

- 胞性乳腺炎的临床观察[J]. 中医药导报, 2017, 23(16): 106-107.
- [12] 曹中伟, 王潇, 尤广宁, 等. 浆细胞性乳腺炎分期与相关炎症因子及其信号通路的机制研究[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(12): 84-85.
- [13] 刘雄飞, 范权锋, 梁月. 化癥解毒法联合中医外治法治疗浆细胞性乳腺炎(肝经郁热型)的效果评价[J]. 海峡药学, 2017, 29(8): 106-107.
- [14] 朱林波, 李鹏飞, 张鹏斌. 浆细胞性乳腺炎的诊断与治疗研究进展[J]. 浙江医学, 2019, 41(5): 496-498.
- [15] DONG Y, YU JJ, SHIBAHARA Y, et al. Intercellular adhesion molecule 1/2 and E-selectin in plasma cell mastitis: immunohistochemical study of 35 cases[J]. Hum Pathol, 2014, 45(3): 606-610.
- [16] HU G, WANG J, HONG D, et al. Effects of aqueous extracts of taraxacum officinale on expression of tumor necrosis factor- α and intracellular adhesion molecule 1 in LPS-stimulated RM-MVECs[J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 38.
- [17] 王华, 倪青, 高宇哲, 等. 核因子- κ Bp65和细胞间黏附分子-1在浆细胞性乳腺炎中的表达意义[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(4): 947-949.
- [18] 王华, 倪青, 高宇哲, 等. NF- κ Bp65、ICAM-1和sICAM-1在浆细胞性乳腺炎中的表达及意义[J]. 广东医学, 2016, 37(21): 3208-3211.
- (收稿日期:2020-03-16,修回日期:2020-05-14)

引用本文:周训玺,彭敏,贺晓琪,等.miR-373靶向调控同源异型盒基因B3表达影响子宫内腺癌 Ishikawa 细胞生物学特性的实验研究[J].安徽医药,2021,25(7):1323-1327.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.07.012.

◇临床医学◇



miR-373 靶向调控同源异型盒基因 B3 表达影响子宫内腺癌 Ishikawa 细胞生物学特性的实验研究

周训玺¹, 彭敏¹, 贺晓琪², 孙国强¹

作者单位:¹华中科技大学同济医学院附属湖北妇幼保健院产科,湖北 武汉 430070;

²华中科技大学同济医学院附属协和医院妇产科,湖北 武汉 430022

通信作者:孙国强,男,主任医师,研究方向为妇产科疾病诊断与治疗,Email:6136860@qq.com

基金项目:湖北省卫生健康委员会联合基金(WJ2019H302)

摘要: **目的** 探讨微小RNA(miR)-373靶向调控同源异型盒基因B3(HOXB3)表达对子宫内腺癌 Ishikawa 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响。**方法** 本研究起止时间为2018年2月至2019年6月,将体外培养的 Ishikawa 细胞分为抑制剂阴性对照(inhibitor-NC)组(转染 inhibitor-NC)、miR-373 抑制剂(inhibitor)组(转染 miR-373 inhibitor)、miR-373 inhibitor+siNC 组(共转染 miR-373 inhibitor 和 NC siRNA)和 miR-373 inhibitor+siHOXB3 组(共转染 miR-373 inhibitor 和 HOXB3 siRNA),采用实时荧光定量 PCR 检测 Ishikawa 细胞中 miR-373 的表达,双荧光素酶报告基因实验检测 miR-373 和 HOXB3 的靶向关系,采用免疫印迹法检测 Ishikawa 细胞中 HOXB3 蛋白的表达,细胞计数(CCK-8)法、Transwell 实验和膜联蛋白 V-FITC(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)双染法检测各组细胞增殖、侵袭和凋亡能力。**结果** HOXB3 是 miR-373 的靶基因。与 inhibitor-NC 组相比,miR-373 inhibitor 组、miR-373 inhibitor+siNC 组和 miR-373 inhibitor+siHOXB3 组细胞中 miR-373 表达水平[(1.00±0.11)比(0.32±0.02)/(0.36±0.03)/(0.34±0.03)]和细胞增殖活力[24 h(0.63±0.04)比(0.41±0.03)/(0.43±0.03)/(0.52±0.03); 48 h(0.97±0.06)比(0.68±0.05)/(0.72±0.06)/(0.85±0.05); 72 h(1.35±0.11)比(0.88±0.08)/(0.92±0.07)/(1.12±0.09)]、穿膜细胞数[(85.26±8.72)个比(37.64±2.85)个/(40.55±3.23)个/(61.38±3.64)个]均明显降低,而细胞凋亡率[(8.75±1.23)%比(25.64±3.38)%/(28.48±3.26)%/(14.25±2.02)%]和细胞中 HOXB3 蛋白的表达水平[(0.27±0.03)比(0.77±0.06)/(0.73±0.06)/(0.51±0.03)]均明显升高($P<0.05$);且 miR-373 inhibitor+siHOXB3 组中各指标的变化强度明显低于 miR-373 inhibitor 组($P<0.05$);而 miR-373 inhibitor+siNC 组和 miR-373 inhibitor 组之间无明显差异($P>0.05$)。**结论** 下调 miR-373 表达可通过靶向 HOXB3 抑制子宫内腺癌 Ishikawa 细胞增殖、侵袭并促进细胞凋亡。

关键词: 子宫内腺癌; miR-373; 细胞增殖; 细胞侵袭; 细胞凋亡; HOXB3

Experimental study of the effect of miR-373 on the biological characteristics of endometrial carcinoma Ishikawa cell by targeting the expression of homobox gene B3

ZHOU Xunxi¹, PENG Min¹, HE Xiaoqi², SUN Guoqiang¹

Author Affiliations:¹Department of Obstetrics, Maternal and Child Health Hospital of Hubei Province, 430070;²Department of Gynecology and Obstetrics, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology

Abstract: Objective To investigate the effects of micro (miR) -373 targeting homologous box gene B3 (HOXB3) expression on the proliferation, invasion and apoptosis of Ishikawa cells in endometrial cancer. **Methods** The start and end time of this research was from February 2018 to June 2019. Ishikawa cells cultured *in vitro* were divided into inhibitor-negative control group (transfection inhibitor-NC), inhibitor group (transfection of miR-373 inhibitor), miR-373 inhibitor+siNC group (co-transfection of miR-373 inhibitor and NC siRNA) and miR-373 inhibitor+siHOXB3 group (co-transfection of miR-373 inhibitor + siHOXB3). The expression of miR-373 in Ishikawa cells was detected by real-time fluorescent quantitative PCR, the targeting relationship between miR-373 and HOXB3 was tested by double luciferase reporter gene assay, the expression of HOXB3 protein in Ishikawa cells was measured by western blotting. Cell proliferation, invasion and apoptosis were detected by cell counting (CCK-8), Transwell assay and Annexin V-FITC/propidium iodide (PI) double staining method separately. **Result** HOXB3 was the target gene of miR-373. Compared with the inhibitor-NC group, the expression level of miR-373 [(1.00±0.11) *vs.* (0.32±0.02)/(0.36±0.03)/(0.34±0.03)], the cell proliferation activity [24 h (0.63±0.04) *vs.* (0.41±0.03)/(0.43±0.03)/(0.52±0.03); 48 h (0.97±0.06) *vs.* (0.68±0.05)/(0.72±0.06)/(0.85±0.05); 72 h (1.35±0.11) *vs.* (0.88±0.08)/(0.92±0.07)/(1.12±0.09)] and the number of penetrating cells [(85.26±8.72) *vs.* (37.64±2.85)/(40.55±3.23)/(61.38±3.64)] decreased significantly in miR-373 inhibitor group, miR-373 inhibitor+siNC group and miR-373 inhibitor+siHOXB3 group, while the apoptosis rate [(8.75±1.23)% *vs.* (25.64±3.38)%/(28.48±3.26)%/(14.25±2.02)%] and the expression level of HOXB3 protein [(0.27±0.03) *vs.* (0.77±0.06)/(0.73±0.06)/(0.51±0.03)] increased significantly ($P<0.05$). The change intensity of each index in miR-373 inhibitor+siHOXB3 group was significantly lower than that in miR-373 inhibitor group ($P<0.05$), but there was no significant difference between miR-373 inhibitor + siNC group and miR-373 inhibitor group ($P>0.05$). **Conclusion** Downregulation of the expression of miR-373 can inhibit the proliferation, invasion and apoptosis of endometrial cancer Ishikawa cells by targeting HOXB3.

Key words: Endometrial neoplasms; MiR-373; Cell proliferation; Cell invasion; Cell apoptosis; HOXB3

越来越多的研究显示,异常表达的微小RNA (microRNA, miRNA, miR)可通过影响肿瘤细胞的生物学行为参与子宫内膜癌细胞的发生发展^[1-3]。miR-373是miR-371-372-373家族成员,定位于人19q13.42染色体上,在皮肤鳞状细胞癌和非小细胞肺癌等肿瘤中常见异常表达,且可通过影响细胞生物学功能在肿瘤恶性进展中发挥着癌基因或抑癌基因的作用^[4-5]。同源异型盒基因B3(HOXB3)是同源异型盒基因(HOX基因)家族成员,被证实在结直肠癌和胰腺癌等肿瘤中异常表达,通过影响细胞增殖、迁移和凋亡等参与肿瘤的发生发展^[6-7]。miR-373在子宫内膜癌组织中异常高表达,与肿瘤分期、分化程度、淋巴结转移等紧密相关^[8],且对癌细胞增殖、侵袭和迁移具有促进作用^[9];然而,miR-373影响子宫内膜癌生物学行为的作用机制并不完全清楚。HOXB3被证实在子宫内膜癌组织中低表达,发挥抑癌作用^[10]。本研究通过生物信息学软件预测发现miR-373与HOXB3 3'非编码区(Untranslated Region, UTR)存在互补结合位点,猜测miR-373可能通过靶向HOXB3调控子宫内膜癌发生发展。因此,本研究从2018年2月至2019年6月,开展体外细胞实验旨在观察miR-373通过靶向调控HOXB3对子宫内膜癌Ishikawa细胞增殖、侵袭和凋亡的调控作用,以期为子宫内膜癌的发病机制和治疗提供新线索。

1 材料与方法

1.1 实验材料 人子宫内膜癌细胞株Ishikawa(上海复祥生物公司),胎牛血清和胰蛋白酶(美国Gibco公司),青霉素-链霉素双抗、脂质体2000和Trizol

试剂(美国Invitrogen公司),HOXB3抗体(美国Abcam公司),miR-373抑制剂(inhibitor)及抑制剂阴性对照(inhibitor-NC)(上海吉玛公司),HOXB3 siRNA及其阴性对照NC siRNA(美国SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY公司),psiCHECK2荧光素酶载体(西安赛拓博泰生物公司)。逆转录试剂盒和荧光定量PCR试剂盒(大连Takara公司)。Transwell小室(美国Corning公司),膜联蛋白V-FITC(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)细胞凋亡检测试剂盒(美国BD公司),细胞计数(Cell Counting Kit-8, CCK-8)试剂盒(上海碧云天公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养、分组和转染 采用含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素双抗的罗斯维公园纪念研究所(Roswell Park Memorial Institute, RPMI)-1640培养基在湿度饱和、37℃、5%二氧化碳常规条件的二氧化碳细胞培养箱中培养Ishikawa细胞。实验分为inhibitor-NC组(转染inhibitor-NC)、miR-373 inhibitor组(转染miR-373 inhibitor)、miR-373 inhibitor+siNC组(共转染miR-373 inhibitor和NC siRNA)和miR-373 inhibitor+siHOXB3组(共转染miR-373 inhibitor和HOXB3 siRNA),每组设置3个复孔。将对数生长长期的Ishikawa细胞以 10^6 个/孔接种至6孔细胞板上,待细胞汇合达70%时,根据实验分组参照脂质体2000说明书将miR-373 inhibitor、inhibitor-NC、NC siRNA和HOXB3 siRNA转染至Ishikawa细胞中。转染6 h后更换培养基,继续培养48 h后收集各组细胞进行后续实验。

1.2.2 miR-373和HOXB3靶向关系验证 采用双荧光素酶报告基因实验检测 miR-373 和 HOXB3 的靶向关系。将 HOXB3'UTR 片段克隆重组至 psi-CHECK2 荧光素酶载体上,构建野生型 psiCHECK2-HOXB3 报告基因质粒(HOXB3-WT),另外将 miR-373 与 HOXB3 3'UTR 结合的位点定点突变后,将其克隆重组至荧光素酶载体上,构建突变型 psiCHECK2-HOXB3 报告基因质粒(HOXB3-MUT)。参照脂质体 2000 说明书将构建的 HOXB3-WT、HOXB3-MUT 质粒分别同 miR-373 inhibitor、inhibitor-NC 共转染至 Ishikawa 细胞中。转染 48h 后,检测各组细胞的荧光素酶活性。

1.2.3 Ishikawa 细胞中 miR-373 表达检测 采用实时荧光定量 PCR 进行测定。采用 Trizol 法提取转染 48 h 后的各组 Ishikawa 细胞的总 RNA,并在美国 ACTGene 公司的紫外分光光度计检测 RNA 的浓度与纯度。参照逆转录试剂盒说明书将 RNA 进行逆转录,再以逆转录产物 cDNA 为模板,参照荧光定量 PCR 试剂盒说明书在瑞士 Roche 公司实时定量 PCR 仪上进行 PCR 扩增,以 U6 为管家基因, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各组细胞中 miR-373 的表达水平。其中,来自上海生工生物公司的 PCR 引物为:miR-373,正向引物为 5'-GGGAAGTGCTTCGATTTTG-3',反向引物为 5'-CAGTCCGTGTCGTGGAGT-3';U6,正向引物为 5'-CTCAGAGCGTGTTCTCCGTCAC-3',反向引物为 5'-TATAAATCTTTACCCTGTTGGCAGT-3'。

1.2.4 Ishikawa 细胞中 HOXB3 蛋白检测 采用免疫印迹法进行测定。胰酶消化收集转染 48 h 后的各组 Ishikawa 细胞后,加入细胞裂解液提取细胞总蛋白,并采用二喹啉甲酸(Bicinchoninic acid,BCA)蛋白浓度测定试剂盒检测总蛋白的浓度。将 60 μ g 沸水变性后的蛋白样品上样至 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶中行电泳分离。电转至聚偏二氟乙烯膜并在 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h。以 1:1 000 稀释的 HOXB3 和 GAPDH 抗体 4 $^{\circ}$ C 下孵育 24 h 后,以 1:2 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h。经化学发光剂暗室中显影曝光后,采用凝胶成像分析系统扫描分析 HOXB3 蛋白条带的灰度值,以 HOXB3 蛋白条带灰度值与内参 GAPDH 蛋白条带灰度值的比值表示 Ishikawa 细胞中 HOXB3 蛋白的表达水平。实验重复 3 次。

1.2.5 Ishikawa 细胞增殖实验 采用 CCK-8 法进行测定。将对数生长期的 Ishikawa 细胞以每孔 10^5 个接种至 6 孔细胞板上,按照 1.2.1 进行分组并转染 24 h、48 h 和 72 h 后,参照 CCK-8 试剂盒说明书上全自动酶标仪检测各组 Ishikawa 细胞在 450nm 处的光密

度值。实验重复 3 次。

1.2.6 Ishikawa 细胞侵袭实验 采用 Transwell 小室进行检测。首先,以无血清培养基制备浓度为 1 mg/mL 的基质胶,并取 50 μ L 平铺于孔径为 8 μ m 的 Transwell 小室聚碳酸酯微孔膜上,室温下使其充分融合。胰蛋白酶消化收集转染 48 h 后的各组 Ishikawa 细胞,加入无血清培养基饥饿处理 12 h,并调整细胞浓度为 3×10^5 个/mL。取细胞悬液 200 μ L 加入到上层小室内,并在下层加入含血清的培养基 600 μ L。置于二氧化碳细胞培养箱中常规培养 24 h 后,使用棉签小心拭去上层内残留的基质胶和细胞后,分别使用 4% 多聚甲醛和 0.1% 结晶紫对下表面细胞进行固定与染色。采用 Olympus 倒置显微镜观察各组中的穿膜细胞数。实验重复 3 次。

1.2.7 Ishikawa 细胞细胞凋亡实验 采用 Annexin V-FITC/PI 双染法检测 Ishikawa 细胞的凋亡能力。胰蛋白酶消化收集转染 48h 后的各组 Ishikawa 细胞,按照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒操作步骤在流式细胞仪进行检测。

1.3 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,采用 SPSS 22.0 进行统计学分析,多组间比较使用单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK-*q*,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-373 和 HOXB3 表达靶向关系的验证 HOXB3'UTR 中存在 miR-373 的互补位点。与 inhibitor-NC 相比,miR-373 inhibitor 可使转染 HOXB3-WT 质粒细胞的荧光素酶活性明显升高($P < 0.05$);然而 HOXB3-MUT 质粒细胞的荧光素酶活性在 miR-373 inhibitor 组与 inhibitor-NC 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组细胞荧光素酶活性和 HOXB3 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	
		HOXB3-WT	HOXB3-MUT
inhibitor-NC	3	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
miR-373 inhibitor	3	3.65 $\pm$ 0.21	1.03 $\pm$ 0.09
<i>t</i> 值		37.857	1.000
<i>P</i> 值		0.000	0.332

注:HOXB3 为同源异型盒基因 B3, inhibitor-NC 为抑制剂阴性对照,miR-373 inhibitor 为 miR-373 抑制剂。

2.2 转染后子宫内膜癌 Ishikawa 细胞中 miR-373 和 HOXB3 蛋白的表达 与 inhibitor-NC 组相比,miR-373 inhibitor 组、miR-373 inhibitor+siNC 组和 miR-373 inhibitor+siHOXB3 组细胞中 miR-373 的表达水平明显降低,而 HOXB3 蛋白的表达水平明显升

高($P<0.05$);与 miR-373 inhibitor 组相比,miR-373 inhibitor+siHOXB3 细胞中 miR-373 的表达水平无明显改变($P>0.05$),而 HOXB3 蛋白的表达水平明显降低($P<0.05$),但 miR-373 inhibitor+siNC 组细胞中 miR-373 和 HOXB3 蛋白的表达与 miR-373 inhibitor 组相比均差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组细胞中 miR-373 和 HOXB3 蛋白的表达 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-373	HOXB3 蛋白
inhibitor-NC	3	1.00±0.11	0.27±0.03
miR-373 inhibitor	3	0.32±0.02 ^①	0.77±0.06 ^①
miR-373 inhibitor+siNC	3	0.36±0.03 ^①	0.73±0.06 ^①
miR-373 inhibitor+siHOXB3	3	0.34±0.03 ^①	0.51±0.03 ^{①②}
F 值		274.825	212.267
P 值		0.000	0.000

注:miR-373 为微小 RNA-373,HOXB3 为同源异形盒基因 B3, inhibitor-NC 为抑制剂阴性对照,miR-373 inhibitor 为 miR-373 抑制剂,siNC 为阴性对照 NC siRNA,siHOXB3 为 HOXB3 小干扰 RNA。

①与 inhibitor-NC 组相比, $P<0.05$ 。②与 miR-373 inhibitor 组相比, $P<0.05$ 。

2.3 miR-373 靶向 HOXB3 对子宫内膜癌 Ishikawa 细胞增殖的影响 与 inhibitor-NC 组相比,miR-373 inhibitor 可使 Ishikawa 细胞增殖活力明显降低($P<0.05$);与 miR-373 inhibitor 组相比,miR-373 inhibitor+siHOXB3 组细胞增殖活力明显升高($P<0.05$),而细胞增殖活力在 miR-373 inhibitor+siNC 组和 miR-373 inhibitor 组之间无明显变化($P>0.05$)。见表 3。

表 3 各组细胞光密度值的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	24 h	48 h	72 h
inhibitor-NC	3	0.63±0.04	0.97±0.06	1.35±0.11
miR-373 inhibitor	3	0.41±0.03 ^①	0.68±0.05 ^①	0.88±0.08 ^①
miR-373 inhibitor+siNC	3	0.43±0.03 ^①	0.72±0.06 ^①	0.92±0.07 ^①
miR-373 inhibitor+siHOXB3	3	0.52±0.03 ^{①②}	0.85±0.05 ^{①②}	1.12±0.09 ^{①②}
F 值		84.488	51.246	53.133
P 值		0.000	0.000	0.000

注:inhibitor-NC 为抑制剂阴性对照,miR-373 inhibitor 为 miR-373 抑制剂,siNC 为阴性对照 NC siRNA,siHOXB3 为 HOXB3 小干扰 RNA。

①与 inhibitor-NC 组相比, $P<0.05$ 。②与 miR-373 inhibitor 组相比, $P<0.05$ 。

2.4 miR-373 靶向 HOXB3 对子宫内膜癌 Ishikawa 细胞侵袭的影响 与 inhibitor-NC 组相比,miR-373 inhibitor 组、miR-373 inhibitor+siNC 组和 miR-373 inhibitor+siHOXB3 组中穿膜细胞数明显减少($P<0.05$);与 miR-373 inhibitor 组相比,miR-373 inhibitor+siNC 组中穿膜细胞数无明显变化($P>0.05$),但

miR-373 inhibitor+siHOXB3 组中穿膜细胞数较 miR-373 inhibitor 组明显增多($P<0.05$)。见表 4。

表 4 各组中穿膜细胞数的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	穿膜细胞数/个	细胞凋亡率/%
inhibitor-NC	85.26±8.72	8.75±1.23
miR-373 inhibitor	37.64±2.85 ^①	25.64±3.38 ^①
miR-373 inhibitor+siNC	40.55±3.23 ^①	28.48±3.26 ^①
miR-373 inhibitor+siHOXB3	61.38±3.64 ^{①②}	14.25±2.02 ^{①②}
F 值	162.537	113.410
P 值	0.000	0.000

注:inhibitor-NC 为抑制剂阴性对照,miR-373 inhibitor 为 miR-373 抑制剂,siNC 为阴性对照 NC siRNA,siHOXB3 为 HOXB3 小干扰 RNA。

①与 inhibitor-NC 组相比, $P<0.05$ 。②与 miR-373 inhibitor 组相比, $P<0.05$ 。

2.5 miR-373 靶向 HOXB3 对子宫内膜癌 Ishikawa 细胞凋亡的影响 与 inhibitor-NC 组(8.75±1.23)相比,miR-373 inhibitor 组(25.64±3.38)、miR-373 inhibitor+siNC 组(28.48±3.26)和 miR-373 inhibitor+siHOXB3 组(14.25±2.02)细胞凋亡率均明显升高($P<0.05$),且 miR-373 inhibitor 组明显高于 miR-373 inhibitor+siHOXB3 ($P<0.05$),但 miR-373 inhibitor+siNC 组和 miR-373 inhibitor 组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。四组比较, $F=113.410$, $P<0.001$ 。

3 讨论

子宫内膜癌是一种常见的妇科肿瘤,过去十年里其死亡率以 1.4% 比例上升^[11];在 2017 年中约有 6.1 万人受其影响,1.092 万人因其死亡^[12]。尽管目前的手术治疗、放化疗等治疗技术已取得了很好的成绩,但部分子宫内膜癌的治疗效果并不理想^[13]。因此,深入探讨子宫内膜癌的发病机制以更好地治疗子宫内膜癌是十分必要的。

miRNAs 是一类短小的非编码 RNA,影响细胞增殖、侵袭和凋亡等生物过程,参与肿瘤的发生发展^[14]。miR-373 是 miRNAs 中重要一员,其在肿瘤中的作用逐渐引起关注。Shi Y 等^[15]研究发现,miR-373 在胃癌组织中表达上调,且可通过调控波形蛋白的表达在胃癌转移中发挥致癌作用。Zhang X J 等^[16]在口腔鳞状细胞癌组织和细胞中发现 miR-373 异常高表达,且体外上调 miR-373 表达可通过靶向调控 POZ 蛋白(SPOP)促进癌细胞增殖、侵袭和迁移。Li Y 等^[17]研究指出,miR-373 在肾细胞癌中高表达,抑制其表达可抑制癌细胞增殖并诱导细胞凋亡。尽管 miR-373 在子宫内膜癌中已有研究^[8,18],但具体的调控机制尚不完全明了。

HOXB3 是一类与肿瘤发生发展关系密切的调控基因,具有同源异形盒 DNA 结构,可编码 60 个氨

基酸残基^[19]。在胶质母细胞瘤和白血病等肿瘤中HOXB3水平异常,通过细胞增殖、侵袭和凋亡等过程调控作为癌因子或抑癌因子发挥作用^[20-21]。Chen H等^[10]研究指出,HOXB3在子宫内膜癌组织中低表达,并可通过影响细胞增殖、侵袭和凋亡等起肿瘤抑制作用。本研究证实HOXB3是miR-373的靶基因;采用常规生物学手段检测发现,转染miR-373 inhibitor成功下调miR-373表达后发现,子宫内膜癌Ishikawa细胞增殖、侵袭能力明显减弱。该结果反向印证了Li Y等^[9]所得出的上调miR-373促进子宫内膜癌细胞侵袭和增殖的实验结果。本研究还发现,下调miR-373表达后发现,子宫内膜癌Ishikawa细胞中HOXB3蛋白的表达水平和细胞凋亡率明显升高。结果表明,miR-373可通过调控细胞增殖、侵袭和凋亡参与子宫内膜癌的发生与发展,其分子机制可能与调控HOXB3表达有关。此外,本研究通过转染HOXB3干扰序列HOXB3 siRNA成功下调子宫内膜癌Ishikawa细胞中HOXB3表达后发现,miR-373低表达对Ishikawa细胞增殖、侵袭的抑制作用及促凋亡作用得到部分逆转。这提示,在子宫内膜癌中miR-373可通过靶向调控HOXB3影响癌细胞增殖、侵袭和凋亡;此外,miR-373除了靶向调控HOXB3表达外,其可能还通过其他机制发挥作用。

综上所述,下调miR-373表达可通过靶向HOXB3抑制子宫内膜癌Ishikawa细胞增殖、侵袭并促进细胞凋亡,该结果丰富了子宫内膜癌发生发展的分子机制,也为miR-373有望成为子宫内膜癌的候选靶基因提供了新的参考依据。

参考文献

- [1] DONG P, XIONG Y, YUE J, et al. miR-34a, miR-424 and miR-513 inhibit MMSET expression to repress endometrial cancer cell invasion and sphere formation [J]. *Oncotarget*, 2018, 9 (33) : 23253-23263.
- [2] QU J, ZHANG L, LI L, et al. miR-148b functions as a tumor suppressor by targeting endoplasmic reticulum metallo protease 1 in human endometrial cancer cells [J]. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 2018, 27 (1) : 81-88.
- [3] LU Z, NIAN Z, JINGJING Z, et al. MicroRNA-424/E2F6 feedback loop modulates cell invasion, migration and EMT in endometrial carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(69):114281-114291.
- [4] XIA Y, HOU H, MIN L I, et al. Expression of microRNA-373 in cutaneous squamous cell carcinoma and its effect on cell invasion [J]. *Chinese Journal of Dermatology*, 2017, 50(10): 715-718.
- [5] WANG L, QU J, ZHOU L, et al. MicroRNA-373 Inhibits cell proliferation and invasion via targeting BRF2 in human non-small cell lung cancer A549 cell line [J]. *Cancer Res Treat*, 2018, 50 (3):936-949.
- [6] 林秀欣, 刘森观, 周颖, 等. HOXB3在结直肠癌中的表达及其临床意义 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(16):2729-2732.
- [7] YANG D, YAN R, ZHANG X, et al. Deregulation of MicroRNA-375 inhibits cancer proliferation migration and chemosensitivity in pancreatic cancer through the association of HOXB3 [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(3):1551-1559.
- [8] 谭飞非, 徐红, 李美仪, 等. 子宫内膜癌组织中miRNA-373的表达变化及其临床意义 [J]. *山东医药*, 2018, 58(35):76-78.
- [9] LI Y, SUN D, GAO J, et al. MicroRNA-373 promotes the development of endometrial cancer by targeting LATS2 and activating the Wnt/ β -Catenin pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2018; 28149. DOI: 10.1002/jcb.28149.
- [10] CHEN H, FAN Y, XU W, et al. miR-10b inhibits apoptosis and promotes proliferation and invasion of endometrial cancer cells via targeting HOXB3 [J]. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 2016, 31(6): 225-231.
- [11] AREND RC, JONES BA, MARTINEZ A, et al. Endometrial cancer: Molecular markers and management of advanced stage disease [J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 150(3):569-580.
- [12] JAYARAMAN M, RADHAKRISHNAN R, MATHEWS CA, et al. Identification of novel diagnostic and prognostic miRNA signatures in endometrial cancer [J]. *Genes Cancer*, 2017, 8 (5/6) : 566-576.
- [13] 张坤, 郭红燕. 子宫内膜癌的临床诊治现状 [J]. *中国生育健康杂志*, 2017, 28(4):4.
- [14] REDDY KB. MicroRNA (miRNA) in cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15:38.
- [15] SHI Y, SHI H, ZHANG B, et al. miR-373 suppresses gastric cancer metastasis by downregulating vimentin [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3):4027-4034.
- [16] ZHANG XJ, JIN Y, SONG JL, et al. MiR-373 promotes proliferation and metastasis of oral squamous cell carcinoma by targeting SPOP [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23 (12) : 5270-5276.
- [17] LI Y, ZHANG D, WANG J. MicroRNA-373 promotes tumorigenesis of renal cell carcinoma in vitro and in vivo [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5):7048-7055.
- [18] 李美仪, 徐红, 谭飞非. miR-373-3p低表达慢病毒载体构建及其对子宫内膜癌细胞增殖迁移的抑制作用 [J]. *山东医药*, 2017, 57(45):20-23.
- [19] CHEN J, ZHU S, JIANG N, et al. HoxB3 promotes prostate cancer cell progression by transactivating CDCA3 [J]. *Cancer Lett*, 2013, 330(2):217-224.
- [20] XU K, QIU C, PEI H, et al. Homeobox B3 promotes tumor cell proliferation and invasion in glioblastoma [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3):3712-3718.
- [21] LINDBLAD O, CHOUGULE RA, MOHARRAM SA, et al. The role of HOXB2 and HOXB3 in acute myeloid leukemia [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(4):742-747.

(收稿日期:2019-10-09,修回日期:2019-11-19)