

MiR-655 对结直肠癌细胞奥沙利铂化疗敏感性的影响

宣斌¹, 郭运生¹, 武玉¹, 张浩¹, 张方亮²

(1. 秦皇岛市第一医院, 河北 秦皇岛 066000; 2. 河北北方学院, 河北 张家口 075000)

摘要: [目的] 探讨 miR-655 对结直肠癌细胞奥沙利铂化疗敏感性的影响。[方法] 通过 qRT-PCR 验证奥沙利铂耐药和敏感结直肠癌组织蜡块中 miR-655 的相对表达量; CCK-8 法检测细胞活性; Transwell 检测细胞侵袭能力; 流式细胞术检测细胞周期。[结果] 相比于癌旁的正常组织, 对奥沙利铂耐药的结直肠癌组织中 miR-655 表达量相对较低 (1.24 ± 0.28 vs 0.25 ± 0.12 , $P < 0.01$), 而对奥沙利铂敏感的结直肠癌组织中 miR-655 表达量相对较高 (1.24 ± 0.28 vs 2.68 ± 0.76 , $P < 0.01$)。QRT-PCR 鉴定 miR-655 转染效率结果显示, 在 miR-655 mimics 组中 miR-655 表达水平相对于 miR-NC 组显著升高 (1.70 ± 0.10 vs 0.83 ± 0.07 , $P = 0.004$)。CCK-8 检测细胞活性结果显示, 与 L-OHP/miR-NC 组相比, L-OHP/miR-655 mimics 组细胞活性降低 (48h: 0.79 ± 0.05 vs 0.56 ± 0.03 , $P = 0.0015$; 72h: 0.65 ± 0.05 vs 0.25 ± 0.05 , $P = 0.0081$)。Transwell 法检测细胞的侵袭能力结果显示, 与 L-OHP/miR-NC 组相比, L-OHP/miR-655 mimic 组细胞侵袭数量减少 (845 ± 85 vs 613 ± 36 , $P = 0.0292$)。流式细胞术检测细胞周期结果显示, 与 L-OHP/miR-NC 组 G₀/G₁ 期相比, L-OHP/miR-655 mimics 组细胞比例增加 (5.16 ± 0.22 vs 45.53 ± 0.75 , $P = 0.022$), 与 L-OHP/miR-NC 组 S 期相比, L-OHP/miR-655 mimics 组细胞比例降低 (44.83 ± 1.17 vs 20.75 ± 0.36 , $P = 0.015$), 与 L-OHP/miR-NC 组 G₂/M 期相比, L-OHP/miR-655 mimics 组细胞比例减少 (22.86 ± 1.21 vs 3.85 ± 0.35 , $P = 0.0023$)。[结论] MiR-655 能够提高结直肠癌细胞对奥沙利铂的化疗敏感性, miR-655 可能成为联合奥沙利铂治疗结直肠癌的新靶点。

关键词: 结直肠肿瘤; miR-655; 奥沙利铂; 敏感性

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)12-1056-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.12.B009

The Effect of MiR-655 on Chemotherapy Sensitivity of Colorectal Cancer Cells to Oxaliplatin

XUAN Bin¹, GUO Yun-sheng¹, WU Yu¹, ZHANG Hao¹, ZHANG Fang-liang²

(1. First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, China;

2. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: [Objective] To explore the effect of miR-655 on chemosensitivity of colorectal cancer cells to oxaliplatin (L-OHP). [Methods] The relative expression of miR-655 in colorectal cancer tissue samples from 8 oxaliplatin-resistant patients and 8 oxaliplatin-sensitive patients was detected by qRT-PCR. Human colon cancer SW620 cells were transfected with miR-655 mimic(miR-655 mimics group) and blank vector (miR-NC group), respectively. The viability, invasion ability and cell cycle of SW620 cells was detected by CCK-8 method, Transwell assay and flow cytometry, respectively. [Results] Compared with the adjacent normal tissues, the expression of miR-655 in oxaliplatin-resistant colorectal cancer tissues was decreased (1.24 ± 0.28 vs 0.25 ± 0.12 , $P < 0.01$), while the expression of miR-655 in oxaliplatin-sensitive colorectal cancer tissues was increased (1.24 ± 0.28 vs 2.68 ± 0.76 , $P < 0.01$). The qRT-PCR test showed that the expression of miR-655 in miR-655 mimics group was significantly higher than that in miR-NC group (1.70 ± 0.10 vs 0.83 ± 0.07 , $P = 0.004$). CCK-8 assay showed that compared with L-OHP/miR-NC group, L-OHP/miR-655 mimics group had lower cell viability (48h: 0.79 ± 0.05 vs 0.56 ± 0.03 , $P = 0.0015$; 72h: 0.65 ± 0.05 vs 0.25 ± 0.05 , $P = 0.0081$). Transwell assay showed that compared with L-OHP/miR-NC group, the invasion number of L-OHP/miR-655 mimic group was decreased (845 ± 85 vs 613 ± 36 , $P = 0.0292$). Compared with L-OHP /miR-NC group, the proportion of G₀/G₁ cells in L-OHP/miR-655 mimics group was increased (5.16 ± 0.22 vs 45.53 ± 0.75), while the proportion of S phase and G₂/M phase cells in L-OHP/miR-655 mimics group was decreased (44.83 ± 1.17 vs 20.75 ± 0.36 , $P = 0.015$; 22.86 ± 1.21 vs 3.85 ± 0.35 , $P = 0.0023$, respectively). [Conclusion] The expression of miR-655 in oxaliplatin-resistant colorectal cancer is down-regulated; and miR-655 can improve the sensitivity of colorectal cancer SW620 cells to oxaliplatin chemotherapy.

Subject words: colorectal cancer; miR-655; oxaliplatin; chemosensitivity

基金项目: 秦皇岛市科技支撑项目 (201701B042)

通信作者: 郭运生, 主任医师, 博士; 秦皇岛市第一医院普外科, 河北省秦皇岛市海港区文化路 258 号 (066000); E-mail: gysqhd@126.com

收稿日期: 2020-07-29; **修回日期:** 2020-10-10

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)是全世界排名第4位的一种严重致死性癌症,在每年因癌确诊及因癌死亡病例中约占10%^[1]。CRC早期常无症状,故存在漏诊,多数患者发现时已是中晚期,临床上常以手术治疗为主,辅以化疗、免疫治疗以及其他支持治疗的综合方案,以提高手术切除率,降低复发率,提高生存率。奥沙利铂(oxaliplatin,L-OHP)常被用于CRC患者手术切除后化疗用药,但是由于肿瘤的异质性会对奥沙利铂产生耐药性,导致治疗效果降低^[2-3],因此研究可调节CRC患者奥沙利铂耐药的关键因子对CRC的治疗和预后非常重要。MicroRNAs(miRNAs)是由18~24个核苷酸组成的单链非编码RNA,其不仅与肿瘤的发生、发展、转移密切相关,且一些miRNA被报道可提高CRC患者对奥沙利铂的敏感性^[4-5]。其中,miR-655被报道在肝癌、食管鳞状细胞癌、非小细胞肺癌及视网膜母细胞瘤细胞中低表达,过表达miR-655可显著降低上述癌细胞的增殖、迁移及入侵^[6-9]。然而,目前还没有研究报道miR-655与CRC的关联及其对奥沙利铂敏感性可能的作用机制。本研究拟探究miR-655在CRC的表达情况及对奥沙利铂敏感性的影响,为基因治疗CRC提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

SW620(人结肠癌细胞)细胞系购自美国菌种保存中心。结直肠癌组织蜡块取自秦皇岛市第一医院。奥沙利铂购于辉瑞制药有效公司,反转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒购自Takara公司;石蜡切片miRNA纯化试剂盒购自天根生化科技有限公司;细胞周期流式检测试剂盒购自四正柏生物科技有限公司;反转录及PCR引物由通用生物系统有限公司合成;miRNA mimics/inhibitor由金维智生物科技有限公司合成;CCK-8检测试剂盒购自东仁化学科技有限公司;Trans-well小室购自Millipore公司;细胞培养基、FBS、脂质体转染试剂购自Thermo公司。病理标本选取18例秦皇岛市第一医院相同临床病理分期的原发性结直肠癌患者并行结直肠癌根治术的术后病理标本。本研究2016年11月23日经秦皇岛市第一医院伦理委员会批准。其中Adjacent tissues

组为2例结直肠癌旁正常的组织蜡块;Drug-resistant tissues组为8例术后标本基因检测铂类药物不敏感,且术后应用奥沙利铂化疗后早期出现复发转移者;Drug-sensitive tissues组为8例术后标本基因检测铂类药物敏感,且术后化疗未发现复发转移者。

1.2 方法

1.2.1 石蜡切片 miRNA 纯化

将石蜡样品切成8μm厚的片状,迅速将中间的四张切片置于1.5 ml RNase-free的离心管中,离心(1ml二甲苯、20℃、12 000r/min、2min);再次离心(1ml无水乙醇、20℃、12 000r/min、2min);再加入150μl裂解液RF及10μl Proteinase K混匀后孵育(55℃、15min;80℃、15min)之后;冰上放置3 min后离心(12 000r/min、15min),加入16μl的RDD buffer和10μl的DNase I溶液,混匀。室温放置15min。瞬时离心以收集管壁及管盖上的液滴;加入320μl的缓冲液RB和1120μl的无水乙醇混匀;转移700μl溶液和沉淀入吸附柱CR3中离心(12 000r/min、1min),重复上一步骤,直到所有的溶液和沉淀完全通过吸附柱CR3,弃废液,将吸附柱CR3放回收集管中;向吸附柱CR3中加入500μl漂洗液RW,室温静置2 min后离心(20℃、12 000 r/min、30~60s)将吸附柱CR3置于室温放置数分钟,以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液;将吸附柱CR3转入一个新的RNase-Free离心管中,向吸附膜的中间部位悬空滴加30~100μl RNase-Free ddH₂O,室温放置2min后离心(20℃、12 000r/min、2min)。

1.2.2 QRT-PCR 验证耐药和敏感结直肠癌蜡块组织 miR-655 的相对表达量

按照RNA提取试剂盒说明提取总RNA,分光光度计测定RNA浓度及纯度后按照反转录试剂盒说明进行反转录,条件为:42℃反转录15min,85℃灭活反转录酶5s,用两步法进行扩增,扩增条件:预变性(95℃、30s);变性(95℃、5s);延伸(60℃、35s);40个循环。反应以U6为内参,上游序列:5'-GCTCG-CTTCGGCAGCAC-3';下游序列:5'-AACGCTTCACG-AATTTGCGTG-3'。MiR-655序列:5'-AGAGGUUAU-CCGUGUUAUGUUC-3',反转录引物:5'-GTCGTATCC-AGTGCAGGGTCCGAGGTGCACTGGATACGACGAA-CATA-3'。PCR引物:5'-TGCGGAGAGGTTATCCGT-GTTATG-3'。

1.2.3 细胞转染

在结直肠癌细胞系 SW620 中, 通过转染 miR-655 构建 miR-655 过表达模型, 将细胞分成 3 组: NC、miR-NC、miR-655 mimics。接种 SW620 细胞至 12 孔板中, 培养至汇合度达到 50%~60%; 以无血清无双抗 Opti-MEM 依 Lipo3000 转染试剂说明书转染 miR-655, 每孔转染终浓度 100nM; 转染后 12h, 更换为常规完全培养基, 依实验需求继续培养 36~72h; 收集细胞, 进行后续操作。

1.2.4 QRT-PCR 鉴定 miR-655 转染效率

收集转染后 48h 的细胞, 按照 RNA 提取试剂盒说明提取总 RNA, 分光光度计测定 RNA 浓度及纯度后按照反转录试剂盒说明进行反转录及 qRT-PCR。

1.2.5 CCK-8 法检测细胞活性

将细胞分成 4 组, 分别是阴性对照组(NC)、阴性对照组加奥沙利铂(L-OHP)、miR-NC 加奥沙利铂组(L-OHP/miR-NC) 和 miR-655 mimics 加奥沙利铂组(L-OHP/miR-655)。取对数生长期细胞, 消化后以 1×10^5 ml 密度接种于 96 孔培养板, 37℃、5% CO₂ 培养过夜。转染 miR-655 后加入奥沙利铂, 分别于加药后的 24h、48h、72h 进行检测。每孔加入 10μl CCK-8 试剂, 37℃, 孵育 1h 后, 利用酶标仪测定 450nm 处的吸光度。

1.2.6 Transwell 检测细胞侵袭

将培养的各組 SW620 细胞至对数生长期, 使各组细胞密度达到 5×10^5 cells/ml, 加药组奥沙利铂终浓度为 50μg/ml; 在 24 孔板中孔内加入 600μl 含 10% FBS 的完全培养基, 加药组的药物浓度与 Transwell 小室内浓度相同, 培养 48h。然后 0.1% 的结晶紫染色 20min, 显微镜观察拍照。

1.2.7 流式细胞术检测细胞周期

将细胞密度为 1×10^5 cells/ml 的 SW620 细胞接种于 12 孔板, 培养 24h; 各组依上述药物浓度和转染方式处理, 转染 24h 后加入奥沙利铂处理 24h; 使用 0.25% 的胰酶消化细胞后, 将细胞移至 1.5ml 离心管内; 在 1.5ml 离心管内, 500rpf, 3min 分别收集各组细胞, 4℃遇冷的 PBS 洗 2 次; 以 250μl 预冷的 PBS 重悬细胞后, 以 1ml 的 -20℃浓度为 95% 的乙醇低速震荡并逐滴加至细胞悬液内; 混匀后 4℃固定过夜; 500rpf 离心 3min, 弃上清, 再用预冷的 PBS 洗涤 2

次细胞; 以终浓度为 2.5μg/ml 的 RNaseA 流式缓冲液稀释 PI 至工作浓度后 37℃避光孵育 30min, 染色完成后立即进行流式检测。

1.3 统计学处理

应用 SPSS16.0 软件处理, 实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

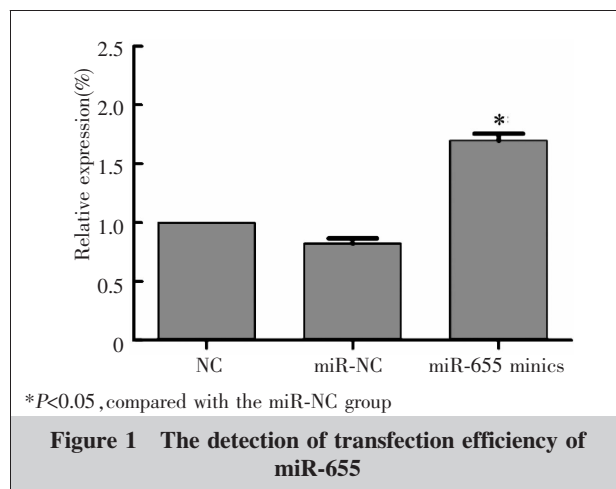
2 结果

2.1 结直肠癌蜡块组织 miR-655 相对表达量

QRT-PCR 结果显示, 与癌旁正常组($n=2$)相比, 药物耐受组($n=8$)的 miR-655 相对表达量低 (1.24 ± 0.28 vs 0.25 ± 0.12 , $P < 0.01$), 而药物敏感组($n=8$)miR-655 的相对表达量比癌旁正常组高 (1.24 ± 0.28 vs 2.68 ± 0.76 , $P < 0.01$), miR-655 可能为提高结直肠癌对奥沙利铂的敏感性提供帮助。

2.2 MiR-655 转染效率

为了验证 miR-655 在奥沙利铂治疗结直肠癌敏感性中的作用, 向结直肠癌细胞(SW620 细胞)中转染 miR-655 mimics。qRT-PCR 检测结果显示: 在 miR-655 mimics 组中 miR-655 表达水平 (1.70 ± 0.10) 相对于 miR-NC 组 (0.83 ± 0.07) 显著升高 ($P = 0.0004$, Figure 1), 说明 miR-655 转染成功。



2.3 MiR-655 对细胞活性的影响

为了进一步确定 miR-655 对结直肠癌细胞奥沙利铂治疗的影响, CCK-8 法检测发现: 48h 之后, 与 L-OHP/miR-NC 组 (0.79 ± 0.05) 相比, L-OHP/miR-655 mimics 组 (0.56 ± 0.03) 细胞活性降低 ($P = 0.0015$, Fig-

ure 2)。同样地,72h 之后,与 L-OHP/miR-NC 组 (0.65 ± 0.05) 相比,L-OHP/miR-655 mimics 组 (0.25 ± 0.05) 细胞活性降低 ($P=0.0081$, Figure 2)。其活力随时间呈递减趋势,miR-655 过表达能够降低 SW620 细胞的活性。

2.4 MiR-655 对细胞侵袭的影响

Transwell 法检测 miR-655 对结直肠癌细胞侵袭作用的影响,结果显示:与 L-OHP/miR-NC 组 (845 ± 85) 相比,L-OHP/miR-885 inhibitor 组 (613 ± 36) 细胞的侵袭数量明显减少 ($P=0.0292$, Figure 3),表明 miR-655 能够降低 SW620 细胞的侵袭能力。

2.5 MiR-655 对耐药株细胞周期的影响

结果显示,与 L-OHP/miR-NC 组 ($5.16\% \pm 0.22\%$)

G₀/G₁ 期相比,L-OHP/miR-655mimics 组 ($45.53\% \pm 0.75\%$) 细胞比例增加 ($P=0.022$),与 L-OHP/miR-NC 组 ($44.83\% \pm 1.17\%$) S 期相比,L-OHP/miR-655 mimics 组 ($20.75\% \pm 0.36\%$) 细胞比例降低 ($P=0.015$),与 L-OHP/miR-NC 组 ($22.86\% \pm 1.21\%$) G₂/M 期相比,L-OHP/miR-655 mimics 组 ($3.85\% \pm 0.35\%$) 细胞比例减少 ($P=0.0023$),miR-655 使 SW620 细胞阻滞在 G₀/G₁ 期(Figure 4)。

3 讨论

目前,手术治疗 CRC 为治疗的首选,但转移性疾病患者的肿瘤是不可切除的^[10]。以奥沙利铂为基础

的化疗是晚期结直肠癌的一线治疗方案。然而,长期使用通常会降低癌细胞的药物敏感性,而获得性耐药的发展仍然是一个主要障碍^[11-12]。针对结直肠癌患者出现奥沙利铂耐药无有效治疗手段,寻找治疗靶点及对奥沙利铂耐药性的预防治疗很有必要。本研究发现,miR-655 作为一种重要的抗肿瘤因子和肿瘤发展的抑制子^[6-9],其在 CRC 患者奥沙利铂耐药组表达水平显著下调。利用体

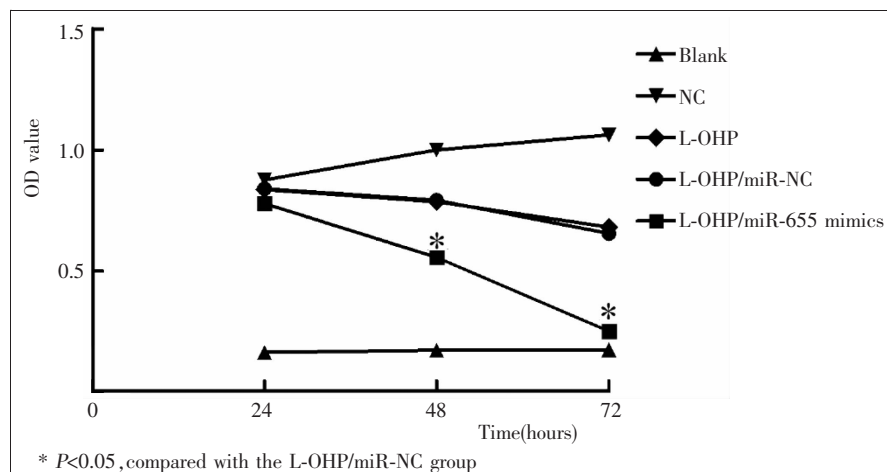


Figure 2 The high expression of miR-655 inhibits the cell viability

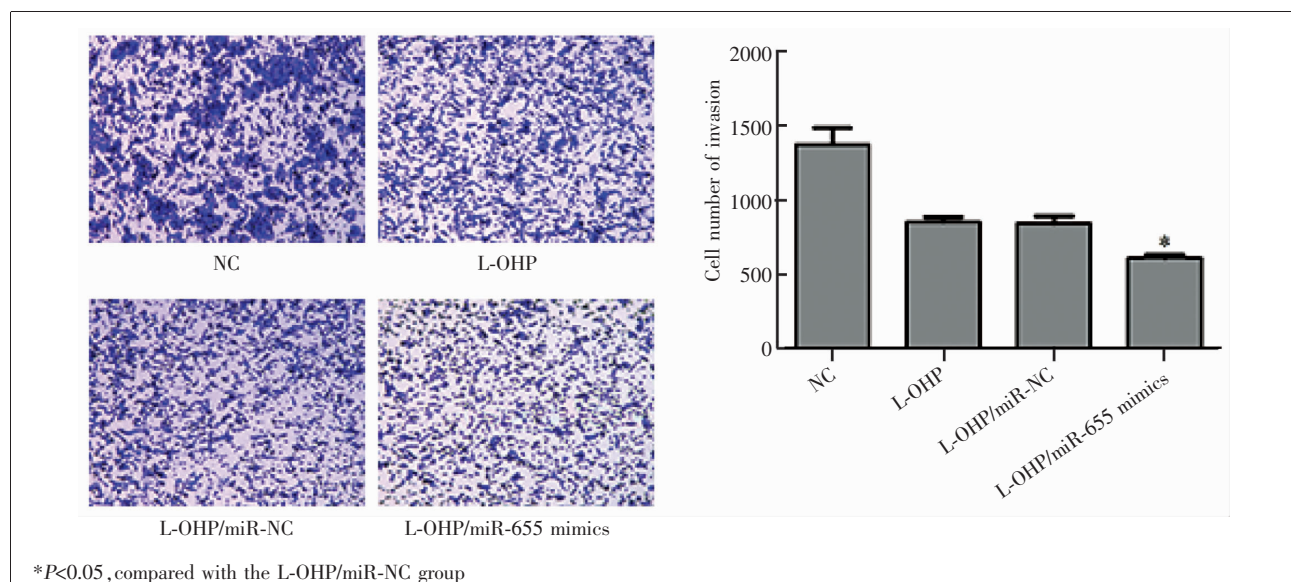
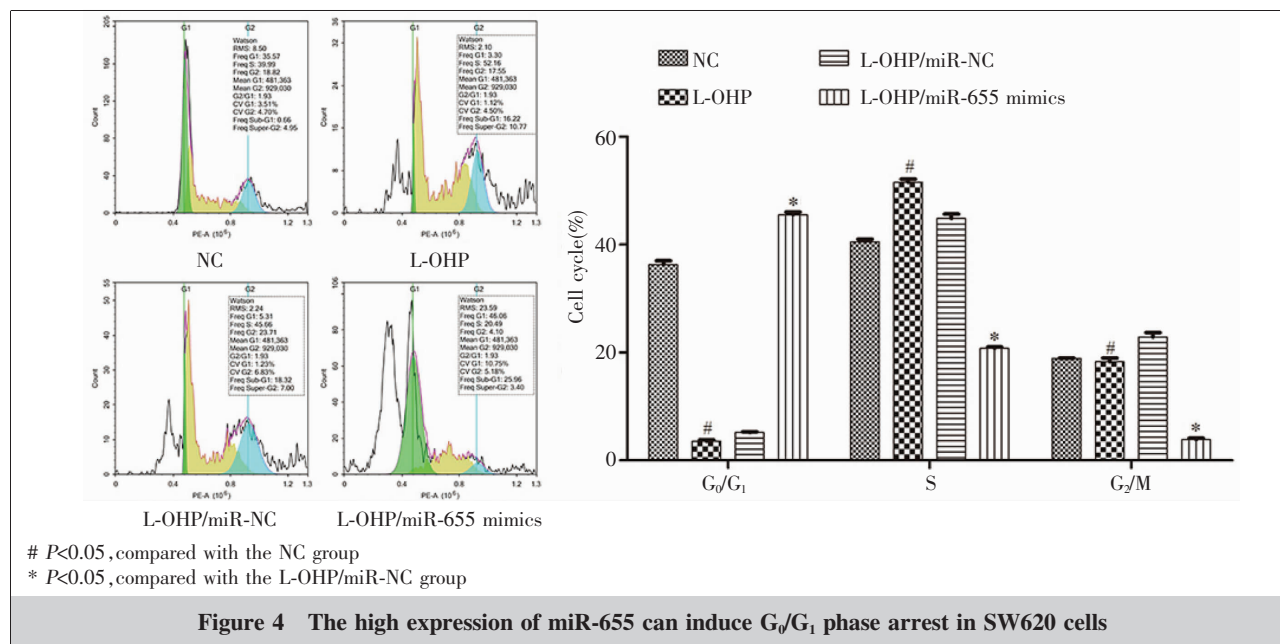


Figure 3 The high expression of miR-655 attenuate the invasion ability of SW620 cells



外结肠癌细胞系 SW620 在奥沙利铂作用的同时过表达 miR-655,引起细胞活性及细胞侵袭能力降低,且使细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期。因此我们推测 miR-655 在奥沙利铂耐药的 CRC 患者中发挥重要作用。

MicroRNAs (miRNAs) 作为一种稳定的标志分子,其表达水平高低不仅可反应癌症治疗的不良预后程度^[13],也可一定程度上反应奥沙利铂的敏感性,本研究结果显示,奥沙利铂敏感的 CRC 组织中 miR-655 高表达,而在奥沙利铂耐药的 CRC 组织中 miR-655 低表达,提示 miR-655 表达水平作为判定奥沙利铂治疗 CRC 患者疗效标志的可能。奥沙利铂治疗 CRC 原理主要是通过铂-DNA 复合物,破坏 DNA 正常结构从而抑制 DNA 复制和转录^[4]。本研究中 NC 相比 L-OHP 组,存在显著的 S 期阻滞,L-OHP/miR-655 mimics 相比于 L-OHP/miR-NC 组,存在显著的 G₀/G₁ 期阻滞,提示 miR-655 对奥沙利铂敏感性有提高作用。但 miRNA 对 CRC 患者奥沙利铂耐药的缓解机制研究目前尚不明确。

目前对 CRC 患者发生奥沙利铂耐药的机制研究认为有可能是通过激活 ATP-结合的药物转运体 (ABCG2) 从而缓解内质网应激引起的凋亡^[10],也有研究认为,FOXG2 基因(调节上皮-间充质转移)可通过 MAPK/ERK 信号通路促进 CRC 患者发生奥沙利铂耐药^[14]。MiRNA 是一种内源性非编码小 RNA,具有潜在的非靶向沉默效应,其在体内可以一组编码基因为目标,抑制基因表达^[15]。研究报道显示,在

乳腺癌患者中,miR-655 可通过下调 *Prrx1* 基因,抑制上皮-间充质细胞的转换行为^[16]。上调 *miR-655* 基因表达可以通过靶向调控垂体瘤转化基因-1(PTTG1)的表达,抑制初期食管鳞状细胞瘤细胞的侵袭性^[17]。肝细胞癌中 miR-655 低表达,利用体外肝癌细胞系进行 miR-655 转染高表达技术,发现 ADAM10 可作为 miR-655 的靶基因,进一步调控 β -catenin 信号通路活性,抑制细胞增殖,迁移及侵袭行为^[5]。此外,miR-655 还可靶向作用 *RAB1A* 基因发挥其在卵巢癌细胞中抗肿瘤作用^[18]。因此,我们推测 miR-655 对 CRC 患者奥沙利铂耐药性的调节机制,可能是通过靶向作用某些基因的表达来实现,仍需要进一步探究。

综上,本实验发现 miR-655 能够提高结直肠癌对奥沙利铂化疗的敏感性,这为治疗预防结直肠癌奥沙利铂耐药提供新的靶点,但还需进一步研究 miR-655 提高结直肠癌敏感性的具体机制。

参考文献:

- [1] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer [J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480.
- [2] Vogel A, Hofheinz RD, Kubicka S, et al. Treatment decisions in metastatic colorectal cancer- beyond first and second line combination therapies [J]. Cancer Treat Rev, 2017, 59: 54-60.
- [3] Buccafusca G, Proserpio I, Tralongo AC, et al. Early colorectal cancer: diagnosis, treatment and survivorship care [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2019, 136: 20-30.

- [4] Liu T,Zhang X,Du L,et al. Exosome-transmitted miR-128-3p increase chemosensitivity of oxaliplatin-resistant colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*,2019,18(1):43.
- [5] Gui P,Li ZX,Wu H,et al. Advances in miRNA targeting regulation of drug resistance in osteosarcoma [J]. *China Cancer*,2019,28(9):694–698.[贵鹏,李朝旭,吴昊,等. MiRNA 靶向调控骨肉瘤耐药机制的研究进展[J]. *中国肿瘤*,2019,28(9):694–698.]
- [6] Wu G,Zheng K,Xia S,et al. MicroRNA-655-3p functions as a tumor suppressor by regulating ADAM10 and β -catenin pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2016,35(1):89.
- [7] Kiuchi J,Komatsu S,Imamura T,et al. Low levels of tumour suppressor miR-655 in plasma contribute to lymphatic progression and poor outcomes in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Cancer*,2019,18(1):2.
- [8] Wang W,Cao R,Su W,et al. miR-655-3p inhibits cell migration and invasion by targeting pituitary tumor-transforming 1 in non-small cell lung cancer [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*,2019,83(9):1703–1708.
- [9] Zhang M,Li Q,Pan Y,et al. MicroRNA-655 attenuates the malignant biological behaviours of retinoblastoma cells by directly targeting PAX6 and suppressing the ERK and p38 MAPK signalling pathways [J]. *Oncol Rep*,2018,39(4):2040–2050.
- [10] Evrard S,Torzilli G,Caballero C,et al. Parenchymal sparing surgery brings treatment of colorectal liver metastases into the precision medicine era [J]. *Eur J Cancer*,2018,104:195–200.
- [11] Hsu HH,Chen MC,Baskaran R,et al. Oxaliplatin resistance in colorectal cancer cells is mediated via activation of ABCG2 to alleviate ER stress induced apoptosis [J]. *J Cell Physiol*,2018,233(7):5458–5467.
- [12] Li N,Li Y,Wan XY,et al. *KLF4* transcription factor regulated by microRNA-34a in 5-Fu chemotherapy resistance of colorectal cancer [J]. *China Cancer*,2020,29(2):148–153.[李娜,李赞,万小亚,等. MicroRNA-34a 调控 *KLF4* 转录因子在结直肠癌 5-Fu 耐药中的作用[J]. *中国肿瘤*,2020,29(2):148–153.]
- [13] Zhao XQ,Liang B,Jiang K,et al. Down-regulation of miR-655-3p predicts worse clinical outcome in patients suffering from hepatocellular carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2017,21(4):748–752.
- [14] Chen Y,Deng G,Fu Y,et al. FOXC2 promotes oxaliplatin resistance by inducing epithelial-mesenchymal transition via MAPK/ERK signaling in colorectal cancer [J]. *Onco Targets Ther*,2020,13:1625–1635.
- [15] Li Y,Zheng Q,Bao C,et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes;a promising biomarker for cancer diagnosis[J]. *Cell Res*,2015,25(8):981–984.
- [16] Lv ZD,Kong B,Liu XP,et al. MiR-655 suppresses epithelial-to-mesenchymal transition by targeting Prrx1 in triple-negative breast cancer[J]. *J Cell Mol Med*,2016,20(5):864–873.
- [17] Wang Y,Zang W,Du Y,et al. Retraction note:miR-655 up-regulation suppresses cell invasion by targeting pituitary tumor-transforming gene-1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Transl Med*,2020,18(1):89.
- [18] Zha JF,Chen DX. MiR-655-3p inhibited proliferation and migration of ovarian cancer cells by targeting RAB1A[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2019,23(9):3627–3634.