

引用本文:高慧,王丽,王景华.微小RNA-425-5p靶向调控PTEN表达促进宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移的实验研究[J].安徽医药,2021,25(12):2509-2513.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.12.041.

◇临床医学◇



微小RNA-425-5p靶向调控PTEN表达促进宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移的实验研究

高慧,王丽,王景华

作者单位:聊城市中医医院妇科,山东 聊城 252000

摘要: **目的** 探讨微小RNA(miR)-425-5p对宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移的影响及其机制。**方法** 2018年10月至2019年10月,利用Lipofectamine™ 2000将miR-425-5p模拟物(mimics)、抑制剂(inhibitor)及其阴性对照转染至海拉细胞中,采用实时荧光定量PCR检测细胞中miR-425-5p的表达情况,MTT法检测细胞增殖活力,平板克隆形成实验检测细胞克隆形成能力,Transwell小室实验检测细胞侵袭和迁移,蛋白质印迹法(Western blotting)检测细胞中磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)蛋白的表达。采用生物信息学软件预测、双荧光素酶报告基因实验验证miR-425-5p和PTEN的靶向关系。将PTEN过表达质粒pcDNA3.1-PTEN和PTEN干扰序列siRNA-PTEN转染至海拉细胞后,观察PTEN对海拉细胞增殖活力、克隆形成能力、侵袭能力和迁移能力的影响。**结果** 与各自阴性对照比较,miR-425-5p过表达可促进海拉细胞增殖[(142.25±11.32)%比(100.00±6.67)%]、克隆形成、侵袭[(133.28±9.86)个比(77.46±5.32)个]和迁移[(187.56±15.12)个比(115.35±10.26)个]并下调PTEN蛋白表达,而miR-425-5p低表达则抑制海拉细胞增殖[(58.38±3.45)比(100.00±5.74)]、克隆形成、侵袭[(43.32±3.62)个比(75.65±6.15)个]和迁移[(62.28±4.05)个比(109.72±9.84)个]并上调PTEN蛋白表达($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验证实,PTEN是miR-425-5p的靶基因;PTEN过表达可促进海拉细胞增殖[(66.52±4.36)%比(100.00±6.18)%]、克隆形成、侵袭[(46.23±3.13)个比(71.65±5.24)个]和迁移[(62.65±4.26)个比(108.42±8.57)个],而PTEN低表达则抑制海拉细胞增殖[(136.52±9.85)个比(100.00±7.05)个]、克隆形成、侵袭[(110.27±9.85)个比(70.52±6.18)个]和迁移[(168.78±16.96)个比(113.26±10.13)个]。**结论** miR-425-5p可通过靶向调控PTEN表达促进宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移。

关键词: 子宫肿瘤; 微小RNA-425-5p; 细胞增殖; 侵袭; 迁移; 磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)

miR-425-5p promotes proliferation, invasion and migration of HeLa cells by targeting regulation of PTEN expression

GAO Hui, WANG Li, WANG Jinghua

Author Affiliation: Department of Gynecology, Liaocheng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Liaocheng, Shandong 252000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of miR-425-5p on the proliferation, invasion and migration of cervical cancer HeLa cells and its mechanism. **Methods** From October 2018 to October 2019, Lipofectamine™ 2000 was used to transfect miR-425-5p mimics, inhibitor and its negative control into HeLa cells. The expression of miR-425-5p in the cells was detected by real-time fluorescent quantitative PCR, and the cell proliferation activity was detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. Plate colony formation assay was used to detect cell clone formation ability, Transwell chamber experiment was used to detect cell invasion and migration, and the expression levels of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) protein in cells was detected by Western blotting. Bioinformatics software prediction and dual luciferase reporter gene experiments were used to verify the targeting relationship between miR-425-5p and PTEN. The PTEN overexpression plasmids (pcDNA3.1-PTEN) and PTEN interference sequence (siRNA-PTEN) were transfected into HeLa cells, and the effects of PTEN on HeLa cell proliferation viability, clone formation ability, invasion ability and migration ability were observed. **Results** Compared with their negative controls, overexpression of miR-425-5p promoted HeLa cell proliferation [(142.25±11.32)% vs. (100.00±6.67)%], colony formation, invasion [(133.28±9.86) vs. (77.46±5.32)] and migration [(187.56±15.12) vs. (115.35±10.26)], and down-regulated PTEN protein expression, while low expression of miR-425-5p inhibited HeLa cell proliferation [(58.38±3.45) vs. (100.00±5.74)], clone formation, invasion [(43.32±3.62) vs. (75.65±6.15)] and migration [(62.28±4.05) vs. (109.72±9.84)], and up-regulated PTEN protein expression ($P<0.05$). Double luciferase reporter gene experiments confirmed that PTEN was a target gene of miR-425-5p; PTEN overexpression promoted HeLa cell proliferation [(66.52±4.36)% vs. (100.00±6.18)%], clone formation, invasion [(46.23±3.13) vs. (71.65±5.24)] and migration [(62.65±4.26) vs. (108.42±8.57) individual], while low PTEN expression inhibited HeLa cell proliferation [(136.52±9.85) vs. (100.00±7.05)], clone formation, invasion [(110.27±9.85) vs. (70.52±6.18)] and migration [(168.78±16.96) vs. (113.26±10.13)].

9.85) *vs.* (70.52±6.18)] and migration [(168.78±16.96) *vs.* (113.26±10.13)]. **Conclusion** miR-425-5p can promote the proliferation, invasion and migration of cervical cancer HeLa cells through targeted regulation of PTEN expression.

Key words: Uterine neoplasms; MiR-425-5p; Cell proliferation; Invasion; Migration; PTEN

宫颈癌是全球妇女中常见的第四大恶性肿瘤, 给女性的身体健康和生活质量造成很大的威胁^[1]。认识和了解宫颈癌发生发展的分子机制是实现全面消除宫颈癌的第一步^[2]。既往研究显示, 在宫颈癌中存在着异常表达的微小 RNA (miRNAs/miR), 而这些 miRNAs 是宫颈癌病理进展过程的重要调节因子^[3-5]。研究发现^[6-8], miR-425-5p 在宫颈癌病人组织和血清中高表达, 与病人临床分期、淋巴结转移等紧密联系, 但 miR-425-5p 在宫颈癌中的详细功能与机制仍未完全阐明。本研究于 2018 年 10 月至 2019 年 10 月考察 miR-425-5p 在宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移中的作用, 并探讨其潜在的分子机制, 以期对宫颈癌发病机制的深入研究提供新的启示。

1 材料与方法

1.1 海拉细胞培养 海拉细胞(美国 ATCC)采用含 10% 胎牛血清(美国 Gibco BRL 公司)的达尔伯克改良伊格尔培养基(DMEM 培养基)(美国 Hyclone 公司)在常规条件为 5% 二氧化碳、37 °C 的恒温培养箱(美国 Thermo 公司)中培养。

1.2 海拉细胞转染 在 6 孔板中接种 5×10^5 个对数生长期的海拉细胞, 常规培养至 70%~80% 融合度时, 参照转染试剂 Lipofectamine™ 2000(美国 Invitrogen 公司)说明书步骤进行瞬时转染。将转染 miR-425-5p 模拟物(mimics)/抑制剂(inhibitor)(上海吉玛制药公司)的细胞作为 miR-425-5p mimics/inhibitor 组, 转染 miR-425-5p mimics/inhibitor 阴性对照(上海吉玛制药公司)的细胞作为 mimics/inhibitor-NC 组; 转染 pcDNA3.1-PTEN 过表达载体质粒(上海钦诚生物公司)的细胞作为 pcDNA3.1-PTEN 组, 转染 pcDNA3.1 空载体质粒(上海钦诚生物公司)的细胞作为 pcDNA3.1 组; 转染 PTEN 干扰序列 siRNA-PTEN(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司)的细胞作为 siRNA-PTEN 组, 转染 siRNA-PTEN 阴性对照(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司)的细胞作为 siRNA-NC 组。转染 5 h 后, 更换新鲜 DMEM 培养基并维持 48 h。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测海拉细胞中 miR-425-5p 表达 收集转染 48 h 后的 miR-425-5p mimics/inhibitor 组、mimics/inhibitor-NC 组海拉细胞, 加入 1 mL Trizol 试剂(上海碧云天生物公司)获取总 RNA, 参照逆转录试剂盒(美国 Applied Biosystems 公司)随附步骤将 RNA

进行逆转录; 以获得的产物互补 DNA (cDNA) 作为模板, 参照定量 PCR 试剂盒(美国 Applied Biosystems 公司)说明书 [miR-425-5p 正向引物序列为 5'-TGCGGAATGAC-ACGATCACTCCCG-3', 反向引物序列为 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'; U6 正向引物序列为 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', 反向引物序列为 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGCAT-3'(上海吉玛制药公司)] 并按照设定的 PCR 扩增条件 (95 °C 2 min 后, 进入 40 个循环阶段: 95 °C 10 s、60 °C 20 s、72 °C 20 s; 72 °C 5 min) 上 PCR 仪(德国 Roche Diagnostics GmbH 公司)进行扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各组海拉细胞中 miR-425-5p 的相对于 U6 的表达水平。

1.4 MTT 法检测海拉细胞增殖 将转染后 5×10^3 个 miR-425-5p mimics/inhibitor 组、mimics/inhibitor-NC 组海拉细胞接种至 96 孔板, 并设置空白调零组: 无细胞培养基。常规培养 48 h 后, 每孔加入 20 μ L (浓度为 5 g/L) 噻唑蓝 (MTT) 溶液(美国 Sigma 公司); 孵育 4 h 后, 弃上清液并每孔加入 200 μ L DMSO(美国 Sigma 公司)震荡反应 15 min。在酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)490 nm 波长处检测各组海拉细胞吸光度, 并计算出各组细胞存活率 [细胞存活率 = (实验组吸光度 - 空白组吸光度) / (对照组吸光度 - 空白组吸光度) $\times$ 100%]。实验重复 3 次。后续 pcDNA3.1 组、pcDNA3.1-PTEN 组、siRNA-NC 组和 siRNA-PTEN 组细胞增殖活力检测方法同上。

1.5 平板克隆形成实验检测海拉细胞克隆形成能力 胰蛋白酶(美国 Hyclone 公司)消化收集 miR-425-5p mimics/inhibitor 组、mimics/inhibitor-NC 组细胞, 在培养皿中分别接种 50、100 和 200 个细胞, 每组设置 3 个平行实验。轻轻摇动使其分散均匀后, 常规培养 14~21 d。期间观察到培养皿中出现肉眼可见的克隆时, 终止培养。以 4% 多聚甲醛固定 20 min, 0.1% 结晶紫染色 15 min。冲洗并干燥后, 在显微镜(日本 Olympus 公司)中观察并计数大于 15 个细胞的克隆数, 并根据克隆数/接种细胞数 $\times$ 100% 计算出克隆形成率(%)。后续 pcDNA3.1 组、pcDNA3.1-PTEN 组、siRNA-NC 组和 siRNA-PTEN 组细胞克隆形成率检测方法同上。

1.6 Transwell 小室实验检测海拉细胞侵袭和迁移 (1) 侵袭实验: 将无血清培养基和 Matrigel 基质胶(美国 BD 公司)按照 6:1 比例混匀后, 取 50 μ L 平铺至 Transwell 小室(美国 Corning 公司)上层中, 置于

细胞培养箱中孵育 5 h 使基质胶充分凝固。收集 miR-425-5p mimics/inhibitor 组、mimics/inhibitor-NC 组细胞后,以无血清 DMEM 将细胞浓度调整为 10^5 个/毫升。在 Transwell 小室上室中添加 200 μ L 细胞悬液,并在下室中加入 600 μ L 含血清 DMEM。常规孵育 24 h 后,以 4% 多聚甲醛和 0.1% 结晶紫对滤膜下的细胞进行固定与染色。在显微镜下测量各组穿膜的海拉细胞数,结果取随机选取的 3 个视野细胞数的平均值。(2) 迁移实验:除了不需要以 Matrigel 基质胶对 Transwell 小室基底膜进行包被外,其余步骤与侵袭实验相同。后续 pcDNA3.1 组、pcDNA3.1-PTEN 组、siRNA-NC 组和 siRNA-PTEN 组细胞侵袭和迁移能力的检测方法同上。

1.7 蛋白质印迹法 (Western blotting) 检测海拉细胞中磷酸酶及张力蛋白同源基因 (PTEN) 蛋白表达 以 RIPA 裂解液(上海碧云天生物公司)获取待测海拉细胞总蛋白。将 100 $^{\circ}$ C 变性后的蛋白样品上样至十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(北京索莱宝生物公司)中行电泳分离后,转至聚偏二氟乙烯膜。以 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后,加入 PTEN 一抗(1:1 000,美国 Abcam 公司)4 $^{\circ}$ C 下孵育 24 h。再以辣根过氧化物酶标记二抗(1:2 000)室温孵育 2 h 后,暗室中滴加 ECL(上海碧云天生物公司)显影曝光。在凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)中扫描并分析海拉细胞中 PTEN 蛋白相对于内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)的表达水平。实验重复 3 次。

1.8 双荧光素酶报告基因实验检测 miR-425-5p 和 PTEN 的表达 将 PTEN-3' 非翻译区(UTR)片段克隆重组至荧光素酶载体上来构建 PTEN 野生型(WT)载体质粒,记为 PTEN-WT 质粒;另外,将 miR-425-5p 与 PTEN-3' UTR 结合位点定点突变后克隆重组至荧光素酶载体上来构建 PTEN 突变型(MUT)载体质粒,记为 PTEN-MUT 质粒。在 24 孔细胞板接种将 10^5 个对数生长期的海拉细胞,常规培养至 80% 融合度时,参照 LipofectamineTM 2000 说明书,将 PTEN-WT、PTEN-MUT 质粒分别与 miR-425-5p mimics/inhibitor 及其阴性对照共转染至海拉细胞中,其中每组设置 3 个复孔。转染 48 h 后依照荧光素酶活性检测试剂盒(美国 Promega 公司)随附指南测量细胞的荧光素酶活性。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示且均符合正态分布,多组间比较使用单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染后各组海拉细胞中 miR-425-5p 的表达水

平 实时荧光定量 PCR 检测结果显示, mimics-NC 组 (1.00 ± 0.05)、miR-425-5p mimics 组 (4.88 ± 1.23)、inhibitor-NC 组 (1.00 ± 0.06)、miR-425-5p inhibitor 组 (0.26 ± 0.02) 海拉细胞中 miR-425-5p 的表达水平比较差异有统计学意义 ($F = 34.585, P < 0.001$)。与 mimics-NC 组比较, miR-425-5p mimics 组明显升高 ($P < 0.05$); 与 inhibitor-NC 组比较, miR-425-5p inhibitor 组明显降低 ($P < 0.05$)。

2.2 miR-425-5p 对宫颈癌海拉细胞增殖的影响 MTT 法和平板克隆形成实验检测结果显示, 转染 miR-425-5p mimics 后海拉细胞存活率和克隆形成率均比 mimics-NC 组明显升高 ($P < 0.05$); 但转染 miR-425-5p inhibitor 后海拉细胞存活率和克隆形成率均明显低于 inhibitor-NC 组 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 各组细胞存活率和克隆形成率的比较/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	细胞存活率	克隆形成率
mimics-NC 组	3	100.00 ± 6.67	21.27 ± 2.15
miR-425-5p mimics 组	3	142.25 ± 11.32^{①}	36.56 ± 3.32^{①}
inhibitor-NC 组	3	100.00 ± 5.74	22.38 ± 2.21
miR-425-5p inhibitor 组	3	58.38 ± 3.45^{②}	10.62 ± 0.37^{②}
F 值		64.689	65.842
P 值		<0.001	<0.001

注: ①与 mimics-NC 组比较, $P < 0.05$ 。②与 inhibitor-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 miR-425-5p 对宫颈癌海拉细胞侵袭和迁移的影响 Transwell 小室实验检测结果显示, miR-425-5p mimics 组中侵袭和迁移细胞数均明显高于 mimics-NC 组, 而 miR-425-5p inhibitor 组中侵袭和迁移细胞数均比 inhibitor-NC 组明显减少 ($P < 0.05$)。见表 2、图 2。

表 2 转染 miR-425-5p 模拟物(mimics)/抑制剂(inhibitor)的细胞侵袭和迁移细胞数的比较/(个, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	侵袭细胞数	迁移细胞数
mimics-NC 组	3	77.46 ± 5.32	115.35 ± 10.26
miR-425-5p mimics 组	3	133.28 ± 9.86^{①}	187.56 ± 15.12^{①}
inhibitor-NC 组	3	75.65 ± 6.15	109.72 ± 9.84
miR-425-5p inhibitor 组	3	43.32 ± 3.62^{②}	62.28 ± 4.05^{②}
F 值		94.894	71.721
P 值		<0.001	<0.001

注: ①与 mimics-NC 组比较, $P < 0.05$ 。②与 inhibitor-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 miR-425-5p 靶基因预测及其验证 生物信息学软件 TargetScan (<http://www.targetscan.org>) 预测结果见图 3A, miR-425-5p 可靶向结合 PTEN 3' UTR; 双荧光素酶报告基因实验检测结果见表 3, 相比于转

染 mimics-NC, miR-425-5p mimics 可使 PTEN-WT 的荧光素酶活性明显降低 ($P<0.05$); 相较于转染 inhibitor-NC, miR-425-5p inhibitor 可使 PTEN-WT 的荧光素酶活性明显升高 ($P<0.05$)。同时, 蛋白质印迹法检测结果图 3B、表 3 所示, 与各自阴性对照组比较, miR-425-5p mimics 可使海拉细胞中 PTEN 蛋白表达水平明显降低, 而 miR-425-5p 可使海拉细胞中 PTEN 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.05$)。

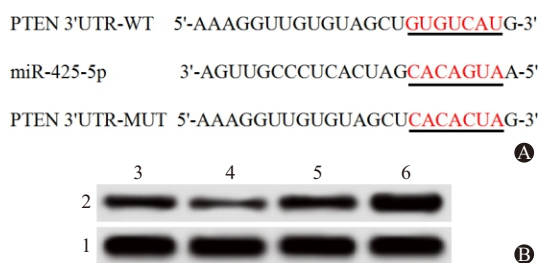


图 3 miR-425-5p 和 PTEN 靶向关系的验证: A 为 miR-425-5p 与 PTEN 3' 非翻译区(UTR)存在互补的结合位点, B 为蛋白质印迹法检测磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)蛋白表达电泳图

表 3 各组细胞荧光素酶活性和磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)蛋白表达水平的比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	荧光素酶活性		PTEN 蛋白
		PTEN-WT	PTEN-MUT	
mimics-NC 组	3	1.00±0.07	1.00±0.09	0.44±0.03
miR-425-5p mimics 组	3	0.25±0.03 ^①	1.02±0.09	0.21±0.03 ^①
inhibitor-NC 组	3	1.00±0.08	1.00±0.06	0.47±0.04
miR-425-5p inhibitor 组	3	4.66±1.13 ^②	0.99±0.07	1.02±0.06 ^②
F 值		36.742	0.077	144.531
P 值		<0.001	0.971	<0.001

注: ①与 mimics-NC 组比较, $P<0.05$ 。②与 inhibitor-NC 组比较, $P<0.05$ 。

2.5 PTEN 表达对宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移的影响 将 pcDNA3.1-PTEN 过表达质粒和靶向 PTEN 的小 RNA 干扰序列 siRNA-PTEN 转染至海拉细胞后, 进一步观察 PTEN 表达对宫颈癌海拉细胞

增殖和侵袭的影响, 结果见图 4、图 5、表 4。pcDNA3.1-PTEN 组细胞中 PTEN 蛋白表达水平比 pcDNA3.1 组高, 而细胞存活率、克隆形成率、侵袭细胞数和迁移细胞数均比 pcDNA3.1 组低 ($P<0.05$); siRNA-PTEN 组细胞中 PTEN 蛋白表达水平低于 siRNA-NC 组, 而细胞存活率、克隆形成率、侵袭细胞数和迁移细胞数均高于 siRNA-NC 组 ($P<0.05$)。

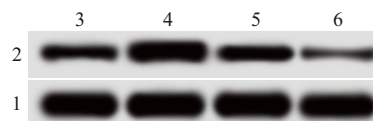


图 4 蛋白质印迹法检测各组细胞中磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)蛋白表达电泳图

3 讨论

3.1 miR-425-5p 促进宫颈癌海拉细胞的增殖、侵袭和迁移 miRNAs 是一类内源性非编码 RNA, 虽然只占人类基因的 1%, 但其已被证明与肿瘤发生发展密切相关^[9]。miR-425-5p 是 miRNAs 家族中的重要成员, 在肝癌、胰腺癌、结直肠癌等肿瘤中的水平异常升高, 且可通过对肿瘤细胞增殖、转移等过程的调节起促癌作用^[10-12]。例如: Quan 等^[13]在肾癌中发挥 miR-425-5p 表达水平明显上调, 且具有促进癌细胞增殖、侵袭、迁移和抑制细胞凋亡的作用, 被认为是肾癌发生发展过程中重要的致癌基因。Zhang 等^[14]研究发现, miR-425-5p 高表达是导致前列腺癌恶性发展的重要机制, 其作为促癌因子加速前列腺细胞增殖和转移等过程。Wu 等^[10]报道, miR-425-5p 在肝癌的恶性进展过程中发挥着积极作用, 其可通过靶向调控 FOXD3 表达促进癌细胞的增殖、迁移和侵袭并阻止细胞凋亡。

miR-425-5p 在宫颈癌中存在着异常高表达, 且其表达水平与病人不良预后密切相关^[7]; 然而, miR-425-5p 在宫颈癌发生发展中的作用机制并不完全清楚。本研究通过转染 miR-425-5p inhibitor 成功下

表 4 各组中磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)蛋白表达水平、细胞存活率、克隆形成率、侵袭细胞数和迁移细胞数的比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	PTEN 蛋白	细胞存活率/%	克隆形成率/%	侵袭细胞数/个	迁移细胞数/个
pcDNA3.1 组	3	0.38±0.03	100.00±6.18	23.18±3.25	71.65±5.24	108.42±8.57
pcDNA3.1-PTEN 组	3	0.96±0.06 ^①	66.52±4.36 ^①	12.26±1.57 ^①	46.23±3.13 ^①	62.65±4.26 ^①
siRNA-NC 组	3	0.42±0.03	100.00±7.05	21.48±3.16	70.52±6.18	113.26±10.13
siRNA-PTEN 组	3	0.17±0.02 ^②	136.52±9.85 ^②	32.05±3.84 ^②	110.27±9.85 ^②	168.78±16.96 ^②
F 值		158.174	48.102	20.901	48.763	47.046
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: ①与 pcDNA3.1 组比较, $P<0.05$ 。②与 siRNA-NC 组比较, $P<0.05$ 。

调 miR-425-5p 表达后, MTT 法检测发现宫颈癌海拉细胞增殖活力明显降低。该结论与 Zhang 等^[8]通过 MTT 法所得出的 miR-425-5p 低表达可抑制宫颈癌海拉细胞增殖的结论相符。此外, 本研究通过平板克隆形成实验进一步证实了下调 miR-425-5p 表达具有抑制宫颈癌海拉细胞增殖的作用, 上调 miR-425-5p 表达可增强宫颈癌海拉细胞增殖能力。另外, 本研究通过 Transwell 小室实验还检测到, miR-425-5p 高表达可促进宫颈癌海拉细胞侵袭和迁移, 而 miR-425-5p 低表达可抑制宫颈癌海拉细胞侵袭和迁移。以上数据表明, miR-425-5 作为宫颈癌的促癌因子, 通过影响宫颈癌的细胞增殖、侵袭和迁移加速宫颈癌的发生发展。

3.2 靶向 PTEN 是 miR-425-5p 调节宫颈癌海拉细胞增殖、侵袭和迁移的重要机制 PTEN 是一个定位于 10q23 染色体上的抑癌基因, 可通过脂质磷酸酶活性、蛋白磷酸酶活性和调控细胞内相关信号通路等影响细胞增殖、分化和迁移等过程, 并参与宫颈癌等肿瘤的发生发展^[15]。Peng 等^[16]研究指出, PTEN 在宫颈癌中呈现低表达, 且可被 miR-301a 靶向调控影响宫颈癌细胞增殖。另外, Zhu 等^[17]研究指出, PTEN 是 miR-641 下游靶基因, 在 miR-641 介导的宫颈癌细胞侵袭和迁移过程中发挥着重要的抑制作用。Xiao 等^[18]在乳腺癌研究中发现 miR-425-5p 可通过靶向调控 PTEN 表达促进癌细胞增殖和迁移。本研究证实, PTEN 是 miR-425-5p 的靶基因。本研究转染 pcDNA3.1-PTEN 过表达质粒成功上调 PTEN 表达后发现, 宫颈癌海拉细胞增殖、克隆形成、侵袭和迁移能力明显减弱; 转染 PTEN-siRNA 成功下调 PTEN 表达后发现, 宫颈癌海拉细胞增殖、克隆形成、侵袭和迁移能力明显增强。结果表明, PTEN 对宫颈癌海拉细胞的增殖、侵袭和迁移具有肿瘤抑制作用。

总之, 本研究提供了新的证据, 表明 miR-425-5p 促进宫颈癌恶性进展的作用机制是通过靶向调控 PTEN 表达来实现的。这种新发现的 miR-425-5p/PTEN 调控网络表明其有潜力成为未来宫颈癌病人的预后标志物和有效靶点。

(本文图 1, 2, 5 见插图 12-4)

参考文献

- [1] KOH WJ, ABU-RUSTUM NR, BEAN S, et al. Cervical Cancer, version 3.2019, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2019, 17(1): 64-84.
- [2] BRISSON M, DROLET M. Global elimination of cervical cancer as a public health problem [J]. The Lancet Oncology, 2019, 20

- (3): 319-321.
- [3] BABION I, JASPERS A, SPLUNTER APVAN, et al. miR-9-5p exerts a dual role in cervical cancer and targets transcription factor TWIST1 [J]. Cells, 2020, 9(1): 9010065. DOI: 10.3390/cells9010065.
- [4] LIU Z, MAO L, WANG L, et al. miR218 functions as a tumor suppressor gene in cervical cancer [J]. Mol Med Rep, 2020, 21(1): 209-219.
- [5] ZHU J, HAN S. miR-150-5p promotes the proliferation and epithelial-mesenchymal transition of cervical carcinoma cells via targeting SRCIN1 [J]. Pathology-Research and Practice, 2019, 215(4): 738-747.
- [6] SUN L, JIANG R, LI J, et al. MicoRNA-425-5p is a potential prognostic biomarker for cervical cancer [J]. Annals of Clinical Biochemistry, 2017, 54(1): 127-133.
- [7] 朱军, 赵琴. miR-425-5p 在宫颈癌中的表达及临床意义 [J]. 中国生育健康杂志, 2017, 28(4): 361-363.
- [8] ZHANG Y, YANG Y, LIU R, et al. Downregulation of microRNA4255p suppresses cervical cancer tumorigenesis by targeting AIFM1 [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2019, 17(5): 4032-4038.
- [9] MOLLAEI H, SAFARALIZADEH R, ROSTAMI Z. MicroRNA replacement therapy in cancer [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 12369-12384.
- [10] WU H, SHANG J, ZHAN W, et al. miR4255p promotes cell proliferation, migration and invasion by directly targeting FOXD3 in hepatocellular carcinoma cells [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1883-1892.
- [11] LU Y, WU X, WANG J. Correlation of miR-425-5p and IL-23 with pancreatic cancer [J]. Oncology Letters, 2019, 17(5): 4595-4599.
- [12] ANGIUS A, PIRA G, SCANU AM, et al. MicroRNA-425-5p expression affects BRAF/RAS/MAPK pathways in colorectal cancers [J]. International Journal of Medical Sciences, 2019, 16(11): 1480.
- [13] QUAN J, LI Y, PAN X, et al. Oncogenic miR4255p is associated with cellular migration, proliferation and apoptosis in renal cell carcinoma [J]. Oncology Letters, 2018, 16(2): 2175-2184.
- [14] ZHANG JY, SU XP, LI YN, et al. MicroRNA-425-5p promotes the development of prostate cancer via targeting forkhead box J3 [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019, 23(2): 547-554.
- [15] SHEN F, ZHENG H, ZHOU L, et al. Identification of CD28 and PTEN as novel prognostic markers for cervical cancer [J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(5): 7004-7011.
- [16] PENG L, SHI W, FENG H, et al. Effect of miR-301a/PTEN pathway on the proliferation and apoptosis of cervical cancer [J]. Innate Immunity, 2019, 25(4): 217-223.
- [17] ZHU Y, LIU B, ZHANG P, et al. LncRNA TUSC8 inhibits the invasion and migration of cervical cancer cells via miR-641/PTEN axis [J]. Cell Biology International, 2019, 43(7): 781-788.
- [18] XIAO S, ZHU H, LUO J, et al. miR4255p is associated with poor prognosis in patients with breast cancer and promotes cancer cell progression by targeting PTEN [J]. Oncology Reports, 2019, 42(6): 2550-2560.

(收稿日期: 2020-02-03, 修回日期: 2020-04-01)