



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.09.009
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4019.shtml

· 基础研究 ·

miR-342-5p 调控靶基因 Merlin 表达促进肝细胞癌侵袭转移的实验研究

胡宽, 陶一明, 黄云, 李新营, 王志明

(中南大学湘雅医院 普外肝脏外科, 湖南 长沙 410008)

摘要

目的: 探讨 miR-342-5p 及其可疑靶基因 Merlin 在肝细胞癌 (HCC) 中表达及意义。

方法: 用 qRT-PCR 检测 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 在 HCC 组织与癌旁组织, 以及正常肝细胞系与各种不同 HCC 细胞系中的表达; 用重组慢病毒包装质粒 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 或空载体 (阴性对照) 转染 HCCLM3 细胞, 以无处理的 HCCLM3 细胞作为空白对照, 划痕愈合及 Transwell 实验观察细胞侵袭运动能力; Western blot 法检测细胞中 Merlin 蛋白的表达。采用双荧光素酶基因报告系统, 将含野生型或突变型 Merlin 基因 3'UTR 质粒 (psiCHECK-Merlin) 分别与 pGCSIL-GFP-miR-342-5p、空载体 (阴性对照) 共转染或单独转染 (空白对照) HCCLM3 细胞后, 检测各组细胞荧光素酶活性。

结果: 与癌旁组织比较, HCC 组织中 miR-342-5p 表达明显上调, Merlin mRNA 表达明显下调 (均 $P < 0.05$); HCC 组织中, 血管侵犯组较无血管侵犯组 miR-342-5p 表达明显上调, Merlin mRNA 表达明显下调 (均 $P < 0.05$), 且 miR-342-5p 与 Merlin mRNA 表达呈负相关 ($r^2 = 5.364$, $P < 0.05$)。各 HCC 细胞系中 miR-342-5p 表达均明显高于正常肝细胞系, 且 miR-342-5p 的表达随 HCC 细胞系的侵袭性增高而上调, 而 Merlin mRNA 表达则呈相反趋势 (均 $P < 0.05$)。与空白对照组及阴性对照组比较, HCCLM3 细胞转染 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒后, 细胞侵袭运动能力明显下降 (均 $P < 0.05$), 而 Merlin 蛋白表达明显上调。psiCHECK-Merlin 野生型与 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒共转染 HCCLM3 细胞后, 细胞的荧光素酶活性较其阴性对照组或空白对照组明显降低 ($P < 0.05$), 而 psiCHECK-Merlin 突变型与 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒共转染 HCCLM3 细胞后, 细胞的荧光素酶活性与其空白对照组或阴性对照组无统计学差异 ($P > 0.05$)。

结论: Merlin 是 miR-342-5p 的靶基因, miR-342-5p 可能通过调控 Merlin mRNA 的表达促进肝细胞癌侵袭转移。 [中国普通外科杂志, 2014, 23(9):1200-1206]

关键词

癌, 肝细胞; 微 RNAs; miR-342-5p; Merlin; 肿瘤浸润
中图分类号: R735.7

Enhancing effect of miR-342-5p on invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma via regulating its target gene Merlin expression

HU Kuan, TAO Yiming, HUANG Yun, LI Xinying, WANG Zhiming

(Division of Liver Surgery, Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Corresponding author: WANG Zhiming, Email: wzmxyesu@hotmail.com

基金项目: 国家自然科学基金面上基金资助项目 (81372631)。

收稿日期: 2014-06-12; 修订日期: 2014-08-01。

作者简介: 胡宽, 中南大学湘雅医院住院医师, 主要从事肝脏甲状腺临床与基础方面的研究。

通信作者: 王志明, Email: wzmxyesu@hotmail.com

ABSTRACT

Objective: To investigate the expressions of miR-342-5p and its putative target gene Merlin in hepatocellular carcinoma (HCC) and the significance.

Methods: The expressions of miR-342-5p and Merlin mRNA in HCC and tumor-adjacent tissues as well as in normal hepatic cell line and different HCC cell lines were determined by qRT-PCR method. HCCLM3 cells were transfected with lentiviral packaging plasmid pGCSIL-GFP-miR-342-5p or empty vector (negative control) with the untreated HCCLM3 cells as blank control, and then the invasion potential and migration activity were assessed by scratch-wound healing and Transwell migration assay, and the Merlin protein expression was measured by Western blot analysis, respectively. Using a dual-luciferase reporter assay system, the plasmids tagged with the 3'-UTR of the wild- or mutant-type Merlin gene (psiCHECK-Merlin) was co-transfected with pGCSIL-GFP-miR-342-5p or empty vectors (negative control), or transfected alone (blank control) into the HCCLM3 cells, and then the luciferase activity in each group of cells was detected.

Results: Compared with tumor-adjacent tissue, the miR-342-5p expression was significantly up-regulated while Merlin mRNA expression was significantly down-regulated in HCC tissue (both $P < 0.05$); in HCC tissues, the miR-342-5p expression was significantly higher while Merlin mRNA expression was significantly lower than that in non-vascular invasion group ($P < 0.05$), in addition, the miR-342-5p and Merlin mRNA expression showed a negative correlation ($r^2 = 5.364$, $P < 0.05$). The miR-342-5p expression was significantly increased in all the studied HCC cell lines compared with the normal hepatic cell line, and was up-regulated with the increase of the invasion ability of the HCC cells, while the Merlin mRNA expression showed the exact opposite pattern (all $P < 0.05$). In HCCLM3 cells transfected with pGCSIL-GFP-miR-342-5p, the invasion potential and migration activity were significantly reduced (both $P < 0.05$) and the Merlin protein expression was elevated compared with those in blank control or negative control. In HCCLM3 cells co-transfected with psiCHECK-Merlin (wild-type) and pGCSIL-GFP-miR-342-5p, the luciferase activity was significantly decreased compared with its blank control or negative control (both $P < 0.05$), but which showed no significant difference in HCCLM3 cells co-transfected with psiCHECK-Merlin (mutant-type) and pGCSIL-GFP-miR-342-5p compared with its blank control and negative control ($P > 0.05$).

Conclusion: Merlin is a target gene of miR-342-5p, and miR-342-5p may enhance the invasion and metastasis ability of HCC through regulating Merlin mRNA expression.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(9):1200-1206]

KEYWORDS

Carcinoma, Hepatocellular; MicroRNAs; miR-342-5p; Merlin; Neoplasm Invasiveness

CLC number: R735.7

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 具有较强侵袭转移潜能, 容易转移复发, 预后甚差。累积的研究结果表明, HCC 存在很多异常表达的癌基因或抑癌基因, 它们与 HCC 的侵袭和转移密切相关^[1]。新近研究^[3-4]表明, Merlin 蛋白是神经纤维瘤病 II 型 (neurofibromatosis type 2, NF2) 基因的表达产物, 具有很强的抑癌作用^[2], Merlin 表达水平下调, 促进肿瘤侵袭运动。microRNA (miRNA) 为一类长度约 20~24 nt 的非编码的小分子 RNA, 在调控肿瘤癌基因和抑癌基因中发挥关键性作用^[5]。其功能和作用是近年来分子生物学界关注的重点^[6]。在前期工作中, 笔者通过生物信息学分析发现 Merlin 可能是 miR-342-5p 的靶基因^[7]。因此, 本实验检测了 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 在 HCC 组织中的表达特征, 并通过构建

miR-342-5p 慢病毒干扰质粒并转染到 HCC 细胞 HCCLM3, 观察了 HCC 细胞的侵袭运动能力, 通过双荧光素酶基因报告系统分析了 miR-342-5p 对 Merlin 的调控作用。研究结果旨在揭示 Merlin 表达下调促进 HCC 侵袭转移的作用与分子机制, 并为 HCC 治疗的靶点提供重要的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 HCC 新鲜组织 收集自 2014 年 3 月—2014 年 5 月经中南大学湘雅医院肝脏外科手术切除的 HCC 及配对的临近肿瘤非癌新鲜 HCC 组织标本 27 例, 其中男 24 例, 女 3 例; 年龄 35~61 岁, 中位年龄 53 岁。术前均无放疗、化疗及免疫治疗史。所有

病例均经病理确诊为 HCC。有血管侵犯 15 例，无血管侵犯 12 例；有肝硬化 23 例，无肝硬化 4 例。

1.1.2 细胞和载体 永生化正常肝细胞 L02, HCC 细胞株 Hep3B、HepG2、MHCC97L 和 HCCLM3 购自湘雅医院细胞医学中心；病毒载体 pGCSIL-GFP、包装质粒 pHelper 1.0、pHelper2.0、polybrene 购自上海吉凯公司。

1.1.3 主要试剂 胎牛血清购自美国 Hyclone 公司，Lipofectamine2000 和总 RNA 提取试剂 TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司；All-in-One miRNAqRT-PCR Detection Kits、miR-342-5p 和 U6 引物购自广州 Genecopoeia 公司，Transwell 小室购自美国 BD 公司，兔抗人 Merlin 单克隆抗体购自德国 Novus Biologicals 公司。化学发光试剂 (ECL) 购自美国 Bio-Rad 公司。XhoI 和 NotI 限制性内切酶购自英国 NEB 公司。荧光素酶报告基因购自碧云天生物技术公司。

1.2 方法

1.2.1 荧光定量 PCR 检测 miR-342-5p 和 Merlin 在 HCC 组织和细胞系中的表达 采用 TRIzol 方法按操作说明书提取 HCC 组织、临近癌旁非癌肝组织和细胞株的总 RNA。miR-342-5p 的 cDNA 由 All-in-One miRNAqRT-PCR 检测试剂盒合成，Merlin 的 cDNA 则由大连宝生物逆转录试剂盒合成，均应用分光光度法监测 RNA 浓度，并使用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。实时定量 PCR 使用 All-in-One miRNAqRT-PCR 检测试剂盒及 SYBR Green qPCR 试剂盒完成，并分别使用 U6small nuclear RNA 及 β -actin 作为内参。所有实验部分重复 3 次。

1.2.2 miR-342-5p 慢病毒干扰质粒构建与转染 HCCLM3 细胞 miR-342-5p 干扰序列由上海吉凯生物技术公司设计合成，其序列如下：正义 5'-CCACATTTAAAGGACTGTAT-3'；反义 5'-AAAAAGCCACATTTAAAGGAC-3'。重组病毒包装、收集和病毒浓缩液滴度检测具体方法参照文献^[3]。得到病毒浓缩液，检测滴度约为 1×10^9 TU/mL。分装后 -80°C 冻存储存。将处于对数生长期的 HCCLM3 细胞接种于 48 孔板，细胞计数调整细胞浓度为 2×10^4 个/mL。培养细胞密度达到 80% 时，弃去细胞上清，加入重组慢病毒 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 混合液：无血清培养基 (170 μL) + pGCSIL-GFP-miR-342-5p (20 μL) + Polybrene (20 μL , 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，同时设立慢病毒空载体组：无血清培养基 (170 μL) + 慢病毒空载体 pGCSIL-

GFP (20 μL) + Polybrene (20 μL , 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。8 h 后更换细胞上清为新鲜培养基，转染后 72 h 荧光显微镜下观察 GFP 的发光情况。细胞消化，800 r/min 离心重悬，荧光定量 PCR 检测 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 表达。

1.2.3 划痕愈合实验和 Transwell 侵袭小室实验检测细胞侵袭运动 采用划痕愈合实验和 Transwell 法，具体方法参照文献^[4]。滤膜孔径 8 μm ，直径 6.5 mm，10 μm 厚的膜把 Transwell 分成上下 2 室。将贴壁生长细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化脱壁，以含 1% BSA 的 RPMI 1640 培养基制备单细胞悬液，至最终浓度 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。细胞培养上清与新鲜培养液等量混合作为条件培养液。

1.2.4 Western blot 检测 Merlin 的表达 胰酶消化离心转染后的 HCCLM3 细胞， 4°C 预冷的 PBS 洗涤，800 r/min，离心 2 次收集细胞，RIPA 细胞裂解液提取细胞总蛋白，检测蛋白质浓度。取 100 μg 的总蛋白，加入等体积的 $2 \times$ 变性缓冲液， 100°C 变性 10 min 后上样。200 V 电压电泳 1 h。再 100 V 电压转膜 1 h。将硝酸纤维素膜 (PVDF) 膜置于封闭液中封闭 45 min。分别加入 Merlin 抗体，工作浓度为 1:1 000。 37°C 孵育 30 min， 4°C 孵育过夜。加入 1:3 000 的辣根过氧化物酶标记的二抗， 37°C 孵育 30 min。含 1% 吐温的磷酸缓冲液 (PBST) 洗膜后化学发光法显色，曝光洗片。取胶片于扫描仪上扫描获取图像，Bio-Rad Scan 软件计算条带的灰度值和内参 GAPDH 灰度值的作为蛋白表达量。每个实验重复 3 次取平均值。

1.2.5 双荧光素酶基因报告系统构建与转染 psiCHECK-Merlin 质粒 由上海吉凯生物技术公司完成，具体步骤如下：抽提 HCCLM3 细胞基因组 DNA 为模板，PCR 扩增 Merlin 3'UTR 序列。回收 PCR 产物后用 XhoI 和 NotI 进行双酶切，同时酶切标记有荧光素酶的质粒 psiCHECK-2，然后将 Merlin UTR 酶切产物与质粒 psiCHECK-2 酶切产物进行连接。经涂板，摇菌，挑克隆，小量抽提及酶切鉴定成功后送测序，然后大量抽提高纯度质粒，置 -40°C 冰箱保存待用。对数期 HCCLM3 细胞种 24 孔板，待细胞贴壁 50% 时，按照脂质体 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书进行转染。双荧光素酶基因检测按照试剂盒操作说明进行。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件分析结果。对多组实验数据采用方差分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-342-5p 和 Merlin 在 HCC 组织和 HCC 细胞系中的表达

在 HCC 组织和细胞系中通过荧光定量 PCR 检测了 miR-342-5p 和 Merlin 的表达水平和特征。见图 1A 和 1B 所示,在组织水平,与邻近癌旁非癌肝组织对比,miR-342-5p 在 HCC 组织中的表达水平明显上调 [(0.96 ± 0.19) vs. (0.45 ± 0.06)]。而相反的,Merlin 在 HCC 组织中的表达则明显下调 [(0.64 ± 0.12) vs. (1.23 ± 0.32)],差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。相关性分析发现,miR-342-5p 与 Merlin mRNA 表达呈负相关 ($r^2 = 5.364$, $P < 0.05$)。

为了进一步探讨 miR-342-5p 和 Merlin 与 HCC 生物学特性的关系,将所有 27 例肝细胞癌患者分为有血管侵犯组 ($n = 15$) 和无血管侵犯组后

($n = 12$)。图 2A 和 2B 所示,血管侵犯组较之无血管侵犯组,其 miR-342-5p 表达水平明显升高,而其 Merlin mRNA 表达水平明显下调,差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。在细胞水平,高侵袭潜能的 HCCLM3 细胞系中 miR-342-5p 表达水平为 1.39 ± 0.27 ,低侵袭潜能的 HCC 细胞 MHCC97L、HepG2、Hep3B 中 miR-342-5p 表达水平分别为 0.93 ± 0.14 、 0.84 ± 0.11 、 0.73 ± 0.19 ,正常肝细胞系 L02 中为 0.23 ± 0.10 ;而 Merlin mRNA 在 HCCLM3、MHCC97L、HepG2、Hep3B 和 L02 细胞系中的表达水平分别为 0.55 ± 0.24 、 0.86 ± 0.12 、 1.11 ± 0.16 、 1.13 ± 0.14 、 1.88 ± 0.42 ,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$),即 HCC 细胞系中 miR-342-5p 表达较正常肝细胞系升高,且 miR-342-5p 的表达随 HCC 细胞系的侵袭性增高而上调 (图 3A-B)。

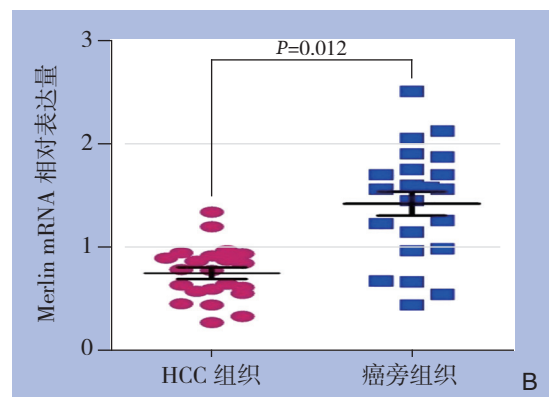
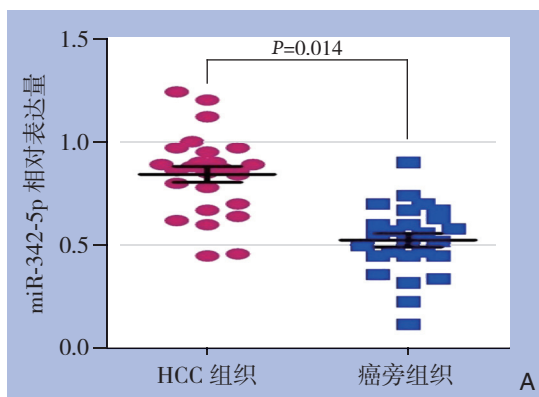


图 1 qRT-PCR 检测 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 在 HCC 组织与癌旁组织中的表达 A: miR-342-5p 表达; B: Merlin mRNA 表达

Figure 1 The miR-342-5p and Merlin mRNA expressions in HCC tissues and tumor-adjacent tissues detected by qRT-PCR A: MiR-342-5p expression; B: Merlin mRNA expression

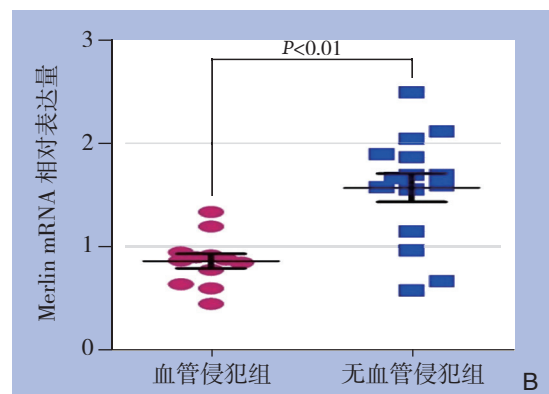
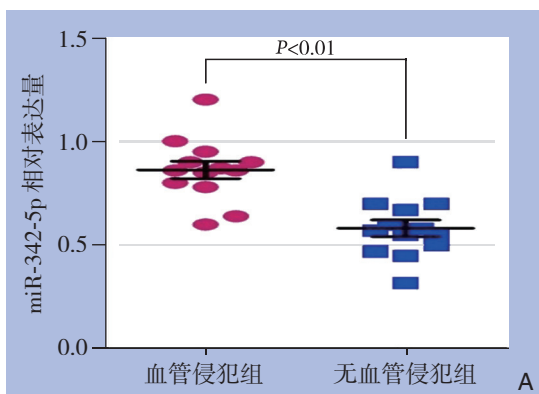


图 2 qRT-PCR 检测分析 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 与 HCC 血管侵犯的关系 A: miR-342-5p 表达; B: Merlin mRNA 表达

Figure 2 Relations of miR-342-5p and Merlin mRNA expression with HCC vascular invasion analyzed by qRT-PCR A: MiR-342-5p expression; B: Merlin mRNA expression

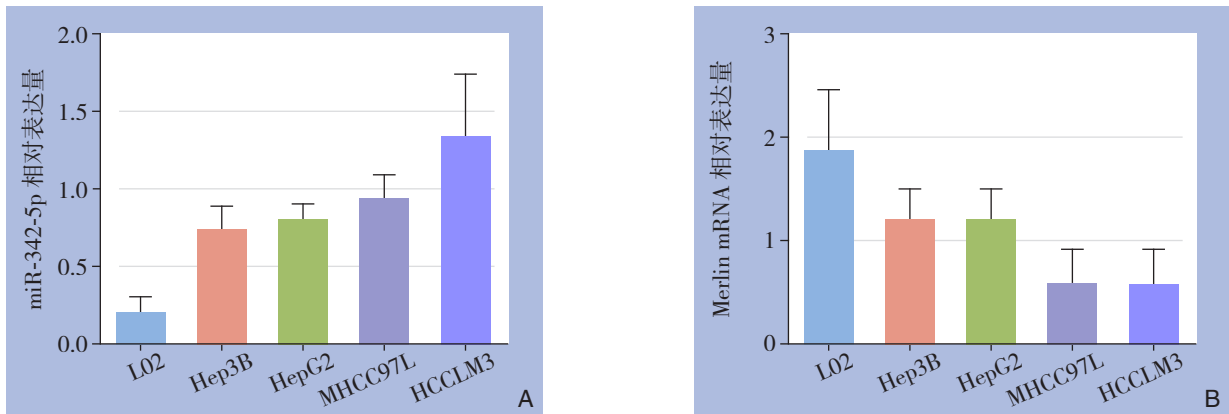


图 3 qRT-PCR 检测 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 在正常肝细胞系及不同 HCC 细胞系中的表达

Figure 3 The miR-342-5p and Merlin mRNA expressions in normal hepatic cell line and different HCC cell lines detected by qRT-PCR

2.2 干扰 miR-342-5p 抑制 HCC 细胞侵袭运动能力

划痕实验结果显示: HCCLM3 细胞转染 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒后, 迁移运动能力受到明显降低, 其细胞迁移率为 $(12.6 \pm 4.62)\%$, 而空白对照组、阴性对照组分别为 $(49.6 \pm 9.5)\%$ 、 $(45.3 \pm 6.4)\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)

(图 4A)。Transwell 实验结果显示: HCCLM3 细胞转染 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒后, 其迁移侵袭能力受到明显降低, 其迁移细胞数为 (19 ± 4) 个/200 倍视野, 而空白对照组、阴性对照组迁移细胞数分别为 (98 ± 12) 个/200 倍视野、 (89 ± 21) 个/200 倍视野, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 4B)。

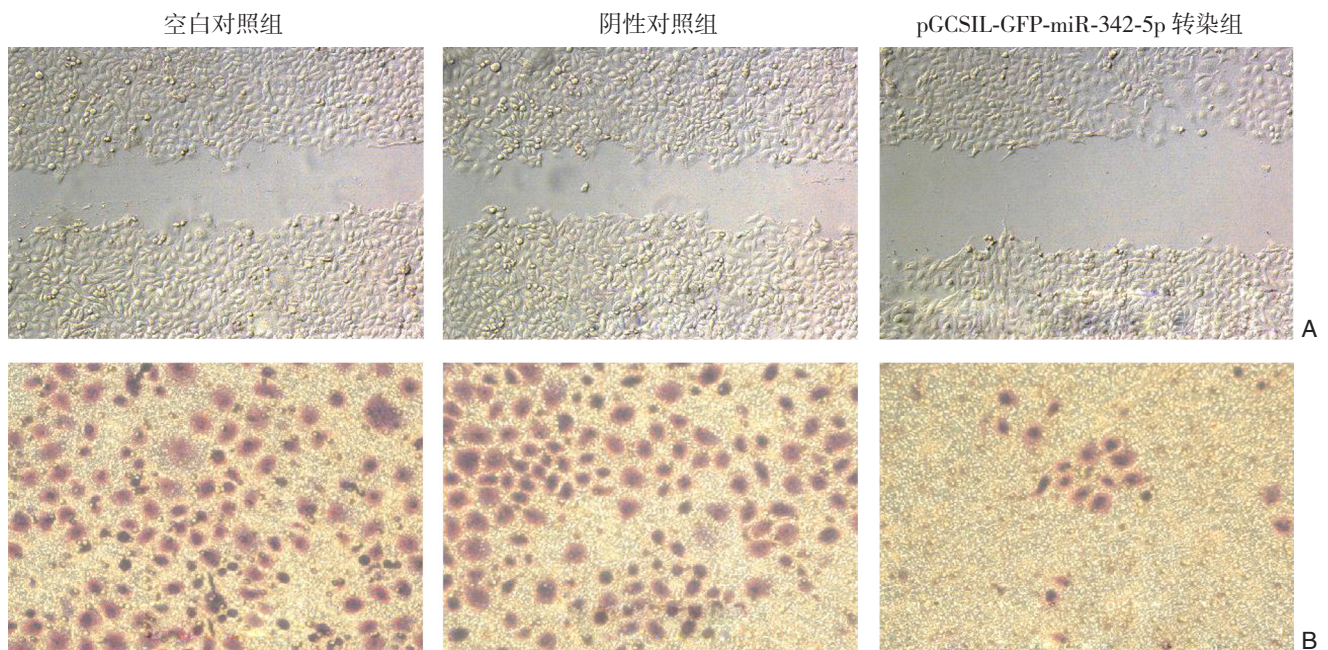


图 4 各组细胞划痕实验及 Transwell 实验结果 A: 划痕愈合实验; B: 侵袭小室实验

Figure 4 Results of the scratch-wound healing and Transwell migration assay in each group of cells A: Scratch-wound healing assay; B: Transwell migration assay

2.3 Western blot 检测 Merlin 蛋白表达

Western blot 结果显示, HCCLM3 细胞转染 pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒后, Merlin 蛋白表

达水平较空白对照组与阴性对照组明显下降, 而空白对照组与阴性对照组的 Merlin 蛋白表达水平无明显差异 (图 5)。

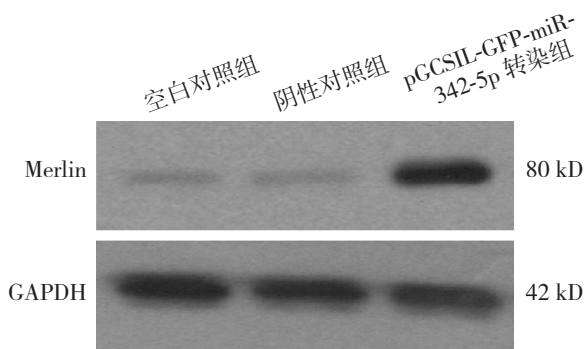


图 5 Western blot 检测 Merlin 蛋白表达

Figure 5 Merlin protein expression detected by Western blot

2.4 miR-342-5p 与 Merlin 的相互作用

将 psiCHECK-Merlin 野生型质粒和 psiCHECK-Merlin 突变型质粒分别与 pGCSIL-GFP-miR-342-5p

质粒、空载体 (阴性对照) 共转染, 或单独转染 (空白对照) HCCLM3 细胞。48 h 后检测细胞的荧光素酶活性。结果显示: psiCHECK-Merlin 野生型质粒 + pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒组荧光素酶活性为 0.75 ± 0.16 , 较阴性对照组荧光素酶活性 (1.01 ± 0.17) 和空白对照组荧光素酶活性 (1.05 ± 0.21), 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 阴性对照与空白对照相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。而与相应的阴性对照及空白对照相比, psiCHECK-Merlin 突变型质粒 + pGCSIL-GFP-miR-342-5p 质粒组荧光素酶活性为 1.2 ± 0.6 , 与阴性对照组荧光素酶活性 (0.98 ± 0.18) 和空白对照荧光素酶活性 (1.09 ± 0.24) 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 6)。

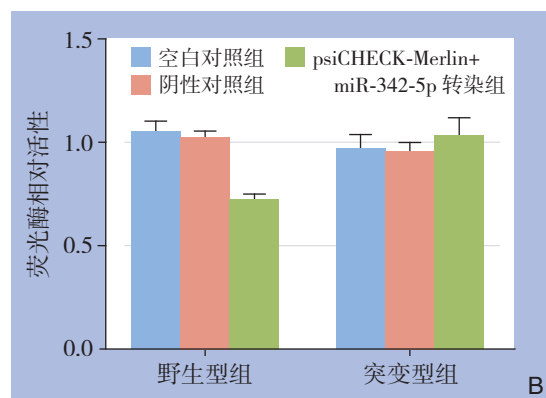
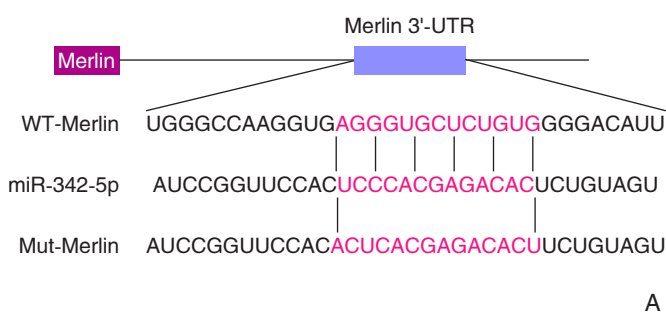


图 6 双荧光素酶基因报告系统检测 miR-342-5p 和 Merlin mRNA 相互作用 A: miR-342-5p 和 Merlin 3'-UTR 相互作用生物信息学分析; B: 各组细胞荧光素酶活性

Figure 6 Detection of the interaction between miR-342-5p and Merlin mRNA using dual-luciferase reporter assay system A: Bioinformatics analysis to detect the interaction between miR-342-5p and the 3'-UTR of Merlin; B: The luciferase activity of in each group of cells

3 讨论

Merlin 基因与细胞骨架连接蛋白 ERM 家族中的膜突蛋白 (moesin)、埃兹蛋白 (ezrin) 和根蛋白 (radixin) 在结构上极为相似, 取 3 个蛋白的首字母而得名^[8-9]。Benhamouche 等报道^[10], 敲除小鼠的 Merlin 基因, 可导致小鼠肝脏祖细胞异常增生, 肝脏肿大, 最终所有存活小鼠都发生了 HCC 和胆管细胞癌; 给裸鼠输注敲除 Merlin 基因的小鼠胚胎肝母细胞, 3~4 周后可使裸鼠肝脏形成明显的肿瘤, 研究结果提示 Merlin 表达下调 / 缺失在 HCC 发病中可能具有重要的作用。本研究通过荧光定量 PCR 方法检测发现 Merlin mRNA 在

HCC 组织中表达下调, 较癌旁肝脏组织中的表达水平, 差异具有统计学意义, 提示 Merlin 表达下调可能参与了 HCC 的发生发展。

目前为止, Merlin 表达水平下调的机理目前尚未阐明^[10-12]。研究表明, miRNA 是哺乳动物基因组中最为丰富的调节基因之一。其通过与靶基因 mRNA 的 3'-UTR 完全或非完全结合使之降解或者抑制其翻译, 从而在转录后水平降低相关靶蛋白质的表达。miRNA 调控众多的癌基因和抑癌基因, 在 HCC 发生和转移复发中起关键的作用^[13]。现已证实, miRNA 与其靶基因表达呈负相关的调控规律, 即 miRNA 表达水平上调, 其相关的靶基因表达水平则下调^[14-15]。

新近研究^[16-18]发现, miR-342-5p 是 miR-342 的成熟形式, 由人类 14 号染色体编码, 直接作用于 DNA 甲基转移酶, 在乳腺癌中调控抑癌基因中发挥重要作用, 并与肿瘤侵袭运动和多耐药的发生密切相关^[17, 19]。在前期研究中, 通过生物信息学分析方法发现 Merlin 可能是 miR-342-5p 的潜在靶基因。为此, 本研究通过荧光定量 PCR 方法检测了 miR-342-5p 在 HCC 组织和癌旁肝脏组织中的表达, 结果显示 miR-342-5p 表达与 Merlin 基因表达水平呈负相关性。故笔者推测, miR-342-5p 与 Merlin 之间可能存在调控关系, 从而影响 HCC 的生物学特性。

然而, miR-342-5p 的细胞生物学作用和发病机制仍然不清楚, 且 miR-342-5p 在 HCC 中的表达及作用目前研究未见报道。另一方面, 划痕实验和 Transwell 实验结果均显示, 沉默 miR-342-5p 表达能显著抑制 HCC 细胞 HCCLM3 的迁移侵袭功能, 提示 miR-342-5p 通过调节某些细胞信号通路分子的表达而发挥促癌转移的功能。双荧光素酶报告系统常用于鉴定 miRNA 与靶基因之间的相互调控作用。本研究中发现, 双荧光素酶报告实验进一步证明 miR-342-5p 直接作用于 Merlin 的 3' 末端非编码区, Merlin 是 miR-342-5p 直接作用的靶基因。

综上所述, 在 HCC 中, miR-342-5p 可能通过负反馈方式调控抑癌基因 Merlin 的表达, 发挥促进 HCC 细胞侵袭转移能力的作用。本研究结果揭示了 miR-342-5p 表达调控 HCC 侵袭运动的新作用机制, 有望为 HCC 的临床研究提供潜在可行的靶点。

参考文献

- [1] Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives[J]. *Gut*, 2014, 63(5):844-855.
- [2] Cooper J, Giancotti FG. Molecular insights into NF2/Merlin tumor suppressor function[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(16):2743-2752.
- [3] Garcia C, Gutmann DH. NF2/Merlin controls spinal cord neural progenitor function in a Rac1/ErbB2-dependent manner[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97320.
- [4] Schroeder RD, Angelo LS, Kurzrock R. NF2/merlin in hereditary neurofibromatosis 2 versus cancer: biologic mechanisms and clinical associations[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(1):67-77.
- [5] 肖亮, 王志明. microRNA 在肝细胞癌发生发展和诊治中的作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(1):106-110.
- [6] Braconi C, Henry JC, Kogure T, et al. The role of microRNAs in human liver cancers[J]. *Semin Oncol*, 2011, 38(6):752-763.
- [7] Ye K, Chang S, Li J, et al. A functional and protein-protein interaction analysis of neuroepithelial cell transforming gene 1 in hepatocellular carcinoma[J]. *Tumor Biology*, 2014. [Epub ahead of print]
- [8] Yoo NJ, Park SW, Lee SH. Mutational analysis of tumour suppressor gene NF2 in common solid cancers and acute leukaemias[J]. *Pathology*, 2012, 44(1):29-32.
- [9] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. OncomiRs-microRNAs with a role in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4):259-69.
- [10] Benhamouche S, Curto M, Saotome I, et al. NF2/Merlin controls progenitor homeostasis and tumorigenesis in the liver[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(16):1718-1730.
- [11] Yi C, Kissil JL. Merlin in organ size control and tumorigenesis: Hippo versus EGFR? [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(16):1673-1679.
- [12] Villanueva T. Tumorigenesis: Merlin, the liver wizard[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(10):666.
- [13] 周兴舰, 李红浪. MicroRNA 功能异常与肿瘤浸润转移的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2012, 21(5):602-606.
- [14] Zheng F, Liao YJ, Cai MY, et al. The putative tumour suppressor microRNA-124 modulates hepatocellular carcinoma cell aggressiveness by repressing ROCK2 and EZH2[J]. *Gut*, 2012, 61(2):278-289.
- [15] Turato C, Simonato D, Quarta S, et al. MicroRNAs and SerpinB3 in hepatocellular carcinoma[J]. *Life Sci*, 2014, 100(1):9-17.
- [16] Xiong Y, Fang JH, Yun JP, et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2010, 51(3):836-845.
- [17] Pérez-Rivas LG, Jerez JM, Carmona R, et al. A microRNA signature associated with early recurrence in breast cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e91884.
- [18] Hrdličková R, Nehyba J, Bargmann W, et al. Multiple tumor suppressor microRNAs regulate telomerase and TCF7, an important transcriptional regulator of the Wnt pathway[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e86990.
- [19] Presneau N, Eskandarpour M, Shemais T, et al. MicroRNA profiling of peripheral nerve sheath tumours identifies miR-29c as a tumour suppressor gene involved in tumour progression[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(4):964-972.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 胡宽, 陶一明, 黄云, 等. miR-342-5p 调控靶基因 Merlin 表达促进肝细胞癌侵袭转移的实验研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(9):1200-1206. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.09.009

Cite this article as: HU K, TAO YM, HUANG Y, et al. Enhancing effect of miR-342-5p on invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma via regulating its target gene Merlin expression[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(9):1200-1206. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.09.009