

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.11.006

· 基础研究 ·

## 过表达 miR-497 靶向细胞周期蛋白 E1 抑制肺癌 A549 细胞的上皮间质转化

齐见旭<sup>a</sup>, 王心晓<sup>a</sup>, 李英<sup>b</sup>, 欧宗兴<sup>a</sup> (海口市人民医院 a. 呼吸内科; b. 重症医学科, 海南 海口 570000)

**[摘要]** **目的:**探讨过表达 miR-497 靶向细胞周期蛋白 E1 (cyclin E1, CCNE1) 对肺癌 A549 细胞上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的影响。**方法:**常规培养人肺癌 A549 细胞, 细胞实验分为正常组 (不加干预)、对照组 (转染 miR-497 mimics-NC)、实验组 (转染 miR-497 mimics)。采用 Transwell 小室实验、免疫荧光染色、qPCR、Western blotting 法分别检测各组细胞迁移和侵袭能力、蛋白间质标志物  $\alpha$ -SMA 和上皮标志物 E-cadherin 的表达、miR-497 和 CCNE1 的表达水平, 荧光素酶基因报告实验验证 miR-497 和 CCNE1 的靶向关系。**结果:**与对照组和正常组相比, 实验组 A549 细胞迁移和侵袭的数量明显减少 (均  $P < 0.05$ ), 细胞的间质标志物  $\alpha$ -SMA 的绿色荧光强度明显减弱 [(36.95 $\pm$ 5.81) vs (98.69 $\pm$ 2.36)、(97.94 $\pm$ 2.63), 均  $P < 0.05$ ], 上皮标志物 E-cadherin 的绿色荧光强度明显增强 [(388.41 $\pm$ 10.93) vs (100.95 $\pm$ 6.37)、(102.55 $\pm$ 3.18), 均  $P < 0.05$ ], miR-497 的表达明显升高 (均  $P < 0.05$ ), CCNE1 的表达均明显下降 (均  $P < 0.05$ )。miR-497 能够靶向调控 CCNE1 的表达。**结论:**在肺癌 A549 细胞中 miR-497 能够靶向调控 CCNE1 的表达, 上调 miR-497 的表达后能明显抑制 A549 细胞迁移和侵袭能力, 影响 EMT 相关蛋白的表达。

**[关键词]** miR-497; 细胞周期蛋白 E1; 肺癌; A549 细胞; 上皮间质转化

**[中图分类号]** R734.2; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)11-1239-07

## miR-497 over-expression inhibits epithelial-mesenchymal transition in lung cancer A549 cells by targeting cyclin E1

QI Jianxu<sup>a</sup>, WANG Xinxiao<sup>a</sup>, LI Ying<sup>b</sup>, OU Zongxing<sup>a</sup> (a. Department of Respiratory Medicine; b. Department of Critical Medicine, Haikou People's Hospital, Haikou 570000, Hainan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of overexpressed miR-497 targeting cyclin E1 (CCNE1) on epithelial-mesenchymal transition (EMT) in lung cancer A549 cells. **Methods:** Human lung cancer A549 cells were routinely cultured, and the experimental cells were divided into normal group (without any intervention), control group (transfected with miR-497 mimics-NC), and experiment group (transfected with miR-497 mimics). Transwell chamber experiment, immunofluorescence staining, qPCR, Western blotting were used to detect cell migration and invasion ability, the expressions of protein interstitial marker  $\alpha$ -SMA and epithelial marker E-cadherin, and the expressions of miR-497 and CCNE1 in each group of cells, respectively. Dual luciferase reporter gene assay was used to verify the relationship between miR-497 and CCNE1. **Results:** Compared with the normal group, the number of migrated and invaded cells in the experiment group decreased significantly (all  $P < 0.05$ ), the green fluorescence intensity of the interstitial marker  $\alpha$ -SMA of the experimental group cells was significantly weakened [(36.95 $\pm$ 5.81) vs (98.69 $\pm$ 2.36), (97.94 $\pm$ 2.63), all  $P < 0.05$ ], while the green fluorescence intensity of the epithelium marker E-cadherin was significantly enhanced [(388.41 $\pm$ 10.93) vs (100.95 $\pm$ 6.37), (102.55 $\pm$ 3.18), all  $P < 0.05$ ]; in addition, the expression of miR-497 in the cells of the experiment group was significantly increased (all  $P < 0.05$ ), while the expression of CCNE1 was significantly decreased (all  $P < 0.05$ ). miR-497 could targetedly regulate the expression of CCNE1. **Conclusion:** In lung cancer A549 cells, miR-497 can targetedly regulate CCNE1 expression. Up-regulating the expression of miR-497 can significantly inhibit the migration and invasion ability of A549 cells and affect the expression of EMT related protein.

**[Key words]** miR-497; cyclin E1 (CCNE1); lung cancer; A549 cell; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(11): 1239-1245. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.11.006]

肺癌是临床上常见的呼吸系统恶性肿瘤, 近年来其发病率和病死率逐年上升。由于适宜手术的肺癌患者比例较低, 化疗仍是控制症状的主要治疗手段。但是由于化疗具有肝肾毒性且易发生药物耐受, 以及肿瘤细胞的恶性转移, 化疗不能使所有肺癌患者受益, 因此探究肺癌的分子作用机制在临床的

诊断和治疗中具有重大价值<sup>[1]</sup>。微小 RNA (miRNA)

**[作者简介]** 齐见旭 (1978-), 男, 本科, 副主任医师, 主要从事呼吸危重症、呼吸介入与肿瘤的研究, E-mail: uxhct9@163.com

**[通信作者]** 欧宗兴 (OU Zongxing, corresponding author), 硕士, 主任医师, 主要从事呼吸急危重症、呼吸介入与肿瘤的研究, E-mail: vvp8oi@163.com

是一类高度保守的非编码单链RNA分子,表达异常的miRNA在多种恶性肿瘤中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。近年来,miR-497因其对多种恶性肿瘤的抑制作用而广受关注,其可增强MSI/P53信号而抑制结直肠癌细胞的增殖以及恶性侵袭<sup>[3]</sup>,但尚少见miR-497在肺癌中的作用的报道。在肿瘤细胞的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)中,上皮细胞的骨架重排以及黏附极性的改变直接增强了肿瘤细胞的迁移与恶性侵袭能力<sup>[4]</sup>,而细胞周期调控因子细胞周期蛋白E1(cyclin E1, CCNE1)的表达与肿瘤EMT关系密切<sup>[5]</sup>。YANG等<sup>[6]</sup>研究表明,在乳腺癌细胞中CCNE1的表达明显升高,并且抑制CCNE1的表达能明显降低肿瘤细胞的侵袭与迁移,干扰肿瘤细胞的EMT。LI等<sup>[7]</sup>研究证实,在人成视网膜细胞瘤中miR-497能够靶向调控CCNE1的表达抑制癌细胞的恶性迁移和侵袭。本研究探讨miR-497对肺癌A549细胞的EMT的影响及其可能的作用机制,希望能为肺癌的诊断和治疗提供新的线索和靶向位点。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料、试剂和仪器

人肺癌A549细胞购自上海中科院细胞库。上调表达miR-497 mimics及其阴性对照miR-497 mimics-NC由上海吉玛技术有限公司设计完成。DMEM培养基购自TOYOBO公司,TRIzol试剂盒购自TaKaRa公司,全蛋白抽提试剂盒购自美国Abcam公司,CCNE1抗体、鼠抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体购自美国Jackson公司,Transwell小室购自美国BD公司,吖啶橙/溴化乙锭(acridine orange/ethidium bromide, AO/EB)试剂盒、逆转录试剂盒、Western blotting(WB)试剂盒均购自美国Sigma公司,双荧光素酶报告基因试剂盒、全蛋白抽提试剂盒均购自德国QIAGEN公司。苏净Airtech超净工作台购自北京六一仪器厂,SANYO MCO-15AC细胞培养箱购自美国强生公司,Nikon Ti-U/Ti-s倒置荧光显微镜购自日本三菱公司,5810R型高速离心机购自日本岛津公司,实时荧光定量PCR仪购自美国Corning公司。

### 1.2 细胞培养以及转染

在含有灭活的10%胎牛血清的DMEM培养基中接种人肺癌A549细胞,置于预先设定好条件(37℃、5%CO<sub>2</sub>)的生化培养箱中常规培养,当细胞生长密度达85%后,以0.25%胰蛋白酶消化传代。取对数生长期细胞进行转染<sup>[8]</sup>,细胞实验分为正常组(细胞常规培养,不加干预)、对照组(细胞转染miR-497 mimics-NC,常规培养)、实验组(细胞转染miR-497 mimics,常规培养)。

### 1.3 qPCR检测细胞中miR-497和CCNE1 mRNA的

### 表达水平

调整A549细胞浓度,按 $1 \times 10^4$ 个/孔接种于24孔培养板中,分组处理同上,37℃、5%CO<sub>2</sub>生化培养箱中继续培养48h后,常规方法<sup>[9]</sup>提取总RNA。按照逆转录试剂盒说明书操作进行逆转录成cDNA。按照SYBR Premix Ex Taq说明书配置PCR反应体系,反应条件:75℃预变性120s,随后90℃变性5min、60℃退火60s、72℃延伸30s,qPCR仪采集荧光信号40个循环,以U6作为内参,目的基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。每个样本独立重复实验3次。miR-497上游引物为5'-ACCCAGAAGACTGTGGATGG-3',下游引物为5'-AGGGGAGATTCAGTGTGGTG-3';CCNE1上游引物为5'-TGTGGTCAACAGTGTTCAGCA-3',下游引物为5'-AGAAGCCTTTGCCA CCTTCA-3';U6上游引物为5'-TTCCTTCAGAGCAAACAGCA-3',下游引物为5'-GTTGTGCTCAAATCCCCATT-3'。

### 1.4 显微镜下观察转染miR-497 mimics对A549细胞形态的影响

调整各组细胞浓度,按 $1 \times 10^5$ 个/孔接种于6孔培养板中,分组处理同上,1000×g离心2min,收集细胞继续培养24h后,倒置相差显微镜下观察各组细胞的形态变化。

### 1.5 AO/EB双染法检测过表达miR-497对A549细胞凋亡的影响

收集各组细胞,分别加入100μl PBS制成单细胞悬液,加入AO/EB(100μg/ml)染色液4μl,荧光显微镜下观察细胞并拍照记录,并且每组以3个视野为单位,每个视野以200个细胞为计数单位计算凋亡率。凋亡率=凋亡细胞数/细胞总数×100%。

### 1.6 Transwell小室实验检测过表达miR-497对A549细胞迁移和侵袭的影响

侵袭实验先取40μl Matrigel胶用不含胎牛血清的RPMI 1640以1:8稀释后,水化铺在Transwell小室的上室底部,细胞分组处理同上,消化各组细胞并用PBS清洗,用无血清RPMI 1640培养液将细胞稀释至 $1 \times 10^5$ 个/ml,加200μl细胞悬液至Transwell上室,加500μl含20% FBS的RPMI 1640至Transwell下室,保证下层完全培养基与Transwell小室间无气泡,将细胞继续置入培养箱培养24h;取出Transwell上室用预冷的PBS冲洗2次,加500μl 0.1%结晶紫染液进行染色,室温避光15min,PBS漂洗后用棉棒擦拭Transwell小室内壁,去除内部细胞,倒置晾干,置于倒置荧光显微镜下观察拍照并计数。采用Image-Pro Plus6.0对图片进行细胞计数。迁移实验中,上室不铺Matrigel胶,其余步骤与侵袭实验相同。

### 1.7 免疫荧光染色观察过表达miR-497对A549细胞EMT相关蛋白表达的影响

各组细胞转染后继续培养24 h, 1 000×g离心2 min, 弃掉上清, 以4%多聚甲醛固定细胞, Triton X-100/PBS通透, 常温下封闭, 加入中 $\alpha$ -SMA、E-cadherin一抗(1:100), 4℃过夜孵育, 次日冲洗干净, 加入荧光二抗(1:500), 常温孵育, 50%甘油封片, 置共聚焦显微镜下观察结果。

### 1.8 WB法检测过表达miR-497对A549细胞中CCNE1表达的影响

各组细胞转染48 h后, 提取细胞总蛋白, 测定含量, 取50  $\mu$ g蛋白上样进行SDS-PAGE, 之后转膜、封闭、孵育。加入CCNE1一抗(1:100), 4℃过夜孵育, 次日洗膜后加入二抗(1:500), PBS冲洗后, 加入显色剂, 中性树脂封片后, 在凝胶成像仪上观察并拍照, Image J 8.5软件分析条带的灰度值, 并以GAPDH作为内参蛋白, 计算CCNE1的相对表达量。

### 1.9 荧光素酶报告基因实验分析miR-497和CCNE1的靶向关系

在24孔板上将萤火虫荧光素酶报告载体

(0.4 mg)和含有海肾荧光素酶(0.1 mg)的pRL-TK对照载体共转染HEK293细胞, 严格按照荧光素酶测定试剂盒说明书要求操作, 室温下培养, 转染48 h后制备细胞裂解物。同时使用双荧光素酶报告基因测定系统, 转染后24 h, 检测荧光素酶活性, 荧光素酶活性值即为报告基因活性。

### 1.10 统计学处理

数据统计采用SPSS 19.0软件, 作图工具采用Graphpad5.01, 呈正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 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 转染miR-497 mimics对A549细胞中miR-497和CCNE1表达的影响

qPCR检测结果(图1)显示, 相比于正常组和对照组, 实验组细胞中miR-497的表达明显升高( $P<0.05$ ), CCNE1 mRNA的表达明显下降( $P<0.05$ ); 正常组和对照组中miR-497和CCNE1 mRNA的表达无显著差异( $P>0.05$ )。

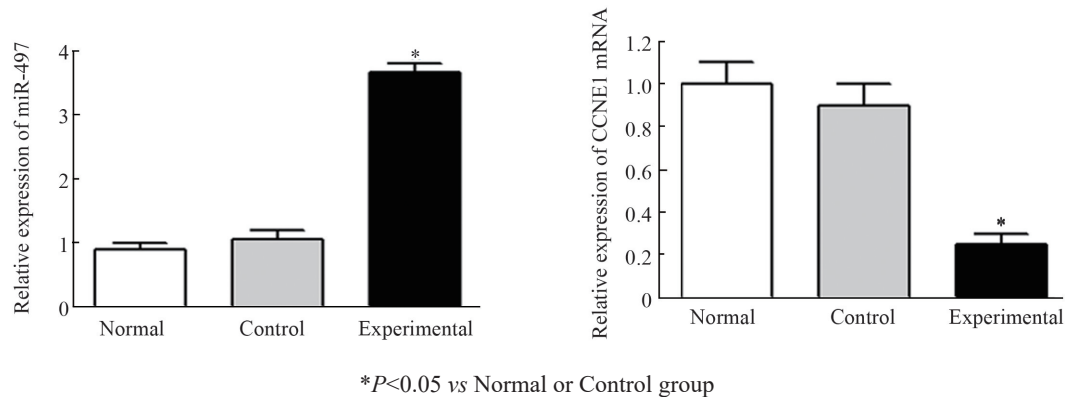


图1 转染miR-497 mimics影响A549细胞中miR-497和CCNE1 mRNA的表达

Fig.1 The effect of miR-497 mimics transfection on the mRNA expression of miR-497 and CCNE1 in A549 cells

### 2.2 miR-497过表达对A549细胞形态的影响

显微镜下观察各组细胞的形态变化如图2所示, 正常组细胞生长良好, 贴壁形态良好, 细胞数量较多, 性状规则, 呈现梭形或多边形。对照组细胞的生长与正常组细胞基本相似。实验组细胞生长正常, 贴壁细胞数量明显减少, 部分细胞皱缩明显, 胞体逐渐变圆, 遮光性减弱, 部分细胞漂浮在表面。

### 2.3 miR-497过表达促进A549细胞的凋亡

AO能进入细胞核并与染色体上DNA结合, 发出明亮的绿色荧光。EB仅能透过受损的细胞膜, 进入细胞核并与染色体上DNA结合, 发出橘黄色荧光<sup>[10]</sup>。AO/EB双染法结果如图3所示,

正常组细胞可见少量细胞出现橘色荧光; 对照组细胞核呈现较为整齐的绿色荧光, 未见凋亡; 实验组细胞呈现出团块状的较为明显的橘色荧光。说明实验组细胞出现大量的凋亡细胞, 与对照组和正常组相比, 实验组细胞的凋亡率显著升高 [(72.35±6.64)% vs (17.03±3.73)%、(16.68±2.27)%],  $F=25.672$ 、 $P=0.000$ , 对照组和正常组间无显著差异( $P>0.05$ )。

### 2.4 miR-497过表达抑制A549细胞的迁移和侵袭

Transwell小室实验结果如图4所示, 与对照组和正常组相比, 上调miR-497的表达后, 实验组细胞迁移和侵袭的数量明显减少(均 $P<0.05$ )。正常组和对照组相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。



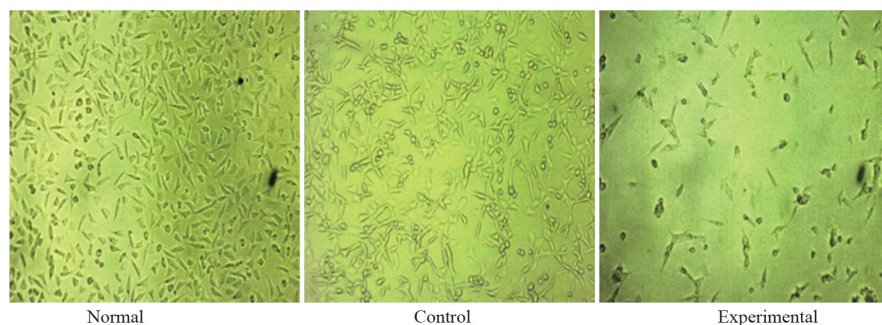


图2 miR-497过表达对A549细胞形态的影响(×100)

Fig.2 The effect of miR-497 overexpression on the morphology of A549 cells(×100)

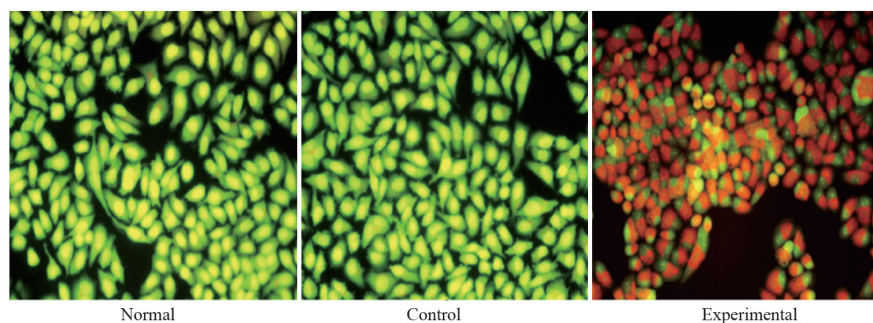
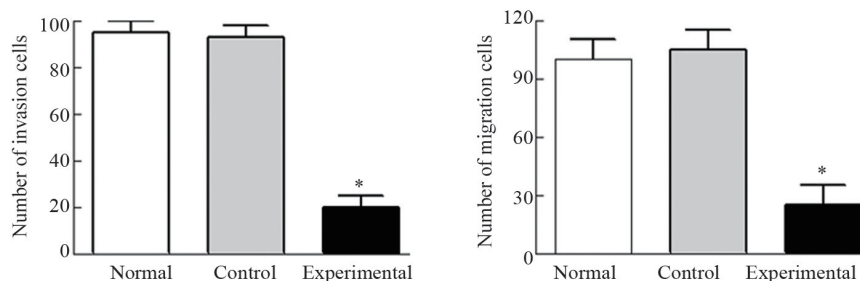
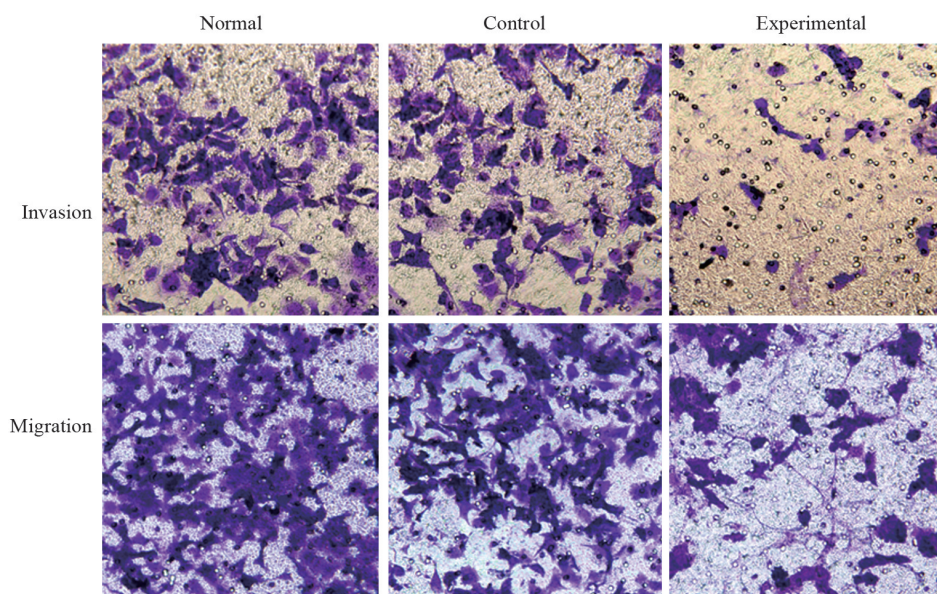


图3 miR-497过表达促进A549细胞的凋亡(×200)

Fig.3 The over-expression of miR-497 promoted the apoptosis of A549 cells (×200)



\* $P < 0.05$  vs Normal or Control group

图4 过表达miR-497抑制A549细胞的迁移和侵袭(×200)

Fig.4 The over-expression of miR-497 inhibited the migration and invasion of A549 cells(×200)

2.5 miR-497 过表达达对 A549 细胞中 EMT 相关蛋白的影响

免疫荧光检测各组细胞中  $\alpha$ -SMA、E-cadherin 的表达结果(图 5)显示,与对照组和正常组相比,上调 miR-497 的表达后,实验组细胞的间质标志物  $\alpha$ -SMA 的

绿色荧光强度明显减弱[(36.95±5.81) vs (98.69±2.36)、(97.94±2.63),  $F=88.671$ 、 $P=0.000$ ],而上皮标志物 E-cadherin 的绿色荧光强度明显增强[(388.41±10.93) vs (100.95±6.37)、(102.55±3.18),  $F=107.33$ 、 $P=0.000$ ];正常组和对照组相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

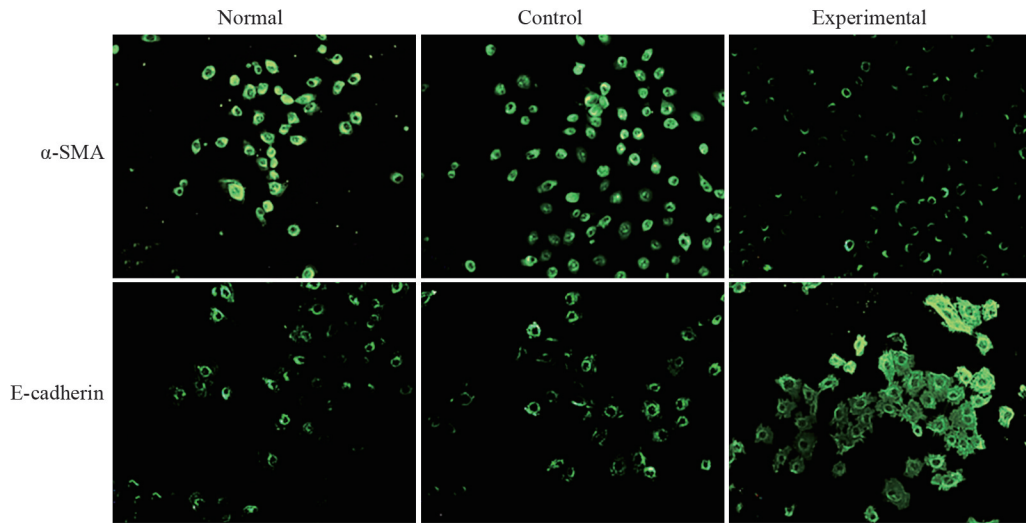


图 5 过表达 miR-497 对 A549 细胞中  $\alpha$ -SMA、E-cadherin 表达的影响( $\times 200$ )

Fig.5 The effect of miR-497 over-expression on the expression of  $\alpha$ -SMA and E-cadherin in A549 cells( $\times 200$ )

2.6 miR-497 过表达降低 A549 细胞中 CCNE1 的表达

WB 法检测各组细胞中 CCNE1 的表达结果(图 6)显示,与正常组相比,实验组细胞中 CCNE1 的表达明显下降( $P<0.05$ ),正常组和对照组相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

合位点(图 7A),即 CCNE1 是 miR-497 的候选靶基因。进一步的双荧光素酶报告基因实验结果(图 7B)显示,miR-497 明显抑制野生型 CCNE1 的荧光素酶活性( $P<0.05$ ),且突变型 CCNE1 荧光素酶活性无明显变化( $P>0.05$ ),说明 miR-497 能够靶向调控 CCNE1 的表达。

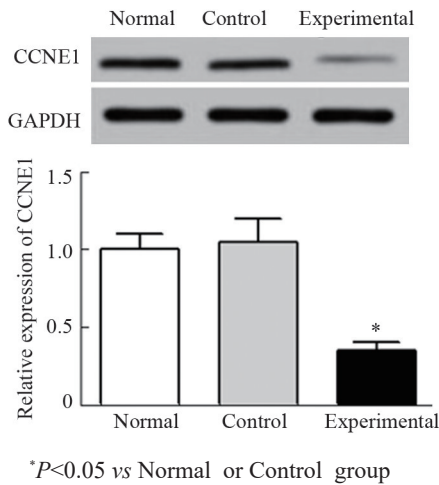


图 6 过表达 miR-497 抑制 A549 细胞中 CCNE1 的表达  
Fig.6 The over-expression of miR-497 inhibited the expression of CCNE1 in A549 cells

2.7 miR-497 能够靶向调控 CCNE1 的表达

在生物信息网(www.microrna.org/microrna/home.do)上预测到 miR-497 和 CCNE1 存在特异性结

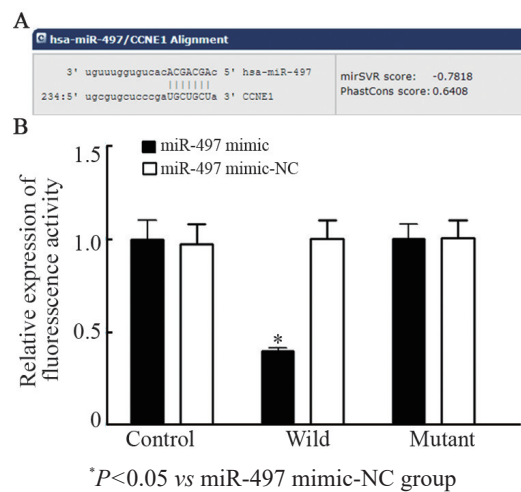


图 7 miR-497 能够靶向调控 CCNE1 的表达  
A: The database (www.microrna.org/microrna/home.do) was used to predict the interaction between miR-497 and CCNE1; B: Dual-luciferase reporter gene assay was carried out to verify the relationship between miR-497 and CCNE1

图 7 miR-497 targetedly regulated the expression of CCNE1



### 3 讨论

由于肺癌的特有的生理特性、肿瘤的易耐药、高复发率以及高转移率严重影响了治疗效果。研究<sup>[10]</sup>表明,肺癌细胞通过EMT过程获得更多的恶性转移和侵袭的机会,因此寻找肺癌EMT潜在的分子标志物,开展肺癌的个性化靶向治疗,对于肺癌的临床诊断及治疗具有重要意义。

miRNA是一种在真核细胞内广泛存在的小分子单链RNA,其在肿瘤细胞增殖、分化、侵袭以及凋亡中发挥了重要的作用<sup>[11]</sup>。miR-497在近年来的有关肿瘤的靶向治疗的研究中备受关注,其在多种肿瘤组织和正常组织中表达谱中存在着明显差异<sup>[12-14]</sup>。MA等<sup>[15]</sup>研究表明,miR-497作为抑癌基因,抑制胃癌细胞的增殖与侵袭;YAN等<sup>[16]</sup>研究报道miR-497靶向调控VEGFA的表达来抑制肝癌细胞迁移和血管生成。但尚少见miR-497在肺癌中的相关研究报道。

CCNE1是由CCNE1基因编码的具有调控蛋白合成、DNA复制等功能的调控因子。在严谨且有序的有丝分裂过程中,CCNE1主要促进细胞从G1期向S期转化,正常情况下CCNE1在细胞周期中循环地表达、降解,但是在某些因素影响下,CCNE1在细胞中未及时降解,异常表达的CCNE1可以多种蛋白因子结合,使有序的有丝分裂发生混乱,导致DNA复制异常,染色体不稳定性增加,促进细胞的恶性转变<sup>[17-18]</sup>。JU等<sup>[19]</sup>研究表明抑制CCNE1的表达能明显抑制前列腺癌细胞的增殖和迁移;LIU等<sup>[20]</sup>研究证实抑制CCNE1的表达能明显干扰卵巢癌细胞的EMT,抑制肿瘤细胞侵袭和转移能力。但是尚少见CCNE1在肺癌EMT中的作用的报道。

癌细胞的迁移和侵袭是肿瘤远处转移的先决条件,是影响肿瘤患者治疗以及预后的重要因素。而癌细胞的EMT是肿瘤发生侵袭、浸润、迁移的推动力,E-cadherin表达的缺失是EMT开始的标志, $\alpha$ -SMA表达的升高开启了癌细胞的转移<sup>[21-22]</sup>。BAI等<sup>[23]</sup>研究表明miR-497参与调控大肠癌细胞的EMT,影响癌细胞的转移与增殖。MEI等<sup>[24]</sup>研究表明过表达的CCNE1促进食管癌细胞的迁移和增殖,影响肿瘤的EMT过程。本研究发现,过表达miR-497后,A549细胞的凋亡率明显上升,迁移和侵袭能力明显减弱,间质标志物 $\alpha$ -SMA的表达明显下调,上皮标志物E-cadherin的表达明显增强,A549细胞的EMT明显受限。荧光素酶报告基因实验结果表明miR-497和CCNE1具有靶向调控关系。

综上,在肺癌细胞A549中miR-497能够靶向调控CCNE1的表达,上调miR-497的表达后能明显抑

制A549的迁移和侵袭能力,干扰肿瘤细胞EMT进程。但是如何将miR-497的这种调控作用应用于临床肺癌的靶向治疗中,还需要更深入的研究。

### [参考文献]

- [1] 陈皎皎, 胡陵静, 张国铎, 等. 四君子汤加味对肺癌化疗骨髓抑制的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 180-185. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2018020180.
- [2] 何艳玲, 涂红缨. miRNA与非小细胞肺癌诊治相关性的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(4): 110-112. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2017.04.038.
- [3] POEL D, BOYD L N, BEEKHOF R, et al. Proteomic analysis of miR-195 and miR-497 replacement reveals potential candidates that increase sensitivity to oxaliplatin in MSI/P53wt colorectal cancer cells[J]. Cells, 2019, 8(9): 1111-1134. DOI:10.3390/cells8091111.
- [4] RAOOF S, MULFORD I J, FRISCO-CABANOS H, et al. Targeting FGFR overcomes EMT-mediated resistance in EGFR mutant non-small cell lung cancer[J]. Oncogene, 2019, 38(37): 6399-6413. DOI: 10.1038/s41388-019-0887-2.
- [5] 康争春, 李勃, 蔡慧, 等. 细胞周期蛋白与胃癌相关性的研究进展[J]. 中国临床医学, 2016, 23(3): 368-373. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2016.20160229.
- [6] YANG R, XING L, ZHENG X, et al. The circRNA circAGFG1 acts as a sponge of miR-195-5p to promote triple-negative breast cancer progression through regulating CCNE1 expression[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 4. DOI:10.1186/s12943-018-0933-7.
- [7] LI J J, ZHANG Y H, WANG X C, et al. microRNA-497 overexpression decreases proliferation, migration and invasion of human retinoblastoma cells via targeting vascular endothelial growth factor A[J]. Oncol Lett, 2017, 13(6): 5021-5027. DOI: 10.3892/ol.2017.6083.
- [8] 牛俊涛, 刘曙光, 闫培, 等. miR-497靶向CDK6抑制喉鳞状细胞癌生长的实验研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 54(2): 126-132. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2019.02.006.
- [9] 张猛, 张锐, 杨季红, 等. miR-497对肝癌细胞增殖、凋亡的影响及机制[J]. 山东医药, 2017, 57(17): 42-44. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2017.17.014.
- [10] CAMERLINGO R, MICELI R, MARRA L, et al. Conditioned medium of primary lung cancer cells induces EMT in A549 lung cancer cell line by TGF- $\beta$ 1 and miRNA21 cooperation[J/OL]. PLoS One, 2019, 14(7): e0219597 [2020-03-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31344049/>. DOI:10.1371/journal.pone.0219597.
- [11] MOLLAEI H, SAFARALIZADEH R, ROSTAMI Z. MicroRNA replacement therapy in cancer[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 12369-12384. DOI:10.1002/jcp.28058.
- [12] 牛俊涛, 刘曙光, 黄永望, 等. miR-497调控PlexinA4对喉鳞状细胞癌侵袭的影响[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 53(2): 124-130. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2018.02.008.
- [13] 孔繁菲, 马剑, 丛蓉, 等. miR-497-5p在子宫内膜病变组织中的表达及临床意义[J]. 中国医科大学学报, 2018, 47(7): 593-596, 600. DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2018.07.005.
- [14] SONG J Y, WU X L, LIU F X, et al. Long non-coding RNA PVT1 promotes glycolysis and tumor progression by regulating miR-497/HK2 axis in osteosarcoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,

- 2017, 490(2): 217-224. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.06.024.
- [15] MA L, ZHOU Y, LUO X, et al. Long non-coding RNA XIST promotes cell growth and invasion through regulating miR-497/MACC1 axis in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 4125-4135. DOI:10.18632/oncotarget.13670.
- [16] YAN J J, ZHANG Y N, LIAO J Z, et al. MiR-497 suppresses angiogenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma by inhibiting VEGFA and AEG-1[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 29527-29542. DOI:10.18632/oncotarget.5012.
- [17] SAPOZNIK S, AVIEL-RONEN S, BAHAR-SHANY K, et al. CCNE1 expression in high grade serous carcinoma does not correlate with chemoresistance[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(37): 62240-62247. DOI:10.18632/oncotarget.19272.
- [18] 张海洋, 宋展, 王鑫, 等. 微小 RNA-483-3p 靶向 G1S 特异性细胞周期蛋白 E1 对结肠癌细胞增殖和迁移的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(11): 2018-2021. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.11.028.
- [19] JU L G, ZHU Y, LONG Q Y, et al. SPOP suppresses prostate cancer through regulation of CYCLIN E1 stability[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(6): 1156-1168. DOI:10.1038/s41418-018-0198-0.
- [20] LIU J, GU Z, TANG Y, et al. Tumour-suppressive microRNA-424-5p directly targets CCNE1 as potential prognostic markers in epithelial ovarian cancer[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(3): 309-318. DOI: 10.1080/15384101.2017.1407894.
- [21] 张翼, 罗雯雯, 王坤, 等. 过表达组蛋白去乙酰基酶 11 抑制基底样乳腺癌细胞的侵袭和转移[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(7): 751-759. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2019.07.01.
- [22] 安吉洋, 周丽丽, 张智峰, 等. 基质硬度通过 YAP 促进脑胶质瘤细胞上皮-间质转化和血管生成拟态形成的实验研究[J]. *中华神经外科杂志*, 2020, 36(3): 294-300. DOI: 10.3760/cma.j.cn112050-20190307-00081.
- [23] BAI J H, XU J, ZHAO J, et al. lncRNA SNHG1 cooperated with miR-497/miR-195-5p to modify epithelial-mesenchymal transition underlying colorectal cancer exacerbation[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2): 1453-1468. DOI:10.1002/jcp.29065.
- [24] 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- $\kappa$ B signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9): 1833-1845. DOI:10.3390/ijms18091833. DOI:10.3390/ijms18091833.

[收稿日期] 2020-04-22

[修回日期] 2020-11-13

[本文编辑] 黄静怡