

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.002

· 研究快报 ·

MiR-142-5p 通过靶向 IGF2BP3 调控多柔比星诱导的肝癌细胞凋亡

胡焯¹, 许小青¹, 王冰晶¹, 徐贺楠¹, 侯晋², 罗晓玲³, 梁安民³, 曹雪涛^{1,2} (1. 中国医学科学院北京协和医学院基础医学研究所, 北京 100006; 2. 第二军医大学免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433; 3. 广西医科大学附属肿瘤医院, 广西南宁 530021)

[摘要] **目的:**探讨 miR-142-5p 对多柔比星诱导的原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞凋亡的影响及其作用机制。**方法:**收集广西医科大学附属肿瘤医院 88 例 HCC 患者手术切除的癌组织及癌旁组织(距癌灶组织边缘 2~5 cm)标本。采用实时荧光定量 PCR 检测人 HCC 组织和癌旁组织、人正常肝细胞以及 HCC 细胞系中 miR-142-5p 的表达量。向 HCC 细胞 SMMC-7721 中转染 miR-142-5p mimics, 流式细胞术检测过表达 miR-142-5p 后 SMMC-7721 细胞在多柔比星(doxorubicin) (1 μg/ml)诱导下凋亡的变化;生物信息学方法预测 miR-142-5p 可靶向结合胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3, IGF2BP3)基因,并采用荧光素酶报告基因实验进行验证。采用实时荧光定量 PCR 及 Western blotting 检测过表达 miR-142-5p 的 SMMC-7721 细胞中 IGF2BP3 的 mRNA 及蛋白表达情况。**结果:**与癌旁组织和正常肝细胞相比, HCC 组织 (-6.91 ± 2.61 vs -11.59 ± 2.59, $P < 0.01$)和多种 HCC 细胞系中 miR-142-5p 呈明显低表达(均 $P < 0.01$);过表达 miR-142-5p 可显著促进多柔比星诱导的 HCC 细胞 SMMC-7721 的凋亡[(49.40 ± 3.47)% vs (19.50 ± 1.74)% , $P < 0.01$];过表达 miR-142-5p 可明显降低 HCC 细胞中 IGF2BP3 的 mRNA 及蛋白表达水平($P < 0.01$),敲减 IGF2BP3 表达可进一步促进多柔比星诱导的 SMMC-7721 细胞的凋亡($P < 0.01$)。荧光素酶报告基因实验结果显示, miR-142-5p 能够抑制 IGF2BP3 的 3'UTR 荧光素酶报告基因的活性。**结论:**miR-142-5p 在 HCC 组织标本和体外培养细胞系中的表达水平均显著降低,转染 miR-142-5p mimics 后能够促进多柔比星诱导的 HCC 细胞的凋亡,其机制可能与 miR-142-5p 靶向作用 IGF2BP3 从而促进 HCC 细胞凋亡有关。

[关键词] 肝细胞癌;miR-142-5p;多柔比星;凋亡;胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3 基因

[中图分类号] R735.7; R730.54; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)06-0581-07

MiR-142-5p promotes hepatocellular carcinoma cell apoptosis induced by doxorubicin with targetting IGF2BP3

HU Ye¹, XU Xiaoqing¹, WANG Bingjing¹, XU Henan¹, HOU Jin², LUO Xiaoling³, LIANG Anmin³, CAO Xuetao^{1,2}

(1. Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100006, China; 2. National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the function and molecular mechanisms of micro RNA-142-5p (miR-142-5p) on the doxorubicin induced apoptosis of primary hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** Paired HCC tissues and adjacent non-cancerous tissue specimens (2-5cm away from the lesion) were surgically collected from 88 patients who were diagnosed with primary HCC in Tumor Hospital Affiliated to Guangxi Medical University between October 2001 and July

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31390431);国家重点基础研究发展规划(973计划)资助项目(No. 2013CB530503)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31390431), and the National Key Basic Research and development Program (973) of China (No. 2013CB530503)

[作者简介] 胡焯(1989-),女,硕士生,主要从事翻译后修饰在肿瘤免疫中调控作用的研究, E-mail: doctorhu08@sina.com

[通信作者] 曹雪涛(CAO Xuetao, corresponding author),教授,博士生导师,中国工程院院士,主要从事天然免疫与炎症基础研究、疾病免疫治疗应用研究, E-mail: caoxt@immunol.org

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170603.1026.008.html>

2005. qRT-PCR was used to detect the miR-142-5p expressions in those HCC tissues, adjacent non-cancerous tissues, normal hepatocellular cell line and HCC cell lines. HCC SMMC-7721 cells were transfected with miR-142-5p mimics, and flow cytometry was used to determine the changes in doxorubicin (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) induced apoptosis of SMMC-7721 cells. Bioinformatics predicted that miR-142-5p could bind with insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3 (IGF2BP3), which was then validated by luciferase reporter gene assay. qRT-PCR and Western blotting were separately used to detect the mRNA and protein expressions of IGF2BP3 in SMMC-7721 cells that over-express miR-142-5p. **Results:** Compared with the adjacent non-tumor tissues, miR-142-5p was significantly lower in HCC tissues (-6.91 ± 2.61 vs -11.59 ± 2.59 , $P < 0.01$) and this decrease was also found in HCC cell line compared with normal human liver cells ($P < 0.01$); over-expression of miR-142-5p significantly promoted the doxorubicin induced apoptosis of HCC SMMC-7721 cells ($[49.4 \pm 3.47]\%$ vs $[19.50 \pm 1.74]\%$, $P < 0.01$). miR-142-5p over-expression could obviously inhibit the mRNA and protein expressions of IGF2BP3 in SMMC-7721 cells. Luciferase reporter gene assay also showed that miR-142-5p over-expression could inhibit the luciferase activity of 3'UTR of IGF2BP3. **Conclusion:** miR-142-5p expression significantly decreased in both HCC tissues and HCC cell lines. miR-142-5p mimics transfection promoted doxorubicin induced apoptosis of HCC cells, and the mechanism probably related with miR-142-5p targetting IGF2BP3 and further promote the apoptosis of HCC cells.

[**Key words**] hepatocellular carcinoma (HCC); miR-142-5p; doxorubicin; apoptosis; insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3 (IGF2BP3) gene

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(6): 581-587. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.002]

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国最常见的恶性肿瘤之一,高发于东南沿海地区。我国 HCC 患者的多发年龄为 40 ~ 50 岁,男性发病率高于女性。HCC 致病因素很多,形成机制十分复杂^[1-3]。由于缺乏有效的药物治疗手段,HCC 已成为人类健康的主要杀手,因此,早期诊断和寻找潜在的药物治疗靶点就显得尤为重要。大量研究^[4-6]表明,miRNA 控制着胚胎发育、细胞分化、器官生长等重要的生物学过程,也被证明可以作为促癌因子和抑癌因子在肿瘤的发生发展中起到重要作用。miR-142-5p 目前在肿瘤及胚胎干细胞方面的研究已有相关文献^[7-8]报道。课题组前期深度测序结果^[9]发现,与癌旁组织相比,miR-142-5p 在人肝癌组织表达显著下调,提示 miR-142-5p 可能参与 HCC 的发生及发展进程。本研究通过检测临床 HCC 组织标本和不同来源的 HCC 细胞系中 miR-142-5p 的表达水平,并进一步在体外人 HCC 细胞系中过表达 miR-142-5p,探讨 miR-142-5p 对多柔比星(doxorubicin)诱导的肝癌细胞凋亡的影响及其可能的发生机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系、主要试剂和手术标本

收集广西医科大学附属肿瘤医院 2005 年 10 月至 2012 年 7 月 88 例肝癌患者手术切除的 HCC 组织和癌旁组织(距离癌灶组织边缘 2 ~ 5 cm)标本,患者术前均未进行化疗或放疗,所有样本采集均符

合医学伦理学规定,患者均签署知情同意书。88 例患者临床资料见表 1。人胚胎肾细胞系 HEK293T 及人 HCC 细胞系 HuH7、HepG2 均购自 ATCC,人正常肝细胞系 Chang liver 及人肝癌细胞系 SK-HEP-1、SMMC-7721、BEL-7402、PLC/PRF/5 均购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,由医学免疫学国家重点实验室培养冻存。INTERFERin siRNA 转染试剂购自 Polypus 公司,miRNA 分析系统购自 Applied Biosystems 公司,ReverTra Ace Qpcr-RT kit 反转录试剂盒购自 TOYOBO 公司,miR-142-5p 模拟物(mimics)及无关序列小 RNA(NC mimics)购自苏州吉玛基因股份有限公司。胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3, IGF2BP3)抗体购自 Santa Cruz 公司,蛋白酶抑制剂混合片剂购自罗氏公司,多柔比星购自 Sigma 公司,Dual-Luciferase[®] Reporter Assay System 荧光素酶报告基因系统购自 Promega 公司,jetPRIME 转染试剂购自 Polyplus 公司,细胞凋亡检测试剂盒 PE Annexin V Apoptosis Detectin Kit 购自 BD 公司。实时荧光定量 PCR 仪 ViiA7 购自 Applied Biosystems 公司,运行软件和数据分析软件均为 QuantStudio Real-time PCR Software。双荧光素酶报告基因检测仪器 VARIOSKAN FLASH 购自 Thermo Scientific 公司,运行软件和数据分析软件均为 Gen 5。FACS Aria II 流式细胞仪购自 BD 公司,分析软件为 FACS Diva Software。

1.2 实时荧光定量 PCR 检测人 HCC 组织和 HCC

细胞系中 miR-142-5p 的表达

使用 TRIzol 试剂提取 HCC 组织、癌旁组织和人 HCC 细胞系 (HuH7、HepG2、SK-HEP-1、SMMC-7721、BEL-7402、PLC/PRF/5) 及人正常肝细胞系 Chang liver 细胞总 RNA, 逆转录为 cDNA。其中 miR-142-5p 的逆转录引物序列为 5'-GTCGTATC-CAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAGTAGT-3'; 定量上游引物序列为 5'-CCGGTCATA-AAGTAGAAAGC-3', 下游引物序列为 5'-GTG-CAGGGTCCGAGGT-3'。U6 的逆转录引物序列为 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'; U6 定量引物上游序列为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游引物序列为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。使用 ReverTra Ace Qpcr-RT Kit 反转录试剂盒中的缓冲液和酶进行逆转录, 反应程序为: 16 °C, 5 min; 37 °C, 30 min; 98 °C, 5 min; 4 °C 短期保存。定量 PCR 检测程序为: 95 °C, 10 min; 95 °C 10 s; 60 °C, 20 s; 72 °C 20 s, 45 个循环。HCC 细胞中 miR-142-5p 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算; HCC 组织样品中 miR-142-5p 的表达量以 \log_2 transformed 计算 (即 $\log_2 2^{-\Delta\Delta Ct}$)。

表 1 88 例肝癌患者临床资料

Tab. 1 Clinical characteristics of 88 HCC patients

Clinical variables	Case number(n)
Sex (male/female)	75/13
Age(t/a, >55/≤55)	41/47
Cirrhosis (yes/no)	41/57
Tumor size (d/cm, >5/≤5)	53/35
Tumor number (>1/1)	8/80
TNM stage (III ~ IV/ I ~ II)	46/42
Histological grade (> II/ I ~ II)	35/53

1.3 HCC 细胞系培养和 miR-142-5p mimics 的转染

人 HCC 细胞系 SMMC-7721、BEL-7402、PLC/PRF/5、HuH7、HepG2、SK-HEP-1 使用 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液, HepG2 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 传代时使用胰酶消化 2 min, 均置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中传代培养。HCC 细胞系处于对数生长期时将细胞接种于 6 孔板, 每孔 6×10^5 个细胞, 培养 12 h 细胞贴壁后, 换液, 进行转染。转染体系为 200 μ l 的 OPTI-MEM, 加入终浓度为 10 nmol/L 的 mimics, 转染试剂 IN-

TERFERin 为 8 μ l/孔, 转染 48 h。其中实验共设置两组, 阴性对照组转染 NC mimics, 实验组转染 miR-142-5p 的 mimics。实验均重复 3 次。

1.4 流式细胞术检测转染 miR-142-5p mimics 对多柔比星诱导的 HCC 细胞凋亡的影响

SMMC-7721 细胞铺入 6 孔板, 转染 miR-142-5p mimics 为实验组和转染 NC mimics 为阴性对照组, 48 h 后, 加入多柔比星 (1 μ g/ml) 诱导 8 h, 收取细胞。按照细胞凋亡检测试剂盒 PE Annexin V Apoptosis Detectin Kit 说明操作, 1×10^6 个细胞用预冷 PBS 洗涤两次, 加入 200 μ l 的结合缓冲液重悬后, 加入 1 μ l 的 PE Annexin V 和 1 μ l 的 7-AAD, 混匀, 室温避光孵育 15 min, 最后加入 400 μ l 结合缓冲液重悬至流式管, 流式细胞仪检测细胞凋亡, 并用 FACS Diva 软件分析数据。实验重复 3 次。

1.5 Western blotting 检测转染 miR-142-5p mimics 对 HCC 细胞中 IGF2BP3 表达的影响

利用生物信息学网站 TargetScan (<http://www.Targetscan.org>) 和 MicroRNA (<http://www.microrna.org/>) 进行综合的生物信息学预测。HCC 细胞转染 72 h 后收集转染组和对照组细胞, 用细胞裂解液裂解细胞。BCA 法测定蛋白浓度, 配置 30 ~ 50 μ g 蛋白样品。用 10% SDS-PAGE 跑胶分离后, 转至 NC 膜, 用含有 BSA 的 TBST 室温封闭 1 h, 分别加入 IGF2BP3 抗体 (1:500)、 β -actin 抗体 (1:10 000), 4 °C 孵育过夜, 洗膜后加过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜, 最后用 ECL 法显影。Gene gnome 采集图片并利用 ImageJ 软件进行灰度值分析, 计算蛋白相对表达量。实验重复 3 次。

1.6 荧光素酶报告基因实验方法

HEK293T 细胞按 3×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 每孔 100 μ l。标准条件下培养 12 h 后, 参照说明书使用 jetPRIME 转染试剂, 每孔共转 40 ng IGF2BP3 3'UTR 荧光素酶报告基因或其突变载体、10 ng pRL-TK 荧光素酶内参质粒, 以及终浓度为 20 nmol/L 的 miRNA-142-5p mimics, 以 NC mimics 为对照。转染 24 h 后, 使用双荧光素酶报告基因检测系统检测荧光活性, 计算 Firefly 荧光值与内参 Renilla 荧光值的比值, 即为 3'UTR 报告基因活性值。

1.7 流式细胞术检测转染 siIGF2BP3 对 HCC 细胞凋亡的影响

5×10^5 个 SMMC-7721 细胞铺入 6 孔板并培养过夜后, 使用 INTERFERin 转染试剂 (Polyplus 公司) 转染 siRNA, RNA 转染终质量浓度为 50 nmol/L。36 h 后, 加入多柔比星 (1 μ g/ml) 诱导 8 h,

收取细胞。流式细胞术检测方法同 1.4 节。

1.8 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计学软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对或不配对的 *t* 检验分析数据, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-142-5p 在人 HCC 组织及细胞系中低表达

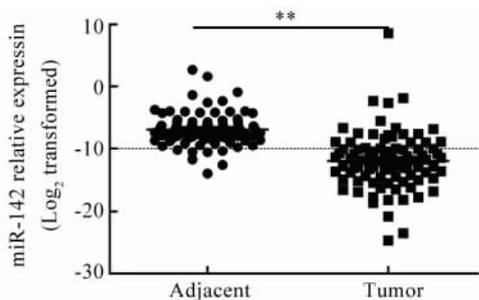
实时荧光定量 PCR 检测结果(图 1)显示, HCC 组织中 miR-142-5p 的表达明显低于同一患者的癌旁组织(-8.02 ± 2.17 vs -10.11 ± 3.39 , $P < 0.01$), 并且 miR-142-5p 在 HCC 细胞系中的表达也显著低于其在正常肝细胞系中的表达($P < 0.01$)。

2.2 HCC 细胞系过表达 miR-142-5p

利用 Real-time PCR 法检测转染 miR-142-5p 组及对照组 HCC(SMMC-7721、BEL-7402、HuH7、PLC/PRF/5 和 HepG2) 中 miR-142-5p 的相对表达量。结果(图 2)显示, 转染组细胞的 miR-142-5p 表达量显著升高, 转染组是对照组的 1 200 ~ 4 500 倍。

2.3 过表达 miR-142-5p 促进多柔比星诱导的 SMMC-7721 细胞凋亡

Annexin V 阳性 PI 阴性的细胞被认为是早期凋亡的细胞, Annexin V 阳性 PI 阳性的细胞被认为是坏死的细胞。流式细胞术检测结果(图 3)显示, 转染 miR-142-5p mimics 组与对照组 NC mimics 比较, 细胞凋亡率明显增加[$(49.40 \pm 3.47)\%$ vs $(19.50 \pm 1.74)\%$, $P < 0.01$], 提示 miR-142-5p 具有促进多柔比星诱导细胞凋亡的作用。



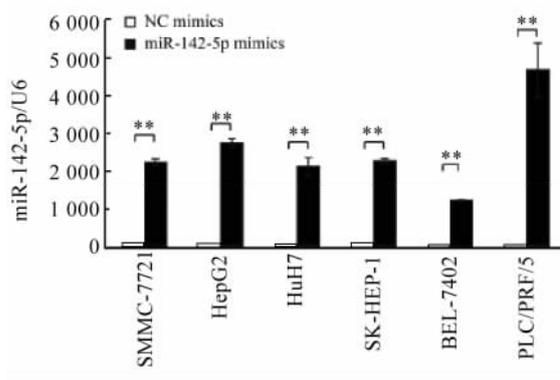
** $P < 0.01$

图 1 88 例 HCC 患者癌旁组织及癌组织中 miR-142-5p 的相对表达量

Fig. 1 Relative expression of miR-142-5p in 88 paired HCC tissues and adjacent non-tumor tissues

2.4 miR-142-5p 靶向并下调 IGF2BP3 mRNA 和蛋白质的表达

使用 TargetScan 和 MicroRNA 进行生物信息学综合分析, miR-142-5p 可以靶向 IGF2BP3 的 3'UTR 区域。为验证 miR-142-5p 能够靶向作用于 IGF2BP3, 在 HCC 细胞系 HepG2 和 SMMC-7721 中分别转染 miR-142-5p mimics 及对照组 NC mimics, 使用实时荧光定量 PCR 方法检测转染后细胞中 IGF2BP3 的 mRNA 水平, 结果(图 4A)显示, 实验组细胞中 IGF2BP3 mRNA 水平明显低于对照组($P < 0.01$); Western blotting 方法检测 IGF2BP3 蛋白质水平, 结果(图 4B)显示, 实验组细胞中 IGF2BP3 蛋白表达明显低于对照组(SMMC-7721: 0.08 ± 0.02 vs 0.34 ± 0.01 , HepG2: 0.32 ± 0.03 vs 0.42 ± 0.02 , 均 $P < 0.01$)。



** $P < 0.01$ vs NC mimics group

图 2 HCC 细胞系转染后过表达 miR-142-5p

Fig. 2 MiR-142-5p was over-expressed in HCC cells after transfection

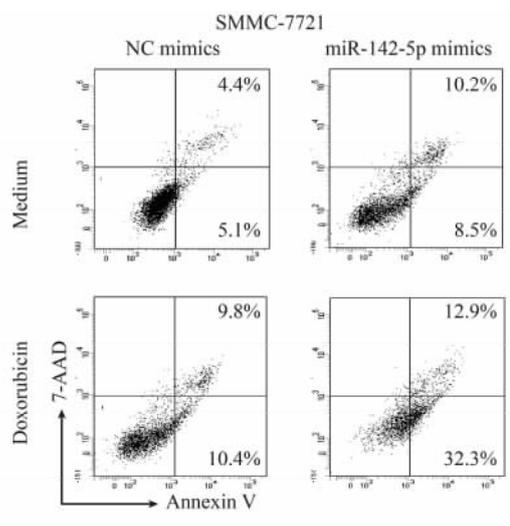
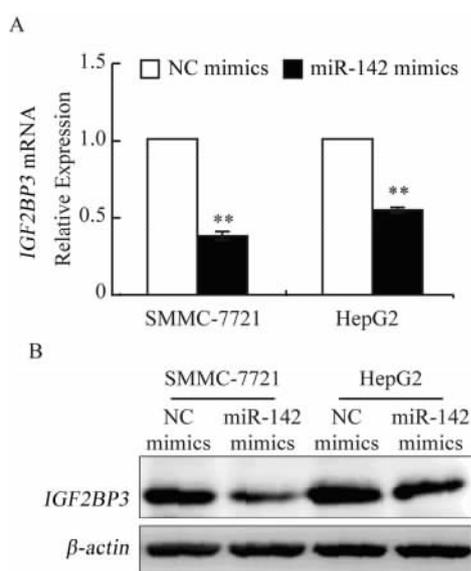


图 3 过表达 miR-142-5p 促进 HCC 细胞 SMMC-7721 凋亡

Fig. 3 miR-142-5p over-expression promotes the apoptosis of SMMC-7721 cell

并能够预测患者的预后,因此有望成为 HCC 治疗的



** $P < 0.01$ vs NC mimics line

A: Detection of *IGF2BP3* mRNA level by Real-time PCR;

B: Detection of *IGF2BP3* protein level by Western blotting

图 4 miR-142-5p 对预测靶向分子 *IGF2BP3* 的表达起下调作用

Fig. 4 *IGF2BP3* expression was down-regulated in HCC cells with miR-142-5p over-expression

2.5 miR-142-5p 通过直接影响 *IGF2BP3* 的转录而调节其表达水平

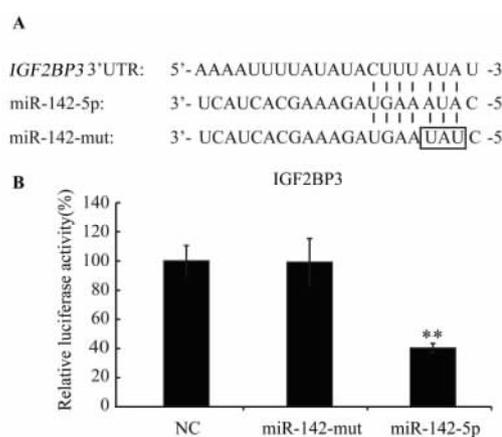
构建 *IGF2BP3* 的荧光报告基因载体及突变体载体后,共转染 *IGF2BP3* 的 3'UTR 荧光素酶报告基因载体和 miR-142-5p mimics,实验结果(图 5A)显示,miR-142-5p 能够抑制 *IGF2BP3* 的 3'UTR 荧光素酶报告基因的活性($P < 0.01$),而当 miR-142-5p 的结合位点突变后,这种抑制作用消失(图 5B)。

2.6 *IGF2BP3* 参与调节 HCC 细胞凋亡过程

为验证 *IGF2BP3* 在调控细胞凋亡中的作用,在 HCC 细胞系 SMMC-7721 中干扰其表达,Western blotting 检测 *IGF2BP3* 被干扰的效率,结果(图 6A)显示,si*IGF2BP3* 组 SMMC-7721 细胞中 *IGF2BP3* 的相对表达显著低于对照组[(30.42 ± 0.03) vs (69.26 ± 0.04), $P < 0.01$]。检测多柔比星($1 \mu\text{g/ml}$)诱导 8 h 后 SMMC-7721 细胞凋亡的情况,结果(图 6B)显示,干扰 *IGF2BP3* 表达后,HCC 细胞系凋亡率显著增加[(4.32 ± 0.25)% vs (8.57 ± 0.62)%, $P < 0.01$]。

3 讨论

有研究^[9]显示,miRNA 参与 HCC 的发生发展,



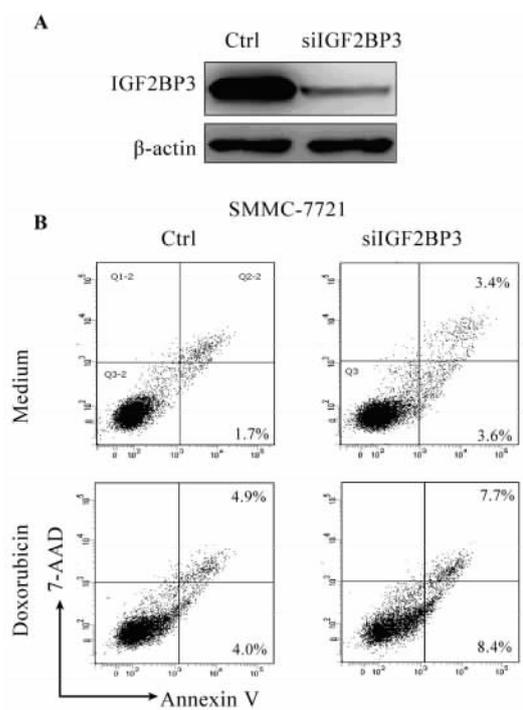
** $P < 0.01$ vs NC or miR-142-mut line

A: Possible binding sites of predicted *IGF2BP3* 3'UTR region with miR-142-5p and binding sites mutations;

B: MiR-142-5p can inhibit the luciferase activity of *IGF2BP3* 3'UTR

图 5 荧光素酶报告基因证实 miR-142-5p 靶向作用于 *IGF2BP3*

Fig. 5 miR-142-5p targeting gene *IGF2BP3* in hepatocytes was confirmed by luciferase reporter gene assay



A: *IGF2BP3* knock-down; B: Detection of apoptosis rate of HCC cell line after interference

图 6 干扰 *IGF2BP3* 促进 HCC 细胞系细胞 SMMC-7721 凋亡

Fig. 6 Knock-down of *IGF2BP3* promotes the apoptosis of SMMC-7721 cell

作用靶点或者潜在的检测指标,但是关于 miRNA 参与调控 HCC 发生发展的具体分子机制仍有待深入探究。miR-142 家族首先在造血系统中被发现^[8],包括 miR-142-5p 和 miR-142-3p,已知的相关研究领域包括造血因子的分化、心肌细胞的发育以及在不同的肿瘤细胞中的作用^[10]。目前对于 miR-142-5p 的研究相对较少,主要集中在肿瘤及炎症相关领域,其在不同类型的肿瘤中功能不尽相同。有研究^[11]报道,在Ⅲ期结直肠癌中,miR-142-5p 的表达下降,并可能靶向与凋亡相关的基因进而促进凋亡。在骨肉瘤细胞中,miR-142-5p 发挥抑癌基因的作用,可以抑制骨肉瘤细胞的增殖、侵袭以及促进细胞凋亡^[12]。在胃癌中,miR-142-5p 的低表达可以作为预测术后复发胃癌的风险性指标^[13]。在转移性黑色素瘤中,miR-142-5p 的表达与患者的预后具有相关性^[14]。

在结肠癌中,有报道^[15]显示,经化疗和 SN38 治疗后的患者,血清中检测 miR-142-5p 呈现低表达,提示 miR-142-5p 发挥促癌功能,并可能通过调节细胞因子的作用发挥促癌功能。另有文献^[16]报道,在结肠癌患者的血清中,miRNA-142-5p 的表达量下降,提示 miR-142-5p 在结肠癌中可能发挥的抑癌功能,两种相反的结果可能与患者的病程以及病理类型有关,也提示 miR-142-5p 相对复杂的作用机制。在肺鳞癌组织中,miR-142-5p 和 miR-9 的表达上调,提示高表达 miR-142-5p 的患者预后较差,并参与调控细胞周期^[17]。此外,miR-142-5p 还可以通过抑制 SMAD3 来调节 TGF- β 通路进而调节细胞凋亡通路^[18]。有研究^[19]显示,在动脉粥样硬化和氧化性低密度脂蛋白中,上调的 miR-142-5p 可以调节巨噬细胞的凋亡。本研究通过对 88 例配对临床 HCC 组织样本检测 miR-142-5p 的表达,证实了其在 HCC 组织中表达显著下降。在 HCC 细胞系中的检测结果同样证实了其在人正常肝细胞和 HCC 细胞系中的表达具有显著差异,提示 miR-142-5p 在 HCC 细胞中可能发挥抑癌作用。进一步检测 miR-142-5p 在 HCC 中发挥的生理功能,发现可以促进多柔比星诱导的 HCC 细胞的凋亡,说明 miR-142-5p 在 HCC 中发挥抑癌基因的作用。

同时本研究证实,miR-142-5p 可以通过抑制 IGF2BP3 的表达促进 HCC 细胞凋亡。IGF2BP3 也称为 IMP3 (IGFII mRNA-binding protein) 或 KOC (KH-domain containing protein),是一种调节胰岛素样生长因子 2 (IGF2) 和 ACBT (beta-actin) 癌胚 RNA 结合蛋白。IGF2BP3 在骨肉瘤、HCC、肺细胞腺癌、

乳腺癌、结肠癌、胆管癌、肾癌等许多恶性肿瘤组织中高表达,而在正常组织中表达水平极低^[20-22]。在骨肉瘤细胞中,IGF2BP2 表达上调,可以通过发挥表观遗传学修饰作用介导细胞抗凋亡作用,从而促进同源皮下转移瘤的发生^[23]。研究^[24]发现,在造血系统的肿瘤细胞中,IGF2BP3 可以通过促进促癌基因 MYC 和 CDK6 的表达,进而影响肿瘤细胞的增殖和凋亡。上述研究表明 IGF2BP3 基因具有原癌基因的生物学功能,但关于 IGF2BP3 是如何受到调控的研究较少。本研究结果表明,miR-142-5p 通过抑制 IGF2BP3 的表达抑制肿瘤的增殖与转移,为 HCC 的治疗提供了新的潜在靶点。

综上所述,本实验检测到在人 HCC 组织中 miR-142-5p 低表达,进而发现 miR-142-5p 可以通过靶向 IGF2BP3 促进细胞凋亡,从而发挥抑癌基因的生物学效应。另外,本文在投稿修改的过程中发现,同期有一篇文献^[25]报道与笔者的研究结果具有一致性,在 HCC 患者中发现 miR-142-5p 和 miR-142-3p 的水平均下降。因此,miR-142-5p 可能在 HCC 中扮演抑癌基因的角色,本研究结果为 HCC 的发生发展寻找到了新的分子机制。

[参考文献]

- [1] KIM J U, SHARIFF M I F, CROSSEYM M E, et al. Hepatocellular carcinoma: Review of disease and tumor biomarkers [J]. World J Hepatol, 2016, 8(10): 471-476. DOI:10.4254/wjh.v8.i10.471-06.
- [2] LEVRERO M, ZUCMAN-ROSSI J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 2016, 64(1 Suppl): S84-S101. DOI:10.1016/j.jhep.2016.02.021.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132. DOI:10.3322/caac.21338.
- [4] LU J, GETZ G, MISKA E A, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. Nature, 2005, 435(7043): 834-838. DOI:10.1038/nature03702.
- [5] GUTTMAN M, RINN J L. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs [J]. Nature, 2012, 482(7385): 339-346. DOI:10.1038/nature10887.
- [7] KWANHIAN W, LENZE D, ALLES J, et al. MicroRNA-142 is mutated in about 20% of diffuse large B-cell lymphoma [J]. Cancer Med, 2012, 1(2): 141-155. DOI:10.1002/cam4.29.
- [8] KASASHIMA K, NAKAMURA Y, KOZU T. Altered expression profiles of microRNAs during TPA-induced differentiation of HL-60 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 322(2): 403-410. DOI:10.1016/j.bbrc.2004.07.130.
- [9] HOU J, LIN L, ZHOU W, et al. Identification of miRNA in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Cell,

- 2011, 19(2): 232-243. DOI:10.1016/j.ccr.2011.01.001.
- [10] LANDGRAF P, RUSU M, SHERIDAN R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing [J]. Cell, 2007, 129(7): 1401-1414. DOI:10.1016/j.cell.2007.04.040.
- [11] ZHAI B, WANG X, SHI D, et al. Transcatheter arterial infusion chemotherapy increases expression level of miR-142-5p in stage III colorectal cancer[J]. Indian J Cancer, 2015, 52(6): 47-55. DOI:10.4103/0019-509x.172513.
- [12] DING M, HU J, NI J, et al. Demethylation of microRNA-142 induced by demethylation agents plays a suppressive role in osteosarcoma cells[J]. Oncol Lett, 2015, 9(5): 2261-2267. DOI:10.3892/ol.2015.3036.
- [13] ZHANG X, YAN Z, ZHANG J, et al. Combination of hsa-miR-375 and hsa-miR-142-5p as a predictor for recurrence risk in gastric cancer patients following surgical resection[J]. Ann Oncol, 2011, 22(10): 2257-2266. DOI:10.1093/annonc/mdq758.
- [14] JAYAWARDANA K, SCHRAMM S J, TEMBE V, et al. Identification, review, and systematic cross-validation of microRNA prognostic signatures in metastatic melanoma[J]. J Invest Dermatol, 2016, 136(1): 245-254. DOI:10.1038/JID.2015.355.
- [15] PATHAK S, MENG W J, NANDY S K, et al. Radiation and SN38 treatments modulate the expression of microRNAs, cytokines and chemokines in colon cancer cells in a p53-directed manner[J]. Oncotarget, 2015, 6(42): 44758-44780. DOI:10.18632/oncotarget.5815.
- [16] GHANBARI R, MOSAKHANI N, ASADI J, et al. Downregulation of plasma miR-142-3p and miR-26a-5p in patients with colorectal carcinoma [J/OL]. Iran J Cancer Prev, 2015, 8(3): e2329 [2017-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4581368/>. DOI:10.17795/ijcp2329.
- [17] SU Y H, ZHOU Z, YANG K P, et al. MiR-142-5p and miR-9 may be involved in squamous lung cancer by regulating cell cycle related genes[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013, 17(23): 3213-3220.
- [18] CHANDA S, NANDI S, CHAWLA-SARKAR M. Rotavirus-induced miR-142-5p elicits proviral milieu by targeting non-canonical transforming growth factor beta signalling and apoptosis in cells [J]. Cell Microbiol, 2016, 18(5): 733-747. DOI:10.1111/cmi.12544.
- [19] XU R, BI C, SONG J, et al. Upregulation of miR-142-5p in atherosclerotic plaques and regulation of oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis in macrophages[J]. Mol Med Res, 2015, 11(5): 3229-3234. DOI:10.3892/mmr.2015.3191.
- [20] LEDERER M, BLEY N, SCHLEIFER C, et al. The role of the oncofetal IGF2 mRNA-binding protein 3 (IGF2BP3) in cancer [J]. Semin Cancer Biol, 2014, 29(7): 3-12. DOI:10.1016/j.semcancer.2014.07.006.
- [21] BELL J L, WÄCHTER K, MÜHLECK B, et al. Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins (IGF2BPs): post-transcriptional drivers of cancer progression[J]. Cell Mol Life Sci, 2013, 70(15): 2657-2675. DOI:10.1007/s00118-012-1186-z.
- [22] CHEN S T, JENG Y M, CHANG C C, et al. Insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression predicts unfavorable prognosis in patients with neuroblastoma[J]. Cancer Sci, 2011, 102(12): 2191-2198. DOI:10.1111/j.1349-7006.2011.02100.x.
- [23] UEKI A, SHIMIZU T, MASUDA K, et al. Up-regulation of Imp3 confers in vivo tumorigenicity on murine osteosarcoma cells [J/OL]. PLoS One, 2012, 7(11): e50621 [2017-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3511546/>. DOI:10.1371/journal.pone.0050621.
- [24] GUTSCHNER T, HÄMMERLE M, PAZAITIS N, et al. Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1 (IGF2BP1) is an important protumorigenic factor in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2014, 59(5): 1900-1911. DOI:10.1002/hep.26997.
- [25] TSANG F H, AU S L, WEI L, et al. MicroRNA-142-3p and microRNA-142-5p are downregulated in hepatocellular carcinoma and exhibit synergistic effects on cell motility[J]. Front Med, 2015, 9(3): 331-343. DOI:10.1007/s11684-015-0409-8.
- [收稿日期] 2017-01-13 [修回日期] 2017-04-11
[本文编辑] 王映红

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH用正体除外),例如 m (质量)、 t (时间)、 c (浓度)、 V (体积)、 p (压力)、 F (力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的浓度或质量浓度时,一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/(kg·d)或 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号 Å (埃)已不用,应写作 0.1 nm;时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec);转速单位符号为 r/min(不是 rpm);量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N,也不是 mol/mm³);力的单位“牛顿”符号为 N(不是 dyn(达因)、kgf(克力)),换算 1 dyn = 10⁻⁵ N;热量单位“焦耳”符号为 J(不是 cal(卡)、kcal(千卡)),换算 1 cal = 4.187 J;放射性活度单位符号为 Bq(不是 Ci(居里)),换算 1 Ci = 3.7 × 10¹⁰ Bq。

(本刊编辑部)