

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.02.007

· 临床研究 ·

## miR-142-5p 通过影响上皮间质转化抑制肺腺癌 H1650 细胞的侵袭与迁移

王淼<sup>a</sup>, 王郁<sup>b</sup>, 吕微<sup>b</sup>, 段玉青<sup>b</sup>, 贾云浣<sup>b</sup>, 刘丽华<sup>b</sup> (河北医科大学第四医院 a. 胸外科; b. 肿瘤免疫治疗科, 河北石家庄 050035)

**[摘要]** **目的:** 探讨肺腺癌组织中 miR-142-5p 的表达及其对 H1650 细胞增殖、侵袭、迁移及上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的影响及其作用机制。 **方法:** 收集 2014 年 1 月至 2015 年 1 月在河北医科大学第四医院胸外科行肿瘤切除并经病理证实的 107 例肺腺癌患者的癌组织及其癌旁组织标本, 以及人肺腺癌细胞系 H1650、HCC827、A549、H1975、PC9 和人支气管上皮细胞 BEAS-2B, 用 qPCR 实验检测肺腺癌组织及细胞中 miR-142-5p 的表达水平及其与患者临床特征的关系。分别用 miR-142-5p 模拟物 (mimics)、miR-阴性对照质粒 (miR-NC) 转染 H1650 细胞后, 用 CCK8、细胞划痕愈合和 Transwell 侵袭实验分别检测 H1650 细胞的增殖、侵袭和迁移能力。使用生物信息学工具预测 miR-142-5p 的靶基因, 通过双荧光素酶报告基因实验验证 miR-142-5p 对靶基因的调控作用, Western blotting 检测细胞周期蛋白依赖性激酶 5 (cyclin-dependent kinase 5, CDK5) 及 EMT 相关蛋白的表达水平。 **结果:** 肺腺癌组织及细胞系中 miR-142-5p 表达水平显著低于癌旁组织及 BEAS-2B 细胞 (均  $P < 0.01$ ); 107 例肺腺癌组织中, 61 例 (57.01%) 低表达 miR-142-5p, 其表达水平与患者的 TNM 分期、淋巴结转移密切相关 (均  $P < 0.01$ )。转染 miR-142-5p 模拟物后, H1650 细胞中 miR-142-5p 高表达, 细胞的增殖、侵袭和迁移能力显著降低 (均  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。生物信息学工具预测 CDK5 是 miR-142-5p 的靶基因, 经双荧光素酶报告基因验证, miR-142-5p 可显著降低 H1650 细胞中 CDK5 的表达水平, 显著提高 E-cadherin 表达, 降低 N-cadherin 和 Snail 的表达水平 (均  $P < 0.01$ )。 **结论:** miR-142-5p 在肺腺癌组织和细胞中呈低表达状态, 其通过下调 CDK5 表达影响 EMT 抑制 H1650 细胞的侵袭与迁移能力。

**[关键词]** 肺腺癌; H1650 细胞; miR-142-5p; 细胞周期蛋白依赖性激酶 5; 增殖; 侵袭; 迁移; 上皮间质转化

**[中图分类号]** R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)02-0142-07

## miR-142-5p inhibits the invasion and migration of lung adenocarcinoma H1650 cells by affecting epithelial mesenchymal transformation

WANG Miao<sup>a</sup>, WANG Yu<sup>b</sup>, LYU Wei<sup>b</sup>, DUAN Yuqing<sup>b</sup>, JIA Yunlong<sup>b</sup>, LIU Lihua<sup>b</sup> (a. Department of Thoracic Surgery; b. Department of Tumor Immunotherapy, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the expression of miR-142-5p in lung adenocarcinoma tissues, and to explore its effect on proliferation, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of H1650 cells and the potential mechanisms. **Methods:** A total of 107 pairs of lung adenocarcinoma tissues and corresponding para-cancerous tissues from patients, who underwent tumor resection and were pathologically confirmed at the Department of Thoracic Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University between Jan. 2014 and Jan. 2015, were collected for this study; in addition, human lung adenocarcinoma cell lines (H1650, HCC827, A549, H1975, PC9) and human bronchial epithelial BEAS-2B cells were also used in this study. qPCR was used to detect the expression of miR-142-5p in lung adenocarcinoma tissues and cell lines. The correlation between expression of miR-142-5p and clinical features was analyzed. After transfection with miR-142-5p mimics or miR-negative control (miR-NC) plasmid, the proliferation, invasion and migration of H1650 cells were detected with CCK-8, Transwell invasion assay and Wound healing assay, respectively. The bioinformatics tool was used to predict the target genes of miR-142-5p, and Luciferase reporter gene assay was performed to validate the regulation of miR-142-5p on target gene. Western blotting (WB) was used to detect the expressions of cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) and EMT-related protein. **Results:** Compared to Para-cancerous tissues and BEAS-2B cells, the expression of miR-142-5p was lower in lung adenocarcinoma tissues and cell lines (all  $P < 0.01$ ). Of the 107 cases of lung adenocarcinoma tissues, 61 cases (57.01%) showed

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81871894); 河北省自然科学基金资助项目 (No. H2018206318)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81871894), and the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2018206318)

**[作者简介]** 王淼 (1987-), 男, 硕士生, 主治医师, 主要从事胸科恶性肿瘤的临床治疗和肿瘤分子生物学研究, E-mail: scalpelw@163.com

**[通信作者]** 刘丽华 (LIU Lihua, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学、肿瘤分子生物学、肿瘤表观遗传学和肿瘤综合治疗研究, E-mail: lihualiu567@hotmail.com

decreased miR-142-5 expression, which was correlated with the TNM stage and lymph node metastasis (both  $P < 0.01$ ). Transfection of miR-142-5p mimics significantly up-regulated the expression of miR-142-5p and decreased the proliferation, invasion and migration of H1650 cells (all  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Bioinformatics showed that CDK5 was a target gene of miR-142-5p. Luciferase reporter gene assay and WB validated that miR-142-5p could significantly down-regulate CDK5 expression in H1650 cells, up-regulate the expression of E-cadherin and down-regulate the expressions of N-cadherin, Twist and Snail in H1650 cells (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** miR-142-5p is low expressed in lung adenocarcinoma tissues and cell lines; it suppresses the EMT process to inhibit, invasion and migration of H1650 cells *via* down-regulating the expression of CDK5.

**[Key words]** lung adenocarcinoma; H1650 cells; miR-142-5p; cyclin-dependent kinase 5 (CDK5); proliferation; invasion; migration; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(2): 142-148. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.02.007]

肺癌是全球发病率和病死率最高的恶性肿瘤, 位居肿瘤发病率和病死率的首位<sup>[1]</sup>。肺癌中超过85%的病理类型为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC), 其中大部分为腺癌<sup>[2]</sup>。尽管肺腺癌的综合治疗手段已取得巨大进步, 但整体治疗效果仍不理想。因此, 深入了解肺腺癌恶性生物学行为的相关机制有利于进一步提高疗效和改善患者预后。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长度约为21~24 nt的小分子非编码RNA, 主要通过与其靶基因的3'-非编码区(untranslated region, UTR)结合诱导其降解或抑制其翻译, 在转录后水平发挥调控作用<sup>[3]</sup>。根据调控的靶基因的功能差异, miRNA既可作为癌基因, 也可作为抑癌基因发挥作用。miR-142-5p在包括胃癌、胰腺癌、肝癌等在内的多种恶性肿瘤中呈低表达状态, 是一种能够抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移的抑癌基因<sup>[4-6]</sup>。目前miR-142-5p在肺腺癌中的报道仍较少, 其相关分子调控网络尚不完全清楚。本研究通过探讨miR-142-5p在肺腺癌中的表达及其对H1650细胞恶性生物学行为的影响, 进一步阐明miR-142-5p在肺腺癌侵袭转移中作用机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

收集2014年1月至2015年1月间于河北医科大学第四医院胸外科手术切除、经病理学确诊的107例肺腺癌患者癌及癌旁组织(距离癌灶边缘3~5 cm的正常组织)标本, 其中男性49例, 女性58例, 年龄29~73岁, 中位年龄51岁。所有患者术前均未行任何抗肿瘤治疗。术中切除的标本一部分置于液氮冻存以提取RNA用于qPCR检测, 另一部分石蜡包埋并切片以备免疫组化检测。按照UICC第七版标准对患者进行TNM分期, 其中I期16例、II期61例、III期30例。所有标本及临床资料的采集均经河北医科大学第四医院医学伦理委员会批准, 并由患者或其家属签署知情同意书。

### 1.2 细胞系及主要试剂

人肺腺癌细胞系H1650、HCC827、A549、H1975、PC9和人支气管上皮细胞BEAS-2B由中国医学科学院北京协和医学院基础研究所惠赠, 本实验室冻存。RPMI1640培养基、胰蛋白酶购自美国Thermo Fisher公司, 总RNA提取试剂TRIzol购自美国Invitrogen公司, 逆转录试剂盒SuperScript RT购自加拿大Fermentas公司, qPCR引物由上海英骏生物技术公司合成。兔抗人细胞周期蛋白依赖性激酶5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)、鼠抗人Twist和兔抗人GAPDH抗体购自美国Abcam公司, 鼠抗人上皮钙黏蛋白(E-cadherin)和兔抗人神经钙黏蛋白(N-cadherin)抗体购自美国Cells Signaling Technology公司, Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司, 荧光素酶报告基因试剂盒购自美国Promega公司, SP试剂盒和DAB试剂盒均为北京中山金桥公司产品, miR-142-5p模拟物(mimics)和miR-NC购自美国Thermo Fisher公司。

### 1.3 细胞培养、转染及分组

使用含10%胎牛血清、0.1%双抗的RPMI1640培养基中常规培养H1650、HCC827、A549、H1975、PC9和BEAS-2B细胞。检测细胞恶性生物学行为的实验分为转染组(转染miR-142-5p mimics)和对照组(转染miR-NC), 检测miR-142-5p模拟物对CDK5表达的影响相关实验分为阴性对照组(转染miR-NC)、转染组(转染miR-142-5p mimics)和空白对照组(不做转染)。之后按miR-142-5p mimics及miR-NC质粒说明书进行操作对细胞转染, 方法同本项目组已发表的文章<sup>[5]</sup>。

### 1.4 qPCR检测肺腺癌组织和细胞中miR-142-5p的表达水平

按说明书使用TRIzol提取总RNA, 紫外分光光度计测量纯度及含量, 参照逆转录试剂盒说明书加样, 以1 μg提取的总RNA作为模板, 将RNA逆转录为cDNA。以此cDNA为模板进行qPCR扩增, 反应条件: 95 °C 5 min, 95 °C 15 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共40个循环。引物序列: miR-142-5p F为5'-GAA-

GATCTCC AGCCACCTGTTTCACA-3', R为5'-CC-GCTCGAGTAGTCCTTCACTTCATG-3'; U6 F为5'-CTCGCTTCGGCAGCACATA-3', R为5'-AACGC TTCACGAATTTGCGT-3'。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的值表示 miR-142-5p 的相对表达水平,  $2^{-\Delta\Delta Ct} \geq 2$  为高表达,  $2^{-\Delta\Delta Ct} < 2$  为低表达。

### 1.5 免疫组化染色检测肺腺癌组织中 CDK5 表达

按照说明书使用 SP 法进行免疫组化检测组织中 CDK5 表达。主要步骤: 将厚度为 4  $\mu\text{m}$  的标本石蜡切片常规脱蜡水化, 枸橼酸盐抗原修复 10 min, 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  封闭内源性过氧化物酶, 加入 CDK5 抗体 (1:300) 4  $^\circ\text{C}$  过夜。次日, 加入生物素化二抗工作液和辣根过氧化物酶 (HRP) 标记链霉卵白素工作液, DAB 显色, 苏木精复染, 脱水封片。阴性对照组以 PBS 替代一抗处理, 其余步骤同前。每个标本均随机选择 5 个视野 ( $\times 200$ ) 计算阳性细胞百分率: 阳性细胞率  $\leq 25\%$  为 0 分, 25%~50% 为 1 分, >50%~75% 为 2 分, >75% 为 3 分。同时按多数阳性细胞呈现的染色强度计分: 无显色为 0 分, 浅棕黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。将上述 2 项得分相加, 0 分为“-”, 1~2 分为“+”, 3~4 分为“++”, 5~6 分为“+++”; 将“++”和“+++”判定为阳性表达, 将“-”和“+”判定为阴性表达。由 3 名有经验的临床病理医师阅片, 采用双盲评估的方法, 根据其评分的平均值判定结果。

### 1.6 CCK-8 法检测 H1650 细胞的增殖能力

按照 CCK-8 试剂盒说明书的方法对 H1650 细胞的增殖能力进行检测。主要步骤: 取密度为  $2 \times 10^3$  个细胞接种于 96 孔板。当细胞黏附以后, 每个孔各加入 10  $\mu\text{l}$  CCK-8 试剂后在培养箱中常规孵育 2 h 后, 用酶标仪检测 450 nm 处的光密度 (D) 值, 细胞增殖倍数 = (实验孔 D 值 - 空白孔 D 值) / (对照孔 D 值 - 空白孔 D 值)。

### 1.7 细胞划痕愈合实验检测 H1650 细胞的迁移能力

取对数期的 H1650 细胞并将其接种于 6 孔板, 在 6 孔板背面画 5 条平行线做标记, 24 h 后用 200  $\mu\text{l}$  移液器头在细胞中划 2 条垂直于背面平行线的支线, 用 PBC 洗 2 次, 加入 2 ml 含 1% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 分别于 0、12、24 h 在倒置显微镜下观察 H1650 细胞向划痕区域的迁移距离并拍照。

### 1.8 Transwell 实验检测 H1650 细胞的侵袭能力

使用 8  $\mu\text{m}$  孔径、6.5 mm 直径的 Transwell 小室, 用 Matrigel 基质胶包被 Transwell 小室的上室, 各取  $2 \times 10^5$  个 H1650 细胞转移至 Transwell 小室的上室。下室为含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基。常规培养 24 h 后取出小室, 弃去上室液体, PBS 冲洗后, 用棉签轻轻将上室中未侵袭的细胞擦去, 并将膜用 4% 多聚

甲醛固定, 然后用 0.1% 结晶紫染色 15 min, PBS 冲洗, 在显微镜下拍照并随机选择 10 个视野计数, 取均值。

### 1.9 Western blotting (WB) 检测 CDK5 及 EMT 相关蛋白的表达水平

BCA 法对各组细胞总蛋白进行定量后, 各取 30  $\mu\text{g}$  的样品煮沸 10 min, 置于冰上冷却后, 进行 SDS-PAGE、转 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h。TBST 洗膜 3 次后, 加入 CDK5 (1:2 000)、E-cadherin (1:2 500)、N-cadherin (1:2 000) 和 Snail (1:3 000) 一抗后于 4  $^\circ\text{C}$  孵育过夜。次日, TBST 洗膜 3 次后, 加入 HRP 标记的影响山羊抗兔二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次, 采用 ECL 行放射自显影。用 Quantity One 4.6 软件分析图像, 以 GAPDH 为内参照, 以各个检测蛋白条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达量。

### 1.10 统计学处理

qPCR、CCK-8、划痕愈合、Transwell、WB 等实验均重复 3 次。采用 SPSS 25.0 统计软件对数据进行处理。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 基因表达水平的比较、细胞迁移距离和侵袭数量的比较采用 *t* 检验, miR-142-5p 与临床病理特征的关系采用  $\chi^2$  检验, miR-142-5p 和 CDK5 表达的相关性采用 Spearman 等级相关分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-142-5p 在肺腺癌组织和细胞系中低表达

qPCR 检测结果 (图 1) 显示, 肺腺癌组织中 miR-142-5p 表达水平显著低于癌旁组织 ( $t=5.317, P < 0.01$ ; 图 1A); 107 例肺腺癌组织中, 46 例 (42.99%) 高表达, 61 例 (57.01%) 低表达, 其表达水平与患者 TNM 分期和淋巴结转移密切相关 ( $r=0.342, 0.347$ , 均  $P < 0.01$ ; 表 1), 而与患者性别、年龄、侵袭范围无关 ( $r=-0.040, -0.168, -0.016$ , 均  $P > 0.05$ )。

肺腺癌 H1650、PC9、H1975、HCC827 和 A549 细胞中 miR-142-5p 表达水平均显著低于 BEAS-2B 细胞 ( $t=29.963, 33.198, 20.833, 22.316, 22.946$ , 均  $P < 0.01$ ; 图 1B), 其中以 H1650 细胞的表达水平最低, 故后续功能实验选用 H1650 细胞。

### 2.2 miR-142-5p 显著降低 H1650 细胞的增殖、侵袭和迁移能力

转染 miR-142-5p mimics 后, 与 miR-NC 组比较, miR-142-5p mimics 组 H1650 细胞中 miR-142-5p 的表达水平显著上调 ( $t=25.918, P < 0.01$ ; 图 2A), 细胞的增殖 (24 h:  $t=4.347, P < 0.05$ ; 48 h:  $t=7.624, P < 0.01$ ; 72 h:  $t=12.746, P < 0.01$ ; 图 2B)、侵袭 ( $t=11.103, P < 0.01$ ; 图 2C) 及迁移能力均显著降低 ( $t=8.647, P < 0.01$ ; 图

2D)。实验结果表明,miR-142-5p mimics显著上调H1650细胞中miR-142-5p的表达水平,显著抑制细胞的增殖、侵袭及迁移能力。

2.3 CDK5是肺腺癌中miR-142-5p的靶基因

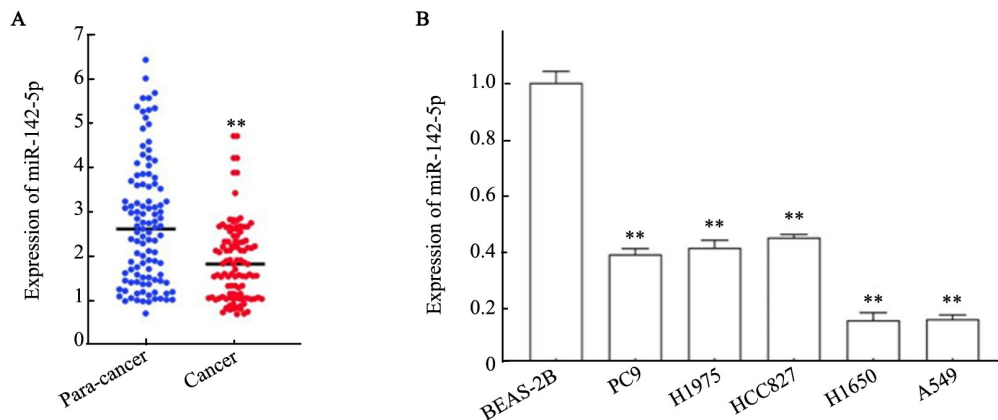
通过使用生物信息学工具 Targetscan、miRanda 和 Starbase V3.0 发现,CDK5的3'-UTR上存在与miR-142-5p互补结合的位点,提示CDK5可能是miR-142-5p的一个靶基因(图3A)。双荧光素酶报告基因实验检测结果(图3B)发现,加入miR-142-5p模拟物能够显著降低3'-UTR-野生(3'-UTR-WT)组的荧光强度( $t=20.361, P<0.01$ ),但不能降低3'-UTR-MUT组的荧光强度( $t=2.505, P>0.05$ )。WB实验结

果(图3C)发现,加入miR-142-5p mimics可显著降低H1650细胞中CDK5的蛋白表达水平( $t=17.103, P<0.01$ ),但转染miR-NC并未降低CDK5的蛋白表达水平( $t=2.886, P>0.05$ )。由于CDK5是促进EMT过程的关键蛋白之一,进一步检测miR-142-5p对EMT相关蛋白表达影响,发现miR-142-5p mimics可上调E-cadherin的表达并下调N-cadherin、Snail的表达(图4D)。如图3E所示,CDK5主要表达于肺腺癌组织的细胞质中。107例肺腺癌组织中61例(57.01%)高表达CDK5,同时CDK5与miR-142-5p表达水平呈负相关( $r=-0.314, P<0.01$ )。

表1 肺腺癌组织中miR-142-5p表达与患者临床病理特征的相关性 [n (%)]

Tab.1 Correlation between mir-142-5p expression in lung adenocarcinoma tissues and clinicopathological characteristics of patients [n (%)]

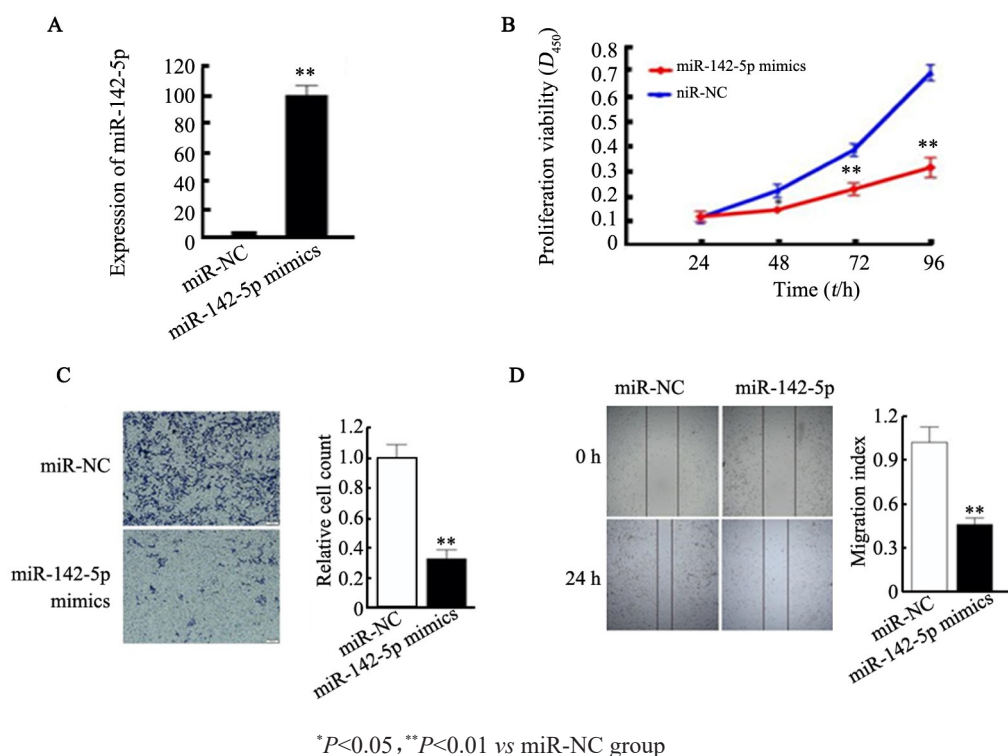
Clinicopathological characteristics	miR-142-5p			$\chi^2$	P
	N	High expression	Low expression		
Gender					
Male	49	20 (40.82)	29 (59.18)	0.174	0.700
Female	58	26 (44.83)	32 (55.17)		
Age (t/a)					
≤60	81	31 (38.27)	50 (61.73)	3.029	0.111
>60	26	15 (57.69)	11 (42.31)		
TNM stage					
I+II	77	42 (54.55)	35 (45.45)	0.342	0.001
III	30	4 (13.33)	22 (86.67)		
Invasion range					
T1+T2	73	31 (42.47)	42 (57.53)	0.026	1.000
T3+T4	34	15 (44.12)	19 (55.88)		
Lymph node metastasis					
No	38	25 (65.79)	13 (34.21)	0.347	0.001
Yes	69	21 (30.43)	48 (69.57)		



\*\*P<0.01 vs Para-cancer or BEAS-2B group

图1 肺腺癌组织(A)和细胞系(B)中miR-142-5p的表达水平

Fig.1 The expression of miR-142-5p in lung adenocarcinoma tissues (A) and cell lines (B)



A: The expression of miR-142-5p in H1650 cells was detected by qPCR; B: CCK-8 assay was used to detect the proliferation ability of H1650 cells; C: Transwell assay was used to detect the invasion ability of H1650 cells (crystal violet staining, ×200); D: The migration ability of H1650 cells was detected by wound healing test

图2 miR-142-5p对H1650细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响

Fig.2 The effects of miR-142-5p on the proliferation, invasion and migration ability of H1650 cells

### 3 讨论

癌基因和抑癌基因的异常表达影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移和耐药等多种恶性生物学行为,在肿瘤发生发展中起重要作用<sup>[2,7]</sup>。研究与肺腺癌相关的基因的表达及其分子调控网络有助于更进一步了解肺腺癌的进展过程并制定新的治疗策略。miRNA是非编码RNA的重要组成部分,能够结合靶基因mRNA的3'-UTR并促进其降解<sup>[8]</sup>。根据miRNA调控的靶蛋白的功能不同,miRNA在肿瘤发生发展中既可作为癌基因,也可作为抑癌基因<sup>[3]</sup>。已有多个研究证实miR-142-5p在恶性肿瘤中可作为抑癌基因发挥作用:在骨肉瘤中miR-142-5p可调控PLA2G16抑制细胞增殖并促进凋亡<sup>[9]</sup>,在胃癌中miR-142-5p可通过调控CYR61抑制肿瘤转移<sup>[4]</sup>,卵巢癌中miR-142-5p可调控XIAP增强其对顺铂的敏感性<sup>[10]</sup>。目前miR-142-5p在肺腺癌中的生物学功能及分子调控网络尚不完全明确。因此,本研究旨在分析miR-142-5p在肺腺癌组织和细胞系中的表达,通过明确靶基因探索其对肺腺癌细胞恶性生物学行为的影响。

本研究首先分析了肺腺癌组织中miR-142-5p的表达水平,结果表明肺腺癌组织中miR-142-5p的表

达水平显著降低。为进一步探讨其在肺腺癌中的作用机制,本研究对肺腺癌细胞系中miR-142-5p的表达进行了检测,结果表明所有肺腺癌细胞系中miR-142-5p均呈低表达,其中H1650细胞表达水平最低。使用miR-142-5p模拟物转染后,H1650细胞的增殖、侵袭和迁移能力均显著降低,表明miR-142-5p在H1650细胞中可发挥抑癌功能。使用3种生物信息学分析工具预测miR-142-5p的靶基因发现,CDK5的3'-UTR上存在与miR-142-5p互补的序列,可能是miR-142-5p的潜在调控基因。使用荧光素酶报告基因结果验证,结果表明CDK5是miR-142-5p的靶基因,使用miR-142-5p模拟物干预能显著降低CDK5的蛋白表达。CDK5已被报道在多种恶性肿瘤中高表达,参与了包括细胞增殖、转移、血管形成和免疫逃逸等恶性生物学行为<sup>[11-13]</sup>。在NSCLC中CDK5亦呈高表达状态,与患者不良预后密切相关<sup>[14]</sup>。但目前CDK5在肺腺癌中表达异常上调的原因尚不完全清楚。本研究结果提示,miR-142-5p缺失可能是CDK5异常表达上调的机制。同时,有研究<sup>[15]</sup>证实,CDK5可促进肿瘤细胞的EMT过程。由于EMT过程对于肺腺癌激活侵袭、转移是至关重要的<sup>[16]</sup>,因此促进EMT可能是肺腺癌中CDK5发挥功能的主要方式之

一。本研究对EMT相关蛋白进行检测后发现,miR-142-5p可通过下调CDK5蛋白表达进而抑制EMT过程。

总之,miR-142-5p是一种在肺腺癌中低表达的抑癌基因,与患者的TNM分期和淋巴结转移密切相关。

miR-142-5p在H1650细胞中能够通过下调CDK5表达抑制其增殖、侵袭和迁移能力。本研究为深入研究抑癌基因miR-142-5p在肺腺癌中的作用机制并为其逆转治疗奠定了理论基础。

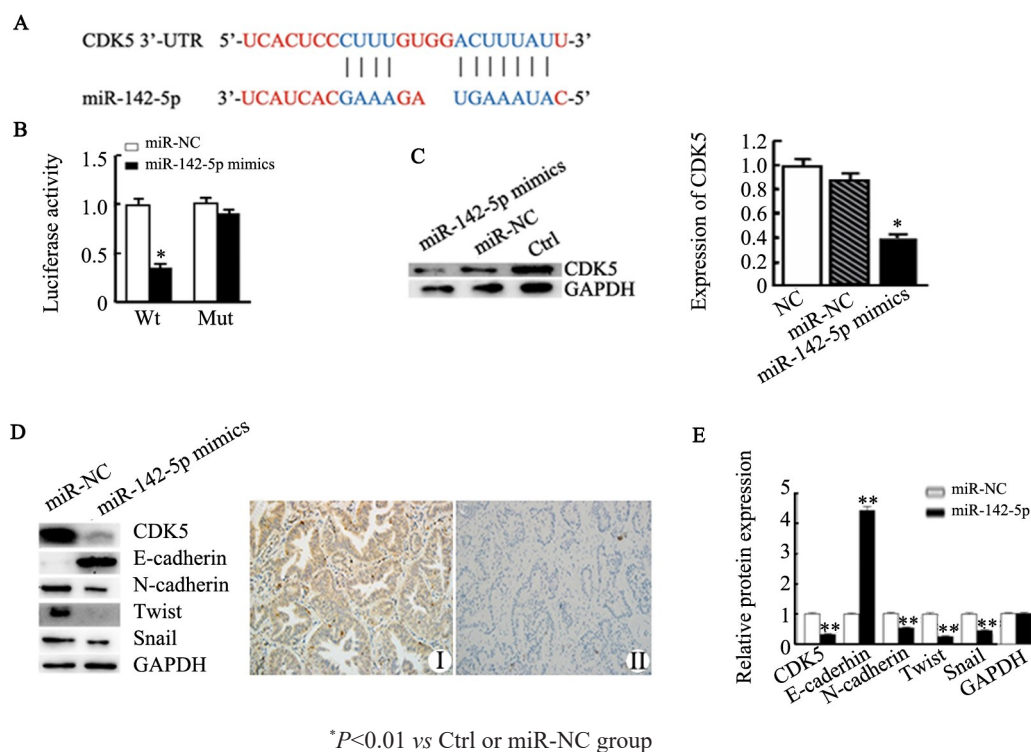


Fig.3 Prediction and validation of CDK5 as the target gene of miR-142-5p in lung adenocarcinoma cells

图3 预测并验证肺腺癌细胞中CDK5是miR-142-5p的靶基因

## [参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA A Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34. DOI:10.3322/caac.21551.
- [2] WANG J, JIA Y, ZHAO S, et al. BIN1 reverses PD-L1-mediated immune escape by inactivating the c-MYC and EGFR/MAPK signaling pathways in non-small cell lung cancer[J]. Oncogene, 2017, 36(45): 6235-6243. DOI:10.1038/onc.2017.217.
- [3] ZHENG J, WANG J, JIA Y, et al. MicroRNA-211 promotes proliferation, migration, and invasion ability of oral squamous cell carcinoma cells via targeting the bridging integrator 1 protein[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 4644-4653[2019-07-19]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6585605/. DOI: 10.1002/jcb.27753.
- [4] YAN J, YANG B, LIN S Y, et al. Downregulation of miR-142-5p promotes tumor metastasis through directly regulating CYR61 expression in gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2019, 22(2): 302-313. DOI:10.1007/s10120-018-0872-4.
- [5] JIA L, XI Q, WANG H, et al. MiR-142-5p regulates tumor cell pd-11 expression and enhances anti-tumor immunity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 488(2): 425-431[2019-07-19]. https://linking-hub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-291X(17)30948-8. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.05.074.
- [6] LOU K, CHEN N, LI Z, et al. MicroRNA-142-5p overexpression inhibits cell growth and induces apoptosis by regulating foxo in hepatocellular carcinoma cells[J]. Oncol Res, 2017, 25(1): 65-73[2019-07-19]. https://www.ingentaconnect.com/openurl?genre=article&issn=0965-0407&volume=25&issue=1&spage=65&aulast=Lou. DOI: 10.3727/096504016X14719078133366.
- [7] 李欢, 王梦杰, 张翔宇, 等. 桥接整合因子1通过c-myc途径抑制非小细胞肺癌a549细胞中pd-11的表达[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(8):762-766. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.002.
- [8] GUTTMAN M, AMIT I, GARBER M, et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding rnas in mammals[J]. Nature, 2009, 458(7235): 223-227[2019-07-19]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/19182780. DOI: 10.1038/nature07672.
- [9] CHENG D, LI J, ZHANG L, et al. MiR-142-5p suppresses proliferation and promotes apoptosis of human osteosarcoma cell line, hos, by targeting pla2g16 through the ERK1/2 signaling pathway[J]. Oncol lett, 2019, 17(1): 1363-1371[2019-07-19]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/

- pmc/articles/pmid/30655907/. DOI: 10.3892/ol.2018.9712.
- [10] LI X, CHEN W, JIN Y, et al. MiR-142-5p enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells by targeting multiple anti-apoptotic genes[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 161: 98-112[2019-07-19]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-2952\(19\)30015-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-2952(19)30015-2). DOI: 10.1016/j.bcp.2019.01.009.
- [11] ARDELT M A, FROHLICH T, MARTINI E, et al. Inhibition of cyclin-dependent kinase 5: a strategy to improve sorafenib response in hepatocellular carcinoma therapy[J]. *Hepatology*, 2019, 69(1): 376-393[2019-07-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/30033593/>. DOI: 10.1002/hep.30190.
- [12] LIU W, LI J, SONG YS, et al. CDK5 links with DNA damage response and cancer[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 60[2019-07-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/28288624>. DOI: 10.1186/s12943-017-0611-1.
- [13] HERZOG J, EHRLICH S M, PFITZER L, et al. Cyclin-dependent kinase 5 stabilizes hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel approach for inhibiting angiogenesis in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19): 27108-27121. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/27027353>. DOI: 10.18632/oncotarget.8342.
- [14] WEI K, YE Z, LI Z, et al. An immunohistochemical study of cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) expression in non-small cell lung cancer (nsclc) and small cell lung cancer (sclc): a possible prognostic biomarker[J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14(1):34. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4746778>. DOI: 10.1186/s12957-016-0787-7.
- [15] SUN S S, ZHOU X, HUANG Y Y, et al. Targeting STAT3/miR-21 axis inhibits epithelial-mesenchymal transition via regulating cdk5 in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 213[2019-07-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26690371>. DOI: 10.1186/s12943-015-0487-x.
- [16] DE CRAENE B, BERX G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 97-110[2019-07-19]. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3447>. DOI: 10.1038/nrc3447.

[收稿日期] 2019-10-26

[修回日期] 2019-12-30

[本文编辑] 党瑞山