doi:10.11659/jjssx.07E020042

·基础研究·

miR-198 过表达抑制视网膜母细胞瘤生长及侵袭的实验研究

赵 鑫[1],胥 朵[1],李少海[1],张文信[2] (1.渭南职业技术学院西医临床教研室,陕西 渭南 714026;2.渭南市中医医院骨科,陕西 渭南 714026)

[摘 要] **目的** 探究微小 RNA-198(miR-198)过表达对视网膜母细胞瘤(RB)Y79 细胞系生长、侵袭及裸鼠异体移植瘤的影响。**方法** 培养 RB Y79 细胞系,随机分为空白对照组(Control 组)、阴性对照组和过表达组,采用 Lipofectamine®2000 分别转染 miR-NC、miR-198 模拟物至阴性对照组和过表达组 Y79 细胞。qRT-PCR 检测转染后 Y79 细胞中 miR-198 的相对表达水平;利用干细胞成球试验和 Transwell 小室试验分别检测各组 Y79 细胞的增殖及侵袭能力;Western blot 检测各组 Y79 细胞中 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin 蛋白表达水平。将培养好的 miR-NC 和 miR-198 mimic 细胞分别进行裸鼠皮下注射,60 只裸鼠分为阴性对照组和过表达组,各组每 5 d 随机处死 3 只裸鼠,检测 RB 质量及体积,qRT-PCR 检测瘤体中 miR-198 的 mRNA 相对表达水平;免疫组化法检测 Ki67、SOX2、VEGF 阳性表达率。**结果** 与 Control 组及阴性表达组比较,过表达组 Y79 细胞中 miR-198 的相对表达水平较高($P<0.05$),并且干细胞成球直径、数量、细胞侵袭率均较低($P<0.05$);Western blot 结果显示,与 Control 组及阴性表达组比较,过表达组 Y79 细胞中 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin 蛋白表达水平均较低($P<0.05$)。过表达组裸鼠的瘤体质量及体积均小于阴性对照组($P<0.05$),并且过表达组裸鼠瘤体组织中miR-198的 mRNA 相对表达水平高于阴性对照组($P<0.05$),过表达组 Ki67、SOX2、VEGF 的阳性表达率低于阴性对照组($P<0.05$)。**结论** miR-198可能在 RB 中作为抑癌基因发挥作用,过表达 miR-198 可明显抑制 RB 的增殖及侵袭能力,并抑制裸鼠瘤体生成。

[关键词] 视网膜母细胞瘤;微小 RNA-198;增殖;侵袭动物模型;靶向治疗

[中图分类号] R739.7 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-07-10

Effects of miR-198 overexpression on growth and invasion of retinoblastoma and xenograft tumors in nude mice

ZHAO Xin[1], XU Duo[1], LI Shao-hai[1], ZHANG Wen-xin[2] (1. Clinical Teaching and Research Section of Western Medicine, Weinan Vocational and Technical College, Weinan Shaanxi 714026, China; 2. Department of Orthopedics, Weinan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Weinan Shaanxi 714026, China)

Abstract: Objective To explore the effect of microRNA-198 (miR-198) overexpression on growth and invasion of retinoblastoma (RB) Y79 cell line and xenograft tumors in nude mice. **Methods** RB Y79 cell line were cultured and randomly divided into the blank control group (Control group), the negative control group and the overexpression group. The miR-NC and miR-198 mimics were respectively transfected into Y79 cells of the negative control group and the overexpression group by Lipofectamine®2000. The relative expression level of

[基金项目] 陕西省中医药管理局科研课题(2019-ZZ-LC038)

[通信作者] 张文信,E-mail:llpzmz@vip.sina.com

[13] Yalvac ME, Amornvit J, Chen L, et al. AAV1. NT-3 gene therapy increases muscle fiber diameter through activation of mTOR pathway and metabolic remodeling in a CMT mouse model[J]. Gene Ther, 2018, 25(2):129-138. doi:10.1038/s41434-018-0009-8.

[14] 季夕萌,庄 海,张怡雯,等.载骨髓间充质干细胞双层胶原神经管修复大鼠坐骨神经缺损的研究[J].中华实验外科杂志,2020,37(1):105-108. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2020.01.030.

[15] Omi M, Hata M, Nakamura N, et al. Transplantation of dental pulp stem cells suppressed inflammation in sciatic nerves by promoting macrophage polarization towards anti-inflammation phenotypes and ameliorated diabetic polyneuropathy[J]. J Diabetes Investig, 2016, 7(4):485-496. doi:10.1111/jdi.12452.

[16] Wang Y, Jia H, Li WY, et al. Molecular examination of bone marrow stromal cells and chondroitinase ABC-assisted acellular nerve allograft for peripheral nerve regeneration[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(4):1980-1992. doi:10.3892/etm.2016.3585.

[17] Fricker L, Penna V, Lampert F, et al. A self-made, low-cost infrared system for evaluating the sciatic functional index in mice[J]. Neural Regen Res, 2016, 11(5):829-834. doi:10.4103/1673-5374.182712.

[18] 李子健,黄英如,曾欢欢,等.冷诱导 RNA 结合蛋白促进冷冻保存大鼠坐骨神经异体移植后神经再生的作用[J].中国康复理论与实践,2018,24(4):391-400.

[19] Wright AA, Todorovic M, Tello-Velasquez J, et al. Enhancing the therapeutic potential of olfactory ensheathing cells in spinal cord repair using neurotrophins[J]. Cell Transplant, 2018, 27(6):867-878. doi:10.1177/0963689718759472.

[20] Zhang J, Chen H, Duan Z, et al. The effects of co-transplantation of olfactory ensheathing cells and schwann cells on local inflammation environment in the contused spinal cord of rats[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(2):943-953. doi:10.1007/s12035-016-9709-5.

(编辑:杨 颖)

miR-198 in Y79 cells after transfection was detected by qRT-PCR. The proliferation and invasion abilities of Y79 cells in each group were detected by stem cells pellet test and Transwell chamber assay. The protein expression levels of Ki67, SOX2, OCT4, VEGF and Fibronectin in Y79 cells of each group were detected by Western blot. The cultured miR-NC and miR-198 mimic cells were subcutaneously injected into nude mice, and 60 nude mice were divided into the negative group and the overepression group. Three nude mice were randomly killed every 5 days to detect the mass and volume of RB. The mRNA relative expression level of miR-198 in tumors was detected by qRT-PCR. The positive expression rates of Ki67, SOX2 and VEGF were detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with the Control group and the negative control group, the relative expression level of miR-198 in Y79 cells in the overexpression group was higher ($P<0.05$), while the diameter, number, and cell invasion rate of stem cells were lower ($P<0.05$). The results of Western blot showed that compared with the Control group and the negative control group, the protein expression levels of Ki67, SOX2, OCT4, VEGF and Fibronectin in Y79 cells in the overexpression group were lower ($P<0.05$). The mass and volume of tumors of nude mice in the overexpression group were smaller than those in the negative control group ($P<0.05$), the mRNA relative expression level of miR-198 in tumor tissue of nude mice in the overexpression group was higher than that in the negative control group ($P<0.05$), and the positive expression rates of Ki67, SOX2 and VEGF in the overexpression group were lower than those in the negative control group ($P<0.05$). **Conclusion** The miR-198 may play a role as a tumor suppressor gene in RB. The overexpression of miR-198 can significantly inhibit the proliferation and invasion activities of RB, and inhibit tumor formation in nude mice.

Keywords: retinoblastoma; miR-198; proliferation; invasion; animal model; targeted therapy

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma,RB)作为儿科比较常见的一种眼内恶性肿瘤,全球范围的发病率为1/20 000[1]。RB 在非洲及一些发展中国家的发病率较高,并且患儿的 5 年生存率要低于发达国家[2]。RB 发现越早其治愈的可能性越高,由于发病初期肿瘤体积小,并位于视网膜周边,不会有明显的视力影响,而一旦出现眼部症状后,治愈的可能性则明显降低[3]。微小 RNA(microRNA,miRNA)是一类具有调控功能的非编码 RNA,其核苷酸序列长度一般为19 ~25 bp,在细胞的增殖、分化及凋亡过程中发挥着重要的作用[4]。近年来大量实验研究证实,miRNA 可作为原癌基因或抑癌基因参与到肿瘤的发生及进展中,因此 miRNA 具有成为治疗癌症靶点的潜在价值[5]。既往研究发现,miR-198 能够通过抑制 HGF/c-MET 信号途径提高非小细胞肺癌的放疗敏感性,诱导细胞凋亡[6],并且能够通过调节 ADAM28/JAK-STAT 信号通路影响大肠癌的增殖和凋亡[7],还能够抑制 TLR4 蛋白表达及胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭[8],但 miR-198 在 RB 细胞中的调控机制尚未明确。因此本研究通过在 RB 细胞株系 Y79 细胞中转染 miR-198 模拟物,以探究 miR-198 对 RB 细胞生长、侵袭的影响,并进行裸鼠体内荷瘤试验,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

miR-198 mimic 及 miR-NC(上海吉凯基因技术有限公司),脂质体、Lipofectamine® 2000(美国 Thermo Fisher Scientific),10% 胎牛血清(美国 Gibco 公司),100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素(美国 Invitrogen 公司),TRIzol Kit、Revertaid First Strand cDNA Kit(Thermo Fisher 科学公司),兔抗人 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin、GAPDH 以及兔抗小鼠 Ki67、SOX2、VEGF 单克隆抗体(美国 Abcam 公司),细胞计数试剂盒(碧云天公司),铺有 Matrigel 胶的 Transwell 小室(美国 BD 公司),高速冷冻离心机(德国 Beckman Coulter),正置荧光显微镜(日本 Thermo),实时荧光定量 PCR 仪(罗氏诊断)。

1.2 细胞培养及分组

RB Y79 细胞株购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,将其培养于含 10% 胎牛血清、1% 双抗的完全 RPMI 1640 培养液中,并在 37 ℃的 5% CO_2 加湿培养箱中培养至对数期,随后以 0.25% 胰蛋白酶消化液处理制成细胞悬液。将细胞悬液随机分为空白对照组(Control 组)、阴性对照组和过表达组,参照试剂盒操作说明采用 Lipofectamine® 2000 将 miR-NC、miR-198 模拟物分别转染至阴性对照组和过表达组的 Y79 细胞中,继续培养 48 h,然后置于荧光显微镜下观察转染阳性细胞,若发出绿色荧光信号则视为转染阳性,收集细胞用于后续实验。

1.3 qRT-PCR 检测细胞中 miR-198 表达水平

Trizol 法提取各组中的总 RNA,并进行琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 质量,利用 Revertaid First Strand cDNA 合成试剂盒将 RNA 反转录合成 cDNA,采用 SYBR-Green PCR Mix 试剂盒检测 mRNA 的表达水平。PCR 参数设置:95 ℃预变性 20 s,95 ℃变性 10 s,60 ℃退火 20 s,70 ℃延伸 20 s,循环 40 次,并根据溶解曲线分析结果是否为特异性扩增。miR-198 上游引物:5′-GGTCCAGAGGGGAGAT-3′;下游引物:5′-GAATACCTCGGACCCTGC-3′。内参基因 U6 上游引物:5′-CTCGCTTCGGCAGCACATA-3′;下游引物:5′-AACGATTCACGAATTTGCGT-3′。应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 miR-198的相对表达水平。

1.4 干细胞成球试验检测 Y79 细胞增殖能力

将各组 Y79 细胞消化后计数,调整浓度至 1×10^5/mL,接种至6孔板上,加入含有2%胎牛血清、10 μg/mL胰岛素、20 ng/mL表皮生长因子、20 ng/mL碱性成纤维细胞生长因子、20 ng/mL B27细胞培养添加剂、500 ng/mL氢化可的松的干细胞培养液后,放入37 ℃的5% CO_2加湿培养箱中培养96 h,之后在光学显微镜下观察干细胞成球的直径及数量,并拍照记录。

1.5 Transwell 小室试验检测 Y79 细胞侵袭能力

将铺有 Matrigel 胶的 Transwell 小室预热至37 ℃后,消化各组 Y79 细胞,用无血清培养液洗涤细胞3次后重悬细胞,并调整细胞密度至 1×10^5/mL,在Transwell下室放入1 mL含10%胎牛血清的培养液,上室加入300 μL细胞悬液后培养36 h。取出 Transwell 小室,用棉签轻柔地擦去上层未穿膜的细胞和基质胶,用冰甲醛对滤膜进行固定后结晶紫染色。将滤膜剥离后正面朝下固定在载玻片上,在光学显微镜下随机选择5个高倍镜(×400)下视野进行细胞计数,以穿膜细胞数表示细胞侵袭能力。

1.6 Western blot 检测细胞中相关蛋白表达水平

加入 RIPA 裂解液,提取各组培养48 h后的 Y79 细胞中的总蛋白,采用 BCA 法对蛋白水平进行定量,并利用 Bradford 将各组蛋白浓度调整一致,经 SDS-PAGE凝胶电泳、电转膜至甲醛预处理过的 PVDF 膜,密封2 h,加入兔抗人 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin、GAPDH 一抗(1∶500),于4 ℃孵育过夜,TBST 漂洗40 min,加入 HRP 标记的二抗(1∶500)孵育1 h,TBST 漂洗40 min,ECL 试剂盒与 DNR BioImaging System 观察膜上蛋白条带,收集影像,采用凝胶图像处理系统软件分析各组条带灰度值,依据相对灰度值进行统计学分析。

1.7 裸鼠体内移植实验

将适应性培养的60只裸鼠随机分为阴性对照组和过表达组,每组30只,收集2组对数生长期的 Y79 细胞,制成密度为 1×10^{10}/L 的细胞悬液后,分别进行皮下注射,每只裸鼠注射200 μL,注射完成后,每5 d各组随机处死3只裸鼠,取瘤体测量质量及体积,30 d时处死剩余裸鼠,取平均值计算。瘤体中miR-198的mRNA 相对表达水平检测同1.3。所有操作均符合动物实验伦理标准。

1.8 免疫组化法检测瘤体中蛋白表达水平

将瘤体组织进行常规石蜡切片,脱水、PBS 溶液漂洗、3% H_2O_2与甲醇混合液浸泡10 min,超纯水漂洗、抗原修复、PBS 漂洗5 min、加入一抗37 ℃反应2 h、PBS 漂洗5 min、加入二抗37 ℃反应40 min、PBS 漂洗5 min、DAB 室温显色20~30 min,光学显微镜下观察有棕黄色颗粒出现时则采用自来水终止。再用苏木素复染30 s、自来水漂洗、中性树胶封片,光学显微镜下观察切片中 Ki67、SOX2、VEGF 的阳性表达细胞,其细胞浆表现为棕黄色颗粒。每张切片随机选取10个视野,统计阳性细胞数目,计算阳性细胞率,阳性细胞率=阳性细胞数目/总细胞计数×100%。

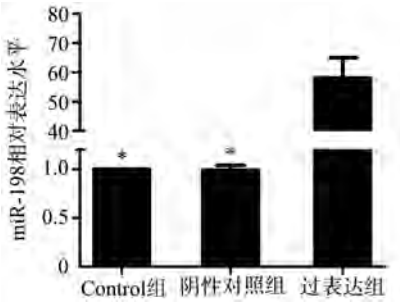
1.9 统计学分析

所有实验所得数据均采用 SPSS 20.0 以及 Graph Pad Prism 5 进行统计学分析,组间比较采用 t 检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染试验结果

qRT-PCR 结果显示,阴性对照组与 Control 组 Y79 细胞中 miR-198 的相对表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而过表达组 Y79 细胞中 miR-198 的相对表达水平较 Control 组及阴性对照组提高了58倍,差异有统计学意义($P<0.05$),表明过表达miR-198成功(图1)。



*:与过表达组比较,$P<0.05$

图1 各组 Y79 细胞中 miR-198 的相对表达水平

2.2 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞增殖能力

干细胞成球试验结果显示,阴性对照组与 Control 组 Y79 细胞的成球直径及数量比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而过表达组 Y79 细胞的成球直径及数量较 Control 组及阴性对照组小,差异有统计学意义($P<0.05$),见图2。

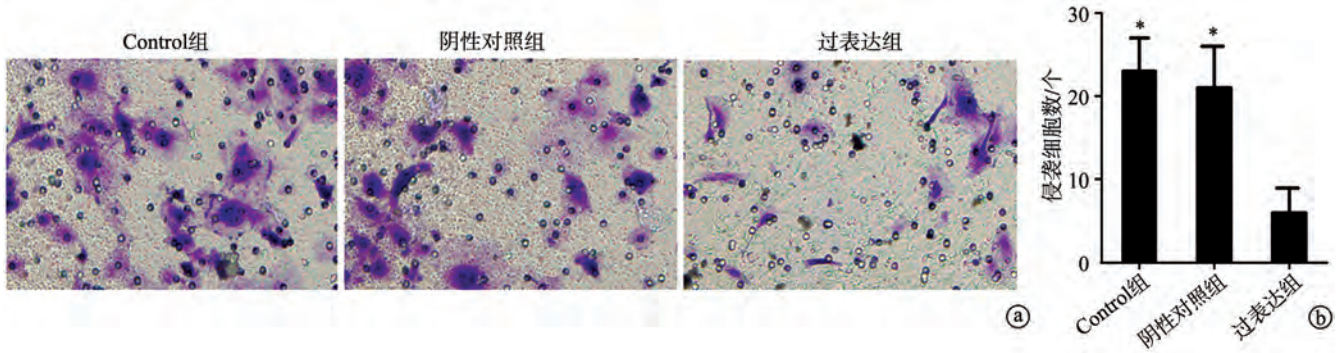
2.3 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞侵袭能力

Transwell 试验结果显示,阴性对照组与Control组Y79 细胞的细胞侵袭率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而过表达组 Y79 细胞的细胞侵袭率较 Control 组及阴性对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图3。



a:各组 Y79 细胞干细胞成球试验结果(×400);b:各组 Y79 细胞的成球直径和数量 *:与过表达组比较,$P<0.05$

图 2 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞增殖能力

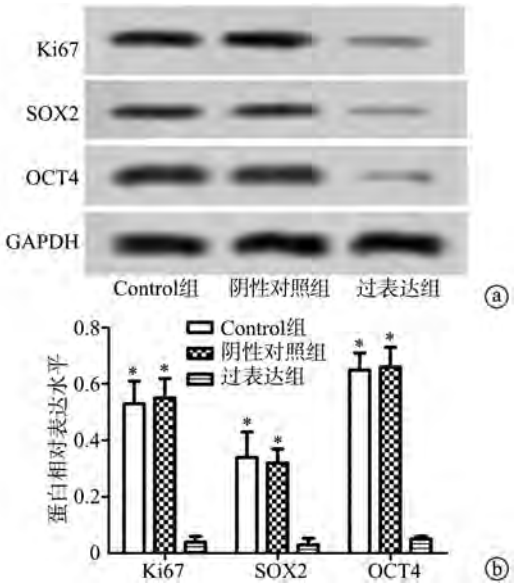


a:各组 Y79 细胞 Transwell 试验结果(结晶紫,×400);b:各组 Y79 细胞侵袭情况 *:与过表达组比较,$P<0.05$

图 3 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞侵袭能力

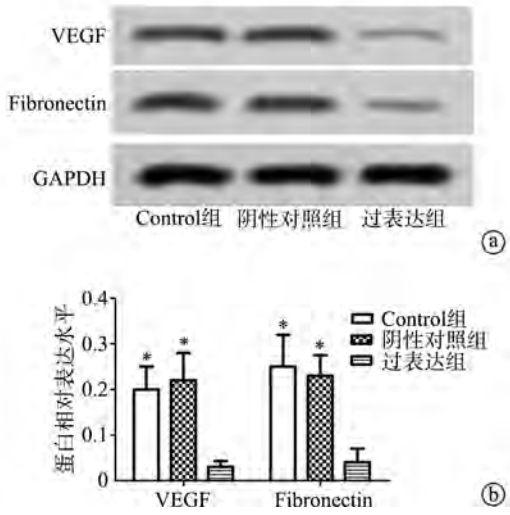
2.4 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin 蛋白表达

Western blot 结果显示,阴性对照组与 Control 组 Y79 细胞中 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而过表达组 Y79 细胞中 Ki67、SOX2、OCT4、VEGF、Fibronectin 蛋白表达水平较 Control 组及阴性对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 4、5。



a:蛋白表达图谱;b:各组 Y79 细胞中 Ki67、SOX2、OCT4 蛋白表达水平 *:与过表达组比较,$P<0.05$

图 4 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞 Ki67、SOX2、OCT4 蛋白表达

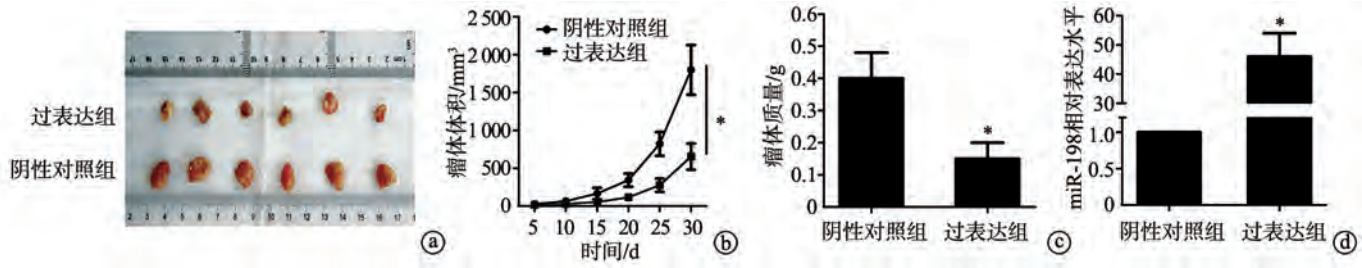


a:蛋白表达图谱;b:各组 Y79 细胞中 VEGF、Fibronectin 蛋白表达水平 *:与过表达组比较,$P<0.05$

图 5 过表达 miR-198 抑制 Y79 细胞 VEGF、Fibronectin 蛋白表达

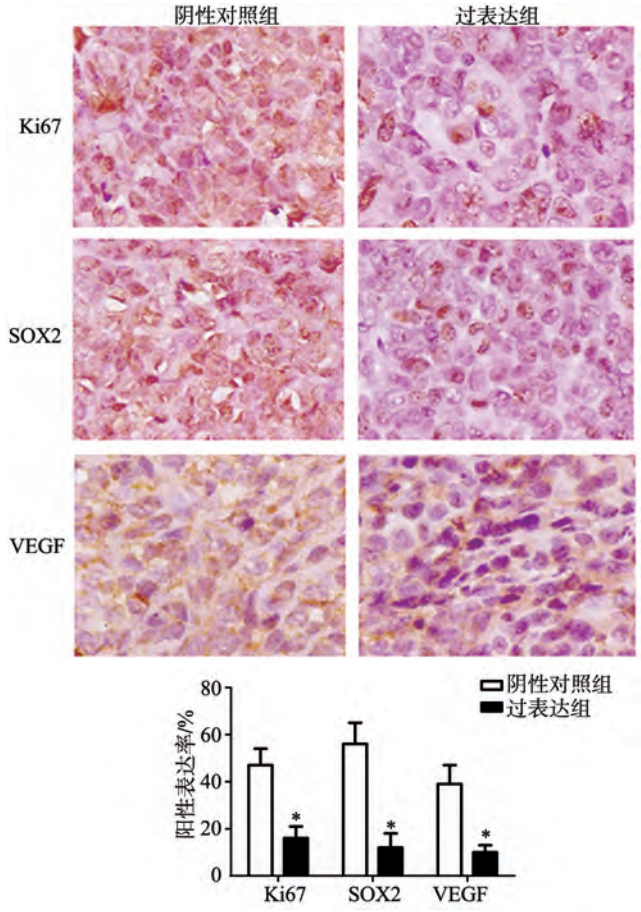
2.5 过表达 miR-198 抑制 Y79 移植瘤体形成

过表达组裸鼠的移植瘤体质量和体积均小于阴性对照组($P<0.05$),见图 6a~c。qRT-PCR 结果显示,过表达组裸鼠的移植瘤中 miR-198 相对表达水平高于阴性对照组($P<0.05$),见图 6d。免疫组化检测显示,过表达组裸鼠的移植瘤中 Ki67、SOX2、VEGF 的阳性表达率低于阴性对照组($P<0.05$),见图 7。



a:皮下注射后 30 d 裸鼠移植瘤;b:皮下注射后不同时间点移植瘤体积;c:皮下注射 30 d 裸鼠移植瘤体质量;d:移植瘤中 miR-198 的相对表达水平　*:与阴性对照组比较,$P<0.05$

图 6　过表达 miR-198 抑制 Y79 移植瘤体形成



*:与阴性对照组比较,$P<0.05$

图 7　免疫组化检测结果(×400)

3　讨论

RB 是一类由于 RB1 基因发生突变而导致的儿童眼内恶性肿瘤,近年来其临床治疗效果取得了巨大的进步,但在世界范围内 RB 的病死率及继发肿瘤率依旧较高,早发现、早治疗及遗传咨询是控制该病的关键[9]。鉴于临床上对患儿生存质量重视程度的不断提高,RB 治疗的目标逐渐由保障患儿生命转变为保留眼球甚至视力,因此对其治疗方案的选择提出了更高的要求[10]。常规化疗联合局部治疗是临床上最常用的方式,随着医疗技术的不断发展及 RB 病因学的深入研究,基因疗法、干细胞疗法、靶向治疗等方式逐渐应用于临床[11]。miRNA 作为单链短 RNA,不具备开放阅读框,因此不能进行翻译蛋白表达,但能够通过与靶基因的 3′或 5′段 UTR 区完全或不完全结合来进行表达的调控[12]。目前人类基因组中已经发现超过 1 000种的 miRNA,其不仅参与调控细胞的正常增殖凋亡过程,在肿瘤发生发展过程中也发挥着重要的作用,已成为了世界范围内研究的热点方向之一[13]。

miRNA 在体内既能够作为原癌基因促进肿瘤的发生发展,又能够作为抑癌基因抑制肿瘤的进展[14]。miR-198 作为一类抑癌基因,在多种癌细胞中低表达[15-16],并且其表达水平与结直肠癌和胰腺导管腺癌患者的预后密切相关[17-18]。为了探究 miR-198 在 RB 中的可能机制,本研究选择 RB Y79 细胞系为研究对象,并通过转染 miR-198 模拟物获得过表达细胞系,经 RT-PCR 试验证实转染 miR-198 模拟物后,Y79 细胞内的 miR-198 表达水平升高了 58 倍。细胞的过度分裂及增殖是肿瘤癌变的重要环节,Ki67 作为增殖性细胞核的标志物,在细胞分裂 G1 后期、G2 期和 S 期表达逐渐升高,在 M 期表达量达到最高峰,因此 Ki67 是评价细胞增殖的敏感指标[19]。本研究显示,过表达组 Y79 细胞内 Ki67 表达水平明显降低,提示 miR-198 可能通过抑制肿瘤细胞的分裂,从而抑制细胞增殖。SOX 家族具有高迁移率族蛋白结合区域,SOX2 作为家族的重要成员之一,参与调控组织器官的形成以及发展,在维持干细胞特性方面具有重要作用;OCT4 作为一类转录调节因子,能够维持干细胞的多潜能性以及未分化状态[20]。既往研究发现,在人类胚胎干细胞自我更新时 miR-145 呈现低表达,而在分化时miR-145能够通过抑制 SOX2 及 OCT4 的表达从而促进细胞分化[21]。本研究过表达组 Y79 细胞的干细胞成球能力明显降低,且 SOX2、OCT4 蛋白表达水平也明显降低,提示 miR-198 可能通过抑制 SOX2、OCT4 蛋白表达,从而降低 Y79 细胞的干细胞特征,进而抑制其恶性增殖。

侵袭、转移是恶性肿瘤的重要生物学特征[22]。VEGF 能够增加血管的通透性,导致肿瘤细胞侵入血

管,进而向淋巴及远处细胞侵袭转移[23]。Fibronectin 蛋白作为间质细胞源性标志物,其水平升高表明细胞发生上皮间质转化,而间质细胞的增加会使得肿瘤细胞的形态发生改变,其侵袭及迁移能力明显提高[24]。本研究显示,过表达组 Y79 细胞中 VEGF、Fibronectin 蛋白水平明显降低,提示 miR-198 可能通过抑制 Y79 细胞的上皮间质转化进程,进而抑制肿瘤细胞的侵袭能力,与 Hu 等[25]的研究一致。本研究通过移植瘤实验进一步证实了在体内过表达 miR-198 后能够明显抑制移植瘤的生长,并且肿瘤组织中 Ki67、SOX2、VEGF 蛋白的阳性表达率均明显降低,提示在体内 miR-198 同样能够发挥抑制肿瘤生长、侵袭的作用。

综上所述,miR-198 在 RB 细胞中同样作为抑癌基因发挥作用,在 RB 细胞系 Y79 细胞中过表达后,细胞的增殖能力及侵袭能力均明显降低,可能是通过调控细胞周期、降低干细胞特性、抑制上皮间质转化来实现的,同时移植瘤实验也证实了其抑制肿瘤的潜在价值。本研究初步探索了 miR-198 对 RB 细胞的作用机制,为 RB 细胞的基因治疗提供了新的治疗靶标。

[参考文献]

[1] Rao R, Honavar SG. Retinoblastoma[J]. Indian J Pediatr, 2017, 84(12):937-944. doi:10.1007/s12098-017-2395-0.

[2] Chawla B, Singh R. Recent advances and challenges in the management of retinoblastoma[J]. Indian J Ophthalmol, 2017, 65(2):133-139. doi:10.4103/ijo.IJO_883_16.

[3] 李 勇,徐卫星,徐 军,等. miR-101 表达上调对视网膜母细胞瘤细胞的增殖及侵袭能力的抑制作用[J]. 眼科新进展, 2018, 38(6):527-532. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0123.

[4] Rupaimoole R, Calin GA, Lopez-Berestein G, et al. miRNA deregulation in cancer cells and the tumor microenvironment[J]. Cancer Discov, 2016, 6(3):235-246. doi:10.1158/2159-8290.CD-15-0893.

[5] Zhou K, Liu M, Cao Y. New insight into microRNA functions in cancer: oncogene-microRNA-tumor suppressor gene network[J]. Front Mol Biosci, 2017, 4(1):46-53. doi:10.3389/fmolb.2017.00046.

[6] Zhu L, Xue F, Xu X, et al. MicroRNA-198 inhibition of HGF/c-MET signaling pathway overcomes resistance to radiotherapy and induces apoptosis in human non-small-cell lung cancer[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(9):7873-7886. doi:10.1002/jcb.27204.

[7] Li LX, Lam IH, Liang FF, et al. MiR-198 affects the proliferation and apoptosis of colorectal cancer through regulation of ADAM28/JAK-STAT signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(4):1487-1493. doi:10.26355/eurrev_201902_17106.

[8] Quan XQ, Xie ZL, Ding Y, et al. miR-198 regulated the tumorigenesis of gastric cancer by targeting Toll-like receptor 4 (TLR4)[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(8):2287-2296. doi:10.26355/eurrev_201804_14817.

[9] Delhiwala KS, Vadakkal IP, Mulay K, et al. Retinoblastoma: an update[J]. Semin Diagn Pathol, 2016, 33(3):133-140. doi:10.1053/j.semdp.2015.10.007.

[10] Cassoux N, Lumbroso L, Levy-Gabriel C, et al. Retinoblastoma: update on current management[J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2017, 6(3):290-295. doi:10.22608/APO.201778.

[11] 邹宏密,简 嘉,周希瑗. 视网膜母细胞瘤的治疗研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(8):1407-1410. doi:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.8.11.

[12] Dong H, Lei J, Ding L, et al. MicroRNA: function, detection, and bioanalysis[J]. Chem Rev, 2013, 113(8):6207-6233. doi:10.1021/cr300362f.

[13] Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(3):203-222. doi:10.1038/nrd.2016.246.

[14] 王 伟,陈传好. MicroRNA 在肿瘤治疗中的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(7):2804-2809. doi:10.13417/j.gab.036.002804.

[15] Li Y, Luo H, Xiao N, et al. Long noncoding RNA SChLAP1 accelerates the proliferation and metastasis of prostate cancer via targeting miR-198 and promoting the MAPK1 pathway[J]. Oncol Res, 2018, 26(1):131-143. doi:10.3727/096504017X14944585873631.

[16] Tutar L, Tutar E, Özgür A, et al. Therapeutic targeting of microRNAs in cancer: future perspectives[J]. Drug Dev Res, 2015, 76(7):382-388. doi:10.1002/ddr.21273.

[17] Wang M, Wang J, Kong X, et al. MiR-198 represses tumor growth and metastasis in colorectal cancer by targeting fucosyl transferase 8[J]. Sci Rep, 2014, 4:6145. doi:10.1038/srep06145.

[18] Vychytilova-Faltejskova P, Kiss I, Klusova S, et al. MiR-21, miR-34a, miR-198 and miR-217 as diagnostic and prognostic biomarkers for chronic pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Diagn Pathol, 2015, 10:38. doi:10.1186/s13000-015-0272-6.

[19] Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, et al. Ki67 proliferation index as a tool for chemotherapy decisions during and after neoadjuvant aromatase inhibitor treatment of breast cancer: results from the American college of surgeons oncology group Z1031 trial (Alliance)[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(10):1061-1069. doi:10.1200/JCO.2016.69.4406.

[20] Li X, Wang J, Xu Z, et al. Expression of Sox2 and Oct4 and their clinical significance in human non-small-cell lung cancer[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(6):7663-7675. doi:10.3390/ijms13067663.

[21] Xu N, Papagiannakopoulos T, Pan G, et al. MicroRNA-145 regulates OCT4, SOX2, and KLF4 and represses pluripotency in human embryonic stem cells[J]. Cell, 2009, 137(4):647-658. doi:10.1016/j.cell.2009.02.038.

[22] Li M, Wu S, Xie Y, et al. Cervical invasion, lymphovascular space invasion, and ovarian metastasis as predictors of lymph node metastasis and poor outcome on stages Ⅰ to Ⅲ endometrial cancers: a single-center retrospective study[J]. World J Surg Oncol, 2019, 17(1):193. doi:10.1186/s12957-019-1733-2.

[23] 贾晓辉,郝丽丽. 血管内皮生长因子与肿瘤负荷相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(6):906-910. doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2018.06.021.

[24] 董 超,黄远丽,徐正丰. miRNA-138 模拟物转染对人乳腺癌细胞迁移、侵袭能力的影响及其机制[J]. 山东医药, 2019, 59(3):10-13. doi:10.3969/j.issn.1002-266X.2019.03.002.

[25] Hu Y, Tang Z, Jiang B, et al. miR-198 functions as a tumor suppressor in breast cancer by targeting CUB domain-containing protein 1[J]. Oncol Lett, 2017, 13(3):1753-1760. doi:10.3892/ol.2017.5673.

(编辑:贺绍梅)