miR-153 对肺腺癌细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响及机制研究

鲍培龙，徐月亮，王孝彬（空军军医大学第二附属医院 / 唐都医院，西安　710038）

摘　要：目的　探讨 miR-153 对肺腺癌细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响及其相关作用机制。**方法**　构建 SRC-3’UTR-WT 和 SRC-3’UTR-MUT 载体，分别与 miR-153 mimic，mimic control 共转染至肺腺癌 A549 细胞，采用双荧光素酶报告基因实验验证 miR-153 与 SRC 的靶向关系。构建 miR-153 过表达、敲低 miR-153 和 SRC 表达的 A549 细胞系，采用 Western Blot 检测 miR-153 对 SRC 蛋白表达的影响。通过 CCK-8 法、细胞划痕实验、Transwell 侵袭实验及流式细胞仪分别检测 miR-153，SRC 及 miR-153+SRC 共转染对 A549 细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响。**结果**　双荧光素酶报告基因实验证实 SRC 是 miR-153 的靶基因。25 例临床肺腺癌组织中 miR-153 表达水平（13.251±4.256）较癌旁正常组织（25.312±6.527）显著降低（t=7.739，P＜0.001），SRC 表达水平（28.574±6.438）较癌旁正常组织（15.206±5.117）显著升高，差异有统计学意义（t=8.128，P＜0.001）。随着临床分期和病理学分级的增高，肺腺癌组织中 miR-153 表达逐渐降低（F=13.351，8.479，P<0.01），SRC 表达逐渐升高（F=9.812，10.521，P<0.001），差异均有统计学意义。肺腺癌组织中 miR-153 与 SRC 表达呈显著负相关（r=–0.726，P<0.05）。过表达 miR-153 显著抑制 SRC 蛋白表达（t=7.075，P=0.002），而降低 miR-153 表达得到与之相反的结果。过表达 miR-153 和敲低 SRC 蛋白表达显著抑制 A549 细胞的增殖（t=22.265，21.783，均 P<0.001）、迁移（t=7.287，4.819，P=0.002，0.009）及侵袭（t=10.043，10.563，P=0.001，0.001），促进细胞凋亡（t=3.918，6.735，P=0.017，0.003）；抑制 miR-153 表达则得到相反结果。共表达 miR-153+SRC 逆转了原本过表达 miR-153 对肺腺癌细胞增殖、迁移及凋亡的抑制 / 促进作用。**结论**　miR-153 在肺腺癌中显著低表达，其通过靶向下调 SRC 的表达抑制肺腺癌细胞的增殖、侵袭、转移，促进细胞凋亡。

关键词：miR-153；SRC 蛋白；肺腺癌；增殖；侵袭
中图分类号：R734.2；R730.43　**文献标识码：**A　**文章编号**:1671-7414（2022）01-107-07
doi:10.3969/**j.issn.**1671-7414.2022.01.022

Effects of miR-153 on Proliferation, Invasion, Metastasis and Apoptosis of Lung Adenocarcinoma Cells and Its Mechanism

BAO Pei-long, XU Yue-liang, WANG Xiao-bin

（*the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University /Tangdu Hospital, Xi’an* 710038，*China*）

Abstract: Objective　To investigate the effects of miR-153 on proliferation, migration, invasion and apoptosis of lung adenocarcinoma cells and its related mechanisms. **Methods**　SRC-3’UTR-WT and SRC-3’ UTR-MUT vectors were constructed and co-transfected into lung adenocarcinoma A549 cells with miR-153 mimic and mimic control, respectively. Dual-luciferase reporter gene experiment was used to verify the targeted relationship between miR-153 and SRC. A549 cell lines with miR-153 overexpression and knockdown of miR-153 and SRC expression were constructed, and the effect of miR-153 on the expression of SRC protein was detected by Western Blot. The effects of miR-153, SRC and miR-153 +SRC cotransfection on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of A549 cells were detected by CCK-8 method, cell scratch test, Transwell invasion test and flow cytometry, respectively. **Results**　SRC was confirmed to be the target gene of miR-153 by dual luciferase reporter gene assay. The expression level of miR-153 in 25 clinical lung adenocarcinoma tissues (13.251 ± 4.256) was significantly lower than that in adjacent normal tissues (25.312 ± 6.527), (t=7.739, P< 0.001), SRC expression level (28.574 ± 6.438) was significantly higher than that of adjacent normal tissues (15.206 ± 5.117), the differences was statistically significant (t=8.128, P< 0.001). With the increase of clinical stage and pathological grade, the expression of miR-153 in lung adenocarcinoma tissues decreased gradually (F=13.351, 8.479, P<0.01), and the expression of SRC increased gradually, the differences was statistically significant(F=9.812, 10.521, P<0.001). There was a significant negative correlation between miR-153 and SRC expression in lung adenocarcinoma tissues (r=–0.726, P<0.05). Overexpression of miR-153 significantly inhibited

基金项目：陕西省重点研发计划项目（2019SF-061）。
作者简介：鲍培龙（1989–），男，硕士研究生，主治医师，研究方向：胸部肿瘤的微创治疗，E-mail：qianfa815@yeah.net。
通讯作者：王孝彬，研究方向：胸部肿瘤的诊治。

the expression of SRC protein (t=7.075, P=0.002), while decreasing the expression of miR-153 resulted in the opposite result. Overexpression of miR-153 and knockdown of SRC protein significantly inhibited the proliferation of A549 cells (t=22.265, 21.783, all P<0.001), migration (t=7.287, 4.819, P=0.002, 0.009) and invasion (t=10.043, 10.563, all P=0.001), promoting cell apoptosis (t=3.918, 6.735, P=0.017, 0.003). Inhibition of miR-153 expression resulted in the opposite result. Co-expression of miR-153+ SRC reversed the inhibition/promotion effect of overexpression of miR-153 on proliferation, migration and apoptosis of lung adenocarcinoma cells. **Conclusion** Mir-153 was significantly under-expressed in lung adenocarcinoma, and it could inhibit the proliferation, invasion and metastasis of lung adenocarcinoma cells and promote cell apoptosis by targeting down the expression of SRC.

Keywords: miR-153；SRC protein；lung adenocarcinoma；proliferation；invasion

肺癌是世界范围内常见的恶性肿瘤，肺腺癌是其主要病理类型[1]。据流行病学调查显示，肺腺癌发生率约占肺癌的 44.5%[2]。近年，基于肿瘤分子生物学角度研究癌症的发生发展机制，为肿瘤的靶向治疗提供了新的方向[3]。miRNA 是长约 20~25 个核苷酸序列的非编码 RNA，能够靶向识别靶 mRNA，抑制靶基因翻译，促进靶基因降解[4]，在细胞分化、增殖、侵袭、凋亡等生物学行为中作用显著[5-9]，其中 miR-153 与乳腺癌、胃癌、肺癌、胰腺癌等多种肿瘤密切相关，发挥抑癌或促癌基因的作用[10]。SRC 蛋白是酪氨酸激酶家族（SRC family of tyrosine kinases，SFKs）的成员之一，由原癌基因 c-SRC 编码，是第一个被发现的原癌基因。近年随着对 SRC 复杂功能的研究发现，其异常激活参与调控了多种细胞的迁移、侵袭、血管生成及上皮间质转化[11]。证实 SRC 参与细胞恶性生物学过程及血管生成，其激活能够刺激肿瘤转移，在肿瘤侵袭转移过程中扮演角色[12-13]。且发现，以 SRC 为靶点的抑制剂可抑制肿瘤传播，其与抗肿瘤药物联用可逆转肿瘤耐药，抑制肿瘤的转移及复发[14]。因此，寻找合适的组合靶点抑制 SRC 的表达对 SRC 抑制剂的抗肿瘤可起到协同作用。既往 LIAO 等[15] 曾研究显示，SRC 是 miR-1 的靶基因，miR-1 通过靶向 SRC 抑制食管癌细胞增殖，促进细胞凋亡。LIU 等[16] 研究发现，雄激素调节的 MicroRNA 1 缺失可激活 SRC 并促进前列腺癌骨转移。KLOBU 等[17] 研究显示，非小细胞肺癌中，MicroRNA-208a 直接靶向 SRC 激酶信号抑制剂 1 促进细胞增殖和侵袭。提示 SRC 可通过与 miRNA 靶向结合发挥作用参与肿瘤的发生发展。而本研究前期经检索生物信息学网站发现 miR-153 与 SRC 的非翻译区（3’UTR）存在高度保守的结合位点，提示两者可能存在靶向结合作用关系。因此，本研究拟探讨 miR-153 对肺腺癌细胞生物学行为的影响及其与 SRC 的靶向关系，以期为肺腺癌的临床诊治提供新的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 研究对象 人肺腺癌细胞 A549 购自中国医学科学院研究所细胞资源中心。选取 2020 年 6 月~2021 年 1 月在空军军医大学第二附属医院就诊并接受手术治疗的 25 例肺腺癌患者，男性 14 例，女性 11 例，年龄 47.2 ± 9.6 岁；TNM 分期：Ⅰ期 5 例，Ⅱ期 9 例，Ⅲ期 7 例，Ⅳ期 4 例；病理学分级：G1 级 6 例、G2 级 13 例、G3 级 6 例；收集患者癌组织及其对应癌旁正常组织，均由手术获取行冰冻病理检查确诊后经石蜡包埋制成组织标本置于低温液氮中保存备用，组织标本来自医院病理科留存。

1.2 仪器及试剂 胎牛血清、RPMI-1640 培养液、0.25 g/dl 胰蛋白酶、Trizol 试剂购自美国 Thermo Fisher 公司；磷酸盐缓冲溶液（phosphate buffer saline，PBS）购自碧云天公司；脂质体 2000（Lipofectamine2000）购自美国 Invitrogen 公司；miR-153 模拟物（miR-153 mimic），抑制物（miR-153 inhibitor）和阴性对照 mimic control，inhibitor control 及 SRC siRNA，SRC siRNA control 购自广州锐博生物；双荧光素酶报告系统、SRC-3’UTR-WT 野生型质粒和 SRC-3’ UTR-MUT 突变型质粒报告基因载体购于美国 Promega 公司；兔抗 GAPDH 抗体、兔抗 SRC 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及转染：人肺腺癌细胞 A549 在 5ml/dl CO_2，37 ℃条件下培养于含 10 ml/dl 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中。转染：待细胞培养至融合度达 80% 左右时按 Lipofectamine2000 试剂盒说明书进行转染，将 miR-153 mimic，miR-153 inhibitor 和 SRC siRNA，SRC siRNA control 分别转染至 A549 细胞中培养 24 h 后，更换 RPMI-1640 培养液继续培养 48 h，验证转染效率。

1.3.2 实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）实验：采用 Trizol 法提取细胞总 RNA，反转录成 cDNA，并以此为模板配置 PCR 反应体系，总体积 20 μl，反应条件为：95 ℃ 10 min，95 ℃ 15 s，65 ℃ 30 s，70 ℃ 30 s，40 个循环。根据试剂盒说明书进行 PCR 实验，检测 miR-153 的表达情况， 以 U6 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因相对表达量。qRT-PCR 检

测引物序列见表 1，由上海生工生物工程有限公司合成。

表 1 iR-153 和 U6 引物序列

基因		引物序列
miR-153	上游引物	5’-GGGATGGAGTCGAGGTGCGGCTAAT-3’
	下游引物	5’-GTAGGCTGAGGAAAGTCGAGCGAGC-3’
U6	上游引物	5’-ATTGGAACGATACAG AGAAGATT-3’
	下游引物	5’-GGAACGCTTCACGAATTTG-3’

1.3.3 双荧光素酶报告基因实验：实验分为 4 组：miR-153 mimic+SRC-3’UTR-WT 质粒，miR-153mimic +SRC-3’UTR-MUT 质粒，mimic control+SRC-3’UTR -WT 质粒，mimic control+SRC-3’UTR-MUT 质粒；转染 48 h 后，按双荧光素酶报告系统检测试剂盒说明书检测各组细胞荧光素酶活性。

1.3.4 蛋白免疫印迹实验（Western Blot）：收集转染培养后各组细胞，加入 RIPA 裂解液，提取细胞总蛋白，BCA 法检测蛋白浓度；取 20 g 蛋白样品经 SDS-PAGE 凝胶电泳，转移至 PVDF 膜，5 ml/dl 脱脂牛奶封闭 1 h，加入一抗（兔抗 SRC 抗体、兔抗人 GAPDH 抗体）4 ℃孵育过夜；TBST 洗涤 3 次后，加入二抗（羊抗兔 HRP）室温孵育 1 h；TBST 洗涤 3 次后，ECL 显影，观察各组目的蛋白表达灰度值。

1.3.5 CCK-8 细胞增殖实验：取转染培养后各组细胞以 5×10^5/ml / 孔密度接种于 96 孔板，每孔设 3 个复孔，37 ℃培养 2 ~ 4 h，待细胞贴壁后每孔加入 10 μl CCK-8 试剂，继续培养 4 h，使用酶标仪于 450 nm 处检测各孔吸光度值。

1.3.6 细胞划痕愈合实验：取转染培养后各组细胞，用 marker 笔在 6 孔板背后划横线过孔；次日使用枪头垂直于横线划痕，PBS 清洗 3 次，去除划下多余细胞，加入无血清培养液，放入 37 ℃，5ml/dl CO_2 培养箱中培养，培养 0，24，48 h 后拍照，记录。

1.3.7 Transwell 细胞侵袭实验：稀释 Mstrgel 基质胶包被 Transwell 小室上室底部，取转染培养后各组细胞，胰蛋白酶消化，加入无血清培养液重悬，调整密度为 2×10^5/ml；在 Transwell 小室上室加入 100 μl 细胞悬液，下室加入含 20 ml/dl 胎牛血清的培养液 600 μl，37 ℃孵育 24 h；无菌棉签擦拭上室上层细胞，结晶紫染色 10 min，去除染液，PBS 清洗 5 min，显微镜下观察并拍照计数。实验重复 3 次。

1.3.8 细胞凋亡实验：收集转染培养后各组细胞，PBS 洗涤 2 次，制成细胞悬液；按 Annexin V-FITC/PI 染色试剂盒说明书操作加入相应反应试剂，混匀，避光孵育 15 min，置于流式细胞仪上检测细胞凋亡情况。

1.4 统计学分析 采用 SPSS25.0 进行数据分析，所有实验均重复三次取平均值。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间比较采用 t 检验，多组间比较采用 one-way ANOVA 分析；肺癌组织及邻近正常组织中 miR-153 与 SRC 表达差异比较采用配对 t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-153 靶基因的预测验证 见表 2。前期研究通过 Targetscan 生物信息学软件预测发现，miR-153 与 SRC 3’UTR 区存在高度保守的结合位点，猜测 SRC 可能是 miR-153 的靶基因。为验证上述结果，研究通过构建 SRC-3’UTR-WT 野生型质粒和 SRC-3’UTR-MUT 突变型质粒，分别与 miR-153 mimic 和 mimic control 共转染至肺腺癌 A549 细胞中，双荧光素酶实验验证显示，转染 miR-153 mimic 使 SRC-3’UTR-WT 荧光素酶活性显著下调（t=4.885，P=0.008），而对 SRC-3’UTR-MUT 荧光素酶活性没有显著影响（t=0.698，P=0.524），证实 SRC 是 miR-153 的靶基因，miR-153 与 SRC 靶向结合。

表 2 SRC 野生型和突变型质粒与 miR-153 mimic 共转染荧光素酶活性（$\bar{x}\pm s$，n=3）

项目	mimic control	miR-153 mimic	t	P
SRC-3’UTR-WT	0.105 ± 0.014	0.053 ± 0.012	4.885	0.008
SRC-3’UTR-MUT	0.122 ± 0.015	0.114 ± 0.013	0.698	0.524

2.2 miR-153 与 SRC 在临床肺腺癌中的表达特征 见表 3，表 4。qRT-PCR 检测显示，25 例临床肺腺癌组织中 miR-153 表达水平（13.251 ± 4.256）较癌旁正常组织（25.312 ± 6.527）显著降低（t=7.739，P < 0.001）；SRC 表达水平（28.574 ± 6.438）较癌旁正常组织（15.206 ± 5.117）显著升高 (t=8.128，P < 0.001)。进一步检测发现，随着临床分期和病理学分级的增加，肺腺癌组织中 miR-153 相对表达逐渐降低，SRC 相对表达逐渐升高（P<0.05）。Spereman 相关分析显示，肺腺癌组织中 miR-153 与 SRC 表达存在显著负相关 (r=–0.726，P<0.05)。提示 miR-153，SRC 可能参与肺腺癌的发生发展过程。

2.3 miR-153 负向调控 SRC 蛋白表达 见图 1。经检测，转染 miR-153 mimic 显著提高了 A549 细胞中 miR-153 mRNA 表达（4.976 ± 0.562 vs 1.102 ± 0.341）（t=10.207，P=0.001），抑制了 SRC 蛋白的表达（0.236 ± 0.143 vs 1.134 ± 0.167，t=7.075，P=0.002)；而转染 miR-153 inhibitor 则得到与之相反的结果（miR-153RNA：0.202 ± 0.014 vs 1.503 ± 0.476，t=4.132，P=0.009；SRC 蛋白：1.135 ± 0.263 vs 0.491 ± 0.134，

t=3.779, P=0.019）。

表 3 不同临床分期肺腺癌患者组织中 miR-153 和 SRC 表达（n=25, $\bar{x} \pm s$）

项目	Ⅰ期 (n=5)	Ⅱ期 (n=9)	Ⅲ期 (n=7)	Ⅳ期 (n=4)	F	P
miR-153	18.652 ± 3.265	14.417 ± 3.521	10.326 ± 2.407	7.241 ± 2.035	13.351	< 0.001
SRC	20.412 ± 4.326	24.754 ± 5.414	29.323 ± 4.516	37.221 ± 5.167	9.812	< 0.001

表 4 不同病理学分级肺腺癌患者组织中 miR-153 和 SRC 表达（n=25, $\bar{x} \pm s$）

项目	G1 级 (n=6)	G2 级 (n=13)	G3 级 (n=6)	F	P
miR-153	17.536 ± 4.258	13.628 ± 3.865	8.476 ± 3.246	8.479	0.002
SRC	21.607 ± 4.756	28.289 ± 5.241	35.679 ± 5.987	10.521	< 0.001

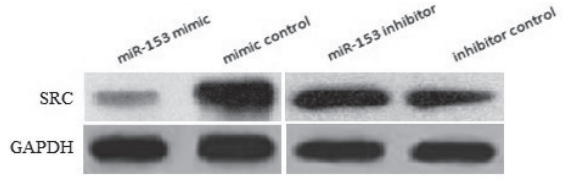

图 1 蛋白免疫印迹实验检测 miR-153 对 SRC 蛋白表达的影响

2.4 miR-153 和 SRC 对 A549 细胞增殖的影响 CCK-8 实验监测显示，转染 72h 后，miR-153 mimic 组 A549 细胞增殖活力显著低于 mimic control 对照组（1.614 ± 0.032 vs 2.136 ± 0.025）（t=22.265，P < 0.001）；miR-153 inhibitor 组细胞增殖活力显著高于 inhibitor control 对照组（2.462 ± 0.029 vs 1.735 ± 0.024）（t=33.451，P < 0.001）；转染 SRC-siRNA 组细胞增殖活力显著低于 siRNA-control 对照组（1.506 ± 0.027 vs 2.023 ± 0.031）（t=21.783，P < 0.001），差异均有统计学意义。

2.5 miR-153 和 SRC 对 A549 细胞迁移的影响 细胞划痕实验显示，转染 miR-153 mimic 组 A549 细胞迁移能力显著低于 mimic control 对照组（51.246% ± 5.357% vs 79.413% ± 4.016%）(t=7.287，P=0.002)；转染 miR-153 inhibitor 组细胞迁移能力显著高于 inhibitor control 对照组 (68.302% ± 4.351% vs 41.241% ± 3.879%)(t=8.041，P=0.001)；转染 SRC-siRNA 组细胞迁移能力显著低于 siRNA-control 对照组（39.652% ± 5.131% vs 57.548% ± 4.219%）（t=4.819，P=0.009），差异均有统计学意义。

2.6 miR-153 和 SRC 对 A549 细胞侵袭的影响 Transwell 体外侵袭转移实验结果显示，转染 miR-153 mimic 组 A549 细胞侵袭数目显著低于 mimic control 对照组（112.342 ± 35.483 个 vs 423.512 ± 40.261 个）（t=10.043，P=0.001）；转染 miR-153 inhibitor 组细胞侵袭数目显著高于 inhibitor control 对照组（470.522 ± 34.683 个 vs 223.602 ± 41.517 个)（t=7.906，P=0.001）；转染 SRC- siRNA 组细胞侵袭数目显著低于 siRNA-control 对照组（154.326 ± 38.437 个 vs 506.124 ± 43.016 个）（t=10.563，P=0.001），差异均有统计学意义。

2.7 miR-153 和 SRC 对 A549 细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测结果显示，转染 miR-153 mimic 组 A549 细胞凋亡率显著高于 mimic control 对照组（17.876% ± 2.147% vs 12.125% ± 1.362%），差异有统计学意义（t=3.918，P=0.017）；转染 miR-153 inhibitor 组细胞凋亡率显著低于 inhibitor control 对照组（10.346% ± 1.814% vs 19.014% ± 1.795%），差异有统计学意义（t=5.883，P=0.004）；转染 SRC siRNA 组细胞凋亡率显著高于 siRNA-control 对照组（18.307% ± 0.987% vs 12.461% ± 1.134%），差异有统计学意义（t=6.735，P=0.003）。

2.8 miR-153 通过抑制靶基因 SRC 的表达抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移及凋亡 见表 5。研究证实 SRC 是 miR-153 靶基因，miR-153 和 SRC 参与肺腺癌细胞的增殖、侵袭、迁移及凋亡过程，分别发挥抑癌、促癌基因作用，推测 miR-153 是否通过抑制致癌基因 SRC 的表达抑制肺腺癌细胞的增殖。研究在 A549 细胞中单独过表达 miR-153 和 SRC，后在过表达 miR-153 组中继续过转 SRC，经检测发现，相比于对照组（NC），共表达 miR-153+SRC 逆转了过表达 miR-153 对细胞增殖、迁移及凋亡的抑制 / 促进作用，使各水平重新恢复基本达到对照组水平。说明在肺腺癌细胞中 miR-153 调控 A549 细胞的增殖、迁移及凋亡是通过直接调控 SRC 表达来实现的。

表 5 单独过表达 miR-153 和 SRC 及 miR-153+SRC 共表达对细胞增殖、迁移、凋亡的影响（$\bar{x} \pm s$，n=3）

类 别	NC 组	miR-153 mimic 组	SRC 组	miR-153+SRC 组	F	P
A 值	2.076 ± 0.026	1.596 ± 0.035[a]	2.414 ± 0.030[a]	2.123 ± 0.024	408.169	< 0.001
迁移率 (%)	66.724 ± 4.513	50.786 ± 5.673[a]	79.659 ± 6.615[a]	67.234 ± 5.414	13.375	0.002
凋亡率 (%)	11. 216 ± 1.769	18. 687 ± 2.417[a]	4.869 ± 1.463[a]	10. 985 ± 2.023	25.244	< 0.001

注：与 NC 组相比，[a]P<0.05.

3 讨论

肺癌是最常见的恶性肿瘤，近年发病率逐年升高 [18]。由于缺乏有效的检测手段，多数患者确诊时已发展至晚期，因此早期筛查、早诊治是拯救患者生命的关键所在。近年来，肺癌的靶向治疗在提高肺癌生存率上取得突破。研究发现，SRC 通过与受体类酪氨酸激酶结合调控其信号通路或通过调节黏着连接和焦点连接，调节细胞增殖、生存、侵袭及转移 [19-20]，指出 SRC 参与多条信号通路，其抑制剂在肿瘤临床治疗中发挥重要作用。目前，靶向治疗已成为抗肿瘤治疗的首要手段，且因其更符合肿瘤精准治疗的趋势，因此寻求可与 SRC 联合的、有效的治疗靶点具有重要意义。

近年越来越多数据表明，miRNA 的异常表达与肿瘤的增殖、转移、侵袭、凋亡等生物学行为密切相关，参与调控肿瘤的发生发展 [21]。目前 miR-153 被证实参与调控人类多种癌症的发生发展进程，如研究发现，miR-153 通过靶向 Jagged1 降低肺腺癌干细胞样表型和肿瘤生长 [22]。LncRNA TUG1 通过海绵转染 miR-153 可抑制骨肉瘤细胞的增殖和侵袭 [23]。miR-153 靶向 PRDM2 基因并通过 JAK/STAT 信号通路影响膀胱癌的侵袭和迁移 [24]。miR-153 上调通过靶向 ZEB2 介导的 EMT 抑制三阴性乳腺癌进展 [25]。miR-153-3p 通过抑制 E3F3 的表达抑制甲状腺癌细胞增殖、侵袭和糖酵解 [26]。CircRNA hsa-circ-0014359 通过调控 miR-153/PI3K 信号促进胶质瘤进展 [27]。研究证实了 miR-153 的癌基因特性，提示其可作为肿瘤研究的靶标之一。故积极探究 miR-153 在肺腺癌中的表达及其参与调控肺腺癌发生发展的调控机制，对肺腺癌临床攻克及治疗具有重要意义。研究前期经检索数据库发现，肺癌组织中 miR-153 显著低表达，与患者预后生存关系密切；而本研究检测 25 例临床肺腺癌病理组织验证发现 miR-153 在肺腺癌组织中同样低表达，且随着临床分期和病理学分级的增高，miR-153 表达逐渐降低，提示在肺腺癌发生发展过程中 miR-153 扮演着重要角色。通过转染 mimic 和 inhibitor 模拟、抑制物过表达或敲低 miR-153 表达，经体外细胞实验证实，过表达 miR-153 显著抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭，促进细胞凋亡；敲低 miR-153 表达则表现为相反的结果，表明 miR-153 在肺腺癌发生发展中扮演抑癌基因的作用。

SRC 是最早被发现的癌基因之一，研究发现 SRC 发挥癌基因作用可能通过以下三种机制：①与受体类酪氨酸激酶（RTKs）结合，调控 RTKs 信号转导通路；②通过调节黏着连接，影响细胞生物学行为；③缺氧状态下，通过激活 MMPs，VEGF 等促进血管新生 [28]。证实 SRC 能够调节细胞增殖、迁移、侵袭及 EMT 过程和血管新生 [29]。且基于实体瘤抗肿瘤靶点治疗研究证实，以 SRC 为靶点的抑制剂可以逆转肿瘤细胞耐药，抑制肿瘤转移复发 [30]。SRC 在多种肿瘤中呈过表达、高活性特征，是肿瘤靶向治疗研究的热点。故本研究对 SRC 和 miR-153 间的相互关系进行探究，经检索生物信息学数据库预测发现 miR-153 与 SRC 的 3’-UTR 区存在特异性结合位点，双荧光素酶实验证实 SRC 与 miR-153 靶向结合；并证实 SRC 在肺腺癌组织中高表达，且随临床分期和病理学分级的增高其表达逐渐升高，同时与 miR-153 表达呈显著性负相关，提示在肺癌发生发展过程中 miR-153 与 SRC 间应存在某种相互调控作用。为验证 miR-153 和 SRC 在肺腺癌中的作用机制，发现 miR-153 负向调控 SRC 表达，转染敲低 SRC 表达也显著抑制了肺腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭，促进细胞凋亡，证实了 SRC 的促癌基因作用。进一步在 miR-153 过表达细胞中过转染 SRC 后，发现逆转了原本单独过表达 miR-153 对肺腺癌细胞增殖、迁移及凋亡的抑制 / 促进作用，说明肺腺癌细胞中 miR-153 通过调控 SRC 表达来实现对增殖、迁移及凋亡的调控，可能是 miR-153 参与肺腺癌发生发展的机制之一，然而癌基因发挥功能的作用机制复杂，涉及信号通路的异常激活或失活，而本研究关于 miR-153 调控 SRC 影响肺腺癌细胞生物学行为的机制研究较表浅，故有关其具体的调控作用通路机制还需后期更深入地研究探及。

综上所述，miR-153 抑制肺腺癌细胞的增殖、侵袭及转移，促进细胞凋亡，miR-153 调控肺腺癌细胞的发生发展可能是通过靶向下调 SRC 蛋白的表达来实现的。

参考文献：

[1] 刘宗超，李哲轩，张阳，等. 2020 全球癌症统计报告解读 [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志 , 2021,7(2):1-13.
LIU Zongchao,LI Zhexuan,ZHANG Yang,et al. Interpretation on the report of global cancer statistics 2020[J]. Journal of Multidisciplinary Cancer Management(Electronic Version), 2021,7(2):1-13.

[2] ANASTASIADOU E, JACOB L S, SLACK F J. Non-coding RNA networks in cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2018, 18(1): 5-18.

[3] 席俊峰 , 彭彦才 , 马兴聪 , 等. Aurora-B 激酶的表达与非小细胞肺癌患者预后及耐药的相关性分析 [J]. 现代检验医学杂志 ,2020,35(6):59-63.
XI Junfeng, PENG Yancai, MA Xingcong, et al. Study on the relationship between high expression of Aurora-B kinase and drug resistance and prognosis in patients with non-small cell lung cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2020,35(6):59-63.

[4] TONG Zhan, CUI Qinghua, WANG Juan, et al. TransmiR v2.0: an updated transcription factor-microRNA regulation database[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1) : D253-D258.

[5] 黄刚 , 陈霏 , 肇玉博 , 等 . 非小细胞肺癌患者血浆 miRNA-145 和 miRNA-221 表达与临床特征及术后复发的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志 , 2019, 34 (4):40-44.
HUANG Gang, CHEN Fei, ZHAO Yubo, et al. Study on the correlation between the expression of microRNA145 and microRNA221 in plasma and clinical characteristics and postoperative recurrence in patients with non-small cell lung cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2019,34(4):40-44.

[6] HOSSEINAHLI N, AGHAPOUR M, DUIJF P H G. Treating cancer with microRNA replacement therapy: A literature review[J]. Journal of Cellular Physiology, 2018, 233(8): 5574-5588.

[7] WANG Dongchang, WANG Lingchan , ZHANG Yu, et al. PYCR1 promotes the progression of non-small-cell lung cancer under the negative regulation of miR-488[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 111: 588-595.

[8] 谢琼 , 胡桂明 , 王洪涛 .miRNA-223-3 p 调控 JAK2/STAT3 信号通路对胃癌细胞增殖、凋亡、迁移的影响 [J]. 郑州大学学报 (医学版)，2018, 53(5): 629-634.
XIE Qiong, HU Guiming, WANG Hongtao, et al. Effect of miRNA-223-3p by regulation of JAK2/STAT3 signaling pathway on proliferation, apoptosis and migration of gastric cancer cells [J]. Journal of Zhengzhou University(Medical Sciences),2018,53(5):629-634.

[9] 刘卜玮，蔡明成，杨雪，等 .microRNA 调控细胞凋亡的研究进展 [J]. 生理科学进展 ,2018,49(4):309-314.
LIU Buwei, CAI Mingcheng, YANG Xue, et al. Research progress of microRNA regulation of apoptosis[J]. Progress in Physiological Sciences,2018,49(4):309-314.

[10] HUANG Mengqin, LI Chengfa, KONG Fanliang, et al. Prognostic and clinicopathological significance of MicroRNA-153 in human cancers: A meta-analysis[J]. Medicine, 2020, 99(46): e22833.

[11] CUI Yixin, SUN Gongqin . Structural versatility that serves the function of the HRD motif in the catalytic loop of protein tyrosine kinase, Src[J]. Protein Science, 2019, 28(3): 533-542.

[12] 郭冬梅 , 谢莉莉 , 谢奇 .Src 激酶抑制剂 PP2 对人舌鳞癌 Tca8113 细胞侵袭和转移的抑制作用 [J]. 西安交通大学学报 (医学版) ,2019,40(2):290-293.
GUO Dongmei, XIE Lili, XIE Qi. Inhibition of invasion and metastasis of human tonguesquamous cellcarcinoma Tca8113 cells by Src kinase inhibitor PP2 [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University(Medical Sciences),2019,40(2):290-293.

[13] 王登嵘，刘显，肖健．Src 蛋白激酶在疾病中的功能及研究现状 [J]. 医学与哲学 ,2018,39(1):58-60,79.
WANG Dengrong, LIU Xian, XIAO Jian. The function and research status of src protein kinase in diseases [J]. Medicine & Philosophy,2018,39(1):58-60,79.

[14] 王琴，刘力，乐意，等．Src 激酶抑制剂研究进展 [J]. 中国药物化学杂志 ,2021,31(4):312-319.
WANG Qin, LIU Li, LE Yi, et al. The progress of Src inhibitors [J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2021,31(4):312-319.

[15] LIAO Zhicong, WANG Xiaojun, LIANG Hongwei, et al. MiR-1 suppresses the proliferation and promotes the apoptosis of esophageal carcinoma cells by targeting Src[J]. Cancer Medicine 2017, 6(12) : 2957-2965.

[16] LIU Yennien, YIN Juanjuan, BARRETT B, et al. Loss of androgen-regulated microRNA 1 activates SRC and promotes prostate cancer bone metastasis[J]. Molecular and Cellular Biology, 2015, 35(11): 1940-1951.

[17] KLOBUČAR M, SEDIĆ M, GEHRIG P, et al. Basement membrane protein ladinin-1 and the MIF-CD44-β 1 integrin signaling axis are implicated in laryngeal cancer metastasis[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2016, 1862(10): 1938-1954.

[18] YASMIN S, HAQUE W S,ISLAM S M J,et al. Role of immunohistochemistry in cell block sections for categorization of non-small cell carcinoma of lung[J]. BIRDEM Medical Journal, 2019, 9(3): 223-228.

[19] WANG Liyan, LI Xiaonan, ZHANG Wei, et al. miR24-2 promotes malignant progression of human liver cancer stem cells by enhancing tyrosine kinase Src epigenetically[J]. Molecular Therapy, 2020, 28(2): 572-586.

[20] JIANG Guojun, LIU Yaming, WANG Ru, et al. Activation of Src mediates acquired cisplatin resistance in human lung carcinoma cells[J]. Anti-Cancer Drugs, 2020, 31(2): 123-130.

[21] 周小敏 , 赵展庆 , 林奇栋 , 等 . 微小 RNA-423 靶向调控 BAP1 表达及对肺鳞癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 临床肿瘤学杂志 ,2019,24(8):678-683.
ZHOU Xiaomin, ZHAO Zhanqing, LIN Qidong, et al. Targeted regulation of microRNA-423 on BAP1 expression and its effect on proliferation and apoptosis of lung squamous cell carcinoma cells [J]. Chinese Clinical Oncology,2019,24(8):678-683.

[22] ZHAO Guoli, ZHANG Yueying, ZHAO Zhonghua, et al. MiR-153 reduces stem cell-like phenotype and tumor growth of lung adenocarcinoma by targeting Jagged1[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2020, 11(1): 170.

[23] WANG Heping, YU Yanzhang, FAN Shuxin, et al. Knockdown of long noncoding RNA TUG1 inhibits the proliferation and cellular invasion of osteosarcoma cells by sponging miR-153[J]. Oncology Research, 2018, 26(5): 665-673.

[24] 李冠军 , 亚国伟 , 唐正严 , 等．miR-153 靶向 PRDM2 基因并通过 JAK/STAT 信号通路影响膀胱癌的侵袭和迁移 [J]. 中国病理生理杂志 , 2018, 34 (1): 58-63.
LI Guanjun, YA Guowei, TANG Zhengyan, et al. Effect of miR-153-targeted PRDM2 on invasion and migration abilities of bladder cancer cells by JAK/STAT signaling pathway [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2018, 34(1):58-63.

[25] SHI Dongliang, LI Yong, FAN Liqiao, et al. Upregulation of miR-153 inhibits Triple-Negative breast cancer progression by targeting ZEB2-Mediated EMT and contributes to better prognosis[J]. Onco Targets and Therapy, 2019, 12: 9611-9625.

[26] DENG Xianzhao, GUO Bomin, FAN Yonben. MiR-153-3p suppresses cell proliferation, invasion and glycolysis of thyroid cancer through inhibiting E3F3 expression[J]. Onco Targets and Therapy, 2021, 14: 519-529.
[27] SHI Fei,SHI Zhonghua,ZHAO Yaodong,et al. CircRNA hsa-circ-0014359 promotes glioma progression by regulating miR-153/PI3K signaling[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 510(4): 614-620.
[28] DJEUNGOUE-PETGA M, LURETTE O, JEAN S, et al. Intramitochondrial Src kinase links mitochondrial dysfunctions and aggressiveness of breast cancer cells[J]. Cell Death & Disease, 2019, 10(12): 940.
[29] KIM E S, CHOI J Y, HWANG S J, et al. Hypermethylation of miR-205-5p by IR governs aggressiveness and metastasis via regulating Bcl-w and Src[J]. Molecular Therapy Nucleic Acids, 2019, 14: 450-464.
[30] CANER A , ASIK E, OZPOLAT B. SRC Signaling in Cancer and Tumor Microenvironment[M].// Advances in Experimental Medicine and Biology 2020: 1270,In Tumor Microenvironment : 57-71.

收稿日期：2021-04-07 修回日期：2021-06-08

（上接第 106 页）可能通过抑制 NF-κB/MIF 依赖的炎症途径减轻高糖诱导的胰岛 β 细胞功能障碍和凋亡。

参考文献：

[1] ZHENG Yan, LEY S H, HU F B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2018, 14(2): 88-98.
[2] ZHENG S L, RODDICK A J, AGHAR-JAFFAR R, et al. Association between use of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors, glucagon-like peptide 1 agonists, and dipeptidyl peptidase 4 inhibitors with all-cause mortality in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis[J]. JAMA, 2018, 319(15) : 1580-1591.
[3] AGUAYO-MAZZUCATO C, BONNER-WEIR S. Pancreatic β cell regeneration as a possible therapy for diabetes[J]. Cell Metabolism, 2018, 27(1): 57-67.
[4] BENTHUYSEN J R, CARRANO A C, SANDER M. Advances in β cell replacement and regeneration strategies for treating diabetes[J].The Journal of Clinical Investigation, 2016, 126(10): 3651-3660.
[5] LEE Y S, JUN H S. Anti-inflammatory effects of GLP-1-based therapies beyond glucose control[J]. Mediators of Inflammation, 2016,2016: 3094642.
[6] LIAO Pengzhi, YANG Dan, LIU Duan, et al. GLP-1 and ghrelin attenuate high glucose/high lipid-induced apoptosis and senescence of human microvascular endothelial cells[J].Cellular Physiology and Biochemistry, 2017, 44(5) : 1842-1855.
[7] KAPODISTRIA K, TSILIBARY E P, KOTSOPOULOU E, et al. Liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, stimulates AKT-dependent survival signalling and inhibits pancreatic β-cell apoptosis[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2018, 22(6): 2970-2980.
[8] HANSCHMANN E M, PETRY S F, EITNER S, et al. Paracrine regulation and improvement of β-cell function by thioredoxin[J]. Redox Biology, 2020, 34(7): 101570.
[9] MARGARYAN S, KRIEGOVA E, FILLEROVA R, et al. Hypomethylation of IL1RN and NFKB1 genes is linked to the dysbalance in IL1β/IL-1Ra axis in female patients with type 2 diabetes mellitus[J]. PLoS One, 2020, 15(5): e0233737.
[10] LIANG Hongzhi, WANG Huajun, LUO Leifeng, et al. Toll-like receptor 4 promotes high glucose-induced catabolic and inflammatory responses in chondrocytes in an NF-κB-dependent manner[J]. Life Sciences, 2019, 228(7): 258-265.
[11] BLOOM J, SUN S, AL-ABED Y. MIF, a controversial cytokine: a review of structural features, challenges, and opportunities for drug development[J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2016, 20(12): 1463-1475.
[12] CALANDRA T, BUCALA R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): A glucocorticoid counter-regulator within the immune system[J]. Critical Reviews in Immunology, 2018, 37(2-6) : 381-391.
[13] KIM H K, GARCIA A B, SIU E, et al. Macrophage migration inhibitory factor regulates innate γδ T-cell responses via IL-17 expression[J]. FASEB Journal: 2019, 33(6): 6919-6932.
[14] 胡红丽 , 杨静文 , 谷明莉 , 等 .MIF 在隐球菌脑膜炎患者外周血单个核细胞中升高及临床意义 [J]. 现代检验医学杂志 , 2017, 32(1):16-18.
HU Hongli, YANG Jingwen, GU Mingli, et al. Increased expression of MIF in peripheral blood mononuclear cells from patients with crytococcal meningitis and its clinical significance [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32（1):16-18.
[15] ZHENG Shuang, REN Xingxing, HAN Tingting, et al. Fenofibrate attenuates fatty acid-induced islet β-cell dysfunction and apoptosis via inhibiting the NF-κB/MIF dependent inflammatory pathway[J]. Metabolism-Clinical and Experimental, 2017, 77: 23-38.
[16] STOŠIĆ-GRUJIČIĆ S, SAKSIDA T, MILJKOVIĆ Đ,et al.MIF and insulin: Lifetime companions from common genesis to common pathogenesis[J]. Cytokine, 2020, 125(1): 154792.
[17] KAWAMORI D, SHIRAKAWA J, LIEW C W, et al. GLP-1 signalling compensates for impaired insulin signalling in regulating beta cell proliferation in βIRKO mice[J].Diabetologia, 2017, 60(8): 1442-1453.
[18] MÜLLER T D, FINAN B, BLOOM S R, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1)[J]. Molecular Metabolism, 2019, 30(11): 72-130.
[19] MA Gefei, CHEN Song, YIN Lei, et al. Exendin-4 ameliorates oxidized-LDL-induced inhibition of macrophage migration in vitro via the NF-κB pathway. [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2014, 35(2) : 195-202.

收稿日期：2021-02-19 修回日期：2021-06-16