

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.01.0011

论著

# miR-129-5p 通过靶向 SALL4 抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的实验研究

张华<sup>1,2</sup>, 范松<sup>3</sup>, 刘冀琴<sup>2</sup>, 张学军<sup>1</sup>

(1.天津医科大学基础医学院免疫学系, 天津 300070; 2.武警特色医学中心检验科, 天津 300162; 3.武警河北省总队医院检验科, 石家庄 050000)

**摘要** 目的:探讨 miR-129-5p 在肝细胞癌(HCC)发展中的作用及其机制。方法:通过实时荧光定量-PCR(qRT-PCR)检测 miR-129-5p 在正常血清及肝癌患者血清、人正常肝细胞 LO2 和人肝癌细胞系中的表达情况。采用脂质体转染技术将 miR-129-5p mimics 转染至人肝癌细胞 HCCLM3 细胞,应用 Western 印迹检测人类婆罗双树样基因-4 (SALL4)和程序性死亡受体-配体 1(PD-L1)蛋白的表达。通过 CCK-8 实验、克隆形成实验、细胞周期检测、细胞划痕实验和 Transwell 实验等检测在体外过表达 miR-129-5p 对肝癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。此外,通过生物信息学工具、数据库分析和荧光素酶报告基因检测实验,探索 miR-129-5p 在 HCC 中的靶点,并探讨靶点 SALL4 是否介导 miR-129-5p 对 HCC 细胞的作用。结果:与正常血清相比,肝癌患者血清 miRNA-129-5p 表达量显著降低( $t=13.32, P<0.001$ ),与 LO2 相比,肝癌细胞系 HepG2、Hep3B、HCCLM3、BEL-7402 和 QGY-7703 的 miR-129-5p 表达量均显著降低( $t=30.35, 33.08, 37.11, 32.87, 8.2$ , 均  $P<0.05$ )。miR-129-5p 过表达可以抑制肝癌细胞增殖、侵袭和转移。StarBase 预测显示 miR-129-5p 与 SALL4 有潜在结合位点,双荧光素酶报告基因检测证明 miR-129-5p 与 SALL4 直接结合。与对照组相比,miR-129-5p 表达后 SALL4 和 PD-L1 的蛋白水平明显降低( $t=12.68, t=8.798$ , 均  $P<0.05$ )。miR-129-5p 可以通过调控 SALL4 的表达,抑制 HCC 细胞的活力、增殖、迁移和侵袭( $F=26.11, 147.2, 4.302, 321.3$ , 均  $P<0.05$ )。结论:过表达 miR-129-5p 通过抑制 SALL4 表达,抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。

**关键词** 肝细胞癌; miR-129-5p; SALL4; 增殖; 侵袭; 迁移

中图分类号 R575.7

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)01-0011-05

## The experimental study of miR-129-5p inhibiting proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma by targeting to SALL4

ZHANG Hua<sup>1,2</sup>, FAN Song<sup>3</sup>, LIU Jiqin<sup>2</sup>, ZHANG Xuejun<sup>1</sup>

(1.Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Department of Clinical Laboratory, Characteristic Medical Center of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China; 3.Department of Clinical Laboratory, Armed Police Corps Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China)

**Abstract Objective:** To explore the role of miR-129-5p in hepatocellular carcinoma (HCC) development and its mechanism. **Methods:** The expression of miR-129-5p in normal serum and serum of hepatocellular carcinoma patients, human normal hepatocyte LO2 and human hepatocellular carcinoma cell line was detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Human hepatocellular carcinoma cells HCCLM3 were selected as the research objects, and miR-129-5p mimics was transfected into HCCLM3 cells by liposome transfection technology. Western blotting was used to detect the protein expression of Sal-like gene 4 (SALL4) and programmed death receptor-ligand 1 (PD-L1). CCK-8 assay, colony formation assay, cell cycle detection, cell scratch assay and Transwell assay were used to detect the effects of miR-129-5p overexpression on the proliferation, migration and invasion of HCC *in vitro*. In addition, bioinformatics tools, database analysis, luciferase reporter gene detection and rescue experiments were used to explore the target of miR-129-5p in HCC and to explore whether the target SALL4 mediated the effect of miR-129-5p on HCC cells. **Results:** The expression of miR-129-5p was significantly decreased in the serum of HCC patients compared with normal serum ( $t=13.32, P<0.001$ ). Compared with LO2, the expression of miR-129-5p in liver cancer cell lines including HepG2, Hep3B, HCCLM3, BEL-7402 and QGY-7703 was significantly decreased ( $t=30.35, 33.08, 37.11, 32.87, 8.2$ , all  $P<0.05$ ). Overexpression of miR-129-5p inhibited the proliferation, invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells. StarBase predicted that miR-129-5p had potential binding sites with SALL4, and dual luciferase reporter gene assay confirmed that miR-129-5p directly bound to SALL4. Compared with the control group, the protein levels of SALL4 and PD-L1 were significantly decreased after miR-129-5p expression ( $t=12.68, 8.798$ , both  $P<0.05$ ). miR-129-5p could inhibit the viability, proliferation, migration and invasion of HCC cells by regulating the expression of SALL4 ( $F=26.11, 147.2, 4.302, 321.3$ , all  $P<0.05$ ). **Conclusion:** Overexpression of miR-129-5p inhibits the proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma by inhibit-

作者简介 张华(1989-),男,主管技师,硕士在读,研究方向:免疫学;通信作者:张学军, E-mail: xjzh@tmu.edu.cn。

ing SALL4 expression.

**Key words** hepatocellular carcinoma; miR-129-5p; SALL4; proliferation; invasion; migration

肝细胞癌(HCC)是最常见的原发性肝癌类型,也是全球癌症相关死亡的第四大原因<sup>[1]</sup>。在大多数情况下,HCC是由肝硬化肝脏的慢性炎症发展而来,并与乙型和丙型病毒性肝炎感染、长期饮酒或摄入黄曲霉毒素等病因相关<sup>[2]</sup>。大多数患者确诊时已处于晚期,可选择的治疗方案非常有限。目前,手术切除仍是HCC的主要治疗手段,但高达70%的HCC患者在接受手术切除5年后复发<sup>[3]</sup>,此外,对于大多数晚期HCC患者,索拉非尼似乎是临床上最有效的化疗药物,但其使用和功能受到许多不确定因素的限制<sup>[4]</sup>。因此,HCC的总体5年生存率低于18%,迫切需要新的治疗方法来提高诊断效率,延长患者的生存期。miRNA是一种长约22个核苷酸的非编码RNA,可调控多种癌症的进展。越来越多的研究报道功能性miRNA在肿瘤组织和细胞系中表达失调,在多种肿瘤的发生、发展中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。近年来研究发现,miR-129-5p在多种肿瘤中异常表达,如胶质瘤<sup>[6]</sup>、前列腺癌<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>、肝癌<sup>[9]</sup>、肾癌<sup>[10]</sup>等。然而,miR-129-5p在HCC中的确切表达和功能仍有待确定。人类婆罗双树样基因-4(SALL4)是一种与肿瘤细胞恶性增殖不可分割的锌指转录因子,本研究旨在探讨miR-129-5p在HCC中的表达和功能,并分析其潜在机制。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞培养与转染** 正常人肝细胞株(LO2)和人肝癌细胞株(HCCLM3、SK-Hep-1、SMMC-7721、PLC/PRF/5、HepG2、HepG2-luc、Huh7、Hep3B)均购自中国科学院中国细胞库(上海)。LO2、HCCLM3、SK-Hep-1、SMMC-7721、PLC/PRF/5、HepG2、HepG2-luc、Huh7和Hep3B在DMEM培养基中培养。所有培养基均含有10%胎牛血清(FBS)(Gibco)、1%青霉素和链霉素(Gibco)。在37℃含5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养所有细胞系。细胞转染miR-129-5p mimic或mimic control(Gene-Pharma),使用Lipofectamine 3000(Thermo Fisher)按说明书步骤转染48 h,用于后续实验。

**1.2 样本收集** 本研究收集了2021年1月到12月武警特色医学中心接受手术的20例HCC患者及正常人对照血清。所有患者在手术前均未接受化疗或放疗。

**1.3 CCK8检测细胞存活率** 收集各组细胞,将细胞种于96孔板中,密度为 $5 \times 10^3$ 个/孔,分别经过24、

48、72 h培养后加入10  $\mu$ L的CCK-8溶液,37℃孵育4 h,用酶标仪测定吸光度(450 nm)。

**1.4 细胞克隆形成检测** 在克隆形成实验中,将1 000个转染后的细胞接种在6孔板中,在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养14 d后,用PBS清洗细胞,4%多聚甲醛固定20 min,0.1%结晶紫溶液再染色20 min,显微镜下计数克隆形成情况。

**1.5 细胞划痕实验** 通过划痕实验来评估肝癌细胞的迁移能力。将各种细胞接种于6孔板,待细胞融合度达到80%~90%,用20  $\mu$ L移液管尖端在底部划出一条直线。37℃培养箱培养24 h后,光学显微镜下观察细胞迁移距离。

**1.6 Transwell小室检测细胞侵袭** 在涂有基质胶的Transwell小室中进行细胞侵袭实验。将细胞接种在6孔板中进行转染。转染48 h后,将细胞接种到涂有基质胶的侵入室的上隔壁。孵育16 h后,将侵入插入物底部的细胞染色并在显微镜下计数。

**1.7 荧光素酶实验验证miR-129-5p与SALL4的靶向关系** 使用StarBase数据库(<https://starbase.sysu.edu.cn/index.php>)预测miR-129-5p的靶基因。实验分为4组:pmirGLO/SALL4-UTR+mimics control、pmirGLO/SA-LL4-UTR+miR-129-5p mimics、pmirGLO/SALL4-mUTR+mimics control和pmirGLO/SALL4-mUTR+miR-129-5p mimics。将携带SALL4野生型(pmirGLO/SALL4-UTR)、突变型(pmirGLO/SALL4-mUTR)的质粒分别转入细胞中,或同时转入miR-129-5p模拟物,均培养48 h,随后吸去培养液,并洗涤细胞,加入细胞裂解液处理5~10 min,然后以3 000 r/min离心5 min,取上清液进行发光测定。

**1.8 RT-qPCR** 按照总RNA提取试剂盒的说明从血清或细胞中提取总RNA,并测定其浓度和纯度。然后根据逆转录试剂盒将提取的RNA全部反转录为cDNA,进行PCR扩增,检测基因表达水平。

**1.9 Western印迹法** 采用RIPA裂解缓冲液(Beyotime),从细胞中分离总蛋白。采用BCA试剂盒(Beyotime)定量总蛋白。使用10%SDS-PAGE分离蛋白,然后将蛋白转移到PVDF膜上(Thermo Fisher)。用5%脱脂牛奶封闭1 h后,细胞膜与一抗孵育过夜:anti-SALL4(1:1 000)、anti-PD-L1(1:1 000)和抗anti-GAPDH(1:10 000)。之后用相应的二抗孵育,最终使用ECL试剂盒来观察蛋白条带,Image J软件进行蛋白条带的灰度分析。

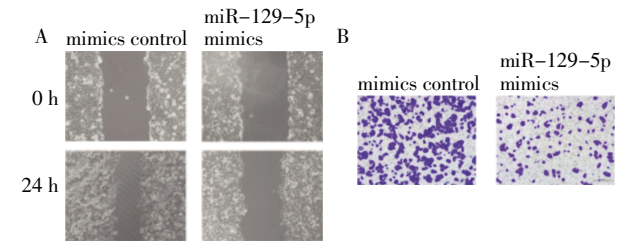
1.10 统计学处理 采用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。所有数据符合正态分布,资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采取 SNK- $t$  检验,多组间均数比较采用单因素方差分析(One way ANOVA)。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 miR-129-5p 在 HCC 患者血清及肝癌细胞系中的表达水平 与正常对照组相比,HCC 患者血清 miR-129-5p 表达量显著降低( $t=13.32, P < 0.001$ )。与 LO2 细胞相比,HepG2、Hep3B、HCCLM3、BEL-7402 和 QGY-7703 的 miR-129-5p 表达量均显著降低( $t=30.35、33.08、37.11、32.87、8.2$ ,均  $P < 0.05$ )。

2.2 miR-129-5p 过表达抑制肝癌细胞增殖、侵袭和转移 CCK-8、集落实验和划痕实验表明过表达

miR-129-5p 可抑制 HCCLM3 细胞的增殖和迁移能力( $P < 0.05$ )。Transwell 侵袭实验显示,与对照组相比,miR-129-5p mimics 显著抑制 Hep3B 和 HCCLM3 细胞的穿膜数量( $P < 0.05$ ),见图 1 和表 1。



注:A:划痕实验检测细胞的迁移能力;B:Transwell 检测过表达 miR-129-5p 对 HCC 细胞的侵袭能力的改变

图1 过表达 miR-129-5p 抑制肝癌细胞侵袭和转移(200×)

Fig.1 Overexpression of miR-129-5 inhibited invasion and metastasis of HCC cells (200×)

表1 各组细胞活力、克隆形成数、凋亡率、迁移、侵袭率比较( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Tab.1 Comparison of cell viability, number of clone formation, migration and invasive rate of each group( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	增殖能力(OD450 值)			克隆团形成数(个/视野)	相对迁移率(%)	相对侵袭细胞数(%)
	24 h	48 h	72 h			
mimics control	0.68±0.04	0.125±0.012	1.50±0.08	28.16±0.47	40.30±1.61	0.46±0.03
miR-129-5p mimics	0.61±0.02	0.78±0.05	1.03±0.07	17.16±0.44	19.44±4.36	0.20±0.00
$t$	2.99	4.78	13.30	29.53	12.00	16.57
$P$	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 SALL4 是 miR-129-5p 在 HCC 中的下游靶点 StarBase 预测结果显示,miR-129-5p 与 SALL4 有潜在结合位点,见图 2。随后,通过荧光素酶实验以确认 miR-129-5p 与 SALL4 3'-UTR 区之间的直接结合序列,与 pmirGLO/SALL4-UTR+mimics control 组相比,pmirGLO/SALL4-UTR+miR-129-5p mimics 组相对荧光素酶活性降低[(9.47±0.38) vs. (5.36±0.32), $t=13.75, P < 0.05$ ];pmirGLO/SALL4-mUTR+mi-mics control 组与 pmirGLO/SALL4-mUTR+miR-129-5p mimics 组相对荧光素酶活性差异无统计学意义[(9.24±0.30) vs. (9.37±0.43), $t=0.228, P > 0.05$ ]。

Binding Site of hsa-miR-129-5p on SALL4:

Show 10 entries

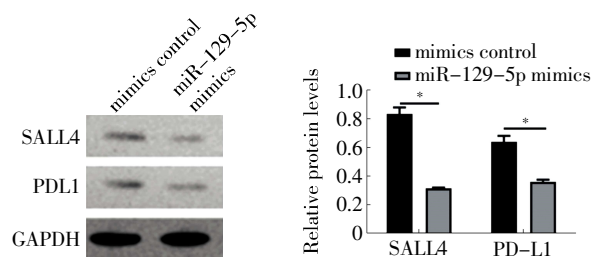
BindingSite	Class	Alignment
chr20:50400614-50400620[-]	7mer-m8	Target: 5' gcaagc300c700c4aaag 3' 1111111111 miRNA : 3' agagag300c300c300c300c 5'

图2 StarBase 预测 miR-129-5p 和 SALL4 的结合位点

Fig.2 The binding sites of miR-129-5p and SALL4 predicted by StarBase

2.4 过表达 miR-129-5p 对靶基因 SALL4 蛋白以及 HCC 免疫治疗相关 PD-L1 表达的影响 在 HCCLM3 细胞中转染 miR-129-5p mimics 后,检测 SALL4 和 PD-L1 的蛋白相对水平,结果显示上调 miR-129-5p 表达后 SALL4 [(0.83±0.08) vs. (0.31±

0.01), $t=12.68, P < 0.05$ ]和 PD-L1[(0.64±0.08) vs. (0.36±0.02), $t=8.798, P < 0.05$ )的蛋白水平明显降低,见图 3。



注:mimic control:模拟物阴性对照组;miR-129-5p mimics:miR-129-5p 模拟物组;SALL4(Spalt-like transcription factor 4):婆罗双树样基因 4;PD-L1(Programmed Death-Ligand 1):程序性死亡配体; \* $P < 0.05$

图3 各组 HCCLM3 细胞中 SALL4 和 PD-L1 蛋白表达

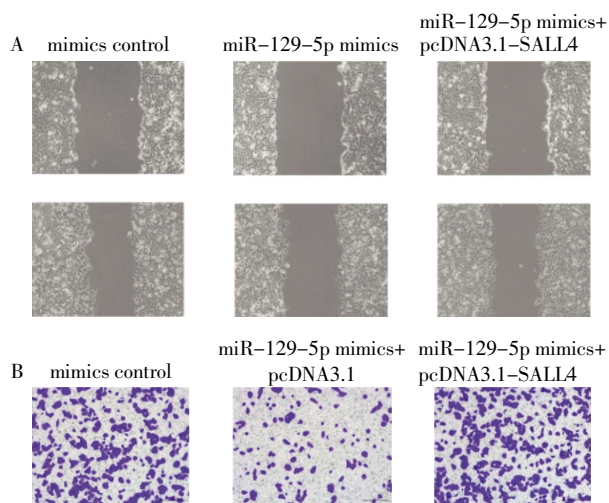
Fig.3 SALL4 and PD-L1 protein expression in HCCLM3 cells of each group

2.5 miR-129-5p 通过调控 SALL4 的表达抑制 HCC 细胞的增殖、迁移和侵袭 与 mimics control 组相比,miR-129-5p mimics+pcDNA3.1 组细胞活力降低,克隆形成数减少,迁移和侵袭率降低(均  $P < 0.05$ )。与 miR-129-5p mimics+pcDNA3.1 组相比,miR-129-5p mimics+pcDNA3.1-SALL4 组细胞活力增加,克隆形成数增多,迁移和侵袭率升高(均  $P < 0.05$ ),见表 2 和图 4。

表 2 各组细胞活力、克隆形成数、凋亡率、迁移侵袭率比较( $n=3, \bar{x} \pm s$ )Tab.2 Comparison of cell viability, number of clone formation, migration and invasive rate of each group( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	增殖能力(OD450 值)			克隆团形成数 (个/视野)	相对迁移率 (%)	相对侵袭细胞数 (%)
	24 h	48 h	72 h			
mimic control	0.83±0.04	1.32±0.08	1.58±0.12	26.31±1.56	32.56±6.97	0.41±0.01
miR-129-5p mimics+pcDNA3.1	0.61±0.02 <sup>a</sup>	0.82±0.07 <sup>a</sup>	1.05±0.08 <sup>a</sup>	10.93±0.63 <sup>a</sup>	18.78±2.30 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>
miR-129-5p mimics+pcDNA3.1-SALL4	0.77±0.05 <sup>b</sup>	1.08±0.08 <sup>b</sup>	1.32±0.09 <sup>b</sup>	24.84±1.25 <sup>b</sup>	27.93±7.00 <sup>b</sup>	0.39±0.01 <sup>b</sup>
<i>F</i>	26.11*	33.08*	21.27*	147.2*	4.302	321.3*

注: \* $P<0.05$ ; 与 mimic control 组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与 miR-129-5p mimics+pcDNA3.1 组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$



注: A: 划痕实验检测细胞的迁移能力; B: Transwell 检测细胞的侵袭能力

图 4 MiR-129-5p 通过调控 SALL4 的表达抑制 HCC 细胞的侵袭和迁移(200×)

Fig.4 MiR-129-5p inhibited the invasion and migration of HCC cells by regulating the expression of SALL4(200×)

### 3 讨论

HCC 细胞的侵袭和转移是影响患者治疗效果及导致死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。miRNAs 作为 HCC 的调控基础,其研究进展为 HCC 的发生、发展提供了新的见解。miR-129-5p 通过调控细胞周期、增殖、凋亡、迁移、侵袭和血管生成等生理和病理过程,对多种肿瘤的发生和发展发挥调控作用<sup>[12]</sup>。在肾癌细胞中,miR-129-5p 促进细胞增殖和侵袭,并通过调控 SOX4 通路抑制肾癌细胞<sup>[10]</sup>。之前有研究报道 miR-129-5p 通过靶向 TRPM7 和抑制 NLRP3 炎症小体激活缓解心肌细胞缺氧复氧损伤<sup>[13]</sup>。此外,miR-129 的表达可能是前列腺癌患者无生化复发生存的独立预后标志物,并且 miR-129 的过表达通过调节细胞周期调节蛋白的表达水平显著减弱前列腺癌细胞的增殖<sup>[7]</sup>。MiR-129-5p 在 HCC 中通过直接靶向肝癌来源的生长因子(HDGF)发挥 Wnt 信号依赖性的抑癌功能<sup>[14]</sup>。本研究发现 miR-129-5p 可以靶向

SALL4,调控 HCC 细胞周期、增殖、凋亡、迁移和侵袭,从而促进 HCC 的进展,为 HCC 的研究和治疗提供了新的治疗靶点。

本研究通过生物信息学数据库分析确定了 miR-129-5p 的潜在靶基因为 SALL4,并通过荧光素酶报告基因检测技术发现 miR-129-5p 可与 SALL4 3'UTR 上的靶点结合。此外,通过检测转染 miR-129-5p 模拟物后细胞中 SALL4 的蛋白表达水平降低,证明 SALL4 是 miR-129-5p 的靶基因。miR-129-5p 在转录后水平调控 SALL4 的表达。SALL4 是一种对胚胎干细胞自我更新和维持多能性至关重要的癌胚蛋白<sup>[15]</sup>,具有阻止干细胞分化和增强干细胞自我更新的能力,因此被认为在多种类型的癌症中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。据报道,SALL4 高表达的肝癌祖细胞样亚型与临床侵袭性和不良预后相关<sup>[17]</sup>。因此,SALL4 目前被认为是一种新兴的候选癌症生物标志物。研究发现 SALL4 和 T 细胞共抑制配体 PD-L1 的表达水平均与 miR-200c 水平呈负相关。通过大样本肝癌患者生存期回顾分析,发现低表达 SALL4 或 PD-L1 及高表达 miR-200c 的患者具有更长的生存期<sup>[18]</sup>。

综上所述,本研究发现 miR-129-5p 可通过抑制 HCC 细胞的增殖、迁移和侵袭,发挥抑癌基因的作用,miR-129-5p 通过靶向 SALL4 抑制 HCC 进展。因此,miR-129-5p/SALL4 可能成为 HCC 治疗的一个有吸引力的靶点。虽然本研究揭示了 miR-129-5p/SALL4 轴在 HCC 中的抗肿瘤作用,但在未来的研究中仍有一些问题需要改进,例如需要更多的 HCC 癌组织和对照组织样本来证实 miR-129-5p 在 HCC 中的表达水平,需要在更多的细胞系中再次证实 miR-129-5p/SALL4 轴在 HCC 中的作用。

#### 参考文献:

- [1] PIÑERO F, DIRCHWOLF M, PESS A M G. Biomarkers in hepatocellular carcinoma: diagnosis, prognosis and treatment response assessment[J]. Cells, 2020, 9(6): 1370.

(下转第 34 页)

- [12] KONARSKI W, POBOZY T, ŚLIWCZYNSKI A, et al. Avascular necrosis of femoral head—overview and current state of the art [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(12):7348.
- [13] ZHAO D, ZHANG F, WANG B, et al. Guidelines for clinical diagnosis and treatment of osteonecrosis of the femoral head in adults (2019 version)[J]. *J Orthop Translat*, 2020, 21:100–110.
- [14] WHITMARS D, BROWN M A, CHRIST A B, LIN A J, et al. Modernizing our understanding of total hip arthroplasty in the pediatric and young adult patient: a single-center experience[J]. *J Pediatr Orthop*, 2023, 43(4):e290–e298.
- [15] XIA Y, SUN J, ZHAO L, et al. Magnetic field and nano-scaffolds with stem cells to enhance bone regeneration[J]. *Biomaterials*, 2018, 183:151–170.
- [16] RIBEIRO T P, FLORES M, MADUREIRA S, et al. Magnetic bone tissue engineering: reviewing the effects of magnetic stimulation on bone regeneration and angiogenesis[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(4):1045.
- [17] CHEN G, ZHUO Y, TAO B, et al. Moderate SMFs attenuate bone loss in mice by promoting directional osteogenic differentiation of BMSCs[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):487.
- [18] CAO H, SHI K, LONG J, et al. PDGF-BB prevents destructive repair and promotes reparative osteogenesis of steroid-associated osteonecrosis of the femoral head in rabbits[J]. *Bone*, 2023, 167:116645.
- [19] CHEN C, YANG S, FENG Y, et al. Impairment of two types of circulating endothelial progenitor cells in patients with glucocorticoid-induced avascular osteonecrosis of the femoral head[J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(1):70–76.
- [20] ZHANG Y, TIAN K, MA X, et al. Analysis of damage in relation to different classifications of pre-collapse osteonecrosis of the femoral head[J]. *J Int Med Res*, 2018, 46(2):693–698.
- [21] VICAS R M, BODOG F D, FUGARU F O, et al. Histopathological and immunohistochemical aspects of bone tissue in aseptic necrosis of the femoral head[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2020, 61(4):1249–1258.
- [22] LI X, LIU D, LI J, et al. Wnt3a involved in the mechanical loading on improvement of bone remodeling and angiogenesis in a postmenopausal osteoporosis mouse model[J]. *FASEB J*, 2019, 33(8):8913–8924.
- [23] WANG X, LI X, LI J, et al. Mechanical loading stimulates bone angiogenesis through enhancing type H vessel formation and down-regulating exosomal miR-214-3p from bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *FASEB J*, 2021, 35(1):e21150.
- [24] ABDURAHMAN A, LI X, LI J, et al. Loading-driven PI3K/Akt signaling and erythropoiesis enhanced angiogenesis and osteogenesis in a postmenopausal osteoporosis mouse model[J]. *Bone*, 2022, 157:116346.
- [25] WU D, KANG L, TIAN J, et al. Exosomes derived from bone mesenchymal stem cells with the stimulation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and static magnetic field enhance wound healing through upregulated miR-21-5p[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15:7979–7993.
- [26] WU D, CHANG X, TIAN J, et al. Bone mesenchymal stem cells stimulation by magnetic nanoparticles and a static magnetic field: release of exosomal miR-1260a improves osteogenesis and angiogenesis[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1):209.

(2023-09-27收稿)

(上接第 14 页)

- [2] LEE S K, LEE S W, JANG J W, et al. Immunological markers, prognostic factors and challenges following curative treatments for hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19):10271.
- [3] CHEN Z, XIE H, HU M, et al. Recent progress in treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(9):2993–3036.
- [4] CUCARULL B, TUTUSAUS A. Hepatocellular carcinoma: molecular pathogenesis and therapeutic advances[J]. *Cancer*, 2022, 14(3):621.
- [5] KHARE S, KHARE T, RAMANATHAN R. Hepatocellular carcinoma: the role of microRNAs[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(5):645.
- [6] ZENG A, YIN J, LI Y, et al. miR-129-5p targets Wnt5a to block PKC/ERK/NF- $\kappa$ B and JNK pathways in glioblastoma[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):394.
- [7] GAO G, XIU D, YANG B, et al. MiR-129-5p inhibits prostate cancer proliferation via targeting ETV1[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12:3531–3544.
- [8] XU C, DU Z, REN S, et al. MiR-129-5p sensitization of lung cancer cells to etoposide-induced apoptosis by reducing YWHAB[J]. *J Cancer*, 2020, 11(4):858–866.
- [9] HUGE N, REINKENS T, BUURMAN R, et al. MiR-129-5p exerts Wnt signaling-dependent tumor-suppressive functions in hepatocellular carcinoma by directly targeting hepatoma-derived growth factor HDGF[J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):192.
- [10] GAO B, WANG L, ZHANG N, et al. miR-129-5p inhibits clear cell renal cell carcinoma cell proliferation, migration and invasion by targeting SPN[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):263.
- [11] FU X, YANG Y, ZHANG D. Molecular mechanism of albumin in suppressing invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. *Liver Int*, 2022, 42(3):696–709.
- [12] XU S, LI W, WU J, et al. The role of miR-129-5p in cancer: a novel therapeutic target[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2022, 15(4):647–657.
- [13] LIU S, LIAO Q, XU W, et al. MiR-129-5p protects H9c2 cardiac myoblasts from hypoxia/reoxygenation injury by targeting TRPM7 and inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 77(5):586–593.
- [14] HUGE N, REINKENS T, BUURMAN R, et al. MiR-129-5p exerts Wnt signaling-dependent tumor-suppressive functions in hepatocellular carcinoma by directly targeting hepatoma-derived growth factor HDGF[J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):192.
- [15] SUN B, XU L, BI W, et al. SALL4 Oncogenic function in cancers: mechanisms and therapeutic relevance[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4):2053.
- [16] MOEIN S, TENEN D G, AMABILE G, et al. SALL4: an intriguing therapeutic target in cancer treatment[J]. *Cells*, 2022, 11(16):2601.
- [17] YIN F, HAN X, YAO S K, et al. Importance of SALL4 in the development and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(9):2837–2843.
- [18] SUN C, LAN P, HAN Q, et al. Oncofetal gene SALL4 reactivation by hepatitis B virus counteracts miR-200c in PD-L1-induced T cell exhaustion[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1241.

(2023-07-13收稿)