

miRNA-181a-5p 对人口腔癌细胞 CAL27 生物学行为的影响

宋静, 营秀, 吴丹凤, 李瑞华

(蚌埠医学院口腔医学院, 安徽 蚌埠 233030)

摘要:目的 探讨 miRNA-181a-5p 对人口腔癌细胞 CAL27 增殖、迁移和侵袭生物学特性的影响。方法 运用脂质体介导的转染方法将 miRNA-181a-5p 转染入口腔癌细胞 CAL27, 通过 CCK-8 法检测转染 miRNA-181a-5p mimic 后对口腔癌细胞 CAL27 的增殖生物学特性的改变, 通过细胞迁移实验、细胞侵袭实验, 检测口腔癌细胞 CAL27 迁移和侵袭生物学特性的变化。结果 CCK-8 法检测结果显示, 将 miRNA-181a-5p 的水平上调后, 口腔癌细胞 CAL27 的增殖能力明显下降 ($P < 0.05$), 细胞迁移和侵袭活性明显低于空白组 ($P < 0.05$)。结论 miRNA-181a-5p 的表达参与口腔细胞癌的发生及发展过程, miRNA-181a-5p 的高表达可对口腔癌细胞 CAL27 发挥负性调控作用。

关键词: 口腔肿瘤; miRNA-181a-5p; 细胞增殖; 细胞运动; 细胞侵袭

中图分类号: R739.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2020)03-0265-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2020.03.001

Effects of miRNA-181a-5p on the biological behavior of human oral carcinoma cell line CAL27

Song Jing, Ying Xiu, Wu Danfeng, Li Ruihua

(School of Stomatology, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of miRNA-181a-5p on the biological behaviors including proliferation, migration and invasion of human oral carcinoma cell line CAL27. **Methods** The miRNA-181a-5p was transfected into the human oral carcinoma cell line CAL27 by using the lipofectamine transfection method. The biological behavior changes of oral carcinoma cell line CAL27 transfected by miRNA-181a-5p mimic were determined by CCK-8 method. The migrating and invasive biological behavior changes of oral carcinoma cell line CAL27 were determined by cell migration test and cell invasion test. **Results** CCK-8 test results showed that after the expression of miRNA-181a-5p was upregulated, the proliferation ability of oral carcinoma cell line CAL27 were markedly decreased ($P < 0.05$), and the cell migration and invasion abilities were significantly lowered than those of the blank group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of miRNA-181a-5p is involved in the genesis and development of oral cell carcinoma. High expression of miRNA-181a-5p can negatively regulate oral carcinoma cell CAL27.

Key words: oral neoplasms; miRNA-181a-5p; cell proliferation; cell movement; cell invasion

恶性肿瘤是严重危害人类健康的重大疾病之一, 口腔癌是头颈部恶性癌的一种, 其中 90% 是口腔鳞状细胞癌, 其致死率高, 并且其治疗常伴有功能缺陷和毁容^[1]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 近来受到了人们的关注。microRNAs 是一类长 18~24 nt 的小分子非编码 RNA, 它能够介导基因的表达, 调控转录水平,

进而影响 miRNA 的翻译过程。最近研究表明, miRNA 对基因表达的调控在多种细胞过程中发挥作用^[2]。miRNA-181a-5p 作为 miRNAs 家族成员之一, 是近年来新发现的一类具有肿瘤抑制作用的 miRNA, 可以靶向作用于多个肿瘤相关基因, 参与肿瘤的生长、侵袭、转移等^[3]。但是 miRNA-181a-5p 在口腔

鳞状细胞癌细胞增殖、迁移及侵袭过程中发挥的作用及相应机制尚不清楚。本研究选择口腔癌细胞 CAL27 为模型,通过转染 miRNA-181a-5p mimic 增加口腔癌细胞 miRNA-181a-5p 的表达水平,以探讨 miRNA-181a-5p 与口腔癌细胞 CAL27 增殖、侵袭和迁移生物学特性的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人口腔黏膜角化细胞(human oral keratinocytes, HOK)和口腔癌细胞 CAL27 均购自中国科学院上海细胞生物所。

1.1.2 试剂 转染试剂 Lipofectamine2000 和 miRNA-181a-5p mimic(购自上海吉玛制药技术有限公司)、胎牛血清(购自杭州四季青公司)、RPMI1640 培养基(购自 Hyclone 公司)、CCK-8 检测试剂盒(购自碧云天公司)、结晶紫染液(购自武汉阿斯本生物技术公司)、DMSO(购自美国 Sigma 公司)、Transwell 侵袭小室(购自美国 Corning 公司)、Matrigel(购自 BD 公司)、Trizol 试剂(购自 Invitrogen 公司)、逆转录(RT)试剂盒(购自 Toyobo 公司)、PCR 试剂盒(购自 Fermentas 公司)、Bulge-Loop™ miRNA 定量聚合酶链反应(PCR)引物试剂盒(购自武汉金开瑞生物工程有限公司)。

1.1.3 仪器 恒温培养箱(美国热电公司);酶标检测仪(Diatek 公司);净化工作台(苏州泰安空气技术公司);普通光学显微镜(日本 Olympus 公司);Mini-Prote 电泳仪(美国伯乐公司);荧光定量 PCR 仪(Life technologies 公司);高速冷冻离心机(意大利 ALC 公司);流式仪(BD 公司);Milli-QBiocel 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人口腔黏膜角化细胞 HOK 及口腔鳞癌 CAL27 采用 RPMI1640 培养液,含 10%胎牛血清、1%青霉素、链霉素。细胞在 37℃、饱和湿度、5%CO₂ 培养箱中培养。当细胞铺满瓶底后,使用 2.5 g/L⁻¹的胰蛋白酶消化,传代培养。按照 4℃ 1 h, -20℃ 2 h, -70℃ 4 h 的顺序降温后保存。

1.2.2 实时定量 PCR 检测细胞中 miRNA-181a-5p 的 miRNA 表达水平 严格按 Trizol 试剂盒说明书操作,分别从 HOK 及 CAL27 细胞中提取总 miRNA。按照组织和细胞 miRNA 抽提试剂盒说明书提取 miRNA,第一链 cDNA 的合成采用 M-MLV Reverse Transcriptase 试剂盒进行(ELK Biotechnology, EQ002)及按照实时定量 PCR 试剂盒说明书检测 miRNA-181a-5p。以逆转录产物为模板,在实时荧光定量 PCR 仪上进行 PCR 扩增。实时荧光定量 PCR

是在 Life technologies 公司的 StepOne™ Real-Time PCR 仪上完成,每个样品均作 3 个复孔,使用 EnTurbob™ SYBR Green PCR SuperMix 试剂盒进行(ELK Biotechnology, EQ001)。PCR 反应体系:5 μl 2 × Master Mix, 2.5 μmol/L 5'及 3'引物各 1 μl, 1 μl 逆转录产物,加灭菌双蒸水至 20 μl。反应程序为:95℃ 预变性 30 s, 95℃ 5 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 40 个循环。溶解曲线反应程序:60℃ ~ 95℃, 每 20 s 升温 1℃。采用相对定量方法计算 miRNA 相对表达量,计算公式为:相对 miRNA 表达量 = 2^{-(ΔCT_{样品}-ΔCT_{对照})}。miRNA-181a-5p 及其内参 U6 的引物购于武汉金开瑞生物工程有限公司,以此测定 miRNA-181a-5p 的相对表达水平。

1.2.3 miRNA-181a-5p 及其阴性对照序列的构建 miRNA-181a-5p: 5'-GGGGAACATTCAACGCTGT-3' 阴性对照序列: 5'-CTCAACTGGTGTCTGTCGAGTC-3'(由上海吉玛制药技术有限公司合成), 阴性对照序列与人类基因组非同源。

1.2.4 实验分组 实验随机分为 3 组:空白组、miRNA-181a-5p mimic 阴性对照组(NC mimic 组)和 miRNA-181a-5p mimic 转染组。其中空白组未应用任何试剂,阴性对照组和 miRNA-181a-5p 转染组分别应用 miRNA-181a-5pNC 阴性对照序列和 miRNA-181a-5p mimic 序列进行转染。

1.2.5 microRNA 瞬时转染 在转染前 1 d, 用 0.25%胰酶消化 CAL27 细胞,调整细胞密度为 1 × 10⁴ 个/毫升,接种于 48 孔细胞培养板中,待细胞融合度为 30% ~ 50% 时进行转染,具体步骤参考脂质体 Lipofectamine™ 2000 说明书:首先分别将转染物、脂质体 Lipofectamine2000 与 RPMI1640 培养基按照 1:50 的比例混匀,静置 5 min,随后将两种混合液体混匀,静置 20 min 即获得转染复合物,随后将混匀物转移至特殊培养皿中(无抗生素、无血清)培养 6 h 后更换新鲜含 10%胎牛血清的培养液继续培养(无抗生素) 48 h,获得的细胞备用。

1.2.6 CCK-8 法检测 miRNA-181a-5p 对细胞增殖能力的影响 将 miRNA-181a-5p mimic 以及 miRNA-181a-5pNC 阴性对照转入 CAL27 细胞后,重新将各组细胞消化为单细胞悬液。收集对数生长期的口腔癌细胞 CAL27,用无血清的 RPMI-1640 培养液重悬,调整细胞密度 1 × 10⁵ 个/毫升,在 96 孔板中接种细胞悬液 100 微升/孔,每组设定 5 个复孔,放置在 37℃、5%CO₂ 培养箱孵育,待细胞贴壁后按转染试剂盒说明书以最适浓度转染,并在转染 24 h、48 h、72 h、96 h、120 h 时分别取各时段的细胞,加入 10 μl CCK-8 溶液,37℃、含 5%CO₂ 的培养箱孵育 1 h。使用酶标仪

检测波长为 450 nm 时各孔的吸光度 (OD) 值, 并绘制细胞增殖曲线。实验重复进行 3 次。

1.2.7 miRNA-181a-5p 转染的口腔癌细胞 CAL27 迁移实验 取对数生长期 CAL27 口腔癌细胞, 使用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化后使用无血清 RPMI1640 培养液, 100 μ l 细胞悬液加入 Transwell 上室, 调整细胞密度为 $1\sim 2\times 10^5$ 个/毫升的细胞悬液, 后将 Transwell 小室放置于 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 的培养箱里培养 10 h, 进行固定细胞及染色。Transwell 小室放于含 500 μ l PBS 的 24 孔板中, 用移液器移除 Transwell 小室下层腔室, 轻轻吸弃 Transwell 上室内的液体, Transwell 小室放于 600 μ l 细胞固定液中, 湿棉签轻轻擦除 Transwell 滤膜上层中未迁移的残留口腔癌细胞, PBS 液洗涤滤膜 3 次, 甲醇固定 30 min 后行 0.1% 结晶紫染色 20 min, PBS 冲洗。荧光显微镜下观察并拍照, 计数穿过微孔移到滤膜下层的小室下表面附着的迁移细胞总数, 选取中央及四周 5 个视野计数并取其平均值。

1.2.8 miRNA-181a-5p 转染的口腔癌细胞 CAL27 侵袭实验 将 Transwell 小室的底部上表面铺适量厚度的 8 mg/ml 的基质胶, 40 $^{\circ}$ C 进行风干。以 $1\sim 2\times 10^6$ 个/毫升细胞接种于 24 孔板, 培养至汇合度 75% 时, 更换无血清 RPMI1640 培养基培养过夜。调整细胞至 $1\sim 2\times 10^5$ 个/毫升, 取 100 μ l 加入上室内, 600 μ l 含血清的 RPMI1640 培养基加入下室, 放置于 37 $^{\circ}$ C、50 ml/L CO₂ 的培养箱里培养 24 h, 进行固定细胞及染色。Transwell 小室放于含 500 μ l PBS 的 24 孔板中, 用移液器移除 Transwell 小室下层腔室, 轻轻吸弃 Transwell 上室内的液体, Transwell 小室放于 600 μ l 细胞固定液中, 湿棉签轻轻擦除 Transwell 滤膜上层中未侵袭的残留口腔癌细胞, PBS 液洗涤滤膜 3 次, 甲醇固定 30 min 后行 0.1% 结晶紫染色 20 min, PBS 冲洗。荧光显微镜下观察并拍照, 计数小室下表面附着的侵袭细胞数, 选取中央及四周 5 个视野计数并取其平均值。

1.2.9 统计学方法 所有数据均使用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。各组间的计量资料采用 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间数据比较采用独立 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-181a-5p 在 HOK 及 CAL27 细胞的表达 miRNA-181a-5p 在人口腔癌细胞 CAL27 中表达量显著低于人正常口腔黏膜角化细胞 HOK ($P < 0.05$), 见图 1。提示 miRNA-181a-5p 在人口腔癌细胞 CAL27 中呈低表达。

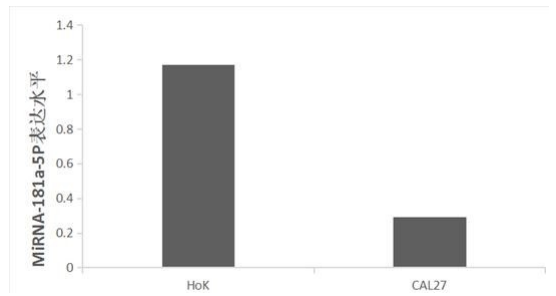


图 1 miRNA-181a-5p 在 HOK 和 CAL27 中的表达水平

2.2 转染 miRNA-181a-5p 对口腔癌细胞 CAL27 增殖生物学特性的影响 CCK-8 法测定细胞的生长曲线, 结果显示 miRNA-181a-5p 转染组明显抑制了细胞的增殖, 与空白组、阴性对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 空白组、阴性对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 2。

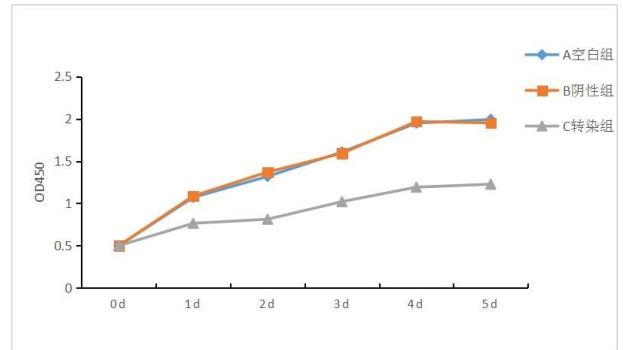


图 2 转染 miRNA-181a-5p 对口腔癌细胞 CAL27 增殖特性的影响

2.3 转染 miRNA-181a-5p 对口腔癌细胞 CAL27 迁移生物学特性的影响 体外迁移实验结果显示, 与空白组、阴性对照组相比, 转染 miRNA-181a-5p mimic 后, CAL27 细胞的迁移能力显著降低 ($P < 0.05$), 而空白组与阴性对照组的差异无统计学意义, 见图 3。

2.4 转染 miRNA-181a-5p 对口腔癌细胞 CAL27 侵袭生物学特性的影响 侵袭基底膜实验结果显示: miRNA-181a-5p 转染能够降低 CAL27 细胞的侵袭能力, 结果见图 4。与空白组、阴性对照组相比, miRNA-181a-5p 转染组 CAL27 细胞的侵袭能力显著降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是当前研究的热点之一, 有报道揭示^[2], miRNA 通过作为抑癌基因或致癌基因的功能, 促进了人类癌症的发生发展。miRNA 广泛参与了口腔癌的调控中, 但是具体机制尚不明确, 需进一步探讨, 为临床诊疗提供新方向。例

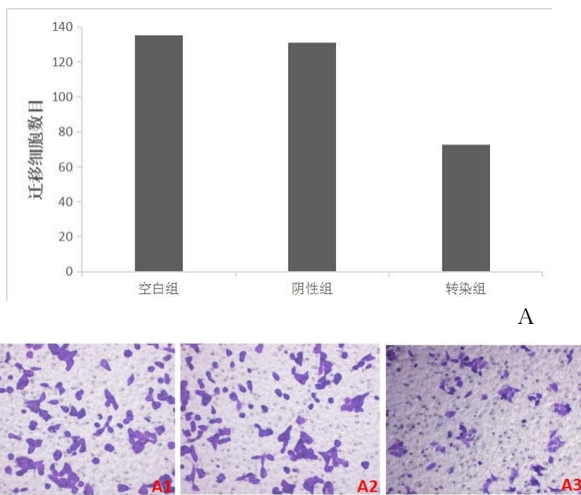


图3 转染 miRNA-181a-5p 对口腔癌细胞 CAL27 迁移特性的影响

注:A为Transwell滤膜下层细胞;A1为空白组;A2为阴性组;A3为转染组。

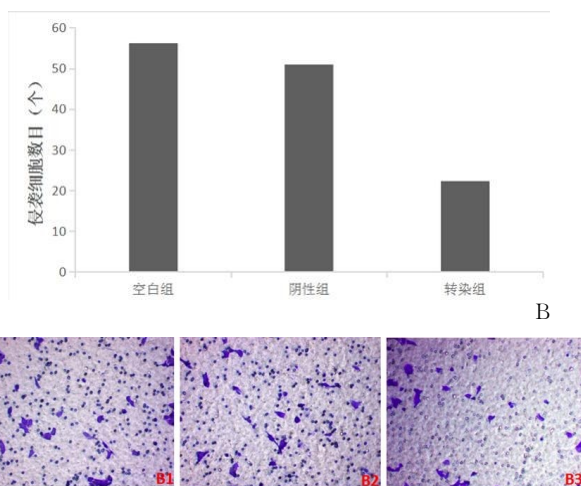


图4 转染 miRNA-181a-5p 对口腔癌细胞 CAL27 侵袭特性的影响

注:B为Transwell滤膜下层细胞结晶紫染色;B1为空白组;B2为阴性组;B3为转染组。

如,miRNA-34a在衰老过程中大量增加,在人类癌症中经常下调。此外,miRNA-34a的异位过表达抑制了肿瘤的生长^[4]。这一信息促使我们研究 miRNA-181a-5p在口腔鳞状细胞癌发育中的表达和作用,因为 miRNA-181a-5p在口腔鳞状细胞的衰老过程中被发现显著升高。

人类 miRNA-181 家族主要有 6 个前体序列:hsa-miRNA-181a-1、hsa-miRNA-181a-2、hsa-miRNA-181b-1、hsa-miRNA-181b-2、hsa-miRNA-181c 和 hsa-miRNA-181d,分别表达 8 种成熟序列:hsa-miRNA-181a-5p、hsa-miRNA-181a-3p、hsa-miRNA-181a-2-3p、hsa-miRNA-181b-5p、hsa-miRNA-181b-3p、hsa-

miRNA-181c-5p、hsa-miRNA-181c-3p 和 hsa-miRNA-181d-5p。hsa-miRNA-181a-5p 是 miRNA-181a 的成熟形式之一,研究发现其可参与卵巢癌的发生等多种生物学过程^[5]。miRNA-181a 在癌症方面研究广泛,有研究发现 miRNA-181a 在胃癌^[6]、乳腺癌^[7]、唾腺样囊性癌^[8]、食管癌^[9]、肝癌^[10]、肠癌^[11]、卵巢癌^[12]、乳腺癌^[13] 及结肠直肠癌^[14] 等肿瘤的发生、发展、侵袭和转移中发挥重要的调控功能。miRNA-181a 在基因组中表现进化保守性,参与细胞的分化调控,它能够减少多种细胞增殖并诱导细胞凋亡,且在不同组织细胞中具有差异性的表达^[15]。miRNA-181 家族可作为抑癌因子参与调控细胞的增殖、侵袭和转移过程,在胃癌发生发展的过程中,Hashimoto Y 等^[16] 上调 miRNA-181c 和 miRNA-340 表达后,胃癌细胞增殖明显降低,提示 miRNA-181c 能够通过抑制肿瘤细胞增殖从而在胃癌发生发展的过程中发挥抑癌基因的作用。Cui M 等^[17] 研究表明,miRNA-181c 在胃癌及血液标本中过表达后能显著抑制胃癌细胞增殖,且 miRNA-181c 的表达与组织分级、临床分期和不良预后的关系紧密。miRNA-181 家族参与多种肿瘤侵袭转移过程。有研究报告^[18] miRNA-181 家族都能够在恶性胶质瘤迁移侵袭的过程中扮演抑癌基因的角色。Parikh A 等^[12] 报道揭示与早期卵巢癌比较,晚期卵巢癌 miRNA-181a 表达明显异常,但是 miRNA-181a 的表达与卵巢癌患者短时间复发及不良预后关系紧密,过表达 miRNA-181a 后提高卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭及诱导化疗药物出现耐药性,促进肿瘤向远处传播扩散,低表达 miRNA-181a 后则出现相反的情况,表明 miRNA-181a 在卵巢癌迁移侵袭的过程中发挥促癌基因的作用。Wang Y 等^[19] 研究表明在乳腺癌组织中,过表达 miRNA-181 家族进而下调其靶点 ATM 的表达,从而提高乳腺癌肿瘤干细胞的活性,提高其迁移侵袭的能力。

在日益老化的口腔角化上皮细胞中,miRNA-181a 是过表达的 miRNAs 之一,细胞老化过程与肿瘤发生发展的过程完全不同,肿瘤抑制通路介导了此过程,从而推断 miRNA-181a 可能与口腔鳞状细胞癌的发生发展关系紧密。Shin 等^[20] 在正常口腔黏膜角化上皮细胞和众多口腔癌细胞中检测了 miRNA-181a 表达水平,结果证明与正常口腔黏膜角化上皮细胞中表达量相比较,miRNA-181a 在所有口腔鳞状细胞癌细胞中的表达量呈低表达;而将转染有能上调 miRNA-181a mimic 的肿瘤细胞与空白组细胞相比较,揭示前者细胞的增殖、迁移及侵袭能力都受到显著抑制,证实 miRNA-181a 能够抑制肿瘤的恶性行为,并有可能成为癌症治愈的一种新靶标。

miRNA-181a-5p 是 miRNA-181a 家族中重要的一类成员,与肿瘤关系颇为密切,其表达异常可引起细胞功能障碍。目前关于 miRNA-181a-5p 在口腔鳞状细胞癌中的表达情况及在口腔鳞状细胞癌中的功能研究比较少见。为了明确 miRNA-181a-5p 对口腔鳞状细胞癌增殖、迁移及侵袭等生物学特性的作用,本研究运用脂质体介导的转染方法将 miRNA-181a-5p mimic 转染入口腔癌细胞 CAL27,通过 CCK-8 法检测转染 miRNA-181a-5p mimic 后对口腔癌细胞 CAL27 的增殖生物学特性的改变,通过 Transwell 法检测细胞迁移、Transwell 法检测细胞侵袭。结果表明,与空白组相比,转染组其增殖、迁移及侵袭生物学特性明显下降,miRNA-181a-5p 的高表达可明显抑制口腔癌细胞 CAL27 增殖、迁移及侵袭,证实 miRNA-181a-5p 在口腔癌细胞 CAL27 增殖迁移侵袭过程中发挥负性调控作用,但对于其具体机制还不明确,本课题将在后续的实验中进行更深层次的探讨。

综上所述,本研究证实 miRNA-181a-5p 的表达参与口腔鳞状细胞癌的发生发展过程,miRNA-181a-5p 的高表达可对口腔癌细胞 CAL27 发挥负性调控作用。高表达 miRNA-181a-5p 可抑制 CAL27 的细胞增殖、迁移及侵袭能力。研究表明 miRNA-181a-5p 在口腔癌中发挥抑癌作用,其可能会成为口腔癌治疗的新靶点。随着科学技术的发展,将有助于我们探索 miRNA 与口腔肿瘤的作用机制,这也成为口腔癌临床治疗中提供新的方向及挑战。

参考文献:

[1] Gao W, Li JZ, Chen SQ, et al. Decreased brain-expressed X-linked 4 (BEX4) expression promotes growth of oral squamous cell carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1):92.

[2] Min A, Zhu C, Peng S, et al. MicroRNAs as Important Players and Biomarkers in Oral Carcinogenesis [J]. *Biomol Res Int*, 2015:186904.

[3] Korhan P, Erdal E, Atabey N. MiR-181a-5p is downregulated in hepatocellular carcinoma and suppresses motility, invasion and branching-morphogenesis by directly targeting c-Met [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 450(4):1304-1312.

[4] Ito T, Yagis S, Yamakuchi M. MicroRNA-34a regulation of endothelial senescence [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398(4):735-740.

[5] 程妮. Hsa-mi R-181a-5p 在卵巢癌组织和细胞中的表达及其生物学功能研究 [D]. 广州:暨南大学, 2013.

[6] Zhang X, Nie Y, Du Y, et al. MicroRNA-181a promotes gastric cancer by negatively regulating tumor suppressor KLF6 [J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(5):1589-1597.

[7] Zhu Y, Wu J, Li S, et al. The function role of miR-181a in

chemosensitivity to adriamycin by targeting Bcl-2 in low-invasive breast cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(5):1225-1237.

[8] He Q, Zhou X, Li S, et al. MicroRNA-181a suppresses salivary adenoid cystic carcinoma metastasis by targeting MAPK-Snai2 pathway [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(11):5258-5266.

[9] Xiang Z, Dong X, Sun Q, et al. Clinical significance of up-regulated miR-181a in prognosis and progression of esophageal cancer [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2014, 46(11):1007-1010.

[10] Korhan P, Erdal E, Atabey N. Mi R-181a-5p is downregulated in hepatocellular carcinoma and suppresses motility, invasion and branching-morphogenesis by directly targeting c-Met [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 450(4):1304-1312.

[11] Wei Z, Cui L, Mei Z, et al. mi R-181a mediates metabolic shift in colon cancer cells via the PTEN/AKT pathway [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(9):1773-1779.

[12] Parikh A, Lee C, Joseph P, et al. microRNA-181a has a critical role in ovarian cancer progression through the regulation of the epithelial-mesenchymal transition [J]. *Nat Commun*, 2014, 5:2977.

[13] Niu J, Xue A, Chi Y, et al. Induction of miRNA-181a by genotoxic treatments promotes chemotherapeutic resistance and metastasis in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(10):1302-1313.

[14] Li Z, Wang H, Xu Z, et al. Expression and mechanism of microRNA-181A on incidence and survival in late liver metastases of colorectal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(3):1403-1408.

[15] Zou C, Chen J, Chen K, et al. Functional analysis of miR-181a and Fas involved in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma pathogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 331(2):352-361.

[16] Hashimoto Y, Akiyama Y, Yuasa Y. Multiple-to-multiple relationships between microRNAs and target genes in gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e62689.

[17] Cui M, Yue L, Fu Y, et al. Association of microRNA-181c expression with the progression and prognosis of human gastric carcinoma [J]. *Hepatogastroenterology*, 2013, 60(125):961-964.

[18] Slaby O, Lakomy R, Fadrus P, et al. MicroRNA-181 family predicts response to concomitant chemoradiotherapy with temozolomide in glioblastoma patients [J]. *Neoplasma*, 2010, 57(3):264-269.

[19] Wang Y, Yu Y, Tsuyada A, et al. Transforming growth factor- β regulates the sphere-initiating stem cell-like feature in breast cancer through miRNA-181 and ATM [J]. *Oncogene*, 2011, 30(12):1470-1480.

[20] Shin KH, Bae SD, Hong HS, et al. miR-181a shows tumor suppressive effect against oral squamous cell carcinoma cells by downregulating K-ras [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(4):896-902.

收稿日期:2020-01-14;修回日期:2020-04-11