

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.006

· 基础研究 ·

miRNA141表达的调控对人前列腺癌DU145细胞恶性生物行为的影响

宁博^a, 纪宏伟^b, 陈雪磊^a (朝阳市中心医院 a. 泌尿外科, b. 男科, 辽宁 朝阳 122000)

[摘要] **目的:** 研究microRNA-141(miR-141)表达的调控对人前列腺癌细胞系DU145细胞增殖、周期、凋亡、侵袭和迁移等恶性生物学行为的影响及其作用机制。**方法:** 利用脂质体Lipofectamine2000将miR-141 mimics(miR-141 up组)和miR-141 inhibitors(miR-141 down组)分别转染至人前列腺癌DU145细胞中,同时设置未转染组(Control组)和miRNA无义序列转染组(NC组)。qPCR检测转染前后各组DU145细胞中miR-141表达变化,MTT方法检测各组DU145细胞的增殖活力和对顺铂(DDP)作用敏感性变化,流式细胞术检测各组DU145细胞周期和顺铂作用下凋亡率变化,Transwell方法检测各组细胞侵袭和迁移能力的变化,Western blotting检测各组细胞中VEGF、EGFR蛋白表达量变化。**结果:** 与Control组和NC组相比,miR-141 down组DU145细胞中miRNA-141表达水平下降为(0.18±0.08),其细胞增殖活力显著下降而对DDP敏感性显著上升、细胞周期被阻滞于G0+G1期而细胞凋亡率显著上升至(46.67±5.86)%、细胞侵袭率和迁移率分别显著下降至(44.34±8.32)%和(57.73±6.19)%、VEGF和EGFR相对表达量分别下降至(0.47±0.06)和(0.36±0.06)(上述各指标分别 $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。miR-141 up组DU145细胞中miRNA-141表达水平上升为(4.23±0.53),其细胞增殖活力显著上升而对DDP敏感性显著下降、细胞周期提前进入S和G2期而细胞凋亡率显著下降至(18.77±4.24)%、细胞侵袭率和迁移率分别显著上升至(89.94±6.34)%和(94.44±5.84)%、VEGF和EGFR相对表达量分别上升至(0.89±0.07)和(0.73±0.06)(上述各指标分别 $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论:** miR-141在前列腺癌DU145细胞中发挥促癌因子作用,其下调表达能够显著抑制DU145细胞增殖活力、周期、侵袭与迁移,而促进对DDP的敏感性和细胞凋亡,其机制可能与其抑制VEGF和EGFR蛋白表达有关。

[关键词] miR-141; 前列腺癌; DU145细胞; 细胞凋亡; 细胞侵袭; 细胞转移

[中图分类号] R735.5; R737.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-0999-07

Effect of regulating miRNA141 expression on malignant biological behaviors of human prostate cancer DU145 cells

NING Bo^a, JI Hongwei^b, CHEN Xuelei^a (a. Department of Urology, b. Department of Andrology, Central Hospital of Chaoyang City, Chaoyang 122000, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of microRNA-141(miR-141) expression regulation on cell proliferation, cell cycle, apoptosis, invasion and migration of human prostate cancer cell line DU145 and its mechanism. **Methods:** MiR-141 mimics (miR-141 up group) and miR-141 inhibitors (miR-141 down group) were transfected into human prostate cancer DU145 cells by using liposome lipofectamine 2000, and the un-transfection group (Control group) and non-sense miRNA sequence transfection group (NC group) were set. The expression of miRNA-141 in DU145 cells in each group before and after transfection was detected by qPCR. MTT assay was used to detect the proliferation viability and sensitivity to cisplatin (DDP) in DU145 cells of each group. Cell cycle and apoptosis rate of DU145 cells under DDP treatment were detected by Flow cytometry; the changes in cell invasion and migration ability were detected by Transwell method. The protein expressions of VEGF and EGFR in DU145 cells of each group were detected by Western blotting. **Results:** Compared with the Control and NC group, the level of miRNA-141 expression in the miR-141-down group decreased to (0.18±0.08), the cell proliferation viability decreased significantly while its sensitivity to DDP increased significantly, the cell cycle was blocked in the G0+G1 phase, and the apoptosis rate significantly increased to (46.67±5.86)% while cell invasion rate and migration rate significantly decreased to (44.34±8.32)%, (57.73±6.19)%, and the relative expression levels of VEGF and EGFR decreased to (0.47±0.06), (0.36±0.06), ($P<0.05$ or $P<0.01$). But in the miR-141-up group, the level of miRNA-141 expression increased to (4.23±0.53), the cell proliferation viability significantly increased while its sensitivity to DDP decreased significantly, and the cell cycle was promoted

[基金项目] 辽宁省医药卫生人才基金计划支持项目(No. A20140118)。Project supported by the Medical and Health Talents Project Foundation from Liaoning Province (No. A20140118)

[作者简介] 宁博(1980-),男,副主任医师,主要从事泌尿系外科疾病诊治的研究,E-mail: keyanxiangmul@163.com

[通信作者] 陈雪磊(CHEN Xuelei, corresponding author),主任医师,主要从事泌尿外科临床与基础研究,E-mail: chenxuelei-2008@126.com

into S and G2 phase, the apoptosis rate significantly decreased to (18.77±4.24)% while cell invasion and migration rate significantly increased to (89.94±6.34)%, (94.44±5.84)%, and the relative expression levels of VEGF and EGFR were up to (0.89±0.07), (0.73±0.06), ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion:** miR-141 can act as a growth promoting factor in prostate cancer DU145 cells. miR-141 down-regulation can significantly inhibit the proliferation viability, cell cycle, migration and invasion of DU145 cells, and promote cell apoptosis and DDP-sensitivity, and the mechanism of which may be related with inhibition of VEGF and EGFR protein expressions.

[Key words] miR-141; prostate cancer; DU145 cell; cell apoptosis; cell invasion; metastasis

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(9): 999-1005. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.09.006]

近年来随着生活方式的改变、人口结构的变化及其诊断技术的发展,我国前列腺癌发病率呈明显上升趋势,其发病率已由1991年的每10万男性中2.9例上升至目前每10万男性中12.6例,可预见前列腺癌将成为危害我国男性身体健康的重要疾病之一^[1-2]。目前关于前列腺癌的研究已取得较大进展,但关于晚期前列腺癌和雄激素非依赖阶段的前列腺癌的发病机制知之甚少^[3-4]。微小RNA(microRNA, miRNA)的异常表达和代谢等多种疾病有关,其在肿瘤组织的异常表达能够促进肿瘤的发生和进展,发挥促癌或抑癌作用^[5-6]。研究^[7-8]发现,不同来源肿瘤细胞中miRNA-141(miR-141)表达差异显著,在肾透明细胞癌及胃癌中miR-141表达水平下调,为抑癌基因;而在卵巢癌中miR-141则高表达,为促癌基因。但是关于miR-141在前列腺癌中如何发挥作用尚未见报道。本文选择雄激素非依赖的前列腺癌细胞DU145为研究对象,分别下调和上调miR-141表达后观察其对DU145细胞功能的影响,并探索其能否用于前列腺癌的基因诊断和治疗。

1 材料与方法

1.1 细胞和试剂

人正常前列腺上皮细胞RWPE-1,雄激素依赖性前列腺癌细胞LNCap,雄激素非依赖性前列腺癌细胞PC3、DU145购自北京中科院资源研究中心细胞库。RPMI 1640细胞培养基、胎牛血清购自美国Gibico公司,miR-141 mimics和miR-141 inhibitors及其无义序列由上海Invitrogen公司合成,脂质体Lipofectamine™2000购自上海生工公司,miRNA反转录试剂盒、qPCR试剂盒购自大连TaKaRa公司,MTT、DMSO、顺铂(DDP)试剂购自美国Sigma公司,细胞周期检测试剂盒、Annexin-V/PI细胞凋亡试剂盒、总蛋白提取试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自北京碧云天公司,Transwell小室购自Corning公司,Matrigel基质胶购自美国Sigma公司,多克隆兔抗人VEGF、EGFR、 β -actin蛋白一抗购自美国Abcam公司,ECL化学发光试剂、HRP标记的山羊抗兔二抗购自北京中杉金桥公司。

1.2 细胞转染及qPCR检测前列腺癌细胞中miR-141

的表达水平

将RWPE-1、LNCap、PC3、DU145细胞复苏后培养,当细胞生长汇合至80%以上后进行传代和冻存。取各对数生长期的细胞,胰酶消化后离心收集,提取各组细胞中总RNA,后反转录得到所测目的基因miR-141和内参U6的cDNA,按照SYBR Premix Taq试剂盒说明,采用qPCR方法检测不同前列腺癌细胞株中miR-141的相对表达情况。根据上述检测结果利用脂质体Lipofectamine™2000将miR-141 mimics(miR-141 up组)和miR-141 inhibitor(miR-141 down组)分别转染至DU145细胞中;同时设置空白对照组(control组),仅在细胞中加入脂质体Lipofectamine™2000;以及阴性转染对照组(negative control, NC组),即在细胞中转染入miRNA无义序列。各组DU145细胞转染24 h后,采用同样方法检测各组细胞中miR-141的相对表达情况。

1.3 MTT法检测各组细胞增殖活力和顺铂对细胞增殖的抑制率

各组DU145细胞以 1×10^5 个/ml接种于96孔板中,在培养至1、2、3、4、5、6 d时,分别在每组培养的细胞中每孔加入150 μ l的DMSO,混匀作用10 min后置于酶标仪中检测570 nm波长处每组DU145细胞的光密度(D)值以反映其增殖活力。按照上述结果,选择各组转染后的DU145细胞接种于96孔板,分别更换含不同浓度(0、5、10、15、20 μ mol/L)的DDP培养基继续培养24 h,按照上述MTT法检测各组DU145细胞的 D 值,并按照公式计算各组细胞增殖抑制率(%)=[1-(处理组 D 值/未处理对照组 D 值)] $\times 100\%$ 。每组细胞设置6个复孔,并进行3次重复实验。

1.4 流式细胞术检测细胞周期和细胞凋亡率

各组DU145细胞在分别转染培养24 h后消化离心收集细胞,用预冷的乙醇固定3 h后,每组细胞中加入10 μ l的PI避光孵育30 min,结束后用PBS洗一次后,利用BD Caliber 4色流式细胞仪检测细胞周期变化。同时,根据上述实验结果将各组转染24 h的DU145细胞,在10 μ mol/L的DDP培养基中继续培养24 h后收集细胞。分别用5 μ l FITC标记的AnnexinV和10 μ l的PI室温孵育20 min,利用流式细胞仪检测各组细胞凋亡变化。同样每组细胞进行3次重复实验。

1.5 Transwell 实验检测各组细胞侵袭和迁移能力

在各组 Transwell 板上室膜上均匀涂抹 1mg/mL 的 magtrigel 胶使形成基底膜结构。将 DU145 细胞各取 100 μ l 加入到 Transwell 上室中, 而下室中加入 600 μ l 含 10% 胎牛血清的培养基, 同时设置未转染对照组。将 Transwell 板继续培养 48 h。后用 4% 多聚甲醛固定小室滤膜。用结晶紫染色滤膜 10min 后 PBS 洗涤 2 遍, 在显微镜下观察各组穿过滤膜侵袭的细胞, 拍照并计算各组 DU145 细胞侵袭率。侵袭率 = (各组平均侵袭细胞数/未处理对照组侵袭细胞数) \times 100%。而细胞迁移实验即为上述实验步骤中在 Transwell 小室中不加入 Matrigel 胶, 培养时间为 24 h, 其他步骤同侵袭实验。每组细胞设置 6 个复孔, 并进行 3 次重复实验。

1.6 Western blotting 检测各组细胞中 VEGF 和 EGFR 表达

收集各组转染 24 h 的 DU145 细胞, 利用 RIPA 强细胞裂解液提取各组细胞中总蛋白。BCA 方法测定蛋白浓度后, 每组细胞上样 30 μ g 总蛋白进行 SDS-PAGE, 1.5 h 后将分离的蛋白条带转 PVDF 膜, 用 5% 脱脂奶粉封闭 30 min 后, 4 $^{\circ}$ C 孵育多克隆兔抗人 VEGF, EGFR, β -actin 一抗(1:1 000)过夜。TBST 洗涤 3 次后室温孵育 HRG 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(1:5 000)2 h, TBST 洗涤 3 次, 利用 ECL 化学发光剂曝光显影并拍照, 用 Quantity One 软件对各目的蛋白相对表达量进行分析。同样每组细胞进行 3 次重复实验。

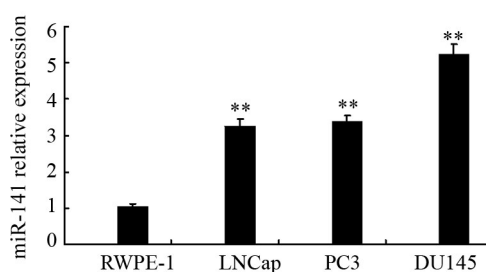
1.7 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件经行统计学分析, 正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间数据比较采用单因素方差(one-way ANOVA)分析, 并用 SNK-q 法进行各组间的两两比较。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异显著有统计学意义。

2 结果

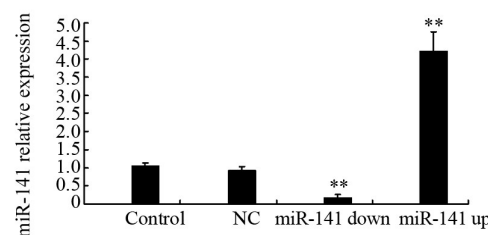
2.1 miR-141 在不同前列腺癌细胞中表达及其转染前后的变化

qPCR 检测结果(图 1)显示, 与人正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 相比, 雄激素依赖性前列腺癌细胞 LNCap 和非依赖性前列腺癌细胞 PC3、DU145 中 miR-141 呈高表达($P < 0.01$), 而以 DU145 细胞中表达量最高。当 miR-141 inhibitors 转染 DU145 细胞后 miR-141 表达显著下调, 而转染 miR-141 mimics 后 miR-141 表达上调明显。与 Control 组(1.05 \pm 0.08)和 NC 组(0.94 \pm 0.09)相比, miR-141 down 组中 miR-141 表达量下降至(0.18 \pm 0.08) ($P < 0.01$; 图 2); miR-141 up 组中 miR-141 表达量显著上升至(4.23 \pm 0.53) ($P < 0.01$; 图 2)。



** $P < 0.01$ vs RWPE-1 cells

图 1 qPCR 检测不同前列腺癌细胞中 miR-141 表达水平
Fig.1 miR-141 expression level in different prostate cancer cells was detected by qPCR



** $P < 0.01$ vs Control group or NC group

图 2 qPCR 检测各组 DU145 细胞中 miR-141 表达水平
Fig.2 miR-141 expression level in DU145 cells of each group was detected by qPCR

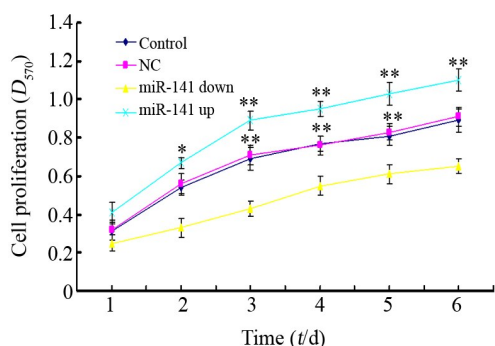
2.2 miR-141 表达的调控对 DU145 细胞增殖活力和对 DDP 敏感性的影响

MTT 法检测结果(图 3)显示, miR-141 表达下调后能够抑制 DU145 细胞增殖活力, 而 miR-141 表达上调则促进 DU145 细胞增殖活力。在转染后 2 d 开始, 与 Control 组和 NC 组相比, miR-141 down 组 DU145 细胞增殖活力均逐渐降低(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), miR-141 up 组细胞增殖活力逐渐升高(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。同时(图 4)显示 miR-141 表达下调后能够提高 DU145 细胞对顺铂 DDP 的敏感性, 而 miR-141 表达上调后对 DDP 的敏感性则降低(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 miR-141 表达的调控对 DU145 细胞周期的影响

流式细胞术检测(图 5)发现, miR-141 表达下调后能够阻滞 DU145 细胞周期在 G0/G1 期, 而 miR-141 表达上调则显著促进 DU145 细胞进入 S 和 G2 期。与 Control 组[(55.22 \pm 3.45)%]和 NC 组[(53.45 \pm 4.44)%]的 G0/G1 期比值相比, miR-141 down 组 G0/G1 期比值显著上升为(72.35 \pm 4.75)%, 而 miR-141 up 组 G0/G1 期比值显著下降为(43.56 \pm 4.24)%(均 $P < 0.01$); 与 Control 组[(26.24 \pm 4.23)%]和 NC 组[(28.45 \pm 3.33)%]的 S 期比值相比, miR-141 down 组 S 期比值显著下降为(15.24 \pm 4.04)%, 而 miR-141 up 组 S 期比值显著上升为(36.67 \pm 3.99)%(均 $P < 0.01$); 与 Control 组[(22.56 \pm

5.12%) 和 NC 组 [(26.34±3.48)%] 的 G2 期比值相比, miR-141 down 组 G2 期比值显著下降为 (14.28±3.85)%, 而 miR-141 up 组 G2 期比值显著上升为 (38.33±4.17)% (均 $P < 0.01$)。

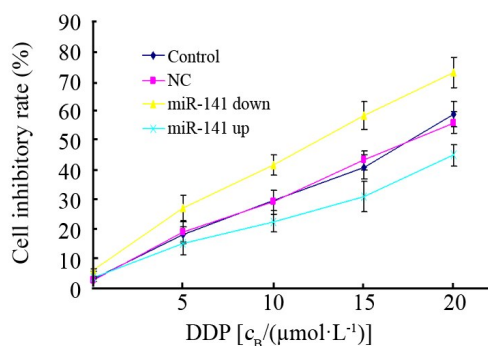


* $P < 0.05$ vs Control group or NC group, ** $P < 0.01$ vs Control group or NC group

图3 MTT 法检测各组 DU145 细胞转染后细胞增殖活力变化
Fig.3 The changes in cell proliferation viability of DU145 cells after transfection in each group were detected by MTT assay

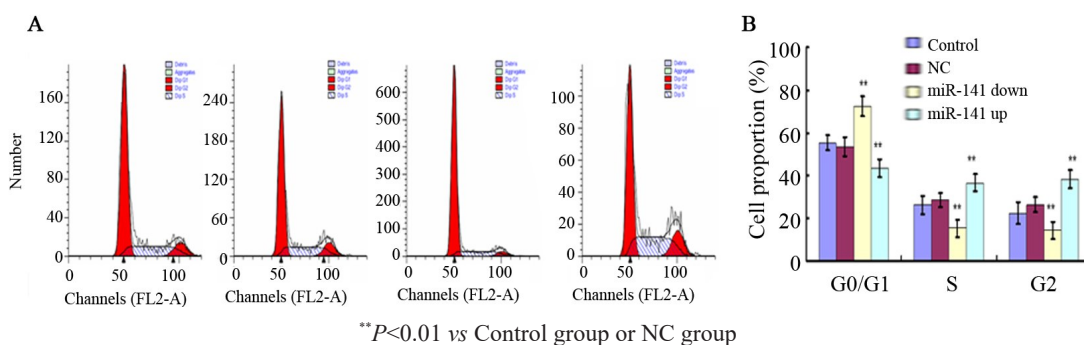
2.4 miR-141 表达的调控对 DU145 细胞凋亡的影响
流式细胞术检测 (图 6) 发现, miR-141 表达下调

后能够促进顺铂作用下 DU145 细胞凋亡, 而 miR-141 表达上调后细胞凋亡则降低。与 Control 组和 NC 组 DU145 细胞凋亡率 (23.56±4.68)% 和 (21.85±4.29)% 相比, miR-141 down 组 DU145 细胞凋亡率显著上升为 (46.67±5.86)%, 而 miR-141 up 组 DU145 细胞凋亡率显著下降为 (18.77±4.24)% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



* $P < 0.05$ vs Control group or NC group, ** $P < 0.01$ vs Control group or NC group

图4 MTT 检测各组 DU145 细胞转染后对 DDP 的敏感性变化
Fig. 4 Sensitivity changes in DU145 cells to DDP after transfection in each group were detected by MTT

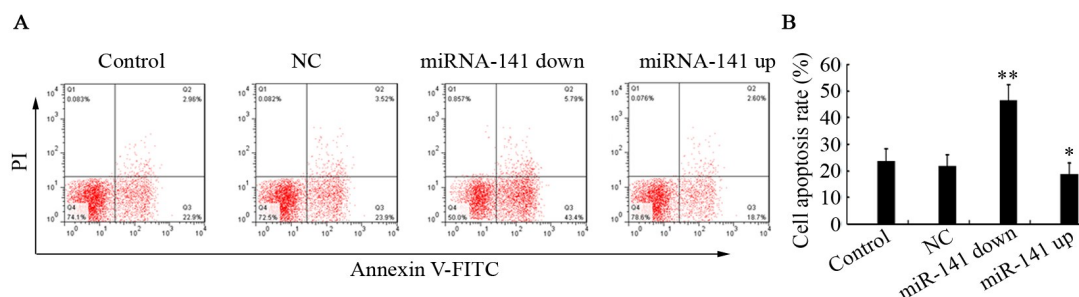


** $P < 0.01$ vs Control group or NC group

A: Flow cytometry to detect cell cycle; B: Statistics of cell cycle data

图5 流式细胞术检测各组 DU145 细胞转染后细胞周期的变化

Fig.5 Cell cycle changes of DU145 cells after transfection in each group were detected by Flow cytometry



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group or NC group

A: Flow cytometry to detect apoptosis; B: Apoptosis data statistics

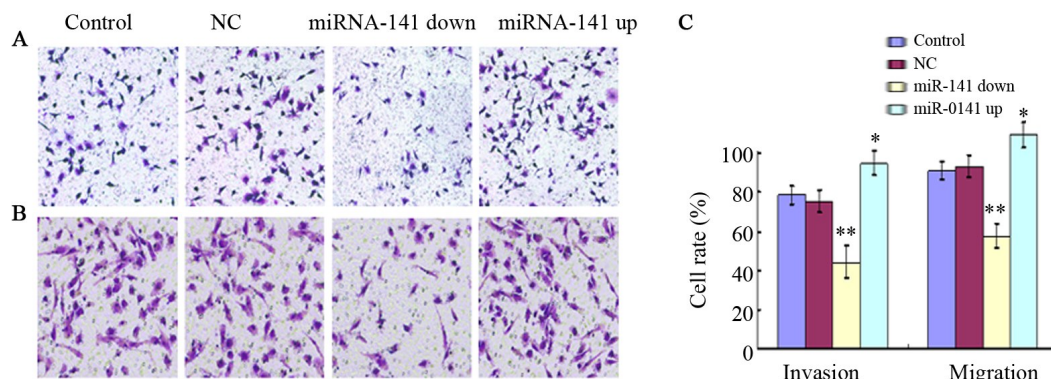
图6 流式细胞术检测转染后各组 DU145 细胞在 DDP (10 μmol/L) 作用下细胞凋亡的变化

Fig.6 The apoptotic changes of DU145 cells after transfection in each group under the action of DDP (10 mol/L) were detected by Flow cytometry

2.5 miR-141 表达的调控对 DU145 细胞侵袭和迁移能力的影响

Transwell 检测(图 7)发现,miR-141 表达下调能够显著抑制 DU145 细胞侵袭和迁移,而 miR-141 表达上调则发挥促进作用。与 Control 组和 NC 组细胞侵袭率(78.43±4.82)%、(75.47±5.59)%相比,miR-141 down 组 DU145 细胞的侵袭率下降为(44.34±

8.32)% ,而 miR-141 up 组 DU145 细胞的侵袭率则上升为(94.94±6.26)% ($P<0.05$ 或 $P<0.01$) ;与 Control 组和 NC 组细胞迁移率(91.22±4.45)%、(93.34±5.72)%相比,miR-141 down 组 DU145 细胞的迁移率下降为(57.73±6.19)% ,而 miR-141 up 组 DU145 细胞的迁移率则上升为(109.47±6.53)% ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group or NC group

A: Transwell assay for cell invasion ($\times 200$); B: Transwell assay for cell migration ($\times 200$);

C: Statistical histogram of cell invasion and migration rate

图 7 Transwell 检测各组 DU145 细胞转染后细胞侵袭和迁移能力的变化

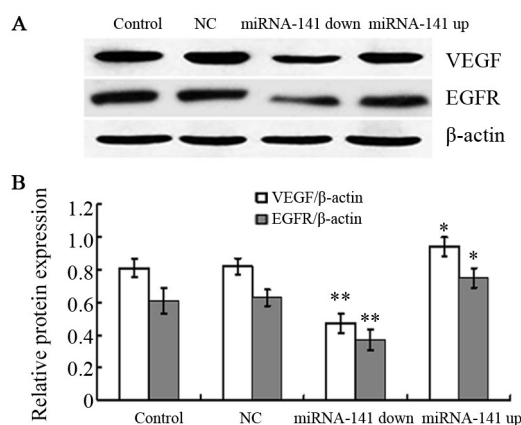
Fig.7 The invasion and migration of DU145 cells after transfection in each group were detected by Transwell assay

2.6 miR-141 表达调控对 DU145 细胞中 VEGF 和 EGFR 表达的影响

Western blotting 检测(图 8)发现,miR-141 表达下调后能够显著抑制 DU145 细胞中 VEGF 和 EGFR 蛋白表达,而 miR-141 表达上调后则反之。与 Control 和 NC 组的 VEGF 相对表达量(0.81±0.06)、(0.82±0.05)相比,miR-141 down 组 VEGF 相对表达量下降为(0.47±0.06),而 miR-141 up 组 VEGF 相对表达量上升为(0.94±0.06) ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与 Control 和 NC 组的 EGFR 相对表达量(0.61±0.08)、(0.63±0.05)相比,miR-141 down 组 EGFR 相对表达量下降为(0.37±0.06),而 miR-141 up 组 EGFR 相对表达量分别上升为(0.75±0.06) ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

前列腺癌是男性常见的恶性肿瘤,在发达国家的发病率及病死率一直居高不下,而我国近年来的发病率也呈现上升趋势。目前研究^[9-10]表明,miRNAs 可以根据细胞状态及不同的靶基因来决定作为癌基因或者抑癌基因,其在多种肿瘤诊断、预后及治疗中发挥重要作用。miR-141 是 miR-200 家族的一员,其可通过与不同的靶点结合调控不同的信号通路来调节生理及病理活动,在正常妊娠、血管形成及肿瘤等



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group or NC group

A: Western blotting detection; B: Statistics of relative expression of VEGF and EGFR

图 8 Western blotting 检测各组 DU145 细胞转染后 VEGF 和 EGFR 蛋白表达的变化

Fig.8 The changes of VEGF and EGFR protein expression of DU145 cells after transfection in each group were detected by Western blotting

病理生理活动中作用突出^[11]。NAKADA 等^[12]研究发现,与正常肾组织细胞相比,miR-141 在肾脏透明细胞癌中表达显著下调,而上调其表达能够间接提升钙黏蛋白 E-cadherin 的表达,并降低肿瘤细胞的侵袭

和转移能力。DU等^[13]针对胃癌的研究也表明,胃癌组织中miR-141表达水平下调,上调其表达可以显著降低胃癌细胞株的增殖能力。但NAM等^[14]在针对卵巢癌的研究则表明,卵巢癌组织中miR-141水平明显升高,其可能具有癌基因的作用。因此,上述研究表明miR-141在不同类型肿瘤组织中表达水平不同,其能够通过不同表达发挥不同的调节作用。

最新研究^[15-16]发现,与正常前列腺组织相比,miR-141在前列腺癌组织中的表达量显著升高,并且miR-141在前列腺癌患者血清中表达量为正常人血清的(11.15±8.25)倍,提示miR-141可能是比较有价值的肿瘤标志物。本研究中同时比较了雄激素依赖性前列腺癌细胞LNCap和雄激素非依赖性前列腺癌细胞PC3、DU145中miRNA-141表达水平,同样发现上述前列腺癌细胞中miRNA-141表达水平显著高于人正常前列腺上皮细胞RWPE-1,并且在DU145细胞中表达水平最高。为了进一步研究miR-141调控表达后对前列腺癌细胞的影响作用,实验选择人前列腺癌DU145细胞系为研究对象,通过将miR-141抑制物和miR-141模拟物分别转染的方式来下调和上调miR-141表达,进而研究其不同的调控表达水平对DU145细胞生理功能的影响。有研究表明^[17],miRNA的异常表达常常通过对肿瘤细胞的增殖活力、药物敏感性、细胞周期、细胞凋亡及侵袭转移等典型细胞活动反映出来。本研究中qPCR检测发现通过转染手段可以分别上调和下调DU145细胞中miR-141表达水平,且效果明显。而当miR-141表达下调后,检测发现DU145细胞增殖活力显著下降,对DDP药物敏感性也显著提升;而当miR-141表达上调后,DU145细胞表现则相反,说明miR-141在前列腺癌细胞中起到促癌的作用。细胞增殖活力受到细胞周期的影响,当细胞周期发生阻滞后会影响到细胞的增殖活力以及细胞凋亡,细胞周期中G0+G1期细胞对凋亡信号更为敏感^[18]。本研究中流式细胞术检测发现,miR-141表达下调后能够显著阻滞DU145细胞周期于Go+G1期,说明其miR-141能够通过调控细胞周期影响细胞活力。同时也发现在DDP作用下,miR-141下调组DU145细胞凋亡率显著高于其他组,这也可能与其调控细胞周期受阻滞有关。

癌细胞侵袭和转移是恶性肿瘤的重要特性,也是肿瘤恶化难以治愈的重要原因,而伴发转移的难治性前列腺癌细胞中细胞侵袭和转移现象明显^[19]。DU145细胞是从前列腺癌脑转移肿瘤中分离出来的细胞系,其分化程度低,为雄激素非依赖的前列腺癌细胞,具有强大的转移侵袭潜能^[20]。本研究中miR-141下调表达后,DU145细胞的侵袭和迁移能力均显

著下降,说明靶向作用前列腺癌细胞下调miR-141表达能够抑制肿瘤细胞发生转移。同时发现,DU145细胞具有较强的侵袭和促血管新生能力,其能够高表达VEGF和EGFR,而VEGF和EGFR是公认的促肿瘤因子,均具有促进肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移作用^[21]。本研究中利用Western blotting检测转染后各组DU145细胞中VEGF和EGFR蛋白表达情况,发现Control组和NC组中VEGF和EGFR均呈高表达,而miR-141下调表达组中VEGF和EGFR蛋白表达水平均显著下降,反之miR-141上调表达组中VEGF和EGFR则表达上升明显。结果说明,miR-141能够正向调控DU145细胞中VEGF和EGFR表达,是其影响DU145细胞增殖、侵袭、迁移的作用机制之一。

综上所述,本研究证实miR-141在前列腺癌中发挥促癌因子作用,其能够明显调控前列腺癌DU145细胞增殖、周期、凋亡及侵袭迁移等活动,其可作为临床前列腺癌诊断、治疗潜在的新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] YE D W, ZHU Y. Prostate cancer and prostatic diseases Best of China, 2018[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2019, 22(1): 1-2. DOI: 10.1038/s41391-018-0117-y
- [2] 师菲, 夏木阶. 前列腺癌内分泌治疗及其全程管理[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(1): 23-27. DOI: 10.3872/j. issn. 1007-385x.2018.01.004.
- [3] 王勇, 郭永连, 陈琳, 等. miR-1180-5p通过激活CDKN1A基因表达抑制前列腺癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(7):698-703. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.07.007.
- [4] 刘涛, 陶皇恒, 方志海, 等. TRPM8抑制剂BCTC对前列腺癌DU145细胞的抑癌作用[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2015, 36(2): 225-230. DOI: 10.14188/j.1671-8852.2015.02.013.
- [5] PASHAEI E, PASHAEI E, AHMADY M, et al. Meta-analysis of miRNA expression profiles for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy[J]. PloS One, 2017, 12(6): e0179543. [2017-06-26]https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28651018/. DOI: 10.1371/journal.pone.0179543. eCollection 2017.
- [6] SAHLBERG K K, BOTTAI G, NAUME B, et al. A serum microRNA signature predicts tumor relapse and survival in triple-negative breast cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(5): 1207-1214. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2011.
- [7] ZUO Q F, ZHANG R, LI B S, et al. MicroRNA-141 inhibits tumor growth and metastasis in gastric cancer by directly targeting transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, TAZ[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(1): e1623. [2015-01-29]https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25633292/DOI: 10.1038/cddis.2014.573.
- [8] KOHIHAPP F J, MITRA A K, LENGUEL E, et al. MicroRNAs as mediators and communicators between cancer cells and the tumor microenvironment[J]. Oncogene, 2015, 34(48): 5857-5868. DOI: 10.1038/onc.2015.89.
- [9] PORZYCKI P, CISZKOWICZ E, SEMIK M, et al. Combination of three miRNA (miR-141, miR-21, and miR-375) as potential diag-

- nostic tool for prostate cancer recognition[J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(4):1-8. DOI: 10.1007/s11255-018-1938-2.
- [10] DENG Q, XIE L, LI H. miR-506 suppresses cell proliferation and tumor growth by targeting Rho-associated protein kinase 1 in hepatocellular carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(4): 921-927. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.10.043.
- [11] LIU Y, ZHAO R, WANG H, et al. miR-141 is involved in BRD7-mediated cell proliferation and tumor formation through suppression of the PTEN/AKT pathway in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(3): e2156. DOI: 10.1038/cddis.2016.64.
- [12] NAKADA C, MATSUURA K, TSUKAMOTO Y, et al. Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c[J]. *J Pathol*, 2008, 216(4): 418-427. DOI: 10.1002/path.2437.
- [13] DU Y, XU Y, DING L, et al. Down-regulation of miR-141 in gastric cancer and its involvement in cell growth[J]. *J Gastroenterol*, 2009, 44(6): 556-561. DOI: 10.1007/s00535-009-0037-7.
- [14] IQBAL MA, ARORA S, PRAKASAM G, et al. MicroRNA in lung cancer: role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance[J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 70(12):3-20. DOI:10.1016/j.mam.2018.07.003.
- [15] LIU C, LIU R, ZHANG D, et al. MicroRNA-141 suppresses prostate cancer stem cells and metastasis by targeting a cohort of prometastasis genes[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14270. DOI: 10.1038/ncomms14270.
- [16] ITOH T, NOZAWA Y, AKAO Y. MicroRNA-141 and -200a are involved in bone morphogenetic protein-2-induced mouse pre-osteoblast differentiation by targeting distal-less homeobox 5[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(29):19272-19279. DOI: 10.1074/jbc.M109.014001.
- [17] WONG H K, FATIMY E, ONODERA C, et al. The cancer genome atlas analysis predicts microRNA for targeting cancer growth and vascularization in glioblastoma[J]. *Mol Ther*, 2015, 23(7): 1234-1247. DOI: 10.1038/mt.2015.72.
- [18] KIM H S, LEE K S, BAE H J, et al. MicroRNA-31 functions as a tumor suppressor by regulating cell cycle and epithelial-mesenchymal transition regulatory proteins in liver cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 8089-8102. DOI: 10.18632/oncotarget.3512.
- [19] BOND D R, NAUDIN C, CARROLL A P, et al. miR-518f-5p decreases tetraspanin CD9 protein levels and differentially affects non-tumorigenic prostate and prostate cancer cell migration and adhesion[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(2): 1980-1991. DOI: 10.18632/oncotarget.23118.
- [20] WU T L, NIU H S, CHEN L J, et al. Increase of human prostate cancer cell (DU145) apoptosis by telmisartan through PPAR-delta pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 775: 35-42. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.02.017.
- [21] EICHTEN A, SU J, ADLER A P, et al. Resistance to anti-VEGF therapy mediated by autocrine IL6/STAT3 signaling and overcome by IL6 blockade[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2327-2339. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1443.

[收稿日期] 2020-02-23

[修回日期] 2020-07-27

[本文编辑] 韩丹