



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.006
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.006
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(5):556-564.

· 基础研究 ·

miR-221 在甲状腺乳头状癌中的表达及其生物学功能

周春阳, 高庆军, 汤蕊, 赵代伟

(贵州医科大学附属医院 甲状腺外科, 贵州 贵阳 550004)

摘要

背景与目的: microRNA (miRNA) 异常表达与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 部分 miRNA 表达与甲状腺乳头状癌 (PTC) 侵袭性临床病理特征具有明确的相关性。本研究探讨 miR-221 在 PTC 中的表达情况及其对 PTC 细胞生物学行为的影响。

方法: 通过 qPCR 技术检测 51 对 PTC 癌组织及癌旁组织手术标本中 miR-221 的表达情况, 并通过实时荧光定量 RT-PCR 检测甲状腺乳头状癌 K1 细胞 miR-221 的表达, 将 PTC K1 细胞分别转染 miRNA 随机序列 (阴性对照组) 和 miR-221 抑制物 (miR-221 抑制物组) 后, 以无处理的 K1 细胞为空白对照, 分别用 MTT 比色法检测细胞增殖, 流式细胞术分析细胞周期、细胞凋亡率, Transwell 小室检测细胞侵袭力。

结果: miR-221 在 PTC 癌组织中的相对表达量均明显高于癌旁组织的相对表达量 ($P < 0.05$)。与空白对照组比较, miR-221 抑制物组 K1 细胞增殖能力明显降低, 细胞凋亡率明显增加, G_0/G_1 期细胞比例明显升高, 而 G_2/M 期细胞的比例明显降低, 细胞侵袭能力明显降低, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。阴性对照组与空白对照组间以上指标差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

结论: miR-221 在 PTC 中的表达升高, 且可能通过调节细胞周期与凋亡而影响 PTC 细胞的增殖与侵袭能力。miR-221 有作为 PTC 早期诊断与治疗的生物标志物的潜在价值。

关键词

甲状腺肿瘤; 癌, 乳头状; 微 RNAs; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞周期
中图分类号: R736.1

Expression of miR-221 in thyroid papillary carcinoma and its biological function

ZHOU Chunyang, GAO Qingjun, TANG Rui, ZHAO Daiwei

(Department of Thyroid Surgery, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract

Background and Aims: The aberrant expressions of microRNAs (miRNAs) have been demonstrated to be closely associated with the occurrence and development of malignant tumors. The expressions of some miRNAs have clear correlations with the invasive clinicopathologic characteristics of papillary thyroid carcinoma (PTC). This study was conducted to investigate the expression of miR-221 in PTC and its influence on the biological behaviors of PTC cells.

Methods: The expressions of miR-221 in 51 paired samples of PTC and adjacent tissue were detected by qPCR.

基金项目: 贵州省科学技术厅科技计划资助项目 (黔科合 LH 字 [2015]7366)。

收稿日期: 2020-02-27; **修订日期:** 2020-04-15。

作者简介: 周春阳, 贵州医科大学附属医院硕士研究生, 主要从事甲状腺癌的基础方面的研究。

通信作者: 赵代伟, Email: zhaodw@hotmail.com; 高庆军, Email: gaoqingjun260@163.com

In PTC K1 cells after transfection with miRNA random sequence (negative control group) or miR-221 inhibitor (miR-221 inhibitor group) with the untreated K1 cells as blank control, the proliferation was detected by MTT colorimetry, apoptosis and cell cycle were analyzed by flow cytometry, and invasion ability were determined by Transwell chamber.

Results: The relative expression level of miR-221 in PTC tissue was significantly higher than that in the adjacent tissue ($P<0.05$). In K1 cells of miR-221 inhibitor group compared with blank control group, the proliferative ability was significantly reduced; the apoptosis rate was significantly increased and the proportion of G_0/G_1 phase was increased while the proportion of G_2/M phase decreased significantly; the invasion capability was significantly decreased, and all the differences had statistically significance (all $P<0.05$). there were no significant differences in above studied indexes between negative control group and blank control group (all $P>0.05$).

Conclusion: The expression of miR-221 is increased in PTC, which may probably affect the proliferation and invasion capability of PTC cells through regulating the cell cycle and apoptosis. So, miR-221 has a potential application value as a biomarker for early diagnosis and treatment of PTC.

Key words

Thyroid Neoplasms; Carcinoma, Papillary; MicroRNAs; Cell Proliferation; Apoptosis, Cell Cycle

CLC number: R736.1

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤,近年来,甲状腺癌发病率屡日剧增。甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是甲状腺癌的常见病理类型,其分化程度较高,恶性程度低,总体预后良好,但侵袭型乳头状甲状腺癌有转移倾向,淋巴结转移较早,约占甲状腺恶性肿瘤的85%^[1]。部分基因突变与PTC侵袭性相关,但非编码RNA在PTC发生和转移中的作用机制还不清楚。因此,揭示其潜在的分子机制对于改善PTC患者的病情、预后及术后生活质量至关重要。

miRNA是一种小分子RNA,由25个核苷酸组成,在早期发育、脂肪代谢、细胞分化等生物学活动中发挥着重要作用^[2]。最近研究证明,miRNA的异常表达与恶性肿瘤的发生发展有着密不可分的联系。在肝细胞癌^[3-4]、乳腺癌^[5-6]、结直肠癌^[7]中作为抑癌基因或癌基因参与细胞的增殖、凋亡和侵袭,提示其在肿瘤进展的作用机制中具有重要的研究价值。Cong等^[8]检测了肿瘤基因组图谱数据库中近500例PTC标本和60例正常甲状腺标本中miRNA的表达情况,研究显示与正常的甲状腺组织相比,PTC中miR-221表达上调。目前对miR-221作用机制及功能研究较少,本研究旨在探索miR-221的各种生物学行为,并探讨miR-221在PTC发生中可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验51对PTC组织及其癌旁正常组织均来自贵州医科大学附属医院。所有标本均在30 min内取材,取得标本后迅速放入液氮罐内冷藏,最后移至到-80℃的冰箱储存。所有标本均有完整的临床资料,术前均未进行化疗和放疗。PTC K1细胞系购自上海素尔生物科技有限公司,TRIzol试剂盒购自Ambion公司;HiScript Reverse Transcriptase (RNase H)、5×HiScript Buffer、50×ROX Reference Dye 2和SYBR Green Master Mix购自VAZYME公司;ddH₂O (DNase/RNase Free)购自Genecopoeia公司;Ribonuclease Inhibitor、dNTP、Taq Plus DNA Polymerase和DL2000 DNA Marker购自TIANGEN公司;Random Primer (N6)购自AIDLAB公司;引物合成来自擎科公司。DMEM、胎牛血清、青-链霉素双抗、胰蛋白酶-EDTA (0.25%),酚红, No EDTA和Opti-MEM[®]购自Gibco公司;MTT购自Biosharp公司;lipofectamine 2000购自Invitrogen公司;周期检测盒购自凯基生物;APC/7-AAD凋亡试剂盒购自三箭。miR-221抑制物阴性对照序列:5'-CAG UAC UUU UGU UGA GUA CAA-3', miR-221抑制剂序列:5'-GAA ACC CAG CAG ACA AUG UAG CU-3'。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、细胞转染及分组 PTC K1 细胞系用含 10% 胎牛血清的培养液, 于 37 °C 5% CO₂ 饱和湿度条件下进行培养。取状态良好的处于对数生长期的 K1 细胞分成 3 组: 空白对照、阴性对照序列转染组 (阴性对照组)、miR-221 抑制物转染组 (miR-221 抑制物), 接种于 96 孔板, 于 37 °C 5% CO₂ 培养箱中培养, 待细胞生长达 70% 时, 用 Lipofectamine 2000 分别转染 miR-221 抑制剂阴性对照和 miR-221 抑制剂, 转染后继续培养相应时间。

1.2.2 qRT-PCR 检测甲状腺组织 miR-221 的表达 按照 TRIzol 试剂盒说明书提取总 RNA, 按照 TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for RT-PCR 试剂盒说明书对其进行反转录合成 cDNA。按照 TransStart Green qPCR SuperMix 试剂盒说明书进行 PCR 反应, 引物序列如下: U6 正向引物: 5'-CGC TTC GGC AGC ACA TAT AC-3', U6 反向引物: 5'-AAA TAT GGA ACG CTT CAC GA-3', hsa-miR-221-3p 环引物: 5'-GTC GTA TCC AGT GCA GGG TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAT ACG ACG AAA CCC A-3', hsa-miR-221-3p 正向引物: 5'-TGC GCA GCT ACA TTG TCT GCG G-3', 反向引物: 5'-CCA GTG CAG GGT CCG AGG TAT T-3'。PCR 反应条件是: 50 °C 2 min, 95 °C 10 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 40 个循环。每个样本重复 3 次, 用 ABI QuantStudio 6 实时荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR 实验。最终数据以 $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ 进行分析。

1.2.3 qRT-PCR 检测 K1 细胞 miR-221 的表达 按照 TRIzol 试剂盒说明书从培养细胞中提取总 RNA, 然后按照 TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for RT-PCR 试剂盒说明书对其进行反转录合成 cDNA。按照 TransStart Green qPCR SuperMix 试剂盒说明书进行 PCR 反应, 引物序列和 PCR 反应条件同上。每个样本重复 3 次, 用 ABI QuantStudio 6 实时荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR 实验。最终数据以 $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ 进行分析。

1.2.4 MTT 比色法检测细胞增殖 取对数生长期, 培育状态良好的 K1 细胞, 接种于 96 孔板, 同时设空白组, 阴性对照组、miR-221 抑制物组。37 °C 过夜, 细胞培养所需时间后, 每孔加入 10 μL MTT, 37 °C 培养 4 h, 吸出培养基, 150 μL DMSO

震荡 10 min, 酶标仪测定各孔吸光值 OD_{568 nm}。实验至少重复 3 次。

1.2.5 流式细胞仪分析细胞周期 分别取对数生长期, 培育状态良好的空白对照组、NC 转染组、miR-221 inhibitor 转染组 K1 细胞, 用 0.25% 胰酶消化细胞, 终止后收集细胞, 1 000 r/min, 5 min, 去上清, PBS 重悬润洗 2 次, 1 000 r/min, 5 min, 去上清, 100 μL PBS 重悬细胞, 缓慢加入 700 μL 预冷的 80% 乙醇, 使乙醇终浓度为 70%, 4 °C 固定 4 h 以上, 1 000 r/min, 5 min, 预冷 PBS 润洗 2 次, 加入 100 μL RNase (50 μg/mL), 37 °C 孵育 30 min, 加入 400 μL PI (50 μg/mL), 4 °C 避光染色 30 min, 流式细胞仪检测。实验至少重复 3 次。

1.2.6 流式细胞仪分析细胞凋亡率 分别取对数生长期, 培育状态良好的空白对照组、NC 转染组、miR-221 inhibitor 转染组 K1 细胞, 培养所需时间后, 进行收集, 1 200 r/min, 5 min 离心, 去上清, 加 PBS 重悬, 用 PBS 润洗 2 次, 1 200 r/min, 5 min, 按照 Annexin V-APC/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒操作说明进行, 加入 500 μL 结合缓冲液, 重悬细胞, 加 5 μL Annexin V-APC 混匀后加 5 μL 7-AAD, 混匀, 室温避光反应 5~15 min (同时设阴性对照, 即正常细胞不加 Annexin V-APC 和 7-AAD; 以凋亡效果最明显的溶剂组作为阳性对照, 设对照组 1 和 2, 对照组 1 只加 5 μL AnnexinV-APC 单标; 对照组 2 只加 5 μL 7-AAD 单标)。上机检测。实验至少重复 3 次。

1.2.7 Transwell 小室检测细胞侵袭力 取处理好的 K1 细胞, PBS 清洗, 0.25% 胰酶消化收集, 1 000 r/min, 5 min 离心, 去上清, PBS 清洗后, DMEM 培养基重悬细胞, 计数, DMEM 培养基稀释细胞浓度至 2×10^4 /mL, 备用, 将 Matrigel 在 4 °C 提前 1 d 融化, Transwell 小室、24 孔培养板和枪头在 -20 °C 过夜预冷, 用无血清培养基稀释 Matrigel 至终浓度 1 mg/mL, 冰上操作, 在 24 孔板中注入 4 °C 预冷 800 μL 10% FBS DMEM 培养基 (含双抗), 并放入 Transwell 小室, 在 Transwell 小室上室底部中央垂直加入 100 μL 终浓度为 1 mg/mL 的 Matrigel, 37 °C 室温温育成胶状后, 在 Transwell 上室分别接入 200 μL 各组细胞悬液, 37 °C, 5%CO₂ 培养箱培养 24 h, 取出 Transwell,

PBS清洗小室,70%冰乙醇固定1h,染色后,常温静置20min,PBS清洁,用无污染的棉球将上室一侧的没有迁移的细胞擦净,显微镜下仔细观察并拍照。实验至少重复3次。

1.3 统计学处理

应用SPSS 20.0软件进行处理,所有数据都是以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)方差表达。组间统计学显著性差异使用单因素方差分析或未配对独立样本t检验。检验水准: $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 qRT-PCR检测 hsa-miR-221-3p 在 PTC 癌组织及癌旁组织中的表达

PCR结果显示,51例癌组织和癌旁组织的相对表达量分别为 $1.208\ 61 \pm 0.120\ 872$, $0.626\ 33 \pm 0.075\ 037$,癌组织的相对表达量明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$) (图1)。

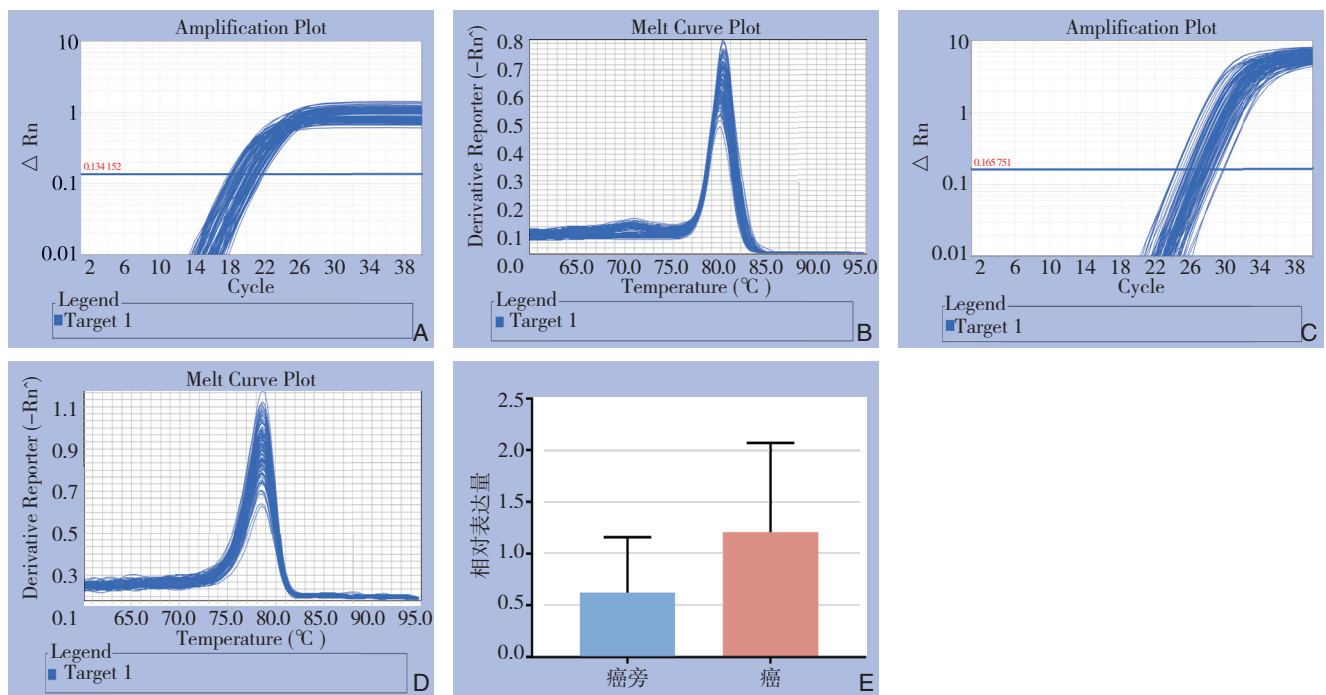


图1 qRT-PCR检测 hsa-miR-221-3p 的表达 A: U6 扩增曲线; B: U6 溶解曲线; C: hsa-miR-221-3p 扩增曲线; D: hsa-miR-221-3p 溶解曲线; E: hsa-miR-221-3p 相对表达量

Figure 1 The expression of hsa-miR-221-3p was measured by qRT-PCR A: U6 amplification curve; B: U6 dissolution curve; C: hsa-miR-221-3p amplification curve; D: hsa-miR-221-3p dissolution curve; E: Relative expression levels of hsa-miR-221-3p

2.2 miR-221 抑制物下调 miR-221 的效率

qRT-PCR结果显示,空白对照组、阴性对照组、miR-221抑制物组miR-221相对表达量平均值分别为0.997、0.984、0.277,miR-221抑制物组miR-221的表达量明显低于空白对照组与阴性对照组(均 $P < 0.05$),而后两组间差异无统计学意义($P > 0.05$) (图2)。

2.3 miR-221 对 PTC 细胞增殖能力的影响

MTT实验结果显示在同一时间,miR-221抑制物组较其他组吸光值明显降低(均 $P < 0.05$),而阴性对照组与空白对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$) (图3)。各组增殖率为:空白对照组100.00%、阴性对照组97.89%、miR-221抑制物组61.77%。

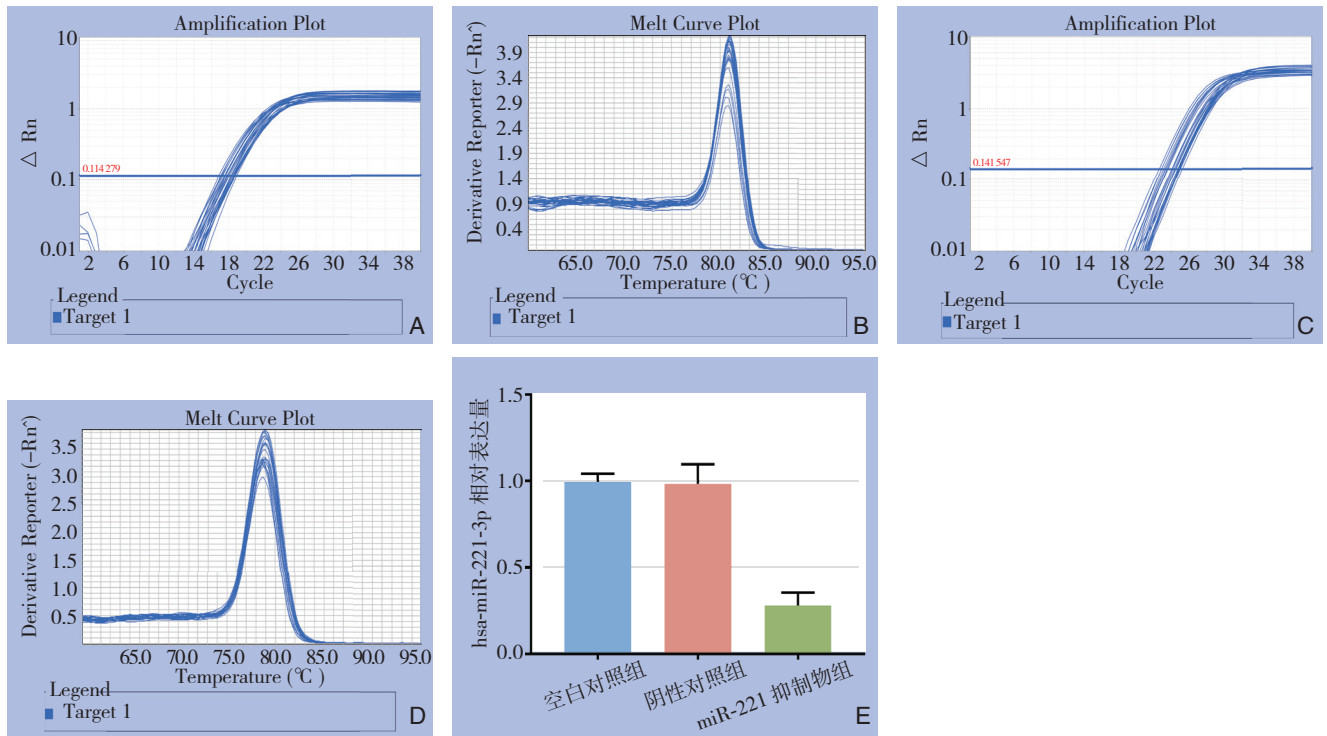


图 2 miR-221 inhibitor 的下调效率 A: U6 扩增曲线; B: U6 溶解曲线; C: hsa-miR-221-3p 扩增曲线; D: hsa-miR-221-3p 溶解曲线; E: hsa-miR-221-3p 相对表达量

Figure 2 The downregulation efficiency of miR-221 inhibitor A: U6 amplification curve; B: U6 dissolution curve; C: hsa-miR-221-3p amplification curve; D: hsa-miR-221-3p dissolution curve; E: Relative expression levels of hsa-miR-221-3p

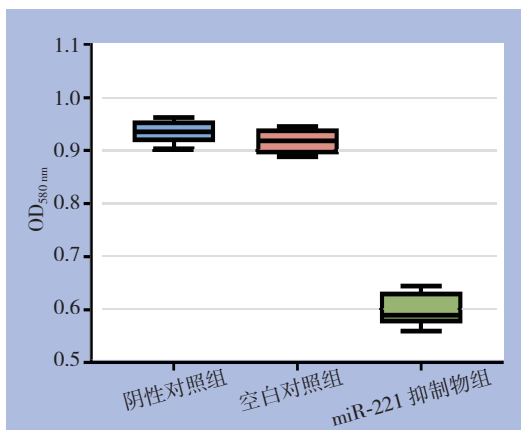


图 3 miR-221 对甲状腺乳头状癌细胞增殖的影响

Figure 3 Effect of miR-221 on proliferation of papillary thyroid cancer cells

2.4 miR-221 对 PTC 细胞凋亡和周期的影响

3次凋亡实验显示, 空白对照组凋亡率分别为 7.40%、6.58%、6.71%; 阴性对照组凋亡率分别

为 6.79%、6.42%、6.72%; miR-221抑制物组凋亡率分别为 23.43%、25.03%、24.77%, miR-221抑制物组较空白对照组与阴性对照组凋亡比例明显增加(均 $P < 0.05$), 而阴性对照组与空白对照组的凋亡率无统计学差异($P > 0.05$)(图4)。细胞周期实验显示, miR-221抑制物组 G_0/G_1 期比例较空白对照组与阴性对照组转染组, 而 G_2/M 期的比例较空白对照组与阴性对照组转染组明显降低(均 $P < 0.05$), 而阴性对照组与空白对照组的细胞周期分布无统计学差异($P > 0.05$)(图5)。

2.5 miR-221 对 PTC 细胞侵袭能力的影响

侵袭实验中, 每组设3个平行样本, 每个样本观测5个视野($\times 200$), 空白对照组、阴性对照组、miR-221抑制物组的平均侵袭数为 49.2、50.0、33.2, miR-221抑制物组较空白对照组与阴性对照组平均侵袭数明显减少(均 $P < 0.05$), 而后两组间差异无统计学意义(图6)。

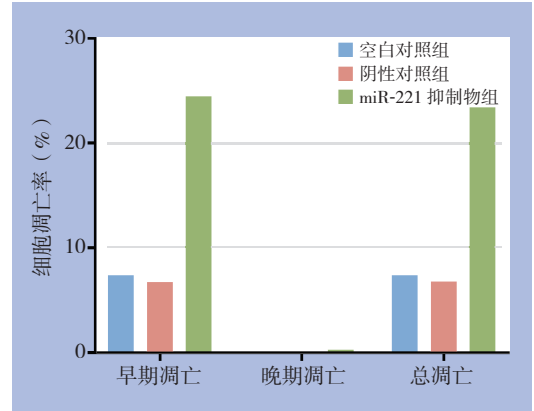
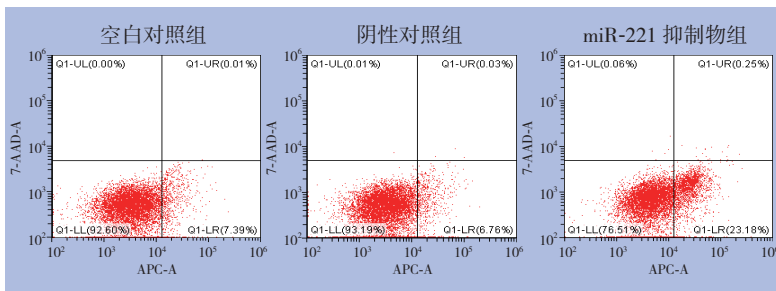


图 4 miR-221 对 PTC 细胞凋亡的影响

Figure 4 Influence of miR-221 on apoptosis of PTC cells

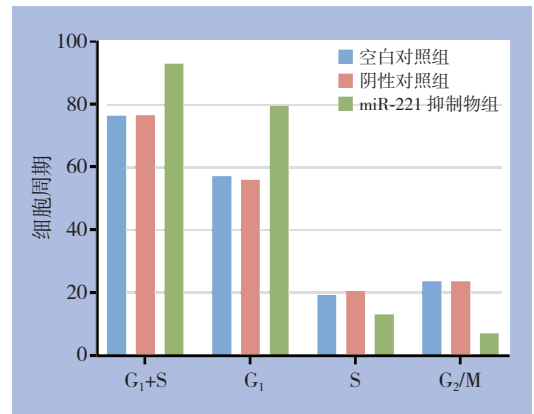
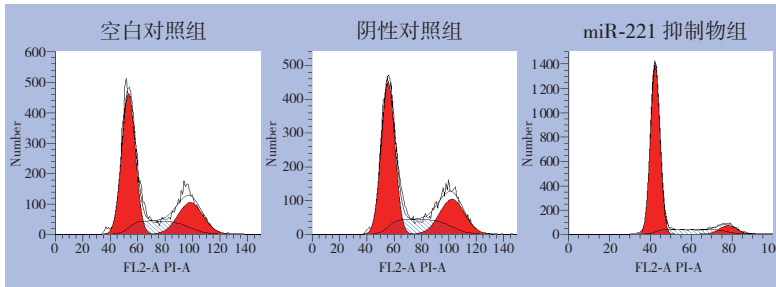


图 5 miR-221 对 PTC 细胞周期的影响

Figure 5 Influence of miR-221 on cell cycle of PTC cells

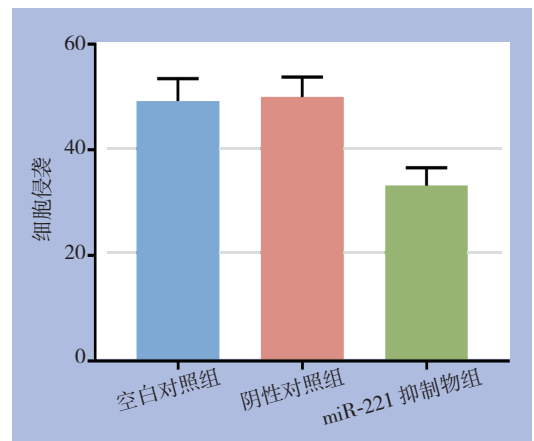
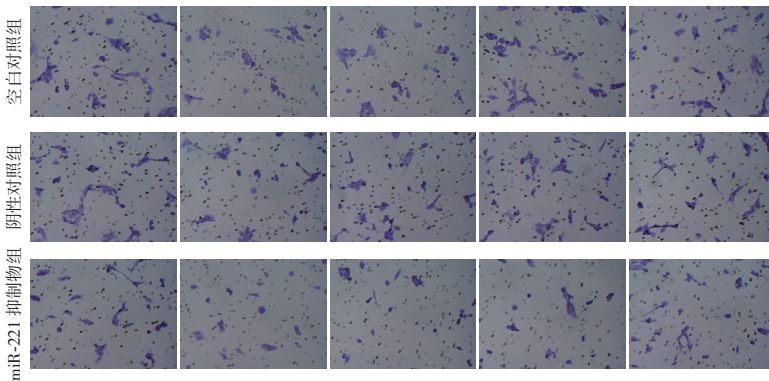


图 6 miR-221 对 PTC 细胞侵袭的影响

Figure 6 Influence of miR-221 on the invasion ability of PTC cells

3 讨论

miR-221在许多肿瘤中均表达出了致癌性。通过数据库检索显示,在成胶质细胞瘤^[9]、肝细胞癌^[10]、乳腺癌^[11]、宫颈癌^[12]、卵巢癌^[13]、黑色

素瘤^[14]、甲状腺癌^[15-16]、前列腺癌^[17]中miR-221通过异常高表达促进了肿瘤细胞的恶性增殖、免疫逃逸、侵袭和转移。但是,在一些其他肿瘤中miR-221也表达出了抑癌性。例如,miR-221通过靶向Ecm29,减弱了前列腺癌PCa细胞的迁移和侵

袭^[18]。miR-221通过针对红白血病细胞和胃肠道间质肿瘤中的Kit，从而抑制了癌细胞增殖并诱导了细胞凋亡^[19]。此外，Okamoto等^[20]发现miR-221在人胆管癌细胞中通过靶向调节亚基1（PIK3R1）的磷酸肌醇3激酶，从而抑制HuH28细胞增殖并赋予Gem敏感性。表明在不同肿瘤中，miR-221所起到的作用可能完全不同。

近些年来，通过对甲状腺癌的研究发现，不同病理类型的甲状腺癌发生与发展均和miRNA有着密切的关系。本研究发现，甲状腺乳头状癌组织及甲状腺乳头状癌细胞中miR-221表达明显上调，与Cerutti等^[21]研究结果一致，认为PTC组织中miR-221的表达相比正常甲状腺组织显著增加。上述分析结果通过Northern印迹法和RT-PCR被进一步证实。此外，在甲状腺结节细针穿刺细胞学检查发现，miR-221过表达的甲状腺结节，经外科手术取活检后被最终确诊为PTC^[21]。人类PTC来源的细胞系中通过阻断过表达的发现，miR-221的过度表达在PTC癌变中起关键作用。在FTC中，研究发现miR-197和miR-346表达的增加有助于FTC的发生，它可能通过干扰基因表达而起作用^[22]。而miR-221虽然与PTC的致癌作用相关，但与FTC的发展无明显相关性^[23]。在甲状腺未分化癌中，通过miRNA芯片微阵列分析ATC的miRNA发现，与正常甲状腺组织相比，miR-26a、miR-30d、miR-125b、miR-30a-5P的表达显著减少^[24]，而miR-221并未在ATC中上调^[25]。在MTC中，miRNA的报道较为少见，仅有的报道中也并未显示miR-221和MTC的关系。目前的研究表明，miR-221作为一种致癌基因参与了甲状腺癌的发生和发展。

在PTC体外实验中，本研究发现miR-221较正常甲状腺组织明显高表达，通过向K1细胞系转染miR-221抑制物后，发现细胞增殖能力显著降低，细胞凋亡率显著升高，细胞生长周期明显延长，侵袭能力显著降低，表明miR-221促进了K1细胞的增殖和侵袭能力，降低了凋亡能力和细胞周期。

PI3K/Akt起始的细胞途径受到癌基因或抑癌基因的正向或负向控制，而这些基因又被增强或受多种因素（例如miRNA）抑制^[26]。磷酸酶张力蛋白同源物（PTEN）在调节细胞黏附，增殖和迁移的信号通路中起到至关重要的作用。PTEN是包括肝癌在内的多种癌症的肿瘤抑制因子，他影响

Akt和ERK信号通路^[27]。据报道，在许多人类癌症中，miR-221通过下调PTEN来增强Akt的磷酸化^[28]。在胃癌细胞中，miR-221簇已显示出靶向肿瘤抑制基因PTEN，导致癌细胞增殖和放射抗性增加^[29]。由于PTEN是miR-221的潜在靶标^[30]，因此miR-221可能和Akt通路的增强存在联系。因此笔者推测，miR-221对PTC增殖、凋亡、侵袭的影响可能与下调PTEN从而增强Akt信号通路有关。本研究存在着一定的欠缺和不足，虽然本研究探讨了miR-221在PTC发生和发展中的作用，但对于它产生作用的机制并没有做更进一步的实验研究，只能通过往期的报道来进行粗略的预测。

本研究发现miR-221在PTC组织及细胞中呈高表达；术前检测miR-221的表达状态对于提高甲状腺癌诊断率可能具有重要意义。抑制miR-221表达明显抑制PTC K1细胞株的增殖、促进细胞株的凋亡和降低细胞株的侵袭性。为侵袭性PTC的靶基因治疗提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] Kim SJ, Myong JP, Jee HG, et al. Combined effect of Hashimoto's thyroiditis and BRAF(V600E) mutation status on aggressiveness in papillary thyroid cancer[J]. *Head Neck*, 2016, 38(1):95-101. doi:10.1002/hed.23854.
- [2] Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3):203-222. doi:10.1038/nrd.2016.246.
- [3] 赵新阳, 肖朝文, 郑小林, 等. miR-96的表达对肝细胞癌细胞迁移和侵袭的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(7):877-882. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.010.
Zhao XY, Xiao CW, Zheng XL, et al. Influence of miR-96 expression on migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2017, 26(7):877-882. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.010.
- [4] 秦麒麟, 李清龙. miRNA-122与肝细胞癌的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(1):105-109. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.01.020.
Qin QL, Li QL. Research progress of miRNA-122 and hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(1):105-109. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.01.020.
- [5] 徐泰. miRNA-639在乳腺癌中表达及其意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(11):1506-1511. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.010.

- Xu T. miRNA-639 expression in breast cancer and its significance[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(11):1506–1511. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.010.
- [6] 阮永威, 田兴松, 侯连泽. 乳腺癌 p16, p53 基因蛋白和 mRNA 的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2008, 17(5): 497–501.
- Ruan YW, Tian XS, Hou LZ. The significance of p16 and p53 gene protein and mRNA expression on breast cancer[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(5):497–501.
- [7] 于卫芳, 翟从劫, 樊智彬, 等. miR-150 和 miR-134 在结直肠癌及腺瘤中的表达[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1349–1354. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.009.
- Yu WF, Zhai CJ, Fan ZB, et al. Expression of miR-150 and miR-134 in colorectal cancer and colorectal adenoma[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(10):1349–1354. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.009.
- [8] Cong D, He M, Chen S, et al. Expression profiles of pivotal microRNAs and targets in thyroid papillary carcinoma: an analysis of The Cancer Genome Atlas[J]. Onco Targets Ther, 2015, 8:2271–2277. doi:10.2147/OTT.S85753.
- [9] Zhang CZ, Zhang JX, Zhang AL, et al. miR-221 and miR-222 target PUMA to induce cell survival in glioblastoma[J]. Mol Cancer, 2010, 9:229. doi: 10.1186/1476-4598-9-229.
- [10] Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, et al. miR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma[J]. Oncogene, 2008, 27(43):5651–5661. doi: 10.1038/onc.2008.178.
- [11] Zhao JJ, Lin JH, Yang H, et al. MicroRNA-221/222 Negatively regulates estrogen receptor alpha and is associated with tamoxifen resistance in breast cancer[J]. J Biol Chem, 2008, 283(45):31079–31086. doi: 10.1074/jbc.M806041200.
- [12] Zhou CF, Ma J, Huang L, et al. Cervical squamous cell carcinoma-secreted exosomal miR-221-3p promotes lymphangiogenesis and lymphatic metastasis by targeting VASH1[J]. Oncogene, 2019, 38(8):1256–1268. doi: 10.1038/s41388-018-0511-x.
- [13] Wurz K, Garcia RL, Goff BA, et al. miR-221 and miR-222 alterations in sporadic ovarian carcinoma: relationship 12 Journal of Oncology to CDKN1B, CDKN1C and overall survival[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2010, 49(7):577–584. doi: 10.1002/gcc.20768.
- [14] Felicetti F, Errico MC, Bottero L, et al. The Promyelocytic Leukemia Zinc finger-microRNA-221/-222 Pathway Controls Melanoma Progression Through Multiple Oncogenic Mechanisms[J]. Cancer Res, 2008, 68(8):2745–2754. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2538.
- [15] Mardente S, Mari E, Consorti F, et al. HMGB1 induces the overexpression of miR-222 and miR-221 and increases growth and motility in papillary thyroid cancer cells[J]. Oncol Rep, 2012, 28(6):2285–2289. doi: 10.3892/or.2012.2058.
- [16] Mardente S, Mari E, Massimi I, et al. HMGB1-Induced cross talk between PTEN and miRs 221/222 in thyroid cancer[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015:512027. doi: 10.1155/2015/512027.
- [17] Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, et al. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1[J]. J Biol Chem, 2007, 282(32):23716–23724. doi: 10.1074/jbc.M701805200.
- [18] Goto Y, Kojima S, Nishikawa R, et al. MicroRNA expression signature of castration-resistant prostate cancer: the microRNA-221/222 cluster functions as a tumour suppressor and disease progression marker[J]. Br J Cancer, 2015, 113(7):1055–1065. doi: 10.1038/bjc.2015.300.
- [19] Gits CMM, van Kuijk PF, Jonkers MBE, et al. MiR-17-92 and miR-221/222 cluster members target KIT and ETV1 in human gastrointestinal stromal tumours[J]. Br J Cancer, 2013, 109(6):1625–1635. doi: 10.1038/bjc.2013.483.
- [20] Okamoto K, Miyoshi K, Murawaki Y. miR-29b, miR-205 and miR-221 enhance chemosensitivity to gemcitabine in HuH28 human cholangiocarcinoma cells[J]. PLoS One, 2013, 8(10):e77623. doi: 10.1371/journal.pone.0077623.
- [21] Cerutti J, Trapasso F, Battaglia C, et al. Block of c-myc expression by antisense oligo nucleotides inhibits proliferation of human thyroid carcinoma cell lines[J]. Clin Cancer Res, 1996, 2(1):119–126.
- [22] He H, Jazdzewski K, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(52):19075–19080. doi: 10.1073/pnas.0509603102.
- [23] Visone R, Pallante P, Vecchione A, et al. Specific microRNAs are downregulated in human thyroid anaplastic carcinomas[J]. Oncogene, 2007, 26(54):7590–7595. doi: 10.1038/sj.onc.1210564.
- [24] Liu CG, Calin GA, Meloon B, et al. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(26):9740–9744. doi: 10.1073/pnas.0403293101.
- [25] Pallante P, Visone R, Ferracin M, et al. MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas[J]. Endocr Related Cancer, 2006, 13(2):497–508. doi: 10.1677/erc.1.01209.
- [26] Touré F, Zahm JM, Garnotel R, et al. Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) modulates neutrophil adhesion and migration on glycooxidized extracellular matrix[J]. Biochem J, 2008, 416(2):255–261. doi: 10.1042/BJ20080054.
- [27] Liu LT, Chang HC, Chiang LC, et al. Histone deacetylase inhibitor

- up-regulates RECK to inhibit MMP-2 activation and cancer cell invasion[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(12):3069–3072.
- [28] Muniyan S, Ingersoll MA, Batra SJ, et al. Cellular prostatic acid phosphatase, a PTEN-functional homologue in prostate epithelia, functions as a prostate-specific tumor suppressor[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1846(1):88–98. doi: 10.1016/j.bbcan.2014.04.006.
- [29] Zhang CZ, Han L, Zhang AL, et al. MicroRNA-221 and microRNA-222 regulate gastric carcinoma cell proliferation and radioresistance by targeting PTEN[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:367. doi: 10.1186/1471-2407-10-367.
- [30] Meng F, Henson R, Lang M, et al. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines[J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(7):2113–2129. doi: 10.1053/j.gastro.2006.02.057.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 周春阳, 高庆军, 汤蕊, 等. miR-221在甲状腺乳头状癌中的表达及其生物学功能[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(5):556–564. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.006

Cite this article as: Zhou CY, Gao QJ, Tang R, et al. Expression of miR-221 in thyroid papillary carcinoma and its biological function[J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(5):556–564. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.006

本刊常用词汇英文缩写表

C-反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素 II	AngII
白细胞	WBC	抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	ABC法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC ₅₀	链霉抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	SABC法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白-生物素法	SP法	绿色荧光蛋白	GFP	尿素氮	BUN
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血小板	PLT
丙氨酸氨基转移酶	ALT	美国食品药品监督管理局	FDA	血压	BP
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	血氧饱和度	SO ₂
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素/脂多糖	LPS	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	严重急性呼吸综合征	SARS
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮	NO
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	一氧化氮合酶	NOS
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙二胺四乙酸	EDTA
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	凝血酶原时间	PT	乙酰胆碱	ACh
动脉血氧分压	PaO ₂	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒	HBV
二甲亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒e抗体	HBsAb
反转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒e抗原	HBsAg
辅助性T细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗体	HBcAb
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	乙型肝炎病毒核心抗原	HBcAg
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	异硫氰酸荧光素	FLTC
固相pH梯度	IPG	双蒸水	ddH ₂ O	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	原位末端标记法	TUNEL
核因子-κB	NF-κB	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	杂合性缺失	LOH
红细胞	RBC	苏木精-伊红染色	HE	增强化学发光法	ECL
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	肿瘤坏死因子	TNF
环氧酶-2	COX-2	体质量指数	BMI	重症监护病房	ICU
活化部分凝血活酶时间	APTT	天门冬氨酸氨基转移酶	AST	转化生长因子	TGF
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	自然杀伤细胞	NK细胞
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	直接胆红素	DBIL
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆固醇	TC
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK	总胆红素	TBIL
计算机X线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		