

## miR-448通过下调SPACRL1促进口腔鳞癌增殖及迁移能力的研究

李长春,沈林汉,刘玲,魏玮,李宏卫\*

南京医科大学口腔医学研究所,南京医科大学附属口腔医院口腔颌面外科,江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:探讨微小RNA-448(miR-448)对口腔鳞癌细胞增殖调控作用,筛选并验证相关靶基因。方法:RT-qPCR检测miR-448在人口腔鳞癌临床标本中表达;miR-448抑制物转染口腔鳞癌细胞系Cal-27细胞,MTT实验研究miR-448抑制物对细胞增殖能力的影响;细胞划痕实验检测miR-448抑制物对细胞迁移能力的影响。3种基因预测软件筛选出miR-448的可能下游靶基因,实验验证miR-448对靶基因的调控作用。结果:RT-qPCR分析发现miR-448在15对OSCC组织内表达显著升高。与对照组相比,转染miR-448抑制物后,Cal-27细胞增殖及迁移能力明显下降;Western blot、RT-qPCR结果显示SPARCL1基因的表达量升高;荧光素酶报告基因实验确定miR-448与SPARCL1基因在3' UTR区存在位点结合。结论:miR-448在人口腔鳞癌临床标本中呈高表达。miR-448与SPARCL1-3' UTR的结合,下调SPARCL1的表达,在口腔鳞癌细胞中发挥癌基因的作用,促进肿瘤细胞的增殖与迁移。

**[关键词]** 口腔鳞癌;miR-448;SPARCL1;增殖

**[中图分类号]** R739.85

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)06-827-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20180623

## miR-448 promotes the proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma by down-regulating SPACRL1

Li Changchun, Shen Linhan, Liu Ling, Wei Wei, Li Hongwei\*

Jiangsu Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the Affiliated Stomatological Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-448 on the proliferation of oral squamous cell carcinoma, and to screen and verify the relevant genes. **Methods:** Using RT-qPCR to study the expression of miR-448 in human OSCC. Then miR-448 inhibitor was transfected into OSCC cell line Cal-27 cells, and the effects of miR-448 inhibitor on proliferation and migration of OSCC were detected by MTT assay and scratch test. In addition, we screened the target gene of miR-448 by three gene prediction software, and verify the regulation of miR-448 on target genes. **Results:** We found that miR-448 was significantly increased in 15 pairs of OSCC tissues by RT-qPCR analysis. Compared with the control group, the proliferation and migration of Cal-27 cells were significantly decreased after transfected with miR-448 inhibitor. The expression of SPARCL1 gene was increased detected by RT-qPCR and Western blot, and the presence of site-specific binding of miR-448 to the SPARCL1 gene in the 3' UTR region was confirmed by luciferase reporter. **Conclusions:** MiR-448 is highly expressed in clinical samples of oral squamous cell carcinoma. miR-448 down-regulates the expression of SPARCL1 by binding to SPARCL1-3' UTR, playing an oncogene role in oral squamous cell carcinoma and promoting tumor cell proliferation and migration.

**[Key words]** oral squamous cell carcinomas; miR-448; SPARCL1; proliferation

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(06): 827-832, 847]

**[基金项目]** 教育部留学回国人员科研启动基金资助(2013-693);江苏高校优势学科建设工程资助(2014-37)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: lhwqhx@njmu.edu.cn

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤,因其易发生侵袭和转移,导致患者预后较差,术后5年存

活率低于50%<sup>[1]</sup>。其发生发展涉及多种癌基因和抑癌基因的相互作用,研究探索分子发病机制,设计有效的靶向治疗方法是研究方向和热点。

MicroRNA 是一类大小为20~25个核苷酸的非编码小RNA,通过与其靶基因 mRNA 3' UTR 区域完全或不完全配对,在转录后水平调控靶基因表达,参与调节细胞的分化、增殖和凋亡等<sup>[2]</sup>,并在肿瘤发生中起重要作用<sup>[3-4]</sup>。miR-448在多种肿瘤中表达上调,在乳腺癌等疾病中发挥重要的调控作用<sup>[5-6]</sup>,但在口腔鳞癌中的作用尚不清楚。本课题组前期采用新一代高通量测序技术,对10例OSCC样本和癌旁正常组织样本进行测序,筛选差异表达的microRNA,发现miR-448在口腔鳞癌中表达显著升高<sup>[7]</sup>。本研究旨在进一步验证miR-448在口腔鳞癌中的表达,探讨其对口腔鳞癌细胞系增殖及迁移能力的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

15例新鲜的口腔鳞癌组织及其配对癌旁组织(距离癌灶边缘远端至少2 cm,镜检未见肿瘤细胞)均为2013—2014年间在南京医科大学附属口腔医院颌面外科接受手术切除治疗收集的标本,均为病理确诊。所有患者在术前均未接受过抗癌治疗,且获得南京医科大学医学伦理委员会批准及患者书面知情同意。术中取材后,立即放入盛有1 mL RNAlater保存液的无RNA酶冻存管中,后转入-80℃长期保存。口腔鳞癌细胞系SCC-9和Cal-27由上海交通大学第九人民医院提供,Cal-27细胞培养在低糖DMEM(含10%胎牛血清)中,SCC-9细胞培养在含DMEM/F12、0.4 μg/mL氢化可的松、丙酮酸钠、10%胎牛血清的培养基中,培养条件均为37℃,5%CO<sub>2</sub>饱和湿度培养箱。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)

OSCC组织和细胞总RNA提取按TRIzol说明书(Invitrogen, Carlsbad, CA公司,美国)进行,按照生产商的方案转录成的cDNA。用蛋白核酸分析仪Gene Spec V测定样品在波长260 nm及280 nm处吸光度的比值( $A_{260}/A_{280}$ )来确定其纯度和浓度。确保比值在1.8~2.1之间,若比值在该范围之外,则重新提取。

按下列组成配制RT-PCR反应液:10×One Step RNA PCR Buffer 5 μL, MgCl<sub>2</sub> 10 μL, dNTP Mixture 5 μL, RNase Inhibitor、AMV RTase XL、AMV-Opti-

mized Taq、PCR Forward Primer、PCR Reverse Primer、Experimental Sample 各1 μL、RNase Free dH<sub>2</sub>O 24 μL,全量为50 μL。

RT-PCR扩增程序:RT反应:50℃ 30 min; RTase失活:94℃ 2 min。RCR循环扩增(×30):94℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 1 min。

miR-448正向引物序列为:5'-TTGCATATG-TAGGATGTCCCAT-3';miR-448反向引物序列为:5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTC-AGTT-GAGATGGGACA-3';反应结束后,取PCR扩增产物4 μL行1%琼脂糖凝胶电泳。

#### 1.2.2 质粒转染

购买由上海GenePharma公司设计并合成的miR-448抑制物组(inhibitor)和模拟物组(NC-in),参照Invitrogen公司的脂质体(lipofectin 2000)试剂说明书,分别将miR-448 inhibitor和miR-448 inhibitor N.C.转染2种人口腔鳞癌细胞系。实验分组:miR-448抑制物转染组,加入合成的miR-448 inhibitor、脂质体和培养液;miR-448模拟物转染组,加入无关序列miR-448 inhibitor N.C.、脂质体和培养液;空白对照组,仅加入培养液。将上述3组细胞在培养箱中培养48 h,PBS清洗3遍,收集各组细胞,参照上述提取Small RNA,在Rotor-Gene® Q实时荧光定量PCR仪上,以U6作为内参基因检测各组中miR-448表达情况,计算方法为 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 相对定量法,重复3次,验证转染效率。

#### 1.2.3 细胞增殖检测

将转染miR-448抑制物的OSCC细胞及相应对照细胞用MTT法检测降低miR-448表达对肿瘤细胞生长的影响。收集处于对数生长期的细胞接种于24孔板,每孔接种 $1 \times 10^4$ 个细胞,按上述方法转染细胞,每组细胞设置3个复孔。将培养板在培养箱孵育一段时间,分别在转染后0、24、48、72 h进行细胞增殖检测。向每孔中加入10 μL CCK-8溶液(CCK-8与反应体系溶液体积比为1:10),将培养板在培养箱中内孵育2 h。用酶标仪(Labsystems, SantaFe, NM,美国)测定450 nm处的吸光度,以不加任何细胞的空白对照孔调零。实验重复3次。以时间为横坐标,3个复孔的平均光吸收值为纵坐标,绘制生长曲线。

#### 1.2.4 划痕试验

将瞬时转染48 h后的实验细胞接种于6孔板,过夜培养至细胞铺满6孔板;用20 μL枪头垂直于培养板在培养孔正中划线,PBS洗去脱落细胞,然后

换含1%血清的培养液,选择3~6处拍照记为0 h; 24、36、48 h后对标记处进行拍照。

#### 1.2.5 靶基因预测

运用3个在线基因预测软件:miRanda(<http://www.microrna.org/microrna/home.do>)、TargetScan(<http://www.targetscan.org>)、TarBase(<http://diana.cslab.ece.ntua.gr/tarbase>),预测miR-448的下游靶基因。

#### 1.2.6 靶基因蛋白质表达验证

使用Cal-27细胞系,分别转染miR-448 inhibitor和miR-448 inhibitor N.C.,转染后进行RT-qPCR和Western blot实验。比较两组中靶基因的蛋白表达,以确定miR-448影响肿瘤细胞周期进程和凋亡的机制。

#### 1.2.7 免疫印迹试验(Western blot)

使用裂解缓冲液(BioRad公司,美国)从OSCC细胞中提取总蛋白。使用BCA蛋白质测定试剂盒(Pierce,罗克福德,IL,美国)进行对裂解物的分析。10%聚丙烯酰胺凝胶电泳,并转移到聚偏氟乙烯膜。分别用封闭液将内参一抗(ab87077,1:500,Abcam公司,英国)稀释后,4℃孵育过夜,用TBST在室温下脱色摇床上洗4次,每次10 min。同上方方法准备二抗稀释液(BA1055,1:1 000,武汉博士德公司)并与膜接触,室温下孵育1 h后,用TBST在室温下脱色摇床上洗5次,每次10 min,进行化学发光反应。随后,通过增强检测蛋白条带化学发光法(ECL),并使用VersaDoc-MP成像可视化系统(BioRad公司,美国)将胶片进行扫描,用凝胶图像处理系统分析目的条带的净光密度值。使用兔单克隆抗β肌动蛋白抗体(BM0627,武汉博士德公司),将蛋白水平标准化为β-肌动蛋白。

#### 1.2.8 载体的构建和荧光素酶报告实验

利用PCR方法,根据SPARCL1(Human)3' UTR序列信息设计其扩增引物,以293T细胞基因组DNA为模板PCR扩增SPARCL1基因的3' UTR序列,将其克隆到pmiR-RB-REPORT™双荧光素酶报告载体中,所用载体的报告荧光为hRluc,校正荧光为hluc(做内参校正),设计扩增引物如下:

h-SPARCL1-3UTR-F(*Xho* I):5'-CTTGACTC-GAGACGAAGATTTTAAAGAACTC-3';h-SPARCL1-3UTR-R(*Not* I):5'-ATTGCGCCGCTTATGGACTC-TTTATTAGG-3'。

总体系为30 μL,具体是5× Prime STAR Buffer 6 μL,2.5 mmol/L dNTPmix 2 μL,上下游引物(10 μmol/L)各1 μL,PrimeSTAR HS DNA聚合酶

(2.5 U/μL)0.3 μL,DNA模板1 μL(约100 ng),用灭菌水补足30 μL体系。反应条件为(降落PCR):98℃2 min预变性,循环内98℃10 s变性,从65℃每个循环降1℃退火,72℃延伸20 s,10个循环;在60℃退火,进行15个循环;72℃继续延伸2 min,然后4℃保存。PCR反应完取2 μL PCR产物进行1%琼脂糖电泳分析,切胶纯化回收。用*Xho* I,*Not* I对上述PCR产物和载体进行双酶切,酶切反应体系如下:10×缓冲液4 μL,DNA约2 μg,内切酶(10 U/μL)各1 μL,灭菌去离子水补足到40 μL。反应条件37℃,4 h。酶切后回收纯化酶切产物。用solution I连接酶与荧光素酶报告载体连接,转化DH5α感受态大肠杆菌,提取质粒,*Xho* I和*Not* I双酶切初步鉴定,测序。后将野生型(WT)或突变型(Mut)质粒与miR448或NC共转染到Cal27细胞中。取连接产物加到100 μL DH5α感受态细胞中,混匀,冰浴30 min。将上述转化液置于42℃水浴90 s,取出后立即置于冰浴中放置2~3 min。向其中加入900 μL 37℃预热的LB(不含抗生素)培养基,150 r/min、37℃振荡培养45 min。2 500 r/min离心5 min,将上清液吸走,留100 μL混匀菌液,加到含Amp抗生素LB固体琼脂培养基上(抗生素浓度100 μg/mL),用无菌弯头玻棒轻轻将细胞均匀涂开。待平板表面干燥后,倒置平板,37℃培养12~16 h。挑取5个菌落,进行PCR测定。后进行细胞转染,于37℃、体积分数5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中,用含体积分数10%胎牛血清的DMEM高糖培养基培养293T细胞,转染复合物的制备:根据预试验结果比例(50:1),将实验载体分别与内参载体进行混合,按照实验组的设计方案,在20 μL无血清高糖DMEM中加入混合好的载体质粒DNA 0.1 μg,混匀后在室温下孵育15~20 min;每孔加入20 μL转染复合物,每组设3个复孔,轻轻吹吸混匀,置于5% CO<sub>2</sub>培养箱中37℃静置培养,转染后培养48 h。后用PBS液润洗3次,加入PLB裂解液,轻轻晃动。向检测管内加入100 μL LAR II,设定好程序,转移20 μL裂解液到检测管中,上机检测,按双荧光素酶报告基因荧光素酶检测系统(ZZE1980;Promega公司,美国)进行检测,计算相对荧光强度。

#### 1.3 统计学方法

实验均重复3次,实验数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用*t*检验和方差分析,两两比较采用S-N-K法,SPSS 13.0统计软件包分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。



## 2 结果

2.1 miR-448在口腔鳞状细胞癌组织和细胞内的表达  
通过RT-qPCR分析miR-448在15对口腔鳞状细胞癌组织及相应癌旁组织中的表达,发现14对样本中,OSCC癌组织miR-448相对癌旁组织表达增高(图1A)。同时检测miR-448在口腔鳞癌细胞系Cal-27和SCC-9内的表达情况,可以看出miR-448在人口腔鳞癌细胞株Cal-27中表达较SCC-9高。因此,选取Cal-27细胞株用于后续体外细胞实验(图1B)。

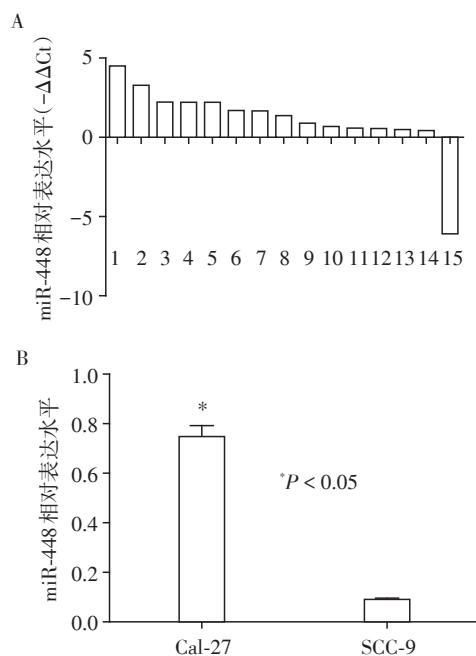


图1 miR-448在口腔鳞状细胞癌组织和癌旁组织(A)以及在Cal-27和SCC-9细胞系内(B)的相对表达情况  
Figure 1 Relative miR-448 expression in OSCC tissues and adjacent tissues (A) and RT qPCR results of miR-448 expression in OSCC cell lines (B)

2.2 转染miR-448抑制物对口腔鳞癌细胞增殖能力的影响

为了验证miR-448在OSCC细胞系内的作用,构造miR-448抑制物(inhibitor)和模拟物(NC)转染入Cal-27细胞系内,通过RT-qPCR确认miR-448在Cal-27细胞系内表达被抑制(图2A)。随后通过MTT实验观察转染miR-448抑制物后OSCC细胞增殖能力的变化。发现相对于对照组,转染miR-448抑制物组Cal-27细胞增殖能力降低(图2B),提示miR-448可能有促进OSCC增殖的作用。

2.3 miR-448抑制物抑制Cal-27细胞系的迁移能力  
通过划痕试验研究转染miR-448抑制物对于

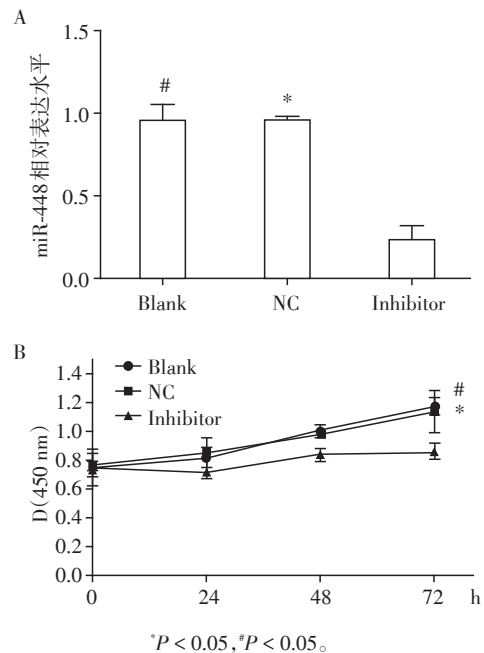


图2 RT-qPCR(A)及MTT测定(B)转染了miR-448抑制物和模拟物后miR448的表达水平

Figure 2 RT qPCR results (A) and MTT assay results (B) of expression levels of miR-448 transfected with miR-448 inhibitor (miR-448) or negative control (NC)

OSCC细胞迁移能力的改变。如图3显示,相比于空白组 and 对照组,在miR-448抑制物转染Cal-27后,显著抑制肿瘤细胞的迁移能力。

2.4 miR-448直接抑制SPARCL1的表达

首先通过3种基因预测软件筛选出SPARCL1作为miR-448的下游靶基因(图4A),miR-448与SPARCL1在3' UTR区存在结合位点。为了验证miR-448与SPARCL1之间的关系,通过RT-qPCR和Western blot分析在Cal-27细胞系中沉默miR-448后SPARCL1的变化。结果表明,与对照组(NC)相比,转染miR-448抑制物后,Cal-27细胞系中SPARCL1基因的表达量升高,提示miR-448抑制SPARCL1的表达(图4B,C)。为了进一步验证miR-448直接作用于SPARCL1,进行了荧光素酶报告基因实验。结果显示,miR-448对野生型SPARCL1表达有明显的下调作用,暗示miR-448直接靶向作用于SPARCL1(图4D)。

## 3 讨论

OSCC是头颈部肿瘤中发病率最高的恶性肿瘤<sup>[8]</sup>。近年来,研究者们发现一类新的非编码RNA,即微小RNA(microRNA或miRNA),在OSCC

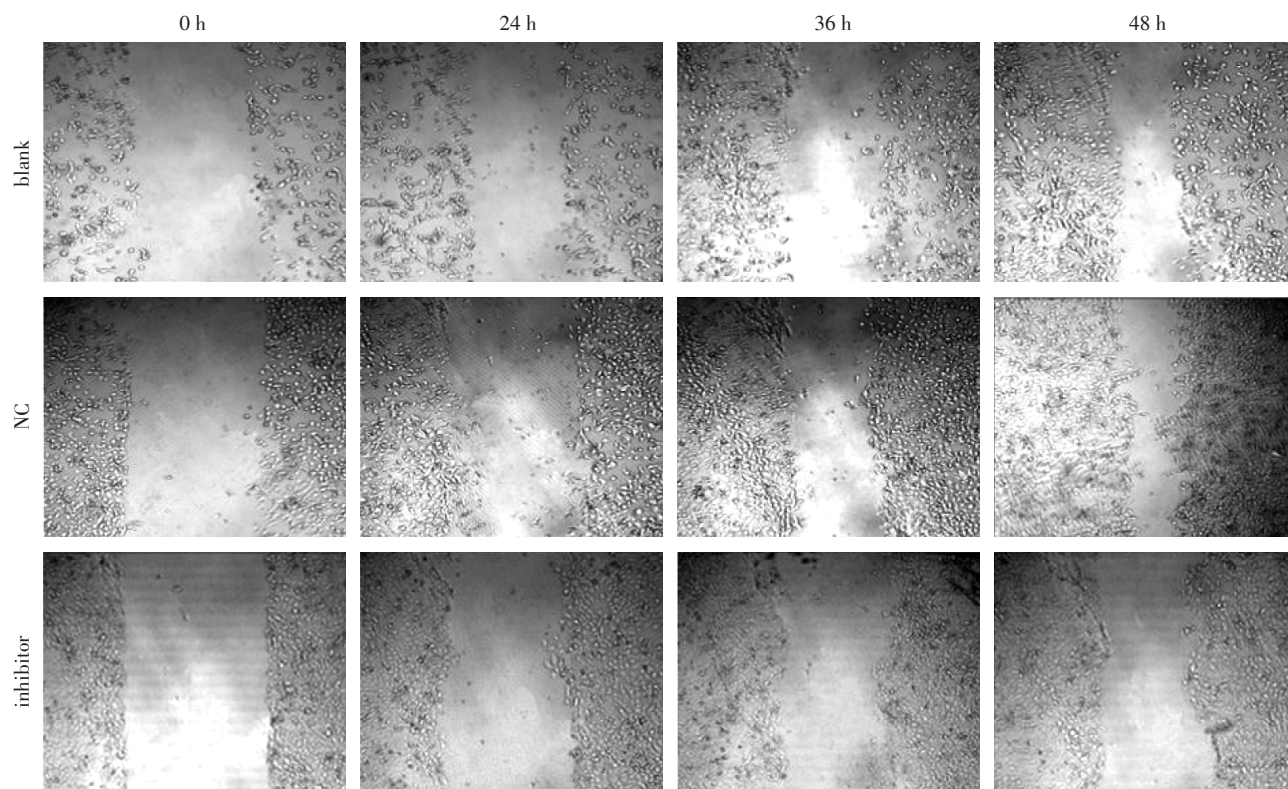


图3 通过划痕试验显示miR-448 inhibitor显著的抑制Cal-27细胞的迁移能力( $\times 40$ )

Figure 3 Transient transfection of miR-448 inhibitor significantly reduce migration of Cal-27 cells( $\times 40$ )

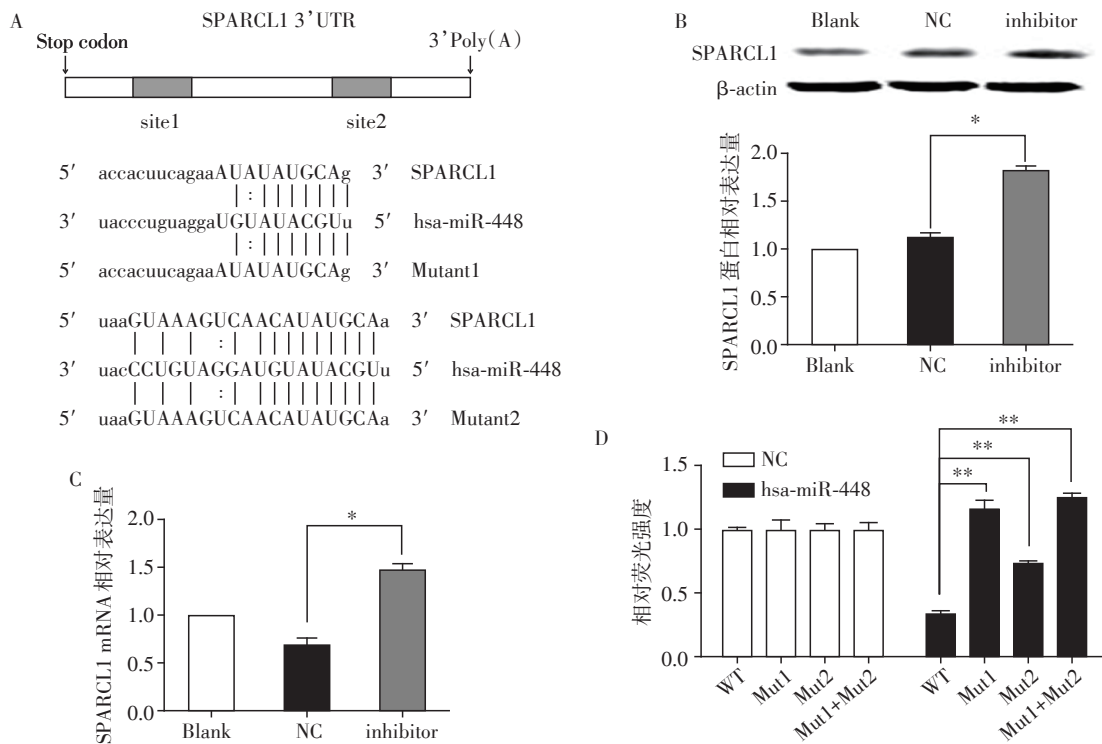
的发病及侵袭中发挥着至关重要的作用<sup>[9-11]</sup>。目前,OSCC差异表达miRNAs的研究,已引起国内外学者关注。Li等<sup>[12]</sup>发现miR-24可靶向作用于p53基因,miR-24高表达促进了OSCC细胞的增殖。其后,Lynch等<sup>[13]</sup>发现,miR-24还可以靶向作用于细胞周期蛋白依赖的激酶抑制子CDKN1B,过表达miR-24可以下调CDKN1B的表达,进而促进细胞增殖,抑制细胞凋亡。Reis等<sup>[14]</sup>研究表明miR-21可结合于抑癌基因PDCD4的3' UTR,降低其在OSCC中的表达,此过程与OSCC侵袭和转移关系密切。Jiang等<sup>[15]</sup>报道,在舌鳞癌患者中miR-138表达下降,从而导致其靶基因RhoC和ROCK2的表达升高,促进了舌鳞癌的转移。其后Liu等<sup>[16]</sup>发现miR-138可通过调控EMT途径从而影响舌鳞癌细胞的侵袭和转移。随着研究的增多,越来越多的miRNAs在OSCC中被发现,然而对于OSCC发病和转移起关键作用的miRNAs仍不清楚。

关于miRNA-448的研究最早于2009年报道<sup>[17]</sup>,在牛肺泡巨噬细胞中发现了miR-448,并推测其与细胞的增殖、凋亡及免疫应答密切相关。近几年,国内外miR-448报道日益增多,我国学者Li等<sup>[5]</sup>最

早报道了miRNA-448与肿瘤的关系,阿奇霉素化疗后乳腺癌细胞中miR-448的表达显著下调,进而导致miR-448的靶基因SATB1表达上调,引起Twist1的表达升高,并激活NF- $\kappa$ B信号通路,引起化疗诱导的肿瘤细胞EMT的发生。

基于课题组前期运用高通量深度测序技术构建口腔鳞癌miRNA表达谱,发现miR-448在口腔鳞癌中高表达。对其miR-448功能研究也证实,相对于癌旁正常组织,在口腔鳞癌组织中表达显著增高。本实验研究了miR-448对口腔鳞状细胞癌组织和口腔鳞癌细胞株Cal-27内表达的情况,并且发现miR-448可能通过下游基因SPACRL1促进OSCC的增殖和转移。研究结果显示在15对OSCC及相应癌旁非肿瘤口腔组织中,miR-448在OSCC组织内表达显著升高。故初步推断其在口腔鳞癌细胞中可能起到促癌基因的作用。

本研究构建miR-448抑制物组(inhibitor)和模拟物组(NC)转染入Cal-27细胞系内,通过RT-qPCR确认miR-448在Cal-27细胞系内表达被抑制,研究发现Cal-27细胞系在转染miR-448抑制物后,相较于miR-448模拟物组,肿瘤细胞的增殖和迁移能力



A: miR-448与SPARCL1在3'UTR区存在结合位点(由TargetScan检测);B:Western blot实验检测SPARCL1蛋白相对表达量(\* $P < 0.01$ );C:SPARCL1mRNA相对表达量(\* $P < 0.01$ );D:野生型(WT)或突变型(Mut)质粒与miR448或NC转染到Cal-27细胞,48 h后荧光素酶活性测定结果(\* $P < 0.01$ )。

图4 miR-448直接抑制SPARCL1的表达

Figure 4 miR-448 inhibited SPARCL1 mRNA and protein expression directly

明显减弱,这说明 miR-448 对肿瘤细胞的增殖能力具有促进作用,因此认为 miR-448 可能在肿瘤的转移和增殖过程中起着重要作用。为了进一步研究 miR-448 调控 OSCC 的具体机制,通过基因测序软件发现 SPARCL1 可能作为 miR-448 的下游靶基因,通过免疫荧光素酶报告和 Western blot 证明 miR-448 特异的结合于 SPARCL1 3' UTR 区,抑制 SPARCL1 蛋白表达。

早期研究发现,SPARCL1 被看作是肿瘤抑制基因,其可结合 I 型胶原,减少细胞黏附和抑制成纤维细胞迁移,抑制胰腺癌转移,但分子机制尚不清楚<sup>[18]</sup>。近来研究发现,SPARCL1 可抑制 I 型胶原介导的 RhoC 通路调节上皮细胞的迁移,SPARCL1 缺失可促进前列腺癌细胞的迁移和侵袭<sup>[19]</sup>。Li 等<sup>[20]</sup>对 1 072 例胃癌组织样本研究发现,较正常组织相比,SPARCL1 在胃癌组织中的表达显著下降。SPARCL1 在不同肿瘤组织中表达情况不一,其基因表达及其调节机制有待进一步研究。

综上所述,在口腔鳞癌组织中 miR-448 表达上调,miR-448 通过与 SPARCL1-3' UTR 的结合,负向

调控 SPARCL1 表达,在口腔鳞癌细胞中发挥癌基因作用,促进肿瘤细胞的增殖与迁移。因此,可以将 miR-448 作为口腔鳞癌基因治疗潜在的候选靶点。

【参考文献】

- [1] Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer[J]. Oral Oncol, 2009, 45(4): 309-316
- [2] Ambros V. The functions of animal microRNAs [J]. Nature, 2004, 431: 350-355
- [3] Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: Small molecules with a huge impact [J]. J Clin Oncol, 2009, 27: 5848-5856
- [4] Masood Y, Kqueen CY, Rajadurai P. Role of miRNA in head and neck squamous cell carcinoma [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2015, 15(2): 183-197
- [5] Li QQ, Chen ZQ, Cao XX, et al. Involvement of NF κB/miR 448 regulatory feedback loop in chemotherapy induced epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells[J]. Cell Death Differ, 2011, 18(1): 16-25
- [6] Jeong S H, Lee H J, Yi J S, et al. Identification of microRNAs with altered expression profiles in a rat model of ex-

(下转第 847 页)



- [7] Harris ML, Oldmeadow C, Hure A, et al. Stress increases the risk of type 2 diabetes onset in women: A 12-year longitudinal study using causal modelling [J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0172126
- [8] Alenezi F, Brummett BH, Boyle SH, et al. Usefulness of myocardial annular velocity change during mental stress to predict cardiovascular outcome in patients with coronary artery disease (from the responses of mental stress-induced myocardial ischemia to escitalopram treatment trial) [J]. *Am J Cardiol*, 2017, 120(9): 1495-1500
- [9] Salari AA, Fatehi - Gharehlar L, Motayagheni N, et al. Fluoxetine normalizes the effects of prenatal maternal stress on depression- and anxiety-like behaviors in mouse dams and male offspring [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 311: 354-367
- [10] Wang YL, Han QQ, Gong WQ, et al. Microglial activation mediates chronic mild stress - induced depressive - and anxiety-like behavior in adult rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 21
- [11] Xia QR, Liang J, Cao Y, et al. Increased plasma nesfatin-1 levels may be associated with corticosterone, IL-6, and CRP levels in patients with major depressive disorder [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, pii: S0009-8981(18)30065-2
- [12] Sosale B, Chandrashekar S, Aravind SR, et al. Influence of cytokine status on insulin resistance and circulating endothelial progenitor cells in type 2 diabetes mellitus [J]. *Cytokine*, 2017, 99(2): 179-185
- [收稿日期] 2017-12-27

(上接第 832 页)

- perimentally induced early cerebral aneurysms [J]. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2013, 9(2): 41
- [7] 刘思玉,谢 龙,祁 兵,等.口腔鳞状细胞癌组织中差异微小RNA/mRNA 表达谱的对接研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2014, 32(4): 400-403
- [8] Rautava J, Luukka M, Heikinheimo K, et al. Squamous cell carcinomas arising from different types of oral epithelia differ in their tumor and patient characteristics and survival [J]. *Oral Oncol*, 2007, 43: 911-919
- [9] Kunej T, Godnic I, Ferdin J, et al. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: An integrated review of literature [J]. *Mutat Res*, 2011, 717(1): 77-84
- [10] Jiang YW, Chen LA. MicroRNAs as tumor inhibitors, oncogenes, biomarkers for drug efficacy and outcome predictors in lung cancer (review) [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5: 890-894
- [11] Mansoori B, Mohammadi A, Shirjang S, et al. MicroRNAs in the diagnosis and treatment of cancer [J]. *Immunol Invest*, 2017, 46(8): 880-897
- [12] Li Chen, Liang Luoc, Wei Chen, et al. MicroRNA-24 increases hepatocellular carcinoma cell metastasis and invasion by targeting p53: miR-24 targeted p53 [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2016, 84: 1113-1118
- [13] Lynch SM, McKenna MM, Walsh CP, et al. miR-24 regulates CDKN1B/p27 expression in prostate cancer [J]. *Epub*, 2016, 76(7): 637-648
- [14] Reis PP, Tomenson M, Cervigne NK, et al. Programmed cell death 4 loss increases tumor cell invasion and is regulated by miR-21 in oral squamous cell carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9(1): 238
- [15] Jiang L, Liu X, Kolokythas A, et al. Downregulation of the Rho GTPase signaling pathway is involved in the microRNA-138-mediated inhibition of cell migration and invasion in tongue squamous cell carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(3): 505-512
- [16] Liu X, Wang C, Chen Z, et al. MicroRNA-138 suppresses epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma cell lines [J]. *Biochem J*, 2011, 440(1): 23-31
- [17] Xu G, Zhang Y, Jia H, et al. Cloning and identification of microRNAs in bovine alveolar macrophages [J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 332(1/2): 9-16
- [18] Esposito I, Kayed H, Keleg S, et al. Tumor-suppressor function of SPARC-like protein 1/Hevin in pancreatic cancer [J]. *Neoplasia*, 2007, 9(1): 8-17
- [19] Hurley PJ, Marchionni L, Simons BW, et al. Secreted protein, acidic and rich in cysteine - like 1 (SPARCL1) is downregulated in aggressive prostate cancers and is prognostic for poor clinical outcome [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(37): 14977-14982
- [20] Li P, Qian J, Yu G, et al. Down-regulated SPARCL1 is associated with clinical significance in human gastric Cancer [J]. *Epub*, 2012, 105(1): 31-37
- [收稿日期] 2017-12-12