

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.006

· 基础研究 ·

miR-144-3p 靶向调控 E2F3 抑制膀胱癌 T24 细胞的增殖与侵袭

李瑞晓¹, 李雪莲², 唐启胜¹, 王磊¹, 马善金¹, 张波¹(1. 空军军医大学 唐都医院 泌尿外科, 陕西 西安 710038; 2. 西安市中医医院 外科, 陕西 西安 710021)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-144-3p 在膀胱癌组织及细胞中的表达及其对 T24 细胞增殖与侵袭的影响。**方法:** 选用 2018 年 2 月至 2018 年 12 月空军军医大学唐都医院手术切除的 36 例膀胱癌组织及 10 例正常膀胱上皮组织标本, 以及人膀胱癌细胞株 T24 和正常尿路上皮细胞株 SV-HUC-1, 用 qPCR 法检测膀胱癌组织和细胞中 miR-144-3p 的表达水平。用脂质体转染技术分别将 miR-144-3p mimics、miR-NC 等转染进 T24 细胞, 通过 MTT 法、流式细胞术和 Transwell 小室法分别检测 T24 细胞的增殖、细胞周期和侵袭能力。利用 TargetScan 软件预测 miR-144-3p 与 E2F 转录因子 3 (E2F transcription factor 3, E2F3) 的结合位点, 用双荧光素报告基因实验验证 miR-144-3p 与 E2F3 的靶向关系, WB 实验检测细胞中 miR-144-3p 与 E2F3 的表达水平。**结果:** miR-144-3p 在膀胱癌组织和细胞中低表达 (均 $P < 0.01$), 其中肌层浸润性膀胱癌组织中的表达水平低于非肌层浸润膀胱癌组织 ($P < 0.05$)。双荧光素报告基因实验证实, miR-144-3p 与 E2F3 表达存在靶向调节关系。miR-144-3p 过表达可抑制 T24 细胞的增殖和侵袭能力 (均 $P < 0.01$), 同时下调 E2F3 的表达水平 ($P < 0.01$); 当上调 E2F3 表达时, 对细胞侵袭和增殖的抑制作用则被逆转。**结论:** miR-144-3p 在膀胱癌组织中低表达, 其通过靶向调控 E2F3 表达从而抑制膀胱癌细胞的增殖与侵袭。

[关键词] miR-144-3p; E2F 转录因子 3; 膀胱癌; T24 细胞; 增殖; 侵袭

[中图分类号] R737.14; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)01-0037-06

miR-144-3p inhibits proliferation and invasion of bladder cancer T24 cells through targeted regulation of E2F3

LI Ruixiao¹, LI Xuelian², TANG Qisheng¹, WANG Lei¹, MA Shanjin¹, ZHANG Bo¹ (1. Department of Urology, Tangdu Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi, China; 2. Department of Surgery, Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710021, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of miR-144-3p in bladder cancer tissues and cells and its effect on the proliferation and invasion of T24 cells. **Methods:** A total of 36 cases of bladder cancer tissue specimens and 10 cases of normal bladder epithelial tissue specimens were collected from Tangdu Hospital of Air Force Medical University during February 2018 and December 2018. In addition, bladder cancer T24 cell line and normal urothelial cell line SV-HUC-1 were also collected for this study. The levels of miR-144-3p in bladder cancer tissues and cells were detected by qPCR methods. The miR-144-3p mimics and miR-NC were transfected into T24 cells by Lipofectamine™ 2000, respectively. The proliferation, cell cycle distribution and invasion abilities were detected by MTT, Flow cytometry and Transwell chamber methods, respectively. TargetScan software was used to predict the binding site between miR-144-3p and E2F3 (E2F transcription factor 3); Dual luciferase reporter gene assay was used to verify the relationship between miR-144-3p and E2F3; and WB was used to detect the expression levels of miR-144-3p and E2F3 in cells. **Results:** The expression of miR-144-3p was downregulated in bladder cancer tissues and cells (all $P < 0.01$). In addition, the expression level of miR-144-3p in muscular invasive bladder cancer tissues was significantly lower than that in non-muscular invasive bladder cancer tissues ($P < 0.05$). Dual luciferase reporter gene assay confirmed that there was a targeted relationship between miR-144-3p and E2F3. Overexpression of miR-144-3p inhibited the proliferation and invasion of T24 cells (all $P < 0.01$) and downregulated the expression of E2F3 ($P < 0.01$); upregulation of E2F3 could reverse the inhibitory effect of miR-144-3p overexpression on proliferation and invasion of T24 cells. **Conclusion:** miR-144-3p has low expression level in bladder cancer tissues. It inhibits proliferation and invasion of bladder cancer cells by downregulating E2F3.

[Key words] miR-144-3p; E2F transcription factor 3 (E2F3); bladder cancer; T24 cell; proliferation; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(1): 37-42. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.01.006]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No.81872077)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81872077)

[作者简介] 李瑞晓 (1986-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事泌尿系肿瘤的基础研究, E-mail: liruiyao4@163.com

[通信作者] 张波 (ZHANG Bo, corresponding author), 主任医师, 博士生导师, 主要从事泌尿系肿瘤的基础研究, E-mail: zhangbo@fmmu.edu.cn

膀胱癌是泌尿系统中最常见的恶性肿瘤,根据其浸润情况将膀胱癌分为肌层浸润性膀胱癌(muscle-invasive bladder cancer, MIBC)和非肌层浸润性膀胱癌(non muscle-invasive bladder cancer, NMIBC)^[1-2]。约30%的MIBC患者在确诊时已发生远处转移,其5年生存率不令人满意^[3-4]。因此,有必要寻找新的膀胱癌生物标志物和治疗靶标,为临床个体化治疗膀胱癌提供依据。E2F转录因子3(E2F transcription factor 3, E2F3)是E2F转录因子家族的成员,在肺癌、卵巢癌、鼻咽癌、胃癌和前列腺癌中过表达^[5]。课题组前期研究^[6-7]发现,E2F3在浸润性膀胱癌组织和细胞中高表达,并且影响患者的预后,体外实验证实下调E2F3的表达可抑制T24细胞的增殖和侵袭能力。微小RNA(miRNA)是小的非编码RNA的亚组,在各种肿瘤(如乳腺癌、肺癌、肝癌、食管癌、结肠直肠癌等)中表达失调^[8]。miRNA通过与其靶mRNA的3'-UTR配对来调控转录后水平的基因表达^[9]。miRNA的异常表达通常是由遗传缺失和突变、表观遗传过表达或沉默以及肿瘤中异常的转录因子活性引起的,其中,成胶质细胞瘤、喉鳞状细胞癌等中miR-144-3p的表达降低^[10-12]。尽管miR-144-3p在多种类型的肿瘤中都具有很强的抗肿瘤作用,并在很大程度上与其靶mRNA的失调有关,但是该基因在膀胱癌中的表达和作用尚不清楚。因此,本研究通过检测miR-144-3p在膀胱癌组织和细胞中的表达水平,进一步探讨其过表达对膀胱癌T24细胞增殖与侵袭的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 临床标本、细胞系及主要试剂

收集2018年2月至2018年12月空军军医大学唐都医院泌尿外科手术切除的MIBC、NMIBC组织各18例和正常膀胱上皮组织标本10例,所有肿瘤组织标本均经病理学证实为膀胱癌。病例排除标准:治疗前接受放射治疗、化学疗法或介入疗法的患者。术前均告知并签署知情同意书,研究方案经空军军医大学伦理委员会批准。

人膀胱癌细胞T24、人尿路上皮细胞SV-HUC-1和293T细胞均购于中国科学院上海细胞库。

RPMI 1640培养基、F-12K培养基均购自美国Gibco公司,胎牛血清(FBS)购自美国Gemini公司, RNA提取试剂TRIzol、逆转录试剂盒购自美国Thermo公司,转染试剂Lipofectamine™2000购自Genepharma公司,Transwell小室、Matrigel胶均购自美国Corning公司,兔抗GAPDH、兔抗E2F3以及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的

二抗均购自美国Santa Cruz公司。miR-144-3p mimics和阴性对照(miR-NC)质粒由上海吉玛制药技术有限公司合成。

1.2 细胞培养及转染

SV-HUC-1细胞在F-12K培养基中培育,T24细胞在含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中进行培养,在37℃、5%CO₂孵箱中孵育。

将细胞接种于6孔板(2.5×10⁶/孔)中,并在恒温培养箱中孵育。选择对数生长期细胞并接种在培养板中,转染前细胞贴壁率为80%。按照Lipofectamine™2000转染试剂盒说明书的方法分别将miR-144-3p mimics和miR-144-3p-NC(miR-NC)转染进T24细胞,36h后收集细胞用于后续实验;进一步用E2F3过表达质粒转染miR-144-3p-mimics组和miR-NC组细胞,并收集细胞。

1.3 qPCR法检测膀胱癌组织和T24细胞中miR-144-3p和E2F3 mRNA的表达水平

用TRIzol试剂提取组织和细胞中的总RNA,后逆转录为cDNA。随后,使用TaqMan Universal Master Mix II试剂盒在Bio-Rad系统上进行qPCR。反应条件:95℃预变性10 min,95℃变性30 s,60℃退火30 s,在74℃延伸30 s,共40次循环。引物序列:miR-144-3p F为5'-GGGAGATCAGAAGGTGATT-3',R为5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3';E2F3 F为5'-GTTTCGGAAATGCCCTTACA-3',R为5'-CACTTCTGCTGCCTTGTTCA-3'。结果采用2^{-ΔΔct}法分析数据,以GAPDH为内参照,计算目的基因mRNA的相对表达水平。

1.4 MTT法检测T24细胞的增殖能力

转染36h后进行胰蛋白酶消化以收集各组细胞,然后将细胞分别接种在96孔板(5×10³细胞/孔)中。在第1、2、3、4和5 d向各孔中加入20 μl MTT溶液,4h后在酶标仪波长490 nm处检测光密度(D)值,并绘制细胞生长曲线。

1.5 流式细胞术检测T24细胞的细胞周期

收集各组细胞并用PBS洗涤,用胰酶消化后,将细胞用1%牛血清白蛋白溶液洗涤,并在含有0.5%Tween-20的乙醇中固定30 min。PBS洗涤细胞后,加入100 μl RNase水浴30 min,用10 μg/ml PI于室温下染色30 min。上流式细胞仪检测细胞周期分布情况并分析数据。

1.6 Transwell小室法检测T24细胞的侵袭能力

将各组细胞培养48h后,将细胞(2×10⁴个细胞/孔)重悬于200 μl无血清培养基中,并加入预铺基质胶的Transwell上室内,下室内加入500 μl RPMI 1640和20% FBS。继续培养36h后,取出小室、用棉签拭去上室的细胞,用4%多聚甲醛溶液固定15 min后用

1% 结晶紫染色, 漂洗干燥后, 在倒置显微镜下 ($\times 200$) 观察、计数侵袭细胞数。

1.7 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-144-3p 与 E2F3 的靶向关系

利用 TargetScan (<http://www.targetscan.org>) 软件预测 miR-144-3p 与 E2F3 靶向结合位点。将 E2F3 克隆到荧光素酶编码序列的下游, 构建质粒。根据脂质体转染使用说明书的方法进行操作, 将上述构建的质粒分别与 Lipofectamine™ 2000 混合后转染 293T 细胞。转染 48 h 后, 用双荧光素酶报告基因测定系统检测荧光素酶活性。

1.8 WB 法检测 T24 细胞中 E2F3 蛋白的表达

在含有 PMSF 的 RIPA 裂解液中裂解各组细胞。BCA 蛋白测定试剂盒用于检测蛋白浓度。后进行 SDS-PAGE、转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 加入 E2F3 (1:1 000) 和 GAPDH (1:500) 一抗孵育 2 h, PBS 洗涤 3 次, 加入的 HRP 标记的二抗 (1:2 000) 室温孵育 1 h, 加入 BCL 化学发光显色液, 于暗室中进行曝光显影, 以 GAPDH 内参照, 分析蛋白条带的灰度值。

1.9 统计学处理

qPCR 法、MTT 法、流式细胞术、Transwell 小室法、WB 法等实验均重复 3 次。用 SPSS 20.0 统计学软件对

实验数据进行统计分析。正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 皮尔逊相关系数用于评估表达的相关性。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-144-3p 在膀胱癌组织和 T24 细胞中均低表达

qPCR 法检测结果显示, 膀胱癌组织中 miR-144-3p 的表达水平显著低于正常膀胱上皮组织 (0.49 ± 0.08 vs 1.00 ± 0.09 , $t = 5.618$, $P < 0.01$), MIBC 组织中 miR-144-3p 表达水平明显低于 NMIBC (0.48 ± 0.06 vs 0.61 ± 0.07 , $t = 1.709$, $P < 0.05$); miR-144-3p 在 T24 细胞中的表达水平显著低于 SV-HUC-1 细胞 (0.35 ± 0.08 vs 1.00 ± 0.01 , $t = 7.628$, $P < 0.01$)。

2.2 过表达 miR-144-3p 显著降低 T24 细胞的增殖能力

qPCR 法检测结果 (图 1A) 显示, miR-144-3p mimics 组 T24 细胞中 miR-144-3p 表达水平显著高于 T24 细胞组和 miR-NC 组 ($t = 5.543, 4.107$, 均 $P < 0.01$)。MTT 实验结果 (图 1B) 显示, miR-144-3p mimics 组 T24 细胞的增殖能力显著低于 miR-NC 组和 T24 细胞组 ($t = 4.861, 6.635$, 均 $P < 0.01$)。结果表明, 过表达 miR-144-3p 显著降低 T24 细胞的增殖能力。

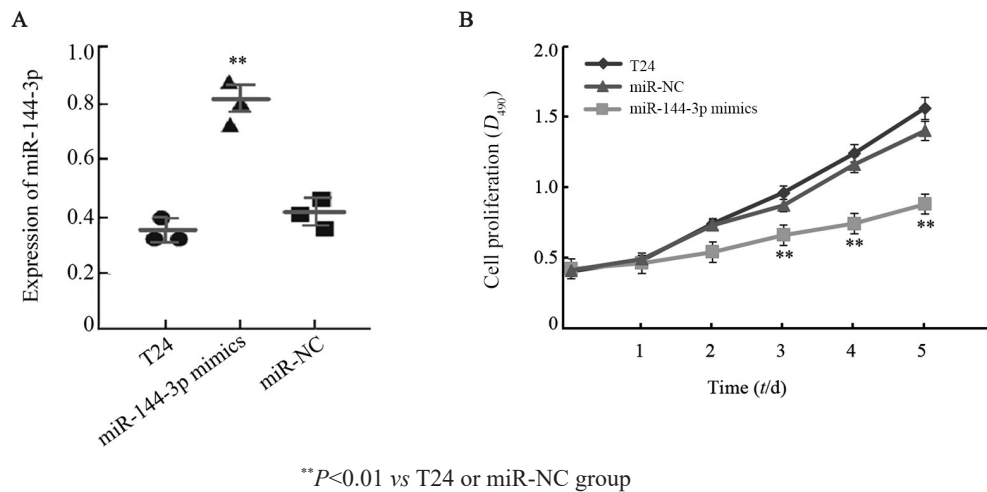


图 1 过表达 miR-144-3p 对 T24 细胞 miR-144-3p 表达(A)和增殖(B)的影响

Fig.1 Effects of miR-144-3p over-expression on the miR-144-3p expression (A) and proliferation (B) in T24 cells

2.3 过表达 miR-144-3p 使 T24 细胞阻滞在 G0/G1 期

流式细胞术检测结果 (图 2) 显示, miR-144-3p mimics 组 T24 细胞被阻滞在 G0/G1 期, 而 S 期细胞的百分率显著低于 T24 细胞组和 miR-NC 组 ($t = 5.507, 6.579$, 均 $P < 0.01$)。

2.4 过表达 miR-144-3p 显著降低 T24 细胞的侵袭能力

Transwell 小室法检测结果 (图 3) 显示, miR-144-3p-mimic 组 T24 细胞侵袭数显著少于 miR-NC 组和 T24 组 ($t = 8.873, 9.226$, 均 $P < 0.01$)。结果表明, 过表

达 miR-144-3p 降低 T24 细胞的侵袭能力。

2.5 miR-144-3p 靶向抑制 E2F3 基因表达

应用生物信息学软件 TargetScan 将 E2F3 鉴定为 miR-144-3p 的潜在靶标。为了验证该预测, 荧光素酶候选基因与报告基因下游每个靶标的 3'-UTR 一起构建 (图 4A)。萤光素酶活性测定法结果显示, 当细胞与含有野生型 (WT) 但不含 E2F3 的 MUT 3'-UTR 的荧光素酶质粒共转染时, miR-144-3p mimics 显著抑制萤光素酶活性 ($t = 6.571$, $P < 0.01$; 图 4B)。WB 实

验结果(图4C)显示, miR-144-3p-mimics 显著降低 T24 细胞中 E2F3 的表达水平 ($t=10.283, P<0.01$)。qPCR 法检测结果(图4D)显示, miR144-3p-mimics 显

著降低了 E2F3 mRNA 的表达水平 ($t=7.439, P<0.01$)。实验结果表明, miR144-3p 靶向作用于 E2F3, 从而在 mRNA 和蛋白水平上调控 E2F3 的表达。

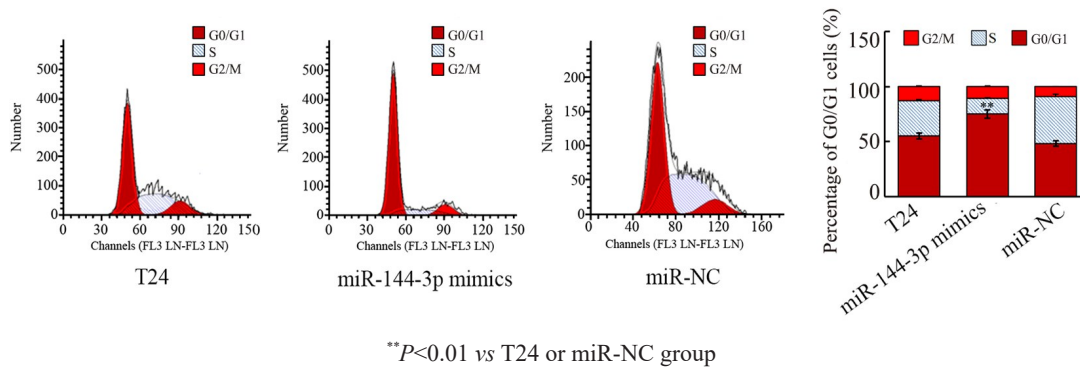


图2 miR-144-3p 过表达达对 T24 细胞周期的影响

Fig.2 Effect of miR-144-3p over-expression on cell cycle of T24 cells

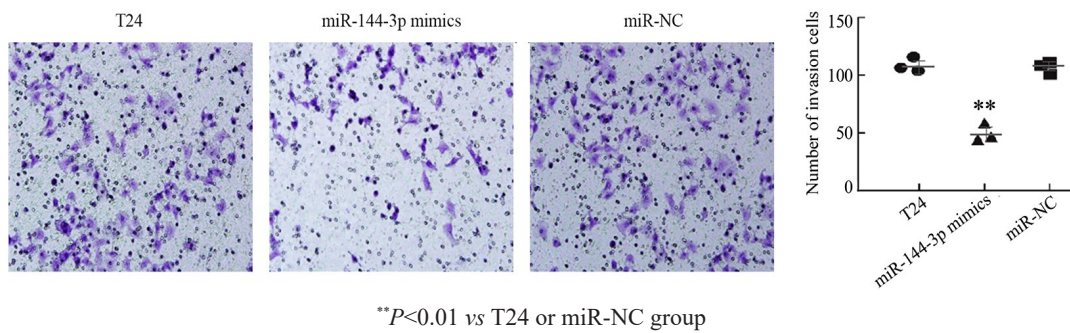
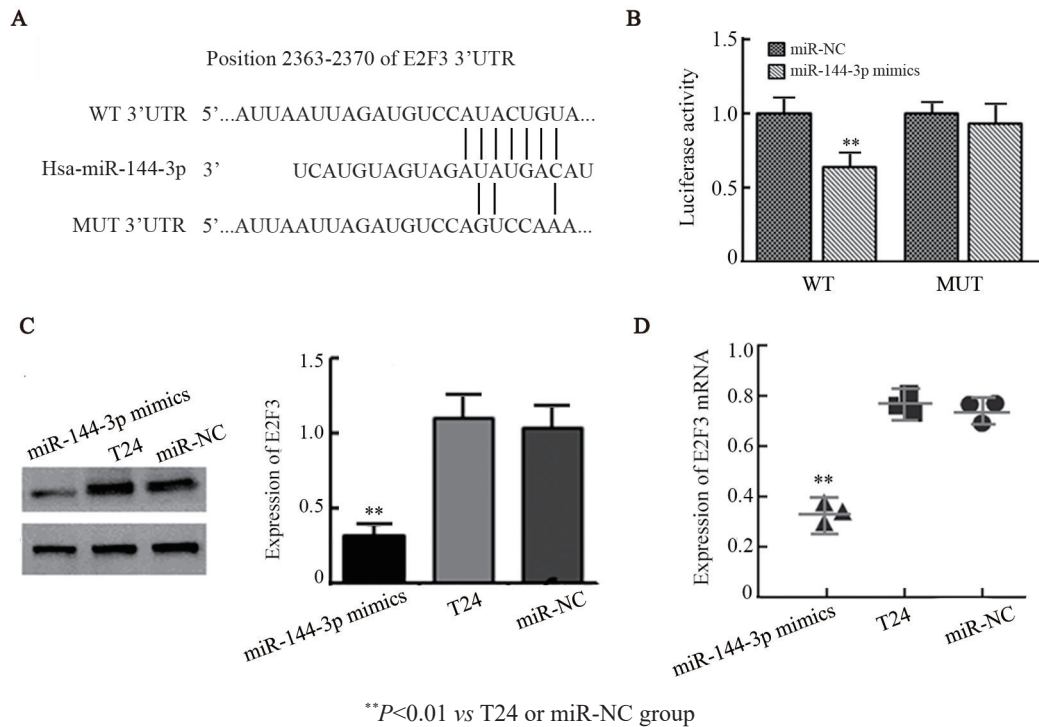


图3 miR-144-3p 过表达达对 T24 细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色, $\times 200$)

Fig.3 Effect of miR-144-3p over-expression on invasion ability of T24 cells (crystal violet staining, $\times 200$)



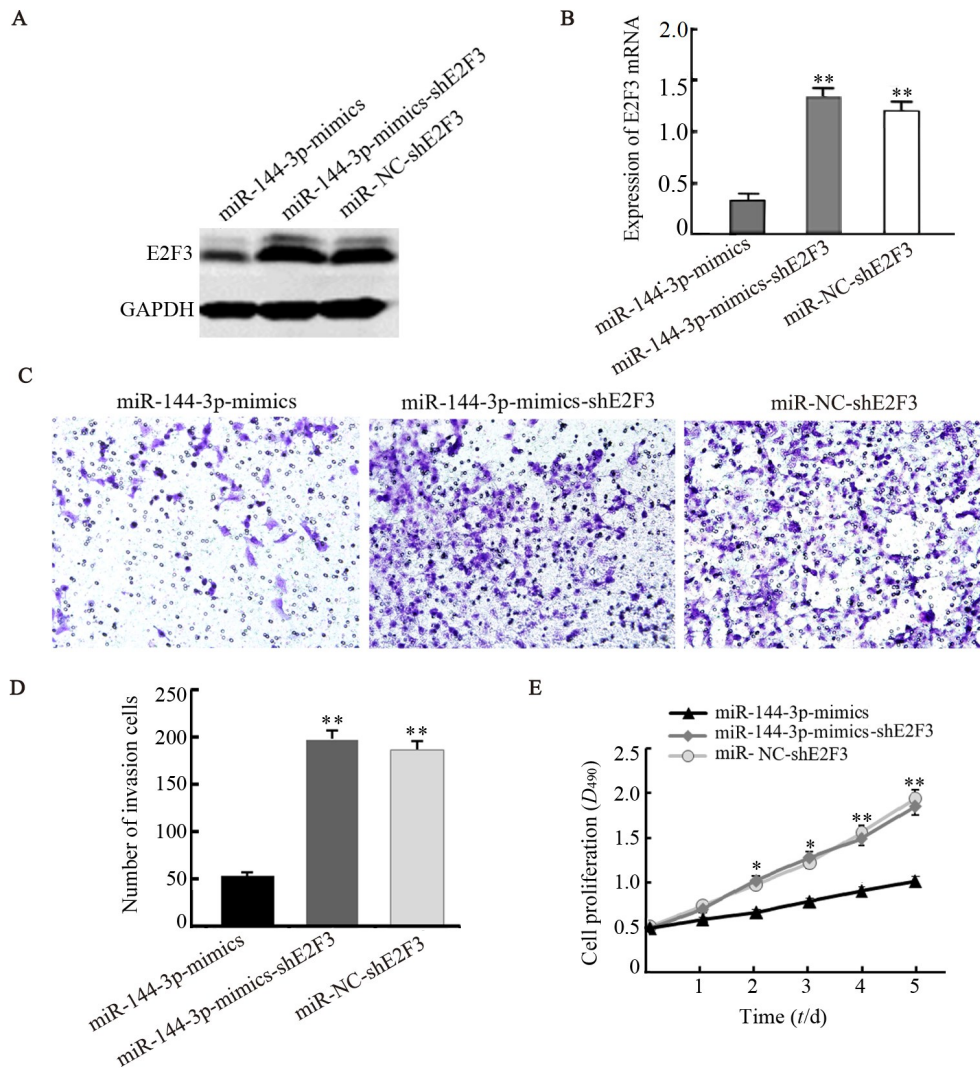
A: Prediction of target gene of miR-144-3p; B: Luciferase assay for testing the targeting relationship between miR-144-3p and E2F3; C: Relative protein level of E2F3; D: Relative mRNA level of E2F3

图4 miR-144-3p 与 E2F3 基因的靶向关系

Fig.4 Targeting relationship between miR-144-3p and E2F3

用 E2F3 过表达质粒转染 miR-144-3p-mimics 组和 miR-NC 组 T24 细胞后, 与 miR-144-3p-mimics 组相比, 两组细胞中 E2F3 蛋白表达水平显著升高 (1.02 ± 0.29 、 0.96 ± 0.15 vs 0.42 ± 0.21 , $t=9.266$ 、 7.139 , 均 $P < 0.01$; 图 5A), E2F3 mRNA 表达水平显著升高 ($t=8.019$ 、

8.116 , $P < 0.01$; 图 5B); 两组细胞的侵袭能力显著增强 ($t=7.635$ 、 6.226 , 均 $P < 0.01$; 图 5C, D); 两组细胞的增殖能力显著增强 ($t=10.128$ 、 8.918 , 均 $P < 0.01$; 图 5E)。以上结果说明, miR-144-3p 通过靶向调控 E2F3 表达在膀胱癌中起抑制作用。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs miR-144-3p-mimics group

A: The expression of E2F3 protein was detected by WB; B: The expression level of E2F3 mRNA was detected by qPCR; C: Transwell chamber assay was used to detect the invasion of cells (crystal violet staining, $\times 200$); D: Number of invasion cells; E: MTT assay was used to detect the proliferation ability of cells

图5 过表达 E2F3 对 T24 细胞 miR-144-3p 表达、侵袭及增殖的影响

Fig.5 Effect of E2F3 over-expression on miR-144-3p expression, invasion and proliferation in T24 cells

3 讨论

miRNA 是非编码蛋白的内源性 RNA, 它是由 19~23 个核苷酸组成的单链 RNA, 在细胞中具有多种调控功能, 在蛋白质转录后的表达中占据主要位置^[13-14]。miRNA 在肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等过程中起重要作用^[15]。目前研究证明, miR-144-3p 在大肠癌和肝癌中低表达, miR-144-3p 过表达可抑

制肿瘤的增殖与侵袭^[16-17]; 而 miR-144-3p 在急性髓细胞性白血病中高表达, 且与患者的预后相关^[13]。鉴于先前关于 miR-144-3p 作用机制的研究报道很少, 因此本研究主要探讨 miR-144-3p 在膀胱癌发展进程中的作用及其分子机制。E2F3 家族在调控细胞增殖、凋亡和分化中起着至关重要的作用。E2F3 在肿瘤发生中有致癌的作用, 有研究^[18]报道了在人类不同类型恶性肿瘤中

E2F3的功能和转录活性的改变,E2F3是肿瘤相关巨噬细胞中的关键转录因子,并影响肿瘤微环境和肿瘤细胞的转移。本课题组前期研究^[6-7]发现,E2F3在膀胱癌组织中高表达,E2F3表达与患者预后呈负相关;体外细胞实验证实,下调E2F3的表达可抑制膀胱癌细胞的增殖及侵袭能力。

本研究利用生物信息学软件TargetScan分析预测了miR-144-3p在E2F3上的结合位点,并通过萤光素酶活性测定证实了E2F3是miR-144-3p的直接靶标。本研究中发现,miR-144-3p在膀胱癌组织中较正常膀胱组织中低表达,而且MIBC中的表达水平低于NMIBC,说明miR-144-3p可能在膀胱癌的侵袭中发挥着重要的作用。进一步通过体外细胞实验证实,miR-144-3p过表达可抑制膀胱癌T24细胞的增殖及侵袭能力。同时通过WB和qPCR实验发现,miR-144-3p过表达可显著抑制E2F3的表达,而上调E2F3表达后对miR-144-3p的表达无明显影响,并且恢复T24细胞的增殖及侵袭能力。结果表明,miR-144-3p可靶向调控E2F3的表达从而抑制T24细胞的增殖与侵袭能力。

综上所述,本研究发现miR-144-3p在膀胱癌组织和T24细胞中低表达,miR-144-3p可能通过靶向调控E2F3表达抑制T24细胞的增殖和侵袭能力,此为浸润性膀胱癌的发病机制提供了理论依据。miR-144-3p有望成为膀胱癌生物治疗的潜在新靶标。

[参考文献]

- [1] ANTONI S, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends [J]. *Eur Urol*, 2017, 71(1): 96-108. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.06.010.
- [2] 叶俊兵, 李王坚, 万俊彦, 等. 非肌层浸润性膀胱癌治疗的研究进展[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2020, 40(5): 938-941. DOI: 10.3760/cma.j.cn431460-20190530-00051.
- [3] KAMAT A M, HAHN N M, EFSTATHIOU J A, et al. Bladder cancer [J]. *Lancet*, 2016, 388(10061): 2796-2810. DOI: 10.1016/s0140-6736(16)30512-8.
- [4] 刘腾飞. 肌层浸润性膀胱癌新辅助化疗的临床应用及进展[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2020, 40(2): 327-331. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4416.2020.02.038.
- [5] PEI Y H, TANG Z T, CAI M J, et al. The E2F3/miR-125a/DKK3 regulatory axis promotes the development and progression of gastric cancer[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 212[2020-06-14]. DOI:10.1186/s12935-019-0930-y.
- [6] 李瑞晓, 李雪莲, 李智, 等. 转录因子E2F3对浸润性膀胱癌细胞因子的调控反应[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2016, 23(12): 768-774, 793. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2016.12.002.
- [7] 焦勇, 张波, 李瑞晓, 等. E2F3在浸润性膀胱癌中的表达关系以及对患者生存的影响[J]. *中国医师杂志*, 2016, 18(1): 29-32. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2016.01.010.
- [8] WANG T T, DU M Y, ZHANG W J, et al. MicroRNA-432 suppresses invasion and migration via E2F3 in nasopharyngeal carcinoma[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 11271-11280[2020-06-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6927591/>. DOI:10.2147/OTT.S233435.
- [9] GENG L, CHAUDHURI A, TALMON G, et al. MicroRNA-192 suppresses liver metastasis of colon cancer[J/OL]. *Oncogene*, 2014, 33(46): 5332-5340[2020-06-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016997/>. DOI:10.1038/onc.2013.478.
- [10] ZHENG H, GUO Z Y, ZHENG X Q, et al. MicroRNA-144-3p inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in prostate cancer by targeting CEP55[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(8): 2457-2468[2020-06-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6129549/>.
- [11] HE LL, LIAO F, DU F, et al. miR-144-3p inhibits tumor cell growth and invasion in oral squamous cell carcinoma through the downregulation of the oncogenic gene, EZH2[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(2): 828-838. DOI:10.3892/ijmm.2020.4638.
- [12] TIAN F, WANG H H, MA H X, et al. miR-144-3p inhibits the proliferation, migration and angiogenesis of multiple myeloma cells by targeting myocyte enhancer factor 2A[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(3): 1155-1165. DOI:10.3892/ijmm.2020.4670.
- [13] BARTEL D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J/OL]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233[2020-06-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3794896/>. DOI:10.1016/j.cell.2009.01.002.
- [14] YAN L, DONG Y, ZHU H, et al. A potential prognostic model based on miRNA expression profile in The Cancer Genome Atlas for bladder cancer patients[J]. *J Biol Res (Thessalonike, Greece)*, 2020, 27: 6. DOI:10.1186/s40709-020-00116-3.
- [15] JIANG Y S, CAI Y H, SHAO W W, et al. MicroRNA-144 suppresses aggressive phenotypes of tumor cells by targeting ANO1 in colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(4): 2361-2370. DOI: 10.3892/or.2019.7025.
- [16] MA Y, SHE X G, MING Y Z, et al. MicroRNA-144 suppresses tumorigenesis of hepatocellular carcinoma by targeting AKT3[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 1378-1383. DOI:10.3892/mmr.2014.2844.
- [17] SUN X L, LIU D J, XUE Y, et al. Enforced miR-144-3p expression as a non-invasive biomarker for the acute myeloid leukemia patients mainly by targeting NRF2[J]. *Clin Lab*, 2017, 63(4): 679-687. DOI:10.7754/Clin.Lab.2016.161116.
- [18] JOHNSON J L, PILLAI S, PERNAZZA D, et al. Regulation of matrix metalloproteinase genes by E2F transcription factors: Rb-Raf-1 interaction as a novel target for metastatic disease[J/OL]. *Cancer Res*, 2012, 72(2): 516-526[2020-06-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3261351/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2647.

[收稿日期] 2020-06-15

[修回日期] 2020-11-08

[本文编辑] 党瑞山