

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.11.002

## miR-202-5p 通过下调 NFATc3 的表达抑制口腔鳞状细胞癌细胞的生长、迁移和侵袭

杨谊琼<sup>1</sup>, 李丹丹<sup>1</sup>, 刘平<sup>1</sup>, 郑文涛<sup>2</sup>, 胡赞<sup>1</sup> (1. 重庆医科大学附属口腔医院 儿童口腔科, 重庆 401147; 2. 重庆大学附属肿瘤医院 肿瘤学实验室, 重庆 400030)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-202-5p 对口腔鳞状细胞癌(oral squamous carcinoma, OSCC) 细胞生长、集落形成、迁移和侵袭的影响及其可能的机制。**方法:** 通过 qPCR 法检测 OSCC 细胞系(Tca8113 和 SCC-4) 和口腔角质细胞 HOK 中 miR-202-5p 和 T 细胞核因子 c3(nuclear factor of activated T-cells isoform c3, NFATc3) mRNA 的表达水平; 将 miR-202-5p mimic 或/和 NFATc3 过表达质粒转染入 Tca8113 和 SCC-4 细胞, 用 MTT 和集落形成实验检测转染对细胞增殖的影响, 划痕伤口愈合实验和 Transwell 实验检测转染对细胞迁移和侵袭的影响, 用 Western blotting 实验检测转染对 NFATc3 蛋白表达的影响; 通过双荧光素酶报告基因实验验证 miR-202-5p 对候选靶基因 NFATc3 的直接调控作用。**结果:** 与正常口腔角质细胞 HOK 相比, miR-202-5p 在 OSCC 细胞 Tca8113 和 SCC-4 中呈低表达(均  $P < 0.01$ ), NFATc3 mRNA 和蛋白质表达显著升高( $P < 0.01$ )。在 Tca8113 细胞和 SCC-4 细胞中, 过表达 miR-202-5p 可显著抑制细胞生长、集落形成、迁移、侵袭以及细胞中 NFATc3 表达(均  $P < 0.01$ )。NFATc3 被证实是 miR-202-5p 的靶基因, 过表达 NFATc3 能逆转 miR-202-5p 对 OSCC 细胞生长、迁移和侵袭的抑制作用。**结论:** miR-202-5p 通过下调 NFATc3 表达发挥其肿瘤抑制功能, 导致 OSCC 细胞的生长、迁移和侵袭受到抑制。

**[关键词]** 口腔鳞状细胞癌; miR-202-5p; T 细胞核因子 c3; 增殖; 侵袭; 迁移

**[中图分类号]** R739.85; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)11-1206-07

## miR-202 inhibits growth, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells by down-regulating NFATc3

YANG Yiqiong<sup>1</sup>, LI Dandan<sup>1</sup>, LIU Ping<sup>1</sup>, ZHENG Wentao<sup>2</sup>, HU Yun<sup>1</sup> (1. Department of Pediatric Dentistry, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401147, China; 2. Department of Oncology Laboratory, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-202-5p on the viability, colony formation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells, and to elucidate its possible mechanism. **Methods:** The mRNA expression levels of miR-202-5p and nuclear factor of activated T-cells isoform c3 (NFATc3) in OSCC cell lines (Tca8113 and SCC-4) were detected by qPCR. miR-202-5p mimics or/and NFATc3 overexpression plasmids were transfected into Tca8113 cells and SCC-4 cells. Cell proliferation was detected by MTT assay and colony formation assay; cell migration and invasion were detected by Wound-healing assay and Transwell assay; the expression level of NFATc3 protein was detected by Western blotting. The direct regulation of miR-202-5p on the candidate target gene NFATc3 was verified by Dual luciferase reporter gene assay. **Results:** Compared with the normal oral keratinocytes HOK, the expression level of miR-202-5p was significantly decreased in OSCC cell lines ( $P < 0.01$ ), and the mRNA and protein expressions of NFATc3 were significantly increased ( $P < 0.01$ ). Over-expression of miR-202-5p significantly inhibited cell viability, colony formation, migration, invasion, and the expression level of NFATc3 in Tca8113 cells and SCC-4 cells (all  $P < 0.01$ ). NFATc3 was proved to be a target gene of miR-202-5p. Over-expression of NFATc3 could reverse the inhibitory effect of miR-202-5p on the growth, migration and invasion of OSCC cells. **Conclusion:** miR-202-5p exerts its tumor suppressor function by down-regulating NFATc3 directly, leading to the inhibition of growth, migration and invasion of OSCC cells.

**[Key words]** oral squamous cell carcinoma (OSCC); miR-202-5p; nuclear factor of activated T-cells isoform c3(NFATc3); proliferation; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(11): 1206-1212. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.11.002]

**[基金项目]** 重庆市卫健委医学科研项目资助项目(No. 2016MSXM046)。Project supported by the Medical Research Project of Health Commission of Chongqing (No. 2016MSXM046)

**[作者简介]** 杨谊琼(1991-), 女, 硕士生, 主要从事口腔相关疾病发生发展机制及治疗的研究, E-mail: 2017140080@stu.cqmu.edu.cn

**[通信作者]** 胡赞(HU Yun, corresponding author), 博士, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 主要从事口腔疾病的基础和临床研究, E-mail: 500188@hospital.cqmu.edu.cn

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)起源于口咽部的常见的鳞状细胞癌,其5年生存率不到40%<sup>[1-2]</sup>。其中,颈部淋巴结转移是导致OSCC死亡的主要风险因子<sup>[3-4]</sup>。因此,有必要阐明与OSCC进展相关的潜在分子机制,并鉴定肿瘤的特异性生物标志物,为开发新的抗肿瘤药物和治疗方法提供基础。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类小的非编码RNA,其可通过与靶mRNA的3'非翻译区(UTR)相互作用导致其转录后抑制或降解<sup>[5]</sup>。已发现miRNA的异常表达与包括OSCC在内的人类癌症的发生和发展有关<sup>[6-7]</sup>。miR-202-5p在结直肠癌和骨肉瘤中呈低表达,且下调其表达可促进肿瘤的进展<sup>[8-9]</sup>。miR-202-5p在OSCC中的表达和作用仍然有待探索。因此,本研究探讨miR-202-5p在OSCC细胞系中的表达及其异常表达对OSCC细胞生长、侵袭和迁移的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

人OSCC细胞系Tca8113和SCC-4购自上海中国科学院细胞库,正常人口腔角质细胞HOK购自美国Sciencell公司,均用含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基在37℃和5%CO<sub>2</sub>条件下培养。胎牛血清和PRMI 1640培养基购自美国Gibco公司,RNeasy Mini试剂盒、QuantiTect逆转录试剂盒和SYBR Green PCR Master Mix试剂盒均购自美国Applied Biosystems公司,MTT分析试剂盒购自美国Sigma公司,Matrigel基质胶购自美国BD Bioscience公司,Transwell小室(8.0 μm孔径)购自美国Millipore公司,Lipofectamine 2000试剂购自美国Invitrogen公司,T细胞核因子c3(nuclear factor of activated T-cells isoform c3, NFATc3)、GAPDH抗体均购自美国Abcam公司,NFATc3过表达质粒、miR-202-5p mimic和阴性对照miR-NC均购自广州RiboBio公司,荧光素酶检测试剂盒购自武汉艾美捷科技有限公司,多功能酶标仪SpectraMax M5购自美国Molecular Devices公司。

### 1.2 细胞转染

将OSCC细胞系(Tca8113和SCC-4)接种到6孔板(每孔5×10<sup>5</sup>个细胞),待细胞达80%汇合时,按照Lipofectamine 2000试剂盒操作说明转染miR-NC、miR-202-5p mimic和NFATc3质粒,待细胞转染48 h后,使用qPCR检测转染效率。

### 1.3 qPCR检测转染效率

使用RNA提取试剂从细胞中提取总RNA,并采用分光光度计测定法对总RNA定量。取2 μg总RNA使用QuantiTect逆转录试剂逆转录为cDNA。

采用各组样本cDNA、miR-202-5p引物、NFATc3引物和U6引物根据SYBR Green PCR Master Mix试剂盒说明书进行qPCR反应。miR-202-5p引物序列:上游为5'-GCGAGAGGCATAGGGCATG-3',下游为5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGTAT-3';NFATc3引物序列:上游为5'-GACTATGAGTATTTGAATCCG-3',下游为5'-GCGCACGAATGCCTCCGCTTG-3';GAPDH引物序列:上游为5'-CCTGGATA-CCG-CAGCTAGGA-3',下游为5'-GCGGCGCAATAC-GAATGCCCC-3';U6引物序列:上游为5'-GCTTCG-GCAGCACATATACTAAAAT-3';下游为5'-CGC-TTCACGAATTTGCGTGTGCAT-3'。反应结束后,采用2<sup>-ΔΔCt</sup>法进行量化分析。

### 1.4 MTT法、集落形成实验检测miR-202-5p mimic和NFATc3对OSCC细胞增殖的影响

MTT实验:将已转染的细胞接种到96孔板(1×10<sup>4</sup>个/孔)中,分别培养24、48和72 h后,向每个孔中加入20 μl MTT试剂并孵育4 h,弃去上清液并向每个孔中加入150 μl二甲基亚砷使结晶溶解。使用多功能酶标仪检测450 nm处的光密度(D)值,以D值代表细胞增殖水平。

集落形成实验:将已转染的各组细胞按500个/孔接种在6孔板中,培养基每3 d更换一次,培养12 d,用1.25%结晶紫染色并在光学显微镜下对细胞集落进行计数,以显微镜下大于50个细胞或肉眼可见的典型集落计为1个集落,计算细胞集落形成数目。

### 1.5 Transwell实验检测miR-202-5p mimic和NFATc3对OSCC细胞侵袭能力的影响

收集已转染的各组细胞,用含有2% BSA的无血清培养基重悬,制成1×10<sup>5</sup>个/ml密度的细胞悬液。上室(Matrigel包被的Transwell小室)接种100 μl细胞悬液,下室加入600 μl含有20%胎牛血清培养基,在37℃、5%CO<sub>2</sub>下培养24 h后,除去上室上膜面的非侵入细胞,将入侵细胞用100%甲醇固定,用0.5%结晶紫染色10 min,显微镜下观察细胞并计数。

### 1.6 划痕实验检测miR-202-5p mimic和NFATc3对OSCC细胞迁移能力的影响

将已转染的各组细胞接种在12孔板中,当细胞达到单细胞层汇合时,使用200 μl无菌微量移液管尖端在细胞层上沿培养孔的直径划一条直线,并用PBS洗除划掉的细胞,继续培养48 h。0和48 h时,在显微镜下随机选择划痕区中的5个视野拍照,用Image J软件计算划痕宽度(W),相对愈合率= $W_{48h}/W_{0h} \times 100\%$ 。

### 1.7 Western blotting(WB)实验检测miR-202-5p mimic和NFATc3对OSCC细胞中相关蛋白表达的影响

RIPA缓冲液提取各组细胞中总蛋白。通过蛋白

质测定试剂盒测定蛋白质浓度,并用 SDS-PAGE 分离等量的蛋白质裂解物,并转移到 PVDF 膜上。5% 脱脂乳封闭膜后,加入 NFATc3 抗体(1:400)、GAPDH 抗体(1:2 000),室温孵育 2 h。TBST 洗膜后再于室温下孵育辣根过氧化物酶偶联的二抗(1:1 000) 1 h, TBST 再次洗膜后,用 ECL 试剂对蛋白条带进行显影。利用 Image J 软件,以 GAPDH 作为内参照,计算相关蛋白的相对表达量。

### 1.8 荧光素酶报告基因实验验证 miR-202-5p 与 NFATc3 的靶向关系

将 NFATc3 3' UTR 的 cDNA 片段和与预测的 miR-202-5p 结合位点的点突变的 NFATc3 3' UTR cDNA 片段分别插入到 pmirGLO 载体中。NFATc3 3' UTR cDNA 片段与 miR-202-5p 碱基序列上的结合位点为 3'-gacgucauagauuu-AUAGGAA-a-5', NFATc3 3' UTR cDNA 片段突变结合位点为 3'-gacgucauagauuu-CACCUCG-a-5'。通过脂质体转染法将 miR-202-5p 或 miR-NC 质粒与 pmirGLO-NFATc3 或 pmirGLO-MUT NFATc3 重组载体共转染 Tca8113 细胞并培养 48 h,按照荧光素酶报告基因试剂盒说明书提供方法检测荧光素酶的相对活性。

### 1.9 统计学处理

使用 SPSS 19.0 软件分析,所有实验重复 3 次。正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组之间比较采用 *t* 检验,多组计量资料的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-202-5p 在 OSCC 细胞中呈低表达

qPCR 检测结果(图 1)显示,OSCC 细胞系(Tca8113, SCC-4)中的 miR-202-5p 表达显著低于正常口腔角质细胞 HOK, miR-202-5p 在两种 OSCC 细胞中呈低表达(均  $P < 0.01$ )。

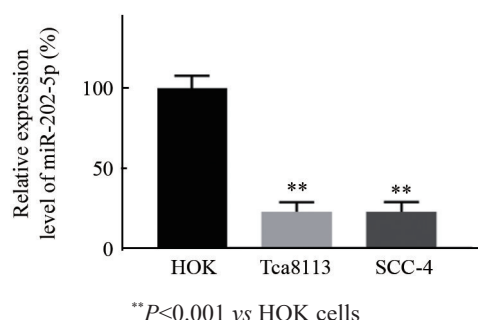
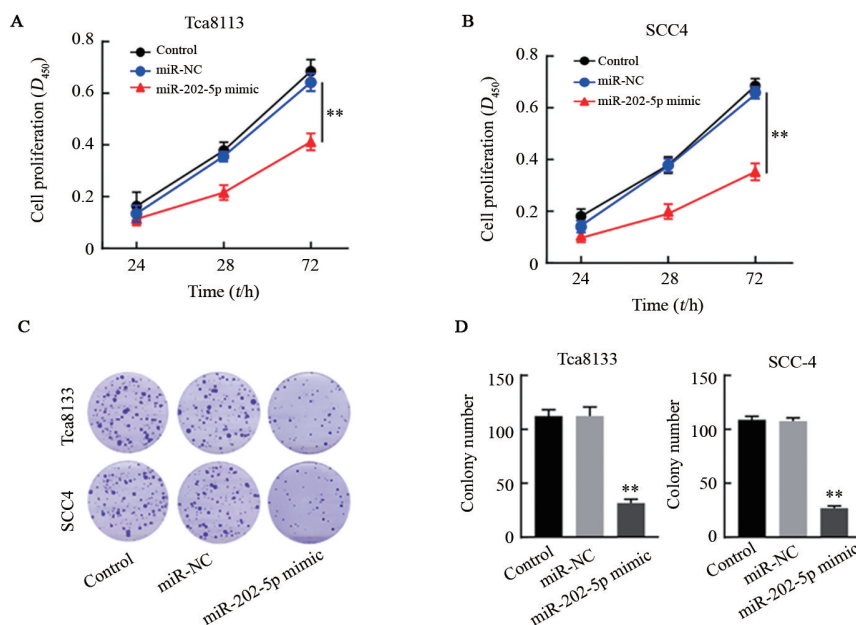


图 1 miR-202-5p 在 Tca8113 和 SCC-4 细胞中呈低表达  
Fig.1 miR-202-5p was low expressed in Tca8113 and SCC-4 cells

### 2.2 过表达 miR-202-5p 抑制 OSCC 细胞生长

MTT 检测结果(图 2A、B)表明,与 miR-NC 组相比,miR-202-5p mimic 组 Tca8113(图 2A)和 SCC-4 细胞(图 2B)在转染 48 h 和 72 h 后的细胞活性显著降低(均  $P < 0.01$ )。集落形成实验结果(图 2C、D)显示,与 miR-NC 组相比,转染 miR-202-5p mimic 的 Tca8113 和 SCC-4 细胞的集落数显著减少(均  $P < 0.01$ )。



\*\* $P < 0.01$  vs miR-NC or Control group

A and B: The effect of miR-202-5p mimic on cell viability in Tca8113 (A) and SCC-4 cells (B) by MTT assay; C and D: Cell colony was detected by cell colony formation assay, representative images of cell colony (C,  $\times 40$ ) and quantitative data of colony number (D)

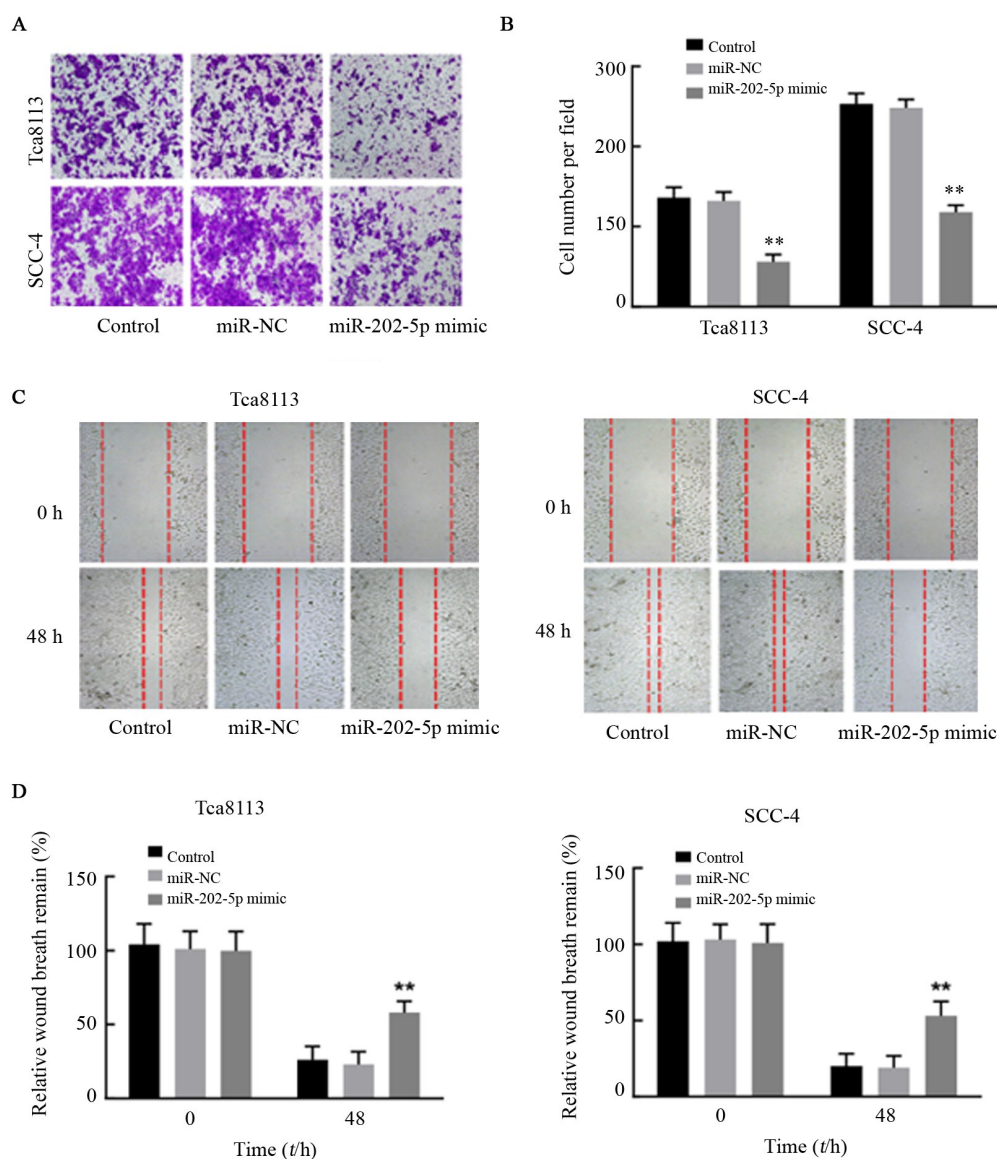
图 2 过表达 miR-202-5p 抑制 OSCC 细胞生长

Fig.2 Over-expression of miR-202-5p inhibited the growth of OSCC cells

### 2.3 过表达 miR-202-5p 抑制 OSCC 细胞侵袭和迁移

Transwell 实验结果(图 3A、B)显示,与 miR-NC 组相比,miR-202-5p mimic 组 Tca8113 和 SCC-4 细胞每高倍镜视野下观察到的侵袭细胞数均显著减少

(均  $P < 0.01$ )。划痕实验结果(图 3C、D)显示,与 miR-NC 组相比,miR-202-5p mimic 组 Tca8113 和 SCC-4 细胞划痕愈合程度均显著增加( $P < 0.01$ )。



\*\* $P < 0.01$  vs miR-NC or Control group

A and B: Cell invasion was detected by Transwell assay, representative images of Transwell assay (A,  $\times 40$ ) and quantitative data of cell number per field (B); C and D: Cell migration was detected by Wound-healing assay, representative images of wound healing (C,  $\times 40$ ) and quantitative data of wound breath remain percentage (D)

图3 过表达 miR-202-5p 抑制 OSCC 细胞侵袭和迁移

Fig.3 Over-expression of miR-202-5p inhibited the invasion and migration of OSCC cells

### 2.4 miR-202-5p 靶向抑制 NFATc3 表达

qPCR(图 4A)和 WB(图 4B)检测结果显示,NFATc3 mRNA 和蛋白水平在 OSCC 细胞系中的表达均显著高于正常口腔角质细胞 HOK( $P < 0.01$ )。TargetScan(www.Targetscan.org)预测结果显示,NFATc3 3' UTR 区具有 miR-202-5p 结合位点(图 4C)。荧光素酶报告基因实验结果(图 4D)显示,转染 miR-202-5p-mimic 后显著降低

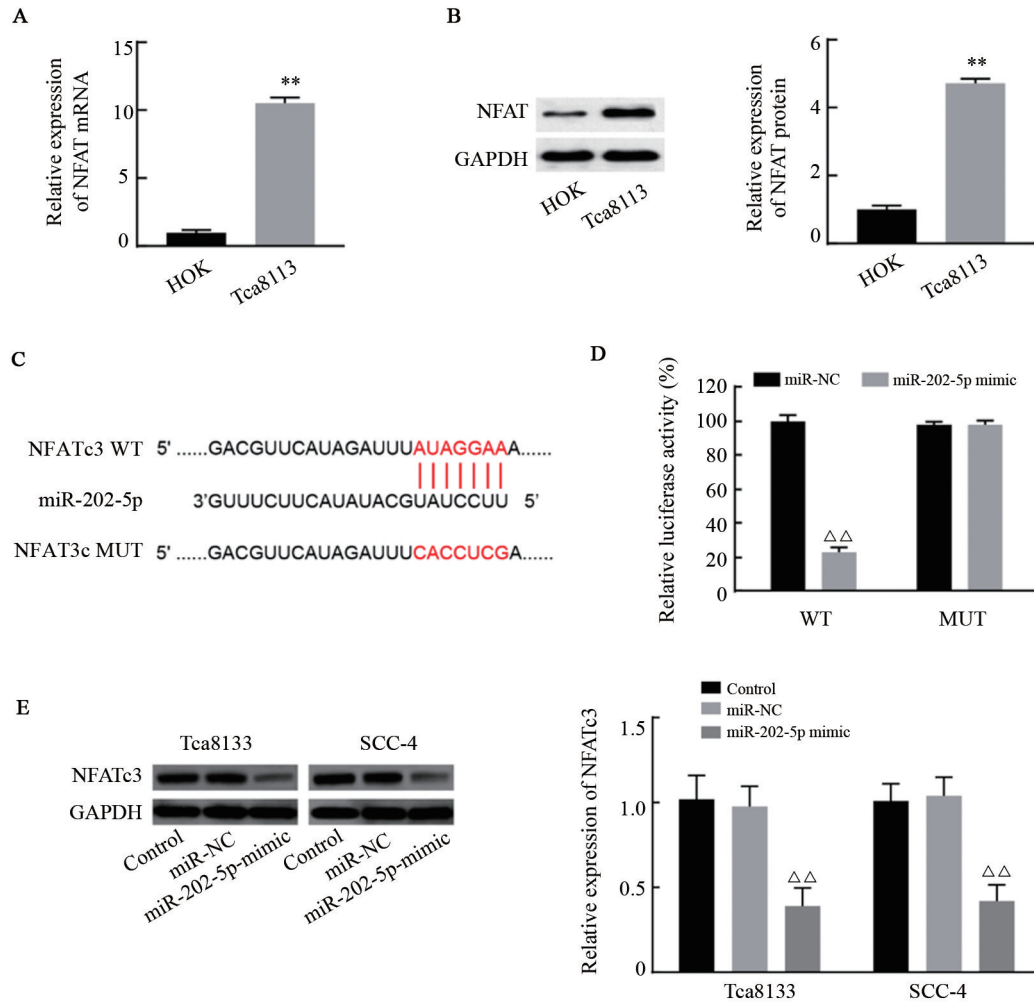
了荧光素酶活性( $P < 0.01$ )。WB 检测结果(图 4E)显示,与转染 miR-NC 的细胞相比,转染 miR-202-5p mimic 的 Tca881 细胞和 SCC-4 细胞中 NFATc3 蛋白表达显著降低(均  $P < 0.01$ )。

### 2.5 过表达 NFATc3 逆转 miR-202-5p 对 OSCC 细胞生长、迁移和侵袭的抑制

在转染 miR-202-5p mimic 的 OSCC 细胞中共转

染过表达 NFATc3 的质粒, 并采用 qPCR 对转染效率进行验证(图 5A), 结果显示, 转染的质粒可显著恢复 NFATc3 的表达量 ( $P < 0.01$ )。与 miR-202-5p+vector

组相比, miR-202-5p+NFATc3 组细胞的集落数(图 5B、C)、侵袭细胞数(图 5D、E)和划痕伤口愈合率(图 5F、G)均显著增加(均  $P < 0.01$ )。



\*\* $P < 0.01$  vs HOK cells,  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs miR-NC group

A: Relative expression level of NFATc3 mRNA in normal oral epithelial HOK cells and OSCC Tca8113 cells; B: Relative expression level of NFATc3 protein in normal oral epithelial HOK cells and OSCC cells; C: Pairing alignments of NFATc3 and miR-202-5p; D: Statistical results of relative luciferase activity in each group; E: Expression of NFATc3 protein in Tca8113 and SCC-4 cells transfected with miR-202-5p mimic or miR-NC detected by WB

图4 过表达 miR-202-5p 可靶向抑制 OSCC 细胞中 NFATc3 的表达

Fig.4 Over-expression of miR-202-5p inhibited the expression of NFATc3 in OSCC cells

### 3 讨论

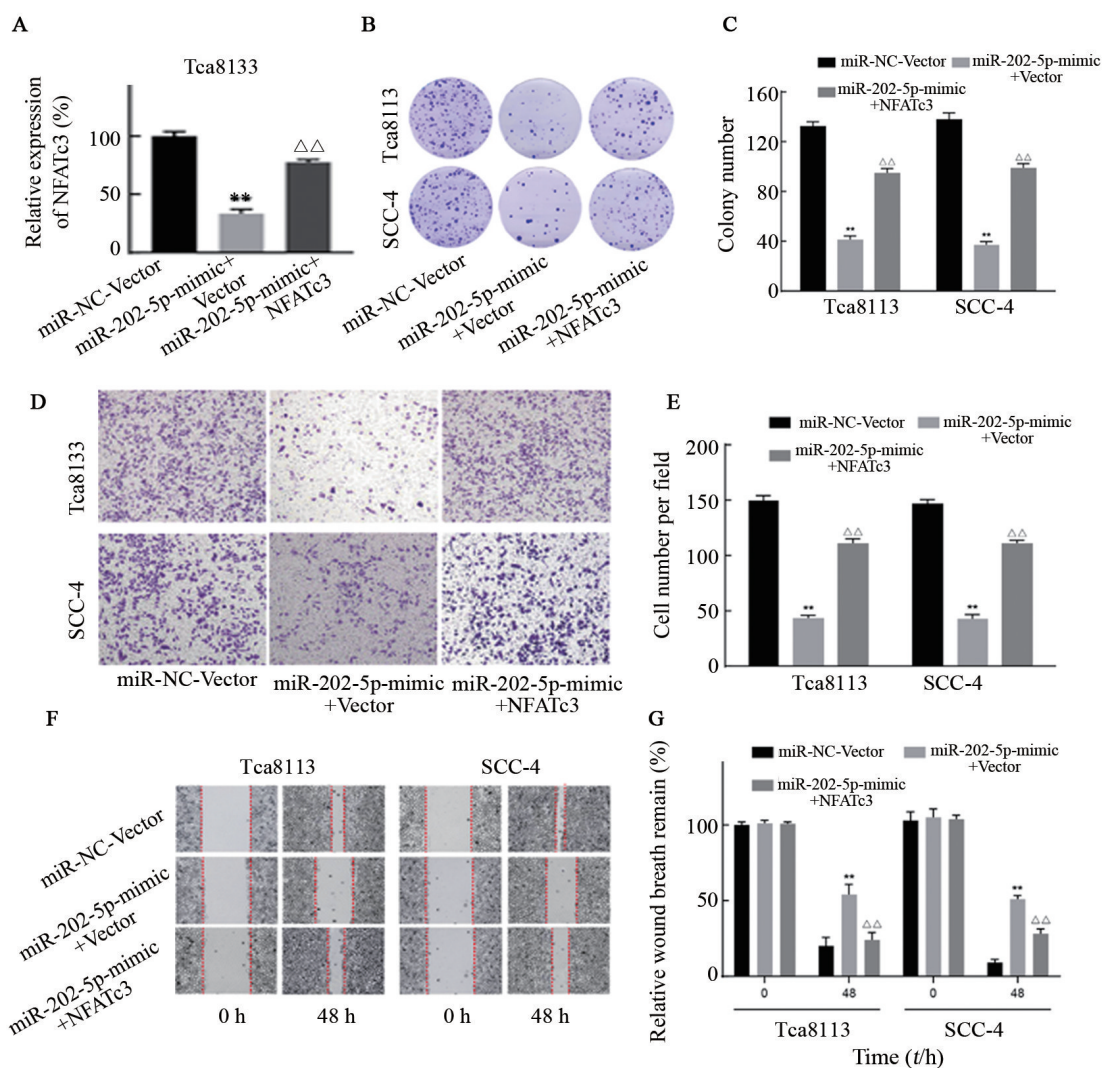
近几年, 虽然对 OSCC 的诊断和治疗水平有所升高, 但 OSCC 患者 5 年生存率仍然变化不大<sup>[10-11]</sup>。在肿瘤中, 一些 miRNAs 发生表达异常, 且其表达失调与肿瘤的发生和发展有着密切的联系<sup>[12-14]</sup>。因此, 鉴定与 OSCC 生长与转移相关的 miRNA 有助于对开发 OSCC 新的治疗方法提供参考依据。miR-202-5p 在结直肠癌和骨肉瘤中可作为肿瘤抑制因子发挥作用<sup>[8-9]</sup>, 而 miR-202-5p 对 OSCC 作用的报道尚少。本

研究表明, miR-202-5p 在 OSCC 细胞中呈低表达; 过表达 miR-202-5p 能抑制 OSCC 细胞生长、侵袭和转移。本研究结果提示, miR-202-5p 在 OSCC 的发展过程中起到了抑癌因子的作用, 通过过表达 miR-202-5p 可以对 OSCC 起到一定治疗作用。miRNA 通过与靶 mRNA 的 3' UTR 区结合从而影响靶 mRNA 的翻译与转录<sup>[15-16]</sup>。本研究发现, NFATc3 是 miR-202-5p 的靶向作用因子。NFAT 有 NFAT1~NFAT5 共 5 种亚型<sup>[17]</sup>, NFAT 的各亚型在肿瘤中均广泛表达, 起到的是一种促癌作用<sup>[18]</sup>。其中的 NFATc3 是口腔上皮细胞中的主要亚

型,其表达水平在 OSCC 致癌过程中逐步升高<sup>[19]</sup>。在口腔上皮癌细胞中使用针对 NFATc3 的 siRNA 敲除内源性 NFATc3 后,肿瘤细胞的自我更新能力和迁移能力均受到了明显的抑制<sup>[20]</sup>。以上研究提示 NFATc3 在 OSCC 中起到促癌因子的作用。本研究显示, NFATc3 在 OSCC 细胞的表达上调,过表达 miR-202-5p 可抑制 OSCC 细胞中 NFATc3 表达,且在转染 miR-202-5p mimic 的 OSCC 细胞中上调 NFATc3 的表

达后,miR-202-5p 对肿瘤细胞生长、迁移和侵袭的抑制作用被逆转。这些结果表明 miR-202-5p 对 OSCC 细胞的生长、迁移和侵袭能力的抑制作用是通过下调 NFATc3 表达实现的。

综上所述,本研究证明 miR-202-5p 可通过下调 NFATc3 的表达抑制 OSCC 细胞生长、迁移和侵袭,发挥抑癌因子的作用,其是潜在的 OSCC 治疗的新靶标。



\*\* $P < 0.01$  vs miR-NC-Vector group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs miR-202-5p mimic+Vector group

A: Validation of the plasmid transfection; B and C: Cell colony was detected by Colony formation assay, representative images of cell colony (B,  $\times 40$ ), and quantitative data of colony number; D and E: Cell invasion was detected by Transwell assay, representative images of Transwell assay (C), quantitative data of cell number per field (D,  $\times 40$ ); F and G: Cell migration was detected by Wound-healing assay, representative images of wound healing (F,  $\times 40$ ), quantitative data of wound breath remain percentage (G)

图 5 过表达 NFATc3 逆转 miR-202-5p 对 OSCC 细胞生长、迁移和侵袭的抑制

Fig.5 Over-expression of NFATc3 reversed the inhibitory effect of miR-202-5p on the growth, migration and invasion of OSCC cells

[参考文献]

[1] GHARAT S A, MOMIN M, BHAVSAR C. Oral squamous cell carcinoma: current treatment strategies and nanotechnology-based approaches for prevention and therapy[J]. Crit Rev Ther Drug Carrier

Syst, 2016, 33(4): 363-400. DOI:10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2016016272.

[2] THOMSON P J. Perspectives on oral squamous cell carcinoma prevention-proliferation, position, progression and prediction[J]. J Oral Pathol Med, 2018, 47(9): 803-807. DOI:10.1111/jop.12733.

- [3] CHEN T C, WU C T, WANG C P, et al. Significance of nuclear p-mTOR expression in advanced oral squamous cell carcinoma with extracapsular extension of lymph node metastases[J]. *Oral Oncol*, 2015, 51(5): 493-499. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2015.02.093.
- [4] HO A S, KIM S, TIGHIOUART M, et al. Metastatic lymph node burden and survival in oral cavity cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(31): 3601-3609. DOI:10.1200/jco.2016.71.1176.
- [5] BARTEL D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233. DOI:10.1016/j.cell.2009.01.002.
- [6] KOZOMARA A, BIRGAOANU M, GRIFFITHS-JONES S. miRBase: from microRNA sequences to function[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(d1): D155-D162. DOI:10.1093/nar/gky1141.
- [7] LU L, WU Y F, FENG M, et al. A novel seven-miRNA prognostic model to predict overall survival in head and neck squamous cell carcinoma patients[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(5): 4340-4348. DOI: 10.3892/mmr.2019.10665.
- [8] KE S B, QIU H, CHEN J M, et al. MicroRNA-202-5p functions as a tumor suppressor in colorectal carcinoma by directly targeting SMARCC1[J]. *Gene*, 2018, 676: 329-335. DOI:10.1016/j.gene.2018.08.064.
- [9] LI C D, MA D Y, YANG J H, et al. miR-202-5p inhibits the migration and invasion of osteosarcoma cells by targeting ROCK1 [J]. *Oncol Lett*, 2018 16(1): 829-834. DOI:10.3892/ol.2018.8694.
- [10] 杨爽, 王佃灿, 王骁, 等. 口腔鳞状细胞癌患者阳性淋巴结率对预后影响的研究[J]. *中华口腔医学杂志*, 2016, 51(3): 133-136. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2016.03.002.
- [11] 陈新, 徐文华, 周健, 等. 口腔鳞状细胞癌现状[J]. *口腔医学*, 2017, 37(5): 462-465. DOI:10.13591/j.cnki.kqyx.2017.05.018.
- [12] 王明阳, 王光磊, 陈新亮, 等. MicroRNA 的生物学功能及其与肿瘤诊断和治疗的研究进展[J]. *动物医学进展*, 2018, 39(1): 95-98. DOI:10.3969/j.issn.1007-5038.2018.01.017.
- [13] 李欣, 罗小玲. miRNA 调控肿瘤微环境的研究进展[J]. *现代免疫学*, 2019, 39(3): 245-248.
- [14] 杨鑫苗, 张永强. miRNA 调控实体肿瘤发生发展机制研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(9): 1587-1589. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2020.09.038.
- [15] HAUSSER J, ZAVOLAN M. Identification and consequences of miRNA-target interactions - beyond repression of gene expression [J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(9): 599-612. DOI:10.1038/nrg3765.
- [16] 姚成果, 金由辛. miRNA 及其功能[J]. *生命的化学*, 2004, 24(4): 284-286. DOI:10.3969/j.issn.1000-1336.2004.04.002.
- [17] 杨晨. 活化T细胞核因子对髓核细胞中ADAMTS-4及-5表达的调控作用[D]. 上海: 第二军医大学, 2015.
- [18] SHOU J, JING J, XIE J, et al. Nuclear factor of activated T cells in cancer development and treatment[J]. *Cancer Lett*, 2015, 361(2): 174-184. DOI:10.1016/j.canlet.2015.03.005.
- [19] LEE S H, KIEU C, MARTIN C E, et al. NFATc3 plays an oncogenic role in oral/oropharyngeal squamous cell carcinomas by promoting cancer stemness via expression of OCT4[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(23): 2306-2319. DOI:10.18632/oncotarget.26774.
- [20] LEE S H, RIGAS N K, LEE C R, et al. Orail promotes tumor progression by enhancing cancer stemness via NFAT signaling in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28): 43239-43255. DOI:10.18632/oncotarget.9755.

[收稿日期] 2020-05-11

[修回日期] 2020-09-13

[本文编辑] 黄静怡