

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.06.007

· 基础研究 ·

## 过表达 miR-145-5p 通过下调 IGF1R 抑制食管鳞状细胞 TE-10 细胞的恶性生物学行为

邴钟兴, 曹磊, 曹智理, 梁乃新(北京协和医院 胸外科, 北京 100005)

**[摘要]** **目的:** 探究 miR-145-5p 对食管鳞状细胞癌 TE-10 细胞增殖、侵袭、迁移和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等恶性生物学行为的分子机制。**方法:** qPCR 法检测 miR-145-5p 在食管鳞状细胞癌细胞和正常食管上皮细胞中的表达水平。采用双荧光素酶报告基因实验检测 miR-145-5p 与胰岛素样生长因子 1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R)的靶向调控关系, Western blotting 检测 IGF1R 蛋白和 EMT 相关蛋白的表达, CCK-8 法和 Transwell 检测 miR-145-5p/IGF1R 分子轴对 TE-10 细胞增殖、侵袭、迁移的影响。**结果:** miR-145-5p 在 3 株食管鳞状细胞癌细胞中低表达且在 TE-10 细胞中表达最低( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。过表达 miR-145-5p 可显著抑制 TE-10 细胞的增殖、侵袭、迁移和 EMT 进程( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。双荧光素酶报告基因证实 miR-145-5p 靶向下调 IGF1R 表达( $P < 0.01$ )。回复实验进一步证实, 与单独过表达 IGF1R 相比, 同时过表达 miR-145-5p 和 IGF1R 能显著缓解 IGF1R 对 TE-10 细胞的增殖、侵袭、迁移和 EMT 进程的促进作用( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。**结论:** 过表达 miR-145-5p 通过靶向下调 IGF1R 进而抑制了食管鳞状细胞癌 TE-10 细胞的增殖、侵袭、迁移和 EMT 进程。

**[关键词]** 食管鳞状细胞癌; TE-10 细胞; miR-145-5p; 胰岛素样生长因子 1 受体; 增殖; 侵袭; 迁移; 上皮间质转化

**[中图分类号]** R730.54; R735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)06-0634-06

## Over-expression of miR-145-5p inhibits malignant biological behaviors of esophageal squamous cells carcinoma via down-regulating IGF1R

BING Zhongxing, CAO Lei, CAO Zhili, LIANG Naixin (Department of Thoracic Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100005, China)

**[Abstract] Objective:** To explore the mechanism of miR-145-5p on malignant biological behaviors, such as pro-liferation, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition (EMT), of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) TE-10 cells. **Methods:** The expression of miR-145-5p in ESCC cell lines and normal cells was detected by PCR. Dual luciferase reporter gene assay was used to detect the targeted regulation between miR-145-5p and insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R). The expressions of IGF1R protein and EMT related proteins were detected by Western blotting. Transwell assay and CCK-8 assay were carried out to detect the effects of miR-145-5p/IGF1R axis on the proliferation, migration and invasion of TE-10 cells. **Results:** miR-145-5p was down-regulated in ESCC cell lines with the lowest expression in TE-10 cells ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). Over-expression of miR-145-5p significantly inhibited proliferation, invasion, migration and EMT of TE-10 cells ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). Dual luciferase reporter gene assay con-firmed that miR-145-5p targetedly down-regulated IGF1R expression ( $P < 0.01$ ). The restoration experiments further confirmed that simultaneous over-expression of miR-145-5p and IGF1R significantly attenuated the promotion effect of IGF1R on proliferation, invasion, migration and EMT of TE-10 cells ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). **Conclusions:** Over-expression of miR-145-5p inhibits proliferation, invasion, migration and EMT of ESCC TE-10 cells by down-regulating IGF1R.

**[Key words]** esophageal squamous cells carcinoma(ESCC); TE-10 cell; miR-145-5p; insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R); proliferation; invasion; migration; epithelial-mesenchymal transition(EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(6): 634-639. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.06.007]

**[基金项目]** 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(No. 2019-I2M-1-001); 北京市东城区科学技术委员会优秀人才培养资助项目(No. 2018-DCQYXRXCXM-012)。Project supported by the Medicine and Health Science and Technology Program of Chinese Academy of Medical Sciences (No. 2019-12M-1-001), and the Outstanding Talents Training Funding Project of Beijing Dongcheng District Science and Technology Committee (No. 2018-DCQYXRXCXM-012)

**[作者简介]** 邴钟兴(1984-),男,博士,主治医师,主要从事肺癌精准治疗全程管理方面的研究, E-mail: bingzhongxing@sina.cn

**[通信作者]** 梁乃新(LIANG Naixin, corresponding author),博士,副主任医师,主要从事肺癌精准治疗全程管理方面的研究, E-mail: bingzhongxing@pumch.cn

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 其中食管鳞状细胞癌占有食管癌病例的 90% 以上<sup>[1]</sup>。目前对于食管鳞状细胞癌的治疗主要以手术和放、化疗为主, 但治疗后癌细胞侵袭以及远端转移仍是导致肿瘤复发的主要原因, 因此深入探讨食管鳞状细胞癌细胞的复发、转移和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的分子机制对于患者的治疗和预后至关重要。非编码 RNA 在多种肿瘤发生发展中具有重要调控作用, 其中 miR-145-5p 作为抑癌因子在非小细胞肺癌<sup>[2]</sup>、食管鳞状细胞癌<sup>[3]</sup>中低表达并抑制肿瘤的发生发展。胰岛素样生长因子 1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R)在多种恶性肿瘤中异常高表达<sup>[4]</sup>, 如 IGF1R 在食管鳞状细胞癌高表达且沉默 IGF1R 能增强食管鳞状细胞癌的放疗敏感性<sup>[5]</sup>。目前, miR-145-5p 通过调控 IGF1R 对食管鳞状细胞癌的作用及其机制尚无文献报道。因此, 本研究从细胞水平探讨 miR-145-5p 靶向下调 IGF1R 对食管鳞状细胞癌细胞的增殖、侵袭、迁移和 EMT 的分子机制, 旨在为食管鳞状细胞癌患者的治疗和预后提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株及试剂

人食管鳞状细胞癌细胞 NEC(货号为 BNCC339909)、Eca-109(货号为 BNCC100132)、TE-10(货号为 BNCC338663), 以及正常食管鳞状上皮细胞 Het-1A(货号为 BNCC342346)均购于 BNCC 细胞库。DMEM 培养基(货号为 12491-015)和胎牛血清(货号为 26400044)购于赛默飞公司, Transwell 小室(货号为 3413)购于 Corning 公司, miR-145-5p 和 IGF1R 的载体和引物均由 GenePharma 公司负责构建, SYBR Green qPCR Master Mix(货号为 HY-K0501)购于 MCE 公司, GenElute™ 总 RNA 纯化试剂盒(货号为 RNB100)购于 Merck 公司, 荧光素酶报告基因检测试剂盒(货号为 GM-040501B)和载体购于 Genomeditech 公司, 一抗(IGF1R 货号为 ab182408, E-cadherin 货号为 ab1416, N-cadherin 货号为 ab18203, Vimentin 货号为 ab8978)和二抗均购于 Abcam 公司。

### 1.2 细胞培养及转染

将人食管鳞状细胞癌细胞 NEC、Eca-109、TE-10 和食管鳞状上皮细胞 Het-1A 于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养, 直至观察到细胞处于对数生长期时分别将 miR-145-5p mimics、pcDNA-IGF1R、miR-145-5p mimics+pcDNA-IGF1R 载体与 Lipofectamine™ 2000 转染细胞, 设置 NC 对照, 转染 48 h 后置于荧光显微镜下观

察细胞的转染效果。

### 1.3 qPCR 检测转染前后细胞中 miR-145-5p 和 IGF1R 的表达

按照 GenElute™ 总 RNA 纯化试剂盒说明书提取各组细胞总 RNA, 检测 RNA 纯度后逆转录制备 cDNA。根据 SYBR Green qPCR Master Mix 说明书, 以 U6 为内参进行 PCR 扩增, 并设置 3 个重复。其引物序列: miR-145-5p, F 5'-CCTTGTCCTCACGGTCCAGT-3', R 5'-AAC-CATGACCTCAAGAACAGTATTT-3'; U6, F 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', R 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'; IGF1R, F 5'-CCGCTGCCAGAAAATGTGCCCA-3', R 5'-TGTCGTTGTCAGGCGCGCTG-3'; GAPDH, F 5'-GAAGATGGTGTATGGGATTC-3', R 5'-GAAGGTGAAGGTCCGAGT-3'。建立 20 μl 的 PCR 反应体系, 以 95 °C 5 min、94 °C 30 s、60 °C 30 s 进行 40 个循环扩增。最终检测结果采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法进行计算。实验重复 3 次。

### 1.4 Western blotting(WB)检测转染前后细胞中 IGF1R 和 EMT 相关蛋白的表达水平

收集经处理的各组细胞, 裂解液提取总蛋白, 将裂解物在 4 °C 条件下以 14 000×g 离心 15 min, 并使用 Bradford 测定法检测蛋白纯度, 取 15 μg 总蛋白通过 15% SDS-PAGE 进行分离, 蛋白条带转移到 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 在 4 °C 下与一抗孵育过夜, 使用的抗体包括 IGF1R(1:1 000)、E-cadherin(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)、Vimentin(1:1 000)和 GAPDH(1:1 000)。次日去除一抗, 洗涤后加 HRP 缀合的二抗(1:5 000), 37 °C 孵育 1 h。然后洗涤印迹并用 ECL 试剂进行显色, 凝胶成像器进行蛋白成像, 拍照记录, 并用 Image J 软件对所得蛋白条带进行灰度值分析。

### 1.5 CCK-8 法检测各组 TE-10 细胞的增殖水平

转染 48 h 后各组 TE-10 细胞以 2.0×10<sup>3</sup> 个/ml 的密度接种到 96 孔板中, 将 TE-10 细胞按照常规条件在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的环境中分别培养 24、48、72 和 96 h 时, 向每孔细胞中加入 10 μl CCK-8 试剂, 继续培养 2 h, 用酶标仪测定 450 nm 处的光密度(D)值。

### 1.6 Transwell 法检测 TE-10 细胞的迁移和侵袭能力

将经过转染的细胞用胰酶消化后进行迁移能力检测, 将细胞按照 2×10<sup>5</sup> 个/ml 密度种于 Transwell 小室, 在下室加 500 μl 含 10% 胎牛血清的培养基, 将小室于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h 后取出, 棉签擦净, PBS 冲洗小室 3 遍, 4% 的多聚甲醛固定细胞 20 min, 采用结晶紫染色 15 min 后洗净, 待其干燥后, 置于 40 倍的倒置显微镜取 3~5 个视野进行观察, 计数细胞。实验进行 3 次重复。侵袭实验需将 Matrigel 基质胶与预冷无血清培养基预铺于 Transwell 小室上

室,其他操作步骤同迁移实验。

### 1.7 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-145-5p 与 IGF1R 的靶向关系

采用 PCR 扩增 IGF1R 与 miR-145-5p 结合片段导入荧光素酶 pmirGLO 载体中构建质粒,再将结合片段的部分核苷酸进行突变,同时获得 miR-145-5p mimics 与 pmirGLO-IGF1R-WT/MUT 重组质粒,将获得的质粒以及对照空质粒与 Lipofectamine™ 2000 脂质体混合后转染 HEK 293T 细胞,荧光素酶活性由双荧光素酶报告基因检测系统试剂盒检测。

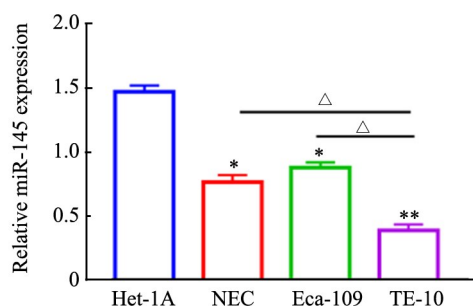
### 1.8 统计学处理

所有实验均重复 3 次,采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析和 GraphPad Prism 7.0 软件进行绘图。正态分布计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-145-5p 在食管鳞状细胞癌细胞中低表达

qPCR 检测细胞中 miR-145-5p 的表达水平,结果表明,与 Het-1A 细胞相比,miR-145-5p 在人食管鳞状细胞癌细胞系(NEC、Eca-109、TE-10)中均低表达(图 1,均  $P < 0.05$ );其中以 TE-10 细胞表达水平最低(图 1,  $P < 0.01$ ),因此选取 TE-10 细胞进行后续实验。



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Het-1A cell, Δ $P < 0.05$  vs TE-10 cells

图 1 miR-145-5p 在食管鳞状细胞癌细胞系中低表达  
Fig.1 Low expression of miR-145-5p in ESCC cell lines

### 2.2 过表达 miR-145-5p 抑制 TE-10 细胞增殖、侵袭、迁移和 EMT

qPCR 检测 miR-145-5p 的表达水平,结果表明,与对照组(NC)相比,转染 miR-145-5p mimics 上调 TE-10 细胞中 miR-145-5p 的表达(图 2A,  $P < 0.01$ )。CCK-8 法检测 TE-10 细胞增殖结果表明,与 NC 组相比,过表达 miR-145-5p 能显著抑制 TE-10 细胞增殖水平(图 2B,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );Transwell 检测实验结果表明,过表达 miR-145-5p 后,TE-10 细胞的侵袭、迁移

能力显著均低于 NC 组(图 2C、D,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );WB 检测 EMT 相关蛋白结果表明,与 NC 组相比,在 miR-145-5p 过表达组中,E-cadherin 表达显著上调而 N-cadherin 和 Vimentin 表达显著下调(图 2E,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果表明,过表达 miR-145-5p 抑制 TE-10 细胞的侵袭、迁移和 EMT 进程。

### 2.3 miR-145-5p 靶向下调 IGF1R 的表达

通过 Starbase 数据库预测结果得知,IGF1R 是 miR-145-5p 的潜在靶标(图 3A)。双荧光素酶报告基因实验结果表明,过表达 miR-145-5p 显著下调 IGF1R 野生型质粒中荧光强度(图 3B,  $P < 0.01$ ),而 IGF1R 突变型质粒中荧光强度与对照组无明显差异。WB 检测 IGF1R 结果表明,过表达 miR-145-5p 能显著抑制 IGF1R 的表达(图 3C,  $P < 0.01$ )。以上结果可知,miR-145-5p 靶向下调 IGF1R 表达。

### 2.4 miR-145-5p 通过下调 IGF1R 抑制 TE-10 细胞增殖、迁移、侵袭和 EMT

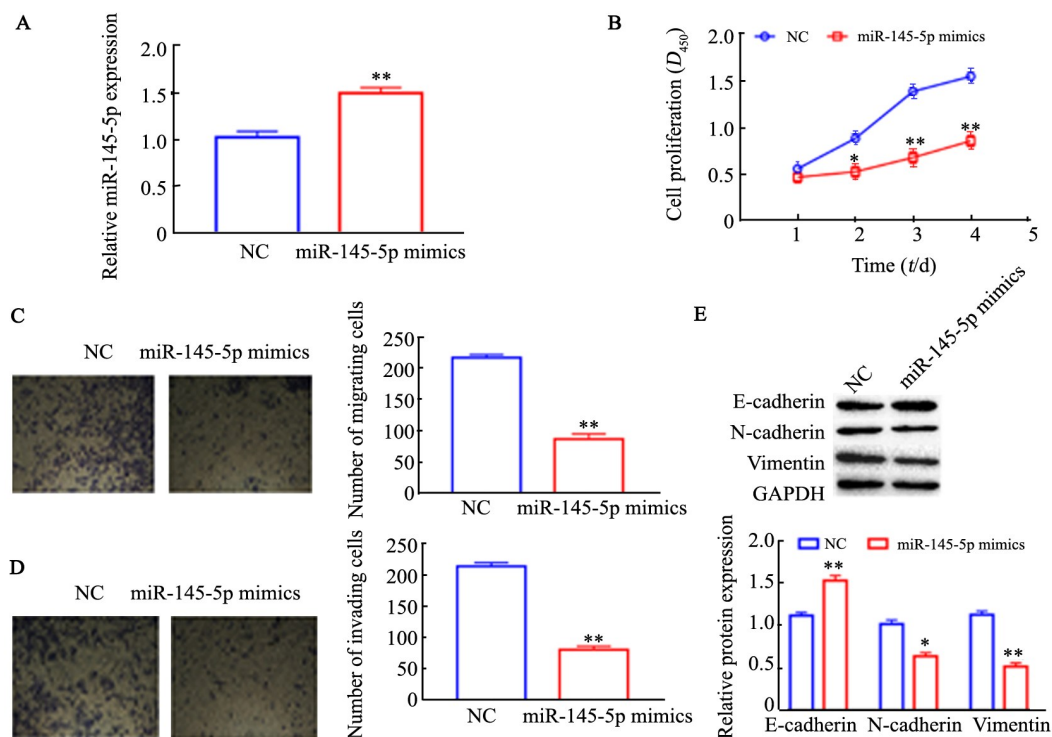
WB 检测 IGF1R 结果表明,与 NC 组相比,转染 pcDNA-IGF1R 后 TE-10 细胞中 IGF1R 表达水平显著增加(图 4A,  $P < 0.01$ );而同时转染 miR-145-5p mimics 和 pcDNA-IGF1R 组中 IGF1R 的表达与 NC 组无显著差异。CCK-8 法检测 TE-10 细胞增殖结果表明,与 NC 相比,过表达 IGF1R 显著增加 TE-10 细胞增殖水平(图 4B,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );同时过表达 miR-145-5p 和 IGF1R 后 TE-10 细胞增殖水平与 NC 组无显著差异;Transwell 实验检测结果表明,在 TE-10 细胞中过表达 IGF1R 可增加 TE-10 细胞的侵袭、迁移能力(图 4C、D,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。WB 检测 EMT 相关蛋白结果表明,相比于 NC 组,过表达 IGF1R 显著下调 E-cadherin 蛋白和上调 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白的表达。回复实验中,同时过表达 miR-145-5p 和 IGF1R,TE-10 细胞的侵袭、迁移和 EMT 能力与对照组无显著差异(图 4E,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。以上实验结果表明,miR-145-5p 通过靶向下调 IGF1R 抑制 TE-10 细胞迁移、侵袭和 EMT 进程。

## 3 讨论

食管鳞状细胞癌一直占据消化系统恶性肿瘤的主要地位。近年来研究<sup>[6]</sup>发现,核酸、蛋白等分子在食管鳞状细胞癌等多种肿瘤的发生发展过程中参与重要调控作用。随着对 miRNA 研究的深入,越来越多 miRNA 被报道在肿瘤发展中异常表达,并通过调控下游基因发挥促癌或抑癌的作用<sup>[7]</sup>,如 miR-21 在食管鳞状细胞癌异常高表达导致辅助性 T 淋巴细胞的失调促进肿瘤发展<sup>[8]</sup>,miR-488-3p 在食管鳞状细胞癌低表达并抑制癌细胞增殖促进其凋亡<sup>[9]</sup>,miR-106b-3p

过表达能促进食管鳞状细胞癌侵袭、迁移和 EMT。miR-145-5p 位于 5 号染色体上的一类非编码小 RNA, 并作为一类抑癌因子, 在结直肠癌<sup>[10]</sup>、乳腺癌<sup>[11]</sup>、前列腺癌<sup>[12]</sup>等多种恶性肿瘤中都表现下调, 并抑制肿瘤的侵袭性和淋巴转移等<sup>[13]</sup>。本研究发现,

miR-145-5p 在食管鳞状细胞中低表达, 当外源过表达 miR-145-5p 时能显著抑制 TE-10 细胞侵袭、迁移以及 EMT, 此结果表明过表达 miR-145-5p 能抑制食管鳞状细胞癌的发展进程。

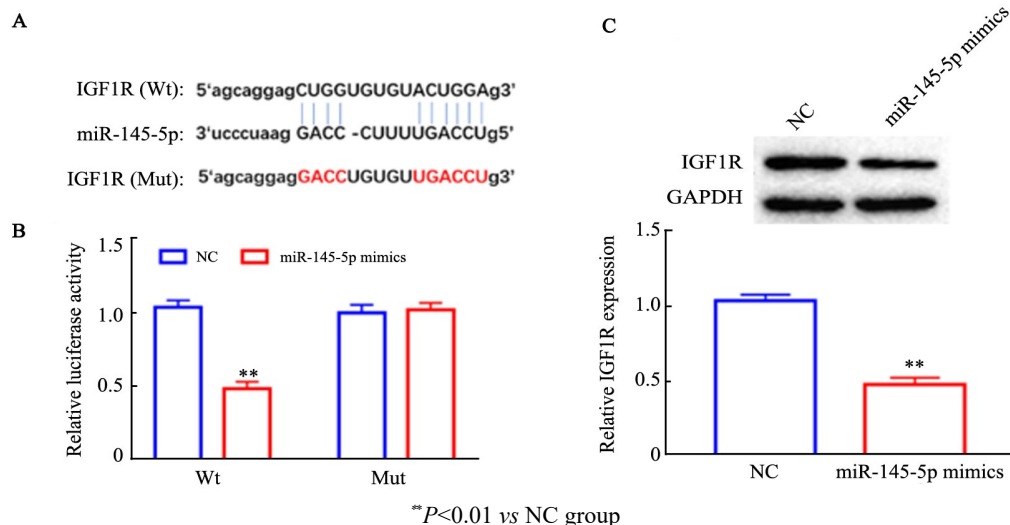


\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs NC group

A: The expression of miR-145-5p was detected by qPCR; B: The proliferation of TE-10 cells was measured by CCK-8 assay; C and D: The invasion and migration of TE-10 cells were detected by Transwell assay ( $\times 40$ ); E: The protein expressions of E-cadherin, N-cadherin and Vimentin in TE-10 cells were measured by WB

图2 过表达 miR-145-5p 抑制 TE-10 细胞的增殖、侵袭、迁移和 EMT 进程

Fig.2 Over-expression of miR-145-5p inhibited proliferation, invasion, migration and EMT in TE-10 cells

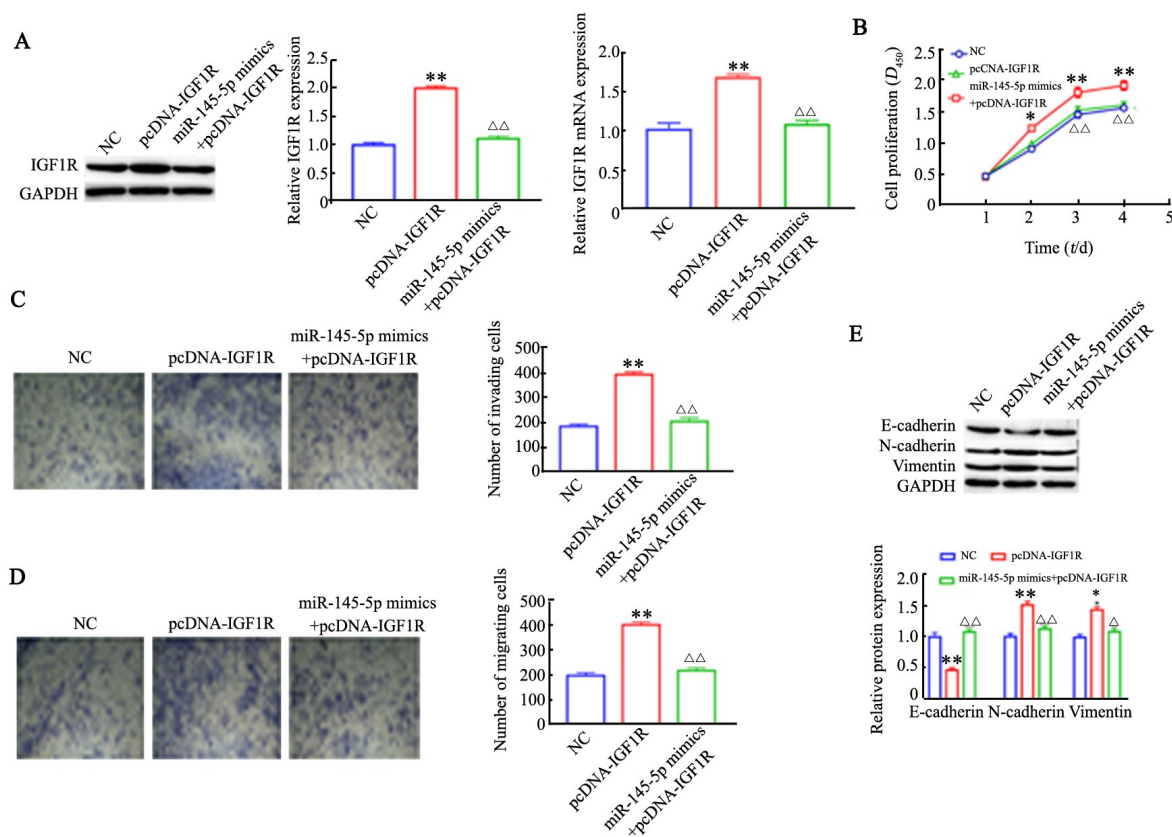


\*\* $P < 0.01$  vs NC group

A: The binding site between miR-145-5p and IGF1R was verified by starBase database; B: The luciferase activity was detected by dual-luciferase reporter gene assay; C: The expression of IGF1R was verified by WB

图3 miR-145-5p 靶向下调 IGF1R 表达

Fig.3 miR-145-5p targetedly down-regulated IGF1R expression



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs NC group;  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs pcDNA-IGF1R group

A: The expression of IGF1R was detected by WB; B: The proliferation of TE-10 cells was measured by CCK-8 assay; C and D: The invasion and migration of TE-10 cells were detected by Transwell assay( $\times 40$ ); E: The protein expressions of E-cadherin, N-cadherin and Vimentin in TE-10 cells were measured by WB

图4 miR-145-5p通过下调IGF1R抑制TE-10细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT进程

Fig.4 miR-145-5p inhibited proliferation, migration, invasion and EMT in TE-10 cells by down-regulating IGF1R

IGF1R是一类生长因子受体蛋白,其能够通过蛋白质合成过程产生促进作用,进而在生物机体细胞的生长、增殖和分化过程中扮演十分重要的角色<sup>[14]</sup>。同时,肿瘤细胞能够由自分泌和旁分泌上调和活化IGF1R,被上调的IGF1R与酪氨酸激酶结合并激活其活性,从而促进肿瘤细胞自身的增殖和分化<sup>[15-16]</sup>。此外,IGF1R还经由多种信号转导通路介导肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移<sup>[17]</sup>,同时还介导了肿瘤血管新生以及肿瘤细胞抗凋亡等作用<sup>[18]</sup>。如IGF1R在脑肿瘤患者中上调且可能是脑肿瘤的潜在治疗靶点<sup>[16]</sup>;上调IGF1R激活STAT3信号通路促进胃癌细胞的恶性生物学行为<sup>[19]</sup>;IGF1R通过活化PAK2/PIX增强乳腺癌耐药性<sup>[20]</sup>。本研究通过生物信息学预测和双荧光素酶实验发现IGF1R是miR-145-5p的下游靶基因,IGF1R在TE-10细胞中高表达,当外源下调IGF1R时能抑制TE-10细胞侵袭、迁移以及EMT。

综上所述,本研究通过细胞实验发现miR-145-5p靶向下调IGF1R,从而抑制食管鳞状细胞癌侵袭、迁移和EMT进程,但IGF1R又通过何种机制调控下

游基因的表达尚不清楚,还需要通过动物模型进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] CHEN Y, WU X, HAO D, et al. Neoadjuvant nimotuzumab plus chemoradiotherapy compared to neoadjuvant chemoradiotherapy and neoadjuvant chemotherapy for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(40): 4069-4078. DOI: 10.18632/oncotarget.23861.
- [2] JIN M, REN J, LUO M, et al. Long noncoding RNA JPX correlates with poor prognosis and tumor progression in non-small cell lung cancer by interacting with miR-145-5p and CCND2[J/OL]. *Carcinogenesis*, 2019, bgz125[2019-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31253987/>. DOI: 10.1093/carcin/bgz125.
- [3] MEI L L, WANG W J, QIU Y T, et al. miR-145-5p suppresses tumor cell migration, invasion and epithelial to mesenchymal transition by regulating the Sp1/NF-kappaB signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9): 1833. DOI: 10.3390/ijms18091833.
- [4] NAM R K, BENATAR T, WALLIS C J D, et al. MicroRNA-139 is a predictor of prostate cancer recurrence and inhibits growth and migration of prostate cancer cells through cell cycle arrest and targeting IGF1R and AXL[J]. *Prostate*, 2019, 79(12): 1422-1438. DOI:

- 10.1002/pros.23871.
- [5] ZHAO H, GU X. Silencing of insulin-like growth factor-1 receptor enhances the radiation sensitivity of human esophageal squamous cell carcinoma in vitro and in vivo[J]. *World J Surg Oncol*, 2014, 12: 325. DOI: 10.1186/1477-7819-12-325.
- [6] ZHAO Y, ZHU J, SHI B, et al. The transcription factor LEF1 promotes tumorigenicity and activates the TGF-beta signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 304. DOI: 10.1186/s13046-019-1296-7.
- [7] ZHONG X, HUANG G, MA Q, et al. Identification of crucial miRNAs and genes in esophageal squamous cell carcinoma by miRNA-mRNA integrated analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(27): e16269. DOI: 10.1097/md.00000000000016269.
- [8] MIEI H, SADIGHI-MOGHADDAM B, MOHAMMADI S, et al. Dysregulation of helper T lymphocytes in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) patients is highly associated with aberrant production of miR-21[J]. *Immunol Res*, 2019, 67(2/3), 212-222. DOI: 10.1007/s12026-019-09079-7.
- [9] YANG Y, LI H, HE Z, et al. MicroRNA-488-3p inhibits proliferation and induces apoptosis by targeting ZBTB2 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(11), 18702-18713. DOI: 10.1002/jcb.29178.
- [10] THURINGER D, JEGO G, BERTHENET K, et al. Gap junction-mediated transfer of miR-145-5p from microvascular endothelial cells to colon cancer cells inhibits angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19): 28160-28168. DOI: 10.18632/oncotarget.8583.
- [11] TANG W, ZHANG X, TAN W, et al. miR-145-5p suppresses breast cancer progression by inhibiting SOX2[J]. *J Surg Res*, 2019, 236: 278-287. DOI: 10.1016/j.jss.2018.11.030.
- [12] CHEN Z, ZHEN M, ZHOU J. LncRNA BRE-AS1 interacts with miR-145-5p to regulate cancer cell proliferation and apoptosis in prostate carcinoma and has early diagnostic values[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(3): 1-7. DOI: 10.1042/bsr20182097.
- [13] JIANG S B, HE X J, XIA Y J, et al. MicroRNA-145-5p inhibits gastric cancer invasiveness through targeting N-cadherin and ZEB2 to suppress epithelial-mesenchymal transition[J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 2305-2315. DOI: 10.2147/ott.S101853.
- [14] MARTIN A, VENARA M, MATHO C, et al. Fibroblast deficiency of insulin-like growth factor 1 receptor type 1 (IGF1R) impairs initial steps of murine pheochromocytoma development[J]. *Biochimie*, 2019, 163: 108-116. DOI: 10.1016/j.biochi.2019.06.004.
- [15] DAY T F, KALLAKURY B V S, ROSS J S, et al. Dual targeting of EGFR and IGF1R in the TNFAIP8 knockdown non-small cell lung cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(5): 1207-1219. DOI: 10.1158/1541-7786.Mcr-18-0731.
- [16] VEWINGER N, HUPRICH S, SEIDMANN L, et al. IGF1R is a potential new therapeutic target for hgnet-bcor brain tumor patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 3027. DOI: 10.3390/ijms20123027.
- [17] DU P, LIU F, LIU Y, et al. Linc00210 enhances the malignancy of thyroid cancer cells by modulating miR-195-5p/IGF1R/Akt axis[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235 (2), 1001-1012. DOI: 10.1002/jcp.29016.
- [18] WANG S Q, YANG X Y, YU X F, et al. Knockdown of IGF-1R triggers viral RNA sensor MDA5- and RIG-I-mediated mitochondrial apoptosis in colonic cancer cells[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 16: 105-117. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.02.008.
- [19] ZHU S, SOUTTO M, CHEN Z, et al. Activation of IGF1R by DARPP-32 promotes STAT3 signaling in gastric cancer cells[J]. *Oncogene*, 2019, 38(29): 5805-5816. DOI: 10.1038/s41388-019-0843-1.
- [20] ZHANG Y, WESTER L, HE J, et al. IGF1R signaling drives antiestrogen resistance through PAK2/PIX activation in luminal breast cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(14): 1869-1884. DOI: 10.1038/s41388-017-0027-9.

[收稿日期] 2020-01-25

[修回日期] 2020-04-18

[本文编辑] 韩丹