

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.003

· 基础研究 ·

miR-1207-5p 通过靶向 LIMD1 调控乳腺癌 T47D 干细胞的增殖、迁移和侵袭

杨洁泉, 崔猛胜, 董文文(长治医学院附属和平医院 乳腺科, 山西 长治 046000)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-1207-5p 对乳腺癌 T47D 干细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其可能的机制。**方法:** 以 IGF-1、EGF、bFGF 诱导、富集乳腺癌 T47D 干细胞并进行成球培养, 流式细胞术分离干细胞, 采用 WB 法检测干细胞分子标志物。采用 qPCR 检测干细胞中 miR-1207-5p 的表达水平, 双荧光素酶报告基因实验分析 miR-1207-5p 和 LIMD1 的靶向关系。CCK-8、Transwell 和划痕实验检测 T47D 干细胞的增殖、迁移和侵袭能力。WB 法检测干细胞中 LIMD1 蛋白的表达水平。**结果:** 分离的 T47D 干细胞能够形成细胞球, 细胞球体积随培养天数的增加而增加; 干细胞分子标志物 ALDH1、ESA 和 OCT4 的表达水平较亲本 T47D 细胞显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), miR-1207-5p 在干细胞中高表达 ($P < 0.01$)。过表达 miR-1207-5p 显著促进 T47D 干细胞的增殖、迁移和侵袭 (均 $P < 0.01$), 敲降 miR-1207-5p 显著抑制 T47D 干细胞的增殖、迁移和侵袭 (均 $P < 0.01$)。miR-1207-5p 靶向下调 LIMD1 的表达 ($P < 0.01$), miR-1207-5p 通过靶向下调 LIMD1 促进乳腺癌 T47D 干细胞的增殖、迁移和侵袭能力 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** miR-1207-5p 通过靶向下调 LIMD1 的表达来促进乳腺癌 T47D 干细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

[关键词] 乳腺癌; T47D 细胞; 肿瘤干细胞; miR-1207-5p; LIMD1; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737.9; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)06-0567-07

miR-1207-5p regulates the proliferation, migration and invasion of breast cancer T47D stem cells by targeting LIMD1

YANG Jiequan, CUI Mengsheng, DONG Wenwen (Department of Mammary Gland, Heping Hospital Affiliated to Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of miR-1207-5p on the proliferation, migration and invasion of breast cancer T47D stem cells and its possible mechanism. **Methods:** Breast cancer T47D stem cells were induced and enriched with IGF-1, EGF and bFGF and cultured into spheroids. The stem cells were separated by Flow cytometry, and molecular markers of stem cells were detected by WB. qPCR was used to detect the expression level of miR-1207-5p in stem cells, and Dual luciferase reporter gene assay was used to analyze the targeting relationship between miR-1207-5p and LIMD1. CCK-8, Transwell and Cell scratch test were used to detect the proliferation, migration and invasion ability of T47D stem cells. WB was used to detect the expression level of LIMD1 protein in stem cells. **Results:** The isolated stem cells could form cell spheres, and the volume of the cell spheres increased with the increase of culture days. The expressions of stem cell molecular markers ALDH1, ESA and OCT4 were significantly higher than those of the parental T47D cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and miR-1207-5p was highly expressed in stem cells ($P < 0.01$). Overexpression of miR-1207-5p significantly promoted the proliferation, migration and invasion of T47D stem cells (all $P < 0.01$), and knockdown of miR-1207-5p significantly inhibited the proliferation, migration and invasion of T47D stem cell (all $P < 0.01$). miR-1207-5p targetedly downregulated the expression of LIMD1 ($P < 0.01$), by which it promoted the proliferation, migration and invasion of breast cancer T47D stem cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** miR-1207-5p promotes the proliferation, migration and invasion of breast cancer T47D stem cells by targeted downregulation of the expression of LIMD1.

[Key words] breast cancer; T47D cell; cancer stem cell (CSC); miR-1207-5p; LIMD1; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(6): 567-573. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.003]

[基金项目] 陈孝平科技发展基金项目(No. CXPJH11900002-038)。Project supported by the Chen Xiaoping Science and Technology Development Foundation Project (No. CXPJH11900002-038)

[作者简介] 杨洁泉(1973—), 男, 硕士, 讲师, 主要从事乳腺癌的综合治疗研究, E-mail: 50989949@qq.com

[通信作者] 崔猛胜 (CUI Mengsheng, corresponding author), 主任医师, 硕士生导师, 主要从事乳腺癌复发转移机制的研究, E-mail: 352143694@qq.com

乳腺癌是全世界女性中最常见的癌症, 并已成为女性癌症相关死亡的第二大主要原因^[1-3]。尽管目前在乳腺癌的防治管理方面有所改善, 但每年仍然有约 140 万女性被诊断为乳腺癌^[2]。因此, 探究乳腺癌的早期诊断和及时治疗至关重要。近年来, miRNA 已成为肿瘤分子治疗中最新的研究热点, 可通过下调其靶点参与肿瘤进展的生物学步骤, 如癌症的起始、增殖、转移、上皮-间充质转化、干细胞维持、治疗反应和耐药性等^[4], 且已经证实 miRNA 与乳腺癌生物进程密切相关^[5-6]。随着分子生物学技术的进步以及癌干细胞学说的提出, 关于 miRNA 在乳腺癌干细胞中表达的研究逐渐深入。现有研究^[7]表明, miR-1207-5p 在乳腺癌组织及细胞中异常高表达, 促进乳腺癌的发生发展。但是关于 miR-1207-5p 在乳腺癌干细胞中表达高低对乳腺癌干细胞恶性生物学行为影响的研究较少。因此, 本研究将进一步探究 miR-1207-5p 在乳腺癌干细胞中的表达水平及其对乳腺癌干细胞恶性生物学行为的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞系及试剂

人乳腺癌 T47D 细胞(货号: CBP60397)购于南京科佰生物科技有限公司。

胰蛋白酶、胎牛血清、不完全培养基购于 Sigma 公司, 青霉素、链霉素购于上海艾研生物科技有限公司, CCK-8 试剂盒、β-actin 抗体(1A4, 500 μg/ml)购于上海碧云天生物公司, ALDH1(BYK-10162R, 1 mg/ml)、OCT4(EPR17929, 0.8 mg/ml)、FHIT(EPR10931, 0.8 mg/ml)、LIMD1(ab225714, 0.2 mg/ml)、FRY(ab150876, 0.8 mg/ml)购买于英国 Abcam 公司, ESA(HD-0593R, 500 μg/ml)购于北京恒大百盛公司, 实时定量 PCR(qPCR)试剂盒购于南京诺唯赞公司, 蛋白质提取试剂盒购于南京凯基生物公司, BCA 蛋白测定试剂盒购于 Thermo 公司, Transwell 小室购买于 Millipore 公司, Lipofectamine™ 2000 Reagent、TRIzol 试剂购于 Invitrogen 公司, PrimeScript™ RT reagent Kit、miRNA PrimeScript™ RT reagent Kit 购于 TaKaRa 公司, 双荧光素酶报告基因试剂盒购于北京百奥莱博公司。

1.2 乳腺癌细胞培养

T47D 细胞培养在含 10% 胎牛血清、双抗(0.08 U/L 青霉素和 0.08 g/L 链霉素)的不完全培养基中, 在 37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中培养, 每 2 d 换液 1 次, 待细胞汇合度接近 80% 时用 0.25% 的胰蛋白酶溶液进行消化、传代。取对数生长期的细胞进行后续实验。

1.3 乳腺癌干细胞的分离及富集

将收集的 T47D 细胞以 4×10⁴ 个/孔接种到低黏附

6 孔板, 培养于无血清培养基中, 加入 20 ng/ml IGF-1、20 ng/ml EGF 和 10 ng/ml bFGF, 2~3 d 添加一次生长因子, 并进行半量换液, 连续培养 10 d, 以富集 T47D 干细胞。观察细胞球的形成, 并在显微镜下获取图像^[1]。使用流式细胞仪分离 T47D 干细胞。

1.4 细胞转染

取对数生长期的 T47D 干细胞, 配置成细胞悬液, 以 1 500 个/孔接种于 96 孔板, 待干细胞长至约 70% 汇合度时, 用 Lipofectamine™ 2000 分别转染 miR-1207-5p inhibitor、miR-1207-5p mimic、si-LIMD1、pc-LIMD1 及阴性对照物(miR-NC、si-NC 和 pc-NC), 每组设 3 个重复。转染成分分别为 250 μl Opti-DMEM+50 nmol/L mimic/inhibitor/NC、250 μl Opti-DMEM+5 μl Lipofectamine™ 2000。将上述两者轻摇混匀后室温静置 20 min, 缓慢加入 96 孔板中。收集转染后的干细胞进行后续试验。

1.5 qPCR 法检测乳腺癌干细胞中相关基因 mRNA 的表达

使用 TRIzol 法提取转染前后干细胞中总 RNA, 分别使用 PrimeScript™ RT reagent Kit 和 miRNA PrimeScript™ RT reagent Kit 进行逆转录。qPCR 反应体系为 10 μl, 包括 SYBR Green Real Time PCR Master Mix 5 μl、cDNA 模板 30 ng、10 pmol/L 上下游引物各 0.4 μl(引物序列见表 1), RNase Free dH₂O 补至 10 μl。qPCR 扩增条件如下: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 72 °C 复性及延伸 30 s, 共进行 45 个循环以 U6 snRNA 作为内参。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因相对表达量。每个时段 3 个样品, 每个样品重复实验 3 次。

表 1 qPCR 引物序列
Tab.1 Primer sequences for qPCR

Target	Sequence
U6	F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3' R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'
miR-1204	F: 5'-GUGGCCUGGUCUCCAUUACC-3' R: 5'-CTCTACAGCTATATTGCCAGCCAC-3'
miR-1206	F: 5'-CAGTGTTTCATGTAGATGTTAAGCTCTTG-3' R: 5'-GCATAATTTGGCAGCGTTCA-3'
miR-1207-5p	F: 5'-GCTGGCTGGGTCTGGTAGTG-3' R: 5'-GGTCAGCTAACAGAAGTGCTGTCTT-3'
miR-1207-3p	F: 5'-TCAGCTGGCCCTCATTTTC-3' R: 5'-GAAATGAGGGCCAGCTGA-3'
miR-1208	F: 5'-TGGTGGGCAACAATGAATCA-3' R: 5'-CCGTCTCCGCCTGTCTGA-3'

1.6 WB 实验检测干细胞中相关蛋白的表达

使用总蛋白提取试剂盒提取转染前后干细胞中的总蛋白, 总蛋白上样量 20 μg, 依次进行电泳、转膜、

封闭,加入一抗(ALDH1, 1:1 000; OCT4, 1:1 000; FHIT, 1:1 000; LIMD1, 1:1 000; FRY, 1:1 000; ESA, 1:1 000), 4 °C 孵育过夜; 次日加入 HRP 标记的二抗(1:5 000), 室温孵育 2 h, 使用 ECL 显色, 同时以 β -actin 为内参。显影后拍照并使用 ImageJ 测定条带灰度值。

1.7 CCK-8 实验检测干细胞的增殖能力

收集转染前后处于对数生长期的 T47D 干细胞, 用胰酶消化, 制备成细胞悬液, 计数后以 1 000 个/孔干细胞接种于 96 孔板, 置于 37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中预培养。向每孔中加含 10% CCK-8 的完全培养基溶液 100 μ l, 放置在 37 °C、5%CO₂ 培养箱内孵育 90 min。用酶标仪测定 $\lambda=450$ nm 处的光密度(D)值。

1.8 Transwell 实验检测干细胞的侵袭能力

将转染 24 h 后的 T47D 干细胞用胰酶消化, 重悬于无血清培养液中, 接种到预覆盖 Matrigel 的 Transwell 小室上层, 底部为常规培养基, 24 h 后取出小室, 甲醛和乙酸的混合液固定 T47D 干细胞 15 min, PBS 冲洗 3 次, 用棉签擦去未穿过小室的细胞, 结晶紫染色后使用 PBS 冲洗 3 次。随机选择视野进行拍照, 计算发生侵袭的细胞数目。

1.9 划痕实验检测干细胞的迁移能力

将对数生长期的转染前后的 T47D 干细胞收集后制备成细胞悬液, 接种于包被基质胶的培养皿中, 培养至形成单细胞层。在底部划痕(划痕初始宽度为 20 mm)后在含 10% 胎牛血清的培养液中培养 24 h, 以显微镜观察划痕初始及培养 24 h 后 T47D 干细胞向划痕区域迁移的相对距离。

1.10 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-1207-5p 与

靶基因的靶向关系

利用 miRanda (<http://www.microna.org>)、PicTar (<http://pictar.mdc-berlin.de>) 和 miRDB (<http://www.mirdb.org>) 在线预测和分析 miR-1207-5p 的靶基因及其 3'-UTR 区可能的结合位点。将处于对数生长期的 T47D 干细胞在 96 孔板中进行培养, 汇合度达 80% 时将野生型(WT)和突变型(MUT)的靶基因报告载体分别与 miR-NC 或 miR-1207-5p mimic 共转染至 T47D 干细胞。转染后继续培养 48 h, 在每孔加入 100 μ l 裂解液后离心并收集上清至 96 孔板中, 再向每孔中加入 40 μ l 萤火虫荧光素酶底物, 轻摇 10 s 混匀后检测荧光强度。再向 96 孔板中加入 40 μ l 海肾荧光素酶底物, 轻摇 10 s 舒缓匀后检测荧光强度。

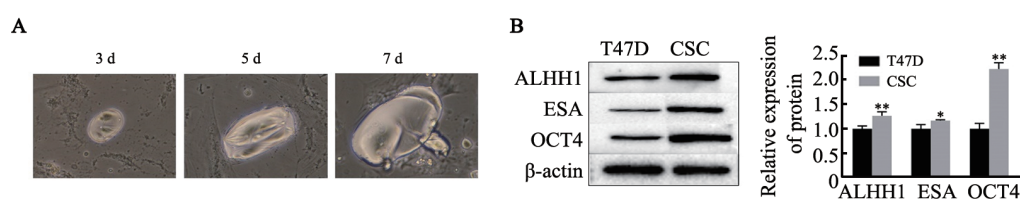
1.11 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析, 上述 1.5~1.10 的实验均独立重复 3 次。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两组间数据的差异比较采用 *t* 检验, 以 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌 T47D 干细胞的富集和成功分离

流式细胞术分离经悬浮培养富集的 T47D 干细胞, 随后观察分离得到的 T47D 干细胞的成球能力。结果发现, 分离获取的 T47D 干细胞能够形成细胞球, 且随着培养天数的增加细胞球的体积也随之增加(图 1A)。WB 实验结果表明, 收集的 T47D 干细胞分子标志物 ALDH1、ESA 和 OCT4 的表达较亲本 T47D 细胞均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$, 图 1B)。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs T47D cell group

A: Cell spheroidization experiment; B: WB was used to detect the expression level of related proteins in T47D CSC

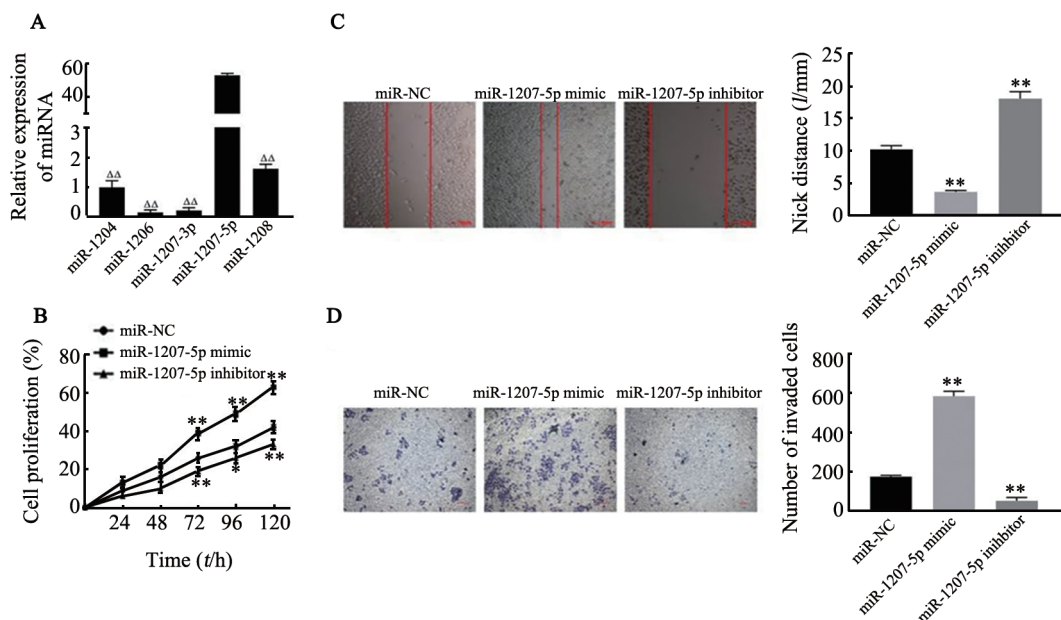
图1 乳腺癌 T47D 干细胞的富集与鉴定

Fig.1 Enrichment and identification of breast cancer T47D CSC

2.2 miR-1207-5p 对乳腺癌 T47D 干细胞增殖、迁移和侵袭的影响

qPCR 法检测乳腺癌 T47D 干细胞中多癌敏感性区域 8q24.2 中 miR-1204、miR-1206、miR-1207-3p、miR-1207-5p、miR-1208 表达, 结果显示, miR-1207-5p 在 T47D 干细胞中表达最高($P<0.01$, 图 2A)。CCK-8 实验检测结果显示, 转染 miR-1207-5p mimic 的 T47D 干细胞增殖活力高于 miR-NC 组($P<0.01$, 图 2B)。划痕实验

结果表明, miR-1207-5p mimic 组的 T47D 干细胞划痕后愈合速度明显高于 miR-NC 组($P<0.01$, 图 2C)。Transwell 侵袭实验结果表明, miR-1207-5p mimic 组的 T47D 干细胞穿过小室膜的细胞数目为(586 \pm 15)个/视野, miR-1207-5p inhibitor 组穿过小室膜的细胞数为(53 \pm 11)个/视野, 而 miR-NC 组中穿过小室膜的 T47D 干细胞数目为(176 \pm 6)个/视野, 每两组间的差异具有统计学意义(均 $P<0.01$, 图 2D)。



$\Delta\Delta P < 0.01$ vs miR-1207-5p group; $**P < 0.01$ vs miR-NC group

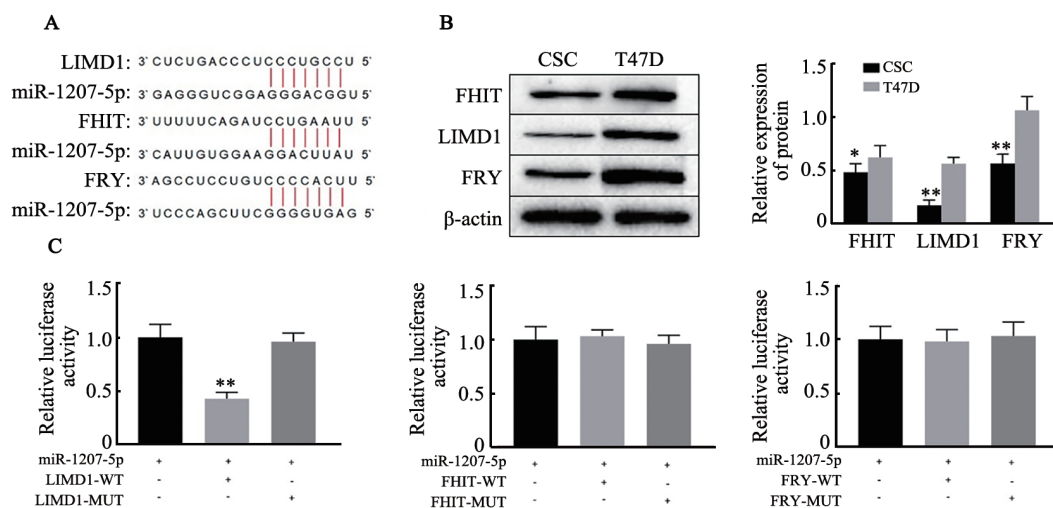
A: The expression level of miRNAs in breast cancer T47D stem cells were detected by qPCR assay; B: CCK-8 assay was used to detect the proliferation activity of breast cancer T47D stem cells; C: The migration ability of breast cancer T47D stem cells was detected by scratch test; D: Transwell assay was used to detect the invasiveness of breast cancer T47D stem cells ($\times 100$)

图2 miR-1207-5p对乳腺癌T47D干细胞增殖、迁移和侵袭的影响

Fig.2 Effects of miR-1207-5p on proliferation, migration and invasion of breast cancer T47D stem cells

2.3 T47D干细胞中LIMD1是miR-1207-5p的靶基因
 利用 miRanda (<http://www.microna.org>)、PicTar (<http://pictar.mdc-berlin.de>)和 miRDB (<http://www.mirdb.org>)在线预测和分析miR-1207-5p的靶基因及其3'-UTR区可能的结合位点,预测结果显示,FHIT、LIMD1及FRY都与miR-1207-5p存在部分互补(图3A)。WB实验结果表明,相较于亲本乳腺癌T47D细胞,FHIT、

LIMD1及FRY在T47D干细胞中的表达都有不同程度降低,且LIMD1的表达水平最低($P < 0.05$,图3B)。双荧光素酶报告基因实验结果显示,将miR-1207-5p mimic和WT-LIMD1共转染T47D干细胞后,荧光素酶的活性受到明显的抑制($P < 0.05$),而miR-1207-5p T47D和MUT-LIMD1共转染T47D干细胞后,荧光素酶的活性未受到明显抑制(图3C)。



$*P < 0.05$, $**P < 0.01$ vs T47D group or miR-1207-5p group

A: The binding site between miR-1207-5p and related genes; B: WB assay was used to detect the expression levels of related proteins; C: Dual luciferase reporter gene assay verified the targeting relationship between miR-1207-5p and related genes

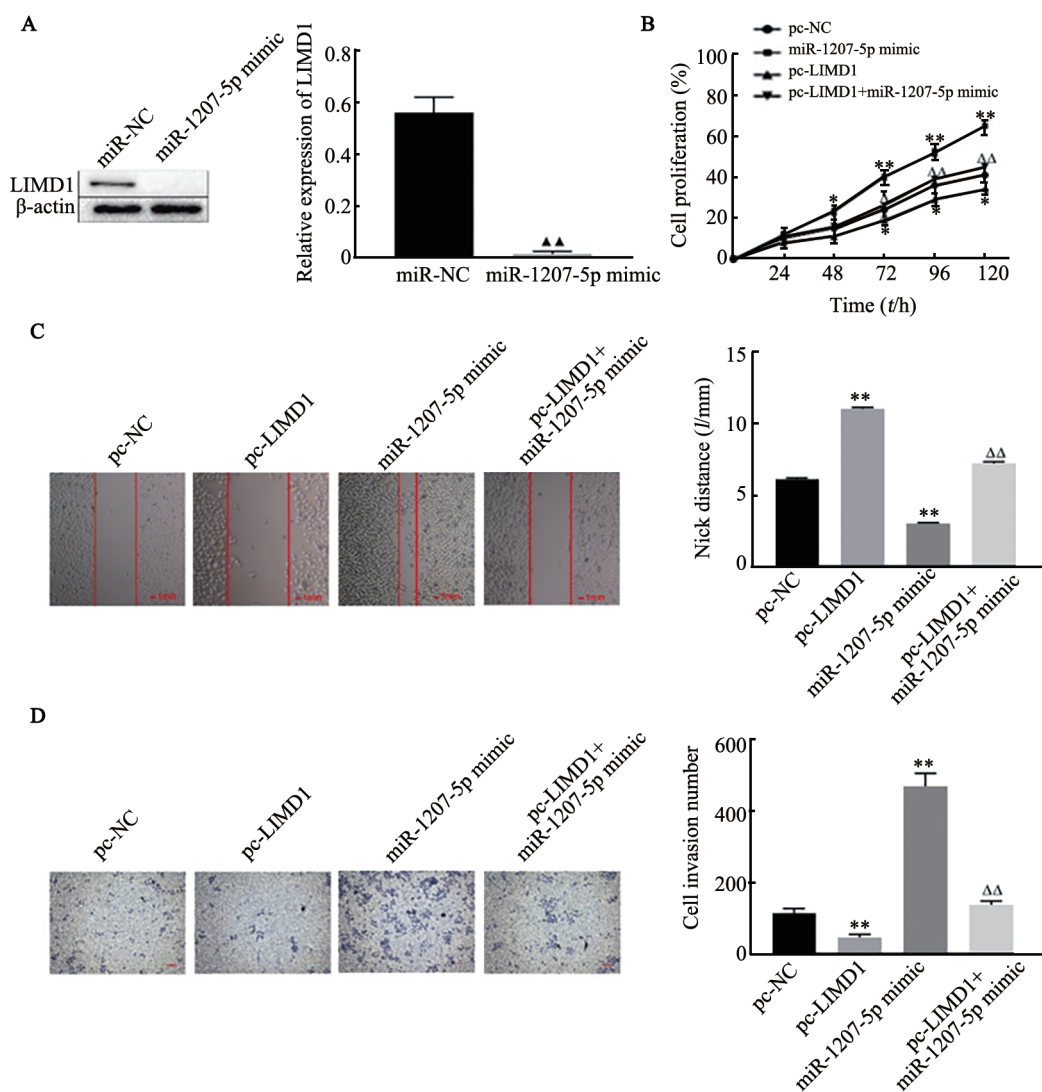
图3 T47D干细胞中LIMD1是miR-1207-5p的靶基因

Fig.3 LIMD1 in T47D stem cells was a target gene of miR-1207-5p

2.4 miR-1207-5p 通过下调 LIMD1 促进乳腺癌 T47D 干细胞的增殖、侵袭和迁移

WB实验结果表明,转染miR-1207-5p mimic抑制LIMD1蛋白的表达($P<0.01$,图4A);CCK-8实验结果表明,转染pc-LIMD1使过表达LIMD1可有效抑制T47D干细胞的增殖($P<0.01$),但同时过表达miR-1207-5p和LIMD1蛋白可逆转过表达LIMD1对T47D干细胞的增殖的抑制作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$,图4B)。细胞划痕实验结果表明,与pc-NC组相比,转染pc-LIMD1

组能有效减缓细胞划痕的愈合速度($P<0.01$),但同时过表达miR-1207-5p和LIMD1蛋白可逆转过表达LIMD1对细胞划痕愈合的缓解作用(图4C)。Transwell实验结果表明,过表达LIMD1蛋白能有效降低T47D干细胞的侵袭能力($P<0.01$,图4D),同时过表达miR-1207-5p和LIMD1蛋白可逆转过表达LIMD1对细胞侵袭能力的抑制作用($P<0.01$,图4D)。由此可知,miR-1207-5p可通过下调LIMD1的表达促进T47D干细胞的增殖、侵袭和迁移。



▲▲ $P<0.01$ vs miR-NC group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs pc-NC group; ▲▲ $P<0.01$ vs pc-LIMD1 group

A: WB assay was used to detect protein expression level of LIMD1; B: CCK-8 was used to detect the proliferation activity of breast cancer T47D stem cells; C: The migration ability of breast cancer T47D stem cells was detected by scratch test;

D: Transwell assay was used to detect the invasiveness of breast cancer T47D stem cells ($\times 100$)

图4 miR-1207-5p通过调控LIMD1影响乳腺癌T47D干细胞的增殖、侵袭和迁移

Fig.4 miR-1207-5p affected the proliferation, invasion and migration of breast cancer T47D stem cells by regulating LIMD1

3 讨论

中国女性群体中乳腺癌的发病率和致死率处于

世界较低水平,但农村地区目前呈现迅速增长的趋势。国内目前每年新发乳腺癌患者16.9万例,占全球新发病例的12.25%,位列世界第二(美国18.2万)^[8]。

肿瘤干细胞(CSC)是具有自我更新和分化能力的癌细胞亚群,已被证实有助于癌症的治疗抗性和转移,从而导致患者癌症的复发和死亡^[9-10],靶向乳腺癌干细胞可能会提高治疗效果^[9]。因此,研究乳腺癌干细胞的生物学过程对乳腺癌的治疗有重要意义。

从乳腺癌细胞中分离乳腺癌干细胞是研究其恶性生物学特性的基础。目前,许多研究者都是通过干细胞表面特有的抗原来识别干细胞,而ALDH1^[10]、ESA^[11]和OCT4^[12]都被认为是乳腺癌干细胞的重要标志物,例如ROBB等^[13]通过ALDH1、OCT4的表达水平来判断雌激素对乳腺癌干细胞的影响。本研究采用WB法检测ALDH1、ESA和OCT4的表达来鉴定是否成功分离了乳腺癌干细胞,结果发现,在T47D干细胞中ALDH1、ESA和OCT4的表达显著升高,表明乳腺癌干细胞分离成功。

miRNA是一类非编码内源性小RNA,长度约为20~24 nt。研究^[10-14]表明,超过一半的miRNA与肿瘤相关,控制着30%左右基因的表达。miRNA通过影响下游蛋白的表达发挥促癌或抑癌的生物功能,如miR-122通过靶向G9a促进肝细胞癌增殖、集落形成和迁移侵袭能力^[15];miR-139通过靶向CXCR4抑制乳腺癌干细胞干性,抑制乳腺癌恶性进展^[16]。miR-1207-5p是近几年发现的一种能影响肿瘤发生发展的miRNA,已被证实在多种癌症中均异常表达。YAN等^[17]发现,miR-1207-5p在乳腺癌组织及细胞系中高表达,且可通过直接调节STAT6促进乳腺癌细胞的增殖;HOU等^[18]发现,miR-1207-5p可通过抑制LZTS1的表达调节三阴性乳腺癌细胞对紫杉醇治疗的敏感性。miR-1207-5p可调控肿瘤干细胞的生物学行为,例如FARHANA等^[19]发现高表达的miR-1207-5p能显著促进结肠癌细胞干性。但关于miR-1207-5p调控乳腺癌干细胞的研究鲜有报道。本研究发现,miR-1207-5p在乳腺癌T47D干细胞中表达上调,敲降miR-1207-5p显著降低T47D干细胞增殖、侵袭和迁移能力。

LIMD1是广泛存在于肺癌^[20-21]、乳腺癌^[22-23]、胃癌^[24]、宫颈癌^[25-26]等实体瘤中的抑癌因子之一。LIMD1基因位于人染色体3p213,与zyxin、LPP、TRIP6等一起构成ZYXIN家族,参与细胞信号转导、细胞分化及细胞间黏附等,能有效维持正常细胞的生理活动,同时也能有效抑制肿瘤细胞的增殖、生长、浸润等^[22]。研究^[23,27-29]发现,LIMD1基因在人类多种实体瘤中的表达下调,主要以基因缺失、启动子甲基化、基因突变及基因沉默为主,其表达水平与癌症的发生发展及预后相关。本研究通过miRanda、PicTar和miRDB预测获知,LIMD1是miR-1207-5p的

靶基因,再以双荧光素酶报告基因实验证实了两者的靶向关系,同时发现miR-1207-5p可靶向下调LIMD1的表达,且过表达LIMD1能显著抑制乳腺癌干细胞的恶性生物学行为。

综上,miR-1207-5p通过靶向下调LIMD1的表达促进乳腺癌T47D干细胞的增殖、迁移和侵袭,该结果为乳腺癌的诊断和预后提供了一定的实验基础,同时也为乳腺癌的治疗提供了新的潜在的靶点。

[参考文献]

- [1] 李娟, 高青山, 牟成金, 等. lncRNA GAS5 通过抑制 MAPK/ERK 信号通路阻断乳腺癌细胞的上皮-间质转化过程[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(11): 1343-1348. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2020.11.012.
- [2] ZENG L, LI W, CHEN C S. Breast cancer animal models and applications[J]. Zool Res, 2020, 41(5): 477-494. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2020.095.
- [3] DE HEER E C, JALVING M, HARRIS A L. HIFs, angiogenesis, and metabolism: elusive enemies in breast cancer[J]. J Clin Invest, 2020, 130(10): 5074-5087. DOI: 10.1172/jci137552.
- [4] PLANTAMURA I, CATALDO A, COSENTINO G, et al. miR-205 in breast cancer: state of the art[J/OL]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1)[2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7792793/>. DOI: 10.3390/ijms22010027.
- [5] OKUMURA S, HIRANO Y, KOMATSU Y. Stable duplex-linked antisense targeting miR-148a inhibits breast cancer cell proliferation[J/OL]. Sci Rep, 2021, 11(1): 11467[2021-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34075147/>. DOI: 10.1038/s41598-021-90972-3.
- [6] RAMANTO K N, WIDIANTO K J, WIBOWO S S H, et al. The regulation of microRNA in each of cancer stage from two different ethnicities as potential biomarker for breast cancer[J/OL]. Comput Biol Chem, 2021, 93: 107497[2021-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34029828/>. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2021.107497.
- [7] HAMAM R, ALI A M, ALSALEH K A, et al. MicroRNA expression profiling on individual breast cancer patients identifies novel panel of circulating microRNA for early detection[J/OL]. Sci Rep, 2016, 6: 25997[2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4867432/>. DOI: 10.1038/srep25997.
- [8] 郑莹, 吴春晓, 张敏璐. 乳腺癌在中国的流行状况和疾病特征[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(8): 561-569. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.08.001.
- [9] ZHANG P, LIU Y, LIAN C, et al. SH3RF3 promotes breast cancer stem-like properties via JNK activation and PTX3 upregulation[J/OL]. Nat Commun, 2020, 11(1): 2487[2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7237486/>. DOI: 10.1038/s41467-020-16051-9.
- [10] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(3): 203-222. DOI: 10.1038/nrd.2016.246.
- [11] ABBA M L, PATIL N, LEUPOLD J H, et al. MicroRNAs as novel targets and tools in cancer therapy[J/OL]. Cancer Lett, 2017, 387: 84-94[2021-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27045478/>.

- DOI: 10.1016/j.canlet.2016.03.043.
- [12] 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.
- [13] ROBB T, REID G, BLENKIRON C. Exploiting microRNAs as cancer therapeutics[J]. *Target Oncol*, 2017, 12(2): 163-178. DOI: 10.1007/s11523-017-0476-7.
- [14] VAN BEIJNUM J R, GIOVANNETTI E, POEL D, et al. miRNAs: micro-managers of anticancer combination therapies[J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(2): 269-285. DOI: 10.1007/s10456-017-9545-x.
- [15] YUAN L T, LEE W J, YANG Y C, et al. Histone methyltransferase g9a-promoted progression of hepatocellular carcinoma is targeted by liver-specific Hsa-miR-122[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(10): 2376 [2021-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34069116/>. DOI: 10.3390/cancers13102376.
- [16] CHENG C W, LIAO W L, CHEN P M, et al. miR-139 modulates cancer stem cell function of human breast cancer through targeting CXCR4 [J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(11): 2582 [2021-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34070538/>. DOI: 10.3390/cancers13112582.
- [17] YAN C, CHEN Y Q, KONG W W, et al. PVT1-derived miR-1207-5p promotes breast cancer cell growth by targeting STAT6[J/OL]. *Cancer Sci*, 2017, 108(5): 868-876 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5448618/>. DOI:10.1111/cas.13212.
- [18] HOU X K, NIU Z F, LIU L L, et al. miR-1207-5p regulates the sensitivity of triple-negative breast cancer cells to Taxol treatment via the suppression of LZTS1 expression[J/OL]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1): 990-998 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6312986/>. DOI:10.3892/ol.2018.9687.
- [19] FARHANA L, ANTAKI F, ANEES M R, et al. Role of cancer stem cells in racial disparity in colorectal cancer[J/OL]. *Cancer Med*, 2016, 5(6): 1268-1278 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4924385/>. DOI:10.1002/cam4.690.
- [20] WANG L, SPARKS-WALLACE A, CASTEEL J L, et al. Algorithm-based meta-analysis reveals the mechanistic interaction of the tumor suppressor LIMD1 with non-small-cell lung carcinoma[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 632638 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8044451/>. DOI: 10.3389/fonc.2021.632638.
- [21] GUO Z Z, MA Z J, HE Y Z, et al. miR-550a-5p functions as a tumor promoter by targeting LIMD1 in lung adenocarcinoma[J/OL]. *Front Oncol*, 2020, 10: 570733 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7655921/>. DOI: 10.3389/fonc.2020.570733.
- [22] HUGGINS C J, ANDRULIS I L. Cell cycle regulated phosphorylation of LIMD1 in cell lines and expression in human breast cancers[J]. *Cancer Lett*, 2008, 267(1): 55-66. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.015.
- [23] SPENDLOVE I, AL-ATTAR A, WATHERSTONE O, et al. Differential subcellular localisation of the tumour suppressor protein LIMD1 in breast cancer correlates with patient survival[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(10): 2247-2253. DOI: 10.1002/ijc.23851.
- [24] ZHANG D, LI S, YU W, et al. LIMD1 is a survival prognostic marker of gastric cancer and hinders tumor progression by suppressing activation of YAP1[J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 4349-4361 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6188213/>. DOI: 10.2147/cmar.S174856.
- [25] PAL D, SUR S, ROY R, et al. Epigallocatechin gallate in combination with eugenol or amarogentin shows synergistic chemotherapeutic potential in cervical cancer cell line[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(1): 825-836. DOI: 10.1002/jcp.26900.
- [26] CHAKRABORTY C, MITRA S, ROYCHOWDHURY A, et al. Deregulation of LIMD1-VHL-HIF-1 α -VEGF pathway is associated with different stages of cervical cancer[J]. *Biochem J*, 2018, 475(10): 1793-1806. DOI: 10.1042/bcj20170649.
- [27] GHOSH S, GHOSH A, MAITI G P, et al. Alterations of 3p21.31 tumor suppressor genes in head and neck squamous cell carcinoma: Correlation with progression and prognosis[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(11): 2594-2604. DOI: 10.1002/ijc.23834.
- [28] GHOSH S, GHOSH A, MAITI G P, et al. LIMD1 is more frequently altered than RB1 in head and neck squamous cell carcinoma: clinical and prognostic implications[J/OL]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 58 [2021-02-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2848626/>. DOI: 10.1186/1476-4598-9-58.
- [29] MAYANK A K, SHARMA S, DESHWAL R K, et al. LIMD1 antagonizes E2F1 activity and cell cycle progression by enhancing Rb function in cancer cells[J]. *Cell Biol Int*, 2014, 38(7): 809-817. DOI: 10.1002/cbin.10266.

[收稿日期] 2021-03-20

[修回日期] 2021-05-13

[本文编辑] 沈志超