

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.02.006

· 基础研究 ·

珠子参多糖通过靶向 let-7a/CDK6 分子轴调控胃癌 MKN45 细胞的增殖与凋亡

王炳淑^a, 梁荣珍^b, 戴楠楠^c (海南医学院第二附属医院 a. 病理科; b. 老年病科; c. 放疗科, 海南海口 570311)

[摘要] **目的:** 探讨珠子参多糖(panax japonicus var polysaccharide, PJPS)对胃癌 MKN45 细胞增殖和凋亡的影响及其调控机制。**方法:** 选用人胃癌细胞系 HGC27、MGC803、MKN45 和胃黏膜上皮细胞株 GES-1, 分别将 let-7a mimics、let-7a inhibitor 转染进 MKN45 细胞; 以 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS 处理胃癌细胞系并挑选后续实验细胞株为 MKN45 细胞; 分别添加 0、10、50、100、120 $\mu\text{g/ml}$ PJPS 处理转染后各组 MKN45 细胞, 用 CCK-8 法、流式细胞术分别检测 MKN45 细胞增殖活力和细胞凋亡率, 用 Western blotting 检测 MKN45 细胞中细胞周期依赖性激酶 6(cycle dependent kinase 6, CDK6)和凋亡相关蛋白的表达, 用 qPCR 法检测调控胃癌细胞增殖的 miRNAs 表达水平。用双荧光素酶报告基因实验验证 let-7a 和 CDK6 的靶向关系。**结果:** 与其他胃癌细胞比较, 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS 可显著抑制 MKN45 细胞的增殖活力 ($P < 0.01$); 同时, 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS 处理后, 可显著上调 MKN45 细胞中 let-7a 的表达 ($P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因实验证实 CDK6 是 let-7a 的靶基因。进一步实验显示, PJPS 通过上调 let-7a 靶向抑制 CDK6 的表达, 从而抑制 MKN45 细胞的增殖并诱导其凋亡(均 $P < 0.01$)。**结论:** PJPS 通过调控 let-7a/CDK6 分子轴抑制胃癌 MKN45 细胞的增殖并诱导其凋亡。

[关键词] 胃癌; MKN45 细胞; 珠子参多糖; let-7a; 细胞周期依赖性激酶 6; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R735.2; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)02-0135-07

Panax japonicus var polysaccharide regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer MKN45 cells by targeting let-7a/CDK6 molecular axis

WANG Bingshu^a, LIANG Rongzhen^b, DI Nannan^c (a. Department of Pathology; b. Department of Geriatrics; c. Department of Radiotherapy, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570311, Hainan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of panax japonicus var polysaccharide (PJPS) on the proliferation and apoptosis of gastric cancer MKN45 cells and its regulatory mechanism. **Methods:** Human gastric cancer cell lines (HGC27, MGC803, MKN45) and gastric mucosal epithelial cell line GES-1 were selected for this study. Let-7a mimics and let-7a inhibitor were transfected into MKN45 cells; Gastric cancer cell lines were treated with 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS and MKN45 was selected as the subsequent experimental cell line. MKN45 cells were cultured with 0, 10, 50, 100 and 120 $\mu\text{g/ml}$ PJPS, respectively. The proliferation and apoptosis rate of MKN45 cells were detected by CCK-8 and flow cytometry, respectively. Expressions of cell cycle dependent kinase 6 (CDK6) and apoptosis-related proteins in MKN45 cells were detected by Western blotting, and the expression level of miRNAs regulating the proliferation of gastric cancer cells was detected by Real-time quantitative PCR (qPCR). The Dual luciferase reporter gene assay was used to validate the targeting relationship between let-7a and CDK6. **Results:** Compared with other gastric cancer cells, 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS significantly inhibited the proliferation of MKN45 cells ($P < 0.01$). At the same time, 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS significantly up-regulated the expression of let-7a in MKN45 cells ($P < 0.01$). The Dual luciferase reporter gene assay confirmed that CDK6 was the target gene of let-7a. Furthermore, PJPS inhibited the expression of CDK6 by up-regulating let-7a, thereby inhibiting the proliferation and inducing apoptosis of MKN45 cells (all $P < 0.01$). **Conclusion:** PJPS inhibits proliferation and induces apoptosis of gastric cancer MKN45 cells by regulating the let-7a/CDK6 axis.

[Key words] gastric cancer; MKN45 cells; panax japonicus var polysaccharide (PJPS); let-7a; cycle dependent kinase 6 (CDK6); proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(2): 135-141. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.02.006]

[基金项目] 海南省卫生计生委科研资助项目(No.19A200161)。Project supported by the Health and Family Planning Commission of Hainan Province (No. 19A200161)

[作者简介] 王炳淑(1978-),女,硕士,主治医师,主要从事肿瘤病理的研究,E-mail:wbs1331@126.com

[通信作者] 梁荣珍(LIANG Rongzhen, corresponding author),硕士,副主任医师,主要从事老年肿瘤的研究,E-mail:liang2007213xing@163.com

胃癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,是导致肿瘤相关死亡的第二大因素^[1]。目前,胃癌治疗的主要策略是手术切除、化疗、放疗和靶向治疗^[2],由于治疗产生的不良反应和胃癌细胞的高耐药性导致治疗效果并不理想^[3],亟需寻找更有效的胃癌治疗方法。近年来,中药及其提取物在抑制胃癌细胞增殖和诱导细胞凋亡中的重要作用引起了广泛关注,为胃癌治疗提供了新思路。据报道^[4],珠子参水煎液有显著抑瘤作用;进一步研究发现^[5],珠子参多糖(panax japonicus var polysaccharide, PJPS)能显著抑制肝癌细胞增殖并诱导细胞凋亡。目前,尚未见PJPS在胃癌中的作用及其机制的研究报道。已有研究表明,let-7a表达与胃癌的发生发展相关^[6],例如中药方剂养正散结汤可通过恢复let-7a的表达抑制胃癌细胞的增殖并诱导凋亡^[7],但PJPS对let-7a的调控作用还尚未见报道。生物学信息分析提示,细胞周期蛋白依赖性激酶6(cyclin dependent kinase 6, CDK6)是let-7a的靶基因,且在胃癌组织中高表达,敲降CDK6则可抑制胃癌恶性生物学进展^[7]。根据报道^[8-12],miR-29c、miR-139、miR-145、miR-375、let-7a均是调控胃癌细胞增殖的miRNAs。本研究通过体外用不同浓度的PJPS处理胃癌MKN45细胞后,观察PJPS对MKN45细胞增殖和凋亡的影响,并探究其对let-7a/CDK6分子轴相关的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系与主要试剂

人胃癌细胞系HGC27、MGC803和MKN45购自南京康佰生物科技有限公司,人胃黏膜上皮细胞株GES-1购自武汉原生原代生物医药科技有限公司。

PJPS购自西安青芷生物技术有限公司。RPMI 1640培养基、胎牛血清和Lipofectamin™2000转染试剂盒购自赛默飞世尔科技有限公司,CCK-8细胞增殖试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司,Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒和SYBR Green Real-time PCR Master Mix购自索莱宝科技有限公司,总RNA提取试剂盒和逆转录试剂盒购自大连TaKaRa公司,总蛋白提取试剂盒购自美国Sigma-Aldrich公司,抗CDK6、抗caspase-3、抗caspase-8、抗Bcl-2抗体和羊抗兔IgG(H+L)抗体均购自英国Abcam公司,let-7a mimics和let-7a inhibitor购自百奥迈科生物技术有限公司,pcDNA3.1载体购自美国Invitrogen公司。

1.2 细胞培养及药物处理

将胃癌MKN45细胞置于含10%胎牛血清和1%青霉素、1%链霉素的RPMI 1640培养基中,37℃、5%CO₂培养箱中培养,细胞汇合度达80%时传代培养。取生长良好的MKN45细胞,分别添加10、50、

100和120 μg/ml的PJPS,空白组作为对照(Ctrl),常规培养以用于后续实验。

1.3 细胞转染及分组

取对数生长期MKN45细胞,接种于6孔板(2×10⁵个/孔)。当细胞汇合度达80%时,在Lipofectamin™2000转染试剂盒说明书指导下进行转染。转染分组:阴性对照组(NC组)、100 μg/ml PJPS处理并转染let-7a inhibitor组(PJPS+let-7a inh组)、let-7a mimics转染组(let-7a mim组)、100 μg/ml PJPS处理+CDK6转染组(PJPS+CDK6组)、100 μg/ml PJPS处理+let-7a mimics+CDK6共转染组(PJPS+let-7a mim+CDK6组)。

1.4 CCK-8法检测MKN45细胞的增殖能力

收集各组待测细胞,培养72 h后添加CCK-8溶液,置于37℃、5%CO₂培养箱中常规培养,每孔加入CCK-8试剂继续培养2 h后,于酶标仪检测各组细胞波长450 nm处的光密度(D)值。

1.5 Annexin V-FITC/PI染色流式细胞术检测MKN45细胞的凋亡率

收集各组待测细胞,PBS洗2次,用结合缓冲液重悬细胞,配成细胞密度为1×10⁶个/ml的细胞悬液。加入10 μl Annexin V-FITC,轻轻混匀,室温下避光孵育10 min,后加入5 μl PI,避光孵育5 min。使用流式细胞仪检测细胞的凋亡情况,细胞凋亡早期和中晚期比率即为细胞的凋亡率。

1.6 Western blotting(WB)实验检测MKN45细胞中CDK6和凋亡相关蛋白的表达

收集各组待测细胞,PBS洗3次,加入RIPA裂解缓冲液并提取总蛋白。取200 μg蛋白进行SDS-PAGE、转膜,5%牛血清蛋白封闭1 h,加入稀释比例均为1:1 000的一抗(抗CDK6、抗caspase-3、抗caspase-8和抗Bcl-2抗体),4℃孵育过夜。次日,加入羊抗兔IgG(H+L)(1:500)二抗,室温孵育1.5 h后,加入ECL发光液后,用凝胶成像仪获得蛋白条带,用Image J软件统计分析蛋白条带的灰度值,计算蛋白的相对表达量。

1.7 qPCR检测MKN45细胞中增殖相关miRNAs的表达

按RNA提取试剂盒要求提取各组待测MKN45细胞总RNA,按逆转录试剂盒说明进行操作,获得cDNA,根据SYBR Green Real-time PCR Master Mix说明书配置qPCR反应体系,按95℃ 10 min、95℃ 10 s、60℃ 20 s、72℃ 30 s,40个循环的反应条件进行实验。引物序列见表1。结果采用2^{-ΔΔCt}表示。

1.8 双荧光素酶报告基因验证let-7a与CDK6的靶向关系

构建含有CDK6 3'-UTR片段的CDK6-Wt型和CDK6-Mut型荧光素酶报告基因载体,分别转染let-7a mimics,使用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测各

组细胞中双荧光素酶的活性。

表 1 qPCR 引物序列

Tab.1 Sequences of qPCR primer

Primer	Sequence (5'-3')
miR-29c	F: TAGTAGTGGTTGTTTGTTTTTTTTTTGA R: CCACTCTACTAAAACTCCATCTCC
miR-139	F: CAGCGGTCTACAGTGCACGT R: CAGTGCAGGGTCCGAGGT
miR-145	F: GTCCAGTTTCCAGGAATCCCT R: GCTGTCAACGATACGCTACCTA
miR-375	F: CAGGGTCCGAGGTATT R: CTGCTTTGTTCTGTTTCG
Let-7a	F: 5'-GGTGAGGTAGTAGGTTGTATAGTT R: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATA
U6	F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC R: 5'-AACGCTTCACGAATTGCGT

1.9 统计学处理

CCK-8、流式细胞术、WB、qPCR 等实验均重复 3 次。用 SPSS 20.0 统计学软件分析数据, 以 GraphPad Prism 6.0 软件绘图。两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单

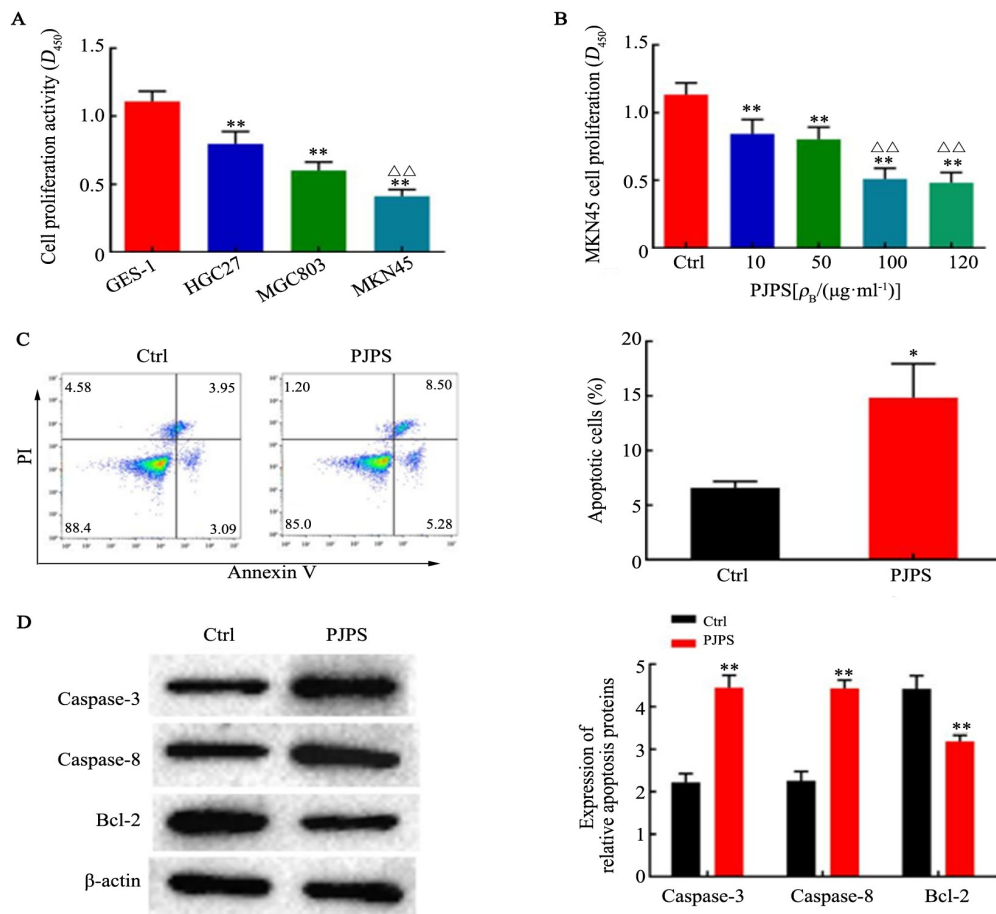
因素方差分析, 多组中两两检验采用 LSD-*t* 法。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PJPS 抑制胃癌细胞增殖并诱导其凋亡

CCK-8 实验结果显示, 经 PJPS (100 $\mu\text{g/ml}$) 处理后, 与 GES-1 细胞比较, HGC27、MGC803、MKN45 细胞的增殖活力均显著降低 (均 $P < 0.01$), 且以 MKN45 细胞增殖抑制作用最明显 ($P < 0.01$, 图 1A); 同时, PJPS 对 MKN45 细胞增殖活力的影响与药物质量浓度有关, MKN45 细胞培养 72 h 后, 与 Ctrl 组比较, 10、50、100、120 $\mu\text{g/ml}$ PJPS 处理组细胞增殖活力均随质量浓度的增加不断显著降低 ($P < 0.01$; $\text{IC}_{50} = 94.84$; 图 1B)。

根据 $\text{IC}_{50} = 94.84$, 选择 100 $\mu\text{g/ml}$ PJPS 处理 MKN45 细胞后, 流式细胞术检测结果 (图 1C) 显示, 与 Ctrl 组比较, PJPS 组细胞凋亡率显著增高 ($P < 0.05$); WB 实验结果 (图 1D) 显示, 与 Ctrl 组比较, PJPS 组细胞中 caspase-3、caspase-8 表达增高 (均 $P < 0.01$)、Bcl-2 表达降低



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl group or GES-1 cells, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs HGC27 or MGC803 or 10 or 50 $\mu\text{g/ml}$ PJPS group

A and B: The cell proliferation viability was measured by CCK-8 assay; C: The apoptosis rate was evaluated by Flow cytometry;

D: The expressions of apoptosis-related proteins were detected by WB

图 1 PJPS 对胃癌细胞增殖和凋亡的影响

Fig.1 Effect of PJPS on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells

($P < 0.01$)。上述结果表明, PJPS 抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡。

2.2 PJPS 通过上调 let-7a 抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡

qPCR 检测结果显示, 经 PJPS 处理后, 在调控胃癌细胞增殖的 5 个 miRNA 中以 let-7a miRNA (let-7a) 表达水平最高 ($P < 0.01$, 图 2A)。经 PJPS 进一步处理后, MKN45 细胞中 let-7a 表达显著上调 ($P < 0.01$); 而同时敲降 let-7a 后, let-7a 表达与 NC 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 2B)。

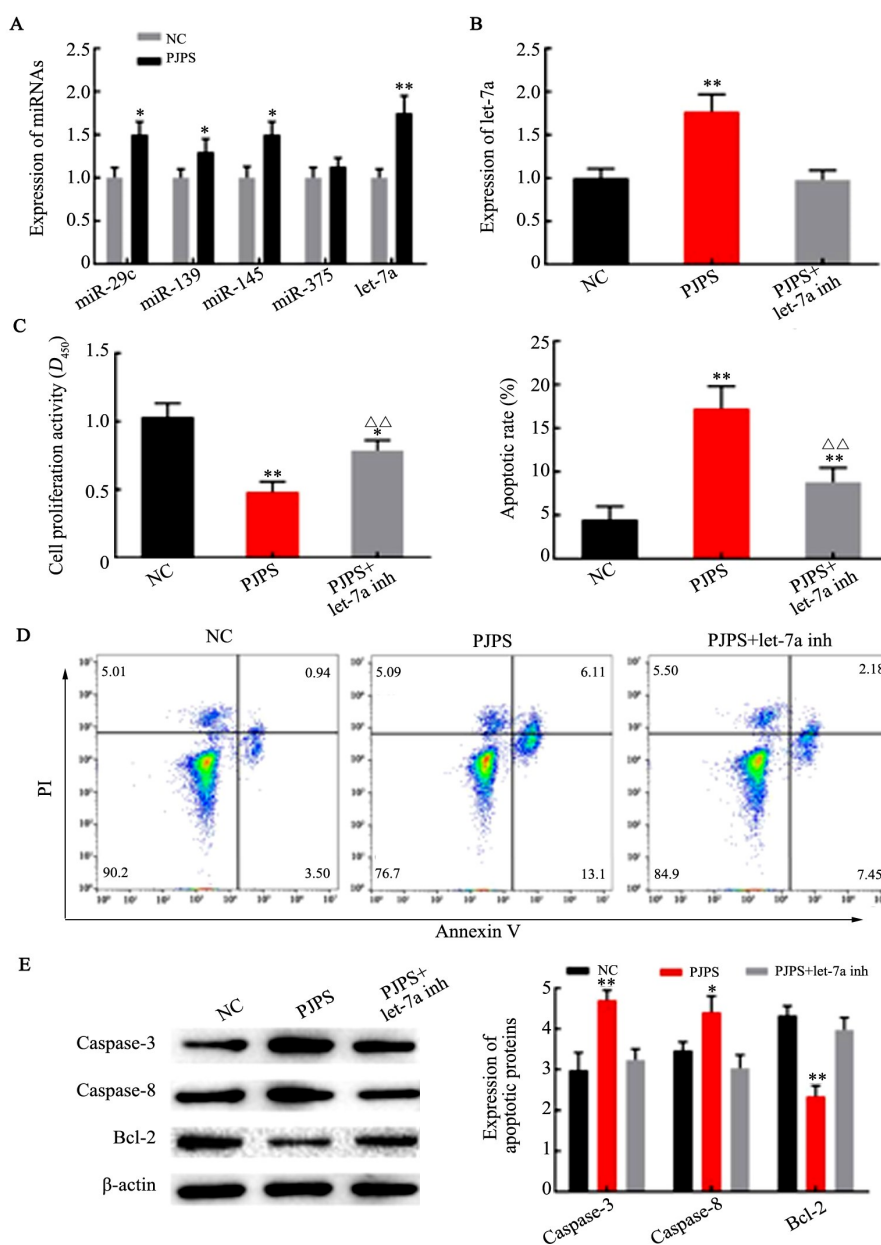
CCK-8 实验结果 (图 2C) 显示, 经 PJPS 处理后, 与 NC 组比较, MKN45 细胞增殖活力显著降低 ($P <$

0.01); 而同时敲降 let-7a 后, MKN45 细胞增殖活力较 PJPS 组显著提高 ($P < 0.01$)。

流式细胞术检测结果 (图 2D) 显示, 经 PJPS 处理后, 与 NC 组比较, MKN45 细胞凋亡率显著上调 ($P < 0.01$); 而同时敲降 let-7a 后, MKN45 细胞凋亡率较 PJPS 组显著降低 ($P < 0.01$)。

WB 实验结果 (图 2E) 显示, 经 PJPS 处理后, 与 NC 组比较, MKN45 细胞中 caspase-3 和 caspase-8 表达上调 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)、Bcl-2 表达下调 ($P < 0.01$)。

实验结果表明, PJPS 通过上调 let-7a 抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NC group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs PJPS group

A and B: The expressions of miRNAs were measured by qPCR; C: The cell proliferation viability of MKN45 cells was evaluated by CCK-8 assay; D: The apoptosis rate was detected by Flow cytometry; E: The expressions of apoptosis-related proteins were detected by WB

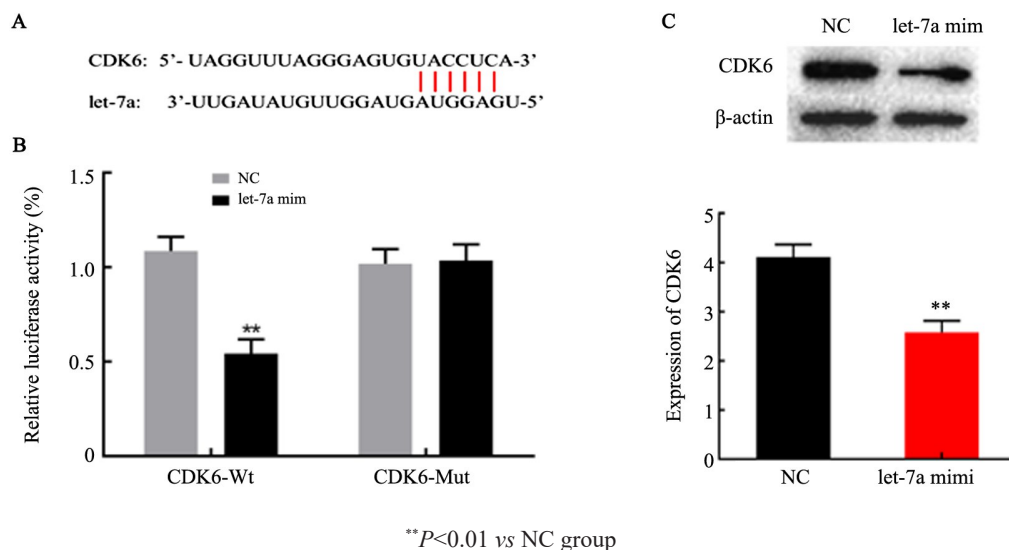
图2 PJPS通过上调 let-7a 抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡

Fig.2 PJPS inhibited proliferation and induced apoptosis of MKN45 cells by up-regulating let-7a

2.3 CDK6 是 let-7a 的靶基因

生物信息学数据库 TargetScan 和 PITA 分析结果显示, CDK6 可能是 let-7a 的靶基因(图 3A)。双荧光素酶报告基因证实, 与对照组比较, 过表达 let-7a 后

CDK6-Wt 荧光素活性下调($P < 0.01$), 而 CDK6-Mut 荧光素活性未下调($P > 0.05$; 图 3B)。WB 实验结果(图 3C)显示, 与对照组比较, 过表达 let-7a 后 CDK6 表达显著下调($P < 0.01$)。



A: The bioinformatics analysis showed that CDK6 had a binding site with Let-7a; B: The relative luciferase activity was detected by Dual-luciferase reporter gene assay; C: The expression of CDK6 was evaluated by WB

图3 CDK6是let-7a的靶基因

Fig.3 CDK6 was a target gene of let-7a

2.4 PJPS 通过调控 let-7a/CDK6 分子轴抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡

qPCR 和 WB 实验结果显示, 与 PJPS 组和 PJPS+let-7a mim+CDK6 组比较, PJPS+CDK6 组 MKN45 细胞中 let-7a 表达下调(均 $P < 0.01$, 图 4A)、CDK6 蛋白表达上调($P < 0.01$, 图 4B)。

CCK-8 实验结果(图 4C)显示, 与 PJPS 组和 PJPS+let-7a mim+CDK6 组比较, PJPS+CDK6 组中 MKN45 细胞的增殖能力明显上调(均 $P < 0.01$), 结果表明, CDK6 缓解 PJPS 对 MKN45 细胞增殖的抑制作用。

流式细胞术检测结果(图 4D)显示, 与 PJPS 组和 PJPS+let-7a mim+CDK6 组比较, PJPS+CDK6 组 MKN45 细胞的凋亡率显著上调(均 $P < 0.01$)。结果表明, CDK6 缓解 PJPS 对 MKN45 细胞凋亡的促进作用。

WB 实验结果(图 4E)显示, 与 PJPS 组和 PJPS+let-7a mim+CDK6 组比较, PJPS+CDK6 组 MKN45 细胞中 caspase-3 和 caspase-8 表达显著下调(均 $P < 0.01$)、Bcl-2 表达显著上调(均 $P < 0.01$)。

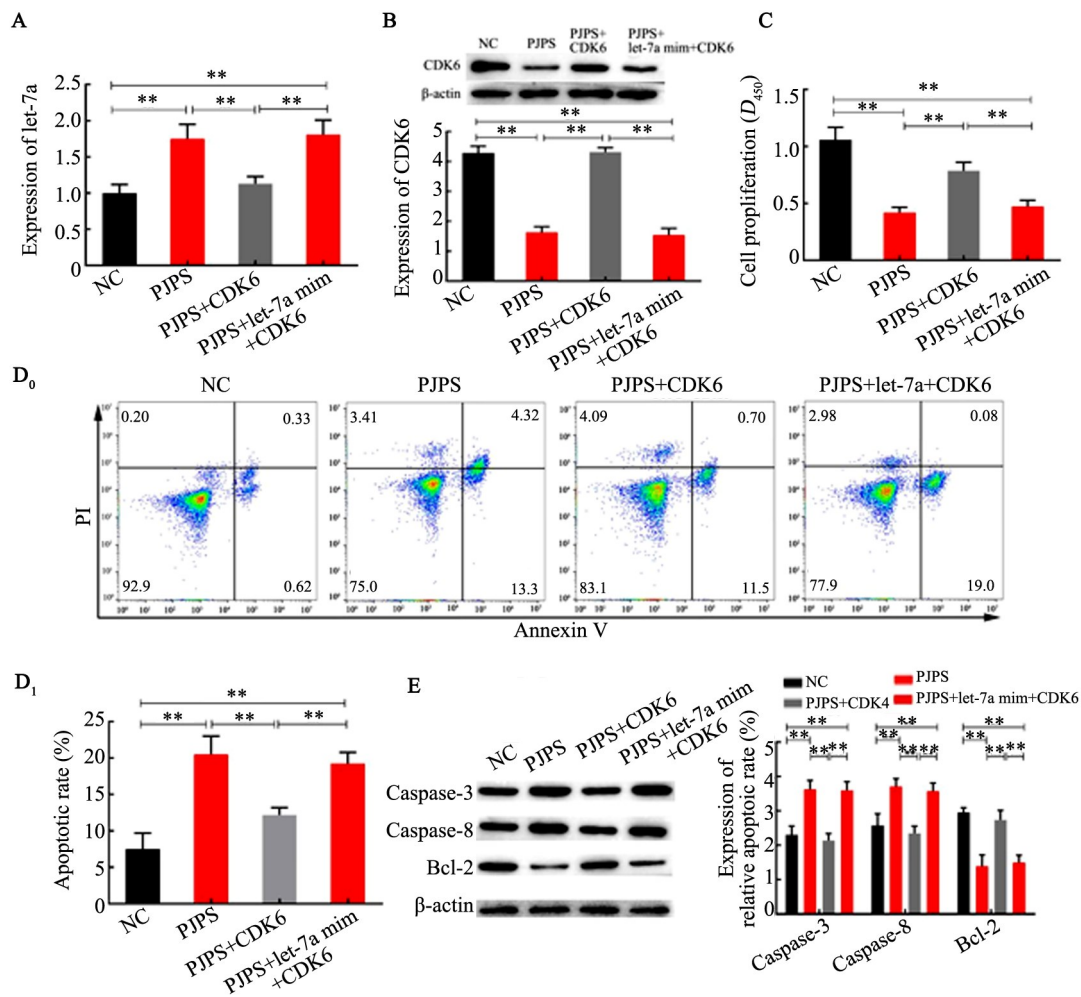
上述结果表明, PJPS 通过调控 let-7a/CDK6 分子轴抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡。

3 讨论

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 每年约有 100 万新病例被确诊为胃癌^[13]。化疗联合手术切除是胃癌

治疗的常用手段, 但该治疗手段常伴随恶心、呕吐、脱发和白细胞下降等严重不良反应, 且治疗效果不理想^[14]。近年来, 多项研究报道了中药植物及其提取物在胃癌治疗中的重要作用。例如: 小叶黄杨的主要活性成分环维黄杨星 D 抑制胃癌细胞增殖并诱导其凋亡^[1]; 中药方剂养正散结汤通过上调 let-7a 的表达调控胃癌细胞的增殖和凋亡^[7]。PJPS 是从中药材珠子参中提取而来, 珠子参具有抗炎、镇痛、抗肿瘤、保护心血管等作用^[15]; 天然多糖在免疫调节、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等方面发挥着重要作用, 因此天然多糖成为新药开发的宠儿^[16]。此外, PJPS 可有效抑制 H22 肝癌小鼠肿瘤生长, 并延长小鼠生存时间^[17], 但 PJPS 对胃癌的作用尚未见报道。本研究发现, PJPS 抑制胃癌 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡。

miRNA 是一种内源性非编码小型 RNA, 其长度为 20~25 个核苷酸^[18]。多项研究表明, let-7a 抑制多种肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡^[19]。let-7a 靶向 EZH2 抑制鼻咽癌细胞增殖并诱导凋亡^[20]; let-7a 通过 TGF- β /SMAD 信号通路抑制宫颈癌细胞增殖^[21]; let-7a 在胃癌组织及细胞系中低表达^[22], 过表达 let-7a 抑制胃癌细胞增殖^[23]并诱导其凋亡^[24]。本研究发现, PJPS 通过上调 let-7a 表达抑制 MKN45 细胞增殖并诱导其凋亡。



**P<0.01

A: The expression of let-7a was measured by qPCR; B and E: The expressions of CDK6 and apoptosis-related proteins were detected by WB; C: The cell proliferation of MKN45 cells was evaluated by CCK-8 assay; D₀ and D₁: The apoptosis rate of MKN45 cells was measured by Flow cytometry

图4 PJPS通过调控let-7a/CDK6分子轴抑制MKN45细胞增殖并诱导其凋亡

Fig.4 PJPS inhibited the proliferation and induced apoptosis of MKN45 cells by regulating let-7a/CDK6 axis

细胞周期依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)催化并结合细胞周期蛋白是促进细胞周期进展的必要条件^[25]。CDK6能够与cyclin D结合^[26],促进多种癌细胞增殖^[27]。例如,MKL1与CDK6启动子结合,能上调胃癌细胞中CDK6表达,促进细胞增殖^[28]。生长特异抑制物5(growth arrest-specific 5, GAS5)通过下调CDK6表达抑制胃癌细胞增殖^[29]。过表达miR-143通过下调CDK6抑制胃癌细胞增殖^[30]。CDK6是miR-363的靶基因,上调CDK6表达促进胃癌细胞增殖并抑制细胞凋亡^[31]。本研究发现,CDK6是let-7a的靶基因,PJPS通过上调let-7a表达下调CDK6,从而抑制MKN45细胞增殖并诱导其凋亡。

综上所述,本研究证实了PJPS通过调控let-7a/CDK6分子轴抑制胃癌MKN45细胞增殖并诱导其凋亡,为胃癌治疗提供了新的思路。但本研究仍存在不足之处,如本研究只是通过体外实验证实了PJPS对单个胃癌MKN45细胞株有抑制作用,今后可通过

多个胃癌细胞株和动物实验来进一步探讨PJPS对胃癌MKN45细胞的作用及其机制。

[参考文献]

- [1] WU J, TAN Z J, CHEN J, et al. Cyclovirobuxine D inhibits cell proliferation and induces mitochondria-mediated apoptosis in human gastric cancer cells[J/OL]. *Molecules*, 2015, 20(11): 20659-20668 [2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6332340/>. DOI:10.3390/molecules201119729.
- [2] WANG F H, SHEN L, LI J, et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer[J/OL]. *Cancer Commun (Lond)*, 2019, 39(1): 10[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6423835/>. DOI:10.1186/s40880-019-0349-9.
- [3] YU J, JI H Y, DONG X D, et al. Apoptosis of human gastric carcinoma MGC-803 cells induced by a novel Astragalus membranaceus polysaccharide via intrinsic mitochondrial pathways[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 126: 811-819. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.268.
- [4] 陈涛, 龚张斌, 付亚玲. 珠子参对S180荷瘤小鼠化疗的减毒作用

- [J]. 中西医结合学报, 2008, 6(12): 1255-1258. DOI: 10.3736/jcim20081209.
- [5] 陈涛, 陈茂华, 胡月琴, 等. 珠子参多糖抗肝癌作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1329-1331. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2010.06.012.
- [6] JAMALI L, TOFIGH R, TUTUNCHI S, et al. Circulating microRNAs as diagnostic and therapeutic biomarkers in gastric and esophageal cancers[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(11): 8538-8550. DOI: 10.1002/jcp.26850.
- [7] DENG H X, YU Y Y, ZHOU A Q, et al. Yangzheng Sanjie decoction regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by enhancing let-7a expression[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(30): 5538-5548[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5558117/>. DOI:10.3748/wjg.v23.i30.5538.
- [8] WU W D, WEI N X, SHAO G, et al. CircZNF609 promotes the proliferation and migration of gastric cancer by sponging miR-483-3p and regulating CDK6[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 8197-8205[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6783112/>. DOI:10.2147/OTT.S193031.
- [9] YU B Q, CHEN X H, LI J F, et al. MicroRNA-29c inhibits cell proliferation by targeting NASP in human gastric cancer[J/OL]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 109[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5294820/>. DOI:10.1186/s12885-017-3096-9.
- [10] YU X C, MA C J, FU L, et al. MicroRNA-139 inhibits the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by directly targeting p-associated protein kinase 1[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5977-5982[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5840708/>. DOI:10.3892/ol.2018.8038.
- [11] SUI H Y, LOU A F, LI Z S, et al. Lidocaine inhibits growth, migration and invasion of gastric carcinoma cells by up-regulation of miR-145[J/OL]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 233[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6419442/>. DOI:10.1186/s12885-019-5431-9.
- [12] YUAN K T, LI B X, YUAN Y J, et al. Deregulation of microRNA-375 inhibits proliferation and migration in gastric cancer in association with autophagy-mediated AKT/mTOR signaling pathways[J/OL]. *Technol Cancer Res Treat*, 2018, 17: 1533033818806499[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6202745/>. DOI:10.1177/1533033818806499.
- [13] CAO X Y, LIU J L, YANG W, et al. Antitumor activity of polysaccharide extracted from *Pleurotus ostreatus* mycelia against gastric cancer in vitro and in vivo[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2383-2389. DOI:10.3892/mmr.2015.3648.
- [14] CHEN G C, ZHANG P Y, HUANG T T, et al. Polysaccharides from *Rhizopus nigricans* mycelia induced apoptosis and G2/M arrest in BGC-823 cells[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 97(2): 800-808. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.05.068.
- [15] 王加付. 珠子参化学成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [16] 杨涛. 人参属药用植物珠子参多糖成分研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2016.
- [17] 陈涛, 陈茂华, 胡月琴, 等. 珠子参多糖提取及抗癌活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(7): 912-914. DOI:10.3969/j.issn.1005-7072.2009.04.014.
- [18] DONG Q C, MENG P, WANG T, et al. MicroRNA let-7a inhibits proliferation of human prostate cancer cells in vitro and in vivo by targeting E2F₂ and CCND2[J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10147 [2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2854685/>. DOI:10.1371/journal.pone.0010147.
- [19] ZHAO W, HU J X, HAO R M, et al. Induction of microRNA-let-7a inhibits lung adenocarcinoma cell growth by regulating cyclin D1[J/OL]. *Oncol Rep*, 2018, 40(4): 1843-1854[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC611629/>. DOI:10.3892/or.2018.6593.
- [20] CAI K M, WAN Y, SUN G, et al. Let-7a inhibits proliferation and induces apoptosis by targeting EZH₂ in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(6): 2101-2106. DOI:10.3892/or.2012.2027.
- [21] WU T H, CHEN X, PENG R, et al. Let-7a suppresses cell proliferation via the TGF- β /SMAD signaling pathway in cervical cancer[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(6): 3275-3282. DOI:10.3892/or.2016.5160.
- [22] YANG Q Y, JIE Z G, CAO H, et al. Low-level expression of let-7a in gastric cancer and its involvement in tumorigenesis by targeting RAB40C[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(5): 713-722. DOI: 10.1093/carcin/bgr035.
- [23] GUO M, ZHAO X Y, YUAN X L, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in cervical cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28226-28236[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5438645/>. DOI:10.18632/oncotarget.15999.
- [24] ZHU Y M, XU F Y. Up-regulation of let-7a expression induces gastric carcinoma cell apoptosis in vitro[J]. *Chung-Kuo I Hsueh K'o Hsueh Tsa Chih*, 2017, 32(1): 44-47. DOI: 10.24920/j1001-9242.2007.006.
- [25] FAN Y, LI H P, LIANG X L, et al. CBX3 promotes colon cancer cell proliferation by CDK6 kinase-independent function during cell cycle[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19934-19946[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5386735/>. DOI: 10.18632/oncotarget.15253.
- [26] RALEIGH D R, CHOKSI P K, KRUP A L, et al. Hedgehog signaling drives medulloblastoma growth via CDK6[J/OL]. *J Clin Invest*, 2018, 128(1): 120-124[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5749513/>. DOI:10.1172/JCI92710.
- [27] ZHU H Q, WANG G C, ZHOU X, et al. MiR-1299 suppresses cell proliferation of hepatocellular carcinoma (HCC) by targeting CDK6 [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2016, 83: 792-797. DOI:10.1016/j.biopha.2016.07.037.
- [28] LI J P, LIAO X H, XIANG Y, et al. MKL1/miR34a/FOXP3 axis regulates cell proliferation in gastric cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(5): 7814-7824. DOI:10.1002/jcb.28056.
- [29] GUO X Q, DENG K Y, WANG H, et al. GAS5 inhibits gastric cancer cell proliferation partly by modulating CDK6[J]. *Oncol Res Treat*, 2015, 38(7/8): 362-366. DOI:10.1159/000433499.
- [30] ZHANG Q, FENG Y, LIU P, et al. MiR-143 inhibits cell proliferation and invasion by targeting DNMT3A in gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317711312. DOI:10.1177/1010428317711312.
- [31] LU Y B, JIANG Q, YANG M Y, et al. Long noncoding RNA NNT-AS1 promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis through miR-363/CDK6 axis[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(51): 88804-88814[2019-07-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5687647/>. DOI:10.18632/oncotarget.21321.

[收稿日期] 2019-10-29

[修回日期] 2020-01-10

[本文编辑] 党瑞山