

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.05.005

MiR-150-5p 靶向 TP53 对结直肠癌细胞侵袭和增殖的影响 *

马玮玮¹ 尉家森² 王 锦¹ 张娟娟¹ 王小莲^{3Δ}

(1 河西学院医学院病理教研室 甘肃 张掖 734000; 2 河西学院附属张掖人民医院呼吸科 甘肃 张掖 734000;

3 河西学院医学院病原生物学与免疫学教研室 甘肃 张掖 734000)

摘要 目的:探索 miR-150-5p 靶向调控 TP53 基因对结直肠癌(colorectal cancer, CRC)在临床和生物学的相关性,研究 miR-150-5p 调控 TP53 基因在结直肠癌细胞增殖和侵袭病变中的作用。**方法:**收集临床手术切除并病理证实的结直肠癌患者的手术及血浆样本(结直肠癌和癌旁组织)60 例,另选取癌旁正常粘膜 10 例,腺瘤 30 例。根据瘤体直径分为肿瘤>5 cm(n=30)和≤5 cm(n=30)。qRT-PCR 法测定样本中 miR-150-5p 表达,荧光素酶活性测定以确定 TP53 是否为 miR-150-5p 的靶基因。使用 SW480 细胞株,进行 Transwell 小室检测细胞侵袭能力,CCK-8 检测细胞增殖能力,对 miR-150-5p 进行生物信息学分析。**结果:**TP53 是 miR-150-5p 的下游基因。癌组织及血浆中 miR-150-5p 表达量低于癌旁组织,直径>5 cm 瘤体中的 miR-150-5p 表达量显著低于直径≤5 cm 瘤体,I-II 期结直肠癌组织中的 miR-150-5p 表达显著高于 III-IV 期($P<0.05$)。上调 miR-150-5p 后,细胞中 TP53 表达下降,下调 miR-150-5p 后,TP53 表达升高;CCK-8 增殖试验显示细胞中 miR-150-5p 过表达组抑制细胞增殖($P<0.05$)。**结论:**MiR-150-5p 在结直肠癌组织和细胞中显著低表达,miR-150-5p 通过靶向调节 TP53 抑制人 CRC 细胞的侵袭和增殖,有望成为结直肠癌治疗的新靶点。

关键词:miR-150-5p;CRC;TP53;侵袭和增殖;生物信息学分析

中图分类号:R735.3;R-33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)05-824-06

MiR-150-5p Promotes Invasion and Proliferation by Targeting TP53 in Colorectal Cancer Cells*

MA Wei-wei¹, WEI Jia-sen², WANG Jin¹, ZHANG Juan-juan¹, WANG Xiao-lian^{3Δ}

(1 Department of Pathology, Medicine College of Hexi University, Zhangye, Gansu, 734000, China;

2 Department of Respiratory Medicine, Zhangye People's Hospital Affiliated to Hexi University, Zhangye, Gansu, 734000, China;

3 Department of Pathogenic Biology and Immunology, Medicine College of Hexi University, Zhangye, Gansu, 734000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the clinical and biological relevance of miR-150-5p targeted regulation of TP53 gene in colorectal cancer, and to investigate the role of miR-150-5p regulates TP53 gene on behavior of invasion and proliferation in colorectal cancer cells. **Methods:** The surgical and plasma samples (colorectal cancer and paracancerous tissue) of 60 patients with colorectal cancer who had undergone surgical resection and pathologically confirmed colorectal cancer were collected. There were 10 normal mucosa and 30 adenomas. According to tumor diameter, tumors were divided into tumors> 5 cm (n=30) and ≤5 cm (n=30). qRT-PCR was used to determine the expression of miR-150-5p in the samples, and luciferase activity was performed to determine whether TP53 was the target gene of miR-150-5p. Using human colorectal cancer cell line SW480, Transwell chamber was used to detect cell invasion ability, CCK-8 was used to detect cell value-added ability, and bioinformatics analysis was performed on miR-150-5p. **Results:** TP53 was the target gene of miR-150-5p. The expression of miR-150-5p in cancer tissues and plasma was lower than that in adjacent tissues, the expression of miR-150-5p in tumors with a diameter of> 5 cm was significantly lower than that of tumors with a diameter of ≤5 cm, miR-150-5p expression in stage I - II colorectal cancer tissues was significantly higher than that in stage III-IV tissue ($P<0.05$). After up-regulating miR-150-5p, TP53 expression in the cells decreased, and after down-regulating miR-150-5p, TP53 expression increased; CCK-8 proliferation test showed that miR-150-5p over-expression group inhibited cell proliferation ($P<0.05$). **Conclusion:** MiR-150-5p is significantly under-expressed in colorectal cancer tissues and cells. MiR-150-5p inhibits the invasion and proliferation of human CRC cells by targeting TP53, and is expected to become a new target for colorectal cancer treatment.

Key words: miR-150-5p; CRC; TP53; Invasion and proliferation; Bioinformatics analysis

Chinese Library Classification(CLC): R735.3; R-33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)05-824-06

* 基金项目:甘肃省自然科学基金项目(21JR1RG313)

作者简介:马玮玮(1984-),女,硕士,讲师,研究方向:病理学相关研究,E-mail:hxxymww@163.com

Δ 通讯作者:王小莲(1974-),女,本科,副教授,研究方向:免疫学相关研究,E-mail:hxxymww@163.com

(收稿日期:2022-06-23 接受日期:2022-07-18)

前言

CRC 是全球第三大最常见的癌症, 根据世界卫生组织 GLOBOCAN 数据库的数据, 2012 年, 全球诊断出近 140 万例 CRC 新病例, 并发生了近 700,000 例死亡^[1,2]。其中腺癌是最常见的组织学类型。到目前为止, 结直肠癌的发病机制仍不清楚。TP53 是最重要的抑癌基因之一, 其结构变异和异常表达与多种癌症类型有关, 包括肠癌^[3,4]。TP53 的遗传变异以不同方式导致人类癌症。首先, 大多数癌症的发生都是以体细胞突变为主^[5,6]。miR-150-5p 是 miR-150 家族的成员, 可以通过靶向头颈部鳞状细胞癌中的 *cwcv* 和 *kazal* 样蛋白聚糖 1 来抑制癌细胞的侵袭性^[7,8]。在结肠直肠癌^[9]、乳腺癌^[10]和黑色素瘤^[11]中, miR-150 显著降低并且起抑制肿瘤的作用。然而, 在宫颈癌中, miR-150 高度表达并促进肿瘤进展^[12]。因此, miR-150 在不同类型的肿瘤中起不同的作用。然而, miR-150-5p 在 CRC 病理发展中的作用仍然未知。本课题组前期采用免疫组织化学方法发现: TP53 在结直肠癌、结直肠腺瘤、正常结直肠组织中表达有差异性, 且与淋巴结转移和 Dukes 分期关系密切。本研究主要观察 CRC 癌组织及血浆中 miR-150-5p 表达量, 在体外从细胞水平通过过表达 miR-150-5p 观察 SW480 细胞增殖、侵袭和迁移, 应用荧光素酶实验观察 miR-150-5p 与 TP53 的相关性, 分析其对 CRC 细胞的作用机制, 从而为该癌症的临床诊断和治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集河西学院附属张掖人民医院病理科 2018.1~2020.12 经手术切除并病理证实的结直肠癌样本 60 例, 另选取癌旁正常粘膜 10 例, 腺瘤 30 例。该课题实验得到张掖人民医院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂、仪器及细胞系

人 CRC 细胞株 SW480 购自于上海中国科学院细胞库, 引物、内参、miRNA 模拟物及抑制物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成; 吉姆萨染色液和 CCK-8 试剂盒购自于北京索莱宝试剂公司; Transwell 小室购自美国 Corning 公司; miRNA 提取和检测用试剂盒购于天根生化科技(北京)有限公司。

1.3 资料参考数据库

本研究选取 miRBase、miRecords、TarBase、TargetScan 网站进行预测。

1.4 细胞培养及转染

将细胞系置于混合有 10% 胎牛血清 (FBS) 的低糖 RPMI1640 培养基混合物中培养, 并将培养瓶置于含有 5% CO₂、温度为 37℃ 的细胞培养箱中。实验组分成三组: 增强组、抑制组和对照组。增强组是 miR-150-5p 的模拟物, 可使 miR-150-5p 表达量提高, 抑制组是 miR-150-5p 的抑制剂, 可使 miR-150-5p 表达量降低, 对照组是脂质体包裹 NC 序列, 本组不影响 miR-150-5p 的表达。合成的模拟物及抑制物按照公司推荐量稀释, 参照 LipofectamineTM2000 说明书及细胞状态进行细胞转染。miR-150-5p 模拟物, miR-150-5p 抑制剂的靶序列如表 2 所示。

1.5 qRT-PCR 检测各组细胞中 miR-150-5p 的表达水平

采用 miRNeasy Mini Kit 提取分离各组细胞中的 RNA。用

分光光度计评估 RNA 的浓度和纯度。用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。应用 SYBRTM Premix Ex Taq 试剂盒进行实时荧光定量 PCR 测定。所有的 miRNA 用 U6 为内参对照。通过 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 miR-150-5p 相对表达水平。

表 1 实验相关引物序列列表

Table 1 List of experimental related primer sequences

Genes	Primer sequences(5'-3')
U6	F: TGC GGG TGC TCG CTT CGG CAG C
	R: GTGCAGGTCCGAGCT
miR-150-5p	F: AGG CCG AGA CTT GGG CAA TTG
	R: GAATCGAGCACCACTTACGC
GADPH	F: GTC ACC AGG GCT GCT TTT AAC TC
	R: CAG CAT CGC CCC ACT TGA TTT TG

1.6 Transwell 实验检测细胞的迁移和侵袭

Transwell 小室包被基质胶, 在未添加血清的 OPTI-MEM 细胞培养液中稀释后, 取 200 μ L 添加到 Transwell 上室中, 另取 500 μ L 含 20% 胎牛血清加入下室。细胞培养箱中培养 48 h 后, 固定染色。显微镜下选 5 个视野分析细胞侵袭的数目, 结果取均值。

1.7 CCK-8 法细胞增殖检测

在 96 孔培养板中接种 SW480 细胞, 待细胞贴壁, 对照 1.4 分组处理。37℃ 培育 48 h 后, 每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 试剂混合, 37℃ 继续培育 3 h。采用分光光度计在 450 nm 波长处检测各孔的吸光度 (OD) 值, 检测各组细胞的增殖情况。

1.8 双荧光素酶报告基因检测

在 TargetScan 数据库中预测 TP53 与 miR-150-5p 的结合位点, 分别构建野生型和突变型 p53 的荧光素载体, 将构建的载体和 miR-150-5p mimic 或 miR-NC 共转染到 SW480 细胞。培育 48 h 后, 用酶标仪和荧光素酶测定系统检测和并分析。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 22.0 进行数据分析, 计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较使用 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析。计数数据以 (%) 表示, 组间比较采用卡方分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 患者基本信息临床病理分析

免疫组化结果显示 TP53 在结直肠癌、结直肠腺瘤、正常结直肠组织中表达有差异性 ($P<0.05$), 且与淋巴结转移和 Dukes 分期关系密切 ($P<0.05$), 与病理分化程度、肿瘤大小、性别、年龄差异无统计学意义 ($P>0.05$), (表 2)。

2.2 结直肠癌患者肿瘤组织和血浆中 miR-150-5p 表达水平

癌组织中 miR-150-5p 表达量低于癌旁组织和正常黏膜 ($P<0.05$), 直径 >5 cm 瘤体中的 miR-150-5p 表达量显著低于直径 ≤ 5 cm 瘤体, I-II 期结直肠癌组织中的 miR-150-5p 表达显著高于 III-IV 期 ($P<0.05$)。 (表 3)。

2.3 miR-150-5p 的转染效率

增强组 miR-150-5p 表达较对照组表达明显升高; 而抑制组较对照组表达则明显降低 ($P<0.05$) (图 1)。

表 2 TP53 表达与结直肠癌临床病理特征之间的关系

Table 2 Association between T P 53 expression and the clinicopathological features of colorectal cancer

Pathological parameters	n	Positive	Negative	P
Gender				0.866
Male	34	24	10	
Female	26	15	11	
Age				0.299
<60	22	14	8	
≥60	28	25	13	
Tumor size				0.183
<5 cm	27	20	7	
≥5 cm	33	19	14	
Differentiation degree				0.145
Well-differentiated	10	5	5	
Moderately differentiated	36	22	14	
Poorly differentiated	14	12	2	
Infiltration depth				0.047
Muscular coat	14	6	8	
Placenta percreta	46	33	13	
Lymphatic metastasis				0.039
Yes	32	17	15	
No	28	22	6	
Dukes stages				0.025
A+B	31	16	15	
C+D	29	23	6	

表 3 患者样本中 miR-150-5p 表达

Table 3 miR-150-5p expression in patient samples

Groups	n	Tissue	Plasma
Normal mucosa next to the carcinoma	10	1.00± 0.00	1.00± 0.00
Beside the carcinoma tissue	30	0.88± 0.03	0.79± 0.05
CTs	30		
>5 cm	4	0.09± 0.03*	0.05± 0.08*
≤5 cm	9	0.26± 0.12*	0.25± 0.06*
t/P value		3.979/0.003	5.038/<0.001
I - II	11	0.49± 0.03*	0.48± 0.04*
III-IV	6	0.16± 0.07*	0.18± 0.03*
t/P value		11.009/<0.001	17.453
Adenoma	30	0.78± 0.01	0.80± 0.09

Note: Compared to adjacent normal tissue mucosal tissues, * $P<0.05$.

2.4 miR-150-5p 可抑制细胞迁移和侵袭

与对照组比较,增强组细胞存活率降低,细胞迁移和侵袭数目减少,而抑制剂组细胞数较对照组增多(图 2A、2B)。通过

CCK-8 增殖实验发现 miR-150-5p 在 SW480 细胞中过表达可抑制细胞增殖($P<0.05$,图 2C)。

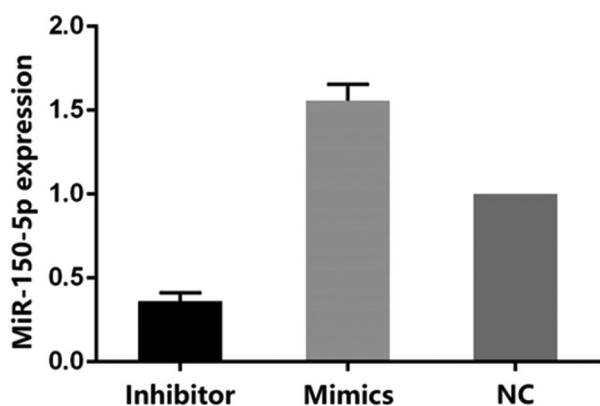


图1 miR-150-5p 的转染效率

Fig.1 Transfection efficiencies of the miR-150-5p

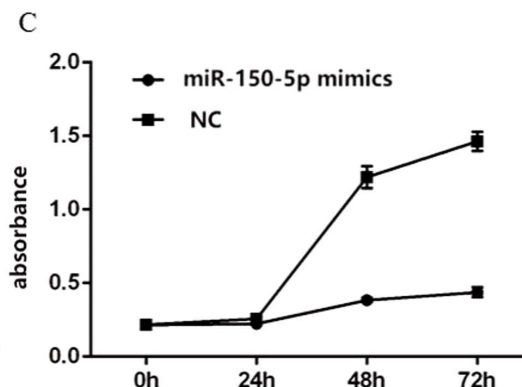
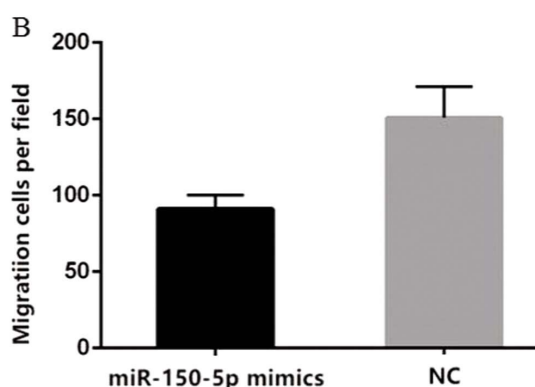
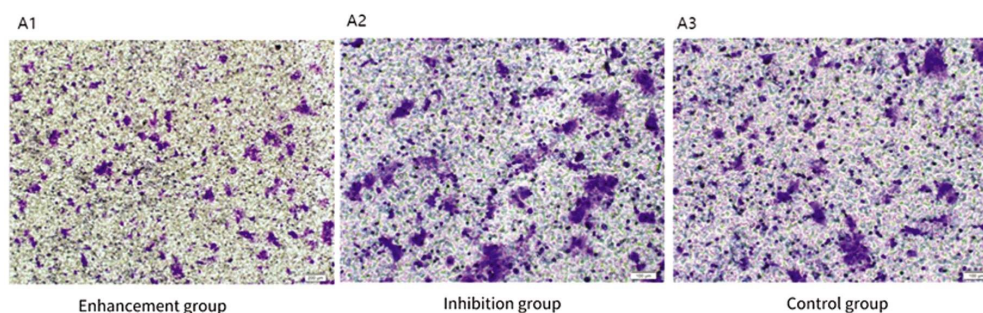


图2 miR-150-5p 抑制 SW480 细胞增殖和迁移

Fig.2 miR-150-5p inhibits the proliferation and migration of SW480 cells

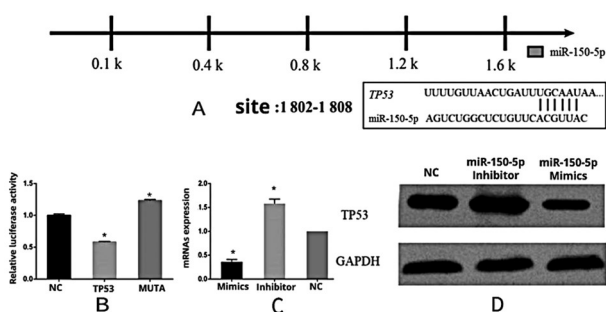


图3 miR-150-5p 的靶标结果 TP53

Fig.3 Target Results TP53 for miR-150-5p

2.6 DAVID 数据库对 miR-150-5p 靶基因的 GO 富集分析

相关靶基因分别富集于细胞代谢相关过程的调节(表4), 入选标准为 $P < 0.001$, miR-150-5p 预测靶基因的分子功能分析显示分子功能集中在蛋白质结合、泛素蛋白连接酶结合、小缀合蛋白木糖结合、酶结合等(表5)。

2.5 TP53 与 miR-150-5p 的靶向关系

实验结果显示 TP53 3'UTR 区的一个保守位点, 为 miR-150-5p 的实际靶位点, 位置为第 1802 至 1808 个位点(图3A)。荧光素酶活性在 miR-150-5p 转染 48 h 后被显著抑制, 表明 miR-150-5p 靶向该特异性位点(图3B)。在用 miR-150-5p 模拟物转染的 SW480 细胞系中, TP53 mRNA 表达水平显著降低(图3C)。通过 Western blot 分析证实 SW480 细胞系中的 TP53 的表达与 miR-150-5p 的表达呈负相关。转染 miR-150-5p 模拟物组 SW480 细胞系中 TP53 表达水平显著降低, 转染 miR-150-5p 抑制剂组 SW480 细胞系中 TP53 表达水平显著升高(图3D)。

2.7 DAVID 数据库对 miR-150-5p 靶基因 KEGG 的通路分析

结果显示 miR-150-5p 预测靶基因总共参与 10 个通路, 富集于 p53 信号通路和肿瘤信号传导通路(图4)。

2.8 IID 数据库对 miR-150-5p 靶基因蛋白互作网络分析

结果显示此网络图包括 26 个节点分别代表 26 种蛋白质, 其中在维持网络的稳定性中起关键性作用的是 TP53、MDM2、PTEN、CDH1 和 KAT2B 这 5 种蛋白, 尤其是由 TP53、MDM2 和 KAT2B 编码的下游蛋白很可能就是关键的下游靶蛋白。(图5)。

3 讨论

CRC 位居恶性肿瘤发病谱的第 3 位, 尽管治疗不断改进, 但由于诊断延迟, CRC 患者极易复发和死亡, 因此, 敏感而特异的生物标志物是鉴定 CRC 患者必不可少的条件。目前的研究揭示了血清外泌体 miR-99b-5p 和 miR-150-5p 在 CRC 中的关键作用, 使其成为 CRC 诊断的有前途的生物标志物^[13,14]。

表 4 miR-150-5p 预测靶基因的生物过程分析

Table 4 Biological process analysis of the target genes predicted by miR-150-5p

Term	Background frequency	Sample frequency	P-value
Regulation of cellular metabolic process (GO:0031323)	5677	36	<0.001
Positive regulation of cellular metabolic process(GO:0031325)	2849	26	<0.001
Regulation of primary metabolic process (GO:0080090)	5519	36	<0.001
Regulation of nucleobase-containing compound metabolic process(GO:0019219)	4196	31	<0.001

表 5 miR-150-5p 预测靶基因的分子功能分析

Table 5 Molecular functional analysis of the target genes predicted by miR-150-5p

Term	Background frequency	Sample frequency	P
Protein binding(GO:0005515)	8450	37	<0.001
Ubiquitin protein ligase binding (GO:0031625)	212	6	<0.001
Small conjugating protein ligasse binding(GO:0044389)	214	6	<0.001
Enzyme binding(GO:0019899)	1419	13	<0.001

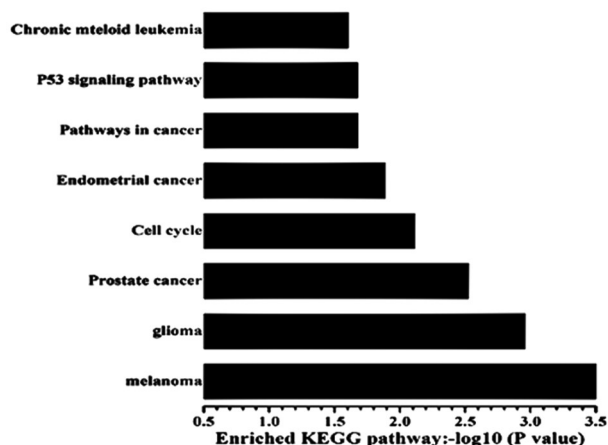


图 4 DAVID 预测 KEGG 通路富集分析

Fig.4 DAVID predicted enrichment analysis of the KEGG pathway

miRNAs 为长约 20-24 nt 的单链非编码 RNA 且在进化上保守的 RNA 分子,以转录后的方式调节基因表达,异常 miRNA 参与肿瘤细胞增殖、凋亡、分化、耐药性、侵袭和转移的调节^[15]。另外,其与许多肿瘤的发生相关,成为临床早期诊断和治疗肿瘤的相关标记物^[9]。据报道,在胃癌中,miR-335-5p 可以通过调控 Oct4 抑制 AKT 通路从而抑制胃癌细胞的增殖^[16]。MiR-150-5p 通过调节 MAP3K12 抑制前列腺癌中的细胞增殖和侵袭,并显著抑制肺鳞状细胞癌细胞的侵袭性^[17]。因此,miR-150-5p 被认为在癌细胞的增殖和侵袭性中起主要作用。此外,外泌体 miR-99b-5p 和 miR-150-5p 可能会抑制 CRC 中的癌细胞增殖,这可能是 CRC 诊断的公认有效生物标记^[15]。miR-150-5p 通过调节甲状腺乳头状癌细胞中的 BRAFV600E 突变来影响细胞增殖,凋亡和上皮-间质转化(EMT)^[18]。据报道,miR-150-5p 已被鉴定为非小细胞肺癌新型的预后生物标志

物,且已有研究证实:miR-150-5p 可抑制肺鳞状细胞癌细胞的侵袭性^[19,20]。本课题组前期研究发现,miR-150-5p 在 CRC 中低表达,提示 miR-150-5p 与 CRC 的发生发展相关,与上述研究结论一致。

p53 蛋白在应对各种变化以及在生理过程(例如衰老)中的抗增殖作用使其成为癌症灭活的主要靶标^[21]。等位基因缺失和单碱基取代是 TP53 失活的主要方式,而在特定癌症中起主要作用的是病毒或细胞蛋白的失活^[22]。其次,TP53 的遗传突变导致易发性早发癌,包括乳腺癌,肉瘤,脑瘤和肾上腺皮质癌^[23]。第三,TP53 具有高度多态性,这种多态性已显示出可增加癌症易感性并修饰 TP53 突变携带者中的癌症表型^[24]。P53 是参与包括 B 细胞淋巴瘤在内的癌症发病机理的最重要分子之一。王恺纯^[25]和 Sakamoto Y^[26]研究显示:P53 对肿瘤的抑制作用是通过转录依赖性和转录非依赖性来实现,其功能的丧失可导致细胞增殖速率增加,并且可以通过致癌性应激和 DNA 损伤被两个不同的信号通路激活,这两个信号通路涉及激酶介导的 p53 磷酸化 P53^[25,26]。本研究通过生物信息学发现,miR-150-5p 的预测结 CRC 靶基因显著富集于 P53 信号通路,结合上述研究推测:miR-150-5p 参与 CRC 中 P53 信号通路的调控。另外,TP53 突变是一种预后因素,并与结直肠癌患者的临床预后差有关^[27,28]。TP53 突变和途径的失调在人类癌症的发病机制中具有很重要的作用^[29,30]。本研究发现,miR-150-5p 负性调控 TP53 蛋白的表达,其中 TP53, PTEN, MDM2 这 3 种蛋白在维持 miR-150-5p 靶蛋白网络稳定性中起到关键性作用,其编码的下游蛋白有可能是参与 CRC 重要的下游靶蛋白,提示 miR-150-5p 可通过调控 TP53 的表达从而参与下游蛋白的表达,从而影响 CRC 的发生和发展。

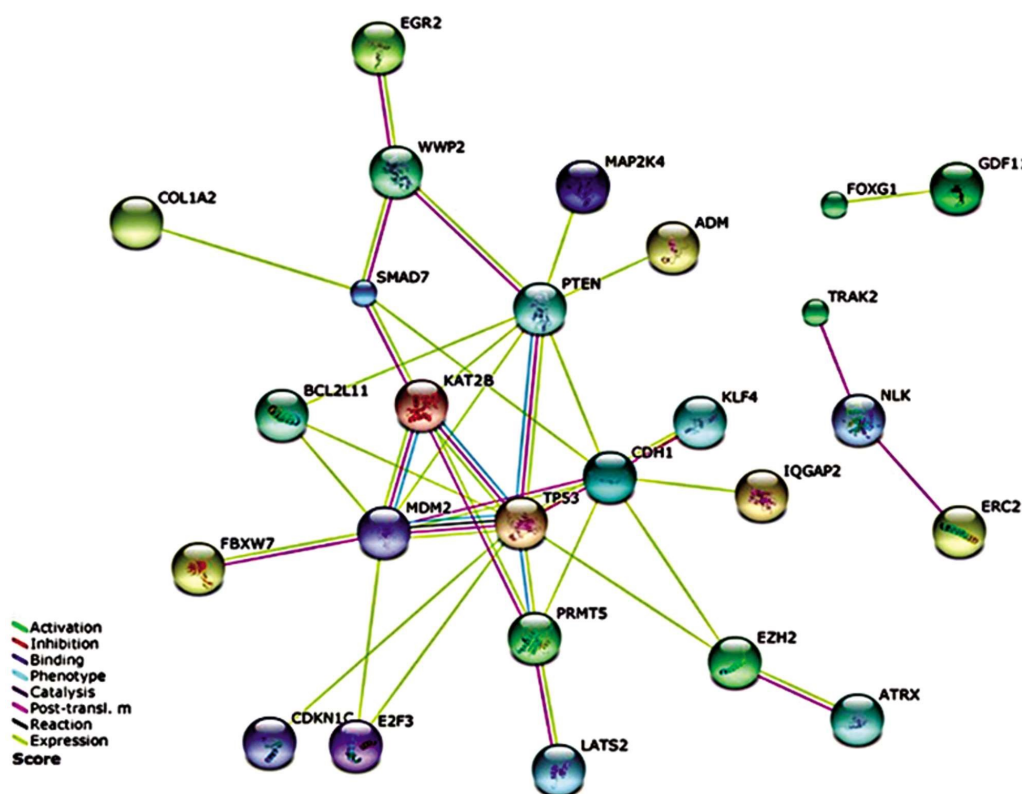


图5 蛋白质相互作用网络图

Fig.5 Protein interaction network diagram

综上所述,本研究通过体外细胞及双荧光素酶实验发现,TP53 促进 SW480 细胞增殖和迁移,miR-150-5p 抑制 SW480 细胞增殖和迁移,miR-150-5p 靶向调控着 TP53 的表达,由此可见 miR-150-5p 可通过靶向负向调控 TP53 的表达而抑制 CRC 细胞的迁移和增殖。因此,miR-150-5p 是预测结直肠癌患者预后及结直肠癌治疗的潜在分子标志物。

参考文献(References)

- [1] Harada S, Morlote D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer [J]. Adv Anat Pathol, 2020, 27(1): 20-26
- [2] 周珩, 曹会鲲, 胡晓东, 等. 结直肠癌组织 LRFN4、HMGB2、MAGE-A9 的表达及与临床病理特征和预后的关系分析 [J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(12): 2309-2313
- [3] ZHANG G, XU Q, WANG Z, et al. p53 protein expression affected by TP53 polymorphism is associated with the biological behavior and prognosis of low rectal cancer [J]. Oncology letters, 2019, 18(6): 6807-6821
- [4] Williams DS, Mouradov D, Browne C, et al. Overexpression of TP53 protein is associated with the lack of adjuvant chemotherapy benefit in patients with stage III colorectal cancer [J]. Mod Pathol, 2020, 33(3): 483-495
- [5] Domenis R, Cifù A, Mio C, et al. Pro-Inflammatory Microenvironment Modulates the Transfer of Mutated TP53 Mediated by Tumor Exosomes [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12): 6258
- [6] Cenariu D, Zimta AA, Munteanu R, et al. Hsa-miR-125b Therapeutic Role in Colon Cancer Is Dependent on the Mutation Status of the TP53 Gene [J]. Pharmaceutics, 2021, 13(5): 664
- [7] KOSHIZUKA K, HANAZAWA T, KIKKAWA N, et al. Antitumor miR-150-5p and miR-150-3p inhibit cancer cell aggressiveness by targeting SPOCK1 in head and neck squamous cell carcinoma [J]. Auris, nasus, larynx, 2018, 45(4): 854-865
- [8] Lou T, Ke K, Zhang L, et al. LncRNA PART1 facilitates the malignant progression of colorectal cancer via miR-150-5p/LRG1 axis [J]. J Cell Biochem, 2020, 121(10): 4271-4281
- [9] Fan H, Liu X, Zheng WW, et al. MiR-150 alleviates EMT and cell invasion of colorectal cancer through targeting Gli1 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(14): 7544
- [10] Shi G, Cheng Y, Zhang Y, et al. Long non-coding RNA LINC00511/miR-150/MMP13 axis promotes breast cancer proliferation, migration and invasion [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2021, 1867(3): 165957
- [11] TANG W, XU P, WANG H, et al. MicroRNA-150 suppresses triple-negative breast cancer metastasis through targeting HMGA2 [J]. OncoTargets and therapy, 2018, 11(2): 319-332
- [12] Zhu L, Wang Y, Yang C, et al. Long non-coding RNA MIAT promotes the growth of melanoma via targeting miR-150 [J]. Hum Cell., 2020, 33(3): 819-829
- [13] 吴春晓, 顾凯, 龚杨明, 等. 2015 年中国结直肠癌发病和死亡情况分析 [J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(04): 241-245
- [14] ZHAO Y J, SONG X, NIU L, et al. Circulating Exosomal miR-150-5p and miR-99b-5p as Diagnostic Biomarkers for Colorectal Cancer [J]. Frontiers in oncology, 2019, 9(1): 12-19
- [15] Inoue J, Inazawa J. Cancer-associated miRNAs and their therapeutic potential [J]. J Hum Genet, 2021, 66(9): 937-945
- [16] 程安琪, 彭旭东, 刘光艺, 等. miR-335-5p 通过靶向 Oct4 调控胃癌细胞的增殖 [J]. 重庆医科大学学报, 2019, 5(03): 268-274
- [17] Lou T, Ke K, Zhang L, et al. LncRNA PART1 facilitates the malignant progression of colorectal cancer via miR-150-5p/LRG1 axis [J]. J Cell Biochem, 2020, 121(10): 4271-4281 (下转第 854 页)

- Pharm Bioallied Sci, 2021, 13(Suppl 2): S1174-S1177
- [18] Souto MLS, Carrer FCA, Braga MM, et al. Smoking Cessation therapy is a cost-effective intervention to avoid tooth loss in Brazilian subjects with periodontitis: an economic evaluation [J]. BMC Oral Health, 2021, 21(1): 616
- [19] Zhang J, Yu J, Dou J, et al. The Impact of Smoking on Subgingival Plaque and the Development of Periodontitis: A Literature Review[J]. Front Oral Health, 2021, 2(27): 751099
- [20] Iwaszko M, Biały S, Bogunia-Kubik K. Significance of Interleukin (IL)-4 and IL-13 in Inflammatory Arthritis [J]. Cells, 2021, 10(11): 3000
- [21] Li H, Xu L, Song H. MiR-29a Alleviates High Glucose-induced Inflammation and Mitochondrial Dysfunction via Modulation of IL-6/STAT3 in Diabetic Cataracts [J]. Curr Eye Res, 2021, 46(9): 1325-1332
- [22] 徐铁华, 彭彬, 曲娟, 等. 成人正常、炎症牙髓组织匀浆中 IL-8 含量的测定[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2006, 16(7): 378-380
- [23] 黄俊红, 蒋东辉, 王俐洁, 等. IL-17 和 RANKL、OPG 蛋白在牙周炎正畸大鼠牙周组织中的表达及其意义 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(9): 1549-1552
- [24] 王乐康, 徐天天, 刘士东, 等. 吸烟习惯对牙周炎患者牙龈液 hBD-2、hBD-3 及炎症因子水平表达的影响[J]. 重庆医学, 2020, 49(24): 4168-4171, 4175
- [25] 董冉, 时国朝, 周敏. 吸烟对固有免疫影响的研究进展 [J]. 国际免疫学杂志, 2014, 37(6): 459-465
- [26] 梁晨亮, 赵振群, 刘万林. OPG/RANKL/RANK 信号通路在骨巨细胞瘤发病机制中的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(23): 3723-3729
- [27] 杨洁, 王雯雯, 张晨, 等. PMPs 通过 CXCR2/Erk/NF- κ B 通路影响 RA-FLS 中 RANKL 和 OPG 表达的研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2021, 42(1): 41-46, 57
- [28] Ribeiro LNS, Monteiro PM, Barretto GD, et al. The Effect of Cigarette Smoking And Low-Level Laser Irradiation in RANK/RANKL/OPG Expression[J]. Braz Dent J, 2020, 31(1): 57-62
- [29] 王春风, 李咏, 金玲, 等. 吸烟对慢性牙周炎患者牙周指数及龈沟液 MCP-1、IL-8 表达的影响 [J]. 实用口腔医学杂志, 2018, 34(6): 794-797

(上接第 829 页)

- [18] Guo K, Qian K, Shi Y, et al. LncRNA-MIAT promotes thyroid cancer progression and function as ceRNA to target EZH2 by sponging miR-150-5p[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(12): 1097
- [19] Wu Z, Li W, Li J, et al. Higher expression of miR-150-5p promotes tumorigenesis by suppressing LKB1 in non-small cell lung cancer[J]. Pathol Res Pract, 2020, 216(11): 153145
- [20] Mizuno K, Tanigawa K, Misono S, et al. Regulation of Oncogenic Targets by Tumor-Suppressive miR-150-3p in Lung Squamous Cell Carcinoma[J]. Biomedicines, 2021, 9(12): 1883
- [21] Blagih J, Buck MD, Vousden KH. p53, cancer and the immune response[J]. J Cell Sci, 2020, 133(5): jcs237453
- [22] Frebourg T, Bajalica Lagercrantz S, et al. Guidelines for the Li-Fraumeni and heritable TP53-related cancer syndromes [J]. Eur J Hum Genet, 2020, 28(10): 1379-1386
- [23] Shahbandi A, Nguyen HD, Jackson JG. TP53 Mutations and Outcomes in Breast Cancer: Reading beyond the Headlines[J]. Trends Cancer, 2020, 6(2): 98-110
- [24] Zhao Y, Zhu C, Chang Q, et al. TP53 rs28934571 polymorphism increases the prognostic risk in hepatocellular carcinoma[J]. Biomark Med, 2021, 15(9): 615-622
- [25] 王恺纯, 徐勤芬, 刘微, 等. 通关藤蓍 G 通过 ATM-CHK2-p53 信号通路抑制结直肠癌细胞增殖[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(4): 554-562
- [26] Sakamoto Y, Ishida T, Masaki A, et al. Clinical significance of TP53 mutations in adult T-cell leukemia/lymphoma [J]. Br J Haematol, 2021, 195(4): 571-584
- [27] Otani T, Kanemura H, Kimura M, et al. Yolk Sac Tumor in a Recurrence of Colonic Adenocarcinoma With Shared Mutations in APC and TP53 Genes: A Case Report [J]. Int J Surg Pathol, 2022, 5: 10668969211069963
- [28] Yang H, Chen Y, Jiang Y, et al. TP53 mutation influences the efficacy of treatment of colorectal cancer cell lines with a combination of sirtuin inhibitors and chemotherapeutic agents [J]. Exp Ther Med, 2020, 20(2): 1415-1422
- [29] Li L, Li M, Wang X. Cancer type-dependent correlations between TP53 mutations and antitumor immunity [J]. DNA Repair (Amst), 2020, 88: 102785
- [30] Sakamoto Y, Ishida T, Masaki A, et al. Clinical significance of TP53 mutations in adult T-cell leukemia/lymphoma [J]. Br J Haematol, 2021, 195(4): 571-584