

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.05.004

· 基础研究 ·

miRNA-325-3p 通过下调细胞角蛋白 13 的表达降低鼻咽癌细胞 CNE1 的放疗敏感性

万佳, 王欢, 王锦, 施明, 余宏(昆明医科大学 第四附属医院 耳鼻咽喉头颈外科, 云南 昆明 650021)

[摘要] **目的:** 探究 miRNA-325-3p 及其靶基因细胞角蛋白 13(cytokeratin 13, CK13) 对鼻咽癌细胞 CNE1 的放疗敏感性的影响。**方法:** 通过 miRBase、Targetscan 及 Microcosm 三大数据库预测 miRNA-325-3p 的潜在靶基因, 并通过双荧光素酶活性检测实验进行验证, qPCR 检测不同放射剂量下鼻咽癌细胞 CNE1 中 miRNA-325-3p 及其靶基因的表达水平变化, 通过克隆形成实验观察不同放射剂量下过表达 miRNA-325-3p 及敲低靶基因后 CNE1 细胞克隆形成率的变化, 流式细胞术验证过表达 miRNA-325-3p 及敲低靶基因后 CNE1 在不同放射剂量下凋亡水平的变化, MTT 法检测 miRNA-325-3p 过表达和 CK13 敲低组鼻咽癌细胞 CNE1 在不同放射剂量下的细胞存活率以验证其放疗敏感性的变化。**结果:** CK13 确认为 miRNA-325-3p 的潜在靶基因, 鼻咽癌细胞 CNE1 经放射处理后, miRNA-325-3p 的表达水平显著升高、CK13 的表达水平显著降低(均 $P < 0.05$)。miRNA-325-3p 表达量上调和 CK13 基因沉默均显著提高 CNE1 细胞的存活率[miRNA 上调时: $(60.14 \pm 3.55)\%$ vs $(19.23 \pm 3.42)\%$, $t = 14.37$, $P < 0.01$; CK13 沉默时: $(76.15 \pm 5.13)\%$ vs $(28.53 \pm 3.68)\%$, $t = 13.06$, $P < 0.01$]和克隆形成率, 降低了凋亡率[miRNA 上调时: $(27.95 \pm 2.67)\%$ vs $(51.68 \pm 3.47)\%$, $t = 9.39$, $P < 0.01$; CK13 沉默时: $(20.31 \pm 2.62)\%$ vs $(38.14 \pm 3.83)\%$, $t = 6.66$, $P < 0.01$]。**结论:** miRNA-325-3p 能够通过下调靶基因 CK13 的表达降低鼻咽癌细胞 CNE1 对放疗的敏感性。

[关键词] miRNA-325-3p; CK13; 放疗敏感性; 鼻咽癌; CNE1 细胞

[中图分类号] R739.63; R730.2; R730.55 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)05-0496-05

miRNA-325-3p reduces the radio-sensitivity of nasopharyngeal carcinoma CNE1 cells by down-regulating the expression of cytokeratin 13

WAN Jia, WANG Huan, WANG Jin, SHI Ming, YU Hong (Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650021, Yunnan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of miRNA-325-3p and its target gene cytokeratin 13 (CK13) on the radio-sensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE1. **Methods:** The potential target gene of miRNA-325-3p was predicted by three databases: miRBase, Targetscan and microcosm, and verified by Double luciferase activity assay. QPCR was used to detect the expression levels of miRNA-325-3p and its target gene in nasopharyngeal carcinoma cell line CNE1 under different radiation doses; To verify the changes in radio-sensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells, colony formation assay, Flow cytometry and MTT were used to observe the clone formation, apoptosis and cell viability of CNE1 cells after overexpression of miRNA-325-3p and knockdown of CK13 under different radiation doses, respectively. **Results:** CK13 was confirmed as a potential target gene of miRNA-325-3p. After radiotherapy, the expression level of miRNA-325-3p in CNE1 cell was significantly increased, while the expression level of CK13 was decreased (all $P < 0.05$); up-regulation of miRNA-325-3p expression and silence of CK13 gene increased cell survival rate (upregulation of miRNA-325-3p: $[60.14 \pm 3.55]\%$ vs $[19.23 \pm 3.42]\%$, $t = 14.37$, $P < 0.01$; silence of CK13: $[76.15 \pm 5.13]\%$ vs $[28.53 \pm 3.68]\%$, $t = 13.06$, $P < 0.01$) and colony formation rate, and decreased apoptosis rate (upregulation of miRNA-325-3p: $[27.95 \pm 2.67]\%$ vs $[51.68 \pm 3.47]\%$, $t = 9.39$, $P < 0.01$; silence of CK13: $[20.31 \pm 2.62]\%$ vs $[38.14 \pm 3.83]\%$, $t = 6.66$, $P < 0.01$). **Conclusion:** miRNA-325-3p can reduce the sensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE1 to radiotherapy by down-regulating the target gene CK13.

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助[No. 2018FE001(-173)]。Project supported by Joint Program of Applied Basic Research of Yunnan Provincial Department of Science and Technology-Kunming Medical University [No. 2018FE001(-173)]

[作者简介] 万佳(1994-), 女, 硕士生, 主要从事耳鼻咽喉头颈外科相关疾病临床研究, E-mail: mxj09g@163.com

[通信作者] 余宏(YU Hong, corresponding author), 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事鼻咽癌相关的基础与临床研究, E-mail: yh2002523@163.com

[Key words] miRNA-325-3p; CK13; radiosensitivity; nasopharyngeal carcinoma; CNE1 cell

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(5): 496-500. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.05.004]

鼻咽癌发病率在头颈部肿瘤中居首位^[1]。根据国际癌症研究机构报告,超过80%的鼻咽癌患者来自亚洲,欧洲仅占约5%,男性患者多于女性^[2]。目前放射治疗是公认的鼻咽癌的有效治疗方法之一,但在临床中放疗效果并不尽如人意,复发和转移常有发生。目前的研究^[3-4]已证实,由于部分鼻咽癌细胞对放射线具有抵抗性,该类细胞可逃逸由放射引起的凋亡,使得治疗效果低于预期值,因此研究鼻咽癌细胞对放疗敏感型的机制对于临床治疗具有重大意义。MicroRNA(miRNA)的失调已被证实与多种疾病有关^[5]。如miRNA-325-3p在非小细胞肺癌中的表达量与正常组织相比明显增高,同时也是非小细胞肺癌的潜在靶向位点^[6]。目前已发现部分miRNA与鼻咽癌的放疗敏感性相关^[7],但其调控机制目前尚未完全阐明。细胞角蛋白13(cytokeratin 13,CK13)在分化程度高的肿瘤组织中呈高表达,是鳞状上皮分化后的标志^[8-9]。因此,CK13可能具有增加放射敏感性的作用,但是miRNA调控CK13对鼻咽癌细胞敏感性的影响尚未有公开报道。本研究就miRNA-325-3p调控CK13与鼻咽癌细胞CNE1的放疗敏感性变化的相关性作初步研究,为优化鼻咽癌的治疗方案提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系、试剂和仪器

鼻咽癌CNE1细胞系购自上海中科院细胞库,在含10%胎小牛血清的RPMI 1640培养基中进行传代培养。蛋白质提取试剂盒、蛋白质浓度测定试剂盒、miRNA-325-3p和si-CK13均购自上海Sangon公司,实时定量PCR试剂盒和逆转录试剂盒购自南京Vazyme公司,丙烯酰胺购自美国Sigma公司,RNA提取试剂盒购自美国普飞公司,双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司,MTT购自美国Invitrogen公司。荧光定量PCR仪购自美国ABI公司,紫外分光光度计购自美国Thermo Fisher公司,酶标仪购自美国Bio-Rad公司,倒置显微镜购自日本Nikon公司。

1.2 miRNA-325-3p靶基因预测及验证

为推测miRNA-325-3p的靶基因,使用miRBase预测miRNA的mRNA靶标(<http://www.mirbase.org/>),并利用Targetscan(<http://www.targetscan.org/>)和Microcosm(<http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/v5/>)这两个数据库对miRNA-325-3p的靶标进行进一步分析验证。将CK13 3'-UTR片段与PGL-REPORT载体连接,构建WT-CK13及

MUT-CK13质粒,测序验证后,分别与miRNA-325-3p及miR-control共转染CNE1细胞,48 h后进行荧光素酶活性的测定。

1.3 qPCR检测CNE1细胞中miRNA-325-3p和CK13基因的相对表达量

取对数生长期的CNE1细胞以 $3 \times 10^5/\text{ml}$ 的密度接种于六孔板中培养,当细胞50%汇合时,将miRNA-325-3p及CK13质粒共转染至CNE1细胞内,培养48 h。使用TRIzol法提取总RNA,取2.0 μg 按照逆转录试剂盒操作说明合成cDNA,ABI 7500荧光定量PCR仪检测内参基因和相关信号通路因子的表达量,用自带的SDS分析软件,内参照进行归一化处理,计算目的基因的相对表达量。

1.4 克隆形成实验检测转染miRNA-325-3p和si-CK13对CNE1细胞放疗敏感性的影响

将分别转染miRNA-325-3p和si-CK13的CNE1细胞按照 $1 \times 10^6/\text{孔}$ 的量铺在六孔板中,培养24 h后用阶梯剂量(0、2、4、6、8、10 Gy)的射线进行照射。照射结束后继续培养12 h,用冷甲醇固定,吉姆萨染液染色30 min。根据单击多靶模型拟合细胞存活曲线。

1.5 流式细胞术检测转染miRNA-325-3p和si-CK13对辐射处理后的CNE1细胞凋亡的影响

miRNA-325-3p和si-CK13组CNE1细胞用10 Gy的辐射剂量照射处理,常规条件下培养72 h后,收集细胞,PBS清洗2次,再加入20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Annexin-V 10 μl (100 μl binding buffer和FITC标记),室温下避光30 min,再加入50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PI 5 μl ,避光反应5 min后,加入400 μl binding buffer,上流式细胞仪检测细胞凋亡水平,同时以不加Annexin-V-FITC及PI的一管作为阴性对照。

1.6 MTT检测转染miRNA-325-3p和si-CK13对辐射处理后的CNE1细胞增殖的影响

将生长48 h的miRNA-325-3p和si-CK13组CNE1细胞用含10%胎小牛血清的培养液配成单个细胞悬液,以每孔 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ 个细胞接种到96孔板,每孔体积200 μl ,然后以10 Gy的剂量进行照射并继续培养48 h后,加入10 μl MTT溶液(5 mg/ml,用PBS配制,pH=7),在37 $^\circ\text{C}$ 下孵育4 h并置于酶标仪上检测光密度(D)值。细胞存活率=实验组D值/空白对照组D值 $\times 100\%$ 。

1.7 统计学处理

实验数据采用SPSS 22.0进行分析,正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;多重比较采用单因素方差分析,事后检验为Turkey检验;两组间比较采用t检验;以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

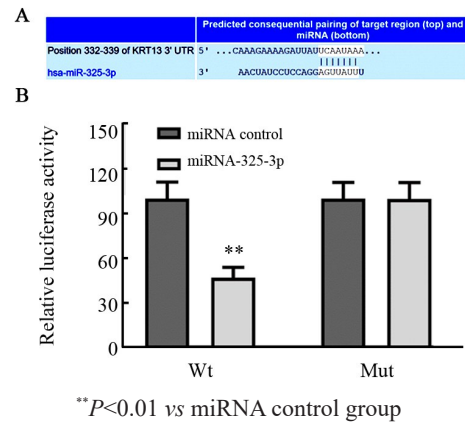
2.1 miRNA-325-3p靶基因的预测和鉴定

TargetScan、PicTa、The miRBase 三大靶基因预测库预测结果(图1A)表明,CK13为miRNA-325-3p的潜在靶基因,CK13 3'-UTR与miRNA-325-3p的种子区存在互补序列。双荧光素酶活性检测结果(图1B)表明,共转wt-CK13和miRNA-325-3p的细胞荧光素酶报告基因的活性较其他组明显降低(46.78 ± 7.02 vs 100.00 ± 11.23 ; $t=6.96, P<0.01$);而共转miRNA-325-3p和mut-CK13组的荧光素酶活性与对照组无显著差异(99.86 ± 10.95 vs 100.00 ± 10.89 ; $t=0.02, P=0.99$),验证了miRNA-325-3p可直接作用于wt-CK13。

2.2 不同放疗剂量对CNE1细胞中miRNA-325-3p和CK13表达水平的影响

qPCR检测结果(图2)表明,CNE1细胞中miRNA-325-3p的表达水平随放射剂量的增加而显著升高,CK13的表达水平则随放射剂量的增加而降低。这提示,miRNA-325-3p和CK13表达水平变化与鼻咽癌细胞对放射的敏感性存在相关性。同时,miRNA-

325-3p可负调控CK13靶基因,miRNA-325-3p表达水平明显增加,对其靶基因CK13的抑制作用也相应增加,使得CK13的表达水平明显下降。



A: Predicted binding site in the 3'-UTR region of CK13 with miRNA-325-3p; B: The binding of miRNA-325-3p and CK13 was verified by Double Luciferase Report experiment

图1 miRNA-325-3p靶基因的预测和鉴定
Fig.1 Prediction and identification of miRNA-325-3p target gene

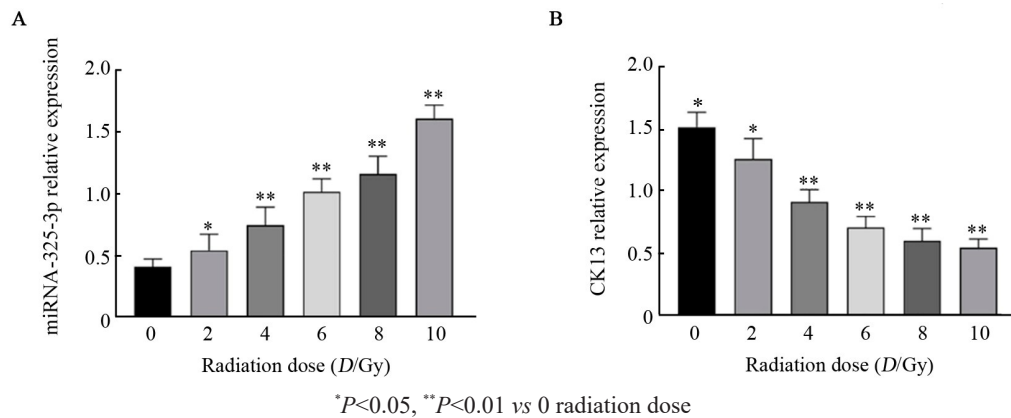


图2 不同放射剂量对CNE1细胞中miRNA-325-3p(A)和CK13(B)表达水平的影响

Fig.2 Effects of different radiation doses on the expression levels of miRNA-325-3p (A) and CK13 (B) in CNE1 cells

2.3 miRNA-325-3p过表达和CK13敲低可增加CNE1细胞的克隆形成率

分别对miRNA-325-3p过表达及CK13基因敲低的鼻咽癌细胞的克隆形成实验得出数据进行细胞存活曲线的拟合,结果(图3)发现,与对照组相比,miRNA-325-3p过表达组和CK13敲低组的CNE1细胞克隆形成率均显著高于相应的对照组(均P<0.01)。

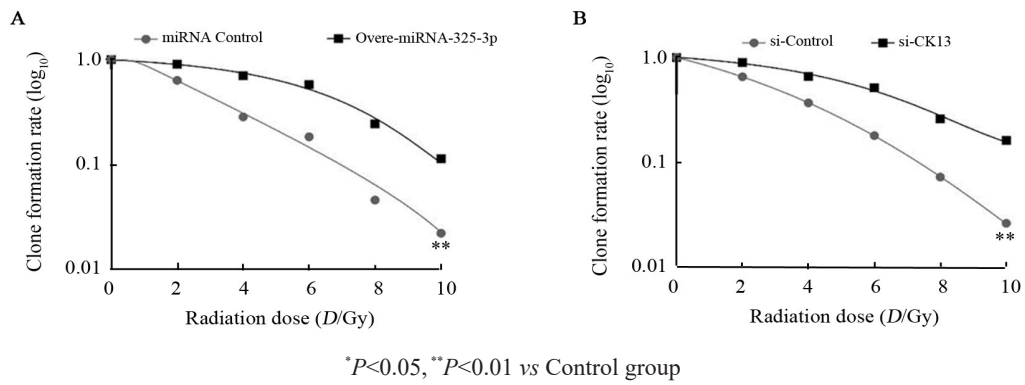
2.4 miRNA-325-3p过表达和CK13敲低可抑制CNE1细胞凋亡

流式细胞仪检测结果(图4)显示,与对照组相比,转染miRNA-325-3p和转染si-CK13组鼻咽癌细胞CNE1凋亡率明显减少[过表达miRNA-325-3p:

(27.95 ± 2.67)% vs (51.68 ± 3.47)%; $t=9.39, P<0.01$; 敲减CK13:(20.31 ± 2.62)% vs (38.14 ± 3.83)%; $t=6.66, P<0.01$],说明miRNA-325-3p的过表达和CK13的敲低均能降低CNE1细胞的凋亡水平。

2.5 miRNA-325-3p过表达和CK13敲低对CNE1细胞增殖的影响

MTT比色法检测结果显示,与对照组相比,miRNA-325-3p的过表达和CK13的敲低都能使鼻咽癌CNE1细胞放疗后的存活率显著增加[过表达miRNA:(60.14 ± 3.55)% vs (19.23 ± 3.42)%; $t=14.37, P<0.01$; 敲低CK13:(76.15 ± 5.13)% vs (28.53 ± 3.68)%; $t=13.06, P<0.01$]。



A: Overexpression of miRNA-325-3p enhanced the clone formation rate of CNE1 cells under radiotherapy;

B: Knockdown of CK13 enhanced the clone formation rate of CNE1 cells under radiotherapy

图3 miRNA-325-3p过表达(A)和CK13敲低(B)对CNE1细胞辐射条件下克隆形成率的影响

Fig.3 Effects of miRNA-325-3p overexpression (A) and CK13 knockdown (B) on the clone formation rate of CNE1 cells to radiotherapy

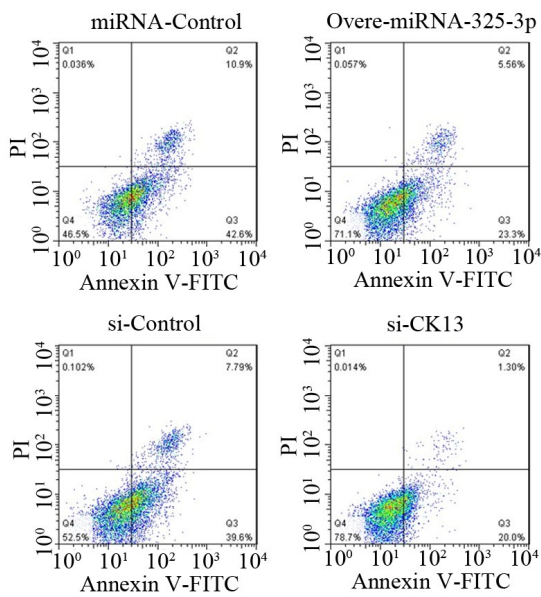


图4 miRNA-325-3p过表达或CK13敲低降低CNE1细胞的凋亡水平

Fig.4 miRNA-325-3p overexpression or CK13 knockdown reduced the apoptosis of CNE1 cells

3 讨论

鼻咽癌是来源于鼻咽黏膜内层的上皮性肿瘤,是我国高发恶性肿瘤之一^[10-11]。近年来随着放射治疗技术的不断改进,鼻咽癌的治疗效果有了一定的提升^[12]。但仍有部分肿瘤细胞对放射具有抵抗作用,该类肿瘤细胞存活后可继续增殖或转移,使癌症患者的治疗效果低于预期^[13]。如何提高放射治疗有效性成为了鼻咽癌治疗的一个关键点。miRNA-325-3p调控了非小细胞肺癌、肝癌等肿瘤细胞的侵袭、迁移、耐药等生物学过程^[14-16]。然而,miRNA-325-3p是否影响鼻咽癌细胞放疗敏感性目前尚未见报道。因

此,本研究探究了miRNA-325-3p在调控鼻咽癌细胞放疗敏感性中的作用及其分子机制。

miRNA通过与靶基因mRNA的3'-UTR碱基配对而调控mRNA的翻译或降解,进而发挥生物学功能^[17-18]。因此,本研究首先探究了miRNA-325-3p的下游靶基因。通过miRBase、TargetScan、Microcosm三大靶基因预测数据库分析发现,miRNA-325-3p和CK13 mRNA的3'-UTR区域存在结合位点,推测miRNA-325-3p可能通过调控CK13表达而影响鼻咽癌细胞放疗敏感性。随后进行双荧光素酶报告实验验证发现,miRNA-325-3p能够和CK13 mRNA的3'-UTR区域结合,并抑制CK13表达。先前的研究^[19-20]显示miRNA-325-3p能够调控受体相互作用丝氨酸苏氨酸激酶3(receptor interacting serine threonine kinase 3,RIPK3)、弹性蛋白酶等蛋白表达。而本研究进一步扩展了miRNA-325-3p的下游调控靶点。

本研究随后对miRNA-325-3p和CK13调控鼻咽癌CNE1细胞放疗敏感性的作用进行了探究。发现随着放射剂量的增加,CNE1细胞中miRNA-325-3p的表达量上调、CK13的表达下调。而YAO等学者^[6]的研究显示,miRNA-325-3p在非小细胞肺癌中表达下调并发挥抗肿瘤作用,推测miRNA-325-3p可能具有组织特异性,从而展示不同的生物学功能。进一步研究显示,随着放射剂量的增加,上调miRNA-325-3p表达或下调CK13表达显著提高了鼻咽癌细胞克隆数目,说明上调miRNA-325-3p表达或下调CK13表达降低了鼻咽癌细胞放疗敏感性。此外,流式细胞术和MTT实验也进一步证实了上述结论。然而LI等^[15]发现,下调miRNA-325-3p提高了乙型肝炎病毒阳性肝癌细胞的多柔比星耐药性,推测可能是肿瘤细胞的化疗耐药性和放疗敏感性的分子机制不同,且miRNA-325-3p的组织特异性使其发挥不同的生

物学功能。因此,下调 miRNA-325-3p 或上调 CK13 将有助于提高鼻咽癌患者放疗效果、改善患者预后。

综上所述,本研究探究了 miRNA-325-3p 在鼻咽癌细胞放疗敏感性中的调控作用及其分子机制,结果显示 miRNA-325-3p 可通过下调 CK13 表达降低鼻咽癌细胞的放疗敏感性,这为鼻咽癌的临床放射治疗方案改进提供了实验依据。然而 miRNA-325-3p 是否调控鼻咽癌细胞的其他生物学功能以及在不同放疗敏感性鼻咽癌患者中的表达尚未被阐明,后续仍需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] WEI K R, ZHENG R S, ZHANG S W, et al. Nasopharyngeal carcinoma incidence and mortality in China, 2013[J]. *Chin J Cancer*, 2017, 36: 90. DOI:10.1186/s40880-017-0257-9.
- [2] MAHDAVIFAR N, GHONCHEH M, MOHAMMADIAN-HAF-SHEJANI A, et al. Epidemiology and inequality in the incidence and mortality of nasopharynx cancer in Asia[J]. *Osong Public Health Res Perspect*, 2016, 7(6): 360-372. DOI:10.1016/j.phrp.2016.11.002.
- [3] LI P J, MO H Y, LUO D H, et al. The efficacy of induction chemotherapy in the treatment of stage II nasopharyngeal carcinoma in intensity modulated radiotherapy era[J]. *Oral Oncol*, 2018, 85: 95-100. DOI:10.1016/j.oraloncology.2018.08.016.
- [4] LIU L E, FEI Z H, CHEN M F, et al. Induction chemotherapy plus concurrent chemoradiotherapy versus induction chemotherapy plus volumetric modulated arc therapy alone in the treatment of stage II-IVB nasopharyngeal carcinoma patients: a retrospective controlled study[J/OL]. *Radiat Oncol*, 2018, 13(1): 148[2019-08-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6090803/>. DOI: 10.1186/s13014-018-1092-0.
- [5] BARTEL D P. Metazoan MicroRNAs[J]. *Cell*, 2018, 173(1): 20-51. DOI:10.1016/j.cell.2018.03.006.
- [6] YAO S H, ZHAO T J, JIN H. Expression of MicroRNA-325-3p and its potential functions by targeting HMGB1 in non-small cell lung cancer [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2015, 70: 72-79. DOI:10.1016/j.biopha.2015.01.013.
- [7] 许珊, 李巍, 赵宁, 等. miRNA-124-3p 通过靶向 STAT3 抑制鼻咽癌细胞生长和转移[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(18): 2866-2874.
- [8] ZHU B, GUO Z L, JIN M Z, et al. Establishment of dermal sheath cell line from Cashmere goat and characterizing cytokeratin 13 as its novel biomarker[J]. *Biotechnol Lett*, 2018, 40(5): 765-772. DOI: 10.1007/s10529-018-2532-5.
- [9] HAMED M A, NAKATA S, SHIOGAMA K, et al. Cytokeratin 13, cytokeratin 17, and Ki-67 expression in human acquired cholesteatoma and their correlation with its destructive capacity[J]. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2017, 10(3): 213-220. DOI:10.21053/ceo.2016.01263.
- [10] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [11] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(1): 19-28.
- [12] VERMA V, SURKAR S M, MORENO A C, et al. Practice patterns and outcomes of chemoradiotherapy versus radiotherapy alone for older patients with nasopharyngeal cancer[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(5): 1604-1611. DOI:10.1002/cam4.1290.
- [13] HSIEH M J, CHIEN S Y, CHOU Y E, et al. Hispolon from *Phellinus linteus* possesses mediate caspases activation and induces human nasopharyngeal carcinomas cells apoptosis through ERK1/2, JNK1/2 and p38 MAPK pathway [J]. *Phytomedicine*, 2018, 45: 121. DOI:10.1016/j.phymed.2016.12.012.
- [14] GAN H Z, LIN L, HU N J, et al. KIF2C exerts an oncogenic role in non-small cell lung cancer and is negatively regulated by miR-325-3p [J]. *Cell Biochem Funct*, 2019, 37(6): 424-431. DOI:10.1002/cbf.3420.
- [15] LI R, XU T, WANG H T, et al. Dysregulation of the miR-325-3p/DPAGT1 Axis supports HBV-positive HCC chemoresistance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519(2): 358-365. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.116.
- [16] ZHANG Z T, HAN Y Z, SUN G X, et al. MicroRNA-325-3p inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma by down-regulation of aquaporin 5[J/OL]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 13[2019-08-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6373077/>. DOI:10.1186/s11658-019-0137-1.
- [17] HE K, LI W X, GUAN D G, et al. Regulatory network reconstruction of five essential microRNAs for survival analysis in breast cancer by integrating miRNA and mRNA expression datasets[J]. *Funct Integr Genomics*, 2019, 19(4): 645-658. DOI:10.1007/s10142-019-00670-7.
- [18] COLDEN M, DAR A A, SAINI S, et al. MicroRNA-466 inhibits tumor growth and bone metastasis in prostate cancer by direct regulation of osteogenic transcription factor RUNX2[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(1): e2572[2019-08-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5386393/>. DOI:10.1038/cddis.2017.15.
- [19] SUN J D, ZENG Y H, ZHANG Y, et al. MiR-325-3p promotes locomotor function recovery in rats with spinal cord injury via inhibiting the expression of neutrophil elastase[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(24): 10631-10637. DOI:10.26355/eurrev_201912_19760.
- [20] ZHANG D Y, WANG B J, MA M, et al. MicroRNA-325-3p protects the heart after myocardial infarction by inhibiting RIPK3 and programmed necrosis in mice[J/OL]. *BMC Mol Biol*, 2019, 20(1): 17[2019-08-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6598367/>. DOI: 10.1186/s12867-019-0133-z.

[收稿日期] 2019-12-05

[修回日期] 2020-03-13

[本文编辑] 黄静怡