

引用本文:许志波.微RNA-132-3p靶向第10号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物调控葡萄膜黑色素瘤细胞增殖与凋亡[J].安徽医药,2023,27(3):592-596.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.03.038.

◇临床医学◇



微RNA-132-3p靶向第10号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物调控葡萄膜黑色素瘤细胞增殖与凋亡

许志波

作者单位:惠州市第六人民医院眼科,广东 惠州 516200

摘要: **目的** 研究微RNA(miR)-132-3p在葡萄膜黑色素瘤细胞增殖、凋亡中的作用及其作用机制。**方法** 该研究起止时间为2018年2月至2019年7月。定量聚合酶链反应(qPCR)检测正常葡萄膜上皮细胞ARPE-19和葡萄膜黑色素瘤细胞SP6.5、M23中miR-132-3p表达。SP6.5细胞中转染miR-132-3p干扰质粒(anti-miR-132-3p)、第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)过表达质粒(pcDNA3.1-PTEN)或共转染anti-miR-132-3p和PTEN干扰质粒(si-PTEN),MTT法和流式细胞术分别检测细胞增殖与凋亡,蛋白质印迹法检测PTEN、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、周期素依赖激酶抑制剂p21(P21)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达,生物信息学预测结合双萤光素酶报告实验分析miR-132-3p与PTEN的靶向关系。**结果** 与ARPE-19细胞相比,SP6.5、M23细胞中miR-132-3p表达量(0.26 ± 0.02 比 0.94 ± 0.09 、 0.81 ± 0.08)明显升高($P < 0.05$)。与anti-miR-132-3p阴性对照(anti-miR-NC)组相比,anti-miR-132-3p组24 h、48 h、72 h的细胞活性(0.51 ± 0.05 比 0.30 ± 0.03 、 0.97 ± 0.09 比 0.45 ± 0.05 、 1.40 ± 0.14 比 0.76 ± 0.07)、cyclin D1、Bcl-2蛋白表达量显著降低($P < 0.05$),细胞凋亡率[(8.03 ± 0.68)%比(21.51 ± 2.06)%],P21、Bax水平明显提高($P < 0.05$),与过表达PTEN相同。miR-132-3p与PTEN之间有靶向调控关系。抑制PTEN能逆转抑制miR-132-3p对SP6.5细胞增殖的抑制作用及对细胞凋亡的促进作用。**结论** miR-132-3p通过直接靶向PTEN调控葡萄膜黑色素瘤细胞增殖与凋亡。

关键词: 微RNAs; 染色体,人,10对; 黑色素瘤; 葡萄膜肿瘤; 细胞周期蛋白D1; 周期素依赖激酶抑制剂p21; Bcl-2相关X蛋白质; 磷酸酶和张力蛋白同源物; 增殖; 凋亡

MicroRNA-132-3p targets phosphatase and tensin homolog to regulate proliferation and apoptosis of uveal melanoma cells

XU Zhibo

Author Affiliation: Ophthalmology, Sixth People's Hospital of Huizhou City, Huizhou, Guangdong 516200, China

Abstract: **Objective** To investigate the role of microRNA-132-3p (miR-132-3p) in the proliferation and apoptosis of uveal melanoma cells and its mechanism. **Methods** The study started and ended from February 2018 to July 2019. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the expression of miR-132-3p in normal uveal epithelial cells ARPE-19 and uveal melanoma cells SP6.5 and M23. SP6.5 cells were transfected with miR-132-3p interfering plasmid (anti-miR-132-3p), phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) overexpression plasmid (pcDNA3.1-PTEN) or co-transfected with anti-miR-132-3p and PTEN interfering plasmid (si-PTEN), and cell proliferation and apoptosis were determined by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay and flow cytometry, respectively. Western blot was applied to detect the expression of PTEN, cyclin D1, P21, B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and Bcl-2 associated X protein (Bax) protein. The targeting relationship between miR-132-3p and PTEN was detected by bioinformatics prediction and dual luciferase reporter. **Results** Compared with ARPE-19 cells, the expression of miR-132-3p (0.26 ± 0.02 vs. 0.94 ± 0.09 , 0.81 ± 0.08) in SP6.5 and M23 cells were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the anti-miR-132-3p negative control (anti-miR-NC) group, the cell viability (0.51 ± 0.05 vs. 0.30 ± 0.03 , 0.97 ± 0.09 vs. 0.45 ± 0.05 , 1.40 ± 0.14 vs. 0.76 ± 0.07), cyclin D1 and Bcl-2 protein expressions of the anti-miR-132-3p group at 24 h, 48 h and 72 h significantly were significantly decreased ($P < 0.05$), while the apoptosis rate [(8.03 ± 0.68)% vs. (21.51 ± 2.06)%], P21 and Bax levels were evidently increased ($P < 0.05$), which was the same as overexpression of PTEN. There was a targeted regulatory relationship between miR-132-3p and PTEN. Inhibition of PTEN reversed the inhibitory effect of miR-132-3p on the proliferation of SP6.5 cells and the promotion effect of cell apoptosis. **Conclusion** miR-132-3p regulates proliferation and apoptosis of uveal melanoma cells by directly targeting PTEN.

Key words: MicroRNAs; Chromosomes, human, pair 10; Melanoma; Uveal neoplasms; Cyclin D1; Cyclin-dependent kinase inhibitor p21; Bcl-2-associated X protein; Phosphatase and tensin homologues; Proliferation; Apoptosis

葡萄膜黑色素瘤是一种罕见的癌症,也是最常见的一种成人原发性眼内肿瘤^[1]。虽然通过手术摘除或放射治疗是控制眼内肿瘤的好方法,但高达一半的病人会发展为远处转移性疾病,致使病人预后很差^[2-3]。对于转移性葡萄膜黑色素瘤尚无有效的治疗方法,大多数病人转移后存活不到12个月^[3]。目前,葡萄膜黑色素瘤的发病机制仍不明确,并且缺乏有效的生物标志物能够识别高风险病人。因此迫切需要筛选肿瘤特异性预后因子以预测病人预后。微RNA(miRNA/miR)是一类高度保守的小分子内源性非编码RNA,日益成为肿瘤等各种疾病发生的重要调节因子^[4],也可作为葡萄膜黑色素瘤的潜在生物标志物^[5]。有研究对不同病理类型的葡萄膜黑色素瘤组织和正常葡萄膜黑色素组织进行miRNA的差异分析,发现microRNA-132-3p(miRNA-132-3p, miR-132-3p)在梭形和上皮细胞型葡萄膜黑色素瘤组织中表达上调^[6],然而miR-132-3p对葡萄膜黑色素瘤细胞生物行为的影响及其机制尚未见相关报道。本研究于2018年2月至2019年7月利用体外细胞实验,观察miR-132-3p在葡萄膜黑色素瘤细胞增殖和凋亡中的作用,并进一步探索其可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 正常葡萄膜上皮细胞系ARPE-19和葡萄膜黑色素瘤细胞系SP6.5、M23购自武汉大学医学实验中心,胎牛血清、洛斯维·帕克纪念研究所-1640(RPMI-1640)培养基购自美国Gibco公司, Lipofectamine 2000试剂购自美国Invitrogen公司,膜联蛋白V(Annexin V)-异硫氰酸荧光素(FITC)/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒购自江苏凯基生物公司,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、周期素依赖激酶抑制剂p21(P21)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)一抗购自美国Cellular Signaling Technology公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗购自上海碧云天生物技术有限公司,miR-132-3p、miR-132-3p干扰质粒(anti-miR-132-3p)、PTEN过表达质粒(pcDNA3.1-PTEN)、荧光素酶报告载体购自上海吉玛生物有限公司。

1.2 细胞培养与转染 正常葡萄膜上皮细胞系ARPE-19、葡萄膜黑色素瘤细胞系SP6.5、M23细胞中接种至含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基内,培养于饱和湿度、37℃、5%二氧化碳的培养箱。取对数生长期的SP6.5细胞,按 2×10^5 个/mL接种至6孔板,利用Lipofectamine 2000试剂,将miR-132-3p、

anti-miR-132-3p、pcDNA3.1-PTEN及其相应的阴性对照转染至SP6.5细胞,转染完成48 h后进行后续研究。

1.3 定量聚合酶链反应(qPCR)检测 miR-132-3p 表达 取对数生长期的ARPE-19、SP6.5、M23细胞, TRIzol法提取总RNA并将其逆转录为互补DNA(cDNA),进行qPCR反应。miR-132-3p正向引物5'-GCGCGCGTAACAGTCTACAGC-3',反向引物5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCC-3'。U6正向引物5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3',反向引物5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGT-3'。以U6为内参,根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-132-3p的相对表达量。

1.4 MTT法检测细胞增殖 收集各组SP6.5细胞,加胰酶消化并调整细胞密度为 2×10^4 个/毫升。将细胞悬液接种至96孔板(100微升/孔),常规培养24 h、48 h、72 h后,分别加入100 μL的MTT溶液孵育4 h,加入200 μL的二甲基亚砷后置于摇床上孵育10 min。多功能酶标仪测定各孔490 nm波长处SP6.5细胞吸光度值,吸光度值越大,表明细胞活性越强。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡 收集各组SP6.5细胞,加入500 μL结合缓冲液悬浮细胞,分别加入5 μL Annexin V-FITC染色液和5 μL PI染色液,室温条件下避光反应15 min,通过流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.6 蛋白质印迹法检测PTEN、cyclin D1、P21、Bcl-2、Bax蛋白表达 收集各组SP6.5细胞,分别加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液,提取总蛋白,将蛋白沸水浴变性后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜。5%脱脂奶粉常温封闭1 h,加入一抗(稀释比1:1 000)4℃孵育24 h,加Tris-HCl-Tween缓冲盐溶液(TBST)漂洗3次,加入二抗(稀释比1:2 000)37℃孵育1 h,再次用TBST进行充分漂洗后加化学发光液进行显影。以GAPDH为内参,计算PTEN、cyclin D1、P21、Bcl-2、Bax蛋白相对表达量。

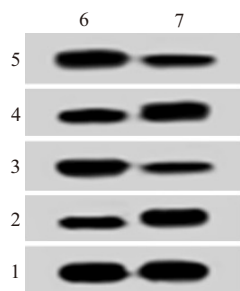
1.7 双荧光素酶报告实验 利用TargetScan数据库预测miR-132-3p的靶基因,发现miR-132-3p与PTEN的3'非编码区(3'UTR)存在结合位点。构建含miR-132-3p结合位点的PTEN 3'UTR野生型(WT-PTEN)及突变型(MUT-PTEN)报告基因载体,将其分别与miR-132-3p、miR-132-3p阴性对照(miR-NC)共转染至S65细胞,48 h后根据双荧光素酶报告基因检测试剂盒操作步骤,检测细胞双荧光素酶相对活性。

1.8 统计学方法 采用SPSS 22.0软件进行统计。计量数据表示为 $\bar{x} \pm s$,两组间比较用两独立样本t检验;多组间比较用单因素方差分析,多组间两两比较用SNK-q检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-132-3p在细胞ARPE-19、SP6.5和M23中的表达 qPCR检测结果显示,miR-132-3p在葡萄膜黑色素瘤细胞SP6.5、M23及正常葡萄膜上皮细胞ARPE-19中表达量为 0.94 ± 0.09 、 0.81 ± 0.08 、 0.26 ± 0.02 ($F=78.70$, $P<0.001$);SP6.5、M23均高于ARPE-19 ($P<0.05$)。选择差异最显著的SP6.5细胞开展后续研究。

2.2 抑制miR-132-3p对细胞SP6.5增殖、凋亡的影响 在SP6.5细胞中转染anti-miR-132-3p,与anti-miR-NC组比较,miR-132-3p表达量大幅减少,24 h、48 h、72 h的细胞活性明显降低,细胞凋亡率显著增加,cyclin D1、Bcl-2蛋白表达量降低而P21、Bax水平提高,上述差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见图1,2;表1,2。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—Bcl-2相关X蛋白(Bax);3—B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2);4—周期素依赖激酶抑制剂p21(P21);5—细胞周期蛋白D1(cyclin D1);6—anti-miR-NC组;7—anti-miR-132-3p组。

图2 抑制miR-132-3p对葡萄膜黑色素瘤细胞SP6.5增殖、凋亡蛋白表达的影响

表2 抑制miR-132-3p对葡萄膜黑色素瘤细胞SP6.5凋亡的影响/ $\bar{x}\pm s$

组别	重复次数	Bcl-2蛋白	Bax蛋白	凋亡率/%
anti-miR-NC	3	0.73 ± 0.07	0.31 ± 0.03	8.03 ± 0.68
anti-miR-132-3p	3	0.18 ± 0.02	0.85 ± 0.08	21.51 ± 2.06
<i>t</i> 值		13.09	10.95	10.76
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:miR-132-3p为微RNA-132-3p,Bcl-2为B细胞淋巴瘤-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白。

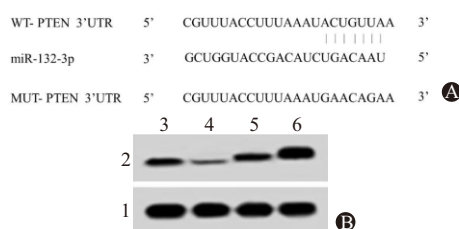
2.3 miR-132-3p靶向、调控PTEN 生物学信息工

表1 抑制miR-132-3p对葡萄膜黑色素瘤细胞SP6.5增殖的影响/ $\bar{x}\pm s$

组别	重复次数	miR-132-3p	cyclin D1蛋白	P21蛋白	吸光度(490 nm)		
					24 h	48 h	72 h
anti-miR-NC	3	0.90 ± 0.09	0.84 ± 0.08	0.36 ± 0.04	0.51 ± 0.05	0.97 ± 0.09	1.40 ± 0.14
anti-miR-132-3p	3	0.38 ± 0.04	0.25 ± 0.02	1.02 ± 0.10	0.30 ± 0.03	0.45 ± 0.05	0.76 ± 0.07
<i>t</i> 值		9.14	12.39	10.61	5.71	8.75	7.08
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:miR-132-3p为微RNA-132-3p,cyclin D1为细胞周期蛋白D1,P21为周期素依赖激酶抑制剂p21。

具预测结果发现,PTEN的3'UTR部分碱基内含有miR-132-3p的结合位点,见图3A。与miR-NC组比,miR-132-3p组WT-PTEN荧光素酶相对活性显著降低(1.02 ± 0.10 比 0.21 ± 0.02 , $t=13.76$, $P<0.05$),MUT-PTEN荧光素酶相对活性差异无统计学意义(1.00 ± 0.10 比 0.98 ± 0.09 , $t=0.26$, $P>0.05$)。与miR-NC组比,miR-132-3p组PTEN表达量显著降低(0.22 ± 0.02 比 0.07 ± 0.01 , $t=11.62$, $P<0.05$),与anti-miR-NC组比,anti-miR-132-3p组PTEN表达量显著升高(0.19 ± 0.02 比 0.60 ± 0.06 , $t=11.23$, $P<0.05$),见图3B。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN);3—miR-NC组;4—miR-132-3p组;5—anti-miR-NC组;6—anti-miR-132-3p组。

图3 miR-132-3p靶向、调控PTEN:A为PTEN的3'非翻译区(3'UTR)含有miR-132-3p的互补序列;B为miR-132-3p调控PTEN的表达

2.4 过表达PTEN对细胞S65增殖、凋亡的影响 在S65细胞中转染pcDNA3.1-PTEN,结果发现,相比于pcDNA3.1-PTEN阴性对照(pcDNA3.1)组,PTEN蛋白表达量明显升高,24 h、48 h、72 h的细胞活性逐渐降低,细胞凋亡率有所增加,Bcl-2、cyclin D1水平显著降低而P21、Bax表达量明显提高,上述差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表3,4。

2.5 抑制PTEN可逆转抑制miR-132-3p对细胞SP6.5增殖、凋亡的影响 与anti-miR-NC组比较,抑制miR-132-3p显著影响SP6.5细胞PTEN蛋白表达量、24 h、48 h、72 h的细胞活性、细胞凋亡率和cyclin D1、P21、Bcl-2、Bax蛋白水平 ($P<0.05$),结果同“2.2”“2.3”。与anti-miR-132-3p+si-NC组比较,anti-miR-132-3p和si-PTEN共转染入SP6.5细胞,24 h、48 h、72 h的细胞活性和cyclin D1、Bcl-2蛋白表达水平提高,细胞凋亡率和PTEN、P21、Bax蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)。见表5,6。

表3 过表达PTEN对葡萄膜黑色素瘤细胞SP6.5增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	PTEN 蛋白	cyclin D1 蛋白	P21 蛋白	吸光度(490 nm)		
					24 h	48 h	72 h
pcDNA3.1	3	0.20±0.02	0.84±0.08	0.36±0.04	0.51±0.05	0.97±0.09	1.40±0.14
pcDNA3.1-PTEN	3	0.53±0.05	0.37±0.03	0.80±0.08	0.35±0.03	0.52±0.05	0.88±0.08
<i>t</i> 值		10.61	9.53	8.52	4.75	7.57	5.59
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.001	0.009	0.002	0.005

注:PTEN为第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物,cyclin D1为细胞周期蛋白D1,P21为周期素依赖激酶抑制剂p21。

表4 过表达PTEN对细胞SP6.5凋亡的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白	凋亡率/%
pcDNA3.1	3	0.73±0.07	0.31±0.03	8.03±0.68
pcDNA3.1-PTEN	3	0.27±0.03	0.69±0.07	18.59±1.76
<i>t</i> 值		10.46	8.64	9.96
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.001

注:PTEN为第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物,Bcl-2为B细胞淋巴瘤-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白。

表6 抑制PTEN能逆转抑制miR-132-3p对细胞SP6.5凋亡的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白	凋亡率/%
anti-miR-NC	3	0.73±0.07	0.31±0.03	8.03±0.68
anti-miR-132-3p	3	0.18±0.02 ^①	0.85±0.08 ^①	21.51±2.06 ^①
anti-miR-132-3p+si-NC	3	0.16±0.02	0.86±0.08	21.36±2.10
anti-miR-132-3p+si-PTEN	3	0.45±0.04 ^②	0.53±0.05 ^②	12.37±1.21 ^②
<i>F</i> 值		118.24	52.71	51.29
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:PTEN为第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物,miR-132-3p为微RNA-132-3p,Bcl-2为B细胞淋巴瘤-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白。

①与anti-miR-NC组比较, $P<0.05$ 。②与anti-miR-132-3p+si-NC组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

miRNA是一种短链非编码RNA,长度从18到25个核苷酸不等,在葡萄膜黑色素瘤等肿瘤进程中发挥抑癌或致癌作用^[7],如miR-21^[8],miR-9^[9],miR-

181^[10]。既往研究表明,miR-132-3p参与结直肠癌^[11]、血管平滑肌脂肪瘤^[12]、胃癌^[13]等肿瘤发生发展过程。miR-132-3p在神经胶质瘤内皮细胞中的表达明显上调^[14],miR-132-3p在结直肠癌细胞中的表达下调,上调miR-132-3p的表达可显著抑制肿瘤细胞增殖、转移和迁移并促进细胞凋亡^[15]。miR-132-3p过表达显著抑制骨肉瘤MG-63细胞增殖,并使细胞凋亡率明显增加,在骨肉瘤中起肿瘤抑制因子作用^[16]。本研究,miR-132-3p在SP6.5、M23细胞中表达上调,与前人研究^[7,15]结果一致。同时,抑制miR-132-3p表达显著降低24 h、48 h、72 h的SP6.5细胞活性及cyclin D1、Bcl-2蛋白表达水平($P<0.05$),提高细胞凋亡率和P21、Bax蛋白表达水平($P<0.05$),表明抑制miR-132-3p表达可以抗葡萄膜黑色素瘤细胞增殖并诱导其凋亡,具有抗葡萄膜黑色素瘤作用。

PTEN是一种著名的抗肿瘤基因^[17],在葡萄膜黑色素瘤中具有抑癌作用^[18]。Abdel-Rahman等^[19]第一次证明PTEN是一种肿瘤抑制因子,参与葡萄膜黑色素瘤的发病机制,可能与临床结果有关。PTEN载体的过度表达抑制葡萄膜黑色素瘤MUM-2B细胞的侵袭^[20]。在恶性黑色素瘤中,PTEN表达量明显降低,其缺失与恶性黑色素瘤进展密切相关^[21]。本研究中,过表达PTEN明显抑制24 h、48 h、72 h的SP6.5细胞活性和Bcl-2、cyclin D1水平($P<0.05$),提升细胞凋亡率和P21、Bax表达量($P<$

表5 抑制PTEN可逆转抑制miR-132-3p对细胞SP6.5增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	PTEN	cyclin D1 蛋白	P21 蛋白	吸光度(490 nm)		
					24 h	48 h	72 h
anti-miR-NC	3	0.20±0.02	0.84±0.08	0.36±0.04	0.51±0.05	0.97±0.09	1.40±0.14
anti-miR-132-3p	3	0.58±0.06 ^①	0.25±0.02 ^①	1.02±0.10 ^①	0.30±0.03 ^①	0.45±0.05 ^①	0.76±0.07 ^①
anti-miR-132-3p+si-NC	3	0.57±0.06	0.24±0.02	1.03±0.10	0.30±0.03	0.43±0.04	0.74±0.07
anti-miR-132-3p+si-PTEN	3	0.38±0.04 ^②	0.56±0.05 ^②	0.70±0.07 ^②	0.41±0.04 ^②	0.68±0.07 ^②	1.05±0.10 ^②
<i>F</i> 值		42.38	101.56	45.72	21.62	44.56	29.15
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:PTEN为第10号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物,miR-132-3p为微RNA-132-3p,cyclin D1为细胞周期蛋白D1,P21为周期素依赖激酶抑制剂p21。

①与anti-miR-NC组比较, $P<0.05$ 。②与anti-miR-132-3p+si-NC组比较, $P<0.05$ 。

0.05),与抑制 miR-132-3p 表达结果相同。PTEN 抑制葡萄膜黑色素瘤的作用与前述报道相同,为 PTEN 作为肿瘤抑制因子增加了新的证据。

大量资料显示,miRNA 通过与靶 mRNA 的 3' UTR 互补位点碱基配对,导致 mRNA 降解、裂解或翻译抑制,从而调控基因表达^[22]。研究表明,在乳腺癌细胞中,PTEN 是 miR-132 和 miR-212 的直接靶点,miR-132 或 miR-212 处理显著降低乳腺癌细胞 MCF-7 中 PTEN 表达^[23]。在阿尔茨海默病中,miR-132 关键靶点之一的 PTEN 表达上调^[24]。在胶质瘤内皮细胞中,PTEN 被鉴定为 miR-132-3p 的直接和功能性下游靶标^[15]。本研究的生物信息学和双萤光素酶报告实验也证实了 miR-132-3p 对 PTEN 的靶向结合关系。另外,抑制 PTEN 能逆转抑制 miR-132-3p 对 SP6.5 细胞抗增殖、促凋亡的作用,表明 miR-132-3p 可能是通过调控 PTEN 表达影响葡萄膜黑色素瘤细胞增殖和凋亡的。

综上所述,miR-132-3p 在葡萄膜黑色素瘤细胞中表达上调,miR-132-3p 可通过靶向调控 PTEN 的表达抑制葡萄膜黑色素瘤细胞增殖并促进细胞凋亡,这为葡萄膜黑色素瘤提供了新的候选预后生物标志物和治疗靶标。

(本文图 1 见插图 3-2)

参考文献

- [1] FALZONE L, ROMANO GL, SALEMI R, et al. Prognostic significance of deregulated microRNAs in uveal melanomas[J]. Mol Med Rep, 2019, 19(4): 2599-2610.
- [2] REICHSTEIN D. New concepts in the molecular understanding of uveal melanoma [J]. Curr Opin Ophthalmol, 2017, 28 (3) : 219-227.
- [3] ROBERTSON AG, SHIH J, YAU C, et al. Integrative analysis identifies four molecular and clinical subsets in uveal melanoma [J]. Cancer cell, 2017, 32(2): 204-220.
- [4] PENG J, LIU H, LIU C. MiR-155 promotes uveal melanoma cell proliferation and invasion by regulating NDFIP1 expression [J]. Technol Cancer Res Treat, 2017, 16(6): 1160-1167.
- [5] AMARO A, GANGEMI R, PIAGGIO F, et al. The biology of uveal melanoma[J]. Cancer Metastasis Rev, 2017, 36(1): 109-140.
- [6] 刘忆南, 邵蕾, 魏文斌. 不同病理类型的葡萄膜黑色素瘤中微小 RNA 差异表达谱分析[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35 (9): 778-785.
- [7] LI Y, JIA R, GE S. Role of epigenetics in uveal melanoma [J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(4): 426-433.
- [8] WANG YC, YANG X, WEI WB, et al. Role of microRNA-21 in uveal melanoma cell invasion and metastasis by regulating p53 and its downstream protein [J]. Int J Ophthalmol, 2018, 11 (8) : 1258-1268.
- [9] BU P, LUO C, HE Q, et al. MicroRNA-9 inhibits the proliferation and migration of malignant melanoma cells via targeting sirtuin 1 [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(2): 931-938.
- [10] ZHANG L, HE X, LI F, et al. The miR-181 family promotes cell cycle by targeting CTDSPL, a phosphatase-like tumor suppressor in uveal melanoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37 (1) : 15-27.
- [11] SONG H, HE P, SHAO T, et al. Long non-coding RNA XIST functions as an oncogene in human colorectal cancer by targeting miR-132-3p [J]. J BUON, 2017, 22(3): 696-703.
- [12] CAI Y, WANG W, GUO H, et al. MiR-9-5p, miR-124-3p, and miR-132-3p regulate BCL2L1 in tuberous sclerosis complex angiomyolipoma [J]. Lab Invest, 2018, 98(7): 856-870.
- [13] HE L, QU L, WEI L, et al. Reduction of miR-132-3p contributes to gastric cancer proliferation by targeting MUC13 [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5): 3055-3061.
- [14] GU Y, CAI R, ZHANG C, et al. MiR-132-3p boosts caveolae-mediated transcellular transport in glioma endothelial cells by targeting PTEN/PI3K/PKB/Src/Cav-1 signaling pathway [J]. FASEB J, 2018, 33(1): 441-454.
- [15] ZHANG M, LI Y, WANG H, et al. LncRNA SNHG5 affects cell proliferation, metastasis and migration of colorectal cancer through regulating miR-132-3p/CREB5 [J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(4): 524-536.
- [16] LI G, LIU K, DU X. Long non-coding RNA TUG1 promotes proliferation and inhibits apoptosis of osteosarcoma cells by sponging miR-132-3p and upregulating SOX4 expression [J]. Yonsei Med J, 2018, 59(2): 226-235.
- [17] WU Y, SONG Y, XIONG Y, et al. MicroRNA-21 (Mir-21) promotes cell growth and invasion by repressing tumor suppressor PTEN in colorectal cancer [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43 (3): 945-958.
- [18] LING JW, LU PR, ZHANG YB, et al. MiR-367 promotes uveal melanoma cell proliferation and migration by regulating PTEN [J]. Genet Mol Res, 2017, 16 (3) : gmr16039067. DOI: 10.4238/gmr16039067.
- [19] ABDEL-RAHMAN MH, YANG Y, ZHOU XP, et al. High frequency of submicroscopic hemizygous deletion is a major mechanism of loss of expression of PTEN in uveal melanoma [J]. J Clin Oncol, 2005, 24(2): 288-295.
- [20] SUN L, WANG Q, GAO X, et al. MicroRNA-454 functions as an oncogene by regulating PTEN in uveal melanoma [J]. FEBS Lett, 2015, 589(19): 2791-2796.
- [21] NĚMEJCOVÁ K, DUNDR P, JAKŠA R, et al. Comprehensive analysis of pten in primary cutaneous melanoma [J]. Folia Biol (Praha), 2020, 66(1): 7-16.
- [22] XIN X, ZHANG Y, LING F, et al. Identification of a nine-miRNA signature for the prognosis of uveal melanoma [J]. Exp Eye Res, 2019, 180: 242-249.
- [23] XIE M, FU Z, CAO J, et al. MicroRNA-132 and microRNA-212 mediate doxorubicin resistance by down-regulating the PTEN-AKT/NF-κB signaling pathway in breast cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102: 286-294.
- [24] ZHAO Y, ZHAO R, WU J, et al. Melatonin protects against Aβ-induced neurotoxicity in primary neurons via miR - 132/PTEN/AKT/FOXO3a pathway [J]. Biofactors, 2018, 44(6): 609-618.

(收稿日期: 2019-11-28, 修回日期: 2020-02-08)