-24]。然而,在肺癌的发展过程中,MEG2的作用和调节机制尚未见报道。

本研究中我们观察到过表达MEG2能抑制肺癌细胞的增殖以及促进凋亡,而siRNA去沉默MEG2的表达则导致相反的效果,这提示MEG2蛋白在肺癌的发展过程中扮演着重要的抑癌基因的角色。有趣的是,我们发现了人肺癌组织中MEG2蛋白和mRNA水平之间的不一致趋势。这表明了调节MEG2表达的机制中存在转录后调控。这种调控方式的一个重要模式是通过miRNAs抑制mRNA的转录。因此,我们预测了靶向MEG2的miRNAs,并将miR-21作为候选对象。机制研究表明,miR-21可以直接结合MEG2的3'UTR,并抑制其在肺癌细胞中的表达。此外,我们还发现miR-21抑制MEG2表达,促进肺癌细胞增殖并抑制其凋亡,且转录因子STAT3可在肺癌中上调miR-21的表达。上述结果阐明了一条新的调控轴,即STAT3-miR-21通过靶向MEG2调节肺癌细胞的增殖和凋亡。

在过去数十年中,miRNAs在肺癌的发生发展过程中扮演着一个重要的角色^[15]。在目前的研究中,我们观察到,与邻近的癌旁组织相比,肺癌组织的miR-21水平更高。这表明,miR-21可能会作为肿瘤促进因子影响肿瘤发生。事实上,miR-21在多种癌症中都被上调,包括胃癌、乳腺癌和前列腺癌^[25-27]。此外,miR-21通过对增殖、转移、上皮-间质的转换以及细胞黏附的调节,在癌症中发挥促肿瘤的作用^[28-30]。图7中,我们发现过表达miR-21促进肺癌细胞增殖并抑制其凋亡,体内外的miR-21功能与沉默MEG2表达的效果类似。同时我们发现,恢复MEG2的表达减弱了miR-21对肺癌细胞的促增殖和抗凋亡的作用。尽管miR-21靶向多个目标,但上述结果表明其对MEG2的靶向调节是一种在肺癌中促进肿瘤的主要机制。

综上,本研究描述了一种新的调控轴,即miR-21作为促癌因子,在肺癌发生时抑制MEG2的表达。此研究可能为肺癌治疗开辟新的视野。

参考文献

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] RAMALINGAM SS, YANG JC, LEE CK, et al. Osimertinib as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(9): 841-849.
- [4] SORIA JC, OHE Y, VANSTEENKISTE J, et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2018, 378(2): 113-125.
- [5] DING L, GETZ G, WHEELER DA, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma[J]. Nature, 2008, 455(7216): 1069-1075.
- [6] HERBST RS, HEYMACH JV, LIPPMAN SM, et al. Lung cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 359(13): 1367-1380.
- [7] GAZDAR AF, BUNN PA, MINNA JD. Small-cell lung cancer: what we know, what we need to know and the path forward[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(12): 725-737.
- [8] DONG ZY, ZHONG WZ, ZHANG XC, et al. Potential predictive value of TP53 and KRAS mutation status for response to PD-1 blockade immunotherapy in lung adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(12): 3012-3024.
- [9] QI Y, ZHAO R, CAO H, et al. Purification and characterization of protein tyrosine phosphatase PTP-MEG2[J]. J Cell Biochem, 2002, 86(1): 79-89.
- [10] YUAN T, WANG Y, ZHAO ZJ, et al. Protein-tyrosine phosphatase PTPN9 negatively regulates ErbB2 and epidermal growth factor receptor signaling in breast cancer cells[J]. J Biol Chem, 2010,

- 285(20):14861-14870.
- [11] SU F, REN F, RONG Y, et al. Protein tyrosine phosphatase Meg2 dephosphorylates signal transducer and activator of transcription 3 and suppresses tumor growth in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2012, 14(2):R38.
- [12] HONG Y, LIANG H, UZAIR-UR-REHMAN, et al. miR-96 promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting PTPN9 in breast cancer[J]. Sci Rep, 2016, 6:37421.
- [13] YUE J, TIGYI G. MicroRNA trafficking and human cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(6):573-578.
- [14] HA M, KIM VN. Regulation of microRNA biogenesis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(8):509-524.
- [15] HAYES J, PERUZZI PP, LAWLER S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(8):460-469.
- [16] HE R, YANG L, LIN X, et al. MiR-30a-5p suppresses cell growth and enhances apoptosis of hepatocellular carcinoma cells via targeting AEG-1[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(12):15632-15641.
- [17] WEN XP, MA HL, ZHAO LY, et al. MiR-30a suppresses non-small cell lung cancer progression through AKT signaling pathway by targeting IGF1R[J]. Cell Mol Biol, 2015, 61(2):78-85.
- [18] LI L, YUAN L, LUO J, et al. MiR-34a inhibits proliferation and migration of breast cancer through down-regulation of Bcl-2 and SIRT1[J]. Clin Exp Med, 2013, 13(2):109-117.
- [19] OSTMAN A, HELLBERG C, BÖHMER FD. Protein-tyrosine phosphatases and cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(4):307-320.
- [20] WANG YW, SHI DB, CHEN X, et al. Clinicopathological significance of microRNA-214 in gastric cancer and its effect on cell biological behaviour[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e91307. DOI: 10.1371/journal.pone.0091307.
- [21] TONKS NK. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(11):833-846.
- [22] WANG YC, VACHON E, ZHANG JY, et al. Tyrosine phosphatase MEG2 modulates murine development and platelet and lymphocyte activation through secretory vesicle function[J]. J Exp Med, 2005, 202(11):1587-1597.
- [23] JUNG SN, SHIN DS, KIM HN, et al. Sugiol inhibits STAT3 activity via regulation of transketolase and ROS-mediated ERK activation in DU145 prostate carcinoma cells[J]. Biochem Pharmacol, 2015, 97(1):38-50.
- [24] HU BY, YAN X, LIU F, et al. Downregulated expression of PTPN9 contributes to human hepatocellular carcinoma growth and progression[J]. Pathol Oncol Res, 2016, 22(3):555-565.
- [25] ZHANG ZY, LI ZJ, GAO CP, et al. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression[J]. Lab Invest, 2008, 88(12):1358-1366.
- [26] YAN LX, HUANG XF, SHAO Q, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis[J]. RNA, 2008, 14(11):2348-2360.
- [27] RIBAS J, NI XH, HAFNER M, et al. miR-21: an androgen receptor-regulated microRNA that promotes hormone-dependent and hormone-independent prostate cancer growth[J]. Cancer Res, 2009, 69(18):7165-7169.
- [28] YANG Y, GUO JX, SHAO ZQ. miR-21 targets and inhibits tumor suppressor gene PTEN to promote prostate cancer cell proliferation and invasion: an experimental study[J]. Asian Pac J Trop Med, 2017, 10(1):87-91.
- [29] YI B, CHANG H, MA RX, et al. Inhibition of breast cancer cell motility with a non-cyclooxygenase inhibitory derivative of sulindac by suppressing TGFβ/miR-21 signaling[J]. Oncotarget, 2016, 7(7):7979-7992.
- [30] KUANG Y, NIE YJ. Exploration of the regulatory effect of miR-21 on breast cancer cell line proliferation and invasion as well as the downstream target genes[J]. Asian Pac J Trop Med, 2016, 9(5):456-459.

(收稿日期:2018-12-23,修回日期:2019-05-08)

◇ 编读往来 ◇

关于关键词标引的要求

关键词是为了文献标引工作从报告、论文中选取出来的用以表示全文主题内容信息款目的单词或术语。关键词包括叙词(主题词)和自由词两部分。主题词是专门为情报检索机构编制索引用的,它是从自然语言的主要词汇中选取后并加以规范化的词或词组;自由词是尚未规范化的词或词组。

GB/T 7713.3—2014规定,现代科技期刊都应在学术论文的摘要后面给出3~8个关键词(或叙词)。关键词的标引应按GB/T 3860—2009《文献主题标引规则》、CY/T 173—2019《学术出版规范关键词编写规则》的原则和方法,参照各种词表和工具书选取;请尽量使用美国国立医学图书馆编辑的最新版《Index Medicus》中的医学主题词表(MeSH)内所列的词,其中文译名可参照中国医学科学院信息研究所编译的《医学主题词注释字顺表》。如果MeSH表中尚无相应的词,可选用直接相关的几个主题词进行组配;可根据树状结构表选用最直接的上位主题词;必要时可以将新学科、新技术中的重要术语以及文章题名的人名、地名作为关键词标出(自由词),并排列于最后;忌用泛指词。

关键词中的缩写应按MeSH表还原为全称;每个英文关键词第一个字母大写,各词汇之间用分号;中、英文关键词要相对应。

(郝希春)