

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.20.002

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221017.1810.007.html\(2022-10-18\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221017.1810.007.html(2022-10-18))

# miR-101 通过调控 c-met 对骨肉瘤细胞 MG63 恶性生物学行为的影响\*

王若章,楼锦博,顾增辉

(中国人民解放军联勤保障部队第九〇三医院骨科,杭州 310013)

**[摘要]** **目的** 探讨微 RNA-101(miR-101)对骨肉瘤(OS)细胞 MG63 增殖、凋亡和侵袭的影响,以及对细胞间质上皮转化因子(c-met)/磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(Akt)信号通路的调节作用。**方法** 取对数生长期 MG63 细胞分为 5 组,除对照组外,分别转染模拟物阴性对照片段(mimic-NC 组)、miR-101 模拟物(miR-101 mimic 组)、抑制剂阴性对照片段(inhibitor-NC 组)、miR-101 抑制剂(miR-101 inhibitor 组),48 h 后,荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 miR-101 相对表达水平,噻唑蓝(MTT)法检测细胞存活率,流式细胞仪检测细胞凋亡率,Transwell 实验检测细胞侵袭能力,双荧光素酶报告基因法检测 miR-101 与 c-met 的靶向关系,Western blot 检测 c-met、磷酸化 PI3K(p-PI3K)、磷酸化 Akt(p-Akt)相对表达水平。**结果** 与对照组和 mimic-NC 组比较,miR-101 mimic 组 miR-101 相对表达水平、细胞凋亡率升高,细胞存活率、c-met、p-PI3K、p-Akt 相对表达水平降低,侵袭细胞数减少,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与对照组和 inhibitor-NC 组比较,miR-101 inhibitor 组 miR-101 相对表达水平、细胞凋亡率降低,c-met、p-PI3K、p-Akt 相对表达水平升高,侵袭细胞数增多,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与 miR-101 mimic 组比较,miR-101 inhibitor 组 miR-101 相对表达水平、细胞凋亡率降低,细胞存活率、c-met、p-PI3K、p-Akt 相对表达水平升高,侵袭细胞数增多,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** miR-101 抑制 OS 细胞 MG63 的增殖和侵袭,促进其凋亡,可能是通过调节 c-met/PI3K/Akt 信号通路发挥作用。

**[关键词]** 骨肉瘤;肝细胞生长因子受体;微 RNA-101;侵袭;凋亡**[中图分类号]** R738.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)20-3428-06

## Effect of miR-101 on malignant biological behavior of osteosarcoma cells MG63 by regulating c-met\*

WANG Ruozhang, LOU Jinbo, GU Zenghui

(Department of Orthopedics, 903 Hospital of Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army, Hangzhou, Zhejiang 310013, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of microRNA (miR)-101 on the proliferation, apoptosis and invasion of osteosarcoma (OS) cell line MG63 and its regulation role on hepatocyte growth factor receptor (c-met)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/serine/threonine protein kinase (Akt) signaling pathway. **Methods** MG63 cells in logarithmic growth phase were divided into five groups, except for the control group, the other groups were transfected with analog negative control fragment (mimic-NC group), miR-101 analog (miR-101 mimic group), inhibitor negative control fragment (inhibitor-NC group) and miR-101 inhibitor (miR-101 inhibitor group), respectively. After 48 h, the relative expression level of miR-101 was detected by qRT-PCR, the cell survival rate was detected by MTT assay, the cell apoptosis rate was detected by flow cytometry, the cell invasion ability was detected by Transwell assay, the targeted relationship between miR-101 and c-met was detected by double luciferase reporter gene assay, and the relative expression levels of c-met, phosphorylated (p)-PI3K and p-Akt protein were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group and mimic-NC group, the relative expression level of miR-101 and apoptosis rate in the miR-101 mimic group were increased, and the cell survival rate, relative expression levels of c-met, p-PI3K and p-Akt

and the number of invaded cells were decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group and inhibitor-NC group, the relative expression level of miR-101 and apoptosis rate in the miR-101 inhibitor group were decreased, the relative expression levels of c-met, p-PI3K and p-Akt were increased, and the number of invaded cells was increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the miR-101 mimic group, the relative expression level of miR-101 and apoptosis rate of cells in the miR-101 inhibitor group were decreased, while the cell survival rate, relative expression levels of c-met, p-PI3K and p-Akt and the number of invaded cells were increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** miR-101 inhibits the proliferation and invasion of OS cell line MG63 and promotes its apoptosis, which possibly by regulating the c-met /PI3K/Akt signaling pathway.

**[Key words]** osteosarcoma; hepatocyte growth factor receptor; microRNA-101; invasion; apoptosis

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是在儿童和成年人中常见的一种原发骨恶性肿瘤,由于具有高转移率和高复发性,其有效治疗一直是临床从业者面临的难题。微RNA(microRNA, miR)是一类非编码RNA,其通过调控下游靶蛋白的转录与翻译,参与多种生理过程。研究发现,miR-101在多种肿瘤中发挥抑癌作用,如促进结肠癌、肝癌及卵巢癌细胞凋亡,抑制癌细胞增殖、迁移和侵袭<sup>[1-3]</sup>。此外,本研究前期的生物信息学分析发现OS组织中存在差异性表达的基因,miR-101下调明显,较正常骨组织下调5倍。研究发现,细胞间质上皮转化因子(cellular-mesenchymal to epithelial transition factor, c-met)表达异常与多种癌症有关,肝癌组织c-met表达上调,靶向抑制c-met蛋白表达可抑制癌细胞增殖,促进其凋亡<sup>[4]</sup>;此外,c-met抑制对转移性肾细胞癌增殖、血管生成和癌细胞转移有直接抑制作用,而且通过免疫检查点发挥间接抗肾细胞癌作用<sup>[5]</sup>。miR-101是否能通过调节c-met的表达影响OS的恶性行为学仍需进一步研究。因此,本研究通过上调或下调MG63细胞中miR-101表达,探讨miR-101对癌细胞增殖、凋亡和侵袭的影响及其具体机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 细胞系

OS细胞MG63购自上海中科院细胞库。

#### 1.1.2 仪器与试剂

miR-101模拟物(miR-101 mimic)、模拟物阴性对照片段(mimic-NC)、miR-101抑制剂(miR-101 inhibitor)、抑制剂阴性对照片段(inhibitor-NC)购自上海吉玛制药技术有限公司;miR-101、U6引物序列由上海生工生物工程股份有限公司合成;凋亡检测试剂盒购自美国BD公司;c-met、磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)、磷酸化PI3K(p-PI3K)、丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(AKT)、磷酸化AKT(p-AKT)抗体购自美国Abcam公司;荧光定量PCR(qRT-PCR)仪购自美国ABI

公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养与转染

MG63细胞培养于含10%胎牛血清的培养基中,置于37℃5%CO<sub>2</sub>培养箱中,每2天更换1次培养液,待细胞融合度达到90%以上时,0.25%胰蛋白酶消化传代。将对数生长期的第4代MG63细胞分为对照组、mimic-NC组、miR-101 mimic组、inhibitor-NC组、miR-101 inhibitor组。除对照组外,根据Lipofectamine™2000说明书将mimic-NC、miR-101 mimic、inhibitor-NC及miR-101 inhibitor分别转染入对应组别的细胞中,显微镜下观察转染效果,转染成功率达85%后,继续培养48h,用于后续实验。

#### 1.2.2 qRT-PCR法检测miR-101相对表达水平

收集转染后处于对数生长期的MG63细胞,Trizol试剂盒提取总RNA,利用逆转录试剂盒将RNA逆转录成cDNA,以cDNA为模板,按照SYBR Green试剂说明书进行PCR扩增,扩增条件为95℃预变性5min,95℃变性15s,60℃退火60s,72℃延伸40s,共40个循环,以U6为内参,以2<sup>-ΔΔCT</sup>表示miR-101相对表达水平,miR-101引物序列见表1。

表1 miR-101引物序列

基因	方向	引物序列
miR-101	正向	5'-CATGCTAGCTGATCCGAT-3'
	反向	5'-GCACGCAGATGACTCATG-3'
U6	正向	5'-ATTGACCGTAGATCGAGT-3'
	反向	5'-TAGCATACACATAGGTGA-3'

#### 1.2.3 噻唑蓝(MTT)法检测细胞存活率

收集转染后处于对数生长期的MG63细胞,DMEM培养基重悬,制成单细胞悬液,接种于96孔板,细胞密度为1×10<sup>5</sup>/孔,置于培养箱中培养,24h后每孔加入MTT溶液50μL,4h后弃去原有培养基,每孔加入二甲基亚砷(DMSO)150μL,混合均匀后,室温避光孵育10min,置于波长为570nm的酶标

仪上测定吸光度( $A_{570}$ )值,并计算细胞存活率,细胞存活率( $\%$ )=(实验组  $A_{570}$  值/对照组  $A_{570}$  值) $\times 100\%$ 。

#### 1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡率

收集转染后处于对数生长期的 MG63 细胞于流式管中,3 000 r/min 离心 10 min,离心半径 8 cm,加入 500  $\mu$ L 磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞 2 次,离心后加入 500  $\mu$ L 结合缓冲液,制成细胞悬液,加入 5  $\mu$ L 膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(annexin V-FITC)结合液混匀,再加入 10  $\mu$ L 碘化丙啶(PI)充分混匀,避光冰浴 15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

#### 1.2.5 Transwell 实验检测细胞侵袭能力

取 DMEM 培养基稀释后的基质胶 100  $\mu$ L 铺于 Transwell 小室的上室中,Transwell 小室的下室中加入 500  $\mu$ L DMEM 培养基,置于培养箱中培养 24 h。取转染 48 h 后的 MG63 细胞,制成细胞悬液,Transwell 小室中加入 150  $\mu$ L 细胞悬液,48 h 后去除下室中的培养液,棉签擦去 Transwell 小室内室膜上的细胞,多聚甲醛固定 20 min,0.1% 结晶紫溶液染色 10 min,显微镜下观察并拍照,计算侵袭细胞数。

#### 1.2.6 双荧光素酶报告基因法检测 miR-101 与 c-met 的靶向关系

生物信息学数据库 starBase 预测 miR-101 与 c-met 具有靶向结合位点,构建包含靶向结合位点序列的 c-met 3'-UTR 野生型(c-met wt)和突变型(c-met mut)重组质粒。将第 4 代未经转染的处于对数生长期的 MG63 细胞按  $1 \times 10^5$  /孔的密度接种到 24 孔板,待细胞融合度达到 80%时,将 miR-101 mimic、mimic NC 分别与 c-met wt 或 c-met mut 重组质粒共转染 MG63 细胞,48 h 后根据双荧光素酶试剂盒说明书要求检测荧光素酶活性,萤火虫荧光素酶活性/海肾荧光素酶活性比值表示荧光素酶的相对活性。

#### 1.2.7 Western blot 检测细胞中蛋白相对表达水平

收集转染后处于对数生长期的 MG63 细胞,加入 RIPA 裂解液,冰上静置 30 min,12 000 r/min 离心 10 min,离心半径为 10 cm,吸取上清液,二喹啉甲酸(BCA)法测定蛋白水平,加入蛋白上样缓冲液,100  $^{\circ}$ C 加热 10 min 使蛋白变性。120 V 恒压电泳 2 h,0.3 A 恒流湿转 2 h,TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,胎牛血清室温封闭 1 h,c-met、p-Akt、AKT、p-PI3K、PI3K、GAPDH 蛋白一抗(1:1 000)4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,二抗(1:5 000)室温孵育 2 h,TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。电化学发光(ECL)法显色,Image J 软件分析蛋白条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值与 GAPDH 蛋白条带灰度值的比值作为目的蛋白相对表达水平。

#### 1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件进行数据统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  描述,多组间计量资料比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD- $t$  检验,两组间比较采用独立样本  $t$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 miR-101 相对表达水平比较

对照组、mimic-NC 组、miR-101 mimic 组、inhibitor-NC 组、miR-101 inhibitor 组 miR-101 相对表达水平分别为  $2.02 \pm 0.11$ 、 $2.05 \pm 0.16$ 、 $6.82 \pm 0.15$ 、 $2.03 \pm 0.18$ 、 $1.10 \pm 0.15$ ,组间比较,差异有统计学意义( $F = 678.132$ , $P < 0.001$ )。与对照组和 mimic-NC 组比较,miR-101 mimic 组 miR-101 相对表达水平明显升高( $P < 0.05$ );与对照组和 inhibitor-NC 组比较,miR-101 inhibitor 组 miR-101 相对表达水平明显降低( $P < 0.05$ );与 miR-101 mimic 组比较,miR-101 inhibitor 组 miR-101 相对表达水平明显降低( $P < 0.05$ );对照组、mimic-NC 组、inhibitor-NC 组 miR-101 相对表达水平无明显差异( $P > 0.05$ )。

### 2.2 细胞存活率比较

各组细胞存活率比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );与对照组和 mimic-NC 组比较,miR-101 mimic 组细胞存活率明显降低( $P < 0.05$ );与 miR-101 mimic 组比较,miR-101 inhibitor 组细胞存活率明显升高( $P < 0.05$ );对照组、mimic-NC 组、inhibitor-NC 组、miR-101 inhibitor 组细胞存活率无明显差异( $P > 0.05$ ),见表 2。

### 2.3 细胞凋亡率比较

各组细胞凋亡率比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );与对照组和 mimic-NC 组比较,miR-101 mimic 组细胞凋亡率明显升高( $P < 0.05$ );与对照组和 inhibitor-NC 组比较,miR-101 inhibitor 组细胞凋亡率明显降低( $P < 0.05$ );与 miR-101 mimic 组比较,miR-101 inhibitor 组细胞凋亡率明显降低( $P < 0.05$ );对照组、mimic-NC 组、inhibitor-NC 组细胞凋亡率无明显差异( $P > 0.05$ ),见表 2、图 1。

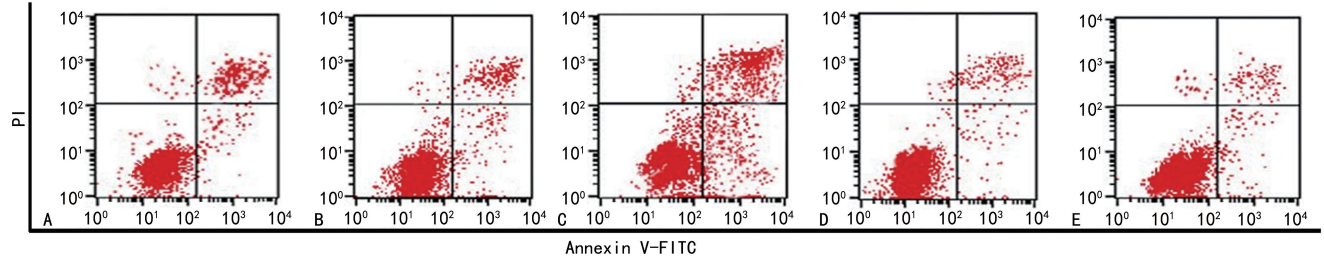
### 2.4 侵袭细胞数比较

各组侵袭细胞数比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );与对照组和 mimic-NC 组比较,miR-101 mimic 组侵袭细胞数明显减少( $P < 0.05$ );与对照组和 inhibitor-NC 组比较,miR-101 inhibitor 组侵袭细胞数明显增多( $P < 0.05$ );与 miR-101 mimic 组比较,miR-101 inhibitor 组侵袭细胞数明显增多( $P < 0.05$ );对照组、mimic-NC 组、inhibitor-NC 组侵袭细胞数无明显差异( $P > 0.05$ ),见表 2、图 2。

表 2 各组细胞存活率、细胞凋亡率及侵袭细胞数比较( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

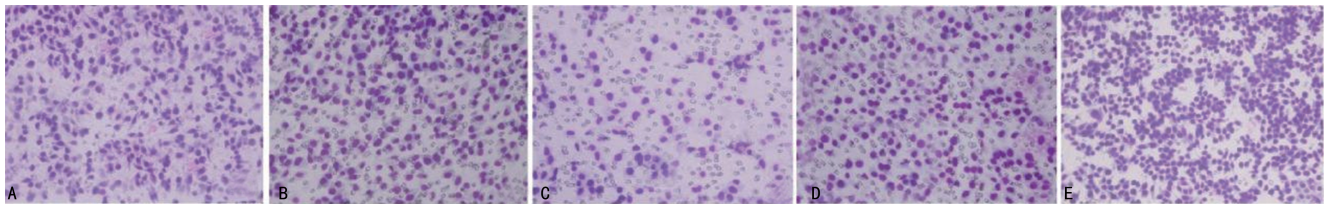
组别	细胞存活率(%)	细胞凋亡率(%)	侵袭细胞数
对照组	98.63±1.50	3.82±0.57	125.82±3.55
mimic-NC 组	98.71±1.82	3.54±0.55	132.17±4.28
miR-101 mimic 组	63.57±2.35 <sup>ab</sup>	28.61±0.78 <sup>ab</sup>	58.83±3.24 <sup>ab</sup>
inhibitor-NC 组	98.58±1.63	3.57±0.63	128.77±5.06
miR-101 inhibitor 组	97.86±2.05 <sup>c</sup>	1.03±0.62 <sup>abc</sup>	248.42±5.64 <sup>abc</sup>
F	203.437	985.840	710.480
P	<0.001	<0.001	<0.001

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与对应 NC 组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 miR-101 mimic 组比较。



A: 对照组; B: mimic-NC 组; C: miR-101 mimic 组; D: inhibitor-NC 组; E: miR-101 inhibitor 组。

图 1 流式细胞仪检测细胞凋亡



A: 对照组; B: mimic-NC 组; C: miR-101 mimic 组; D: inhibitor-NC 组; E: miR-101 inhibitor 组。

图 2 Transwell 实验检测侵袭细胞数(结晶紫溶液染色, 200×)

2.5 双荧光素酶报告基因法检测结果

转染 miR-101 mimic 后, miR-101 mimic + c-met wt 质粒的荧光素酶活性( $0.44 \pm 0.06$ )较 miR-NC + c-met wt 质粒( $1.05 \pm 0.08$ )明显降低( $t = 10.566, P < 0.001$ );但对 c-met mut 质粒的荧光素酶活性无影响, miR-101 mimic + c-met mut 与 miR-NC + c-met mut 质粒的荧光素酶活性分别为  $1.05 \pm 0.06$ 、 $1.04 \pm 0.05$ , 差异无统计学意义( $t = 0.222, P = 0.835$ )。

2.6 细胞中 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平比较

各组 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组和 mimic-NC 组比较, miR-101 mimic 组 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平均明显降低( $P < 0.05$ );与对照组和 inhibitor-NC 组比较, miR-101 inhibitor 组 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平均明显升高( $P < 0.05$ );与 miR-101 mimic 组比较, miR-101 inhibitor 组 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平均明显升高( $P < 0.05$ );对照组、mimic-NC 组、inhibitor-NC 组 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平均无明显差异( $P > 0.05$ ), 见表 3、图 3。

表 3 各组细胞中 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平比较( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	c-met	p-PI3K	PI3K	p-Akt	Akt
对照组	0.62±0.05	0.74±0.05	0.82±0.05	0.64±0.05	0.79±0.05
mimic-NC 组	0.65±0.04	0.72±0.06	0.85±0.05	0.66±0.06	0.81±0.04
miR-101 mimic 组	0.27±0.05 <sup>ab</sup>	0.35±0.04 <sup>ab</sup>	0.83±0.06	0.24±0.05 <sup>ab</sup>	0.79±0.06
inhibitor-NC 组	0.63±0.06	0.69±0.06	0.79±0.04	0.64±0.06	0.83±0.05

续表 3 各组细胞中 c-met、p-PI3K 及 p-Akt 相对表达水平比较 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	c-met	p-PI3K	PI3K	p-Akt	Akt
miR-101 inhibitor 组	0.86±0.05 <sup>abc</sup>	0.94±0.05 <sup>abc</sup>	0.79±0.05	0.88±0.04 <sup>abc</sup>	0.81±0.05
F	53.185	48.891	0.803	58.174	0.331
P	<0.001	<0.001	0.550	<0.001	0.851

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与对应 NC 组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 miR-101 mimic 组比较。

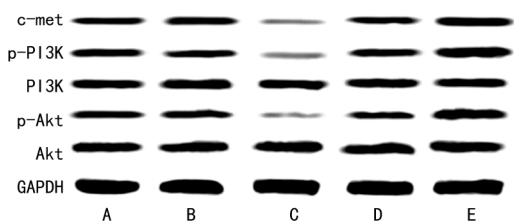


图 3 蛋白表达电泳条带  
A: 对照组; B: mimic-NC 组; C: miR-101 mimic 组; D: inhibitor-NC 组; E: miR-101 inhibitor 组。

图 3 蛋白表达电泳条带

### 3 讨论

OS 是骨骼系统常发生的恶性肿瘤,好发于长骨干骺端,常见于膝关节。目前对 OS 的治疗以化疗为主,但 5 年生存率不甚理想,所以 OS 仍是医疗上亟待解决的难题。既往研究表明,miRNA 在 OS 的发生、发展中具有重要的调节作用,阻断 miR-27a-3p 可降低紫杉醇耐药骨肉瘤细胞的耐药性,miR-329-3p 可增强 OS 癌细胞顺铂敏感性,促进癌细胞凋亡,抑制癌细胞迁移和侵袭<sup>[6-7]</sup>。miR-101 已被报道在多种肿瘤中发挥抑癌作用<sup>[8-9]</sup>,所以本研究通过敲降或上调 MG63 细胞中 miR-101 的表达,探讨 miR-101 对 OS 的影响。

miR-101 在结肠癌、肝癌等癌症中均发挥抗癌作用,而且能逆转肝癌细胞顺铂耐药性<sup>[10-12]</sup>。在 OS 中,长链非编码 RNA DSCAM-AS1 通过海绵吸附降低 miR-101 表达,癌细胞增殖、迁移和侵袭能力增强<sup>[13]</sup>;血清 miR-101 水平与总生存期有关,可作为 OS 临床诊断和预后的一个重要生物标志物<sup>[14]</sup>。本研究通过将 miR-101 mimic 及 miR-101 inhibitor 转染入 MG63 细胞,上调或下调细胞中 miR-101 的表达,探讨 miR-101 对 MG63 细胞恶性行为学的影响。实验结果表明,miR-101 表达上调可抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、降低细胞侵袭能力,而下调 miR-101 后,细胞增殖、侵袭能力增强,凋亡率降低。该结果提示,miR-101 可抑制 OS 癌细胞增殖,促进其凋亡,增强其侵袭能力。

c-met 激活后可调控下游多个信号转导途径,通过这些途径调节多种生理过程,包括细胞增殖和分化。PI3K/Akt 信号通路在促进细胞增殖和分化中发挥重要作用。已有研究表明,PI3K/Akt 信号通路激活可促进食管鳞癌、皮肤鳞状细胞癌的细胞迁移和侵

袭<sup>[15-16]</sup>。研究发现,c-met 可激活 PI3K/Akt 信号通路促进胰腺癌细胞增殖、浸润和侵袭活性<sup>[17]</sup>。此外,miR-152 激活 c-met/PI3K/Akt 信号通路可增强 OS 癌细胞对化疗药物吉西他滨的耐药性,使 OS 预后不良<sup>[18]</sup>。但是抑癌因子 miR-101 在 OS 中发挥抑癌作用是否通过调节 c-met/PI3K/Akt 信号通路仍需进一步研究。本研究通过上调或敲降 MG63 细胞中 miR-101 的表达,探讨 miR-101 对 c-met/PI3K/Akt 信号通路的影响,Western blot 检测 c-met、p-PI3K、p-Akt 表达水平,结果显示,MG63 细胞中 c-met、p-PI3K、p-Akt 表达升高,miR-101 表达上调可降低 c-met、p-PI3K、p-Akt 表达,而下调 miR-101 后 c-met、p-PI3K、p-Akt 表达升高。结果提示,miR-101 抑制 OS 中 c-met/PI3K/Akt 信号通路。

综上所述,miR-101 可抑制 OS 癌细胞增殖,促进其凋亡,增强其侵袭能力,并可能通过抑制 c-met/PI3K/Akt 信号通路发挥调控作用,为临床治疗 OS 提供了理论依据。但是本研究存在一定不足之处:(1)仅在细胞水平证明 miR-101 参与调控 OS 的生物行为学,缺乏体内研究进行佐证;(2)对于机制的研究仅检测了上调或下调 miR-101 后,OS 癌细胞中 c-met/PI3K/Akt 信号通路蛋白的表达情况,缺乏该信号通路对 OS 细胞恶性行为学的直接作用研究。因此,后期将补充体内实验,建立 OS 移植瘤大鼠模型,上调或下调 miR-101 后,检测移植瘤生长情况,并明确 c-met/PI3K/Akt 信号通路相关蛋白在肿瘤中的表达情况,完成体内和体外实验的相互佐证。

### 参考文献

- [1] ZHOU Z, XU H, DUAN Y, et al. microRNA-101 suppresses colorectal cancer progression by negative regulation of Rap1b[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(3): 2225-2231.
- [2] MENG X, SHI Y, XIANG X, et al. Influence of miR-101 on proliferation of liver cancer cells through the MAPK/ERK signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(2): 1310-1316.
- [3] LI Y, LI G, WANG X, et al. miR-101 inhibits pro-

- liferation and invasion abilities of SKOV-3 ovarian cancer cells[J]. *Panminerva Med*, 2022, 64(1):122-123.
- [4] CHENG J, WU L M, DENG X S, et al. microRNA-449a suppresses hepatocellular carcinoma cell growth via G1 phase arrest and the HGF/Met c-met pathway[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2018, 17(4):336-344.
- [5] LINDNER AK, PICHLER M, THURNHER M, et al. Targeting c-met to improve immune checkpoint Inhibition in metastatic renal cell carcinoma[J]. *Eur Urol*, 2022, 81(1):1-2.
- [6] LU B, FENG Z, FAN B, et al. Blocking miR-27a-3p sensitises Taxol resistant osteosarcoma cells through targeting Fbxw7[J]. *Bull Cancer*, 2021, 108(6):596-604.
- [7] LI G, LI Y, WANG D Y. Overexpression of miR-329-3p sensitizes osteosarcoma cells to cisplatin through suppression of glucose metabolism by targeting LDHA[J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(4):766-774.
- [8] 郭雪茹, 张其程, 曹丽敏, 等. miR-101 通过靶向 FGF2 抑制非小细胞肺癌的迁移和侵袭[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(9):984-991.
- [9] 王爽, 段素芳, 牛秉轩, 等. miR-101-3p 靶向 TGF $\beta$ R1/Smad 抑制视网膜母细胞瘤细胞侵袭和迁移[J]. *眼科新进展*, 2019, 39(10):924-928.
- [10] HUANG Z, WU X, LI J. miR-101 suppresses colon cancer cell migration through the regulation of EZH2[J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2021, 113(4):255-260.
- [11] LIU Y, TAN J, OU S Y, et al. microRNA-101-3p suppresses proliferation and migration in hepatocellular carcinoma by targeting the HGF/c-met pathway[J]. *Invest New Drugs*, 2020, 38(1):60-69.
- [12] CHAI Z, YIN X, CHEN J, et al. microRNA-101 modulates cisplatin chemoresistance in liver cancer cells via the DNA-PKcs signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(4):3655-3663.
- [13] YU C L, XU N W, JIANG W, et al. LncRNA DSCAM-AS1 promoted cell proliferation and invasion in osteosarcoma by sponging miR-101 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(14):7709-7717.
- [14] YAO Z S, LI C, LIANG D, et al. Diagnostic and prognostic implications of serum miR-101 in osteosarcoma [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 22(1):127-133.
- [15] 李冰, 郭占领, 周平, 等. 葛根素通过调控 PI3K/AKT 信号通路影响食管鳞状细胞癌体内生长和转移[J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(1):109-114.
- [16] 林简, 刘晓红, 王荣坤, 等. 干扰 NDRG1 表达通过调控 PI3K/Akt 信号通路对皮肤鳞状细胞癌细胞凋亡的影响[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2020, 34(9):1005-1011.
- [17] 张银鹏, 孙金兵, 宗洋, 等. 干扰 TBL1XR1 表达调控 c-met/PI3K/Akt 通路对胰腺癌细胞生物学行为影响的实验研究[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2021, 26(2):97-103.
- [18] SUN Z Y, JIAN Y K, ZHU H Y, et al. lncR-NAPVT1 targets miR-152 to enhance chemoresistance of osteosarcoma to gemcitabine through activating c-MET/PI3K/AKT pathway[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(3):555-563.

(收稿日期:2022-01-12 修回日期:2022-05-23)