

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.14.009

miR-302 通过下调靶基因 RAB22A 抑制膀胱癌进展 *

王 东¹ 付晓亮¹ 舒 涛¹ 杨增悦¹ 徐 冰^{2Δ}

(1 空军军医大学唐都医院 陕西 西安 710038; 2 陕西航天医院 陕西 西安 710025)

摘要 目的:探讨 miR-302 通过靶向调控 RAB22A 影响膀胱癌进展的分子机制。**方法:**采用 RT-qPCR 检测 miR-302 在 HTB1 和 RT112 膀胱癌细胞系和膀胱内皮细胞系 HBdNEC 中的表达;以 miRNA-NC、miR-302 mimic、miR-302 inhibitor 转染细胞,并分为以下几组:NC+control siRNA、miR-302 inhibitor+control siRNA、miR-302 inhibitor+RAB22A siRNA、NC+vector、miR-302 mimic+vector 或 miR-302 mimic+RAB22A,再通过 MTT 实验分析膀胱癌细胞的增殖情况,细胞侵袭实验检测细胞侵袭情况,双荧光素酶报告载体检测分析 miR-302 靶基因,Western blot 检测 RAB22A 在膀胱癌细胞中的表达。**结果:**HTB1 和 RT112 细胞中 miR-302 的表达明显低于 HBdNEC 细胞($P<0.05$)。miR-302 高表达抑制膀胱癌细胞的增殖和侵袭;miR-302 低表达时,膀胱癌细胞的增殖和侵袭能力上升。生物信息学和双荧光素酶报告结果显示 RAB22A 为 miR-302 的靶基因。miR-302 过表达后,细胞荧光素酶活性显著下降($P<0.05$),RAB22A 表达下调($P<0.05$);miR-302 表达沉默后,细胞荧光素酶活性显著上升($P<0.05$),RAB22A 表达上调($P<0.01$)。拯救实验显示 RAB22A 表达沉默可逆转 miR-302 表达沉默时对膀胱癌细胞增殖和侵袭能力上调的影响;而 RAB22A 过表达可逆转 miR-302 过表达对膀胱癌细胞增殖和侵袭的抑制。**结论:**miR-302 可通过抑制靶基因 RAB22A 的表达,抑制膀胱癌细胞的增殖及侵袭。

关键词:膀胱癌;miR-302;RAB22A;细胞侵袭

中图分类号:R-33;R737.14 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)14-2646-06

MiR-302 Inhibits the Progression of Bladder Cancer by downregulating the Target Gene RAB22A*

WANG Dong¹, FU Xiao-liang¹, SHU Tao¹, YANG Zeng-yue¹, XU Bing^{2Δ}

(1 Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Shaanxi Aerospace Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710025, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the molecular mechanism underlying by which miR-302 targeting RAB22A in bladder cancer progression. **Methods:** The expression of miR-302 in the bladder cell lines HTB1 and RT112 and bladder endothelial cell line HBdNEC was detected by RT-qPCR. miRNA-NC, miR-302 mimic and miR-302 inhibitor were transfected into bladder cancer cells, and divided into the following groups: the NC+control siRNA, miR-302 inhibitor+control siRNA, miR-302 inhibitor+RAB22A siRNA, NC+vector, miR-302 mimic+vector or miR-302 mimic+RAB22A, respectively. The proliferation was detected by MMT assay, and the invasion was detected by Transwell assay. The dual luciferase reporter assay was performed to verify the target gene of miR-302. And the protein expression of RAB22A in bladder cancer cells was detected by Western blot. **Results:** The expression of miR-302 in HTB1 and RT112 cells was significantly lower than that in HBdNEC cells. The proliferation and invasion of bladder cancer cells was inhibited by the overexpression of miR-302; While the proliferation and invasion of bladder cancer cells were increased when the expression of miR-302 was silenced. Bioinformatics and dual luciferase reporter results showed that RAB22A was the target gene of miR-302. The activity of cell luciferase and the expression of RAB22A were significantly decreased when miR-302 was overexpressed. However, the activity of cell luciferase and the expression of RAB22A were significantly increased when miR-302 was silenced. The rescue experiments showed that knockdown of RAB22A reversed the increased proliferation and invasion abilities of bladder cancer cells induced by miR-302 inhibitor. Overexpression of RAB22A reversed the inhibition on the proliferation and invasion of bladder cancer cells when miR-302 was overexpressed. **Conclusions:** miR-302 inhibits the proliferation and invasion of bladder cancer cells by inhibiting the expression of target gene RAB22A.

Key words: Bladder cancer; miR-302; RAB22A; Cell invasion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.14 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)14-2646-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81700666)

作者简介:王东(1989-),男,硕士,主治医师,研究方向:泌尿系疾病微创治疗,电话:13679296887, E-mail: wangdongtangdu@163.com

Δ 通讯作者:徐冰(1979-),男,本科,主治医师,研究方向:泌尿生殖系肿瘤, E-mail: xubingonghui@163.com

(收稿日期:2018-11-28 接受日期:2018-12-23)

前言

膀胱癌属于泌尿系统的恶性肿瘤,在我国是发病率最高的泌尿生殖系统肿瘤,该病的死亡率也非常高。膀胱癌的引发因素复杂多样,主要包括性激素及性激素受体、病毒、饮酒、吸烟以及体内缺乏微量元素等,发生机制主要包括致癌基因活性上调、抑癌或细胞凋亡相关基因活性下调或丧失等^[1]。膀胱癌细胞容易发生转移和侵袭,因此易复发,也增加了膀胱癌的治疗难度。

目前的研究表明特定的 miRNAs 的异常表达可能参与调控膀胱癌变过程。Catto 等^[2]报道在膀胱癌组织和细胞中有 16 种 miRNAs 表达异常;此后,Chen 等^[3]报道显示在膀胱癌细胞中有 41 种 miRNAs 表达显著上调,33 种 miRNAs 表达显著下调;越来越多的研究显示在膀胱癌组织中,miR-125、miR-143、miR-145 以及 miR-490-5p 的表达显著下调^[4-8]。目前研究显示 miR-302 参与胃癌^[9,10]、子宫内膜癌^[11,12]、结直肠癌及黑色素瘤^[13]等癌症的发生发展,而其与膀胱癌关系的相关性尚不完全明确。本研究结果显示膀胱癌细胞中 miR-302 的表达异常下调,在此基础上通过分析 miR-302 潜在靶基因及采用分子生物学等方法研究 miR-302 在膀胱癌进展中的调控作用,旨在为膀胱癌的治疗及诊断提供更有价值的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

膀胱癌细胞 RT112、HTB1 及膀胱内皮细胞均于上海生工公司采购。于上海吉玛制药技术有限公司合成 miR-302、RAB22A、GAPDH、U6 等引物以及 siRAB22A、miR-302 mimic、miRNA-NC、miR-302 inhibitor。于美国 Invitrogen 公司购买 Lipofectamine2000 脂质体、Trizol、胎牛血清、McCoy's 培养基和 1640 培养基等。

1.2 细胞培养

以 HTB1、RT112 膀胱癌细胞和膀胱内皮细胞为研究模型进行研究。利用 1640 培养基培养 RT112 细胞,McCoy's 培养基培养 HTB1 细胞,细胞中均含 10% 胎牛血清和 100 $\mu\text{mol/L}$ 青霉素及链霉素。将细胞置于 5% CO_2 恒温箱中 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养,培养结束后选取生长状态较好的细胞应用于后续实验。

1.3 细胞转染

利用 Lipofectamine2000 脂质体将 siRAB22A、miR-302 mimic、miRNA-NC、miR-302 inhibitor 分别转染至 RT112 或 HTB1 细胞系中,正常细胞培养 24 h,结束培养后利用 RT-qPCR 检测细胞转染效率。

1.4 细胞总 RNA 提取

将培养的细胞收集于无菌干净的 RNase free EP 管中,管中加入 1 ml Trizol 试剂,剧烈震荡,再加入 0.2 mL 氯仿并完全混合均匀,静置 1 min 后于低温高速离心机中 13000 rpm 离心 15 min,分离出上清液转移至新的 EP 管中,向其中加入 1/2 上清液体积的异丙醇,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中静置 10 min,再于低温高速离心机中 13000 rpm 离心 10 min,弃去上清,随后利用 75% 浓度的乙醇洗涤沉淀两次,洗涤完毕于超净工作台中风干,利用 30 μL RNase-free 水溶解沉淀。利用超微量分光光度计检测 RNA 质量。

1.5 反转录及实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)

根据 M-MLV 试剂盒说明书进行反转录,并检测反转录质量。利用 miScript 和 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒根据说明书分别检测 miRNA 或 mRNA 表达水平。

1.6 细胞增殖(MTT)实验

利用胰蛋白酶将培养的细胞酶解为单细胞,随后将单细胞液转接至 96 孔检测板中,正常细胞培养条件下继续培养 48 h,培养结束于全自动荧光酶标仪中检测细胞液于 490 nm 处的吸光值,记录检测数据并绘制细胞生长曲线。一定范围内,OD 值越大,细胞数越多。

1.7 细胞侵袭实验

于 24 孔板中培养待检测细胞过夜,直至细胞融合度约为 70%,转染细胞,随后于细胞培养板中放置孔径为 8 μm 的 PET 膜小室,将稀释 8 倍的 Matrigel 胶均匀涂布于该小室中底部,200 μL 无菌血清培养基重悬待检测细胞,并于转移至培养室上孔中,利用完全培养基作为趋化物置于下孔板中,正常细胞培养条件培养 24 h,将未发生侵袭的细胞擦除,并用 0.1% 结晶紫溶液染色,于光学显微镜下检测并记录实验结果。

1.8 结合位点预测

利用 microRNA.org-Targets and Expression (<http://34.236.212.39/microrna/microrna/getGeneForm.do>) 以及 Target Scan Human 7.1 (http://www.targetscan.org/vert_71/) 在线预测 miR-302 的靶向基因,分析记录 miR-302 与靶基因的结合位点。

1.9 双荧光酶报告检测

构建 RAB22A 基因 mRNA miR-302 预测结合位点序列或结合位点突变序列,并将其构建至 pmirGLO 报告载体中。利用 DharmFECT Duo 试剂将 miRNA-NC、miR-3188 mimic 或 miR-3188 inhibitor 与所构建的 pmirGLO 报告载体分别转染膀胱癌细胞,正常培养 48 h,培养结束后利用 Dual-Glo Luciferase 系统检测分析实验结果。

1.10 蛋白提取定量及 Western blot 检测

收集培养的待检测细胞,向其中加入 RIPA 试剂裂解细胞,震荡混匀后于冰上静置 20 min,于低温高速离心机中 13000 rpm 离心 20 min,分离出上清液并转移至新的收集管中。根据 BCA 方法检测分析蛋白液浓度,并用 Western blot 检测分析目的蛋白的表达水平。向待检测蛋白液中加入加样缓冲液,100 $^{\circ}\text{C}$ 加热变性;SDS-PAGE 法于 80V 恒压电泳分离蛋白;于转移缓冲液中用 200 mA 恒流将目的蛋白转移至醋酸纤维素膜;利用 TBST 配置 5% 脱脂奶粉封闭液,转膜结束后加入封闭液室温处理 1 h,并将 RAB22A 一抗稀释 500 倍后进行孵育,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜孵育;利用 TBST 溶液将膜清洗 3 次,每次清洗 5 min;将羊抗兔二抗稀释 1000 倍后进行孵育,室温孵育 1 h,随后利用 TBST 再次清洗 3 次,每次清洗 5 min;利用 ECL 显影液显影拍照并记录实验结果,内参为 GAPDH。

1.11 统计学分析

本研究结果均以平均值 $\pm$ 标准差表示,采用 SPSS19.0 进行统计学分析,数据差异统计分析利用单因素方差分析(ANOVA)和 Student's t 检验。以 P 值小于 0.05 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-302 在膀胱内皮细胞与膀胱癌细胞中的表达

首先,采用 RT-qPCR 检测膀胱癌细胞系中 miR-302 的表达。结果显示(图 1):与膀胱正常内皮细胞系 HBdMEC 相比,HTB1 和 RT112 细胞系中 miR-302 的表达水平明显下调($P<0.05$)。

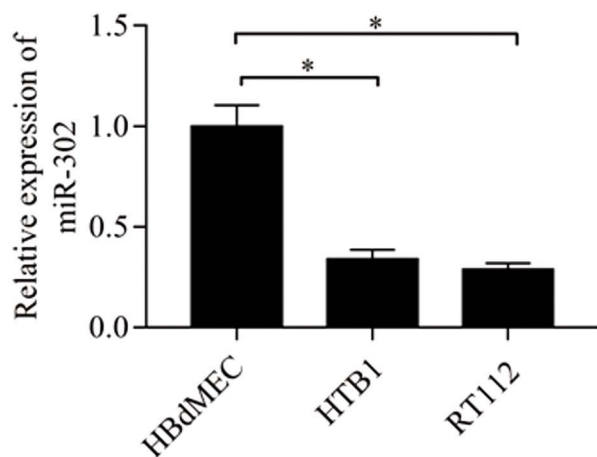


图 1 miR-302 在膀胱癌细胞和膀胱内皮细胞中的相对表达

Fig.1 Relative expression of miR-302 in bladder cancer cells and bladder endothelial cells

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

2.2 miR-302 的表达改变对膀胱癌细胞增殖和侵袭的影响

为了深入了解 miR-302 是否参与膀胱癌的发生发展及在该过程中的生物学作用,本研究以 HTB1 和 RT112 细胞系为研究模型,利用 NC、miR-302 mimic 或 miR-302 inhibitor 分别转染 HTB1 或 RT112 细胞,分析 miR-302 的表达改变在膀胱癌细胞增殖和侵袭中的作用。首先,采用 RT-qPCR 检测细胞转染后 miR-302 的表达,结果显示(图 2A):与 NC 转染组相比,miR-302 mimic 转染组 HTB1 和 RT112 细胞中 miR-302 表达都显著上调($P<0.01$),miR-302 inhibitor 转染组细胞中 miR-302 表达显著下调($P<0.05$)。MTT 实验检测结果显示(图 2B):与 NC 转染组相比,miR-302 mimic 转染组细胞的吸光值都显著上升($P<0.05$),miR-302 inhibitor 转染组细胞的增殖能力都明显下降($P<0.01$)。细胞侵袭实验显示(图 2C、D):miR-302 mimic 转染组细胞侵袭数量明显低于 NC 组($P<0.05$),miR-302 inhibitor 转染组细胞侵袭数量明显高于 NC inhibitor 组($P<0.01$)。上述结果提示 miR-302 在膀胱癌细胞中表达上调时,细胞增殖和侵袭能力都显著下调;而表达下调时,细胞增殖和侵袭能力显著上调。

2.3 miR-302 靶向调控 RAB22A 的表达

利用生物信息学预测分析 miR-302 靶向调控基因以及结合位点,结果显示(图 3A)在 RAB22A mRNA 的 3'-末端具有 miR-302 的结合位点。构建 RAB22A mRNA 3'-UTR 野生型和

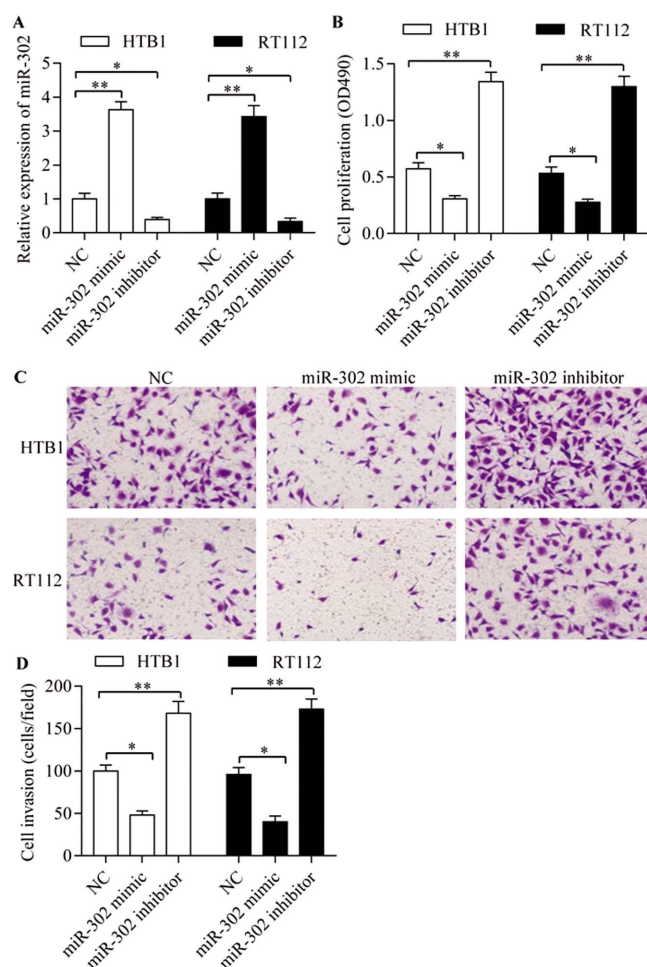


图 2 miR-302 的表达改变对膀胱癌细胞增殖和侵袭的影响

Fig.2 Effect of the changes of miR-302 expression on the proliferation and invasion of bladder cancer cells

Note: $*P<0.05$, $**P<0.01$, compared with the NC group.

突变型荧光报告酶载体,验证其是否受 miR-302 直接调控。结果显示(图 3B、C):在 RAB22A mRNA 3'-UTR 野生型荧光报告酶载体转染细胞中,与 NC 转染组相比,当 miR-302 mimic 转染细胞时,细胞荧光酶活性显著下降($P<0.05$),当 miR-302

inhibitor 转染细胞时,细胞荧光酶活性显著上升($P<0.05$);而当 RAB22A mRNA 3'-UTR 突变型荧光素酶报告载体转染细胞时,细胞中荧光酶活性无显著变化。

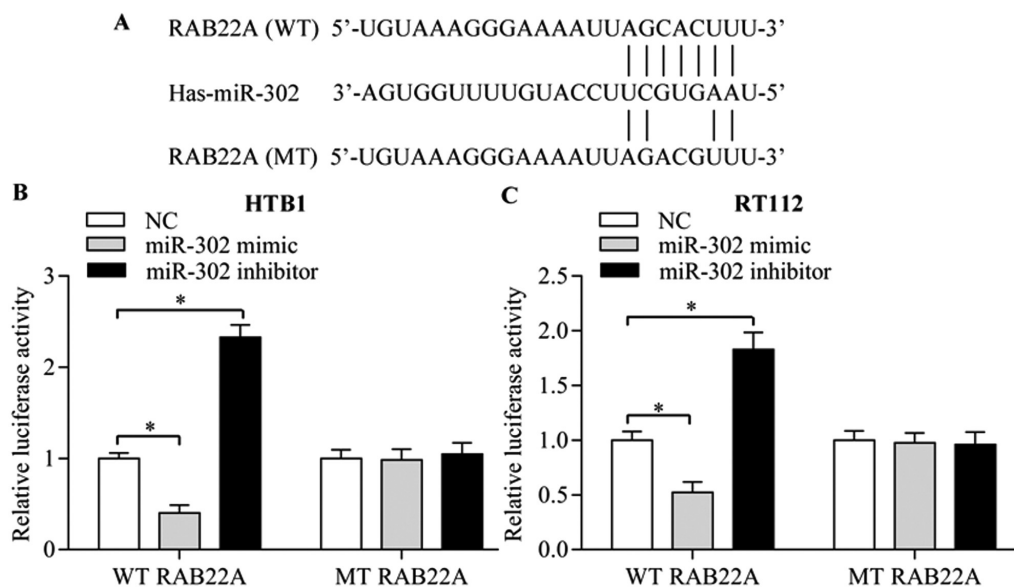


图 3 miR-302 调控 RAB22A WT-3'UTR 和 MT-3'UTR 双荧光酶报告载体荧光活性

Fig.3 miR-302 regulates the activity of RAB22A WT-3'UTR and MT-3'UTR Dual-Luciferase reporter vector

Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with group NC.

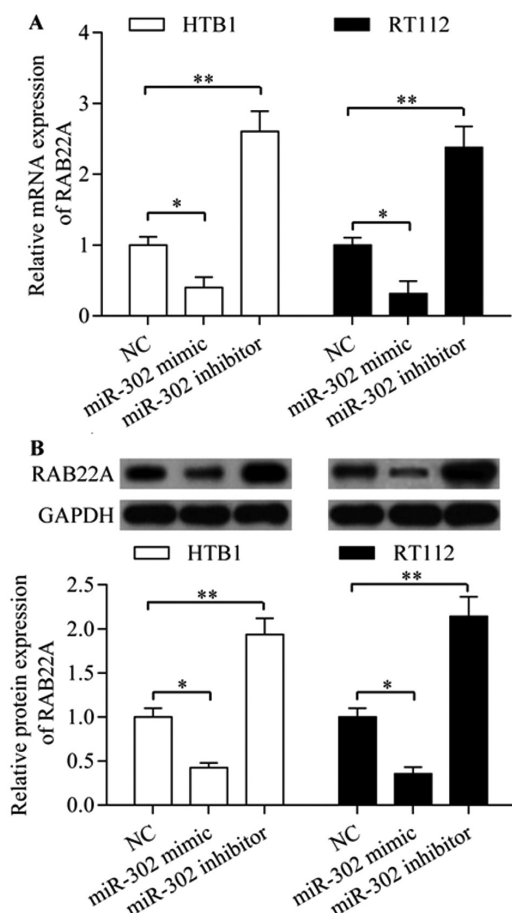


图 4 miR-302 调控 RAB22A 的表达

Fig.4 miR-302 regulates the expression of RAB22A

Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with group NC.

采用 RT-qPCR 和 Western blot 进一步 miR-302 对 RAB22A 的调控。结果显示(图 4),与 NC 转染相比,miR-302 mimic 转染膀胱癌细胞时,RAB22A 的表达水平显著下降($P<0.05$),miR-302 inhibitor 转染细胞时,RAB22A 表达水平显著升高($P<0.01$)。

2.4 RAB22A 逆转 miR-302 对膀胱癌的影响

利用拯救实验验证 miR-302 通过靶向调控 RAB22A 表达调控膀胱癌增殖和侵袭。首先采用 NC +control siRNA、miR-302 inhibitor +control siRNA 或 miR-302 inhibitor +RAB22A siRNA 分别转染膀胱癌细胞。结果显示(图 5):与 NC +control siRNA 组相比,miR-302 inhibitor +control siRNA 转染细胞时,RAB22A 蛋白表达水平显著上调($P<0.05$),同时细胞增殖和侵袭能力显著上升($P<0.05$);与 miR-302 inhibitor +control siRNA 转染相比,miR-302 inhibitor +RAB22A siRNA 转染细胞时,miR-302 表达沉默引起的 RAB22A 蛋白表达水平上调则得以逆转,并且细胞增殖和侵袭能力的上调也得以逆转($P<0.05$)。

再采用 NC+ vector、miR-302 mimic +vector 或 miR-302 mimic +RAB22A 分别转染膀胱癌细胞。与 NC+ vector 转染相比,当 miR-302 mimic +vector 转染细胞时,RAB22A 蛋白表达水平显著下调,细胞增殖和侵袭能力显著下降;与 miR-302 mimic +vector 转染相比,当 miR-302 mimic +RAB22A 转染细胞时,miR-302 过表达对 RAB22A 蛋白表达水平的抑制得以逆转,同时 miR-302 过表达对细胞增殖和侵袭能力的抑制作用也得以逆转(图 6)。

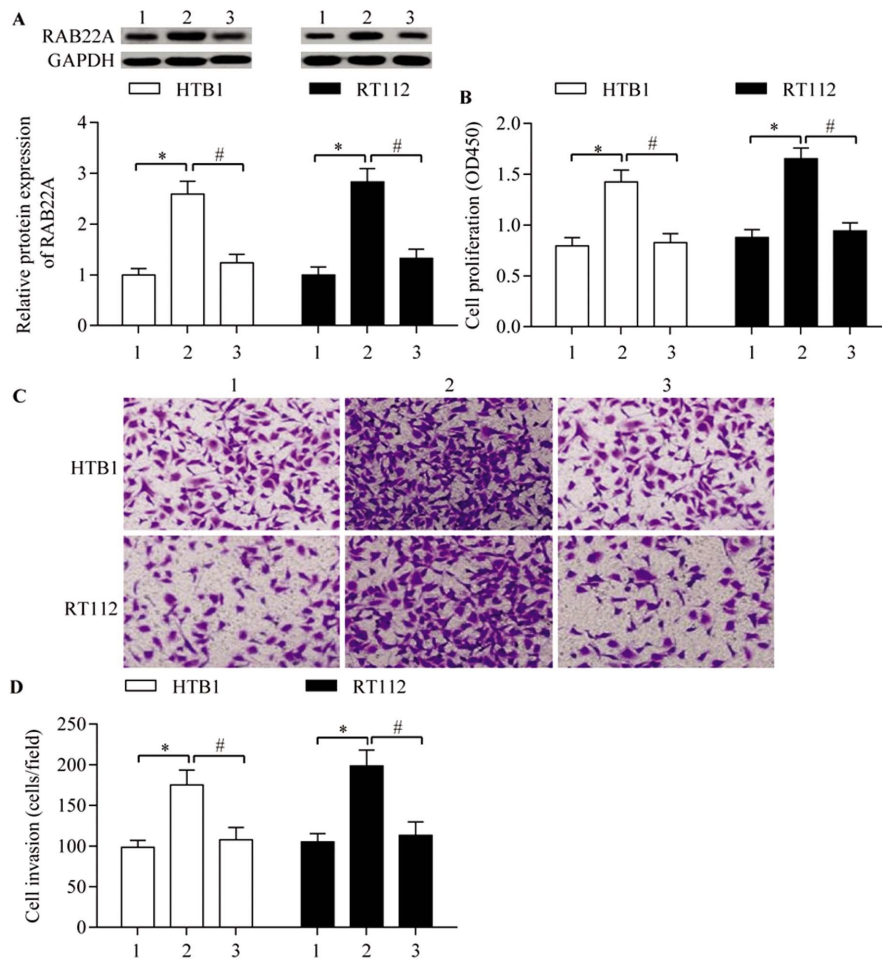


图 5 RAB22A 敲除逆转 miR-302 沉默对膀胱癌进程的促进作用

Fig.5 Knockdown of RAB22A reverses the enhance on the bladder cancer progression of miR-302 silence

Note: 1, NC +control siRNA; 2, miR-302 inhibitor +control siRNA; 3, miR-302 inhibitor +RAB22A siRNA. * $P < 0.05$, # $P < 0.05$, compared with group miR-302 inhibitor +control siRNA.

3 讨论

近年来越来越多的研究显示 miRNAs 在人细胞生命活动中发挥非常重要的调控作用,并且参与调控多种多样的信号转导途径,其中包括较多参与人类疾病发生发展的信号途径。在细胞中,miRNAs 通常通过调控功能基因的表达影响信号途径的活性,从而发挥调控细胞生命活动的作用。有研究显示 miRNAs 可能参与多种肿瘤的发生发展,在不同的肿瘤细胞中,某些特定的 miRNAs 表达水平发生显著变化,例如 miR-26、miR-221 及 miR-223 等在膀胱癌细胞中的表达水平异常上调^[14];在肾透明细胞癌中,miR-21 的表达水平也呈现显著异常现象^[15];另有报道显示在前列腺癌细胞中,let7c 和 miR-30c 的表达水平显著下降,而 miR-622 的表达水平则显著上调^[16]。目前尚未有报道显示 miR-302 在膀胱癌发生发展过程中毒额作用,本研究结果显示膀胱癌细胞 miR-302 的表达显著下降,提示其可能参与了膀胱癌的发生和发展。

Yan 等^[12]研究显示 miR-302 可抑制子宫内膜癌细胞系的增殖和侵袭,抑制细胞由 G2 期向 M 期转变。另外,miR-302 可抑制 Ishikawa 癌细胞移植而引起免疫缺陷小鼠的致癌作用;在子宫内膜癌细胞系中,miR-302 可抑制 CDK1 和 Cyclin D1 的

表达,并且直接靶向调控 Cyclin D1 表达。Ma 等^[9]研究显示 miR-302 在胃癌组织和细胞中表达显著下调,当患者胃癌细胞中 miR-302 表达水平较低时易发生淋巴结转移,表达水平越低 TNM 分级越高,癌细胞侵袭能力越强,患者胃癌细胞中 miR-302 表达水平越低,整体生存时间越短。Maadi 等^[13]研究显示 miR-302 通过调控信号通路活性调控黑色素瘤和直肠癌细胞的增殖、肿瘤组织血管再生和细胞侵袭,并可以抑制上皮细胞向间质性细胞转变。Khodayari 等^[15]报道 miR-302 可调控胚胎干细胞分化,并且在恶性胸膜间皮瘤细胞中 miR-302 表达显著下降,miR-302 可靶向调控 Mcl-1 表达,当在恶性胸膜间皮瘤细胞中过表达时可抑制细胞增殖,并诱导细胞凋亡。Wang 等^[14]报道 miR-302 在乳腺癌细胞中表达下调,miR-302 在其中表达上调时可靶向抑制 BCRP 表达,并增加乳腺癌细胞对药物的敏感性。本研究显示 miR-302 在膀胱癌细胞系中的表达水平显著下调,其过表达可显著抑制膀胱癌细胞的增殖和侵袭,而 miR-302 表达沉默时膀胱癌细胞的增殖和侵袭能力显著增强。在细胞中,miRNAs 通常通过靶向调控功能基因影响细胞各种生命活动,本研究采用生物信息学和双荧光素酶报告载体验证显示在膀胱癌细胞中 miR-302 可直接靶向抑制 RAB22A 表达。Zhou 等^[17]研究显示 RAB22A 在肺癌细胞中过表达,当其在

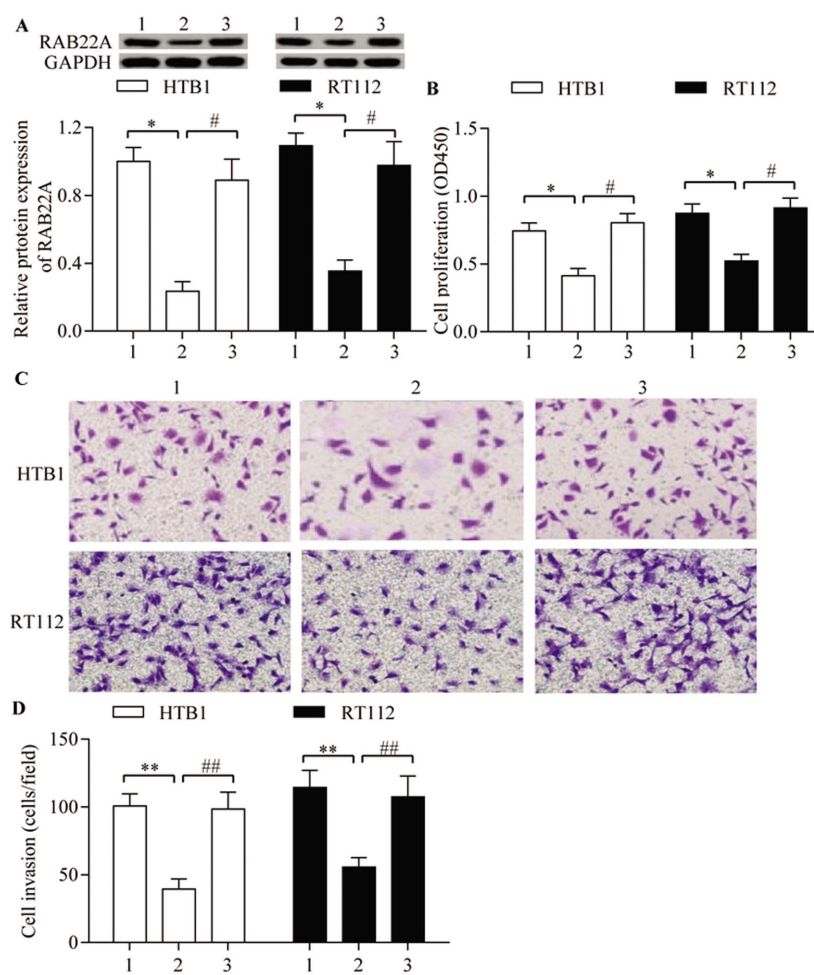


图6 RAB22A 过表达逆转 miR-302 过表达对膀胱癌进程的抑制作用

Fig.6 Overexpression of RAB22A reverses the inhibition on bladder cancer progression of miR-302 overexpression

Note: 1, NC+ vector; 2, miR-302 mimic + vector; 3, miR-302 mimic + RAB22A. ** $P < 0.01$, ## $P < 0.01$, compared with group miR-302 mimic+ vector.

肺癌细胞中表达沉默时细胞迁移和侵袭能力被抑制;在肺癌细胞中 RAB22A 与 CD147 互作,RAB22A 表达沉默时,CD147 表达水平也显著下降。Su 等^[18]报道 RAB22A 在黑色素瘤组织和细胞中表达显著上调,并且患者组织中 RAB22A 表达水平越高生存时间越短,在转移性黑色素瘤组织中 RAB22A 表达水平显著上调;当 RAB22A 表达沉默时,黑色素瘤细胞的增殖和侵袭能力显著下降。Yu 等^[19]报道在黑色素瘤细胞中,RAB22A 受 miR-211 直接靶向调控,DNMT1 可通过调控表达 miR-211 的 DNA 启动子甲基化影响其表达水平,DNMT1 在黑色素瘤细胞中表达上调并抑制 miR-211 表达,从而促进 RAB22A 表达,以此调控黑色素瘤细胞的上皮-间质转化,并影响细胞的增殖和侵袭。Xiong 等^[20]报道 miR-204 参与调控肾透明细胞癌进展,在肾透明细胞癌中 miR-204 直接靶向调控 RAB22A,当 miR-204 高表达时可抑制肾透明细胞癌增殖和侵袭;当 RAB22A 过表达时可逆转 miR-204 对肾透明细胞癌进展的抑制作用。

本研究结果表明 miR-302 过表达可抑制 RAB22A 在膀胱癌细胞系中的表达,而 miR-302 表达沉默时 RAB22A 表达水平显著上调。拯救实验显示 RAB22A 表达沉默可逆转 miR-302 表达沉默时膀胱癌细胞增殖和侵袭能力的上调,并且 RAB22A 过表达可逆转 miR-302 过表达时对膀胱癌细胞增殖和侵袭能力的抑制作用。因此,miR-302 可通过靶向抑制 RAB22A 表达

抑制膀胱癌进展,这为膀胱癌发病机制及其治疗的研究提供了重要的理论基础。

参考文献(References)

- [1] 任维果, 边家盛. 膀胱癌的非职业相关因素研究进展 [J]. 山东医药, 2007, 47(7): 83-84
- [2] Catto JW, Miah S, Owen HC, et al. Distinct microRNA alterations characterize high- and low-grade bladder cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(21): 8472-8481
- [3] Chen YH, Wang SQ, Wu XL, et al. Characterization of microRNAs expression profiling in one group of Chinese urothelial cell carcinoma identified by Solexa sequencing[J]. Urol Oncol, 2013, 31(2): 219-227
- [4] Pospisilova S, Pazourkova E, Horinek A, et al. MicroRNAs in urine supernatant as potential non-invasive markers for bladder cancer detection[J]. Neoplasma, 2016, 63(5): 799-808
- [5] Xie Y, Ma X, Chen L, et al. MicroRNAs with prognostic significance in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 5619-5631
- [6] Inamoto T, Uehara H, Akao Y, et al. A Panel of MicroRNA Signature as a Tool for Predicting Survival of Patients with Urothelial Carcinoma of the Bladder[J]. Dis Markers, 2018, 2018: 5468672-5468678
- [7] Mearini E, Poli G, Cochetti G, et al. Expression of urinary miRNAs targeting NLRs inflammasomes in bladder cancer [J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 2665-2673

(下转第 2608 页)

- Polonica, 2012, 59(4): 467-474
- [21] Kinugasa Y, Matsui T, Takakura N. CD44 Expressed on Cancer-Associated Fibroblasts Is a Functional Molecule Supporting the Stemness and Drug Resistance of Malignant Cancer Cells in the Tumor Microenvironment[J]. STEM CELLS, 2014, 32(1): 145-156
- [22] Morath I, TN. Hartmann, V Orian-Rousseau. CD44: More than a mere stem cell marker. Int J Biochem Cell Biol [J]. 2016, 81 (Pt A): 166-173
- [23] Kinugasa Y T, Matsui N, Takakura. CD44 Expressed on Cancer-Associated Fibroblasts Is a Functional Molecule Supporting the Stemness and Drug Resistance of Malignant Cancer Cells in the Tumor Microenvironment[J]. STEM CELLS, 2014, 32(1): 145-156
- [24] Buchheit C L, Weigel K J, Schafer Z T. Cancer cell survival during detachment from the ECM: multiple barriers to tumor progression[J]. Nature Reviews Cancer, 2014, 14(9): 632-641
- [25] Fu Y, Feng M X, Yu J, et al. DNA methylation-mediated silencing of matricellular protein dermatopontin promotes hepatocellular carcinoma metastasis by $\alpha 3\beta 1$ integrin-Rho GTPase signaling [J]. Oncotarget, 2014, 5(16): 6701-6715
- [26] Tieche CC. Tumor Initiation Capacity and Therapy Resistance Are Differential Features of EMT-Related Subpopulations in the NSCLC Cell Line A549[J]. Neoplasia, 2019, 21(2): 185-196
- [27] Liu X Q, Song W J, Sun T M, et al. Targeted Delivery of Antisense Inhibitor of miRNA for Antiangiogenesis Therapy Using cRGD-Functionalized Nanoparticles [J]. Molecular Pharmaceutics, 2011, 8(1): 250-259
- [28] Ngo K X, Umakoshi H, Shimanouchi T, et al. Chitosanase displayed on liposome can increase its activity and stability [J]. Journal of Biotechnology, 2010, 146(3): 105-113
- [29] Li S D, Huang L. Surface-modified LPD nanoparticles for tumor targeting[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1082(1): 1-8
- [30] Pasut G, FM. Veronese. PEG conjugates in clinical development or use as anticancer agents: An overview [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2009, 61(13): 1177-1188
- [31] Kokko L L, Hurme S, Maula S M, et al. Significance of site-specific prognosis of cancer stem cell marker CD44 in head and neck squamous-cell carcinoma[J]. Oral Oncology, 2011, 47(6): 510-516
- [32] Parayath N N, Parikh A, Amiji M M. Repolarization of Tumor-Associated Macrophages in a Genetically Engineered Nonsmall Cell Lung Cancer Model by Intraperitoneal Administration of Hyaluronic Acid-Based Nanoparticles Encapsulating MicroRNA-125b [J]. Nano Letters, 2018, 18(6): 3571-3579

(上接第 2651 页)

- [8] Wei Y, He R, Wu Y, et al. Comprehensive investigation of aberrant microRNA profiling in bladder cancer tissues[J]. Tumour Biol, 2016, 37(9): 12555-12569
- [9] Ma G, Li Q, Dai W, et al. Prognostic Implications of miR-302a/b/c/d in Human Gastric Cancer[J]. Pathol Oncol Res, 2017, 23(4): 899-905
- [10] Chen L, Min L, Wang X, et al. Loss of RACK1 Promotes Metastasis of Gastric Cancer by Inducing a miR-302c/IL8 Signaling Loop [J]. Cancer Res, 2015, 75(18): 3832-3841
- [11] Li Y, Huo J, Pan X, et al. MicroRNA 302b-3p/302c-3p/302d-3p inhibits epithelial-mesenchymal transition and promotes apoptosis in human endometrial carcinoma cells[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 1275-1284
- [12] Yan GJ, Yu F, Wang B, et al. MicroRNA miR-302 inhibits the tumorigenicity of endometrial cancer cells by suppression of Cyclin D1 and CDK1[J]. Cancer Lett, 2014, 345(1): 39-47
- [13] Maadi H, Moshtaghian A, Taha MF, et al. Multimodal tumor suppression by miR-302 cluster in melanoma and colon cancer [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2016, 81(Pt A): 121-132
- [14] Gottardo F, Liu CG, Ferracin M, et al. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers[J]. Urol Oncol, 2007, 25(5): 387-392
- [15] Khodayari N, Mohammed KA, Lee H, et al. MicroRNA-302b targets Mcl-1 and inhibits cell proliferation and induces apoptosis in malignant pleural mesothelioma cells [J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(9): 1996-2009
- [16] Wang Y, Zhao L, Xiao Q, et al. miR-302a/b/c/d cooperatively inhibit BCRP expression to increase drug sensitivity in breast cancer cells[J]. Gynecol Oncol, 2016, 141(3): 592-601
- [17] Zhou Y, Wu B, Li JH, et al. Rab22a enhances CD147 recycling and is required for lung cancer cell migration and invasion[J]. Exp Cell Res, 2017, 357(1): 9-16
- [18] Su F, Chen Y, Zhu S, et al. RAB22A overexpression promotes the tumor growth of melanoma[J]. Oncotarget, 2016, 7(44): 71744-71753
- [19] Yu H, Yang W. MiR-211 is epigenetically regulated by DNMT1 mediated methylation and inhibits EMT of melanoma cells by targeting RAB22A[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 476(4): 400-405
- [20] Xiong F, Liu K, Zhang F, et al. MiR-204 inhibits the proliferation and invasion of renal cell carcinoma by inhibiting RAB22A expression[J]. Oncol Rep, 2016, 35(5): 3000-3008