

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.007

· 基础研究(专题) ·

miR-1271-5p 在肾细胞癌组织和细胞中的表达及其对 A-498 细胞增殖及凋亡的影响

王勇^a, 郭永连^a, 陈琳^a, 李国灏^a, 应诚诚^a, 程薇^b (华中科技大学同济医学院 a. 附属武汉中心医院 泌尿外科, 湖北 武汉 430014; b. 附属梨园医院 耳鼻喉科, 湖北 武汉 430077)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-1271-5p 在肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)组织和细胞系中的表达及其对 RCC 细胞株 A-498 增殖及凋亡的影响。**方法:** 用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测手术切除并经病理确诊为 RCC 组织和癌旁组织, 以及 RCC 细胞系 ACHN、A498、HK-2、786-O、CaKi-1 和人胚肾细胞株 HEK293 中 miR-1271-5p 的表达水平。用 miR-1271-5p(实验组)和 miR-NC(对照组)分别转染 A-498 细胞。通过生物信息学预测鸟嘌呤交换因子 *DOCK1* 为 miR-1271-5p 可能的靶基因, 构建 *DOCK1* 基因的 3'UTR 野生型及突变体序列双荧光素酶报告基因载体并进行荧光素酶活性检测, qPCR 检测两组细胞中 *DOCK1* mRNA 表达水平, Western blotting 检测两组细胞中 DOCK1、p-ERK、p-AKT、Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达情况, MTS 法、集落形成实验和流式细胞术检测 A-498 细胞增殖、集落形成数目和凋亡情况。**结果:** RCC 组织和细胞系中 miR-1271-5p 表达水平显著低于癌旁组织和人胚肾 HEK293 细胞(均 $P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因系统结果显示 *DOCK1* 是 miR-1271-5p 的靶基因($P < 0.01$)。与 miR-NC 组细胞相比, miR-1271-5p 组 A-498 细胞中 *DOCK1* mRNA 的表达水平显著下降($P < 0.01$); DOCK1、p-ERK、p-AKT、Bcl-2 蛋白表达水平显著下调($P < 0.05$), Bax 蛋白明显上调($P < 0.05$); A-498 细胞增殖活力显著降低($P < 0.01$); 集落形成数显著减少($P < 0.05$); 细胞凋亡率显著增高($P < 0.01$)。**结论:** RCC 组织和细胞系中 miR-1271-5p 表达下调, 通过干扰 *DOCK1* 基因表达能明显抑制 A-498 细胞的增殖及诱导其凋亡, miR-1271-5p 可能成为未来 RCC 治疗的分子靶标。

[关键词] 肾细胞癌; miR-1271-5p; *DOCK1* 基因; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R737.11; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)01-0040-05

Expression of miR-1271-5p in renal cell carcinoma and its effect on proliferation and apoptosis of A-498 cells

WANG Yong^a, GUO Yonglian^a, CHEN Lin^a, LI Guohao^a, YING Chengcheng^a, CHENG Wei^b (a. Department of Urology, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, Hubei, China; b. Department of Otolaryngology, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430077, Hubei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression of miR-1271-5p in renal cell carcinoma(RCC) tissues and cell lines and its effect on the proliferation and apoptosis of RCC A-498 cell line. **Methods:** Pathologically confirmed RCC tissues and para-cancerous tissues were collected. Real-time fluorescent quantitative PCR (qPCR) was used to analyze the expression of miR-1271-5p in collected RCC tissues and RCC cell lines (ACHN, A498, HK-2, 786-O, CaKi-1) as well as human embryonic kidney cell line HEK293. miR-1271-5p (experiment group) and miR-NC (control group) were transfected into A-498 cells, respectively. Bioinformatics predicts that *DOCK1* is a possible target gene for miR-1271-5p. Double luciferase reporter gene vector of *DOCK1* gene 3'UTR (both wild and mutant type) were constructed and the luciferase activity was detected. The expression of *DOCK1* mRNA was detected by qPCR. Western blotting was used to analyze the protein expressions of DOCK1, p-ERK, p-AKT, Bcl-2 and Bax in two groups of cells. MTS assay and colony formation assay were performed to detect cell viability and proliferation. Cell apoptosis was analyzed by flow cytometry. **Results:** Compared with para-cancerous tissue and human embryonic kidney cells, the expression of miR-1271-5p was significantly decreased in

[基金项目] 湖北省自然科学基金资助项目(No.2017CFB176)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hubei Province (No.2017CFB176)

[作者简介] 王勇(1980-),男,硕士生,主治医师,主要从事泌尿系肿瘤的临床与基础研究,E-mail: 55805236@qq.com

[通信作者] 郭永连(GUO Yonglian, corresponding author),博士,主任医师,主要从事 miRNA 抑制肿瘤生长的基础研究,E-mail: yuezhao-haixi@sina.com

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20180116.0913.004.html>

RCC tissues and cell lines ($P<0.01$). Double luciferase reporter gene system showed that *DOCK1* is a target gene of miR-1271-5p ($P<0.01$). Compared with miR-NC transfected cells, the expression of *DOCK1* mRNA in A-498 cells transfected with miR-1271-5p was significantly decreased ($P<0.01$); the protein expressions of *DOCK1*, p-ERK, p-AKT and Bcl-2 were significantly down-regulated ($P<0.05$) while the expression of Bax protein was significantly up-regulated ($P<0.05$); The viability and colony formation of A-498 cells was significantly decreased (all $P<0.01$), while apoptosis was significantly increased ($P<0.01$). **Conclusion:** miR-1271-5p was down-regulated in RCC tissues and cell lines. miR-1271-5p significantly inhibited the proliferation and induced apoptosis of RCC A-489 cell by interfering with the expression of *DOCK1* gene. This provides a theoretical basis for miR-1271-5p as a promise molecular target in RCC treatment.

[Key words] renal cell carcinoma; miR-1271-5p; *DOCK1* gene; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(1): 40-44 DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.01.007]

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)约占成人恶性肿瘤的3%,占肾肿瘤的90%~95%,其发病率逐年上升^[1]。RCC对放化疗均不敏感,部分或根治性肾切除术是早期RCC的主要治疗方式^[2]。然而,仍有众多患者的预后并不理想,因此新型分子靶向治疗手段已经逐渐成为未来RCC治疗的方向。微小RNA(miRNA)是一类高度保守的非编码单链RNA,对RCC及多种肿瘤的生物功能均起着关键的调控作用^[3]。miR-1271-5p是一种在多种肿瘤(如卵巢癌、胃癌、口腔鳞状细胞癌、胰腺癌等)中明显低表达并具有显著抑癌作用的miRNA,可成为潜在的分子治疗靶点^[4-7],但其在RCC的作用尚未见报道。本课题利用实时荧光定量PCR(qPCR)法检测miR-1271-5p在RCC组织及细胞系中的表达水平,通过转染miR-1271-5p来验证miR-1271-5p的下游靶基因及其对RCC细胞增殖及凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 标本来源、细胞系和主要试剂

采用2016年7月至2017年4月期间华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院泌尿外科手术切除并经病理确诊为RCC的8例癌组织及癌旁组织标本,标本采集后立即置于液氮中保存。所有患者术前均未接受过放化疗,临床样本的获取均经伦理学委员会同意,患者均签署知情同意书。

人胚肾细胞系HEK293和人RCC细胞系ACHN、A498、HK-2、786-O及CaKi-1购于中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。DMEM培养基和胎牛血清(FBS)购于美国Gibco公司,miR-1271-5p和miR-NC购于广州锐博生物科技有限公司,Opti-MEM培养基、Lipofectamine™2000转染试剂和pMIR-Report Luciferase载体购于美国Invitrogen公司,双荧光素酶报告基因检测试剂盒购于美国Promega公司,一抗β-Actin、*DOCK1*、p-ERK、p-AKT、Bcl-2和Bax蛋白购于美国Cell Signaling Technology公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗购于美国Affinity公司,qPCR试

剂盒购于日本TaKaRa公司,MTS试剂盒购于美国Sigma公司,Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。PCR引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 细胞培养及转染

实验用细胞在37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养,使用含10%FBS的DMEM培养基培养人胚肾细胞和人RCC细胞。参照Lipofectamine™2000转染试剂说明书进行转染实验,以对数生长期的细胞为转染对象,分为实验组(转染miR-1271-5p)和对照组(转染miR-NC)。具体操作如下:将miRNA溶解于Opti-MEM培养基中孵育5 min,同时另取Lipofectamine™2000加入Opti-MEM培养基中孵育5 min,混合后室温静置15 min。将混合物加入各组细胞中,24 h后更换新鲜培养基。

1.3 生物信息学预测miR-1271-5p可能的靶基因

利用microRNA.org靶基因预测网站(<http://www.microrna.org/microrna/home.do>)进行分析,检索词为miR-1271-5p,检索*DOCK1*是否为miR-1271-5p的靶基因。

1.4 双荧光素酶报告质粒的构建及检测

将*DOCK1*基因3'UTR野生型及其突变体序列分别连入双荧光素酶报告基因载体,构建重组质粒pMIR-Report-*DOCK1*-3'UTR野生型和突变体。以对数生长期、细胞汇合度为50%的细胞为转染对象,将重组质粒分别与miR-1271-5p、miR-NC共同转染A-498细胞,实验分为4组:DOCK1-3'UTR mt+miR-1271-5p、DOCK1-3'UTR wt+miR-NC、DOCK1-3'UTR mt+miR-NC和DOCK1-3'UTR wt+miR-1271-5p。培养48 h后,吸去培养基,按照双荧光素酶检测试剂盒说明书,检测各组萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶活性,计算各组相对发光比率,根据比值比较两组细胞报告基因的激活程度。

1.5 qPCR检测RCC组织及细胞中miR-1271-5p和*DOCK1* mRNA的表达

提取RCC组织或细胞中总RNA,逆转录为cDNA。

使用qPCR试剂盒及相应引物通过PCR仪进行扩增检测。引物序列: *DOCK1* 上游为 5'-ACCGAGGTTA-CACGTTACGAA-3', 下游为 5'-TCGGAGTGTCGTG-GTGACTT-3'; *GAPDH* 上游为 5'-TCCCATCAC-CATCTTCCA-3', 下游为 5'-CATCACGCCACAGTTTCC-3'。反应条件: 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 72 °C 10 s, 共 40 个循环。以 *U6* 为内参检测 miR-1271-5p 的相对表达量, 以 *GAPDH* 为内参检测 *DOCK1* mRNA 的相对表达量, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示 *DOCK1* mRNA 相对表达水平。实验重复 4 次。

1.6 Western blotting 检测转染 miR-1271-5p 后细胞 *DOCK1* 及相关蛋白的表达

转染 48 h 后, 胰酶消化收集细胞, 提取总蛋白。每个样品蛋白以 30 μ g 上样量加至 SDS-PAGE 2 h, 转膜至 PVDF 膜后, 封闭液室温下封闭 1 h, 一抗 (1:1 000) 4 °C 下孵育过夜, 二抗 (1:5 000) 室温下孵育 1 h, ECL 显影液曝光显影, 检测 *DOCK1*、p-ERK、p-AKT、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达水平, 使用 Image J 软件分析条带灰度值。实验重复 4 次。

1.7 MTS 法检测转染 miR-1271-5p 后 A-498 细胞的增殖活力

接种两组细胞于 96 孔板中 (3×10^3 个/孔), 每组设 4 个复孔, 分别于接种后第 1、2、3、4 天进行检测。在各个时相点, 取出待检测的 96 孔培养板, 弃上清; 在避光条件下, 每孔加入 110 μ l MTS 液, 培养箱内培养 2 h 后, 酶标仪检测每孔在 490 nm 波长处的光密度 (*D*) 值。实验重复 4 次。

1.8 集落形成实验检测转染 miR-1271-5p 后 A-498

细胞的集落形成数

两组细胞转染 48 h 后, 胰酶消化收集细胞, 重悬制备单细胞悬液, 按 1×10^3 个细胞/孔接种于 6 孔板, 每组设 4 个复孔, 连续培养 10 d。用 1 ml 甲醇固定 10 min, 后 0.1% 结晶紫溶液固定 20 min, 流水冲洗, 取集落均匀的 4 个视野统计集落数。实验重复 4 次。

1.9 Annexin V-FITC/PI 检测转染 miR-1271-5p 后 A-498 细胞的凋亡率

两组细胞转染 48 h 后, 细胞常规消化离心, PBS 溶液洗 2 次, 加入 500 μ l 结合缓冲液重悬细胞, 分别加入 Annexin V-FITC 和 PI 染液各 5 μ l, 充分混匀后避光染色 20 min, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。实验重复 4 次。

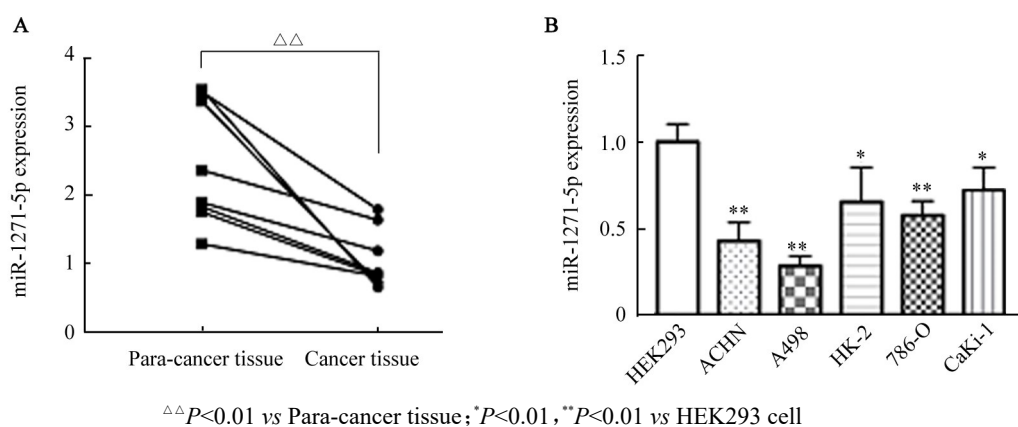
1.10 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析, 所有计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-1271-5p 在 RCC 组织和细胞中低表达

qPCR 检测结果显示, RCC 组织中 miR-1271-5 表达水平显著低于癌旁组织 ($t=3.90, P < 0.01$; 图 1A); RCC 细胞系 ACHN、A498、HK-2、786-O 和 CaKi-1 中 miR-1271-5 表达水平显著低于人胚肾 HEK293 细胞 ($t=7.71, 12.15, 3.08, 6.39, 3.34$, 均 $P < 0.05$; 图 1B), 其中 A498 细胞中 miR-1271-5p 下降的最为明显 (因此, 后续实验选用该细胞)。



$\Delta\Delta P < 0.01$ vs Para-cancer tissue; * $P < 0.01$, ** $P < 0.01$ vs HEK293 cell

图 1 肾细胞癌组织(A)和细胞系(B)中 miR-1271-5p 的表达

Fig. 1 Expression of miR-1271-5p in RCC tissue(A) and cell lines(B)

2.2 转染 miR-1271-5p 后 A498 细胞高表达 miR-1271-5p

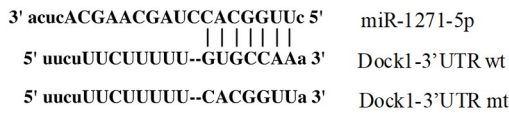
qPCR 检测结果显示, 转染后组 A498 细胞中 miR-1271-5 表达水平显著高于 miR-NC 组 ($1\ 300.03 \pm 433.27$ vs $1.02 \pm 0.22, t=6.00, P < 0.01$)。

2.3 *DOCK1* 是 miR-1271-5p 的靶基因

经 microRNA.org 靶基因预测网站分析 (图 2) 表明, *DOCK1* 是 miR-1271-5p 的靶基因。

双荧光素酶报告基因法检测结果 (图 3) 显示, 转

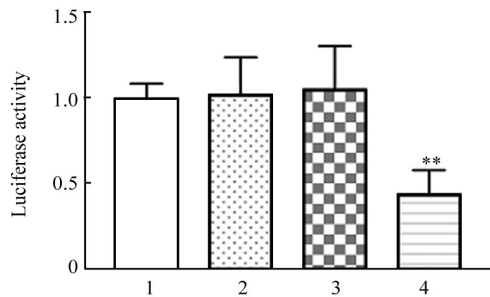
染48 h后,DOCK1-3'UTR wt + miR-1271-5p组细胞的荧光素酶活性明显低于DOCK1-3'UTR mt+miR-1271-5p组($P<0.01$);DOCK1-3'UTR wt+miR-NC细胞荧光素酶活性与DOCK1-3'UTR wt + miR-NC荧光素酶活性比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结果也表明,DOCK1为miR-1271-5p的靶基因。



mirSVR score: -1.1276;PhastCons score: 0.5611

图2 miR-1271-5p作用结合的碱基序列位于DOCK1 mRNA3'UTR

Fig.2 The binding sequence of miR-1271-5p locates at DOCK1 mRNA3'UTR



** $P<0.01$ vs DOCK1-3'UTR mt+miR-1271-5p
 1: DOCK1-3'UTR mt + miR-1271-5p; 2: DOCK1-3'UTR wt + miR-NC; 3: DOCK1-3'UTR mt + miR-NC; 4: DOCK1-3'UTR wt + miR-1271-5p

图3 双荧光素酶验证DOCK1是miR-1271-5p靶基因

Fig. 3 DOCK1 was the target gene of miR-1271-5p proved by double luciferase validation

2.4 miR-1271-5p转染后A-498细胞DOCK1 mRNA低表达

qPCR检测结果显示,转染miR-1271-5p后,miR-1271-5p组A498细胞DOCK1 mRNA表达水平明显低于miR-NC组细胞(0.50 ± 0.15 vs 1.00 ± 0.10 , $t=5.58$, $P<0.01$)。

2.5 转染miR-1271-5p后A498细胞DOCK1、p-ERK、p-AKT、Bcl-2和Bax蛋白的表达

Western blotting检测结果(图4)显示,与miR-NC组比较,miR-1271-5p组A498细胞DOCK1蛋白表达水平明显下调($t=4.21$, $P<0.05$);DOCK1蛋白下游靶蛋白p-ERK和p-AKT表达水平也明显下调($t=4.62$, 2.58 ; 均 $P<0.05$);细胞凋亡相关蛋白Bcl-2表达下调($t=5.39$, $P<0.01$),Bax蛋白表达明显上调($t=2.89$, $P<0.05$)。

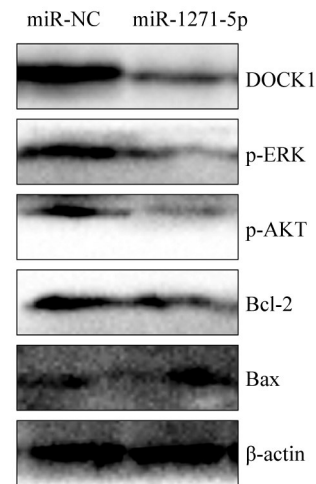
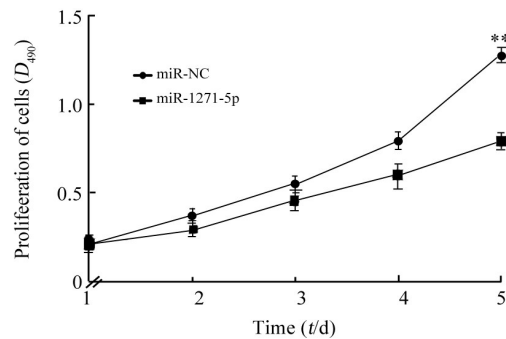


图4 转染miR-1271-5p后A-498细胞DOCK1蛋白及其相关蛋白的表达

Fig. 4 Expressions of DOCK1 protein and related proteins in A-498 cells after transfection with miR-1271-5p

2.6 转染miR-1271-5p后A-498细胞的增殖活性降低

MTS法检测结果(图5)显示,转染第5天起,miR-1271-5p组A-498细胞的增殖活性显著低于miR-NC组细胞(0.79 ± 0.10 vs 1.28 ± 0.09 , $t=7.49$, $P<0.01$)。



** $P<0.01$ vs miR-NC group

图5 转染miR-1271-5p后A-498细胞的增殖活性变化

Fig. 5 Chages of proliferation ability of A-498 cell line after transfection with miR-1271-5p

2.7 转染miR-1271-5p后A-498细胞的集落形成数减少

集落形成实验结果表明,转染miR-1271-5p后,miR-1271-5p组A-498细胞的减少集落形成数显著低于miR-NC组细胞[(68.5 ± 14.43)vs(141.55 ± 37.50)个, $t=3.64$, $P<0.05$]。

2.8 转染miR-1271-5p后A-498细胞的凋亡率增高

流式细胞术检测结果显示,miR-1271-5p组A-498细胞的凋亡率显著高于miR-NC组细胞[($12.74\pm$

2.98)% vs (2.76±0.99)%, $t=6.36, P<0.01$ 。

3 讨论

miRNA 通过 RNA 干扰效应可特异性干扰癌基因的表达,抑制肿瘤细胞的增殖和转移,诱导肿瘤细胞分化和凋亡,在肿瘤治疗方面具有广阔的应用前景^[8]。miR-1271-5p 是 miR-1271 的成熟剪辑体之一,参与调控多种肿瘤细胞的生物学行为。miR-1271-5p 在卵巢癌、胃癌、肝癌、口腔鳞状细胞癌、胰腺癌、子宫内膜癌和前列腺癌等多种肿瘤中表达下调,其低水平表达与部分肿瘤的不良预后相关,可抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,发挥抑癌作用^[4-7,9-11]。然而,miR-1271-5p 在某些肿瘤中表现为促癌作用,可增强非小细胞肺癌细胞的增殖能力和侵袭性^[12]。截至目前,尚未见 miR-1271-5p 在 RCC 中的作用研究报道。

本研究发现,RCC 组织中的 miR-1271-5p 表达水平明显低于癌旁组织,提示 miR-1271-5p 对 RCC 的发生发展可能具有抑制作用。通过生物信息学分析及双荧光素酶报告基因检测,验证 *DOCK1* 是 miR-1271-5p 的靶基因。*DOCK1* 基因属于 DOCK 家族蛋白,整合素通路组分之一,*DOCK1* 可通过活化 ERK、AKT 等下游蛋白,促进细胞增殖与抑制细胞凋亡^[13]。本研究中将 miR-1271-5p 转染至 RCC 细胞株 A-498,其 *DOCK1* mRNA 和蛋白的表达水平均明显下降;*DOCK1* 下游蛋白 p-ERK、p-AKT 表达明显下调。Bax 和 Bcl-2 蛋白是目前研究较多的凋亡相关蛋白,可以通过线粒体通路诱导细胞凋亡^[14]。Bax 高表达,则促进细胞凋亡;Bcl-2 高表达,则抑制细胞凋亡^[15]。本研究结果显示,miR-1271-5p 组细胞 Bax 表达明显上调,Bcl-2 表达明显下调,提示细胞凋亡增加。细胞功能实验进一步表明 miR-1271-5p 可显著抑制 RCC 细胞增殖,促进细胞凋亡。

综上所述,RCC 组织中 miR-1271-5p 表达明显降低,miR-1271-5p 可通过干扰 *DOCK1* 基因的表达,显著抑制 RCC 细胞增殖,诱导细胞凋亡,miR-1271-5p 可能成为 RCC 治疗的新潜在靶标。

[参考文献]

- [1] WU J X, DU W Q, WANG X C, et al. Rap2a serves as a potential prognostic indicator of renal cell carcinoma and promotes its migration and invasion through up-regulating p-Akt[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6623[2017-09-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5529368/>. DOI: 10.1038/s41598-017-06162-7.
- [2] SOLMAZ A, MUHAMMEDOGLU A, ALTINAY S, et al. Isolated thyroid metastasis from renal cell carcinoma[J/OL]. *Turk J Surg*, 2017, 33(2): 110-112[2017-09-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5508233/>. DOI: 10.5152/UCD.2015.2962.
- [3] WANG J, SONG C, TANG H, et al. miR-629-3p may serve as a novel biomarker and potential therapeutic target for lung metastases of triple-negative breast cancer[J/OL]. *Breast Cancer Res*, 2017, 19(1): 72[2017-09-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5477310/>. DOI: 10.1186/s13058-017-0865-y.
- [4] LIU H, WANG H, LIU X, et al. miR-1271 inhibits migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition by targeting ZEB1 and TWIST1 in pancreatic cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 472(2): 346-352. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.02.096.
- [5] LIU X, MA L, RAO Q, et al. MiR-1271 Inhibits ovarian cancer growth by targeting cyclin G1[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3152-3158 [2017-09-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4617187/>.
- [6] XIANG X J, DENG J, LIU Y W, et al. MiR-1271 inhibits cell proliferation, invasion and EMT in gastric cancer by targeting FOXQ1 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(4): 1382-1394. DOI: 10.1159/000430304.
- [7] KONG D, ZHANG G, MA H, et al. miR-1271 inhibits OSCC cell growth and metastasis by targeting ALK[J]. *Neoplasma*, 2015, 62(4): 559-566. DOI: 10.4149/neo_2015_067.
- [8] HAN X, WANG X, ZHAO B, et al. MicroRNA-187 inhibits tumor growth and metastasis via targeting of IGF-1R in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 2241-2246. DOI: 10.3892/mmr.2017.6788.
- [9] LIN M F, YANG Y F, PENG Z P, et al. FOXK2, regulated by miR-1271-5p, promotes cell growth and indicates unfavorable prognosis in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 88: 155-161[2017-09-01]. <http://sciencedirect.com/science/journal/13572725>. DOI: 10.1016/j.biocel.2017.05.019.
- [10] LI L, QU Y W, LI Y P. Over-expression of miR-1271 inhibits endometrial cancer cells proliferation and induces cell apoptosis by targeting CDK1[J/OL]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(12): 2816-2822 [2017-09-01]. <http://www.europeanreview.org/article/12939>.
- [11] WANG M, GAO W, LU D, et al. MiR-1271 inhibits cell growth in prostate cancer by targeting ERG[J/OL]. *Pathol Oncol Res*, 2017, 2017[2017-09-01]. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12253-017-0254-y>. DOI: 10.1007/s12253-017-0254-y.
- [12] WANG Y, XU L, JIANG L. miR-1271 promotes non-small-cell lung cancer cell proliferation and invasion via targeting HOXA5[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(3): 714-719. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.033>. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.02.033.
- [13] ZHANG B, LI H, YIN C, et al. Dock1 promotes the mesenchymal transition of glioma and is modulated by MiR-31[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2017, 43(5): 419-432. DOI: 10.1111/nan.12321.
- [14] LIU F, JIANG Y J, ZHAO H J, et al. Electroacupuncture ameliorates cognitive impairment and regulates the expression of apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in rats with cerebral ischaemia-reperfusion injury [J/OL]. *Acupunct Med*, 2015, 33(6): 478-484[2017-09-01]. <http://aim.bmj.com/content/33/6/478.long>. DOI: 10.1136/acupmed-2014-010728.
- [15] WU C, GENG X, WAN S, et al. Cecropin-P17, an analog of cecropin B, inhibits human hepatocellular carcinoma cell HepG-2 proliferation via regulation of ROS, Caspase, Bax, and Bcl-2[J]. *J Pet Sci*, 2015, 21(8): 661-668. DOI: 10.1002/psc.2786.

[收稿日期] 2017-10-30

[修回日期] 2017-12-03

[本文编辑] 党瑞山