

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research*miR* - 183 - 5p 靶向 RBMS1 对乳腺癌细胞
自噬和迁移的影响Effects of *miR* - 183 - 5p targeting RBMS1 on autophagy and migration of breast cancer cells陈登云^{1a}, 吴一波^{1a}, 黄琨波^{1a},
张汉辉^{1a}, 张志珊^{1a}, 洪志鹏^{1b}(1. 泉州市第一医院, a. 检验科, b. 乳腺科,
福建 泉州 362000)CHEN Deng - yun^{1a}, WU Yi - bo^{1a},
HUANG Kun - bo^{1a},
ZHANG Han - hui^{1a},
ZHANG Zhi - shan^{1a},
HONG Zhi - peng^{1b}(1. a. Clinical Laboratory and
Department; b. Breast Department,
Quanzhou First Hospital, Quanzhou
362000, Fujian Province, China)基金项目: 福建省自然科学基金资助项目
(2023J011775)作者简介: 陈登云(1983 -), 男, 副主任技师, 主
要从事肿瘤和遗传相关性疾病机制
方面的研究通信作者: 张志珊, 主任技师, 硕士生导师
MP: 15859775058
E - mail: 554882707@ qq. com

摘要:目的 探讨微小 RNA - 183 - 5p(*miR* - 183 - 5p) 靶向 RNA 结合基序单链相互作用蛋白 1(RBMS1) 对乳腺癌细胞自噬和迁移的影响及其机制。方法 将人乳腺癌细胞 MCF - 7 分为对照组、NC inhibitor 组(转染 NC inhibitor)、*miR* - 183 - 5p inhibitor 组(转染 *miR* - 183 - 5p inhibitor)、*miR* - 183 - 5p inhibitor + si - NC 组(转染空载体 *miR* - 183 - 5p inhibitor 和 siNC)、*miR* - 183 - 5p inhibitor + si - RBMS1 组(转染 RBMS1 敲低质粒 si - RBMS1)。蛋白质印迹法检测细胞自噬和磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶(PI3K)/苏氨酸蛋白激酶 B(Akt)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路相关蛋白的相对表达水平, 划痕实验检测细胞的迁移率。结果 对照组、NC inhibitor 组、*miR* - 183 - 5p inhibitor 组、*miR* - 183 - 5p inhibitor + si - NC 组和 *miR* - 183 - 5p inhibitor + si - RBMS1 组微管相关蛋白轻链 3 II(LC3 - II)/微管相关蛋白轻链 3 I(LC3 - I)蛋白的相对表达水平分别为 0.29 ± 0.03 、 0.31 ± 0.03 、 0.86 ± 0.10 、 0.84 ± 0.09 和 0.43 ± 0.05 , 自噬效应蛋白(Beclin - 1)的相对表达水平分别为 0.18 ± 0.02 、 0.20 ± 0.02 、 0.74 ± 0.08 、 0.78 ± 0.09 和 0.35 ± 0.04 , 自噬蛋白(P62)蛋白的相对表达水平分别为 0.93 ± 0.12 、 0.89 ± 0.10 、 0.51 ± 0.06 、 0.54 ± 0.06 和 0.86 ± 0.10 , 48 h 细胞迁移率分别为 $(62.87 \pm 7.26)\%$ 、 $(59.23 \pm 6.89)\%$ 、 $(24.13 \pm 3.49)\%$ 、 $(26.14 \pm 4.72)\%$ 和 $(40.11 \pm 5.71)\%$, 磷酸化 - (p -) PI3K/PI3K 蛋白的相对表达水平分别为 0.67 ± 0.12 、 0.64 ± 0.10 、 0.32 ± 0.06 、 0.35 ± 0.06 和 0.74 ± 0.09 , *miR* - 183 - 5p inhibitor + si - RBMS1 组的上述指标与 *miR* - 183 - 5p inhibitor + si - NC 组相比, *miR* - 183 - 5p inhibitor 组的上述指标与 NC inhibitor 组相比, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 抑制 *miR* - 183 - 5p 表达能促进 MCF - 7 细胞自噬, 抑制细胞迁移, 下调 RBMS1 则有相反结果, 其机制与 PI3K/Akt/mTOR 通路有关。

关键词: 微小 RNA - 183 - 5p; 乳腺癌; 细胞自噬; 细胞迁移; RNA 结合基序单链相互作用蛋白 1; 磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶/苏氨酸蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.05.014

中图分类号: R97 文献标志码: A

文章编号: 1001 - 6821(2025)05 - 0671 - 05

Abstract: Objective To investigate the effect of microRNA - 183 - 5p (*miR* - 183 - 5p) targeting RNA - binding motif single - stranded - interacting protein 1 (RBMS1) on autophagy and migration of breast cancer cells and its mechanism. **Methods** Human breast cancer cells MCF - 7 were divided into control group, NC inhibitor group (transfected with NC inhibitor) and *miR* - 183 - 5p inhibitor group (transfected with *miR* - 183 - 5p inhibitor), *miR* - 183 - 5p inhibitor + si - NC group

(transfected with miR-183-5p inhibitor and empty vector si-NC), miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 group (transfected with miR-183-5p inhibitor and RBMS1 knockdown plasmid si-RBMS1). The expression levels of autophagy and phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway-related proteins in each group were detected by Western blot, and the mobility of cells in each group was detected by scratch test. **Results** Control group, NC inhibitor group, miR-183-5p inhibitor group, miR-183-5p inhibitor + si-NC group and miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 group the relative expression levels of light chain 3 II (LC3-II)/light chain 3 I (LC3-I) protein were 0.29 ± 0.03 , 0.31 ± 0.03 , 0.86 ± 0.10 , 0.84 ± 0.09 and 0.43 ± 0.05 , respectively; the relative expression levels of Beclin-1 protein were 0.18 ± 0.02 , 0.20 ± 0.02 , 0.74 ± 0.08 , 0.78 ± 0.09 and 0.35 ± 0.04 , respectively; the relative expression levels of sequestosome-1 (P62) protein were 0.93 ± 0.12 , 0.89 ± 0.10 , 0.51 ± 0.06 , 0.54 ± 0.06 and 0.86 ± 0.10 , respectively; the 48 h cell mobility was $(62.87 \pm 7.26)\%$, $(59.23 \pm 6.89)\%$, $(24.13 \pm 3.49)\%$, $(26.14 \pm 4.72)\%$ and $(40.11 \pm 5.71)\%$, respectively; the relative expression levels of phospho-(p-)PI3K/PI3K protein were 0.67 ± 0.12 , 0.64 ± 0.10 , 0.32 ± 0.06 , 0.35 ± 0.06 and 0.74 ± 0.09 , respectively. The above indexes of miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 group were compared with those of miR-183-5p inhibitor + si-NC group, and those of miR-183-5p inhibitor group were compared with those of NC inhibitor group, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Inhibition of miR-183-5p expression can promote autophagy and inhibit cell migration in MCF-7 cells, while down-regulation of RBMS1 has the opposite effect, which is related to the PI3K/Akt/mTOR pathway.

Key words: microRNA-183-5p; breast cancer; autophagy; cell migration; RNA-binding motif single-stranded-interacting protein 1; phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B/mechanistic target of rapamycin pathway

乳腺癌是25~49岁女性恶性肿瘤死亡率最高的肿瘤类型,发病率逐年上升,有年轻化趋势^[1],目前除手术外尚无有效治疗手段^[2]。年龄增长导致危险因素累积,且乳腺癌患者身体功能退化,死亡率随之上升。此外,乳腺癌患者的生存时间与转移相关。有研究发现,乳腺癌患者死亡的主要原因是发生邻近组织和淋巴结转移^[3]。细胞自噬是细胞在缺氧、饥饿和氧化应激状态下,由溶酶体介导的自我降解过程,自噬的激活可抑制乳腺癌肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡^[4]。本研究通过研究 miR-183-5p 与 RNA 结合基序单链相互作用蛋白 1 (RNA-binding motif single-stranded-interacting protein 1, RBMS1) 的靶向关系,并分析对乳腺癌细胞自噬和迁移的影响,旨在为乳腺癌的靶向治疗提供新思路。

材料与方 法

1 材料

细胞 人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A、人乳腺癌细胞 MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-468、人乳腺癌细胞 SKBR-3、人胚肾细胞 293T,均购自武汉尚恩生物技术有限公司。

试剂 微管相关蛋白轻链 3 II (light chain 3 II,

LC3-II)、微管相关蛋白轻链 3 I (light chain 3 I, LC3-I)、自噬效应蛋白 (Beclin-1)、自噬蛋白 (sequestosome-1, P62)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、苏氨酸蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化-Akt (phosphorylated-Akt, p-Akt)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、二抗,均为英国 Abcam 公司生产;雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 抗体,上海雅吉生物科技有限公司生产;p-PI3K 兔抗人抗体,上海沪震实业有限公司生产;p-mTOR 兔抗人抗体,上海碧云天生物技术股份有限公司生产。

仪器 CFX Opus 96 实时定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 仪,美国伯乐公司产品;DXS-3DIC 光学显微镜、CFM-200 荧光显微镜,均为上海梓梦科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

将 293T、MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-468、SKBR-3 细胞均培养于含 10% 胎牛血清,1% 青链霉素溶液的 DMEM 完全培养基中。MCF-10A 细胞培养于 DMEM/F12 全培养基中 (含有 10% 马血清、

10 ng · mL⁻¹ 霍乱毒素、50 ng · mL⁻¹ 氢化可的松、10 μg · mL⁻¹ 胰岛素、20 ng · mL⁻¹ 表皮生长因子以及 1% 青链霉素)。将各细胞培养基放置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。

2.2 细胞分组与处置方法^[5]

MCF-7 细胞分为对照组(正常培养未转染)、NC inhibitor 组(转染空载体 miR-NC)、miR-183-5p inhibitor 组(转染 miR-183-5p 抑制药)、miR-183-5p inhibitor + si-NC 组(miR-183-5p inhibitor 组基础上转染空载体 si-NC)、miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 组(miR-183-5p inhibitor 组基础上转染 RBMS1 敲低质粒 si-RBMS1)、si-NC 组(转染阴性对照 si-NC)和 si-RBMS1 组(转染 RBMS1 敲低质粒 si-RBMS1)。

293T 细胞共分为 NC mimic 组(50 nmol · L⁻¹ miR-NC 处理组)和 miR-183-5p mimic 组(50 nmol · L⁻¹ miR-183-5p mimic 处理组),分别与 RBMS1 MUT 和 RBMS1 WT 质粒共转染。

2.3 qRT-PCR 法检测各组细胞中 miR-183-5p 和 RBMS1 mRNA 的相对表达水平^[6]

用 Trizol 法提取总 RNA,用逆转录试剂盒合成 cDNA。用实时定量荧光仪,加入反应液,按 qRT-PCR 试剂盒说明书进行 PCR 扩增反应。以 GAPDH 为 RBMS1 内参,以 U6 为 miR-183-5p 内参,用 2^{-ΔΔCt} 方法计算各相对表达水平。

2.4 双荧光素酶报告基因实验验证靶向关系^[5]

构建荧光素酶报告基因载体:野生型(wild type, WT)-RBMS1、突变型(mutant, MUT)-RBMS1,将此基因载体与 NC mimic 或 miR-183-5p mimic 共同转染进 293T 细胞,培养箱孵育 24 h,通过双荧光素酶活性检测试剂盒检测细胞荧光素酶活性。

2.5 蛋白质印迹法检测各组细胞自噬、通路相关蛋白的相对表达水平^[7]

MCF-7 细胞按每孔 1 × 10⁶ 个分别接种于 6 孔板中培养 12 h,收集细胞并裂解提取总蛋白。测定蛋白浓度并定量,进行电泳分离,随后转膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h。洗膜后,加入一抗 4 °C 孵育过夜,随后加入二抗室温孵育 1 h。化学发光显影,以 GAPDH 为内参计算蛋白相对表达水平。

2.6 划痕实验检测细胞的迁移率^[8]

根据上述细胞分组,培养 12 h 后,用 200 μL 枪头在每个孔中进行垂直和水平方向的划痕。用磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,除去脱落细胞,然后加入无血清 DMEM 细胞培养基 2 mL,置于 5% CO₂ 细胞培养箱

37 °C 培养 24 h,在细胞划痕后的 0、48 h 分别拍摄照片,计算细胞迁移率。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用独立样本 *t* 检验。

结 果

1 各细胞系中 miR-183-5p 和 RBMS1 mRNA 的表达

对照组细胞正常培养未转染;NC inhibitor 组细胞转染空载体 miR-NC;miR-183-5p inhibitor 组细胞转染 miR-183-5p 抑制药;miR-183-5p inhibitor + si-NC 组细胞在 miR-183-5p inhibitor 组基础上转染空载体 si-NC;miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 组细胞在 miR-183-5p inhibitor 组基础上转染 RBMS1 敲低质粒 si-RBMS1;si-NC 组细胞转染阴性对照 si-NC;si-RBMS1 组细胞转染 RBMS1 敲低质粒 si-RBMS1。

MCF-10A 组、MCF-7 组、MDA-MB-231 组、MDA-MB-468 组和 SKBR-3 组的 miR-183-5p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08、4.65 ± 0.91、3.69 ± 0.87、2.42 ± 0.53 和 3.87 ± 0.85, RBMS1 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.09、0.43 ± 0.05、0.54 ± 0.06、0.77 ± 0.08 和 0.53 ± 0.05。MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-468 和 SKBR-3 细胞中 miR-183-5p 相对表达水平较 MCF-10A 细胞均显著上调($P < 0.05$, $P < 0.01$), RBMS1 mRNA 相对表达水平在 MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-468 和 SKBR-3 细胞中的表达均较 MCF-10A 细胞显著下调($P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$),且在 MCF-7 细胞中下调最为显著,故后续用 MCF-7 细胞系进行实验。

2 miR-183-5p 和 RBMS1 的靶向关系验证

通过 Targetscan 数据库预测发现 miR-183-5p 与 RBMS1 存在结合位点,见图 1。NC mimic 组和 miR-183-5p mimic 组与 WT-RBMS1 共转染的荧光素酶活性分别为 1.00 ± 0.09 和 0.61 ± 0.05,与 MUT-RBMS1 共转染的荧光素酶活性分别为 1.00 ± 0.10 和 0.98 ± 0.09, RBMS1 mRNA 的相对表达分别为 1.00 ± 0.07 和 0.72 ± 0.06。与 NC mimic 组相比,miR-183-5p mimic 组与 WT-RBMS1 共转染的荧光素酶活性明显降低($P < 0.01$),与 MUT-RBMS1 共转染的荧光素酶活性无显著性差异($P > 0.05$)。与 NC mimic 组相比,miR-183-5p mimic 组 RBMS1 mRNA 相对表达水平显著降低($P < 0.01$)。

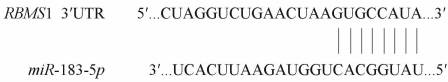


图1 微小RNA-183-5p(miR-183-5p)和RNA结合基序单链相互作用蛋白1(RBMS1)结合位点预测

Figure 1 Prediction of binding sites of microRNA-183-5p(miR-183-5p) and RNA-binding motif single-stranded-interacting protein 1(RBMS1)

3 miR-183-5p 靶向 RBMS1 对乳腺癌细胞自噬的影响

si-NC 组和 si-RBMS1 组的 RBMS1 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08 和 0.37 ± 0.04 , si-RBMS1 组与 si-NC 组相比, RBMS1 mRNA 相对表达水平显著降低 ($P < 0.001$)。NC inhibitor 组中 LC3-II/LC3-I、Beclin-1 和 P62 蛋白相对表达水平相较于对照组均无显著性差异 (均 $P > 0.05$), 而 miR-183-5p inhibitor 组与 NC inhibitor 组比较, LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 的蛋白相对表达水平均显著升高, P62 蛋白相对表达水平显著降低 ($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.01$); miR-183-5p inhibitor + si-NC 组中 LC3-II/LC3-I、Beclin-1 和 P62 的蛋白相对表达水平相较于 miR-183-5p

inhibitor 组均无显著性差异 (均 $P > 0.05$); miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 组与 miR-183-5p inhibitor + si-NC 组相比, LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 的蛋白相对表达水平均显著降低, 而 P62 蛋白表达水平显著升高 (均 $P < 0.01$), 见表 1。

4 miR-183-5p 靶向 RBMS1 对乳腺癌细胞迁移的影响

对照组、NC inhibitor 组、miR-183-5p inhibitor 组、miR-183-5p inhibitor + si-NC 组和 miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 组细胞在 48 h 的迁移率分别为 $(62.87 \pm 7.26)\%$ 、 $(59.23 \pm 6.89)\%$ 、 $(24.13 \pm 3.49)\%$ 、 $(26.14 \pm 4.72)\%$ 和 $(40.11 \pm 5.71)\%$ 。NC inhibitor 组与对照组相比, 细胞在 48 h 的迁移率无显著性差异 ($P > 0.05$); miR-183-5p inhibitor 组与 NC inhibitor 组相比, 细胞在 48 h 的迁移率显著降低 ($P < 0.01$); miR-183-5p inhibitor + si-NC 组与 miR-183-5p inhibitor 组相比, 细胞在 48 h 的迁移率无显著性差异 ($P > 0.05$); miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 组与 miR-183-5p inhibitor + si-NC 组相比, 细胞在 48 h 的迁移率显著升高 ($P < 0.05$)。

5 miR-183-5p 靶向 RBMS1 对 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响

如表 2 所示: NC inhibitor 组与对照组相比,

表1 各组细胞自噬相关蛋白的表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Expression levels of autophagy related proteins in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	LC3-II/LC3-I	Beclin-1	P62
Control	8	0.29 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.93 ± 0.12
NC inhibitor	8	0.31 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.89 ± 0.10
miR-183-5p inhibitor	8	$0.86 \pm 0.10^{***}$	$0.74 \pm 0.08^{***}$	$0.51 \pm 0.06^{**}$
miR-183-5p inhibitor + si-NC	8	0.84 ± 0.09	0.78 ± 0.09	0.54 ± 0.06
miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1	8	$0.43 \pm 0.05^{\Delta\Delta}$	$0.35 \pm 0.04^{\Delta\Delta}$	$0.86 \pm 0.10^{\Delta\Delta}$

Control group: MCF-7 cells were cultured normally; NC inhibitor group: Transfected empty vector miR-NC; miR-183-5p inhibitor group: Transfected with miR-183-5p inhibitors; miR-183-5p inhibitor + si-NC group: On the basis of miR-183-5p inhibitor group, transfected empty vector si-NC; miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 group: On the basis of miR-183-5p inhibitor group, transfected with RBMS1 knockdown plasmid si-RBMS1; LC3-II: Light chain 3 II; LC3-I: Light chain 3 I; P62: Sequestosome-1; Compared with NC inhibitor group, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$; Compared with miR-183-5p inhibitor + si-NC group, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$.

表2 各组通路相关蛋白的表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The expression levels of pathway-related proteins in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR
Control	0.67 ± 0.12	0.82 ± 0.14	0.73 ± 0.09
NC inhibitor	0.64 ± 0.10	0.79 ± 0.10	0.70 ± 0.09
miR-183-5p inhibitor	$0.32 \pm 0.06^{**}$	$0.47 \pm 0.05^{**}$	$0.52 \pm 0.06^*$
miR-183-5p inhibitor + si-NC	0.35 ± 0.06	0.50 ± 0.06	0.55 ± 0.06
miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1	$0.74 \pm 0.09^{\Delta\Delta}$	$0.79 \pm 0.09^{\Delta\Delta}$	$0.78 \pm 0.09^{\Delta}$

Dose and n refer to table 1; p-PI3K: Phosphorylated-phosphatidylinositol-3-kinase; PI3K: Phosphatidylinositol-3-kinase; p-Akt: Phosphorylated-protein kinase B; Akt: Protein kinase B; mTOR: Mammalian target of rapamycin; p-mTOR: Phosphorylated-mTOR; Compared with NC inhibitor group, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; Compared with miR-183-5p inhibitor + si-NC group, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$.

p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 水平均无显著差异(均 $P>0.05$)。miR-183-5p inhibitor 组与 NC inhibitor 组相比, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 水平均显著降低($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.05$); miR-183-5p inhibitor + si-NC 组与 miR-183-5p inhibitor 组相比, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 水平均无显著差异(均 $P>0.05$); miR-183-5p inhibitor + si-RBMS1 组与 miR-183-5p inhibitor + si-NC 组相比, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 水平均显著升高($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.05$)。

讨 论

miR-183-5p 被发现在多种癌症中异常表达,参与肿瘤细胞的生理行为调控;王前进等^[9]研究发现,结肠癌组织中 miR-183-5p 表达上调,加重结肠癌的发展;褚旭等^[10]发现在乳腺癌中 miR-183-5p 高表达,促进乳腺癌细胞的增殖和转移并抑制其凋亡,这与本研究结果一致。BMS1 在乳腺癌细胞中低表达^[11]。Targetscan 数据库预测发现,miR-183-5p 与 RBMS1 存在结合位点。进一步研究两者靶向关系发现,miR-183-5p 靶向负调控 RBMS1 的表达。分析 MCF-7 细胞行为发现,抑制 miR-183-5p 可促进 RBMS1 表达进而抑制乳腺癌细胞的迁移能力。

正常细胞癌变时,错误折叠蛋白质和受损细胞器在细胞中大量聚集,LC3 是自噬体标记蛋白;自噬效应蛋白调节自噬体形成,诱导结合蛋白进入自噬体囊泡;P62 将广泛蛋白送入自噬体内,激活 mTOR 下调自噬活性。自噬体形成时,LC3-I 酶解为 LC3-II,自噬体清除时,LC3-II 与 P62 降解^[12]。LC3-II/LC3-I、Beclin-1、P62 直接反映自噬活性水平^[13]。本研究结果显示,抑制 miR-183-5p 表达能提高 LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 表达水平,降低 P62 表达水平,提升 MCF-7 细胞的自噬活性。在此基础上敲低 RBMS1,则又抑制 MCF-7 细胞的自噬活性,表明抑制 miR-183-5p 促进 RBMS1 表达进而可提升乳腺癌细胞自噬能力。

PI3K/Akt/mTOR 通路涉及细胞增殖、生长、迁移、凋亡等活动,细胞外生长因子等激活 PI3K,PI3K 水平的上升激活下游分子 Akt,Akt 通过激活 mTOR 抑制

细胞自噬。本研究中,抑制 miR-183-5p 表达后 PI3K/Akt/mTOR 蛋白和磷酸化水平降低,而敲低 RBMS1 则表现出促进通路作用,表明抑制 miR-183-5p 促进 RBMS1 表达进而抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路激活。

本研究提示,miR-183-5p 靶向负调控 RBMS1 的表达,抑制 miR-183-5p 能促进人乳腺癌细胞 MCF-7 的自噬、抑制其迁移,可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路有关。

参考文献:

- [1] 王少明,郑荣寿,韩冰峰,等. 2022 年中国人群恶性肿瘤发病与死亡年龄特征分析[J]. 中国肿瘤,2024,33(3):165—174.
- [2] WAKS A G, WINER E P. Breast cancer treatment: A review[J]. JAMA,2019,321(3):288—300.
- [3] 徐国栋,李冰,黄绮国. 早期乳腺癌非前哨淋巴结转移的相关因素分析及转移风险评估[J]. 中国普通外科杂志,2024,33(7):1192—1198.
- [4] 郭玲,陈敬信. MiR-148b-3p/FOXO4 轴对乳腺癌细胞自噬及生长的影响[J]. 临床与病理杂志,2023,43(9):1621—1630.
- [5] 朱超,张立功,郭晨旭,等. miR-491-5p 靶向 FOLR1 对乳腺癌细胞增殖及侵袭的影响[J]. 山西医科大学学报,2023,54(10):1338—1346.
- [6] 董建兰,何英,孙云菊. miR-125a-5p 在人乳腺癌细胞侵袭和转移中的作用机制研究[J]. 中国妇幼保健,2022,37(3):534—537.
- [7] 徐兴华,杨梦娜,王中灿,等. 小檗碱抑制缺氧诱导的人乳腺癌 HCC1937 细胞自噬[J]. 中国现代应用药学,2023,40(21):2972—2977.
- [8] 莫安徽,杨生辉,黄琰菁. Sprouty2 蛋白在人乳腺癌 MCF-7 细胞中的表达及增殖情况研究[J]. 临床和实验医学杂志,2023,22(3):242—245.
- [9] 王前进,董久兴,武振明. 结肠癌组织中 miR-183-5p 和 THEM4 的表达水平及临床意义[J]. 中国现代普通外科进展,2024,27(1):42—46.
- [10] 褚旭,赵浩,向玲,等. SOCS3 受 miR-183-5p 调控影响乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡[J]. 兰州大学学报(医学版),2023,49(10):16—25.
- [11] 任晓丽,范玉营,皇甫和平,等. miR-502 调控犬乳腺肿瘤细胞增殖、迁移和 EMT 的作用机制[J]. 畜牧兽医学报,2023,54(10):4379—4388.
- [12] 高宗毅,何双,李扬扬,等. 自噬相关蛋白 LC3 II 在非小细胞肺癌中的表达及其与放射治疗敏感性的相关性[J]. 滨州医学院学报,2019,42(4):267—270,302.
- [13] 袁宇晴,龙丹,谢超群,等. 三白散对胃癌细胞自噬相关蛋白 Beclin1、LC3、p62 表达的影响[J]. 中医药导报,2024,30(3):30—36.

(收稿日期 2024-11-06)