DOI:10.16016/j.1000-5404.202104063

MiR-138 通过靶向 SIRT1 调控结肠癌细胞的凋亡

杨 洋,彭文丽 400030 重庆,重庆大学附属肿瘤医院,肿瘤转移与个体化诊治转化研究重庆市重点实验室

[摘要] **目的** 探讨 miR-138 在结肠癌细胞中通过调控沉默信息调节因子 2 相关酶 1(silent mating type information regulation 2 homolog-1,SIRT1)参与细胞凋亡的机制。**方法** 采用 RT-qPCR 检测 miR-138 在结肠癌细胞株 HCT116、SW480、Caco-2、HT29、SW1116 中的表达。构建荧光素酶报告质粒,双荧光素酶实验验证靶标分子。将 miR-138 mimics(类似物)、miR-138 inhibitors(抑制物)和 miR-138 NC(阴性对照)分别转染至 HT29、Caco-2 细胞,RT-qPCR 和 Western bolt 检测处理前后 HCT116 细胞中 miR-138、SIRT1、Caspase-3 及 Bcl-2 的表达;流式细胞仪检测 HT29、Caco-2 细胞凋亡情况。**结果** miR-138 在结肠癌细胞 Caco-2 中表达水平最低,在 HT29 细胞中表达水平最高。双荧光素酶实验验证结果显示:在 HT29 细胞中,SIRT1 为 miR-138 的靶标分子,miR-138 可在 mRNA 及蛋白水平抑制 SIRT1 的表达。miR-138 mimics 转染至 Caco-2 细胞后,其 SIRT1、Bcl-2 表达显著降低($P<0.05$),Caspase-3 表达显著升高($P<0.05$),细胞凋亡增加($P<0.05$);而 miR-138 inhibitors 转染至 HT29 细胞后,其 SIRT1、Bcl-2 表达显著升高($P<0.05$),Caspase-3 表达显著降低($P<0.05$),细胞凋亡减少($P<0.05$)。**结论** miR-138 可通过影响其靶标分子 SIRT1 的表达进而参与结肠癌细胞凋亡水平的调控。

[关键词] 结肠癌细胞;miR-138;SIRT1;细胞凋亡

[中图法分类号] R394.3; R73-362; R735.35 [文献标志码] A

MiR-138 promotes apoptosis of colon cancer cells by targeting SIRT1

YANG Yang, PENG Wenli Chongqing Key Laboratory of Translational Research for Cancer Metastasis and Individualized Treatment, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing, 400030, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the mechanism of miR-138 involving in the apoptosis of colon cancer cells by regulating SIRT1. **Methods** RT-qPCR was used to detect the expression of miR-138 in colon cancer cell lines HCT 116, SW480, Caco-2, HT29 and SW1116. The luciferase reporter plasmid was constructed and the target molecule was verified by double luciferase assay. MiR-138 mimics, miR-138 inhibitor and miR-138 NC (negative control) were transfected into HT29 and Caco-2 cells, respectively. The expression levels of miR-138, SIRT1, Caspase-3 and Bcl-2 in the cells of each group were detected by RT-qPCR and Western blotting, and the apoptosis of Caco-2 and HT29 cells was detected by flow cytometry. **Results** MiR-138 showed the lowest expression level in Caco-2 cells and the highest expression level in HT29 cells. SIRT1 was identified as a direct target of miR-138 in HT29 cells, and miR-138 inhibited SIRT1 expression at both mRNA and protein levels. After transfection of miR-138 mimics into Caco-2 cells, the expression of SIRT1 and Bcl-2 was significantly decreased ($P<0.05$), Caspase-3 was enhanced ($P<0.05$), meanwhile the apoptosis was increased ($P<0.05$). Whereas after miR-138 inhibitor transfected into HT29 cells, the expression of SIRT1 and Bcl-2 was obviously increased ($P<0.05$), Caspase-3 was decreased ($P<0.05$), and the apoptosis reduced ($P<0.05$). **Conclusion** MiR-138 promotes apoptosis of colon cancer cells by regulating the expression of its target SIRT1.

[**Key words**] colon cancer cells; miR-138; SIRT1; apoptosis

Corresponding author: PENG Wenli, E-mail: 155059627@qq.com

[通信作者] 彭文丽,E-mail: 155059627@qq.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

结肠癌(colorectal cancer,CRC)是常见的恶性肿瘤之一,其病死率在全球恶性肿瘤中位列前5[1],严重威胁人类生命健康。研究表明高脂、高热量饮食、大量饮酒和缺乏运动都会增加患结肠癌的风险,近年来,随着人均生活水平的提高、饮食习惯的改变,结肠癌患病率呈现逐渐上升的趋势[2-3]。尽管其治疗取得了进展,但5年存活率仍然不高[4]。因此,深入研究其发生发展机制,寻找新的检验及治疗靶点非常必要。微小RNA(microRNA, miRNA)是一种单链非编码小片段RNA调控分子,可对包括肿瘤细胞在内的多种细胞的生物功能进行调节,包括细胞的生长发育、分化及凋亡等[5-6]。近年来,研究发现miR-138参与了结肠癌细胞增殖、侵袭、凋亡等生物学行为的调节[7-8],提示miR-138与结肠癌的发生、发展密切相关,但其中涉及的病理生理学机制复杂,目前尚未研究清楚。因此,本研究探讨miR-138对结肠癌细胞凋亡的作用及可能的机制,以期为CRC的临床诊断和治疗的研究提供新的思路及靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

人源性结肠癌细胞系HCT116、SW480、Caco-2、HT29、SW1116购自美国ATCC公司。RPMI1640及DMEM细胞完全培养基购自美国HyClone公司。胎牛血清购自美国Gibco公司。PrimeScript RT-PCR试剂盒购自日本TaKaRa公司。pAcGFPC1-SIRT1质粒,SIRT1 siRNA、miR-138 mimic(类似物)、miR-138 inhibitor(抑制物)、miR-138 negative control(阴性对照,NC)引物由广州锐博生物公司合成。pmirGLO vector、双荧光素酶检测试剂盒购自美国Promega公司。Lipofectamine 2000、Opti-MEM、TRIzol购自美国invitrogen公司。BCA蛋白质定量试剂盒、RIPA蛋白裂解液、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒购自上海碧云天公司。人β-actin抗体、沉默信息调节因子2相关酶1(silent mating type information regulation 2 homolog-1,SIRT1)、Caspase-3及Bcl-2抗体购自美国Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与处理 复苏冻存的HCoEpiC、HCT116、SW480、Caco-2、HT29、SW1116细胞,接种至含10%胎牛血清的DMEM培养液,置于37 ℃、5%CO_2的培养箱中。48 h后制成单细胞悬液,调整细胞数为2×10^5/mL,接种至6孔板,培养24 h。采用Lipofectamine 2000转染miR-138 mimic、miR-138 inhibitor、miR-138 NC、pAcGFPC1-SIRT1质粒、SIRT1 siRNA至各实验组细胞。收集细胞上清液并提取总RNA,用于后续实验。

1.2.2 靶基因预测及双荧光素酶实验分析 采用TargetScan、miRanda预测miR-138的靶基因,其中SIRT1在miR-138的3'UTR上有结合位点。用Lipofectamine 2000将荧光素酶报告载体(野生型SIRT1 3'UTR WT或突变型SIRT1 3'UTR MT)转染至上述处理后的细胞中,对照采用Renilla荧光素酶质粒。转染24 h后,用双荧光素酶报告分析系统进行检测。

1.2.3 siRNA干扰SIRT1表达 根据人SIRT1 NM_001142498基因序列设计并合成siRNA。阴性对照:5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′(正义链),5′-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3′(反义链);SIRT1:5′-GAACCUUCCUCCUCUUCCUCCUCCT-3′(正义链),5′-AGGAGGAGGAAGAGGAGGAAGGUUCUG-3′(反义链)。转染24 h后进行后续实验。

1.2.4 RT-PCR检测mRNA表达 采用TaqMan miRNA assays检测miR-138的表达,反应条件为95 ℃预变性20 s,1个循环;95 ℃变性15 s,60 ℃退火30 s,70 ℃延伸10 s,共40个循环;70 ℃总延伸3 min。miR-138引物序列:5′-UUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGU-3′(正义链),5′-ACCCCUAUCACGAUUAGCAUUAA-3′(反义链)。采用PrimeScript RT-PCR试剂盒检测SIRT1、Caspase-3和Bcl-2 mRNA的表达,反应条件为95 ℃预变性1 min,1个循环;95 ℃变性30 s,60 ℃退火30 s,72 ℃延伸1 min,共40个循环,72 ℃总延伸5 min。SIRT1引物序列:5′-TGGACAATTCCAGCCATCTC-3′(正义链),5′-GCGTGTCTATGTTCTGGGTATAG-3′(反义链)。Caspase-3引物序列:5′-GAAATTGTGGAATTGATGCGTGA-3′(正义链),5′-GAAATTGTGGAATTGATGCGTGA-3′(反义链)。Bcl-2引物序列:5′-GAACTGGGGGAGGATTGTGG-3′(正义链),5′-ACTTCACTTGTGGCCCAGAT-3′(反义链)。

1.2.5 Western blot检测相关蛋白表达 将提取的蛋白样品通过SDS PAGE凝胶进行电泳,然后转移至PVDF膜,25 ℃,5%脱脂奶封闭2 h,TBST洗膜后加入对应的一抗,4 ℃孵育过夜,TBST洗膜3次,加入二抗,25 ℃孵育1 h。TBST洗膜3次,加入配制好的发光液,避光孵育5 min,化学发光凝胶成像仪中采集图片信息,并进行灰度分析。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 将实验各组分别弃去上清,37 ℃预热的PBS洗涤3次,制成单个细胞悬液。轻轻吹打制成单个细胞悬液,100 μL细胞悬液中加入5 μL Annexin V-FITC,室温孵育10 min;再加入5 μL PI溶液,室温孵育5 min。流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

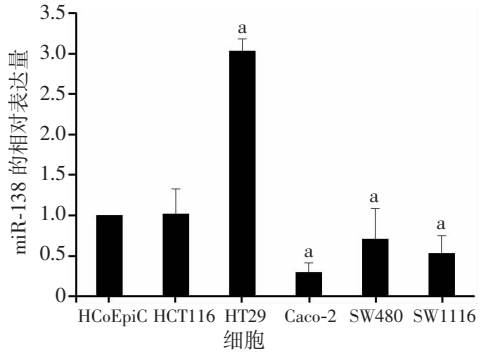
1.3　统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。统计数据采用单因素方差分析,多重比较方差齐时采用 LSD 法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　结肠癌细胞 HCT116、SW480、Caco-2、HT29、SW1116 中 miR-138 表达水平

应用 RT-qPCR 检测 miR-138 在人结肠癌细胞系 HCT116、SW480、Caco-2、HT29、SW1116 中的表达,同时检测 miR-138 在人正常结肠上皮细胞 HCoEpiC 中的表达作为对照。结果表明:与 HCoEpiC 细胞相比,miR-138 在 HT-29 细胞中表达水平最高,在 Caco-2 细胞中表达水平最低(图 1)。

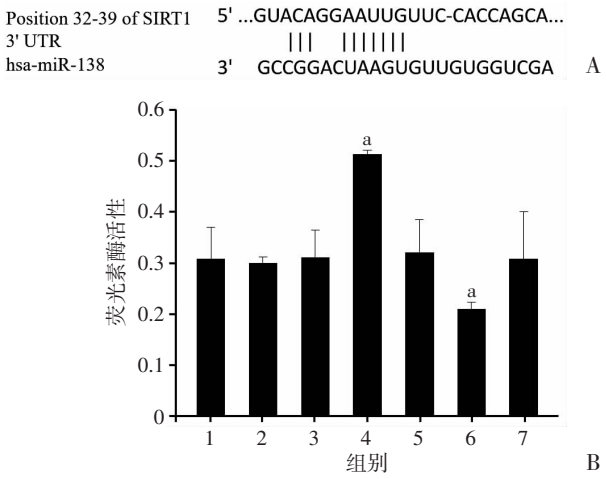


a:$P<0.05$,与 HCoEpiC 比较

图 1　人结肠癌细胞系 HCT116、SW480、Caco-2、HT29、SW1116 中 miR-138 表达水平

2.2　双荧光素酶实验验证人结肠癌细胞中 miR-138 靶标分子及 SIRT1 表达水平分析

通过生物信息学分析预测并结合文献报道,初步筛选出 miR-138 在 HT29 细胞中潜在的靶标分子 SIRT1,其 3'-UTR 序列与 miR-138 部分互补,且它们间的"种子序列(seed sequences)"在 7-mer 以上(图 2A)。把构建好的含 SIRT1 3'-UTR 结合位点的荧光素酶报告基团(p-SIRT1-UTR,UTR)、含 SIRT1 3'-UTR 突变体的荧光素酶报告基团(p-mut-SIRT1-UTR, mut-UTR)、空白对照质粒(pmirGLO-control)、对照载体及 miR-138 mimics、miR-138 inhibitor、阴性对照共转染入 HT29 细胞。发现 SIRT1 3'-UTR 荧光素酶报告基团与 miR-138 mimics 共转染后,其荧光素酶活性明显下降,而与 miR-138 inhibitor 共转染其荧光素酶活性明显上升($P<0.05$,图 2B)。同时,共转染 SIRT1 3'-UTR 突变的荧光素酶报告基团与 miR-138 mimics、或共转染 miR-138 inhibitor 后,其荧光素酶活性无明显下降(图 2B)。此外,载体对照及 miR-138 阴性对照对荧光素酶活性无明显影响。以上结果表明 miR-138 通过作用于 SIRT1 3'-UTR 抑制其表达,即在结肠癌细胞中,SIRT1 是 miR-138 的直接靶标分子。

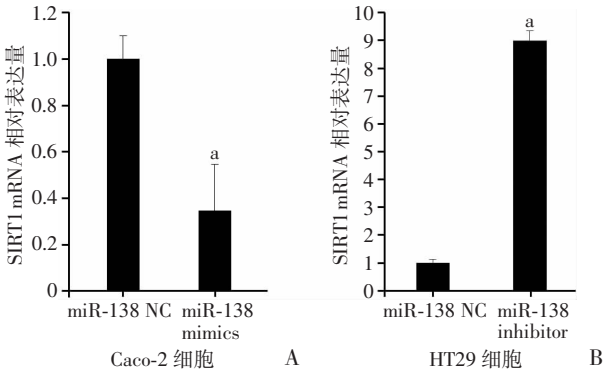


A:miRanda、TargetScan 数据库预测 miR-138 与其靶基因 SIRT1 mRNA 3′-UTR 区域结合位点;B:双荧光素酶报告分析系统检测各组细胞荧光素酶活性　1:pmirGLO-control;2:UTR;3:UTR+miR-138 control;4:UTR+miR-138 inhibitor;5:mut-UTR+miR-138 inhibitor;6:UTR+miR-138 mimics;7:mut-UTR+miR-138 mimics;a:$P<0.01$ 与 pmirGLO control 比较

图 2　人结肠癌细胞中 miR-138 靶标分子预测及验证

2.3　结肠癌细胞中 miR-138 对 SIRT1 表达的影响

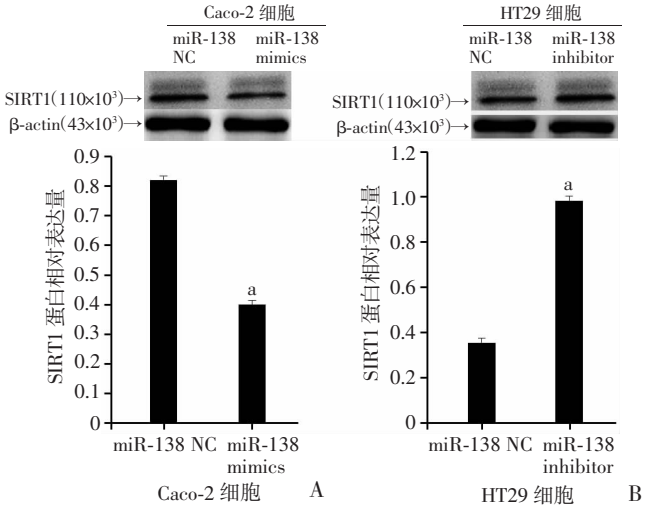
将 miR-138 mimics 和 miR-138 negative control(NC)分别转染至 Caco-2 细胞,转染 48 h 后检测结果显示:SIRT1 mRNA 及蛋白水平均显著降低;同时,将 miR-138 inhibitor 和 miR-138 negative control(NC)分别转染至 HT29 细胞,转染 48 h 后检测结果显示:SIRT1 mRNA 及蛋白水平均显著升高($P<0.05$,图 3、4),提示 miR-138 可在 mRNA 及蛋白水平抑制结肠癌细胞 SIRT1 的表达。



a:$P<0.05$,与 miR-138 NC 比较

A:Caco-2 细胞中 SIRT1 mRNA 水平;B:HT29 细胞中 SIRT1 mRNA 水平

图 3　RT-qPCR 检测结肠癌细胞 Caco-2、HT29 中 miR-138 对 SIRT1 mRNA 表达的影响



a:$P<0.05$,与 miR-138 NC 比较

A:Caco-2 细胞中 SIRT1 蛋白水平;B:HT29 细胞中 SIRT1 蛋白水平

图 4 Western blot 检测结肠癌细胞 Caco-2、HT29 中 miR-138 对 SIRT1 蛋白表达的影响

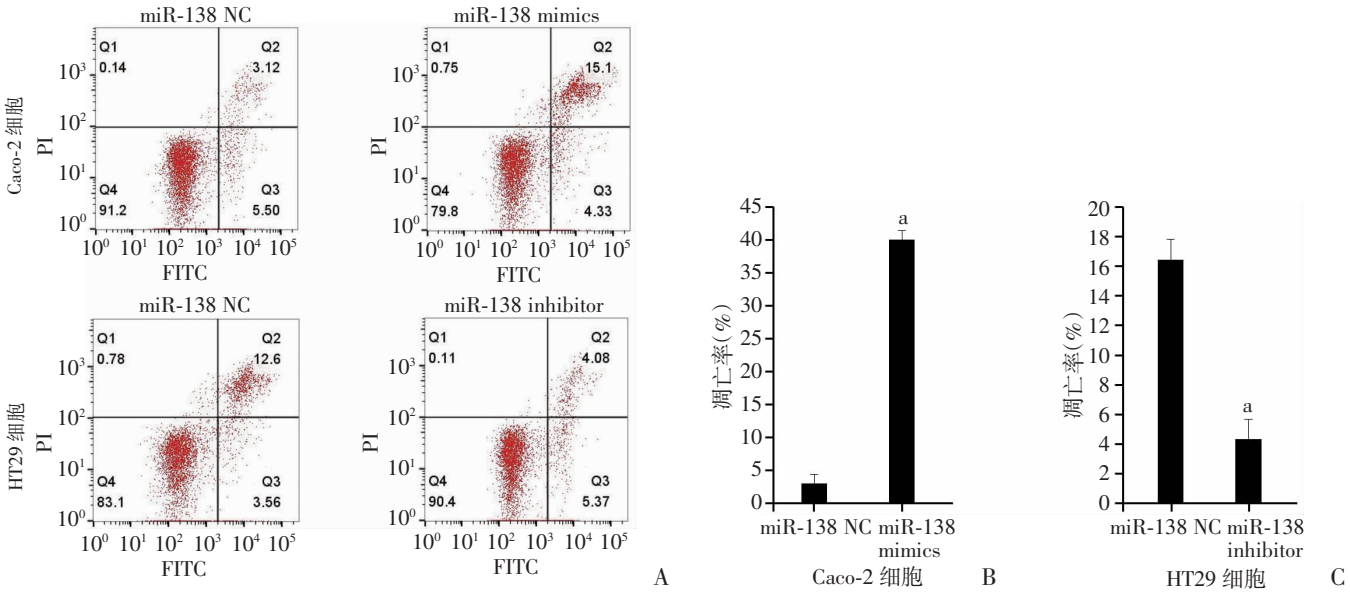
2.4 miR-138/SIRT1 对结肠癌细胞凋亡的影响

将 miR-138 mimics 和 miR-138 negative control(NC)分别转染至 Caco-2 细胞,同时,将 miR-138 inhibitor 和 miR-138 negative control(NC)分别转染至 HT29 细胞,转染 24 h 后,采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。结果显示:经 miR-138 mimics 处理后,结肠癌细胞凋亡增多,而经 miR-138 inhibitor 处理后,细胞凋亡减少($P<0.05$,图 5)。RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示:经 siSIRT1 或 miR-138 mimics 处理后,Caspase-3 显著增加,Bcl-2 显著降低,而转染 pAcGFPC1-SIRT1 质粒过表达 SIRT1(SIRT1)或 miR-138 inhibitor 处理后,Caspase-3 显著降低,Bcl-2 显著升高($P<0.05$,图 6)。以上结果提示 miR-138 可通过其靶标分子 SIRT1 影响结肠癌细胞的凋亡。

3 讨论

目前,对结肠癌最有效的治疗方法是根治性切除,其 5 年生存率可达到 90%。但是由于许多结肠癌患者发现肿瘤时已发生转移,使结肠癌患者的长期生存率大大降低。研究发现当患者出现远处器官的播散时,患者 5 年生存率显著下降[4]。目前针对结肠癌的靶向治疗受到广泛关注,研究结肠癌发生及发展机制,寻找治疗结肠癌的有效靶标用于临床药物治疗具有重要的意义。

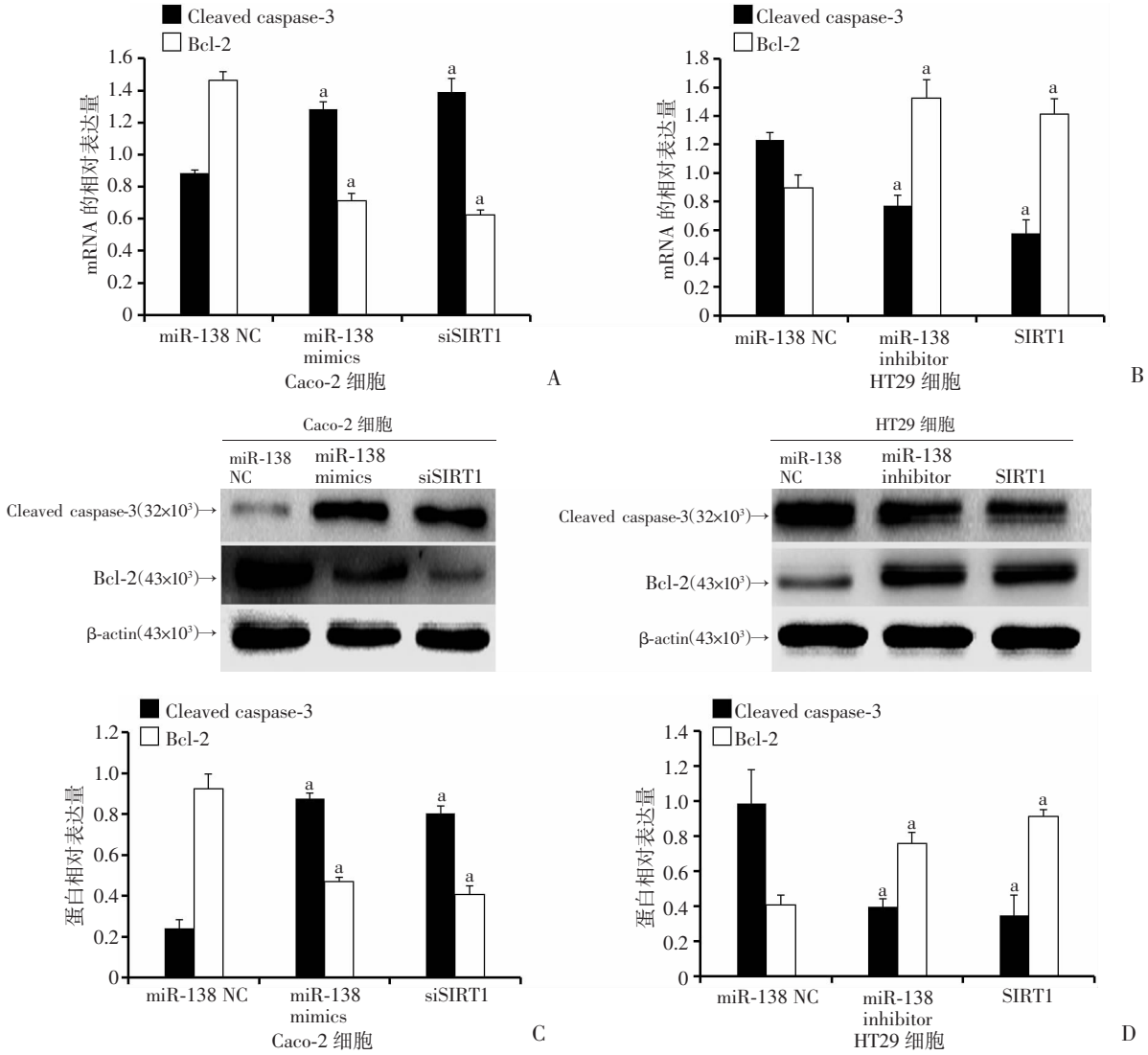
在细胞的各种生理功能中,非编码 RNA(non-coding RNA,ncRNA)扮演着关键角色[9]。CHEN 等[7]的研究发现 miR-199b-5p 及其介导的 DDR1 和 JAG1 信号通路参与了结肠癌的转移。miR-138 也被证实参与了 CRC 的发生、发展。XU 等[8]的研究提示 miR-138 可通过其靶标分子 PODXL 抑制结直肠癌细胞的增殖和转移。有研究发现在奥沙利铂处理下,miR-138



a:$P<0.05$,与 miR-138 NC 比较

A:流式细胞仪检测 Caco-2、HT29 细胞凋亡水平;B:Caco-2 细胞凋亡率;C:HT29 细胞凋亡率

图 5 过表达、抑制 miR-138 后结肠癌细胞凋亡水平



a:$P<0.05$,与 miR-138 NC 比较

A、B:RT-qPCR 检测结肠癌细胞 Caco-2、HT29 中 Cleaved caspase-3、Bcl-2 mRNA 表达;C、D:Western blot 检测结肠癌细胞 Caco-2、HT29 中 Cleaved caspase-3、Bcl-2 蛋白表达

图 6 过表达、抑制 miR-138、SIRT1 对结肠癌细胞凋亡相关分子 Caspase-3、Bcl-2 表达的影响

过表达的 HT29/R 和 SW480/R 细胞产生更多的 ROS,进入凋亡过程[10]。还有研究显示环状 RNA hsa_circ_0020397 可通过促进 miR-138 靶基因的表达来调节 CRC 细胞活力,凋亡和侵袭[11]。但是它们在结肠癌中的作用究竟如何,研究甚少。双荧光素酶实验结果证实:在结肠癌细胞中,SIRT1 是 miR-138 的直接靶标分子。且 miR-138 能在 mRNA 及蛋白水平抑制 SIRT1 的表达。提示 miR-138 可通过作用于 SIRT1 影响结肠癌细胞的相关生物学行为。不少研究提示 miR-138 与其靶标分子 SIRT1 共同参与了一些肿瘤的生理过程[12-14],SIRT1 是沉默信息调节因子 2(silent information regulator 2, Sir2)基因的哺乳动物同源基因,其生理作用复杂,参与调节糖脂代谢、炎症、氧化应激、细胞衰老与凋亡等[15-16]。SUBRAMANIYAN 等[17]研究发现 SIRT1 对线粒体凋亡及细胞周期有显著的影响。PAN 等[18]的研究也显示:SIRT1/P53 可诱导 G_0/G_1 细胞周期停滞,以及下游 p21 的上调和细胞周期蛋白 D1、细胞周期蛋白 E1 和细胞周期蛋白 E2 表达的下调。提示 SIRT1 参与了结肠癌细胞凋亡的调节。本研究通过流式细胞仪检测对应实验组中结肠癌细胞的凋亡情况,结果显示:SIRT1 的表达被 miR-138 抑制或被 siRNA 干扰后,结肠癌细胞凋亡显著增多,而当 miR-

138 水平降低,无法抑制 SIRT1 表达时,或转染 pAcGFPC1-SIRT1 质粒使 SIRT1 的表达增加后,结肠癌细胞凋亡显著减少。

促凋亡分子 Caspase-3 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶,其主要底物为多聚(ADP-核糖)聚合酶 PARP。Caspase-3 可使 PARP 中与 DNA 结合的两个锌指结构与羧基端的催化区域分离,不能发挥正常功能,进而裂解核小体间的 DNA,引起细胞凋亡[19]。Caspase-3 在细胞凋亡中起着不可替代的作用,而 Caspase-3 引起的细胞凋亡过程可以被 Bcl-2 阻断[20]。研究显示:干扰 SIRT1 的表达可导致 Bax 表达增加,进而激活 Caspase-3 并抑制 Bcl-2 的表达,从而调节细胞凋亡[21]。SIRT1 还可以影响 p53 的去乙酰化水平,而 p53 与 Bcl-2 分子存在相互作用,共同参与了细胞周期监控、细胞凋亡等生物学功能的调节[22-23]。因此,本研究对促凋亡分子 Caspase-3 及抑制凋亡的 Bcl-2 分子进行检测。结果显示:经 siSIRT1 或 miR-138 mimics 处理后,Caspase-3 显著增加,Bcl-2 显著降低,而 miR-138 inhibitor 处理或 pAcGFPC1-SIRT1 质粒转染增加 SIRT1 的表达后,Caspase-3 显著降低,Bcl-2 显著升高。这一结果提示:当 miR-138 表达下调时,SIRT1 表达增加,促凋亡分子 Caspase-3 显著降低,抑制凋亡的 Bcl-2 分子则显著升高,进而使得结肠癌细胞的凋亡减少,细胞存活增加,由此可能进一步促进结肠癌的发展。

综上所述,在结肠癌细胞中,miR-138 可通过其靶标分子 SIRT1 对凋亡进行调节,进一步深入研究将为阐明结肠癌发生、发展机制,寻找结肠癌诊疗和预后的早期检验标志物及治疗靶点提供新的思路。

参考文献:

[1] DEWANJI A, JEON J, MEZA R, *et al*. Number and size distribution of colorectal adenomas under the multistage clonal expansion model of cancer[J]. PLoS Comput Biol, 2011, 7(10): e1002213. DOI:10.1371/journal.pcbi.1002213.

[2] PENG F, HUANG Y, LI M Y, *et al*. Dissecting characteristics and dynamics of differentially expressed proteins during multistage carcinogenesis of human colorectal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(18): 4515-4528. DOI:10.3748/wjg.v22.i18.4515.

[3] STEINFELD B, SCOTT J, VILANDER G, *et al*. The role of lean process improvement in implementation of evidence-based practices in behavioral health care[J]. J Behav Health Serv Res, 2015, 42(4): 504-518. DOI:10.1007/s11414-013-9386-3.

[4] MILLER K D, NOGUEIRA L, MARIOTTO A B, *et al*. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(5): 363-385. DOI:10.3322/caac.21565.

[5] KESHAVARZI M, SORAYAYI S, JAFAR REZAEI M, *et al*. MicroRNAs-based imaging techniques in cancer diagnosis and therapy[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(12): 4121-4128. DOI:10.1002/jcb.26012.

[6] ANASTASIADOU E, JACOB L S, SLACK F J. Non-coding RNA networks in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18(1): 5-18. DOI:10.1038/nrc.2017.99.

[7] CHEN L Y, ZHI Z, WANG L, *et al*. NSD2 circular RNA promotes metastasis of colorectal cancer by targeting miR-199b-5p-mediated DDR1 and JAG1 signalling[J]. J Pathol, 2019, 248(1): 103-115. DOI:10.1002/path.5238.

[8] XU Y, PAN Z G, SHU L, *et al*. Podocalyxin-like, targeted by miR-138, promotes colorectal cancer cell proliferation, migration, invasion and EMT[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(24): 8664-8674. DOI:10.26355/eurrev_201812_16631.

[9] BABAEI K, SHAMS S, KEYMORADZADEH A, *et al*. An insight of microRNAs performance in carcinogenesis and tumorigenesis; an overview of cancer therapy[J]. Life Sci, 2020, 240: 117077. DOI:10.1016/j.lfs.2019.117077.

[10] WANG Y, ZHANG D, LI Y, *et al*. MiR-138 suppresses the PDK1 expression to decrease the oxaliplatin resistance of colorectal cancer[J]. Oncotargets Ther, 2020, 13: 3607-3618. DOI:10.2147/OTT.S242929.

[11] ZHANG X L, XU L L, WANG F. Hsa_circ_0020397 regulates colorectal cancer cell viability, apoptosis and invasion by promoting the expression of the miR-138 targets TERT and PD-L1[J]. Cell Biol Int, 2017, 41(9): 1056-1064. DOI:10.1002/cbin.10826.

[12] YE Z T, FANG B M, PAN J W, *et al*. miR-138 suppresses the proliferation, metastasis and autophagy of non-small cell lung cancer by targeting Sirt1[J]. Oncol Rep, 2017, 37(6): 3244-3252. DOI:10.3892/or.2017.5619.

[13] XU J, LI L, YUN H F, *et al*. MiR-138 promotes smooth muscle cells proliferation and migration in db/db mice through down-regulation of SIRT1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 463(4): 1159-1164. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.06.076.

[14] LUO J, CHEN P, XIE W, *et al*. MicroRNA-138 inhibits cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting Sirt1[J]. Oncol Rep, 2017, 38(2): 1067-1074.

[15] ALVES-FERNANDES D K, JASIULIONIS M G. The role of SIRT1 on DNA damage response and epigenetic alterations in cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): 3153. DOI:10.3390/ijms20133153.

[16] QIANG L, SAMPLE A, LIU H, *et al*. Epidermal SIRT1 regulates inflammation, cell migration, and wound healing [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1-10. DOI:10.1038/s41598-017-14371-3.

[17] SUBRAMANIYAN B, KUMAR V, MATHAN G. Effect of sodium salt of Butrin, a novel compound isolated from Butea monosperma flowers on suppressing the expression of SIRT1 and Aurora B kinase-mediated apoptosis in colorectal cancer cells[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 90: 402-413. DOI:10.1016/j.biopha.2017.03.086.

[18] PAN J H, ZHOU H, ZHU S B, *et al*. Nicotinamide phosphoribosyl transferase regulates cell growth via the Sirt1/P53 signaling pathway and is a prognosis marker in colorectal cancer[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 4385-4395. DOI:10.1002/jcp.27228.

[19] NAGATA S, TANAKA M. Programmed cell death and the immune system[J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(5): 333-340. DOI:10.1038/nri.2016.153.

[20] LEGRAND A J, KONSTANTINOU M, GOODE E F, *et al*. The diversification of cell death and immunity: memento mori[J]. Mol Cell, 2019, 76(2): 232-242. DOI:10.1016/j.molcel.2019.09.006.

[21] WANG C P, SUN X, QIU Z, *et al*. MiR-138-5p exacerbates hypoxia/reperfusion-induced heart injury through the inactivation of SIRT1-PGC-1α[J]. Inflamm Res, 2019, 68(10): 867-876. DOI:10.1007/s00011-019-01268-2.

[22] CHEN Y, FANG L, ZHANG J L, *et al*. Blockage of glyoxalase I inhibits colorectal tumorigenesis and tumor growth *via* upregulation of STAT1, p53, and bax and downregulation of c-myc and bcl-2[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(3): 570. DOI:10.3390/ijms18030570.

[23] MELUCCI E, COSIMELLI M, CARPANESE L, *et al*. Decrease of survivin, p53 and Bcl-2 expression in chemorefractory colorectal liver metastases may be predictive of radiosensivity radiosensivity after radioembolization with yttrium-90 resin microspheres[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2013, 32: 13. DOI:10.1186/1756-9966-32-13.

(收稿:2021-04-10;修回:2021-07-08)

(编辑 邓强庭)