

文章编号 1006-8147(2019)02-0099-06

论 著

## MiR-148a-3p 通过靶向 SRPK2 抑制结肠癌细胞转移

王小东, 马博昭, 戚峰

(天津医科大学总医院普通外科, 天津 300052)

**摘要** 目的: MicroRNA (miRNA/miR) 参与结肠癌各种生物学过程。目前, miR-148a-3p 在结肠癌中的作用还不完全清楚。本研究旨在探讨 miR-148a-3p 对结肠癌细胞转移及侵袭能力的影响及机制。方法: 实时定量 PCR (qRT-PCR) 检测结肠癌细胞系中 miR-148a-3p 及 SRPK2 mRNA 的表达, Western blot 检测 SRPK2 蛋白的表达。使用 miR-148a-3p mimic, miR-148a-3p inhibitor 调节 HCT-116 及 SW480 细胞中 miR-148a-3p 的水平。通过划痕及 transwell 实验检测 miR-148a-3p 对结肠癌细胞迁移及侵袭能力的影响。生物信息学分析预测 miR-148a-3p 的靶点, 荧光素酶报告实验验证。Western blot 及 qRT-PCR 检测 miR-148a-3p 对结肠癌细胞上皮-间质转化及 SRPK2 表达的影响。结果: 与正常结肠粘膜细胞 FHC 相比, 结肠癌细胞系中 miR-148a-3p 水平降低 ( $P < 0.05$ )。结肠癌细胞中 miR-148a-3p 过表达可以明显抑制结肠癌细胞转移及侵袭能力 ( $P < 0.05$ )。相反的, 敲低 miR-148a-3p 结肠癌细胞转移及侵袭能力增强 ( $P < 0.05$ )。荧光素酶报告系统结果提示 SRPK2 是 miR-148a-3p 的直接作用靶点。过表达 miR-148a-3p 可以抑制 SRPK2 在结肠癌中的表达 ( $P < 0.05$ ), 但是敲低 miR-148a-3p 时 SRPK2 表达明显增高 ( $P < 0.05$ )。结论: MiR-148a-3p 可能通过靶向 SRPK2 抑制结肠癌细胞的转移及侵袭能力。MiR-148a-3p 可能成为诊断和治疗结肠癌的靶点之一。

**关键词** miRNA; 结肠癌; 转移; 上皮-间质转化

中图分类号 R735.3+5

文献标志码 A

### MiR-148a-3p inhibits colon cancer cell metastasis by targeting SRPK2

WANG Xiao-dong, MA Bo-zhao, QI Feng

(Department of General Surgery, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

**Abstract Objective:** To investigate the effects of miR-148a-3p on colon cancer cell metastasis and invasion. **Methods:** The expressions of miR-148a-3p and SRPK2 mRNA in colon cancer cell lines were detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The expression of SRPK2 protein was detected by Western blot. MiR-148a-3p mimic, miR-148a-3p inhibitor was used to regulate the level of miR-148a-3p in HCT-116 and SW480 cells. The effects of miR-148a-3p on the migration and invasion of colon cancer cells were examined by wound-healing and transwell assay. The target of miR-148a-3p was predicted by bioinformatics analysis and was verified by luciferase reporter assay. The effects of miR-148a-3p on epithelial-mesenchymal transition and SRPK2 expression in colon cancer cells were detected by Western blot and qRT-PCR. **Results:** MiR-148a-3p levels were reduced in CRC cell lines as compared to normal colon cell FHC ( $P < 0.05$ ). Overexpression of miR-148a-3p in colon cancer cells significantly inhibited the metastasis and invasion of colon cancer cells ( $P < 0.05$ ). In contrast, knockdown of miR-148a-3p showed an increased metastasis and invasion of colon cancer cells ( $P < 0.05$ ). SRPK2 is a direct target of miR-148a-3p. Overexpression of miR-148a-3p inhibited the expression of SRPK2 in colon cancer ( $P < 0.05$ ), while the expression of SRPK2 was significantly increased in miR-148a-3p CRC cells ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** MiR-148a-3p can inhibit the metastasis and invasion of colon cancer cells by targeting SRPK2. MiR-148a-3p might be one of the targets for the diagnosis and treatment of colon cancer.

**Key words** miRNA; colon cancer; metastasis; epithelial-mesenchymal transition

随着生活水平的提高和生活方式的改变, 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 的发病率每年都在增加<sup>[1]</sup>。肿瘤转移是 CRC 患者丧失手术机会的最重要原因之一。大约 20%~25% 的患者在初次诊断 CRC 时出现肝转移, 40%~50% 的患者在切除原发性 CRC 后发生肝转移<sup>[2]</sup>。尽管目前 CRC 的诊断和治疗方法

取得了显著进展, 肿瘤转移仍是影响结肠癌患者生存的重要因素<sup>[3]</sup>。目前, 术后化疗是Ⅲ期结肠癌患者的标准治疗<sup>[4]</sup>。因此, 寻找和开发结肠癌中的靶向治疗剂具有重要的意义。

MicroRNA (miRNA/miR) 代表一组独特的非编码 RNA 分子, 其通过与信使 RNA (message RNA, mRNA) 的 3'-UTR 区结合而转录后调节基因表达, 导致翻译抑制或 mRNA 降解<sup>[5]</sup>。越来越多的证据表明, miRNA 失调与许多人类疾病有关, 并且与各种

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (81570375)

作者简介 王小东 (1990-), 男, 博士在读, 研究方向: 普通外科; 通信作者: 戚峰, E-mail: qf@medmail.com.cn, qifengtmu2017@163.com。

肿瘤的增殖和转移密切相关,包括CRC<sup>[6]</sup>、乳腺癌<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>和胃癌<sup>[9]</sup>。很多研究已经证明,CRC中有很多miRNA的变化。例如,miR-135a、miR-137、miR-143、miR-148a-3p和miR-31<sup>[10-12]</sup>。MiR-135a可以通过影响p21和周期蛋白D2影响结肠癌细胞的增殖<sup>[13]</sup>。MiR-143过表达可以抑制结肠癌增殖,促进结肠癌细胞凋亡<sup>[14]</sup>。已经有研究显示,miR-148a-3p在早期复发Ⅱ期和Ⅲ期结直肠癌根治术后具有重要的临床意义。MiR-148a-3p的失调发生在多种肿瘤中,如胰腺癌<sup>[15]</sup>、胃癌<sup>[16-18]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[19]</sup>、乳腺癌<sup>[20]</sup>和鼻咽癌<sup>[21]</sup>等。MiR-148a-3p通过抑制DNA甲基化酶I的表达抑制胃癌的转移和侵袭<sup>[18]</sup>。MiR-148a-3p可以通过引导DNA甲基化从而调节乳腺癌表面雌激素受体的表达<sup>[20]</sup>。但是目前,miR-148a-3p对结肠癌的作用研究还很少,发挥作用的机制也不完全清楚。

富含丝氨酸/精氨酸蛋白特异性激酶(Serine/Arginine-rich protein specific kinases,SRPK),如SRPK1和SRPK2,可以磷酸化可变剪接因子/剪接因子2并调节细胞周期<sup>[22]</sup>。对于SRPK2,其发挥的主要作用是促进肿瘤细胞的转移<sup>[23]</sup>。但是目前SRPK2在结肠癌中的表达的调控机制还不完全清楚。

在本研究中,笔者发现相对于正常结肠粘膜上皮细胞,miR-148a-3p在结肠癌细胞中表达降低,SRPK2在结肠癌细胞中表达增高。在结肠癌细胞中过表达miR-148a-3p可以抑制结肠癌细胞的迁移及侵袭能力。相反的,miR-148a-3p inhibitor可以增强结肠癌细胞的迁移及侵袭能力。同时,miR-148a-3p可以影响结肠癌细胞上皮-间质转化。荧光素酶报告系统结果显示,SRPK2是miR-148a-3p的直接作用靶点。MiR-148a-3p过表达可以抑制SRPK2 mRNA和蛋白的表达,而miR-148a-3p敲低时,SRPK2 mRNA及蛋白表达增高。MiR-148a-3p通过调控SRPK2表达可能是影响结肠癌细胞转移的机制之一。

## 1 材料与方法

1.1 细胞培养 人结肠癌细胞系(SW480,SW620,LOVO和HCT-116)和人正常结肠上皮细胞系FHC从中国科学院(中国上海)购买或本实验室冻存。用含有10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基,在37℃,含有5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养细胞。培养基每2d更换1次。

1.2 细胞转染 转染前,将2.5×10<sup>4</sup>个细胞接种到6孔板的每个孔中并孵育24h,然后弃去培养基。用100 nmol/L miR-148a mimic(Ribobio,广州,中国)或200 nmol/L miR-148a inhibitor(Ribobio,广州,中国)

及对应的阴性对照(negative control, NC)转染细胞。使用Lipofectamine 2000试剂促进转染(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)。

1.3 划痕和transwell侵袭实验 通过划痕和带有Matrigel(BD Bioscience, USA)基质胶的transwell小室检测细胞迁移和侵袭能力。对于划痕实验,将转染后的细胞接种于6孔板中,当细胞达到90%汇合时,吸出培养基并用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗两遍。在含有1% FBS的培养基中饥饿培养过夜后吸出培养基。用200 μL移液管尖端在单层细胞表面划出三条平行的划痕,用PBS洗涤细胞以除去碎片,并培养24h观察划痕距离。对于transwell侵袭实验,将200 μL含有1×10<sup>5</sup>个细胞的无血清培养基加入上室中,并将600 μL含有10%胎牛血清(FBS)的培养基加入到下室中。在37℃培养24h后,除去基质胶,将穿透基质胶并到达基底膜的细胞在4%多聚甲醛中固定,用0.1%结晶紫染色10 min,并在倒置显微镜下计数细胞数。

1.4 荧光素酶报告系统 将结合miR-148a-3p的野生型(Wt)或突变型(Mut)SRPK2序列克隆到pGL3 Basic载体(Promega)中。将293T细胞接种在24孔板中48h后,将10 μg pLUC-Wt-SRPK2或pLUC-Mut-SRPK2与miR-148a-3p mimic或inhibitor(Ribobio,广州,中国)共转染到293T细胞中。培养箱中培养24h,裂解细胞并检测荧光素酶活性(Promega, USA)。

1.5 RNA提取和定量实时PCR(qRT-PCR) 通过RNA提取试剂盒(QIAGEN,上海,中国)提取总RNA,并将1 μg总RNA添加至20 μL的反应系统中。GoScript Reverse Transcription试剂盒(Promega, USA)用于HOTAIR的逆转录,miR-148a-5p通过茎环法逆转录(QIAGEN, Shanghai, China)。GAPDH和U6作为内参。引物序列如下:

miR-148a-3p, 上游,5'-GCTAGCCTCCGAAG-CAAACAATGAAA-3', 下游,5'-AAGCTTCGTCTA-CAAGGACTAACCGAAA-3';

SRPK2, 上游,5'-AGCTGGGATTATAGGCG-CAT-3', 下游,5'-TTGTTAGGGGAGGGAGCTTG-3';

Vimentin, 上游,5'-CATTGAGATTGCCACC-TAC-3', 下游,5'-CGTTGATAACCTGTCCATC-3';

E-cadherin, 上游,5'-AGAACGCATTGCCACAT-ACA-3', 下游,5'-GAGGATGCTGTAAGCGATGG-3';

N-cadherin, 上游,5'-ATGAAAGACCCATCCAC-G-3', 下游,5'-CCTGCTCACCACCACTA-3';

GAPDH:上游,5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-

3',下游 5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3';

U6: 上游,5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游,5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。PCR 反应进行 40 个循环,并使用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算 RNA 相对表达。

1.6 蛋白质印迹分析 (Western blot) 使用 RIPA 裂解液裂解 CRC 细胞以获得总蛋白。每个样本 40  $\mu$ g 总蛋白分别加入 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)的样本孔中进行凝胶电泳,电泳结束后将蛋白质转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF 膜, Millipore, USA)上。用 0.5%牛血清白蛋白封闭具有印迹蛋白的膜 2 h,然后用抗 E-cadherin 抗体(1:1 500, Cell Signaling Technology (CST), USA), 抗 N-cadherin 抗体(1:1 500, CST, USA), 抗 Vimentin 抗体(1:1 500, CST, USA), 抗 SRPK2 抗体 (1:1 500, R&D Systems, USA) 或抗  $\beta$ -actin 抗体 (1:3 000, CST, USA), 4  $^{\circ}$ C 过夜孵育。洗涤膜 3 次并在室温下用稀释的辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(1:2 500, CST, USA)孵育 2 h。使用化学发光检测试剂盒(Millipore, USA)检测免疫反应性蛋白质条带。通过 G-Box 系统 (Syngene, USA)获得图像并通过 Image J 软件(美国国立心理健康研究所, USA)进行分析。

1.7 统计学分析 使用  $t$  检验或单因素方差分析 (ANOVA)分析连续数据。所有数据均使用 Statistic Package for Social Science 软件 (SPSS 19.0, USA)和 GrapPad Prism(GraphPad Software, Version 5.0, USA) 进行统计学分析。所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  表示有统计学意义。每个实验均进行了 3 次独立实验。

## 2 结果

2.1 miR-148a-3p 结肠癌细胞系中低表达, SRPK2 在结肠癌细胞系中高表达 首先检测了人结肠癌细胞中与人正常结肠粘膜细胞 FHC 中 miR-148a-3p 及 SRPK2 的表达情况。结果显示,相对于 FHC, 结肠癌细胞系 HCT-116, SW480, LOVO 和 SW620 中 miR-148a-3p 表达降低 ( $P < 0.05$ )(图 1a)。相反的, SRPK2 mRNA 及蛋白在结肠癌细胞系中高表达 ( $P < 0.05$ )(图 1b, 1c)。在接下来的实验中,笔者选择 HCT-116 和 SW480 两种细胞进行实验。

2.2 miR-148a-3p 抑制结肠癌细胞侵袭及转移 为了检测 miR-148a-3p 对结肠癌细胞迁移及侵袭能力的影响,笔者进行了划痕试验和 transwell 试验。使用 miR-148a-3p mimic, miR-148a-3p inhibitor 及对应 NC 转染结肠癌细胞。如图 2a 所示, miR-148a-3p mimic, miR-148a-3p inhibitor 可以明显增加和降低结肠癌细胞中 miR-148a-3p 的水平( $P < 0.05$ )。划痕实验结果显示, 过表达 miR-148a-3p 的结肠

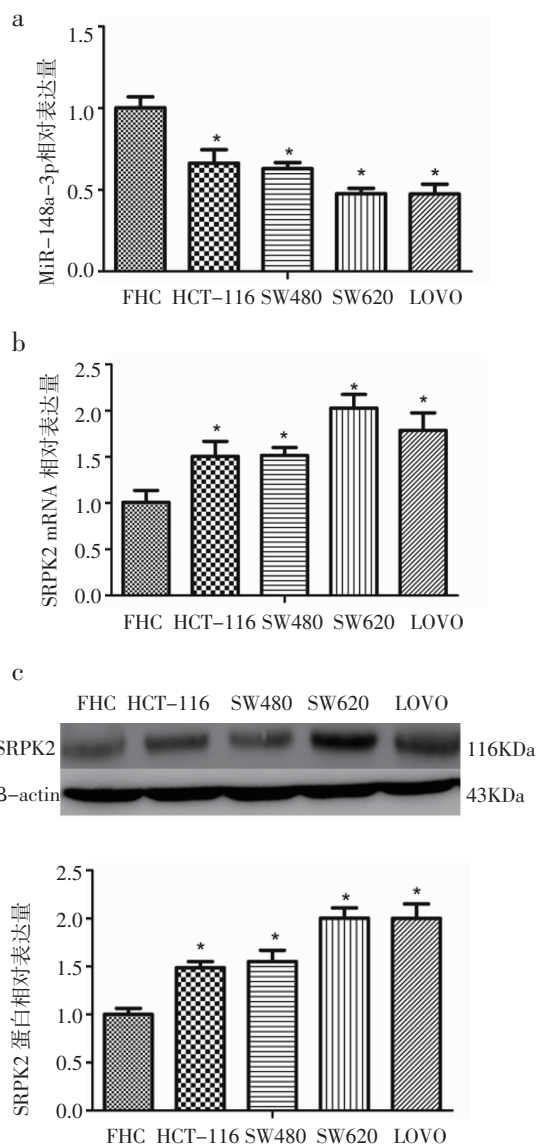


图1 MiR-148a-3p 及 SRPK2 在结肠癌细胞系中的表达

Fig 1 The expression of miR-148a-3p and SRPK2 in colon cancer cell lines

癌细胞相对迁移距离明显下降 ( $P < 0.05$ ), 而敲低 miR-148a-3p 的结肠癌细胞相对迁移距离明显增加 ( $P < 0.05$ )(图 2b)。此外,过表达 miR-148a-3p 的结肠癌细胞穿透基质胶的细胞数目减少 ( $P < 0.05$ ), 而敲低 miR-148a-3p 的结肠癌细胞穿透基底膜的细胞数目增加 ( $P < 0.05$ )(图 2c)。这些结果提示我们, miR-148a-3p 可以影响结肠癌细胞迁移及侵袭能力。

2.3 MiR-148a 抑制结肠癌细胞发生上皮-间质转化 上皮间质转化是肿瘤转移过程中的重要生物学过程之一。为了检测 miR-148a-3p 对结肠癌上皮间质转化的影响,笔者检测了上皮标志 E-cadherin, 间质标志 N-cadherin 及 Vimentin 的表达。结果如图 3a, 3b 显示,过表达 miR-148a-3p 的结肠癌细胞 E-

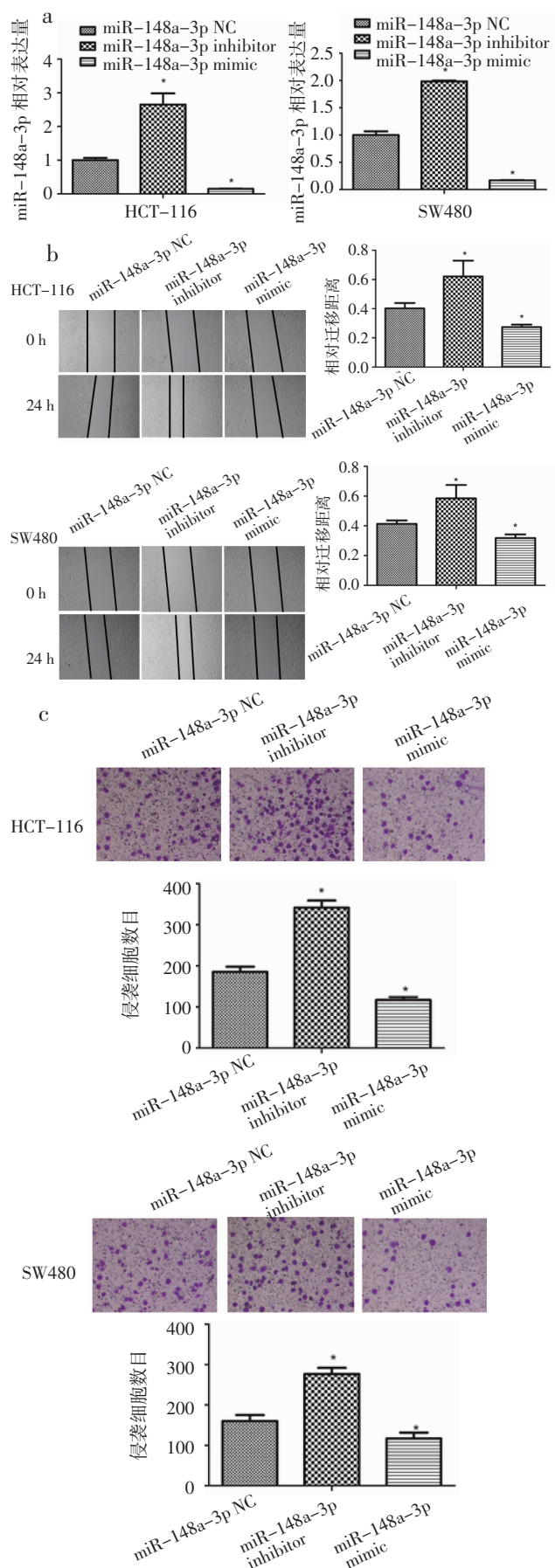


图2 MiR-148a-3p对HCT-116及SW480迁移及侵袭能力的影响  
Fig 2 The effect of miR-148a-3p on migration and invasion of HCT-116 and SW480

cadherin 表达增加 ( $P<0.05$ ), N-cadherin 及 Vimentin 表达降低 ( $P<0.05$ )。而在 miR-148a-3p 敲低的结肠癌细胞中, E-cadherin 表达明显降低 ( $P<0.05$ ), N-cadherin 和 Vimentin 表达明显增加 ( $P<0.05$ )。这些结果提示, miR-148a-3p 可以抑制结肠癌细胞上皮-间质转化。

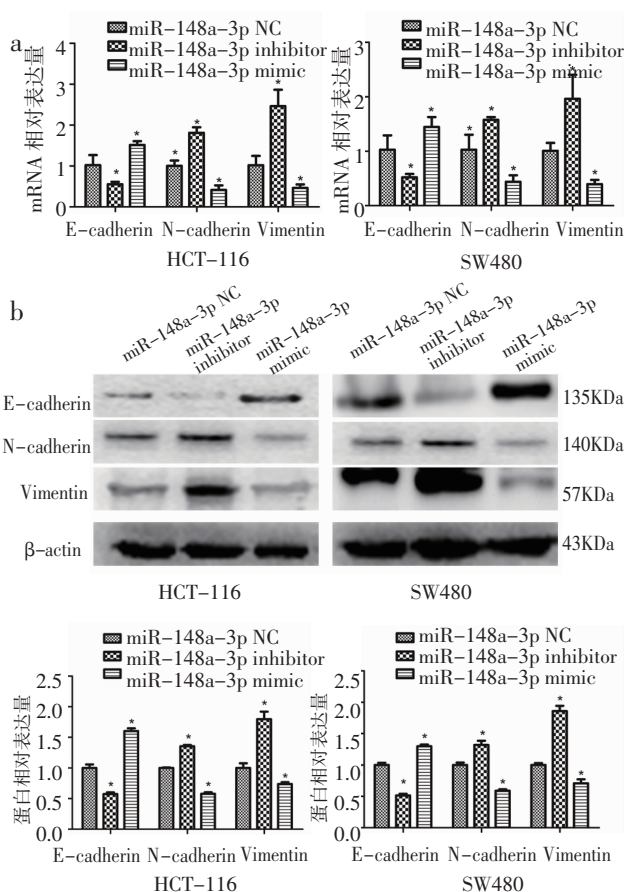


图3 MiR-148a-3p对HCT-116及SW480上皮-间质转化的影响  
Fig 3 The effect of miR-148a-3p on epithelial-mesenchymal transition of HCT-116 and SW480

2.4 SRPK2 是 miR-148a-3p 的直接靶点 为了阐明 miR-148a-3p 抑制 CRC 细胞迁移的潜在机制, 笔者使用 TargetScan 7.2 和 miRPathDB 数据库预测了 miR-148a-3p 的可能靶点。预测结果显示 SRPK2 是 miR-148a-3p 的潜在靶点。为了证明 SRPK2 是 miR-148a-3p 的直接靶点, 笔者进行了荧光素酶报告实验。将结合 miR-148a-3p 的野生型 (Wt) 或突变型 (Mut) SRPK2 序列克隆到 pGL3 Basic 载体中 (图 4a), 并与 miR-148a-3p mimic 或 miR-148a-3p inhibitor 共转染 293T 细胞后检测荧光素酶活性。实验结果显示, miR-148a-3p mimic 和 Wt-SRPK2 共转染的 293T 细胞中荧光素酶活性明显下降 ( $P<0.05$ ) (图 4b)。相反, 当 Wt-SRPK2 和 miR-148a-3p inhibitor 共转染到 293T 细胞中时, 荧光素酶活性增加 ( $P<0.05$ ) (图 4b)。这个结果提示, SRPK2 可能是

miR-148a-3p 的直接作用靶点。

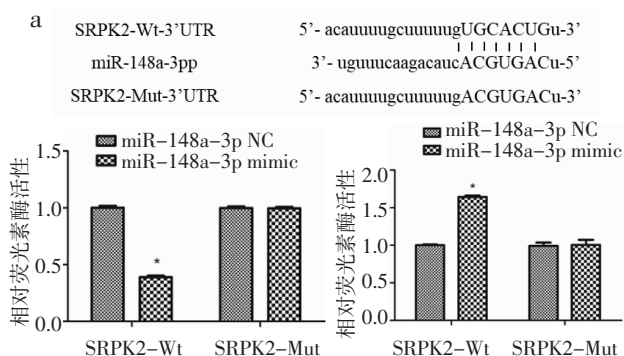


图4 荧光素酶报告实验验证 SRPK2 是 miR-148a-3p 的直接作用靶点  
Fig 4 Verification of SRPK2 as a direct target of miR-148a-3p using the luciferase reporter assay

2.5 MiR-148a-3p 抑制结肠癌细胞系中 SRPK2 的表达 为了证实 miR-148a-3p 对 CRC 细胞中 SRPK2 表达的影响,笔者进一步检测了 miR-148a-3p mimic 或 inhibitor 转染的 CRC 细胞中 SRPK2 的 mRNA 和蛋白质表达。结果显示,用 miR-148a-3p inhibitor 转染结肠癌细胞后,SRPK2 的 mRNA 及蛋白水平明显增加( $P<0.05$ ) (图 5a,5b)。相反的,用 miR-148a-3p mimic 转染结肠癌细胞后,SRPK2 的 mRNA 及蛋白表达明显降低( $P<0.05$ ) (图 5a,5b)。这些结果提示,miR-148a-3p 可以直接影响 SRPK2 表达。

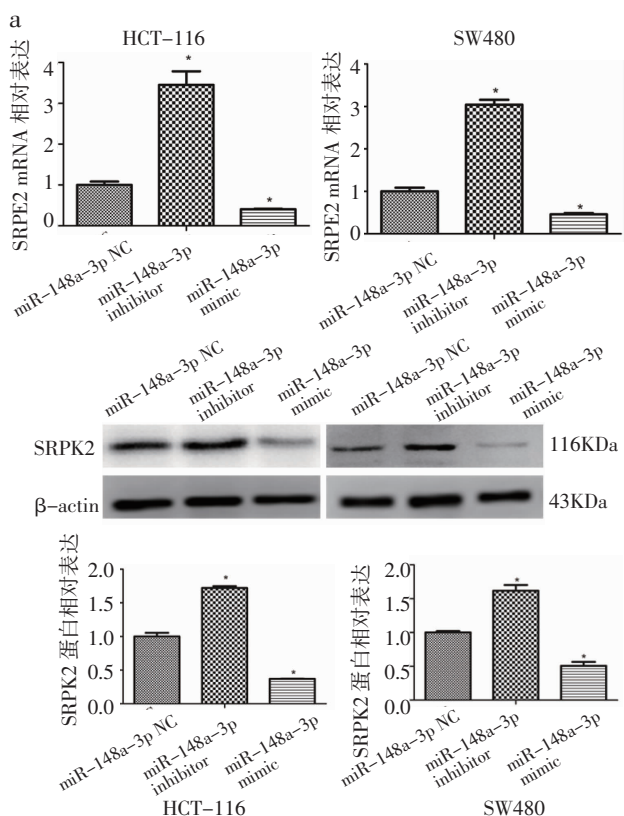


图5 MiR-148a-3p 对 HCT-116 及 SW480 中 SRPK2 表达的影响  
Fig 5 The effect of miR-148a-3p on the expression of SRPK2 in HCT-116 and SW480

### 3 讨论

MiRNA 的失调与几乎所有类型的疾病相关,包括肿瘤<sup>[24]</sup>。许多研究已经证明 miRNA 失调在 CRC 发生和发展中起重要作用<sup>[25]</sup>。目前,miRNA 的预后价值和潜在的作用机制仍有待进一步研究<sup>[26]</sup>。MiR-148a-3p 在结肠癌的低表达可能与结肠癌的发生与不良预后有关<sup>[27-28]</sup>。但是目前 miR-148a-3p 在结肠癌中的调控作用还不完全明确。在本研究中,笔者发现 miR-148a-3p 在结肠癌细胞系中低表达。过表达 miR-148a-3p 可以抑制结肠癌细胞的转移及侵袭能力,同时抑制结肠癌细胞发生上皮间质转化。荧光素报告实验结果显示 SRPK2 是 miR-148a-3p 的直接作用靶点。在结肠癌细胞中过表达 miR-148a-3p 可以抑制 SRPK2 的表达。MiR-148a-3p 可能通过 SRPK2 来影响结肠癌的进展。

MiRNA 的失调与 CRC 的发生发展及耐药性的产生关系密切。例如,miR-34c-5p 高表达肿瘤患者预后差,可以抑制结肠癌细胞的凋亡<sup>[29]</sup>。MiR-92b-3p 可以促进结肠癌细胞增殖,转移及侵袭<sup>[30]</sup>。然而,并不是所有的 miRNA 均表现出肿瘤促进作用,很多研究已经显示有些 miRNA 在抑制肿瘤过程中起到重要的作用。例如,miR-233 可以抑制结肠癌的增殖及促进凋亡<sup>[31]</sup>。MiR-206 可以调节结肠癌细胞对 5-氟尿嘧啶的抗性<sup>[32]</sup>。MiR-153 可以抑制 IDO1 表达从而增强 CART 的治疗效果。在本研究中,笔者发现 miR-148a-3p 在结肠癌细胞中低表达,过表达 miR-148a-3p 可以明显抑制结肠癌的转移及侵袭能力。同时,miR-148a-3p 过表达可以抑制结肠癌细胞发生上皮间质转化。

许多研究已经证明,miRNA 主要通过调控其靶基因的表达发挥调控作用。例如,miR-218 可以通过靶向 cFLIP 诱导结肠癌细胞凋亡<sup>[33]</sup>。本研究中,笔者通过 TargetScan 7.2 和 miRPathDB 数据库预测了 miR-148a-3p 的潜在靶点,结果提示 SRPK2 是 miR-148a-3p 的潜在靶点。荧光素酶活性实验提示,SRPK2 是 miR-148a-3p 的直接靶点。但是,由于 miRNA 可能具有多个靶点,通过作用于不同的靶点可发挥不同的生物学作用。因此 miR-148a-3p 在结肠癌中的作用还需要进一步的探究。

SRPK2 主要参与介导哺乳动物细胞中前体 mRNA 剪接因子的相互作用和定位<sup>[34]</sup>。近期的研究显示,SRPK2 与肿瘤的侵袭与转移相关<sup>[23,35]</sup>。但是,SRPK2 在肿瘤细胞中的表达调控机制还不清楚。肿瘤细胞发生上皮间质转化是肿瘤发生转移的重要过程之一。为了进一步探究 miR-148a-3p 调

控 SRPK2 的表达是否影响结肠癌细胞的上皮间质转化,分别上调或者下调结肠癌细胞中 miR-148a-3p 的表达水平。在结肠癌细胞中过表达 miR-148a-3p 时,SRPK2 mRNA 及蛋白表达降低,肿瘤的转移及侵袭能力受抑制。相反的,结肠癌中 miR-148a-3p 敲低时,SRPK2 mRNA 及蛋白表达增加,结肠癌细胞转移及侵袭能力增强。因此笔者推测,miR-148a-3p 可能通过影响 SRPK2 的表达,影响结肠癌细胞的上皮间质转化。因此,进一步通过 Western blot 检测了结肠癌细胞中上皮标志 E-cadherin 及间质标志 N-cadherin 和 Vimentin 的表达。结果显示,miR-148a-3p 过表达,SRPK2 表达降低的同时,E-cadherin 表达增加,而 N-cadherin 和 Vimentin 表达降低。相反的,miR-148a-3p 敲低时,SRPK2 表达增加,上皮标志 E-cadherin 表达降低,间质标志 N-cadherin 和 Vimentin 表达增加。这些结果提示,miR-148a-3p 可能通过调节 SRPK2 的表达,影响结肠癌细胞的上皮间质转化,改变结肠癌细胞的迁移及侵袭能力。

综上所述,笔者发现 miR-148a-3p 在抑制结肠癌细胞转移及侵袭过程中起到了重要的作用,发现了 miR-148a-3p 调控结肠癌细胞转移及侵袭的新机制。结果显示 miR-148a-3p 过表达可以通过降低 SRPK2 表达抑制结肠癌细胞的转移及侵袭。miR-148a-3p/SRPK2 可能参与结肠癌转移的调控,可能成为治疗结肠癌的新靶点。

#### 参考文献:

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7
- [2] Garden O J, Rees M, Poston G J, et al. Guidelines for resection of colorectal cancer liver metastases[J]. Gut, 2006, 55(Suppl 3): 1
- [3] Gallagher D J, Kemeny N. Metastatic colorectal cancer: from improved survival to potential cure[J]. Oncology, 2010, 78(3/4): 237
- [4] Andre T, Bondi C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(19): 3109
- [5] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281
- [6] Yan W, Yang W, Liu Z, et al. Characterization of microRNA expression in primary human colon adenocarcinoma cells (SW480) and their lymph node metastatic derivatives(SW620)[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11(47):4701
- [7] Munkacsy G, Szasz M A, Menyhart O. Gene expression-based prognostic and predictive tools in breast cancer[J]. Breast Cancer, 2015, 22(3): 245
- [8] Xu C, Zheng Y, Lian D, et al. Analysis of microRNA expression profile identifies novel biomarkers for non-small cell lung cancer[J]. Tumori, 2015, 101(1): 104
- [9] Guo J, Miao Y, Xiao B, et al. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(4): 652
- [10] Baffa R, Fassan M, Volinia S, et al. MicroRNA expression profiling of human metastatic cancers identifies cancer gene targets[J]. J Pathol, 2009, 219(2): 214
- [11] Katar S, Baran O, Evran S, et al. Expression of miRNA-21, miRNA-107, miRNA-137 and miRNA-29b in meningioma[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2017, 156:66
- [12] Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNA-143 and -145 in colon cancer [J]. DNA Cell Biol, 2007, 26(5): 311
- [13] Schlormann W, Naumann S, Renner C, et al. Influence of miRNA-106b and miRNA-135a on butyrate-regulated expression of p21 and Cyclin D2 in human colon adenoma cells[J]. Genes Nutr, 2015, 10(6): 50
- [14] Borralho P M, Simoes A E, Gomes S E, et al. miR-143 overexpression impairs growth of human colon carcinoma xenografts in mice with induction of apoptosis and inhibition of proliferation[J]. PloS one, 2011, 6(8): e23787
- [15] Liffers S T, Munding J B, Vogt M, et al. MicroRNA-148a is down-regulated in human pancreatic ductal adenocarcinomas and regulates cell survival by targeting CDC25B[J]. Lab Invest, 2011, 91(10): 1472
- [16] Zheng B, Liang L, Wang C, et al. MicroRNA-148a suppresses tumor cell invasion and metastasis by downregulating ROCK1 in gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(24): 7574
- [17] Wang S H, Li X, Zhou L S, et al. microRNA-148a suppresses human gastric cancer cell metastasis by reversing epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Tumour Biol, 2013, 34(6): 3705
- [18] Shi H, Chen X, Jiang H, et al. miR-148a suppresses cell invasion and migration in gastric cancer by targeting DNA methyltransferase 1 [J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 4944
- [19] Chen Y, Min L, Zhang X, et al. Decreased miRNA-148a is associated with lymph node metastasis and poor clinical outcomes and functions as a suppressor of tumor metastasis in non-small cell lung cancer [J]. Oncol Rep, 2013, 30(4): 1832
- [20] Xu Y, Chao L, Wang J, et al. miRNA-148a regulates the expression of the estrogen receptor through DNMT1-mediated DNA methylation in breast cancer cells [J]. Oncol Lett, 2017, 14(4): 4736
- [21] Li H P, Huang H Y, Lai Y R, et al. Silencing of miRNA-148a by hypermethylation activates the integrin-mediated signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma [J]. Oncotarget, 2014, 5(17): 7610
- [22] Jang S W, Yang S J, Ehlen A, et al. Serine/arginine protein-specific kinase 2 promotes leukemia cell proliferation by phosphorylating acinus and regulating cyclin A1[J]. Cancer Res, 2008, 68(12): 4559
- [23] Wang J, Wu H F, Shen W, et al. SRPK2 promotes the growth and migration of the colon cancer cells [J]. Gene, 2016, 586(1): 41
- [24] Volinia S, Calin G A, Liu C G, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(7): 2257

- [19] Van Barneveld K W, Smeets B J, Heesakkers F F, et al. Beneficial effects of early enteral nutrition after major rectal surgery: a possible role for conditionally essential amino acids results of a randomized clinical trial[J]. Crit Care Med, 2016, 44(6): e353
- [20] 周红飞, 张文熠, 陆少波, 等. 早期肠内营养支持对腹腔镜结直肠癌患者术后营养、应激及预后的随机对照研究[J]. 中华普通外科杂志: 电子版, 2017, 11(4): 222
- [21] Gianfredi V, Salvatori T, Villarini M, et al. Is dietary fibre truly protective against colon cancer? A systematic review and meta-analysis[J]. Int J Food Sci Nutri, 2018, 69(8): 904
- [22] Li H X, Chen Y, Huo F F, et al. Association between acute gastrointestinal injury and biomarkers of intestinal barrier function in critically ill patients[J]. BMC Gastroenterol, 2017, 17(1): 45
- [23] Karabulut K U, Narci H, Gul M, et al. Diamine oxidase in diagnosis of acute mesenteric Ischemia[J]. Am J Emerg Med, 2013, 31(2): 309
- [24] Sarbinowski R, Arvidsson S, Tylman M, et al. Plasma concentration of procalcitonin and systemic inflammatory response syndrome after colorectal surgery[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2005, 49(2): 191
- [25] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection[J]. Lancet, 1993, 341(8844): 515
- [26] 熊明洁, 范红, 郭靛. 80例脓毒血症患者血清降钙素原监测和预后评估的临床研究[J]. 重庆医学, 2011, 40(30): 3076
- [27] Chen J, Vitetta L. Inflammation-modulating effect of butyrate in the prevention of colon cancer by dietary fiber [J]. Clin Colorectal Cancer, 2018, 17(3): e541
- [28] Liu J, Xia Q. Relationship of dietary fiber and early enteral nutrition with digestive complications after surgical treatment of gastric cancer[J]. Zhong hua Wei Chang Wai Ke Za zhi, 2005, 8(3): 223
- [29] Xu R, Ding Z, Zhao P, et al. The effects of early Post-Operative soluble dietary fiber enteral nutrition for colon cancer[J]. Nutrients, 2016, 8(9): 584

(2018-09-05 收稿)

(上接第 104 页)

- [25] Schetter A J, Leung S Y, Sohn J J, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma [J]. JAMA, 2008, 299(4): 425
- [26] Lodes M J, Caraballo M, Suci D, et al. Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray[J]. PloS One, 2009, 4(7): e6229
- [27] Baltruskeviciene E, Schweigert D, Stankevicius V, et al. Down-regulation of miRNA-148a and miRNA-625-3p in colorectal cancer is associated with tumor budding [J]. BMC cancer, 2017, 17(1): 607
- [28] Tsai H L, Yang I P, Huang C W, et al. Clinical significance of miRNA-148a in patients with early relapse of stage II stage and III colorectal cancer after curative resection [J]. Translational Research, 2013, 162(4): 258
- [29] Li N, Mao D, Cao Y, et al. Downregulation of SIRT6 by miR-34c-5p is associated with poor prognosis and promotes colon cancer proliferation through inhibiting apoptosis via the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. Int J Oncol, 2018, doi:10.3892/ijO. 2018.4304
- [30] Gong L, Ren M, Lv Z, et al. miR-92b-3p Promotes Colorectal Carcinoma Cell Proliferation, Invasion, and Migration by Inhibiting FBXW7 In Vitro and In Vivo [J]. DNA Cell Biol, 2018, 37(5): 501
- [31] Wei L J, Li J A, Bai D M, et al. miR-223-RhoB signaling pathway regulates the proliferation and apoptosis of colon adenocarcinoma [J]. Chem Biol Interact, 2018, 289: 9
- [32] Meng X, Fu R. miR-206 regulates 5-FU resistance by targeting Bcl-2 in colon cancer cells [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 1757
- [33] Meng Q, Chen Y, Lian B, et al. miR218 promotes apoptosis of SW1417 human colon cancer cells by targeting cFLIP [J]. Oncol Rep, 2018, 40(2): 916
- [34] Wang H Y, Lin W, Dyck J A, et al. SRPK2: a differentially expressed SR protein-specific kinase involved in mediating the interaction and localization of pre-mRNA splicing factors in mammalian cells [J]. J Cell Biol, 1998, 140(4): 737
- [35] Zhuo Y J, Liu Z Z, Wan S, et al. Enhanced expression of SRPK2 contributes to aggressive progression and metastasis in prostate cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102(5): 31

(2018-09-03 收稿)