

miR-433 靶向 MAPK 通路抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖与侵袭的机制研究

赵轶峰¹, 张超², 胡晓敏¹, 王雄¹, 赵铁军³, 李曙光^{1*}

1. 河北北方学院附属第一医院 胃肠肿瘤外科, 河北 张家口 075000

2. 河北北方学院附属第一医院 介入科, 河北 张家口 075000

3. 河北北方学院基础医学院, 河北 张家口 075000

【摘要】 目的 探讨微小 RNA-433(miR-433)靶向丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路抑制胃癌 BGC-823 细胞增殖与侵袭的机制。方法 2021 年 10 月至 2022 年 5 月期间,在河北北方学院附属第一医院胃肠肿瘤外科共收集 30 例胃癌组织及与之匹配的癌旁组织,以及人胃黏膜上皮细胞株 GES-1 及人胃癌细胞株 BGC-823、MGC-803、SGC-7901。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测胃癌组织、癌旁组织和 GES-1、BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中 miR-433 表达水平;对 BGC-823 细胞进行转染,分组为:空白组(细胞未转染)、miR-NC 组(miR-433 mimics 阴性对照转染细胞)、miR-433 模拟物(mimics)组(miR-433 mimics 转染细胞),qRT-PCR 检测各组 BGC-823 细胞 miR-433 表达水平;细胞计数试剂盒-8 和 Transwell 实验分别检测各组 BGC-823 细胞增殖和侵袭能力;双荧光素酶报告基因实验验证 miR-433 与 MAPK 靶向关系;蛋白印迹法检测各组 BGC-823 细胞中 MAPK 通路相关蛋白表达水平。结果 胃癌组织中 miR-433 表达水平显著低于癌旁组织($P<0.05$);与 GES-1 细胞比较,BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中 miR-433 表达水平显著降低($P<0.05$),且 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平最低;与空白组和 miR-NC 组比较,miR-433 mimics 组 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平显著升高,细胞增殖率、侵袭细胞数、磷酸化 p38 MAPK(p-p38 MAPK)/p38 MAPK、磷酸化 JNK(p-JNK)/c-Jun 氨基末端激酶(JNK)蛋白表达水平显著降低($P<0.05$);双荧光素酶报告基因实验结果显示,miR-433 与 MAPK 在 BGC-823 细胞中存在靶向关系。结论 上调 miR-433 表达可抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖与侵袭,该机制可能与靶向抑制 MAPK 通路有关。

【关键词】 微小 RNA-433; 丝裂原活化蛋白激酶; 胃癌 BGC-823 细胞; 增殖; 侵袭

Mechanism of miR-433 targeting MAPK pathway to inhibit the proliferation and invasion of gastric cancer BGC-823 cells

Zhao Yifeng¹, Zhang Chao², Hu Xiaomin¹, Wang Xiong¹, Zhao Tiejun³, Li Shuguang^{1*}

1. Department of Gastrointestinal Tumor Surgery, the First Hospital Affiliated to Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

2. Department of Interventional, the First Hospital Affiliated to Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

3. School of Basic Medicine, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000

*Corresponding author: Li Shuguang, E-mail: yfzhao1107@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of microRNA-433 (miR-433) targeting mitogen activated protein kinase (MAPK) pathway to inhibit the proliferation and invasion of gastric cancer BGC-823 cells. **Method** From October 2021 to May 2022, the gastric cancer tissues and its matched paracancerous tissues from 30 patients in the Department of gastrointestinal tumor surgery, the First Hospital Affiliated to Hebei North University and human gastric mucosal epithelial cell line GES-1 and human gastric cancer cell lines BGC-823, MGC-803 and SGC-7901 were used. Real time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of miR-433 in gastric cancer tissues, paracancerous tissues and GES-1, BGC-823, MGC-803 and SGC-7901 cells; BGC-823 cells were transfected and divided into blank group

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20200502)

* 通信作者:李曙光,E-mail:yfzhao1107@163.com

(untransfected cells), miR-NC group (miR-433 mimics negative control transfected cells), miR-433 mimics group (miR-433 mimics transfected cells), the expression levels of miR-433 in BGC-823 cells was detected by qRT-PCR; cell counting kit-8 and Transwell assay were used to detect the proliferation and invasion of BGC-823 cells in each group; double luciferase reporter gene experiment verified the targeting relationship between miR-433 and MAPK; the expression levels of MAPK pathway related proteins in BGC-823 cells was detected by Western blot. **Result** The expression level of miR-433 in gastric cancer tissues was significantly lower than that in paracancerous tissues ($P<0.05$); compared with GES-1 cells, the expression levels of miR-433 in BGC-823, MGC-803 and SGC-7901 cells was significantly decreased ($P<0.05$), and the expression level of miR-433 in BGC-823 cells was the lowest; compared with the blank group and miR-NC group, the expression levels of miR-433 in BGC-823 cells in miR-433 mimics group was significantly increased, and the cell proliferation rate, the number of invasive cells, the expression levels of phosphorylated p38 MAPK (p-p38 MAPK)/p38 MAPK, phosphorylated JNK (p-JNK)/c-Jun amino terminal kinase (JNK) protein were significantly decreased ($P<0.05$); the results of dual luciferase reporter gene experiments showed that miR-433 and MAPK were targeted in BGC-823 cells. **Conclusion** Up-regulation of miR-433 expression can inhibit the proliferation and invasion of gastric cancer BGC-823 cells, this mechanism may be related to the targeted inhibition of MAPK pathway.

【Key words】 MicroRNA-433; Mitogen activated protein kinase; Gastric cancer BGC-823 cells; Proliferation; Invasion

胃癌是胃肠道最普遍的恶性肿瘤之一,同时也是我国重要的公共健康问题^[1]。近年来,对于胃癌的治疗主要采用外科手术,放射疗法和化学疗法,然而,即使采用最好的治疗方法,胃癌患者的死亡率仍然很高^[2]。大多数与胃癌相关的死亡主要是由癌细胞侵袭,转移和肿瘤复发引起的^[3]。因此,了解胃癌的发病机制及胃癌进展的潜在机制具有重要的意义。微小RNA(microRNA, miRNA)是由18~24个核苷酸组成的一系列小型非编码RNA,大量证据表明,miRNA的异常表达影响癌细胞的增殖、迁移和转移^[4-5]。据报道,结直肠癌组织中微小RNA-433(miR-433)表达降低,上调miR-433表达能够抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭与迁移^[6]。而丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路作为人类癌症中最常见的信号转导途径,激活MAPK通路可促进肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移,并抑制细胞凋亡^[7]。但目前关于miR-433对胃癌细胞的增殖与侵袭的影响尚未见报道,其作用机制尚不清楚。因此,本研究以MAPK通路为切入点,构建miR-433过表达的胃癌细胞BGC-823,观察上调miR-433表达对BGC-823细胞增殖与侵袭的影响,并探讨可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 胃癌组织样本及细胞

2021年10月至2022年5月期间,在河北北方学院附属第一医院胃肠肿瘤外科共收集30例胃癌组织及与之匹配的癌旁组织。将所有组织标本在液氮中速冻,并保存于-80℃冰箱中。本研究所有患者及其家属知情,并签署知情同意书。该项研究得到了医院伦理委员会的批准。

人胃黏膜上皮细胞株GES-1及人胃癌细胞株BGC-823、MGC-803、SGC-7901均购自武汉普诺赛生命科技有限公司,批号分别为:CL-0175、CL-1615、CL-1713、CL-1912。

1.2 主要试剂与仪器 miR-433模拟物(miR-433 mimics)、miR-433 mimics阴性对照、miR-433和U6的引物序列均由江苏省百奥迈科生物技术有限公司合成;胎牛血清(FBS)、逆转录试剂盒、Lipofectamine™ 2000转染试剂盒、细胞计数试剂盒-8(CCK-8)试剂、BCA试剂盒(上海创凌生物技术有限公司,批号分别为GL9127-2、GL90163-3、GL10361、GL19120、GL40125);RPMI1640培养基、Trizol试剂、ECL化学发光试剂盒(美国Sigma公司,批号分别为SJC-1317R、SJC-1916R);荧光定量PCR试剂盒(TransStart® Green qPCR SuperMix)、双荧光素酶报告基因检测试剂盒、兔源p38 MAPK、磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、磷酸化JNK(p-JNK)、GAPDH多克隆抗体、山羊抗兔二抗(北京全式金生物技术有限公司,批号分别为AH117-07、AH169-13、AH208-

03、AH207-11、AH305-04、AH-301-01、AH507-16、AH511-17); Minitron 型 CO₂ 培养箱、7500 HT 型荧光定量 PCR 仪、Infinite 200 型酶标仪(北京桑翌实验仪器研究所); Insertomat 型 Transwell 小室、ChampChemi 610 型凝胶成像仪(北京阳科华科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 将人胃黏膜上皮细胞株 GES-1 及人胃癌细胞株 BGC-823、MGC-803、SGC-7901 置于含有 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基中,并在 37°C、含 5% CO₂ 的培养箱中培养。

1.3.2 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测胃癌组织、癌旁组织和 GES-1、BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中 miR-433 表达水平 使用 Trizol 试剂提取胃癌组织、癌旁组织和 GES-1、BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中的总 RNA,逆转录合成 cDNA,使用 TransStart[®] Green qPCR SuperMix 在实时荧光定量 PCR 系统上进行 qRT-PCR 反应。U6 用作内部对照,通过 2^{-ΔΔCt} 方法计算 miR-433 的相对表达水平。所用引物序列为:miR-433 上游引物:5'-TTCACCTACAGCAGCTTGT-3',miR-433 下游引物:5'-TTGGGATGGAGGGAGTTTAC-3';U6 上游引物:5'-GCCCATCTTGACCCGAAT-3',U6 下游引物:5'-AAGCCTTCACGAATTGCGT-3';每个样品设置 6 个重复。

1.3.3 细胞转染与分组 将 BGC-823 细胞以 1×10⁵ 个/孔的密度接种到 6 孔板中。培养 24 h 后,利用 Lipofectamine[™] 2000 转染试剂盒对 BGC-823 细胞进行转染,分组为:空白组(细胞未转染)、miR-NC 组(miR-433 mimics 阴性对照转染细胞)、miR-433 mimics 组(miR-433 mimics 转染细胞)。培养 48 h 后按照 1.2.2 中方法检测各组 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平。

1.3.4 CCK-8 法检测各组 BGC-823 细胞增殖能力 将各组 BGC-823 细胞以 3×10⁴ 个/ml 的密度接种到 96 孔板中,在转染 48 h 后,将 10 μL CCK-8 试剂添加到每个孔中。使用酶标仪在 450 nm 处测量吸光度(OD₄₅₀),计算细胞增殖率(增殖率=各转染组 OD₄₅₀/空白组 OD₄₅₀×100%),每组设置 6 个复孔。

1.3.5 Transwell 实验检测各组 BGC-823 细胞侵袭能力 预先将基质胶涂于 Transwell 小室上室,待其自然干燥后,将各转染组细胞用无 FBS 的 RPMI-

1640 培养基重悬后,调整细胞浓度为 2×10⁵ 个/ml。取 200 μl 的细胞悬液接种到 Transwell 上腔室中,而下腔室中则装有 800 μl 含有 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基。孵育 48 h 后,用棉签除去保留在上腔室中的非侵袭性细胞,同时将侵袭细胞用 4% 多聚甲醛固定 20 min,然后在室温下用 1% 结晶紫染色 30 min。使用光学显微镜随机选取五个视野对侵袭细胞进行计数,每组进行 6 次重复。

1.3.6 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-433 与 MAPK 靶向关系 使用 starbase 网站预测 miR-433 与 MAPK 的结合位点。分别构建 MAPK 的野生型(WT)和突变型(MUT)3'-UTR 区质粒,标记为 WT-MAPK、MUT-MAPK。按照 Lipofectamine[™] 2000 转染试剂盒说明书将 WT-MAPK 和 MUT-MAPK 分别与 miR-433 mimics 阴性对照或 miR-433 mimics 共转染于 BGC-823 细胞,记为 miR-NC+WT-MAPK 组(miR-433 mimics 阴性对照和 WT-MAPK 共转染)、miR-433 mimics+WT-MAPK 组(miR-433 mimics 和 WT-MAPK 共转染)、miR-NC+MUT-MAPK 组(miR-433 mimics 阴性对照和 MUT-MAPK 共转染)、miR-433 mimics+MUT-MAPK 组(miR-433 mimics 和 MUT-MAPK 共转染)。每组设置 6 个复孔,转染 48 h 后,使用双重荧光素酶报告基因分析系统评估相对荧光素酶活性。

1.3.7 蛋白印迹法检测各组 BGC-823 细胞中 MAPK 通路相关蛋白的表达 按 1.2.3 中的方法处理 BGC-823 细胞并培养 48 h 后,使用预冷的 RIPA 裂解缓冲液从各组细胞中提取蛋白质。利用 BCA 试剂盒对蛋白质浓度进行定量,通过 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)分离等量蛋白质(30 μg)后,将蛋白质转移至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h,然后与一抗 p38 MAPK (1:2500)、p-p38 MAPK (1:2500)、JNK (1:1000)、p-JNK (1:1000)、GAPDH (1:2000)在 4°C 下孵育过夜。第二天,用 TBST 洗涤膜 3 次后,将膜与山羊抗兔二抗(1:3000)在室温下孵育放置 1 h。清洗后,使用 ECL 化学发光试剂盒可视化蛋白。使用 Image 软件对灰度值进行量化分析。

1.4 统计学分析 所有统计分析采用 SPSS 25.0 进行,数据用均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌组织、癌旁组织以及 GES-1、BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中 miR-433 表达水平比较 胃癌组织中 miR-433 表达水平为 (0.32 ± 0.04) 显著低于癌旁组织 (1.03 ± 0.03) ($P < 0.05$)。与 GES-1 细胞比较, BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中 miR-433 表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 且 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平最低, 因此, 选择 BGC-823 细胞进行后续转染实验, 见表 1。

表 1 GES-1、BGC-823、MGC-803、SGC-7901 细胞中 miR-433 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	miR-433
GES-1 细胞	1.02 ± 0.03
BGC-823 细胞	0.19 ± 0.02^a
MGC-803 细胞	0.25 ± 0.04^a
SGC-7901 细胞	0.34 ± 0.06^a

注: 与 GES-1 细胞比较, $^a P < 0.05$ 。

2.2 各转染组 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平比较 空白组与 miR-NC 组 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与空白组和 miR-NC 组比较, miR-433 mimics 组 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平显著升高 ($P < 0.05$), 证明细胞转染成功。见表 2。

2.3 上调 miR-433 表达对 BGC-823 细胞增殖、侵袭能力的影响 空白组与 miR-NC 组 BGC-823 细胞增殖率和侵袭细胞数差异无统计学意义 ($P > 0.05$);

表 2 各转染组 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	miR-433
空白组	1.01 ± 0.02
miR-NC 组	1.04 ± 0.04
miR-433 mimics 组	2.75 ± 0.26^{ab}

注: 与空白组比较, $^a P < 0.05$; 与 miR-NC 组比较, $^b P < 0.05$ 。

与空白组和 miR-NC 组比较, miR-433 mimics 组 BGC-823 细胞增殖率和侵袭细胞数显著降低 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 1。

表 3 上调 miR-433 表达对 BGC-823 细胞增殖、侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	增殖率(%)	侵袭细胞数(个)
空白组	100.00 ± 0.00	98.35 ± 8.33
miR-NC 组	99.76 ± 0.03	96.67 ± 7.95
miR-433 mimics 组	46.32 ± 4.51^{ab}	35.54 ± 5.22^{ab}

注: 与空白组比较, $^a P < 0.05$; 与 miR-NC 组比较, $^b P < 0.05$ 。

2.4 miR-433 靶向调控 MAPK 的表达 使用 starbase 预测 miR-433 与 MAPK 的结合位点, 见图 2。双荧光素酶报告基因实验结果表明, 与 miR-NC + WT-MAPK 组比较, miR-433 mimics + WT-MAPK 组荧光素酶相对活性显著降低 ($P < 0.05$), 而 miR-433 mimics + MUT-MAPK 组荧光素酶相对活性与 miR-NC + MUT-MAPK 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

2.5 上调 miR-433 表达对 MAPK 通路相关蛋白的影响 空白组与 miR-NC 组 BGC-823 细胞中

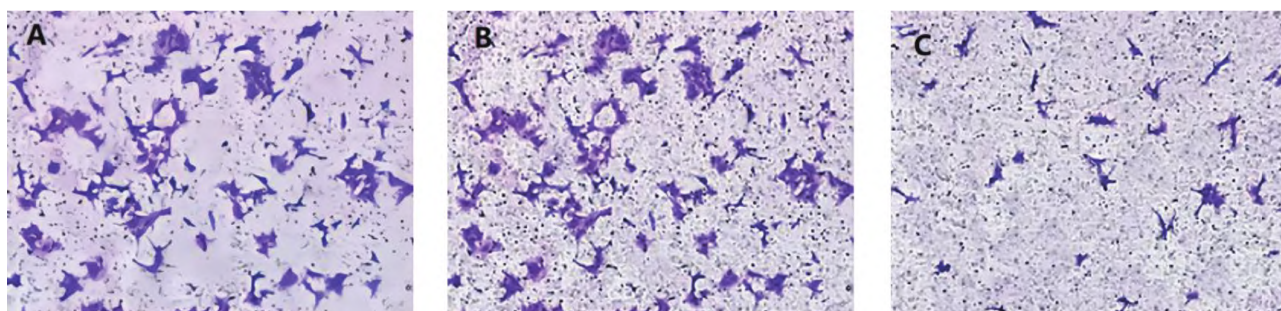


图 1 Transwell 实验检测上调 miR-433 对 BGC-823 细胞侵袭能力的影响 (结晶紫染色, $\times 200$)

注: A 为空白组; B 为 miR-NC 组; C 为 miR-433 mimics 组。

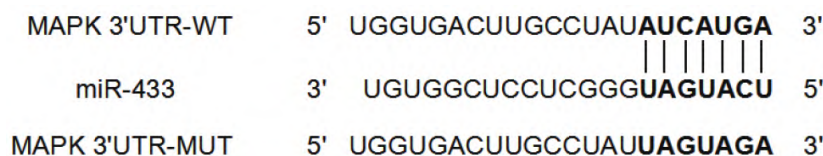


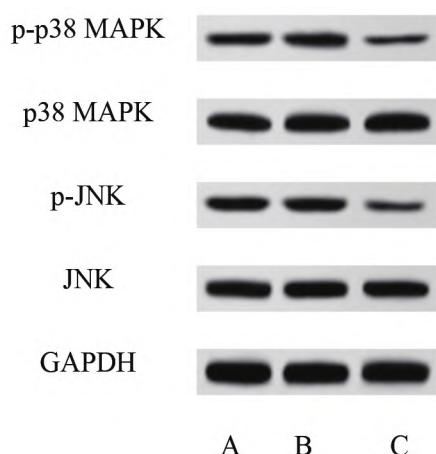
图 2 miR-433 与 MAPK 的结合位点

表 4 双荧光素酶报告基因验证 miR-433 与 MAPK 的靶向关系($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	荧光素酶相对活性
miR-NC+WT-MAPK 组	1.08±0.12
miR-433 mimics+WT-MAPK 组	0.29±0.07 ^a
miR-NC+MUT-MAPK 组	1.11±0.12
miR-433 mimics+MUT-MAPK 组	1.12±0.13

注:与 miR-NC+WT-MAPK 比较,^a $P<0.05$ 。

p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-JNK/JNK 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);与空白组和 miR-NC 组比较,miR-433 mimics 组 BGC-823 细胞中 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-JNK/JNK 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。见图 3 和表 5。

**图 1** 各转染组 BGC-823 细胞中 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-JNK、JNK 蛋白印迹图

注:A 为空白组;B 为 miR-NC 组;C 为 miR-433 mimics 组。

表 5 上调 miR-433 对 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-JNK/JNK 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	p-p38 MAPK/p38 MAPK	p-JNK/JNK
空白组	0.84±0.11	0.66±0.09
miR-NC 组	0.86±0.12	0.65±0.08
miR-433 mimics 组	0.43±0.04 ^{ab}	0.31±0.02 ^{ab}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与 miR-NC 组比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨论

胃癌是一种异质性恶性肿瘤,在世界范围内具有流行病学和组织病理学差异^[8]。据报道,每年约有 100 万胃癌患者新病例,并且大约 50% 的胃癌患者在诊断时已经发生转移^[9-10]。因此,探索胃癌的分子发病机制对于胃癌的诊断和治疗具有重要的临床意义。

作为一类长度为 18~24 个核苷酸的小内源性

RNA,miRNA 在各种肿瘤的发生和发展过程中发挥着关键作用^[11]。马保录等^[12]指出 miR-433 在膀胱癌组织中低表达,且 miR-433 低表达在临床上表现为膀胱癌淋巴结转移和远处转移,预后复发率和转移率更高。曾剑平^[13]研究表明 miR-433 高表达可通过靶向瞬时受体电位 M8 抑制胶质母瘤细胞的侵袭能力。郑庆凯等^[14]研究发现,miR-433 能通过靶向下调 p21 活化激酶 4 的表达,从而抑制非小细胞肺癌细胞的增殖及迁移。王香琛等^[15]阐明了 miR-433 可抑制结肠癌细胞的增殖和迁移,但对细胞凋亡及细胞周期无明显作用。在本研究中,首先检测了 miR-433 在胃癌组织及胃癌细胞系 BGC-823、MGC-803、SGC-7901 中的表达情况,结果显示,miR-433 在胃癌组织中的表达水平显著低于癌旁组织。miR-433 在胃癌细胞 BGC-823、MGC-803、SGC-7901 中表达水平显著低于人胃黏膜上皮细胞株 GES-1,且 BGC-823 细胞中 miR-433 表达水平最低,因此,选择 BGC-823 细胞作为进行后续转染实验。本研究还发现上调 miR-433 可明显抑制 BGC-823 细胞的增殖与侵袭能力,提示 miR-433 在 BGC-823 细胞中具有抑癌基因的作用。

MAPK 通路是一种复杂的相互关联的信号级联反应,经常参与肿瘤发生与发展^[16]。近年来研究发现,靶向作用于 p38 MAPK、JNK 等 MAPK 途径关键基因可以抑制细胞的增殖、转移等生物学过程,因此靶向 MAPK 通路治疗一直被认为是一种具有良好应用前景的癌症治疗策略^[17]。据报道,酪氨酸激酶受体抑制剂 Gefitinib 可通过调节结肠癌细胞中 p38 MAPK、JNK 蛋白磷酸化表达水平,促进细胞凋亡^[18]。沉默 KIAA1199 基因表达可抑制非小细胞肺癌 A549 细胞的增殖、侵袭与迁移,诱导其凋亡,其作用机制可能与阻滞 MAPK 信号通路有关^[19]。小干扰 RNA 靶向沉默转化生长因子- β 激活激酶 1 基因可通过抑制 p38 MAPK 信号通路的激活进而抑制甲状腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移过程^[20]。本研究结果显示,MAPK 为 miR-433 的靶基因,上调 miR-433 表达后 BGC-823 细胞中 MAPK 通路关键蛋白 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-JNK/JNK 蛋白表达水平显著降低,提示 miR-433 可能通过靶向抑制 MAPK 通路进而影响胃癌 BGC-823 细胞的增殖与侵袭,来发挥对胃癌的抑制作用。

综上所述,上调 miR-433 表达可抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖与侵袭,该机制可能与抑制 MAPK 通路有关。但是 miR-433 抑制胃癌细胞增殖与侵袭的作用机制较为复杂,尚需后续深入研究。

参考文献

- [1] PARK JC. Changing trends in gastric cancer incidence and mortality: the role of upper endoscopy in low-risk countries[J]. *Endoscopy*, 2022, 54(7):661-662.
- [2] OGATA Y, HATTA W, OHARA Y, et al. Predictors of early and late mortality after the treatment for early gastric cancers [J]. *Dig Endosc*, 2022, 34(4): 816-825.
- [3] LI S, LIU F, XU L, et al. Wnt/ β -Catenin Signaling Axis Is Required for TFEB-Mediated Gastric Cancer Metastasis and Epithelial-Mesenchymal Transition [J]. *Mol Cancer Res*, 2020, 18(11):1650-1659.
- [4] ROMANO G, ACUNZO M, NANASINKAM P. microRNAs as Novel Therapeutics in Cancer [J]. *Cancers*, 2021, 13(7): 1526-1526.
- [5] XU X, XIA Y, MA J, et al. Upregulation of miRNA-301a promotes tumor progression in gastric cancer by suppressing NKRF and activating NF- κ B signaling [J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(2):522-532.
- [6] 张剑,张彤,王宏伟,等.上调 miR-433 表达抑制结直肠癌癌细胞系增殖[J]. *基础医学与临床*, 2021, 41(8):1127-1132.
- [7] NIU N, MA X, LIU H, et al. DLC1 inhibits lung adenocarcinoma cell proliferation, migration and invasion via regulating MAPK signaling pathway [J]. *Exp Lung Res*, 2021, 47(4):173-182.
- [8] DU J, LIANG Y, LI J, et al. Gastric Cancer Cell-Derived Exosomal microRNA-23a Promotes Angiogenesis by Targeting PTEN [J]. *Front Oncol*, 2020, 10(1): 326-338.
- [9] XUE XQ, YU WJ, SHAO XL, et al. Radiomics model based on preoperative 18 F-fluorodeoxyglucose PET predicts N2-3 lymph node metastasis in gastric cancer patients [J]. *Nucl Med Commun*, 2022, 43(3): 340-349.
- [10] YAMASAKI J, HIRATA Y, OTSUKI Y, et al. MEK inhibition suppresses metastatic progression of KRAS-mutated gastric cancer [J]. *Cancer Sci*, 2022, 113(3):916-925.
- [11] ZHANG W, LIAO K, LIU D. MiRNA-12129 Suppresses Cell Proliferation and Block Cell Cycle Progression by Targeting SIRT1 in GASTRIC Cancer [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19(3): 1-8.
- [12] 马保录,赵文元,张欣雨,等.膀胱癌患者 miR-433 表达与临床特征及预后的关系 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2020, 25(9): 821-824.
- [13] 曾剑平. TRPM8 在胶质母细胞瘤细胞增殖、侵袭中的作用及 miR-433 对 TRPM8 靶向调控的研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2020.
- [14] 郑庆凯,张晓萍,邵润霞. MicroRNA-433 在非小细胞肺癌 A549 细胞增殖及迁移中的作用 [J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29(9): 16-20.
- [15] 王香琛,吕晓红. microRNA-433 对人结肠癌细胞系 Sw620 生物学行为的影响 [J]. *解剖科学进展*, 2018, 24(1):76-78+83.
- [16] YANG W, WU W, LIANG H, et al. TOX3 regulates the proliferation and apoptosis of colorectal cancer by downregulating RhoB via the activation of the MAPK pathway [J]. *Cell Biol Int*, 2022, 46(7): 1074-1088.
- [17] KANG SH, BAK DH, CHUNG BY, et al. Delphinidin enhances radio-therapeutic effects via autophagy induction and JNK/MAPK pathway activation in non-small cell lung cancer [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2020, 24(5): 413-422.
- [18] 孙锦辉,李春潮,范旋燕,等. Gefitinib 对人结肠癌 Caco-2 细胞增殖与凋亡的影响 [J]. *广东医科大学学报*, 2021, 39(2): 123-128.
- [19] 刘忠胜,刘毅. 靶向沉默 KIAA1199 基因表达对人非小细胞肺癌 A549 细胞生物学行为的影响 [J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2021, 24(2): 123-127.
- [20] 张春英,阴广维,尤鸣达,等. siRNA 靶向沉默 TAK1 基因对甲状腺癌细胞增殖、迁移和 p38 MAPK 信号通路的抑制作用 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, 47(1): 110-117.