

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

miR-127在肺癌中的表达及功能

李建波, 江文凇, 樊汉利

引用本文:

李建波, 江文凇, 樊汉利. miR-127在肺癌中的表达及功能[J]. 肿瘤防治研究, 2019, 46(04): 301-304.

LI Jianbo, JIANG Wenlin, FAN Hanli. Expression and Function of miR-127 in Lung Cancer[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2019, 46(04): 301-304.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1559>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

miRNA-451通过MRP靶向调控胃癌细胞对5-Fu耐药性的机制研究

Mechanism of miRNA-451 Regulating Resistance of Gastric Cancer Cells to 5-Fu Through MRP
肿瘤防治研究. 2019, 46(12): 1073-1077 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0618>

miR-144对胰腺癌SW1990细胞增殖、迁移、侵袭及PI3K通路的影响

Effects of miR-144 on Proliferation, Migration, Invasion and PI3K Pathway of Pancreatic Cancer SW1990 Cells
肿瘤防治研究. 2019, 46(10): 879-883 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1524>

反义寡核苷酸下调miRNA-21表达对人结肠癌模型体内生长的作用

Effects of Antisense Oligonucleotides Against miRNA-21 on Growth of Human Colon Cancer Cells *in vivo*
肿瘤防治研究. 2019, 46(06): 504-508 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1435>

miR-135a-5p、GATA3和STAT3在宫颈癌中的表达及其相关性

Expression and Correlation of miR-135a-5p, GATA3 and STAT3 in Cervical Cancer
肿瘤防治研究. 2019, 46(04): 338-344 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1040>

miR-23a靶向NID2通过Notch通路调控肺癌细胞的侵袭和迁移

miR-23a Targeting NID2 Regulates Invasion and Migration of Lung Cancer Cells Through Notch Pathway
肿瘤防治研究. 2017, 44(6): 381-386 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0035>



杂志官网



微信公众号

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1559

• 基础研究 •

miR-127在肺癌中的表达及功能

李建波, 江文凇, 樊汉利

Expression and Function of miR-127 in Lung Cancer

LI Jianbo, JIANG Wenlin, FAN Hanli

Department of Cardiothoracic Surgery, The Fourth Hospital of Wuhan City, Puai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430031, China

Corresponding Author: FAN Hanli, E-mail: 32166com@sina.com

Abstract: Objective To investigate the expression of miR-127 in lung cancer and its effect on biological characteristics of lung cancer cells. **Methods** The lung cancer and adjacent tissues of 20 patients were collected, and the expression levels of miR-127 in lung cancer and adjacent tissues were detected by real-time polymerase chain reaction (PCR). A549 cell line were transfected with miR-127 mimics. The proliferation activity of lung cancer cells in miR-127 mimics group and negative control (NC) group were detected by cell colony formation assay and MTT assay. Transwell assay were performed to calculate the number of lung cancer cells passing through the membrane, and to analyze the relationship between miR-127 and the migration of lung cancer cells. **Results** The expression of miR-127 in lung cancer tissues was significantly lower than that in adjacent normal tissues (0.55 ± 0.05 vs. 1.45 ± 0.13 , $P=0.001$). The expression of miR-127 in lung cancer tissues was decreased with the increased malignancy degree of pathological stage ($H=6.528$, $P=0.034$). The cell viability and proliferation of miR-127 mimics group were significantly inhibited ($P=0.0032$; $P=0.0045$). The number of lung cancer cells passing through the membrane in miR-127 mimics group was significantly lower than that in the NC group ($79 \pm 18/\text{field}$ vs. $352 \pm 21/\text{field}$, $P=0.002$). **Conclusion** The expression of miR-127 is decreased in lung cancer tissues, and it inhibits the proliferation and migration of lung cancer cells. It can be used as a potential clinical diagnostic marker for lung cancer, providing a new idea for early diagnosis and treatment of lung cancer.

Key words: Lung cancer; miR-127; Biological characteristics

摘要: 目的 探讨miR-127在肺癌中的表达及其对肺癌细胞生物学特性的影响。方法 收集20例患者的肺癌组织及癌旁组织,通过实时荧光定量PCR检测miR-127在肺癌及癌旁组织中的表达水平。应用mimics转染A549细胞株,采用平板克隆、MTT法检测miR-127 mimics组、空白载体转染组(NC)肺癌细胞的增殖活性。Transwell实验计算肺癌细胞过膜数量,研究miR-127与肺癌细胞迁移作用的关系。结果 miR-127在肺癌组织中的表达显著低于癌旁正常组织(0.55 ± 0.05 vs. 1.45 ± 0.13 , $P=0.001$)。肺癌组织中miR-127的表达随着病理分期恶性程度的增高而降低($H=6.528$, $P=0.034$)。平板克隆及MTT实验结果显示miR-127 mimics组的细胞活性及增殖明显受抑制($P=0.0032$; $P=0.0045$)。Transwell实验显示miR-127 mimics组的细胞过膜数量($79 \pm 18/\text{视野}$)明显低于NC组($352 \pm 21/\text{视野}$),差异有统计学意义($P=0.002$)。结论 miR-127在肺癌组织中低表达,其在抑制肺癌细胞的增殖和转移过程中发挥重要作用,可作为肺癌的潜在临床诊断标志物。

关键词: 肺癌; miR-127; 生物学特性

中图分类号: R734.2

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

肺癌的发病率及死亡率在所有恶性肿瘤中排

名第一^[1],目前我国肺癌发病率及死亡率呈逐年升高趋势,严重威胁国民健康^[2]。早期肺癌的治疗仍以手术为主,但对于晚期肺癌患者,五年生存率仅有大约4%。因此对肺癌的早期诊断和治疗显得尤为重要。目前越来越多的证据证明非编码RNA,如miRNA,靶向作用于目标基因mRNA,引发目标mRNA的降解,从而调节致癌基因和抑癌基因的蛋白表达^[3-5]。很多研究显示,

收稿日期: 2018-10-22; 修回日期: 2019-02-11

基金项目: 武汉市医学科研项目 (wh01004073)

作者单位: 430031 武汉, 武汉市第四医院, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院心胸外科

通信作者: 樊汉利, E-mail: 32166com@sina.com

作者简介: 李建波 (1979-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事心胸外科的临床和基础研究

miRNA参与肺癌增殖、侵袭和转移的调控^[6-8]。

人类miR-127基因位于染色体14q32.31的一个包括miR-136、miR-431、miR-432、miR-433、miR-337和miR-665的miRNA族，位于Dlk/Gtl2的印记区域，反方向转录为Rtl1基因。人类miR-127基因前体可以表达两个成熟的miRNA，miR-127-3p和miR-127-5p^[9]。近年来有学者开始研究miR-127在肿瘤中的作用，如Bier等^[10]的研究表明miR-127在神经胶质母细胞瘤、胰腺癌、乳腺癌和结肠癌中表达下调。Chen等^[11]发现胃癌细胞系miR-127高表达后抑制细胞增殖、细胞周期进程、细胞的迁移和侵袭。吴新华等^[12]研究发现宫颈癌miR-127低表达，宫颈癌组织miR-127表达检测有助于预测淋巴结转移情况和患者预后。然而miR-127在肺癌中的作用还未见报道，因此本文旨在研究miR-127在肺癌中的表达及其对肺癌细胞生物学特性的影响。

1 资料与方法

1.1 组织标本与细胞

本次研究组织标本来自华中科技大学同济医学院附属武汉市普爱医院2012年1月至2018年1月的20例肺癌患者的癌组织及其相应癌旁组织，其中男12例、女8例，年龄43~78岁（62.3±7.45）岁，其中腺癌7例、鳞癌13例；病理分期为I期7例、II期5例、III期4例、IV期4例。肺癌细胞株A549购自中国科学院上海细胞库，采用DMEM培养基培养（购自美国Hyclone公司），胎牛血清购自美国Gibco公司。

1.2 实时荧光定量PCR测定各组miR-127含量

采用试剂盒提取肺癌组及癌旁组织组中的总RNA，用实时荧光定量PCR法测定各组miR-127表达量，内参使用GAPDH进行标准化。

1.3 肺癌细胞株转染实验

对数生长期的A549细胞接种于6孔板，待细胞密度融合为60%~70%时将细胞分为两组：miR-127 mimics组及空白载体转染组（negative control, NC），分别进行miR-127 mimics及空白载体转染，细胞转染用Lipofectamine2000，具体步骤参照转染试剂说明书。转染后48 h收集细胞内RNA检测miR-127表达水平。

1.4 细胞克隆形成实验

取miR-127 mimics及NC组的A549细胞，以1000个/孔接种于6孔板，细胞培养箱温育1~3周，待细胞克隆形成，使用4%多聚甲醛固定细胞，0.1%结晶紫对细胞群落进行染色，计集落数。

1.5 MTT法检测A549细胞增殖活性

取miR-127 mimics及空白载体转染的A549细胞，以3 000个/孔接种于96孔板培养，实验结束前4 h加入5 mg/ml的MTT 20 μl，继续培养4 h后弃培养液，各孔加入DMSO 150 μl，室温振荡10 min，于酶标仪490 nm波长处测定吸光度（OD）值。

1.6 Transwell实验检测肿瘤细胞侵袭

将Transwell小室置于24孔板后，加入miR-127 mimics和空白载体转染组细胞，小室内加入200 ml无血清培养基，24孔板内加入600 ml血清培养基。培养24 h后取出Transwell小室，擦除未通过小室滤膜的细胞，采用0.1%结晶紫对迁移细胞进行染色、漂洗、固定，任取镜下5个视野进行计数，每组实验重复3次观察其迁移情况。

1.7 统计学方法

采用SPSS22.0软件对数据进行统计分析，研究资料数据服从正态分布，各组数值用均数±标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）表示。两组比较采用t检验方法，多组比较使用方差分析，组内两两比较使用LSD检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-127在肺癌及癌旁组织中的表达

miR-127在肺癌组织（0.55±0.05）中的表达水平显著低于癌旁组织（1.45±0.13），差异有统计学意义（ $P=0.001$ ），提示miR-127可能与肺癌的发生发展相关，见图1。

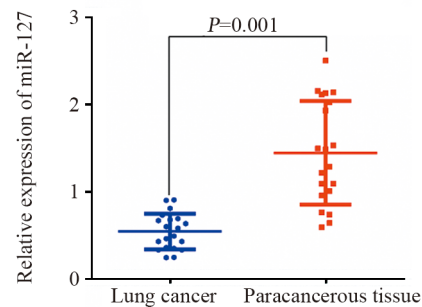


图1 miR-127在肺癌组织及癌旁组织中的表达

Figure 1 Expression of miR-127 in lung cancer tissues and adjacent normal tissues

2.2 miR-127的表达与肺癌病理分期的关系

病理分期为I期的miR-127的表达处于较高水平，II期、III期肺癌组织的miR-127表达相对低分期组而言表达较低，IV期肺癌组织表达水平最低，统计分析显示miR-127的表达水平与病理分期呈正相关（ $H=6.528, P=0.034$ ），见图2。

2.3 miR-127 mimics转染A549细胞

将miR-127 mimics组、NC组进行转染，培养48 h后

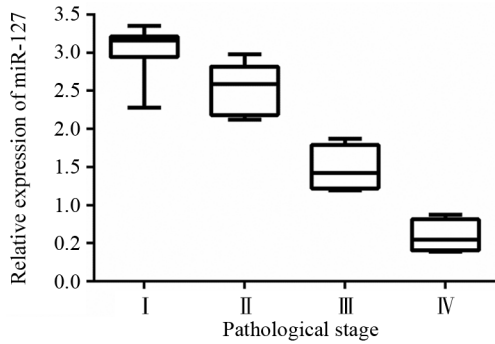
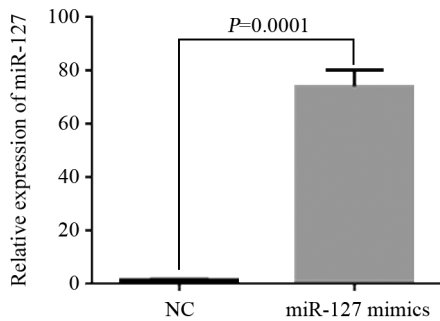


图2 miR-127的表达与肺癌病理分期的关系
Figure2 Relationship between miR-127 expression and pathological stage of lung cancer

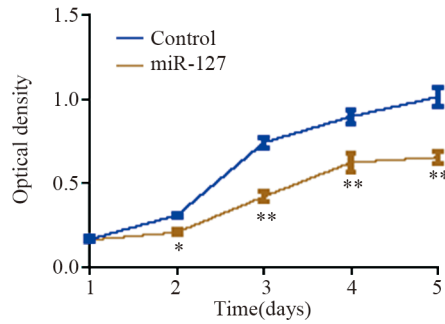
提取RNA检测, miR-127的表达水平结果显示miR-127 mimics组显著高于NC组 ($P=0.0001$), 见图3。



NC: negative control
图3 miR-127 mimics转染A549细胞后miR-127的表达水平
Figure3 Expression of miR-127 in A549 cells after miR-127 mimics transfection

2.4 MTT法检测miR-127对A549细胞增殖的影响
 miR-127 mimics转染后48 h, 用MTT法检测A549细胞miR-127 mimics组和NC组中肺癌细胞的

增殖, 结果显示miR-127 mimics转染显著抑制肺癌细胞的增殖, 差异有统计学意义 ($P=0.0045$), 见图4。此外, 平板克隆形成实验表明, 与NC组相比, miR-127 mimics组中的肺癌细胞A549的集落形成效率显著降低, 见图5。



*: $P<0.05$; **: $P<0.001$
图4 MTT法检测miR-127对A549细胞的增殖
Figure4 Proliferation of A549 cells after miR-127 mimics transfection detected by MTT assay

2.5 Transwell实验检测miR-127对肺癌A549细胞迁移能力的影响

采用Transwell实验观察miR-127 mimics组和NC组肺癌A549细胞的过膜数量, miR-127 mimics组 (79 ± 18 个/视野) 明显低于NC组 (352 ± 21 个/视野), 差异有统计学意义 ($P=0.002$), 见图6。

3 讨论

肺癌是临床常见的恶性肿瘤之一, 其临床死亡率呈逐年上升趋势^[1]。早期肺癌的治疗仍以手术切除为主, 但由于肺癌早期症状不明显, 大多患

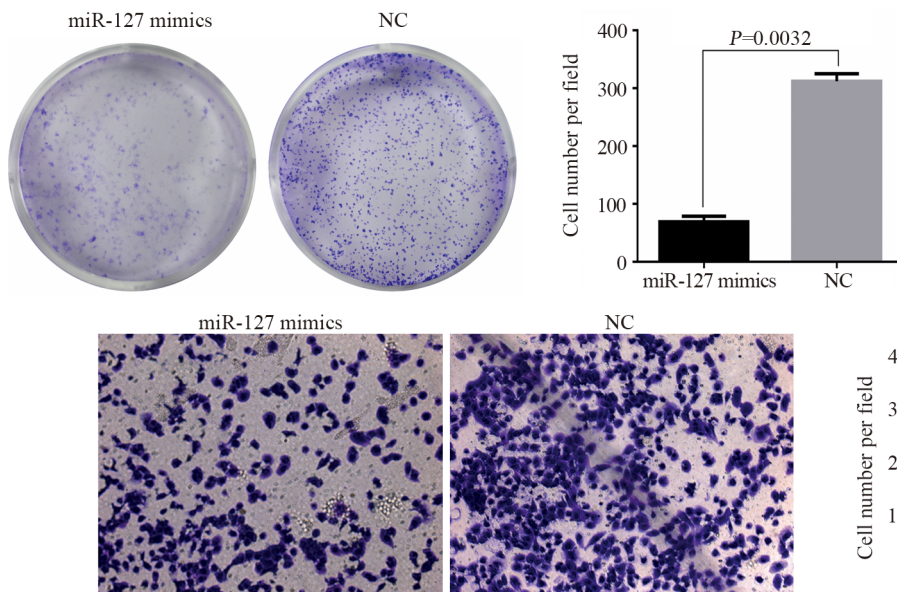
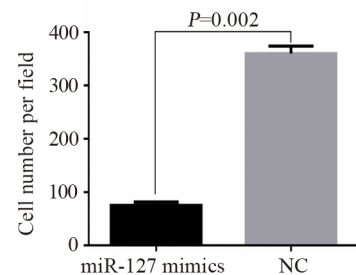


图5 平板克隆形成实验检测肺癌细胞A549的集落形成情况
Figure5 Colony formation of A549 cells detected by cell colony formation assay

图6 Transwell实验检测miR-127 mimics转染A549细胞的迁移能力
Figure6 Migration ability of A549 cells after miR-127 mimics transfection detected by Transwell assay



者就诊时已属中晚期，且因肿瘤细胞局部浸润和远端转移，患者失去根治性手术的机会，而且高复发率也是造成肺癌预后不理想的原因之一^[13]。因此，早期诊断和治疗是保障肺癌患者良好预后的关键因素。寻找肺癌早期诊断标志物对及时诊治肺癌具有重要意义。近年来microRNA以其在生物学过程中多样化的调节作用而备受关注^[14-15]。各种肿瘤异常的microRNA表达谱为我们研究肿瘤发生提供了新的思路。

miR-127作为microRNA中的一员，其在多种肿瘤的发生发展中起到主要的作用。miR-127最早在胃癌、恶性胶质瘤、乳腺癌中发现，后来逐渐发现miR-127在卵巢癌、恶性胶质瘤、肺癌、直肠癌及神经胶质瘤中起到肿瘤抑制的作用^[9-12]，然而miR-127在肺癌的发生发展中究竟起着什么样的作用，尚不清楚。本研究收集肺癌及癌旁组织标本，并提取标本的miR-127表达量进行分析，结果发现miR-127在肺癌组织中表达量明显低于癌旁正常组织，差异有统计学意义。对收集到的肺癌组织以病理分级进行分组，比较不同病理分级的肺癌组织中miR-127的表达情况，研究发现在肺癌组织中miR-127的表达量随着病理分级的恶性程度的增高而降低，IV期中miR-127表达量最低。miR-127在不同病理级别的肺癌组织中的表达差异有统计学意义，提示miR-127的表达可能与肺癌的发生发展相关。基于以上研究结果，我们成功使用miR-127 mimics转染A549细胞株，并进一步对转染细胞进行了MTT、克隆形成实验及Transwell实验。MTT实验结果显示miR-127 mimics转染显著抑制肺癌细胞的增殖，克隆形成实验表明，与NC组相比，miR-127 mimics组中的肺癌细胞A549的集落形成效率显著降低。Transwell实验结果显示与NC组相比，miR-127 mimics组的细胞过膜数量减少，差异有统计学意义。Transwell实验结果验证了miR-127的表达水平与肺癌细胞的迁移能力相关，miR-127的表达量增多可以抑制肺癌细胞的增殖迁移能力。综上所述，肺癌组织中miR-127的表达水平较正常组织低，随着病理分级恶性程度的增高而降低，并且过表达miR-127以抑制肺癌细胞的增殖转移，提示miR-127对肺癌的发生发展发挥重要作用，并且与肺癌的增殖转移密切相关，可作为肺癌的潜在临床诊治靶点，测定miR-127的表达量可以为早期诊断和治疗肺癌提供新思路。

参考文献:

- [1] Liu ZL, Zeng TT, Zhou XJ, *et al.* Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic marker for chemotherapy in advanced lung cancer[J]. *Int J Biol Mark*, 2016, 31(4): e395.

- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA: Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-32.
- [3] 王玉霞, 王芳, 崔华胜, 等. miR-205对胃癌细胞侵袭迁移的调控作用及其潜在机制[J]. *肿瘤防治研究*, 2018, 45(5): 280-4. [Wang YX, Wang F, Cui HS, *et al.* Regulatory effects of miR-205 on invasion and migration of gastric cancer cells and potential mechanism[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2018, 45(5): 280-4.]
- [4] 杨璐, 余小舫, 王正, 等. 血液及痰液miRNAs检测在肺癌早期筛查和诊断中的价值[J]. *肿瘤防治研究*, 2015, 42(6): 627-30. [Yang L, Yu XF, Wang Z, *et al.* Clinical Value of miRNAs in blood or sputum as biomarkers for early screening and diagnosis of lung cancer[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2015, 42(6): 627-30.]
- [5] Oliveto S, Mancino M, Manfrini N, *et al.* Role of microRNAs in translation regulation and cancer[J]. *World J Biol Chemistry*, 2017, 8(1): 45-56.
- [6] Inamura K. Diagnostic and Therapeutic Potential of MicroRNAs in Lung Cancer[J]. *Cancers*, 2017, 9(5): 49.
- [7] Legras A, Pécuchet N, Imbeaud S, *et al.* Epithelial-to-Mesenchymal Transition and MicroRNAs in Lung Cancer[J]. *Cancers*, 2017, 9(8): 101.
- [8] Zhou Q, Huang SX, Zhang F, *et al.* MicroRNAs: A novel potential biomarker for diagnosis and therapy in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(6).
- [9] Guo J, Xia B, Meng F, *et al.* mir-127 suppresses cell growth in ovarian cancer by targeting AEG-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441: 357-63.
- [10] Bier A, Giladi N, Kronfeld N, *et al.* MicroRNA-137 is downregulated in glioblastoma and inhibits the stemness of glioma stem cells by targeting RTVP-1[J]. *Oncotarget*, 2013, 4: 665-76.
- [11] Chen Q, Chen X, Zhang M, *et al.* mir-127 is frequently down-regulated in gastric cancer and is a negative regulator of Cdc42[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 2009-16.
- [12] 吴新华, 张庆, 张珂, 等. 宫颈癌组织miR-127的表达变化及其意义[J]. *山东医药*, 2018, 58(4): 66-8. [Wu XH, Zhang Q, Zhang K, *et al.* Expression and significance of miR-127 in cervical cancer tissues[J]. *Shandong Yi Yao*, 2018, 58(4): 66-8.]
- [13] 王新颖, 顾玉海. miRNA在肺癌诊断、治疗及预后判断中的应用进展[J]. *山东医药*, 2017, 57(31): 108-11. [Wang XY, Gu YH. Progress in the application of miRNA in the diagnosis, treatment and prognosis of lung cancer[J]. *Shandong Yi Yao*, 2017, 57(31): 108-11.]
- [14] Inamura K, Ishikawa Y. MicroRNA In Lung Cancer: Novel Biomarkers and Potential Tools for Treatment[J]. *J Clin Med*, 2016, 5(3): 36.
- [15] 杨继学, 孙有树, 杨廷桐. miRNA与肺癌研究新进展[J]. *新乡医学院学报*, 2014, 31(2): 146-9. [Yang JX, Sun YS, Yang TT. New Progress in miRNA and Lung Cancer Research[J]. *Xinxiang Yi Xue Yuan Xue Bao*, 2014, 31(2): 146-9.]

[编辑: 黄园玲; 校对: 邱颖慧]

作者贡献:

- 李建波: 标本收集, 实验操作及论文撰写
江文凇: 协助指导实验操作及论文改写
樊汉利: 课题文章设计及文章撰写指导