

MicroRNA-506 靶向 Caveolin-1 抑制绒毛膜癌细胞增殖和侵袭的研究

程 艳¹, 崔金全², 李 远³, 张善锋³

(1. 郑州大学第一附属医院, 河南 郑州 450000; 2. 郑州大学第二附属医院, 河南 郑州, 450000; 3. 郑州大学医学科学院, 河南 郑州 450000)

摘 要: [目的] 探讨 microRNA-506 (miR-506) 在绒毛膜癌中对绒毛膜癌细胞的作用及其作用机制。[方法] 通过 qRT-PCR 检测绒毛膜癌和正常早孕绒毛临床标本中 *miR-506* 及 *caveolin-1* 表达量及相关性; 将绒毛膜癌细胞 JEG3 和 JAR 按照 *miR-506* mimic (mimic)、*miR-506* inhibitor (Inhi)、*miR-506* mimic negative control (NC) 和空白对照组 (Blank) 分别进行转染, 通过 MTT 实验、Transwell 实验和流式细胞术检测 *miR-506* 对绒毛膜癌细胞作用; 通过双荧光素酶报告实验、qRT-PCR 和 Western blot 检测 *miR-506*、*caveolin-1* 及相关蛋白的表达变化。[结果] 与正常早孕绒毛相比, *miR-506* 在绒毛膜癌组中表达显著降低 ($P < 0.05$), 并与 *caveolin-1* 表达呈负相关。*miR-506* 过表达明显抑制绒毛膜癌细胞的增殖、侵袭并促进凋亡。双荧光素酶报告实验表明 *miR-506* 过表达显著抑制野生型荧光素酶活性, qRT-PCR 和 Western blot 结果显示 *miR-506* 过表达显著抑制 *caveolin-1* 表达, 进而抑制相关蛋白表达。[结论] *miR-506* 可能通过靶向 *caveolin-1* 抑制绒毛膜癌细胞的增殖和侵袭。

关键词: 绒毛膜癌; microRNA-506; 小窝蛋白 1 (*caveolin-1*)

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2019)03-0227-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.03.A012

MicroRNA-506 Inhibits the Proliferation and Invasion of Choriocarcinoma Cells via Targeting Caveolin-1

CHENG Yan¹, CUI Jin-quan², LI Yuan³, ZHANG Shan-feng³

(1. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China; 3. The Academy of Medical Sciences of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effect of microRNA-506 (miR-506) on proliferation and invasion ability of choriocarcinoma and its mechanisms. [Methods] The expression of *miR-506* and *caveolin-1* (CAV-1) in choriocarcinoma and normal early pregnancy villi was measured by qRT-PCR. Human choriocarcinoma JEG3 JAR cells were transfected with *miR-506* mimic, *miR-506* inhibitor or *miR-506* mimic negative control (NC), respectively. The cell proliferation, invasive ability and apoptosis were detected by MTT, transwell, and flow cytometry, respectively. The interaction, variation of *miR-506* and CAV-1, the expressions of related proteins were detected by dual luciferase report assay, qRT-PCR and Western blot methods. [Results] Compared with normal early pregnancy villi, expression of *miR-506* in choriocarcinoma significantly decreased ($P < 0.01$) and it was negatively correlated with the expression of CAV-1. Dual luciferase report assay showed that *miR-506* significantly inhibited activity of wild type luciferase in JEG3 and JAR cells. Overexpression of *miR-506* significantly inhibited proliferation, invasion of choriocarcinoma cells and induced the cell apoptosis, and also significantly inhibited expression of CAV-1 and related proteins. [Conclusion] *miR-506* may inhibit proliferation and invasion of choriocarcinoma cells via targeting CAV-1.

Key words: choriocarcinoma; microRNA-506; caveolin-1

绒毛膜癌通常起源于女性胎盘绒毛膜上皮细胞, 并与妊娠有关。尽管绒毛膜癌的发病率低, 但进

展迅速, 在疾病早期阶段就可广泛转移, 具有高度侵袭性^[1,2]。与卵巢癌、宫颈癌等其他妇科恶性肿瘤不同, 绒毛膜癌对化疗和放疗比较敏感^[3], 因此临床治疗绒毛膜癌主要依靠化疗和放疗^[4]。大多数绒毛膜

收稿日期: 2018-07-26; 修回日期: 2018-09-27
第一作者原工作单位为郑州大学附属肿瘤医院
通信作者: 张善锋, E-mail: 1016649845@qq.com

癌患者可以通过化疗获得较长一段时间缓解,甚至临床治愈,但由于化疗耐药性导致的化疗无效病例也不少见,另外,化疗副作用也是一部分患者无法坚持完成化疗的原因,临床出现这种情况时,患者的病情和预后将难以估计^[5]。因此,迫切需要开发新的诊疗策略改善绒毛膜癌的治疗和预后。

MicroRNA 是一类含有 20~22 个核苷酸的非编码 RNAs^[6]。成熟的 microRNA 形成 RNA-诱导的沉默复合物(RISC),然后引导其结合目标基因的 3' 未翻译区 (3'UTR),从而引发 mRNA 降解或翻译抑制^[7]。MiRNA 通过与编码蛋白基因的目标信使 RNA(mRNA) 不完全配对参与调控转录和转录后表达。据估计, microRNA 可能调节 30% 的转录组^[8]。近几年的研究表明, microRNA 可以发挥肿瘤抑制基因或致癌基因的功能,特定 microRNA 表达的改变与肿瘤的发生、发展密切相关,参与很多关键的生物过程,包括增殖、发育、分化和凋亡^[8]。MicroRNA-506(miR-506) 是位于 X 染色体上的一种 microRNA,在多种肿瘤的发生发展中发挥着不同的作用,如越来越多的证据表明,miR-506 通过与不同的靶基因结合,从而抑制靶基因的表达,进而参与调控细胞增殖、细胞凋亡、细胞周期停滞、细胞衰老、细胞分化、上皮-间质转化、细胞侵袭和转移等生命过程,影响肿瘤的发生发展。

小窝蛋白 1(caveolin-1)是由 *caveolin-1* 基因编码的 22kD 蛋白质,覆盖于烧瓶状的细胞质膜内陷处小窝^[9]。Caveolin-1 同 caveolin-2 广泛表达于所有细胞,caveolin-3 主要在骨骼肌中发现^[10]。早期研究发现 caveolin-1 参与内吞作用,信号转导和脂质紊乱,近期研究表明 caveolin-1 也与肿瘤具有相关性^[11]。Caveolin-1 在肝、结肠、乳腺、肾、肺等肿瘤中均过表达^[12]。关于其肿瘤促进功能,有研究发现,caveolin-1 过表达可通过抑制细胞凋亡,促进肿瘤细胞锚定依赖增长、增加耐药性以及转移来促进肿瘤发生^[13]。本研究我们着重研究 miR-506 在绒毛膜癌中的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

MiR-506 mimic、miR-506 mimic negative control、miR-506 inhibitor、miR-506、U6 snRNA、caveolin-1 及 GAPDH 特异性 PCR 引物由北京赛百盛生物科技

有限公司合成。DMEM 培养基(Gibco,美国);脂质体转染试剂 Lipofectamine²⁰⁰⁰ Reagent (Life Technologies, 美国);鼠源人 caveolin-1 和 GAPDH 抗体(Santa Cruz, 美国);HRP 标记的鼠 IgG 抗体(Abcam, 美国);基质胶(BD Biosciences 公司,美国);8 μ m 孔径 Transwell 小室(Corning, 美国)。

1.2 标本收集

收集郑州大学第二附属医院人工流产绒毛标本 17 例;年龄 19~31 岁,中位年龄 25 岁,均无异常妊娠史。收集郑州大学附属肿瘤医院绒毛膜癌标本 12 例,年龄 20~56 岁,中位年龄 33 岁,所有研究对象均无感染性疾病,标本生理盐水漂洗后迅速冻存于液氮中保存。

1.3 qRT-PCR 检测组织和细胞中 miR-506 和 caveolin-1 的相对表达量

RNA 提取试剂盒提取组织 RNA,逆转录生成 cDNA,按照 qRT-PCR SYBR Green 法步骤进行 PCR 扩增,循环完毕后进行熔解曲线分析。每个样本设 3 个复孔,经过 3 次独立实验后得到的数据计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值。MiR-506 正向引物:TAAGGCACCCTTCTGAGTAGA,反向引物:GCGAGCACAGAATTAATACGAC;Caveolin-1 的正向引物:CATGTATCTGAATACCTCC,反向引物:CATAGCTTGTCACCTG;U6 正向引物:CGCTTCGGCAGCACATATAC,反向引物:CAGGGGCCATGCTAATCTT; β -actin 正向引物:CAAGGCCAACC GCGAGAAGAT,反向引物:CCAGAGGCGTACAGGGATAGCAC。

1.4 细胞培养和转染

JEG3 和 JAR 细胞购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液,于 37℃、5%CO₂ 的培养箱中培养,每 2~3d 按 1:2 传代 1 次。细胞转染:接种细胞到细胞培养板中,待到细胞贴壁覆盖率为 80%进行转染实验。更换无血清培养基后同步进行 miR-506 mimic(50nmol/L)(miR-506 组)、miR-506 inhibitor(100nmol/L)(Inhi 组)及对应阴性对照(negative control,NC 组)序列的转染,同时设空白对照组(Blank 组)。按照 Lipofectamine²⁰⁰⁰ 转染试剂说明书进行,转染 12h 后更换新鲜培养基。

1.5 MTT 细胞活性检测

调整转染后的细胞密度为 5×10^4 /ml,在 96 孔板

中接种 100 μ l/孔的细胞悬液。在接种后 6、12、24 及 48h 时吸出培养液,加入 20 μ l 的 MTT 溶液,继续培养 4h。4h 后加入 50 μ l DMSO 酶标仪测定各孔在 450nm 波长的吸光度值 A_{450} 。重复 3 次实验,取平均值。

1.6 Transwell 实验进行细胞侵袭能力的检测

在 Transwell 上室中,每孔加入 200 μ l (密度为 1.5×10^6 /ml)细胞悬液。侵袭实验,将 Matrigel 基质胶按 1:4 的比例稀释后,40 μ l/孔包被 Transwell 小室底部膜的上室面(注意避免气泡),在 37 $^{\circ}$ C 温箱中静置 2h。在铺胶的上室中每孔加入 200 μ l (密度为 3.0×10^6 /ml)干预 24h 后的细胞悬液。下室中每孔加入 700 μ l 完全培养液,在培养箱中培养 48h 后,将细胞固定染色,在光学显微镜下选取 5 个随机视野拍照,并计数穿膜细胞的个数。重复 3 次实验,取平均值。

1.7 流式细胞技术检测细胞凋亡

转染 24 h 后,JEG3 和 JAR 细胞用 1 $\times$ PBS 洗 2 遍细胞,0.25%胰酶消化,用 10% DMEM 终止消化后,将细胞收集到 EP 管中,1000r/min,4 $^{\circ}$ C 离心 5min 后,去上清,用 1 $\times$ PBS 洗 2 遍后,用 FITC/Annexin V 凋亡检测试剂盒进行染色,首先,每个样本中加入 500 μ l 1 $\times$ buffer,吹打成单细胞悬液,后加入 Annexin V 和 PI 各 5 μ l,37 $^{\circ}$ C 避光染色 20min 后,用 BD accuri C6 流式细胞仪检测染色细胞,Flowjo 软件进行分析。

1.8 双荧光报告载体实验验证 miR-506 直接靶定 Caveolin-1

根据生物信息学预测的结果,分别构建带有野生型(Pmir-Glo-CAV1-wtUTR)和突变型(Pmir-Glo-CAV1-mutUTR)结合位点的荧光报告载体。通过定点突变技术获取预测的 miR-506 结合到 caveolin-1 3'UTR 区位点的突变片段。Sac I 和 Xho I 双酶切 PmiR-Glo 载体;分别连接 Caveolin-1 野生型/突变型片段和 PmiR-Glo 双黏载体,构建 PmiR-Glo-CAV-1 重组载体。采用脂质体转染法将 miRNA (miR-192 mimic 或 miR-192 negative control)和重组载体(野生型或突变型)共转染入细胞中,后于 CO₂ 培养箱继续培养。每组设立 3 个复孔,48h 后用 PLB 裂解细胞,收集细胞裂解液,离心后取上清检测萤火虫荧光素信号和海肾荧光素信号,绘制柱形图。Caveolin-1 UTR 野生型和突变型荧光素酶报告载体构建所需引物:野生型上游 GAGCTCCTCTTTTCCCACTGTT-

TAAGGAGTTA;下游 CTCGAGCCCAGAAGTGAGCTTCACCAGACTCT。突变型上游 GAGCTCTTATGTAGATAACAAGACCTCAGTGCCTTCCTG;下游 CTCGAGGGAAGCCAGCTTTCCCTGCCTCTCATCAACT

1.9 Western blot 实验

细胞转染 48h 后加入适量预冷的 RIPA buffer (含蛋白酶抑制剂 PMSF),超声裂解后 12 000r/min,4 $^{\circ}$ C 离心 15min,取上清。BCA 法测定蛋白浓度后,样品蛋白:5 $\times$ 上样缓冲液比例为 4:1,100 $^{\circ}$ C 变性后,进行 10% SDS-PAGE 胶上样电泳并转至 NC 膜。经 5% BSA 溶液封闭 2h 后加入 β -catenin、 α 5-integrin 和 caveolin-1 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜(caveolin-1 和内参 GAPDH 抗体的稀释比例均为 1:800)。TBST 洗膜 3 次后,二抗孵育 2h,再次 TBST 漂洗 3 次后显影,对图片进行扫描,Image J 分析软件将每个特异条带灰度值数字化。

1.10 统计学处理

使用 SPSS 21.0 进行数据分析,正态分布计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用两独立样本的 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 正常早孕绒毛和绒毛膜癌组织中 miR-506 与 caveolin-1 的表达及相关性

将绒毛膜癌组织中 miR-506 和 Caveolin-1 mRNA 相对于 U6 和 GAPDH 的表达量进行相关性分析,miR-506 与 Caveolin-1 mRNA 之间存在负相关($R^2=0.677$;Figure 1)。定量 RT-PCR 分析结果显示,miR-506 在绒毛膜癌组织中的相对表达(0.307 ± 0.056)显著低于正常早孕绒毛组织中的表达(1.006 ± 0.087),两者差别具有统计学意义(Table 1),表明 miR-506 的表达在绒毛膜癌组织中显著下调。Caveolin-1 mRNA 在绒毛膜癌中相对表达显著高于正常早孕绒毛组织中的表达,差异有统计学意义(Table 1)。Western blot 结果表明 Caveolin-1 蛋白在绒毛膜癌表达(0.655 ± 0.089)显著高于正常早孕绒毛组织(0.280 ± 0.038),差异有统计学意义($P < 0.005$)(Figure 2)。

2.2 MiR-506 mimic 和 miR-506 inhibitor 调节 JEG3 和 JAR 细胞 miR-506 的表达

定量 RT-PCR 分析结果表明,绒毛膜癌细胞

Table 1 Expression of *miR-506* and *caveolin-1* in choriocarcinoma and normal early pregnancy villi

Groups	MiR-506	Caveolin-1
Normal early pregnancy villi	1.006±0.087	0.972±0.118
Choriocarcinoma	0.307±0.056	3.001±0.527
<i>t</i>	26.206	13.100
<i>P</i>	0.000	0.001

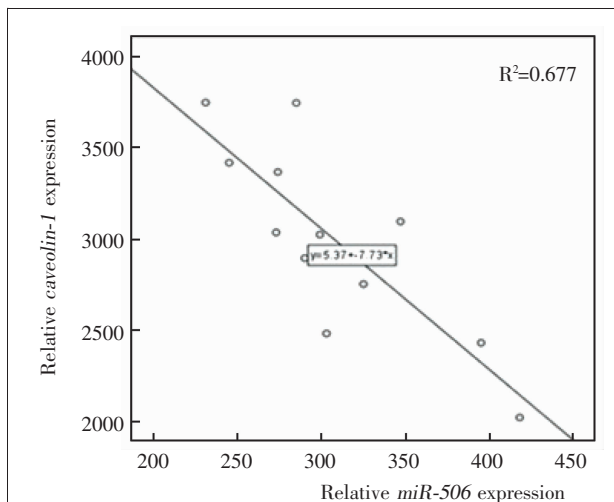


Figure 1 The correlation between *miR-506* and *caveolin-1* expression levels in choriocarcinoma

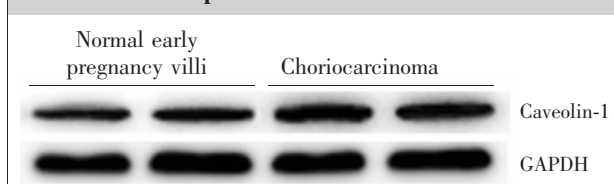


Figure 2 Expression of *caveolin-1* in choriocarcinoma and normal early pregnancy villi by Western blot

JEG3 和 JAR 中转染试验后,miR-506 mimic 组细胞的 *miR-506* 表达水平明显高于阴性对照组和空白对照组,差异有统计学意义,且均高于 miR-506 抑制剂组(Inhi),差异有统计学意义,阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义。转染 miR-506 mimic 后,绒毛膜癌细胞的 *miR-506* 水平升高(Table 2),表面转染是成功的。

2.3 MiR-506调节绒毛膜癌细胞增殖、侵袭和凋亡

MTT 实验结果显示,绒毛膜癌细胞 JEG-3 和 JAR 转染 miR-506 mimic 后,与阴性对照组和空白组相比,miR-506 转染组的两株细胞的细胞活力均降低,而转染 miR-506 inhibitor 后细胞活力升高,差异有统

计学意义,阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义 (Figure 3A,3B); 流式细胞实验结果显示 miR-506 mimic 转染两种绒毛膜细胞后,转染组细胞凋亡率相对于阴性对照组和空白对照组明显增高,而转染 miR-506 inhibitor 后凋亡率下降(Figure 3D;Table 3),差异有统计学意义,阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义;Transwell 实验结果表明 miR-506 mimic 转染组穿过基底膜的细胞数相对于阴性对照组和空白对照组明显减少,而转染 miR-506 inhibitor 后穿过基底膜的细胞数增加(Figure 3C),差异有统计学意义($P<0.05$),阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义,表明 miR-506 过表达可抑制绒毛膜癌细胞增殖、侵袭,促进凋亡(Table 3)。

2.4 MiR-506 靶向 *Caveolin-1* 基因表达

通过 miRanda、miRwalk 和 TargetScan 生物信息学分析软件预测:*caveolin-1* 的 3'-UTR 区可能包含 *miR-506* 的互补区域,提示 *caveolin-1* 可能是 *miR-506* 的作用靶标。双荧光素报告试验结果显示,绒毛膜癌细胞 JEG3 和 JAR 中,共转染 miR-506 mimic 和 Pmir-Glo-caveolin-1 野生型重组载体时,细胞的荧光素酶活性明显受到抑制。而共转染 miR-506 mimic 和 Pmir-Glo-caveolin-1 突变型重组载体的细胞,及转染有 miR-506 阴性对照组和 *caveolin-1* 野生型或突变型重组载体的细胞,其荧光素酶活性无明显差异。显示 *miR-506* 通过靶向 *caveolin-1* 的 3'-UTR 区,负向调控其表达(Figure 4;Table 4)。

2.5 MiR-506 调节 *caveolin-1* 的下游靶蛋白 β -catenin 和 $\alpha 5$ -integrin 表达

Western blot 结果显示,在绒毛膜癌细胞 JEG3

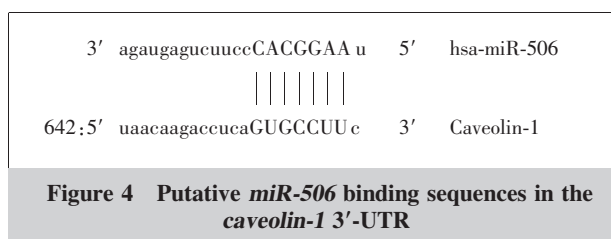
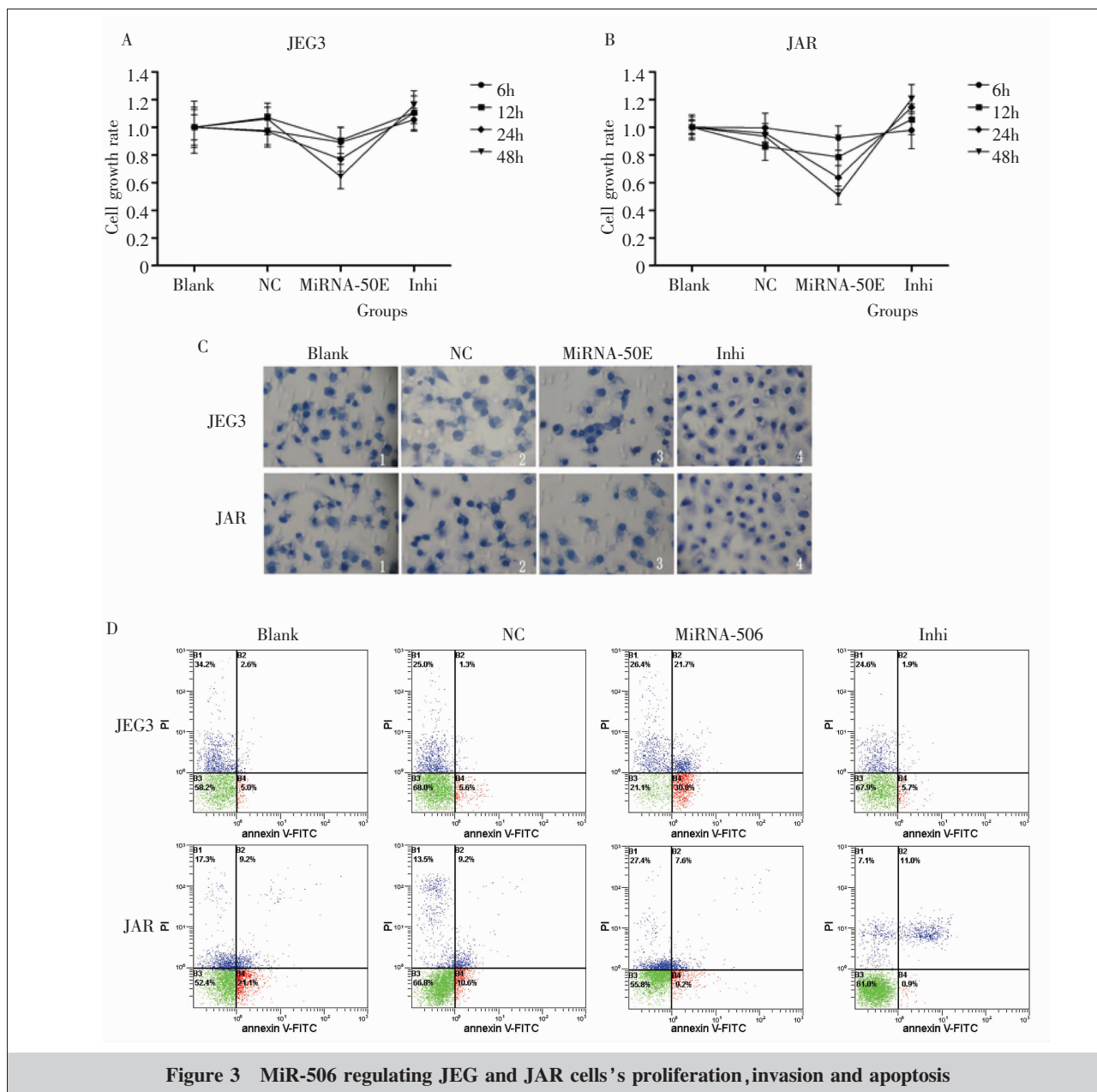
Table 2 The relative expression levels of *miR-506* in JEG3 and JAR cells

Groups	JEG3	JAR
Blank	1.001±0.097	1.078±0.077
NC	1.059±0.084	1.054±0.087
MiR-506	5.067±0.722*	5.402±1.055*
Inhi	0.452±0.069*	0.307±0.050*
<i>F</i>	402.603	229.287
<i>P</i>	<0.05	<0.05

Note: Compared with the NC; *: $P<0.05$.

Table 3 The apoptotic rate of JEG3 and JAR cells regulated by miR-506(%)

Cells	Blank	NC	MiR-506	Inhi	<i>F</i>	<i>P</i>
JEG3	32.33±4.41	29.13±5.38	47.99±8.93	23.92±3.47	36.741	<0.05
JAR	26.41±3.38	24.42±5.47	34.73±6.40	19.55±3.13	20.857	<0.05



和JAR中,miR-506 mimic 转染组细胞 caveolin-1 蛋白表达量较阴性对照组和空白对照组下降,而转染miR-506 inhibitor 后蛋白表达量升高,差异有统计学意义($P<0.05$),阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。提示 miR-506 可抑制 caveolin-1

表达。与空白组相比, β -catenin, α 5-integrin 表达在miR-506 组显著下降,Inhi 组显著增加,差异具有统计学意义,阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义。提示 miR-506 可抑制 caveolin-1 下游靶蛋白活性和表达(Figure 5;Table 5)。

3 讨论

由于绒毛膜癌低发病率及缺乏适当的研究对照,目前我们对其了解非常有限^[14]。此外,多样的发病原因使疾病的研究更加复杂,细胞遗传学分析表

Table 4 Caveolin-1 as a target of miR-506 in JEG3 and JAR cells

Groups	JEG3		JAR	
	Mut-CAV1	Wt-CAV1	Mut-CAV1	Wt-CAV1
NC	24.25±4.77	21.87±3.22	22.97±3.60	21.58±3.95
MiR-506	23.34±6.29	13.18±2.34	21.36±4.41	11.33±1.69
<i>t</i>	0.365	6.897	0.897	7.547
<i>P</i>	0.720	0.000	0.381	0.000

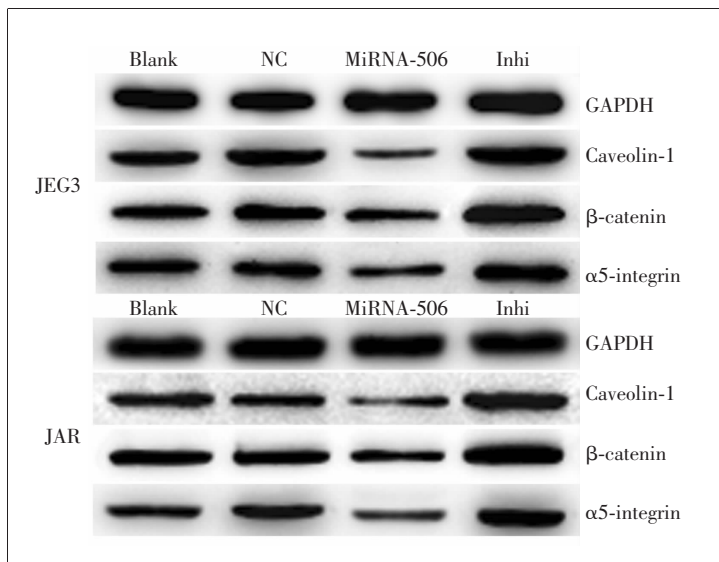


Figure 5 MiR-506 regulating the expressions of β -catenin, and α 5-integrin in JEG3 and JAR cells

Table 5 Western blot analysis of caveolin-1, β -catenin, and α 5-integrin in transfected cells

Items		Blank	NC	MiR-506	Inhi	<i>F</i>	<i>P</i>
JEG3	Caveolin-1	0.446±0.091	0.464±0.058	0.149±0.021	0.579±0.083	84.588	0.000
	β -catenin	0.458±0.074	0.476±0.102	0.216±0.027	0.665±0.094	63.539	0.000
	α 5-integrin	0.537±0.069	0.516±0.064	0.181±0.024	0.588±0.058	126.553	0.000
JAR	Caveolin-1	0.415±0.061	0.423±0.072	0.171±0.015	0.624±0.083	103.718	0.000
	β -catenin	0.525±0.084	0.532±0.103	0.256±0.042	0.769±0.126	59.639	0.000
	α 5-integrin	0.451±0.079	0.457±0.079	0.197±0.024	0.613±0.017	60.161	0.000

明,绒毛膜癌的发生可以影响几乎所有的染色体,而且没有一致的异常结构^[15]。绒毛膜癌是一种罕见的疾病,如果不及时治疗,可迅速扩散,患者死亡率接近 100%^[13]。因此,揭示绒毛膜癌发生发展机制和找到更加有效的治疗靶点,将会对绒毛膜癌的预防、诊断和治疗具有重大意义。

越来越多的证据表明,microRNA 失调与包括癌症在内的多种人类疾病的发病机制有关^[16]。Mi-croRNA 可以作为恶性肿瘤抑制基因或致癌基因,并在肿瘤发生发展中涉及调节多个细胞通路和功能^[17]。既往研究发现 miR-506 作为抗肿瘤 mi-croRNA 抑制人支气管上皮细胞恶性转化,并且

miR-506 的升高在体内外均可抑制肿瘤细胞的生长^[18]。此外,miR-506 可增强 E-钙黏蛋白表达,靶向作用于 snail 家族 SNAIL2 抑制细胞侵袭和抑制 TGF- β 诱导的上皮-间质转化(EMT)^[19]。在肿瘤组织中 miR-506 表达减少与卵巢癌患者的不良预后显著相关^[20]。在其他类型肿瘤中 miR-506 的表达也被发现,越来越多的证据表明,miR-506 是一个肿瘤抑制基因。

在胰腺导管腺癌中,caveolin-1 的表达与肿瘤体积、阶段和恶性程度显著相关^[21]。在乳腺癌的转移瘤中 caveolin-1 过表达,并且与肿瘤分期和临床预后密切相关^[11]。在低分化、静脉侵袭及肝内转移的肝癌组织中也发现 caveolin-1 的显著上调^[22]。Caveolin-1 与肿瘤干细胞自我更新和患者的肿瘤标志物 CA199 密切相关^[23]。Caveolin-1 与肿瘤耐药、转移、肿瘤干细胞形成和肿瘤恶性程度均密切相关^[11]。既往研究发现 microRNA 在调节 Caveolin-1 的表达和功能方面具有重要作用,如 miR-205 可通过抑制 caveolin-1 的表达抑

制胰腺癌细胞的增殖^[9]。

β -catenin 及 α 5-integrin 作为 caveolin-1 下游靶蛋白,可被 caveolin-1 调节进而影响肿瘤细胞的增殖和侵袭能力^[3]。

本研究在绒毛膜癌中开展 miR-506 的功能

及作用机制探讨。通过对临床标本中 miR-506 表达量的分析发现 miR-506 在肿瘤组织中表达显著低于正常对照组,意味着 miR-506 在绒毛膜癌的发生发展中也起着关键作用。随后细胞实验证明了 miR-506 表达水平升高抑制肿瘤的增殖、侵袭能力,miR-506 在绒毛膜癌中发挥肿瘤抑制作用。为了进一步探究 miR-506 抑制绒毛膜癌的作用机制,通过生物信息学分析找到 miR-506 可能作用的靶基因 caveolin-1,通过双荧光素实验以及 Western blot 实验等证实了 miR-506 可结合到 caveolin-1 3'UTR 区,降低 caveolin-1 的表达量。在临床标本中也观察到 miR-506 与 caveolin-1 表达呈负相关。对 caveolin-1

在肿瘤中参与作用的相关蛋白进行检测发现,miR-506 通过下调 caveolin-1 表达,进而抑制 β -catenin 及 $\alpha 5$ -integrin,从而发挥抗肿瘤作用。MiR-506 及 caveolin-1 可能作为新的治疗靶标为肿瘤的诊治研究提供方向。

参考文献:

- [1] Froeling FEM,Seckl MJ. Gestational trophoblastic tumours:an update for 2014 [J]. Curr Oncol Rep,2014,16(11):408-410.
- [2] Seckl MJ,Sebire NJ,Berkowitz RS. Gestational trophoblastic disease [J]. Lancet,2010,376(9742):717-729.
- [3] Xie LS,Zhao TC,Cai J,et al. Methotrexate induces DNA damage and inhibits homologous recombination repair in choriocarcinoma cells [J]. Onco Targets Ther,2016,9:7115-7122.
- [4] May T,Goldstein DP,Berkowitz RS. Current chemotherapeutic management of patients with gestational trophoblastic neoplasia[J]. Chemother Res Pract,2011,2011:806256.
- [5] Shi D,Tan Z,Lu R,et al. MicroRNA-218 inhibits the proliferation of human choriocarcinoma JEG-3 cell line by targeting Fbxw8 [J]. Biochem Biophys Res Commun,2014,450(4):1241-1246.
- [6] Lee Y,Ahn C,Han JJ,et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing[J]. Nature,2003,425(6956):415-419.
- [7] Gregory RI,Chendrimada TP,Cooch N,et al. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing [J]. Cell,2005,123(4):631-640.
- [8] Cheng Y,Dong L,Zhang J,et al. Recent advances in microRNA detection [J]. Analyst,2018,143(8):1758-1774.
- [9] Wang S,Wang N,Zheng Y,et al. Caveolin-1:an oxidative stress-related target for cancer prevention [J]. Oxid Med Cell Longev,2017,2017:7454031.
- [10] Fridolfsson HN,Roth DM,Insel PA,et al. Regulation of intracellular signaling and function by caveolin [J]. FASEB J,2014,28(9):3823-3831.
- [11] Wang Z,Wang N,Liu P,et al. Caveolin-1,a stress-related oncotarget,in drug resistance [J]. Oncotarget,2015,6(35):37135-37150.
- [12] Burgermeister E,Liscovitch M,Roecken C,et al. Caveats of caveolin-1 in cancer progression [J]. Cancer Lett,2008,268(2):187-201.
- [13] Zhang JY,Sun Y,Role of microRNA-506 in different tumors[J]. Chinese Journal of Clinical Oncology 2016,43(3):121-124.[张靖宜,孙燕. MicroRNA-506 在不同肿瘤中作用的研究进展[J]. 中国肿瘤临床,2016,43(3):120-124.]
- [14] Hoffner L,Surti U. The genetics of gestational trophoblastic disease:a rare complication of pregnancy [J]. Cancer Genet,2012,205(3):63-77.
- [15] Cheung ANY,Zhang HJ,Xue WC,et al. Pathogenesis of choriocarcinoma:clinical,genetic and stem cell perspectives [J]. Future Oncol,2009,5(2):217-231.
- [16] Lin S,Gregory RI. MicroRNA biogenesis pathways in cancer [J]. Nat Rev Cancer,2015,15(6):321-333.
- [17] Kong KL,Kwong DLW,Chan THM,et al. MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like growth factor 1 receptor [J]. Gut,2012,61(1):33-42.
- [18] Zhao Y,Liu H,Li Y,et al. The role of miR-506 in transformed 16HBE cells induced by anti-benzo a pyrene-trans-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide [J]. Toxicol Lett,2011,205(3):320-326.
- [19] Yu Z,Zhang Y,Gao N,et al. Overexpression of miR-506 inhibits growth of osteosarcoma through Snail2 [J]. Am J Transl Res,2015,7(12):2716-2723.
- [20] Yang D,Sun Y,Hu L,et al. Integrated analyses identify a master microRNA regulatory network for the mesenchymal subtype in serous ovarian cancer[J]. Cancer Cell,2013,23(2):186-199.
- [21] Tanase CP,Dima S,Mihai M,et al. Caveolin-1 overexpression correlates with tumour progression markers in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. J Mol Histol,2009,40(1):23-29.
- [22] Tang Y,Zeng X,He F,et al. Caveolin-1 is related to invasion,survival,and poor prognosis in hepatocellular cancer [J]. Med Oncol,2012,29(2):977-984.
- [23] Shan T,Lu H,ji H,et al. Loss of stromal caveolin-1 expression;a novel tumor microenvironment biomarker that can predict poor clinical outcomes for pancreatic cancer [J]. PLoS One,2014,9(6):e97239.