

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.004

· 基础研究 ·

肾细胞癌组织中高表达的 miRNA let-7i-5p 通过透明质酸结合蛋白 4 调控 769-P 细胞的恶性生物学行为

扈星^a, 刘玉洁^b, 张志红^a (西南医科大学附属医院 a. 全科医学科; b. 老年医学科, 四川 泸州 646000)

[摘要] **目的:** 探讨 miRNA let-7i-5p 在肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 组织中的表达水平及其对 RCC 细胞 769-P 的增殖、迁移、侵袭和透明质酸结合蛋白 4 (hyaluronan-binding protein 4, HABP4) 表达的影响。**方法:** 利用 TCGA RCC 数据库及 GEO 数据库对 let-7i-5p 在 RCC 组织中的表达进行 meta 分析。体外常规培养人 RCC 细胞 769-P 并对其转染, 根据转染物不同分为过表达组 (转染 let-7i-5p 模拟物)、抑制组 (转染 let-7i-5p 抑制物) 和对照组 (转染 NC 序列)。采用 CCK-8、细胞划痕实验、Transwell 实验及 WB 法检测 let-7i-5p 对 769-P 细胞增殖活力、划痕愈合率、穿膜侵袭细胞数及 HABP4 表达水平的影响。双荧光素酶报告基因实验验证 let-7i-5p 与 HABP4 mRNA 的靶向关系。**结果:** 分析 TCGA RCC 数据库及 5 个 GEO 数据集 (GSE23085、GSE47582、GSE95385、GSE16441 和 GSE71302) 中数据结果显示, let-7i-5p 在 RCC 组织中的表达水平显著高于正常肾组织 (均 $P < 0.05$)。体外实验结果显示, 与对照组相比, 过表达组在 24、48 及 72 h 时细胞增殖活力显著升高, 而抑制组显著降低 (均 $P < 0.01$); 过表达组的划痕愈合率 [(37.276±2.058)% vs (15.663±2.949)%], $P < 0.01$ 和穿膜侵袭细胞数 [(377.000±34.044) vs (255.667±25.384) 个], $P < 0.01$ 均显著升高, 而抑制组的划痕愈合率 [(8.791±2.568)% vs (15.663±2.949)%], $P < 0.05$ 和穿膜侵袭细胞数 [(170.333±14.978) vs (255.667±25.384) 个], $P < 0.01$ 均显著降低。在野生型 HABP4-3' UTR 质粒组中, 过表达 let-7i-5p 可显著抑制细胞的荧光素酶活性 ($P < 0.01$); 而在突变型 HABP4-3' UTR 质粒组中, 过表达 let-7i-5p 对细胞的荧光素酶活性无影响 (NS, $P > 0.05$)。WB 检测结果显示, 与对照组相比, 过表达组的 HABP4 和 E-cadherin 的水平均降低 (均 $P < 0.01$), CDK2 的水平升高 ($P < 0.01$), 而抑制组则相反 (均 $P < 0.01$)。**结论:** Let-7i-5p 在 RCC 组织中呈高表达, 其可能通过靶向 HABP4 基因来促进 769-P 细胞的增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 肾细胞癌; 微小 RNA; let-7i-5p; 769-P 细胞; 透明质酸结合蛋白 4; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737.11; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)11-1075-06

Highly expressed miRNA let-7i-5p in renal cell carcinoma tissues regulates the malignant biological behaviors of 769-P cells through hyaluronan-binding protein 4

HU Xing^a, LIU Yujie^b, ZHANG Zhihong^a (a. Department of General Practice; b. Department of Geriatric Medicine, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression level of miRNA let-7i-5p in renal cell carcinoma (RCC) tissues and to explore its effect on the proliferation, migration, invasion, and hyaluronan-binding protein 4 (HABP4) expression in human RCC 769-P cells. **Methods:** A meta-analysis of let-7i-5p expression in RCC tissues was performed using the TCGA RCC database and GEO database. The human RCC 769-P cells were routinely cultured for transfection *in vitro*, and were divided into three groups according to different transfection materials: overexpression group (transfected with let-7i-5p mimics), inhibition group (transfected with let-7i-5p inhibitors), and control group (transfected with NC sequence). CCK-8, cell scratch test, Transwell assay, and WB method were used to detect the effects of let-7i-5p on the proliferation, scratch healing rate, invaded cell numbers and HABP4 expression in 769-P cells. Dual-luciferase reporter gene assay was performed to demonstrate the targeting relationship between let-7i-5p and HABP4. **Results:** Data analysis of TCGA RCC database and 5 GEO data sets (GSE23085, GSE47582, GSE95385, GSE16441, and GSE71302) showed that the expression level of let-7i-5p was significantly higher in RCC tissues than in normal kidney tissues (all $P < 0.05$). As shown by *in vitro* experiments, compared with the control group, the cell proliferation activity of the overexpression group was significantly increased at 24, 48, and 72 h, while that of the inhibition group was decreased (all $P < 0.01$). The scratch healing rate [(37.276±2.058)% vs (15.663±2.949)%], $P < 0.01$ and the invaded cell numbers [(377.000±34.044) vs (255.667±25.34)], $P < 0.05$ were significantly

[基金项目] 西南医科大学青年基金资助项目 (No. 2018-ZRQN-142; No. 2018-ZRQN-041)。Project supported by the Youth Foundation of Southwest Medical University (No. 2018-ZRQN-142; No. 2018-ZRQN-041)

[作者简介] 扈星 (1989—), 女, 硕士, 医师, 主要从事泌尿系统肿瘤的内科治疗研究, E-mail: huxing181024@126.com

[通信作者] 张志红 (ZHANG Zhihong, corresponding author), 博士, 副主任医师, 主要从事内分泌系统疾病的研究, E-mail: zhihonglily@126.com

increased in the overexpression group, while the scratch healing rate $[(8.791 \pm 2.568) \% \text{ vs } (15.663 \pm 2.949) \%, P < 0.05]$ and the invaded cell numbers $[(170.333 \pm 14.978) \text{ vs } (255.667 \pm 25.384), P < 0.01]$ were significantly reduced in the inhibition group. The luciferase activity was significantly inhibited by the overexpression of let-7i-5p in the wild-type HABP4-3'UTR plasmid group ($P < 0.01$), while no statistical difference was observed in the mutant HABP4-3'UTR plasmid group ($P > 0.05$). WB results showed that compared with the control group, the expression of HABP4 and E-cadherin in the overexpression group was decreased (all $P < 0.01$), and the expression of CDK2 was increased ($P < 0.01$), while the inhibition group showed the opposite trend (all $P < 0.01$). **Conclusion:** Let-7i-5p is highly expressed in RCC tissues and promotes the proliferation, migration, and invasion of 769-P cells possibly by targeting HABP4.

[Key words] renal cell carcinoma (RCC); miRNA; let-7i-5p; 769-P cell; hyaluronan-binding protein 4 (HABP4); proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(11): 1075-1080. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.004]

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)又称肾腺癌或肾癌,是一种起源于肾小管上皮细胞的恶性肿瘤,为泌尿系统最常见的肿瘤之一,近几年其发病率逐年升高^[1]。肿瘤复发是当前RCC治疗中的重大难题,有近40%的患者在术后5年内出现复发^[2]。由于RCC对化疗和放疗均不敏感,目前以外科切除为主要治疗手段,但复发和转移仍是肿瘤手术后需面对的难题^[3]。因此,寻找RCC生物标志物和特异性的治疗靶点对预防肿瘤复发、转移和提高患者术后生存率有重要意义。miRNA是一类内源性不编码蛋白质的小单链RNA分子,可通过与mRNA结合并抑制mRNA翻译或促进其降解而调节基因表达^[4-5]。Let-7是最早被发现的miRNA之一,在物种中高度保守并广泛表达^[6-7]。作为let-7家族的成员,let-7i-5p已被发现在各种肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭中发挥重要作用^[8-10],但其在RCC中的作用仍不清楚。本研究将let-7i-5p模拟物(mimic)和抑制物(inhibitor)瞬时转染至人RCC细胞769-P中以观察其对细胞增殖、迁移和侵袭的影响,同时探讨此影响是否通过靶向透明质酸结合蛋白4(hyaluronan-binding protein 4, HABP4)实现。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂

人RCC细胞769-P购自中科院上海细胞研究所,let-7i-5p模拟物、抑制物和阴性对照(NC)均购自广州锐博生物科技有限公司,脂质体Lipofectamine™ 3000购自美国Thermo公司,RPMI 1640培养基、胎牛血清和胰蛋白酶均购自Gibco公司,CCK-8及双荧光素酶报告基因检测试剂盒均购自上海碧云天生物科技公司,兔抗HABP4多克隆抗体购自Abnova公司,鼠源抗CDK2、抗E-cadherin及抗GAPDH单克隆抗体均购自美国Proteintech公司。

1.2 TCGA RCC数据库及GEO数据库中let-7i-5p表达数据的meta分析

下载TCGA RCC数据库及GEO数据库(5个

RCC数据集: GSE23085、GSE47582、GSE95385、GSE16441和GSE71302)中let-7i-5p的表达数据,采用GraphPad Prism 6.0软件进行meta分析,计算所有样本的标准化均数差(SMD)和95%置信区间(CI)。

1.3 细胞培养、转染和分组

复苏769-P细胞,用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基于37℃、5% CO₂的恒温培养箱中培养,用0.25%胰蛋白酶消化传代。按照 1×10^5 个/孔将对数生长期的769-P细胞接种于6孔板内,待细胞生长至50%~60%汇合时,采用脂质体Lipofectamine™ 3000对769-P细胞进行转染。根据转染物的不同分为过表达组(转染let-7i-5p模拟物)、抑制组(转染let-7i-5p抑制物)和对照组(转染NC序列),转染48 h后收集细胞,提取蛋白用于WB检测。

1.4 CCK-8法检测let-7i-5p对769-P细胞增殖的影响

将转染后的细胞按 2×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中,分别于0、24、48、72 h后向每个孔加入10 μl CCK-8溶液,继续培养4 h后用酶标仪测定450 nm处的各孔光密度(D)值,以D值代表细胞的增殖活力。

1.5 细胞划痕实验检测let-7i-5p对769-P细胞迁移的影响

将转染后的细胞接种于6孔板中,待细胞生长至覆盖孔底面积的90%后,用200 μl移液器吸头在孔底的细胞层上划一直线,形成划痕,培养24 h。在倒置显微镜下观察、拍照并测量划痕宽度,划痕愈合率=(1-24 h时宽度/起始宽度) $\times 100\%$ 。

1.6 Transwell实验检测let-7i-5p对769-P细胞侵袭的影响

将Transwell小室用人工基膜(matrigel)包被后,在上室中加入无血清细胞悬液200 μl(约含 1×10^5 个细胞),下室加入500 μl含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基,24 h后取出小室用PBS洗涤并用棉签擦除小室上层未穿膜细胞,甲醇固定穿膜细胞20 min,结晶紫染色,倒置显微镜下计数穿膜细胞数。

1.7 双荧光素酶报告基因实验验证 let-7i-5p 与 HABP4 基因间的靶向关系

利用 Targetscan 数据库 (http://www.targetscan.org/vert_72/) 预测 let-7i-5p 与 HABP4 的潜在结合位点, 将野生型或突变型 HABP4 基因 3' 端非编码区 (3' UTR) 序列克隆至荧光素酶报告质粒 pmirGLO 上。用脂质体 Lipofectamine™ 3000 将野生型或突变型荧光素酶报告质粒与 let-7i-5p 模拟物或阴性对照共转染, 48 h 后用双荧光素酶报告基因检测试剂盒测定萤火虫和海肾荧光素酶的活性并计算相对荧光素酶活性。

1.8 WB 法检测 let-7i-5p 对 769-P 细胞中相关蛋白表达的影响

细胞转染 48 h 后采用蛋白裂解液提取总蛋白, BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 50 μg/泳道上样, 通过 10% SDS-PAGE 进行蛋白分离, 然后通过湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜, 置于 5% 脱脂奶粉液中封闭 2 h, 加入一抗 [HABP4 (1:1 000)、CDK2 (1:1 000)、E-cadherin (1:5 000)、和 GAPDH (1:5 000)] 后 4 °C 放置过夜, 次日加入二抗 [HRP 标记的羊抗兔二抗 (1:10 000) 或 HRP 标记的羊抗鼠二抗 (1:10 000)] 室温下放置 2 h。洗膜后, 采用 ECL 化学发光法进行显影, 采用 Gel-Pro Analyzer 软件计算各条带的光密度值。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 23.0 版软件进行统计学分析。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 多组中两两比较采用 SNK 法, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Let-7i-5p 在 RCC 组织中呈高表达

通过 TCGA 及 GEO 数据库获得 let-7i-5p 在 RCC 组织及正常肾组织中的表达数据, 对其进行 meta 分析, 结果 (图 1) 发现, 在 TCGA RCC 数据库及 5 个 GEO 数据集 (GSE23085、GSE47582、GSE95385、GSE16441 和 GSE71302) 中 RCC 组织 let-7i-5p 表达水平高于正常肾组织水平, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

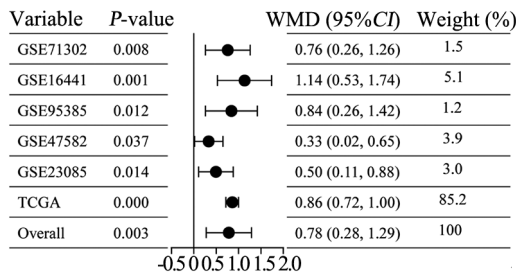


图1 RCC组织与正常肾组织 let-7i-5p 水平比较的森林图
Fig.1 Forest plot for the comparison of let-7i-5p expression in RCC and normal kidney tissues

2.2 Let-7i-5p 过表达促进 769-P 细胞的增殖

CCK-8 法检测结果 (图 2) 显示, 与对照组相比, 过表达组在 24、48 及 72 h 时细胞增殖活力均显著升高, 而抑制组则降低, 组间差异有统计学意义 (均 $P < 0.01$)。

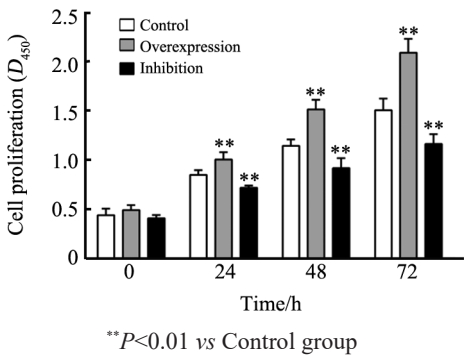


图2 Let-7i-5p 对 769-P 细胞增殖的影响
Fig.2 The effect of let-7i-5p on the proliferation of 769-P cells

2.3 Let-7i-5p 水平变化对 769-P 细胞迁移的影响

划痕实验结果 (图 3) 显示, 与对照组的相比, 过表达组的划痕愈合率显著升高 [$(37.276 \pm 2.058)\%$ vs $(15.663 \pm 2.949)\%$, $P < 0.01$], 而抑制组的划痕愈合率显著降低 [$(8.791 \pm 2.568)\%$ vs $(15.663 \pm 2.949)\%$, $P < 0.05$]。

2.4 Let-7i 水平变化对 769-P 细胞侵袭的影响

Transwell 小室实验结果 (图 4) 显示, 与对照组的 (255.667 ± 25.384) 个相比, 过表达组的穿膜细胞数增加至 (377.000 ± 34.044) 个, 而抑制组的穿膜细胞数减少至 (170.333 ± 14.978) 个, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 Let-7i-5p 能够与 HABP4 mRNA 靶向结合

利用 Targetscan 程序在线预测发现, HABP4 基因的 3' UTR 含有 let-7i-5p 的潜在互补结合位点。双荧光素酶报告基因实验结果 (图 5) 表明, let-7i-5p 模拟物与野生型 HABP4-3' UTR 质粒共转染时, 荧光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$), 而与突变型型 HABP4-3' UTR 质粒共转染时, 荧光素酶活性无显著变化 ($P > 0.05$)。

2.6 let-7i-5p 水平变化对 769-P 细胞中蛋白表达的影响

WB 检测结果 (图 6) 显示, 与对照组相比, 过表达组的 HABP4 和 E-cadherin 的水平均显著降低, CDK2 的水平显著升高 (均 $P < 0.01$); 而抑制组的 HABP4 和 E-cadherin 的水平均显著升高, CDK2 的水平显著降低 (均 $P < 0.01$)。

3 讨论

RCC 是一种肾恶性肿瘤, 主要起源于肾实质肾小

管上皮系统, 占所有肾恶性肿瘤的80%~85%。近年来, 在全球范围内 RCC 的发病呈现上升的趋势, 每年发病率约增长2%^[11]。目前, RCC 缺乏早期的诊断标志, 晚期和转移后的RCC对放疗和化疗均不敏感。尽管已在探究RCC潜在分子机制方面取得了一定进展, 但在诊断和预后预测中仍缺少有效的标志物。近年来, miRNA

已成为一种新型的生物调节因子, 可作为新的诊治和预后生物标志物^[12]。越来越多的研究证据^[13-14]表明 miRNA 在 RCC 中发挥重要作用, 参与细胞增殖、凋亡、迁移及侵袭等过程。寻求有效的靶向 miRNA 的基因治疗靶点已成为 RCC 研究的热点。

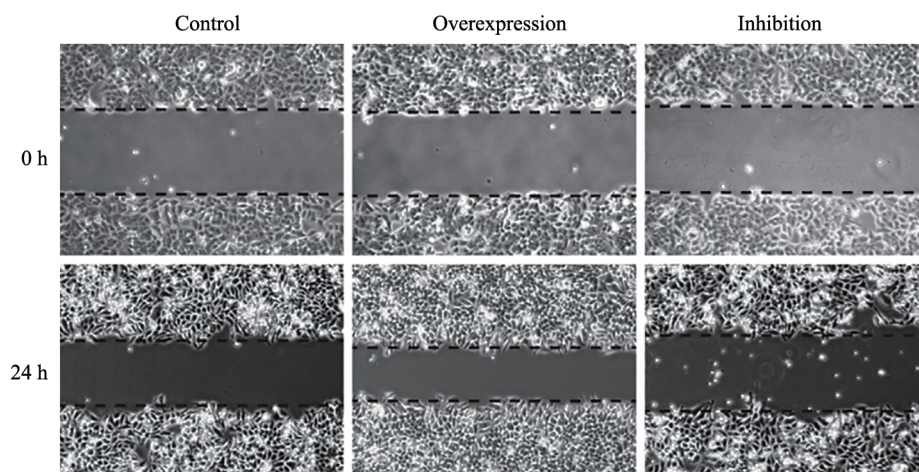


图3 let-7i-5p 对 769-P 细胞迁移的影响(×100)

Fig.3 The effect of let-7i-5p on the migration of 769-P cells (×100)

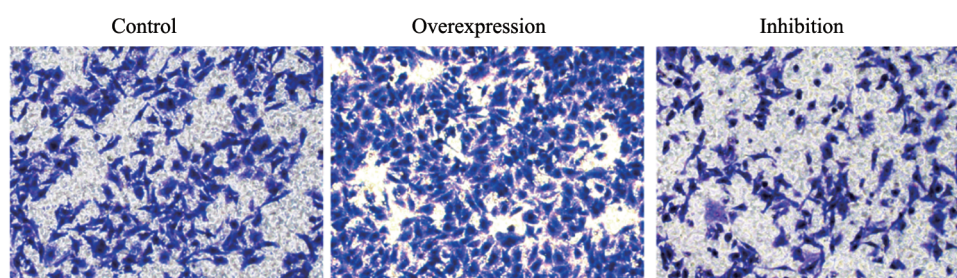
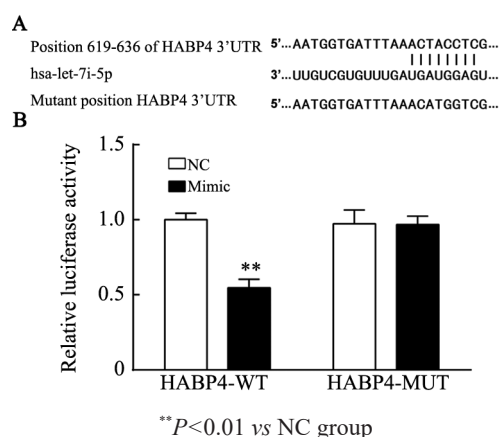


图4 let-7i-5p 对 769-P 细胞侵袭的影响(×200)

Fig.4 The effect of let-7i-5p on the invasion of 769-P cells (×200)



A: Binding site between let-7i-5p and HABP4; B: The targeted relationship between let-7i-5p and HABP4 was verified by Dual-luciferase reporter gene assay

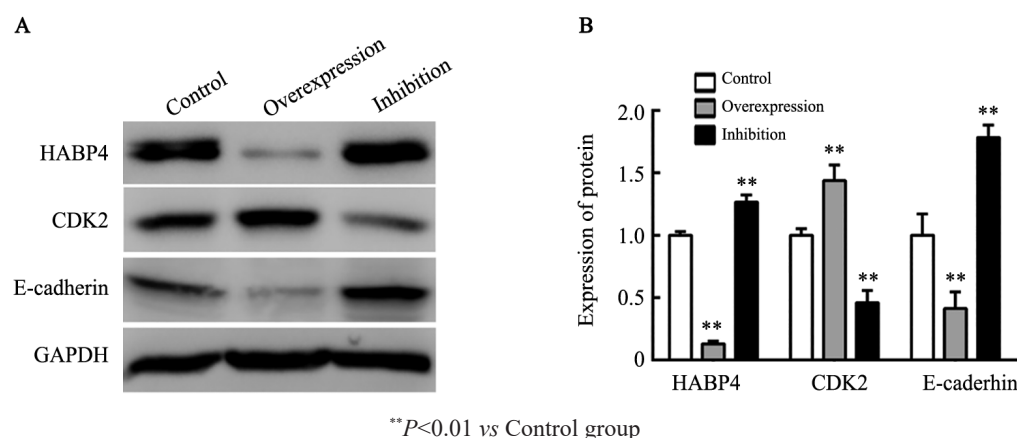
图5 HABP4 基因是 let-7i-5p 的结合靶标

Fig.5 HABP4 gene was proved to be a binding target of let-7i-5p

Let-7i-5p 可以在各种肿瘤(胶质母细胞瘤、结肠癌、胃癌和食管癌等)中充当抑癌基因, 如 let-7i-5p 直接靶向 UDP-半乳糖-4-差向异构酶和核因子 κ B 激酶抑制剂 ϵ , 从而减少胶质母细胞瘤细胞的增殖和迁移^[8,15]; 靶向激肽释放酶相关肽酶 6 抑制结肠癌细胞的增殖和转移^[10]; 通过靶向 I 型胶原 α 1 链显著抑制胃癌的增殖、侵袭和转移^[16]; 通过靶向药物转运蛋白 ABCC10(ATP 结合盒亚家族 C 成员 10)显著抑制食管癌细胞的增殖并促进顺铂诱导的凋亡^[17]。而在肝细胞癌中, let-7i-5p 具有双重作用: 一方面, let-7i-5p 通过靶向胰岛素样生长因子 2-mRNA 结合蛋白 1、2 和 3 和抗凋亡蛋白来抑制肝癌的生长^[18-19]; 另一方面, let-7i-5p 通过靶向肝癌细胞中的血小板反应蛋白-1 逆转组蛋白去乙酰化酶 6 (histone deacetylase 6, HDAC6) 的肿瘤抑制作用^[9]。HABP4 是一种首先在

霍奇金淋巴瘤细胞中被证实的核/质调节蛋白^[20], 它可以参与细胞增殖、肿瘤发生、RNA 转录和剪接以及端粒维持等生理过程。研究^[21]表明, 过表达 HABP4 引起肿瘤细胞周期发生 G1 期阻滞, 从而抑制细胞增殖。HABP4 可以通过与内源剪接蛋白 hnRNPQ 和 SFRS9 30 结合而影响 E1A pre-mRNA 的剪接模式^[22]。

小分子泛素样修饰体-1 (small ubiquitin-like modifier-1, SUMO-1) 修饰的 HABP4 与转录、RNA 剪接、翻译、核糖体生物发生、有丝分裂细胞周期和凋亡等生物学过程有关, 而 SUMO-2 修饰的 HABP4 与基因表达的控制 (转录、剪接和翻译) 和端粒的维持密切相关^[22]。



A: Effect of let-7i-5p overexpression or downregulation on the expression of HABP4, CDK2 and E-cadherin;

B: WB was quantified by gray value analysis using ImageJ software

图 6 各组 769-P 细胞的 HABP4、CDK2 及 E-cadherin 蛋白表达水平

Fig.6 The protein expression levels of HABP4, CDK2 and E-cadherin in 769-P cells of each group

本研究首先通过分析 TCGA 及 GEO 数据库中 RCC 数据发现, let-7i-5p 在 RCC 组织中的表达水平显著高于正常肾组织; 通过向 RCC 细胞 769-P 中转染 let-7i-5p 模拟物上调 let-7i-5p 的表达后, 发现 HABP4 的表达显著降低, 细胞周期蛋白 CDK2 的水平升高、迁移相关蛋白 E-cadherin 表达降低, 且 769-P 细胞增殖、迁移及侵袭能力增加; 而通过转染 let-7i-5p 抑制剂下调 let-7i-5p 的表达后, 发现 HABP4 的表达增加, 细胞周期蛋白 CDK2 的水平降低、迁移相关蛋白 E-cadherin 表达升高, 同时 769-P 细胞的增殖、迁移与侵袭能力受到抑制。上述结果提示, 在 769-P 细胞中, let-7i-5p 可发挥促癌基因的功能, 同时可能对 HABP4 表达具有调节作用。进一步通过 Targetscan 数据库分析和荧光素酶报告基因实验测定证实, HABP4 是 let-7i-5p 的靶基因。由此推测, let-7i-5p 可能通过调节 HABP4 的表达参与 RCC 的发生和发展。然而 HABP4 在 let-7i-5p 调控 RCC 细胞增殖、迁移和侵袭中的重要性及其调控 RCC 发生发展的具体机制仍有待进一步的研究。

综上所述, 本研究发现 let-7i-5p 在 RCC 细胞 769-P 中发挥促癌基因的功能, 其可能通过靶向 HABP4 来调控肿瘤细胞的增殖、迁移与侵袭。以上发现为 let-7i-5p 作为潜在的 RCC 诊断标志物和治疗靶点提供了实验基础。

[参考文献]

- [1] TIPPU Z, AU L, TURAJLIC S. Evolution of renal cell carcinoma[J]. Eur Urol Focus, 2021, 7(1): 148-151. DOI:10.1016/j.euf.2019.12.005.
- [2] PADALA S A, BARSOUK A, THANDRA K C, et al. Epidemiology of renal cell carcinoma[J]. World J Oncol, 2020, 11(3): 79-87. DOI: 10.14740/wjon1279.
- [3] TACCONI E M C, TUTHILL M, PROTHEROE A. Review of adjuvant therapies in renal cell carcinoma: evidence to date[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 12301-12316. DOI:10.2147/ott.s174149.
- [4] DEXHEIMER P J, COCHELLA L. MicroRNAs: from mechanism to organism[J/OL]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 409 [2021-02-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32582699/>. DOI: 10.3389/fcell.2020.00409.
- [5] ALI SYEDA Z, LANGDEN S S S, MUNKHZUL C, et al. Regulatory mechanism of microRNA expression in cancer[J/OL]. Int J Mol Sci, 2020, 21(5): 1723 [2021-02-02]. <https://doi.org/10.3390/ijms21051723>. DOI:10.3390/ijms21051723.
- [6] ROUSH S, SLACK F J. The let-7 family of microRNAs[J]. Trends Cell Biol, 2008, 18(10): 505-516. DOI:10.1016/j.tcb.2008.07.007.
- [7] LEE H, HAN S, KWON C S, et al. Biogenesis and regulation of the let-7 miRNAs and their functional implications[J]. Protein Cell, 2016, 7(2): 100-113. DOI:10.1007/s13238-015-0212-y.
- [8] SUN X P, XUE H, XIONG Y, et al. GALE promotes the proliferation and migration of glioblastoma cells and is regulated by miR-let-7i-5p[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 10539-10554. DOI: 10.2147/CMAR.S221585.
- [9] YANG H D, KIM H S, KIM S Y, et al. HDAC6 suppresses let-7i-5p

- to elicit TSP1/CD47-mediated anti-tumorigenesis and phagocytosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1262-1279. DOI:10.1002/hep.30657.
- [10] SONG J, WANG L, MA Q, et al. Let-7i-5p inhibits the proliferation and metastasis of colon cancer cells by targeting kallikrein-related peptidase 6[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(3): 1459-1466. DOI:10.3892/or.2018.6577.
- [11] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21654.
- [12] BALATTI V, CROCE C M. MicroRNA dysregulation and multi-targeted therapy for cancer treatment[J/OL]. *Adv Biol Regul*, 2020, 75: 100669 [2021-02-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31640928/>. DOI:10.1016/j.jbior.2019.100669.
- [13] WU H, WU H, SUN P, et al. miR-155-5p promotes cell proliferation and migration of clear cell renal cell carcinoma by targeting PEG3[J]. *Urol Int*, 2021, 105(9/10): 906-915. DOI:10.1159/000514416.
- [14] HUANG M, ZHANG T, YAO Z Y, et al. MicroRNA related prognosis biomarkers from high throughput sequencing data of kidney renal clear cell carcinoma[J/OL]. *BMC Med Genomics*, 2021, 14(1): 72 [2021-02-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33750388/>. DOI:10.1186/s12920-021-00932-z.
- [15] TIAN Y, HAO S, YE M, et al. MicroRNAs let-7b/i suppress human glioma cell invasion and migration by targeting IKBKE directly[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(2): 307-312. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.01.105.
- [16] SHI Y, DUAN Z, ZHANG X, et al. Down-regulation of the let-7i facilitates gastric cancer invasion and metastasis by targeting COL1A1[J]. *Protein Cell*, 2019, 10(2): 143-148. DOI: 10.1007/s13238-018-0550-7.
- [17] WU K, YANG Y, ZHAO J, et al. BAG3-mediated miRNA let-7g and let-7i inhibit proliferation and enhance apoptosis of human esophageal carcinoma cells by targeting the drug transporter ABCC10[J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(1): 125-133. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.11.031.
- [18] FAWZY I O, HAMZA M T, HOSNY K A, et al. Abrogating the interplay between IGF2BP1, 2 and 3 and IGF1R by let-7i arrests hepatocellular carcinoma growth[J]. *Growth Factors*, 2016, 34(1/2): 42-50. DOI:10.3109/08977194.2016.1169532.
- [19] WU L, WANG Q, YAO J, et al. MicroRNA let-7g and let-7i inhibit hepatoma cell growth concurrently via downregulation of the anti-apoptotic protein B-cell lymphoma-extra large[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(1): 213-218. DOI:10.3892/ol.2014.2706.
- [20] COLLETTI C, MELO-HANCHUK T D, DA SILVA F R M, et al. Complex interactomes and post-translational modifications of the regulatory proteins HABP4 and SERBP1 suggest pleiotropic cellular functions[J]. *World J Biol Chem*, 2019, 10(3): 44-64. DOI: 10.4331/wjbc.v10.i3.44.
- [21] BRESSAN G C, QUARESMA A J, MORAES E C, et al. Functional association of human Ki-1/57 with pre-mRNA splicing events[J]. *Febs J*, 2009, 276(14): 3770-3783. DOI:10.1111/j.1742-4658.2009.07092.x.
- [22] SAITO Â, SOUZA E E, COSTA F C, et al. Human regulatory protein Ki-1/57 is a target of SUMOylation and affects PML nuclear body formation[J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(9): 3147-3157. DOI:10.1021/acs.jproteome.7b00001.

[收稿日期] 2021-07-05

[修回日期] 2021-10-02

[本文编辑] 黄静怡