

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.005

miR-185 通过靶向调控 CDC42 基因表达抑制骨肉瘤 MG63 细胞的增殖和迁移

王磊^a, 邱明宪^b, 张慧荣^a, 张金萍^c, 赵静^d, 康肖^b (衡水市第四人民医院 a. 内科; b. 骨科; c. 护理科; d. 超声科, 河北 衡水 053000)

[摘要] **目的:** 分析 miR-185 以及细胞分裂周期蛋白 42 (CDC42) 在骨肉瘤组织和细胞中的表达情况, 初步探究 miR-185 是否通过调控 CDC42 影响骨肉瘤 MG63 细胞的增殖与迁移。 **方法:** 选取 2020 年 1 月至 2021 年 1 月于衡水市第四人民医院经病理确诊为骨肉瘤的 28 例患者的癌组织及癌旁组织, 采用免疫组化法检测骨肉瘤组织中 CDC42 的表达, 采用 qPCR 法检测骨肉瘤组织中 miR-185 的表达。双荧光素酶报告基因实验验证 CDC42 基因与 miR-185 间的靶向关系。根据转染物不同, 将 MG63 细胞分为 miR-185 mimic 组、miR-NC 组、miR-185 inhibitor 组、NC-inhibitor 组、CDC42 组 (转染 CDC42 过表达载体) 及阴性对照 (NC) 组, 采用划痕愈合实验、CCK-8 法和流式细胞术分别检测 miR-185 和 CDC42 表达对 MG63 细胞迁移、增殖和周期的影响。构建骨肉瘤 MG63 细胞裸鼠移植瘤模型, 采用免疫组化法、qPCR 法和 WB 法检测过表达或敲降 miR-185 对移植瘤组织中 Ki67 与 CDC42 表达的影响。 **结果:** 与癌旁组织相比, 骨肉瘤组织中 miR-185 表达明显降低, 而 CDC42 表达显著升高 (均 $P < 0.01$)。CDC42 是 miR-185 的靶基因。与对照组相比, miR-185 mimic 组 MG63 细胞的迁移和增殖能力均受到抑制 (均 $P < 0.01$), 而 CDC42 组 MG63 细胞的迁移和增殖能力均升高、细胞周期阻滞于 S 期 (均 $P < 0.01$); 与 miR-185 组相比, miR-185 + CDC42 组 MG63 细胞的迁移和增殖能力均升高、S 期细胞比例升高 (均 $P < 0.01$)。与对照组相比, miR-185 mimic 组移植瘤组织中 Ki67、CDC42 表达均显著降低 (均 $P < 0.01$), 而 miR-185 inhibitor 组则相反 (均 $P < 0.01$)。 **结论:** 在骨肉瘤组织中, miR-185 呈低表达而 CDC42 呈高表达, miR-185 能够通过负调控 CDC42 的表达, 从而抑制骨肉瘤 MG63 细胞的增殖和迁移。

[关键词] 骨肉瘤; miR-185; 细胞分裂周期蛋白 42; MG63 细胞; 增殖; 迁移

[中图分类号] R738.1; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2022)02-0114-06

miR-185 inhibits the proliferation and migration of osteosarcoma MG63 cells via regulating CDC42 gene expression

WANG Lei^a, QIU Mingxian^b, ZHANG Huirong^a, ZHANG Jinping^c, ZHAO Jing^d, KANG Xiao^b (a. Department of Internal Medicine; b. Department of Orthopedics; c. Department of Nursing; d. Department of Ultrasound, the Fourth People's Hospital of Hengshui City, Hengshui 053000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the expression of miR-185 and cell division cyclin 42 (CDC42) in osteosarcoma tissues and cells, and to preliminarily explore whether miR-185 affects the proliferation and migration of osteosarcoma MG63 cells by regulating CDC42. **Methods:** The cancer tissues and para-cancerous tissues of 28 patients with osteosarcoma that pathologically confirmed in the Fourth People's Hospital of Hengshui City from January 2020 to January 2021 were collected for this study. Immunohistochemistry was used to detect the expression of CDC42 in osteosarcoma tissues, and qPCR was used to detect the expression of miR-185 in osteosarcoma tissues. Dual-luciferase reporter gene experiment was applied to verify the targeting relationship between CDC42 and miR-185. According to different transfectants, MG63 cells were divided into miR-185 mimic group, miR-NC group, miR-185 inhibitor group, NC-inhibitor group, CDC42 group (transfected with CDC42 over-expression vector), and negative control (NC) group. The effects of miR-185 and CDC42 expression on the migration, proliferation and cell cycle of MG63 cells were detected by scratch healing assay, CCK-8 method and FCM, respectively. A nude mouse xenograft model was constructed by inoculating osteosarcoma MG63 cells. Immunohistochemistry, qPCR and WB methods were used to detect the effects of over-expression or knock-down of miR-185 on the expression of Ki67 and CDC42 in transplanted tumor tissues. **Results:** Compared with para-cancerous tissues, the expression of miR-185 in osteosarcoma tissues was significantly decreased, while the expression of CDC42 was significantly increased (all $P < 0.01$). CDC42 was verified to be a target gene of miR-185. Compared with the control group, the migration and proliferation of MG63 cells in the miR-185 mimic group were inhibited (all $P < 0.01$), while the migration and proliferation of MG63 cells in the CDC42 group were

[作者简介] 王磊 (1979—), 女, 学士, 副主任医师, 主要从事肿瘤内科治疗及康复相关研究

[通信作者] 王磊, E-mail: 409403202@qq.com

increased and the cell cycle was arrested in the S phase (all $P < 0.01$). Compared with the miR-185 group, the migration and proliferation abilities of MG63 cells in the miR-185+CDC42 group were promoted, and the proportion of cells in S phase was increased (all $P < 0.01$). Compared with the control group, the expression of Ki67 and CDC42 in the transplanted tumor tissues of miR-185 mimic group was significantly decreased (all $P < 0.01$), while the opposite results were observed in miR-185 inhibitor group (all $P < 0.01$). **Conclusion:** miR-185 is lowly expressed while CDC42 is highly expressed in osteosarcoma tissues. miR-185 can inhibit the proliferation and migration of osteosarcoma MG63 cells by negatively regulating the expression of CDC42.

[Key words] osteosarcoma; miR-185; cell division cycle 42 (CDC42); MG63 cell; proliferation; migration

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(2): 114-119. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.005]

骨肉瘤是^[1]一种常见的原发性骨肿瘤,具有易转移、侵袭性高以及患者五年生存率低等特点^[2]。随着医学发展,靶向治疗的出现对骨肉瘤的诊断和治疗提供了新的方向^[3],但现阶段骨肉瘤转移的分子机制尚未完全阐明,因此寻找骨肉瘤转移相关靶点非常重要。在骨肉瘤诊断、治疗和预后中,miRNA具有作为标志物分子的潜力^[4-7]。研究发现,过表达miR-206降低了骨肉瘤细胞的增殖和转移能力^[8];低miR-98-5p水平的骨肉瘤患者生存明显恶化^[9]。本研究前期通过生物信息学方法预测发现,miR-185在细胞分裂周期蛋白42 (cell division cycle 42, CDC42) 基因的3'UTR上的潜在结合位点。CDC42作为Rho亚家族成员之一,已被证实在骨肉瘤中发挥促癌作用^[10]。而目前尚少见miR-185在骨肉瘤中作用的报道。本研究旨在分析miR-185以及CDC42在骨肉瘤组织和细胞中的表达情况,探究miR-185调控CDC42对骨肉瘤MG-63细胞增殖和迁移的影响,以及对裸鼠移植瘤生长的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂

人骨肉瘤细胞MG-63购自中国科学院上海细胞库。24只4~8周龄、体质量14~20 g的BALB/c雄性裸鼠购自河北医科大学实验动物公共服务平台[动物合格证号:SYXK(冀)2020-002]。miR-185 mimic、miR-185 inhibitor、CDC42过表达载体及各自的阴性对照、qPCR试剂盒、BCA蛋白质分析试剂盒、ECL检测试剂盒、TRIzol[®]试剂盒均购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,Transwell小室购自美国康宁公司,CCK-8试剂盒、抗CDC42一抗、HRP标记的兔二抗均购自美国Abcam公司。

1.2 组织样本及临床资料

研究中所有组织样本取自2020年1月至2021年1月衡水市第四人民医院经病理确诊为骨肉瘤的28例患者手术切除的肿瘤标本及癌旁组织标本,其中男性19例、女性8例,年龄11~23岁,中位年龄15岁。病理分析采用第8版骨肉瘤TNM分期标准,其中早期(I~II期)20例,晚期(III期)8例。纳入标准:(1)

经病理组织学确诊为骨肉瘤;(2)术前未接受化疗、放疗、分子靶向治疗及生物治疗;(3)身体其余部位未有感染性或系统性重大疾病者。研究方案获医院伦理委员会批准,并取得患者的知情同意。

1.3 细胞培养和转染

MG63细胞株使用含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养基,培养条件为37℃、含5% CO₂。将生长状态良好的MG63细胞按 5×10^5 个/孔接种于6孔板,培养24 h后,将细胞分为miR-185 mimic组、miR-NC组、miR-185 inhibitor组、NC-inhibitor组、CDC42组(转染CDC42过表达载体)及阴性对照(NC)组,按照转染试剂Lipofectamine[™] 2000试剂说明书对细胞进行转染。

1.4 qPCR法检测骨肉瘤组织与细胞中miR-185、CDC42 mRNA的表达水平

使用TRIzol从细胞或组织中提取总RNA,紫外分光光度法测定RNA的含量,琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。采用逆转录试剂盒将提取的总RNA合成cDNA,根据qPCR试剂盒说明书进行实验。miR-185的表达水平以U6为内参,CDC42 mRNA的表达以GAPDH为内参,qPCR检测结果以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。

1.5 WB法检测骨肉瘤组织与细胞中CDC42蛋白的表达水平

采用RIPA裂解液提取细胞或组织蛋白,遵照BCA法测定蛋白浓度,加入缓冲液后煮沸,使蛋白变性。每泳道加入50 μg蛋白,用12% SDS-PAGE分离蛋白,然后将蛋白转到PVDF膜上,5%脱脂奶粉37℃封闭1 h。加入一抗CDC42抗体(1:500),GAPDH抗体(1:1 000),GAPDH为内参。4℃处理过夜,TBST漂洗3次后加HRP标记的兔二抗(1:1 000),室温处理1 h。TBST洗涤3次。加入ECL液,于暗室内发光显影,采集图像并分析,采用ImageJ软件进行灰度值分析并计算目的蛋白相对表达量。

1.6 双荧光素酶报告基因实验检测miR-185与CDC42基因间的靶向关系

通过TargetScan预测发现,miR-185在CDC42基因3'UTR上的潜在结合位点,构建CDC42野生型3'UTR荧

光素酶报告基因质粒 pMIR-CDC42-WT 和突变型报告基因质粒 pMIR-CDC42-MUT, 将野生型或突变型报告基因质粒与 miR-NC、miR-185 mimic、NC-inhibitor 或 miR-185 inhibitor 共转染进 MG63 细胞。转染 24 h 后检测细胞中的荧光素酶活性, 实验结果所得数据为海肾荧光素酶与荧光虫荧光素酶的比值。

1.7 免疫组化检测 Ki67 以及 CDC42 蛋白在骨肉瘤组织中的表达水平

将骨肉瘤组织切片脱蜡入水, 微波加热法修复抗原, 温度 94 °C 左右, 10~15 min, 用 5% 羊血清封闭 (37 °C、60 min)。随后添加 1:100 比例稀释的 CDC42 抗体或 Ki67 抗体, 4 °C 过夜。加入兔二抗 (1:200), 37 °C 处理 30 min。滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 37 °C 处理 30 min。DAB 显色, 苏木精染色 2 min, 脱水, 封片, 选取 5 个高倍视野, 进行评分。(1) 计算阳性细胞百分比: <5% 为 0 分, 5%~<25% 为 1 分, 25%~<50% 为 2 分, 50%~<75% 为 3 分, ≥75% 为 4 分; (2) 按染色程度评分: 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。计算上述 2 项评分乘积: 0 分为阴性(-), 1~4 分为弱阳性(+), 5~8 分为阳性(++), 9~12 分为强阳性(+++)。

1.8 CCK-8 实验检测 miR-185 和 CDC42 的表达对 MG63 细胞增殖的影响

将转染后各组 MG63 细胞接种到 96 孔板, 继续培养 24、48、72、96 h, 根据 CCK-8 试剂盒说明书操作, 向个孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 37 °C 处理 1~2 h 后, 使用酶标仪测定 450 nm 处的光密度(D)值。

1.9 流式细胞术检测 miR-185 和 CDC42 的表达对 MG63 细胞周期的影响

将对数生长期的 MG63 细胞收集于 5 mL 离心管中, 用 0.01% 胰蛋白酶消化 30 min, 100×g 离心 5 min 后弃上清液, 再用预冷的 PBS 洗涤 1 次, 100×g 离心 5 min 后弃上清液, 收集细胞于后用 4 °C 预冷的 70% 乙醇固定细胞 1 h。用细胞染色液重悬细胞, 上流式细胞仪对各组 MG63 细胞周期进行检测。

1.10 划痕愈合实验检测 miR-185 和 CDC42 的表达对 MG63 细胞迁移的影响

收集经转染的各组细胞, 培养至细胞汇合率达到约 90% 时, 使用 200 μL 移液管吸头垂直于 6 孔板底部进行水平划线, 显微镜下观察并记录划痕宽度。24 h 后, 使用光学显微镜进行观察, 使用 ImageJ 软件测量划痕的宽度。划痕愈合率=[(0 h 时划痕宽度-24 h 时划痕宽度)/0 h 划痕宽度]×100%。

1.11 构建骨肉瘤 MG63 细胞裸鼠移植瘤模型

选取 BALB/c 裸鼠 24 只, 随机分为 miR-NC 组

($n=6$)、miR-185 mimic 组($n=6$)、NC-inhibitor 组($n=6$)和 miR-185 inhibitor 组($n=6$)。MG63 细胞转染后, 使用注射器向每只裸鼠的右后肢腋部注射细胞悬液 (1×10^7 个/只) 构建骨肉瘤 MG63 细胞裸鼠移植瘤模型, 正常饲养 21 d 后向裸鼠腹腔注射水合氯醛麻醉 (0.01 mL/g) 并引颈脱臼处死裸鼠, 从皮下去除其肿瘤组织并用甲醛固定。

1.12 统计学处理

采用 SPSS Statistics 22.0 统计软件进行分析, 符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组数据间的比较采用 t 检验, 3 组或 3 组以上的比较采用 one-way ANOVA, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

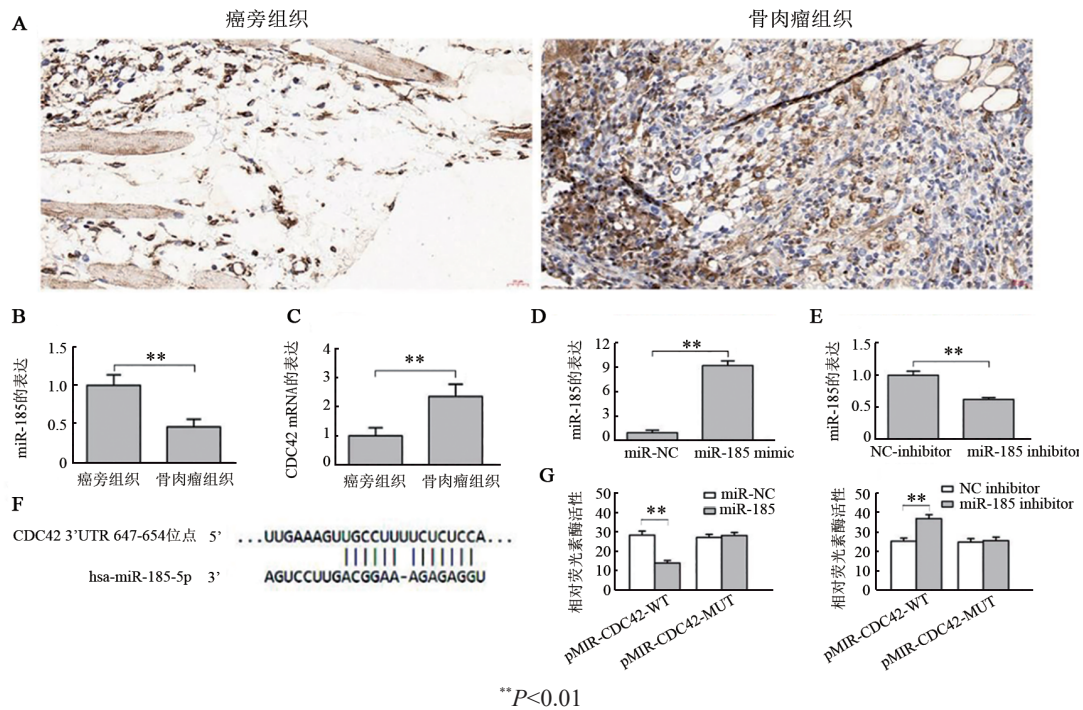
2.1 miR-185 和 CDC42 在骨肉瘤组织中的表达及两者的靶向关系

免疫组化法检测结果(图 1A)显示, 在骨肉瘤组织中 CDC42 蛋白表达水平明显高于癌旁组织; qPCR 检测结果(图 1B、C)显示, 与癌旁组织相比, 骨肉瘤组织中 miR-185 的表达显著降低, 而 CDC42 mRNA 表达显著升高(均 $P < 0.01$)。qPCR 检测结果(图 1D、E)显示, 转染 miR-185 mimic 明显上调了细胞中 miR-185 的表达, 而转染 miR-185 inhibitor 则导致 miR-185 的表达明显降低(均 $P < 0.01$)。

采用 TargetScan 软件预测发现, miR-185 在 CDC42 的 3'UTR 上具有潜在的结合位点(图 1F)。双荧光素酶报告基因实验检测结果(图 1G)显示, 与 NC 组相比, pMIR-CDC42-WT 质粒与 miR-185 mimic 共转染 MG63 细胞后, 荧光素酶活性明显降低 ($P < 0.01$); pMIR-CDC42-WT 与 miR-185 inhibitor 共转染后细胞内荧光素酶活性能明显增强 ($P < 0.01$); 而 pMIR-CDC42-MUT 质粒与 miR-185 inhibitor 共转染时, 荧光素酶活性无明显变化。

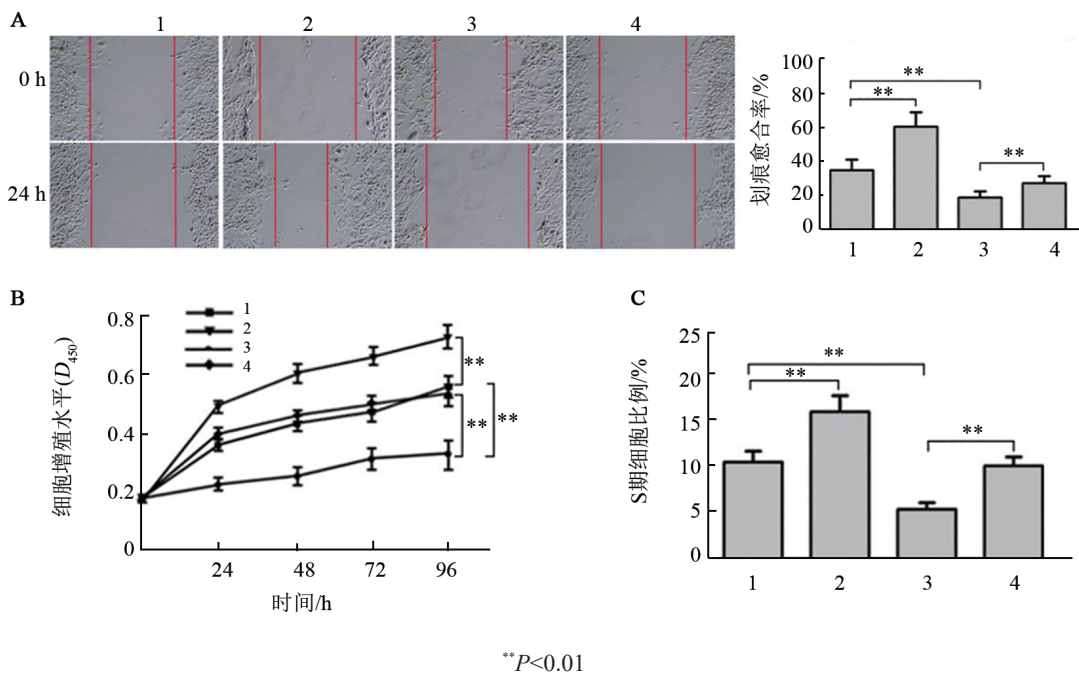
2.2 miR-185/CDC42 轴调控 MG63 细胞生物学功能

划痕愈合实验检测结果(图 2A)显示, 与 NC 组相比, 24 h 起即可观察到 CDC42 组 MG63 细胞的划痕愈合率显著升高 ($P < 0.01$), 而 miR-185 mimic 组细胞的划痕愈合率显著降低 ($P < 0.01$), miR-185 mimic 与 CDC42 过表达质粒共转染组细胞的划痕愈合率无显著变化。CCK-8 法(图 2B)与流式细胞术(图 2C)检测结果显示, miR-185 mimic 组 MG63 细胞增殖水平显著低于 NC 组 ($P < 0.01$), 细胞周期阻滞于 S 期 ($P < 0.01$), 而 CDC42 组则有相反的影响(均 $P < 0.01$); 共转染 miR-185 mimic 与 CDC42 过表达质粒后逆转了上述影响。



A: 免疫组化法检测 CDC42 在癌旁组织和骨肉瘤组织中的表达($\times 200$); B,C: qPCR 法检测骨肉瘤组织和癌旁正常组织中 miR-185 和 CDC42 mRNA 的表达; D,E: qPCR 法检测转染 miR-185 mimic 或 miR-185 inhibitor 对 MG63 细胞中 miR-185 表达的影响; F: TargetScan 软件预测 miR-185 在 CDC42 的 3'UTR 上的潜在结合位点; G: 双荧光素酶报告基因实验检测荧光素酶活性

图 1 miR-185 和 CDC42 在骨肉瘤组织中的表达及两者的靶向关系



1: NC 组; 2: CDC42 组; 3: miR-185 mimic 组; 4: miR-185 mimic+CDC42 组

A: 划痕愈合实验检测细胞的迁移能力($\times 100$); B: CCK-8 法检测细胞的增殖; C: 流式细胞术检测 S 期细胞比例

图 2 miR-185/CDC42 轴调控 MG63 细胞的生物学功能

2.3 miR-185 表达水平对骨肉瘤裸鼠移植瘤组织中 Ki67 与 CDC42 表达的影响

免疫组化法检测结果(图 3)显示, miR-185 mimic 组移植瘤组织中 Ki67 的表达水平明显低于对照组,

而 miR-185 inhibitor 组中 Ki67 的表达水平则明显升高(均 $P<0.01$); miR-185 mimic 组移植瘤组织中 CDC42 的表达水平显著降低, 而 miR-185 inhibitor 组移植瘤组织中 CDC42 的表达水平明显增加

(均 $P < 0.01$)。qPCR 和 WB 法检测结果(图4)显示, miR-185 mimic 组移植瘤组织中 CDC42 mRNA 和蛋

白表达显著低于 miR-NC 组, 而 miR-185 inhibitor 组中 CDC42 蛋白的表达则显著低于 NC inhibitor 组。

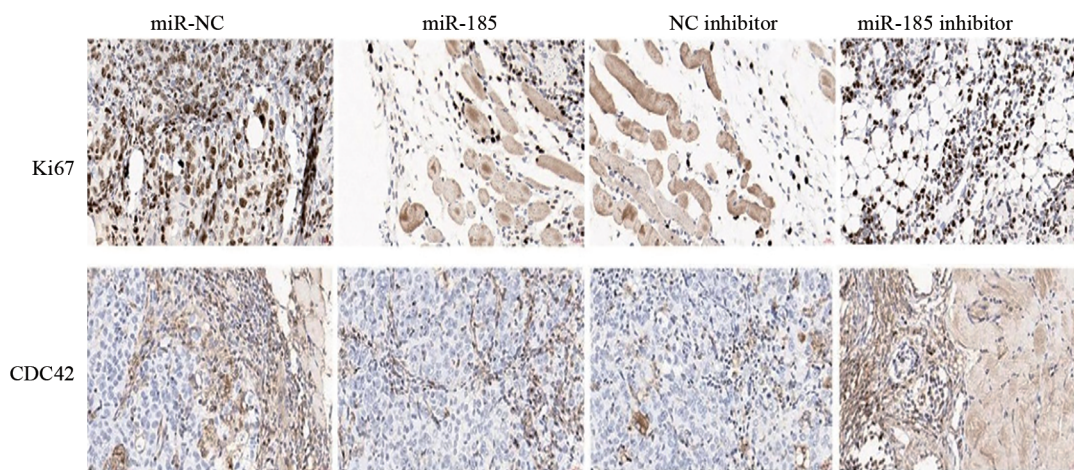
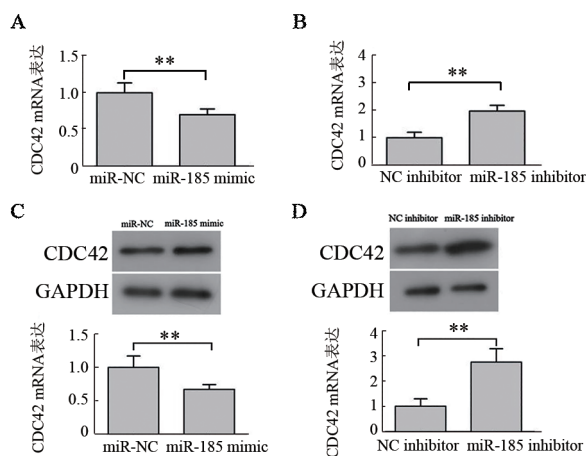


图3 免疫组化检测裸鼠移植瘤组织中 Ki67、CDC42 的表达($\times 200$)



** $P < 0.01$

A, B: qPCR 法检测过表达或敲降 miR-185 表达对移植瘤组织中 CDC42 mRNA 表达的影响; C, D: WB 法检测过表达或敲降 miR-185 表达对移植瘤组织中 CDC42 蛋白表达的影响

图4 过表达或敲降 miR-185 表达对移植瘤组织中 CDC42 mRNA 和蛋白表达的影响

3 讨论

miR-185 在多种癌症中的抑癌作用已经被证实^[11-12]。OSTADRAHIMI 等^[13]发现, miR-185 在前列腺癌中表达降低, 并且可以促进前列腺癌细胞的凋亡; YIN 等^[14]发现, miR-185 与乳腺癌肿瘤大小以及分化程度呈负相关。MUBARIK 等^[15]证实, miR-185 在骨肉瘤组织和细胞中异常低表达, 并进一步发现其可以通过靶向己糖激酶 2 调控骨肉瘤细胞的生长。本研究发现, miR-185 在骨肉瘤组织中呈低表达, 并进一步探究 miR-185 靶向 CDC42 在骨肉瘤中的调控机制。

预测分析靶基因是深入探究 miRNA 工作机制关键环节^[16-17], 本研究预测并证实 CDC42 是 miR-185 靶点之一。CDC42 作为 Rho 家族中的小分子 GTP 酶, 近年来在多种癌症中的作用已经被逐步阐明, 其中, SATTERFIELD 等^[18]发现 CDC42 在骨肉瘤中异常升高并受 miR-130 负调控。另一项研究结果^[10]显示, CDC42 在骨肉瘤细胞中呈高表达, 可促进 HOS 和 MG-63 细胞的黏附、侵袭和迁移。本研究也发现, CDC42 在骨肉瘤组织中呈现高表达。

肿瘤细胞增殖、转移是导致骨肉瘤患者死亡的主要原因^[19-20], 为进一步探究 miR-185 以及 CDC42 在骨肉瘤中的作用, 本研究进一步通过体外细胞实验发现, 过表达 miR-185 能有效地抑制 MG63 细胞的增殖和迁移并诱导 S 期阻滞, 而过表达 CDC42 则产生相反的影响, 在进一步的挽救实验中发现, miR-185 能部分逆转 CDC42 对细胞增殖、迁移和周期的影响。进一步通过构建骨肉瘤裸鼠移植瘤模型验证细胞实验结果, 发现过表达 miR-185 能有效抑制裸鼠移植瘤的细胞增殖, 而敲降 miR-185 则能促进细胞增殖, 与体外细胞实验结论一致。

综上所述, 本研究发现 miR-185 的异常低表达可能与骨肉瘤的发生发展有关, 上调 miR-185 的表达能抑制骨肉瘤 MG63 细胞的增殖和迁移并诱导 S 期阻滞, 且 miR-185 能逆转 CDC42 对 MG63 细胞的增殖、迁移和周期的影响, 提示 CDC42 是 miR-185 发挥调控作用的关键靶基因, miR-185 具有成为骨肉瘤治疗靶点的潜力。

[参考文献]

[1] CHANG J L, YAO M, LI Y M, *et al.* microRNAs for osteosarcoma

- in the mouse: a meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(51): 85650-85674. DOI:10.18632/oncotarget.13333.
- [2] GIANFERANTE D M, MIRABELLO L, SAVAGE S A. Germ line and somatic genetics of osteosarcoma-connecting aetiology, biology and therapy [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(8): 480-491. DOI: 10.1038/nrendo.2017.16.
- [3] CHEN F Y, ZENG Y B, QI X X, *et al.* Targeted salinomycin delivery with EGFR and CD133 aptamers based dual-ligand lipid-polymer nanoparticles to both osteosarcoma cells and cancer stem cells[J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(7): 2115-2127. DOI: 10.1016/j.nano.2018.05.015.
- [4] WANG J C, LIU S Z, SHI J Y, *et al.* The role of miRNA in the diagnosis, prognosis, and treatment of osteosarcoma[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2019, 34(10): 605-613. DOI: 10.1089/cbr.2019.2939.
- [5] 董志伟, 柳丽娟, 耿的玉, 等. miRNA-95 在骨肉瘤组织中的表达及其对 MG-63 细胞增殖和侵袭的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(8): 920-926. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.08.013.
- [6] CAI W T, GUAN P, LIN M X, *et al.* miRNA-206 suppresses the metastasis of osteosarcoma *via* targeting Notch3[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020, 34(3): 775-783. DOI: 10.23812/20-72-A-26.
- [7] CHEN G, ZHOU H. miRNA-708/CUL4B axis contributes into cell proliferation and apoptosis of osteosarcoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(17): 5452-5459. DOI: 10.26355/eurrev_201809_15805.
- [8] CAI W T, GUAN P, LIN M X, *et al.* miRNA-206 suppresses the metastasis of osteosarcoma *via* targeting Notch3[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020, 34(3): 775-783. DOI: 10.23812/20-72-A-26.
- [9] LIU X, CUI M. miRNA-98-5p inhibits the progression of osteosarcoma by regulating cell cycle *via* targeting CDC25A expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(22): 9793-9802. DOI:10.26355/eurrev_201911_19542.
- [10] LIU Z J, CHEN S G, YANG Y Z, *et al.* miR-29a inhibits adhesion, migration, and invasion of osteosarcoma cells by suppressing CDC42[J/OL]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(11): 4171-4180. [2021-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6949774/>.
- [11] ZHAO L L, ZHANG Y, LIU J X, *et al.* miR-185 inhibits the proliferation and invasion of non-small cell lung cancer by targeting KLF7[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(9): 1015-1023. DOI: 10.3727/096504018X15247341491655.
- [12] 杨冰琦, 陈文彬, 李永章, 等. 微小RNA-185 对前列腺癌细胞侵袭能力的影响及其机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(8): 1539-1541. DOI:10.3760/cma.j.cn421213-20201021-01377.
- [13] OSTADRAHIMI S, ABEDI VALUGERDI M, HASSAN M, *et al.* miR-1266-5p and miR-185-5p promote cell apoptosis in human prostate cancer cell lines[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(8): 2305-2311. DOI:10.22034/APJCP.2018.19.8.2305.
- [14] YIN C G, ZHANG G X, SUN R M, *et al.* miR-185-5p inhibits F-actin polymerization and reverses epithelial mesenchymal transition of human breast cancer cells by modulating RAGE[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3): 2621-2630. DOI:10.3892/mmr.2018.9294.
- [15] MUBARIK S, MALIK S S, WANG Z K, *et al.* Recent insights into breast cancer incidence trends among four Asian countries using age-period-cohort model[J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 8145-8155[2021-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6731990/>. DOI:10.2147/CMAR.S208323.
- [16] LIN H Y, ROTHE K, CHEN M, *et al.* The miR-185/PAK6 axis predicts therapy response and regulates survival of drug-resistant leukemic stem cells in CML[J]. *Blood*, 2020, 136(5): 596-609. DOI: 10.1182/blood.2019003636.
- [17] BIBAKI E, TSITOURA E, VASARMIDI E, *et al.* miR-185 and miR-29a are similarly expressed in the bronchoalveolar lavage cells in IPF and lung cancer but common targets DNMT1 and COL1A1 show disease specific patterns[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 7105-7112. DOI:10.3892/mmr.2018.8778.
- [18] SATTERFIELD L, SHUCK R, KURENBKOVA L, *et al.* miR-130b directly targets ARHGAP1 to drive activation of a metastatic CDC42-PAK1-API positive feedback loop in Ewing sarcoma[J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(10): 2062-2075. DOI:10.1002/ijc.30909.
- [19] WANG F, ZHAO Q H, LIU J Z, *et al.* miRNA-188-5p alleviates the progression of osteosarcoma *via* target degrading CCNT2[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(1): 29-35. DOI:10.26355/eurrev_202001_19892.
- [20] BIRRU B, DURTHI C P, KACHAM S, *et al.* Stem cells in tumour microenvironment aid in prolonged survival rate of cancer cells and developed drug resistance: major challenge in osteosarcoma treatment[J]. *Curr Drug Metab*, 2020, 21(1): 44-52. DOI:10.2174/1389200221666200214120226.

[收稿日期] 2021-09-11

[修回日期] 2022-01-20

[本文编辑] 黄静怡