

过表达miR-607通过下调TRPC5表达抑制肝细胞癌的生长和转移

李超¹, 陈双江^{2,3}, 姜业臻^{3,4}

¹清华大学附属北京清华长庚医院肝胆胰外科, 北京 102218; ²安康市人民医院普通外科, 陕西 安康 725000; ³西安交通大学第一附属医院肝胆外科, 陕西 西安 710061; ⁴通用环球西安北环医院普通外科, 陕西 西安 710032

摘要:目的 研究miR-607异常表达在肝细胞癌(HCC)中的临床意义及对肝癌细胞生长转移的影响。方法 荧光定量PCR检测45对HCC及癌旁组织中miR-607表达,分析miR-607表达与患者临床病理特征间的相关性。通过转染miR-607 mimics提高HCC细胞(Huh-7和HCCLM3)内miR-607的表达水平。采用CCK-8、流式细胞仪、划痕愈合实验及transwell小室模型分别检测过表达miR-607对HCC细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响。双荧光素酶报告基因系统检测miR-607是否与潜在靶点TRPC5的mRNA 3'-非翻译区直接结合。Western blot检测过表达miR-607对HCC细胞内TRPC5、CCND1、MMP2表达及Akt磷酸化的影响。结果 miR-607在HCC组织及HCC细胞中的表达水平均降低($P<0.05$);miR-607低表达与肿瘤直径 >5 cm、血管侵犯及较晚TNM分期(III+IV)密切相关($P<0.05$)。过表达miR-607抑制HCC细胞增殖、迁移、侵袭并诱导细胞凋亡($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因系统证实miR-607与TRPC5 mRNA 3'-非翻译区直接结合($P<0.05$)。过表达miR-607抑制HCC细胞内TRPC5、CCND1及MMP2表达并下调Akt的磷酸化水平($P<0.05$)。结论 miR-607低表达与肝细胞癌恶性临床特征密切相关,miR-607可能通过下调TRPC5表达进而抑制Akt通路激活来发挥抗HCC生长转移作用。

关键词:miR-607;肝细胞癌;TRPC5;Akt通路;转移

Overexpression of miR-607 inhibits hepatocellular carcinoma cell growth and metastasis by down-regulating TRPC5

LI Chao¹, CHEN Shuangjiang^{2,3}, JIANG Yezhen^{3,4}

¹Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, Tsinghua University, Beijing 102218, China; ²Department of General Surgery, Ankang People's Hospital, Ankang 725000, China; ³Department of Hepatobiliary Surgery, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; ⁴Department of General Surgery, Genertec Universal Xi'an Beihuan Hospital, Xi'an 710032, China

Abstract: Objective To investigate the clinical implications of abnormal expression of miR-607 in hepatocellular carcinoma (HCC) and its influence on HCC cell proliferation and migration. **Methods** The expression of miR-607 in 45 pairs of HCC and adjacent tissues were detected with real-time PCR, and the correlation between miR-607 expression and clinicopathological features of the patients was analyzed. The effects of transfection with miR-607 mimics on proliferation, apoptosis, migration and invasion of two HCC cell lines (Huh-7 and HCCLM3) were evaluated using CCK-8 assay, flow cytometry, wound-healing assay and Transwell assay. A dual-luciferase reporter system was used to detect the direct binding between miR-607 and 3'-UTR of TRPC5 mRNA. Western blotting was used to measure the expressions of TRPC5, CCND1, MMP2 and phosphorylated Akt in the HCC cells. **Results** The expression of miR-607 was significantly decreased in HCC tissues ($P=0.029$) and HCC cell lines ($P<0.05$). In HCC patients, a low expression of miR-607 was associated with a larger tumor size (>5 cm, $P=0.031$), vascular invasion ($P=0.027$) and advanced TNM stages (III + IV, $P=0.015$). In the two HCC cell line, overexpression of miR-607 significantly inhibited cell proliferation, migration, and invasion and enhanced cell apoptosis ($P<0.05$). The results of dual-luciferase reporter assay confirmed that TRPC5 was a direct target of miR-607 in HCC cells. Overexpression of miR-607 significantly inhibited the expressions of TRPC5, CCND1, and MMP2 and suppressed Akt phosphorylation in HCC cells ($P<0.05$). **Conclusion** A low expression of miR-607 in HCC is associated with poor clinicopathological phenotypes of HCC. Overexpression of miR-607 inhibits HCC growth and metastasis possibly by down-regulating TRPC5, which causes Akt signaling inactivation.

Keywords: miR-607; hepatocellular carcinoma; TRPC5; Akt signal pathway; metastasis

肝细胞癌(HCC)具有生长速度快、易发生脉管侵犯和肝内外转移的特点,目前已成为我国致死率最高的

恶性肿瘤^[1]。MicroRNA(miRNA, miR)是一种长度小于22个碱基的单链非编码RNA,miRNAs的异常表达在HCC发生发展中发挥关键作用^[2]。MiR-607位于人类10号染色体,最早在抗埃博拉病毒相关miRNA中^[3]被发现,随后miR-607被发现与神经精神疾病^[4,5]及多种癌症^[6,7]的进展密切相关。胰腺癌中,血清miR-607低表达患者出现淋巴结转移、肝脏转移和周围神经侵犯比例更高、预后更差^[8],体外过表达miR-607能够抑制胰腺癌

收稿日期:2022-04-25

基金项目:国家自然科学基金(81773128);陕西省自然科学基金研究计划(2021JQ-397);北京市医院管理中心“青苗”计划(QML20210903)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81773128).

作者简介:李超,博士,助理研究员,博士后,E-mail: lca03326@btch.edu.cn

通信作者:姜业臻,副主任医师,E-mail: jyzbhh@163.com

细胞增殖和迁移^[9],提示 miR-607在胰腺癌中具备液体活检标志物价值并能发挥抗癌作用。目前,仅通过测序发现 HCC 患者血清外泌体 miR-607 表达水平降低^[10],但 HCC 组织中 miR-607 的表达和具体生物学功能尚缺乏研究。因此,本研究拟通过探讨 miR-607 在 HCC 中异常表达的临床意义和调节 HCC 生长转移的功能机制,以期明确 miR-607 在 HCC 疾病进展中的作用。

1 资料和方法

1.1 资料

收集 2019 年 1 月 1 日~2021 年 1 月 1 日于安康市人民医院普通外科行手术切除的 HCC 组织及对应癌旁组织标本 45 例,包括男性 29 例,女性 16 例,年龄 50~77 岁,中位年龄 63 岁。所有患者术前均未接受过靶向、介入、化疗等辅助治疗并且均签署知情同意书,实验方案由西安交通大学第一附属医院伦理委员会审核批准(批号:2021 伦审科字第 347 号)。MicroRNA 模拟物(mimics, miR-607 及阴性对照)、microRNA PCR 扩增引物试剂盒(miR-607 及 U6)、野生型及突变型 TRPC5 mRNA 3'-非翻译区(3'-UTR)双荧光素酶报告基因系统由广州锐博生物科技有限公司提供。LO2、HepG2、Hep3B、Huh-7 及 HCCLM3 细胞由西安交通大学第一附属医院肝胆外科实验室保存。DMEM 液体培养基及胎牛血清(Gibco)。RNA 提取试剂 Trizol、转染试剂 Lipofectamine™ 3000 及 RT-PCR 试剂盒(Invitrogen)。SYBR Green 实时荧光定量 PCR 试剂盒(BIO-RAD)。TRPC5、Akt、Ser473 磷酸化 Akt、CCND1、MMP2 及 GAPDH 一抗(proteintech)。CCK-8 试剂盒、流式细胞仪凋亡检测试剂盒(上海生工生物有限公司)。TRPC5 引物(上游 5'-GTTCTAGGTTTCATTTGGGGTGAGA-3';下游 5'-ACATTTCCCATTCCCTCCCTTGG-3')、GAPDH 引物(上游 5'-CCAGGGCTGCTTTTAACTCT-3';下游 5'-GGACTCCACGACGTACTCA-3')购自上海生工生物有限公司。Transwell 小室(CORNING),人工基质胶(B&D)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与传代 正常人永生化的肝细胞 LO2 及肝癌细胞 HepG2、Hep3B、Huh-7 及 HCCLM3 细胞株培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,置于细胞培养箱中,在 37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度环境下进行培养传代。稳定传代 2~3 代后,取对数生长期细胞进行后续实验。

1.2.2 qRT-PCR 检测 miR-607 及 TRPC5 mRNA 表达 使用 Trizol 试剂按操作指南提取临床标本组织或体外培养细胞中的总 RNA。定量后,每份组织样品或细胞样品取等量 RNA 配制 20 μL 的逆转录反应体系合成 cDNA。cDNA 稀释 10 倍后取 5 μL 配制实时荧光定量

PCR 体系,按如下条件进行 PCR 反应:95 °C 预变性 30 s,1 循环;95 °C 变性 5 s,60 °C 退火延伸 30 s,40 循环。以 U6 RNA 为 miR-607 内参,以 GAPDH 为 TRPC5 的内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-607 及 TRPC5 mRNA 的相对表达量。

1.2.3 miR-607 mimics 细胞转染 HCC 细胞以过夜培养达 50%~70% 之密度接种于 6 孔板中。miR-607 mimics 转染分组:阴性对照组(miR-ctrl)加入 100 pmol/孔的阴性对照 mimics 及 5 μL 转染试剂,miR-607 组(miR-607)加入 100 pmol/孔的 miR-607 mimics 及 5 μL 转染试剂;以无血清 DMEM 培养基调整终体积为 2 mL/孔。按后续实验要求确认转染时间。

1.2.4 CCK-8 检测细胞增殖 分别收集转染 24、48 h 及 72 h 后的 HCC 细胞,制备密度为 1×10⁵/mL 的无血清 DMEM 基细胞悬液,以 200 μL/孔接种于 96 孔板。加入 10 μL/孔 CCK-8 solution 试剂后放置于细胞培养箱内避光培养 2 h。于酶标仪上测定各孔 450 nm 的吸光度 A_{450nm}。每个样本独立重复实验 3 次。

1.2.5 流式细胞仪检测凋亡 取转染 72 h 后的 HCC 细胞,用 1×Binding Buffer 制备密度为 1×10⁶/mL 的细胞悬液,每管加入 500 μL 细胞悬液、5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL Propidium Iodide。混匀后,室温下避光反应 10 min,进行流式细胞仪检测。每组样本独立重复实验 3 次。

1.2.6 划痕愈合实验检测细胞迁移 取转染 24 h 后的 HCC 细胞,以过夜培养达 80%~90% 之密度接种于 6 孔板中。过夜培养后用无菌 200 μL 移液器枪头沿培养孔中线划过制作初始划痕。以无血清 DMEM 培养基清洗培养孔以洗净悬浮细胞。每孔再次加入无血清 DMEM 培养基 2 mL,将 6 孔板置于培养箱中继续培养 48 h。在显微镜下拍照记录划痕剩余距离,计算细胞迁移情况。

1.2.7 Transwell 小室模型检测细胞侵袭 用无血清 DMEM 培养基按 1:8 比例稀释 50 mg/L 的基质胶 100 μL/孔覆盖 transwell 小室上室面,于 37 °C 细胞培养箱内风干 1 h 制成侵袭小室模型。取转染 48 h 后的 HCC 细胞用无血清 DMEM 培养基重悬,以 2×10⁵/mL 的密度加入 100 μL/孔的细胞悬液。24 孔细胞培养板内加入 750 μL/孔含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,建立细胞侵袭检测模型。培养完成后,PBS 清洗小室,4% 多聚甲醛固定,并用 0.1% 的结晶紫染色 10 min。擦除上室面未成功穿过小室膜的细胞,显微镜下观察并计数下室面细胞数目。

1.2.8 生物信息学分析 使用 Targetscan 网站(<https://www.targetscan.org/>) 确定 miR-607 与潜在靶基因 TRPC5 mRNA 3'-UTR 区的结合位点。

1.2.9 双荧光素酶报告基因系统 Huh-7 及 HCCLM3 细胞分别以 1×10⁵/孔种于 24 孔板中过夜培养,每种细胞

均设置4个分组 Wt-TRPC5质粒+miR-ctrl mimics; Mut-TRPC5质粒+miR-ctrl mimics; Wt-TRPC5质粒+miR-607 mimics; Mut-TRPC5质粒+miR-607 mimics。采用Lipofectamine™ 3000将混合物转染入特定细胞中培养48 h后,按双荧光素酶检测试剂说明书进行荧光强度测定。

1.2.10 Western blot 提取转染48 h后的HCC细胞总蛋白并调齐所有样品的蛋白浓度。采用垂直电泳法,利用4%~10% SDS-PAGE凝胶按相对分子质量分离总蛋白。采用湿转法,按100 V转印2 h之条件将分离后的蛋白转移至NC膜上,5% BSA室温封闭NC膜1 h。截取目的蛋白所在的位置条带,按1:1000比例配制TRPC5、Akt、Ser473磷酸化Akt、CCND1、MMP2及GAPDH一抗,4℃孵育过夜。PBS洗去未结合一抗后采用1:5000稀释的HRP标记山羊抗兔二抗室温孵育NC膜1 h。于暗室内,ECL法曝光目的蛋白,以条带灰度强度计算蛋白相对表达量。

1.3 统计学分析

采用SPSS22.0统计软件进行分析,连续性资料以均数±标准差表示,两组间比较采用两独立样本*t*检验。非连续性资料结果采用Pearson卡方检验,以*P*<0.05表

示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-607在肝细胞癌中表达及临床意义

分析45对HCC及癌旁组织的miR-607表达,HCC组织中miR-607的平均表达水平低于对应癌旁组织($t=2.214, P=0.029$,图1A)。以HCC组织中miR-607平均表达量为截断值,将45例肝细胞癌患者分为miR-607高表达组($n=16$)和miR-607低表达组($n=29$)。miR-607低表达与肿瘤直径>5 cm($\chi^2=4.640, P=0.031$)、血管侵犯($\chi^2=4.865, P=0.027$)及较晚的TNM分期(III+IV, $\chi^2=5.940, P=0.015$)密切相关(表1)。在体外培养细胞中,与正常人永生化的肝细胞LO2相比,所检测HCC细胞系中miR-607的表达水平均降低(HepG2: $P=0.044$, Hep3B: $P=0.041$, Huh-7: $P=0.037$, HCCLM3: $P=0.031$;图1B)。选择Huh-7及HCCLM3细胞进行mimics转染以开展下一步实验,结果显示,与miR-ctrl组相比,转染miR-607 mimics提高了两种HCC细胞内miR-607的表达水平(Huh-7: $P<0.001$,图1C;HCCLM3: $P=0.003$,图1D)。

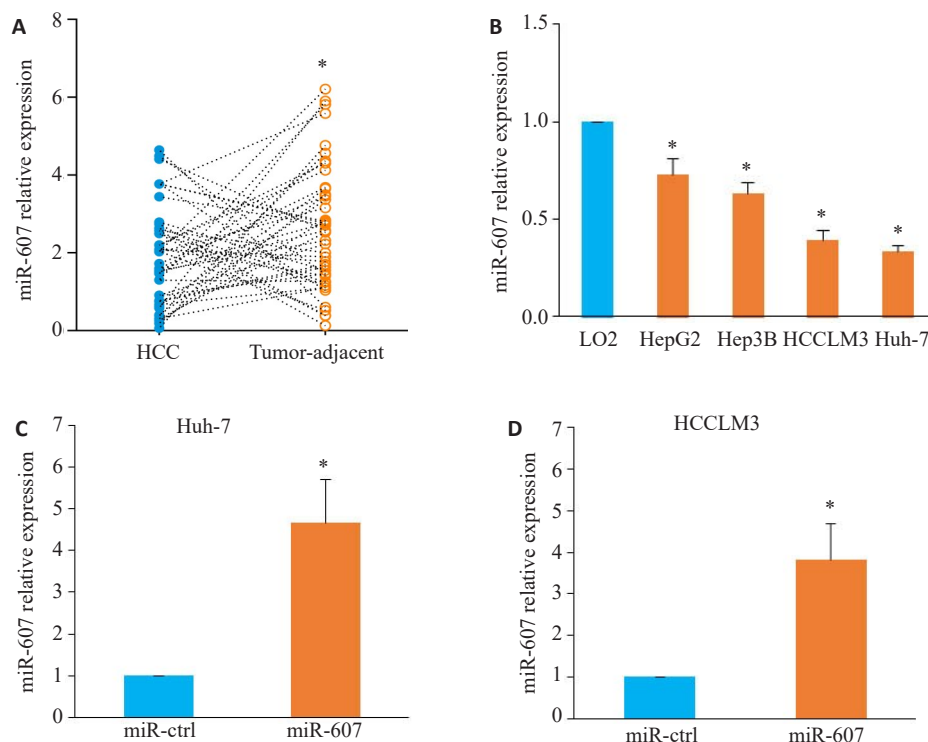


图1 miR-607在HCC中的表达以及在Huh-7和HCCLM3细胞中过表达miR-607

Fig.1 Expression of miR-607 in HCC and overexpression of miR-607 in Huh-7 and HCCLM3 cells. A: Down-regulated expression of miR-607 in HCC tissues (* $P<0.05$ vs tumor-adjacent tissues). B: miR-607 expression is lower in the 4 HCC cell lines (HepG2, Hep3B, Huh-7, and HCCLM3) than in LO2 cells (* $P<0.05$ vs LO2). C, D: Transfection of miR-607 mimics increases miR-607 expression in Huh-7 (C) and HCCLM3 (D) cells (* $P<0.05$ vs miR-ctrl group).

表1 miR-607异常表达在肝细胞癌中的临床意义

Tab.1 Correlation between miR-607 expression and clinicopathological features of HCC patients

Clinical features	miR-607 expression		χ^2	P	
	Low (n=29)	High (n=16)			
Gender	Male	19	10	0.041	0.840
	Female	10	6		
Age (year)	<60	8	9	3.604	0.058
	≥60	21	7		
HBsAg	Negative	7	6	0.896	0.344
	Positive	22	10		
Liver cirrhosis	Absent	9	9	2.732	0.098
	Present	20	7		
Tumor size (cm)	≤5	7	9	4.640	0.031
	>5	22	7		
Vascular invasion	No	10	11	4.865	0.027
	Yes	19	5		
Edmondson-steiner grading	I+II	11	10	2.501	0.114
	III+IV	18	6		
Serum AFP level (ng/mL)	<400	13	11	2.371	0.124
	≥400	16	5		
TNM stage	I+II	9	11	5.940	0.015
	III+IV	20	5		

2.2 过表达miR-607抑制HCC细胞增殖并诱导凋亡

与miR-ctrl组相比,miR-607组Huh-7细胞的增殖活力在转染48 h后明显下降(P=0.037),并且在转染72 h后仍可检测出差异(P=0.023,图2A)。同时,转染72 h后通过流式细胞仪分析发现,miR-607组细胞凋亡比例高于转染miR-ctrl组(P=0.005,图2B)。过表达miR-607可抑制HCCLM3的增殖活力(48 h:P=0.045,72 h:P=0.025;图2C)并促进细胞凋亡发生(P=0.004,图2D)。

2.3 过表达miR-607抑制HCC细胞迁移和侵袭

细胞划痕愈合试验发现,与miR-ctrl组相较,miR-607组中Huh-7细胞的迁移距离缩短(P=0.011,图3A)。Transwell侵袭小室结果显示,miR-ctrl组Huh-7细胞穿膜数量少于miR-607组Huh-7细胞穿膜数量(P=0.005,图3B)。过表达miR-607具有抑制HCCLM3细胞迁移(P=0.023,图3C)和侵袭(P=0.003,图3D)的效应。

2.4 miR-607靶向TRPC5抑制Akt通路激活

在Starbase、miRDB、TargetScan数据库进行生物信息学检索发现,经典瞬时受体电位通道5(TRPC5)可能是miR-607的潜在靶点之一(图4A)。采用双荧光素

酶报告基因系统检测证实,miR-607能够与HCC细胞内TRPC5 mRNA的野生型3'-UTR区直接结合(Huh-7:P=0.004,HCCLM3:P=0.011;图4B)。PCR及Western blot检测显示,过表达miR-607下调HCC细胞内TRPC5 mRNA(Huh-7:P<0.001,HCCLM3:P=0.002;图4C)及蛋白质(Huh-7:P=0.001,HCCLM3:P=0.013;图4D)的表达水平。

与miR-ctrl组相比,过表达miR-607的HCC细胞内Akt的磷酸化水平下调(Huh-7:P=0.034,HCCLM3:P=0.041);同时,增殖相关分子CCND1(Huh-7:P=0.026,HCCLM3:P=0.029)及侵袭相关分子MMP2(Huh-7:P=0.004,HCCLM3:P=0.001)的表达水平降低(图4D、E)。

3 讨论

MicroRNA异常表达与肿瘤生长转移^[11,12]和患者预后^[13]密切相关,其中miR-607在非小细胞肺癌中表达下调并提示预后不良^[14];慢性淋巴细胞白血病中miR-607通过下调WNT信号通路受体FZD3表达发挥细胞周期阻滞和凋亡诱导作用^[15]。本研究发现,miR-607在HCC

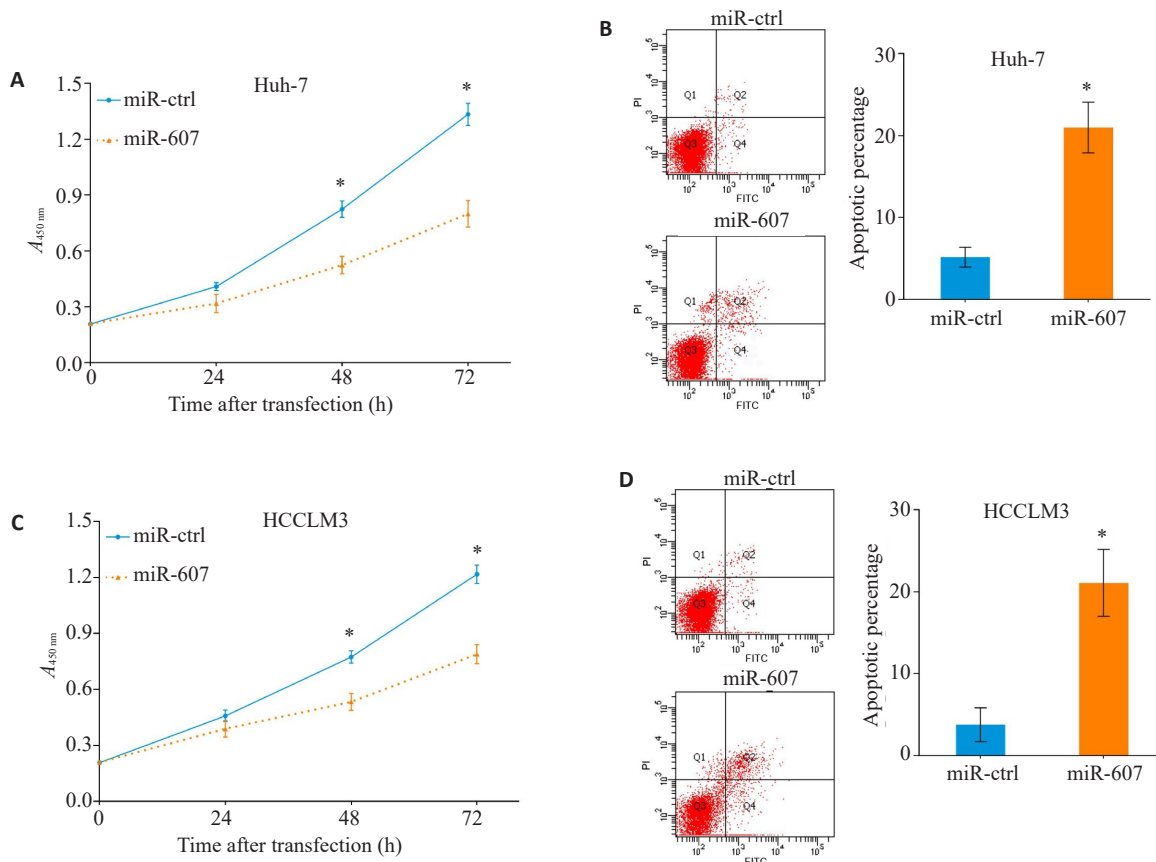


图2 过表达miR-607抑制HCC细胞增殖并促进凋亡

Fig.2 Overexpression of miR-607 inhibits proliferation and promotes apoptosis in HCC cells. **A, C:** Overexpression of miR-607 inhibits proliferation of Huh-7 (**A**) and HCCLM3 (**C**) cells. **B, D:** Overexpression of miR-607 promotes apoptosis of Huh-7 (**B**) and HCCLM3 (**D**) cells. * $P < 0.05$ vs miR-ctrl group.

组织中的表达水平显著下调,miR-607低表达与肿瘤体积增大、血管侵犯和较晚的临床分期等肿瘤生长转移特征密切相关;体外实验表明 miR-607 可以显著抑制 HCC 细胞的增殖、迁移、侵袭,并诱导细胞凋亡的发生。肿瘤中 MicroRNA 的表达下调大多与长链非编码 RNA、环状 RNA 等其他内源性 RNA 的分子海绵的吸附效应有关^[16]。宫颈癌中 miR-607 被 lncRNATP73-AS1 吸附降解,导致其对下游靶点 CCND2 的抑制作用减弱,引起肿瘤发生凋亡抵抗和侵袭转移^[17]。在 HCC 中发现 lncRNATP73-AS1 表达显著升高^[18],并促进 HCC 增殖侵袭^[19]和放疗抵抗^[20],上述结果从侧面揭示了本研究所发现的 miR-607 低表达原因。

TRPC5 是一种以同源四聚体形式锚定于细胞膜上的 Ca^{2+} 离子通道^[21],开放后可介导细胞 Ca^{2+} 内流^[22]。据报道,TRPC5 作为促癌因子在肺癌^[23]、胃癌^[24]中表达升高并与肿瘤生长转移和患者不良预后相关。生物信息学分析推断 TRPC5 可能是 miR-607 的潜在靶点之一。我们的研究通过双荧光素酶报告基因证实 miR-607 可与 TRPC5 的 mRNA 3'-UTR 区直接结合,PCR 及 Western blot 结果也表明 miR-607 能下调 TRPC5 表达,

说明 TRPC5 是 miR-607 的靶基因之一。

在肺鳞癌中,miR-607 通过下调钙激活核苷酸酶 1 表达抑制肺癌细胞增殖侵袭^[25],提示 Ca^{2+} 信号参与了 miR-607 的抑癌过程。研究证实, Ca^{2+} 信号异常活动是 TRPC5 发挥促癌作用的主要机制。结肠癌中 TRPC5 介导的 Ca^{2+} 内流可激活 HIF-1 α /Twist 轴促进上皮间质转化发生^[26]。乳腺癌细胞中 TRPC5 的通过 Ca^{2+} 依赖转录因子 NFATC3 诱导多药耐药蛋白 1 表达将细胞内阿霉素泵至胞外,诱导原发性耐药形成^[27]。在 HCC 中,通道受体异常表达引起的 Ca^{2+} 内流能激活 PI3K/Akt 通路来促进 HCC 生长和转移^[28]。据此线索,本研究发现过表达 miR-607 能够削弱 Akt 的磷酸化并下调 CCND1、MMP2 等 Akt 通路下游效应分子的表达,初步揭示了 miR-607 抗肿瘤的潜在生物学机制。由于目前尚未能在裸鼠荷瘤模型中进一步验证 miR-607 的抗癌活性及体内作用机制,因此尽管本研究在体外分子过程方面进行了较为深入的探索,但其结果仍有一定的局限性,需要在未来的工作中进一步完善。

综上所述,HCC 中低表达 miR-607 与肿瘤恶性临床特征密切相关。MiR-607 通过下调 TRPC5 表达进而

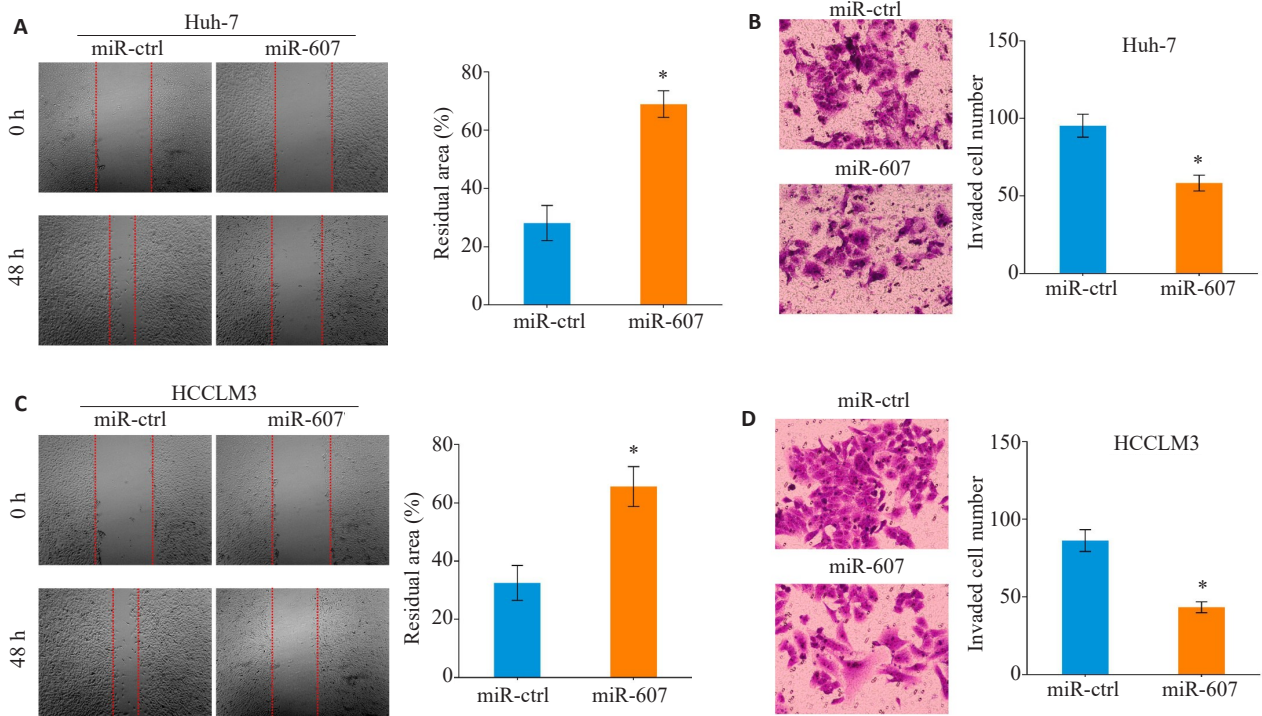


图3 过表达miR-607抑制HCC细胞迁移和侵袭

Fig.3 Overexpression of miR-607 inhibits migration and invasion of HCC cells. **A, C**: Overexpression of miR-607 inhibits migration of Huh-7 (**A**) and HCCLM3 (**C**) cells. **B, D**: Overexpression of miR-607 inhibits invasion of Huh-7 (**B**) and HCCLM3 (**D**) cells. * $P < 0.05$ vs miR-ctrl group.

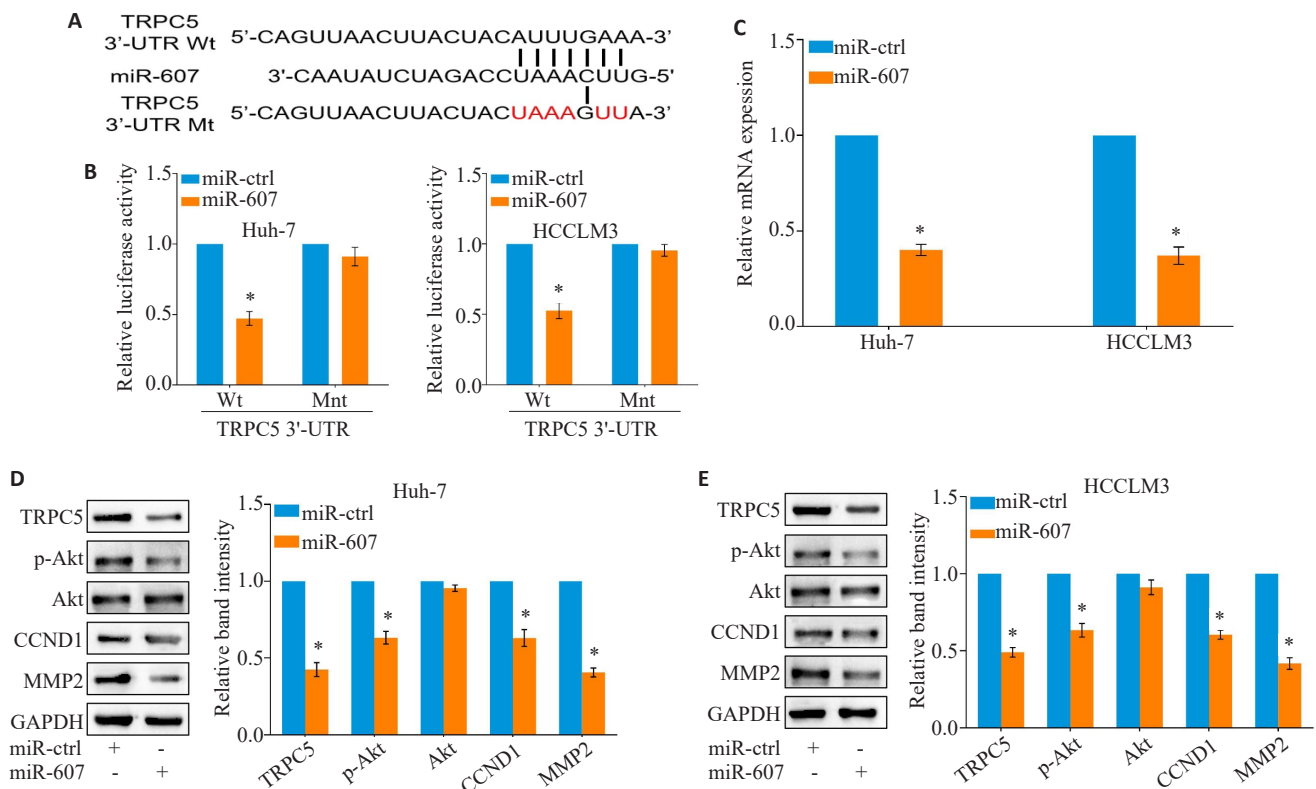


图4 miR-607靶向TRPC5抑制Akt通路激活

Fig.4 miR-607 inhibits Akt pathway activation through targeting TRPC5. **A**: miR-607 was predicted to bind to TRPC5 mRNA 3'-UTR region by bioinformatics analysis. **B**: Overexpression of miR-607 inhibits luciferase activity of wild-type (Wt) but not mutant-type (Mut) 3'-UTR vectors of TRPC5 in HCC cells. **C**: Overexpression of miR-607 decreases TRPC5 mRNA expression in HCC cells. **D, E**: Total expressions of TRPC5, CCND1, MMP2 and phosphorylated Akt are decreased in Huh7 (**D**) and HCCLM3 (**E**) cells. * $P < 0.05$ vs miR-ctrl group.

抑制 Akt 通路激活来发挥抗 HCC 生长转移作用。调控 miR-607 表达具有靶向治疗肝细胞癌潜力。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(3): 251-76.
- [2] 叶静静, 徐文琴, 陈天兵. 肝细胞癌中促癌 miRNA 调控网络分析与验证[J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(1): 45-54.
- [3] Golkar Z, Battaria R, Pace DG, et al. Inhibition of Ebola virus by anti-Ebola miRNAs in silico[J]. J Infect Dev Ctries, 2016, 10(6): 626-34.
- [4] Reinbold CS, Forstner AJ, Hecker J, et al. Analysis of the influence of microRNAs in lithium response in bipolar disorder [J]. Front Psychiatry, 2018, 9: 207-18.
- [5] Chen AN, Zhong LL, Ju KJ, et al. Bioinformatics analysis of a functional ANGPT1 variant that interferes with miR-607 and its association with susceptibility and outcome of ischemic stroke in a Han population[J]. Ther Clin Risk Manag, 2021, 17: 1045-52.
- [6] Zheng Y, Chen Z, Zhou Z, et al. Silencing of long non-coding RNA LINC00607 prevents tumor proliferation of osteosarcoma by acting as a sponge of miR-607 to downregulate E2F6 [J]. Front Oncol, 2020, 10: 584452-60.
- [7] Wu B, Xue X, Lin S, et al. LncRNA LINC00115 facilitates lung cancer progression through miR-607/ITGB1 pathway [J]. Environ Toxicol, 2022, 37(1): 7-16.
- [8] Jiang D, Yuan X, Ni J, et al. Low serum miR-607 level as a potential diagnostic and prognostic biomarker in patients of pancreatic ductal adenocarcinoma: a preliminary study [J]. Can J Gastroenterol Hepatol, 2021, 2021: 8882129-36.
- [9] Lou C, Zhao J, Gu Y, et al. LINC01559 accelerates pancreatic cancer cell proliferation and migration through YAP-mediated pathway [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(4): 3928-38.
- [10] Wang Y, Zhang C, Zhang P, et al. Serum exosomal microRNAs combined with alpha-fetoprotein as diagnostic markers of hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Med, 2018, 7(5): 1670-9.
- [11] 周晓霞, 邓洁, 张维, 等. miR-600 通过抑制 HIF-1 α 信号通路降低宫颈癌细胞的增殖能力 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(2): 210-5.
- [12] Li C, Wang Z, Chen S, et al. microRNA-552 promotes hepatocellular carcinoma progression by downregulating WIF1 [J]. Int J Mol Med, 2018, 42(6): 3309-17.
- [13] 刘绍华, 温莹浩, 全兵, 等. 高表达 miR-3682-3p 是肝细胞癌患者的不良预后因素 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(12): 1885-91.
- [14] Mo WL, Deng LJ, Cheng Y, et al. Circular RNA hsa_circ_0072309 promotes tumorigenesis and invasion by regulating the miR-607/FTO axis in non-small cell lung carcinoma [J]. Aging: Albany NY, 2021, 13(8): 11629-45.
- [15] Xia L, Wu LL, Bao J, et al. Circular RNA circ-CBFB promotes proliferation and inhibits apoptosis in chronic lymphocytic leukemia through regulating miR-607/FZD3/Wnt/ β -catenin pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(1): 385-90.
- [16] Jorgensen BG, Ro S. microRNAs and 'sponging' competitive endogenous RNAs dysregulated in colorectal cancer: potential as noninvasive biomarkers and therapeutic targets [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(4): 2166-75.
- [17] Zhang H, Xue B, Wang S, et al. Long non-coding RNA TP73 antisense RNA 1 facilitates the proliferation and migration of cervical cancer cells via regulating microRNA-607/cyclin D2 [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4): 3371-8.
- [18] Chen J, Huang ZB, Liao CJ, et al. LncRNA TP73-AS1/miR-539/MMP-8 axis modulates M2 macrophage polarization in hepatocellular carcinoma via TGF- β 1 signaling [J]. Cell Signal, 2020, 75: 109738-47.
- [19] Ma CX, Gao WC, Tian L. LncRNA TP73-AS1 promotes malignant progression of hepatoma by regulating microRNA-103 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(11): 4713-22.
- [20] Song W, Zhang JJ, Xia QX, et al. Down-regulated lncRNA TP73-AS1 reduces radioresistance in hepatocellular carcinoma via the PTEN/Akt signaling pathway [J]. Cell Cycle, 2019, 18(22): 3177-88.
- [21] Song K, Wei M, Guo W, et al. Structural basis for human TRPC5 channel inhibition by two distinct inhibitors [J]. Elife, 2021, 10: e63429-38.
- [22] Chen YY, Yu MF, Zhao XX, et al. Paracetamol inhibits Ca²⁺ permeant ion channels and Ca²⁺ sensitization resulting in relaxation of precontracted airway smooth muscle [J]. J Pharmacol Sci, 2020, 142(2): 60-8.
- [23] 纪竹青, 钱龙, 杜楠, 等. TrpC5 在肺鳞癌中的表达及其临床意义 [J]. 现代医学, 2018, 46(1): 46-50.
- [24] 余苏云, 邓蕊, 王爱云, 等. 基于 TRPC5 探讨山奈酚抗胃癌转移的作用及机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(10): 753-63.
- [25] Qiao G, Wang HB, Duan XN, et al. The effect and mechanism of miR-607/CANT1 axis in lung squamous carcinoma [J]. Anticancer Drugs, 2021, 32(7): 693-702.
- [26] Chen Z, Zhu Y, Dong Y, et al. Overexpression of TrpC5 promotes tumor metastasis via the HIF-1 α -Twist signaling pathway in colon cancer [J]. Clin Sci: Lond, 2017, 131(19): 2439-50.
- [27] Zou Y, Liu ZX, Zhou YN, et al. TRPC5 mediates TMZ resistance in TMZ-resistant glioblastoma cells via NFATc3-P-gp pathway [J]. Transl Oncol, 2021, 14(12): 101214-25.
- [28] Dou CW, Zhou ZY, Xu QR, et al. Hypoxia-induced TUFT1 promotes the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by activating the Ca²⁺/PI3K/AKT pathway [J]. Oncogene, 2019, 38(8): 1239-55.

(编辑: 林萍)