

miR-27a 靶向调控 SFRP1 对结直肠癌生物学行为的影响

司马学琴¹, 苏延停², 曾智³

摘要 目的 探讨 miR-27a 在结直肠癌中的表达,并分析其靶向调控分泌型卷曲相关蛋白 1(SFRP1)对人结直肠癌细胞 HCT116 生物学行为的影响。方法 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测结直肠癌组织及癌旁正常组织中 miR-27a 和 SFRP1 mRNA 的表达情况;Western blot 检测结直肠癌组织及癌旁正常组织中 SFRP1 蛋白表达水平;运用 TargetScan 预测软件及双荧光素酶报告基因实验检测 miR-27a 对 SFRP1 的靶向调控作用;将 miR-27a 模拟物(miR-27a mimic)、miR-27a 抑制物(miR-27a inhibitor)及阴性对照(NC)转染至 HCT116 细胞中;采用 qRT-PCR 测定各组细胞中 miR-27a 和 SFRP1 mRNA 的表达水平;运用四唑盐(MTT)比色法检测各组细胞增殖情况;Transwell 实验评估各组细胞侵袭和迁移能力;Western blot 检测各组细胞中 SFRP1、Wnt/ β -catenin 信号通路中的关键因子 Wnt4 和 β -catenin 的蛋白表达水平。结果 与癌旁正常组织相比,miR-27a 在结直肠癌组织中高表达,而 SFRP1 在结直肠癌组织中低表达($P < 0.05$);TargetScan 预测软件和双荧光素酶报告基因实验表明 miR-27a 靶向调控 SFRP1;与 NC 组相比,miR-27a mimic 组 miR-27a 表达水平升高,细胞增殖、侵袭和迁移能力增强,SFRP1 蛋白表达降低,Wnt4 和 β -catenin 蛋白表达增加($P < 0.05$);与 miR-27a mimic 组相比,miR-27a inhibitor 组细胞内 miR-27a 表达下降,细胞增殖、侵袭和迁移能力降低,SFRP1 蛋白表达增加,Wnt4 和 β -catenin 蛋白表达降低($P < 0.05$)。结论 miR-27a 能够靶向调控 SFRP1,通过上调 SFRP1,阻断下游的 Wnt/ β -catenin 信号通路,抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移等生物学过程,从而发挥抑癌作用。为临床治疗提供了新方向。

关键词 miR-27a;SFRP1;结直肠癌;Wnt4; β -catenin

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)03-0418-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.008

2024-01-27 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32000906);湖北科技学院校内科研发展项目(编号:2020-21X29);湖北科技学院教学科研项目(编号:2023XK028)

作者单位:湖北科技学院医学部基础医学院¹组胚教研室、²生物化学与分子生物学教研室,咸宁 437100

³咸宁市中心医院病理科,咸宁 437100

作者简介:司马学琴,女,讲师;

苏延停,男,副教授,责任作者,E-mail:201420204013@whu.edu.cn

流行病学研究^[1]显示,结直肠癌作为胃肠道肿瘤疾病,其发病率和病死率逐年上升。目前,结直肠癌治疗常采用手术结合放化疗,但疗效有限^[2-3]。寻找新的治疗靶点,抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移成为近年研究热点。微小 RNA(miRNAs)是一组存在于真核生物中长度约为 19~25 个核苷酸的内源性非编码 RNA,可与相关靶基因的 3'端非翻译区结合,抑制其转录、翻译过程,发挥调控作用^[4-5]。miR-27a 作为 miRNA 的成员之一,位于 19 号染色体,具有多种生物学功能,参与了肿瘤的发生发展。既往研究^[6]显示,miR-27a 在乳腺癌中表达异常,与乳腺癌恶性程度和预后相关。研究^[7]显示,miR-27a 在结肠癌中表达上调,能增强结肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力。分泌卷曲相关蛋白 1(secreted frizzled-related protein 1,SFRP1)作为 Wnt 信号转导的负性调控者,在结直肠癌中表达下调^[8]。miR-27a 是否能够通过靶向活化 SFRP1 从而抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移等过程尚不明确。该研究旨在探讨 miR-27a 在直肠癌中的表达,并分析其是否能够通过靶向调控 SFRP1 对直肠癌细胞生物学行为产生影响。

1 材料与方法

1.1 方法

1.1.1 临床样本 取咸宁市中心医院 2021 年 1 月—12 月行手术切除的 24 例结直肠癌患者癌变组织和癌旁正常组织(距病变部位 > 5 cm 处)于液氮中 -70 °C 冻存备用。患者术前均未做任何形式的放化疗。所有患者均知情签署知情同意书,本研究由咸宁市中心医院伦理委员会审核批准(伦理批号:202011025)。

1.1.2 主要材料 人结直肠癌细胞系 HCT116 购自中科院上海细胞库。胎牛血清(货号:12483020)和 DMEM 培养基(货号:11965092)购自美国 Gibco 公司;RT Master Mix(货号:FSQ-201)与 SYBR Green Real-time PCR Master Mix(货号:QPK-201)购自东洋纺(上海)公司;抗体 SFRP1(货号:ab126613)和 Wnt4(货号:ab277798)购自 Abcam(上海)贸易有限

公司;抗体 β -catenin(货号:AC106)、GAPDH(货号:AF1186)、辣根酶标记的山羊抗兔 IgG(货号:A0208)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号:P0012)、SDS-聚丙烯酰胺试剂盒(货号:P0012AC)、0.25%胰蛋白酶(货号:C0201)、TRIzol(货号:R0016)和结晶紫染色液(货号:C0121-100ml)购自上海碧云天生物技术有限公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(货号:G1701-100T)购自武汉塞维尔生物技术有限公司;Transwell 小室(货号:354480)购自北京优尼康生物科技有限公司;miR-27a、SFRP1、U6 内参引物,miR-27a 模拟物(miR-27a mimic)、miR-27a 抑制剂(miR-27a inhibitor)和阴性对照(negative control, NC),SFRP1 野生型和突变型的荧光素酶报告载体均购自苏州吉玛基因股份有限公司;Lipofectamin™ 2000(货号:11668030)转染试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。

1.1.3 主要仪器 CO₂ 全湿度培养箱(型号:HH-CP-160S)购自上海沃尔福实业有限公司;高速离心机(型号:TDI-16)购自上海医用分析仪器厂;实时荧光定量 PCR 仪(型号:CFX Connect)、垂直电泳槽(型号:1658033)、转膜仪(型号:Trans-Blot Turbo)购自美国 BioRad 公司;倒置荧光显微镜(CKX41)购自日本 Olympus 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 在恒温 37 °C 及 5% CO₂ 的全湿度培养箱环境下,采用 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清)培养 HCT116 细胞。当细胞密度达到 70% 后,用 0.25% 胰蛋白酶消化,每孔 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板中,根据 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书及操作步骤,将 miR-27a mimic(miR-27a mimics 组)、miR-27a inhibitor(miR-27a inhibitor 组)和 NC(NC 组)分别转染至 HCT116 细胞中,混匀,室温静置 15 min,培养 48 h,当培养基中 HCT116 细胞汇合度达到 80% 后收集各组细胞。

1.2.2 MTT 实验检测各组细胞增殖活性 取处于对数生长期的各组 HCT116 细胞,接种于 48 孔板中,每孔细胞设置为 1×10^5 个/ml,在恒温 37 °C、5% CO₂ 条件下培养。分别在培养 24、48、72 和 96 h 后,各孔添加 20 μ l MTT 溶液,孵育 4 h 后取上清液,与 50 μ l 二甲基亚砷混溶。测定各孔细胞光密度(optical density, OD)值(酶标仪设置波长 490 nm),计算细胞增殖情况。

1.2.3 Transwell 实验检测各组细胞侵袭、迁移情况 取处于对数生长期的各组 HCT116 细胞,0.25%

胰蛋白酶进行消化,将细胞(1×10^5 个)添加于 Transwell 上室中,细胞侵袭实验需要在 Transwell 中加入基质胶,而迁移实验无需加入基质胶。下室填充无血清 DMEM 培养基,培养 24 h。吸去无血清培养基后,刮去上表面的贴壁细胞,多聚甲醛固定细胞,结晶紫染色,20 min 后镜下取 5 个随机视野,对侵入小室的细胞进行计数,评估细胞侵袭、迁移情况。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测 miR-27a 和 SFRP1 mRNA 表达水平 使用 TRIzol 提取结直肠癌组织、癌旁正常组织和各组 HCT116 细胞中的总 RNA,然后采用 RT Master Mix 逆转录试剂盒逆转录获得 cDNA,用 SYBR Green Real-time PCR Master Mix 进行扩增,设置 3 个复孔测定 miR-27a、SFRP1 mRNA 表达水平。以 U6 为内参,miR-27a、SFRP1 引物序列如表 1 所示。qRT-PCR 反应体系 20 μ l(10 μ l Mix、1 μ l 正向引物、1 μ l 反向引物、1 μ l cDNA 和 7 μ l H₂O),反应条件:95 °C 预变性 3 min,95 °C 变性 15 s,60 °C 退火 30 s,60 °C 延伸 30s;循环 40 次。测定结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算各物质的相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列
miR-27a	F: 5'-TTCACAGTGGCTAAGTCCGC-3' R: 5'-GCCGAACTTAGCCACTGTGA-3'
SFRP1	F: 5'-TGGCTTCCGAGACGTAGAC-3' R: 5'-GCTCAGGTGAATCGGCCCTTTT-3'
U6	F: 5'-CTCGCTTCCGGCAGCACA-3' R: 5'-TCACGAATTTGCGT-3'

1.2.5 Western blot 检测 SFRP1、Wnt4、 β -catenin 蛋白表达 提取结直肠癌组织、癌旁正常组织和 HCT116 各处理组细胞中的蛋白。用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度后,加入缓冲液进行沸水浴 10 min。取 20 μ l 样品(蛋白量 45 μ g)上样进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,设置参数分离蛋白,湿法转膜,用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,再分别加入用 TBST 溶液稀释的 SFRP1(1:10 000)、Wnt4((1:1 000)、 β -catenin(1:1 000)、GAPDH(1:5 000)抗体,4 °C 孵育过夜,加入辣根酶标记的山羊抗兔二抗(1:5 000)室温孵育 1 h 后,洗膜 3 次,化学发光液显影,采用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值。所有测定重复 3 次。

1.2.6 TargetScan 软件预测 miR-27a 与 SFRP1 的结合位点以及双荧光素酶实验报告实验 TargetScan 在线软件预测 miR-27a 与 SFRP1 的 3' UTR 区域结合位点。构建突变型(SFRP1-MUT-3' UTR)

质粒和野生型(SFRP1-WT-3'UTR)质粒。按照 Lipofectamin™ 2000 转染试剂盒说明,将突变型质粒分别与 miR-27a mimic 或 NC 共转染至 HCT116 细胞,将野生型质粒分别与 miR-27a mimic 或 NC 共转染至 HCT116 细胞,48 h 后根据双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测荧光素酶活性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 对数据进行统计分析,各数据均采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间差异比较采用单因素方差分析,两组间差异比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-27a 和 SFRP1 在结直肠癌组织中的表达

qRT-PCR 检测结果如图 1A 所示,与癌旁正常组织相比,miR-27a 在结直肠癌组织中高表达($t = 7.624, P < 0.05$);而 SFRP1 mRNA 在结直肠癌组织中低表达($t = 4.574, P < 0.05$)。Western blot 结果如图 1B 所示,与癌旁正常组织相比,SFRP1 在结直肠癌组织中低表达($t = 3.013, P < 0.05$)。

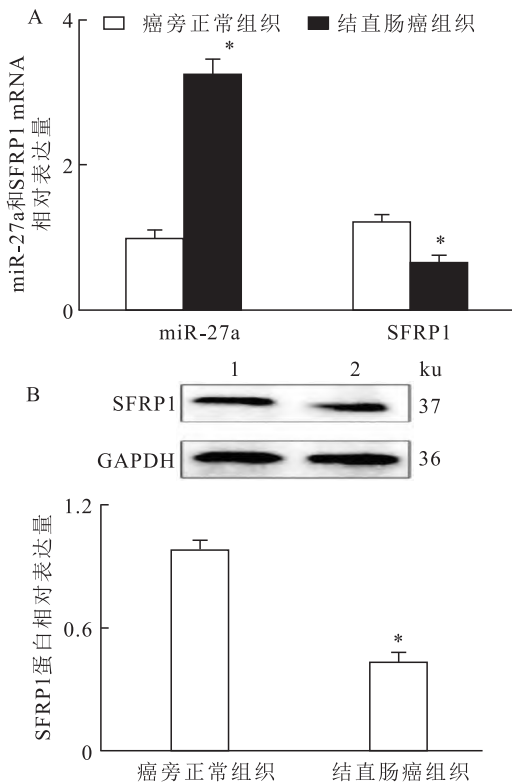


图1 结直肠癌组织中 miR-27a 和 SFRP1 表达的比较

A:qRT-PCR 检测结直肠癌组织中 miR-27a 和 SFRP1 表达水平; B:Western blot 检测结直肠癌组织中 SFRP1 表达水平;1:癌旁正常组织,2:结直肠癌组织;与癌旁正常组织比较: * $P < 0.05$

2.2 结直肠癌细胞中 miR-27a 上调和下调对

SFRP1 mRNA 水平的影响 qRT-PCR 检测结果显示,与 NC 组相比,miR-27a mimic 组中 miR-27a 表达增加($t = 6.332, P < 0.05$),miR-27a inhibitor 组中 miR-27a 表达下降($t = 4.021, P < 0.05$),表明 miR-27a mimic 和 miR-27a inhibitor 转染成功;与 NC 组相比,miR-27a 上调后 SFRP1 mRNA 的表达水平降低($t = 5.376, P < 0.05$),miR-27a 下调后 SFRP1 mRNA 的表达水平提升($t = 5.685, 6.027$, 均 $P < 0.05$),提示 miR-27a 可能负向调控 SFRP1。见图 2。

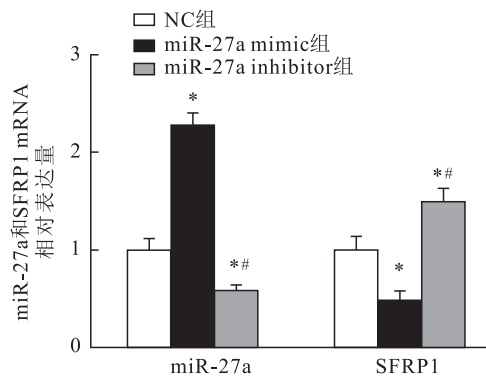


图2 结直肠癌细胞中 miR-27a

上调和下调对 SFRP1 mRNA 水平的影响

与 NC 组比较: * $P < 0.05$;与 miR-27a mimic 组比较: # $P < 0.05$

2.3 miR-27a 靶向作用 SFRP1

TargetScan 软件显示 miR-27a 和 SFRP1 的 3'UTR 存在结合位点(如图 3A 所示)。双荧光素酶报告实验显示,与 NC 组(SFRP1 野生型质粒和 NC 共转染)比较,SFRP1 野生型质粒和 miR-27a mimic 共转染后,荧光素酶活性降低($t = 4.921, P < 0.05$);而 SFRP1 突变型质粒和 miR-27a mimic 质粒共转染后,与 NC 组(SFRP1 突变型质粒和 NC 共转染)比较,荧光素酶活性无差异($t = 1.036, P > 0.05$),见图 3B。提示 miR-27a 可靶向调控 SFRP1 表达。

2.4 各组 HCT116 细胞增殖活性的比较

MTT 实验结果如图 4 所示,24 h 后,各组细胞增殖活性有差异($F = 63.207, P < 0.01$)。与 NC 组相比,miR-27a mimic 组细胞增殖活性升高($t_{48h} = 4.519, t_{72h} = 5.582, t_{96h} = 6.173$, 均 $P < 0.05$);与 miR-27a mimic 组相比,miR-27a inhibitor 组细胞增殖活性降低($t_{48h} = 8.836, t_{72h} = 11.265, t_{96h} = 9.357$, 均 $P < 0.05$)。

2.5 各组 HCT116 细胞侵袭、迁移能力的比较

Transwell 小室侵袭实验结果如图 5 所示,与 NC 组(116.00 ± 12.83)相比,miR-27a mimic 组侵袭能力

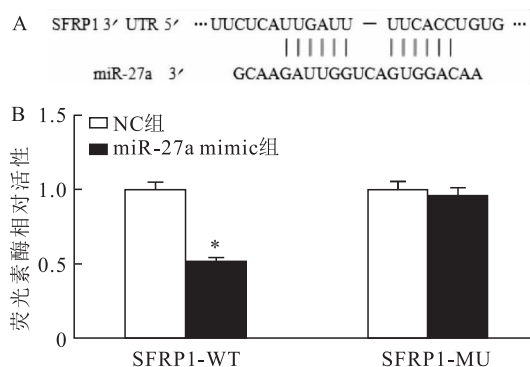


图3 miR-27a对SFRP1的靶向调控作用

A:miR27-a和SFRP1的3'UTR结合位点;B:各组细胞中荧光素酶相对活性检测;与NC组比较:* $P < 0.05$

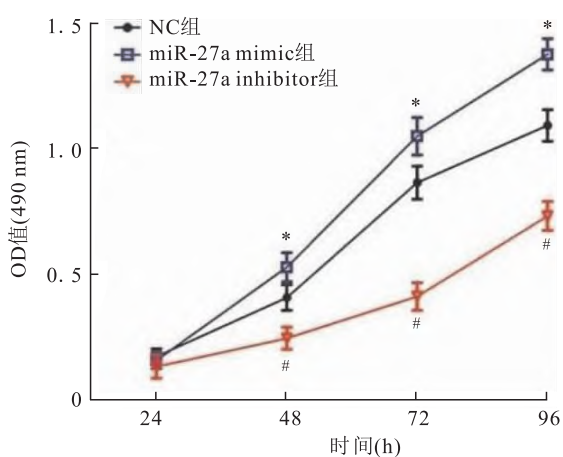


图4 各组细胞增殖情况的比较

与NC组比较:* $P < 0.05$;与miR-27a mimic组比较:# $P < 0.05$

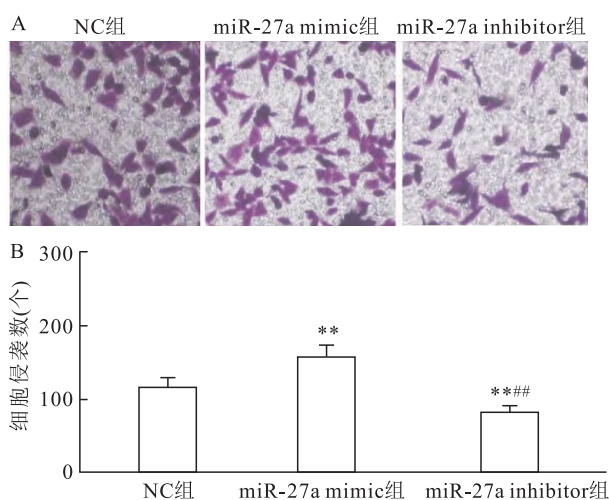


图5 各组细胞侵袭情况的比较

A:Transwell 侵袭实验 结晶紫染色 $\times 200$;B:细胞侵袭迁移数定量分析;与NC组比较:** $P < 0.01$;与miR-27a mimic组比较:## $P < 0.01$

(158 ± 15.67) 提升($t = 8.217, P < 0.01$);与 miR-27a mimic 组相比,miR-27a inhibitor 组侵袭能力(82 ± 9.75)降低($t = 13.728, P < 0.01$)。此外 Transwell 小室迁移实验结果如图 6 所示,与 NC 组(249 ± 12.37)相比,miR-27a mimic 组迁移能力(305 ± 16.78)提升($t = 9.519, P < 0.01$);与 miR-27a mimic 组相比,miR-27a inhibitor 组迁移能力(176 ± 10.84)降低($t = 17.352, P < 0.01$)。表明上调 miR-27a 可促进结直肠癌细胞的侵袭和迁移能力,下调 miR-27a 可抑制结直肠癌细胞的侵袭和迁移能力。

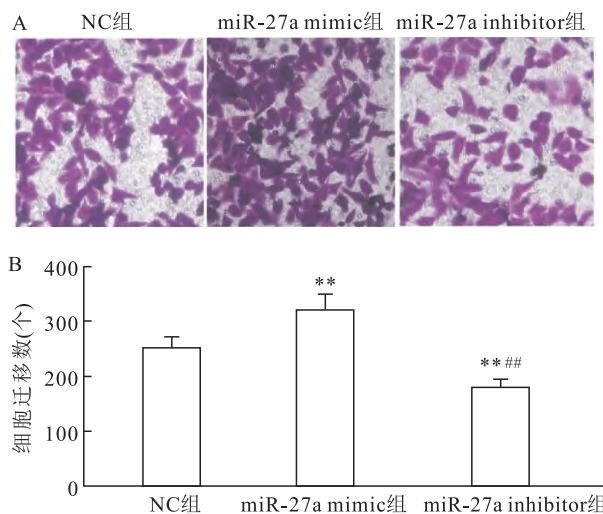


图6 各组细胞迁移情况的比较

A:Transwell 迁移实验 结晶紫 $\times 200$;B:细胞迁移数定量分析;与NC组比较:** $P < 0.01$;与miR-27a mimic组比较:## $P < 0.01$

2.6 miR-27a 调控 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白的表达

Western blot 结果如图 7 所示,与 NC 组比较,miR-27a mimic 组 SFRP1 蛋白表达水平降低,而 Wnt4 和 β -catenin 蛋白表达水平升高($t_{SFRP1} = 3.252, t_{Wnt4} = 3.827, t_{\beta\text{-catenin}} = 5.185$,均 $P < 0.05$);与 miR-27a mimic 组比较,miR-27a inhibitor 组 SFRP1 蛋白表达水平升高,而 Wnt4 和 β -catenin 蛋白表达水平升高降低($t_{SFRP1} = 5.952, t_{Wnt4} = 4.374, t_{\beta\text{-catenin}} = 5.473$,均 $P < 0.05$)。提示 miR-27a 可下调 SFRP1 表达,增加 Wnt/ β -catenin 信号通路活性。

3 讨论

我国结直肠癌发病率逐年递增,尤其是在中老年人群中,近年发病人数不断增加,严重威胁患者的生命健康。研究^[9]表明,miRNA 在恶性肿瘤的发生发展过程中通过参与多种细胞因子的转录和表达发挥重要作用。miRNA 也通过类似途径诱导结直肠癌

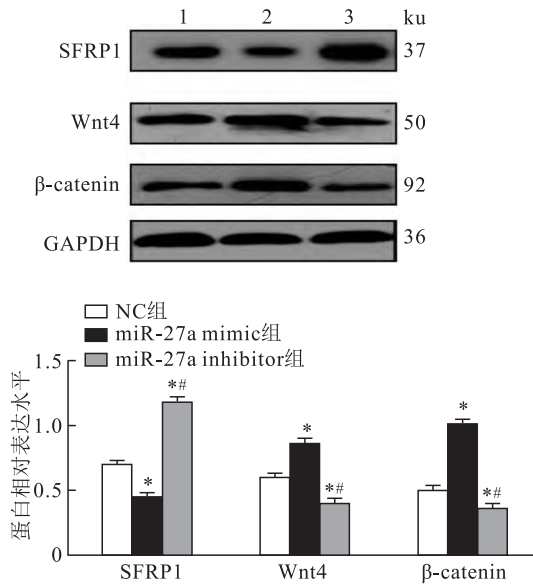


图7 Western blot 检测 SFRP1 和 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白表达的比较

1: NC 组; 2: miR-27a mimic 组; 3: miR-27a inhibitor 组; 与对照组比较: * P < 0.05; 与 miR-27a mimic 组比较: # P < 0.05

肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[10]。因此,抑制相关 miRNA 的活性成为近年结直肠癌治疗的新靶点,也为临床靶向治疗提供了新方向。

miR-27a 在卵巢癌^[11]、乳腺癌^[12]、胃癌^[13]中表达异常升高,具有一定的促癌作用。本研究结果显示,结直肠癌患者癌变组织中 miR-27a 表达水平高于癌旁正常组织,提示 miR-27a 可能作为促癌因子发挥作用。

研究^[14]表明 SFRP1 是 miR-27a 下游的作用靶点之一,miR-27a 可抑制 SFRP1 活性,促进肿瘤细胞的增殖和侵袭迁移等。本研究显示结直肠癌组织中 SFRP1 mRNA 和蛋白表达水平均低于癌旁正常组,并在细胞水平评估了 miR-27a inhibitor 和 miR-27a mimics 的影响,结果显示,给予 miR-27a mimic 转染 HCT116 细胞后,SFRP1 mRNA 表达下调;而 HCT116 细胞在转染 miR-27a inhibitor 后,SFRP1 表达增加。此外,荧光素酶报告基因实验进一步证明 miR27-a 能够靶向调控 SFRP1。Qiao et al^[15]研究发现 miR-27a 通过靶向 SFRP1 蛋白,调节 Wnt/β-catenin 信号通路,促进口腔鳞状癌细胞的上皮间质转化。为了进一步研究 Wnt/β-catenin 信号通路是否参与 miR-27a 在结直肠癌中的作用,本研究采用 Western blot 检测 miR-27a 上调和下调对 HCT116 细胞中 Wnt4 和 β-catenin 蛋白的影响,发现上调 miR-

27a 后可靶向抑制 SFRP1 活性,激活了 Wnt/β-catenin 信号通路,促进肿瘤细胞的增殖和侵袭过程;下调 miR-27a 可靶向激活 SFRP1,SFRP1 上调可抑制 Wnt4、β-catenin 等信号分子蛋白的表达,相关的转录翻译过程被中断,肿瘤细胞增殖和侵袭过程被抑制,MTT 和 Transwell 实验也证明 miR27a 能够促进结直肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移等生物学过程。

综上所述,下调 miR-27a 能靶向激活 SFRP1 活性,抑制结直肠癌细胞的增殖及侵袭等生物学过程,其主要是通过上调 SFRP1,阻断下游的 Wnt/β-catenin 信号通路发挥抑癌作用。本研究为结直肠癌的临床治疗提供了新方向。后续将进一步结合动物实验,深入研究 SFRP1 在结肠癌中的作用机制。

参考文献

[1] 武雪亮,王立坤,黄先涛,等. 结直肠癌流行病学特征回顾性研究[J]. 中国医药导报,2019,16(20):60-3,75.

[2] 张育葵,许成. 腹腔镜微创手术治疗结直肠癌的进展[J]. 医学综述,2021,27(3):582-5,591.

[3] 高源,池畔,林惠铭,等. 新辅助放化疗联合手术治疗中低位直肠癌淋巴结检出数目对预后的影响[J]. 中华消化外科杂志,2019,18(8):773-9.

[4] 陈薇,王瑾,马一菡,等. 微小 RNA-143 和微小 RNA-145 在结直肠癌中的研究进展[J]. 生物医学工程学杂志,2016,33(6):1220-4.

[5] 谢小缺,王华,顾康生. 胃癌中中长链非编码 RNA 和微小 RNA 的相关研究进展[J]. 安徽医科大学学报,2017,52(2):301-3.

[6] Jiang G, Shi W, Fang H, et al. miR27a promotes human breast cancer cell migration by inducing EMT in a FBXW7dependent manner[J]. Mol Med Rep,2018,18(6):5417-26.

[7] 何培生,唐颖,周小平,等. miR27a 对结肠癌细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. 中国老年学杂志,2014,34(24):7017-9.

[8] 王巍,张冰,阎雪晶,等. Wnt 拮抗因子 SFRP1 在结直肠癌发病机制中的作用[J]. 中国医科大学学报,2012,41(5):440-3.

[9] 杨鑫苗,张永强. miRNA 调控实体肿瘤发生发展机制研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2020,28(9):1587-9.

[10] 汤守元,兰国玉,黄耿,等. miR-3126-5p 靶向 LASP1 抑制结直肠癌细胞的增殖和迁移的机制探讨[J]. 国际外科学杂志,2021,48(2):87-91.

[11] 刘卫民,柳学芳,龚文端. miR-27a 靶向 SPRY2 调控 Wnt/β-catenin 信号通路对人卵巢癌细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. 癌症进展,2018,16(3):282-5.

[12] 蒋雪梅,权毅. 上调 miR-27a-3p 对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响[J]. 郑州大学学报(医学版),2019,54(2):279-83.

[13] 杨剑洋,贺德,李志坚,等. miR-27a 促进胃癌细胞 AGS 增殖与侵袭及其机制探讨[J]. 现代肿瘤医学,2022,30(12):

2129–35.

[14] Kong L Y, Xue M, Zhang Q C, et al. *In vivo* and *in vitro* effects of microRNA-27a on proliferation, migration and invasion of breast cancer cells through targeting of SFRP1 gene *via* Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9):15507–19.

[15] Qiao B, He B X, Cai J H, et al. MicroRNA-27a-3p modulates the Wnt/ β -catenin signaling pathway to promote epithelial-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma stem cells by targeting SFRP1[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:44688.

Effect of miR-27a targeting regulation of SFRP1 on biological behavior of colorectal cancer

Sima Xueqin¹, Su Yanting², Zeng Zhi³

(¹Dept of Histology and Embryology, ²Dept of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, ³Dept of Pathology, Xianning Central Hospital, Xianning 437100)

Abstract Objective To investigate the expression of miR-27a in colorectal cancer cell, and to analyze the effect of its targeted regulation of (Secreted Frizzled-Related Protein, SFRP1) on the biological behavior of colorectal cancer cells. **Methods** Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) was employed to examine the expression of miR-27a and SFRP1 mRNA in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues. Western blot was used to detect the expression of SFRP1 protein in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues. TargetScan software and dual luciferase reporter gene test were used to detect the targeted regulation of miR-27a on SFRP1. HCT116 cells were transfected with miR-27a mimic, miR-27a inhibitor and negative control (NC). The expression of miR-27a and SFRP1 mRNA in each group was determined by qRT-PCR. MTT colorimetry was performed to evaluate the proliferation of each group cells. Transwell assay was used to evaluate the cell invasion and migration ability. Meanwhile, the protein expression levels of SFRP1, key factors Wnt4 and β -catenin in the Wnt/ β -catenin signaling pathway were determined by Western blot. **Results** Compared with adjacent normal tissues, miR-27a was highly expressed in colorectal cancer tissues, while SFRP1 was low expressed in colorectal cancer tissues ($P < 0.05$). TargetScan software and dual luciferase reporter gene test showed that miR-27a targeted SFRP1. Compared with NC group, the expression of miR-27a of miR-27a mimic group increased, the proliferation, invasion and migration ability enhanced, the expression of SFRP1 protein decreased, while Wnt4 and β -catenin protein expression increased ($P < 0.05$). Compared with miR-27a mimic group, the expression of miR-27a of miR-27a inhibitor group decreased, the proliferation, invasion and migration ability reduced, the expression of SFRP1 protein increased, while Wnt4 and β -catenin protein expression decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** miR-27a can target SFRP1, inhibit the proliferation, invasion and migration of colorectal cancer cells, mainly by up-regulating SFRP1 and blocking the downstream Wnt/ β -catenin signaling pathway, which provides a new direction for clinical treatment.

Key words miR-27a; SFRP1; colorectal cancer; Wnt4; β -catenin