

miR-193a-5p促进人胰腺癌细胞体外迁移和侵袭作用的研究

李曼曼 杨召聪 卢洲 潘怡 金亮*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

摘要 该研究主要探讨了微小核酸miRNA-193a-5p对人胰腺癌细胞体外迁移和侵袭的促进作用及其机制。采用miR-193a-5p模拟物及miR-193a-5p抑制剂分别上调和下调miR-193a-5p的表达; 采用细胞划痕法和Transwell小室法检测miR-193a-5p对细胞迁移和侵袭能力的影响; 采用TargetScan 7.1数据库预测miR-193a-5p的靶基因; 荧光素酶报告法验证miR-193a-5p的靶基因; Western blot和实时荧光定量PCR验证其表达结果。结果表明, miR-193a-5p可显著促进细胞的迁移和侵袭能力。TargetScan 7.1软件预测, *Prox1*可能为miR-193a-5p的靶基因, 荧光素酶报告实验显示, miR-193a-5p靶向*Prox1*基因的3'UTR区。实时荧光定量PCR和Western blot结果显示, miR-193a-5p下调了*Prox1*的mRNA和蛋白水平的表达。研究结果揭示, 在胰腺癌中高表达的miR-193a-5p通过下调*Prox1*, 从而使胰腺癌细胞获得高的迁移和侵袭能力, 促进胰腺癌的转移。

关键词 胰腺癌; miR-193a-5p; *Prox1*; 迁移; 侵袭

Mechanism of miR-193a-5p on Migration and Invasion of Pancreatic Cancer Cells *In Vitro*

Li Manman, Yang Zhaocong, Lu Zhou, Pan Yi, Jin Liang*

(School of life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract The aim of this study was to investigate the effect and mechanisms of miR-193a-5p on migration and invasion of human breast cancer cells *in vitro*. Panc-1 cells were treated with miR-193a-5p mimic or miR-193a-5p inhibitor to up-regulate/down-regulate the expression level of miR-193a-5p. Wound-healing assay and Transwell chamber were employed to determine cell migration and invasion *in vitro*. The target gene of miR-193a-5p was predicted with the TargetScan 7.1 database and verified through luciferase reporter method. The effects of miR-193a-5p on the expression of the potential target were detected by Real-time PCR and Western blot. Results showed that *in vitro* migration and invasion ability of Panc-1 cells was increased significantly by Real-time PCR, which could target *Prox1* in the 3'UTR region. The mRNA and protein expression of *Prox1* was decreased by miR-193a-5p overexpression. The results validated that miR-193a-5p, highly expressed in pancreatic cancer, could down-regulate

收稿日期: 2019-02-28 接受日期: 2019-05-07

国家自然科学基金(批准号: 81570696、81702941)、江苏高校“青蓝工程”资助项目、高等学校学科创新引智计划(“111计划”)(批准号: B16046)和江苏高校优势学科建设工程资助项目(批准号: PAPD)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18761874536, E-mail: ljstemcell@cpu.edu.cn

Received: February 28, 2019

Accepted: March 7, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81570696, 81702941), Qing Lan Project, S the '111' Project (Grant No.B16046) and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (Grant No.PAPD)

*Corresponding author. Tel: +86-18761874536, E-mail: ljstemcell@cpu.edu.cn

网络出版时间: 2019-09-12 15:08:09

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190912.1507.042.html>

Prox1, which in turn promotes migration and invasion ability of breast cancer cells, thus promoting pancreatic cancer metastasis.

Keywords pancreatic adenocarcinoma; miR-193a-5p; Prox1; migration; invasion

胰腺癌是世界范围内肿瘤致死的主要原因之一,大多数胰腺癌患者在确诊时处于晚期阶段,其中位生存期为3~6个月,5年生存率低于5%^[1-3]。尽管手术切除、免疫疗法、辅助化疗及放疗等方法用于胰腺癌的治疗,但疗效并不理想^[4-6]。最近,胰腺癌的异常转移被认为是导致更高死亡率的主要原因。因此,研究胰腺癌细胞转移的分子机制十分必要。

微小RNA(miRNA)是一类单链、非编码内源性RNA,含有19~24个核苷酸^[7]。miRNA通过直接结合靶mRNA的3'非翻译区(3'UTR)发挥其生物学功能^[8]。miR-193a-5p的异常表达已在多种肿瘤中被报道,如:前列腺癌^[9-10]、结肠癌^[11]、胃癌^[12]、乳腺癌^[13]和非小细胞肺癌^[14]等,提示它在肿瘤发生、发展中起重要作用。然而,miR-193a-5p如何影响胰腺癌的发展尚不清楚。因此,本研究考察miR-193a-5p对胰腺癌转移的生物学作用,研究miR-193a-5p调控胰腺癌转移的机制,为抗胰腺癌的药物筛选提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

DMEM高糖培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司;RPMI-1640培养基、L-15不完全培养基购自江苏凯基生物技术有限公司;青霉素-链霉素溶液、苯甲基磺酰氟(phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)、RIPA裂解溶液、BCA蛋白质定量试剂盒、胰酶细胞消化液购自上海碧云天生物技术有限公司;Lipofectamine™ 2000、Trizol试剂购自美国Invitrogen公司;Matrigel购自美国Corning公司;miR-193a-5p模拟物、模拟物阴性对照、miR-193a-5p抑制剂、抑制剂阴性对照、miRNA实时荧光定量PCR试剂盒购自上海吉玛制药技术公司;兔抗人Prox1单克隆抗体、兔抗人GAPDH单克隆抗体、辣根过氧化物酶HRP标记的羊抗兔IgG购自美国CST公司。实时荧光定量PCR过程中所使用的引物和双荧光素酶报告基因载体构建中靶位点序列由安徽通用生物系统有限公司合成。

1.2 仪器

细胞培养箱、离心机购自美国Thermo公司;实

时荧光定量PCR仪购自上海罗氏制药有限公司;酶标仪购自美国BioTek公司;显微图象采集系统购自日本Olympus公司。

1.3 细胞

人正常胰腺导管上皮细胞系HPDE、人胰腺癌细胞系Panc-1、人胰腺癌细胞系MIApaca-2、人胰腺癌细胞系SW1990、人胚肾细胞系HEK-293T由中国药科大学生物技术中心保存。

1.4 细胞培养

用含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素溶液的RPMI-1640培养基、DMEM培养基和L-15培养基于37℃、5% CO₂的细胞培养箱中分别对应培养细胞HPDE、Panc-1、MIApaca-2、HEK-293T和SW1990,细胞融合率为80%~90%时,用胰酶细胞消化液消化,按照1:2的比例传代。将细胞以每孔2×10⁵个的细胞比例接种于6孔板,继续培养用于后续实验。

1.5 Real-time PCR实验

用Trizol法提取各组细胞的总RNA,进行反转录得到cDNA,然后以cDNA为模板进行Real-time PCR反应,其中miR-193a-5p以U6为内参,Prox1以GAPDH为内参,Real-time PCR反应数据以循环阈值(Ct)记录,实验结果利用 $\Delta\Delta C_t$ 法进行计算,相对定量各实验组样品内miR-193a-5p和Prox1基因mRNA水平的表达(miR-193a-5p和U6引物来自吉玛miRNA实时荧光定量PCR定量试剂盒;Prox1和GAPDH引物序列见表1)。

1.6 细胞转染

将miR-193a-5p模拟物、模拟物阴性对照、miR-193a-5p抑制剂、抑制剂阴性对照(表2),于干粉瞬时离心后,用ddH₂O溶解配制成终浓度为20 μmol/L的工作液(使用时的终浓度均为100 μmol/L),并分装于-20℃贮存。取培养于6孔板的细胞,根据Lipofectamine™ 2000试剂说明书进行转染,在无血清培养6 h后将上清换为完全培养基,继续培养用于后续实验。

1.7 划痕愈合迁移实验

将种植于6孔板中的细胞转染0 h后,利用10 μL枪头在细胞层中垂直作十字划痕处理,分别于0、

表1 *Prox1*和*GAPDH*的Real-time PCR引物序列Table 1 The primers used for Real-time PCR of *Prox1* and *GAPDH* genes

引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence (5'→3')
Prox1-F	AGT GTG GCA TTA AGG GGC AAT
Prox1-R	GCT CCT CTC GCT TCT GTT CTT
GAPDH-F	CAT GAG AAG TAT GAC AAC AGC CT
GAPDH-R	AGT CCT TCC ACG ATA CCA AAG T

表2 miR-193a-5p模拟物/抑制剂及其阴性对照的引物序列

Table 2 Sequences of miR-193a-5p mimic/inhibit and their controls

引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence (5'→3')
miR-193a-5p mimic	Sense: UGG GUC UUU GCG GGC GAG AUG A Antisense: AUC UCG CCC GCA AAG ACC CAU U
Control mimic	Sense: UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT Antisense: ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT
miR-193a-5p inhibitor	UCA UCU CGC CCG CAA AGA CCC A
Control inhibitor	CAG UAC UUU UGU GUA GUA CAA

表3 荧光素酶报告实验的引物序列

Table 3 Primer sequences used for luciferase reporter assay

引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence (5'→3')
Prox1-WT-F	TCGA GTT ATT AAG CTC TTT TTT GTA ATA AAG ACC CTT TGA TTT GAA TAT AGT ACA ATA T
Prox1-WT-R	CTA GAT ATT GTA CTA TAT TCA AAT CAA AGG GTC TTT ATT ACA AAA AAG AGC TTA ATA AC
Prox1-Mut-F	TCG AGT TAT TAA GCT CTT TTT TGT AAT ACC TCA AAT TTG ATT TGA ATA TAG TAC AA TAT
Prox1-Mut-R	CTA GAT ATT GTA CTA TAT TCA AAT CAA ATT TGA GGT ATT ACA AAA AAG AGC TTA ATA AC

粗体代表酶切位点。

Bold indicates restriction endonuclease sites.

24、48 h在显微镜下观察细胞迁移情况并拍照, 每组设置3个平行复孔。

1.8 Transwell小室法检测细胞侵袭、迁移能力

转染细胞24 h后, 将细胞进行消化并离心, 用无血清的L-15培养基吹打混匀, 将细胞计数后调整细胞的浓度为 5×10^5 细胞/mL, 在Transwell小室的下室加入800 μ L含5% FBS的L-15培养基, 在上室加入200 μ L混匀的细胞悬液。Transwell侵袭实验中, 在实验前4~6 h将Matrigel胶用无血清的L-15培养基按1:6进行稀释, 以每孔50 μ L的体积加入到Transwell小室中, 并于37 $^{\circ}$ C细胞培养箱中静置备用。细胞在培养箱培养36~48 h, 经4%多聚甲醛固定30 min和0.1%结晶紫染色30 min后, 将小室在PBS中清洗后, 用棉签小心擦去上室膜上散落的细胞, 用显微图像采集系统进行观察并拍照, 随机选取3个视野计算细胞穿

膜数。

1.9 靶基因预测和荧光素酶报告实验

通过生物信息预测数据库TargetScan 7.1(<http://www.targetscan.org/>)对miR-193a-5p进行检索, 预测到*Prox1*为其靶基因。人工合成包含目的片段3'UTR种子序列*Prox1*野生型片段(*Prox1*-WT), 并引入*Xho* I和*Xba* I限制性核酸内切酶位点; 在野生序列基础上, 另外设计合成了种子序列互补序列的突变位点, 合成突变型片段(*Prox1*-Mut)(表3, 粗体表示酶切位点)。包含目标基因的片段经退火后与酶切后的pMIR-REPORT质粒进行连接重组。将HEK-293T细胞种于24孔板中, 每孔分别共转染1 μ g *Prox1*-WT(或相对应的突变质粒*Prox1*-Mut)、0.3 μ g海肾荧光素酶质粒以及相应量的miR-193a-5p模拟物或miR-193a-5p抑制剂或各自对应的阴性对照, 每组设置3

个平行复孔。转染48 h使用双荧光素酶报告试剂盒对其荧光值进行检测。

1.10 Western blot实验

细胞转染48 h后, 使用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂(RIPA)裂解液收提取细胞蛋白, 加入变性上样缓冲液, 于100 °C煮沸10 min。按照每孔蛋白上样量30 µg, 使用浓度为10%的SDS-PAGE分离不同的蛋白质, 再使用半干转法将蛋白转移到PVDF膜上, 于5%的脱脂牛奶室温封闭1 h。TBST清洗3次后, 再按照条带分别加入1:1 000稀释的兔抗人Prox1抗体和GAPDH抗体, 4 °C摇床孵育过夜, 次日吸出抗体, 以TBST洗涤3次, 加入山羊抗兔IgG二抗(1:2 000)室温孵育2 h, 继续洗膜3次后于ECL显色系统定影显色。

1.11 统计学方法

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用GraphPad Prism 5统计软件进行数据统计和图像处理。多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用 t 检验分析。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-193a-5p在不同胰腺癌中的表达

Panc-1、MIApaca-2属于高转移性恶性乳腺癌细胞系, SW1990的恶性程度较低, 本研究比较了不同胰腺癌细胞系中miR-193a-5p的表达水平。Real-

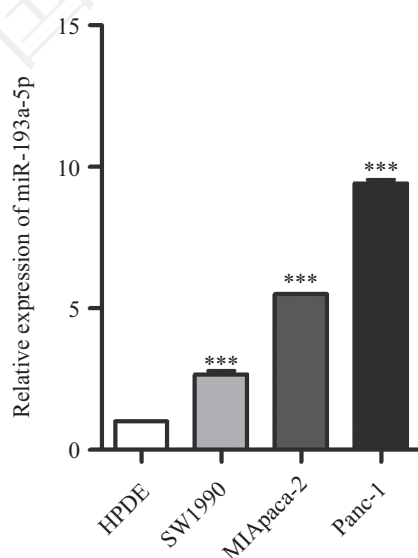
time PCR检测结果(图1)显示, miR-193a-5p在Panc-1、MIApaca-2中明显高于在SW1990中的表达, miR-193a-5p在恶性程度更高的Panc-1、MIApaca-2中高表达; 而miR-193a-5p在Panc-1、MIApaca-2和SW1990细胞中的表达显著高于人正常胰腺导管上皮细胞HPDE。这提示, miR-193a-5p具有潜在的促进肿瘤发展的作用。

2.2 过表达和敲除miR-193a-5p的转染效率验证

将miR-193a-5p模拟物、miR-193a-5p抑制剂及其阴性对照转染胰腺细胞SW1990, 细胞转染36 h后, Real-time PCR检测结果(图2)显示, 与模拟物阴性对照组相比, 转染miR-193a-5p模拟物的细胞中miR-193a-5p的表达水平上调, 差异有统计学意义; 与抑制剂阴性对照组相比, 转染miR-193a-5p抑制剂的细胞中miR-193a-5p的表达水平下调, 差异有统计学意义。总之, 以上结果说明有效实现了miR-193a-5p的过表达和敲除。

2.3 miR-193a-5p促进人胰腺癌SW1990细胞的体外侵袭和迁移

体外迁移实验结果显示, 与模拟物阴性对照组相比, 过表达miR-193a-5p后, 细胞划痕间隙的愈合速率显著升高(图3A); 相反, 敲除miR-193a-5p的细胞划痕间隙的愈合速率显著降低(图3B)。此外, Transwell小室结果显示, 过表达miR-193a-5p后, SW1990细胞迁移和侵袭数目显著增多(图4A); 相

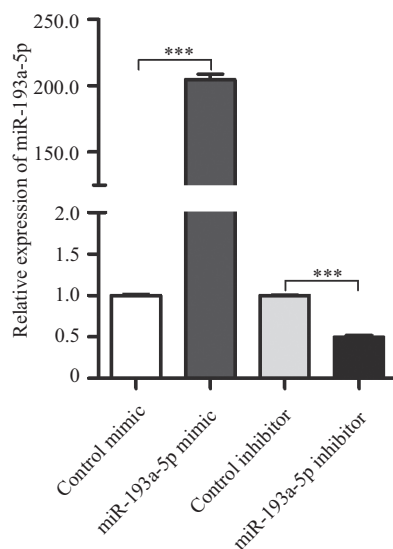


*** $P < 0.001$, 与HPDE组比较。

*** $P < 0.001$ vs HPDE group.

图1 miR-193a-5p在不同胰腺癌细胞系里的相关表达水平

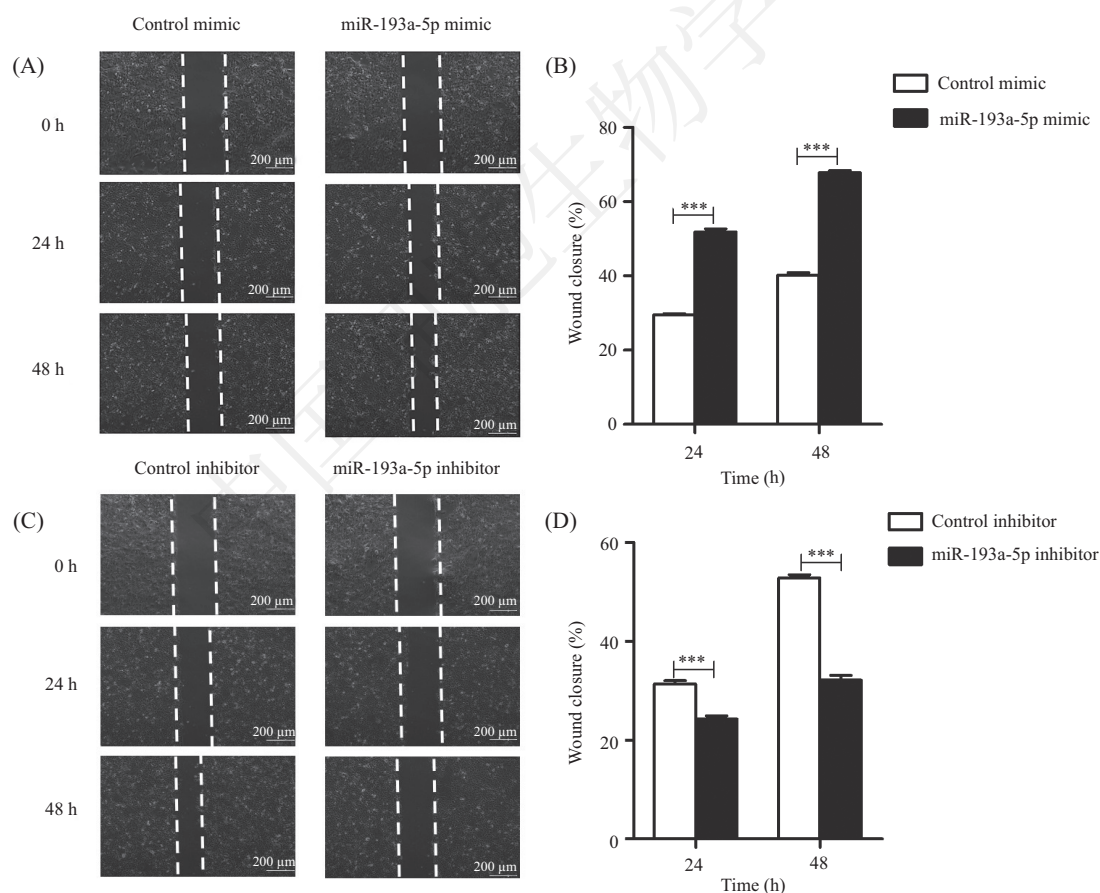
Fig.1 Expression of miR-193a-5p in different pancreatic cancer cells



*** $P<0.001$.

图2 在SW1990细胞中过表达和敲除miR-193a-5p的转染效率

Fig.2 Transfection efficiency of miR-193a-5p in SW1990 cells after treated with miR-193a-5p mimic/inhibitor

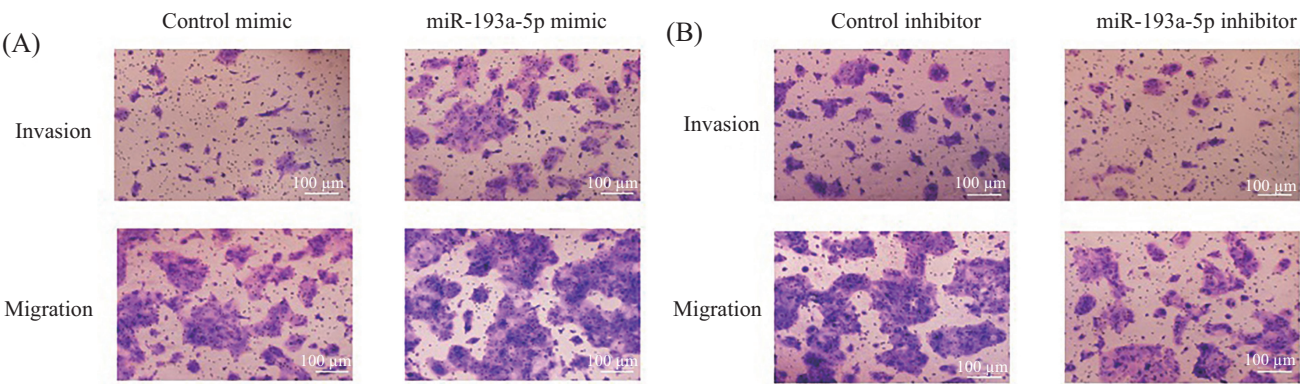


A: 过表达miR-193a-5p的划痕实验; B: 过表达miR-193a-5p后的划痕愈合率; C: 敲除miR-193a-5p的划痕实验; D: 敲除miR-193a-5p后的划痕愈合率。*** $P<0.001$ 。

A: wound-healing assay in SW1990 cells with over-expression of miR-193a-5p; B: the cell recovery rate of wound-healing assay with over-expression of miR-193a-5p; C: wound-healing assay in SW1990 cells with miR-193a-5p inhibitor; D: the cell recovery rate of wound-healing assay with miR-193a-5p inhibitor. *** $P<0.001$.

图3 划痕实验检测miR-193a-5p对SW1990细胞迁移能力的影响

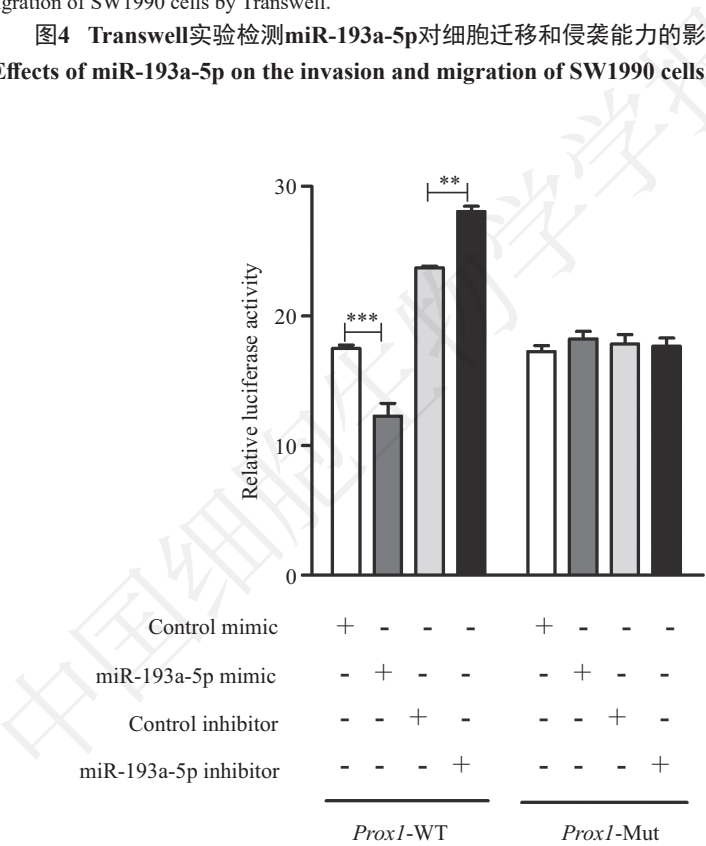
Fig.3 Effects of miR-193a-5p on the migration of SW1990 cells by wound-healing assay



A: Transwell实验检测在SW1990细胞中过表达miR-193a-5p对细胞迁移和侵袭能力的影响; B: Transwell实验检测在SW1990细胞中敲除miR-193a-5p对细胞迁移和侵袭能力的影响。

A: the effects of over-expression miR-193a-5p on the invasion and migration of SW1990 cells by Transwell; B: the effects of down-expression miR-193a-5p on the invasion and migration of SW1990 cells by Transwell.

图4 Transwell实验检测miR-193a-5p对细胞迁移和侵袭能力的影响
Fig.4 Effects of miR-193a-5p on the invasion and migration of SW1990 cells by Transwell



** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

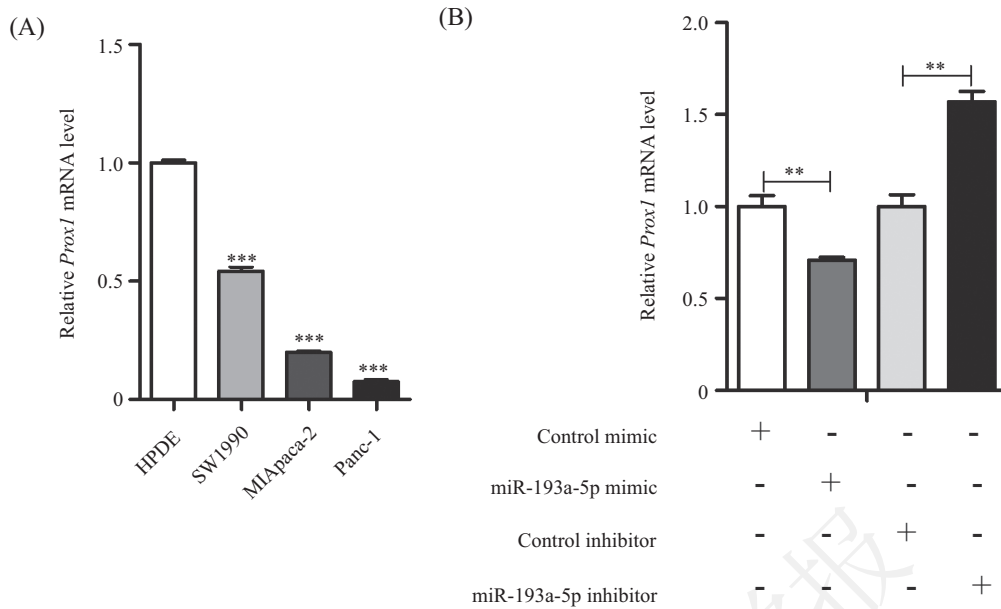
图5 荧光素酶报告基因实验
Fig.5 Luciferase reporter assay after transfection

反, 敲除miR-193a-5p后细胞的迁移和侵袭数目显著减少(图4B), 差异有统计学意义。

2.4 靶基因预测及Prox1的荧光素酶验证

通过TargetScan 7.1软件预测分析, miR-193a-5p序列与Prox1 3'非翻译区(3'UTR)存在一个互补结合区, 说明Prox1可能为miR-193a-5p的特异性靶基

因。本研究进行了荧光素酶报告实验, 实验结果(图5)显示, miR-193a-5p能够显著下调荧光素酶活性, 用miR-193a-5p抑制剂处理后荧光素酶活性显著上升, 当将载体内与miR-193a-5p结合的位点突变后, 再转染分析时发现荧光素酶活性不受miR-193a-5p上调或下调的影响。这表明, Prox1为miR-193a-5p的直

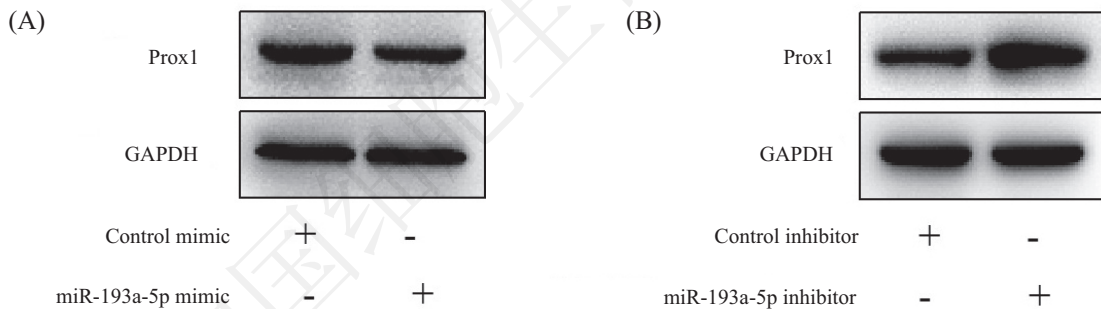


A: *Prox1*在不同胰腺癌细胞系里的相关表达水平。***P<0.001, 与HPDE组比较。B: miR-193a-5p对*Prox1* mRNA水平的影响。**P<0.01。

A: expression of miR-193a-5p in different pancreatic cancer cells. ***P<0.001 vs HPDE group; B: effects of miR-193a-5p on the mRNA expression of *Prox1* in SW1990 cells. **P<0.01.

图6 *Prox1*的mRNA水平的表达情况

Fig.6 The mRNA expression of *Prox1*



A: 在SW1990细胞中过表达miR-193a-5p对*Prox1*蛋白的影响; B: 在SW1990细胞中敲除miR-193a-5p对*Prox1*蛋白的影响。

A: the protein expression level of *Prox1* in miR-193a-5p over-expression SW1990 cells; B: the protein expression level of *Prox1* in miR-193a-5p down-expression SW1990 cells.

图7 miR-193a-5p对*Prox1*蛋白水平的影响

Fig.7 Effects of miR-193a-5p mimic and inhibitor on the protein expression of *Prox1* in SW1990 cells

接靶基因, miR-193a-5p与*Prox1*的3'UTR区存在直接靶向作用。

2.5 Real-time PCR和Western blot检测*Prox1*转录水平和蛋白水平的表达

Real-time PCR检测结果(图6A)显示, *Prox1*在Panc-1、MIApaca-2和SW1990胰腺癌细胞中的表达显著低于正常胰腺导管上皮细胞HPDE, 且*Prox1*在恶性程度更高的Panc-1、MIApaca-2中表达明显低于恶性程度较低的SW1990细胞。miR-193a-5p过表达后, *Prox1*的mRNA表达水平降低, 而miR-193a-5p

敲除后, *Prox1*的mRNA表达水平增高(图6B)。Western blot结果(图7)显示, 过表达和敲除miR-193a-5p分别可下调和上调*Prox1*在蛋白水平的表达。

3 讨论

胰腺癌是一种极具侵袭性的消化道肿瘤, 常发生局部浸润和早期转移, 以进展快、预后差及死亡率高为特点。miRNA通常参与细胞功能, 如增殖、侵袭和迁移^[15-18]。不同的miRNA在肿瘤中的表达情况不同, 对肿瘤的发生及转移也起到不同的作用^[19]。

为了探讨miR-193a-5p在胰腺癌中的作用,本研究以SW1990细胞作为研究对象,通过脂质体法将miR-193a-5p模拟物及miR-193a-5p抑制剂转染至细胞中,通过划痕实验和Transwell实验发现,与对照组相比,转染miR-193a-5p模拟物后细胞的迁移和侵袭的能力增加,而转染miR-193a-5p抑制剂后细胞的迁移和侵袭的能力减少,这表明,miR-193a-5p对胰腺癌细胞迁移和侵袭能力具有正向调控作用。

此外,为了进一步研究miR-193a-5p调控胰腺癌转移的机制,本研究用目前常用的miRNA靶基因预测软件TargetScan 7.1对miR-193a-5p的靶基因进行预测,发现*Prox1*的3'UTR区域存在与miR-193a-5p不完全配对的序列,这说明,*Prox1*有可能是miR-193a-5p的靶基因。*Prox1*是果蝇的同源异型盒基因*prospero*在哺乳动物中的同源框基因转录因子,属于同源盒转录因子大家族的一员^[20]。*Prox1*在癌症发生中的作用被广泛报道,如在结肠癌中,*Prox1*是TCF/ β -catenin信号通路的下游靶蛋白,且其表达水平与结肠癌淋巴结转移呈正相关^[21];在食管鳞癌细胞、肝细胞癌组织中,过表达*Prox1*明显抑制细胞增殖^[22-23]。

在胰腺癌组织中,*Prox1*的表达水平显著低于正常胰腺外分泌组织,高分化胰腺癌细胞系中*Prox1*表达水平较低分化癌细胞高,*Prox1*低表达患者预后更差^[24],推断*Prox1*可能与胰腺癌的侵袭和转移相关。为了验证miR-193a-5p与*Prox1*之间是否存在调控的关系,我们先进行了荧光素酶报告基因验证实验,发现miR-193a-5p直接与*Prox1*基因的3'UTR区域相结合。Real-time PCR和Western blot结果显示揭示了miR-193a-5p可以负向调控*Prox1*的mRNA和蛋白表达。

综合以上实验结果,推测在胰腺癌中高表达的miR-193a-5p通过下调*Prox1*,从而使胰腺癌细胞获得较高的迁移和侵袭能力,促进胰腺癌的转移。具体机制还有待进一步实验研究确认。

参考文献 (References)

- Quaresma M, Coleman MP, Rachet B. 40-year trends in an index of survival for all cancers combined and survival adjusted for age and sex for each cancer in England and Wales, 1971-2011: a population-based study. *Lancet* 2015; 385(9974): 1206-18.
- Heinemann V, Reni M, Ychou M, Richel DJ, Macarulla T, Ducreux M. Tumour: stroma interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma: Rationale and current evidence for new therapeutic strategies. *Cancer Treat Rev* 2014; 40(1): 118-28.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *Ca Cancer J Clin* 2017; 67(1): 7-30.
- Mayor S. Immunotherapy improves overall survival in pancreatic cancer. *Lancet Oncol* 2015; 16(2): e58.
- Bergmann L, Maute L, Heil G, Rüssel J, Weidmann E, Köberle D, et al. A prospective randomised phase-II trial with gemcitabine versus gemcitabine plus sunitinib in advanced pancreatic cancer: a study of the CESAR Central European Society for Anticancer Drug Research-EWIV. *Eur J Cancer* 2015; 51(1): 27-36.
- Zijlstra M, Bernards N, de Hingh IH, van de Wouw AJ, Goey SH, Jacobs EM, et al. Does long-term survival exist in pancreatic adenocarcinoma. *Acta Oncol* 2015; 55(3): 1-6.
- Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell* 2006; 11(4): 441-50.
- Luke AY, Chris JN, Robert JC. The long and short of microRNA. *Cell* 2013; 153(3): 516-19.
- Zhang Y, Jiang F, He H, Ye J, Mao X, Guo Q, et al. Identification of a novel microRNA-mRNA regulatory biomodule in human prostate cancer. *Cell Death Dis* 2018; 9(3): 301.
- Yang Z, Chen JS, Wen JK, Gao HT, Zheng B, Qu CB, et al. Silencing of miR-193a-5p increases the chemosensitivity of prostate cancer cells to docetaxel. *J Exp Clin Oncol* 2017; 36(1): 178-93.
- Shirafkan N, Shomali N, Kazemi T, Shانهbandi D. microRNA-193a-5p inhibits migration of human HT-29 colon cancer cells via suppression of metastasis pathway. *J Cell Biochem* 2018; doi: 10.1002/jcb.28164.
- Chou NH, Lo YH, Wang KC, Kang CH. MiR-193a-5p and-3p play a distinct role in gastric cancer: miR-193a-3p suppresses gastric cancer cell growth by targeting ETS1 and CCND1. *Anticancer Res* 2018; 38(6): 3309-18.
- Xie F, Hosany S, Zhong S, Jiang Y, Zhang F, Lin L, et al. MicroRNA-193a inhibits breast cancer proliferation and metastasis by downregulating WT1. *PLoS One* 2017; 12(10): e0185565.
- Yu T, Li J, Yan M, Liu L, Lin H, Zhao F, et al. MicroRNA-193a-3p and -5p suppress the metastasis of human non-small-cell lung cancer by downregulating the ERBB4/PIK3R3/mTOR/S6K2 signaling pathway. *Oncogene* 2015; 34(4): 413-23.
- Li W, Yi J, Zheng X, Liu S, Fu W, Ren L, et al. miR-29c plays a suppressive role in breast cancer by targeting the TIMP3/STAT1/FOXO1 pathway. *Clin Epigenetics* 2018; 10(1): 64-77.
- Peng YG, Zhang L. Baohuoside-I suppresses cell proliferation and migration by up-regulating miR-144 in melanoma. *Pharm Biol* 2018; 56(1): 43-50.
- Zhang W, Qian S, Yang G, Zhu L, Zhou B, Wang J, et al. MicroRNA-199 suppresses cell proliferation, migration and invasion by downregulating RGS17 in hepatocellular carcinoma. *Gene* 2018; 659: 22-28.
- Lu Z, Chen Z, Li Y, Wang J, Zhang Z, Che Y, et al. TGF- β -induced NKILA inhibits ESCC cell migration and invasion through NF- κ B/MMP14 signaling. *J Mol Med* 2018; 96(2): 1-13.
- Di LG, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2014; 9(2): 287-314.
- Oliver G, Sosa-Pineda B, Geisendorf S, Spana EP, Doe CQ, Gruss P. *Prox 1*, a *prospero*-related homeobox gene expressed during mouse development. *Mech Develop* 1993; 44(1): 3-16.

- 21 Petrova TV, Nykänen A, Normén C, Ivanov KI, Andersson LC, Haglund C, *et al.* Transcription factor PROX1 induces colon cancer progression by promoting the transition from benign to highly dysplastic phenotype. *Cancer Cell* 2008; 13(5): 407-19.
- 22 Akagami M, Kawada K, Kubo H, Kawada M, Takahashi M, Kaganoi J, *et al.* Transcriptional factor Prox1 plays an essential role in the antiproliferative action of interferon- γ in esophageal cancer cells. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(13): 3868-77.
- 23 Dudas J, Mansuroglu T, Moriconi F, Haller F, Wilting J, Lorf T, *et al.* Altered regulation of Prox1-gene-expression in liver tumors. *BMC Cancer* 2008; 8(1): 1-15.
- 24 Schneider M, Büchler P, Giese N, Giese T, Wilting J, Büchler MW, *et al.* Role of lymphangiogenesis and lymphangiogenic factors during pancreatic cancer progression and lymphatic spread. *Int J Oncol* 2006; 28(4): 883-90.

中国细胞生物学学报