



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.06.013
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.06.013
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(6):723-730.

· 基础研究 ·

microRNA-124 对胃癌细胞增殖与凋亡的影响及其与 PI3K/Akt 信号通路的关系

韦维, 黄海舫, 陆佳明, 周莅

(右江民族医学院附属医院 胃肠外科, 广西 百色 533000)

摘要

背景与目的: 研究显示, microRNA-124 (miR-124) 在多种肿瘤中发挥抑癌基因的功能, 并且在胃癌细胞及组织中表达下调, 在胃癌的发生发展中发挥重要调控作用。本研究探讨 miR-124 对人胃癌细胞增殖、凋亡的影响及其与 PI3K/Akt 信号通路的关系。

方法: 用 qRT-PCR 检测人胃癌细胞系 MGC803、AGS、MNK-45、SGC-7901 和人正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 中 miR-124 的表达。用 miR-124 模拟物 (miR-124 模拟物组) 及 miR-124 阴性对照序列 (阴性对照组) 分别转染至 MGC803 细胞后, 用 CCK-8 法及细胞克隆实验检测 MGC803 细胞增殖情况, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western blot 检测 PI3K、Akt、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平, qRT-PCR 检测 PI3K 和 Akt mRNA 表达。

结果: 与人正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 比较, miR-124 在各胃癌细胞中的表达均明显降低 (均 $P < 0.05$)。与阴性对照组比较, miR-124 模拟物组转染后的 OD450 值与细胞克隆形成数均明显降低 ($P < 0.05$); 细胞凋亡率明显增加 ($P < 0.05$); PI3K/Akt 信号通路中关键分子 PI3K、Akt、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平明显降低 (均 $P < 0.05$), PI3K 和 Akt 基因表达水平也明显降低 (均 $P < 0.01$)。

结论: miR-124 表达的下调可促进胃癌细胞的增殖、抑制其凋亡, 该作用机制可能与 PI3K/Akt 信号通路活化有关。

关键词

胃肿瘤; 微 RNAs; 细胞增殖; 细胞凋亡; 磷酸肌醇 3- 激酶; 蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶
中图分类号: R735.2

Effects of microRNA-124 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells and its relation with PI3K/Akt signaling pathway

WEI Wei, HUANG Haige, LU Jiaming, ZHOU Li

(Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract

Background and Aims: Previous studies have demonstrated that microRNA-124 (miR-124) plays an important role in a variety of cancers, and is down-regulated in gastric cancer cells and tissues. This study was conducted to investigate the influences of miR-124 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells and its association with

基金项目: 广西教育厅高校科研基金资助项目 (YB2014293)。

收稿日期: 2019-09-19; **修订日期:** 2020-04-21。

作者简介: 韦维, 右江民族医学院附属医院主治医师, 主要从事胃肠肿瘤的基础与临床方面的研究。

通信作者: 韦维, Email: ww62589@163.com

PI3K/Akt signaling pathway.

Methods: The expressions of miR-124 in human gastric cancer cells MGC803, AGS, MNK-45 and SGC-7901 as well as in normal gastric mucosa epithelial GES-1 cells were determined by qRT-PCR. In MGC803 cells after transfected with miR-124 mimics (miR-124 mimics group) and negative control sequences (negative control group), the cell proliferation was detected by CCK-8 assay and cell clone assay, the apoptosis was measured by flow cytometry, the protein expressions of PI3K, Akt, p-PI3K and p-Akt were examined by Western blot, and mRNA expressions of PI3K and Akt were analyzed by qRT-PCR.

Results: The expressions of miR-124 in all studied gastric cancer cell lines were all significantly lower than that in normal gastric mucosa epithelial GES-1 cells (all $P < 0.05$). In miR-124 mimics group compared with negative control group after transfection, the OD450 values of and numbers of cell clone formation were all significantly reduced (all $P < 0.05$); the apoptosis rates were all significantly increased (all $P < 0.05$); the expression levels of PI3K, Akt, p-PI3K and p-Akt proteins from PI3K/Akt signaling pathway were significantly down-regulated (all $P < 0.05$) and the gene expression levels of PI3K and Akt were also significantly down-regulated (all $P < 0.05$).

Conclusion: Down-regulation of miR-124 can promote proliferation and inhibit apoptosis of gastric cancer cells, and the mechanism may probably associated with the activation of PI3K/Akt signaling pathway.

Key words

Stomach Neoplasms; MicroRNAs; Cell Proliferation; Apoptosis; Phosphatidylinositol 3-Kinase; Protein-Serine-Threonine Kinases

CLC number: 735.2

胃癌是全球高发的恶性肿瘤之一，据2015年我国国家癌症中心统计，胃癌在我国恶性肿瘤病死率排名第3位^[1-2]。microRNAs (miRNAs) 是一类由内源基因编码的长度约为18~25个核苷酸序列的小分子RNA，作为肿瘤标志物参与胃癌的发生发展、侵袭转移及化疗抵抗，受到学术界越来越多的关注^[3-4]。据文献^[5-6]报道，miRNA发挥癌基因和抑癌基因的功能，参与细胞增殖、凋亡和分化的调控，在肿瘤的发生发展过程中具有重要作用。其中，miR-124在多种肿瘤中发挥抑癌基因的功能，如膀胱癌、肺癌、乳腺癌和前列腺癌^[7-10]。磷脂酰肌醇3激酶 (phosphatidylinositol-3-kinases, PI3K) /蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶 (protein-serine-threonine kinase, Akt) 信号通路在肿瘤的发生和发展过程中常被激活，被认为是肿瘤治疗的关键信号途径，是肿瘤治疗的关键靶点^[11]。有研究^[12]发现，miR-107表达抑制胃癌细胞的增殖和转移；过表达miR-107可通过调控PI3K/Akt信号通路抑制胃癌细胞增殖。近年，有学者^[13]发现，miR-124在胃癌细胞及组织中表达下调，且在胃癌的发生发展中发挥重要调控作用。但目前miR-124对胃癌细胞增殖、凋亡影响的机制

研究较少。本研究主要探讨miR-124对胃癌细胞增殖、凋亡的影响，并进一步研究其调控PI3K/Akt信号通路的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 胃癌细胞系 MGC803、AGS、MNK-45、SGC-7901 和人正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 均购自上海中科院细胞库，由本科室实验室保存。

1.1.2 主要试剂 TRIzol™ Reagent、Lipofectamine™ 2000试剂均购自 Invitrogen 公司；SYBR Green qPCR Mix、4× Reverse Transcription Master Mix 均购自 TaKaRa 公司；CCK8 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司；Transwell 小室购自上海子起生物科技有限公司；miR-124 模拟物、阴性对照序列购自上海吉玛公司；胎牛血清购自美国 PeproTech 公司；DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司；PI3K、Akt、p-PI3K 和 p-AKT 单克隆抗体、HRP 标记山羊抗兔 IgG 二抗均购自美国 Abcam 公司；引物均由上海生工生物工程公司设计合成

(其中 miR-124 引物序列正向: 5'-GCT AAG GCA CGC GGT G-3', 反向: 5'-GTG CAG GGT CCG AGG T-3'; U6 正向: 5'-GCT CGC TTC GGC AGC ACA-3', 反向: 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3')。

1.1.3 主要仪器 1658033 小型蛋白垂直电泳转印系统(武汉科昊佳生物科技有限公司); ABI 7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司); 美国 SHELLAB 2406-2 CO₂ 培养箱(美国 SHELLAB 公司); CLARIOstar 全功能多功能酶标仪(德国 BMG LABTECH 公司); 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及 miR-124 的表达水平检测 将各胃癌细胞系及人正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 培养在含 10% 的胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养, 用于后续的实验。采用 qRT-PCR 技术检测各细胞系内 miR-124 的表达。收集细胞后, PBS 洗涤 2 遍, 离心取细胞沉淀, 按照 Trizol™ Reagent 说明书提取胃癌细胞 MGC803 的总 RNA, 依据 4 × Reverse Transcription Master Mix 试剂盒说明书将组织总 RNA 逆转录为总 cDNA, 按照 SYBR Green qPCR Mix 试剂盒说明书操作, 以 cDNA 为模板, 进行荧光定量 PCR 反应。反应条件: 94 °C 2 min, 94 °C 20 s, 60 °C 30 s, 共 40 个循环。以 U6 为内参, miR-124 基因的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.2.2 细胞转染 选择 MGC803 细胞作为研究对象, 分别设置 miR-124m 模拟物与阴性对照组, 待 MGC803 细胞培养至对数生长期时, 使用胰酶消化细胞后, 洗涤 2 遍后应用完全培养基将细胞调至 3.0×10^6 个/mL, 取 200 μL 细胞液接种至 corning 6 孔板中培养 24 h。分别向 3 个 EP 管中加入 5 μL Lipofectamine™2000, 5 μL Lipofectamine™2000 + 阴性质粒, 5 μL Lipofectamine™2000 + 5 μL miR-124 模拟物, 室温静置 5 min 后混合, 加入不含血清的 DMEM 培养基调整终体积至 2 mL, 置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度下培养 6 h 后, 更换完全培养基继续培养, 完成 MGC803 细胞转染, 并继续扩大培养以用于后续实验。

1.2.3 qRT-PCR 检测转染后细胞内 miR-124 的

表达 细胞转染成功后, 采用 qRT-PCR 技术检测细胞内 miR-124 的表达。按“1.2.1”项下方法进行 PCR 扩增, 均以 U6 为内参, miR-124 基因的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.2.4 CCK8 检测细胞增殖水平 待转染后的 MGC803 细胞生长至对数期时, 使用胰酶消化细胞后, 洗涤 2 遍后应用完全培养基将细胞调至 3.0×10^3 个/mL, 每孔(96 孔板)接种 100 μL 细胞液。分别培养 24、48、72 h, 加入配置好的 CCK8 试剂(10 μL CCK8 试剂+90 μL 完全培养基)孵育 2 h, 采用酶标仪检测 OD₄₅₀ 值。

1.2.5 细胞克隆实验 两组细胞以 200 个/皿接种于 60 mm 的细胞培养皿(含 10 mL 培养液)中, 置 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中孵育, 2 周后肉眼可见细胞克隆的形成。小心吸弃培养液, 用 PBS 洗涤 2 次, 将两组细胞以 4% 的多聚甲醛固定 15 min, 再用 0.1% 的结晶紫染色 20 min, 用清水清洗染液并风干, 于荧光显微镜下随机选取 5 个视野统计形成的细胞克隆数(大于 50 个克隆数为有效克隆)。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 消化 MGC803 细胞后使用含血清 DMEM 培养基将细胞浓度调至 3×10^5 个/mL, 收集对数生长的各组细胞, 据说明书进行操作, 采用 Annexin V/PI 凋亡试剂盒检测不同时间点各组细胞的凋亡率。其中, 各组样品分别加入 500 μL 结合缓冲液, 5 μL Annexin V, 5 μL PI, 混匀, 室温避光反应 5~15 min, 用流式细胞仪检测细胞凋亡水平。

1.2.7 miR-124 对 MGC803 细胞 PI3K/Akt 信号通路的调控作用 按照 1:10 (g/mL) 的比例加入 RIPA 裂解液, 按 BCA 蛋白定量试剂盒说明书方法测定所提取的各组细胞的总蛋白含量, 以确保每组样本之间的上样量相同。裂解、提取各组蛋白后, 经 SDS-PAGE 电泳分离, 转至硝酸纤维素(PVDF)膜, 将转好的 PVDF 膜于 5% 脱脂奶粉溶液中室温封闭 2 h, TBST 洗涤液漂洗 3~4 次。加入一抗, 4 °C 孵育过夜。再漂洗 3~4 次, 加入 HRP 标记的二抗体, 室温孵育 2 h, 漂洗 3~4 次。化学发光检测底物 ECL 工作液显色, 采用 Image J 图像分析系统对蛋白显影图进行灰度分析, 以 β-actin 为内参, 分析 PI3K、Akt、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白相对表达水平。再次收集 MGC803 细胞后, PBS 洗涤

2 次, 离心取细胞沉淀, 按照 TRIzol™ Reagent 说明书提取 miR-124 模拟物组与 miR-124 阴性对照组胃癌细胞 MGC803 的总 RNA, 按“1.2.1”项下方法进行 PCR 扩增, 均以 β -actin 为内参, 分别检测 PI3K、Akt 的 mRNA 水平。引物由上海生工生物工程公司设计提供, 引物序列见表 1。

表 1 PI3K/Akt 信号通路关键基因引物序列

Table 1 Primer sequences of key genes in PI3K/Akt signaling pathway

基因	引物序列
PI3K	正向: 5'-CATCACTACGTGCTGCTCTAA-3'
	反向: 5'-CAGTAGTTCCGATTGTTTCATG-3'
Akt	正向: 5'-GCTGATGGCCGATGCTGACA-3'
	反向: 5'-CGGTGCGTCAGCTCGATCAT-3'
β -actin	正向: 5'-CAGTGTTCATGCCGTACAGCT-3'
	反向: 5'-TGAACAGCAATCGCTATC AC-3'

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件对本研究数据进行统计学分析, 计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验比较两组间各指标水平差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各胃癌细胞系及人正常胃黏膜上皮细胞中 miR-124 的表达水平

与人正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 (1.00 ± 0.06) 比较, miR-124 在胃癌细胞 MGC803 (0.28 ± 0.05)、AGS (0.30 ± 0.09)、MNK-45 (0.46 ± 0.07)、SGC-7901 (0.34 ± 0.09) 中均明显降低, 差异具有统计学意义 ($F=48.884$, $P < 0.01$), 而 miR-124 在 MGC803 细胞中表达水平最低, 因此本研究采用 MGC803 细胞作为研究对象 (图 1)。

2.2 转染效率检测

MGC803 细胞转染 miR-124 模拟物后, miR-124 的表达量为 4.15 ± 0.18 , 阴性对照组胃 2.01 ± 0.14 , 差异有统计学意义 ($t=17.984$, $P=0.006$) (图 2)。

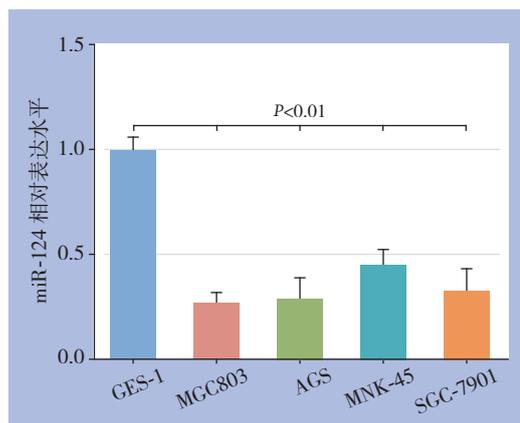


图 1 各胃癌细胞系及人正常胃黏膜上皮细胞中 miR-124 的表达水平

Figure 1 Expression levels of miR-124 in gastric cancer cell lines and human normal gastric mucosa epithelial cells

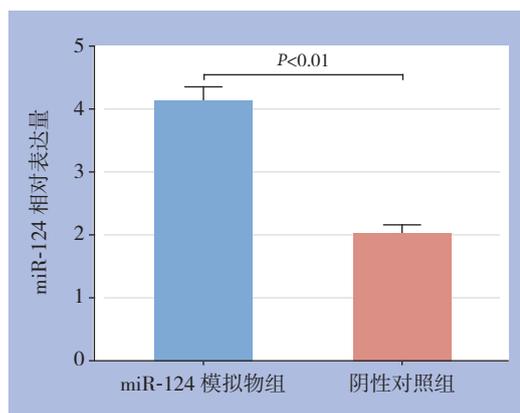


图 2 转染效率检测结果

Figure 2 Results of transfection efficiency determination

2.3 miR-124 的表达对细胞增殖的影响

转染 24、48、72 h 后, miR-124 模拟物组细胞的 OD₄₅₀ 值分别为 0.46 ± 0.09 、 0.86 ± 0.08 、 1.08 ± 0.13 ; 其中, 转染 48、72 h 后, miR-124 模拟物组显著低于 miR-124 阴性对照组的 (1.25 ± 0.14) 和 (1.72 ± 0.17) ($t=8.245$ 、 14.257 , $P=0.027$ 、 0.008) (图 3)。

2.4 miR-124 对 MGC803 细胞克隆实验

miR-124 模拟物组细胞克隆形成数为 (71.3 ± 4.5) 个, 阴性对照组 (103.8 ± 10.1) 个, 差异有统计学意义 ($t=9.450$, $P < 0.001$)。

2.5 miR-124 对 MGC803 细胞凋亡的影响

细胞转染 24、48、72 h 后, miR-124 模拟物组细胞凋亡率分别 (12.70 ± 5.14) %、(51.80 ± 8.14) %、(70.40 ± 7.14) %。

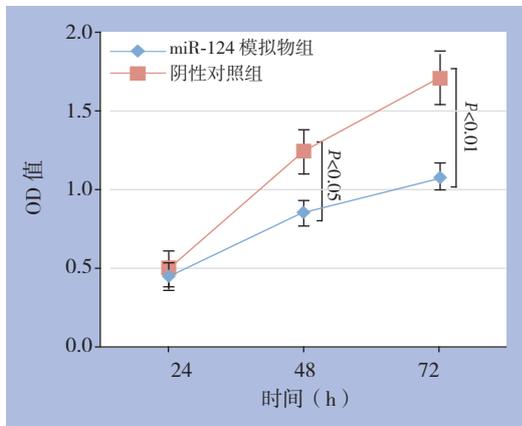


图3 miR-124 对 MGC803 细胞增殖的影响

Figure 3 Effect of miR-124 on proliferation of MGC803 cells

miR-124 模拟物组转染 48、72 h 后的细胞凋亡率明显高于阴性对照组 [(24.81 ± 7.41) %、(33.21 ± 8.29) %], 差有统计学意义 ($t=17.565$ 、 18.147 , $P=0.007$ 、 0.005) (图4)。

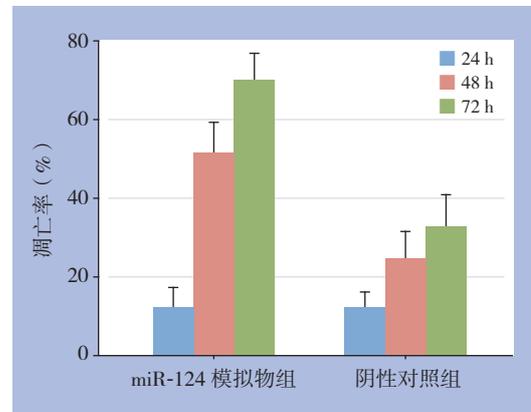


图4 miR-124 对 MGC803 细胞凋亡的影响

Figure 4 Effect of miR-124 on apoptosis of MGC803 cells

2.6 miR-124 对 MGC803 细胞 PI3K/Akt 信号通路的影响

细胞转染后, miR-124 模拟物组 PI3K/Akt 信号通路中关键靶点 PI3K、Akt、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白相对表达分别为 0.87 ± 0.05、0.95 ± 0.11、0.89 ± 0.09、0.91 ± 0.10, 均明显低于阴性对照组 (1.25 ± 0.13、1.34 ± 0.08、0.95 ± 0.12、

1.12 ± 0.09), 差异有统计学意义 ($t=13.542$ 、 15.224 、 4.159 、 12.357 , $P=0.007$ 、 0.008 、 0.035 、 0.006)。同时, miR-124 模拟物组 PI3K/Akt 信号通路中 PI3K 及 Akt 基因相对表达分别为 0.73 ± 0.08、0.64 ± 0.11, 阴性对照组分别为 0.87 ± 0.15、0.94 ± 0.10, 差异有统计学意义 ($t=8.365$ 、 10.324 , $P=0.007$ 、 0.009) (图5)。

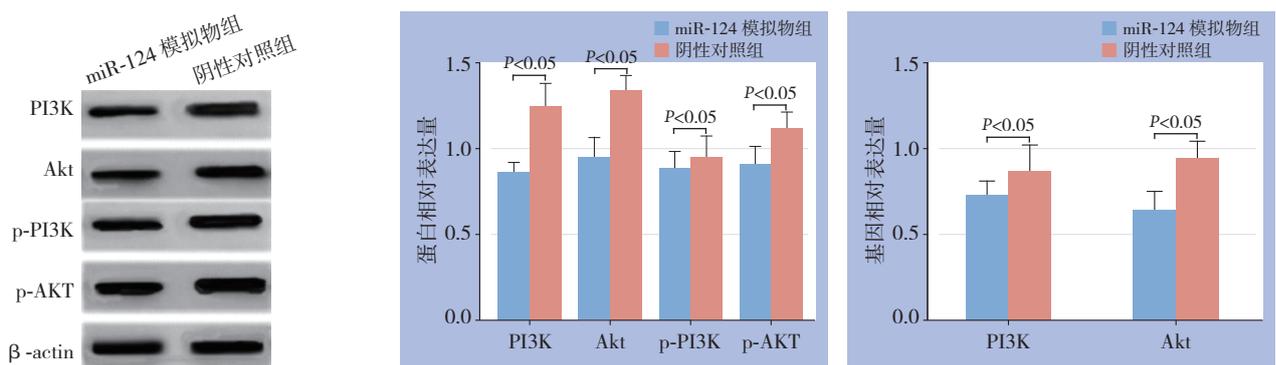


图5 miR-124 对 MGC803 细胞 PI3K/Akt 信号通路的影响

Figure 5 Effect of miR-124 on PI3K/Akt signaling pathway in MGC803 Cells

3 讨论

胃癌是一种起源于胃黏膜上皮的全球性常见恶性肿瘤,我国胃癌发病率和病死率均占全球胃癌发病率和病死率的50%^[14-15]。由于胃癌的发病隐匿及诊断水平限制,多数胃癌患者在确诊时已经发展为中晚期,失去了手术机会,即使早期胃癌患者在接受手术治疗后仍有可能发生局部复发或远处转移,导致治疗失败^[16-17]。故寻找新的药物靶点已成为近年来的研究热点,旨在为胃癌的治疗寻找新的突破。近年的研究^[18]表明miRNA可通过调控细胞增殖、凋亡和分化,促进或抑制肿瘤的恶性表型,相比正常细胞,肿瘤组织中miRNA存在明显异常表达,这些异常表达的miRNA在肿瘤形成中扮演重要角色,可作为肿瘤病因学、生物学特性、组织分型和临床分级分期的分子标志物。

miRNA是一种小的非编码RNA,能够通过切割靶信使RNA或抑制靶基因翻译的方式来抑制靶基因的表达^[19]。miR-124在多种肿瘤包括消化系统肿瘤的细胞或组织中均表达下调。有研究^[20]发现,miR-124与多种癌症有关,其在胃癌细胞中表达降低,并与临床分期、淋巴结转移、总生存期缩短和无病生存率有关,可能是胃癌患者生存和治疗策略的独立指标。Xie等^[21]研究发现,通过上调miR-124表达水平,高浓度的miR-124不仅可抑制胃癌细胞增殖,还可促进胃癌细胞凋亡的作用;同时发现,与5-氟尿嘧啶联合使用后,miR-124对胃癌细胞的抑制作用更加明显,这为miR-124作为胃癌治疗的潜在药物靶点提供了有力的证据。但目前国内关于miR-124与胃癌发生发展及相关机制的研究报道较少。基于此,本研究成功将miR-124转染至人胃癌MGC803细胞中,并进一步考察miR-124对胃癌细胞MGC803增殖及凋亡的影响,结果显示miR-124模拟物组中细胞的miR-124高表达;转染48 h后miR-124模拟物组MGC803细胞的增殖较阴性对照组显著降低;同时流式细胞术结果显示,miR-124模拟物组MGC803细胞凋亡率较阴性对照组显著提高。由此可见,miR-124可抑制胃癌细胞MGC803增殖并促进MGC803细胞凋亡。

虽然miRNA调控异常在胃癌中普遍存在,但miRNA在肿瘤发生和发展中的确切作用尚不

清楚,目前有关miRNA的机制主要集中在细胞增殖、凋亡和侵袭等细胞过程中的关键途径上^[22-24]。有研究^[25-26]发现,miR-124在非小细胞肺癌组织和细胞系中均下调;miR-124可抑制非小细胞肺癌细胞增殖,并促进电离辐射诱导非小细胞肺癌细胞凋亡。为了进一步探讨miR-124对人胃癌细胞MGC803增殖及凋亡的作用机制,本研究采用Western blot法和qRT-PCR法测定PI3K/Akt信号通路关键靶点蛋白和mRNA水平。研究证实,PI3K/Akt信号通路参与调节细胞的增殖、凋亡等重要活动,其调控的失衡与多种肿瘤的发生、发展及耐药密切相关,已成为值得深入研究的治疗靶点^[27]。研究^[28]表明,PI3K/Akt信号激活后可促进Akt的磷酸化水平,从而防止氧化损伤,因此PI3K/Akt信号通路在细胞存活过程中起重要作用。Akt蛋白处于PI3K/Akt信号通路的中心位置,经磷酸化后被激活形成p-Akt,后者进一步使多个Akt下游蛋白发生磷酸化(包括PI3K等),从而调控肿瘤细胞的增殖与凋亡等^[29]。有学者^[30]分别检测胃癌干细胞和胃癌细胞中PI3K、Akt的表达,发现胃癌干细胞中PI3K、Akt蛋白与mRNA的表达明显高于胃癌细胞,推测PI3K/Akt信号通路与胃癌进展密切相关。本研究考察了miR-124对人胃癌MGC803细胞PI3K、Akt、p-PI3K和p-Akt蛋白表达及PI3K、Akt基因水平,发现miR-124模拟物组上述蛋白及基因表达均较阴性对照组显著降低。提示,miR-124可抑制PI3K/Akt信号通路,从而促进人胃癌MGC803细胞凋亡,并抑制细胞增殖,与文献报道一致^[31]。

综上所述,miR-124表达的下调可促进胃癌细胞的增殖,并抑制其凋亡,其可能的机制与抑制PI3K/Akt信号通路表达有关。本研究可为胃癌的诊断与基因治疗提供参考。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132. doi: 10.3322/caac.21338.
 - [2] 牛荣,王转兄,白悦,等. miR-143-3p在胃癌组织中的表达和临床意义研究以及生信分析[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2019, 26(5):538-544. doi:10.7507/1007-9424.201901023.
- Niu R, Wang ZX, Bai Y, et al. The expression and clinical

- significance of miR-143-3p in gastric cancer tissues with bioinformatical analysis[J]. Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery, 2019, 26(5):538-544. doi:10.7507/1007-9424.201901023.
- [3] Obermannova R, Redova-Lojova M, Vychytilova-Faltejskova P, et al. Tumor Expression of miR-10b, miR-21, miR-143 and miR-145 Is Related to Clinicopathological Features of Gastric Cancer in a Central European Population[J]. Anticancer Res, 2018, 38(6):3719-3724. doi: 10.21873/anticancer.12651.
- [4] Tang H, Wang Z, Liu X, et al. LRRC4 inhibits glioma cell growth and invasion through a miR-185-dependent pathway[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2012, 12(8):1032-1042. doi: 10.2174/156800912803251180.
- [5] 张雷, 王宇锋, 王亮, 等. miR-105-5p在胃癌中的表达及其意义与生物学功能[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(4):423-432. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.04.007.
- Zhang L, Wang YF, Wang L, et al. Expression of miR-105-5p in gastric cancer and its significance and biological function[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(4):423-432. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.04.007.
- [6] 谢黎明, 张大利, 贺荣芳. miR-124抑制胃癌MKN-45细胞的侵袭与转移[J]. 中国现代医生, 2012, 50(36):1-2.
- Xie LM, Zhang DL, He RF. miR-124 inhibits the invasion and metastasis of gastric carcinoma MKN-45 cells[J]. China Modern Doctor, 2012, 50(36):1-2.
- [7] Zhang T, Wang J, Zhai X, et al. MiR-124 retards bladder cancer growth by directly targeting CDK4[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2014, 46(12):1072-1079. doi: 10.1093/abbs/gmu105.
- [8] Li X, Yu Z, Li Y, et al. The tumor suppressor miR-124 inhibits cell proliferation by targeting STAT3 and functions as a prognostic marker for postoperative NSCLC patients[J]. Int J Oncol, 2015, 46(2):798-808. doi: 10.3892/ijo.2014.2786.
- [9] Li W, Zang W, Liu P, et al. MicroRNA-124 inhibits cellular proliferation and invasion by targeting Ets-1 in breast cancer[J]. Tumour Biol, 2014, 35(11):10897-10904. doi: 10.1007/s13277-014-2402-2.
- [10] Qin W, Pan Y, Zheng X, et al. MicroRNA-124 regulates TGF- α -induced epithelial-mesenchymal transition in human prostate cancer cells[J]. Int J Oncol, 2014, 45(3):1225-1231. doi: 10.3892/ijo.2014.2506.
- [11] 刘锋, 谢黎明, 张志伟, 等. miR-124在胃癌中的表达及临床意义[J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(3):215-220. doi:10.3969/j.issn.1007-3969.2016.03.003.
- Liu F, Xie LM, Zhang ZW, et al. Expression of miR-124 in gastric cancer and its clinical significance[J]. China Oncology, 2016, 26(3):215-220. doi:10.3969/j.issn.1007-3969.2016.03.003.
- [12] Hamzehzadeh L, Atkin S L, Majeed M, et al. The versatile role of curcumin in cancer prevention and treatment: A focus on PI3K/AKT pathway[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(10):6530-6537. doi: 10.1002/jcp.26620.
- [13] Cheng F, Yang Z, Huang F, et al. microRNA-107 inhibits gastric cancer cell proliferation and metastasis by targeting PI3K/AKT pathway[J]. Microb Pathog, 2018, 121:110-114. doi: 10.1016/j.micpath.2018.04.060.
- [14] 钱海权, 周海宁, 刘轲, 等. 多梳蛋白4与含FERM结构域蛋白4A在胃癌组织中的表达及与意义[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(10):1237-1244. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.10.011.
- Qian HQ, Zhou HN, Liu K, et al. Expressions of chromobox homolog 4 and FERM domain-containing protein 4A in gastric cancer tissue and their significance[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(10):1237-1244. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.10.011.
- [15] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer, 2015, 136(5):E359-386. doi: 10.1002/ijc.29210.
- [16] Seo HS, Jung YJ, Kim JH, et al. Long-Term Nutritional Outcomes of Near-Total Gastrectomy in Gastric Cancer Treatment: a Comparison with Total Gastrectomy Using Propensity Score Matching Analysis[J]. J Gastric Cancer, 2018, 18(2):189-199. doi: 10.5230/jgc.2018.18.e21.
- [17] Zhao CL, Han SN, Wang ZJ, et al. Concomitant modulation of PTEN and Livin in gastric cancer treatment[J]. Int J Mol Med, 2018, 41(5):2901-2908. doi: 10.3892/ijmm.2018.3475.
- [18] 安娟, 潘元明, 康倩, 等. 胃癌患者血清miR-181d与PDCD4的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究, 2019, 46(2):131-137. doi: 10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.0486.
- An J, Pan YM, Kang Q, et al. Expression and clinical significance of miR-181d and PDCD4 in serum of gastric cancer patients[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2019, 46(2):131-137. doi: 10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.0486.
- [19] 李亚昭, 姚博文, 石磊. microRNA-671-5p在肝细胞癌中的表达及其负向调控丝切蛋白2与上皮细胞-间质转化的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(1):43-52. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.01.006.
- Li YZ, Yao BW, Shi L. Expression of microRNA- 671-5p in hepatocellular carcinoma and the relationship between its negative regulating cofilin 2 and epithelial-mesenchymal transition[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(1):43-52. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.01.006.

- [20] Liu F, Hu H, Zhao J, et al. miR-124-3p acts as a potential marker and suppresses tumor growth in gastric cancer[J]. *Biomed Rep*, 2018, 9(2):147-155. doi: 10.3892/br.2018.1113.
- [21] Xie L, Zhang Z, Tan Z, et al. MicroRNA-124 inhibits proliferation and induces apoptosis by directly repressing EZH2 in gastric cancer [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 392(1-2):153-159. doi: 10.1007/s11010-014-2028-0.
- [22] Hu M, Zhu S, Xiong S, et al. MicroRNAs and the PTEN/PI3K/Akt pathway in gastric cancer (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(3):1439-1454. doi: 10.3892/or.2019.6962.
- [23] Sun Z, Shi K, Yang S, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):147-156. doi: 10.1186/s12943-018-0897-7.
- [24] Qi R, Wang D T, Xing L F, et al. miRNA-21 promotes gastric cancer growth by adjusting pro-taglandin E2[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(7):1929-1936. doi: 10.26355/eurrev_201804_14717.
- [25] Wang M, Meng B, Liu Y, et al. MiR-124 Inhibits Growth and Enhances Radiation-Induced Apoptosis in Non-Small Cell Lung Cancer by Inhibiting STAT3[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(5):2017-2028. doi: 10.1159/000485907.
- [26] Pan Y, Wu A, Xu F, et al. Lentivirus-mediated overexpression of miR-124 suppresses growth and invasion by targeting JAG1 and EZH2 in gastric cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5):7450-7458. doi: 10.3892/ol.2018.8194.
- [27] Provinciali N, Lazzeroni M, Cazzaniga M, et al. Metformin: risk-benefit profile with a focus on cancer[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2015, 14(10):1573-1585. doi: 10.1517/14740338.2015.1084289.
- [28] Xu X, Liu X, Zhang Y. Osteostatin inhibits gastric cancer cell proliferation through regulation of PI3K/AKT[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3):e0193449. doi: 10.1371/journal.pone.0193449.
- [29] 祁迪, 谭群友, 王如文, 等. 吴茱萸碱抑制PI3K/AKT通路诱导小细胞肺癌H1688和H446细胞凋亡[J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(4):330-337. doi:10.16016/j.1000-5404.201508031.
- Qi D, Tan QY, Wang RW, et al. Evodiamine induces apoptosis of small-cell lung cancer H1688 and H446 cells via inhibiting PI3K/AKT pathway[J]. *Journal Of Third Military Medical University*, 2016, 38(4):330-337. doi:10.16016/j.1000-5404.201508031.
- [30] 查璐琴, 韩本高, 张超杰. 二甲双胍通过Akt通路调控胃癌干细胞的增殖与凋亡[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(5):657-662. doi:10.3969/j.issn.2095-4344.1544.
- Zha LQ, Han BG, Zhang CJ. Metformin regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer stem cells through the Akt pathway[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2019, 23(5):657-662. doi:10.3969/j.issn.2095-4344.1544.
- [31] 叶群立, 张洋洋, 罗金健. 柚皮素联合Bcl-2抑制剂ABT-263调控信号通路AKT对胃癌细胞增殖凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(8):1948-1951. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2019.08.050.
- Ye QL, Zhang YY, Luo JJ. Effects of Naringenin combined with the Bcl-2 inhibitor ABT-263 on the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by controlling the signaling pathways AKT[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2019, 39(8):1948-1951. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2019.08.050.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 韦维, 黄海舸, 陆佳明, 等. microRNA-124对胃癌细胞增殖与凋亡的影响及其与PI3K/Akt信号通路的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(6):723-730. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.06.013

Cite this article as: Wei W, Huang HG, Lu JM, et al. Effects of microRNA-124 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells and its relation with PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(6):723-730. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.06.013