

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.02.003

LINC01915 介导 miR-92a 影响结直肠癌裸鼠肿瘤生长的实验研究*

韩 炜¹, 李 程¹, 李文翰¹, 霍斌亮¹, 师 文^{2△}

1. 陕西省人民医院肿瘤外科, 陕西西安 710068; 2. 西安交通大学第一附属医院消化内科, 陕西西安 710061

摘要:目的 探讨基因间区长链非编码核糖核酸 01915(LINC01915)过表达靶向抑制微小核糖核酸-92a(miR-92a)控制结直肠癌裸鼠肿瘤生长的作用与分子机制。方法 取 100 只 5 周龄裸鼠经皮下接种人结直肠癌细胞 HT29 建立结直肠癌裸鼠皮下移植瘤模型, 将建模成功的裸鼠随机分为 LINC01915 上调组(转染 pcDNA-LINC01915)、LINC01915 下调组(转染 si-LINC01915)、LINC01915 上调对照组(转染 pcDNA)、LINC01915 下调对照组(转染 si-NC)、miR-92a 上调组(转染 miR-92a mimic)、miR-92a 下调组(转染 miR-92a inhibitor)、miR-92a 上调对照组(转染 miR-92a mimic NC)、miR-92a 下调对照组(转染 miR-92a inhibitor NC)以及空白对照组(注射生理盐水)。观察记录裸鼠肿瘤体积并绘制肿瘤生长曲线;通过苏木精-伊红(HE)染色观察肿瘤组织病理学改变;采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)及蛋白质印迹法(WB)检测裸鼠肿瘤组织 Kruppel 样因子 4(KLF4)、生存素(Survivin)、细胞增殖核抗原(Ki-67)及半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3(Caspase-3)信使核糖核酸(mRNA)或蛋白表达;通过荧光素酶活性实验验证 LINC01915 和 miR-92a 的靶向关系。**结果** 重复测量方差分析结果显示, 各组结直肠癌裸鼠肿瘤体积变化存在时间效应、组间效应及交互效应, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。多变量方差分析结果显示, 转染第 9、12、15 天时:与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比, LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积缩小($P < 0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比, LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均增大($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 上调对照组相比, miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均增大($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比, miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均缩小($P < 0.05$)。各对照组裸鼠肿瘤组织腺体排列紊乱并伴随炎症细胞浸润, 有少量杯状细胞;LINC01915 上调组和 miR-92a 下调组裸鼠肿瘤组织腺体排列整齐, 结构更加完整, 可见少量杯状细胞及炎症细胞浸润;LINC01915 下调组和 miR-92a 上调组裸鼠肿瘤组织腺体排列更加紊乱, 杯状细胞几乎消失, 可见大量炎症细胞浸润。与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比, LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$), miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比, LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$), miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 上调对照组相比, miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$), miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比, miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$), miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$)。荧光素酶活性实验结果显示 LINC01915 可直接靶向调控 miR-92a。**结论** 上调 LINC01915 可抑制结直肠癌裸鼠肿瘤生长, 可能是通过靶向下调 miR-92a 的表达, 促进 KLF4、Caspase-3 表达, 抑制 Survivin、Ki-67 表达而发挥作用。

关键词:基因间区长链非编码核糖核酸; 结直肠癌; miR-92a; Kruppel 样因子 4; 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3

中图法分类号: R574.63; R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)02-0157-09

Experimental study on LINC01915 mediates miR-92a to affect tumor growth in nude mice with colorectal cancer*

HAN Wei¹, LI Cheng¹, LI Wenhuan¹, HUO Binliang¹, SHI Wen^{2△}

1. Department of Oncological Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710068,

China; 2. Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China

* 基金项目: 陕西省自然科学基础研究计划项目(2021JQ-917); 陕西省人民医院科技人才支持计划项目(2021JY-46)。

作者简介: 韩炜,男,主治医师,主要从事消化道疾病方向的研究。 △ 通信作者, E-mail: drshiwen@163.com。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20241223.1026.002\(2024-12-24\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20241223.1026.002(2024-12-24))

Abstract: Objective To investigate the effect and molecular mechanism of long non-coding RNA 01915 (LINC01915) overexpression on controlling tumor growth in nude mice with colorectal cancer by targeted inhibition of microRNA-92a (miR-92a). **Methods** A total of 100 5-week-old nude mice were subcutaneously inoculated with human colorectal cancer cells HT29 to establish a subcutaneously transplanted tumor model of colorectal cancer in nude mice. The nude mice with successful model construction were randomly divided into the LINC01915 up-regulation group (transfected pcDNA-LINC01915), LINC01915 down-regulation group (transfected si-LINC01915), LINC01915 up-regulation control group (transfected pcDNA), LINC01915 down-regulation control group (transfected si-NC), miR-92a up-regulated group (transfected miR-92a mimic), miR-92a down-regulation group (transfected miR-92a inhibitor), miR-92a up-regulated control group (transfection miR-92a mimic NC), miR-92a down-regulation control group (transfected miR-92a inhibitor NC) and blank control group (injection of normal saline). The tumor volume of nude mice was observed and recorded, and the tumor growth curve was drawn. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the histopathological changes of the tumor tissues. The real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blotting (WB) were used to detect the Kruppel like factor 4 (KLF4), Survivin, cell proliferating nuclear antigen (Ki-67) and cysteine aspartic protease-3 (Caspase-3) mRNA or protein expression in nude mice tumor tissues; the luciferase activity experiment was used to verify the targeting relationship between LINC01915 and miR-92a. **Results** The repeated measures ANOVA results showed that the time effect, inter-group effect and interaction effect of colorectal cancer nude mouse tumor volumes in each group were all statistically significant ($P < 0.05$). The multivariate ANOVA analysis revealed that on post-transfection 9, 12 and 15 d: compared with the blank control group and LINC01915 up-regulation control group, the tumor volume of nude mice with colorectal cancer in the LINC01915 up-regulation group was decreased ($P < 0.05$); compared with the blank control group and LINC01915 down-regulation control group, the tumor volume of nude mice with colorectal cancer in the LINC01915 down-regulation group was increased ($P < 0.05$); compared with the blank control group and the miR-92a up-regulation control group, the tumor volume of nude mice with colorectal cancer in the miR-92a up-regulation group was increased ($P < 0.05$); compared with the blank control group and miR-92a down-regulation control group, the tumor volume of nude mice with colorectal cancer in the miR-92a down-regulation group was decreased ($P < 0.05$). In each control group, the gland arrangement of tumor tissue was disordered and accompanied by inflammatory cell infiltration, with a small number of goblet cells. In the LINC01915 up-regulation group and the miR-92a down-regulation group, the gland arrangement of tumor tissue of nude mice was orderly and the structure was more complete, with a small number of goblet cells and inflammatory cell infiltration. The glandular arrangement of tumor tissues in the LINC01915 down-regulation group and miR-92a up-regulation group was more disordered, the goblet cells almost disappeared, and a large number of inflammatory cells could be seen. Compared with blank control group and LINC01915 up-regulation control group, the KLF4 and Caspase-3 mRNA and protein expressions in tumor tissues of nude mice with colorectal cancer in LINC01915 up-regulated group were increased ($P < 0.05$), while the miR-92a expression, Survivin, Ki-67 mRNA and protein expressions were decreased ($P < 0.05$). Compared with the blank control group and the LINC01915 down-regulation control group, KLF4 and Caspase-3 mRNA and protein expressions in tumor tissues of nude mice with colorectal cancer in the LINC01915 down-regulation group were decreased ($P < 0.05$), while the miR-92a expression, Survivin, Ki-67 mRNA and protein expressions were increased ($P < 0.05$). Compared with blank control group and miR-92a up-regulated control group, the mRNA and protein expressions of KLF4 and Caspase-3 in tumor tissues of nude mice with colorectal cancer in the miR-92a up-regulated group were decreased ($P < 0.05$), miR-92a expression, Survivin, Ki-67 mRNA and protein expressions were increased ($P < 0.05$). Compared with the blank control group and miR-92a down-regulation control group, the mRNA and protein expressions of KLF4 and Caspase-3 in tumor tissues of nude mice with colorectal cancer in the miR-92a down-regulation group were increased ($P < 0.05$), the miR-92a expression, Survivin, Ki-67 mRNA and protein expressions were decreased ($P < 0.05$). The experimental results of luciferase activity showed that LINC01915 could directly target and regulate miR-92a. **Conclusion** Upregulation of LINC01915 could inhibit the tumor growth in nude mice with colorectal cancer, possibly by down-regulating the expression of miR-92a, promoting the expression of KLF4 and Caspase-3, and inhibiting the expression of Survivin and Ki-67.

Key words: long intergenic noncoding ribonucleic acid; colorectal cancer; miR-92a; Kruppel like factor 4; cysteine aspartic protease-3

结直肠癌是全球常见的消化道恶性肿瘤之一,其早期症状隐匿,多数患者确诊时已进展至疾病中晚期,导致患者生存率低^[1]。最新统计数据显示,2020 年全球新发结直肠癌病例 193 万,占肿瘤新发病例的 10.4%,因结直肠癌死亡人数达 94 万,位列肿瘤死亡人数第 2 位^[2]。近年来在结直肠癌的预防、诊断和治疗方面取得了重大进展,但仍有部分患者的临床治疗效果欠佳,且结直肠癌的具体发病机制尚不完全明确。因此,阐明结直肠癌的分子机制并探索新的治疗靶点对于疾病的诊断、治疗和预后评估至关重要。长链非编码核糖核酸(lncRNA)是一类转录本长度超过 200 bp 的非编码 RNA,已被证明可通过与蛋白质、染色质甚至 RNA 本身的相互作用在多种生物学过程中发挥重要作用^[3]。既往研究表明,lncRNAs 和微小核糖核酸(miRNA)可作为原癌基因或抑癌基因参与结直肠癌的发生、发展过程^[4-5]。基因间区 lncRNA 01915(LINC01915)是一种新发现的 lncRNA,既往研究显示 LINC01915 在结直肠癌生长过程中发挥抑制作用^[6],且周金池等^[7]通过体外细胞实验研究证实,下调 LINC01915 可增强人结直肠腺癌细胞增殖能力,而过表达 LINC01915 后结直肠腺癌细胞增殖能力降低,但其具体作用机制尚不可知。故本研究着重探讨 LINC01915 参与结直肠癌裸鼠肿瘤生长的作用与分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与细胞 100 只 SPF 级 5 周龄裸鼠,雌雄各半,体质量 18~23 g,平均(20.29±1.62)g,购自北京希诺因生物技术有限公司[许可证号:SCXK(京)2022-0006],饲养于 SPF 级动物房,温度 21~24 ℃、相对湿度 50%~70%,明暗交替(12 h),自由摄食饮水,适应性饲养 7 d 后开始实验。人结直肠癌细胞 HT29 购自美国 ATCC 公司。本实验已经过陕西省人民医院实验动物伦理委员会审批(2022-013)。

1.1.2 药物与试剂 pcDNA、si-NC、pcDNA-LINC01915、si-LINC01915、miR-92a mimic NC、miR-92a inhibitor NC、miR-92a mimic、miR-92a inhibitor、microRNA negative control(miR-NC)慢病毒载体及荧光素酶报告载体均由上海生工生物工程有限公司设计合成;苏木精-伊红(HE)试剂盒购自上海佰利莱生物科技有限公司,货号:BLL-yt0473;TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司,货号:10296-028;反转录试剂盒购自上海联迈生物工程有限公司,货号:LM81803D;2×Taq PCR Master Mix 预混液购自北京百奥莱博科技有限公司,货号:YT378;放射免疫沉淀试验(RIPA)裂解液购自上海谷研实业有限公司,货号:GOY-

0839P;二喹啉甲酸(BCA)法蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,货号:PC0022;兔抗鼠 Kruppel 样因子 4(KLF4)、生存素(Survivin)、细胞增殖核抗原(Ki-67)、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3(Caspase-3)、β 肌动蛋白(β-actin)单克隆抗体购自美国 Abcam 公司,货号:ab1026、ab0112、ab2019、ab1407、ab2214;山羊抗兔 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3、β-actin 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司,货号:ab1142、ab0240、ab2056、ab1792、ab2218;荧光素酶报告基因检测试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司,货号:SY0058。

1.1.3 实验器材 DW-86L388J 型超低温冰箱购自青岛海尔生物医疗股份有限公司;Velocity 17 型高速冷冻离心机购自英国 Dynamica 公司;alpha 300S 型光学显微镜购自德国 WITec 公司;JP-3001 型微量核酸蛋白检测仪购自上海嘉鹏科技有限公司;CFX384 Touch 型聚合酶链反应(PCR)仪购自美国 Bio-Rad 公司;DYCP-31DN 型电泳仪购自北京六一生物科技有限公司;Azure 280 型凝胶成像系统购自美国 Azure Biosystems 公司。

1.2 方法

1.2.1 结直肠癌裸鼠皮下移植瘤模型构建与分组 将 HT29 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液培养于 37 ℃、5% CO₂ 体积分数的培养箱中。取对数生长期细胞,加入 0.25% 胰酶蛋白酶消化后制成 1×10⁶ 个/mL 的单细胞悬液。取 0.2 mL 单细胞悬液接种于裸鼠左前腋下。每天观察裸鼠成瘤情况,以裸鼠皮下结节直径达 5 mm 为成瘤标准。按照随机数字表法将建模成功的移植瘤模型鼠随机分为 LINC01915 上调对照组、LINC01915 下调对照组、LINC01915 上调组、LINC01915 下调组、miR-92a 上调对照组、miR-92a 下调对照组、miR-92a 上调组、miR-92a 下调组以及空白对照组,以上各组分别经瘤内注射 0.6 mL 的 pcDNA、si-NC、pcDNA-LINC01915、si-LINC01915、miR-92a mimic NC、miR-92a inhibitor NC、miR-92a mimic、miR-92a inhibitor 慢病毒载体和生理盐水,每天 1 次,连续 7 d。

1.2.2 观察记录裸鼠肿瘤体积并绘制肿瘤生长曲线 自转染之日起,每日观察裸鼠移植瘤的生长情况,每 3 d 用游标卡尺测量肿瘤长径(a)和宽径(b)1 次,计算肿瘤体积:V(mm³)=ab²/2,连续检测 5 次并绘制肿瘤生长曲线。

1.2.3 HE 染色观察肿瘤组织病理学改变 观察结束后断颈处死裸鼠,取出肿瘤组织,剔除周围结缔组织和坏死组织,生理盐水冲洗后把瘤组织分成 2 份,一份放到-80 ℃ 冰箱冻存备用,一份置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h。取固定于多聚甲醛的病理组织脱水

透明后行常规石蜡包埋切片,HE 染色,中性树脂封片,光学显微镜下观察肿瘤组织病理学改变。

1.2.4 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测裸鼠肿瘤组织 LINC01915、miR-92a 表达及 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 信使核糖核酸(mRNA)表达 取冻存的肿瘤组织于冰上充分研磨,TRIzol 法提取总 RNA,微量核酸蛋白检测仪测定 RNA 的浓度和纯度后,按照反转录试剂盒说明书以 Oligo(dT)Primer 作为引物反转录合成互补脱氧核糖核酸(cDNA),分别加入 0.5 μL PrimeScript RT Enzyme Mix、2.0 μL 5× PrimeScript Buffer、1.0 μL RNA (1 000 ng/μL),加入 RNaseFree ddH₂O 配置成 10.0 μL 的反应体系。在 37 °C 15 min、85 °C 5 s、40 °C 10 min 条件下获得 cDNA,以 cDNA 为模板扩增目的基因。引物由上海生工生物工程有限公司设计及合成,其中 LINC01915 (366 bp) 上游引物 5'-TAAGCAGTACAGGAGT-3', 下游引物 5'-GTAACGACCTAAC-3'; miR-92a (417 bp) 上游引物 5'-ACTAAC-GATCAGGTTCCGG-3', 下游引物 5'-AACGATG-BAACGAGG-3'; KLF4(236 bp) 上游引物 5'-CATGGCAAGGTATCCAC-3', 下游引物 5'-TAGGTAC-CAGTACAGAC-3'; Survivin (334 bp) 上游引物 5'-GCATACAGACCAGCACCTT-3', 下游引物 5'-AG-GCTAATTAGTCT-3'; Ki-67 (440 bp) 上游引物 5'-CTGACCTACTTGACA-3', 下游引物 5'-GCAT-AGTCAGTAGCAC-3'; Caspase-3(387 bp) 上游引物 5'-TAGGCAAGCTCAGATC-3', 下游引物 5'-AT-GCGACATACCGT-3'; U6 (175 bp) 上游引物 5'-GTAACCTACTTACGA-3', 下游引物 5'-TACCGATACGTTACGTA-3'; β-actin (540 bp) 上游引物 5'-GTCCGGGAGGCTACCA-3', 下游引物 5'-CTCCGGCTAAAGTGGCAGCCTTCC-3'。以 cDNA 为模板,上、下游引物各 0.2 μL,并加入 2×Taq PCR Master Mix 配制成 20.0 μL PCR 反应体系。反应条件:94 °C 5 min,94 °C 45 s,55 °C 45 s,72 °C 45 s,30 个循环;72 °C 5 min。miR-92a 以 U6 为内参,其余基因以 β-actin 为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因相对表达量。

1.2.5 蛋白质印迹法(WB)检测裸鼠肿瘤组织 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 蛋白表达 取冻存的肿瘤组织加入 RIPA 裂解液于冰上充分裂解,4 °C 条件下以 12 000 r/min(离心半径 13.5 cm)离心 20 min,通过 BCA 法蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取 40 μg 蛋白加入上样缓冲液煮沸变性 5 min,低温冷却后加样至十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶中进行电泳。转至聚偏氟乙烯(PDVF)膜,置于封闭液封闭 1 h,加入 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3、β-actin 一抗(稀释度分别为 1:1 000、1:1 000、1:2 000、1:2 000、1:1 000)4 °C 孵育过夜。次日用含 Tween-20 去垢剂的三羟甲基氨基甲烷盐酸

盐缓冲液(TBST)冲洗后加入二抗(工作浓度均为 1:5 000)室温孵育 1 h。TBS 缓冲液,加入增强化学发光(ECL)显色液,凝胶成像系统曝光显色,测定条带灰度值。以目的蛋白与内参 β-actin 灰度值的比值表示其蛋白相对表达量。

1.2.6 荧光素酶活性实验验证 LINC01915 和 miR-92a 的靶向关系 采用 miRBase(<http://www.mirbase.org>)、StarBase (<http://starbase.sysu.edu.cn/>)、TargetScan 软件 (<https://www.targetscan.org/vert/>) 分别预测 LINC01915 和 miR-92a 的结合位点取交集,根据预测到的可能结合位点设计合成含有该位点的 DNA 片段(LINC01915 WT)以及包含该位点突变体的 DNA 片段(LINC01915 MUT),退火后克隆到荧光素酶报告基因载体中。将含有 LINC01915 WT 和 LINC01915 MUT 的质粒分别与 miR-92a mimic 共转染至 HT29 细胞,记为 LINC01915 WT+miR-92a mimic 组和 LINC01915 MUT+miR-92a mimic 组;将含有 LINC01915 WT 和 LINC01915 MUT 的质粒分别与 miR-NC 共转染至 HT29 细胞,记为 LINC01915 WT+miR-NC 组和 LINC01915 MUT+miR-NC 组。48 h 后测定其荧光素酶活性,实验重复 3 次,取平均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 SNK-q 检验;重复测量资料比较采用重复测量方差分析,若时间与处理因素之间存在交互效应,则应当分析单独效应,即组内比较采用单因素重复测量方差分析,不同组间比较采用多变量方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 建模及分组情况 100 只裸鼠中有 91 只建模成功,将建模成功裸鼠随机分为 LINC01915 上调对照组、LINC01915 下调对照组、LINC01915 上调组、LINC01915 下调组、miR-92a 上调对照组、miR-92a 下调对照组、miR-92a 上调组、miR-92a 下调组以及空白对照组,其中 miR-92a 上调对照组 11 只,其余各组均 10 只。

2.2 结直肠癌裸鼠肿瘤生长曲线 重复测量方差分析结果显示,各组结直肠癌裸鼠肿瘤体积变化存在时间效应、组间效应及交互效应,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1,故进一步做单独效应分析。多变量方差分析显示,转染第 3 天和第 6 天时,各组结直肠癌裸鼠肿瘤体积比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。而转染第 9、12、15 天时:与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比,LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均缩小($P < 0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比,LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均增大($P < 0.05$);与空白对

照组和 miR-92a 上调对照组相比, miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均增大($P<0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比, miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均缩小($P<0.05$)。自转染第 3 天

至转染第 15 天,各组裸鼠肿瘤体积均呈逐渐增大趋势,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2 和图 1。转染第 15 天时各组结直肠癌裸鼠肿瘤大小见图 2。

表 1 结直肠癌裸鼠肿瘤体积变化的重复测量方差分析($\bar{x} \pm s, \text{mm}^3$)

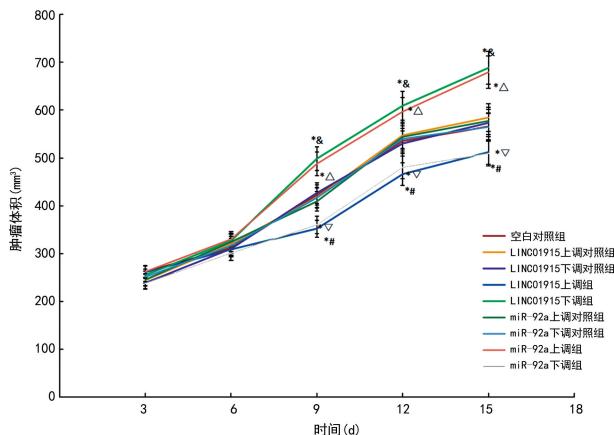
组别	n	第 3 天	第 6 天	第 9 天	第 12 天	第 15 天
空白对照组	10	262.15±41.19	312.26±48.85	422.5±63.48	535.56±77.96	565.59±94.27
LINC01915 上调对照组	10	244.56±44.08	320.55±53.34	417.71±60.91	547.41±84.11	584.41±91.91
LINC01915 下调对照组	10	238.84±39.95	310.17±49.16	426.91±68.74	530.22±80.38	573.32±87.80
LINC01915 上调组	10	261.13±45.22	308.84±52.36	372.28±55.37	466.15±72.06	512.2±84.24
LINC01915 下调组	10	255.04±40.83	326.93±55.27	498.52±78.09	609.14±93.35	688.22±102.29
miR-92a 上调对照组	11	245.49±42.29	324.45±58.40	409.14±71.26	544.18±84.61	577.29±91.37
miR-92a 下调对照组	10	251.18±46.78	316.67±46.62	416.69±65.83	539.96±87.80	564.73±88.41
miR-92a 上调组	10	262.26±44.31	330.04±49.11	487.85±75.59	596.77±95.14	679.26±97.93
miR-92a 下调组	10	237.70±42.62	301.15±50.39	360.26±58.92	480.23±73.85	509.43±80.22
F		$F_{\text{组间}}=24.190, F_{\text{时间}}=14.488, F_{\text{交互}}=20.492$				
P		$P_{\text{组间}}<0.001, P_{\text{时间}}<0.001, P_{\text{交互}}<0.001$				

表 2 结直肠癌裸鼠肿瘤体积变化的单独效应分析($\bar{x} \pm s, \text{mm}^3$)

组别	n	第 3 天	第 6 天	第 9 天
空白对照组	10	262.15±41.19	312.26±48.85 [▲]	422.50±63.48 ^{▲▼}
LINC01915 上调对照组	10	244.56±44.08	320.55±53.34 [▲]	417.71±60.91 ^{▲▼}
LINC01915 下调对照组	10	238.84±39.95	310.17±49.16 [▲]	426.91±68.74 ^{▲▼}
LINC01915 上调组	10	261.13±45.22	308.84±52.36 [▲]	372.28±55.37 ^{*#▲▼}
LINC01915 下调组	10	255.04±40.83	326.93±55.27 [▲]	498.52±78.09 ^{*&▲▼}
miR-92a 上调对照组	11	245.49±42.29	324.45±58.40 [▲]	409.14±71.26 ^{▲▼}
miR-92a 下调对照组	10	251.18±46.78	316.67±46.62 [▲]	416.69±65.83 ^{▲▼}
miR-92a 上调组	10	262.26±44.31	330.04±49.11 [▲]	487.85±75.59 ^{*△▲▼}
miR-92a 下调组	10	237.70±42.62	301.15±50.39 [▲]	360.26±58.92 ^{*▼▲▼}
F		0.912	1.135	12.262
P		0.406	0.289	<0.001

组别	n	第 12 天	第 15 天	F	P
空白对照组	10	535.56±77.96 ^{▲▼■}	565.59±94.27 ^{▲▼◆}	38.501	<0.001
LINC01915 上调对照组	10	547.41±84.11 ^{▲▼■}	584.41±91.91 ^{▲▼◆}	43.659	<0.001
LINC01915 下调对照组	10	530.22±80.38 ^{▲▼■}	573.32±87.80 ^{▲▼◆}	43.927	<0.001
LINC01915 上调组	10	466.15±72.06 ^{*#▲▼■}	512.2±84.24 ^{*#▲▼◆}	27.355	<0.001
LINC01915 下调组	10	609.14±93.35 ^{*&▲▼■}	688.22±102.29 ^{*&▲▼◆}	55.969	<0.001
miR-92a 上调对照组	11	544.18±84.61 ^{▲▼■}	577.29±91.37 ^{▲▼◆}	38.716	<0.001
miR-92a 下调对照组	10	539.96±87.80 ^{▲▼■}	564.73±88.41 ^{▲▼◆}	38.450	<0.001
miR-92a 上调组	10	596.77±95.14 ^{*△▲▼■}	679.26±97.93 ^{*△▲▼◆}	53.477	<0.001
miR-92a 下调组	10	480.23±73.85 ^{*▼▲▼■}	509.43±80.22 ^{*▼▲▼◆}	34.001	<0.001
F		14.484	16.670		
P		<0.001	<0.001		

注:与同组内第 3 天相比,[▲] $P<0.05$;与同组内第 6 天相比,[▼] $P<0.05$;与同组内第 9 天相比,[■] $P<0.05$;与同组内第 12 天相比,[◆] $P<0.05$;
与空白对照组相比,^{*} $P<0.05$;与 LINC01915 上调对照组相比,[#] $P<0.05$;与 LINC01915 下调对照组相比,[&] $P<0.05$;与 miR-92a 上调对照组相比,[△] $P<0.05$;与 miR-92a 下调对照组相比,[▽] $P<0.05$ 。



注:与空白对照组相比,^{*} $P < 0.05$;与 LINC01915 上调对照组相比,[#] $P < 0.05$;与 LINC01915 下调对照组相比,[&] $P < 0.05$;与 miR-92a 上调对照组相比,[△] $P < 0.05$;与 miR-92a 下调对照组相比,[▽] $P < 0.05$ 。

图 1 结直肠癌裸鼠肿瘤生长曲线



注:1 为白色对照组;2 为 LINC01915 上调对照组;3 为 LINC01915 下调对照组;4 为 LINC01915 上调组;5 为 LINC01915 下调组;6 为 miR-92a 上调对照组;7 为 miR-92a 下调对照组;8 为 miR-92a 上调组;9 为 miR-92a 下调组。

图 2 转染第 15 天时各组结直肠癌裸鼠肿瘤大小比较

2.3 结直肠癌裸鼠肿瘤组织病理学改变 空白对照组、LINC01915 上调对照组、LINC01915 下调对照

组、miR-92a 上调对照组、miR-92a 下调对照组结直肠癌裸鼠肿瘤组织腺体排列紊乱,可见少量杯状细胞,并伴随炎症细胞浸润;LINC01915 上调组和 miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织腺体排列整齐,结构更加完整,可见少量杯状细胞及炎症细胞浸润;LINC01915 下调组和 miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织腺体排列较空白对照组及相应的 LINC01915 下调对照组或 miR-92a 上调对照组更加紊乱,杯状细胞几乎消失,可见大量炎症细胞浸润。见图 3。

2.4 各组裸鼠肿瘤组织 LINC01915、miR-92a 表达及 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 mRNA 表达比较 与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比,LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 LINC01915 及 KLF4、Caspase-3 mRNA 表达均升高,miR-92a 及 Survivin、Ki-67 mRNA 表达均降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比,LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 LINC01915 及 KLF4、Caspase-3 mRNA 表达均降低,miR-92a 及 Survivin、Ki-67 mRNA 表达均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 上调对照组相比,miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 表达均降低,miR-92a 及 Survivin、Ki-67 mRNA 表达均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比,miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 表达均升高,miR-92a 及 Survivin、Ki-67 mRNA 表达均降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

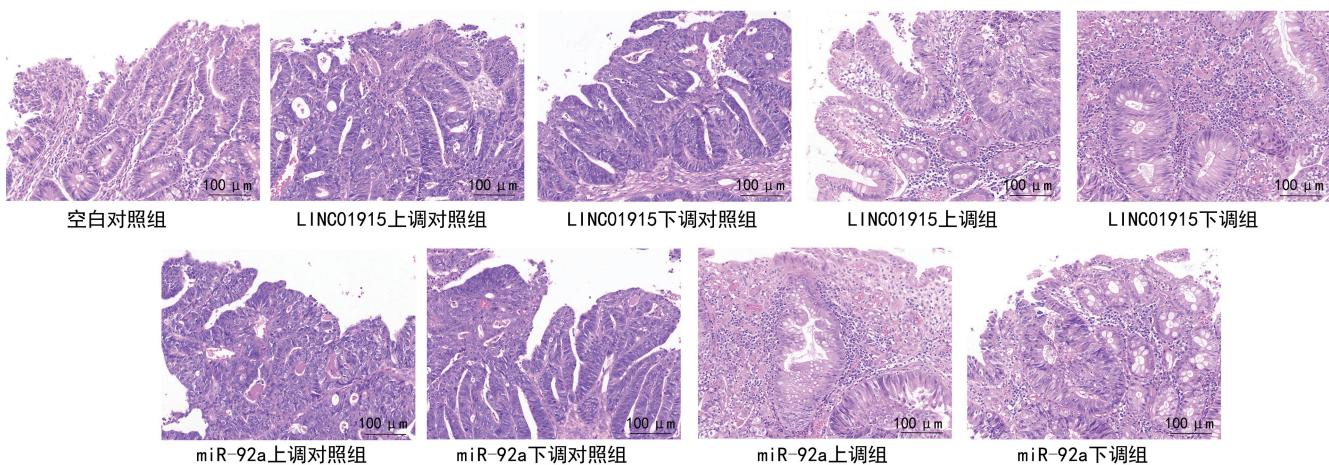


图 3 各组结直肠癌裸鼠肿瘤组织病理学改变(HE 染色,200 \times)

表 3 各组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 LINC01915、miR-92a 表达及 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LINC01915	miR-92a	KLF4 mRNA	Survivin mRNA	Ki-67 mRNA	Caspase-3 mRNA
空白对照组	10	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
LINC01915 上调对照组	10	1.04±0.20	1.02±0.19	0.99±0.17	0.95±0.16	0.97±0.18	1.00±0.19
LINC01915 下调对照组	10	1.01±0.18	0.96±0.15	0.98±0.18	1.03±0.20	1.06±0.21	1.04±0.18
LINC01915 上调组	10	1.89±0.35 ^{*#}	0.73±0.12 ^{*#}	1.44±0.26 ^{*#}	0.80±0.12 ^{*#}	0.67±0.11 ^{*#}	1.35±0.22 ^{*#}

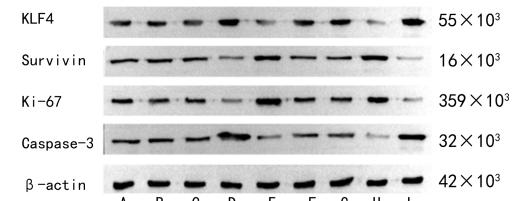
续表 3 各组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 LINC01915、miR-92a 表达及 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LINC01915	miR-92a	KLF4 mRNA	Survivin mRNA	Ki-67 mRNA	Caspase-3 mRNA
LINC01915 下调组	10	0.66±0.10 ^{* &}	1.52±0.27 ^{* &}	0.61±0.10 ^{* &}	1.39±0.22 ^{* &}	1.33±0.24 ^{* &}	0.77±0.13 ^{* &}
miR-92a 上调对照组	11	0.98±0.16	1.05±0.20	1.02±0.20	0.93±0.15	1.06±0.20	0.97±0.15
LINC01915 下调对照组	10	0.99±0.18	0.95±0.16	1.03±0.19	0.96±0.17	1.01±0.18	1.04±0.20
miR-92a 上调组	10	1.04±0.19 ^{* △}	1.89±0.26 ^{* △}	0.71±0.13 ^{* △}	1.40±0.22 ^{* △}	1.53±0.27 ^{* △}	0.65±0.11 ^{* △}
miR-92a 下调组	10	0.93±0.16 ^{* ▽}	0.82±0.14 ^{* ▽}	1.33±0.25 ^{* ▽}	0.59±0.10 ^{* ▽}	0.68±0.12 ^{* ▽}	1.74±0.28 ^{* ▽}
<i>F</i>		10.311	15.516	17.079	11.226	20.021	14.483
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白对照组相比,^{*} $P<0.05$;与 LINC01915 上调对照组相比,[#] $P<0.05$;与 LINC01915 下调对照组相比,[&] $P<0.05$;与 miR-92a 上调对照组相比,[△] $P<0.05$;与 miR-92a 下调对照组相比,[▽] $P<0.05$ 。

2.5 各组裸鼠肿瘤组织 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 蛋白表达比较 与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比,LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 蛋白表达均升高,Survivin、Ki-67 蛋白表达均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比,LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 蛋白表达均降低,Survivin、Ki-67 蛋白表达均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与空白对照组和 miR-92a 上调对照组相比,miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 蛋白表达均降低,Survivin、Ki-67 蛋白表达均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比,miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织

KLF4、Caspase-3 蛋白表达均升高,Survivin、Ki-67 蛋白表达均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 4 和表 4。



注: A 为空白对照组; B 为 LINC01915 上调对照组; C 为 LINC01915 下调对照组; D 为 LINC01915 上调组; E 为 LINC01915 下调组; F 为 miR-92a 上调对照组; G 为 miR-92a 下调对照组; H 为 miR-92a 上调组; I 为 miR-92a 下调组。

图 4 各组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 蛋白表达 WB 图

表 4 各组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Survivin、Ki-67、Caspase-3 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	KLF4 蛋白	Survivin 蛋白	Ki-67 蛋白	Caspase-3 蛋白
空白对照组	10	0.62±0.11	0.88±0.14	0.53±0.10	1.07±0.20
LINC01915 上调对照组	10	0.58±0.10	0.91±0.16	0.50±0.08	1.02±0.17
LINC01915 下调对照组	10	0.65±0.12	0.87±0.17	0.47±0.08	0.99±0.15
LINC01915 上调组	10	0.89±0.15 ^{* #}	0.54±0.09 ^{* #}	0.33±0.05 ^{* #}	1.52±0.26 ^{* #}
LINC01915 下调组	10	0.44±0.08 ^{* &}	1.26±0.21 ^{* &}	1.02±0.17 ^{* &}	0.68±0.11 ^{* &}
miR-92a 上调对照组	11	0.56±0.08	0.85±0.13	0.57±0.11	1.03±0.16
miR-92a 下调对照组	10	0.64±0.09	0.84±0.13	0.51±0.09	1.04±0.19
miR-92a 上调组	10	0.33±0.06 ^{* △}	1.57±0.29 ^{* △}	0.90±0.16 ^{* △}	0.48±0.07 ^{* △}
miR-92a 下调组	10	1.02±0.17 ^{* ▽}	0.49±0.08 ^{* ▽}	0.23±0.03 ^{* ▽}	1.35±0.24 ^{* ▽}
<i>F</i>		13.379	19.145	22.042	14.480
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白对照组相比,^{*} $P<0.05$;与 LINC01915 上调对照组相比,[#] $P<0.05$;与 LINC01915 下调对照组相比,[&] $P<0.05$;与 miR-92a 上调对照组相比,[△] $P<0.05$;与 miR-92a 下调对照组相比,[▽] $P<0.05$ 。

2.6 LINC01915 和 miR-92a 的靶向关系 TargetScan 分析结果显示,miR-92a 序列的 3'-UTR 区域有 LINC01915 结合位点,见图 5。将 LINC01915 可能的结合位点克隆到荧光素酶报告基因载体进行验证。荧光素酶报告基因实验结果显示,LINC01915 WT+miR-NC 组相对荧光强度为 1.05±0.20,

LINC01915 MUT+miR-NC 组相对荧光强度为 1.02±0.19,LINC01915 WT+miR-92a mimic 组相对荧光强度为 0.58±0.11,LINC01915 MUT+miR-92a mimic 组相对荧光强度为 0.99±0.18。与 LINC01915 WT+miR-NC 组比较,LINC01915 WT+miR-92a mimic 组的相对荧光强度降低($P<0.05$)。

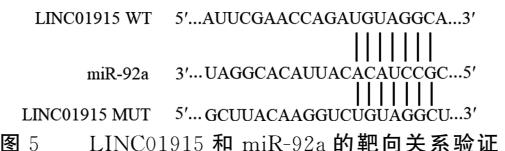


图 5 LINC01915 和 miR-92a 的靶向关系验证

3 讨 论

结直肠癌的发病机制复杂多样,具体机制尚不完全清楚,并由环境、饮食结构、生活习惯、家族性和遗传性等多种危险因素引起^[8]。虽然目前临幊上可通过手术、化疗延长患者生存时间,但手术治疗对肿瘤病理分期有限制,化疗可导致耐药性和不良反应,患者整体生存率仍不容乐观,因此深入研究结直肠癌治疗的其他机制十分必要。

本研究结果显示:下调 LINC01915 或上调 miR-92a 会使结直肠癌裸鼠肿瘤体积增大,肿瘤组织腺体排列紊乱,炎症细胞浸润加重,杯状细胞减少;上调 LINC01915 和下调 miR-92a 会使结直肠癌裸鼠肿瘤体积缩小,肿瘤组织腺体排列更加整齐,结构更加完整,杯状细胞数量增加,改善炎症细胞浸润。以上结果提示 LINC01915 在结直肠癌肿瘤的生长中起抑制作用,miR-92a 在结直肠癌肿瘤的生长中起促进作用。lncRNA 可作为“海绵”miRNA 通过竞争内源性 RNA 的方式阻断 miRNA 与下游靶基因的结合,进而影响下游靶基因表达量的变化,参与细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡,染色质修饰,转录激活,免疫应答等多种生物学进程,在多种恶性肿瘤的进展过程中发挥重要作用^[9]。近年来研究证实,lncRNA 的异常表达在多种恶性肿瘤的生长过程中发挥促进或抑制作用,lncRNA 已被认为是恶性肿瘤诊断、治疗的新分子标志物^[10-12]。李青等^[13]研究发现,LINC00460 高表达于结直肠癌组织中,并与患者病情进展程度密切相关,沉默或过表达 LINC00460 可减弱或增强结直肠癌细胞增殖、侵袭及迁移能力。LINC01915 作为 lncRNA 家族成员之一,可通过形成多种转录本参与调节重要的细胞功能,靶基因预测结果显示,LINC01915 可能是通过靶向 miR-92a 在基因调控中发挥作用的。XIAO 等^[14]研究发现,上调 miR-92a 表达能够促进裸鼠骨肉瘤细胞的增殖活性和细胞周期进程,并抑制细胞凋亡。SHI 等^[15]报道显示,与健康个体相比,结直肠癌患者的血清 miR-92a-1 水平显著上调,且其水平与侵袭性临床表现有关,提示 miR-92a-1 可能是结直肠癌的潜在诊断生物标志物。本研究结果与上述研究一致,表明 miR-92a 具有致癌作用,干扰其表达可抑制结直肠癌的生长,但目前国内有关 LINC01915 在结直肠癌中调控机制的研究少见报道。

本研究中,与空白对照组、LINC01915 上调对照组或 miR-92a 下调对照组相比,LINC01915 上调组或 miR-92a 下调组裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均升高,miR-92a 表达降低,Survivin、

Ki-67 mRNA 及蛋白均表达降低;与空白对照组、LINC01915 下调对照组或 miR-92a 上调对照组相比,LINC01915 下调组和 miR-92a 上调组裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均降低,miR-92a 表达升高,Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均升高,提示 LINC01915 有促进 KLF4、Caspase-3 表达和抑制 Survivin、Ki-67 表达的作用,而 miR-92a 可抑制 KLF4、Caspase-3 表达和促进 Survivin、Ki-67 的表达。KLF4 作为一种锌指蛋白转录因子,存在于机体多种组织和细胞内,并在多种肿瘤组织中表达下调^[16]。Survivin 是一种抗凋亡基因,可以抑制肿瘤细胞凋亡,导致其异常增殖,高表达于多种肿瘤中^[17]。已有研究发现,Survivin 在结直肠癌组织中呈高表达,并与结直肠癌细胞的生长、增殖、凋亡相关^[18]。Ki-67 水平可反映细胞增殖活性,在多种恶性肿瘤中过度表达^[19],而 Caspase-3 是细胞凋亡的中心环节^[20]。本研究荧光素酶活性实验结果显示,miR-92a mimic 可显著抑制 LINC01915 WT 质粒转染细胞荧光素酶活性,但对 LINC01915 MUT 质粒转染细胞无影响,提示 LINC01915 可直接靶向调控 miR-92a。因此合理推测 LINC01915 可能是通过靶向抑制 miR-92a 的表达,促进 KLF4、Caspase-3 表达,抑制 Survivin、Ki-67 表达从而实现抑制结直肠癌裸鼠肿瘤生长的作用。YU 等^[21]发现,miR-92a-3p 可通过抑制 KLF3 表达从而起到肿瘤启动子的作用,促进乳腺癌的发生、发展。JI 等^[22]研究显示,miR-92a 在先天性巨结肠组织中表达升高,miR-92a 可通过靶向调控 KLF4 的表达抑制细胞增殖和迁移,促进细胞凋亡。本研究结果与 YU 等^[21]的报道一致,与 JI 等^[22]的研究结果存在差异,可能是因为 miR-92a 在不同疾病环境和不同通路中发挥不同功能。既往 ZHOU 等^[6]研究显示,LINC01915 可通过 miR-92a-3p/KLF4/人胆固醇-25-羟化酶(CH25H)轴抑制正常成纤维细胞对结直肠癌衍生细胞外囊泡的摄取,从而阻止其血管生成和转化为癌症相关成纤维细胞,阻止肿瘤生长。本研究在此基础上构建了裸鼠皮下成瘤模型,从体内水平研究了 LINC01915、miR-92a 对结直肠癌裸鼠肿瘤生长的影响,并证实了二者的靶向关系,为结直肠癌的治疗提供了潜在靶点。

综上所述,LINC01915 可能是通过靶向调控 miR-92a 表达,促进 KLF4、Caspase-3 表达,抑制 Survivin、Ki-67 表达,从而抑制结直肠癌裸鼠肿瘤的生长。本研究初步阐释了 LINC01915 对结直肠癌裸鼠肿瘤生长的作用与分子机制,为结直肠癌的早期诊断及分子靶向治疗提供了新的潜在靶点,对于提高结直肠癌患者生存率和生存质量都具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] SINHA R. Colorectal cancer [J]. Clin Radiol, 2021, 76

- (12):870.
- [2] SHAUKAT A, KAHI C J, BURKE C A, et al. ACG clinical guidelines: colorectal cancer screening 2021[J]. Am J Gastroenterol, 2021, 116(3):458-479.
- [3] TAN Y T, LIN J F, LI T, et al. LncRNA-mediated post-translational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer[J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(2):109-120.
- [4] LIN X T, ZHUANG S W, CHEN X, et al. LncRNA IT-GB8-AS1 functions as a ceRNA to promote colorectal cancer growth and migration through integrin-mediated focal adhesion signaling[J]. Mol Ther, 2022, 30(2):688-702.
- [5] CHEN G Q, LIAO Z M, LIU J, et al. LncRNA FTX promotes colorectal cancer cells migration and invasion by miRNA-590-5p/RBPJ axis[J]. Biochem Genet, 2021, 59(2):560-573.
- [6] ZHOU M, WANG S, LIU D, et al. LINC01915 facilitates the conversion of normal fibroblasts into cancer-associated fibroblasts induced by colorectal cancer-derived extracellular vesicles through the miR-92a-3p/KLF4/CH25H axis[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2021, 7(11):5255-5268.
- [7] 周金池, 窦维佳, 程浩, 等. 结直肠癌中 LINC01915 生物学功能的预测及其临床意义[J]. 山西医科大学学报, 2023, 54(3):292-301.
- [8] BAIDOUN F, ELSHIWY K, ELKERAIE Y, et al. Colorectal cancer epidemiology: recent trends and impact on outcomes[J]. Curr Drug Targets, 2021, 22(9):998-1009.
- [9] CHEN S L, CHEN X, LUO Q, et al. Retinoblastoma cell-derived exosomes promote angiogenesis of human vesicle endothelial cells through microRNA-92a-3p [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(7):695.
- [10] LUO Y H, ZHENG S T, WU Q Y, et al. Long noncoding RNA (lncRNA) EIF3J-DT induces chemoresistance of gastric cancer via autophagy activation[J]. Autophagy, 2021, 17(12):4083-4101.
- [11] ZHAO Y L, YUAN D L, ZHU D D, et al. LncRNA MSC-AS1 inhibits the ovarian cancer progression by targeting miR-425-5p[J]. J Ovarian Res, 2021, 14(1):109.
- [12] HERMAN A B, TSITSIPATIS D, GOROSPE M. Integrated lncRNA function upon genomic and epigenomic regulation[J]. Mol Cell, 2022, 82(12):2252-2266.
- [13] 李青, 崔发财, 杨红杰, 等. lncRNA LINC00460 在结直肠癌组织中的表达及其对细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31(18):3405-3411.
- [14] XIAO J, YU W F, HU K Z, et al. MiR-92a promotes tumor growth of osteosarcoma by targeting PTEN/AKT signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2017, 37(4):2513-2521.
- [15] SHI Y, LIU Z B. Serum miR-92a-1 is a novel diagnostic biomarker for colorectal cancer [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(15):8363-8367.
- [16] HE Z H, HE J, XIE K P. KLF4 transcription factor in tumorigenesis[J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1):118.
- [17] CAO Q, MUSHAJIANG M N, TANG C Q, et al. Role of hypoxia-inducible factor-1 α and survivin in breast cancer recurrence and prognosis[J]. Heliyon, 2023, 9(3):e14132.
- [18] KOVÁČOVÁ Z, HODOROVÁ I. Carbonic anhydrase IX and survivin in colorectal adenocarcinoma cells: slovakian population study[J]. Biology (Basel), 2021, 10(9):872.
- [19] TARANTINO P, BURSTEIN H J, LIN N U, et al. Should Ki-67 be adopted to select breast cancer patients for treatment with adjuvant abemaciclib? [J]. Ann Oncol, 2022, 33(3):234-238.
- [20] ASADI M, TAGHIZADEH S, KAVIANI E, et al. Caspase-3; structure, function, and biotechnological aspects[J]. Biotechnol Appl Biochem, 2022, 69(4):1633-1645.
- [21] YU Z H, CHEN Z H, ZHOU G L, et al. MiR-92a-3p promotes breast cancer proliferation by regulating the KLF2/BIRC5 axis[J]. Thorac Cancer, 2022, 13(21):2992-3000.
- [22] JI C Y, YUAN M X, CHEN L J, et al. MiR-92a represses the viability and migration of nerve cells in Hirschsprung's disease by regulating the KLF4/PI3K/AKT pathway[J]. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2022, 82(3):336-346.

(收稿日期:2024-01-29 修回日期:2024-11-06)

(上接第 156 页)

- [22] VASIKARAN S, COOPER C, EASTELL R, et al. International osteoporosis foundation and international federation of clinical chemistry and laboratory medicine position on bone marker standards in osteoporosis[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(8):1271-1274.
- [23] 谭锐, 孟倩, 张曼. 骨质疏松性骨折与骨代谢标志物相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(10):1654-1658.

- [24] 王兵, 杨勋能. 2 型糖尿病合并骨质疏松患者 DEXA 骨密度测量结果与血清细胞因子、胰岛素抵抗的关系[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(2):277-280.
- [25] 虎静. 新诊断男性 2 型糖尿病患者血糖波动与骨质疏松症的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2021, 24(9):1057-1060.

(收稿日期:2024-04-08 修回日期:2024-11-12)