

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.10.004

· 基础研究 ·

miR-515-5p 通过靶向 HDAC2 影响食管癌发生发展的分子机制

朱永刚^{ab}, 苏鹏^a, 孟令娇^b, 黄超^a, 王明博^a, 单保恩^b (河北医科大学第四医院 a. 胸外科; b. 科研中心, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-515-5p 对食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其分子机制。**方法:** 选取 2020 年 6 月至 2020 年 12 月在河北医科大学第四医院手术切除的 60 例食管癌患者的癌组织标本和 20 例健康成人的食管上皮组织标本, 以及食管癌细胞 TE1、Eca109、KYSE30 和 KYSE170, 用 qPCR 法检测食管癌组织和细胞中 miR-515-5p 的表达水平。在 Eca109 细胞中转染 miR-515-5p 模拟物以及其阴性对照物、在 TE1 细胞中转染 miR-515-5p 抑制剂以及其阴性对照物, qPCR 法检测转染效率, 用 CCK-8 法、Transwell 实验分别检测转染细胞的增殖、迁移及侵袭能力。采用生物信息学方法分析预测 miR-515-5p 的下游靶基因, 双荧光素酶报告基因实验验证组蛋白去乙酰化酶 2 (histone deacetylase 2, HDAC2) 为 miR-515-5p 的靶基因。应用 GEPIA 和 TCGA 数据集分析 HDAC2 在食管癌组织中的表达及其与患者临床特征的关系。**结果:** miR-515-5p 在食管癌组织及细胞中表达降低 (均 $P < 0.01$)。过表达 miR-515-5p 抑制食管癌 Eca109 细胞的增殖、迁移和侵袭能力 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而敲低 miR-515-5p 表达则可增强食管癌 TE1 细胞的增殖、侵袭和迁移能力 (均 $P < 0.05$)。双荧光素酶报告基因分析证明, HDAC2 是 miR-515-5p 的靶基因。qPCR 和 WB 实验结果显示, miR-515-5p 对 HDAC2 mRNA 和蛋白表达具有负调控作用。挽救实验证实 miR-515-5p 通过靶向 HDAC2 抑制食管癌 Eca109 细胞的增殖、迁移和侵袭能力 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** miR-515-5p 通过靶向 HDAC2 影响食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

[关键词] 食管癌; miR-515-5p; 组蛋白去乙酰化酶 2; Eca109 细胞; TE1 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.2; R 730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)10-0889-07

miR-515-5p effects the carcinogenesis of esophageal cancer *via* targeting HDAC2 and its molecular mechanism

ZHU Yonggang^{ab}, SU Peng^a, MENG Lingjiao^b, HUANG Chao^a, WANG Mingbo^a, SHAN Baoen^b (a. Department of Thoracic Surgery; b. Scientific Research Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of miR-515-5p on proliferation, migration and invasion of esophageal cancer (EC) cells and the molecular mechanism. **Methods:** Cancer tissue specimens from 60 patients with esophageal cancer that surgically resected at the Fourth Hospital of Hebei Medical University from June 2020 to December 2020, esophageal epithelial tissue specimens from 20 healthy adults, as well as esophageal cancer cell lines (TE1, Eca109, KYSE30 and KYSE170) were selected for this study. Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qPCR) was performed to detect miR-515-5p expression in above mentioned EC tissues and cells. Eca109 cells were transfected with miR-515-5p mimics or its negative controls, and TE1 cells were transfected with miR-515-5p inhibitors or its negative controls. The transfection efficiency was detected by qPCR, and the proliferation, migration and invasion of transfected cells were detected by CCK-8 assay and transwell assay respectively. Bioinformatics tools were used to predict the downstream target genes of miR-515-5p, and HDAC2 (histone deacetylase 2) was verified to be a target gene of miR-515-5p by dual luciferase reporter gene assay. GEPIA and TCGA databases were used to analyze the expression of HDAC2 in EC tissues and its correlation with clinical characteristics of EC patients. **Results:** miR-515-5p was downregulated in EC tissues and cells (all $P < 0.01$). Over-expression of miR-515-5p inhibited the proliferation, migration and invasion ability of Eca109 cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while down-regulation of miR-515-5p enhanced the proliferation, migration and invasion ability of TE1 cells (both $P < 0.05$). Furthermore, HDAC2 was demonstrated to be a target gene of miR-515-5p by dual luciferase reporter gene assay. qPCR and Western blotting results showed that miR-515-5p negatively regulated the mRNA and protein expression of HDAC2. Rescue experiments confirmed that miR-515-5p inhibited the proliferation, migration and invasion ability of esophageal cancer Eca109 cells by targeting HDAC2 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** miR-515-5p affects proliferation, migration and invasion of EC cells by targeting HDAC2.

[Key words] esophageal cancer; miR-515-5p; histone deacetylase 2 (HDAC2); Eca109 cell; TE1 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(10): 889-895. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.10.004]

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划资助项目 (No.20210074)

[作者简介] 朱永刚 (1976—), 男, 博士, 主治医师, 主要从事食管癌和肺癌的基础与临床治疗研究, E-mail: zyghbyd@163.com

[通信作者] 单保恩, E-mail: baoenshan@hotmail.com

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤。根据2020年发布的全球癌症统计数据,食管癌病死率位列肿瘤致死的第七,患者的5年生存率仅20%^[1]。中国是世界上食管癌发病率和病死率最高的国家,其严重威胁着人民的生命健康^[2]。手术切除是目前治疗食管癌的首选方法。但是,由于食管癌缺乏早期的特异性症状,大多数患者容易失去最佳手术时机,导致生活质量下降和不良预后。尽管近年来在食管癌的诊断和治疗方面取得了一些进展,但食管癌发生发展的确切机制仍不完全清楚。miRNA是一组内源性的非编码RNA,通过与其下游基因mRNA的3'非翻译区(3'UTR)直接相互作用,在基因表达调控中发挥重要作用^[3]。研究结果^[4]发现,有许多miRNA作为癌基因或抑癌基因参与癌症发生发展相关的生物学过程,如细胞增殖、迁移和侵袭。miR-515-5p在肺癌、前列腺癌中发挥抑癌基因的作用^[5-6]。本研究在分析miR-515-5p基因结构的基础上,用qPCR法检测miR-515-5p在食管癌组织和细胞中的表达水平,通过在Eca109细胞过表达、TE1细胞中敲低miR-515-5p表达,探讨miR-515-5p对食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其分子机制,为临床食管癌的诊断、治疗和预后评估提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 组织标本、细胞及主要试剂

选取2020年6月至2020年12月在河北医科大学第四医院胸外科行肿瘤切除术的60例原发性食管癌患者的癌组织标本(术后均经病理确诊为食管癌),立即置于RNA保存液中(后续将组织抽提为RNA);并选取20例健康成人志愿者的食管上皮组织标本作为对照。所有患者和志愿者术前均告知并签署知情同意书,研究方案经所在医院医学伦理委员会审查批准(2020ky357)。

人食管癌细胞TE1、Eca109、KYSE30和KYSE170均购自武汉普诺赛生命科技有限公司。RPMI 1640培养基、青链霉素双抗混合液、胰蛋白酶购自美国Gibco公司,胎牛血清购自上海依科赛生物制品有限公司,TRIzol试剂盒购自美国Invitrogen公司,qPCR Mix及双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司,Hiperfect转染试剂购自德国QIAGEN公司,miR-515-5p模拟物(mimic)及其阴性对照物(NC mimic)、miR-515-5p抑制剂(inhibitor)及其阴性对照物(NC inhibitor)均购自广州锐博生物技术有限公司,CCK-8试剂盒购自美国MCE公司,Transwell小室购自美国Corning公司,基质胶购自美国BD公司,组蛋白去乙酰化酶2(histone deacetylase 2, HDAC2)

抗体购自美国Abcam公司, β -actin抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的兔二抗购自Proteintech公司,PVDF膜及ECL发光液购自美国Millipore公司。

1.2 细胞培养、转染及分组

TE1、Eca109、KYSE30和KYSE170细胞在含10%胎牛血清及1%青链霉素的RPMI 1640培养基中,并置于含5%CO₂的37℃恒温培养箱中培养。取对数生长期的Eca109和TE1细胞,消化、重悬、计数,取5×10⁵个细胞接种与6孔板中。按照Hiperfect转染试剂说明书推荐的转染方法,将miR-515-5p mimic、NC mimic转染到Eca109细胞,将miR-515-5p inhibitor和NC inhibitor转染到TE1细胞。实验分为miR-515-5p mimic组、NC mimic组、miR-515-5p inhibitor组和NC inhibitor组。转染6~8 h后,更换完全培养基,继续培养24~48 h进行后续实验。

1.3 qPCR法检测食管癌组织及细胞中miR-515-5p和HDAC2 mRNA的表达水平

使用TRIzol试剂分别提取食管癌组织和细胞的总RNA,将总RNA逆转录为cDNA,再以cDNA为模板进行qPCR扩增反应。qPCR反应条件:95℃预变性5 min;95℃变性15 s,58℃退火30 s,72℃延伸30 s,共40个循环。qPCR引物序列:miR-515-5p上下游引物序列广州锐博生物技术有限公司未提供;U6:上游引物为5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物为5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3';HDAC2上游引物为5'-ACCTCCGATTCCGAGCTTTC-3',下游引物为5'-TCATTTCTTCGGCAGTGGCT-3';GAPDH上游引物为5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3',下游引物为5'-GCCCAATACGACCAAATCC-3'。以U6或GAPDH作为内参照,采用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算miR-515-5p或HDAC2 mRNA的相对表达量。

1.4 双荧光素酶报告基因实验检测miR-515-5p的下游靶基因

构建HDAC2野生型(WT)及突变型(MUT)的3'UTR质粒,将HDAC2 mRNA 3'UTR合成并克隆至pGL3载体中。将4×10⁴个细胞/孔接种于12孔板中,次日将pGL3-HDAC2 3'UTR WT或MUT重组载体与miR-515-5p mimic或NC mimic共转染食管癌细胞。转染48 h后,收集细胞,用双荧光素酶报告基因检测试剂盒测定各组转染细胞的荧光素酶活性。

1.5 CCK-8法检测miR-515-5p变化对食管癌细胞增殖能力的影响

取对数生长期的各组转染细胞,以4×10⁴个/mL接种于96孔板(100 μ L/孔)中。分别于转染后0、24、48、72、96 h时,在每孔中加入10 μ L CCK-8试剂,轻

轻混匀后置于 37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中培养 1~2 h。用酶标仪 450 nm 波长处检测每孔细胞的光密度(*D*)值,以 *D* 值代表细胞的增殖水平。

1.6 Transwell 实验检测 miR-515-5p 变化对食管癌细胞迁移和侵袭能力的影响

细胞迁移实验:将转染后各组对数生长期 Eca109 细胞或 TE1 细胞进行消化、重悬和计数,取 200 μL 密度为 2×10⁵ 个/mL 的细胞悬液接种于 Transwell 上室中,下室中加入 600 μL 完全培养基。在培养 48 h 后取出 Transwell 小室,清洗后,用 4% 多聚甲醛固定 20 min,在 0.1% 结晶紫染色 10 min。在光学显微镜下观察、统计穿膜细胞数,并随机选取 3 个视野拍照。细胞侵袭实验:除在 Transwell 上室预铺基质胶外,其余操作步骤同细胞迁移实验。

1.7 WB 法检测 Eca109 细胞中 HDAC2 蛋白的表达

收集 NC mimic 及 miR-515-5p mimic 两组 Eca109 细胞,并用含 1% 蛋白酶 K 的 RIPA 裂解液冰上裂解 30 min,离心后取上清即为细胞总蛋白。变性后的蛋白质经 10%SDS-PAGE 分离,再将蛋白质条带转移至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后加入 HDAC2(1:1 000)及 β-actin 抗体(1:1 000),4 °C 下过夜处理。次日,加入 HRP 标记的兔二抗(1:10 000),室温中处理 2 h 后加入 ECL 发光液显影。采用 ImageJ 软件分析蛋白条带的灰度值,以 HDAC2/β-actin 的灰度比值表示 HDAC2 蛋白的相对表达量。

1.8 生物信息学分析 miR-515-5p 可能参与的信号通路

应用 DIANA TOOLS 工具预测 hsa-miR-515-5p 可能参与的信号通路。应用 TargetScan 数据库预测 miR-515-5p 的下游靶基因。应用 GEPIA 数据库分析 HDAC2 在食管癌组织和正常食管上皮组织中的差异表达。根据食管癌样本类型、组织学类型、肿瘤分期、肿瘤分级和淋巴结转移状况的不同,应用 UALCAN 数据库分析 TCGA 数据集中食管癌 HDAC2 的表达水平。

1.9 统计学处理

以上主要实验均独立重复 3 次。采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,呈正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据比较采用 *t* 检验,多组间数据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 miR-515-5p 的基因结构及其在食管癌组织及细胞中的表达

成熟的 miR-515-5p 是由 83 个核苷酸茎环的 miR-515 衍生而来,图 1A 展示了 miR-515 在人类基因组 chr19(q13.42)区域的基因结构(数据来源于 miRBase)。

qPCR 法检测结果(图 1B)显示,miR-515-5p 在食管癌组织中的表达水平显著低于正常食管上皮组织($P < 0.01$)。临床数据分析发现,临床分期越高的食管癌组织中 miR-515-5p 的表达水平越低($P < 0.01$;图 1C)。在食管癌 TE1、Eca109、KYSE30、KYSE170 细胞中,Eca109 细胞中 miR-515-5p 的相对表达水平最低、TE1 细胞中相对表达水平最高(图 1D)。因此,选择 Eca109 和 TE1 细胞进行后续的生物功能实验。

2.2 过表达或敲低 miR-515-5p 降低或提高食管癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力

转染 miR-515-5p mimic 或 miR-515-5p inhibitor 后,与 NC mimic 或 NC inhibitor 组比较:miR-515-5p mimic 组 Eca109 细胞中 miR-515-5p 表达水平显著升高、miR-515-5p inhibitor 组 TE1 细胞中 miR-515-5p 表达水平显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$,图 2A);miR-515-5p mimic 组 Eca109 细胞的增殖能力显著下降、miR-515-5p inhibitor 组 TE1 细胞的增殖能力显著升高(均 $P < 0.05$,图 2B);miR-515-5p mimic 组 Eca109 细胞的迁移和侵袭能力均显著降低、miR-515-5p inhibitor 组 TE1 细胞的迁移和侵袭能力均显著增强($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图 2C)。实验结果表明,过表达 miR-515-5p 显著降低食管癌 Eca109 细胞的增殖、迁移和侵袭能力,敲低 miR-515-5p 则显著提高食管癌 TE1 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

2.3 HDAC2 是 miR-515-5p 的直接靶标

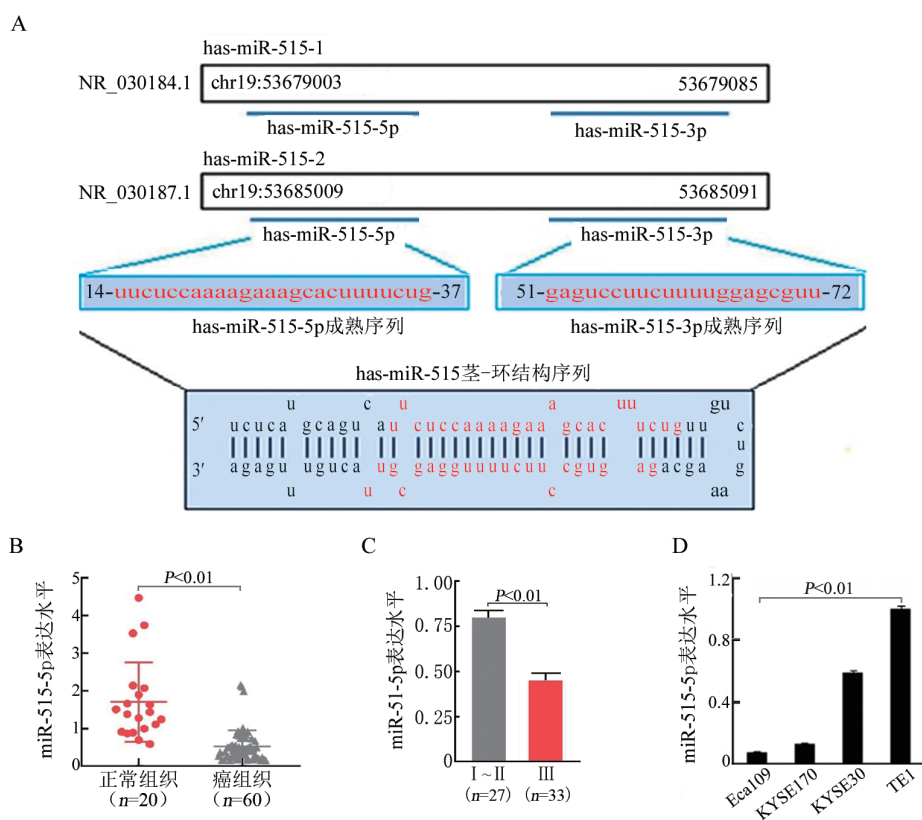
KEGG 通路分析结果显示,miR-515-5p 与癌症的信号通路显著相关(图 3A);利用 TargetScan 数据库对 miR-515-5p 的下游靶基因进行了预测,结果表明 HDAC2 的 3'UTR 区存在两个 miR-515-5p 的结合位点(图 3B)。双荧光素酶报告基因实验结果(图 3C)显示,miR-515-5p mimic 抑制了 WT HDAC2 3'UTR 的荧光素酶活性($P < 0.01$),但对 MUT HDAC2 3'UTR 的荧光素酶活性几乎没有影响($P > 0.05$)。随后,在 Eca109 细胞中进行了 miR-515-5p 的过表达实验,qPCR 法和 WB 法实验结果显示,转染 miR-515-5p mimic 后,Eca109 细胞中 HDAC2 mRNA 和蛋白表达水平均显著下降(均 $P < 0.01$,图 3D、E)。实验结果表明,HDAC2 是 miR-515-5p 的直接靶标。

2.4 miR-515-5p 通过靶向 HDAC2 抑制食管癌 Eca109 细胞的增殖、侵袭和迁移

GEPIA 数据库资料分析结果(图 4A)显示,与正常食管上皮组织相比,HDAC2 在食管癌组织中表达显著上调($P < 0.05$)。此外,根据样本类型(图 4B)、组织学类型(图 4C)、临床肿瘤分期(图 4D)、肿瘤分级(图 4E)和淋巴结转移状况(图 4F),应用 UALCAN 数据库对 TCGA 数据集中 HDAC2 在食管癌中的表达进行了分析。结

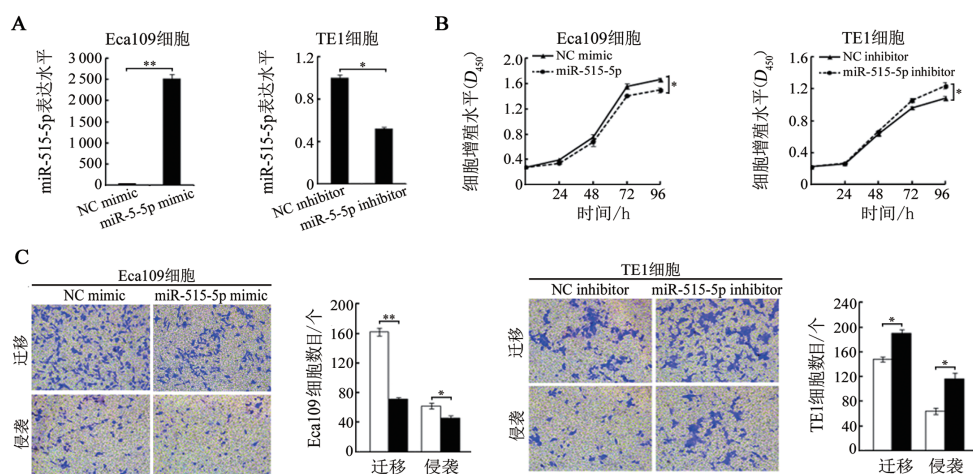
果显示:在临床分期高、肿瘤分级高、淋巴结转移数量多的样本中,HDAC2的表达水平更高(均 $P<0.05$)。为了进一步验证 miR-515-5p 是否通过靶向 HDAC2 而抑制食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,将 miR-515-5p mimic 和 HDAC2 过表达载体共转染 Eca109 细胞,检测转染细胞的增殖、迁移和侵袭能力。检测结果(图 4G)

显示,过表达 HDAC2 后,miR-515-5p 对细胞增殖的抑制作用明显减弱。同样的,过表达 HDAC2 后,miR-515-5p 对 Eca109 细胞迁移和侵袭的抑制作用也被减弱($P<0.05$ 或 $P<0.01$, 图 4H、4I)。以上结果提示,miR-515-5p 通过靶向 HDAC2 调控食管癌 Eca109 细胞的增殖、迁移和侵袭(图 5)。



A: 人类基因组 chr19(q13.42)区 miR-515 的基因结构; B: 60 例食管癌组织与 20 例正常食管上皮组织中 miR-515-5p 表达差异; C: 不同临床分期食管癌组织中 miR-515-5p 的表达 (n=60); D: qPCR 法检测食管癌细胞中 miR-515-5p 的表达水平

图 1 miR-515-5p 基因结构及其在食管癌组织和细胞中的表达水平



* $P<0.05$, ** $P<0.01$

A: qRRCR 法检测 miR-515-5p mimic 或 miR-515-5p inhibitor 在食管癌细胞中的转染效率; B: CCK-8 法检测转染细胞的增殖能力; C: Transwell 实验检测转染细胞的迁移和侵袭能力 (结晶紫染色, ×200)

图 2 过表达或敲低 miR-515-5p 对食管癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响

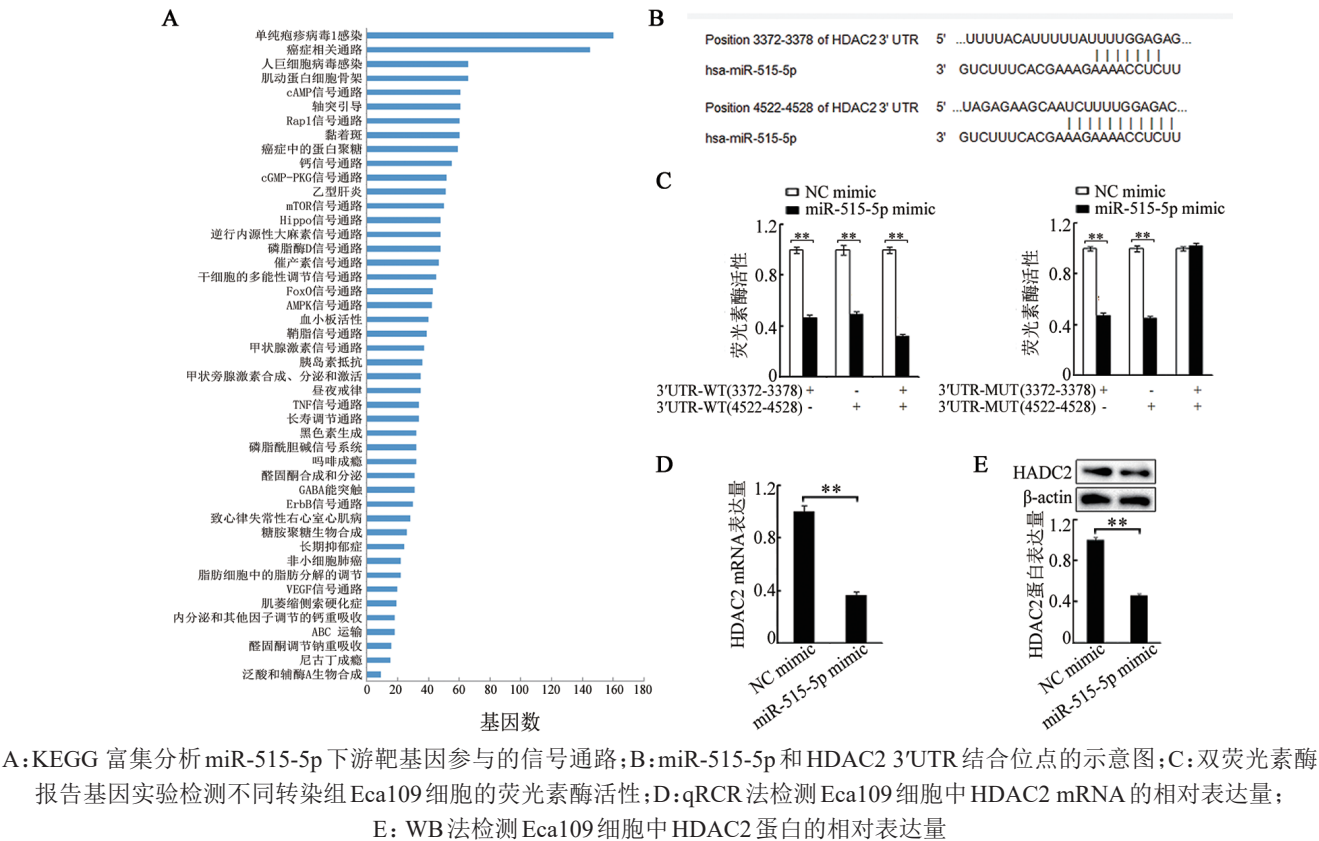
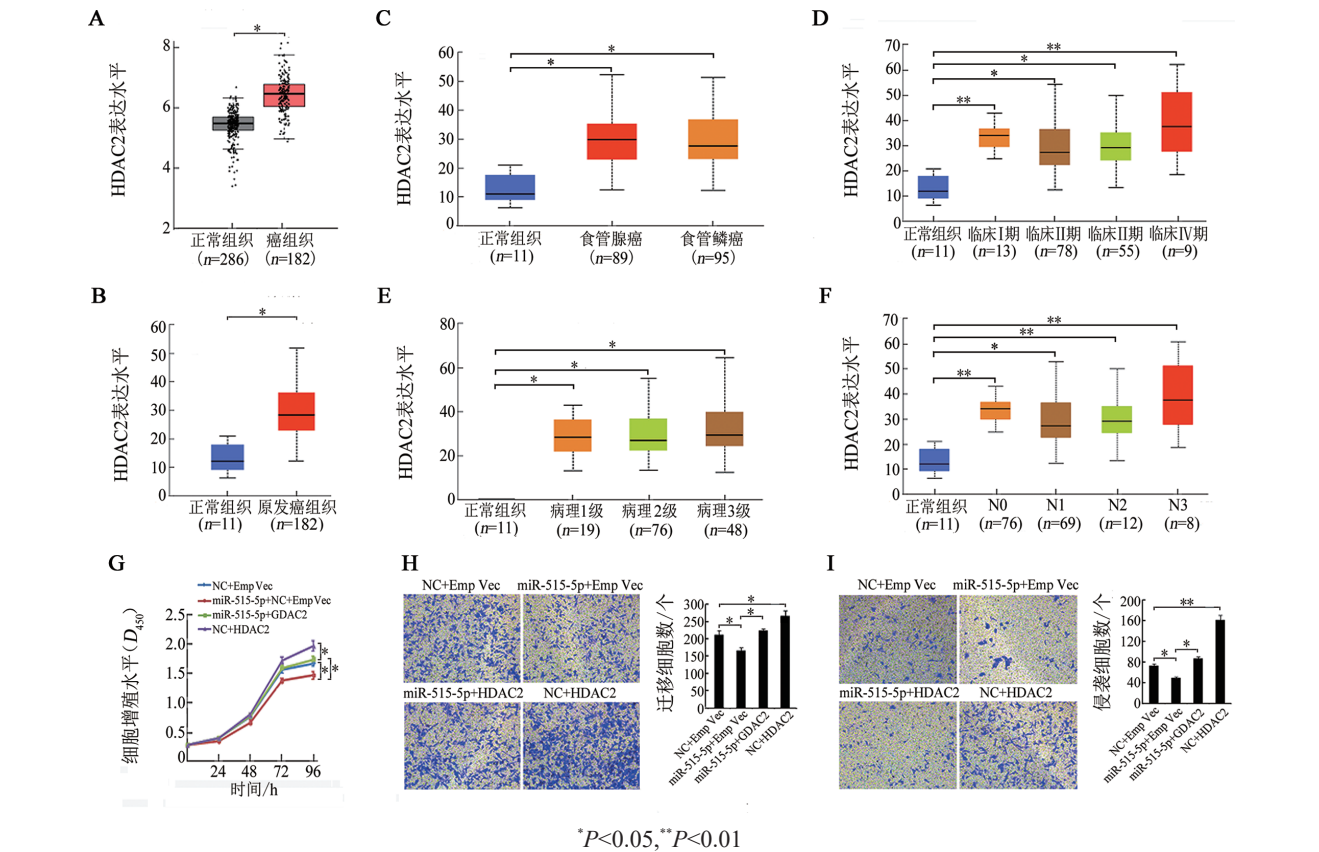


图3 在食管癌中细胞中 HDAC2 是 miR-515-5p 的直接靶标



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

A、B: GEPIA(A)、UALCAN(B)数据库分析 HDAC2 在食管癌组织中的表达水平; C~F: UALCAN 数据库分析 HDAC2 在食管癌组织中的表达与患者临床特征的关系; G: CCK-8 实验检测 miR-515-5p mimic 和 HDAC2 过表达载体共转染对 Eca109 细胞增殖能力的影响; H、I: Transwell 实验检测 miR-515-5p mimic 和 HDAC2 过表达载体共转染对细胞迁移、侵袭能力的影响 (结晶紫染色, $\times 200$)

图4 miR-515-5p 通过靶向 HDAC2 抑制食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭

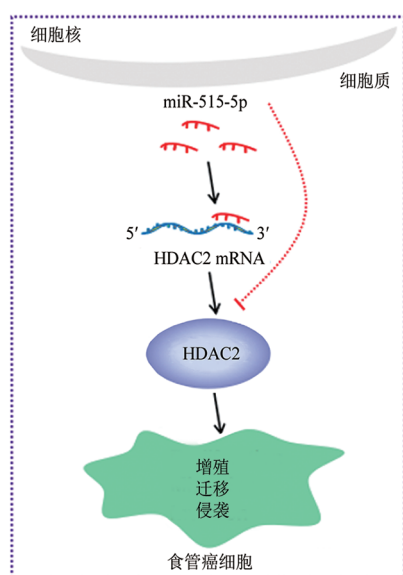


图5 miR-515-5p通过靶向HDAC2调控食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭的示意图

3 讨论

miRNA是一种常见的非编码RNA,全长约21个核苷酸,广泛存在于动物、植物和病毒中^[7-10]。miRNA的主要作用机制是通过与靶基因的3'UTR区结合,抑制靶基因的表达,导致靶基因转录后沉默^[11]。本研究探讨了miR-515-5p对食管癌细胞的生物学功能的影响,并发现其通过靶向HDAC2发挥抑制食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用,为食管癌的发生发展提供了新的实验依据。

研究结果^[12-17]表明,miR-515-5p参与肿瘤的发生发展,且可作为lncRNA和circRNA的分子海绵。本研究采用qPCR法对食管癌细胞进行筛选,结果发现miR-515-5p在Eca109细胞中表达水平最低,在TE1细胞中表达水平最高。转染miR-515-5p mimic后,Eca109细胞的增殖、迁移及侵袭能力均显著下降;而转染miR-515-5p inhibitor后,TE1细胞的增殖、迁移及侵袭能力均显著升高。为进一步研究miR-515-5p在食管癌发生发展中的作用,应用KEGG分析探讨了miR-515-5p可能介导的下游信号转导通路,发现其影响了多条与癌症发生发展相关的信号通路。通过生物信息学分析对miR-515-5p可能的下游靶基因进行了预测,发现HDAC2可能是miR-515-5p的下游靶基因,通过双荧光素酶报告基因实验证实了miR-515-5p可以直接靶向HDAC2基因的3'UTR。本研究结果提示,HDAC2可能作为miR-515-5p的靶基因,抑制食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭。据报道,miR-515-5p通过与一些已知的癌基因直接相互作用,在多种肿瘤中发挥肿瘤抑制作用。例如,miR-515-5p可以通过调节MARK4来抑制乳腺癌和

肺癌细胞的迁移和转移^[18]。miR-515-5p还可能通过靶向CBX4抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[19]。也有研究^[20]认为,miR-515-5p通过靶向CXCL6抑制非小细胞肺癌细胞的转移。与上述研究结果一致的是,本研究结果表明miR-515-5p在食管癌中发挥着重要的肿瘤抑制作用。

综上所述,本研究结果表明miR-515-5p抑制食管癌细胞的增殖、侵袭及迁移,并通过直接靶向HDAC2发挥抑制食管癌发生发展的生物学作用。但关于为何miR-515-5p在食管癌组织中低表达?其低表达的分子机制是什么?还需要进一步研究。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21590.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [3] BARTELL D P. microRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297. DOI:10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
- [4] DI LEVA G, GAROFALO M, CROCE C M. microRNAs in cancer[J]. Annu Rev Pathol, 2014, 9: 287-314. DOI: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715.
- [5] ZHANG X Y, ZHOU J, XUE D W, *et al.* miR-515-5p acts as a tumor suppressor via targeting TRIP13 in prostate cancer[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 129: 227-232. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.127.
- [6] LI J, TANG Z Y, WANG H Y, *et al.* CXCL6 promotes non-small cell lung cancer cell survival and metastasis via down-regulation of miR-515-5p[J]. Biomedicine Pharmacother, 2018, 97: 1182-1188. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.11.004.
- [7] 谷丽娜, 桑梅香, 刘思桦, 等. miRNA-26b-3p通过靶向STAT3调控食管鳞状细胞癌细胞的增殖和迁移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(12): 1151-1159. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.001.
- [8] NI J S, ZHENG H, OU Y L, *et al.* miR-515-5p suppresses HCC migration and invasion via targeting IL6/JAK/STAT3 pathway[J]. Surg Oncol, 2020, 34: 113-120. DOI:10.1016/j.suronc.2020.03.003.
- [9] YUAN X W, YAN T Q, TONG H L. Effect of miR-515-5p on proliferation and drug sensitivity of retinoblastoma cells[J/OL]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 12087-12098[2022-07-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7700094/>. DOI: 10.2147/CMAR.S271165.
- [10] WEN L J, WANG Y S, TAN P Y. miR-515-5p inhibits the proliferation, migration and invasion of human breast cancer cells by targeting CBX4[J/OL]. Exp Ther Med, 2021, 22(5): 1328[2022-07-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8495589/>. DOI: 10.3892/etm.2021.10763.
- [11] DING X, FU Q Y, CHEN W X, *et al.* Targeting of MAD2L1 by miR-515-5p involves the regulation of cell cycle arrest and apoptosis of colorectal cancer cells[J]. Cell Biol Int, 2022, 46(5): 840-848. DOI:10.1002/cbin.11774.

- [12] LI F, ZHANG L X, SUN Q. CircAKT3 promotes cell proliferation, survival and glutamine metabolism of gastric cancer by activating SLC1A5 expression *via* targeting miR-515-5p[J]. *Histol Histopathol*, 2022, 37(3): 227-241. DOI:10.14670/HH-18-401.
- [13] SHI P X, LI Y T, GUO Q S. Circular RNA circPIP5K1A contributes to cancer stemness of osteosarcoma by miR-515-5p/YAP axis[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 464. DOI:10.1186/s12967-021-03124-6.
- [14] CUPERUS J T, FAHLGREN N, CARRINGTON J C. Evolution and functional diversification of MIRNA genes[J]. *Plant Cell*, 2011, 23(2): 431-442. DOI:10.1105/tpc.110.082784.
- [15] LU T X, ROTHENBERG M E. microRNA[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1202-1207. DOI:10.1016/j.jaci.2017.08.034.
- [16] DEBNATH T, DEB NATH N C, KIM E K, *et al.* Role of phytochemicals in the modulation of miRNA expression in cancer[J]. *Food Funct*, 2017, 8(10): 3432-3442. DOI:10.1039/c7fo00739f.
- [17] KROL J, LOEDIGE I, FILIPOWICZ W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay[J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11(9): 597-610. DOI:10.1038/nrg2843.
- [18] PARDO O E, CASTELLANO L, MUNRO C E, *et al.* miR-515-5p controls cancer cell migration through MARK4 regulation[J/OL]. *EMBO Rep*, 2016, 17(4): 570-584[2022-07-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4818771/>. DOI:10.15252/embr.201540970.
- [19] HUANG F J, DANG J Q, ZHANG S, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0008039 promotes proliferation, migration and invasion of breast cancer cells through upregulating CBX4 *via* sponging miR-515-5p [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(4): 1887-1898. DOI: 10.26355/eurev_202002_20367.
- [20] LI J, TANG Z Y, WANG H Y, *et al.* CXCL6 promotes non-small cell lung cancer cell survival and metastasis via down-regulation of miR-515-5p[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, 97: 1182-1188. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.11.004.
- [收稿日期] 2022-07-08 [修回日期] 2022-09-08
[本文编辑] 党瑞山