

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.24.004

文章编号: 1005-8982(2016)24-0018-06

论著

## 姜黄素通过下调 microRNA-211 表达 促进结肠癌细胞的凋亡及其机制

武嘉庚

(青海省药品检验检测院 藏药室,青海 西宁 810000)

**摘要:目的** 检测姜黄素对结肠癌细胞中微小 RNA 211(miRNA 211,miR-211)表达的影响并探讨 miR-211 调控结肠癌细胞增殖和凋亡的可能机制。**方法** 使用 MTT 法和流式细胞术检测不同浓度姜黄素在不同时间点对结肠癌细胞增殖和凋亡的影响;使用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测不同浓度姜黄素对结肠癌细胞中 miR-211 表达的影响;使用生物信息学预测 miR-211 下游靶基因 TP53INP1 并使用荧光素酶报告基因法验证其结合;用 miR-211 模拟物(miR-211 mimics)检测其对姜黄素处理的结肠癌细胞增殖的影响,同时使用 Western blot 法检测其对 TP53INP1 蛋白表达的影响;用 TP53INP1 小干扰 RNA 检测其对姜黄素处理的结肠癌细胞增殖和凋亡的影响。**结果** 相较于未处理组,姜黄素在 10~50  $\mu\text{mol/L}$  浓度可抑制肿瘤细胞增殖并促进其凋亡( $P<0.05$ )。姜黄素可抑制肿瘤细胞中 miR-211 的表达,并具有时间和剂量依赖性( $P<0.05$ );此外,miR-211 下游靶基因 TP53INP1 蛋白表达量上调( $P<0.05$ )。用 miR-211 转染结肠癌细胞可逆转姜黄素对其增殖的抑制作用,并且 TP53INP1 表达下调( $P<0.05$ );用 TP53INP1 小干扰 RNA 可逆转姜黄素对结肠癌细胞增殖和凋亡的影响( $P<0.05$ )。**结论** 姜黄素可通过下调 miR-211 抑制结肠癌细胞增殖并促进其凋亡,并且 TP53INP1 是 miR-211 下游调控蛋白之一。

**关键词:** 结肠癌;miR-211;姜黄素;TP53INP1;凋亡

**中图分类号:** R735.35

**文献标识码:** A

## Curcumin promotes apoptosis in colon cancer by downregulating miR-211 expression

Jia-geng Wu

(Tibetan Medicine Room, Qinghai Provincial Drug Inspection and Testing Institute,  
Xining, Qinghai 810000, China)

**Abstract: Objective** To study the effect of curcumin on miR-211 in colon cancer cells and clarify a miR-211-mediated mechanism which plays a role in the anti-tumor effects of curcumin. **Methods** The dose-effect and time-effect relationship of curcumin on HCT116 was tested by MTT assay and flow cytometry. Expression level of miR-211 in curcumin-treated HCT116 was detected by qRT-PCR. TP53INP1 was predicted as a target of miR-211 using GeneTarget database and confirmed by dual luciferase reporter assays. Additionally, the effect of upregulating miR-211 by miR-211 mimics or silencing TP53INP1 by siRNA on curcumin-treated HCT116 was examined by MTT and flow cytometry. **Results** Compared with untreated HCT116 cells, curcumin at 10-50  $\mu\text{mol/L}$  inhibited cell proliferation and induced apoptosis in a dose-dependent and time-dependent manner. Curcumin also produced a dose and time dependent suppression of miR-211 ( $P < 0.05$ ). Moreover, the protein level of TP53INP1 was significantly elevated in curcumin-treated HCT116 cells ( $P < 0.05$ ). Transfection of HCT116 with miR-211 mimics

收稿日期:2016-07-06

or TP53INP1 small interfering RNA significantly reversed the effect of curcumin on HCT116, compared to corresponding controls ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Our data suggest a novel molecular mechanism in which inhibition of miR-211 and upregulation of TP53INP1 mediate the anticancer activities of curcumin in colon cancer cells.

**Keywords:** colon cancer; miR-211; curcumin; TP53INP1; apoptosis

结肠癌在全球范围内是肿瘤引起死亡的重要原因之一<sup>[1]</sup>,并且其发生率逐年升高。由于早期筛查经济成本受限,大部分明确诊断的结肠癌均处于晚期阶段。虽然目前治疗手段不断改善,但结肠癌的预后仍旧不佳。因此,新的治疗方式仍需不断开发。

植物提取的化学物质由于其抗肿瘤特点受到广泛关注。姜黄素作为一种提纯的中药单体,研究发现具有多种药理作用,包括抗炎、抗氧化、抗肿瘤等。在多种肿瘤的研究中发现,姜黄素可明显抑制肿瘤细胞增殖并促进其凋亡,但具体分子机制研究不清<sup>[2]</sup>。微小 RNA(microRNA, miRNA)是体内一种非编码 RNA,在细胞增殖、凋亡、分化等过程中发挥重要作用。近年来研究发现,miRNA 异常表达跟肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[3]</sup>;并且姜黄素可调控 miRNA 表达影响肿瘤的进展。MicroRNA 211(miR-211)在肿瘤发生、发展过程中具有重要作用,但姜黄素能否通过调控 miR-211 表达影响肿瘤进展尚不明确。本研究旨在探讨 miR-211 在姜黄素抑制结肠癌细胞 HCT116 增殖和凋亡中的作用及其分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人结肠癌细胞系 HCT116 (凯基公司,中国),DMEM 培养基(Invitrogen 公司,美国),血清(Hyclone 公司,美国),姜黄素(Sigma 公司,美国),MTT 粉(Sigma 公司,美国),Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(上海生物工程有限公司,中国),双荧光素酶报告基因表达质粒和双荧光素酶报告基因检测试剂盒(Promega 公司,美国),Trizol、逆转录试剂盒以及实时荧光定量 PCR 试剂盒(宝生物工程公司,中国)。miR-211 正向引物 5'-CTGCTTGACCTGTGACCTGT-3',反向引物 5'-TCTGCAGTAGAGGTGACCA-3';U6 正向引物 5'-GCTTCGGCAGCACATATAC TAAAT-3',反向引物 5'-CGCTTCACGAATTTGCGT GTCAT-3',均由宝生物工程合成。miR-211 模拟物(miR-211 mimics)、miR-211 下游靶基因 TP53INP1 (tumor protein P53-inducible nuclear protein 1, TP53INP1)siRNA 构建以及转染试剂盒(锐博公司,

中国),TP53INP1 兔抗人单克隆抗体(Abcam 公司,英国),抗  $\beta$ -actin 多克隆抗体、二抗(凯基公司,中国),PVDF 膜(Millipore 公司,德国)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及药物处理** 使用 DMEM 培养基培养 HCT116 细胞,培养基含 10%胎牛血清、100 u/ml 青霉素、100  $\mu$ g/ml 链霉素;培养条件:37 $^{\circ}$ C,5%二氧化碳 CO<sub>2</sub>。当细胞生长至 70%~80%融合时,细胞给予不同浓度姜黄素(10、20、30、40 和 50  $\mu$ mol/L)处理不同时间(6、12、24 和 48 h),检测其增殖和凋亡情况。

**1.2.2 MTT 检测细胞增殖** HCT116 细胞(5 000 个/孔)种植于 96 孔板中,培养过夜便于贴附;加入不同浓度姜黄素,分别于不同时间点用 MTT 法检测细胞活力。未处理组细胞作为阴性对照。每孔加入 5 mg/ml MTT 20  $\mu$ l,继续培养 4 h;弃去培养液终止反应,每孔加入 150  $\mu$ l DMSO 溶解蓝紫色沉淀,低速震荡 10 min;在波长 490 nm 处检测吸光度值。结果分析以未处理组为 100%,计算抑制率。每组试验重复 3 次。

**1.2.3 Annexin V-FITC/PI 染色和流式细胞术检测细胞凋亡** HCT116 细胞以 10 000 个细胞/孔种植于 96 孔板中,培养过夜便于贴附;加入不同浓度姜黄素培养 12 h 或者加入 30  $\mu$ mol/L 姜黄素培养不同时间。未处理组细胞作为阴性对照。胰酶消化细胞,PBS 洗涤,加入 300  $\mu$ l 结合液重悬,加入 10  $\mu$ l Annexin V-FITC 室温避光孵育 15 min,上机前加入 5  $\mu$ l PI,并补充 200  $\mu$ l 结合液,流式细胞仪上机检测。Annexin V 阳性细胞为凋亡细胞。所有试验重复 3 次。

**1.2.4 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测细胞中 miR-211 表达** 实验分为 3 部分:总 RNA 的提取、RNA 逆转录成 cDNA、实时荧光定量 PCR。总 RNA 提取使用 Trizol 法:当细胞生长至培养瓶 80%~90%时,弃去培养基,PBS 洗涤,加入 1 ml Trizol 裂解细胞,转移至 EP 管,静置 5 min;加入氯仿 200  $\mu$ l,震荡 15 s,室温静置 5 min,离心取上清;加入等体积异丙醇,混匀后

室温静置 10 min,离心;弃上清液,加入预冷 75%乙醇 1 ml 洗涤,弃上清;加入 DEPC 水溶解沉淀;紫外分光光度计检测吸光度,计算 RNA 浓度。逆转录按照试剂盒说明书要求进行操作:反应体系 20  $\mu$ l,其中 5  $\times$  Prime Script Buffer 4  $\mu$ l,逆转录酶 1  $\mu$ l,预混引物 1  $\mu$ l,RNA 1  $\mu$ g;反应条件 42 $^{\circ}$ C 30 min,85 $^{\circ}$ C 5 s;cDNA 冷冻保存。qRT-PCR 在 ABI 7500 Fast 上进行,反应体系按照说明书操作;两步法扩增,预变性阶段 95 $^{\circ}$ C 30 s 1 个循环;PCR 反应阶段:95 $^{\circ}$ C 3 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,40 个循环。结果分析根据 miR-211 和 U6 测出的 CT 值差异,采用  $\Delta\Delta$ CT 法计算 miR-211 相对表达量。所有试验重复 3 次。

**1.2.5 细胞转染** 对于 TP53INP1 敲除实验,HCT116 细胞按  $10^5$  个/孔种植于 6 孔板中,DMEM 完全培养基培养 24 h 后,无血清培养基冲洗;根据转染操作说明瞬时转染 TP53INP1 siRNA 和对照 siRNA。对于 miR-211 过表达实验,人 miR-211 mimics,分别转染进入 HCT116 细胞。转染 24 h 后加入 40  $\mu$ mol/L 姜黄素处理 24 h,收集细胞进一步分析。

**1.2.6 Western blot 检测 TP53INP1 蛋白表达** HCT116 细胞处理后加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解细胞,冰上作用 40 min,10 000 r/min 15 min,获得上清液;根据 BCA 法测定蛋白浓度;蛋白样本处理:加入 1/5 体积 5  $\times$  SDS-PAGE 上样缓冲液,充分混匀,100 $^{\circ}$ C 煮沸 5 min;电泳:制备 SDS-PAGE 凝胶,根据蛋白浓度每孔加入一定量蛋白样本,电泳;转膜:切胶并剪下相应大小 PVDF 膜,在转膜液用一定电流将蛋白转入 PVDF 膜上;脱脂奶粉封闭非特异性位点;一抗 anti-TP53INP1(1:1 000),anti- $\beta$ -actin(1:2 000)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;二抗孵育;显色反应。结果采用 Image J 软件计算灰度值进行数据分析。所有试验重复 3 次。

**1.2.7 荧光素酶报告基因法检测 miR-211 与靶基因 TP53INP1 的结合** pGL3-TP53INP1-3'UTR 和 pGL3-TP53INP1-3'UTR mutant 质粒购自 Promega 公司。在转染前,HCT116 细胞按  $10^5$  个/孔接种于 24 孔板中,培养 24 h。根据检测试剂盒说明书操作,荧光素酶报告基因表达质粒和 pRL-TK 共同转染细胞,同时给予 miR-211 mimics 和对照组。24 h 后检测荧光素酶活性。萤火虫荧光素酶活性根据相应海肾荧光素酶活性进行标化。所有试验重复 3 次。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计量资

料用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间均数的比较用单因素方差分析,在方差分析有统计学意义的基础上,再行 LSD-*t* 检验(两浓度组间)或配对 *t* 检验(两时间点间)进行两两比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 姜黄素对结肠癌细胞 HCT116 增殖和凋亡的影响

HCT116 结肠癌细胞用不同浓度姜黄素(10、20、30、40 和 50  $\mu$ mol/L)处理,不同时间(6、12、24 和 48h)细胞活性用 MTT 法检测。结果显示(见图 1A),相较于未处理组,10 ~ 50  $\mu$ mol/L 浓度姜黄素对 HCT116 均有不同程度抑制,随着剂量的增加抑制率上升,随着处理时间的延长抑制率同样逐渐增加;其中 24 和 48 h 抑制效应显著增加,分别是 17% ~ 55%和 20% ~ 76%( $P < 0.05$ )。

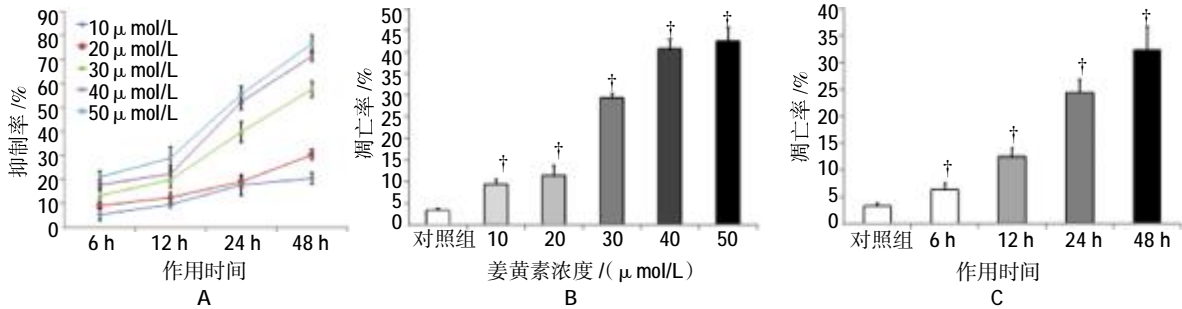
用流式细胞术检测姜黄素对 HCT116 细胞凋亡的影响。不同浓度姜黄素处理 24 h 后,结果显示(见图 1B),10 ~ 50  $\mu$ mol/L 姜黄素对 HCT116 凋亡均有不同程度促进(9.25% ~ 42.34%, $P < 0.05$ )。30  $\mu$ mol/L 姜黄素处理不同时间结果显示(见图 1C),随着时间延长,姜黄素促进凋亡效应逐渐增加(6.34% ~ 32.23%, $P < 0.05$ )。

### 2.2 姜黄素对 HCT116 细胞 miR-211 表达的影响

HCT116 细胞用不同浓度姜黄素处理 24 h 后,收集细胞,用 qRT-PCR 法检测 HCT116 细胞中 miR-211 的表达。结果显示(见图 2),相较于未处理组,10 ~ 50  $\mu$ mol/L 姜黄素均可抑制 miR-211 的表达,且具有剂量依赖性(14% ~ 62%, $P < 0.05$ )。

### 2.3 miR-211 下游靶基因的预测及验证

为了进一步研究 miR-211 对 HCT116 细胞增殖和凋亡的影响,采用生物信息学方法,用 Target Scan 数据库筛选 miR-211 跟增殖和凋亡相关的下游靶基因。结合文献分析,本研究选择 TP53INP1 作为 miR-211 潜在下游靶基因。为了验证预测的 TP53INP1 是否为 miR-211 靶基因,能否和 TP53INP1 的 3'UTR 结合,将 miR-211 mimics 与构建的 TP53INP1-wt、TP53INP1-mut 质粒转染 HCT116 细胞,24 h 后检测荧光素酶活性。结果显示(见图 3),相较于对照组,miR-211 mimics 可抑制 TP53INP1-wt 载体荧光素酶活性(抑制率为 41%, $P < 0.05$ ),而对 TP53INP1-



A: MTT 法检测不同浓度姜黄素处理后 6、12、24 和 48 h HCT116 结肠癌细胞的抑制率; B: 流式细胞术检测不同浓度姜黄素处理后 24 h HCT116 细胞的凋亡率; C: 30 μmol/L 姜黄素处理后 6、12、24 和 48 h HCT116 结肠癌细胞的抑制率。† 与对照组比较,  $P < 0.05$

图 1 不同浓度姜黄素处理 HCT116 不同时间对其增殖和凋亡的影响

mut 荧光素酶活性无明显影响。实验结果与数据库预测结果一致,说明 miR-211 可以和 TP53INP1 3' UTR 结合。

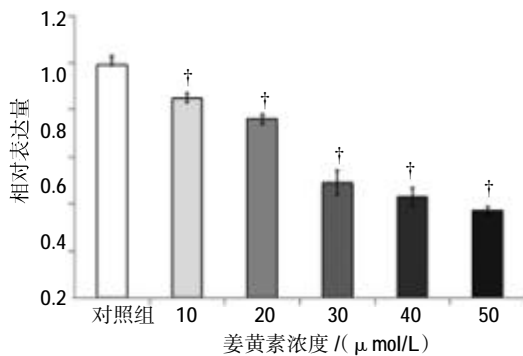
### 2.4 过表达 miR-211 对 HCT116 细胞 TP53INP1 蛋白表达和增殖的影响

检测高表达 miR-211 对姜黄素处理的 HCT116 细胞生物学活性的影响。Western blot 结果显示(见图 4A),相较于对照组,高表达 miR-211 可抑制姜黄素处理组 HCT116 细胞 TP53INP1 蛋白水平的表达( $P < 0.05$ )。MTT 结果显示(见图 4B),相较于姜黄

素处理组,高表达 miR-211 可缓解姜黄素对 HCT116 细胞增殖的抑制作用( $P < 0.05$ )。

### 2.5 抑制 TP53INP1 基因表达对 HCT116 细胞增殖和凋亡的影响

用 siRNA 技术研究 TP53INP1 在姜黄素抗肿瘤效应中的作用。用 TP53INP1 siRNA 和对照 siRNA 分别转染 HCT116 细胞,再给予 40 μmol/L 姜黄素作用 24 h,MTT 结果显示(见图 5A),相较于对照组,TP53INP1 siRNA 组可逆转姜黄素对 HCT116 的抑制效应( $P < 0.05$ )。凋亡实验结果显示(见图 5B),相较于对照组,TP53INP1 siRNA 组可抑制姜黄素促进 HCT116 细胞凋亡作用( $P < 0.05$ )。



† 与对照组比较,  $P < 0.05$

图 2 不同浓度姜黄素对 HCT116 细胞中 miR-211 表达的影响

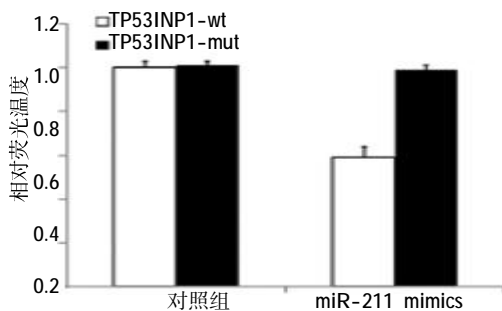
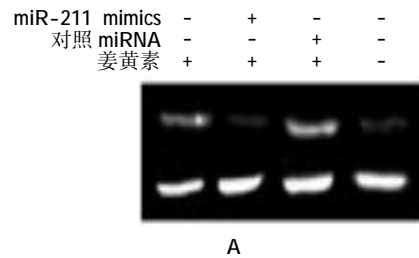
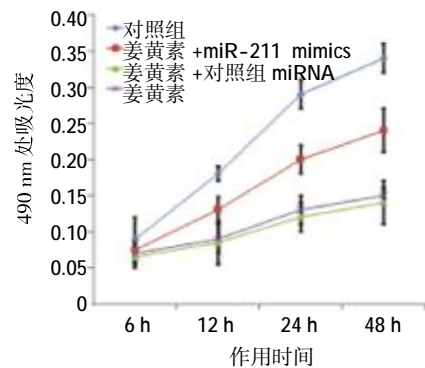


图 3 miR-211 作用于 TP53INP1 3'UTR 抑制荧光素酶活性



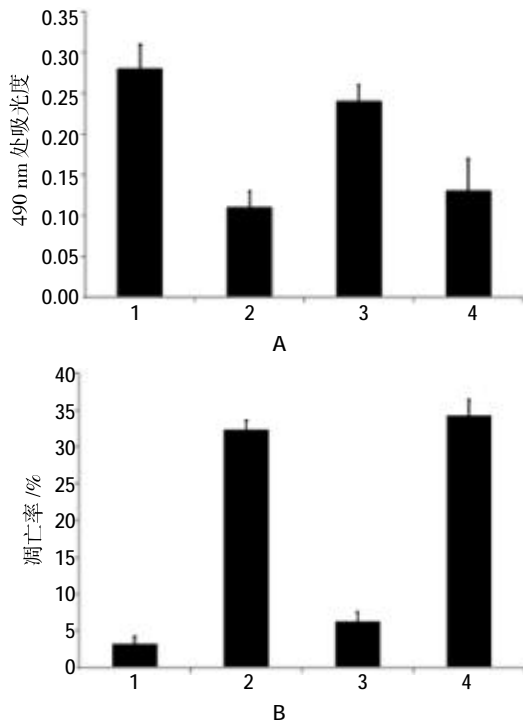
A



B

图 4 高表达 miR-211 对 HCT116 细胞 TP53INP1 蛋白表达和增殖的影响





1: 对照组; 2: 姜黄素 + siRNA; 3: 姜黄素 + TP53INP1 siRNA; 4: 姜黄素

图 5 TP53INP1 siRNA 对 HCT116 细胞增殖和凋亡的影响

### 3 讨论

姜黄素作为一种中药提纯的单体,具有明确的抗肿瘤作用。研究发现,姜黄素可通过作用 NF- $\kappa$ B、Notch、P53、Caspase-3、细胞周期蛋白 D1 等途径促进肿瘤细胞凋亡并抑制其增殖<sup>[4-5]</sup>,但具体分子机制尚不清楚。本实验结果发现,姜黄素可促进结肠癌细胞 HCT116 的增殖并抑制其凋亡,效应具有时间和剂量依赖的特点。

miRNA 是长度约 22 个核苷酸左右的单链非编码 RNA 序列,主要通过结合目标 mRNA 3'UTR 非编码区来抑制其功能,从而促进其降解或者抑制蛋白翻译。在肿瘤学研究中,异常的 miRNA 表达跟肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[9]</sup>。计算机模拟预测发现每个 miRNA 可调节多个靶基因,并且人类超过 50% 编码基因都可受到 miRNA 调控。因此,不同肿瘤 miRNA 表达特征可作为潜在的早期诊断、治疗以及预后判断的重要指标。近期的研究发现,姜黄素的抗肿瘤效应和 miRNA 的表达密切相关。在胰腺癌的研究中,MA 等<sup>[6]</sup>发现姜黄素可上调 miR-7 表达,从而下调组蛋白甲基转移酶抑制肿瘤细胞生长和侵袭转移。在非小细胞肺癌研究中,ZHANG 等<sup>[7]</sup>发现,姜黄素可通

过下调 miR-186 促进 A549 细胞凋亡。在膀胱癌研究中,SAINI 等<sup>[8]</sup>发现,姜黄素可通过调节 miR-203 影响 Src-Akt 轴抑制肿瘤。该研究显示,姜黄素通过调节 miRNA 表达是其抗肿瘤的重要机制之一。因此,筛选出姜黄素在不同肿瘤中特异性调节的 miRNA 分子是肿瘤靶向治疗重要方向。

结肠癌在全球范围内具有较高的发生率和死亡率。近年来的研究发现,miRNA 和结肠癌发生、发展密切相关。ASANGAN 等<sup>[9]</sup>首次发现 miR-21 可促进肿瘤侵袭转移,并且结肠癌中高表达的 miR-21 可通过转录后调节的方式抑制抑癌基因程序性细胞凋亡因子 4 表达。ZHANG 等<sup>[10]</sup>通过高通量测序分析结肠癌患者 miRNA 表达谱差异,筛选出得特异性 miRNA 可预测术后化疗效果并可判断复发情况。姜黄素调控结肠癌 miRNA 表达主要研究的是 miR-21,对其他 miRNA 研究不多,本研究主要就 miR-211 进行研究。

miR-211 在不同肿瘤中具有不同作用特点。CHANG 等<sup>[11]</sup>发现在口腔肿瘤中 miR-211 高表达,并且其与肿瘤预后不佳相关。在胰腺癌研究中发现<sup>[12]</sup>,低表达 miR-211 的患者具有更短的中位生存时间,但具体机制不清。CAI 等<sup>[13]</sup>在结直肠癌研究中发现,miR-211 可通过下调抑癌基因染色质域解旋酶 DNA 结合蛋白 5 促进肿瘤生长。本实验研究发现,结肠癌细胞 HCT116 高表达 miR-211,并且姜黄素可抑制 miR-211 表达,效应具有剂量依赖性。

研究已报道多个 miR-211 下游靶基因,如 Brn2 (brain 2)<sup>[14]</sup>、NUAK1 (NUAK family SNF1-like kinase 1)<sup>[15]</sup>、TGF $\beta$  R II (transforming growth factor  $\beta$  receptor II) 等<sup>[16]</sup>,这些靶基因具有不同生物学功能。本研究采用 Target Scan 数据库筛选 miR-211 下游靶基因,发现 TP53INP1 (Tumor protein P53-inducible nuclear protein 1) 可作为候选靶基因。TP53INP1 是一种抑癌基因,在多种肿瘤组织中表达下调,可调控 P53 活化状态,跟细胞死亡、细胞周期停滞以及细胞迁移密切相关<sup>[17]</sup>。SEUX 等<sup>[18]</sup>研究发现,TP53INP1 可调控分泌型富含半胱氨酸酸性蛋白 (secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC) 的表达抑制胰腺癌细胞侵袭转移。在肝癌中研究发现<sup>[19]</sup>,上调的 miR-182 可通过下调 TP53INP1,从而增加肿瘤耐药。因此,笔者推测 TP53INP1 的表达增高跟姜黄素诱导的 HCT116 凋亡有关。实验结果表明,姜黄素处理后 TP53INP1 蛋白表达增高,并且干扰 TP53INP1 表达能促进 HCT116 细胞增殖、抑制其凋亡。

综上所述,miR-211 在调控姜黄素的抗肿瘤效应方面具有重要作用,其机制可能是通过下调 TP53INP1 蛋白表达,从而促进肿瘤细胞增殖、抑制其凋亡。

#### 参 考 文 献:

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] BOYANAPALLI S S S, KONG A N T. "Curcumin, the king of spices": epigenetic regulatory mechanisms in the prevention of cancer, neurological, and inflammatory diseases[J]. Current Pharmacology Reports, 2015, 1(2): 129-139.
- [3] LIN S, GREGORY R I. MicroRNA biogenesis pathways in cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2015, 15(6): 321-333.
- [4] BELAKAVADI M, SALIMATH B P. Mechanism of inhibition of ascites tumor growth in mice by curcumin is mediated by NF- $\kappa$ B and caspase activated DNase[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2005, 273(1-2): 57-67.
- [5] SUBRAMANIAM D, PONNURANGAM S, RAMAMOORTHY P, et al. Curcumin induces cell death in esophageal cancer cells through modulating Notch signaling [J]. PloS One, 2012, 7(2): e30590.
- [6] MA J, FANG B, ZENG F, et al. Curcumin inhibits cell growth and invasion through up-regulation of miR-7 in pancreatic cancer cells[J]. Toxicology Letters, 2014, 231(1): 82-91.
- [7] ZHANG J, DU Y, WU C, et al. Curcumin promotes apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through miR-186\* signaling pathway[J]. Oncology Reports, 2010, 24(5): 1217-1223.
- [8] SAINI S, ARORA S, MAJID S, et al. Curcumin modulates microRNA-203-mediated regulation of the src-akt axis in bladder cancer[J]. Cancer Prevention Research, 2011, 4(10): 1698-1709.
- [9] ASANGANI I A, RASHEED S A K, NIKOLOVA D A, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdc4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer[J]. Oncogene, 2008, 27(15): 2128-2136.
- [10] ZHANG J X, SONG W, CHEN Z H, et al. Prognostic and predictive value of a microRNA signature in stage II colon cancer: a microRNA expression analysis[J]. The Lancet Oncology, 2013, 14(13): 1295-1306.
- [11] CHANG K W, LIU C J, CHU T H, et al. Association between high miR-211 microRNA expression and the poor prognosis of oral carcinoma[J]. Journal of Dental Research, 2008, 87(11): 1063-1068.
- [12] NIELSEN B S, JØRGENSEN S, FOG J U, et al. High levels of microRNA-21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease-free survival in stage II colon cancer patients[J]. Clinical & Experimental Metastasis, 2011, 28(1): 27-38.
- [13] CAI C, ASHKTORAB H, PANG X, et al. MicroRNA-211 expression promotes colorectal cancer cell growth in vitro and in vivo by targeting tumor suppressor CHD5[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29750.
- [14] BOYLE G M, WOODS S L, BONAZZI V F, et al. Melanoma cell invasiveness is regulated by miR-211 suppression of the BRN2 transcription factor[J]. Pigment Cell & Melanoma Research, 2011, 24(3): 525-537.
- [15] BELL R E, KHALED M, NETANELY D, et al. Transcription factor/microRNA axis blocks melanoma invasion program by miR-211 targeting NUA1[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2014, 134(2): 441-451.
- [16] YU Y, KANWAR S S, PATEL B B, et al. MicroRNA-21 induces stemness by down regulating transforming growth factor beta receptor 2 (TGF  $\beta$  R2) in colon cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(1): 68-76.
- [17] SEILLIER M, PEUGET S, GAYET O, et al. TP53INP1, a tumor suppressor, interacts with LC3 and ATG8-family proteins through the LC3-interacting region (LIR) and promotes autophagy-dependent cell death[J]. Cell Death & Differentiation, 2012, 19(9): 1525-1535.
- [18] SEUX M, PEUGET S, MONTERO M P, et al. TP53INP1 decreases pancreatic cancer cell migration by regulating SPARC expression[J]. Oncogene, 2011, 30(27): 3049-3061.
- [19] QIN J, LUO M, QIAN H, et al. Upregulated miR-182 increases drug resistance in cisplatin-treated HCC cell by regulating TP53INP1[J]. Gene, 2014, 538(2): 342-347.

(张蕾 编辑)