

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.05.010

· 临床研究 ·

miRNA-490-3p 调控 Smad2/TGF- β 影响结直肠癌 SW480 细胞的奥沙利铂敏感性

李志发, 吴小兵, 罗超元, 陈戎(广州医科大学附属第三医院 胃肠外科, 广东 广州 510150)

[摘要] **目的:** 探讨 miRNA-490-3p 调控 Smad2/TGF- β 对结直肠癌奥沙利铂化疗敏感性的影响。**方法:** 选取 100 例结直肠癌(colorectal cancer, CRC)根治性手术后奥沙利铂(oxaliplatin, OXA)同种联合化疗患者作为研究对象, 根据化疗情况分为耐药组($n=40$)和非耐药组($n=60$), 用 qPCR 检测两组外周血 miRNA-490-3p 水平; 选取人 CRC 细胞株 SW480 和 CRC 奥沙利铂(OXA)耐药型细胞株 OXA-SW480 进行研究, 先用 qPCR 检测两种细胞株中 miRNA-490-3p 表达水平; 后将 miRNA-490-3p 过表达载体转染 OXA-SW480(过表达组), 并设立空载体组(空载体转染 OXA-SW480)和空白对照组(OXA-SW480 未经任何处理)。用 CCK-8 检测各组细胞增殖能力, 同时用不同浓度 OXA 处理各组细胞, 计算其半数抑制浓度(IC_{50}); 用 Annexin-V-FITC/PI 染色流式细胞术检测各组细胞凋亡率; 用 WB 检测各组 Smad2 和 TGF- β 蛋白表达水平。**结果:** 在 CRC 患者中, 耐药组外周血 miR-490-3p 水平显著低于非耐药组, 在 CRC 细胞株中, OXA-SW480 耐药株细胞 miR-490-3p 水平显著低于正常株 SW480 细胞($P<0.05$)。与空载体组和空白对照组相比, 过表达组 miR-490-3p 水平显著降低(均 $P<0.05$), 增殖抑制率显著升高(均 $P<0.05$), 细胞凋亡率显著升高(均 $P<0.01$), Smad2 蛋白水平显著降低(均 $P<0.05$), TGF- β 蛋白水平显著升高(均 $P<0.05$)。经 OXA 处理后, 过表达组的 IC_{50} 显著低于空载体组和空白对照组(均 $P<0.05$)。经 Pearson 相关法分析, miR-490-3p 与 Smad2 的表达呈负相关($r=-0.943, P<0.01$), miR-490-3p 与 TGF- β 的表达呈正相关($r=0.961, P<0.01$)。**结论:** 过表达 miRNA-490-3p 可增加 CRC SW480 细胞的 OXA 敏感性, 此作用 Smad2/TGF- β 信号通路有关。

[关键词] miRNA-490-3p; 结直肠癌; 奥沙利铂; 耐药; 机制

[中图分类号] R735.3; R730.53; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)05-0489-06

Effect of miRNA-490-3p regulating Smad2/TGF- β on sensitivity of colorectal cancer SW480 cells to oxaliplatin

LI Zhifa, WU Xiaobing, LUO Chaoyuan, CHEN Rong (Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of miRNA-490-3p regulating Smad2/TGF- β on chemo-sensitivity of colorectal cancer to oxaliplatin. **Methods:** One hundred patients with colorectal cancer (CRC) who received oxaliplatin (OXA) chemotherapy after radical operation were selected as research subjects and divided into drug resistant group ($n=40$) and non-resistant group ($n=60$) according to the chemotherapy outcome. The level of miRNA-490-3p in peripheral blood of two groups of patients was detected by qPCR. Human CRC cell line SW480 and oxaliplatin resistant CRC cell line OXA-SW480 were selected for the study. The expression level of miRNA-490-3p in the two cell lines was detected by qPCR, and then the miRNA-490-3p over-expression vector was transfected into OXA-SW480 cells (over-expression group), in the meanwhile, the empty vector group (OXA-SW480 cells transfected with empty vector) and blank control group (OXA-SW480 cells without any treatment) were set up. CCK-8 was used to detect cell proliferation ability of each group, and different concentrations of OXA were used to treat cells of each group to calculate the half inhibitory concentration (IC_{50}); Annexin-V-FITC/PI staining was used to detect cell apoptosis rate of each group; WB assay was used to detect the expression levels of Smad2 and TGF- β . **Results:** In CRC patients, the level of miR-490-3p in the peripheral blood of the drug-resistant group was significantly lower than that of the non-resistant group. In the CRC cells, the level of miR-490-3p in the

[基金项目] 广东省医学科技技术研究基金资助项目(No.A2016500); 广东省自筹经费类科技计划资助项目(No.2017ZC0250)。Project supported by the Medical Science and Technology Research Fund Project of Guangdong Province (No. A2016500), and the Self-Financing Science and Technology Project of Guangdong Province(No.2017ZC0250)

[作者简介] 李志发(1981-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究, E-mail: guoguo@163.com

[通信作者] 陈戎(CHEN Rong, corresponding author), 学士, 副主任医师, 主要从事胃肠肿瘤的研究, E-mail: kanxigua@163.com

OXA-SW480 cells was significantly lower than that of the normal SW480 cells ($P<0.05$). Compared with the empty vector group and the blank control group, the level of miR-490-3p in the over-expression group was significantly reduced (all $P<0.05$), the proliferation inhibition rate and the apoptosis rate were significantly increased (all $P<0.05$), Smad2 protein level was significantly reduced (all $P<0.05$), and TGF- β protein level was significantly increased (all $P<0.05$). After OXA treatment, the IC50 of the over-expression group was significantly lower than that of the empty vector group and the blank control group (both $P<0.05$). According to the results of Pearson correlation analysis, the expression of miR-490-3p was negatively correlated with the expression of Smad2 ($r = -0.943$, $P<0.01$), but positively correlated with the expression of TGF- β ($r=0.961$, $P<0.01$). **Conclusion:** Over-expression of miRNA-490-3p can increase the OXA sensitivity of CRC SW480 cells, which is related to the Smad2/TGF- β signaling pathway.

[Key words] miRNA-490-3p; colorectal cancer; oxaliplatin; drug resistance; mechanism

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(5): 489-494. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.05.010]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是消化系统常见恶性肿瘤之一,严重威胁人类生命安全,其发病率在全球恶性肿瘤中排名第3,病死率排名第2^[1]。2015年数据统计显示,CRC发病率和病死率在我国恶性肿瘤中位居第5,且有上升趋势,应引起重视^[2]。CRC早期症状不明显,多数患者确诊时已多处于晚期,失去最佳手术时机,联合化疗是目前主要的治疗方式^[3]。奥沙利铂(oxaliplatin, OXA)作为第3代铂类抗癌药,被美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南推荐作为转移性CRC的主要化疗药物,但近一半患者因继发性化疗耐药而导致生存率降低,严重影响预后^[4]。研究^[5-7]发现,miRNA-490-3p在CRC中低表达,并通过细胞实验验证了其对癌细胞增殖和侵袭能力的抑制作用。关于miRNA-490-3p与CRC化疗耐药的研究较少,但有研究^[8]发现,Smad2/TGF- β 与CRC的OXA耐药密切相关。本课题组前期研究发现CRC OXA耐药患者血清miRNA-490-3p明显低于非耐药者,但关于miRNA-490-3p是否与Smad2/TGF- β 相

关,若相关存在何种关联尚不清楚。本研究拟探讨miRNA-490-3p对CRC细胞化疗敏感性的影响,并分析其与Smad2/TGF- β 的关系,为CRC-OXA耐药患者治疗提供新的思路和实验依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2017年1月至2019年6月于广州医科大学附属第三医院收治的100例CRC患者作为研究对象,纳入标准:(1)所有患者均行根治性化疗术,术后病理结果确认为CRC;(2)术后给予以OXA为基础的同种联合化疗;(3)患者及家属知情,并签署同意书。排除标准:(1)既往使用过OXA或OXA同种化疗药物;(2)存在OXA以外其它化疗药物耐药。所有患者均接受4~6个疗程治疗,疗程结束后根据患者耐药情况分为耐药组和非耐药组[参考实体瘤评定标准(RECIST)1.0将疾病进展(progressive disease, PD)和疾病稳定(stable disease, SD)认定为耐药],分别有40和60例。耐药组和非耐药组的临床参数见表1。

表1 CRC患者临床病理参数与耐药/非耐药之间的关系

Tab.1 Relationship between clinicopathological parameters and drug resistance/non-resistance in CRC patients

Clinicopathological parameter	Drug-resistance	Non-drug-resistance	P
Gender			0.549
Male	38	25	
Female	22	15	
Age (t/a)			0.582
>65	27	18	
≤65	33	22	
T grade			0.001
T1-T2	11	20	
T3-T4	49	20	
N grade			0.371
N0	41	31	
N1-N2	19	9	
M grade			0.089
M0	36	36	
M1	14	4	
Clinical grade			0.148
I - II	35	29	
III-IV	25	11	

1.2 主要材料

人 CRC 细胞 SW480 和 OXA 耐药型细胞 OXA-SW480 均购自上海通蔚生物科技有限公司,用含双抗和 10%FBS 的 RPMI 1640 培养基于 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度培养箱中培养,每 2~3 天用 0.25% 胰酶消化传代 1 次。RPMI 1640 培养基、10% 胎牛血清、青-链霉素和 0.25% 胰酶均购自美国 Sigma 公司,OXA(注射剂,规格:50 mg,批号:2018101508)购自江苏恒瑞医药股份有限公司,TRIzol 试剂盒、RNA 逆转录试剂盒和 SYBR Green PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司;Lipofectamine™ 2000 购自美国 Gibco 公司;miR-490-3p 过表达载体 pcDNA3.1-miR-490-3p-mimic 和空载体 pcDNA3.1 均由上海吉凯基因有限公司提供;CCK-8 试剂盒和购自上海碧云天生物技术有限公司;细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司;蛋白裂解液 RIPA 和 BCA 蛋白定量试剂盒均购自 Thermo 公司;兔抗人 Smad2、TGF- β 和 GAPDH 蛋白一抗和 HRP 标记的二抗均购自美国 Abcam 公司。

1.3 实验分组

参照 Lipofectamine™ 2000 说明书,将 pcDNA3.1-miR-490-3p-mimic 和 pcDNA3.1 分别瞬时转染 OXA-SW480 细胞株建立过表达组和空载体组,同时设置空白对照组(OXA-SW480 细胞,未经任何处理);转染完成后继续常规培养。

1.4 qPCR 检测 miR-490-3p-mimic 在 CRC 患者外周血和 CRC 细胞中的表达

样本收集:(1)抽取化疗后的耐药组和非耐药组患者空腹外周血 5 ml,静置 10 min,2 414.88×g 离心 10 min,留取上清并保存于 -80 °C 冰箱中,待所有标本集齐后用 qPCR 检测各组 miR-490-3p 水平;(2)收集 SW480 和 OXA-SW480 两种细胞株制备单细胞悬液,调整其密度至 1×10⁵ 个/ml,用 qPCR 检测 miR-490-3p 水平;(3)转染 48 h 后,收集过表达组、空载体组和空白对照组对数生长期细胞,制备单细胞悬液,调整其密度至 1×10⁵ 个/ml,用 qPCR 检测转染前后细胞株 miR-490-3p 水平,判断转染效果。

qPCR 检测:(1)参照 TRIzol 试剂盒说明书提取总 RNA;(2)参照 RNA 逆转录试剂盒制备 cDNA,反应条件为 30 °C 7 min,42 °C 30 min,90 °C 5 min,5 °C 5 min;(3)收集 cDNA 进行 qPCR 检测,反应体系为 SYBR Green1 染料 10 μ l+上下游引物各 0.5 μ l+dNTP 0.5 μ l+Taq 酶 1 μ l+cDNA 5 μ l+ddH₂O 32.5 μ l,反应条件为 95 °C 预变性 8 min,95 °C 变性 10 s,60 °C 退火延伸 30 s(共 40 个循环);其中 U6 为内参基因,用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 miR-490-3p 的相对表达量,并将其转换为 Log₂ 进行计算。其中 U6 基因的上、下游引物分别为 5'-

CTCGCTTCGGCAGCACA-3'和 5'-AACGCTTCACG AATTTGCGT-3';miR-490-3p 的上、下游引物分别为 5'-GCAAACAACCAUUCGGCUGUC-3'和 5'-CGCAGG TCCGGAGTAGGT-3'。

1.5 CCK-8 法检测过表达 miR-490-3p 对 OXA-SW480 细胞增殖和 OXA 敏感性的影响

转染后 48 h,取对数生长期细胞制备单细胞悬液,调整细胞浓度为 1×10⁵ 个/ml,以每孔 100 μ l 的密度接种于 96 孔板上,每组细胞设 3 个复孔,于 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度培养箱继续培养,待细胞汇合度达 85% 左右时用不同浓度 OXA(0、5、10、20、40 和 80 μ g/ml)进行处理,继续培养,参照 CCK-8 试剂盒说明书,分别于第 1、3、5 d 向每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液,孵育 3 h,酶标仪测定 450 nm 处的光密度(D)值,计算细胞增殖抑制率和半数抑制浓度(IC₅₀)。

1.6 Annexin V-FITC/PI 染色流式细胞术检测过表达 miR-490-3p 对 OXA-SW480 细胞凋亡的影响

收集各组细胞,调整细胞密度为 1×10⁵/ml,取 100 μ l 细胞悬液,参考细胞凋亡检测试剂盒说明书,加 Annexin V-FITC 孵育 15 min,避光条件下加入 PI 复染 30 min 后,上流式细胞仪进行检测,分析细胞凋亡情况。其中正常细胞为 Annexin V 和 PI 双阴性,早期凋亡细胞为 Annexin V 阳性,晚期凋亡细胞为 Annexin V 和 PI 双阳性。细胞的凋亡率=(早期凋亡细胞+晚期凋亡细胞)/细胞总数×100%。

1.7 WB 法检测过表达 miR-490-3p 对 OXA-SW480 细胞内相关蛋白表达的影响

转染后 48 h,收集各组细胞,用 RIPA 进行裂解,离心提取总蛋白,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定各组细胞中相关蛋白水平。取 20~30 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE,并转至 PVDF 膜,用 10% 脱脂牛奶封闭 1 h,分别加入 Smad2(1:1 000)和 TGF- β (1:1 000)一抗 4 °C 孵育过夜,PBS 洗涤多余抗体,加入 HRP 标记的二抗,室温孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次,加 ECL 显影,用 Bio-Rad 凝胶成像仪采集图像,以 GAPDH 为内参,以目的条带与内参条带光密度值的比值为蛋白相对表达量进行定量分析。

1.8 统计学处理

用 SPSS20.0 软件进行分析,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较用独立样本 *t* 检验,三组间比较用单因素方差分析(组间比较用 LSD-*t* 检验),组间不同时间点比较用单因素重复测量方差分析;用 Pearson 相关法分析 miR-490-3p 与 Smad2 和 TGF- β 表达水平的关系;以 *P*<0.05 或 *P*<0.01 表示差异有统计学意义;用 GraphPad prism7.0 对相关数据进行图片绘制。

2 结果

2.1 miR-490-3p 在 CRC 耐药患者外周血和细胞中呈低表达

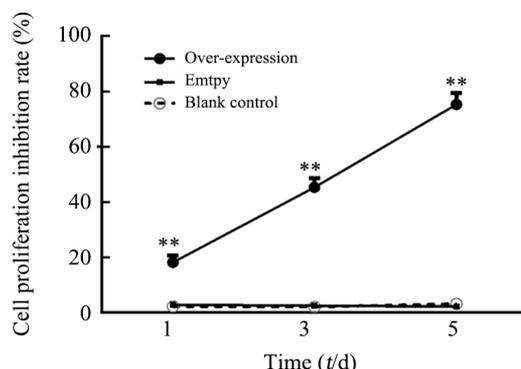
qPCR 检测结果显示,在 CRC 患者中,耐药组外周血 miR-490-3p 水平显著低于非耐药组 $[(0.25 \pm 0.04) \text{ vs } (1.02 \pm 0.21), t=22.878, P=0.000]$;在 CRC 细胞株中, OXA-SW480 耐药细胞中 miR-490-3p 表达水平明显低于野生型 SW480 细胞 $[(0.32 \pm 0.07) \text{ vs } (0.96 \pm 0.18), t=33.138, P=0.000]$

2.2 过表达 miR-490-3p 抑制 OXA-SW480 细胞的增殖并提高其对 OXA 的敏感性

qPCR 检测结果显示,过表达组 OXA-SW480 细胞中 miR-490-3p 的表达水平显著高于空载组和空白对照组 $[(1.13 \pm 0.27) \text{ vs } (0.29 \pm 0.05), (0.31 \pm 0.08), F=42.491, P=0.000]$,空载组和空白对照组间无显著差异 ($P>0.05$),提示成功构建过表达 miR-490-3p 的 OXA-SW480 细胞。

CCK-8 法检测结果(图 1)显示,从第 1 天起,过表达组细胞增殖抑制率逐渐升高,显著高于空载组和空白对照组(均 $P<0.01$),但空载组和空白对照组的增殖抑制率变化不明显,且两组间差异无统计学意义 ($P>0.05$);OXA 对过表达组 OXA-SW480 细胞的 IC_{50} 显著低于空载组和空白对照组 $[(17.35 \pm 2.11) \text{ vs } (42.64 \pm 3.75), (43.08 \pm 3.56) \mu\text{g/ml}, P<0.01,$

$F=247.40]$,空载组与空白对照组间无显著差异 ($P>0.05$)。



** $P<0.01$ vs the empty group or the blank control group

图 1 过表达 miR-490-3p 对 OXA-SW480 细胞增殖抑制率的影响

Fig.1 The effect of over-expression of miR-490-3p on the proliferation inhibition rate of OXA-SW480 cells

2.3 过表达 miR-490-3p 促进 OXA-SW480 细胞的凋亡

流式细胞术检测结果(图 2)显示,过表达组 OXA-SW480 细胞的凋亡率显著高于空载组和空白对照组 $[(72.18 \pm 5.51)\% \text{ vs } (41.25 \pm 3.21)\% \text{ 和 } (40.88 \pm 3.05)\%, \text{ 均 } P<0.01, t=88.080, 88.027]$,空载组和空白对照组间差异无统计学意义 ($P=0.135, t=1.496$)。

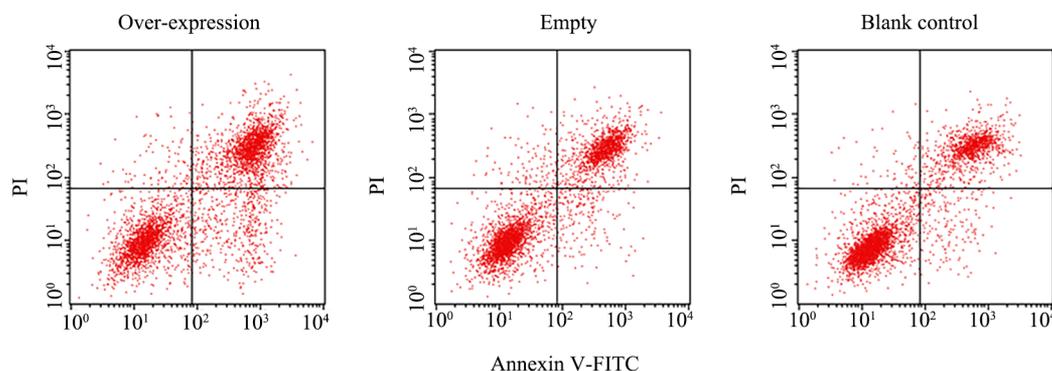


图 2 过表达 miR-490-3p 促进 OXA-SW480 细胞的凋亡

Fig.2 Over-expression of miR-490-3p promoted the apoptosis of OXA-SW480 cells

2.4 过表达 miR-490-3p 对 OXA-SW480 细胞 Smad2 和 TGF-β 蛋白表达的影响

WB 法检测结果(图 3)显示,与空载组和空白对照组相比,过表达组 OXA-SW480 细胞中 Smad2 蛋白水平显著降低 $(0.36 \pm 0.05 \text{ vs } 0.98 \pm 0.14, 1.02 \pm 0.17, P<0.05, F=32.50)$,TGF-β 蛋白水平显著升高 $(1.04 \pm 0.21 \text{ vs } 0.28 \pm 0.04, 0.31 \pm 0.05, P<0.05, F=30.28)$,空载组和空白对照组 Smad2 和 TGF-β 蛋白水平无显著差

异 ($P>0.05$)。

2.5 miR-490-3p 与 Smad2、TGF-β 表达的关系

miR-490-3p、Smad2 和 TGF-β 蛋白表达水平如图 4A 所示,经 Pearson 相关法分析结果(图 4B)显示,miR-490-3p 与 Smad2 呈明显负相关 ($r=-0.943, P<0.01$),miR-490-3p 与 TGF-β 呈明显正相关 ($r=0.961, P<0.01$)。

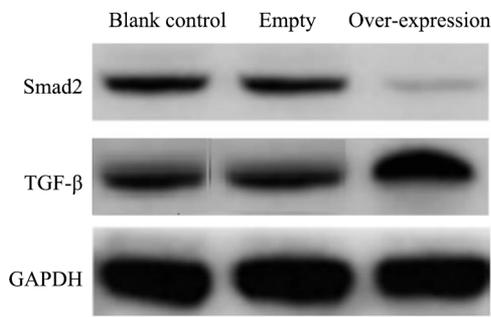


图3 过表达 miR-490-3p 对 OXA-SW480 细胞 Smad2 和 TGF-β 蛋白表达的影响

Fig.3 The effect of over-expression of miR-490-3p on the protein expressions of Smad2 and TGF-β in OXA-SW480 cells

3 讨论

大部分 CRC 患者确诊时已处于疾病中晚期, 5 年生存率不超过 25%。化疗是 CRC 治疗中不可或缺的部分^[9-10], 研究^[11-12]发现, OXA 联合治疗可明显提高 CRC 临床疗效, 如 OXA 联合 5-FU 比单纯 5-FU 治疗, 其客观缓解率由 15% 升高至 50%。2017 年, NCCN 指南将含有 OXA 的氟尿嘧啶联合奥沙利铂方案 (FOLFOX) 和卡培他滨联合奥沙利铂方案 (CapeOX) 作为 CRC 一线化疗方案。但肿瘤固有性或获得性耐药仍可对抗 OXA 的杀伤作用, 在一定程度上影响 CRC 患者的预后^[13], 因此探讨 OXA 耐药相关机制以寻找有效针对性逆转耐药策略十分重要。

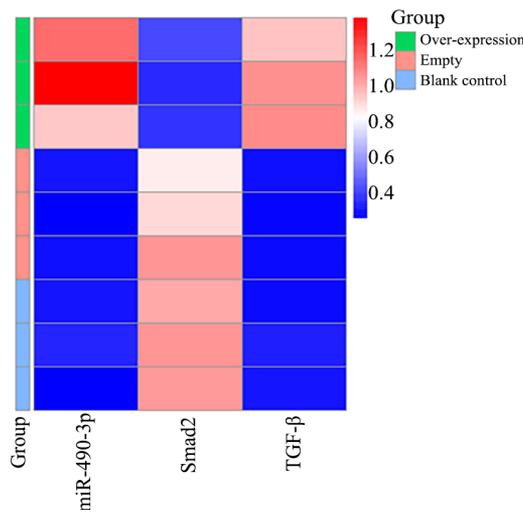


图4 miR-490-3p 与 Smad2、TGF-β 表达的关系

Fig.4 The relationship between the expression of Smad2, TGF-β and miR-490-3p

研究^[14-15]发现, miRNA 主要通过降解或抑制靶基因表达发挥其生物学功能, 与细胞生长、凋亡、分化等过程密切相关, 在肿瘤发生发展中占有重要地位。miRNA-490-3p 基因位于第 17 号染色体, 在哺乳动物中高度保守, 提示其对物种进化十分重要, 但具体作用目前尚不十分明确^[16]。有学者发现, miRNA-490-3p 在卵巢癌、子宫内膜癌和胶质瘤等恶性肿瘤中明显低表达, 过表达该基因不仅可抑制癌细胞增殖、侵袭和转移, 同时还可促进癌细胞凋亡, 以上均提示, miRNA-490-3p 是重要抑癌基因之一^[17-18]。陈戎等^[19]研究发现, CRC 组织中 miRNA-490-3p 呈低表达, 且与淋巴结转移相关; 同时通过细胞实验发现 miRNA-490-3p 可能通过对 Smad2 和 TGF-β 进行转录后调控, 影响 CRC 细胞的侵袭和迁移能力。本课题组在前期对 CRC-OXA 耐药的研究中发现, 耐药患者血清 miRNA-490-3p 明显低于非耐药者, 提示 miRNA-490-3p

与 CRC-OXA 耐药相关, 但具体机制尚不明确。

基于前述研究, 本研究选取 100 例接受了 OXA 治疗的 CRC 患者作为研究对象, 通过扩大样本量的方式验证前期工作, 发现 CRC 患者中耐药组外周血 miRNA-490-3p 明显低于非耐药者, 提示 miRNA-490-3p 对 CRC 化疗有一定研究价值。为此, 本研究选取人 SW480 和 OXA-SW480 细胞株进行研究, 发现 OXA-SW480 细胞株 miRNA-490-3p 水平亦明显低于 SW480 细胞株。后续本研究发现, 过表达 miRNA-490-3p 可增强 OXA 杀伤癌细胞的能力, 促进 OXA-SW480 细胞凋亡, 且过表达组 OXA 杀伤 OXA-SW480 细胞的 IC₅₀ 明显低于空载组和空白对照组 (后两组比较无明显差异), 提示过表达 miRNA-490-3p 后可有效降低 OXA 使用量, 从而降低因 OXA 所致的不良反应。TGF-β 在正常细胞和组织中是一种抑癌因子, 随着肿瘤进展, 依赖 Smads 的 TGF-β 相关信号

通路出现异常,其对肿瘤的抑制功能也随之发生改变^[20-21]。本研究结果显示,miRNA-490-3p对CRC OXA药敏的影响Smad2和TGF- β 相关,miR-490-3p可能通过负调控Smad2激活TGF- β 相关信号通路,从而影响OXA的药物敏感性。

综上所述,过表达miRNA-490-3p可增加CRC SW480细胞的OXA化疗敏感性,其机制可能与Smad2/TGF- β 相关信号通路有关,后续可通过动物实验进行验证,逐步完成理论到实践的转化。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21387.
- [2] 国家卫生计生委医政医管局,中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017年版)[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2018, 21(1): 92-106. DOI:10.3760/j.issn.1671-0274.2018.01.022.
- [3] 韦柳霞, 张玉梅. 晚期结直肠癌的内科治疗进展[J]. *山东医药*, 2019, 59(1): 86-90. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2019.01.026.
- [4] 唐瑶, 吴永忠, 陈晓品, 等. 替吉奥联合奥沙利铂一线治疗转移性结直肠癌有效性与安全性的Meta分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2018, 23(1): 52-60. DOI:10.3969/j.issn.1009-0460.2018.01.010.
- [5] ZAMANI M, HOSSEINI S V, MOKARRAM P. Epigenetic biomarkers in colorectal cancer: premises and prospects[J]. *Biomarkers*, 2018, 23(2): 105-114. DOI:10.1080/1354750x.2016.1252961.
- [6] SUN Z Q, SHI K, YANG S X, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 147[2020-04-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6182840/>. DOI:10.1186/s12943-018-0897-7.
- [7] 程成. microRNA-490-3p在结肠癌组织中的表达与临床意义及其对结肠癌细胞生物学行为的影响[D]. 2017. DOI: 10.7666/d. D01201315.
- [8] 姚磊, 林雨佳, 高爽, 等. miR-34a通过调控TGF- β /Smad4信号通路激活自噬而降低结肠癌细胞对奥沙利铂的耐药性[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2018, 25(6): 680-688. DOI: 10.7507/1007-9424.201708098.
- [9] 汪晓东, 李立. 真实场景与大数据下的整体微创理念,大幅提高结直肠癌远期生存率[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2019, 26(1): 92-95. DOI:10.7507/1007-9424.201812108.
- [10] DEKKER E, REX D K. Advances in CRC prevention: screening and surveillance[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(7): 1970-1984. DOI:10.1053/j.gastro.2018.01.069.
- [11] 张逸羿, 卢星榕. 结直肠癌奥沙利铂化疗耐药机制的研究进展[J]. *生理科学进展*, 2018, 49(2): 144-148. DOI: 10.3969/j.issn.0559-7765.2018.02.015.
- [12] 陈佳琦, 董彩霞, 袁瑛. 2018年结直肠癌治疗研究进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2019, 34(1): 1-6. DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2019.01.001.
- [13] DAGOGO-JACK I, SHAW A T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2): 81-94. DOI:10.1038/nrclinonc.2017.166.
- [14] CHEN L, HEIKKINEN L, WANG C L, et al. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools[J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(5): 1836-1852 DOI:10.1093/bib/bby054.
- [15] KULKARNI B, KIRAVE P, GONDALIYA P, et al. Exosomal miRNA in chemoresistance, immune evasion, metastasis and progression of cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24(10): 2058-2067. DOI:10.1016/j.drudis.2019.06.010.
- [16] YU H, SUN J Y, JIANG S C, et al. MicroRNA-490-3p regulates cell proliferation and apoptosis in gastric cancer via direct targeting of AKT1[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(2): 1330-1336. DOI:10.3892/etm.2018.7042.
- [17] TIAN J, XU Y Y, LI L, et al. MiR-490-3p sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin by directly targeting ABCC2[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 1127-1138.
- [18] 田伟, 张娟, 王利娜, 等. microRNA-490-3p抑制胶质瘤增殖及凋亡的作用研究[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2016, 24(12): 762-766.
- [19] 陈戎, 黎淑玲, 祝梓原, 等. microRNA-490-3p负调控Smad2对人结肠癌细胞SW620侵袭迁移的影响[J]. *广东医学*, 2018, 39(S2): 5-9. DOI:10.13820/j.cnki.gdyx.2018.s2.003.
- [20] MIYAZAWA K, MIYAZONO K. Regulation of TGF- β family signaling by inhibitory smads[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(3): a022095. DOI:10.1101/cshperspect.a022095.
- [21] ZHU L, YU C L, ZHENG Y W. NSD2 inhibition suppresses metastasis in cervical cancer by promoting TGF- β /TGF- β RI/SMADs signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519(3): 489-496. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.020.

[收稿日期] 2020-11-01

[修回日期] 2021-04-20

[本文编辑] 黄静怡