

微小RNA-1908对肺癌细胞A549细胞周期和靶基因的调控

洪伟伟, 马书梅, 彭慧, 隋静, 张艳秋, 李成云, 梁戈玉

摘要:

[目的] 探讨微小RNA(microRNA, miRNA/miR)1908对肺癌细胞A549的细胞周期及靶基因的调控作用。

[方法] 通过慢病毒转染方法,上调A549细胞中miR-1908的表达水平,运用噻唑蓝法和流式细胞技术检测miR-1908对A549细胞增殖、周期和凋亡的影响。应用DIANA-TOOLS及KEGG数据库对miR-1908进行生物信息学分析,探讨其可能参与的信号通路和潜在靶基因。应用RT-qPCR和Western blot技术检测miR-1908对预测靶基因mRNA和蛋白表达水平的调控。

[结果] 与阴性对照组相比,转染组上调miR-1908表达可引起A549细胞G2期阻滞,S期减少($P < 0.05$),对细胞增殖和凋亡无明显影响($P > 0.05$)。miR-1908主要参与MAPK信号通路的调控,蛋白磷酸酶5(PP5)基因为其重要的潜在靶基因。与阴性对照组相比,转染组上调miR-1908表达可引起PP5的蛋白表达增加($P < 0.05$),但其mRNA表达无明显改变($P > 0.05$)。

[结论] miR-1908可能通过对PP5基因正向调控或间接调控影响A549细胞周期,研究结果加深了对miRNAs在肺癌细胞中的作用及其机制的理解,并为miRNAs在肺癌中的进一步研究提供线索。

关键词: 微小RNA-1908; A549细胞; 生物学功能; 基因调控; 蛋白磷酸酶5

引用: 洪伟伟, 马书梅, 彭慧, 等. 微小RNA-1908对肺癌细胞A549细胞周期和靶基因的调控[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(11): 958-963. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17452

Role of microRNA-1908 in cell cycle and target gene regulation in lung cancer A549 cells HONG Wei-wei, MA Shu-mei, PENG Hui, SUI Jing, ZHANG Yan-qiu, LI Cheng-yun, LIANG Ge-yu (Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering, Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China). Address correspondence to LIANG Ge-yu, E-mail: lianggeyu@163.com
• The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To explore the regulation of cell cycle and target gene in lung cancer A549 cells by microRNA (miRNA/miR) 1908.

[Methods] Up-regulated miR-1908 expression in A549 cells was induced by lentivirus transfection. Then, MTT and flow cytometry were applied to detect the influence of miR-1908 on cell proliferation, apoptosis, and cell cycle of A549 cells. DIANA-TOOLS and KEGG databases were used to analyze the bioinformatics of miR-1908 and explore potential signaling pathways and target genes. RT-qPCR and Western blot were applied to detect the miR-1908 regulation on both mRNA and protein expression levels of its predicted target gene.

[Results] Compared with the negative control group, the up-regulation of miR-1908 in the transfection group caused arrested G2 phase and shortened S phase of A549 cells ($P < 0.05$), but did not induce significant changes in cell proliferation and apoptosis ($P > 0.05$). miR-1908 was mainly related to MAPK signaling pathway, and protein phosphatase 5 (PP5) was an important potential target gene. Compared with the negative control group, the up-regulation of miR-1908 in the transfection group increased PP5 protein level ($P < 0.05$), but not its mRNA expression level ($P > 0.05$).

[Conclusion] miR-1908 may affect the cell cycle of A549 cells by regulating PP5 positively or indirectly. The results help further understanding the role and mechanism of miRNAs in lung cancer cells and provide a novel clue for studying miRNAs in lung cancer.

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号: 81472939, 81673132); 2016年度江苏省普通高校学术学位研究生科研创新计划(编号: KYZZ16_0138); 江苏省科技厅2015年社会发展项目(编号: BE2015719); 南京市科技计划项目(编号: 201503006)

[作者简介] 洪伟伟(1992—),男,硕士生;研究方向:分子环境医学;E-mail: hongweiwei1992@163.com

[通信作者] 梁戈玉, E-mail: lianggeyu@163.com

[作者单位] 东南大学公共卫生学院,环境医学工程教育部重点实验室,江苏 南京 210009

Keywords: microRNA-1908; A549 cell; biological function; gene regulation; protein phosphatase 5

Citation: HONG Wei-wei, MA Shu-mei, PENG Hui, et al. Role of microRNA-1908 in cell cycle and target gene regulation in lung cancer A549 cells[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(11): 958-963. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17452

微小RNA(microRNA, miRNA/miR)是一类长度约22个核酸的非编码内源性小RNA,可通过与靶基因mRNA互补序列相结合,调控基因表达^[1]。一般通过降低mRNA稳定性或抑制翻译,降低蛋白的表达,进而改变生物学功能。miRNAs参与了细胞分化、增殖、凋亡和侵袭等多种功能调控^[2]。既往研究表明,miRNAs与癌症的发生发展关系极为密切。例如,miR-27a参与了肝癌、胃癌发生发展的调控,miR-146a与乳腺癌、卵巢癌的进展和预后相关^[3-6]。肺癌相关的miRNAs也不断被发现,如miR-638、miR-221、miR-148b等均参与肺癌的调控^[7-9]。

miR-1908于2008年在人类胚胎干细胞中首次被发现,它位于人类第11号染色体上*FADS1*基因的第1个内含子内^[10]。研究发现,miR-1908与肝癌、胶质瘤和黑色素瘤等肿瘤的发展、转移及预后相关^[11-13]。有研究表明原发性肺癌患者血清中miR-1908水平比正常对照低^[14]。目前,有关miR-1908与肺癌的研究极少,其在肺癌中的生物学作用和相关机制尚不明确。本研究通过探讨miR-1908对肺腺癌细胞A549的细胞周期及靶基因的调控作用,进一步了解miRNAs对肺癌细胞的作用及机制,并为miRNAs在肺癌中的研究提供线索。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

人肺腺癌细胞A549,购自中国科学院上海生科院细胞资源中心。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 A549细胞采用常规传代培养,用DMEM高糖培养基(含体积分数10%的胎牛血清)于37℃、5%(体积分数,后同)CO₂条件下培养,每天换液1次。使用质量分数0.02%的EDTA和质量分数0.25%的胰蛋白酶,以体积比1:1混合,对细胞进行消化、传代。每日用倒置显微镜观察细胞生长情况,取生长状态良好的对数生长期细胞进行试验。

1.2.2 细胞转染 按照上海吉凯基因化学技术有限公司提供的慢病毒实验操作手册进行,采用MOI=10(即感染时病毒与细胞数量的比值为10)的转染剂量。取

对数生长期的细胞,调整细胞浓度为 5×10^4 个/mL,接种 1×10^5 个细胞至6孔板培养孔中,在37℃、5%CO₂的培养箱中培养,当细胞的融合度为20%~30%时进行转染。实验分3组,2个转染组加入相应慢病毒、聚凝胺和增强感染溶液,空白组采取常规培养,不做处理,每组同时设3个平行。3组分别为:(1)转染组(加入载有miR-1908的慢病毒);(2)阴性对照组(加入未载有miR-1908的慢病毒);(3)空白组。具体方法如下:(1)稀释慢病毒,使用增强感染溶液将慢病毒滴度调整为 1×10^8 TU/mL,轻轻混匀;(2)稀释聚凝胺,使用增强感染溶液稀释聚凝胺,至最终质量浓度为500 μg/mL;(3)制备混合液,将60 μL稀释的慢病毒和30 μL稀释的聚凝胺加入910 μL完全培养基中,充分混匀;(4)弃去6孔板中的培养液,每孔加入1 000 μL的混合液,此时每孔转染慢病毒的最终滴度为 2×10^6 TU/mL;(5)37℃、5%CO₂条件下培养12 h后,观察细胞状态,并且更换为新鲜培养基。转染3~4 d且细胞融合度达到80%以上时终止培养,验证转染效果和测定细胞增殖情况。

1.2.3 转染效果验证 用生物导航仪(Olympus,日本)观察有绿色荧光的细胞数量,通过与相同区域内细胞总数比对,计算成功转染细胞的比例。用Trizol试剂(Invitrogen,美国)从实验细胞中提取总RNA。miR-1908的逆转录引物和上下游引物由广州市锐博生物科技有限公司生产提供。应用Reverse Transcription System试剂盒(Promega,美国)对RNA进行逆转录,体系为20 μL,反应条件为:42℃ 15 min, 95℃ 5 min, 4℃ 5 min。Step one plus实时荧光定量PCR仪(ABI,美国)进行反应扩增,扩增条件按GoTaq® qPCR Master Mix试剂盒(Promega,美国)进行,体系为20 μL,反应条件为:95℃ 2 min, 95℃ 15 s, 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 40个循环;以U6作为内参,最后通过溶解曲线分析扩增产物的特异性。实验重复3次,采用比较域值法进行数据分析,即 $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{实验组目的基因}} - Ct_{\text{实验组管家基因}}) - (Ct_{\text{对照组目的基因}} - Ct_{\text{对照组管家基因}})$, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 可反映实验组与对照组目的基因表达的差异倍数。

1.2.4 细胞增殖测定 用噻唑蓝法(MTT法)测定细胞增殖情况。弃去每孔中的培养液,在生物导航仪上观

察荧光表达情况。每孔加入含体积分数 10% MTT 的 DMEM 高糖培养液(不含胎牛血清),继续培养 4 h,弃去 MTT 溶液,每孔加入二甲基亚砜(Sigma, 美国) 150 μ L,于 37℃振荡至紫色的甲臞结晶完全溶解,用酶标仪测定各孔在 570 nm 波长处的光密度值(D)。

1.2.5 细胞周期和细胞凋亡检测 取转染 96 h 后的细胞,去除培养液,于 89 $\times$ g、4℃离心 5 min,弃上清,用不含 EDTA 的 0.25% (质量分数)胰蛋白酶消化贴壁的细胞,与培养液中细胞混合后制成单个细胞悬液,调整待测细胞的密度为 5×10^5 个/mL。取 1 mL 细胞,140 $\times$ g、4℃离心 10 min,弃上清液。加入 1 mL 预冷的 PBS,轻轻振荡使细胞悬浮,140 $\times$ g、4℃离心 10 min,弃掉上清液。重复上述步骤两次。收集细胞后分别进行 PI 染色和 Annexin V-APC/7-AAD 双染,用流式细胞仪(BD, 美国)检测细胞周期和细胞凋亡。

1.2.6 信号通路分析和靶基因预测 登陆 DIANA. mirPath 数据库网站(<http://www.microrna.gr/miRPathv2>),选择 DIANA miRPath v.2.0 分析软件,设定物种为 human,输入待测的 miRNA 名称并运行程序,选择结果中得分较高(以 P 值的负对数 $-\ln P$ 为计分标准,得分越高则与该信号通路的相关性越强)且与肺癌相关性较强的信号通路,查看通路中与待测 miRNA 有强关联性的基因。然后登陆 DIANA TOOLS 网站(<http://diana.imis.athena-innovation.gr/DanaTools/index.php?r=site/page&view=software>),选择靶基因预测数据库软件 MR-microT,设定物种为 human,输入待测 miRNA 序列并运行程序,将得到的结果与通路分析的结果进行比对,取交集。

1.2.7 预测靶基因的 mRNA 表达水平检测 RT-qPCR 法检测转染慢病毒后预测靶基因 *PP5* 的 mRNA 表达水平,以 β -actin 为内参,方法和反应条件同 1.2.3,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因(Gene)	引物(Primer)	序列(Sequence)
<i>β-actin</i>	正向引物(Forward primer)	5'-ATCCGCAAAGACCTGT-3'
	反向引物(Reverse primer)	5'-GGGTGTAACGCAACTAAG-3'
<i>PP5</i>	正向引物(Forward primer)	5'-CCCACTACTGCGACCAT-3'
	反向引物(Reverse primer)	5'-CCCCTCACCTCATCATTC-3'

1.2.8 Western blot 蛋白印记实验 取转染 72~96 h 的细胞去除培养液,用 PBS 缓冲液清洗两次,按照 6 孔板每孔加入 200 μ L 裂解液,混匀后冰上静置 10 min,使

细胞充分裂解,4℃、(10 000~14 000) $\times$ g 离心 6 min,取上清,二喹啉甲酸法(BCA 法)测定总蛋白浓度后分装,-80℃冰箱保存备用。取 20 μ g 样品与上样缓冲液混合,煮沸 5 min,用质量分数 10% 的 SDS-PAGE 变性凝胶电泳,转 PVDF 膜,质量分数 5% 的脱脂奶粉室温封闭 1 h, TBST 洗膜 5 min $\times$ 2 次,一抗 4℃孵育过夜, TBST 洗膜 5 min $\times$ 5 次,二抗孵育 1 h, TBST 洗膜 5 min $\times$ 5 次,在 PVDF 膜上均匀涂上显影液,放入天能 5200 全自动化学发光成像分析系统(上海天能科技有限公司,中国)的暗室,选择合适的曝光时间,获得图像并分析结果。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 18.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对数据进行单因素方差分析和 Dunnett- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧)。

2 结果

2.1 细胞形态观察

倒置显微镜下观察,可见对照组细胞贴壁生长,细胞呈多边形,排列均匀,折光性好,细胞大小和形态基本一致。各转染组细胞在培养 48 h 后与对照组细胞比较,细胞数目、形态均无明显变化。

2.2 转染效果验证

转染剂量为 MOI=10 时,有 70% 左右的细胞转染成功。提取总 RNA,测定 RNA 的纯度与完整性后,通过 RT-qPCR 验证转染慢病毒后 miR-1908 的表达量,结果显示:转染组与阴性对照组相比,miR-1908 表达量上调了 6.41 倍,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 慢病毒转染后 miR-1908 表达水平改变

Table 2 Changes of miR-1908 expression level after lentivirus transfection

组别(Group)	Ct 均值(Mean)	U6	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
转染组(Transfection group)	31.90	16.41	15.49*	6.41
阴性对照组(Negative control group)	33.91	15.20	18.17	
空白组(Blank group)	35.18	13.48	21.70	

[注]*: 与阴性对照组相比, $P<0.05$ 。

[Note]*: Compared with the negative control group, $P<0.05$.

2.3 细胞增殖检测结果

转染组、阴性对照组和空白组的 D 值分别为 0.55 ± 0.00 、 0.56 ± 0.01 、 0.59 ± 0.01 ,转染组与阴性对照组之间的 D 值差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 细胞周期检测结果

与阴性对照组相比,转染组有更多的细胞阻滞在

G2期,而处于S期的细胞相对减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 慢病毒转染后对A549细胞周期的影响

Table 3 Effects on cell cycle of A549 cells after lentivirus transfection

组别(Group)	G1(%)	S(%)	G2(%)
转染组(Transfection group)	58.97 ± 0.36	10.99 ± 0.43*	30.04 ± 0.62*
阴性对照组(Negative control group)	62.82 ± 2.56	15.96 ± 2.02	21.21 ± 1.62
空白组(Blank group)	60.57 ± 0.82	13.39 ± 1.15	26.03 ± 1.60

[注]*: 与阴性对照组相比, $P<0.05$ 。

[Note]*: Compared with the negative control group, $P<0.05$.

2.5 细胞凋亡检测结果

流式细胞仪分析显示: 转染组与阴性对照组之间细胞凋亡率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

表4 慢病毒转染后对A549细胞凋亡的影响

Table 4 Effects on cell apoptosis of A549 cells after lentivirus transfection

组别(Group)	早期凋亡率(%) Early apoptosis rate	晚期凋亡率(%) Late apoptosis rate	总凋亡率(%) Total apoptosis rate
转染组 Transfection group	4.65 ± 0.65	10.48 ± 5.83	15.13 ± 5.76
阴性对照组 Negative control group	7.21 ± 3.79	8.26 ± 2.19	15.47 ± 5.92
空白组 Blank group	4.85 ± 2.49	11.66 ± 3.05	16.51 ± 3.12

2.6 信号通路分析和靶基因预测

对miR-1908进行信号通路分析,发现11个信号通路 $-\ln p \geq 2.99$ (即 $P<0.05$),其中包括与肺癌相关性较强的MAPK通路。进一步查看MAPK通路中与miR-1908有强关联性的基因,发现miR-1908可能主要通过对CACNA和PP5等基因的调控,影响细胞周期、凋亡。接着再应用MR-microT数据库对miR-1908的靶基因进行预测,并与信号通路分析结果进行对比,发现MAPK通路中的PP5基因在MR-microT数据库中也预测为miR-1908的潜在靶基因。因此本研究选择PP5基因及其调控蛋白作为开展靶基因调控研究的对象。

2.7 miR-1908转染后PP5的mRNA表达

RT-qPCR实验结果中,各组的PP5溶解曲线均为单峰,为特异性扩增。转染组PP5 mRNA的表达量与阴性对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5。

2.8 miR-1908转染后PP5的蛋白表达

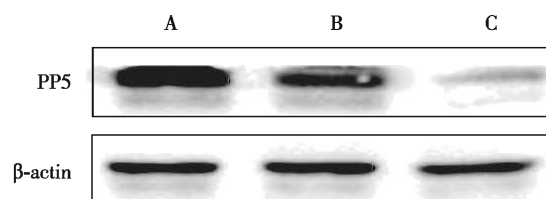
通过在A549细胞中上调miR-1908表达量,检测PP5蛋白表达量的改变。与阴性对照组相比,转染

组PP5蛋白表达量明显增高,差别有统计学意义($P<0.05$)。见图1、图2。

表5 慢病毒转染后PP5 mRNA表达水平的改变

Table 5 Changes of PP5 mRNA expression level after

lentivirus transfection				
组别(Group)	Ct均值(Mean)	β -actin	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
转染组(Transfection group)	35.39	17.84	17.55	0.53
阴性对照组(Negative control group)	36.21	17.75	18.46	
空白组(Blank group)	35.74	17.93	17.81	

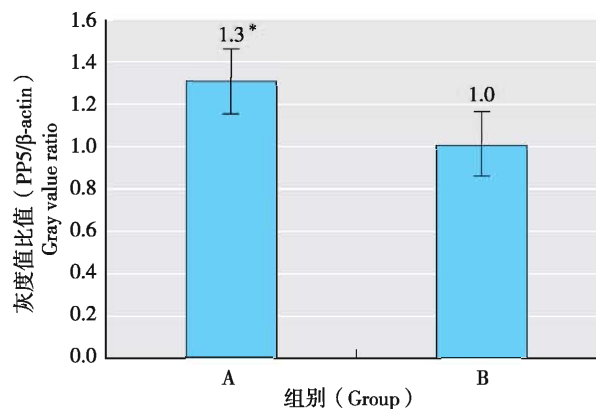


[注]A: 转染组; B: 阴性对照组; C: 空白组。

[Note] A: Transfection group; B: Negative control group; C: Blank group.

图1 慢病毒转染后对PP5蛋白表达水平的影响

Figure 1 Effects on PP5 protein expression level after lentivirus transfection



[注]A: 转染组; B: 阴性对照组。*: 与阴性对照组相比, $P<0.05$ 。

[Note] A: Transfection group; B: Negative control group. *: Compared with negative control group, $P<0.05$.

图2 慢病毒转染后PP5蛋白的相对表达水平

Figure 2 Relative expression level of PP5 protein after lentivirus transfection

3 讨论

既往研究表明,miRNAs可能通过参与调控细胞增殖、周期、凋亡等生物学过程,发挥类似癌基因或抑癌基因的功能,在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。例如,在肝癌细胞中,过表达miR-27a可通过下调转录因子FOXO1,降低细胞周期,抑制蛋白p21和p27表达,增加细胞周期调节蛋白D1的表达,促进

G1/S期细胞周期过度^[3]。miR-197和miR-137可通过靶向抑制*MCL-1*介导多发性骨肉瘤细胞的凋亡,发挥抑癌基因的作用^[15]。

近年来研究发现,miR-1908与黑色素瘤、骨肉瘤、胶质母细胞瘤等有关,且主要发挥类似癌基因调控作用。如内源性miR-1908在黑色素瘤中可促进肿瘤细胞的侵袭转移、血管生成以及定植^[13]。Kim等^[16]发现过表达miR-1908-5p可促进骨肉瘤U2OS细胞增殖、迁移和侵袭。Xia等^[17]在人胶质母细胞瘤细胞SW-1783中过表达miR-1908,发现miR-1908通过抑制PTEN通路,促进细胞增殖。在人多能脂肪干细胞(hMADS)中过表达miR-1908,同样发现其可抑制细胞分化,促进细胞增殖^[18]。此外,miR-1908在骨肉瘤组织中的表达明显高于邻近骨组织对照,且miR-1908高表达的肿瘤更易复发、转移,对化疗更敏感,而miR-1908低表达的患者有较好的生存趋势,所以miR-1908表达增加可作为骨肉瘤预后不良的生物标志^[19]。

miR-1908与肺癌细胞的相关研究很少,其作用机制尚不清楚。Ma等^[20]在轻微缺氧条件下向非小细胞癌细胞系细胞(SK-MES-1、A549和NCI-H460)中转染miR-1908模拟物后,发现这些细胞增殖明显受抑制,而转染miR-1908抑制物,结果则相反,提示其发挥类似抑癌基因的作用。本次研究发现上调miR-1908对细胞周期具有影响,可使更多的细胞阻滞在G2期,而S期细胞减少,未发现miR-1908对A549细胞增殖和凋亡具有明显影响。本次研究结果与Ma等非小细胞癌细胞系关于细胞增殖的研究结果并不完全一致,可能与Ma等在缺氧条件下进行试验有关。miRNAs在不同肿瘤细胞中的生物学功能不尽相同,需要更多的研究来进一步证实miR-1908在肺癌细胞中的作用。

在细胞中,各种信号转导分子相互作用,将信号进行转换和传递,构成信号通路。当外界环境变化时,细胞通过复杂的信号传递系统来传递信息,最终产生一系列生理生化反应,从而调控机体活动^[21]。本研究对miR-1908的信号通路分析结果显示:miR-1908可能通过靶向调控*CACNG*基因、*PP5*基因等影响细胞周期和凋亡,参与肺癌相关重要通路之一——MAPK通路的调控。而靶基因预测分析进一步显示,*PP5*可能是miR-1908的靶基因。

*PP5*基因编码的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶,是蛋白磷酸酶催化亚基家族的一个成员,参与细胞生长和分

化的调节。该基因的产物可能参与激素反应或细胞应激信号传导途径,与多种癌症的发生发展相关。例如,体外敲除*PP5*基因可抑制肝癌细胞生长^[22]。在人脑胶质瘤细胞中,*PP5*能加速细胞生长和迁移,下调*PP5*蛋白的表达能显著抑制胶质瘤细胞的增殖^[23]。既往研究表明,*PP5*基因在肺癌的发生发展及预后中起到重要的作用^[24],但它与miR-1908的关系未见相关报道。本研究结果显示,miR-1908对*PP5*基因的mRNA表达没有影响,但是转染组*PP5*蛋白表达量显著升高,这与人们所熟悉的miRNAs负调控机制正好相反。近年来研究发现,miRNAs还可以通过结合基因启动子和5'UTRs区域上调靶基因的表达,从而对靶基因产生正向调控的作用。如miR-744能结合小鼠细胞周期蛋白B1基因的启动子区域,促进其表达^[25]。此外,miR-10a通过与核糖体蛋白mRNA的5'UTRs结合,增强核糖体蛋白mRNA的转录^[26]。还有可能miRNAs直接抑制某基因,而该基因负调控靶基因的表达,从而产生miRNAs间接上调靶基因的作用。所以miR-1908可能正向调控或者间接调控*PP5*蛋白的表达,但其作用机制尚待进一步研究。

综上所述,我们探讨了慢病毒转染miR-1908对A549细胞的生物学功能及预测靶基因*PP5*的影响,结果发现上调miR-1908可以引起细胞G2期增加,S期减少,并可引起*PP5*蛋白表达量的增加,提示miR-1908可能通过对*PP5*正向调控或间接调控影响A549细胞周期,但其具体的调控机制仍需要进一步研究。研究结果加深了对miRNAs在肺癌细胞中的作用及其机制的理解,并为miRNAs在肺癌中的进一步研究提供线索。

参考文献

- [1] Kunej T, Godnic I, Horvat S, et al. Cross talk between microRNA and coding cancer genes[J]. Cancer J, 2012, 18(3): 223-231.
- [2] Shukla G C, Singh J, Barik S. MicroRNAs: processing, maturation, target recognition and regulatory functions[J]. Mol Cell Pharmacol, 2011, 3(3): 83-92.
- [3] Sun B Z, Li J, Shao D, et al. Adipose tissue-secreted miR-27a promotes liver cancer by targeting FOXO1 in obese individuals[J]. Onco Ther, 2015, 8: 735-744.
- [4] Xu Q, Liu J W, Yuan Y. Comprehensive assessment of the association between miRNA polymorphisms and gastric cancer

- risk[J]. *Mutat Res-rev Mutat*, 2015, 763: 148-160.
- [5] Tao SF, He HF, Chen Q. Quercetin inhibits proliferation and invasion acts by up-regulating miR-146a in human breast cancer cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 402(1/2): 93-100.
- [6] Gu YY, Zhang MM, Peng FD, et al. The BRCA1/2-directed miRNA signature predicts a good prognosis in ovarian cancer patients with wild-type BRCA1/2[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(4): 2397-2406.
- [7] Wang F, Lou JF, Cao Y, et al. miR-638 is a new biomarker for outcome prediction of non-small cell lung cancer patients receiving chemotherapy[J]. *Exp Mol Med*, 2015, 47: e162.
- [8] Xu YM, Zhong CJ, Ding SG, et al. MicroRNA-221 promotes human non-small cell lung cancer cell H460 growth[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2): 2024-2030.
- [9] Sui C, Meng F, Li Y, et al. miR-148b reverses cisplatin-resistance in non-small cell cancer cells via negatively regulating DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1 (DNMT1) expression[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 132.
- [10] Bar M, Wyman SK, Fritz BR, et al. MicroRNA discovery and profiling in human embryonic stem cells by deep sequencing of small RNA libraries[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(10): 2496-2505.
- [11] Jin JC, Jin XL, Zhang X, et al. Effect of OSW-1 on microRNA expression profiles of hepatoma cells and functions of novel microRNAs[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(6): 1831-1837.
- [12] Shou JJ, Gu SX, Gu WT. Identification of dysregulated miRNAs and their regulatory signature in glioma patients using the partial least squares method[J]. *Exp Therap Med*, 2015, 9(1): 167-171.
- [13] Pencheva N, Tran H, Buss C, et al. Convergent Multi-miRNA Targeting of ApoE Drives LRP1/LRP8-Dependent Melanoma Metastasis and Angiogenesis[J]. *Cell*, 2012, 151(5): 1068-1082.
- [14] Keller A, Leidinger P, Gislefoss R, et al. Stable serum miRNA profiles as potential tool for non-invasive lung cancer diagnosis[J]. *RNA Biol*, 2014, 8(3): 506-516.
- [15] Yang YJ, Li F, Saha MN, et al. miR-137 and miR-197 Induce Apoptosis and Suppress Tumorigenicity by Targeting MCL-1 in Multiple Myeloma[J]. *Clin Canc Res*, 2015, 21(10): 2399-2411.
- [16] Kim HR, Shin CH, Lee H, et al. MicroRNA-1908-5p contributes to the oncogenic function of the splicing factor SRSF3[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(5): 8342-8355.
- [17] Xia XW, Li Y, Wang WB, et al. MicroRNA-1908 functions as a glioblastoma oncogene by suppressing PTEN tumor suppressor pathway[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 154.
- [18] Yang L, Shi CM, Chen L, et al. The biological effects of hsa-miR-1908 in human adipocytes[J]. *Mol Biol Rep*, 2015, 42(5): 927-935.
- [19] Lian D, Wang ZZ, Liu NS. MicroRNA-1908 is a biomarker for poor prognosis in human osteosarcoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(7): 1258-1262.
- [20] Ma YF, Feng J, Xing X, et al. miR-1908 Overexpression Inhibits Proliferation, Changing Akt Activity and p53 Expression in Hypoxic NSCLC Cells[J]. *Oncol Res*, 2016, 24(1): 9-15.
- [21] 邹志伟, 刘求真. 肺癌相关信号转导通路的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(6): 564-568.
- [22] Feng L, Sun P, Li ZY, et al. Knockdown of PPP5C inhibits growth of hepatocellular carcinoma cells *in vitro*[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2015, 175(1): 526-534.
- [23] Zhi XL, Zhang HQ, He C, et al. Serine/threonine protein phosphatase-5 accelerates cell Growth and migration in human Glioma[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(5): 669-677.
- [24] Kim W, Youn H, Seong KM, et al. PIM1-Activated PRAS40 Regulates Radioresistance in Non-small Cell Lung Cancer Cells through Interplay with FOXO3a, 14-3-3 and Protein Phosphatases[J]. *Radiat Res*, 2011, 176(5): 539-552.
- [25] Huang V, Place RF, Portnoy V, et al. Upregulation of Cyclin B1 by miRNA and its implications in cancer[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(4): 1695-1707.
- [26] Orom UA, Nielsen FC, Lund AH. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation[J]. *Mol Cell*, 2008, 30(4): 460-471.

(收稿日期: 2017-07-10; 录用日期: 2017-08-17)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 陶黎纳; 校对: 汪源)