

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.10.011

miR-155 靶向 SOCS1 对骨肉瘤 Saos2 细胞的增殖、侵袭和迁移能力的影响 *

陈 明 黄 韬 韩先伟 杨彤涛 周 勇[△]

(唐都医院骨科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨 microRNA-155(miR-155)对骨肉瘤 Saos2 细胞增殖、侵袭和迁移的影响以及其作用机制。**方法:**利用实时荧光定量(qRT-PCR)实验检测 miR-155 在正常成骨细胞与骨肉瘤 Saos2 细胞中的表达水平,以及 miR-155-mimic、miR-155-inhibitor 的转染效率。采用 CCK-8 实验检测细胞的增殖能力,Transwell 实验和划痕实验分别检测 Saos2 细胞的侵袭和迁移能力,Western blot 检测细胞内的 STAT3 磷酸化水平以及 SOCS1 表达水平,双荧光素酶报告基因实验进行靶基因验证。**结果:**miR-155 在骨肉瘤 Saos2 细胞中表达明显高于正常成骨细胞($P<0.001$)。在分别转染 miR-155-mimic 和 miR-155-inhibitor 后,Saos2 细胞内 miR-155 表达水平明显上调和下降($P<0.001$)。过表达 miR-155 可促进 Saos2 细胞增殖、侵袭和迁移,降低 SOCS1 的蛋白水平,上调 STAT3 的磷酸化水平,差异均具有统计学意义。相反,降低 miR-155 水平可抑制 Saos2 细胞的增殖、侵袭和迁移能力,差异均具有统计学意义。**结论:**骨肉瘤 Saos2 细胞中高表达的 miR-155 可以通过抑制 SOCS1 表达来激活 STAT3 信号通路进而促进细胞的增殖、侵袭和迁移,因此,靶向抑制 miR-155 表达可以作为潜在治疗骨肉瘤的途径。

关键词:骨肉瘤;miR-155;SOCS1;STAT3

中图分类号:R-33;R738.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)10-1858-06

miR-155 Regulates Proliferation, Migration and Invasion of Osteosarcoma Saos2 Cells by Targeting SOCS1*

CHEN Ming, HUANG Tao, HAN Xian-wei, YANG Tong-tao, ZHOU Yong[△]

(Department of Orthopedics, Tangdu hospital, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects and the mechanism of action of microRNA-155 (miR-155) on proliferation, invasion and migration of osteosarcoma Saos2 cells. **Methods:** The expression of miR-155 in normal osteoblasts and osteosarcoma Saos2 cells was detected by real-time PCR, and the transfection efficiency of miR-155-mimic and miR-155-inhibitor was measured by qRT-PCR. CCK-8 assay was used to evaluate the cell proliferation. Transwell assay and wound healing assay were used to detect the invasion and migration ability of Saos2 cells, respectively. SOCS1 and p-STAT3 protein expression was examined by using western blot assay. Dual luciferase reporter gene assay was performed to determine the target gene. **Results:** The expression of miR-155 was significantly higher in osteosarcoma Saos2 cells than normal osteoblasts ($P<0.001$). After transfection with miR-155-mimic or miR-155-inhibitor, miR-155 expression of Saos2 cells was significantly upregulated or downregulated, respectively ($P<0.001$). Overexpression of miR-155 promoted proliferation, invasion and migration of Saos2 cells, and decreased the protein level of SOCS1, as well as increased the phosphorylation level of STAT3. The difference was statistically significant ($P<0.05$). Conversely, downregulation of miR-155 inhibited the proliferation, invasion, and migration of Saos2 cells. The difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** miR-155, which is highly expressed in osteosarcoma Saos2 cells, can activate the STAT3 signaling pathway by inhibiting the expression of SOCS1, thereby promotes cell proliferation, migration and invasion. Therefore, targeting miR-155 therapy may be a potential approach for osteosarcoma.

Key words: Osteosarcoma; miR-155; SOCS1; STAT3

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R738.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)10-1858-06

前言

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是青少年时期最常见的原发性

恶性骨肿瘤,虽然原发性骨肿瘤占有所有肿瘤的比例不到 0.2%,但美国国家癌症研究所的数据显示,原发性骨肿瘤的发病率在过去十年中每年增加 0.3%^[1]。由于骨肉瘤进展快,且早期极易

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81272441)

作者简介:陈明(1985-),硕士研究生,主要研究方向:骨肿瘤基础及临床相关研究, E-mail: cming_zhao@163.com

[△] 通讯作者:周勇(1962-),主任医师,教授,博士生导师,主要研究方向:骨肿瘤外科治疗及骨缺损修复相关研究,

E-mail: gukezy@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2018-12-10 接受日期:2018-12-31)

发生转移,预后差,患者的5年生存率仅为13%^[2]。微小RNA(microRNA, miRNA)是19-22个核苷酸的内源性非编码小RNA分子,广泛参与肿瘤的发生、分化、代谢、细胞增殖、血管生成、细胞凋亡和肿瘤转移等各种生理病理过程^[3]。研究表明,miR-155在多种实体瘤内高表达,发挥癌基因作用,促进肿瘤进展^[4]。在抑制miR-155的表达后,骨肉瘤细胞系SOSP-9607细胞的增殖能力下降,凋亡率增加,出现G0/G1期阻滞,提示miR-155在骨肉瘤中同样充当癌基因角色^[5]。但miR-155在骨肉瘤中的作用机制以及其它骨肉瘤细胞系中的作用仍不清楚。本文通过研究miR-155在另外一种更为常见的骨肉瘤细胞系Saos2中的作用,以及miR-155在骨肉瘤细胞中的作用机制,旨在为骨肉瘤的治疗提供新的靶点和思路。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

人正常骨细胞系hFOB1.19、骨肉瘤细胞系Saos2和293T细胞系均购自ATCC细胞库,用含10%胎牛血清(四季青公司)的DMEM培养基(Gibico公司)在37℃、5%CO₂孵箱中培养。

1.2 细胞转染

Saos2细胞经胰蛋白酶(碧云天公司)消化后,按照2×10⁵细胞/孔接种于六孔板,待24h后按照Lipofectamine 2000 Reagent (Invitrogen公司)说明书进行miR-155-NC(Negative Control,阴性对照)、miR-155-mimic、miR-155-inhibitor转染,转染剂量为50 nM。

1.3 qRT-PCR

细胞转染24h后,利用Trizol(Invitrogen公司)法提取总RNA,并对其浓度和纯度进行检测。后续按照miRNA反转录试剂盒(Qiagen公司,miScript PCR Starter Kit)的说明书进行miRNA反转录。以反转录后的产物作为模板,采用Takara公司的试剂(SYBR® Premix EX Taq™ II Tli RNaseH Plus Kit)进行实时定量PCR实验(AB公司,QuantStudio 5 Real-Time PCR System)。miR-155上游引物为:5'-UUA AUGCUAAUCGU GAUAGGGG-3';内参U6上游引物为:5'-GGATGACACG-CAAATTCGTGAAGC-3'。下游引物为Takara公司通用引物。

1.4 CCK-8实验检测细胞增殖能力

将转染24h后的Saos2细胞按照3×10³细胞/孔铺入96孔板,每组设置6复孔,分别在培养24h、48h、72h、96h后,取出一块孔板,每孔加CCK-8(MCE公司)溶液10 μL,继续放入孵箱培养1小时后上机检测。利用酶标仪测定490 nm处的光密度(OD)值。

1.5 Transwell实验检测细胞侵袭能力

每组设3小室,提前于每小室铺入50 μL Matrigel(1:8稀释)基质胶(BD公司)。将转染24h后的Saos2细胞消化、收集后,用无血清的DMEM培养基重悬,按照1×10⁵/孔铺入Transwell小室(Millipore公司)中,下层为完全培养基,培养24h后取出小室。在4%多聚甲醛(谷歌生物公司)室温固定20 min后,利用5%结晶紫(Sigma公司)染色20 min,PBS洗三遍,镜下观察。

1.6 划痕实验检测细胞迁移能力

用记号笔在六孔板背面划3条直线,每孔铺1×10⁶转染

后的细胞,继续培养24小时,用1 mL枪头垂直于板底和直线划痕。在PBS洗三遍后,加入无血清的DMEM培养基继续培养,于0和24 h取样拍照。

1.7 Western blot 检测蛋白水平变化

使用RIPA(碧云天公司)裂解法提取细胞总蛋白,经SDS-PAGE电泳后,转到PVDF膜上,使用5%脱脂奶粉封闭2 h,4℃孵育一抗过夜,PBST洗膜三次后,室温孵育二抗2 h,PBST洗膜三次,经化学发光后进行结果分析(天能4200)。一抗:SOCS1抗体1:1000稀释(Abcam公司,ab62584),STAT3抗体1:1000稀释(Abcam公司,ab68153),p-STAT3抗体1:1000稀释(Abcam公司,ab76315),β-actin抗体按1:1000稀释(CST公司,3700)。二抗:HRP标记抗兔IgG 1:2000稀释(CST公司,7074),HRP标记抗小鼠IgG 1:2000稀释(CST公司,7076)。

1.8 双荧光素酶报告基因实验

设计miR-155的靶基因SOCS1的3'非编码区的引物序列,上游引物为:5'-AAACTCGAGTGCACGCAGCAT-TAACTGG-3'(下划线序列为结合区),下游引物为:5'-AAAGAGCTCTAGGATTCTGCACAGCAGAA-3',由吉玛公司构建pGL3-promoter-SOCS1质粒。在293T进行细胞转染,实验分为空载体组(pGL3-promoter)、对照组(pGL3-promoter-SOCS1+miR-155-NC)和实验组(pGL3-promoter-SOCS1+miR-155-mimic),转染48h后予以裂解细胞,上机进行检测(Glomax 20/20 Lumiometer)。

1.9 数据统计分析

应用Image Pro plus 6.0软件分析图片,GraphPad Prism 6.0进行数据统计和作图,用“均值±标准差”表示,两组间比较采用独立样本t检验, $p<0.05$ 表示数据之间有统计学差异。

2 结果

2.1 miR-155在人正常成骨细胞系hFOB1.19与骨肉瘤细胞系Saos2中表达水平的检测,以及Saos2细胞转染效率的验证

通过qRT-PCR实验对人正常成骨细胞系hFOB1.19与骨肉瘤细胞系Saos2细胞中miR-155的含量进行检测,结果显示,Saos2细胞中miR-155的表达水平显著高于hFOB1.19(图1A,*** $p<0.001$)。对Saos2细胞进行miR-155-NC/mimic/inhibitor转染后,细胞内miR-155的表达水平发生相应改变,qRT-PCR实验结果证实转染有效(图1B、C,*** $p<0.001$)。

2.2 miR-155过表达促进Saos2细胞的增殖、侵袭和迁移

将Saos2细胞分两组,分别进行miR-155-NC和mimic转染。转染24小时后,进行CCK-8、Transwell和划痕实验。CCK-8实验结果显示,转染miR-155 mimic后,Saos2细胞的增殖能力明显增强(图2A,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$)。同样,Transwell实验结果也表明,上调细胞内miR-155的表达促进细胞的侵袭(图2B,** $P<0.01$)。划痕实验结果也表明上调miR-155的表达促进Saos2细胞的迁移(图2C,** $P<0.01$)。

2.3 下调miR-155的表达抑制Saos2细胞的增殖、侵袭和迁移

将Saos2细胞分两组,分别进行miR-155-NC和inhibitor转染。转染24小时后,进行CCK-8、Transwell和划痕实验。CCK-8实验结果显示,转染miR-155-inhibitor抑制细胞内

miR-155 表达后, Saos2 细胞的增殖能力明显下降 (图 3A, $*P<0.05$, $**P<0.01$)。同样, Transwell 实验结果也表明, 下调细胞内 miR-155 的表达可以抑制细胞的侵袭 (图 3B, $**P<0.01$)。划痕

实验结果进一步证实下调 miR-155 的表达可抑制 Saos2 细胞的迁移 (图 3C, $**P<0.01$)。

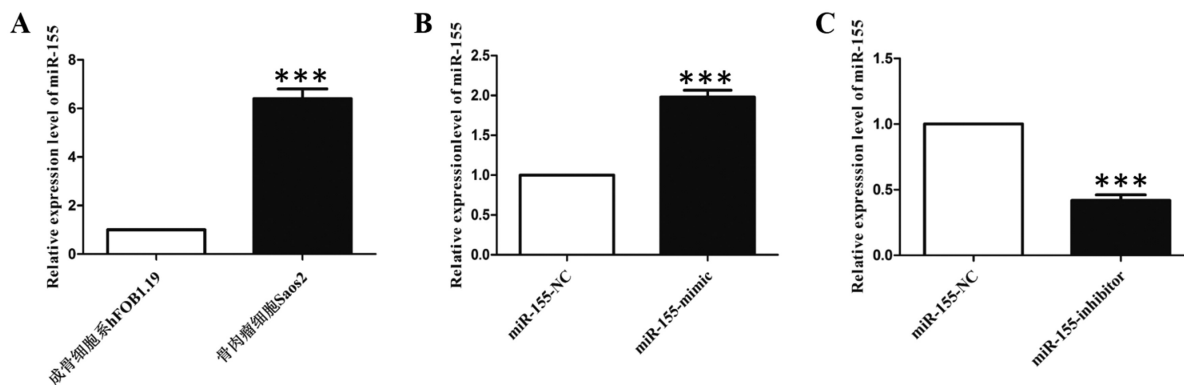


图 1 miR-155 在 hFOB1.19 和 Saos2 细胞中的表达以及转染效率的验证

Fig.1 Expression of miR-155 in hFOB1.19 and Saos2 cells and identification of transfection efficiency

注:A. 检测 hFOB1.19 和 Saos2 细胞中 miR-155 的表达水平;B.转染 miR-155-mimic 后,采用 qRT-PCR 检测转染效率;

C.转染 miR-155-inhibitor 后,采用 qRT-PCR 检测转染效率。 (** $P<0.001$)

Note: A. Detection of miR-155 expression in human normal osteoblast cell hFOB1.19 and osteosarcoma cell Saos2;

B. Transfection efficiency was evaluated using qRT-PCR after miR-155-mimic transfection;

C. Transfection efficiency was evaluated using qRT-PCR after miR-155-inhibitor transfection. (** $P<0.001$)

2.4 miR-155 通过靶向 SOCS1 激活 STAT3 通路调控细胞生理进程

研究表明,miR-155 可以直接靶向 SOCS1 在乳腺癌中发挥促癌作用^[6]。在 Saos2 细胞分别进行 miR-155-NC 和 miR-155-mimic 转染 48 h 后,收取蛋白进行 Western blot 实验,结果显示,过表达 miR-155 后,细胞内 SOCS1 的蛋白水平降低 (图 4A, $**P<0.01$),表明 miR-155 在骨肉瘤中同样可通过作用于 SOCS1 发挥作用,后续的双荧光素酶报告基因实验证实了 SOCS1 为 miR-155 的直接靶分子 (图 4B, $***P<0.001$)。此外, Western blot 实验表明,上调 miR-155 的表达可促进 p-STAT3 的蛋白水平升高 (图 4C, $**P<0.01$)。综上,miR-155 在骨肉瘤 Saos2 细胞中可能是通过作用于靶基因 SOCS1 激活 STAT3 通路促进骨肉瘤进展。

3 讨论

骨肉瘤是最常见的原发性骨肿瘤,恶性程度高、侵袭性强,且早期易发生肺转移,预后不良^[7]。随着医疗手段的提高,虽然骨肉瘤患者的预后有所好转,但骨肉瘤患者的 5 年生存率仍然只有 70%左右,而转移性骨肉瘤患者的 5 年生存率更是不到 30%^[8]。急需发现新的治疗方法和靶点来进一步提高骨肉瘤患者的预后。

本研究表明,miR-155 在骨肉瘤细胞系 Saos2 中发挥癌基因作用,上调 miR-155 表达可以促进细胞增殖、侵袭和迁移。miR-155 的基因位于 21 号染色体上的 B 细胞整合簇 (B-cell integration cluster, BIC) 区域内^[9],它是一种典型的多功能 miRNA,参与包括造血、炎症、免疫、心血管疾病和肿瘤等多种生理病理过程^[4]。miR-155 作为癌基因在多种实体瘤中高表达,参与包括乳腺癌^[10,11]、胃癌^[12,13]、淋巴瘤^[14,15]、白血病^[16,17]等多种恶

性肿瘤的发生发展。有报道指出,miR-155 通过诱导 MCF-7 转录组的改变调控乳腺癌的发生发展^[18],miR-155 通过负反馈调节 TGF β R2 (转化生长因子- β 受体 2) 促进胃癌细胞的生长和迁移^[19]。我们的实验结果同 miR-155 在其他肿瘤中报道的癌基因作用相一致。在骨肉瘤中,曾有报道指出,miR-155 在骨肉瘤细胞系 SOSP-9607 中发挥促癌作用。另有最新研究表明,miR-155 靶向抑制 PTEN 的表达,增强 PI3K / AKT / mTOR 信号通路,抑制阿霉素诱导的骨肉瘤细胞 MG-63 的凋亡和自噬,并且降低对阿霉素的敏感性^[20]。但 SOSP-9607 细胞系应用不广泛,其次 miR-155 在骨肉瘤不同细胞系中的作用可能不一致,因此本文以国际广泛认可的 Saos2 作为骨肉瘤细胞模型进行体外实验。qRT-PCR 实验发现 miR-155 在骨肉瘤 Saos2 细胞中表达明显高于正常成骨细胞,提示了 miR-155 可能发挥促癌作用。后续对骨肉瘤 Saos2 细胞进行 miR-155-mimic/inhibitor 转染,发现转染 mimic 过表达组细胞的增殖、侵袭和迁移能力均增强;相反,转染 inhibitor 抑制组细胞的增殖、侵袭和迁移能力均降低。结果同之前骨肉瘤中报道的 miR-155 的促癌作用相一致,进一步明确了 miR-155 在骨肉瘤中的癌基因作用。

miRNA 通过完全或不完全互补配对作用于靶基因 mRNA 的 3'UTR 区域导致靶基因翻译受阻或降解,进而在转录后水平对靶基因的表达进行调控^[21]。miRNA 研究的关键是准确寻找其靶基因,我们利用 miR Base 相关数据库和 Target Scan、Pic Tar 软件等对 miR-155 进行生物信息学分析,预测了多个靶点。SOCS1 为其中之一,miR-155 可能通过作用于它来发挥促骨肉瘤进展作用。

SOCS 是细胞因子信号抑制分子,参与多种细胞因子、生长因子和激素的信号调节,可负调节 JAK/STAT 信号通路^[22]。目前哺乳动物中已知有 8 个重要分子,分为 I 型 (SOCS4-7) 和

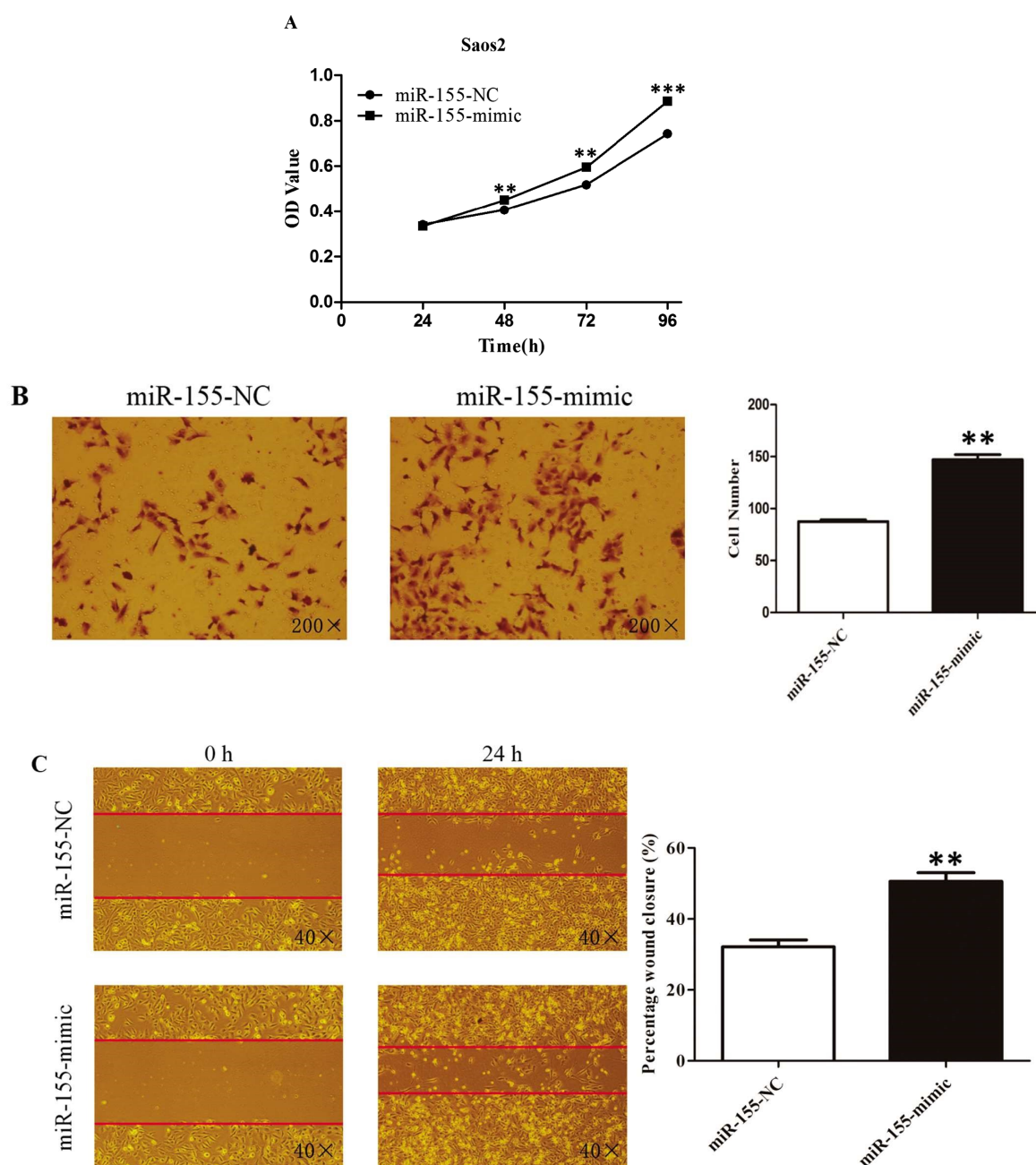


图 2 miR-155 过表达对 Saos2 细胞增殖、侵袭和迁移的影响

Fig.2 Effects of overexpressed miR-155 on Saos2 cell proliferation, invasion and migration

注: A. CCK-8 实验检测细胞的增殖能力; B. Transwell 实验检测细胞的侵袭能力; C. 划痕实验检测细胞迁移能力。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

Note: A. Detection of cell proliferation using CCK-8 assay. B. Detection of cell invasion ability using Transwell assay.

C. Detection of cell migration ability using wound healing assay. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

II 型(CISH 和 SOCS-3),主要结构包括 SH2 区和 SOCS 盒区。SOCS 盒区含有高度保守序列,可抑制 SOCS 蛋白降解而维持其稳态,通过与延伸蛋白 Elongin B/C 结合形成复合体,进而募集泛素化连接酶,使活化的信号蛋白泛素化,从而阻断信号转导通路。SH2 区含有高度保守的 SH2 结构域,可识别不同分子,竞争性结合受体上的磷酸化酪氨酸,抑制信号转导及转录激活因子(Signal transducing activator of transcription, STAT)的激活,参与多种信号转导通路^[23,24]。

STAT 是细胞质内转录因子,正常情况下,STAT 蛋白的激活是短暂的,并且受到严密的调控。但是 STAT 在多种恶性肿

瘤组织中广泛存在,大量存在 STAT 的活化现象^[25]。细胞因子与细胞表面受体结合,激活相关酪氨酸激酶(Janus kinase, JAK)。激活的 JAK 使自身和与之结合的受体磷酸化。JAK 的磷酸酪氨酸与 STAT 的 SH2 结构域结合形成 STATs 二聚体,进入细胞核调控靶基因转录^[26]。目前已知 STAT 蛋白有 7 个家族成员,近年来 STAT 蛋白研究研究表明,STAT3 信号通路与肿瘤的发生发展密切相关,此通路持续活化可导致肿瘤细胞的异常增殖和发生转移,抑制 STAT3 对于肿瘤治疗具有一定的作用^[27]。JAK/STAT 信号通路有三类主要的负调控因子,SOCS 为其中之一。

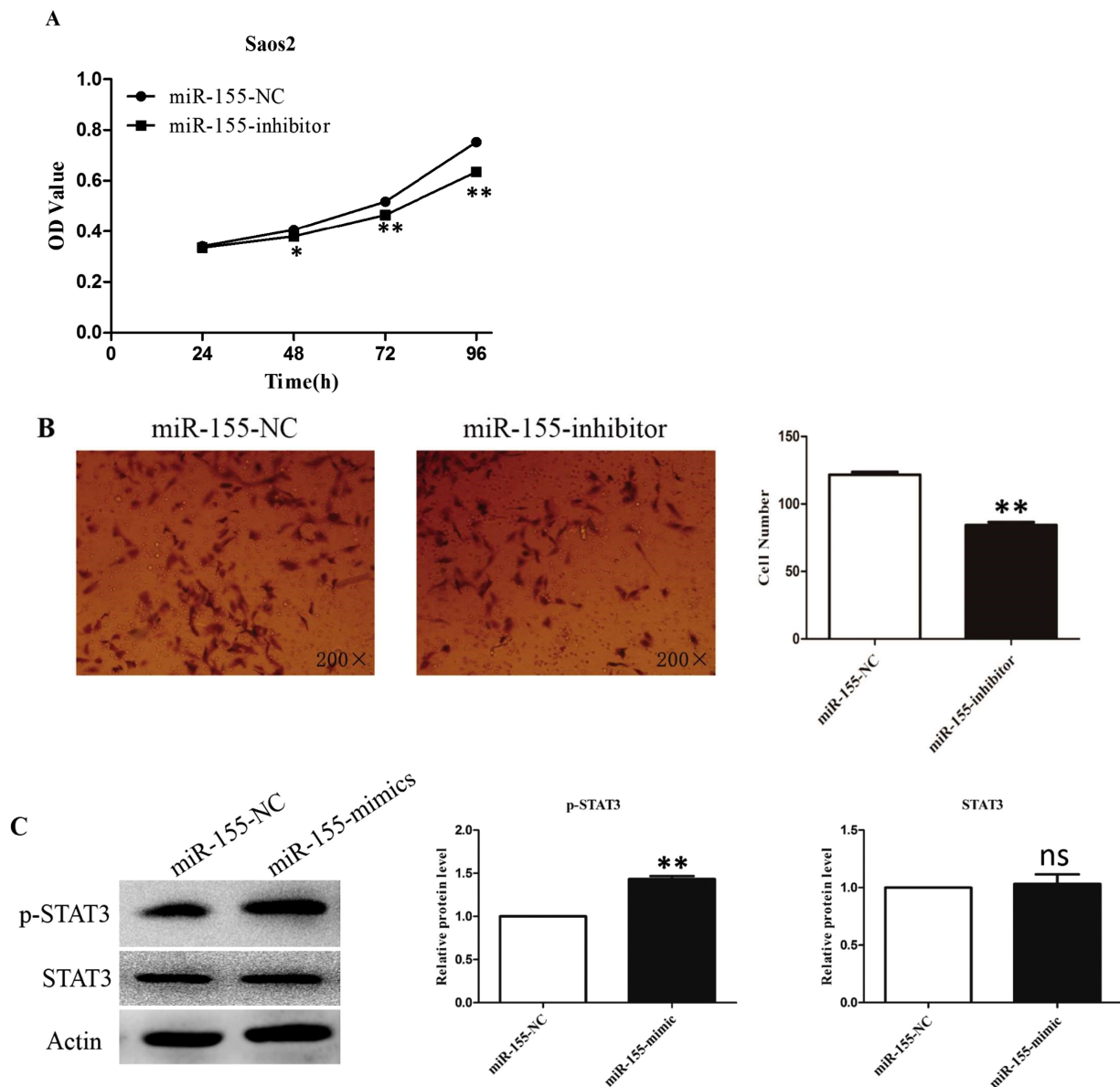


图3 下调 miR-155 的表达对 Saos2 细胞增殖、侵袭和迁移的影响

Fig.3 Effects of downregulated miR-155 on Saos2 cell proliferation, invasion and migration

注: A. CCK-8 实验检测细胞的增殖能力;B. Transwell 实验检测细胞的侵袭能力;C. 划痕实验检测细胞迁移能力。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

Note: A. Detection of cell proliferation using CCK-8 assay. B. Detection of cell invasion ability using Transwell assay.

C. Detection of cell migration ability using wound healing assay. * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

有关 miR-155/SOCS 轴作用于 STAT3 信号通路已在多个肿瘤被报道,miR-155 在胰腺癌组织中高表达,抑制 SOCS1 的表达水平,激活 STAT3 信号通路从而调控胰腺癌细胞的侵袭和迁移^[28]。有研究表明,乳腺癌中 miR-155 高表达,SOCS1 作为其靶基因表达降低,抑制 miR-155 的表达可阻断人乳腺癌细胞中 JAK/STAT3/SOCS1 信号途径^[29]。另外已证实 miR-155 通过 SOCS1/JAK2/STAT3 信号通路诱导肿瘤血管生成^[30]。

本研究结果显示,过表达 miR-155 下调 SOCS1 的蛋白水平,后续通过双荧光素酶报告基因实验进一步明确了 SOCS1 是 miR-155 的直接靶基因。此外,在 SOCS1 蛋白表达下降后,STAT3 的磷酸化水平出现升高。由此得出,骨肉瘤 Saos2 细胞中高表达的 miR-155 可以通过抑制 SOCS1 的表达来激活下游 STAT3 信号通路,进而促进细胞的增殖、迁移和侵袭。

综上所述,本研究证实 miR-155 作为癌基因在骨肉瘤

Saos2 细胞中高表达,且它是通过抑制 SOCS1 表达来激活 STAT3 信号通路进而促进肿瘤的发生发展,为下一步体内实验的进行提供了基础,也为针对 miR-155 为靶点进行骨肉瘤的治疗提供了有效的理论依据。

参考文献(References)

- [1] Lindsey BA, Markel JE, Kleinerman ES. Osteosarcoma Overview[J]. Rheumatol Ther, 2017, 4(1): 25-43
- [2] Bacci G, Longhi A, Bertoni F, et al. Bone metastases in osteosarcoma patients treated with neoadjuvant or adjuvant chemotherapy: the Rizzoli experience in 52 patients [J]. Acta Orthopaed, 2006, 77(6): 938-943
- [3] Yang N, Zhu S, Lv X, et al. MicroRNAs: Pleiotropic Regulators in the Tumor Microenvironment[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2491
- [4] Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, et al. miR-155 gene: A typical

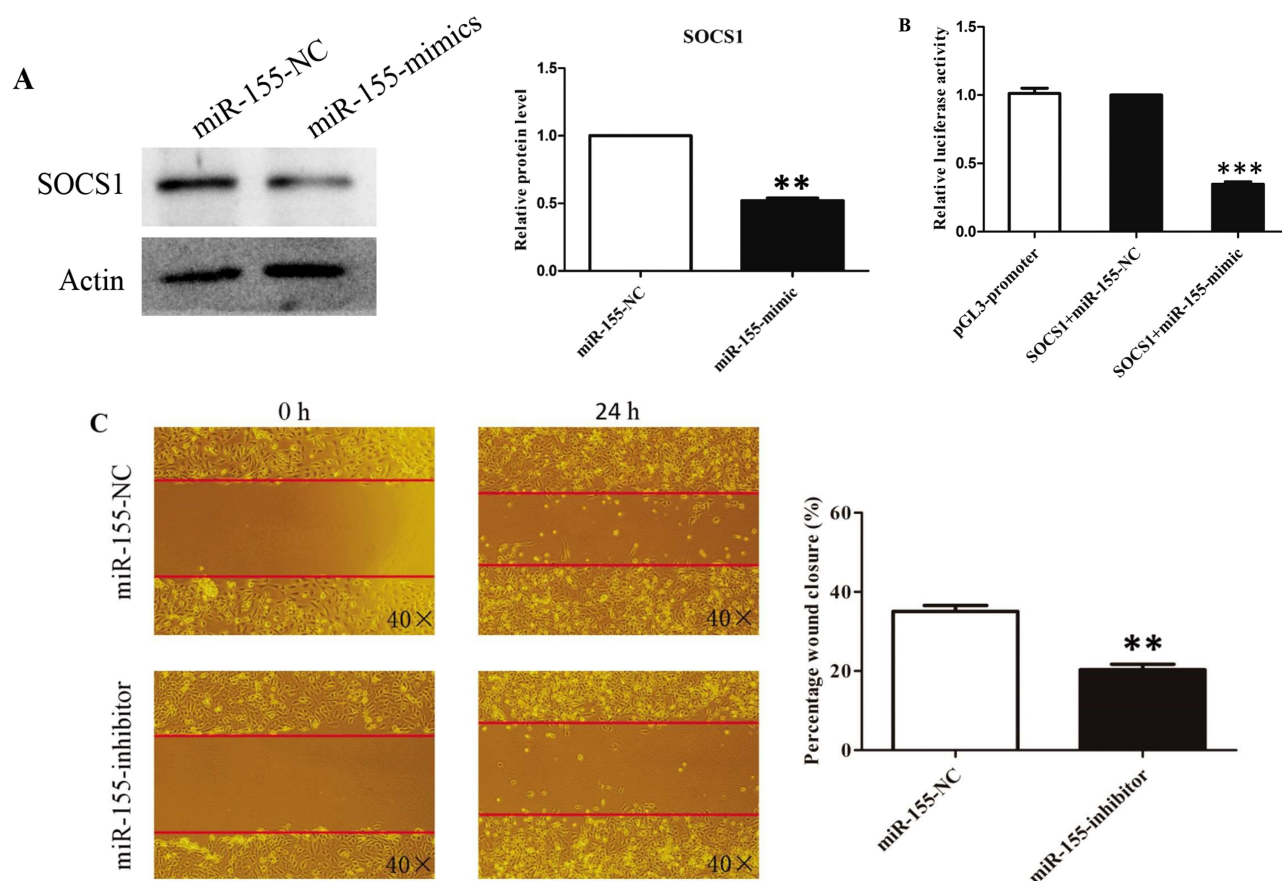


图4 miR-155 的靶基因及下游通路的验证

Fig.4 Verification of target gene and downstream pathway of miR-155

注:A. Western blot 检测 SOCS1 的蛋白水平;B. 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-155 和 SOCS1 关系;

C. Western blot 检测 p-STAT3 的蛋白水平。 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, ns(not significant)无统计学差异。

Note: A. Measurement of SOCS1 protein level using Western blot; B. Evaluation of relationship of between SOCS1 and miR-155 using dual luciferase report gene assay; C. Measurement of p-STAT3 protein level using Western blot. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, ns(not significant).

multifunctional microRNA[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1792(6): 497-505

- [5] 张开亮, 任坤, 张迎龙, 等. miR-155 抑制物对骨肉瘤细胞增殖与凋亡的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(6): 1189-1192
- [6] Neilsen PM, Noll JE, Mattiske S, et al. Mutant p53 drives invasion in breast tumors through up-regulation of miR-155[J]. Oncogene, 2013, 32(24): 2992-3000
- [7] Geller DS and Gorlick R. Osteosarcoma: a review of diagnosis, management, and treatment strategies [J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2010, 8: 705-718
- [8] Luetke A, Meyers PA, Lewis I, et al. Osteosarcoma treatment-where do we stand? A state of the art review[J]. Cancer Treat Rev, 2014, 40: 523-532
- [9] Tam W. Identification and characterization of human BIC, a gene on chromosome 21 that encodes a noncoding RNA [J]. Gene, 2001, 274 (1-2): 157-167
- [10] Brown CY, Dayan S, Wong SW, et al. FOXP3 and miR-155 cooperate to control the invasive potential of human breast cancer cells by down regulating ZEB2 independently of ZEB1 [J]. Oncotarget, 2018, 9(45): 27708-27727
- [11] Khorri V, Alizadeh AM, Gheisary Z, et al. The effects of low-level laser irradiation on breast tumor in mice and the expression of Let-7a,

miR-155, miR-21, miR125, and miR376b [J]. Lasers Med Sci, 2016, 31(9): 1775-1782

- [12] Li Shi-qing, Zhang Tao, Zhou Xiao-qing, et al. The tumor suppressor role of miR-155-5p in gastric cancer [J]. Oncol Lett, 2018, 16(2): 2709-2714
- [13] Ma Z, Ma Y, Xia Q, et al. MicroRNA-155 expression inversely correlates with pathologic stage of gastric cancer and it inhibits gastric cancer cell growth by targeting cyclin D1 [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(6): 1201-1212
- [14] Cuadros M, Sánchez-Martín V, Herrera A, et al. BRG1 regulation by miR-155 in human leukemia and lymphoma cell lines[J]. Clin Transl Oncol, 2017, 19(8): 1010-1017
- [15] Li XD, Li XM, Gu JW, et al. MiR-155 regulates lymphoma cell proliferation and apoptosis through targeting SOCS3/JAK-STAT3 signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(22): 5153-5159
- [16] Papageorgiou SG, Kontos CK, Diamantopoulos MA, et al. MicroRNA-155-5p Overexpression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Chronic Lymphocytic Leukemia Patients Is a Novel, Independent Molecular Biomarker of Poor Prognosis[J]. Dis Markers, 2017, 2017: 2046545

(下转第 1874 页)

- cervical carcinoma[J]. *Eur Radiol*, 2017, 27(6): 2400-2410
- [16] Baron CA, Kate M, Gioia L, et al. Reduction of Diffusion-Weighted Imaging Contrast of Acute Ischemic Stroke at Short Diffusion Times [J]. *Stroke*, 2015, 46(8): 2136-2141
- [17] Chavhan GB, Alsabban Z, Babyn PS. Diffusion-weighted imaging in pediatric body MR imaging: principles, technique, and emerging applications[J]. *Radiographics*, 2014, 34(3): 73-88
- [18] Ichikawa S, Motosugi U, Morisaka H, et al. MRI-based staging of hepatic fibrosis: Comparison of intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging with magnetic resonance elastography[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2015, 42(1): 204-210
- [19] Seo H, Choi J, Oh C, et al. Isotropic diffusion weighting for measurement of a high-resolution apparent diffusion coefficient map using a single radial scan in MRI [J]. *Phys Med Biol*, 2014, 59(20): 6289-6303
- [20] 张娜, 王维青, 武霞. MRI 最小 ADC 值取代平均 ADC 值在宫颈癌诊断及分期中的应用研究[J]. *医学影像学杂志*, 2017, 27(9): 1774-1777
- [21] Liu K, Ma Z, Feng L. Apparent diffusion coefficient as an effective index for the therapeutic efficiency of brain chemoradiotherapy for brain metastases from lung cancer [J]. *BMC Med Imaging*, 2018, 18(1): 30
- [22] LS Beltran, M Samim, S Gyftopoulos, et al. Does the Addition of DWI to Fluid-Sensitive Conventional MRI of the Sacroiliac Joints Improve the Diagnosis of Sacroiliitis? [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2018, 210(6): 1309-1316
- [23] SG Kafali, T Kukur, EU Saritas. Phase-correcting non-local means filtering for diffusion-weighted imaging of the spinal cord [J]. *Magnetic resonance in medicine*, 2018, 80(3): 1020-1035
- [24] Tsukasa Yoshida, Atsushi Urikura, Kensei Shirata, et al. Short tau inversion recovery in breast diffusion-weighted imaging: signal-to-noise ratio and apparent diffusion coefficients using a breast phantom in comparison with spectral attenuated inversion recovery [J]. *La Radiologia medica*, 2018, 123(4): 296-304
- [25] CC Obele, C Glielmi, JReam, et al. Simultaneous Multislice Accelerated Free-Breathing Diffusion-Weighted Imaging of the Liver at 3T[J]. *Abdominal imaging*, 2015, 40(7): 2323-2330
- [26] Anke Wouters, Bastian Cheng, Soren Christensen, et al. Automated DWI analysis can identify patients within the thrombolysis time window of 4.5 hours[J]. *Neurology*, 2018, 90(18): 1570-1577
- [27] Masanori Ozaki, Yusuke Inoue, Tosiaki Miyati, et al. Motion artifact reduction of diffusion-weighted MRI of the liver: use of velocity-compensated diffusion gradients combined with tetrahedral gradients [J]. *Journal of magnetic resonance imaging: JMIR*, 2013, 37(1): 172-178
- [28] Chen L, Zhang J, Chen Y, et al. Relationship between apparent diffusion coefficient and tumour cellularity in lung cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99865
- [29] Bickel H, Pinker-Domenig K, Bogner W, et al. Quantitative apparent diffusion coefficient as a noninvasive imaging biomarker for the differentiation of invasive breast cancer and ductal carcinoma in situ [J]. *Invest Radiol*, 2015, 50(2): 95-100
- [30] 肖胜, 郭涛. 磁共振扩散张量成像在评价以及神经根病变中的作用 [J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2016, 14(3): 51-54

(上接第 1863 页)

- [17] Chen N, Feng L, Qu H, et al. Overexpression of IL-9 induced by STAT3 phosphorylation is mediated by miR-155 and miR-21 in chronic lymphocytic leukemia[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(6): 3064-3072
- [18] Martin EC, Krebs AE, Burks HE, et al. miR-155 induced transcriptome changes in the MCF-7 breast cancer cell line leads to enhanced mitogen activated protein kinase signaling [J]. *Genes Cancer*, 2014, 5(9-10): 353-364
- [19] Qu Ya-jing, Zhang Hai-yang, Sun Wu, et al. MicroRNA-155 promotes gastric cancer growth and invasion by negatively regulating transforming growth factor- β receptor 2[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3): 618-628
- [20] Wang L, Tang B, Han H, et al. miR-155 Affects Osteosarcoma MG-63 Cell Autophagy Induced by Adriamycin Through Regulating PTEN-PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2018, 33(1): 32-38
- [21] Bartel DP: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116: 281-297
- [22] Starr R, Willson TA, Viney EM, et al. A family of cytokine-inducible inhibitors of signaling[J]. *Nature*, 1997, 387(6636): 917-921
- [23] Culig Z. Suppressors of cytokine signalling-3 and -1 in human carcinogenesis[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2013, 5: 277-283
- [24] Elliott J, Hookham MB, Johnston JA. The suppressors of cytokine signalling E3 ligases behave as tumour suppressors [J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(3): 464-468
- [25] Aigner P, Just V, Stoiber D. STAT3 isoforms: Alternative fates in cancer?[J]. *Cytokine*, 2018, pii: S1043-4666(18)30300-4
- [26] Arora L, Kumar AP, Arfuso F, et al. The Role of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) and Its Targeted Inhibition in Hematological Malignancies[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(9)
- [27] Morikawa T, Baba Y, Yamauchi M, et al. STAT-3 expression, molecular features, inflammation patterns, and prognosis in a database of 724 colorectal cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(6): 1452-1462
- [28] Huang C, Li H, Wu W, et al. Regulation of miR-155 affects pancreatic cancer cell invasiveness and migration by modulating the STAT3 signaling pathway through SOCS1 [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(3): 1223-1230
- [29] Lei K, Du W, Lin S, et al. 3B, a novel photosensitizer, inhibits glycolysis and inflammation via miR-155-5p and breaks the JAK/STAT3/SOCS1 feedback loop in human breast cancer cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 82: 141-150
- [30] Zhou X, Yan T, Huang C, et al. Melanoma cell-secreted exosomal miR-155-5p induce proangiogenic switch of cancer-associated fibroblasts via SOCS1/JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 242