

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.04.005

· 基础研究 ·

## miR-93 通过靶向 EphA4 激活 ERK 通路促进非小细胞肺癌细胞的增殖和迁移

洪秋双, 王琳, 娄加陶(上海交通大学附属胸科医院 检验科, 上海 200030)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-93/Eph 受体 A4(EphA4) 分子轴通过细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK) 通路对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) H460 和 H1299 细胞增殖和迁移的影响。**方法:** 用 qPCR 检测 H460 和 H1299 细胞中 miR-93 表达水平。分别在 H460 细胞中转染 miR-93 模拟物(mimics)和 EphA4 过表达质粒、在 H1299 细胞中转染 miR-93 抑制剂(inhibitor)后, 用 MTT、Transwell 实验检测 miR-93 对转染细胞增殖和迁移的影响。用双荧光素酶报告基因实验验证 miR-93 与 EphA4 之间的靶向调控关系。用 Western blotting 检测细胞中增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、EphA4、ERK 和 p-ERK 蛋白的表达水平, 用 MTT、Transwell 实验检测同时过表达 miR-93 和 EphA4 对 H460 细胞增殖和迁移的影响。**结果:** miR-93 在 H1299 细胞中表达水平高于 H460 细胞( $P<0.01$ )。过表达 miR-93 促进 H460 细胞增殖和迁移(均  $P<0.01$ ), 敲低 miR-93 抑制 H1299 细胞增殖和迁移(均  $P<0.01$ )。双荧光素酶报告基因实验证实 miR-93 靶向调控 EphA4, 过表达 miR-93 明显下调 H460 细胞中 EphA4 mRNA 和蛋白表达水平(均  $P<0.05$ ), 过表达 miR-93 通过靶向 EphA4 并激活 ERK 通路促进 H460 细胞的增殖和迁移(均  $P<0.01$ )。**结论:** miR-93 促进 NSCLC 细胞增殖和迁移, 其机制可能与靶向调控 EphA4 并激活 ERK 通路有关。

**[关键词]** 非小细胞肺癌; H460 细胞; H1299 细胞; miR-93; EphA4; ERK 通路; 增殖; 迁移

**[中图分类号]** R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)04-0370-07

## miR-93 activates ERK pathway to promote proliferation and migration of NSCLC cells via targeting EphA4

HONG Qiushuang, WANG Lin, LOU Jiatao (Clinical Laboratory, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-93/EphA4 (Eph receptor A4) axis on the proliferation and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) H460 and H1299 cells via regulating extracellular regulated protein kinases (ERK) pathway. **Methods:** The expression levels of miR-93 in H460 and H1299 cells was detected by qPCR. miR-93 mimics and EphA4 overexpression plasmids were transfected into H460 cells and miR-93 inhibitor was transfected into H1299 cells respectively, after which MTT assay and Transwell assay were used to detect the effects of miR-93 on proliferation and migration of transfected cells. The targeted regulatory relationship between miR-93 and EphA4 was verified by Dual-luciferase reporter gene assay. The expression levels of PCNA (proliferating cell nuclear antigen), EphA4, ERK and p-ERK were detected by Western blotting. The effects of simultaneous overexpression of miR-93 and EphA4 on proliferation and migration of H460 cells were detected by MTT assay and Transwell assay. **Results:** The expression of miR-93 in H1299 cells was higher than that in H460 cells ( $P<0.01$ ). Overexpression of miR-93 promoted proliferation and migration of H460 cells (all  $P<0.01$ ), and knockdown of miR-93 inhibited proliferation and migration of H1299 cells (all  $P<0.01$ ). The Dual-luciferase reporter gene assay confirmed that miR-93 could target EphA4. Overexpression of miR-93 down-regulated the mRNA and protein expression levels of EphA4 (all  $P<0.05$ ), and promoted proliferation and migration of H460 cells through targeted regulation of EphA4 and activation of ERK pathway (all  $P<0.01$ ). **Conclusion:** miR-93 promotes the proliferation and migration of NSCLC cells, and its mechanism may be related to the targeted regulation of EphA4 and activation of the ERK pathway.

**[Key words]** non-small cell lung cancer (NSCLC); H460 cell; H1299 cell; miR-93; EphA4; ERK pathway; proliferation; migration

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(4): 370-376. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.04.005]

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No.81672833)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81672833)

**[作者简介]** 洪秋双(1993-), 女, 硕士生, 主要从事肺癌发生发展的分子机制研究, E-mail: hongqiushuang@sjtu.edu.cn

**[通信作者]** 娄加陶(LUO Jiatao, corresponding author), 博士, 教授、主任技师, 博士生导师, 主要从事肺癌的基础与临床研究, E-mail: loujiatao@126.com

肺癌是中国最常见的恶性肿瘤,是引起肿瘤死亡的主要原因<sup>[1]</sup>,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌总数的85%。由于缺乏早期诊断标志物和治疗靶点,NSCLC患者通常在中晚期时才被确诊并且预后极差。因此探索NSCLC细胞增殖和转移的相关机制,为NSCLC诊断和治疗提供新的诊断标志物和分子靶点具有重要的临床意义。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长度为22 nt单链非编码RNA<sup>[2]</sup>,其主要通过与靶基因mRNA的3'非编码区互补结合,引起靶基因mRNA的降解或翻译抑制,从而调控基因表达<sup>[3]</sup>。近年来的研究<sup>[4-8]</sup>表明,miRNA在多种恶性肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭过程中发挥重要的调控作用。miR-93在NSCLC组织中表达水平升高,促进疾病进展且与预后不良相关<sup>[9-10]</sup>,但是miR-93在NSCLC中作用的分子机制的研究还较少。促红细胞生成素产生肝细胞(erythropoietin-producing hepatocellular, Eph)受体是最大的一组酪氨酸激酶受体,Eph受体A4(eph type-A receptor 4, EphA4)是Eph受体家族的成员之一,其高表达与肺腺癌预后呈正相关,而且EphA4过表达则抑制肺腺癌细胞的迁移和侵袭<sup>[11]</sup>。然而,尚未见EphA4在NSCLC中作用的调控机制研究报道。本研究拟探讨miR-93通过调控EphA4介导细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路对NSCLC细胞增殖和迁移的影响,从而为NSCLC的靶向治疗提供新的潜在分子靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系和主要试剂

人NSCLC细胞系H460和H1299均购自中国科学院细胞库。RPMI 1640和胎牛血清购自美国Gibco公司,Lipofectamine™ 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司,TRIzol购自美国Thermo Fisher公司,逆转录试剂盒PrimeScript™ RT reagent Kit和qPCR试剂盒TB Green™ Premix Ex Taq™ II购自日本TaKaRa公司,miR-93模拟物(mimics)/抑制剂(inhibitor)和阴性对照质粒(miR-NC)购自广州锐博生物科技有限公司,PCMV-3×Flag表达质粒和聚丙烯酰胺购自美国Sigma公司,pmirGLO质粒、双荧光素酶检测试剂盒和MTT购自美国Promega公司,Transwell小室购自美国Corning公司,EphA4抗体购自美国GeneTex公司,ERK、p-ERK抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司,增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)抗体购自英国Abcam公司, $\beta$ -actin抗体购自美国Abways公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔IgG二抗购自美国

Sigma公司。

### 1.2 细胞培养和转染

人NSCLC细胞系H460和H1299用含有10%胎牛血清及1%青/链霉素的RPMI 1640培养基,于37 °C、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中常规培养。按照Lipofectamine™ 2000转染试剂盒说明书的方法,分别将miR-93 mimics和EphA4过表达质粒转入H460细胞中,将miR-93 inhibitor转入H1299细胞中。H460细胞分为3组,即对照组(NC)、miR-93 mimics组和miR-93 mimics联合EphA4过表达组(miR-93 mimics+EphA4组)。H1299细胞分为2组,即对照组(NC)和miR-93 inhibitor组。

### 1.3 qPCR检测NSCLC细胞中miR-93和EphA4 mRNA的表达水平

用TRIzol试剂按照说明书提取各组细胞的总RNA,用NanoDrop2000检测所抽取RNA的浓度和纯度。采用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,反应条件为37 °C 20 min、85 °C 5 s。采用qPCR试剂盒检测miR-93和EphA4的表达水平。扩增条件为95 °C变性5 s、56 °C退火30 s、72 °C延伸35 s,进行40个循环。qPCR的引物序列如表1所示。采用2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法,以U6为内参计算miR-93的相对表达水平,以 $\beta$ -actin为内参计算EphA4的相对表达水平。

表1 qPCR引物序列

Tab.1 Primer sequences for qPCR

Gene	Sequence of primer
miR-93	F:5'-ACACTCCAGCTGGGCAAAGTGCTGTTTCGTG-3' R:5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGG-3'
U6	F:5'-ACACTCCAGCTGGGCGCAAATTCGTGAAGC-3' R:5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGG-3'
EphA4	F:5'-ATGCAGTGGGCGTCTCAAAG-3' R:5'-TGGTTTACATTTAGTGACCACGCC-3'
$\beta$ -actin	F:5'-TCACCAACTGGGACGACATG-3' R:5'-ACCGGAGTCCATCACGATG-3'

### 1.4 Western blotting(WB)检测NSCLC细胞中PCNA、EphA4、ERK和p-ERK蛋白的表达水平

转染48 h后,用PBS将各组细胞清洗1次,用含有蛋白酶抑制剂和磷酸化酶抑制剂的细胞裂解液提取细胞总蛋白。将提取的蛋白置于100 °C沸水中变性10 min,后进行SDS-PAGE、转PVDF膜,2%牛血清蛋白在4 °C封闭2 h后,加入EphA4抗体(1:1 000)、PCNA抗体(1:700)、ERK抗体(1:800)、p-ERK抗体(1:800)和 $\beta$ -actin抗体(1:10 000),置摇床上4 °C过夜孵育。次日,PBST洗膜6次(每次10 min),

加入HRP标记的羊抗兔IgG二抗(1:100 000),置摇床上4℃孵育2h。PBST洗膜6次后,加入ECL发光试剂,用化学发光成像分析仪进行曝光并拍照。用Image J软件分析蛋白条带的灰度值,以 $\beta$ -actin为内参计算蛋白相对表达量。

### 1.5 MTT法检测NSCLC细胞的增殖能力

转染24h后,各组细胞以 $1 \times 10^4$ /ml细胞密度接种于24孔培养板(500  $\mu$ l/孔)中,在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养24、48、72和96h。在各个时间点,每孔加入MTT液使其终浓度为0.5 mg/ml,培养2h后,移弃MTT培养液,加入400  $\mu$ l DMSO,轻振混匀,37℃孵育20 min,每孔吸取100  $\mu$ l转移到96孔板中,用酶标仪检测波长570 nm处的光密度(D)值,计算细胞的相对增殖速率,绘制各组细胞的生长曲线。

### 1.6 Transwell实验检测NSCLC细胞的迁移能力

转染24h后,各组细胞用不含血清的RPMI 1640培养液制成单细胞悬液,并接种于Transwell小室的上室( $2 \times 10^4$ 细胞/小室),在下室中加入500  $\mu$ l含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液。常规培养24h后,用棉签轻轻擦去小室内未迁移的细胞,而迁移到小室下表面的细胞用4%多聚甲醛在4℃固定5 min, PBS洗涤后,用0.1%结晶紫溶液室温染色5 min, PBS充分洗涤后,于光学显微镜下( $\times 100$ )观察、拍照并计数。

### 1.7 双荧光素酶报告基因实验验证miR-93和EphA4的靶向关系

将含有miR-93潜在结合位点的野生型EphA4 3'UTR插入pmir-GLO载体中,构建野生型EphA4报告基因质粒,然后将EphA4 3'UTR中miR-93的潜在结合位点突变,构建突变型EphA4报告基因质粒。在293T细胞中分别转染野生型和突变型EphA4报告基因质粒,同时共转染miR-93 mimics或miR-NC。转染24h后,用双荧光素酶检测试剂盒检测各组细胞萤火虫荧光素酶的活性和海肾荧光素酶的活性。以海肾荧光素酶活性作为内参,验证miR-93与EphA4的靶向关系。

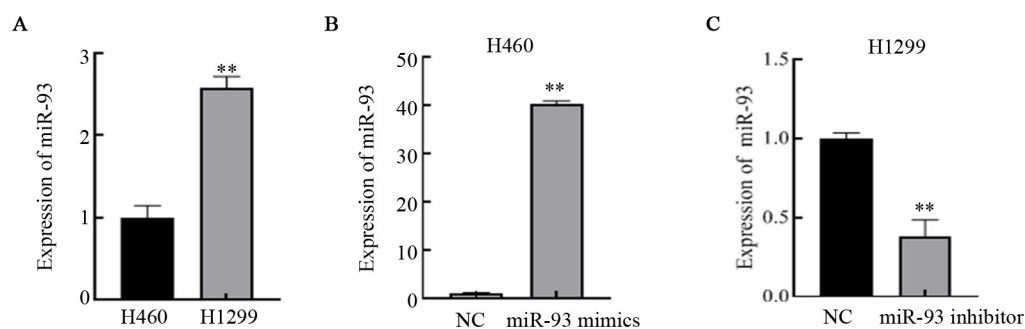
### 1.8 统计学处理

1.3~1.7实验均重复3次。用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数差异比较采用 $t$ 检验,多组间数据差异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-93在转染前后NSCLC细胞中的表达

qPCR检测结果显示,H1299细胞中miR-93表达水平显著高于H460细胞( $t=13.27, P < 0.01$ ;图1A)。转染miR-93 mimics可明显上调H460细胞中miR-93的表达水平( $t=131.50, P < 0.01$ ;图1B);转染miR-93 inhibitor可明显降低H1299细胞中miR-93的表达水平( $t=9.52, P < 0.01$ ;图1C)。



\*\* $P < 0.01$  vs H460 group or NC group

A: Expression of miR-93 in H460 and H1299 cells was detected by qPCR;

B and C: Expression of miR-93 in H460 (B) and H1299 (C) cells after transfection was detected by qPCR

图1 转染前后miR-93在NSCLC细胞中的表达

Fig.1 Expression of miR-93 in NSCLC cells before and after transfection

### 2.2 miR-93对NSCLC细胞增殖能力的影响

MTT实验和WB实验结果表明,与对照组比较,转染miR-93 mimics后,H460细胞的增殖能力显著升高( $t=7.46, P < 0.01$ ;图2A),PCNA蛋白的表达水平显著升高( $t=10.24, P < 0.01$ ;图2C);转染miR-93 inhibitor

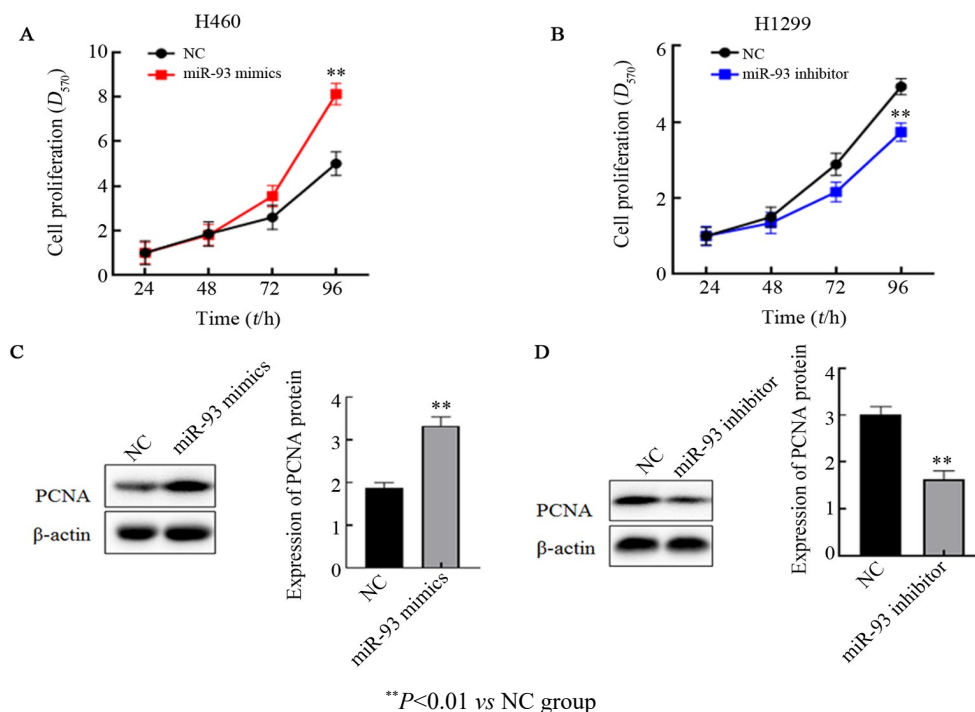
后,H1299细胞的增殖能力显著降低( $t=6.48, P < 0.01$ ;图2B),PCNA蛋白表达水平显著降低( $t=9.76, P < 0.01$ ;图2D)。

### 2.3 miR-93对NSCLC细胞迁移能力的影响

Transwell迁移实验结果显示,转染miR-93 mimics

后, 与 miR-NC 比较, H460 细胞的穿膜数目明显增多, 细胞迁移能力明显增强 ( $t=24.84, P<0.01$ ; 图 3A); 转染 miR-93 inhibitor 后, 与对照组比较, H1299 细胞

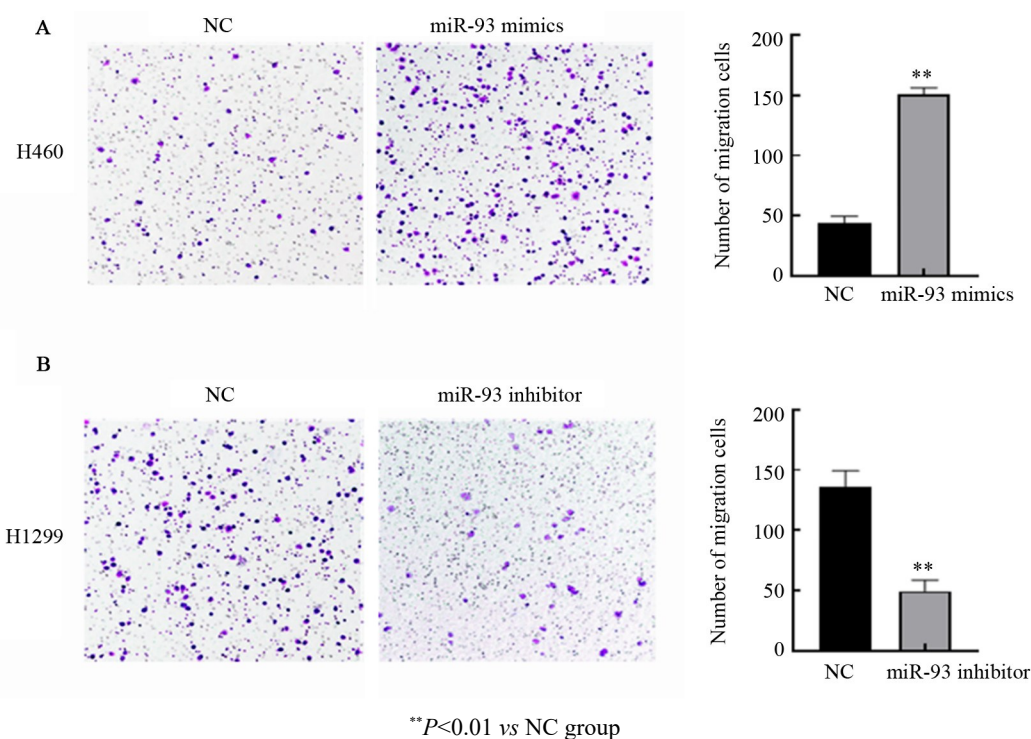
的穿膜数目明显减少, 细胞的迁移能力明显减弱 ( $t=9.22, P<0.01$ ; 图 3B)。



A and B: The proliferation of H460 (A) and H1299 (B) cells was detected by MTT assay; C and D: The expression of PCNA in H460 (C) and H1299 (D) cells was detected by WB

图2 miR-93对NSCLC细胞增殖能力的影响

Fig.2 Effect of miR-93 on the proliferation of NSCLC cells



A and B: The migration of H460 (A) and H1299 (B) cells was detected by Transwell assay

图3 miR-93对NSCLC细胞迁移能力的影响(结晶紫染色,  $\times 100$ )

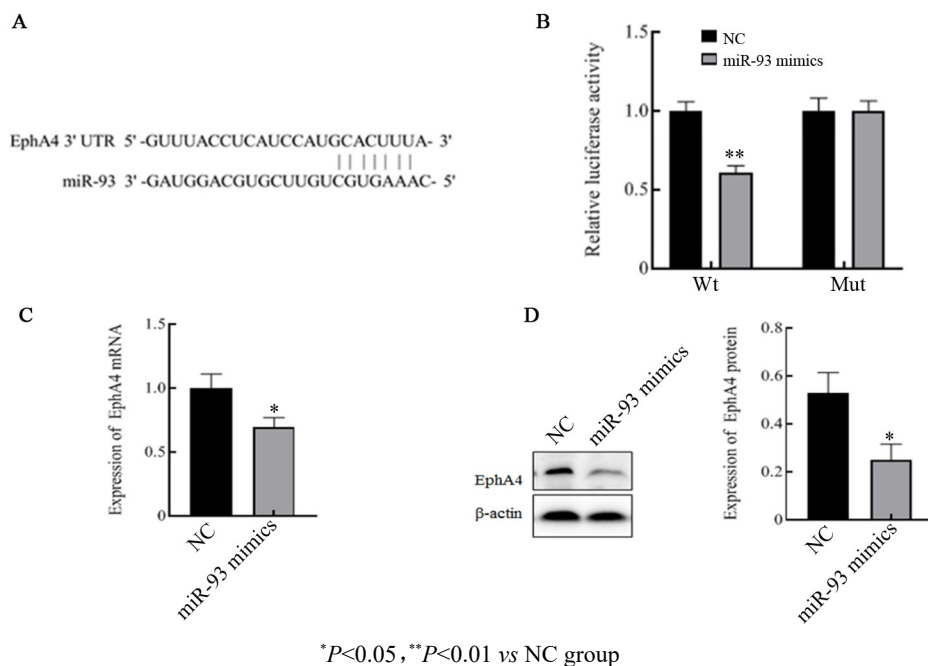
Fig.3 Effect of miR-93 on the migration of NSCLC cells (crystal violet staining,  $\times 100$ )

### 2.4 miR-93 靶向负调控 EphA4

通过TargetScan数据库分析发现,EphA4是miR-93的潜在靶基因,EphA4的3'UTR上存在miR-93的潜在结合位点(图4A)。双荧光素酶报告基因实验结果表明,过表达miR-93能够显著抑制野生型EphA4报告质粒的荧光素酶活性( $t=9.34, P<0.01$ ;图4B);而

EphA4 3'UTR中的miR-93结合位点突变后,其荧光素酶活性不能被miR-93 mimics抑制( $t=0.074, P>0.05$ ;图4B)。

qPCR和WB实验结果表明,转染miR-93 mimics后能够显著下调EphA4 mRNA及蛋白表达水平( $t=4.01, 4.51$ ,均 $P<0.05$ ;图4C、D)。



A: EphA4 was predicted to be a target of miR-93 by TargetScan database; B: The relationship between miR-93 and Eph4 was verified by Dual-luciferase reporter gene assay; C and D: The expression of EphA4 was detected by qPCR (C) and WB (D)

图4 miR-93与EphA4 3'UTR的靶向关系

Fig.4 The targeting relationship between miR-93 and EphA4 3'UTR

### 2.5 miR-93 靶向 EphA4 并激活 ERK 通路促进 H460 细胞增殖和迁移

WB检测结果(图5A)显示,与对照组比较,过表达miR-93显著下调H460细胞中EphA4蛋白表达水平( $t=9.23, P<0.01$ ),并上调ERK的磷酸化水平( $t=20.84, P<0.01$ )。miR-93 mimics联合EphA4过表达质粒转染于H460细胞后,与转染miR-93 mimics组比较,细胞中EphA4表达上调( $t=8.02, P<0.01$ ),ERK磷酸化水平降低( $t=27.46, P<0.01$ )。

MTT检测结果(图5B)显示,过表达miR-93可明显增强H460细胞的增殖能力( $t=6.61, P<0.01$ ),而同时过表达miR-93和EphA4可以回复miR-93在H460中的促增殖作用( $t=5.17, P<0.01$ )。

Transwell迁移实验结果(图5C)表明,与对照组比较,过表达miR-93可明显促进H460细胞的迁移能力( $t=17.04, P<0.01$ ),而同时过表达miR-93和EphA4后,miR-93对H460细胞迁移能力的促进作用消失( $t=26.06, P<0.01$ )。

上述结果表明,miR-93通过靶向EphA4来调控

ERK通路,从而调控肺癌细胞的增殖和迁移。

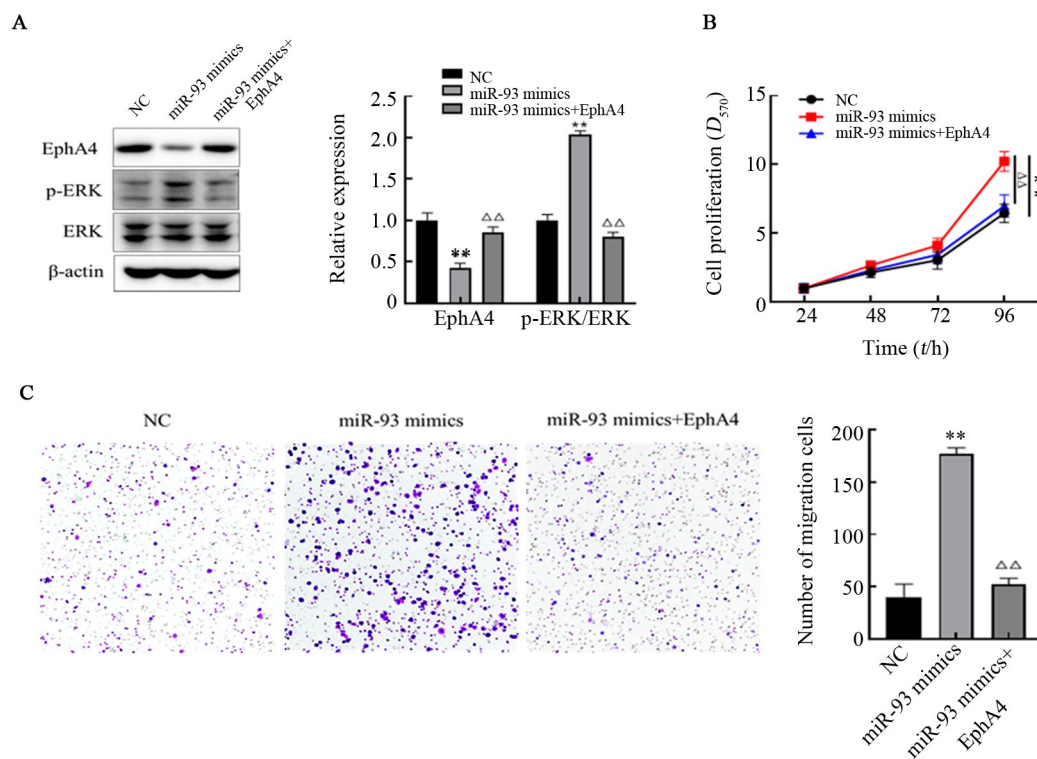
### 3 讨论

近年来多项研究<sup>[12-15]</sup>表明,miR-93在多种恶性肿瘤中异常表达,并且在肿瘤发展与转移中发挥重要作用。MA等<sup>[13]</sup>研究发现,miR-93通过靶向IFNAR1促进胃癌细胞侵袭和转移。LI等<sup>[14]</sup>研究证实,miR-93通过靶向PTEN促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭。LYU等<sup>[15]</sup>研究发现,miR-93通过靶向TGFBR2促进鼻咽癌细胞增殖、侵袭、转移及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。本研究发现,肺癌H1299细胞中miR-93表达水平明显高于H460细胞,并且过表达miR-93明显促进H460细胞增殖和迁移,而敲低miR-93明显抑制H1299细胞增殖和迁移,表明miR-93可调控NSCLC细胞的增殖和迁移。

EphA4属于酪氨酸激酶受体家族中的ephrin受体亚家族。EphA4不仅参与神经发育,而且在多种恶性肿瘤中具有抑癌作用。YAN等<sup>[16]</sup>发现,EphA4通过抑制EMT抑制肝癌细胞迁移和侵袭。HUA等<sup>[17]</sup>

证实, EphA4 通过抑制 ERK 的激活来抑制黑色素瘤细胞迁移、侵袭和 EMT。SAINTIGNY 等<sup>[1]</sup>研究表明, EphA4 表达与肺腺癌患者预后呈正相关并且 EphA4 通过下调 ERK 的激活抑制肺癌细胞迁移和侵袭。然而, miR-93 在肺癌中能否调控 EphA4, 以及 EphA4 在 miR-93 促癌作用中所起到的作用及其机制尚不清楚。本研究通过靶基因预测软件 TargetScan 发现, EphA4 3' UTR 含有 miR-93 的潜在结合位点,

经双荧光素酶报告基因实验证实 EphA4 是 miR-93 的下游靶基因; qPCR 和 WB 实验显示, 过表达 miR-93 明显抑制 H460 细胞 EphA4 mRNA 和蛋白表达, 进一步证明 EphA4 是 miR-93 的靶基因。此外, 通过过表达 EphA4 回复实验结果显示, miR-93 通过靶向下调 EphA4 在 NSCLC 进程中发挥促增殖和迁移作用。



\*\*P<0.01 vs NC group; ΔΔP<0.01 vs miR-93 mimics group

A: The expression of EphA4, p-ERK and ERK was detected by WB; B: The proliferation of H460 cells was detected by MTT assay;

C: The migration of H460 cells was detected by Transwell assay

图5 miR-93/EphA4 分子轴通过 ERK 通路对 H460 细胞增殖和迁移的影响

Fig.5 Effects of miR-93/EphA4 axis on the proliferation and migration of H460 cells via ERK pathway

多项研究<sup>[18-21]</sup>表明, ERK 通路的激活在肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和转移过程中发挥重要的作用。有研究者<sup>[11]</sup>认为, EphA4 通过抑制 ERK 的激活抑制肺癌细胞的迁移与侵袭。本研究同样发现, 过表达 EphA4 回复 miR-93 对 H460 细胞 ERK 蛋白的激活作用, 证明 miR-93 通过靶向 EphA4 激活 ERK 信号通路。过表达 EphA4 使 miR-93 激活的 ERK 通路失活, 将有可能成为 NSCLC 潜在的治疗方法。

综上所述, miR-93 与 NSCLC 细胞的增殖和迁移密切相关。过表达 miR-93 通过靶向下调 EphA4 并激活 ERK 通路促进 NSCLC 细胞的增殖和迁移。同时, miR-93 和 EphA4 有望成为 NSCLC 潜在的诊断与预后标志物及治疗的潜在分子靶点。

[参考文献]

[1] CHEN W Q, ZHENG R S, 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.

[2] GEBERT L F R, MACRAE I J. Regulation of microRNA function in animals[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(1): 21-37. DOI:10.1038/s41580-018-0045-7.

[3] BARTEL D P. Metazoan microRNAs[J]. Cell, 2018, 173(1): 20-51. DOI:10.1016/j.cell.2018.03.006.

[4] YAN W, WU X W, ZHOU W Y, et al. Cancer-cell-secreted exosomal miR-105 promotes tumour growth through the MYC-dependent metabolic reprogramming of stromal cells[J/OL]. Nat Cell Biol, 2018, 20(5): 597-609[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5920728/>. DOI:10.1038/s41556-018-0083-6.

- [5] FISH L, ZHANG S, YU J X, et al. Cancer cells exploit an orphan RNA to drive metastatic progression[J/OL]. *Nat Med*, 2018, 24(11): 1743-1751[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6223318/>. DOI:10.1038/s41591-018-0230-4.
- [6] MÜLLER S, BLEY N, GLAß M, et al. IGF2BP1 enhances an aggressive tumor cell phenotype by impairing miRNA-directed down-regulation of oncogenic factors[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(12): 6285-6303[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6158595/>. DOI:10.1093/nar/gky229.
- [7] JEON Y J, KIM T, PARK D, et al. MiRNA-mediated TUSC3 deficiency enhances UPR and ERAD to promote metastatic potential of NSCLC[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5110[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6269493/>. DOI:10.1038/s41467-018-07561-8.
- [8] ROY S, HOOIVELD G J, SEEHAWER M, et al. MicroRNA 193a-5p regulates levels of nucleolar-and spindle-associated protein 1 to suppress hepatocarcinogenesis[J/OL]. *Gastroenterology*, 2018, 155(6): 1951-1966[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279541/>. DOI:10.1053/j.gastro.2018.08.032.
- [9] DU L, ZHAO Z, MA X, et al. MiR-93-directed downregulation of DAB2 defines a novel oncogenic pathway in lung cancer[J/OL]. *Oncogene*, 2014, 33(34): 4307-4315[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4281941/>. DOI:10.1038/ncr.2013.381.
- [10] ZHU W Y, HE J Y, CHEN D D, et al. Expression of miR-29c, miR-93, and miR-429 as potential biomarkers for detection of early stage non-small lung cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e87780[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3921142/>. DOI:10.1371/journal.pone.0087780.
- [11] SAINTIGNY P, PENG S H, ZHANG L, et al. Global evaluation of Eph receptors and ephrins in lung adenocarcinomas identifies EphA4 as an inhibitor of cell migration and invasion[J/OL]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(9): 2021-2032[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3438283/>. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0030.
- [12] LI Y J, YANG Z, WANG Y Y, et al. Long noncoding RNA ZNF667-AS1 reduces tumor invasion and metastasis in cervical cancer by counteracting microRNA-93-3p-dependent PEG3 downregulation[J/OL]. *Mol Oncol*, 2019, 13(11): 2375-2392[2019-10-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6822248/>. DOI: 10.1002/1878-0261.12565.
- [13] MA D H, LI B S, LIU J J, et al. MiR-93-5p/IFNAR1 Axis promotes gastric cancer metastasis through activating the STAT3 signaling pathway[J]. *Cancer Lett*, 2017, 408: 23-32. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.08.017.
- [14] LI N N, MIAO Y, SHAN Y J, et al. MiR-106b and miR-93 regulate cell progression by suppression of PTEN via PI3K/Akt pathway in breast cancer[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2796[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520687/>. DOI:10.1038/cddis.2017.119.
- [15] LYU X M, FANG W Y, CAI L M, et al. TGFβR2 is a major target of miR-93 in nasopharyngeal carcinoma aggressiveness[J/OL]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 51[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016586/>. DOI:10.1186/1476-4598-13-51.
- [16] YAN Y, LUO Y C, WAN H Y, et al. MicroRNA-10a is involved in the metastatic process by regulating Eph tyrosine kinase receptor A4-mediated epithelial-mesenchymal transition and adhesion in hepatoma cells[J]. *Hepatology*, 2013, 57(2): 667-677. DOI:10.1002/hep.26071.
- [17] HUA K T, HONG J B, SHEEN Y S, et al. MiR-519d promotes melanoma progression by downregulating EphA4[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(1): 216-229. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-17-1933.
- [18] YANG Y F, LEE Y C, LO S, et al. A positive feedback loop of IL-17B-IL-17RB activates ERK/β-catenin to promote lung cancer metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2018, 422: 44-55. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.02.037.
- [19] WANG K X, JI W X, YU Y F, et al. FGFR1-ERK1/2-SOX2 Axis promotes cell proliferation, epithelial-mesenchymal transition, and metastasis in FGFR1-amplified lung cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(39): 5340-5354. DOI:10.1038/s41388-018-0311-3.
- [20] 刘芳, 乔雨林, 严兆丹. 易普利姆玛通过抑制 TGF-β1/ERK 信号通路影响肺癌小鼠移植瘤组织中 T 淋巴细胞及 Bcl-2 mRNA 表达[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(11): 1203-1208. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.11.004.
- [21] WEI C H, WU G, CAI Q, et al. Correction to: MicroRNA-330-3p promotes cell invasion and metastasis in non-small cell lung cancer through GRIA3 by activating MAPK/ERK signaling pathway[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 6[2019-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5759293/>. DOI: 10.1186/s13045-017-0546-4.

[收稿日期] 2019-10-18

[修回日期] 2020-02-05

[本文编辑] 党瑞山