doi:10.11659/jjssx.10E022142

·基础研究·

外泌体miR-20a-5p调控Sp1/CD147信号通路促进非小细胞肺癌的骨转移

王 赟,胡 雯,刘理礼,杨 静,张 涛 (空军军医大学第二附属医院肿瘤内科,陕西 西安 710038)

[摘 要] **目的** 探究外泌体miR-20a-5p对非小细胞肺癌(NSCLC)骨转移的调控作用及机制。**方法** 提取并鉴定16HBE、A549、PC9、H1299细胞以及转染miR-20a-5p mimic和miR-NC的A549细胞所分泌的外泌体。qRT-PCR检测各种细胞及外泌体中miR-20a-5p的表达。将A549和RAW264.7细胞分为PBS组、16HBE exo组、A549 exo组、miR-NC exo组和miR-20a-5p exo组。Transwell小室检测A549细胞迁移和侵袭能力,TRAP染色检测破骨细胞分化。Western blot检测各组RAW264.7细胞Sp1和CD147的表达。6周龄的雌性Balb/c裸鼠随机分为5组,分别注射PBS(A组)、16HBE exo(B组)、A549 exo(C组)、miR-NC exo(D组)和miR-20a-5p exo(E组)外泌体4周,构建NSCLC骨转移的小鼠模型;HE染色观察各组小鼠骨转移情况。**结果** 透射电镜下观察到A549 exo、PC9 exo、H1299 exo、16HBE exo为具有双层膜的囊泡样结构,粒径在30~100 nm,且均表达CD9、CD81、HSP70标志蛋白。miR-20a-5p高表达于NSCLC细胞及其外泌体。与PBS组相比,A549 exo组肿瘤细胞迁移和侵袭能力显著增加($P<0.001$),RAW264.7细胞中miR-20a-5p表达上调($P<0.001$),破骨细胞分化显著增加($P<0.001$),Sp1和CD147表达显著增加($P<0.001$)。与miR-NC exo组相比,miR-20a-5p exo组A549细胞迁移和侵袭能力增加($P<0.001$),RAW264.7细胞中miR-20a-5p表达上调($P<0.001$),破骨细胞分化显著增加($P<0.001$),Sp1和CD147表达显著增加($P<0.001$)。在小鼠体内实验中,A组、B组骨组织骨小梁结构完整,组织中有少量肿瘤细胞,骨髓腔相对完整,病变较少;C组小鼠骨组织出现大量肿瘤细胞且细胞紧密排列,骨小梁显著破坏,核浆比例严重失调,病变显著增加;E组小鼠骨组织中出现大量肿瘤细胞,骨小梁破坏严重,病变较D组显著。**结论** 外泌体miR-20a-5p可显著促进NSCLC的体内外转移,其机制可能为激活破骨细胞Sp1/CD147信号通路从而促进破骨细胞的分化。

[关键词] 非小细胞肺癌;外泌体;miR-20a-5p;骨转移;裸鼠;Sp1/CD147信号通路

[中图分类号] R734.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-10-27

Exosome miR-20a-5p regulates Sp1/CD147 signaling pathway to promote bone metastasis in non-small cell lung cancer

WANG Yun, HU Wen, LIU Li-li, YANG Jing, ZHANG Tao (Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi′an Shaanxi 710038, China)

Abstract: Objective To investigate the regulatory effect and mechanism of exosome miR-20a-5p on bone metastasis in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** The exosomes secreted by 16HBE, A549, PC9, H1299 cells and A549 cells transfected with miR-20a-5p mimic and miR-NC were extracted and identified. The expression of miR-20a-5p in various cells and exosomes was detected by qRT-PCR. A549 and RAW264.7 cells were divided into the PBS group, the 16HBE exo group, the A549 exo group, the miR-NC exo group and the miR-20a-5p exo group. Transwell chamber was used to detect the migration and invasion abilities of A549 cells, and TRAP staining was used to detect osteoclast differentiation. Western blot was used to detect the expression of Sp1 and CD147 in RAW264.7 cells of each group. The 6-week-old female Balb/c nude mice were randomly divided into 5 groups and given PBS (group A), 16HBE exo (group B), A549 exo (group C), miR-NC exo (group D) and miR-20a-5p exo (group E) exosomes for 4 weeks respectively, to establish a mouse model of NSCLC bone metastasis; HE staining was used to observe bone metastasis of mice in each group. **Results** Under transmission electron microscopy, A549 exo, PC9 exo, H1299 exo and 16HBE exo were bilayer vesicle-like structures with particle sizes ranging from 30 to 100 nm, and all of them expressed CD9, CD81 and HSP70 marker proteins. miR-20a-5p was highly expressed in NSCLC cells and their exosomes. Compared with the PBS group, the migration and invasion abilities of tumor cells in the A549 exo group were significantly increased ($P<0.001$), the expression of miR-20a-5p was up-regulated in RAW264.7 cells ($P<0.001$), the osteoclast differentiation was significantly increased ($P<0.001$), and the expressions of Sp1 and CD147 were significantly increased ($P<0.001$). Compared with the miR-NC exo group, the migration and invasion abilities of A549 cells in the miR-20a-5p exo group were increased ($P<0.001$), the expression of miR-20a-5p was up-regulated in RAW264.7 cells ($P<0.001$), the osteoclast differentiation was significantly increased ($P<0.001$), and the expressions of Sp1 and CD147 were significantly increased ($P<0.001$). In vivo experiments of mice showed that the bone trabecular

[基金项目] 国家自然科学基金(81372608;81572814)

[通信作者] 胡 雯,E-mail:huwen217@126.com

structures of the bone tissue in group A and group B were complete, there were a few tumor cells in the tissue, the bone marrow cavity was relatively complete with few lesions. In group C, a large number of tumor cells were found in the bone tissue of mice, and the cells were closely arranged, the bone trabeculae was seriously damaged, the ratio of nucleus to plasma was seriously disordered, and the lesions were significantly increased. A large number of tumor cells appeared in the bone tissue of mice in group E, and the bone trabeculae was seriously damaged, and the lesions were more serious than those in group D. **Conclusion** Exosome miR-20a-5p can significantly promote the metastasis of NSCLC in vivo and in vitro, and its mechanism may be that it can activate the Sp1/CD147 signaling pathway of osteoclasts to promote osteoclast differentiation.

Keywords: non-small cell lung cancer; exosome; miR-20a-5p; bone metastasis; nude mouse; Sp1/CD147 signaling pathway

肺癌是我国发病率及病死率最高的恶性肿瘤，其中非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer,NSCLC）约占80%[1]。虽然肿瘤的治疗已经取得了极大的进展，但是大多数NSCLC患者在确诊时就已经处于中晚期，且肿瘤广泛转移，导致患者预后较差，其中骨转移在NSCLC患者中的发生率约为40%，患者中位生存时间仅6个月左右，且骨转移带来的剧烈疼痛以及运动能力受损，严重影响患者的生存质量[2-3]，因此，探究更多NSCLC骨转移的机制以及治疗方法非常有必要。肿瘤外泌体可调控肿瘤的多种病理进程，包括转移、复发、耐药等[4]。研究表明，微小RNA（microRNA，miRNA）可影响肿瘤的生长、免疫逃逸及顺铂耐药等[5-7]。外泌体miRNA在肿瘤的诊断和治疗中具有广泛的应用前景，外泌体中多种miRNAs都被证实具有调控NSCLC发生发展的功能，Wang等[8]研究表明，NSCLC外泌体miR-17-5p通过靶向PTEN促进破骨细胞分化。miR-20a-5p在NSCLC中显著高表达，并且可促进肿瘤血管新生[9]。但是关于miR-20a-5p对NSCLC骨转移的影响及机制目前尚不清楚，本文探究NSCLC外泌体中miR-20a-5p的表达及其对骨转移的影响及机制，以期为NSCLC骨转移的诊断和治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

人支气管上皮细胞系16HBE和人NSCLC细胞系A549、PC9和H1299购自中科院上海细胞库；小鼠单核巨噬细胞RAW264.7购自美国ATCC。TRIzol试剂盒和Lipofectamine 2000试剂盒购自美国Invitrogen公司；PrimeScript™ RT reagent Kit和SYBR® Prime Script™ RT-PCR Kit购自日本TaKaRa公司；6周龄的雌性Balb/c裸鼠[动物生产许可证号：SYXK（京）2022-0052]共25只购自北京维通利华实验动物技术有限公司；抗酒石酸酸性磷酸酶（tartrate resistant acid phosphatase,TRAP）染色试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司；CD9、CD81、HSP70、SP1、CD147、GAPDH抗体，山羊抗兔IgG购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.2 细胞培养

于37 ℃、5%CO_2的培养箱中，将16HBE、A549、PC9和H1299细胞使用含10%胎牛血清的DMEM培养，RAW264.7细胞使用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基培养。

1.3 外泌体的提取与鉴定

收集细胞培养上清液10 mL，3 000 r/min离心10 min去除细胞和凋亡碎片，取上清使用0.22 μm的滤膜过滤，去除细胞碎片，然后100 000 r/min离心60 min后收集的白色沉淀即为外泌体。将所收集的外泌体用10 mL无菌PBS重悬，100 000 r/min离心60 min清洗外泌体，收集外泌体沉淀，通过透射电镜观察外泌体的形态，Western blot法检测外泌体标志蛋白表达。16HBE、A549、PC9、H1299以及转染miR-20a-5p mimic Negative Control（miR-NC）和miR-20a-5p mimic的A549细胞外泌体分别记为16HBE exo、A549 exo、PC9 exo、H1299 exo、miR-NC exo和miR-20a-5p exo。

1.4 细胞转染与分组

将A549细胞接种于6孔板中，待细胞生长至密度达60%时进行转染，根据Lipofectamine 2000说明书，将125 μL Opti-MEM培养基与2 μg miR-20a-5p mimic（或miR NC）在1.5 mL离心管中混匀，取5 μL Lipofectamine 2000用Opti-MEM培养基稀释至125 μL，将上述两种溶液混匀后室温静置15 min，6孔板中更换为800 μL培养基，然后将静置后的混合溶液滴加至6孔板中，混匀后于细胞培养箱中孵育8 h，然后更换为新鲜DMEM完全培养基。

将A549和RAW264.7细胞分别与10 μg/mL的16HBE exo、A549 exo、miR-NC exo、miR-20a-5p exo以及等体积的PBS共孵育24 h，设为16HBE exo组、A549 exo组、miR-NC exo组、miR-20a-5p exo组和PBS组。

1.5 qRT-PCR检测miR-20a-5p的表达

使用TRIzol试剂提取各组细胞及外泌体中的总RNA，根据PrimeScript™ RT reagent Kit说明书合成

cDNA，根据SYBR® Prime Script™ RT-PCR Kit进行qRT-PCR反应，反应程序为95 ℃ 3 min，1次循环；95 ℃ 15 s，60 ℃ 1 min，40次循环。以U6为内参，$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算miR-20a-5p相对表达量，引物序列见表1。

表1 miR-20a-5p和U6引物序列

基因	引物序列
miR-20a-5p	F:5′-GCCCGCTAAAGTGCTTATAGTG-3′ R:5′-CCAGTGCAGGGTCCGAGGT-3′
U6	F:5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′ R:5′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3′

1.6 Transwell小室检测细胞迁移和侵袭能力

将各组A549细胞用DMEM培养基稀释至1×10^5/mL，取稀释后的细胞溶液100 μL接种于小室中，6孔板中加入600 μL DMEM完全培养基，小室放于板中，下层培养基没过小室底部，培养24 h后取出小室，清洗后底部用4%多聚甲醛固定，结晶紫染色，清洗晾干后，拍照并统计细胞迁移数。将上述小室更换为铺有50 μL Matrigel胶的小室，其余步骤同上，用于检测细胞侵袭能力。

1.7 破骨细胞分化与TRAP染色

将RAW264.7细胞接种于24孔板中，调整浓度为1×10^5个/孔，细胞生长至汇合度达70%~80%时，将24孔板中每孔更换为含30 ng/mL巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)和50 ng/mL核因子κB受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor-κB ligand,RANKL)的α-MEM，并根据分组加入对应的外泌体，使培养液中的外泌体浓度为10 μg/mL，每2天更换1次培养基，共诱导4 d，然后去除孔内培养基，各孔用10%福尔马林中性缓冲液固定5 min，清洗孔板3次，采用TRAP染色试剂盒染色，去离子水清洗3次，显微镜下观察拍照。

1.8 小鼠体内实验

将6周龄的雌性Balb/c裸鼠随机分为PBS组(A组)、16HBE exo组(B组)、A549 exo组(C组)、miR-NC exo组(D组)和miR-20a-5p exo组(E组)，每组5只。各组小鼠分别注射10 μg的PBS、16HBE exo、A549 exo、miR-NC exo和miR-20a-5p exo，每周注射1次，共注射4周。注射外泌体4周后，A549细胞用无菌PBS重悬并稀释至1×10^6/mL，用1%戊巴比妥钠溶液(10 mL/kg)腹腔注射麻醉小鼠，然后取100 μL A549细胞接种于小鼠的左心室，28 d后解剖，取小鼠的股骨和胫骨，制作病理切片观察肿瘤细胞转移情况。

1.9 HE染色

使用石蜡包埋各组小鼠的骨组织切片，用二甲苯脱蜡，经100%、95%、90%、80%、75%乙醇水化，苏木素染色5 min，伊红室温染色2 min，去除染色液，再于90%、95%、100%乙醇中浸泡1 min，二甲苯浸泡2次，每次1 min，中性树脂封片后于显微镜下观察。

1.10 Western blot检测Sp1/CD147信号通路变化

根据蛋白裂解液说明书提取各组细胞或外泌体总蛋白，BCA蛋白定量后，进行SDS-PAGE凝胶电泳，稳压80 V，电泳40 min，待蛋白进入分离胶后调整电压为120 V，分离90 min；分离后转膜，稳定电流300 mA，时间90 min；PVDF膜与CD9、CD81、HSP70、SP1、CD147、GAPDH抗体低温孵育过夜，TBST洗膜后，与山羊抗兔IgG室温孵育1 h，洗膜后ECL试剂盒显影，拍照。

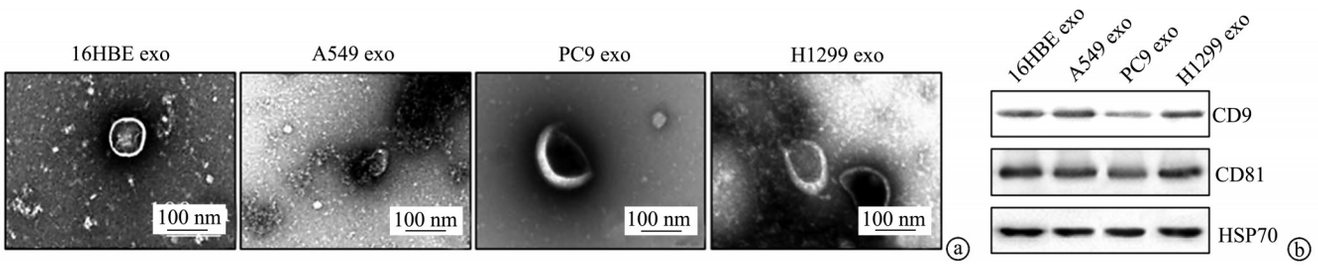
1.11 统计学分析

采用GraphPad Prism7.0软件绘制图形，采用SPSS 20.0统计学软件进行数据处理，所有数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，2组间比较采用t检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体鉴定结果

透射电镜下观察到A549 exo、PC9 exo、H1299 exo、16HBE exo为具有双层膜的囊泡样结构，粒径在30~100 nm(图1a)。外泌体标志蛋白检测结果显示，A549 exo、PC9 exo、H1299 exo、16HBE exo均表达CD9、CD81、HSP70(图1b)，说明A549 exo、PC9 exo、H1299 exo、16HBE exo均符合外泌体的形态和生物学特征。



a:透射电镜观察外泌体的形态；b:Western blot检测外泌体标志蛋白CD9、CD81、HSP70的表达

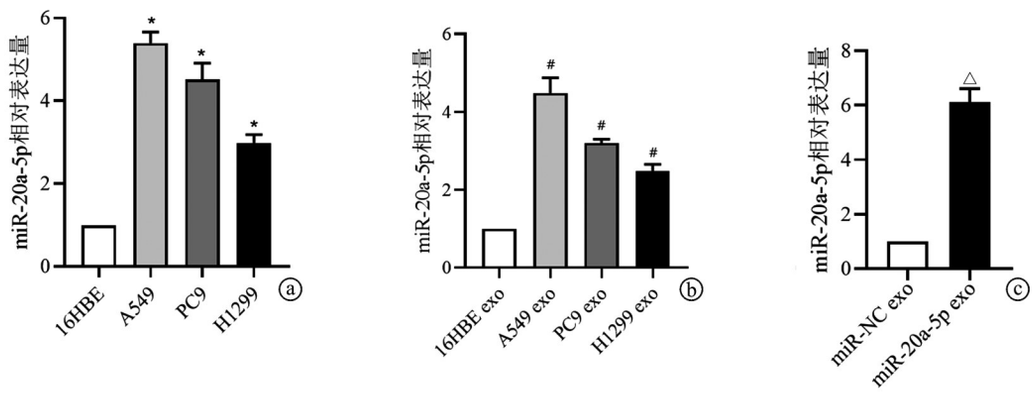
图1 外泌体的鉴定

2.2 miR-20a-5p在NSCLC及其外泌体中显著高表达

NSCLC细胞A549、PC9和H1299中miR-20a-5p表达水平显著高于其在支气管上皮细胞系16HBE中的表达(P<0.001),且A549 exo、PC9 exo和H1299 exo中miR-20a-5p的表达高于16HBE exo(P<0.001),其中A549细胞表达水平最高,所以选择A549细胞进行后续研究。与miR-NC exo相比,miR-20a-5p exo中miR-20a-5p表达显著上调(P<0.001),见图2,获得的miR-20a-5p exo为高表达miR-20a-5p的外泌体。

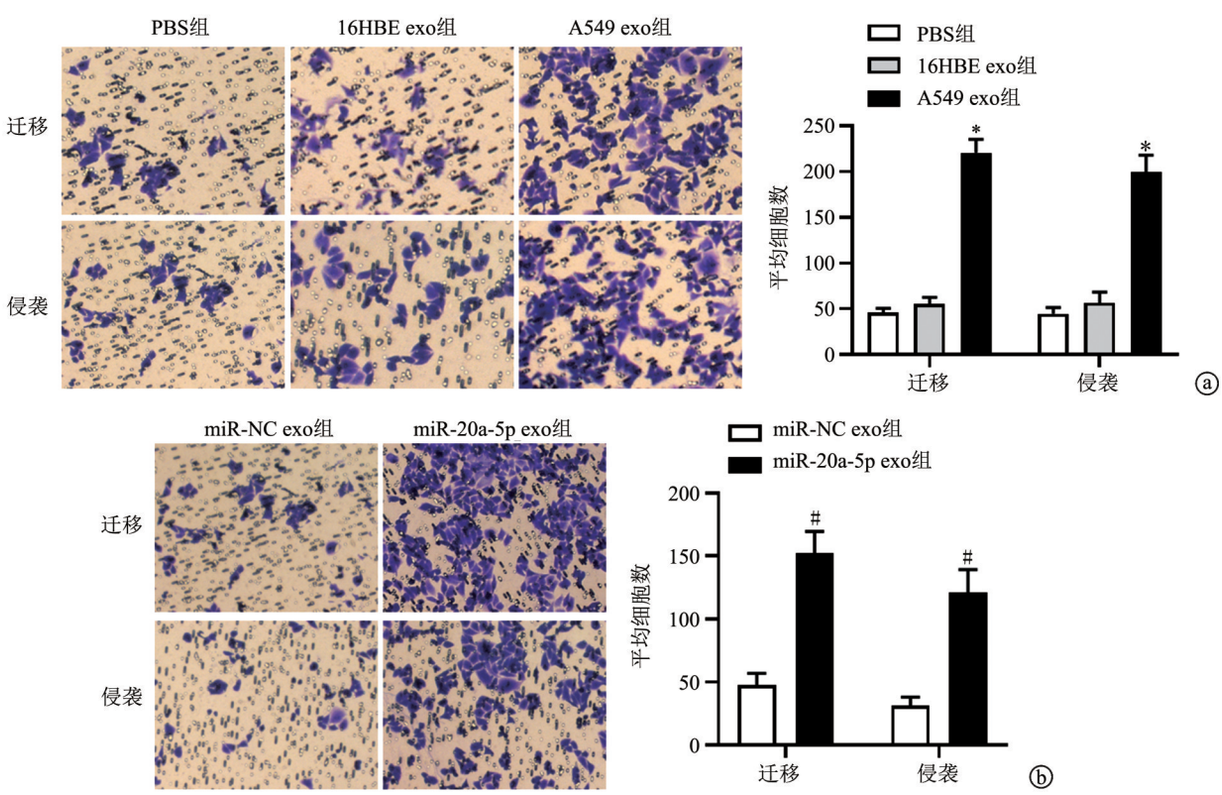
2.3 miR-20a-5p促进NSCLC细胞的迁移及侵袭

与PBS组相比,A549 exo组A549细胞迁移和侵袭数显著增加(P<0.001),而16HBE exo组细胞迁移和侵袭数量无显著变化(图3a);与miR-NC exo组相比,miR-20a-5p exo组A549细胞迁移数和侵袭数均显著增加(P<0.001),见图3b,说明外泌体miR-20a-5p可促进A549细胞的迁移和侵袭。



a:A549、PC9、H1299和16HBE细胞中miR-20a-5p表达水平;b:A549 exo、PC9 exo、H1299 exo和16HBE exo中miR-20a-5p表达水平;c:miR-NC exo、miR-20a-5p exo中miR-20a-5p表达水平 *:与16HBE相比,P<0.001;#:与16HBE exo相比,P<0.001;△:与miR-NC exo相比,P<0.001

图2 各种细胞及外泌体中miR-20a-5p表达水平比较



a:PBS组、16HBE exo组和A549 exo组细胞迁移、侵袭能力检测;b:miR-NC exo组、miR-20a-5p exo组A549细胞迁移、侵袭能力检测 *:与PBS组相比,P<0.001;#:与miR-NC exo组相比,P<0.001

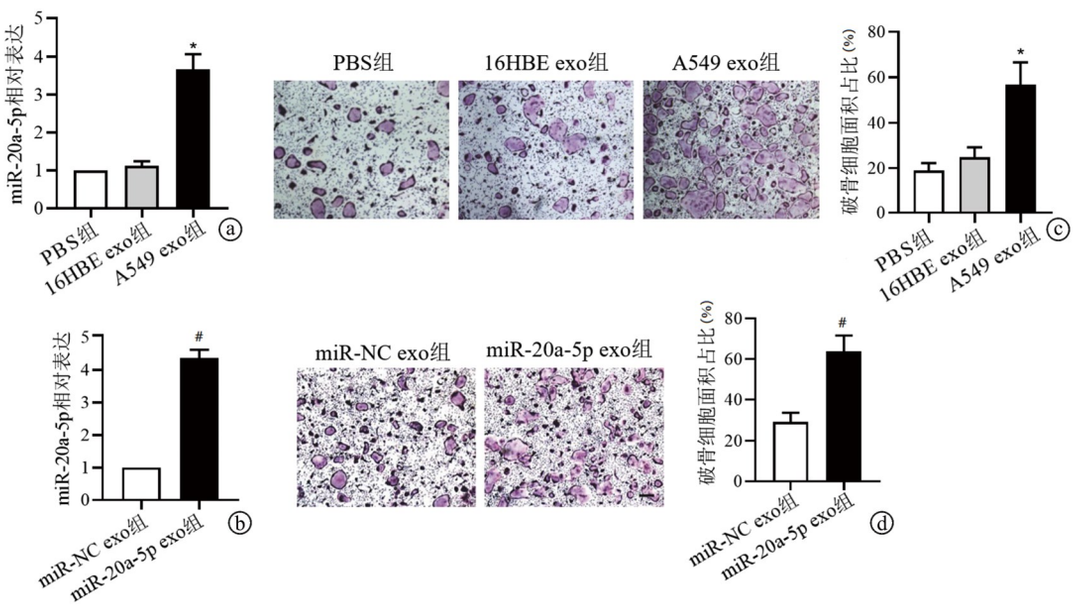
图3 各组细胞迁移和侵袭细胞数目比较

2.4　NSCLC外泌体转移miR-20a-5p促进破骨细胞分化

qRT-PCR检测显示，A549 exo组RAW264.7细胞中miR-20a-5p表达显著高于PBS组（$P<0.001$），而16HBE exo组和PBS组miR-20a-5p比较无显著差异（图4a）。miR-20a-5p exo组RAW264.7细胞中miR-20a-5p表达显著高于miR-NC exo组（$P<0.001$），说明外泌体可向RAW264.7细胞转移miR-20a-5p（图4b）。TRAP染色结果显示，A549 exo组破骨细胞形成数显著多于PBS组（$P<0.001$），16HBE exo组和PBS组破骨细胞形成数无显著差异（图4c）。与miR-NC exo组相比，miR-20a-5p exo组破骨细胞形成显著增加（$P<0.001$），说明外泌体miR-20a-5p可促进破骨细胞的分化（图4d）。

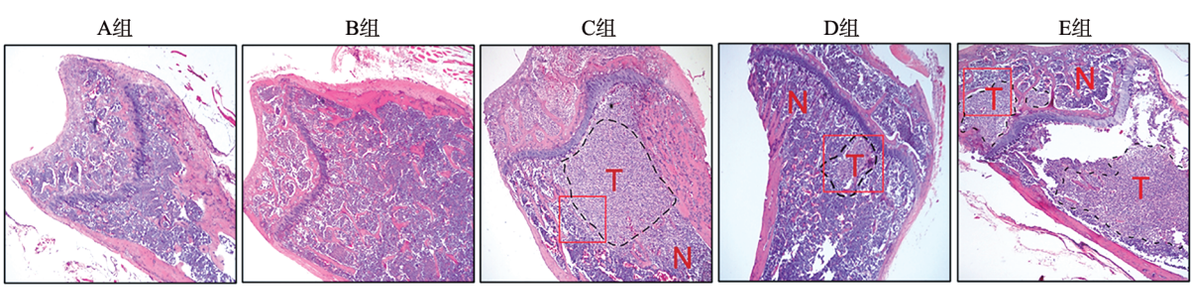
2.5　外泌体miR-20a-5p促进NSCLC细胞在小鼠体内的骨转移

HE染色结果显示，A组和B组骨组织骨小梁结构完整，组织中有少量肿瘤细胞，骨髓腔相对完整，病变较少；C组小鼠骨组织附近出现大量肿瘤细胞，肿瘤细胞紧密排列，骨小梁显著破坏，核浆比例严重失调，病变显著。E组小鼠骨组织中肿瘤细胞面积更大，骨小梁破坏更加严重，病变较D组更加显著（图5）。说明NSCLC外泌体以及外泌体miR-20a-5p可显著促进肿瘤在小鼠体内的骨转移。



a、b：各组RAW264.7细胞中miR-20a-5p表达；c、d：各组破骨细胞分化结果（TRAP染色）　*：与PBS组比较，$P<0.001$；#：与miR-NC exo组比较，$P<0.001$

图4　外泌体转移miR-20a-5p促进破骨细胞分化

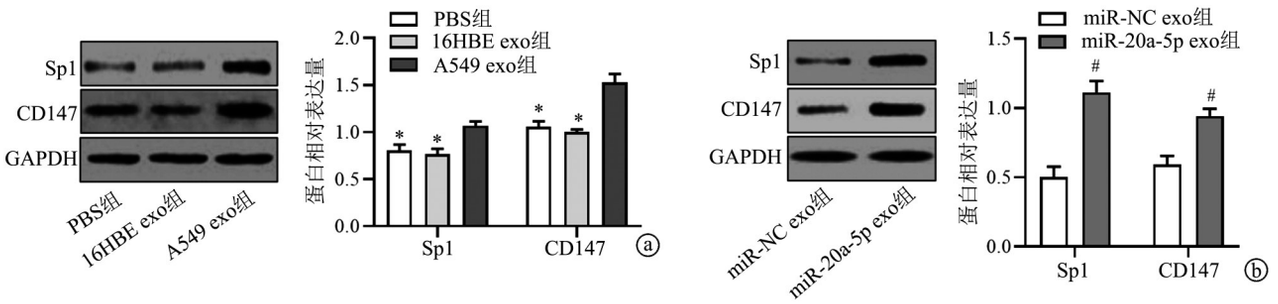


T：肿瘤细胞；N：正常细胞

图5　各组小鼠肿瘤骨转移水平比较（×200）

2.6　外泌体miR-20a-5p激活Sp1/CD147信号通路

Western blot结果显示，A549 exo组RAW264.7细胞中Sp1和CD147表达显著高于16HBE exo组和PBS组（$P<0.001$），说明A549 exo可促进破骨细胞中Sp1/CD147信号通路的激活。与miR-NC exo组相比，miR-20a-5p exo组RAW264.7细胞中Sp1和CD147表达亦显著上调（$P<0.001$），说明外泌体通过转移miR-20a-5p促进Sp1/CD147信号通路的激活（图6）。



a:PBS组、16HBE exo组和A549 exo组Sp1/CD147信号通路蛋白表达检测;b:miR-NC exo组、miR-20a-5p exo组Sp1/CD147信号通路蛋白表达检测 *:与A549组相比,$P<0.001$;#:与miR-NC exo组相比,$P<0.001$

图6 各组细胞Sp1和CD147表达水平比较

3 讨论

NSCLC是高发的恶性肿瘤,其发病机制尚不明确,但有研究指出,NSCLC的发病与吸烟、二手烟、不良饮食习惯、生活环境等密切相关[10]。NSCLC恶性程度高,患者在确诊时往往已经处于中晚期,其5年生存率不足5%,预后差[11]。大部分患者在癌症晚期出现肿瘤骨转移,严重影响生活质量,因此探究NSCLC骨转移的机制,对其治疗至关重要。外泌体是由大多数细胞分泌的胞外囊泡,由于携带多种遗传物质,如DNA、miRNA、circRNA等,可从基因层面或转录层面调控肿瘤细胞的恶性生物学行为[12-13],其中外泌体miRNA具有广泛的临床应用前景,因此越来越多的研究定位于外泌体miRNA。

miR-20a-5p是近年肿瘤研究的miRNA之一,有研究表明,miR-20a-5p可通过诱导血管新生从而促进NSCLC的生长和转移[9]。Yang等[14]研究发现,miR-20a-5p可通过抑制NR4A3表达而促进膀胱癌转移。Cheng等[15]研究表明,miR-20a-5p亦可通过抑制Smad4表达而促进结直肠癌转移,提示miR-20a-5p可能是调控NSCLC发生发展的重要分子。此外,相关研究报道,miRNAs失调可导致肺癌的发生及骨转移[16]。肺腺癌细胞和破骨细胞中发现部分miRNAs可选择性纳入外泌体,并将其释放到细胞外空间,是骨转移“恶性循环”的潜在媒介[17]。然而有关外泌体miR-20a-5p与肺癌相关的报道有限,因此本研究探究了外泌体miR-20a-5p调控NSCLC骨转移的可能作用机制,发现miR-20a-5p在NSCLC细胞以及外泌体中均显著高表达,提示miR-20a-5p或外泌体miR-20a-5p可能具有调控NSCLC发生发展的作用。进一步研究发现,与NSCLC外泌体共孵育后,A549细胞中miR-20a-5p表达显著上调;与高表达miR-20a-5p的外泌体共孵育后,A549细胞中miR-20a-5p表达会进一步上调,说明NSCLC外泌体可向肿瘤细胞转移miR-20a-5p。且与高表达miR-20a-5p的外泌体共孵育后,A549细胞的迁移和侵袭能力均显著增加。NSCLC外泌体通过转移遗传物质调控肿瘤转移已得到证实,Ma等[18]研究表明,肿瘤外泌体可传递miR-3157-3p而促进NSCLC的血管新生和转移;Kim等[19]研究发现,外泌体miR-1260b可通过抑制HIPK2从而促进NSCLC的转移。因此,本研究推测,NSCLC外泌体可通过转移miR-20a-5p进而促进肿瘤的转移。

为了探究外泌体miR-20a-5p是否对NSCLC骨转移具有调控作用,本研究将NSCLC外泌体以及高表达miR-20a-5p的外泌体与RAW264.7细胞共孵育,发现NSCLC外泌体作用后,RAW264.7细胞向破骨细胞分化显著增加,高表达miR-20a-5p的外泌体可进一步促进破骨细胞的分化。研究表明,肿瘤的骨转移是肿瘤细胞先通过分泌细胞因子促进破骨细胞成熟[20]。破骨细胞可破坏骨骼基质,从骨基质中释放出大量促进肿瘤生长的细胞因子,进而实现骨转移[21]。本研究在小鼠体内进行了验证,发现接受NSCLC外泌体的小鼠肿瘤骨转移显著增加,给予高表达miR-20a-5p的外泌体小鼠肿瘤骨转移进一步形成,说明外泌体miR-20a-5p可促进NSCLC的骨转移。在机制上,本研究初步探究发现,NSCLC外泌体诱导后破骨细胞中Sp1/CD147信号通路被显著激活,外泌体miR-20a-5p亦可进一步促进破骨细胞中Sp1/CD147信号通路的激活。Sp1/CD147信号通路是调控肿瘤骨转移的重要通路。Kong等[22]研究指出,特异性Sp1结合位点位于CD147启动子的CpG区,Sp1表达增加,CD147表达上调。Wang等[23]研究表明,在肺癌中,CD147的表达可诱导IL-8的分泌而促进破骨细胞的生成。因此,本研究得出,NSCLC外泌体miR-20a-5p可通过诱导Sp1/CD147

信号通路激活进而促进破骨细胞的分化。

综上所述,NSCLC外泌体可通过转移miR-20a-5p而激活Sp1/CD147信号通路诱导破骨细胞的生成,进而促进肿瘤的骨转移,但外泌体miR-20a-5p的临床应用还需进一步探究。

[参考文献]

[1] Buja A, Pasello G, De Luca G, et al. Non-small-cell lung cancer: real-world cost consequence analysis[J]. JCO Oncol Pract, 2021, 17(8): e1085-e1093. doi:10.1200/OP.20.00863.

[2] Jasper K, Stiles B, McDonald F, et al. Practical management of oligo-metastatic non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2022, 40(6): 635-641. doi:10.1200/JCO.21.01719.

[3] Mithoowani H, Febbraro M. Non-small-cell lung cancer in 2022: a review for general practitioners in oncology[J]. Curr Oncol, 2022, 29(3):1828-1839. doi:10.3390/curroncol29030150.

[4] Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2019, 1871(2): 455-468. doi:10.1016/j.bbcan.2019.04.004.

[5] Zhou J, Wang H, Sun Q, et al. miR-224-5p-enriched exosomes promote tumorigenesis by directly targeting androgen receptor in non-small cell lung cancer[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2021, 23(3): 1217-1228. doi:10.1016/j.omtn.2021.01.028.

[6] Kim DH, Kim H, Choi YJ, et al. Exosomal PD-L1 promotes tumor growth through immune escape in non-small cell lung cancer[J]. Exp Mol Med, 2019, 51(8): 1-13. doi:10.1038/s12276-019-0295-2.

[7] Xie H, Yao J, Wang Y, et al. Exosome-transmitted circVMP1 facilitates the progression and cisplatin resistance of non-small cell lung cancer by targeting miR-524-5p-METTL3/SOX2 axis[J]. Drug Deliv, 2022, 29(1): 1257-1271. doi:10.1080/10717544.2022.2057617.

[8] Wang M, Zhao M, Guo Q, et al. Non-small cell lung cancer cell-derived exosomal miR-17-5p promotes osteoclast differentiation by targeting PTEN[J]. Exp Cell Res, 2021, 408(1): 112834-112846. doi: 10.1016/j.yexcr.2021.112834.

[9] Han J, Hu J, Sun F, et al. MicroRNA-20a-5p suppresses tumor angiogenesis of non-small cell lung cancer through RRM2-mediated PI3K/Akt signaling pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(2): 689-698. doi:10.1007/s11010-020-03936-y.

[10] Nagano T, Tachihara M, Nishimura Y. Molecular mechanisms and targeted therapies including immunotherapy for non-small cell lung cancer[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2019, 19(8): 595-630. doi: 10.2174/1568009619666181210114559.

[11] Broderick SR. Adjuvant and neoadjuvant immunotherapy in non-small cell lung cancer[J]. Thorac Surg Clin, 2020, 30(2): 215-220. doi: 10.1016/j.thorsurg.2020.01.001.

[12] Sun Z, Yang S, Zhou Q, et al. Emerging role of exosome-derived long non-coding RNAs in tumor microenvironment[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 82. doi:10.1186/s12943-018-0831-z.

[13] Duréndez-Sáez E, Torres-Martinez S, Calabuig-Fariñas S, et al. Exosomal microRNAs in non-small cell lung cancer[J]. Transl Cancer Res, 2021, 10(6): 3128-3139. doi:10.21037/tcr-20-2815.

[14] Yang H, Chen Z, Liu Z. MiR-20a-5p negatively regulates NR4A3 to promote metastasis in bladder cancer[J]. J Oncol, 2021, 2021(9): 1377989. doi:10.1155/2021/1377989.

[15] Cheng D, Zhao S, Tang H, et al. MicroRNA-20a-5p promotes colorectal cancer invasion and metastasis by downregulating Smad4[J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 45199-45213. doi: 10.18632/oncotarget.9900.

[16] Ai C, Ma G, Deng Y, et al. Nm23-H1 inhibits lung cancer bone-specific metastasis by upregulating miR-660-5p targeted SMARCA5[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(3): 640-650. doi: 10.1111/1759-7714.13308.

[17] Ni J, Zhang X, Li J, et al. Tumour-derived exosomal lncRNA-SOX2OT promotes bone metastasis of non-small cell lung cancer by targeting the miRNA-194-5p/RAC1 signalling axis in osteoclasts[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(7): 662. doi:10.1038/s41419-021-03928-w.

[18] Ma Z, Wei K, Yang F, et al. Tumor-derived exosomal miR-3157-3p promotes angiogenesis, vascular permeability and metastasis by targeting TIMP/KLF2 in non-small cell lung cancer[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(9): 840. doi:10.1038/s41419-021-04037-4.

[19] Kim DH, Park H, Choi YJ, et al. Exosomal miR-1260b derived from non-small cell lung cancer promotes tumor metastasis through the inhibition of HIPK2[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(8): 747. doi:10.1038/s41419-021-04024-9.

[20] Clézardin P, Coleman R, Puppo M, et al. Bone metastasis: mechanisms, therapies, and biomarkers[J]. Physiol Rev, 2021, 101(3): 797-855. doi:10.1152/physrev.00012.2019.

[21] Muscarella AM, Aguirre S, Hao X, et al. Exploiting bone niches: progression of disseminated tumor cells to metastasis[J]. J Clin Invest, 2021, 131(6): e143764. doi:10.1172/JCI143764.

[22] Kong LM, Liao CG, Chen L, et al. Promoter hypomethylation up-regulates CD147 expression through increasing Sp1 binding and associates with poor prognosis in human hepatocellular carcinoma[J]. J Cell Mol Med, 2011, 15(6): 1415-1428. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01124.x.

[23] Wang H, Zhuo Y, Hu X, et al. CD147 deficiency blocks IL-8 secretion and inhibits lung cancer-induced osteoclastogenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 458(2): 268-273. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.097.

(编辑:贺绍梅)