

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.015

miR-182 在前列腺癌组织中的表达及其对前列腺癌细胞增殖和凋亡的影响 *

刘 云 甘 为 张正龙 陈 胜 王天宝 李云飞[△]

(湖北医药学院附属人民医院泌尿外科 湖北 十堰 442000)

摘要 目的:观察前列腺癌组织及不同前列腺癌细胞系中 miR-182 的表达,并探讨下调其表达对前列腺癌细胞增殖和凋亡的影响及机制。**方法:**采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 30 例前列腺癌组织和 30 例相应的癌旁组织以及前列腺正常上皮 RWPE-1 细胞、前列腺癌 PC-3、LNCaP 和 DU145 细胞中 miR-182 的表达,进一步采用 Lipfectamine 2000 脂质体转染 miRNA-182 inhibitor 和阴性对照 miRNA 于 PC-3 细胞后,通过噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞增殖情况,流式细胞术检测细胞凋亡率,免疫印迹(Western blot)法检测转录因子 FOXO1、血管内皮生长因子(VEGF)和抑癌基因 p53 蛋白的表达。**结果:**miR-182 在前列腺癌组织中的表达明显高于癌旁组织 ($P<0.05$);miR-182 在前列腺癌细胞系 PC-3、LNCaP 和 DU145 中的表达均高于前列腺正常上皮细胞 RWPE-1($P<0.05$),其中 PC-3 细胞中 miR-182 表达水平最高。转染 miRNA-182 inhibitor 至 PC-3 细胞成功下调 miR-182 表达后,细胞的增殖能力明显受到抑制,细胞凋亡能力明显增强,FOXO1 表达水平显著升高,VEGF 和 p53 的表达明显降低,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**miR-182 在前列腺癌组织及细胞中呈高表达,下调 miR-182 的表达可能通过增加 FOXO1 的表达并减少 VEGF 和 p53 的表达,抑制前列腺癌细胞增殖并诱导细胞凋亡。

关键词:前列腺癌;miR-182;细胞增殖;细胞凋亡

中图分类号:R737.25 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)09-1674-05

miR-182 Expression in the Prostate Cancer Tissue and its Effect on the Proliferation and Apoptosis of Prostate Cancer Cells*

LIU Yun, GAN Wei, ZHANG Zheng-long, CHEN Sheng, WANG Tian-bao, LI Yun-fei[△]

(Department of Urology Surgery, Renmin Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, 442000, China)

ABSTRACT Objective: To observe the expression of miR-182 in prostate cancer tissues and different prostate cancer cell lines, and investigate the effect and mechanism of down-regulation of miR-182 expression on the proliferation and apoptosis of prostate cancer cells. **Methods:** The expression of miR-182 in 30 cases of prostate cancer tissues, 30 cases of adjacent normal tissues, and RWPE-1 cells of prostate epithelium and PC-3, LNCaP and DU145 cells of prostate cancer were detected by real-time quantitative PCR (qRT-PCR). MiRNA-182 inhibitor and negative control miRNA were transfected with Lipfectamine 2000 liposome in PC-3 cells, and cell proliferation was detected by MTT assay, apoptosis rate was detected by flow cytometry, and expression of transcription factor FOXO1, vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor suppressor gene p53 protein were detected by Western blot. **Results:** The expression of miR-182 in prostate cancer tissues was significantly higher than that in paracancerous tissues ($P<0.05$); The expressions of miR-182 in prostate cancer cell lines PC-3, LNCaP and DU145 were higher than that in normal prostate epithelial cells RWPE-1 ($P<0.05$), in which PC-3 cells miR-182 expression level was the highest. Transfection of miRNA-182 inhibitor into PC-3 cells successfully downregulate miR-182 expression, and cell proliferation was inhibited, apoptosis capacity significantly was enhanced, and the expression level of FOXO1 was significantly increased, the expression of VEGF and p53 was decreased significantly, which differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** MiR-182 is highly expressed in prostate cancer tissues and cells, and down regulation of miR-182 expression may inhibit the proliferation and induce apoptosis of prostate cancer cells by increasing the expression of FOXO1 and decreasing the expression of VEGF and p53.

Key words: Prostate cancer; miR-182; Cell proliferation; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R737.25 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1674-05

前言

前列腺癌是一种发生在前列腺上皮源性的男性泌尿生殖

* 基金项目:湖北省卫生和计划生育委员会科研项目(WJ2015MB220)

作者简介:刘云(1973-),男,硕士研究生,主要研究方向:结石、肿瘤、感染、畸形,E-mail: Yunliu2008@163.com

[△] 通讯作者:李云飞(1984-),男,博士,副主任医师,主要研究方向:泌尿系肿瘤基础研究及腔内微创技术,

E-mail: Yunliu2008@163.com

(收稿日期:2017-11-02 接受日期:2017-11-30)

系统的常见恶性肿瘤,是导致欧美国男性死亡的重要原因之一,严重威胁男性的身体健康。虽然我国前列腺癌的发病率较欧美国国家的发病率低,但随着我国老龄化的加剧和诊断技术的完善,其发病率有明显上升的趋势。统计数据显示 2015 年我国前列腺癌发病人数和死亡人数分别约为 6.03 万和 2.66 万^[1]。由于前列腺癌早期症状不明显,多易被忽视,错过了治疗的最佳时期,传统的治疗方法以内分泌的治疗和化疗为主,但目前应对转移性去势抵抗性前列腺癌。前列腺癌的发病机制尚不完全清楚,深入研究其发病的分子机制和寻找新的治疗方案一直是前列腺癌研究和努力的方向。

miRNA(microRNA)在多种肿瘤中以精细的基因表达发挥着重要作用,与肿瘤细胞的增殖、侵袭和凋亡等生物学过程密切相关^[2-4]。近年来,研究表明过表达 miR-182 在结直肠癌、神经胶质细胞瘤和甲状腺癌等多种肿瘤中发挥着促进增殖和抑制凋亡的作用,与肿瘤的发生发展相关性密切^[5-8]。此外,miR-182 可作为前列腺癌的早期诊断和治疗的生物标记物,在前列腺癌的进展中具有重要作用,但其具体的作用机制尚不明确^[9]。因此,本研究主要探讨了 miR-182 在前列腺癌组织及不同前列腺癌细胞系中的表达,并探讨干预其表达对前列腺癌细胞增殖凋亡的影响及其可能的作用机制,以期前列腺癌的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 标本材料、细胞系和试剂

收集 2016 年 5 月-2016 年 12 月在湖北医药学院附属人民医院经病理诊断确认为前列腺癌并进行手术切除的 30 例前列腺癌组织和 30 例相应的癌旁组织标本,年龄为 48-67 岁,平均年龄为 58.5±4.8 岁。所有患者在手术前均已本人签字同意,且均未接受内分泌和放疗化疗的治疗。从手术中所获得的组织标本存储于液氮中。前列腺正常上皮 RWPE-1 细胞、前列腺癌 PC-3、LNCaP 和 DU145 细胞系均购自中科院上海细胞所。膜联蛋白-V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)细胞凋亡试剂盒、Lipfectamine 2000 脂质体转染试剂盒、反转录试剂盒和 PCR 试剂盒均购于大连宝生物公司,SYBR Green

qPCR 试剂盒、TaqMan miRNA 分析试剂盒、Trizol 总 RNA 提取试剂盒和聚氰基丙烯酸正丁酯(bicinchoninic acid,BCA)蛋白定量检测试剂盒均购于美国 Invitrogen 公司。miRNA-182 inhibitor、Negative control 和 miR-182 引物购于上海吉玛公司。胎牛血清、RPMI-1640 培养基和噻唑蓝 MTT 试剂购于美国 Sigma 公司,实时定量 PCR 仪和流式细胞仪分别购自美国 ABI 和 BD 公司。转录因子 FOXO1(forkhead in rhabdomyosarcoma, FOXO1a)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、p53、β 肌动蛋白(β-actin)一抗及 HRP 辣根酶标记羊抗兔或羊抗鼠 IgG(IgG-HRP)二抗为美国 Santa Cruz 产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 将前列腺正常上皮 RWPE-1 细胞、前列腺癌 PC-3、LNCaP 和 DU145 细胞培养于 RPMI-1640 培养基(含 10%胎牛血清)中,于温度 37℃、体积分数 5% CO₂ 和饱和湿度的培养箱中培养至细胞融合度为 70%-80%时,加 0.25%胰蛋白酶消化,以 1:2 传代。取对数生长期的前列腺癌 PC-3 细胞,以 1×10⁵ 个/mL 接种至 96 孔培养板上,随机分为 3 组,分别为实验组、阴性组和对照组。其中对照组细胞不做任何处理,实验组和阴性组细胞分别按照 Lipfectamine 2000 脂质体转染试剂盒说明书转染 miRNA-182 inhibitor 和 Negative control。转染 4 h 后更换培养液,再继续培养 48 h 后收集各组对数生长期细胞进行后续实验。

1.2.2 qRT-PCR 检测 从液氮罐中取出收集到的前列腺癌组织和旁癌组织,冰浴中匀浆机快速搅拌均匀,取转染 48 h 的各组细胞,以 Trizol 法提取总 RNA,BCA 蛋白定量试剂盒进行浓度和纯度检测。根据逆转录试剂盒说明书获取 cDNA,以 cDNA 为模板,根据 SYBR Green qPCR 试剂盒操作步骤进行扩增,检测目的基因的表达水平。PCR 扩增的反应条件为 94℃变性 30 s,55℃退火 60 s,72℃延伸 45 s,共 35 个循环;反应体系为 25 μL,其中正反引物各为 2 μL,cDNA 模板为 2 μL,Master Mix 为 12.5 μL,加 ddH₂O 补至 25 μL。扩增的 PCR 引物见表 1。其中,分别以 U6 和 β-actin 为内参,采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因相对表达量。

表 1 PCR 扩增引物

Table 1 Primers for PCR amplification

Gene	Forward primer(5'→3')	Reverse primer(5'→3')
miR-182	TGCGGTTTGGCAATGGTAGAAC	CCAGTGCAGGGTCCGAGGT
FOXO1	AAGAGCGTGCCCTACTTCAA	CTGTTGTTGTCCATGGATGC
VEGF	GCAGATCTTGCTTCGCGATGTACGGGCC	CGTCGCGAGGGCTATGAACTAATGACCC
p53	ACTAAGCGAGCACTGCCCAAC	CCTCATTACAGTCTCGGAACATC
U6	TCAGTTTGCTGTTCTGGGTG	CGGTTGGCTGGAAAGGAG
β-actin	GGACCTGACTGACTACCTC	TACTCCTGCTTGCTGAT

1.2.3 MTT 法检测 收集转染后的 PC-3 细胞,调整细胞密度,以 1×10⁵ 个/孔接种至培养板上,在培养箱中常规培养 24、48 和 72 h 后,收集三个时间点的细胞,加入浓度为 5 g/L 的 MTT 溶液 20 μL,常温条件下孵育 4 h 后弃上清,加入二甲亚砜 200 μL,充分反应完全后,酶标仪(570 nm 波长)检测各

组细胞的吸光值(optical density,OD 值)。其中,每组实验设 5 个复孔,实验重复 3 次。

1.2.4 流式细胞术检测 分别取转染 48 h 的实验组、阴性组和对照组中的 PC-3 细胞,经胰蛋白酶消化和 PBS 洗涤后,加入结合缓冲液重悬细胞,按照 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒

说明书的步骤进行操作, 流式细胞仪检测各组细胞的凋亡情况。实验重复 3 次。

1.2.5 免疫印迹检测 取转染后的各组细胞, 以放射免疫沉淀法冰上裂解细胞, 提取各组细胞的总蛋白, 以 BCA 法检测蛋白浓度。取 30 μ g 蛋白样品在浓度为 12% 的聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳, 电泳完毕后, 转至聚偏二氟乙烯膜上。以浓度为 50 g/L 的脱脂牛奶封闭 2 h 后, 加入稀释浓度均为 1:500 的 FOXO1 抗体、VEGF 抗体、p53 抗体和 β -actin 抗体, 于 4 $^{\circ}$ C 下过夜, 再加入稀释浓度为 1:1000 的 IgG-HRP 二抗, 常温下反应 1 h 后, 以 ECL 显色, β -actin 为内参, 计算各组细胞中目的蛋白的相对表达量。实验重复 3 次。

1.3 统计学分析

使用 SPSS20.0 软件进行统计学分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}(\bar{x} \pm s)$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 t 检测, 以 $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 前列腺癌组织和前列腺癌细胞中 miR-182 的表达

采用 qRT-PCR 分别检测前列腺癌组织和旁癌组织中 miR-182 的表达, 结果见图 1A, 前列腺癌组织 miR-182 的相对表达量 (2.20 ± 0.23) 较旁癌组织 (1.17 ± 0.22) 明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同前列腺癌 PC-3、LNCaP、DU145 细胞和前列腺正常上皮 RWPE-1 细胞中 miR-182 的表达量分别为 2.32 ± 0.18 、 1.85 ± 0.11 、 1.46 ± 0.08 和 0.98 ± 0.05 , 结果见图 1B。与前列腺正常上皮 RWPE-1 细胞相比, 三种不同前列腺癌细胞中 miR-182 的表达水平均显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 PC-3、LNCaP 和 DU145 细胞中, PC-3 细胞的 miR-182 表达水平最高, LNCaP 细胞中 miR-182 水平最低, 故后续实验中以 PC-3 细胞为研究对象进行实验。

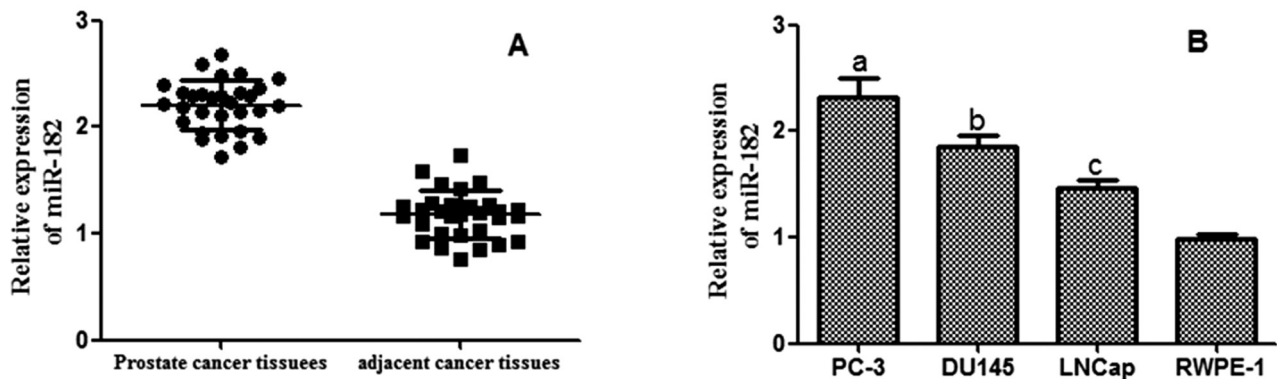


图 1 qRT-PCR 检测 miR-182 在前列腺癌组织及细胞中的表达

Fig.1 The expression of miR-182 in the prostate cancer tissues and cells were detected by qRT-PCR

注: A 为 miR-182 在前列腺癌组织和旁癌组织中的表达水平, B 为 miR-182 在前列腺癌细胞和前列腺正常上皮细胞中的表达水平。a 与 RWPE-1 细胞相比, $P < 0.05$; b 与 RWPE-1 细胞相比, $P < 0.05$; c 与 RWPE-1 细胞相比, $P < 0.05$ 。

Note: A was the expression level of miR-182 in prostate cancer tissues and adjacent cancer tissues, and B was the expression level of miR-182 in prostate cancer cells and prostate normal epithelial cells. a compared with RWPE-1 cells, $P < 0.05$; b compared with RWPE-1 cells, $P < 0.05$; c compared with RWPE-1 cells, $P < 0.05$.

2.2 下调 miR-182 的表达对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的影响

转染 miRNA-182 inhibitor 和 Negative control 后, 实验组、阴性组和对照组的前列腺癌 PC-3 细胞中 miR-182 的相对表达水平分别为 0.18 ± 0.05 、 0.95 ± 0.08 和 1.02 ± 0.05 , 结果见图 2。与对照组相比, 实验组中 miR-182 的表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 可见干预 miR-182 表达后, 成功下调 miR-182 在 PC-3 细胞中的表达。转染 24、48 和 72 h 后, 与对照组相比, 阴性组细胞中的 OD 值差异不显著, 而实验组细胞中的 OD 值明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明下调 miR-182 表达对 PC-3 细胞的增殖能力有明显的抑制作用, 结果见表 2。

2.3 下调 miR-182 表达对前列腺癌 PC-3 细胞凋亡的影响

转染 48 h 后, 采用流式细胞术检测各组细胞的凋亡率, 结果见图 3。实验组细胞凋亡率 (18.15 ± 0.62)% 较对照组细胞凋亡率 (8.28 ± 0.26)% 显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 阴性组细胞凋亡率 (8.56 ± 0.45)% 与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果表明下调 miR-182 表达可促进 PC-3 细胞凋亡。

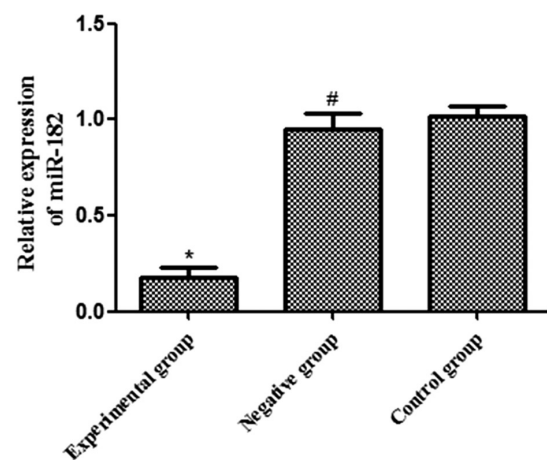


图 2 各组细胞中 miR-182 的表达情况

Fig. 2 The expression of miR-182 in the cells of each group

注: * 与对照组相比, $P < 0.05$; # 与对照组相比, $P < 0.05$ 。

Note: * compared with control group, $P < 0.05$ # compared with the control group, $P < 0.05$.

表 2 下调 miR-182 表达对 PC-3 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effect of down-regulation of miR-182 expression on the proliferation of PC-3 cells ($\bar{x} \pm s$)

Groups	OD value		
	24 h	48 h	72 h
Control group	0.458 $\pm$ 0.012	0.586 $\pm$ 0.015	0.742 $\pm$ 0.016
Negative group	0.455 $\pm$ 0.015 ^b	0.578 $\pm$ 0.025 ^b	0.731 $\pm$ 0.023 ^b
Experimental group	0.422 $\pm$ 0.012 ^a	0.524 $\pm$ 0.021 ^a	0.628 $\pm$ 0.018 ^a

注:a 与对照组相比, $P < 0.05$; b 与对照组相比, $P < 0.05$ 。

Note: compared with control group, ^a $P < 0.05$; compared with the control group, ^b $P < 0.05$.

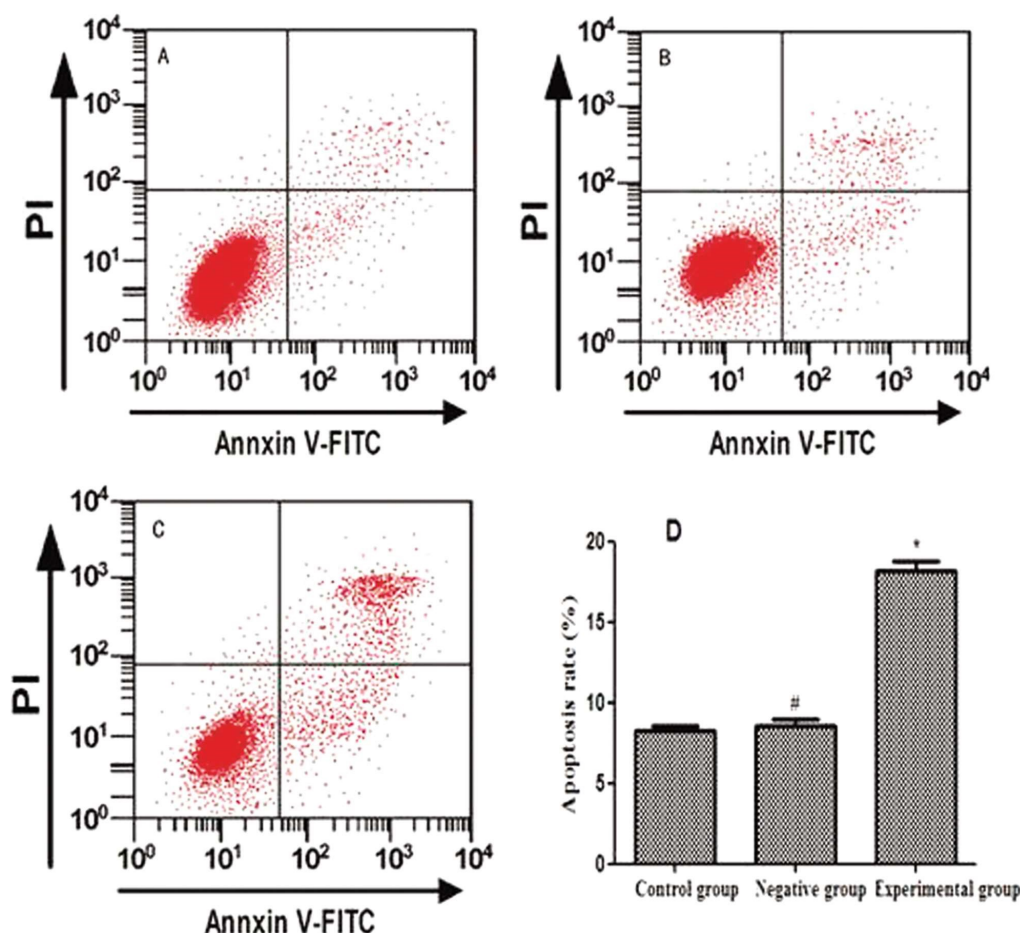


图 3 下调 miR-182 的表达对 PC-3 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of down-regulation of miR-182 expression on the apoptosis of PC-3 cells

注:A 为对照组,B 为阴性组,C 为实验组。* 与对照组相比, $P < 0.05$; # 与对照组相比, $P < 0.05$ 。

Note: A was the control group, B was the negative group, and C was the experimental group. * compared with control group, $P < 0.05$; # compared with the control group, $P < 0.05$.

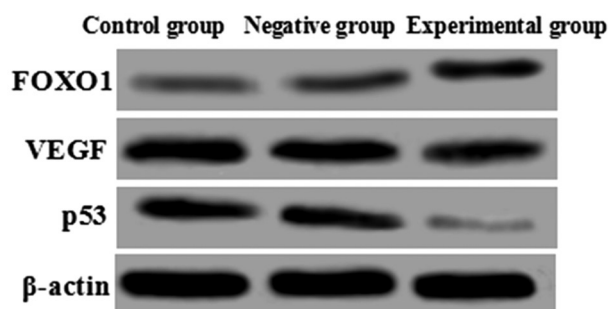


图 4 Western blot 检测 FOXO1、VEGF 和 p53 蛋白的表达

Fig. 4 The expressions of FOXO1, VEGF and p53 protein were detected by Western blot

2.4 下调 miR-182 表达对 FOXO1、VEGF 和 p53 表达的影响

如图 4 和表 3 显示,与对照组相比,下调 miR-182 表达的 PC-3 细胞 FOXO1 表达明显升高,VEGF 和 p53 表达明显降低,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);阴性组 FOXO1、VEGF 和 p53 的表达与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

随着我国人口老龄化的日益加剧,前列腺癌的发病率有明显上升的趋势,严重威胁着男性的健康。前列腺癌的发生是一个癌细胞恶性增殖和细胞凋亡受到抑制的复杂过程。研究显示,miRNA 与前列腺癌的发生发展密切相关^[10]。MiR-182 是一

表 3 下调 miR-182 对 FOXO1、VEGF 和 p53 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of down-regulation of miR-182 on the expressions of FOXO1, VEGF and p53 ($\bar{x} \pm s$)

Groups	FOXO1		VEGF		p53	
	mRNA	Protein	mRNA	Protein	mRNA	Protein
Control group	1.03± 0.18	0.23± 0.03	1.11± 0.08	0.76± 0.13	0.98± 0.05	0.56± 0.08
Negative group	0.98± 0.24 ^b	0.25± 0.05 ^b	0.95± 0.05 ^b	0.72± 0.22 ^b	0.95± 0.06 ^b	0.54± 0.12 ^b
Experimental group	1.36± 0.32 ^a	0.42± 0.08 ^a	0.41± 0.06 ^a	0.35± 0.15 ^a	0.22± 0.05 ^a	0.11± 0.05 ^a

注:a 与对照组相比,P<0.05;b 与对照组相比,P<0.05。

Note: a compared with the control group, P<0.05; b compared with the control group, P<0.05.

种位于人 7q32.2 染色体上的 miRNA,最早发现于小鼠的眼中,其通过靶向调控不同的基因或蛋白在多种肿瘤的形成过程中发挥着癌基因或抑癌基因的重要作用^[11]。miR-182 在宫颈癌、乳腺癌和肝癌等多种肿瘤细胞中表达不尽相同,干扰其表达可明显抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡^[12-14]。目前,关于 miR-182 在前列腺癌中的具体作用机制并不明确。本研究采用 qRT-PCR 检测其在前列腺癌组织和细胞中表达情况,结果显示前列腺癌和细胞中 miR-182 均呈现高表达,而下调 miR-182 的表达后,细胞的增殖能力明显受到抑制,细胞凋亡能力明显增强。

FOXO1 基因广泛存在于心脏、肝脏和前列腺等各种组织和器官中,其作为转录因子通过调控下游基因在肿瘤细胞增殖和凋亡过程中发挥着重要作用^[15]。VEGF 是一种能够诱导血管生成的促进因子,在维持血管密度、通透性及运输营养等方面起着重要作用。正常情况下,VEGF 在成熟器官中呈较低表达,在前列腺上皮细胞等供血丰富的组织或细胞中表达较高。研究显示其在乳腺癌、肺癌和膀胱癌等多种肿瘤组织中呈现高表达,与肿瘤细胞的生长密切相关^[16-18]。p53 是抑癌基因 p53 家族中的重要成员,分为具有抑癌活性的野生型与丧失活性的突变型,可通过阻滞细胞周期、抑制血管生成和促进细胞凋亡等作用在抑制肿瘤的进展中发挥作用。FOXO1、VEGF 和 p53 基因与前列腺癌的发生发展相关性密切^[19-21]。文献表明 miR-182 对上述三种基因或蛋白具有一定的调控作用。马列^[7]研究发现沉默 miR-182 的表达后,SW579 细胞的增殖能力和细胞迁移数显著降低,其作用机制可能与 VEGF 和 p53 的蛋白表达降低有关。Kim K M 等^[22]研究发现 miR-182 可以负调控 FOXO1,在成骨细胞的增殖、分化和凋亡过程中发挥重要作用。为了探讨 miR-182 在前列腺癌中可能的分子机制,本研究采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 PC-3 细胞中 FOXO1、VEGF 和 p53 的表达,结果显示 FOXO1 表达水平显著升高,VEGF 和 p53 的表达明显降低,提示下调 miR-182 表达可抑制前列腺癌血管的生成,降低 p53 突变,进而抑制 PC-3 细胞增殖,促进细胞凋亡。

综上所述,miR-182 在前列腺癌组织及细胞中呈高表达,下调 miR-182 的表达可能通过增加 FOXO1 的表达并减少 VEGF 和 p53 的表达,抑制前列腺癌细胞增殖并诱导细胞凋亡。因此,miR-182 高表达可能在前列腺癌发生发展过程中发挥了重要作用,miR-182 可能为前列腺癌诊断和治疗的生物标记物的研究提供新的线索。

参考文献(References)

[1] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2016, 66(2): 115-132

[2] Hayes J, Peruzzi P P, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy [J]. Trends in molecular medicine, 2014, 20(8): 460-469

[3] Zhang W, Zang J, Jing X, et al. Identification of candidate miRNA biomarkers from miRNA regulatory network with application to prostate cancer[J]. Journal of translational medicine, 2014, 12(1): 66

[4] 杨志平,张芳,杨志英,等.食管肿瘤标志物 miRNA 的研究进展[J]. 中国老年学, 2013, 33(13): 3270-3272

Yang Zhi-ping, Zhang Fang, Yang Zhi-ying, et al. Research progress of tumor marker miRNA in esophageal cancer [J]. China gerontology, 2013, 33 (13): 3270-3272

[5] Kouri F M, Hurley L A, Daniel W L, et al. miR-182 integrates apoptosis, growth, and differentiation programs in glioblastoma[J]. Genes & development, 2015, 29(7): 732-745

[6] Zhang Y, Wang X, Wang Z, et al. miR-182 promotes cell growth and invasion by targeting forkhead box F2 transcription factor in colorectal cancer[J]. Oncology reports, 2015, 33(5): 2592-2598

[7] 马列. miR-182 表达异常对甲状腺癌细胞株 SW579 增殖迁移的影响[J].现代肿瘤医学, 2016, 24(5): 699-702

Ma Lie. Effect of miR-182 on proliferation and migration in thyroid cancer cell line SW579[J]. Modern oncology, 2016, 24(5): 699-702

[8] Wei Q, Lei R, Hu G. Roles of miR-182 in sensory organ development and cancer[J]. Thoracic cancer, 2015, 6(1): 2-9

[9] Casanova-Salas I, Rubio-Briones J, Calatrava A, et al. Identification of miR-187 and miR-182 as biomarkers of early diagnosis and prognosis in patients with prostate cancer treated with radical prostatectomy[J]. The Journal of urology, 2014, 192(1): 252-259

[10] 许文婷,贾英杰,李小江,等. miRNA 在前列腺癌中的研究进展[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(5): 458-462

Xu Wen-ting, Jia Ying-jie, Li Xiao-jiang, et al. Research progress of miRNA in prostate cancer[J]. Chinese Journal of andrology, 2015, 21 (5): 458-462

[11] Dong M J, Xiao T, Meng W, et al. Research progress in the function of microRNA-182[J]. Acta physiologica Sinica, 2016, 68(1): 107-113

[12] Sun J, Ji J, Huo G, et al. miR-182 induces cervical cancer cell apoptosis through inhibiting the expression of DNMT3a [J]. International journal of clinical and experimental pathology, 2015, 8(5): 4755

[13] Yu J, Shen W, Gao B, et al. MicroRNA-182 targets FOXF2 to promote the development of triple-negative breast cancer[J]. Neoplasma, 2017, 64(2): 209-215

[14] Wang T H, Yeh C T, Ho J Y, et al. OncomiR miR-96 and miR-182 promote cell proliferation and invasion through targeting ephrinA5 in hepatocellular carcinoma [J]. Molecular carcinogenesis, 2016, 55(4): 366-375

- [9] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. *Nature*, 2010, 464(7293): 1357-1361
- [10] Carr SC, Farb A, Pearce WH, et al. Activated inflammatory cells are associated with plaque rupture in carotid artery stenosis [J]. *Surgery*, 1997, 122(4): 757-763
- [11] Zheng F, Xing SS, Gong ZS, et al. NLRP3 inflammasomes show high expression in aorta of patients with atherosclerosis [J]. *Heart Lung Circ*, 2013, 22(9): 746-750
- [12] Coll NS, Epple P, Dangl JL. Programmed cell death in the plant immune system[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(8): 1247-1256
- [13] Luo B, Li B, Wang W, et al. Rosuvastatin alleviates diabetic cardiomyopathy by inhibiting NLRP3 inflammasome and MAPK pathways in a type 2 diabetes rat model [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2014, 28(1): 33-34
- [14] Lin J, Shou X, Mao X, et al. Oxidized low density lipoprotein induced caspase-1 mediated pyroptotic cell death in macrophages: implication in lesion instability?[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62148
- [15] 王霄, 杨易, 刘洁, 等. JAK2-STAT3 信号通路在白介素-1 β 经动脉外膜给药致平滑肌细胞增殖迁移中的作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(6): 512-516
- Wang Xiao, Yang Yi, Liu Jie, et al. Role of JAK2-STAT3 signaling pathway in smooth muscle cell proliferation and migration induced by medication of IL-1 β through arterial adventitia in mice[J]. *J Third Mil Med Univ*, 2012, 34(6): 512-516
- [16] Kirii H, Niwa T, Yamada Y, et al. Lack of interleukin-1 β decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(4): 656-660
- [17] Wereszczyńska-Siemiakowska U, Kosel J, Siemiakowski A. Biological properties of interleukin 18 [J]. *Pol Merkuri Lekarski*, 2004, 16(93): 279-281
- [18] Chung HK, Lee IK, Kang H, et al. Statin inhibits interferon- γ -induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (I-CAM-1) in vascular endothelial and smooth muscle cells[J]. *Exp Mol Med*, 2002, 34(6): 451-461
- [19] Batetta B, Mulas MF, Petmazzo P, et al. Opposite pattern of MDR1 and caveolin-1 gene expression in human atherosclerotic lesions and proliferating human smooth muscle cells [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58(8): 1113-1120
- [20] Chandrasekar B, Mummidi S, Mahaimanathan L, et al. Interleukin-18-induced human coronary artery smooth muscle cell migration is dependent on NF- κ B and AP-1-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and is inhibited by atorvastatin [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(22): 15099-15109
- [21] Gerdes N, Sukhova GK, Libby P, et al. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis[J]. *J Exp Med*, 2002, 195(2): 245-257
- [22] Martinon F. Mechanisms of uric acid crystal-mediated autoinflammation[J]. *Immunol Rev*, 2010, 233(1): 218-232
- [23] Yu HB, Finlay BB. The caspase-1 inflammasome: a pilot of innate immune responses [J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 4(3): 198-208
- [24] Abderrazak A, Couchie D, Mahmood DF, et al. Anti-inflammatory and antiatherogenic effects of the NLRP3 inflammasome inhibitor arglabin in ApoE2.Ki mice fed a high-fat diet[J]. *Circulation*, 2015, 131(12): 1061-1070
- [25] Wang Y, Han Z, Fan Y, et al. Micro RNA-9 Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation in Human Atherosclerosis Inflammation Cell Models through the JAK1/STAT Signaling Pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1555-1571
- [26] Rajamäki K, Mäyränpää MI, Risco A, et al. P38 δ MAPK: A Novel Regulator of NLRP3 Inflammasome Activation With Increased Expression in Coronary Atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(9): 1937-1946

(上接第 1678 页)

- [15] Kajihara T, Brosens J J, Ishihara O. The role of FOXO1 in the decidual transformation of the endometrium and early pregnancy [J]. *Medical molecular morphology*, 2013, 46(2): 61-68
- [16] Doesavard L, Bharti S K, Popel A S, et al. Abstract 3370: Metabolic profiling of the tumor interstitial fluid using 1H MRS: contribution of breast cancer subtypes and VEGF overexpression[J]. *Cancer Research*, 2016, 76(14): 3370-3370
- [17] Chen P, Zhu J, Liu D, et al. Over-expression of survivin and VEGF in small-cell lung cancer may predict the poorer prognosis [J]. *Medical oncology*, 2014, 31(1): 775
- [18] Kopparapu P K, Boorjian S A, Robinson B D, et al. Expression of VEGF and its receptors VEGFR1/VEGFR2 is associated with invasiveness of bladder cancer [J]. *Anticancer research*, 2013, 33(6): 2381-2390
- [19] 金益, 邵钦树. FOXO1 基因在肿瘤中的研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2015, 21(2): 81-85
- Jin Yi, Shao Qing-shu. Research progress of FOXO1 gene in tumor [J]. *Journal of oncology*, 2015, 21(2): 81-85
- [20] Woollard D J, Opeskin K, Coso S, et al. Differential expression of VEGF ligands and receptors in prostate cancer[J]. *The Prostate*, 2013, 73(6): 563-572
- [21] Ringer L, Sirajuddin P, Tricoli L, et al. The induction of the p53 tumor suppressor protein bridges the apoptotic and autophagic signaling pathways to regulate cell death in prostate cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(21): 10678
- [22] Kim K M, Su J P, Jung S H, et al. miR-182 is a negative regulator of osteoblast proliferation, differentiation, and skeletogenesis through targeting FoxO1 [J]. *Journal of Bone & Mineral Research*, 2012, 27(8): 1669-1679