

*SIK1*作为miR-93新的靶基因抑制前列腺癌细胞增殖、侵袭和迁移

杨旭¹ 谢辉^{1,2} 林平¹ 于晓光^{1*}

¹哈尔滨医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 哈尔滨 150081;

²哈尔滨医科大学基础医学院生物技术实验中心, 哈尔滨 150081)

摘要 该文探讨了*SIK1*作为miR-93新的靶基因对前列腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用。采用重组质粒pcDNA3.1-*SIK1*上调前列腺癌细胞中*SIK1*的表达后,利用CCK8和克隆形成实验检测细胞增殖;利用细胞划痕和Transwell实验检测细胞侵袭和迁移;利用Western blot检测E-cadherin和Vimentin的蛋白表达。采用生物信息学方法预测靶向*SIK1* mRNA的3'UTR的miRNAs并进行筛选;双荧光素酶报告实验和Western blot验证miR-93靶向调控*SIK1*。结果显示,上调*SIK1*的表达能抑制前列腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移,并增加E-cadherin和减少Vimentin蛋白表达;miR-93能够靶向负调控*SIK1*。总之,*SIK1*可作为miR-93一个新的靶基因抑制前列腺癌细胞增殖、侵袭和迁移。

关键词 前列腺癌; *SIK1*; miR-93; 细胞增殖; 细胞侵袭和迁移

SIK1, As a New Target Gene of miR-93, Inhibits the Proliferation, Invasion and Migration of Prostate Cancer Cells

YANG Xu¹, XIE Hui^{1,2}, LIN Ping¹, YU Xiaoguang^{1*}

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Basic Medicine College, Harbin Medical University, Harbin 150081, China;

²Biotechnology Experimental Center, Basic Medicine College, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract This paper investigated the inhibitory effect of *SIK1*, as a new target gene of miR-93, on the proliferation, invasion and migration of prostate cancer cells. After the expression of *SIK1* in prostate cancer cells was up-regulated by recombinant plasmid pcDNA3.1-*SIK1*, CCK8 and clone formation assay were used to detect cell proliferation; cell invasion and migration was detected by cell scratches and Transwell assay; the protein expression levels of E-cadherin and Vimentin were detected by Western blot. Luciferase reporting experiment and Western blot verified the targeted regulation of *SIK1* by miR-93. The results showed that up-regulated *SIK1* could inhibit the proliferation, invasion and migration of prostate cancer cells, as well as increase E-cadherin protein expression and decrease Vimentin protein expression; miR-93 could negatively regulate *SIK1*. In conclusion, *SIK1* can act as a new target gene of miR-93 to inhibit the proliferation, invasion and migration of prostate cancer cells.

Keywords prostate cancer; *SIK1*; miR-93; cell proliferation; cell invasion and migration

收稿日期: 2020-11-14

接受日期: 2020-12-21

黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(批准号: 2018-KYYWF-0432)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18946137534, E-mail: yuxg@hrbmu.edu.cn

Received: November 14, 2020

Accepted: December 21, 2020

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Provincial Universities of Heilongjiang (Grant No.2018-KYYWF-0432)

*Corresponding author. Tel: +86-18946137534, E-mail: yuxg@hrbmu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5481>

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性生殖系统最常见的恶性疾病,是目前男性中最主要的致死肿瘤。其发病率随年龄而增长,有明显的地区差异^[1]。阐明前列腺癌细胞的增殖和迁移的分子机制,有助于了解前列腺癌的发病机制和进展,为有效治疗前列腺癌提供新的靶点。

盐诱导激酶1(salt inducible kinase 1, SIK1)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,为AMP活化蛋白激酶(AMP activated protein kinase, AMPK)家族成员之一^[2]。肝脏激酶B1(liver kinase B1, LKB1)是SIK1的上游激酶^[3]。SIK1参与多种肿瘤的发生发展,有文献报道,卵巢癌(ovarian cancer, OC)中LKB1上调能促进SIK1的表达进而抑制卵巢癌细胞扩散^[4]。还有研究表明,SIK1在肝癌细胞中的上调显著抑制了异种移植瘤模型的上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、肿瘤生长和肺转移^[5]。SIK1能受到胃泌素的调节,影响胃泌素诱导的胃癌细胞信号转导,抑制胃癌细胞的迁移^[6]。在成神经管细胞瘤(medulloblastoma, MB)中,miR-130b-3p通过p53信号通路靶向SIK1,从而抑制成神经管细胞瘤的发生^[7]。然而,经PubMed检索发现,SIK1在前列腺癌中的作用尚未见相关文献报道。

miRNAs(microRNAs)是一类调节基因表达的小的非编码RNA(18~25个核苷酸)^[8]。它们在转录后通过翻译抑制或mRNA降解负调控特定mRNA的蛋白表达^[9]。多种miRNAs能靶向并负调控SIK1的表达进而影响多种癌症的发生发展。例如,在上皮性卵巢癌中,沉默miR-141可以恢复SIK1的表达,抑制卵巢癌细胞的增殖^[10];在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中,miR-17能通过靶向SIK1抑制肿瘤侵袭和迁移^[11];在胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA)中,SIK1的过表达抑制miR-203介导的对胰腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的调控^[12]。那么,在前列腺癌中是否存在新的miRNA靶向负调控SIK1的表达进而影响前列腺癌细胞的功能呢?因此,本课题进一步利用miRanda(<http://www.microrna.org/microrna/home.do>)、TargetScan(<http://www.targetscan.org>)和PicTar(<http://pictar.mdc-berlin.de/>)这3个数据库预测靶向SIK1的miRNAs。经预测得知,miR-93能够靶向SIK1 mRNA的3'UTR。

因此,本研究探讨了SIK1作为miR-93新的靶基因对前列腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用,旨在

为前列腺癌的分子诊断和预后预测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 人类正常前列腺细胞系RWPE-1细胞和前列腺癌相关细胞系PC3和DU145购于中国医学科学院细胞中心。

1.1.2 主要试剂 RPMI 1640培养基、DMEM培养基、OPTI-MEM培养基和FBS购自美国Hyclone公司;青霉素-链霉素溶液和PBS购自生工生物工程(上海)股份有限公司;重组质粒pcDNA3.1-SIK1和psi-check2质粒购自金唯智生物科技有限公司;Lipofectamine 3000转染试剂购自美国Invitrogen公司;Trizol和逆转录试剂盒购自日本TaKaRa公司;SIK1抗体购自美国Abcam公司;蛋白Marker、Vimentin抗体和E-cadherin抗体购自美国Cell Signaling公司;GAPDH抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司;磷酸酶抑制剂购自上海碧云天生物技术有限公司;蛋白酶抑制剂购自瑞士Roche公司;CCK8试剂盒购自日本Dojindo公司;Transwell培养系统购自美国Thermo公司;SIK1和GAPDH引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;miR-93引物、U6引物和miR-93 inhibitor由广州市锐博生物科技有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 前列腺癌细胞DU145用含10% FBS、1%青霉素-链霉素溶液的RPMI 1640培养基培养;前列腺癌细胞PC3用含15% FBS、1%青霉素-链霉素溶液的DMEM培养基,于37℃、5% CO₂条件下培养。观察细胞生长情况,约2天换液,约3天传代,取生长状态良好的对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 细胞转染 将前列腺癌细胞以每孔 5×10^5 个铺于6孔板内,过夜培养,待细胞密度达到70%时进行转染。按照Lipofectamine 3000说明书步骤分别转染重组质粒pcDNA3.1-SIK1和空质粒,每孔转染终浓度为1 000 nmol/L,24 h或者48 h后收集细胞进行后续实验;以相同的方法转染miR-93 inhibitor和阴性对照。miR-93 inhibitor和阴性对照的序列见表1。

1.2.3 CCK8实验 将已经转染的细胞消化后,稀释10倍计数,每100 μ L细胞原液含 2×10^3 个细胞,同时加入等体积(100 μ L)的细胞培养基做空白对照;每孔加入10 μ L CCK8溶液;置于37℃、5% CO₂条件下继续孵育0.5~4 h,对于大多数情况孵育1 h即可。时间的

长短根据细胞的类型和细胞的密度等实验情况而定,初次实验时可以在0.5、1、2和4 h后分别用酶标仪检测,然后选取吸光度(*D*)范围比较适宜的一个时间点用于后续实验;在450 nm波长处测定吸光度,连续测定4天的吸光度值。

1.2.4 克隆形成实验 细胞转染后,次日取处于对数生长期的细胞,经胰酶消化,然后将细胞悬液转移到1.5 mL EP管中混匀,取100 μ L细胞悬液稀释10倍进行细胞计数,最后稀释到所需要细胞浓度;按照200个/孔的细胞浓度接种于6孔板,每3天观察及换液1次,克隆10天左右,于倒置显微镜下可以观察到明显的克隆团,大约每个细胞团50个细胞。吸出所有的培养基,并用PBS洗2次。先用4%的多聚甲醛固定15 min,然后用0.1%结晶紫染色15 min,再用自来水冲洗,待干燥后进行拍照,最后对克隆细胞团计数并进行统计学分析。

1.2.5 细胞划痕实验 先用marker笔在6孔板背后,用直尺比着,均匀地划横线,每隔0.5~1 cm一道,横穿过孔。每孔至少穿过5条线;在孔中加入约 5×10^5 个细胞(具体数量因细胞不同而不同),接种原则为过夜能铺满皿底;第2天用枪头比着直尺,尽量垂直于背后的横线划痕;用PBS洗细胞1~3次,洗净划下的细胞,加入无血清培养基;放入37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养。分别在0和24 h取样进行拍照并记录

实验结果。

1.2.6 Transwell实验 在24孔板中加入600 μ L含15% FBS的DMED培养基,平稳地将小室放入,将200 μ L细胞悬液(细胞密度为 2×10^5 个/mL)滴加到小室里面,在37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 恒温培养箱孵育24 h后将小室取出,轻柔地用PBS清洗,接着用4%多聚甲醛固定20 min,之后用棉签擦去上层未穿过细胞,PBS清洗后用结晶紫染色15 min,自来水冲洗染料后将小室放入37 $^{\circ}$ C烘箱干燥,最后在倒置显微镜下拍照计数。

1.2.7 qRT-PCR实验 Trizol法提取转染空质粒组和重组质粒pcDNA3.1-SIK1组的前列腺癌细胞DU145和PC3中的总RNA,取1 μ g RNA用茎环法逆转录成cDNA后,用qRT-PCR检测*SIK1*的mRNA水平,*GAPDH*作为内参;Trizol法提取转染阴性对照和miR-93 inhibitor的前列腺癌细胞DU145和PC3中的总RNA,逆转录成cDNA后用qRT-PCR检测阴性对照组和miR-93 inhibitor组*SIK1*的mRNA水平,*U6*作为内参。引物序列见表2。

1.2.8 Western blot 收集转染后48 h的前列腺癌细胞,提取细胞总蛋白质,BCA法检测蛋白质的浓度,经10%的SDS-PAGE分离,然后在1 000 mA恒流下进行湿转,将蛋白质转移到PVDF膜上,封闭液室温封闭2 h后,加入一抗(*SIK1*、Vimentin、E-cadherin一抗稀释比例分别为1:500、1:1 000、1:1 000),在4 $^{\circ}$ C孵

表1 miRNA抑制剂序列
Table 1 miRNA inhibitor sequence

miRNA	序列(5'→3') Sequence (5'→3')
miR-93 inhibitor	CUG UUC CUG CUG AAC UGA GCC A
NC inhibitor	CAG UAC UUU UGU GUA GUA CAA

表2 引物序列
Table 2 Primer sequences

基因名称 Gene name	序列(5'→3') Sequence (5'→3')
miR-93	Forward: TGC GGT TTG GCA CTA GCA CAT Reverse: CCA GTG CAG GGT CCG AGG T
<i>U6</i>	Forward: GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA AAT Reverse: CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT
<i>SIK1</i>	Forward: GTC CCT CGG AAG GAA CTA GC Reverse: CTC GCG TTT TTC CTT AGC TG
<i>GAPDH</i>	Forward: CAG CGA CAC CCA CTC CTC Reverse: TGA GGT CCA CCA CCC TGT

育过夜,第2天用TBST洗去游离抗体,加入HRP标记的山羊抗小鼠或兔IgG二抗(1:1 000),室温孵育1.5 h, TBST洗膜3次,每次10 min, ECL发光液显色。

1.2.9 双荧光素酶报告基因实验 miRanda数据库中显示了*SIK1*与miR-93的结合位点,将包含了结合位点的*SIK1* 3'UTR的野生型和突变型片段分别插入到psi-check2报告质粒的多克隆酶切位点区间,利用Lipofectamine 3000转染试剂将*SIK1* 3'UTR的野生型(wt)和突变型(mut)重组质粒分别与miR-93 mimic或NC mimic共转染进HEK 293T细胞,海肾荧光素酶作为底物,48 h后检测萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶的活性。

1.2.10 统计学方法 所有实验重复3次,实验数据均以平均值±标准误($\bar{x} \pm s$)表示。用SPSS 17.0版统计分析软件中的单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)比较三组及三组以上差异;用*t*检验(*t* test)比较两组间差异, $P < 0.05$ 表示差异显著且具有统计学意义。

2 结果

2.1 上调*SIK1*的表达可抑制前列腺癌细胞增殖

qRT-PCR和Western blot结果(图1A和图1B)显示,转染重组质粒pcDNA3.1-*SIK1*后,PC3和DU145细胞中*SIK1*的mRNA和蛋白水平显著高于对照组

($P < 0.001$),说明转染成功。如图1C和图1D, CCK8和克隆形成实验结果所示,上调*SIK1*的表达后PC3和DU145细胞的增殖能力均显著低于对照组($P < 0.001$)。

2.2 上调*SIK1*的表达可抑制前列腺癌细胞侵袭和迁移

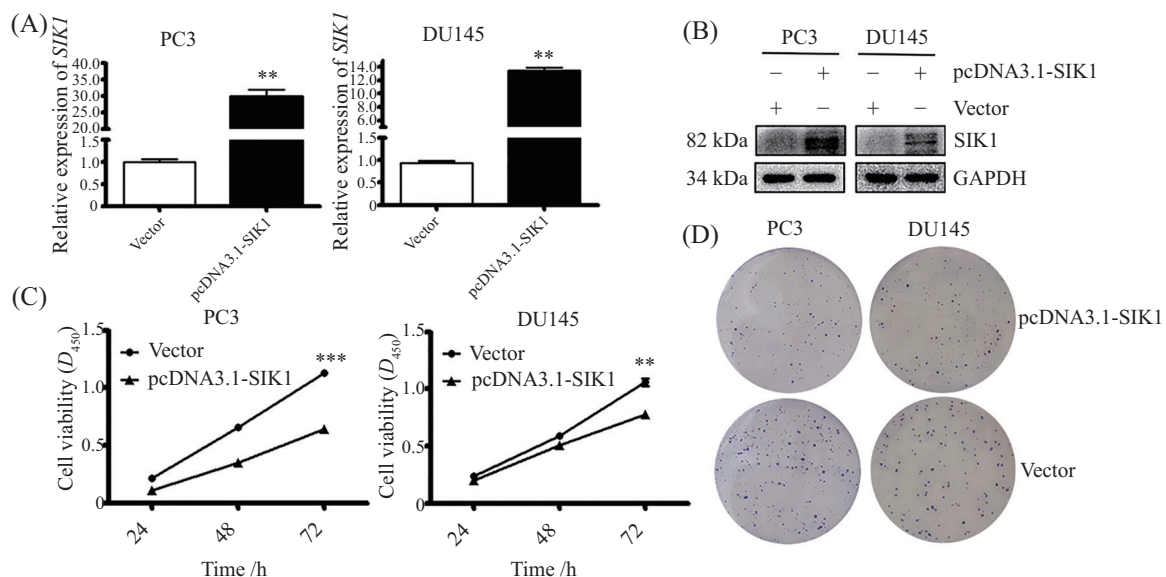
细胞划痕和Transwell实验结果显示,与对照组相比转染重组质粒pcDNA3.1-*SIK1*的PC3和DU145细胞的侵袭和迁移能力明显降低(图2A和图2B)。Western blot实验结果显示,在PC3和DU145细胞中上调*SIK1*的表达后, E-cadherin的蛋白水平升高,而Vimentin的蛋白水平降低(图2C)。

2.3 筛选靶向*SIK1*的miRNAs

利用miRanda(<http://www.microrna.org/microrna/home.do>)、TargetScan(<http://www.targetscan.org>)和PicTar(<http://pictar.mdc-berlin.de/>)这三个数据库预测能够靶向*SIK1* mRNA的3'UTR的miRNAs。预测后取交集得到19个miRNAs能够靶向*SIK1* mRNA的3'UTR(图3A)。有研究表明,miR-93在前列腺癌中高表达,且发挥肿瘤启动子的作用^[13]。qRT-PCR结果显示,与对照组相比,PC3和DU145细胞系中miR-93的表达均升高($P < 0.01$, $P < 0.001$)(图3B)。

2.4 miR-93靶向负调控*SIK1*

qRT-PCR结果显示,转染miR-93 inhibitor后,

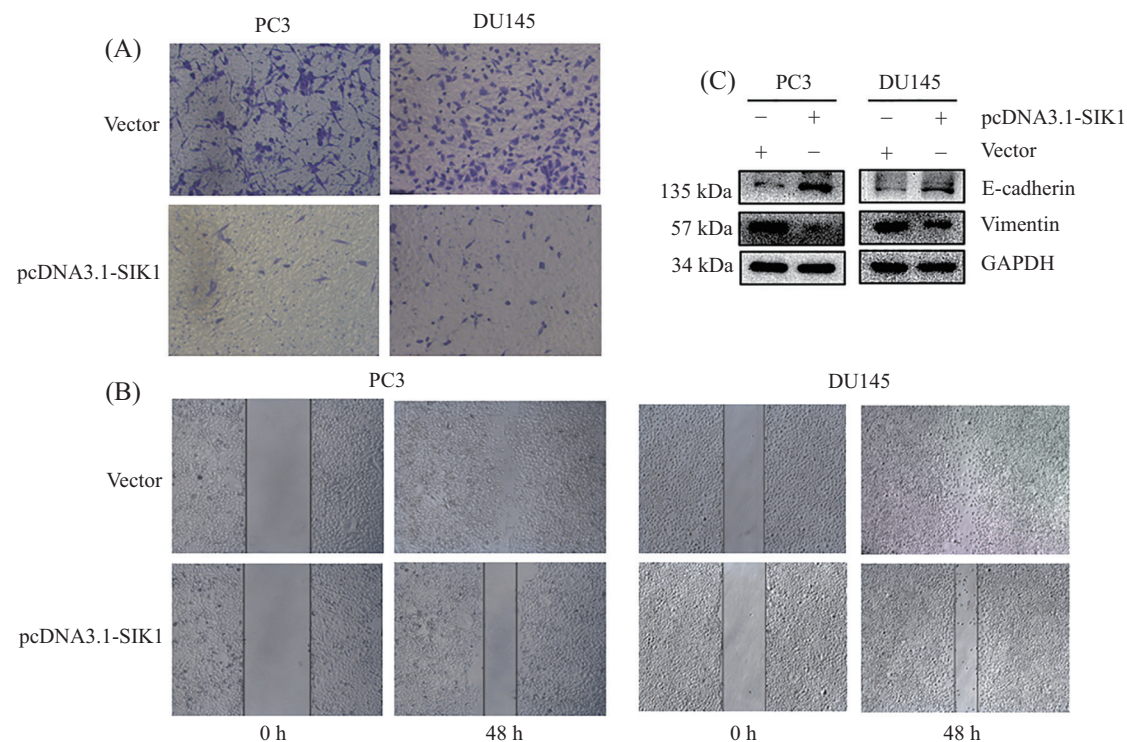


A, B: qRT-PCR和Western blot检测*SIK1*的过表达效率; C、D: CCK8和克隆形成实验检测细胞的增殖情况,上调*SIK1*的表达抑制了细胞增殖。 ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$,与Vector组相比。

A,B: the overexpression efficiency of *SIK1* was detected by qRT-PCR and Western blot; C,D: CCK8 and clone formation assay were used to detect cell proliferation, and the up-regulation of *SIK1* inhibited cell proliferation. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Vector group.

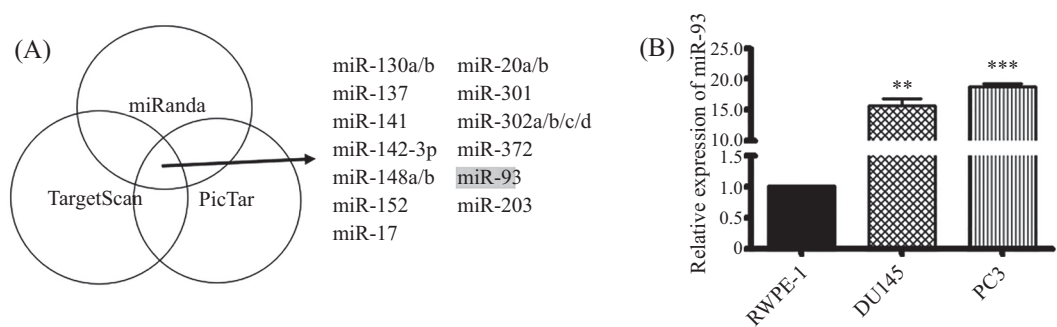
图1 上调*SIK1*的表达可抑制前列腺癌细胞增殖

Fig.1 Up-regulation of *SIK1* can inhibit the proliferation of prostate cancer cells



A、B: Transwell和细胞划痕实验检测细胞侵袭和迁移情况,上调SIK1的表达抑制了细胞侵袭和迁移; C: 用重组质粒pcDNA3.1-SIK1或空质粒处理PC3和DU145细胞48 h, Western blot检测E-cadherin和Vimentin的蛋白表达情况。
A,B: Transwell and cell scratch assay detected cell invasion and migration, and the up-regulation of SIK1 inhibited cell invasion and migration; C: PC3 and DU145 cells were treated with recombinant plasmid pcDNA3.1-SIK1 or empty plasmid for 48 h, and the protein expression levels of E-cadherin and Vimentin were detected by Western blot.

图2 上调SIK1的表达可抑制前列腺癌细胞侵袭和迁移
Fig.2 Up-regulation of SIK1 can inhibit the invasion and migration of prostate cancer cells



A: 韦恩图显示了从数据库(miRanda、TargetSan和PicTar)中预测到的靶向*SIK1* 3'UTR的miRNAs; B: qRT-PCR检测PC3、DU145细胞系和正常前列腺细胞系中miR-93的表达。 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 与RWPE-1组相比。
A: Venn diagram shows the miRNAs targeting *SIK1* 3'UTR predicted from the databases (miRanda, TargetSan and PicTar); B: the expression of miR-93 in PC3 and DU145 cell lines and normal prostate cell lines were detected by qRT-PCR. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs RWPE-1 group.

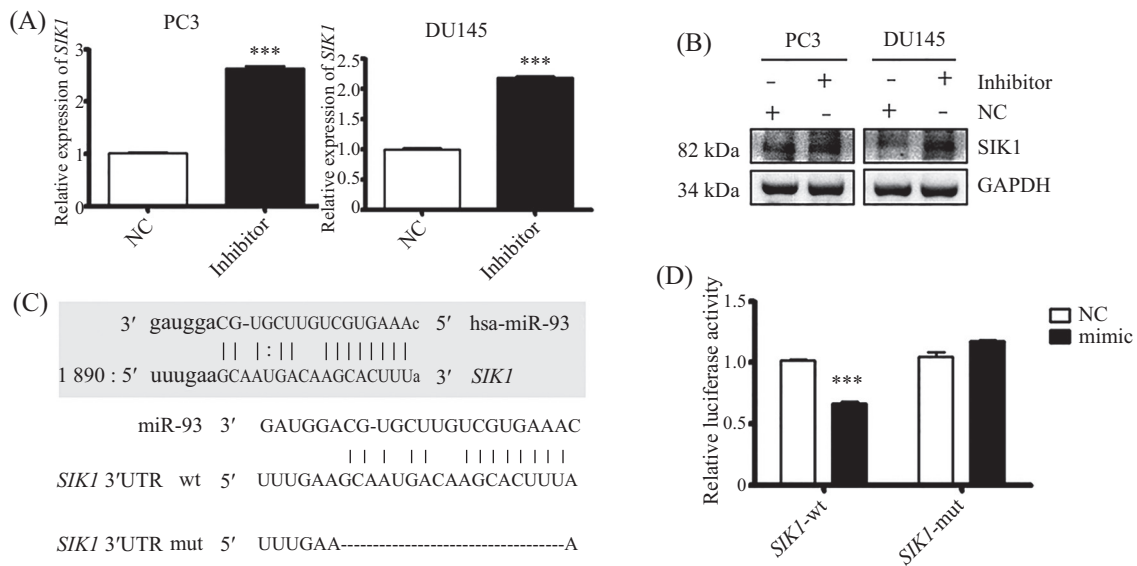
图3 筛选靶向*SIK1*的miRNAs
Fig.3 miRNAs targeting *SIK1* are screened

PC3和DU145细胞中*SIK1*的mRNA水平显著高于对照组($P<0.001$)(图4A)。Western blot结果显示,转染miR-93 inhibitor后,PC3和DU145细胞系中SIK1蛋白质的表达均显著增加(图4B)。miRanda预测miR-93在*SIK1* mRNA的3'UTR上的靶位点和突变位点如图

4C所示。双荧光素酶报告基因实验结果显示,miR-93靶向*SIK1* mRNA的3'UTR($P<0.001$)(图4D)。

3 讨论

前列腺癌是目前男性中最常见的致死肿瘤。其



A: 用miR-93 inhibitor或NC处理PC3和DU145细胞24 h, qRT-PCR检测*SIK1*的mRNA表达情况; B: 用miR-93 inhibitor或NC处理PC3和DU145细胞48 h, Western blot检测SIK1的蛋白表达情况; C: miRanda预测*SIK1* mRNA 3'UTR中miR-93结合位点的示意图, 显示野生型与突变型的序列; D: 荧光素酶报告基因实验验证miR-93靶向*SIK1*的3'UTR。*** $P < 0.001$, 与NC组相比。

A: *SIK1* mRNA expression was detected by qRT-PCR after PC3 and DU145 cells were treated with miR-93 inhibitor or NC for 24 h; B: PC3 and DU145 cells were treated with miR-93 inhibitor or NC for 48 h, and the protein expression of SIK1 was detected by Western blot; C: schematic diagram of miR-93 binding site in 3'UTR of *SIK1* mRNA predicted by miRanda, showing the combination sequences of the wild type and mutant type; D: luciferase reporter gene assay verified that miR-93 targeted the 3'UTR of *SIK1*. *** $P < 0.001$ vs NC group.

图4 miR-93靶向负调控*SIK1*

Fig.4 miR-93 negatively regulates *SIK1*

发病率随年龄而增长,有明显的地区差异^[1]。自20世纪80年代末以来,前列腺癌的发病率和死亡率在全球范围内迅速升高^[14-15]。我国由于人口老龄化和生活方式的改变,前列腺癌的发病率呈现逐年快速增加趋势^[16]。寻找新的前列腺癌治疗靶点,将具有重要的理论和临床实际意义。

SIK1是AMPK家族成员之一,在调节细胞生长中发挥重要作用^[5]。已经有文献报道,SIK1在人类癌症中发挥重要作用,如非小细胞肺癌^[17]、上皮性卵巢癌^[18]和乳腺癌^[19]。以前的研究表明,SIK1在许多癌症中是一种肿瘤抑制因子^[20]。本研究发现,SIK1在前列腺癌中亦发挥肿瘤抑制因子的作用。本研究在去势抵抗性前列腺癌细胞PC3和DU145中上调SIK1的表达后,通过CCK8和克隆形成实验发现,癌细胞增殖能力均受到明显抑制;通过细胞划痕和Transwell实验发现,癌细胞侵袭和迁移能力均下降。Western blot实验发现,上调SIK1的表达后,迁移相关基因E-cadherin的蛋白表达升高,Vimentin的表达降低。既然SIK1能够影响前列腺癌细胞的功能,那么SIK1是如何受到调控进而影响前列腺癌细胞的功能呢?

特异性miRNA的上调可导致肿瘤抑制基因的

下调^[21-23]。有文献报道,在上皮性卵巢癌中,沉默miR-141可以恢复*SIK1*的表达,抑制卵巢癌细胞的增殖^[10];在结直肠癌中,miR-17能通过靶向*SIK1*抑制肿瘤侵袭和迁移^[11];在黑色素瘤中,miR-373通过直接结合*SIK1*,降低*SIK1*表达,促进黑色素瘤进展^[24]。为了探究在前列腺癌中是否存在新的miRNA靶向调控*SIK1*,本研究利用miRanda(<http://www.microrna.org/microrna/home.do>)、TargetScan(<http://www.targetscan.org>)和PicTar(<http://pictar.mdc-berlin.de/>)这3个数据库进行预测,经预测得知,miR-93能够靶向*SIK1* mRNA的3'UTR。生物信息学分析表明,miR-93可能是前列腺癌中一个重要的致癌因子^[25]。有文献报道,miR-93能促进癌细胞的增殖、侵袭和迁移,miR-93表达增高与前列腺癌的进展和预后相关^[26]。miR-93可以作为单基非侵袭性分子来区分前列腺癌和前列腺增生患者^[27]。miR-93通过抑制禁用同源基因2(disabled homolog 2, DAB2)激活Akt/ERK1/2通路促进前列腺癌的进展和转移^[13]。本研究结果显示,在前列腺癌细胞系PC3和DU145中,miR-93的表达均升高,这与文献检索的结果相符合。我们进一步在PC3和DU145细胞系中转染miR-93 inhibitor后,

*SIK1*的mRNA和蛋白质表达均显著增加。双荧光素酶报告基因实验结果证明, miR-93靶向*SIK1* mRNA的3'UTR。本研究的实验证实了miR-93能直接靶向*SIK1*并负向调控其表达。

综上所述, *SIK1*能够抑制去势抵抗性前列腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移, 并且可作为miR-93的一个新的靶基因, 但是*SIK1*对雄激素依赖的前列腺癌细胞的影响尚未被阐述, 这将在以后的研究中继续探讨; 另外, *SIK1*影响前列腺癌细胞功能的机制也将是我们未来的研究方向。这些研究如果阐述清楚, 将可能为前列腺癌的诊断和治疗提供新的靶点。

参考文献 (References)

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] SONG D, YIN L, WANG C, et al. Adenovirus-mediated expression of *SIK1* improves hepatic glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus rats [J]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0210930.
- [3] YU J, HU X, YANG Z, et al. Salt-inducible kinase 1 is involved in high glucose-induced mesangial cell proliferation mediated by the *ALK5* signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(1): 151-7.
- [4] DENG S, CHEN H, YE Z, et al. Hypoxia-induced lncRNA-BX111 promotes metastasis and progression of pancreatic cancer through regulating *ZEB1* transcription [J]. *Oncogene*, 2018, 37(44): 5811-28.
- [5] QU C, HE D, LU X, et al. Salt-inducible Kinase (*SIK1*) regulates HCC progression and *WNT/β-catenin* activation [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(5): 1076-89.
- [6] SELVIK L, RAO S, STEIGEDAL T, et al. Salt-inducible kinase 1 (*SIK1*) is induced by gastrin and inhibits migration of gastric adenocarcinoma cells [J]. 2014, 9(11): e112485.
- [7] HUANG S, XUE P, HAN X, et al. Exosomal miR-130b-3p targets *SIK1* to inhibit medulloblastoma tumorigenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(6): 408.
- [8] KUEHBACHER A, URBICH C, DIMMELER S. Targeting microRNA expression to regulate angiogenesis [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2008, 29(1): 12-5.
- [9] AGRAWAL S, CHAQOUR B. MicroRNA signature and function in retinal neovascularization [J]. *World J Biol Chem*, 2014, 5(1): 1-11.
- [10] CHEN J, CHEN F, ZHANG T, et al. Suppression of *SIK1* by miR-141 in human ovarian cancer cell lines and tissues [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(6): 1601-10.
- [11] HUANG C, LIU J, XU L, et al. MicroRNA-17 promotes cell proliferation and migration in human colorectal cancer by down-regulating *SIK1* [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 3521-34.
- [12] REN Z, DONG S, HAN P, et al. miR-203 promotes proliferation, migration and invasion by degrading *SIK1* in pancreatic cancer [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(3): 1365-74.
- [13] YANG K, LI Y, GAO Z, et al. MiR-93 functions as a tumor promoter in prostate cancer by targeting disabled homolog 2 (*DAB2*) and an antitumor polysaccharide from green tea (*Camellia sinensis*) on their expression [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 125: 557-65.
- [14] BRAY F, REN J S, MASUYER E, et al. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(5): 1133-45.
- [15] SMITH R A, ANDREWS K S, BROOKS D, et al. Cancer screening in the United States, 2017: a review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(2): 100-21.
- [16] CHEN W, ZHENG R, BAADE P, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. 2016, 66(2): 115-32.
- [17] HOLLSTEIN P E, EICHNER L J, BRUN S N, et al. The AMPK-related kinases *SIK1* and *SIK3* mediate key tumor-suppressive effects of *LKB1* in NSCLC [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(11): 1606-27.
- [18] HONG B, ZHANG J, YANG W J M M R. Activation of the *LKB1-SIK1* signaling pathway inhibits the TGF-β-mediated epithelial-mesenchymal transition and apoptosis resistance of ovarian carcinoma cells [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2837-44.
- [19] CHENG H, LIU P, WANG Z C, et al. *SIK1* couples *LKB1* to p53-dependent anoikis and suppresses metastasis [J]. *Sci Signal*, 2009, 2(80): ra35.
- [20] YANG L, XIE N, HUANG J, et al. *SIK1-LNC* represses the proliferative, migrative, and invasive abilities of lung cancer cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 4197-206.
- [21] MENG F, HENSON R, WEHBE-JANEK H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the *PTEN* tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(2): 647-58.
- [22] ZHU S, SI M, WU H, et al. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (*TPM1*) [J]. 2007, 282(19): 14328-36.
- [23] ZHU S, WU H, WU F, et al. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis [J]. 2008, 18(3): 350-9.
- [24] BAI X, YANG M, XU Y. MicroRNA-373 promotes cell migration via targeting salt-inducible kinase 1 expression in melanoma [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4759-64.
- [25] YANG Y, JIA B, ZHAO X, et al. miR-93-5p may be an important oncogene in prostate cancer by bioinformatics analysis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 10463-83.
- [26] WANG C, TIAN S, ZHANG D, et al. Increased expression of microRNA-93 correlates with progression and prognosis of prostate cancer [J]. *Medicine*, 2020, 99(22): e18432.
- [27] CISZKOWICZ E, PORZYCKI P, SEMIK M, et al. MiR-93/miR-375: diagnostic potential, aggressiveness correlation and common target genes in prostate cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5667.