

引用本文:刘军华,张银珂,常超,等.微RNA-125、信号转导与转录活化因子3对卵巢癌细胞的影响及靶向关系验证[J].安徽医药,2023,27(10):2017-2022.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.10.024.

◇临床医学◇



微RNA-125、信号转导与转录活化因子3对卵巢癌细胞的影响及靶向关系验证

刘军华,张银珂,常超,王雅菲,齐向华,范晓丽

作者单位:平煤神马医疗集团总医院妇产科,河南 平顶山 467000

摘要: **目的** 检测微RNA(miR)-125a、信号转导与转录活化因子3(STAT3)在卵巢癌细胞中的表达水平,分析其对卵巢癌细胞增殖、侵袭和凋亡的影响,并验证两者的靶向关系。**方法** 2020年1月至2021年12月,采用qRT-PCR检测卵巢癌细胞和正常人卵巢上皮细胞中miR-125a、STAT3 mRNA水平。利用转染技术将SKOV3细胞分为miR-NC(miR-125a阴性对照组质粒)组、miR-125a(miR-125a过表达质粒)组、si-NC(沉默STAT3阴性对照质粒)组、si-STAT3(沉默STAT3质粒)组、miR-125a+si-NC和miR-125a+si-STAT3组。MTT实验、Transwell实验和凋亡实验分别检测不同组间细胞的OD值、穿膜细胞数和凋亡率。荧光素酶报告基因分析SKOV3细胞中miR-125a与STAT3的靶向关系,蛋白质印迹法检测不同组间STAT3蛋白表达情况。**结果** 与HOSEpiC细胞miR-125a和STAT3 mRNA水平(1.00 ± 0.15 、 0.54 ± 0.08)相比,SKOV3、CAOV3和PEO1细胞中miR-125a水平(0.41 ± 0.07 、 0.56 ± 0.08 、 0.58 ± 0.10)降低,STAT3 mRNA水平(1.87 ± 0.22 、 1.54 ± 0.07 、 1.54 ± 0.08)增加;选用SKOV3细胞进行后续实验。与miR-NC组相比,miR-125a组细胞增殖能力减弱、穿膜细胞数降低、凋亡率增加。与si-NC组相比,si-STAT3组细胞增殖能力减弱、穿膜细胞数降低、凋亡率增加。与miR-125a+si-NC组相比,miR-125a+si-STAT3组细胞增殖能力减弱、穿膜细胞数降低、凋亡率增加。STAT3+miR-125a mimic组与STAT3 WT组相比,STAT3蛋白表达较弱,且miR-125a与STAT存在靶向结合位点。**结论** 卵巢癌细胞中miR-125a的过表达可靶向STAT3抑制SKOV3细胞的增殖和侵袭并诱导细胞凋亡,发挥抗肿瘤活性。**关键词:** 卵巢肿瘤; 微RNA-125a; 信号转导和转录激活因子3; 增殖; 侵袭

Effects of miR-125 and STAT3 on ovarian cancer cells and verification of their targeting relationship

LIU Junhua,ZHANG Yinke,CHANG Chao,WANG Yafei,QI Xianghua,FAN Xiaoli

Author Affiliation:General Hospital of Pingmei Shenma Medical Group, Pingdingshan, Henan 467000, China

Abstract: **Objective** To detect the expression levels of micrnas (miR)-125a and STAT3 in ovarian cancer cells, analyze their effects on the proliferation, invasion and apoptosis of ovarian cancer cells, and verify the targeting relationship between miR-125a and STAT3.**Methods** From January 2020 to December 2021, qRT-PCR was used to detect the relative expression levels of miR-125a and STAT3 mRNA in ovarian cancer cells and normal human ovarian epithelial cells. SKOV3 cells were divided into miR-NC (miR-125a negative control plasmid) group, miR-125a (miR-125a overexpressed plasmid) group, si-NC (silenced STAT3 negative control plasmid) group, si-STAT3 (silenced STAT3 plasmid) group, and miR-125a+si (transfected with si-NC and miR-125a+si-STAT3) groups. MTT experiment, Transwell experiment and apoptosis experiment were used to detect the OD value, number of transmembrane cells and apoptosis rate of SKOV3 cells in different groups. Western blotting was used to detect the expression of STAT3 protein among different groups. Luciferase reporter gene was used to analyze the targeting relationship between miR-125a and STAT3 in SKOV3 cells.**Results** Compared with the mRNA levels of miR-125a and STAT3 in HOSEpiC cells (1.00 ± 0.15 , 0.54 ± 0.08), the levels of miR-125a in SKOV3, CAOV3 and PEO1 cells (0.41 ± 0.07 , 0.56 ± 0.08 , 0.58 ± 0.10) were decreased. STAT3 mRNA levels (1.87 ± 0.22 , 1.54 ± 0.07 , 1.54 ± 0.08) were increased, and SKOV3 cells were selected for follow-up experiments. SKOV3 cells was selected for follow-up experiments. Compared with the miR-NC group, the miR-125a group had weakened cell proliferation, decreased number of transmembrane cells, and increased apoptosis rate. Compared with the si-NC group, the cell proliferation ability of the si-STAT3 group was weakened, the number of penetrating cells was reduced, and the apoptosis rate was increased. Compared with the miR-125a+si-NC group, the miR-125a+si-STAT3 group had weakened cell proliferation, decreased number of transmembrane cells, and increased apoptosis rate. Compared with the STAT3 WT group, the expression of STAT3 protein in the STAT3+miR-125a mimic group was weaker, and miR-125a had a targeted binding site for STAT.**Conclusion** Overexpression of miR-125a in ovarian cancer cells can target STAT3 to inhibit the proliferation and invasion of SKOV3 cells and induce cell apoptosis to exert anti-tumor activity.

Key words: Ovarian neoplasms; microRNA-125a; Signal transducer and activator of transcription 3; Proliferation; Invasion

卵巢癌(OC)是目前最致命的妇科恶性肿瘤之一,在过去的几十年中,手术、化学疗法和放射疗法虽在不断进展,但卵巢癌的总体生存率并未显著提高^[1-2]。因此,迫切需要了解卵巢癌的潜在发病机制,寻找新的治疗靶点,以改善卵巢癌病人的预后。基因的转录和转录后调控是由表观遗传机制介导的,DNA甲基化和miRNA调控是表观遗传学中的两个热门话题^[3-4]。miRNA参与肿瘤的发生发展,并影响基因表达和信号通路传导,调节肿瘤的进展^[5]。微RNA-125a(miR-125a)是一种抗癌基因在多种肿瘤中表达水平降低,可能参与肿瘤的进展^[6-7],并可能成为卵巢癌治疗的靶点^[8-9]。信号转导和转录激活因子3(STAT3)是STAT家族中重要的信号级联元件,它与多种细胞因子反应并已被确定为癌症基因^[10-11]。在非小细胞肺癌中,miR-125a通过调节STAT3水平影响细胞增殖、迁移和侵袭^[8]。而miR-125a与STAT3在卵巢癌发挥作用还不清楚,因此2020年1月至2021年12月进行本研究,首先检测OC细胞中miR-125a的STAT3的表达水平,利用转染技术增加miR-125a的表达进一步分析miR-125a对OC细胞增殖和侵袭的影响,为OC新的治疗策略提供研究思路。

1 材料与方法

1.1 材料 OC细胞系SKOV3、CAOV3、PEO1(以下简称SKOV3、CAOV3、PEO1细胞),及正常人卵巢上皮细胞HOSEpiC均购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。RNAsimple总RNA提取试剂盒(DP419)、FastKing一步法RT-PCR试剂盒(KR123)购于天根生化科技(北京)有限公司。miR-125a阴性对照组质粒(miR-NC)、miR-125a过表达质粒(miR-125a)、沉默STAT3阴性对照质粒(si-NC)、沉默STAT3质粒(si-STAT3)、miR-125a模拟(mimic)质粒和STAT3相关萤光素酶质粒[(野生型(WT)、突变型(MUT)]由金斯瑞生物科技合成。Transwell小室购于北京优尼康生物技术有限公司。BCA法蛋白定量和Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购于江苏碧云天生物技术公司,双萤光素酶活性检测试剂盒,购自美国Promega公司。PTC-200型PCR仪购于美国BIO-RAD公司,K3型酶标仪200-240V购于美国Thermo Fisher公司。

1.2 实验方法

1.2.1 卵巢癌细胞筛选 SKOV3、CAOV3、PEO1和HOSEpiC在含有10% FBS RPMI1640培养基中培养,置于37℃、5%二氧化碳恒温箱中,待细胞融合至80%左右,按1:4进行传代处理。采用qPT-RCR法。取传4代,处于对数生长期、生长状态良好的卵

巢癌细胞和HOSEpiC细胞 2×10^5 个。按RNAsimple总RNA提取试剂盒提取细胞中的总RNA,经紫外分光光度计鉴定,提取的总RNA浓度和纯度合格,可用于后续实验。按FastKing一步法RT-PCR试剂盒说明将总RNA反转录为cDNA,反应条件:37℃、15 min设置3个循环,85℃、5 s,并进行扩增。STAT3以GAPDH mRNA水平作为内参照,miR-125a以管家基因U6 mRNA水平作为内参照。引物设计如下:STAT3正向引物5'-CTGTGTGACACCAACGACCT-3',反向引物5'-CACTCCGAGGTCAACTCCAT-3'; miR-125a正向引物5'-TCCCTGAGACCCTAACTTGTGA-3',反向引物5'-AGTCTCAGGGTCCGAGGTATTC-3'; GAPDH正向引物5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3',反向引物5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'; U6正向引物5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',反向引物5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式得出STAT3 mRNA、miR-125a的相对表达水平,因SKOV3细胞中miR-125a表达较低和STAT3 mRNA表达水平较高,因此选择SKOV3进行后续实验。

1.2.2 细胞转染及转染效率验证 取传4代,对数生长期、生长状态良好的SKOV3细胞,接种于6孔板,每孔 4×10^5 万个细胞,置于37℃、5%二氧化碳恒温箱中,培养24 h后,随机分为miR-NC组、miR-125a组、si-NC组、si-STAT3组、miR-125a+si-NC和miR-125a+si-STAT3组,每组设6个复孔,按Lipofectamine2000说明,miR-NC组转染miR-125a阴性对照组质粒,miR-125a组转染miR-125a过表达质粒,si-NC组转染沉默STAT3的阴性对照质粒,si-STAT3组转染沉默STAT3质粒,miR-125a+si-NC共转染miR-125a过表达质粒和沉默STAT3的阴性对照质粒,miR-125a+si-STAT3组共转染miR-125a过表达质粒和沉默STAT3的质粒。转染6 h后,更换新的培养基,继续培养24、48和72 h,收集各组细胞上清病毒溶液,将不同时间点的病毒溶液合并。将收集的上清病毒溶液与PEG8000按照15:4的比例混合均匀,放置4℃冰箱中过夜。次日,放置离心机中,以4 000 r/min的速度离心15 min,留取病毒沉淀,利用RPMI1640培养基重悬。将病毒悬液滴加至处于对数生长期的SKOV3细胞中,培养48 h,利用2 mg/L的嘌呤霉素筛选出具有抗性的细胞,在荧光显微镜下观察细胞的荧光表达情况,待细胞全部呈现绿色荧光时表明慢病毒稳定细胞系构建成功。利用qRT-PCR及蛋白质印迹法验证转染效率。

1.2.3 细胞增殖活性检测 采用MTT实验检测。收集上述经慢病毒稳定构建的miR-NC组、miR-

125a组、si-NC组、si-STAT3组、miR-125a+si-NC和miR-125a+si-STAT3组细胞,每组设置6个复孔,按照 3×10^3 个/孔的密度种于96孔板,放置37℃、5%二氧化碳恒温箱中培养。3、4和5 d检测细胞的OD值,至检测时间点时向检测孔中加入20 μ L MTT溶液,放置恒温箱中继续孵育4 h。取出96孔板,倒扣至水槽中去除上清液,向检测孔中再加入150 μ L二甲基亚砷溶液,放置振荡器上震荡5 min,使结晶物充分溶解,采用酶标仪检测570 nm处细胞的吸光度(OD)值,以OD值代表细胞的增殖活性。

1.2.4 细胞侵袭能力检测 采用Transwell小室实验。收集上述经慢病毒稳定构建的miR-NC组、miR-125a组、si-NC组、si-STAT3组、miR-125a+si-NC和miR-125a+si-STAT3组细胞,每组设置6个复孔,用无血清培养基重悬细胞,使其密度为 2.5×10^4 个/毫升,在不同分组的小室上部加入200 μ L细胞悬浮液,小室下部加入含10%胎牛血清的培养基500 μ L,放置恒温箱中继续孵育72 h。取出小室弃上清,依次利用多聚甲醛溶液固定(10 min),0.1%结晶紫溶液染色(10 min),去除未穿膜的细胞,放置显微镜下随机选取5个视野拍照计数,取平均值。

1.2.5 细胞凋亡率检测 采用流式细胞术。收集上述经慢病毒稳定构建的miR-NC组、miR-125a组、si-NC组、si-STAT3组、miR-125a+si-NC和miR-125a+si-STAT3组细胞,每组设置6个复孔,以每孔 3×10^5 个细胞的密度接种至6孔板中,于37℃、5%二氧化碳恒温箱中孵育72 h。收集细胞于1.5 mL的EP管中,放置离心机中以1 000 r/min的速度,离心5 min,去上清。每管加入Annexin V-FITC结合液500 μ L重悬细胞,然后加入Annexin V-FITC 5 μ L、PI 10 μ L,轻轻混匀,室温避光孵育10 min,上流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.6 miR-125a靶向调控STAT3的预测与验证 采用双萤光素酶报告基因实验。根据突变位点分别设计野生型和突变型,以SKOV3细胞的cDNA为模板,通过PCR扩增,获取野生型和突变型序列,连接到野生型STAT3 3'UTR和点突变型STAT3 3'UTR。将SKOV3细胞接种于12孔板中,随机分为STAT3 WT组、STAT3 WT+miR-125a mimic组、STAT3 MUT组、STAT3 MUT+miR-125a mimic组,每组设置3个复孔,进行常规培养当细胞融合至80%时,STAT3 WT组转染STAT3 WT、STAT3 WT+miR-125a mimic组转染STAT3 WT和miR-125a mimic、STAT3 MUT组转染STAT3 MUT、STAT3 MUT+miR-125a mimic组转染STAT3 MUT和miR-125a mimic。转染48 h,收集细胞,按双萤光素酶活性检测试剂盒

说明检测各组萤光素酶活性。

1.2.7 蛋白质印迹法 取上转染过STAT3 WT和STAT3 WT+miR-125a mimic的细胞,每组设置6个复孔,以 4×10^5 个/孔的密度,接种至6孔板孵育72 h。收集细胞于15 mL离心管中,放置4℃离心机中,以4 000 r/min的速度离心5 min,弃上清,加入细胞裂解液,提取细胞总蛋白。经BCA法蛋白定量合格,在合格蛋白样品中加入等量的loading buffer,放置沸水中煮5 min,使其变性。取变性蛋白30 μ g,SDS-PAGE分离。电泳结束,将蛋白电泳产物转印至PVDF膜上。1% BSA室温封闭2 h,加入STAT3一抗(1:1 000稀释),4℃孵育过夜。次日,加入相对应的二抗(1:4 000稀释),室温孵育1 h。化学发光,曝光、显影,采用Amersham Imager 600凝胶成像系统中拍照,观察STAT3蛋白表达情况。

1.3 统计学方法 采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 的形式呈现,多组间比较采用单因素方差分析,组间的两两比较采用LSD-*t*检验,两组间比较采用*t*检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵巢癌细胞与正常人卵巢上皮细胞中miR-125a和STAT3 mRNA表达比较 卵巢癌细胞系CAOV3、PEO1、SKOV3中miR-125a相对表达水平均低于HOSEpiC细胞(*t*=7.29、7.08、9.89, *P*=0.008、0.005、<0.001),STAT3 mRNA相对表达水平均高于HOSEpiC细胞(*t*=13.83、13.78、18.36, 均*P*<0.001),见表1。

表1 卵巢癌细胞与正常人卵巢上皮细胞中miR-125a和STAT3 mRNA表达比较/ $\bar{x} \pm s$

细胞类型	miR-125a	STAT3 mRNA
HOSEpiC	1.00±0.15	0.54±0.08
CAOV3	0.56±0.08	1.54±0.07
PEO1	0.58±0.10	1.54±0.08
SKOV3	0.41±0.07	1.87±0.22
<i>F</i> 值	17.95	63.32
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

注:miR为微RNA,STAT3为信号转导与转录活化因子3,mRNA为信使核糖核酸。

2.2 增加SKOV3细胞中miR-125a及降低STAT3的表达的验证 miR-125a组miR-125a的相对表达水平为 1.52 ± 0.24 ,明显高于miR-NC组 0.45 ± 0.17 (*t*=4.20, *P*<0.05),miR-125a可明显增加SKOV3细胞中miR-125a的表达。si-STAT3组STAT3的mRNA及蛋白相对表达水平为 0.36 ± 0.06 、 0.14 ± 0.03 均低于si-NC组 1.63 ± 0.21 、 0.87 ± 0.14 (*t*=5.32、5.02, 均*P*<0.05),si-

STAT3可明显降低SKOV3细胞中STAT3的表达。

2.3 各时间点各组间SKOV3细胞增殖活性比较

miR-125a 4 d和5 d时OD值(0.25 ± 0.10 、 0.38 ± 0.12)低于miR-NC组(0.45 ± 0.16 、 0.89 ± 0.23)， $t=3.68$ 、 5.84 ， $P=0.041$ 、 0.008 。si-STAT3组4 d和5 d时OD值(0.23 ± 0.08 、 0.35 ± 0.10)低于si-NC组(0.43 ± 0.12 、 0.85 ± 0.14)， $t=3.59$ 、 5.60 ， $P=0.043$ 、 0.007 。miR-125a+si-STAT3组3 d、4 d和5 d时OD值(0.08 ± 0.02 、 0.14 ± 0.04 、 0.21 ± 0.06)低于miR-125a+si-NC组(0.14 ± 0.05 、 0.26 ± 0.09 、 0.39 ± 0.11)， $t=3.60$ 、 3.92 、 3.85 ， $P=0.042$ 、 0.038 、 0.040 ，组间比较均差异有统计学意义。

2.4 各组间SKOV3细胞穿膜情况

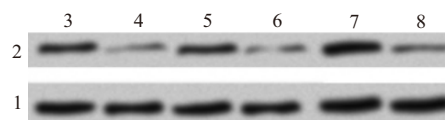
miR-125a组穿膜细胞数为(56.25 ± 6.85)个，低于miR-NC组(113.4 ± 9.65)个($t=12.30$ ， $P<0.001$)。si-STAT3组穿膜细胞数为(50.47 ± 6.32)个，低于si-NC组(109.41 ± 8.02)个($t=10.32$ ， $P<0.001$)。miR-125a+si-STAT3组穿膜细胞数为(32.54 ± 4.87)个，低于miR-125a+si-NC组(54.26 ± 6.20)个($t=8.251$ ， $P<0.001$)，组间比较差异有统计学意义，见图1。

2.5 各组间SKOV3细胞凋亡率的比较

miR-125a组细胞凋亡率为(21.3 ± 3.5)%，高于miR-NC组(6.4 ± 1.0)%($t=5.62$ ， $P=0.004$)。si-STAT3组细胞凋亡率为(28.4 ± 4.3)%，高于si-NC组(10.7 ± 1.8)%($t=6.38$ ， $P<0.001$)。miR-125a+si-STAT3组细胞凋亡率为(94.3 ± 8.4)%，高于miR-125a+si-NC组(22.5 ± 2.7)%($t=12.01$ ， $P<0.001$)，组间比较均差异有统计学意义。

2.6 miR-125a与STAT3的靶向调控关系

STAT3+miR-125a mimic组与STAT3 WT组相比，STAT3蛋白表达较弱，见图2。STAT3 WT组、STAT3+miR-125a mimic组、STAT3 MUT组和STAT3 MUT+miR-125a mimic组萤光素酶活性分别为 1.32 ± 0.21 、 0.25 ± 0.06 、 1.29 ± 0.18 和 1.28 ± 0.20 ，四组间经单因素方差分析差异有统计学意义($F=6.51$ ， $P=0.004$)，组间两两比较显示STAT3+miR-125a mimic组萤光素酶活性低于STAT3 WT组、STAT3 MUT组和STAT3 MUT+miR-125a mimic组(均 $P<0.05$)，miR-125a与STAT3存在靶向结合位点，见图3。



注：1—β-肌动蛋白(β-actin为)，2—信号转导与转录活化因子3(STAT3)，3—第一次试验STAT3 WT组；4—第一次试验STAT3+miR-125a mimic组；5—第二次试验STAT3 WT组；6—第二次试验STAT3+miR-125a mimic组；5—第三次试验STAT3 WT组；6—第三次试验STAT3+miR-125a mimic组。

图2 STAT3 WT组和STAT3+miR-125a mimic组STAT3蛋白表达情况

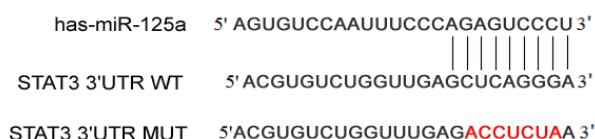


图3 miR-125a靶向调控STAT3的示意图

3 讨论

OC是女性生殖系统中的常见肿瘤，目前仍然缺乏有效的，早期筛查和诊断策略。由于高复发率和耐药性，OC的死亡率在妇科恶性肿瘤中排名第一^[12]。OC复杂而多样的病因促使研究人员探索其发病及进展的特定机制，大量研究证明miRNA与OC的发生和发展密切相关^[13-15]。Xu等^[16]研究显示，miR-125a-5p通过靶向STAT3改善2型糖尿病病人的肝糖脂代谢障碍。在一项动物研究^[17]中显示，miR-125a-5p通过直接靶向STAT3调节肺动脉平滑肌细胞的增殖和凋亡。在本研究中，作者检测到miR-125a在OC细胞中明显降低，而STAT3 mRNA的表达水平显著增加，推测miR-125a与STAT3之间亦可能存在靶向调节关系，并进一步影响OC的增殖、侵袭和凋亡。

目前miR-125a的研究较为广泛，Ahnadvand等^[18]研究显示，miR-125a的过表达与慢性淋巴细胞性白血病分期相关，有可能成为慢性淋巴细胞白血病预后的潜在生物标志物。在三阴性乳腺癌中，miR-125a可诱导酪氨酸激酶受体2表达增加，与曲妥珠单抗发挥协同抗肿瘤活性^[19]。Yang等^[20]研究显示，miR-125a与STAT3的3'-UTR结合，从而抑制Th17细胞分化，减轻结肠炎反应。在肝细胞癌中，miR-125a的表达下调，通过抑制lin28b的表达抑制

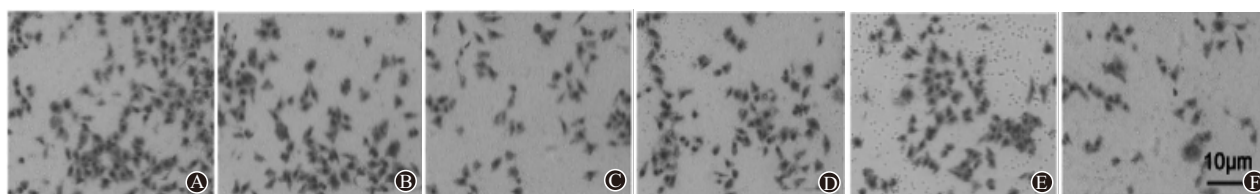


图1 各组间SKOV3细胞穿膜情况(结晶紫染色 $\times 200$)：A为miR-125a阴性对照质粒；B为miR-125a过表达质粒；C为沉默STAT3阴性对照质粒；D为沉默STAT3质粒；E为同时转染miR-125a过表达质粒和沉默STAT3阴性对照质粒；F为同时转染miR-125a过表达质粒和沉默STAT3质粒

肝细胞癌的增殖,发挥抗肿瘤活性^[21]。以上研究显示,miR-125a的生物学功能多样化,有抗炎和增加药敏作用同时也可发挥抗肿瘤活性。在本研究中,miR-125a在SKOV3中的表达水平下调,利用转染技术增加其表达水平后,可显著抑制SKOV3细胞的增殖、侵袭并诱导细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用。在一项宫颈癌研究^[22]中显示,宫颈癌的肿瘤体积较小,处于早期阶段预后较好,而转移情况预后较差,且miR125a的表达下调与大肿瘤(≥ 4 cm)、晚期FIGO阶段(Ⅲ/Ⅳ期)和转移情况(淋巴转移和远处转移)显著相关,影响疾病无进展生存期和总生存期。更进一步证实miR125a在肿瘤中低表达促进肿瘤的进展,且与病人的预后相关。

STAT3是一种细胞质转录因子,可调节细胞增殖、分化、凋亡、血管生成、炎症和免疫反应,阻断STAT3激活并消除其信号级联反应有望成为治疗癌症的方法之一^[23]。STAT3异常激活通过多种致癌基因表达触发肿瘤进展,从而导致恶性肿瘤的发生^[24]。越来越多的证据表明,肿瘤微环境与STAT3信号通路密切相关,因此靶向STAT3可以改善肿瘤进展和抗癌免疫反应^[25-26]。骨肉瘤中STAT3上调可导致骨肉瘤细胞的转化、增殖、肿瘤形成和耐药性,STAT3有望成为治疗骨肉瘤的潜在靶点^[27]。以上研究均显示,靶向STAT3在肿瘤中可发挥抗肿瘤活性,且是目前抗肿瘤研究中的热点。在本研究中发现SKOV3细胞中STAT3的表达水平增加,通过转染技术敲低SKOV3细胞中STAT3的表达水平后,可显著抑制SKOV3细胞增殖、侵袭并诱导细胞凋亡,提示STAT3在卵巢癌中发挥促癌基因作用。同时增加SKOV3细胞中miR-125a的表达,减弱STAT3后检测到与单独增加miR-125a相比,能更好的抑制细胞增殖和侵袭并诱导细胞凋亡。经过蛋白质印迹法检测显示STAT3+miR-125a mimic组STAT3蛋白表达显著低于STAT3 WT组,提示miR-125a可靶向调节STAT3的表达。经过荧光素酶实验验证,miR-125a与STAT3之间存在靶向结合位点,进一步确定miR-125a可以通过靶向调节STAT3的表达,发挥抗肿瘤活性。

综上所述,miR-125a在卵巢癌细胞中表达降低,STAT3在卵巢癌细胞中表达增加,增加miR-125a的表达水平和敲低STAT3的表达水平均可抑制SKOV3细胞的增殖和侵袭并诱导细胞凋亡,且miR-125a与STAT3之间存在靶向调节关系,为干预OC恶性生物学行为提供新的研究思路。

参考文献

- [1] WESTIN SN, LOUIE-GAO M, GUPTA D, et al. Risk factors for progression or death after first-line platinum-based chemotherapy in real-world patients in the USA with ovarian cancer from 2011 to 2018[J]. *Future Oncol*, 2021, 17(32):4263-4274.
- [2] FRIEDRICH M, FRIEDRICH D, KRAFT C, et al. Multimodal treatment of primary advanced ovarian cancer [J]. *Anticancer Res*, 2021, 41(7):3253-3260.
- [3] XIE W, SUN H, LI X, et al. Ovarian cancer: epigenetics, drug resistance, and progression [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):434.
- [4] MCDONALD JI, DIAB N, ARTHOFER E, et al. Epigenetic therapies in ovarian cancer alter repetitive element expression in a TP53-dependent manner [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(20):5176-5189.
- [5] MOMIN MY, GADDAM RR, KRAVITZ M, et al. The challenges and opportunities in the development of microRNA therapeutics: a multidisciplinary viewpoint [J]. *Cells*, 2021, 10(11):3097.
- [6] CHEN D, SU H, LI Y, et al. miR-20b and miR-125a promote tumorigenesis in radioresistant esophageal carcinoma cells [J]. *Ageing (Albany NY)*, 2021, 13(7):9566-9581.
- [7] DOS SANTOS MP, PEREIRA JN, DE LABIO RW, et al. Decrease of miR-125a-5p in gastritis and gastric cancer and its possible association with *H. pylori* [J]. *J Gastrointest Cancer*, 2021, 52(2):569-574.
- [8] HUANG H, HUANG J, YAO J, et al. miR-125a regulates HAS1 and inhibits the proliferation, invasion and metastasis by targeting STAT3 in non-small cell lung cancer cells [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(5-6):3197-3207.
- [9] YANG J, LI G, ZHANG K. MiR-125a regulates ovarian cancer proliferation and invasion by repressing GALNT14 expression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 80:381-387.
- [10] LIANG ZX, WU GL, FAN CX, et al. The emerging role of signal transducer and activator of transcription 3 in cerebral ischemic and hemorrhagic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 137:1-16.
- [11] HE N, FENG G, LI Y, et al. Embryonic stem cell preconditioned microenvironment suppresses tumorigenic properties in breast cancer [J]. *Stem cell Res Ther*, 2016, 7:95.
- [12] ZHENG L, CUI C, SHI O, et al. Incidence and mortality of ovarian cancer at the global, regional, and national levels, 1990-2017 [J]. *Gynecol Oncol*, 2020, 159(1):239-247.
- [13] DEB B, UDDIN A, CHAKRABORTY S. miRNAs and ovarian cancer: an overview [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5):3846-3854.
- [14] DORRAKI N, GHALE-NOIE ZN, AHMADI NS, et al. miRNA-148b and its role in various cancers [J]. *Epigenomics*, 2021, 13(24):1939-1960.
- [15] PRAHM KP, HOGDALL CK, KARLSEN MA, et al. MicroRNA characteristics in epithelial ovarian cancer [J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(6):e0252401. DOI:10.1371/journal.pone.0252401.
- [16] XU L, LI Y, YIN L, et al. miR-125a-5p ameliorates hepatic glycolipid metabolism disorder in type 2 diabetes mellitus through targeting of STAT3 [J]. *Theranostics*, 2018, 8(20):5593-5609.
- [17] CAI Z, LI J, ZHUANG Q, et al. MiR-125a-5p ameliorates mono-

- crotaline-induced pulmonary arterial hypertension by targeting the TGF- β 1 and IL-6/STAT3 signaling pathways[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(4):1-11.
- [18] AHNADVAND M, ESKANDARI M, KHAKPOUR G, et al. Identification of miR-125a as a novel plasma diagnostic biomarker for chronic lymphoblastic leukemia[J]. *Clin Lab*, 2019, 65(3):10.
- [19] NINIO-MANY L, HIKRI E, BURG-GOLANI T, et al. miR-125a induces HER2 expression and sensitivity to trastuzumab in triple-negative breast cancer lines[J]. *Front Oncol*, 2020, 10:191.
- [20] YANG R, HUANG H, CUI S, et al. IFN- γ promoted exosomes from mesenchymal stem cells to attenuate colitis via miR-125a and miR-125b[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7):603.
- [21] PANELLA M, MOSCA N, DI PALO A, et al. Mutual suppression of miR-125a and Lin28b in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(3):824-827.
- [22] CHEN LY, WANG L, REN YX, et al. The circular RNA circ-ERBIN promotes growth and metastasis of colorectal cancer by miR-125a-5p and miR-138-5p/4EBP-1 mediated cap-independant HIF-1 α translation[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):164.
- [23] GUANIZO AC, FERNANDO CD, GARAMA DJ, et al. STAT3: a multifaceted oncoprotein[J]. *Growth Factors*, 2018, 36(1/2):1-14.
- [24] JIA L, WANG Y, WANG CY. circFAT1 Promotes cancer stemness and immune evasion by promoting STAT3 activation[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2021, 8(13):202003376. DOI: 10.1002/adv.202003376.
- [25] LEE H, JEONG AJ, YE SK. Highlighted STAT3 as a potential drug target for cancer therapy[J]. *BMB Rep*, 2019, 52(7):415-423.
- [26] LAUDISI F, CHERUBINI F, MONTELEONE G, et al. STAT3 interactors as potential therapeutic targets for cancer treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6):1787.
- [27] LIU Y, LIAO S, BENNETT S, et al. STAT3 and its targeting inhibitors in osteosarcoma[J/OL]. *Cell Prolif*, 2021, 54(2):e12974. DOI:10.1111/cpr.12974.
- (收稿日期:2022-04-22,修回日期:2022-05-30)

引用本文:路坤,赵士兵,陈金梦,等.改良置管方式在静脉动脉体外膜氧合中的应用[J].安徽医药,2023,27(10):2022-2026.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.10.025.

◇临床医学◇



改良置管方式在静脉动脉体外膜氧合中的应用

路坤,赵士兵,陈金梦,吴强,汪华学

作者单位:蚌埠医学院第一附属医院重症医学科,安徽 蚌埠 233004

通信作者:汪华学,男,主任医师,硕士生导师,研究方向为重症医学,Email:huaxuew2010@163.com

基金项目:安徽省临床重点专科建设项目(卫科教秘[2017]27号-10);蚌埠医学院自然科学重点项目(2021byzd154)

摘要: 目的 探讨一种改良置管方式在静脉动脉体外膜氧合(VA-ECMO)中的应用价值。方法 回顾性研究2020年3月至2022年3月蚌埠医学院第一附属医院重症医学科收治接受VA-ECMO治疗的42例病人临床资料,根据置管方式的不同,分为改良组18例和超声引导组24例,比较两组病人的基线资料、预后情况、ECMO建立时间、一次性动静脉置管成功率、远端灌注管(DPC)放置成功率、ECMO撤除时间以及相关并发症等指标的差异。结果 改良组ECMO建立时间[(35.78 $\pm$ 7.46)比(49.46 $\pm$ 23.45)min]、ECMO撤除时间[(39.00 $\pm$ 9.93)比(56.82 $\pm$ 6.77)min]、置管总并发症发生率[16.67%(3/18)比50.00%(12/24)]均低于超声引导组($P<0.05$);改良组一次性动脉置管成功率[100%(18/18)比66.67%(16/24)]、DPC放置成功率[100%(18/18)比70.83%(17/24)]均高于超声引导组($P<0.05$);两组撤机成功率[50.00%(9/18)比45.83%(11/24)]、撤机后28 d存活率[44.44%(8/18)比33.33%(11/24)]、一次性静脉置管成功率[77.78%(14/18)比70.83%(17/24)]、置管血红蛋白下降[(2.28 $\pm$ 1.90)比(3.17 $\pm$ 2.62)g/L]、拔管总并发症发生率[22.22%(2/9)比27.27%(3/11)]、拔管血红蛋白下降[(2.33 $\pm$ 1.50)g/L比(3.09 $\pm$ 1.58)g/L]比较,均差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 与超声引导下经皮穿刺置管比较,改良置管可以缩短VA-ECMO建立及撤除时间,具有一次性动脉置管成功率高,置管总并发症发生率低,且使DPC放置变得简单等优点。

关键词: 导管,留置; 氧合器,膜式; 体外膜氧合; 超声引导经皮穿刺置管; 外科切开置管

Application of an improved intubation method in venoarterial extracorporeal membrane oxygenation

LU Kun, ZHAO Shibing, CHEN Jinmeng, WU Qiang, WANG Huaxue

Author Affiliation: Department of Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233004, China