

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.06.004  
文章编号: 1005-8982(2020)06-0018-06

临床研究·论著

## MicroRNA-145-3p 在先天性巨结肠中的作用及机制研究\*

吴凯, 陈钦明, 王健俊, 何继贤, 余岱岳, 路羿, 杨六成

(南方医科大学珠江医院 小儿外科, 广东 广州 510282)

**摘要: 目的** 探讨 microRNA-145-3p (miR-145-3p) 在先天性巨结肠 (HD) 中的表达及其发挥作用的可能分子机制。**方法** 选取 2013 年 2 月—2018 年 6 月南方医科大学珠江医院 40 例 HD 病变段肠管 (HD 病变肠管组) 及 40 例正常肠管 (正常肠管组) 组织标本。采用 qRT-PCR 检测组织标本 miR-145-3p 相对表达量。过表达细胞 miR-145-3p 后, CCK-8 法检测细胞的增殖情况; Transwell 检测细胞迁移情况; 双荧光素酶报告基因实验、Western blotting 及免疫组织化学染色明确 miR-145-3p 对靶基因 *GDNF* 的影响。**结果** HD 病变肠管组 miR-145-3p 相对表达量高于正常肠管组 ( $P < 0.05$ )。过表达细胞 miR-145-3p 后, 细胞增殖能力下降 ( $P < 0.05$ ), 细胞迁移能力降低 ( $P < 0.05$ ); 靶基因预测软件筛选出 *GDNF* 是 miR-145-3p 的潜在靶点; 双荧光素酶报告基因实验证实, miR-145-3p 可以与 *GDNF* 的 3'-UTR 结合 ( $P < 0.05$ ); Western blotting 检测证实, miR-145-3p 可使 SH-SY5Y 细胞的 *GDNF* 蛋白相对表达量降低 ( $P < 0.05$ ); 而免疫组织化学染色证实, *GDNF* 在 miR-145-3p 高表达的 HD 组织标本中存在高频低表达。**结论** miR-145-3p 可以抑制神经母细胞的增殖及迁移, 是一个重要的 HD 分子标志物, 其作用机制可能与抑制 *GDNF* 蛋白表达有关。

**关键词:** Hirschsprung 病; 细胞增殖; 细胞迁移分析

**中图分类号:** R726

**文献标识码:** A

## Role and mechanism of microRNA-145-3p in Hirschsprung disease\*

Kai Wu, Qin-ming Chen, Jian-jun Wang, Ji-xian He, Dai-yue Yu, Yi Lu, Liu-cheng Yang

(Department of Pediatric Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between miR-145-3p and Hirschsprung disease (HD), and to explore the possible molecular mechanism. **Methods** In this study, a total of 80 human colon tissues including 40 HD stenotic colon segments and 40 matched normal colon segments who undertook operative treatment were collected from Zhujiang Hospital of Southern medical University, and qRT-PCR was used to detect the relative expression of miR-145-3p in colon tissues. Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay and Transwell assay were employed to investigate the biological function of miR-145-3p in human SH-SY5Y cell lines. Bioinformatic analysis, dual-luciferase reporter assay, Western blot and immunohistochemistry were performed to evaluate the target for miR-145-3p. **Results** We found that ganglion cell numbers were reduced while miR-145-3p was upregulated in HD tissues compared to that in normal colon tissues ( $P < 0.05$ ). MiR-145-3p overexpression inhibited cell proliferation ( $P < 0.05$ ) and migration ( $P < 0.05$ ). Bioinformatic software data revealed that miR-145-3p could directly target the

收稿日期: 2019-09-20

\* 基金项目: 广东省自然科学基金 (No: 2017A030310113); 广东省科技发展专项资金项目 (No: 2017A020215172); 广东省医学科研基金 (No: A2016014); 南方医科大学青年科技人员培育项目 (No: PY2016016)

[通信作者] 杨六成, E-mail: sdytc@aliyun.com; Tel: 18665000928

3'-UTR of GDNF. Dual-luciferase reporter assay confirmed that the 3'-UTR of GDNF was a direct target to miR-145-3p ( $P < 0.05$ ). Moreover, an increased level of miR-145-3p was inversely correlated with decreased levels of GDNF protein in cells ( $P < 0.05$ ) and tissues. **Conclusions** Our study demonstrates that aberrant expression of miR-145-3p might play a crucial role in the development of HD partly by regulating GDNF expression.

**Keywords:** Hirschsprung disease; cell proliferation; cell migration assays

先天性巨结肠 (hirschsprung disease, HD) 又称无神经节细胞症, 是儿童最常见的消化道畸形之一, 发病率为 0.02% ~ 0.05%, 并有逐年增加的趋势<sup>[1]</sup>。其发生的主要原因是远端肠管神经节细胞缺如, 目前其发病机制仍未完全阐明<sup>[2]</sup>。MicroRNA (miRNA) 被认为是后基因组时代最大的宝库, 其通过直接降解靶基因或者调节靶基因的翻译, 参与生命过程中一系列重要的病理生理过程, 包括细胞增殖、分化、迁移及凋亡等<sup>[3]</sup>。miRNA 在 HD 中同样具有重要作用, 如 miR-483-5p、miR-215 及 miR-206 等均被证实可通过影响细胞功能参与 HD 的发生、发展<sup>[4-7]</sup>。通过基因芯片及实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 发现, miR-145-3p 在 HD 病变段肠管高表达<sup>[8]</sup>。本研究将进一步明确 miR-145-3p 在 HD 中的具体作用, 探索其分子机制, 为其应用于 HD 的诊治提供实验依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

**1.1.1 组织标本** 选取 2013 年 2 月—2018 年 6 月南方医科大学珠江医院 40 例 HD 病变段肠管 (HD 病变肠管组) 及 40 例正常肠管 (正常肠管组) 组织标本。人神经母细胞细胞株 SH-SY5Y 由南方医科大学珠江医院麻醉科馈赠, 为中国科学院上海研究所细胞库提供。所有 HD 患儿行钡灌肠及病理检查明确诊断, 而正常肠管均经病理证实无异常。所有标本各收集 2 份, 获取后迅速置于液氮中冻存。本研究通过医院伦理委员会批准, 患儿家属知情同意。

**1.1.2 主要试剂** Trizol RNA 提取试剂盒购自美国 Invitrogen 公司, miRNeasy 微量抽提试剂盒购自德国 Qiagen 公司, miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒、miR-145-3p 引物及 miRcute miRNA 荧光定量检测试剂盒由北京天根生化科技有限公司提供, CCK-8 购自江苏碧云天生物技术公司, GDNF 一抗及羊抗鼠二抗购自美国 Abcam 公司, miR-145-3p mimics 及阴性对照由广州锐博生物技术有限公司提供, 转染用 Lipofectamine 2000<sup>TM</sup> 购自美国 Thermofisher 公司。见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度 /bp
U6	正向: 5' CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	94
	反向: 5' AACGCTTCACGAATTTGCGCT-3'	
miR-145-3p	正向: 5' CTCCTGGATTCTCGAAATACTGTT-3'	70
	反向: 5' GCGAGCACAGAATTAATACGAC-3'	

### 1.2 方法

**1.2.1 提取组织总 RNA** 将组织标本研磨成粉末, 按照说明书使用 Trizol Reagent 提取总 RNA, 并用 RNasey Mini Kit 进行纯化。纯化后采用紫外分光光度计鉴定 RNA 的纯度, 电泳检测 RNA 的完整性, 于 -80℃ 冰箱内保存。

**1.2.2 qRT-PCR** 采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 miRNA 检测, 严格按照说明书进行操作: ①取 2 μg 含有目的 miRNA 的总 RNA, 使用 miRcutemiRNA First-Strand cDNA Synthesis Kit 在 miRNA 3' 末端加多聚 Poly A 尾, 再使用 Oligo (dT) -Universal Tag 通用逆转录引物进行逆转录反应, 最终合成 miRNA 对应的 cDNA 第一链, 反应条件: 37℃ 预变性 60 min, 95℃ 变性 5 min, 60℃ 退火 34 s, 35℃ 延伸 4 min。②取 2 μl miRNA 第一链 cDNA 液, 采用 miRNA qPCR Detection Kit (SYBR Green) 进行 miRNA 荧光定量检测, PCR 反应条件: 94℃ 预变性 2 min, 94℃ 变性 20 s, 60℃ 退火 34 s, 35℃ 延伸 4 min, 共 45 个循环。以 U6 为内参, 检测 miR-145-3p 的相对表达量。

**1.2.3 细胞培养及转染** SH-SY5Y 用含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养基于 37℃、5% 二氧化碳 CO<sub>2</sub> 条件下培养, 每 2 ~ 3 天更换 1 次培养基, 待细胞融合度达 80% ~ 90% 时进行传代培养。细胞转染前 1 天, 使用 6 孔板接种 SH-SY5Y 细胞, 待细胞密度达 70% ~ 80%, 使用 Lipofectamine 2000<sup>TM</sup> 进行细胞转染, 严格按照试剂盒说明书进行操作。实验分 miR-145-3p 组和阴性对照组, 阴性对照组选用 miRNA 模拟物 (无义 miRNA), miR-145-3p 组选用 miR-145-3p mimics。转染后 6 h 去除培养基, 加入含 10% 胎牛

血清的 DMEM 培养基, 37℃、5%CO<sub>2</sub> 正常培养用于后续实验。

**1.2.4 CCK-8 法检测细胞增殖** 取转染后的 SH-SY5Y 细胞, 0.25% 胰酶消化细胞后进行离心, 将细胞按  $5 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板, 作用不同时间 (0、24、48、72 及 96 h) 后每孔加入 CCK-8 10  $\mu$ l, 2 h 后使用酶标仪记录 450 nm 各孔光密度 (OD) 值, 绘制生长曲线。

**1.2.5 Transwell 检测细胞迁移** 取转染后细胞, 胰酶消化后进行离心, 无血清培养基进行细胞悬浮、计数, 将细胞按  $1 \times 10^4$  个/孔种植于专用于细胞迁移实验的 24 孔板上, 上层小室使用 2% FBS 完全培养基 100  $\mu$ l, 下层小室加入 600  $\mu$ l 含 10% FBS 的培养基, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育 72 h, 取出小室, 吸弃上室培养液, 用棉签擦去上层细胞, PBS 洗涤, 4% 多聚甲醛固定 15 min, 0.5% 结晶紫染色 30 min, 清水冲洗后进行细胞计数。

**1.2.6 双荧光素酶报告基因实验** 为寻找 miR-145-3p 的靶点, 采用 miRBase 及 Targetscan 预测发现 GDNF 基因的 3' -UTR 存在 miR-145-3p 的潜在结合位点。构建野生型 (与 miR-145-3p 完全互补) 及突变型 (与 miR-145-3p 不完全互补) GDNF 质粒 (见图 1), 与 miR-145-3p 模拟物共转染细胞。取对数生长期细胞, 接种至 96 孔培养板, 在细胞生长密度至 80% 时进行转染, 48 h 吸去培养液, 加入裂解液裂解 15 min, 12 000 r/min 离心 15 min, 将 5  $\mu$ l 裂解产物加入 100  $\mu$ l 反应底物中, 检测荧光酶活性。取出后再加入 100  $\mu$ l Stop&Glo<sup>®</sup> Reagent, 迅速放入检测仪内读取数值, 根据 Firefly/Renilla 比值计算相对表达量。

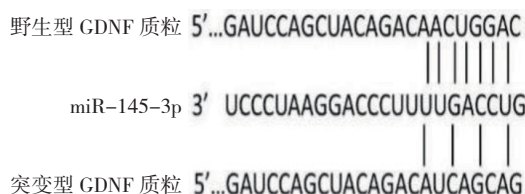


图 1 构建的突变型及野生型 GDNF 质粒示意图

**1.2.7 Western blotting** 细胞转染后加入蛋白质抽提试剂, 细胞裂解后冰上吹打 15 min, 收集细胞液加入 EP 管中, 4℃、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清分装后于 -80℃ 冰箱内保存。采用 BCA 法进行蛋白定量, 取等量蛋白加入 5 $\times$  蛋白上样缓冲液, 加入上样孔后进行电泳, 110 V 恒定电压下电泳至溴酚蓝刚出胶底部。48 V 电转 50 min 将蛋白转移至 PVDF 膜上, TBS

漂洗后加入封闭液振荡 4 h, 封闭后加入稀释好的一抗, 4℃过夜, TBS 漂洗后加入 HRP 标记的二抗, 加入电化学发光液、显影及定影, 并用 Image J 软件将图片上每个特异条带的灰度数字化。

**1.2.8 免疫组织化学染色** 取等量组织标本在 60℃ 下烤片 2 h, 常规脱蜡水化, 蒸馏水冲洗, 采用微波修复法行抗原修复。过氧化氢及山羊抗血清封闭, 加入 1 : 1 000 GDNF 一抗 4℃孵育过夜, 阴性对照采用 0.1 mmol/L PBS 替代一抗, PBS 冲洗后加入二抗, 37℃孵育 1 h。PBS 冲洗 3 次, DAB 显色 10 min, 加入苏木精复染, 二甲苯透明, 封片后于显微镜下观察摄片。

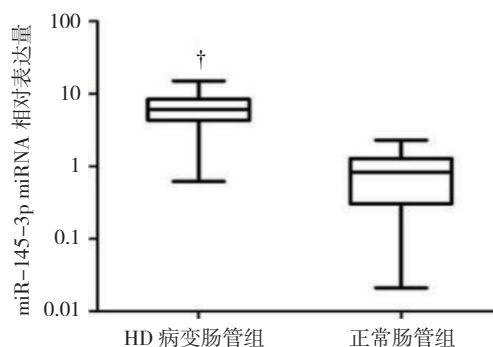
### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 及 GraphPad Prism5.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用 *t* 检验、重复测量设计的方差分析或秩和检验; 计数资料以构成比或率 (%) 表示, 比较用  $\chi^2$  检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HD 病变肠管组与正常肠管组 miR-145-3p mRNA 的表达

HD 病变肠管组和正常肠管组 miR-145-3p mRNA 相对表达量分别为 ( $6.506 \pm 3.179$ ) 和 ( $0.925 \pm 0.665$ ), 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $t=10.680, P=0.000$ ); HD 病变肠管组高于正常肠管组。见图 2。



† 与正常肠管组比较, *P* < 0.05。

图 2 HD 病变肠管组与正常肠管组 miR-145-3p mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

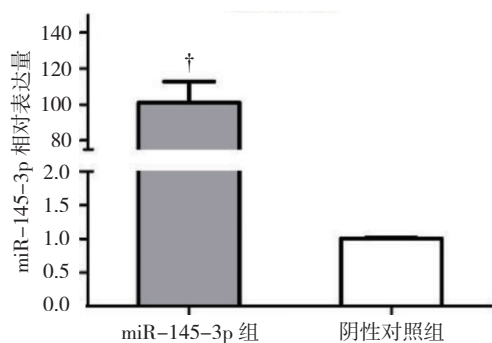
### 2.2 转染 miR-145-3p 模拟物对细胞增殖及迁移能力的影响

miR-145-3p 组与阴性对照组 miR-145-3p 相对

表达量比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); miR-145-3p 组高于阴性对照组。见表 2 和图 3。

表 2 两组 miR-145-3p 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	miR-145-3p
miR-145-3p 组	101.200 ± 11.610
阴性对照组	1.000 ± 0.016
$t$ 值	-2.611
$P$ 值	0.008



† 与阴性对照组比较,  $P < 0.05$ 。

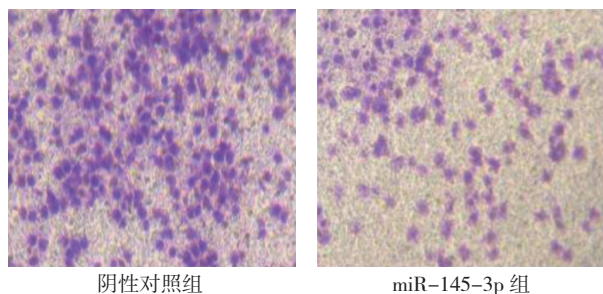
图 3 miR-145-3p 组与阴性对照组 miR-145-3p 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

表 3 两组不同时间点 OD 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
miR-145-3p 组	0.283 ± 0.023	0.325 ± 0.035	0.382 ± 0.048	0.432 ± 0.038	0.482 ± 0.042
阴性对照组	0.281 ± 0.018	0.346 ± 0.028	0.442 ± 0.038	0.532 ± 0.042	0.632 ± 0.049

表 4 两组迁移细胞数比较 (个,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	迁移细胞数
miR-145-3p 组	16.00 ± 2.280
阴性对照组	48.20 ± 6.344
$t$ 值	4.722
$P$ 值	0.009



阴性对照组

miR-145-3p 组

图 4 转染后对 SH-SY5Y 细胞迁移的影响 (结晶紫染色 × 40)

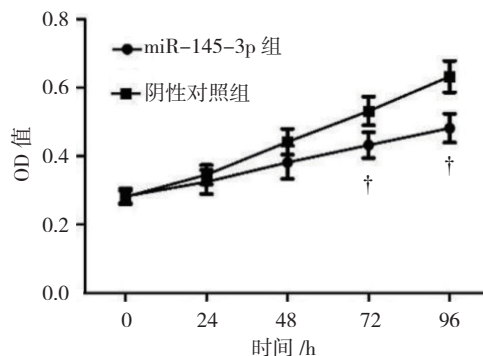
miR-145-3p 组与阴性对照组转染后 0、24、48、72 及 96 h OD 值比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点 OD 值比较, 差异有统计学意义 ( $F = 53.290, P = 0.000$ ); ②两组 OD 值比较, 差异有统计学意义 ( $F = 23.710, P = 0.000$ ), miR-145-3p 组较阴性对照组低, 细胞增殖能力下降; ③两组 OD 值变化趋势比较, 差异有统计学意义 ( $F = 4.078, P = 0.014$ )。两组迁移细胞数比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), miR-145-3p 组迁移到下室的细胞数减少, 细胞迁移能力降低。见表 3、4 和图 4 ~ 6。

### 2.3 miR-145-3p 与靶基因 GDNF 的作用关系

野生型 GDNF 与突变型 GDNF 转染细胞 miR-145-3p 相对表达量比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 野生型 GDNF 质粒可降低细胞 miR-145-3p 的表达。见表 5 和图 7。

### 2.4 miR-145-3p 下调细胞 GDNF 的表达

miR-145-3p 组和阴性对照组蛋白相对表达量分别为 ( $0.292 \pm 0.037$ ) 和 ( $0.466 \pm 0.035$ ), 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $t = 7.876, P = 0.016$ )。上调 miR-145-3p 表达后, 细胞 GDNF 蛋白表达降低。见图 8。

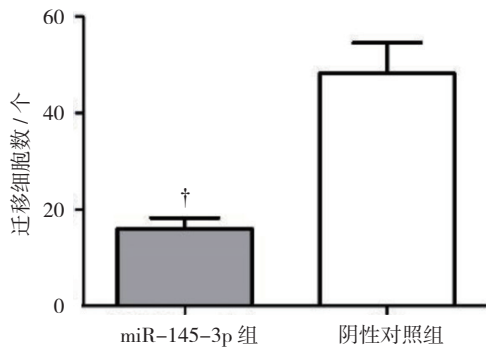


† 与阴性对照组比较,  $P < 0.05$ 。

图 5 两组 OD 值变化趋势 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 2.5 GDNF 在 HD 病变段肠管中低表达

免疫组织化学法结果显示, HD 病变段肠管中仅有 5 例 GDNF 呈弱阳性表达 (12.5%), 另外 35 例患者为阴性 (87.5%); 而 40 例正常肠管 GDNF 表达均呈强阳性 (100.0%)。两组 GDNF 蛋白阳性表达率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 80.000, P = 0.000$ )。见图 9。



† 与阴性对照组比较,  $P < 0.05$ 。

图 6 两组迁移细胞数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

表 5 两组野生型及突变型 *GDNF* 质粒转染后细胞 miR-145-3p mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	野生型 <i>GDNF</i> 质粒	突变型 <i>GDNF</i> 质粒	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
miR-145-3p 组	1.000 ± 0.023	0.402 ± 0.073	11.600	0.000
阴性对照组	1.023 ± 0.084	1.008 ± 0.029	0.797	10.826

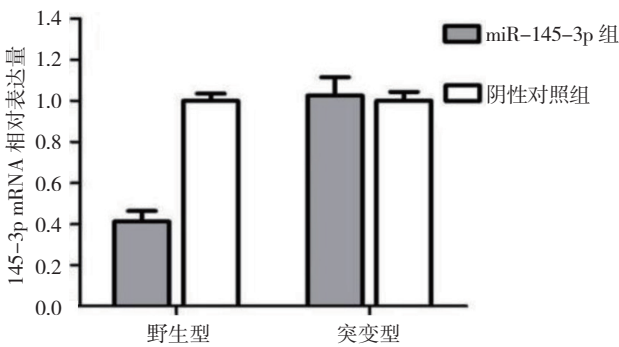


图 7 两组野生型及突变型 *GDNF* 质粒转染后细胞 miR-145-3p mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

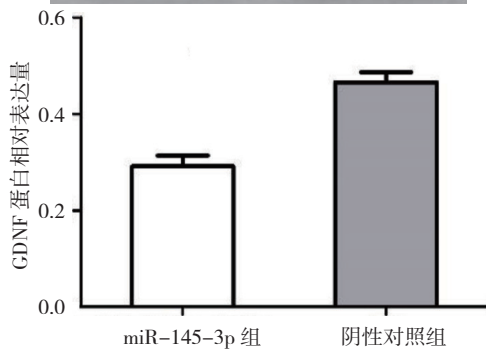
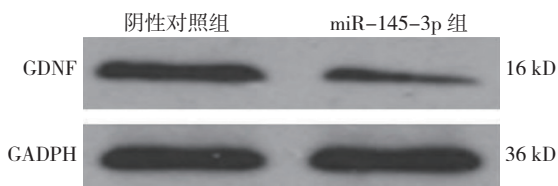
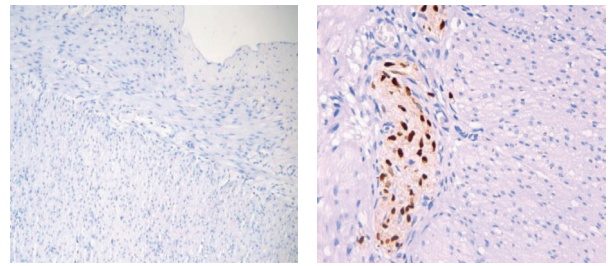


图 8 两组 *GDNF* 蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )



HD 病变肠管组 正常肠管组

图 9 HD 病变肠管及正常肠管中 *GDNF* 的表达 (免疫组织化学染色 × 100)

### 3 讨论

由于某些因素作用,使肠神经母细胞增殖、迁移及分化能力受到影响,最终细胞不能达到终点,使得远端肠管的神经节细胞缺如,导致 HD 形成<sup>[9]</sup>。miRNA 是非编码 RNA 中的一种,长度为 21 ~ 23nt,其在生命的多个环节中起重要作用<sup>[10-11]</sup>。多个 miRNA 被证实与 HD 的发生、发展关系密切,如 miR-483-5p<sup>[4]</sup>、Let-7a<sup>[12]</sup>、miR-215<sup>[5-6]</sup>、miR-206<sup>[7]</sup>、miR-1324<sup>[13]</sup>及 miR-192<sup>[6]</sup>等。前期研究采用 miRNA 微阵列基因芯片及 qRT-PCR 检测发现,miR-145-3p 在 HD 病变段肠管中存在高频高表达<sup>[8]</sup>,但其作用及具体机制并不清楚。

miR-145-3p 是一种功能强大的 miRNA,其作为一个调控基因,参与细胞增殖、分化、迁移及凋亡等多个生物过程的调控。MISONO 等<sup>[14]</sup>报道,miR-145-3p 在肺癌中低表达,过表达 miR-145-3p 可以抑制肺癌细胞的增殖、迁移及侵袭,其在肺癌中起着抑癌基因的作用。YAMADA 等<sup>[15]</sup>报道,miR-145-3p 在头颈部鳞状细胞癌中低表达,过表达 miR-145-3p 后细胞的增殖、迁移及侵袭能力均受到抑制。MATSUSHITA 等<sup>[16]</sup>证实,miR-145-3p 在膀胱癌中低表达,miR-145-3p 可以抑制细胞增殖、迁移及侵袭,促进细胞凋亡,发挥抑癌基因作用。本研究结果同样证实,上调 miR-145-3p 可以抑制神经母细胞的增殖及迁移,影响肠神经系统发育,在 HD 形成过程中发挥作用。

miRNA 的作用机制有很多种,与靶基因的 3' - UTR 结合进而调控细胞表达是其主要的作用方式。在不同的细胞中,miR-145-3p 可与不同的靶基因结合而发挥截然不同的作用,其在 HD 中的作用机制不明。*GDNF* 是神经胶质细胞衍化亲神经营养因子,是重要的肠神经元及神经节细胞的营养生存因子,其与 *Ret*

基因及 GDNF- $\alpha$  形成多聚体受体复合物<sup>[2]</sup>。GDNF 不仅起到传递 *Ret* 基因发挥作用的信号作用, 并且有协助 *Ret* 基因促进神经节细胞移行、分化及定位功能<sup>[9]</sup>。如果 GDNF 蛋白表达异常, 就会影响神经母细胞发育, 产生 HD。在体内剔除鼠 *GDNF* 基因, 可以导致小鼠全结肠缺乏神经节细胞, 形成 HD<sup>[17]</sup>。笔者通过利用 miRBase、TargetScan 检索 miR-145-3p 的碱基序列并预测其靶基因, 结果提示 *GDNF* 是其可能的靶基因。随后采用双荧光素酶报告基因实验证实, miR-145-3p 的确可以与 GDNF 的 3' -UTR 结合影响 GDNF 的表达。Western blotting 检测证实, 过表达 miR-145-3p 可以下调细胞 GDNF 蛋白表达, 初步确认 GDNF 是 miR-145-3p 的重要分子靶标。而在组织标本中, 笔者发现 GDNF 在 HD 中低表达, 与 miR-145-3p 高表达呈负相关, 进一步证实在 HD 形成过程中 miR-145-3p 发挥的作用与调控 GDNF 的表达有关。

综上所述, miR-145-3p 与 HD 发病关系密切, 其可以通过调控 GDNF 的表达影响神经母细胞的增殖及迁移, 参与 HD 形成。本研究为 HD 的诊疗提供一个新的重要靶点, miR-145-3p 对肠神经干细胞及动物模型的影响仍有待进一步实验证实。

#### 参 考 文 献:

- [1] 中华医学会小儿外科学分会肛肠学组、新生儿学组. 先天性巨结肠的诊断及治疗专家共识 [J]. 中华小儿外科杂志, 2017, 38(11): 805-815.
- [2] NAGY N, GOLDSTEIN A M. Enteric nervous system development: a crest cell's journey from neural tube to colon[J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 66: 94-106.
- [3] YOO A S, STAAHL B T, CHEN L, et al. MicroRNA-mediated switching of chromatin-remodelling complexes in neural development[J]. Nature, 2009, 460(7255): 642-646.
- [4] WANG G, GUO F, WANG H, et al. Downregulation of microRNA-483-5p promotes cell proliferation and invasion by targeting *gfra4* in hirschsprung's disease[J]. DNA Cell Biol, 2017, 36(11): 930-937.
- [5] LEI H, LI H, XIE H, et al. Role of miR-215 in hirschsprung's disease pathogenesis by targeting *siglec-8*[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(6): 1646-1655.
- [6] ZHU D, XIE H, LI H, et al. Nidogen-1 is a common target of microRNAs miR-192/215 in the pathogenesis of Hirschsprung's disease[J]. J Neurochem, 2015, 134(1): 39-46.
- [7] GUNAD I, NYP B, KALIM A S, et al. Aberrant expressions of miRNA-206 target, FN1, in multifactorial Hirschsprung disease[J]. Orphanet J Rare Dis, 2019, 14(1): 5.
- [8] 赵海军, 吴凯, 王健俊, 等. 应用微阵列芯片技术分析先天性巨结肠微小 RNAs 表达谱差异 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(6): 462-465.
- [9] BURZYNSKI G, SHEPHERD I T, ENOMOTO H. Genetic model system studies of the development of the enteric nervous system, gut motility and Hirschsprung's disease[J]. Neurogastroenterol Motil, 2009, 21(2): 113-127.
- [10] SAREYELDIN R M, GUPTA I, AL-HASHIMI I, et al. Gene expression and mirnas profiling: function and regulation in human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer[J]. Cancers, 2019, DOI: info:doi/10.3892/mmr.2014.2863.
- [11] 邱胜华, 刘健, 陈运平, 等. 循环型 microRNA-92a 在先天性巨结肠中的表达及上调 CDX2 基因的研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(21): 19-24.
- [12] TANG W, CAI P, HUO W, et al. Suppressive action of miRNAs to ARP2/3 complex reduces cell migration and proliferation via RAC isoforms in Hirschsprung disease[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(7): 1266-1275.
- [13] ZHOU L, LI Y, JIANG W, et al. Down-regulation of circ-PRKCI inhibits cell migration and proliferation in Hirschsprung disease by suppressing the expression of miR-1324 target PLCB1[J]. Cell Cycle, 2018, 17(9): 1092-1101.
- [14] MISONO S, SEKI N, MIZUNO K, et al. Dual strands of the miR-145 duplex (miR-145-5p and miR-145-3p) regulate oncogenes in lung adenocarcinoma pathogenesis[J]. J Hum Genet, 2018, 63(10): 1015-1028.
- [15] YAMADA Y, KOSHIZUKA K, HANAZAWA T, et al. Passenger strand of miR-145-3p acts as a tumor-suppressor by targeting MYO1B in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Int J Oncol, 2018, 52(1): 166-178.
- [16] MATSUSHITA R, YOSHINO H, ENOKIDA H, et al. Regulation of UHRF1 by dual-strand tumor-suppressor microRNA-145 (miR-145-5p and miR-145-3p): inhibition of bladder cancer cell aggressiveness[J]. Oncotarget, 2016, 7(19): 28460-28487.
- [17] HUANG J, DANG R, TORIGOE D, et al. Genetic variation in the GDNF promoter affects its expression and modifies the severity of Hirschsprung's disease (HSCR) in rats carrying *Ednrb*(sl) mutations[J]. Gene, 2016, 575(1): 144-148.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 吴凯, 陈钦明, 王健俊, 等. MicroRNA-145-3p 在先天性巨结肠中的作用及机制研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(6): 18-23.