

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.007

· 临床研究 ·

circ_0072088 通过调控 miR-532-3p/WEE1 轴促进甲状腺癌 IHH4 细胞的恶性生物学行为

陈鹏, 马德寿[青海大学附属医院 肿瘤外科(二), 青海 西宁 810001]

[摘要] **目的:** 探讨 circ_0072088 对甲状腺癌 IHH4 细胞恶性生物学行为的影响及其可能的机制。**方法:** 选取 2015 年 4 月至 2019 年 3 月于青海大学附属医院就诊的确诊为甲状腺癌后接受切除手术且术前未进行任何治疗的 48 例甲状腺癌患者的甲状腺癌组织及其对应癌旁组织。根据 GEO 数据集(GSE93522)分析鉴定甲状腺乳头状癌中差异表达的 circRNA。用 qPCR 法检测 circ_0072088 在甲状腺癌组织和细胞中的表达水平。采用 CCK-8 法和 Transwell 法检测 circ_0072088 和 miR-532-3p 过表达对甲状腺癌 IHH4 细胞增殖、迁移和侵袭的影响。采用生物信息学和双荧光素酶报告基因实验验证甲状腺癌细胞中 circ_0072088 与 miR-532-3p、miR-532-3p 和 WEE1 基因之间的关系。**结果:** circ_0072088 在甲状腺癌组织和细胞中呈高表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。circ_0072088 过表达促进了甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，而转染 miR-532-3p 模拟物能够减弱这种作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。此外，机制研究表明，circ_0072088 可以与 miR-532-3p 靶向结合，且 WEE1 是 miR-532-3p 的下游靶基因。**结论:** circ_0072088 通过调控 miR-532-3p/WEE1 轴促进 IHH4 细胞的增殖、迁移和侵袭。

[关键词] circ_0072088; miR-532-3p; WEE1; 甲状腺癌; IHH4 细胞

[中图分类号] R730.54; R736.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)06-0598-07

circ_0072088 promotes the malignant biological behaviors of thyroid cancer IHH4 cells by regulating the miR-532-3p/WEE1 axis

CHEN Peng, MA Deshou (Division II of Department of Oncology Surgery, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of circ_0072088 on the malignant biological behaviors of thyroid cancer IHH4 cells and its possible mechanism. **Method:** From April 2015 to March 2019, the thyroid cancer tissues and corresponding adjacent tissues from 48 patients who were diagnosed as thyroid cancer and underwent resection without any previous treatment in the Affiliated Hospital of Qinghai University were collected. The differentially expressed circRNAs in papillary thyroid cancer were identified by GEO database (GSE93522). The expression pattern of circ_0072088 was determined using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) in thyroid cancer samples and cell lines. CCK-8 and Transwell assays were performed to assess the effects of circ_0072088 and miR-532-3p on proliferation, migration, and invasion of thyroid cancer IHH4 cells. Bioinformatics analysis and dual-luciferase reporter assays were used to explore the correlation between circ_0072088 and miR-532-3p as well as between miR-532-3p and WEE1 gene in thyroid cancer cells. **Results:** circ_0072088 expression was upregulated in thyroid cancer tissues and cell lines ($P<0.05$ or $P<0.01$). Overexpression of circ_0072088 promoted the proliferation, migration, and invasion of thyroid cancer cells ($P<0.05$ or $P<0.01$), while transfection of miR-532-3p mimics weakened this effect ($P<0.05$ or $P<0.01$). Mechanistically, circ_0072088 could bind to miR-532-3p. Besides, WEE1 was proved to be the downstream target gene of miR-532-3p. **Conclusion:** Circ_0072088 promotes the proliferation, migration and invasion of IHH4 cells through regulating WEE1/miR-532-3p axis.

[Key words] circ_0072088; miR-532-3p; WEE1; thyroid cancer; IHH4 cell

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(6): 598-604. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.007]

甲状腺癌(thyroid cancer, TC)是头颈部最为常见的恶性肿瘤之一,位于甲状腺滤泡上皮和/或滤泡上皮周围。在过去的几十年间,世界上多个国家的 TC 发病率呈持续上升趋势^[1-2]。因而寻找新的治疗 TC 靶向位点是十分必要的。研究^[3]表明, circRNA 可在作为 miRNA 的海绵,充当内源性竞争 RNA,在肿

瘤的发生与发展过程中起调控作用。circ_0072088 在非小细胞癌和肺腺癌中异常上调,且对癌细胞的

[作者简介] 陈鹏(1981—),男,主治医师,主要从事乳腺癌和甲状腺癌相关研究, E-mail: 11622886@qq.com

[通信作者] 马德寿(MA Deshou, corresponding author),主任医师,主要从事乳腺癌和甲状腺癌相关研究, E-mail: ciwen8600@163.com

恶性生物学行为有促进作用^[4-5]; miR-532-3p 是一种抑癌基因, 已被证实存在于结直肠癌、肝细胞癌以及非小细胞肺癌等中有异常表达, 对癌症的发展具有抑制作用^[6-8]。但是, 关于 circ_0072088 与 miR-532-3p 在 TC 中是否参与癌细胞的生理过程, 目前尚少见研究。研究^[9-11]发现, WEE1 在胃癌、胶质瘤以及喉部鳞状细胞癌等中有异常表达, 对癌症的发展具有促进作用。近年来, WEE1 的化学抑制剂作为抗癌的靶向药物被广泛研究^[12-13]。目前对于 WEE1 在 TC 中功能的研究较少。本研究从高通量基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据集中筛选发现, circ_0072088 在 TC 中的表达异常上调。进一步研究探讨, circ_0072088 是否通过 miR-532-3p/WEE1 轴影响 TC 的发展, 以期对 TC 治疗提供新的可能靶点。

1 资料与方法

1.1 样本资料

本研究选取 2015 年 4 月至 2019 年 3 月期间在青海大学附属医院就诊, 但未经过药物或其他治疗的初次病理诊断为 TC 的患者 48 例, 其中女性 21 例、男性 27 例, 平均年龄 48 岁, 肿瘤直径 0.5~2.4 cm, TNM 分期早期 (I~II) 有 32 例、晚期 (III~IV) 16 例, 发生淋巴结转移的有 19 例, 未发生淋巴结转移的 29 例。取患者的 TC 组织及其对应癌旁组织 (距离癌组织 5 cm) 于液氮中冷冻, 置于 -80 °C 保存备用。本研究已获得青海大学附属医院伦理委员会的审查批准, 研究过程均在青海大学附属医院的指导下进行, 参与本研究的患者均已签署知情同意书。

1.2 主要试剂

正常甲状腺细胞系 (Nthy-ori 3-1)、TC 细胞系 (TPC-1、K-1 和 IHH4) 均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。DEME 培养基、胎牛血清、Lipofectamine® 2000 转染试剂盒均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司, TRIzol 试剂、PrimeScript™ RT 试剂盒和 SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司, CCK-8 试剂盒购自日本 Dojindo Molecular Technologies 公司, Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司, 荧光素酶报告基因载体和 Dual-Luciferase® Reporter Assay System 试剂盒均购自美国 Promega 公司, RIPA 裂解液购自上海 Beyotime Biotechnology 公司, PVDF 膜购自美国 Millipore 公司, ECL 试剂盒购自英国的 Amersham Pharmacia Biotech 公司, 一抗和二抗均购自美国 Abcam 公司。

1.3 细胞培养与转染

将 TC 细胞系 (TPC-1、K-1 和 IHH4) 和正常甲状腺细胞系 (Nthy-ori 3-1) 用 DEME 培养基 (含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 0.1 mg/ml 链霉素), 在 37 °C、

5%CO₂ 的培养箱中培养, 取对数生长期细胞进行后续实验。使用 Lipofectamine® 2000 试剂盒将 circ_0072088 过表达质粒 pc-DNAcirc_0072088 及其阴性对照质粒 pc-DNA, miR-532-3p 模拟物及其对照 (NC) 模拟物分别或共转染 IHH4 细胞, 孵育 48 h 后进行检测分析。

1.4 qPCR 检测

使用 TRIzol 试剂从组织和细胞中提取总 RNA。根据说明书, 使用 PrimeScript™ RT Reagent kit 试剂盒进行反转录。使用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒在 ABI7500 系统上进行 qPCR, 以 GAPDH 和 U6 为内参, 结果使用 2^{-ΔΔCt} 法进行分析。在 qPCR 中所用的引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Target gene	Primer sequence (5'-3')
circ_0072088	F: GACCTCTGTCAGCGAGTTCC R: CTGCCTGTAACTCCTCTTCAGT
miR-532-3p	F: CCCTCCCACACCCAAGG R: CCCAGTAGTCGTTTCAGTCCA
WEE1	F: GCTTGCCCTCACAGTGGTATG R: CCGAGGTAATCTACCCTGTCTGA
GAPDH	F: AGAAGGCTGGGGCTCATTTG R: AGGGGCCATCCACAGTCTTC
U6	F: CTCGCTTCGGCAGCACA R: AACGCTTCACGAATT TGCCT

1.5 CCK-8 法检测 circ_0072088 和 miR-532-3p 对 IHH4 细胞增殖的影响

待 IHH4 细胞稳定转染后, 按照 1×10³ 个细胞/孔的密度接种到 96 孔板中, 在 37 °C, 5%CO₂ 环境下培养箱孵育 24 h 后, 根据 CCK-8 试剂盒说明书, 每孔加入 10 μl CCK-8 试剂, 在 37 °C 培养箱中孵育 2 h。孵育完成后, 分别在 24、48、72、96 h 后, 450 nm 波长条件下, 测光密度 (D) 值, 以 D 值代表细胞增殖水平。

1.6 Transwell 实验检测 circ_0072088 和 miR-532-3p 对 IHH4 细胞迁移和侵袭能力的影响

将处于对数生长期的 IHH4 细胞按照 1×10⁶ 个/孔的密度接种到 Transwell 室 (上室) 中, 下室中加入含 10% 胎牛血清的培养液。37 °C 下培养 12 h 后去除上室细胞, 用 4% 多聚甲醛固定穿膜细胞, 经 0.1% 结晶紫染色后于显微镜下计数穿膜细胞。细胞迁移和侵袭实验的基本步骤均按照上述操作, 但在侵袭实验中, 需提前在 Transwell 上室中加入 Matrigel 基质胶进行包被。

1.7 双荧光素酶报告基因实验验证 circ_0072088、miR-532-3p 和 WEE1 之间的靶向关系

根据在线分析网站预测 circ_0072088 与 miR-532-3p、miR-532-3p 和 WEE1 之间的靶向结合位

点,并构建双荧光素酶报告基因表达载体(circ_0072088-WT、circ_0072088-MUT、WEE1-WT和WEE1-MUT)。将IHH4细胞按照 1×10^5 个/孔的密度接种于24孔板,用Lipofectamine® 2000试剂盒将构建好的双荧光素酶报告基因表达载体分别与miR-532-3p mimic以及阴性对照(NC模拟物)共转染至IHH4细胞。转染48 h后,用Dual-Luciferase® Reporter Assay System试剂盒检测各组细胞中的荧光素酶活性。

1.8 WB法检测 circ_0072088 和 miR-532-3p 对 IHH4 细胞中 WEE1 表达的影响

使用RIPA裂解液裂解IHH4细胞,并提取总蛋白,用12% SDS-PAGE对蛋白进行分离。将分离出的蛋白电转到PVDF膜,使用5%脱脂牛奶封闭1 h,加入稀释好的一抗WEE1抗体(1:1 000)和GAPDH抗体(1:2 000),在4℃条件下孵育过夜,用TBST洗膜3次、TBS洗膜1次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗工作液(1:1 000),室温孵育30 min,最后使用ECL试剂盒进行显影,用ImageJ软件进行定量分析。

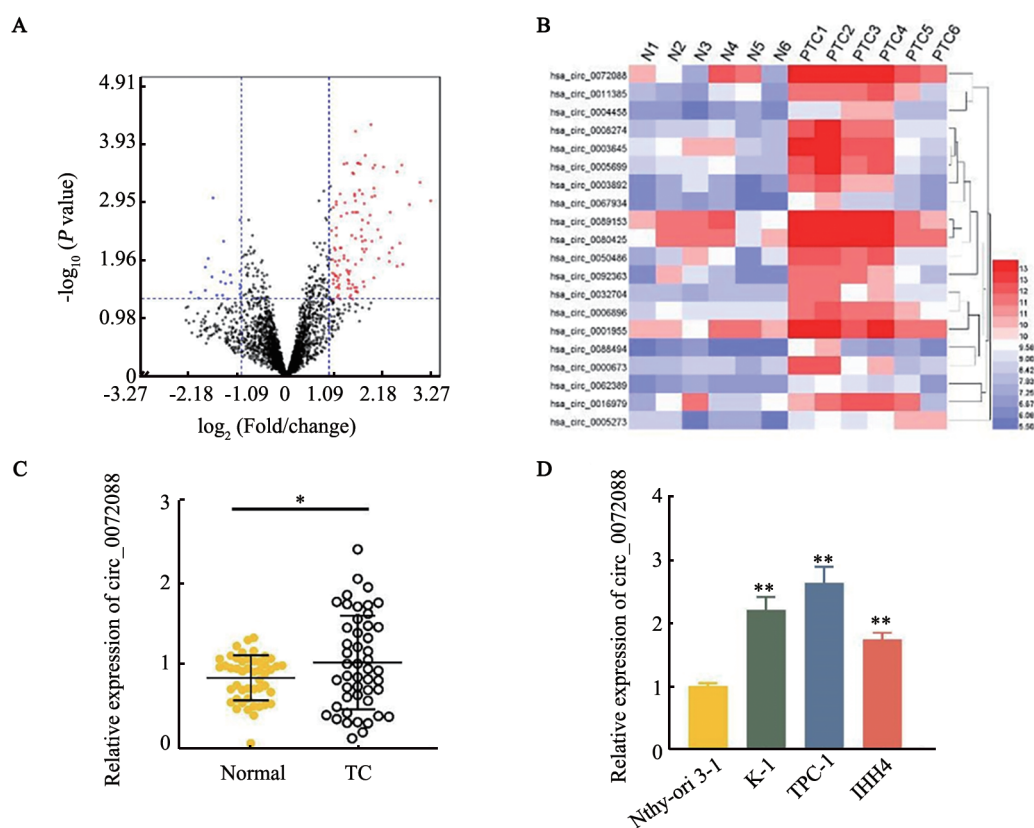
1.9 统计学处理

采用SPSS22.0软件进行分析,使用GraphPad Prism 8软件绘图,符合正态分布的计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或One-way检验,两组数据间的相关性采用Spearman法分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 circ_0072088 在 TC 组织和细胞中呈高表达

分析GEO数据库中的circRNA微阵列数据集GSE93522(含6组正常组织和6组TC组织数据)。结果发现,在TC组织中有22个下调的circRNA,115个上调的circRNA($P < 0.05$, $|\log_2 FC| > 1$)(图1A)。在上调的前20个circRNA中,circ_0072088的上调幅度最大($|\log_2 FC| = 3.267325$, $P = 0.0010218$)(图1B)。在此基础上,采用qPCR对circ_0072088在TC组织和细胞系中的表达进行检测分析,结果(图1C、1D)发现,circ_0072088在TC组织和细胞中均呈高表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Nthy-ori 3-1 cells

A: The up-regulated and down-regulated circRNAs in thyroid cancer tissues vs non-cancerous tissues screened by Volcano plot; B: The up-regulated circRNAs in thyroid cancer tissues vs non-cancerous tissues shown by Heat map; C, D: qPCR was used to detect the expression of circ_0072088 in thyroid cancer tissues (C) and cells (D)

图1 circ_0072088 在 TC 组织和细胞中表达上调

Fig.1 circ_0072088 was upregulated in thyroid carcinoma tissues and cells

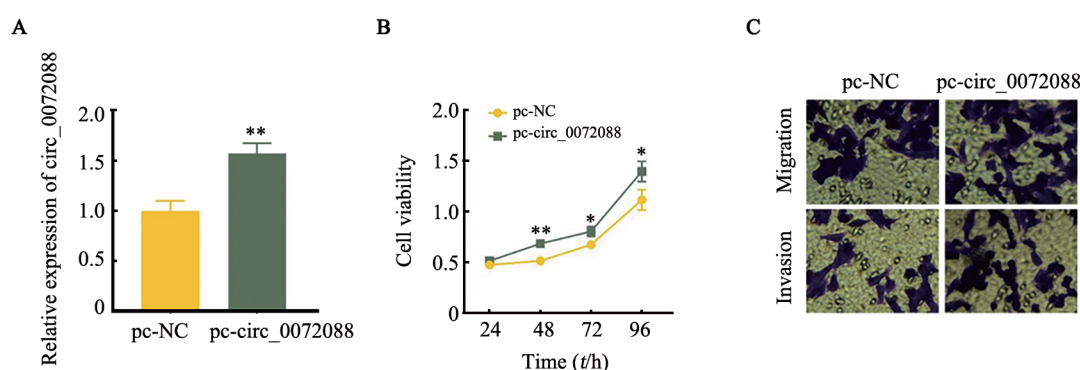
2.2 过表达 circ_0072088 促进 IHH4 细胞的增殖、迁移和侵袭

qPCR 检测结果(图 2A)显示,转染过表达质粒 pc-DNAcirc_0072088 的 pc-circ_0072088 组 IHH4 细胞中 circ_0072088 的水平显著高于对照组,说明成功构建了 circ_0072088 过表达细胞系。CCK-8 实验和 Transwell 实验分析 IHH4 细胞的增殖、迁移以及侵袭能力,结果显示,转染 48 h 起, circ_0072088 过表达组 (pc-circ_0072088 组) IHH4 细胞的增殖水平即显著高于对照组 (pc-NC 组) ($P<0.05$ 或 $P<0.01$, 图 2B); pc-circ_0072088 组的迁移细胞数 [(98±4) vs (67±3) 个, $P<0.05$], 和侵袭细胞数 [(78±5) vs (54±3) 个,

$P<0.05$], 均显著高于 pc-NC 组(图 2C)。

2.3 circ_0072088 靶向负调控 miR-532-3p

CircInteractome 网站预测发现, circ_0072088 与 miR-532-3p 之间存在结合位点(图 3A)。qPCR 检测结果(图 3B)显示, circ_0072088 与 miR-532-3p 在 TC 组织中的表达具有负相关性。双荧光素酶报告基因实验结果(图 3C)显示,转染 circ_0072088-WT 与 miR-532-3p 模拟物后, IHH4 细胞的荧光素酶活性有明显降低 ($P<0.01$), 而共转染 circ_0072088-MUT 与 miR-532-3p 模拟物的细胞的荧光素酶活性不受影响。此外,当 circ_0072088 过表达的 IHH4 细胞中 miR-532-3p 的表达显著下调 ($P<0.05$, 图 3D)。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs pc-NC group

A: The expression of circ_0072088 in circ_0072088 overexpression cell model was detected by qPCR; B: The IHH4 cell viability was detected by CCK-8 assay; C: Transwell assay was adopted to detect IHH4 cells migration and invasion ($\times 50$)

图2 circ_0072088 过表达促进 IHH4 细胞的恶性生物学行为

Fig.2 circ_0072088 overexpression promoted the malignant biological behaviors of IHH4 cells

2.4 circ_0072088 可通过 miR-532-3p 调控 IHH4 细胞的增殖、迁移和侵袭

为了证明 circ_0072088 对 miR-532-3p 的调控是否影响着 TC 的发展,将 miR-532-3p 模拟物转染至 pc-circ_0072088 稳定转染的 IHH4 细胞系中,构建 miR-532-3p 和 circ_0072088 过表达的细胞(均 $P<0.01$, 图 4A)。CCK-8 法检测结果(图 4B)显示, miR-532-3p 模拟物转染后部分抑制了 circ_0072088 过表达 IHH4 细胞的增殖 ($P<0.05$)。Transwell 实验检测结果(图 4C)显示, pc-NC 组, pc-circ_0072088 组和 pc-circ_0072088+miR-532-3p 组中迁移细胞数分别为 (59±4)、(91±5) 和 (72±5) 个, 侵袭细胞数分别为 (41±2)、(69±5) 和 (51±4) 个, 这些结果表明 miR-532-3p mimic 转染后部分逆转了 circ_0072088 过表达对 IHH4 细胞的迁移和侵袭的促进(均 $P<0.01$)。

2.5 miR-532-3p 可靶向结合 WEE1 基因并调控其蛋白表达

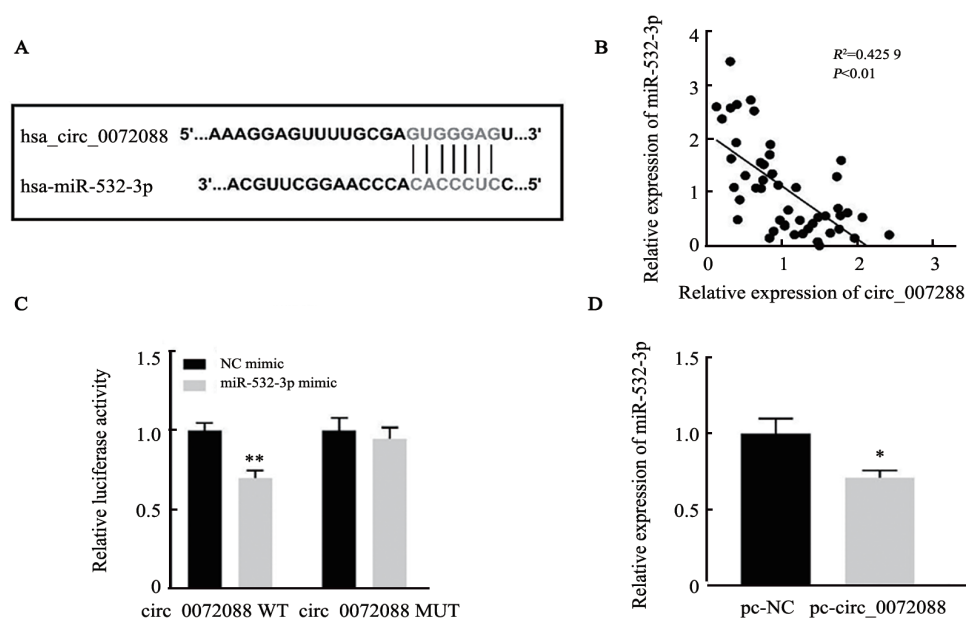
从 StarBase 数据库中分析发现, WEE1 与 miR-532-3p 之间存在靶向结合位点(图 5A), 且在 TC 组织中, WEE1 与 miR-532-3p 的表达水平呈负相关, 与 circ_0072088 的

表达水平呈正相关(图 5B、5C)。双荧光素酶报告基因实验结果(图 5D)显示, WEE1-WT 与 miR-532-3p 模拟物共转染 IHH4 细胞后, 细胞内荧光素酶活性较对照组显著降低 ($P<0.01$), 而 WEE1-MUT 与 miR-532-3p 模拟物共转染细胞的荧光素酶活性无明显变化。WB 实验分析 WEE1 的表达水平, 结果(图 5E)显示, pc-circ_0072088 组 IHH4 细胞中 WEE1 的表达水平显著高于 pc-NC 组和 pc-circ_0072088+miR-532-3p 组 (2.3 ± 0.2 vs 1.0 ± 0.1 、 1.2 ± 0.1 , 均 $P<0.01$)。

3 讨论

研究^[14-15]表明, circRNA 通过结合 miRNA 调节转录或转录后的基因的表达, 在多种癌症中均发现异常表达, 有望成为新的癌症诊断或预后的标志物。例如, circ_ABCB10 被鉴定为 TC 的致癌基因, 通过靶向 KLF6 提高 TC 细胞的增殖和侵袭能力^[16]; circ_0058124 在 TC 组织中表达上调, 可通过调控 miR-940/MAPK1 轴促进 TC 的进展^[17]。本研究发现, circ_0072088 在 TC 组织和细胞系中均有异常上调, 并且过表达 circ_0072088 显著

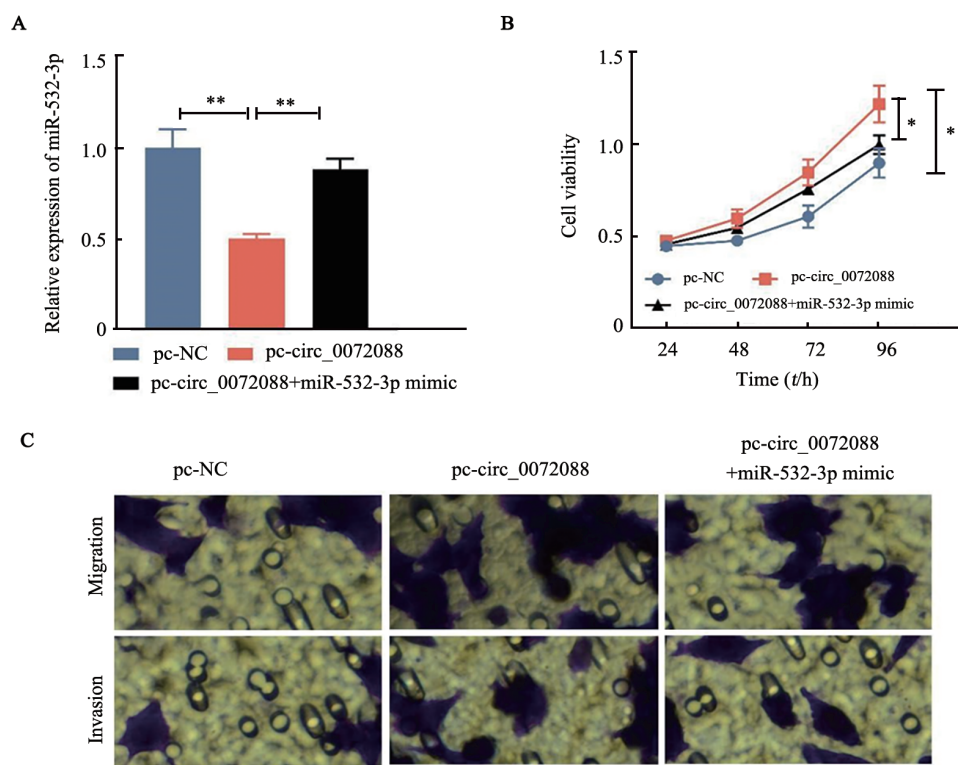
促进了IHH4细胞的增殖、迁移和侵袭。



* $P<0.05$, and ** $P<0.01$ vs NC mimic or pc-NC group

A: Online bioinformatics tool (<https://circinteractome.nia.nih.gov/>) was used to predict the binding site between circ_0072088 and miR-532-3p; B: Spearman rank correlation was employed to analyze the correlation between circ_0072088 and miR-532-3p in thyroid cancer tissues; C: Dual-luciferase reporter assay was conducted to validate the specific binding between circ_0072088 and miR-532-3p; D: The expression of miR-532-3p in circ_0072088 overexpression cell lines was detected by qPCR

图3 circ_0072088 靶向负调控 miR-532-3p
Fig.3 Circ_0072088 negatively regulated miR-532-3p

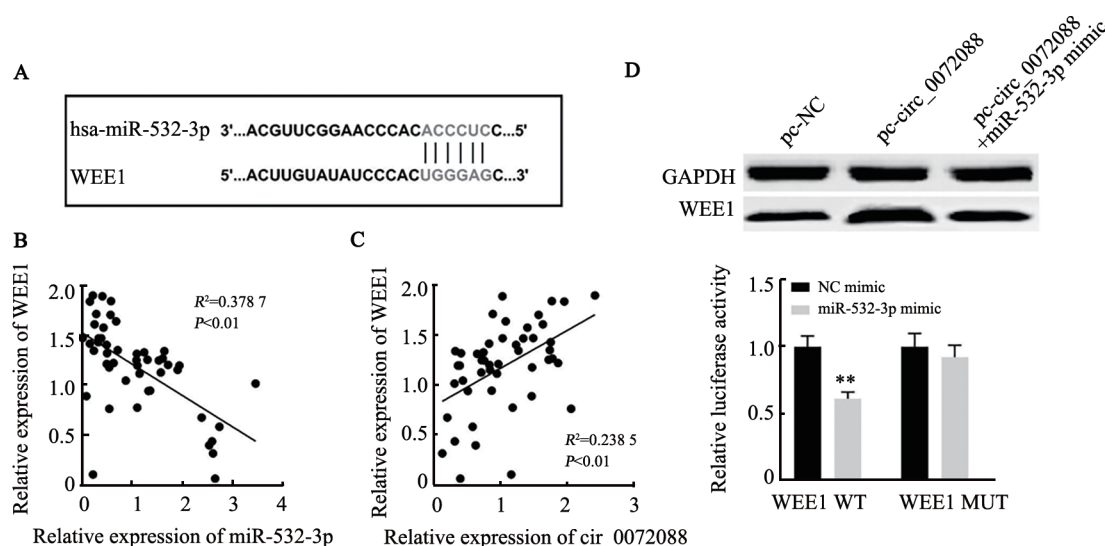


* $P<0.05$, ** $P<0.01$

A: The expression of miR-532-3p in IHH4 cells was detected by qPCR; B: The IHH4 cell viability was detected by CCK-8 assay; C: Transwell assay was adopted to detect migration and invasion of IHH4 cells ($\times 50$)

图4 circ_0072088 可通过 miR-532-3p 调控 IHH4 细胞的恶性生物学行为

Fig.4 circ_0072088 regulated the malignant biological behaviors of IHH4 cells through miR-532-3p



** $P<0.01$ vs NC mimic group

A: The binding site between miR-532-3p and WEE1; B: Spearman method was used to analyze the correlation between the expression levels of miR-532-3p and WEE1 in TC tissues; C: Spearman method was used to analyze the correlation between the expression levels of circ_0072088 and WEE1 in TC tissues; D: Dual-luciferase reporter assay was used to validate the targeting relationship between miR-532-3p and WEE1; E: WB assay was used to detect the protein expression of WEE1

图5 miR-532-3p可靶向结合WEE1基因并调控其蛋白表达

Fig.5 miR-532-3p could targetedly bind to WEE1 gene and regulate its protein expression

miRNA参与多种生物学过程,可作为临床诊断以及治疗的靶标^[18-20]。例如,miR-370-3p在TC中表达异常下调,作为circ_NEK6的靶miRNA,在TC的发展过程中具有调节作用^[21];miR-1304在TC中也被发现异常下调,可通过海绵化circ_0067934调节CXCR1表达从而抑制TC的发展^[22]。本研究发现,miR-532-3p可被circ_0072088靶向负调控,而miR-532-3p过表达可以部分逆转circ_0072088过表达对TC细胞的增殖、迁移和侵袭能力的促进作用。

WEE1是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族的一员,最早在裂殖酵母中发现并定义^[23]。研究^[24-26]发现,WEE1可在细胞有丝分裂前进入G2-M细胞周期检查点,在阻滞DNA损伤修复上具有关键作用,目前已经被发现在结直肠癌、恶性黑色素瘤等不同类型的恶性肿瘤中有异常的高表达。有研究^[27]证明,WEE1与非小细胞肺癌的放射抗性有关,通过对WEE1的调节可提高非小细胞肺癌细胞的放射敏感性。此外,WEE1可被lncRNA SNHG3和miR-384调控,进而参与喉癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[28]。已有研究^[29]发现WEE1在TC中显著上调。本研究证实,WEE1是miR-532-3p的下游靶基因,并且在TC中WEE1与miR-532-3p的表达水平呈负相关。过表达circ_0072088显著促进了WEE1的表达,而过表达miR-532-3p则抑制WEE1的表达。

综上,本研究发现circ_0072088可通过miR-532-3p/WEE1轴促进IHH4细胞的恶性生物学行为,具有成

为TC治疗靶点的潜力,为TC的靶向治疗提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] KITAHARA C M, SOSA J A. The changing incidence of thyroid cancer[J]. Nat Rev Endocrinol, 2016, 12(11): 646-653. DOI: 10.1038/nrendo.2016.110.
- [2] CARLING T, UDELSMAN R. Thyroid cancer [J]. Annu Rev Med, 2014, 65:125-37. DOI: 10.1146/annurev-med-061512-105739.
- [3] ZHOU R Y, WU Y W, WANG W X, et al. Circular RNAs (circRNAs) in cancer[J]. Cancer Lett, 2018, 425: 134-142. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.03.035.
- [4] TAN Z, CAO F, JIA B, et al. Circ_0072088 promotes the development of non-small cell lung cancer via the miR-377-5p/NOVA2 axis[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(8): 2224-2236. DOI: 10.1111/1759-7714.13529.
- [5] LIANG L M, ZHANG L, ZHANG J G, et al. Identification of circRNA-miRNA-mRNA networks for exploring the fundamental mechanism in lung adenocarcinoma[J/OL]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 2945-2955[2021-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7152915/>. DOI:10.2147/OTT.S235664.
- [6] GU C, CAI J, XU Z, et al. MiR-532-3p suppresses colorectal cancer progression by disrupting the ETS1/TGM2 axis-mediated Wnt/ β -catenin signaling[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(10): 739. DOI: 10.1038/s41419-019-1962-x.
- [7] HAN J H, WANG F Y, LAN Y L, et al. KIFC1 regulated by miR-532-3p promotes epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis of hepatocellular carcinoma via gankyrin/AKT signaling [J]. Oncogene, 2019, 38(3): 406-420. DOI: 10.1038/s41388-018-

- 0440-8.
- [8] HAN X, HUANG T R, HAN J Q. Long noncoding RNA VPS9D1-AS1 augments the malignant phenotype of non-small cell lung cancer by sponging microRNA-532-3p and thereby enhancing HMGA2 expression[J]. *Aging* (Albany NY), 2020, 12(1): 370-386. DOI:10.18632/aging.102628.
 - [9] ZHANG N, XING X, GU F, et al. Ropivacaine inhibits the growth, migration and invasion of gastric cancer through attenuation of WEE1 and PI3K/AKT signaling via miR-520a-3p[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 5309-5321. DOI:10.2147/ott.s244550.
 - [10] WANG L X, SU J N, ZHAO Z, et al. MiR-26b reverses temozolomide resistance via targeting Wee1 in glioma cells[J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(20): 1954-1964. DOI:10.1080/15384101.2017.1367071.
 - [11] LI P, YANG Y, LIU H, et al. MiR-194 functions as a tumor suppressor in laryngeal squamous cell carcinoma by targeting Wee1 [J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 32[2021-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5264457/>. DOI: 10.1186/s13045-017-0402-6.
 - [12] HEIJINK A M, BLOMEN V A, BISTEAU X, et al. A haploid genetic screen identifies the G1/S regulatory machinery as a determinant of WEE1 inhibitor sensitivity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(49): 15160-15165. DOI:10.1073/pnas.1505283112.
 - [13] DO K, DOROSHOW J H, KUMMAR S. Wee1 kinase as a target for cancer therapy[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(19): 3159-3164. DOI: 10.4161/cc.26062.
 - [14] WANG Y Y, LU T, WANG Q, et al. Circular RNAs: Crucial regulators in the human body (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3119-3135. DOI:10.3892/or.2018.6733.
 - [15] ZHANG H D, JIANG L H, SUN D W, et al. circRNA: a novel type of biomarker for cancer[J]. *Breast Cancer*, 2018, 25(1): 1-7. DOI: 10.1007/s12282-017-0793-9.
 - [16] HAN X T, JIANG J Q, LI M Z, et al. Circular RNA circ-ABCB10 promotes the proliferation and invasion of thyroid cancer by targeting KLF6[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(3): 1271-1277. DOI:10.26355/eurrev_202002_20182.
 - [17] SUN D Z, CHEN L, LV H, et al. Circ_0058124 upregulates MAPK1 expression to promote proliferation, metastasis and metabolic abilities in thyroid cancer through sponging miR-940 [J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 1569-1581[2021-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7037104/>. DOI: 10.2147/OTT.S237307.
 - [18] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297. DOI:10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
 - [19] KIM V N. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(5): 376-385. DOI: 10.1038/nrm1644.
 - [20] HAMMOND S M. An overview of microRNAs[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 87: 3-14. DOI:10.1016/j.addr.2015.05.001.
 - [21] CHEN F K, FENG Z P, ZHU J L, et al. Emerging roles of circRNA_NEK6 targeting miR-370-3p in the proliferation and invasion of thyroid cancer via Wnt signaling pathway[J]. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19(12): 1139-1152. DOI:10.1080/15384047.2018.1480888.
 - [22] ZHANG H, MA X P, LI X, et al. Circular RNA circ_0067934 exhaustion expedites cell apoptosis and represses cell proliferation, migration and invasion in thyroid cancer via sponging miR-1304 and regulating CXCR1 expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(24): 10851-10866. DOI:10.26355/eurrev_201912_19789.
 - [23] THURIAUX P, NURSE P, CARTER B. Mutants altered in the control co-ordinating cell division with cell growth in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*[J]. *Mol Gen Genet*, 1978, 161(2): 215-220. DOI:10.1007/BF00274190.
 - [24] MATHESON C J, BACKOS D S, REIGAN P. Targeting WEE1 kinase in cancer[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2016, 37(10): 872-881. DOI:10.1016/j.tips.2016.06.006.
 - [25] GE X C, WU F, LI W T, et al. Upregulation of WEE1 is a potential prognostic biomarker for patients with colorectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(6): 4341-4348. DOI:10.3892/ol.2017.5984.
 - [26] MAGNUSSEN G I, HOLM R, EMILSEN E, et al. High expression of WEE1 is associated with poor disease-free survival in malignant melanoma: potential for targeted therapy[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38254 [2021-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22719872/>. DOI:10.1371/journal.pone.0038254.
 - [27] WANG Q, CHEN Y K, LU H J, et al. Quercetin radiosensitizes non-small cell lung cancer cells through the regulation of miR-16-5p/WEE1 axis[J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(5): 1012-1022. DOI:10.1002/iub.2242.
 - [28] WANG L, SU K, WU H H, et al. LncRNA SNHG3 regulates laryngeal carcinoma proliferation and migration by modulating the miR-384/WEE1 axis[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116597. DOI:10.1016/j.lfs.2019.116597.
 - [29] JONKER P K, VAN DAM G M, OOSTING S F, et al. Identification of novel therapeutic targets in anaplastic thyroid carcinoma using functional genomic mRNA-profiling: Paving the way for new avenues? [J]. *Surgery*, 2017, 161(1): 202-211. DOI: 10.1016/j.surg.2016.06.064.

[收稿日期] 2021-01-27

[修回日期] 2021-06-22

[本文编辑] 黄静怡