

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.10.006

· 基础研究(专题) ·

miR-126-5p 靶向 *Notch2* 对结肠癌 SW480 细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响

王艳良¹, 陈涛²(1. 海南省儋州市人民医院 普外科, 海南 儋州 571700; 2. 包头医学院第一附属医院 普外科, 内蒙古 包头 014000)

[摘要] **目的:**探讨 miR-126-5p 对结肠癌 SW480 细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响及其作用机制。**方法:**用 miR-126 mimic 和 pcDNA Notch2(pc-Notch2)等分别或同时转染结肠癌 SW480 细胞,用 qPCR 法检测 miR-126-5p 和 *Notch2* 的表达;荧光素酶报告实验观察 miR-126-5p 和 *Notch2* 的靶向关系;CCK-8 法、划痕愈合实验、Transwell 小室法和 Annexin V/PI 染色流式细胞术分别检测转染细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡,Western blotting 检测 *Notch2*、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、cleaved Caspase-3、MMP-2 和 MMP-9 的表达。**结果:**转染 miR-126 mimic 能显著升高 SW480 细胞 miR-126-5p 的表达水平($P < 0.01$)和显著抑制 SW480 细胞 *Notch2* 的表达($P < 0.01$),同时证实 *Notch2* 上存在 miR-126-5p 的结合位点。上调 miR-126-5p 显著抑制 SW480 细胞增殖并降低 PCNA 的表达水平($P < 0.01$)、升高细胞凋亡率和 cleaved Caspase-9 的表达水平(均 $P < 0.01$),pc-Notch2 显著减弱 miR-126 mimic 对 SW480 细胞增殖和凋亡的调控作用;miR-126 mimic 显著降低 SW480 细胞划痕愈合率和穿膜细胞数(均 $P < 0.01$)、抑制 MMP-2 和 MMP-9 的表达($P < 0.01$);pc-Notch2 显著减弱 miR-126 mimic 对 SW480 细胞迁移、侵袭及 MMP-2、MMP-9 表达的抑制作用(均 $P < 0.01$)。**结论:**miR-126-5p 通过抑制 *Notch2* 表达,降低结肠癌 SW480 细胞增殖、迁移和侵袭能力。

[关键词] 结肠癌;SW480 细胞;miR-126-5p;*Notch2*;增殖;凋亡

[中图分类号] R730.54;R735.3⁵ **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)10-1006-07

Effects of miR-126-5p on proliferation, migration, invasion and apoptosis of colon cancer SW480 cells via targeting *Notch2*

WANG Yanliang¹, CHEN Tao²(1. Department of General Surgery, Danzhou People's Hospital of Hainan Province, Danzhou 571700, Hainan, China; 2. Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014000, Inner Mongolia, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects and mechanisms of miR-126-5p on proliferation, migration, invasion and apoptosis of colon cancer SW480 cells. **Methods:** Cells were transferred with miR-126 mimic and pcDNA Notch2 (pc-Notch2) respectively or simultaneously. Real-time fluorescence quantitative PCR was performed to detect the expression of miR-126 and Notch2. The relationship of miR-126-5p and *Notch2* was determined by luciferase reporter assay. The CCK-8 assay, wound healing assay, Transwell and flow cytometry were performed to examine cell proliferation, migration, invasion and apoptosis, respectively. The protein levels of Notch2, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), cleaved Caspase-3, metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 were measured by Western blotting. **Results:** miR-126 mimic significantly increased expression level of miR-126-5p but reduced the expression of *Notch2* in SW480 cells (all $P < 0.01$); in the meanwhile, a binding site with miR-126-5p was confirmed on Notch2. Up-regulating the expression of miR-126-5p inhibited cell proliferation and the expression of PCNA ($P < 0.01$), increased the cell apoptosis rate and protein level of cleaved Caspase-3 notably (all $P < 0.01$). Pc-Notch2 obviously alleviated the effects of miR-126 mimic on cell proliferation and apoptosis (all $P < 0.01$). Furthermore, miR-126 mimic significantly decreased the wound healing rate and invasive cell numbers (all $P < 0.01$), and down-regulated the expressions of MMP-2 and MMP-9 ($P < 0.01$); pc-Notch2 alleviated the effects of miR-126 mimic on cell migration, invasion and the expressions of MMP-2 and MMP-9 (all $P < 0.01$). **Conclusion:** miR-126-5p can attenuate proliferation, migration

[基金项目] 海南省医药卫生科研基金资助项目(No. 15A200264)。Project supported by the Medical and Health Research Foundation of Hainan Province(No. 15A200264)

[作者简介] 王艳良(1980-),男,硕士,副主任医师,主要从事肝胆胰、胃肠、乳腺及甲状腺肿瘤的治疗,E-mail: haiyi6229786@sina.com

[通信作者] 陈涛(CHEN Tao, corresponding author), 硕士,主任医师,主要从事胃肠胰、乳腺及甲状腺疾病的临床治疗,E-mail: 280949346@qq.com

and invasive ability of colon SW480 cells via inhibiting the expression of Notch2.

[Key words] colon cancer; SW480 cell; miR-126-5p; Notch2; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(10): 1006-1012. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.10.006]

结肠癌是常见恶性肿瘤之一,也是致死率最高的一类癌症^[1-2]。据统计,全球每年约有100万人被诊断为结肠癌,约有60万死于该病^[3]。随着诊断与治疗水平的提高,结肠癌的病死率在西方国家有所降低,但在许多包括中国在内的发展中国家的发病率依然呈上升趋势^[3]。因此,探究结肠癌的发病机制,寻找新的诊断指标及治疗方法是治疗结肠癌的关键。研究^[4-6]表明,微小RNA(miRNA)在调控肿瘤基因表达和疾病的发生中起重要的作用。miRNA的异常表达能促进癌细胞增殖和转移,并能抑制癌细胞凋亡,从而促进肿瘤的发展^[7-8]。miR-126-5p是一类抑癌基因,其在结肠癌细胞中呈低表达,上调miR-126-5p表达能抑制结直肠癌细胞的增殖、诱导癌细胞凋亡^[9],但其具体的作用机制尚未完全明了。本课题通过上调结肠癌SW480细胞miR-126-5p的表达,观察对结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人结肠癌细胞株SW480购自美国ATCC。DMEM高糖培养液和胎牛血清购自美国Gibco公司,Lipofectamine™ 2000脂质体转染试剂盒购自美国Invitrogen公司,RIPA蛋白裂解液和TRIzol试剂购自北京百奥莱博科技公司,荧光素酶基因报告试剂盒购自索莱宝科技公司,逆转录试剂盒和PCR荧光定量试剂盒购自Thermo Fisher公司,CCK8试剂盒购自南京建成生物工程研究所,Annexin V-FITC细胞凋亡试剂盒购自美国Abcam公司,抗Notch2、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、cleaved Caspase-3、MMP-2和MMP-9一抗购自美国Millipore公司,辣过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗小鼠和山羊抗兔二抗购自Santa Cruz公司。

1.2 实验分组及细胞转染

用含有10%胎牛血清的DMEM培养液5 ml的结肠癌SW480细胞悬于25 cm²的细胞培养瓶中,于37 °C、5% CO₂的恒温培养箱中培养,隔天换液,细胞汇合率达到85%以上时进行传代培养。

收集SW480细胞,将细胞密度调整至1×10⁵个/ml并接种于12孔板。将细胞随机分为SW480组、模拟物对照组(mimic-scramble)、miR-126模拟物组(miR-126 mimic)或SW480组、miR-126 mimic组、pc-Notch2组、miR-126 mimic+pc-Noth2组。在板内继

续培养24 h后,根据Lipofectamine™ 2000脂质体转染试剂盒说明书转染细胞:miR-126模拟物组转染miR-126 mimic,pc-Notch2转染pc-Notch2,miR-126模拟物+pc-Noth2共转染组同时转染miR-126 mimic和pc-Notch2,SW480组加入转染液,mimic-scramble则加入空载体处理。转染4 h后,将转染液更换为正常细胞培养液继续培养。

1.3 qPCR检测SW480细胞miR-126-5p和Notch2的表达

用miR-126 mimic转染细胞后,用TRIzol试剂抽提各组细胞总RNA,进行定量分析后,用逆转录试剂盒合成cDNA,进行PCR反应。根据qPCR试剂盒说明书对cDNA进行定量分析。引物序列:miR-126-5p上游引物为5'-ACACTCCAGCTGGGTCGTACCGT-GAGTAAT-3';下游引物为5'-TGGTGTCGTG-GAGTGC-3';Notch2上游引物为5'-AAGCGGAT-GTGAATGCAGTG-3',下游引物为5'-GGCAG-CAAGAAACAGAGGTG-3';GAPDH上游引物为5'-TGGGTGTGAACCATGAGAAGT-3',下游引物为5'-TGAGTCCTTCCACGATACCAA-3'。结果以2^{-ΔΔCt}计算。实验重复3次。

1.4 生物信息学预测、荧光素酶报告实验观察miR-126-5p与Notch2的靶向关系

用PCR扩增miR-126-5p与Notch2结合片段并插入荧光素酶载体,构建Notch2野生质粒。用基因突变技术将结合片段中部分核苷酸突变,构建Notch2突变质粒。用miR-126 mimic和Notch2野生质粒或突变质粒共转染SW480细胞,利用报告基因试剂盒检测各组的荧光素酶活性。

1.5 Western blotting检测SW480细胞Notch2、PCNA、cleaved Caspase-3、MMP-2和MMP-9蛋白的表达

用RIPA裂解液提取转染后各组细胞总蛋白,BCA试剂盒检测蛋白浓度并调平。各组分别取等量蛋白用10% SDS-PAGE分离蛋白质,转移蛋白质到PVDF膜。用5%脱脂牛奶封闭,2 h后加入一抗(Notch2, 1:1 000; PCNA, 1:1 200; cleaved Caspase-9, 1:1 000; MMP-2, 1:900; MMP-9, 1:1 000),于4 °C孵育过夜。次日弃去一抗,加入HRP标记的山羊抗小鼠或山羊抗兔二抗(1:1 300)室温封闭1 h,滴加ECL进行曝光显影,用凝胶成像系统获取蛋白质条带图片。以GAPDH为内参。实验重复3次。

1.6 CCK-8法检测SW480细胞的增殖

将细胞接种于96孔板中,用miR-126 mimic和

pc-*Notch2* 按实验分组, 分别对培养的 SW480 细胞进行转染后, 连续培养 0、1、2、3 和 4 d, 根据 CCK-8 试剂盒说明书检测各组细胞增殖情况(细胞增殖倍数=相应时间点细胞 *D* 值/0 h 细胞 *D* 值)。实验重复 3 次。

1.7 Annexin V/PI 染色流式细胞术检测 SW480 细胞的凋亡

收集转染后细胞, 用 70% 乙醇固定后, 根据 Annexin V-FITC 试剂盒说明书分别加入 Annexin V-FITC 和 PI 染色液各 5 μ l 室温孵育 15 min, 用流式细胞仪检测各实验组细胞凋亡情况。实验重复 3 次。

1.8 划痕愈合实验检测 SW480 细胞的迁移

用记号笔于 6 孔板背面划直线, 使每个培养孔至少有 5 条直线穿过, 消毒灭菌后备用。将各种转染组细胞接种于 6 孔板中, 用 10 μ l 的枪头垂直于 6 孔板背面直线划痕, 用磷酸盐缓冲液洗去被划下的细胞, 换用无血清培养液继续培养 24 h, 记录 0 和 24 h 时细胞划痕宽度, 计算细胞的划痕愈合率[划痕愈合率(%)=(0 h 划痕宽度-24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度 \times 100%]。实验重复 3 次。

1.9 Transwell 小室法检测 SW480 细胞的侵袭

实验前用 Matrigel 胶对 Transwell 小室进行预包被。将转染后的细胞以 1×10^6 个/ml 的密度接种于 Transwell 小室上层, 并用无血清培养液培养; Transwell 小室下层加入完全培养液。24 h 后用无菌棉签才去上层未侵袭细胞, 用 H-E 染色后, 将下层迁移细

胞染色计数。实验重复 3 次。

1.10 统计学处理

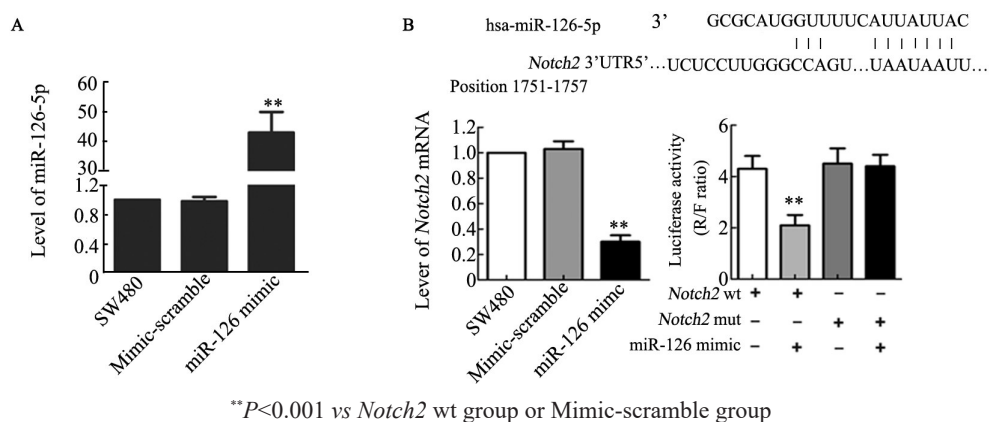
用统计软件 SPSS 19.0 对实验数据进行统计分析, 计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两组间比较用 *t* 检验, 多组间比较用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-126-5p 靶向抑制 *Notch2* 表达

qPCR 检测结果(图 1A)所示, 与 SW480 组比较, mimic-scramble 组细胞 miR-126-5p 表达水平无明显变化; 与 mimic-scramble 组比较, miR-126 mimic 组细胞 miR-126-5p 的表达水平显著升高($t=97.499$, $P<0.01$; 图 1A), 表明转染成功。

生物信息学预测结果(http://www.targets can.org/vert_71/; 图 1B)显示, *Notch2* 序列上存在连续的 miR-126-5p 结合位点; 同时, 与 SW480 组细胞比较, mimic-scramble 组细胞 *Notch2* 表达水平无明显变化; 与 mimic-scramble 组比较, miR-126 mimic 组细胞 *Notch2* 表达水平显著降低($t=29.025$, $P<0.01$; 图 1B); 此外, 与 *Notch2* wt 组比较, *Notch2* wt + miR-126 mimic 组荧光素酶活性显著降低($t=17.989$, $P<0.01$; 图 1B); 结合位点突变后 miR-126 mimic 对荧光素酶活性的抑制作用消失, 进一步表明 miR-126-5p 与 *Notch2* 存在靶向作用关系。



A: The expression level of miR-126-5p was measured by qPCR; B: The relationship of miR-126-5p and *Notch2* was predicted by bioinformatics and luciferase reporter assay

图 1 miR-126-5p 与 *Notch2* 的靶向结合作用关系

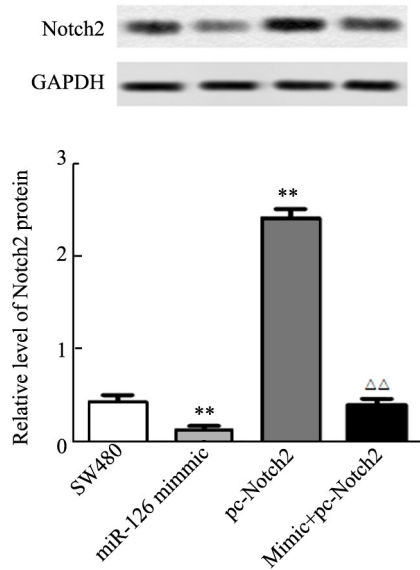
Fig. 1 The targeted-relationship of miR-126-5p and *Notch2*

2.2 miR-126-5p 抑制结肠癌 SW480 细胞增殖

Western blotting 检测结果(图 2)显示, 与 SW480 组比较, pc-*Notch2* 组 *Notch2* 蛋白表达水平显著高于 SW480 组($t=34.874$, $P<0.01$), 表明转染成功; miR-126 mimic 和 pc-*Notch2* 转染细胞 4 d 后, miR-126 mimic 组 SW480 细胞增殖倍数和细胞增殖相关蛋白

PCNA 的表达水平明显降低($t=15.459$, $P<0.01$; 图 3), pc-*Notch2* 组细胞增殖倍数和 PCNA 表达水平明显高于 SW480 组($t=10.756$, $P<0.01$; 图 3); mimic + pc-*Notch2* 细胞增殖倍数和 PCNA 表达水平明显高于 miR-126 mimic 组($t=22.401$, $P<0.01$; 图 3)。结果提示, miR-126-5p 可通过下调 *Notch2* 表达抑制结肠癌

SW480细胞增殖,当这一通路中的任何一个基因发生数量变异,都会使细胞增殖失调。



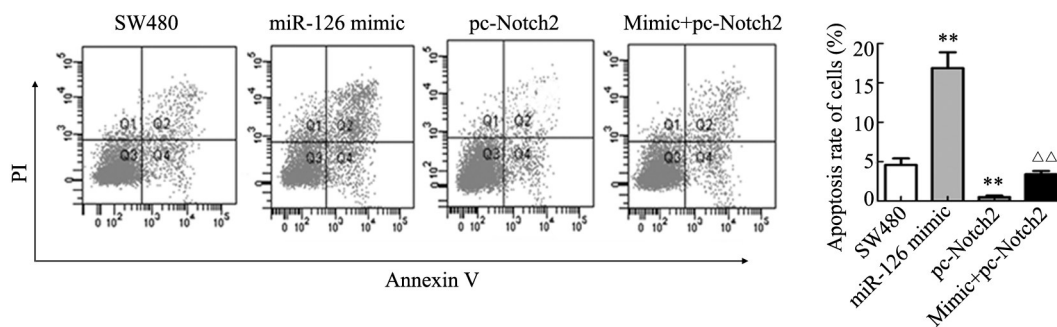
** $P < 0.01$ vs SW480 group; △△ $P < 0.01$ vs miR-126 mimic group

图2 pc-Notch2对SW480细胞Notch2蛋白表达水平的影响($n=6$)

Fig. 2 Effect of pc-Notch2 on expression of Notch2 protein in SW480 cells($n=6$)

2.3 miR-126-5p 诱导 SW480 细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图4)显示,与SW480组比较,miR-126 mimic组SW480细胞凋亡率明显升高($t=60.781, P < 0.01$),pc-Notch2组细胞凋亡率明显降低



** $P < 0.01$ vs SW480 group; △△ $P < 0.05$ vs miR-126 mimic group

图4 miR-126-5p对SW480细胞凋亡的影响($n=6$)

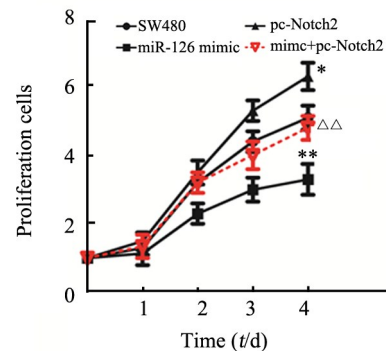
Fig. 4 The effect of miR-126-5p on apoptosis of SW480 cells($n=6$)

2.4 miR-126-5p 抑制结肠癌 SW480 细胞迁移

划痕愈合实验结果(图6)显示,与SW480组比较,miR-126 mimic组细胞划痕愈合率明显降低,pc-Notch2组细胞划痕愈合率明显升高($t=44.414, 10.554$;均 $P < 0.01$);与miR-126 mimic组比较,mimic+pc-Notch2组细胞划痕愈合率显著升高($t=45.709,$

$t=10.391, P < 0.01$);与miR-126 mimic组比较,mimic+pc-Notch2组细胞凋亡率显著降低($t=6.818, P < 0.01$)。

Western blotting 检测结果(图6)显示,miR-126 mimic组SW480细胞凋亡相关蛋白cleaved Caspase-9的表达水平明显高于SW480组($t=25.153, P < 0.01$);pc-Notch2组细胞cleaved Caspase-9的表达水平显著低于SW480组($t=7.036, P < 0.01$);与miR-126 mimic组比较,mimic+pc-Notch2组细胞cleaved Caspase-9的表达水平明显降低($t=14.586, P < 0.01$)。结果进一步表明,miR-126-5p可通过靶向抑制Notch2的表达诱导结肠癌SW480细胞凋亡。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SW480 group;

△△ $P < 0.01$ vs miR-126 mimic group

图3 miR-126-5p对SW480细胞增殖的影响($n=6$)

Fig.3 The effect of miR-126-5p on proliferation of SW480 cells($n=6$)

$P < 0.01$)。结果表明,miR-126-5p能通过抑制Notch2表达抑制结肠癌SW480细胞迁移。

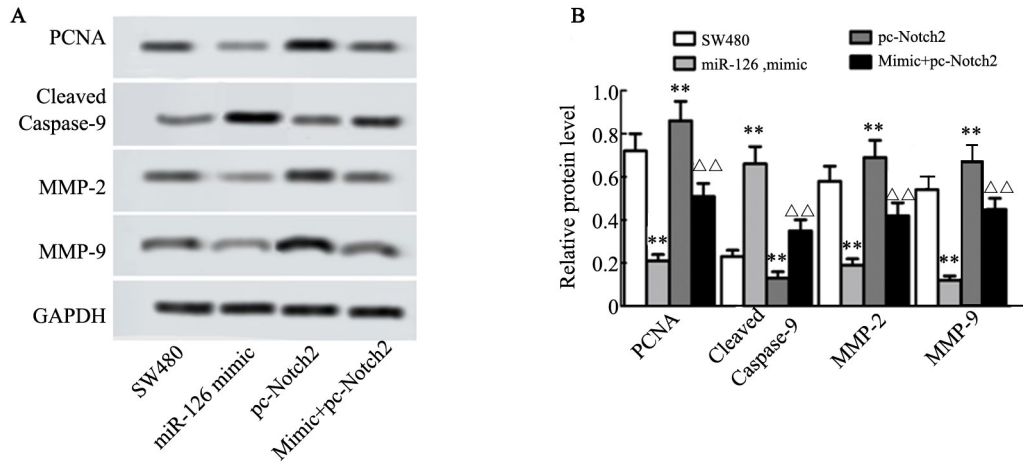
2.5 miR-126-5p 抑制结肠癌 SW480 细胞侵袭

Transwell小室法检测结果(图7)所示,与SW480组比较,miR-126 mimic组侵袭细胞数明显减少($t=118.943, P < 0.01$),pc-Notch2组侵袭细胞数明显增多($t=23.928,$

$P < 0.01$); 与 miR-126 mimic 组比较, mimic + pc-Notch2 组侵袭细胞数明显增多 ($t = 153.450, P < 0.01$)。

Western blotting 检测结果 (图 5) 显示, miR-126 mimic 还能显著抑制 SW480 细胞侵袭相关蛋白 MMP-2 和 MMP-9 表达 ($t = 19.026, 19.007; P < 0.01$),

pc-Notch2 能显著促进 MMP-2 和 MMP-9 的表达 ($t = 6.705, 11.384; P < 0.01$), 并且还能显著减弱 miR-126 mimic 对 MMP-2 和 MMP-9 表达的抑制作用 ($t = 30.870, 36.056; 均 P < 0.01$), 提示 miR-126-5p 能通过抑制 Notch2 的表达抑制结肠癌 SW480 细胞侵袭。

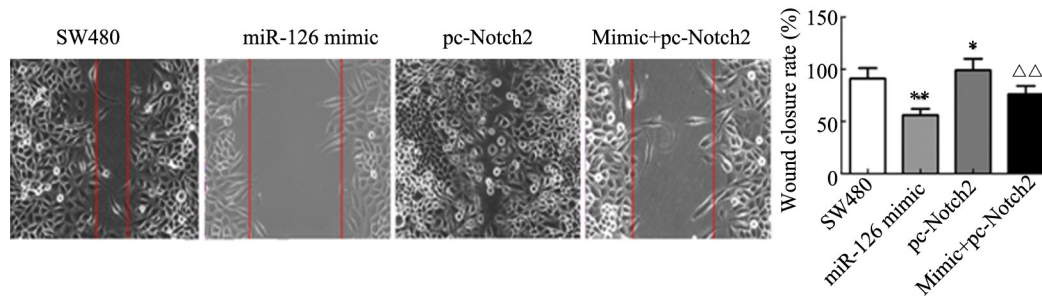


** $P < 0.001$ vs SW480 group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs miR-126 mimic group

A: Western blotting was used to detect the protein level; B: The quantification of protein level

图 5 miR-126-5p 对 PCNA、cleaved Caspase-9、MMP-2 和 MMP-9 表达的影响 ($n = 6$)

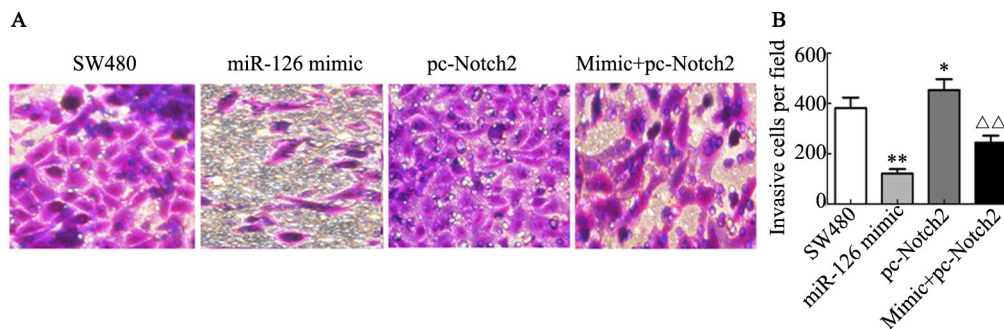
Fig. 5 The effect of miR-126-5p on expressions of PCNA, cleaved Caspase-9, MMP-2 and MMP-9 ($n = 6$)



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SW480 group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs miR-126 mimic group

图 6 miR-126-5p 对 SW480 细胞迁移的影响 ($n = 6$)

Fig. 6 The effect of miR-126-5p on migration of SW480 cells ($n = 6$)



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SW480 group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs miR-126 mimic group

A: Invasive cells were stained by H-E staining ($\times 400$); B: The quantification of invasive cells

图 7 miR-126-5p 对 SW480 细胞侵袭的影响 ($n = 6$)

Fig. 7 The effect of miR-126-5p on invasion of SW480 cells ($n = 6$)

3 讨论

miR-126-5p 是一类具有抑癌作用的 miRNA, 位于表皮生长因子结构域 7 的内含子 7 内部^[10]。miR-126-5p 可通过调控 Bcl2l2 的表达诱导子宫颈癌细胞凋亡^[11], 还能通过抑制 PTHrP 表达抑制巨细胞瘤细胞增殖^[12]。MIKON 等^[13]发现, miR-126-5p 还可通过靶向 SLC7A5 抑制非小细胞肺癌细胞增殖。也有研究^[14]表明, miR-126-5p 在结直肠癌中的异常表达与结直肠癌患者的预后密切相关。miR-126-5p 在结肠癌中表达水平异常降低, 上调 miR-126-5p 表达降低 SW480 细胞活性, 还能抑制 SW480 细胞侵袭和迁移^[15]。本文研究发现, 用 miR-126 mimic 转染细胞 4 d 后, 结肠癌 SW480 细胞增殖速度明显降低, 再次证明 miR-126-5p 能抑制 SW480 细胞增殖。

对下游靶蛋白的调控, 是 miRNA 调控癌细胞增殖和肿瘤生成的重要机制。Notch2 是一类高度保守的细胞表面受体, 其介导的 Notch 信号通路在调控细胞分化、增殖和凋亡的过程中都发挥了重要作用^[16]。研究^[17]表明, miRNA 能通过调控下游基因的表达调控细胞增殖, 从而影响肿瘤的发展, miR-181c 可通过调控 Notch2 的表达抑制子宫内膜腺癌的复发。miR-126-5p 的表达降低, 与多种实体瘤和骨髓瘤的发生发展密切相关。miR-126-5p 抑制细胞增殖的相关调控机制还不明确。本研究发现, miR-126-5p 序列上存在连续的 Notch2 的结合位点, Notch2 在结肠癌 SW480 细胞中表达水平明显升高, 上调 miR-126-5p 表达能显著降低 Notch2 mRNA 水平, 提示 miR-126-5p 可能可靶向调控 Notch2 的表达。此外, 荧光素酶报告实验结果进一步表明 miR-126-5p 与 Notch2 之间存在靶向调控的关系。上调 Notch2 表达能显著促进 SW480 细胞增殖, 并且还能显著减弱 miR-126-5p 对结肠癌细胞增殖的抑制作用, 提示 miR-126-5p 抑制结肠癌 SW480 细胞增殖与靶向下调 Notch2 的表达有关。

细胞凋亡抑制是癌症发展的重要机制。miR-126-5p 能抑制多种癌细胞凋亡, 如胰腺癌、乳腺癌和肺癌等^[18-20]。研究^[9]表明, miR-126 能诱导结肠癌 SW480 细胞凋亡。本研究也发现, miR-126 mimic 还能显著促进 SW480 细胞凋亡, 进一步表明 miR-126-5p 具有促进结肠癌 SW480 细胞凋亡的作用。pc-Notch2 能降低结肠癌 SW480 细胞凋亡率, 抑制癌细胞凋亡。此外, 上调 Notch2 表达还能显著减弱 miR-126-5p 对结肠癌细胞凋亡的诱导作用, 提示 miR-126-5p 能通过靶向 Notch2 诱导结肠癌 SW480 细胞凋亡。

此外, 本文研究还发现, 上调 miR-126-5p 的表达

能显著抑制 SW480 细胞迁移和侵袭, 还能显著抑制侵袭迁移相关蛋白 MMP-2 和 MMP-9 的表达。研究^[21]显示, 癌细胞侵袭和迁移是癌症转移的重要过程, 减弱癌细胞的侵袭和迁移能力能有效抑制癌症的转移。miR-126 能显著抑制胶质瘤、骨肉瘤及乳腺癌等癌细胞侵袭和迁移^[22-24], 同时也能影响结肠癌细胞的侵袭能力, 与本研究的结果一致^[25]。本研究还发现上调 Notch2 表达能显著减弱 miR-126 mimic 对细胞侵袭、迁移及相关蛋白表达的抑制作用, 表明 miR-126-5p 对结肠癌 SW480 细胞侵袭和迁移的作用与抑制 Notch2 表达有关。进一步表明 miR-126-5p 能抑制结肠癌 SW480 细胞侵袭和迁移, 作用机制与靶向抑制 Notch2 的表达有关。

综上所述, 本研究结果表明 miR-126-5p 能通过靶向调控 Notch2 表达来抑制结肠癌 SW480 细胞增殖并诱导其凋亡, 从而减缓结肠癌的发展; miR-126-5p 可作为结肠癌诊断标志物及治疗靶标提供新的实验依据。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21387.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FEDEWA S A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177-193. DOI: 10.3322/caac.21395.
- [3] JIA W, YU T, AN Q, et al. MicroRNA-423-5p inhibits colon cancer growth by promoting caspase-dependent apoptosis[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(2): 1225-1231. DOI: 10.3892/etm.2018.6288.
- [4] POGUE A I, LUKIW W J. Up-regulated pro-inflammatory microRNAs (miRNAs) in Alzheimer's disease (AD) and age-related macular degeneration (AMD)[J]. Cell Mol Neurobiol, 2018, 38(5):1021-1031. DOI: 10.1007/s10571-017-0572-3.
- [5] WEI N, ZHENG K, XUE R, et al. Suppression of microRNA-9-5p rescues learning and memory in chronic cerebral hypoperfusion rats model[J/OL]. Oncotarget, 2017, 8(64): 107920-107931[2018-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5746115/>. DOI: 10.18632/oncotarget.22415.
- [6] GUO Z, LI J, SUN J, et al. MiR-346 promotes HCC progression by suppressing breast cancer metastasis suppressor 1 expression[J]. Oncol Res, 2018, 26(7): 1073-1081. DOI: 10.3727/096504017X15145088802439.
- [7] YANG W, BAI J, LIU D, et al. MiR-93-5p up-regulation is involved in non-small cell lung cancer cells proliferation and migration and poor prognosis[J]. Gene, 2018, S0378-1119(18): 30031-30033. DOI: 10.1016/j.gene.2018.01.024.
- [8] YANG W, XU T, QIU P, et al. Caveolin-1 promotes pituitary adenoma cells migration and invasion by regulating the interaction between EGR1 and KLF5[J]. Exp Cell Res, 2018, 367(1): 7-14. DOI: 10.1016/j.yexcr.2018.01.008.
- [9] EBRAHIMI F, GOPALAN V, WAHAB R, et al. Deregulation of miR-126 expression in colorectal cancer pathogenesis and its clinical

- cal significance[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 339(2): 333-341. DOI: 10.1016/j.yexcr.2015.10.004.
- [10] 张玉洁, 王微微, 商安全, 等. 非小细胞肺癌患者血清 miR-22 和 miR-126 的检测及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(12): 1403-1408. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.12.011.
- [11] WANG C, ZHOU B, LIU M, et al. miR-126-5p restoration promotes cell apoptosis in cervical cancer by targeting Bcl2l2[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(4): 463-470. DOI: 10.3727/096504016X14685034103879.
- [12] ZHOU W, YIN H, WANG T, et al. MiR-126-5p regulates osteolysis formation and stromal cell proliferation in giant cell tumor through inhibition of PTHrP[J]. *Bone*, 2014, 66(6): 267-276. DOI: 10.1016/j.bone.2014.06.021.
- [13] MIKO E, MARGITAI Z, CZIMMERER Z, et al. miR-126 inhibits proliferation of small cell lung cancer cells by targeting SLC7A5[J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(8): 1191-1196. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.03.039.
- [14] FIALA O, PITULE P, HOSEK P, et al. The association of miR-126-3p, miR-126-5p and miR-664-3p expression profiles with outcomes of patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317709283. DOI: 10.1177/1010428317709283.
- [15] LI Z, LI N, WU M, et al. Expression of miR-126 suppresses migration and invasion of colon cancer cells by targeting CXCR4[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 381(1/2): 233-242. DOI: 10.1007/s11010-013-1707-6.
- [16] ARTAVANIS-TSAKONAS S, RAND M D, LAKE R J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development[J]. *Science*, 1999, 284(5415): 770-776. DOI: <http://science.sciencemag.org/content/284/5415/770.long>.
- [17] DEVOR E J, MIECZNIKOWAKI J, SCHICKLING B M, et al. Dysregulation of miR-181c expression influences recurrence of endometrial endometrioid adenocarcinoma by modulating NOTCH2 expression: an NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study [J]. *Gynecol Oncol*, 2017, 147(3): 648-653. DOI: 10.1016/j.ygyno.2017.09.025.
- [18] AN Q, HAN C, ZHOU Y, et al. Matrine induces cell cycle arrest and apoptosis with recovery of the expression of miR-126 in the A549 non-small cell lung cancer cell line[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4042-4048. DOI: 10.3892/mmr.2016.5753.
- [19] XIAO J, LIN H Y, ZHU Y Y, et al. MiR-126 regulates proliferation and invasion in the bladder cancer BLS cell line by targeting the PIK3R2-mediated PI3K/Akt signaling pathway[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 5181-5193[2018-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5001672/>. DOI: 10.2147/OTT.S105198.
- [20] FENG S D, MAO Z, LIU C, et al. Simultaneous overexpression of miR-126 and miR-34a induces a superior antitumor efficacy in pancreatic adenocarcinoma[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 5591-5604[2018-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5703150/>. DOI: 0.2147/OTT.S149632.
- [21] HAN Q, WANG R, SUN C, et al. Human beta-defensin-1 suppresses tumor migration and invasion and is an independent predictor for survival of oral squamous cell carcinoma patients[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91867[2018-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962354/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0091867.
- [22] XU Y, XU W, LU T, et al. miR-126 affects the invasion and migration of glioma cells through GATA4[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2016, 45(6): 1-7. DOI: 10.1080/21691401.2016.1226179.
- [23] JIANG R, ZHANG C, LIU G, et al. MicroRNA-126 inhibits proliferation, migration, invasion and EMT in osteosarcoma by targeting ZEB1[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(11): 3765-3774. DOI: 0.1002/jcb.26024.
- [24] WANG C Z, YUAN P, LI Y. MiR-126 regulated breast cancer cell invasion by targeting ADAM9[J/OL]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6547-6553[2018-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525868/>.
- [25] YUAN W, GUO Y Q, LI X Y, et al. MicroRNA-126 inhibits colon cancer cell proliferation and invasion by targeting the chemokine (C-X-C motif) receptor 4 and Ras homolog gene family, member A, signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 60230-60244. DOI: 10.18632/oncotarget.11176.

[收稿日期] 2018-07-24

[修回日期] 2018-09-04

[本文编辑] 党瑞山