

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.003

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.003

Let-7a 通过靶向基质金属蛋白酶-11 抑制人口腔鳞状细胞癌细胞迁移和侵袭

魏薇, 唐祎, 代婧, 陈胡杰

(荆州市中心医院口腔科, 湖北 荆州 434000)

[摘要] 目的: 探讨let-7a在口腔鳞状细胞癌组织中的表达, 并研究let-7a靶向MMP11抑制口腔鳞状细胞癌细胞迁移和侵袭的作用机制。方法: 收集口腔鳞状细胞癌患者的肿瘤组织及正常牙龈黏膜组织, 采用RT-qPCR和Western印迹法检测组织样本及口腔鳞状细胞癌细胞系中let-7a和MMP11相对表达水平; 以OSCC-15, HSC3细胞为研究对象, Transwell法分别检测转染let-7a mimics、敲低MMP11对细胞迁移和侵袭的影响; 采用TargetScan在线预测、双荧光素酶报告基因实验和Western印迹法验证let-7a与MMP11的靶向关系; 过表达let-7a或共表达let-7a和MMP11, Transwell法检测细胞迁移和侵袭。结果: 对比正常牙龈黏膜组织, 口腔鳞状细胞癌组织中let-7a表达明显下调($P < 0.05$), MMP11表达明显上调($P < 0.05$), let-7a与MMP11表达呈负相关($r^2 = 0.6359$, $P < 0.0001$); 在OSCC-15和HSC3细胞中, 过表达let-7a或敲减MMP11能明显抑制细胞迁移和侵袭($P < 0.05$)。经TargetScan在线预测和双荧光素酶报告基因实验验证, MMP11是let-7a的潜在靶基因, let-7a调控MMP11表达; 回补MMP11能够逆转let-7a对OSCC-15、HSC3细胞迁移和侵袭的抑制作用。结论: 在口腔鳞状细胞癌组织中, let-7a表达下调, MMP11表达上调, let-7a能通过靶向MMP11抑制口腔鳞状细胞癌细胞株OSCC-15, HSC3细胞迁移和侵袭。

[关键词] let-7a; 口腔鳞状细胞癌; 基质金属蛋白酶-11; 迁移; 侵袭

Let-7a inhibits migration and invasion of human oral squamous cell carcinoma cells by targeting matrix metalloproteinase-11

WEI Wei, TANG Yi, DAI Jing, CHEN Hujie

(Department of Stomatology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou Hubei 434000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression of let-7a in oral squamous cell carcinoma and explore the effect of let-7a on migration and invasion of oral squamous cell carcinoma by targeting MMP11. **Methods:** Tumor tissues and normal gingival mucosa tissues of patients with oral squamous cell carcinoma were collected to detect the expression of let-7a and MMP11 by RT-qPCR and Western blot. Cell migration and invasion of OSCC-15 and

收稿日期 (Date of reception): 2018-08-17

通信作者 (Corresponding author): 唐祎, Email: 20984688@qq.com

基金项目 (Foundation item): 湖北省卫生计划项目 (WJ2017M242). This work was supported by Health Project in Hubei Province, China (WJ2017M242).

HSC3 cells after over-expression of let-7a or knockdown of MMP11 were detected by Transwell. The regulating relationship between let-7a and MMP11 was verified by TargetScan online prediction, dual luciferase reporter system and Western blot. Cell migration and invasion after over-expression of let-7a or co-expression of let-7a and MMP11 were detected by Transwell. **Results:** The expression of let-7a in oral squamous cell carcinoma tissues was significantly lower than that in normal gingival mucosa tissues ($P < 0.05$), while MMP11 had the opposite trend in the tissues ($P < 0.05$). The expression of let-7a was negatively correlated with MMP11 ($r^2 = 0.6359$, $P < 0.0001$). The migration and invasion of OSCC-15 and HSC3 cells were inhibited after over-expression of let-7a or knockdown of MMP11. TargetScan online prediction and dual luciferase assay indicates that MMP11 is a potential target gene for let-7a and let-7a negatively regulated the expression of MMP11. MMP11 could rescue the inhibitory effect of let-7a on migration and invasion of OSCC-15 and HSC3 cells. **Conclusion:** Let-7a is down-regulated while MMP11 is up-regulated in oral squamous cell carcinoma, and let-7a can inhibit the migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cell lines OSCC-15 and HSC3 by targeting MMP11.

Keywords let-7a; oral squamous cell carcinoma; matrix metalloproteinase-11; migration; invasion

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)常发生于中老年人,影响人面部形态、咀嚼和发音等功能,据美国癌症协会统计,其危害在世界恶性肿瘤中排名第六^[1]。由于OSCC的发生与多种因素有关,且OSCC细胞极易扩散、转移,导致发病率和病死率不断上升,5年生存率仅50%^[2]。因此,寻找OSCC发生发展中关键的靶向分子对OSCC的诊断及治疗具有重要意义。微小RNA(microRNA, miRNA)let-7最初在秀丽隐杆线虫中被发现,起调节细胞增殖、分化的作用^[3],随后被证明与多种疾病的发生发展密切相关,参与肿瘤干细胞的迁移、代谢^[4]。Let-7a作为let-7家族的一员,能抑制胃癌^[5]、甲状腺癌^[6]、宫颈癌^[7]等多种肿瘤细胞迁移和侵袭,且已有文献^[8]报道:在OSCC中,let-7a能通过靶向STAT3抑制OSCC细胞迁移和侵袭,但let-7a对OSCC的作用机制并未完全明确。本文通过TargetScan在线预测,发现MMP11-3'UTR上存在let-7a的结合位点。MMP11是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族的一员,在大量人体肿瘤样本中表达上调^[9]。为验证let-7a与MMP11的靶向关系及其对口腔鳞状细胞癌细胞迁移和侵袭的影响,本研究以口腔鳞状细胞癌细胞株OSCC-15和HSC3为研究对象,检测表达let-7a和MMP11后细胞迁移和侵袭的变化,探讨let-7a靶向MMP11调节OSCC侵袭转移的具体作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

收集2016年7月至2017年12月期间就诊于荆州

市中心医院并确诊为OSCC患者经手术切除的新鲜标本49例作为OSCC组,同期在荆州市中心医院拔出阻生齿并留取的正常牙龈黏膜组织32例作为对照组,手术标本切除后立即置于液氮保存。OSCC组中男31例,女18例,年龄42~76岁;对照组中男13例,女19例,年龄23~42岁。所有患者术前未接受任何形式的治疗,研究获得患者许可,并通过荆州市中心医院医学伦理委员会审批。

1.2 主要试剂及仪器

人正常口腔角质细胞(NOK1)由山西医科大学生物化学与分子生物学教研室惠赠;口腔鳞状细胞癌细胞株OSCC-15, HSC3, Tca8113, Cal27均购自美国ATCC细胞库; LipofectamineTM 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司; DMEM培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司; TRIzol试剂、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒购自天根生化科技有限公司; TaKaRa反转录试剂盒、TaKaRa SYBR[®] Premix Dimer EraserTM试剂盒购自日本TaKaRa公司; 一抗、二抗购自美国Abcam公司; RT-qPCR所用引物由北京六合华大基因科技有限公司合成; NanoDrop微量核酸测定仪购自美国赛默飞世尔科技公司; pGL3-MMP11 3'-UTR野生型及突变型由上海汉恒生物有限公司构建; PVDF膜购自美国Millipore公司; 实时荧光定量PCR仪购自美国ABI公司; 细胞培养箱购自美国Forma Scientific公司; 凝胶成像分析仪购自美国柯达公司。

1.3 细胞培养及转染

人正常口腔角质细胞(NOK1)、口腔鳞状细

胞癌细胞系(OSCC-15, HSC3, Tca8113, Cal27)接种于含10%胎牛血清的DMEM培养基, 置于培养箱中37 ℃, 5% CO₂常规培养, 每隔2~3 d更换1次新鲜培养基。收集对数期生长的细胞, 0.25%胰酶消化, 重悬细胞后以每孔10⁵个的密度接种至6孔板上, 常规培养24 h。待细胞生长至融合度约50%时, 参照Lipofectamine™ 2000转染试剂说明书分别加入转染试剂Lipofectamine与miR-NC, miR-control, let-7a mimics, si-control, MMP11-siRNA, anti-control, anti-let-7a, let-7a+pcDNA-control, let-7a+pcDNA-MMP11共转染至OSCC-15和HSC3细胞, 分别标记为NC组、miR-con组、let-7a组、si-con组、si-MMP11组、anti-con组、anti-let-7a组、let-7a+pcDNA-control组、let-7a+pcDNA-MMP11组。

1.4 qRT-PCR

取液氮保存的组织样本或传代培养至对数期的细胞系(NOK1, OSCC-15, HSC3, Tca8113和Cal27细胞分别标记为NOK1组、OSCC-15组、HSC3组、Tca8113组和Cal27组), 充分研磨后加入适量TRIzol试剂提取总RNA, NanoDrop微量核酸测定仪检测RNA浓度和纯度。选取质量较好的RNA样品, 使用TaKaRa反转录试剂盒反转录成cDNA, 以cDNA为模板, 按照TaKaRa SYBR® Premix Dimer Eraser™试剂盒使用说明书配制反应体系, 置于ABI-7300型荧光定量PCR仪上扩增, 每个样品重复3次。以β-actin为内参, 采用 $F=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行表达量相对定量分析, 所用引物见表1。

表1 荧光定量PCR所用引物

Table 1 Primers for RT-qPCR

Name	Sequence (5'-3')
Let-7a F	GCGCCTGAGGTAGTAGGTTG
Let-7a R	CAGTGCAGGGTCCGAGGT
MMP11 F	AAGAGGTTCTGCTTCTCTGG
MMP11 R	CCATGGGAACCGAAGGAT
β-actin F	TGGATCAGCAAGCAGGAGTA
β-actin R	TCGGCCACATTGTGAACITTT

1.5 Western 印迹法

取适量组织或细胞样品加入RIPA裂解液冰上裂解5 min, 4 ℃, 14 000 r/min离心10 min, 取上清, 使用BCA试剂盒检测蛋白浓度。常规SDS-

PAGE电泳后转至PVDF膜, 浸泡于5%脱脂奶粉TBST封闭液中封闭1 h, 加入一抗4 ℃孵育过夜, TBST漂洗3次, 加入二抗室温孵育2 h, TBST洗涤后ECL发光显影, 凝胶成像系统拍照。

1.6 Transwell 小室实验

收集转染48 h的OSCC-15和HSC3细胞加入适量胰酶消化, 无血清培养基重悬细胞制成细胞悬液, 调整浓度为 2.5×10^5 /mL。取OSCC-15和HSC3细胞悬液接种于预先包被基质胶的Transwell上室, 每孔200 μL; 未包被基质胶的Transwell上室每孔接种200 μL。已接种细胞的Transwell上室置于含完全培养基的下室中培养24 h, 吸出上室培养基并洗涤小室, 4%多聚甲醛固定后0.1%结晶紫染色, 显微镜观察计数下室细胞数量。

1.7 双荧光素酶报告基因实验

TargetsCan预测结果表明MMP11 3'-UTR上存在let-7a的结合位点, 为验证MMP11是否是let-7a的靶基因, 通过构建野生型MMP11 3'-UTR-WT(含MMP11 3'-UTR片段)和突变型MMP11 3'-UTR-MUT(MMP11 3'-UTR片段突变体)的荧光素酶报告载体, 采用Lipofectamine™ 2000分别将MMP11 3'-UTR-WT和MMP11 3'-UTR-MUT与let-7a mimics, miR-control进行共转染。转染24 h后, 采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测荧光素酶活性。

1.8 统计学处理

收集实验数据并录入SPSS 22.0软件进行数据分析, 连续性变量以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组数据间比较用t检验, 多组差异比较用单因素方差, 组间比较用SNK-q检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Let-7a 和 MMP11 在人口腔鳞状细胞癌组织及其细胞系中的表达

采用RT-qPCR和Western印迹法检测let-7a和MMP11相对表达水平, 结果表明: 与正常组织相比, 人口腔鳞状细胞癌组织中let-7a表达明显下调($P < 0.05$; 图1A)、MMP11在mRNA和蛋白水平表达均明显上调($P < 0.05$; 图1B, 1C), let-7a与MMP11表达呈负相关($r^2 = 0.6359$, $P < 0.0001$; 图1D); OSCC-15, HSC3, Tca8113, Cal27组细胞中let-7a相对表达水平分别为 0.15 ± 0.04 , 0.15 ± 0.05 , 0.26 ± 0.04 , 0.45 ± 0.10 , 均明显低于NOK1组

的 1.01 ± 0.05 , 差异有统计学意义($t_1=23.263$, $t_2=21.066$, $t_3=20.288$, $t_4=8.676$, $P<0.05$), 其中 OSCC-15, HSC3 细胞系中 let-7a 表达量最低, 用于后续实验(图1E)。

2.2 Let-7a 抑制 OSCC-15, HSC3 细胞迁移和侵袭

RT-qPCR 检测 let-7a 相对表达量(图2A, 2B),

OSCC-15, HSC3 细胞中 let-7a 组 let-7a 相对表达水平分别为 8.10 ± 0.16 和 7.40 ± 0.30 , 高于 miR-con 组的 1.03 ± 0.21 和 1.10 ± 0.21 , 差异有统计学意义($t_1=46.384$, $t_2=29.798$, $P<0.05$)。Transwell 小室检测细胞迁移和侵袭, 转染 let-7a mimics 后, OSCC-15, HSC3 细胞迁移和侵袭数量明显减少($P<0.05$; 图2C, 2D)。

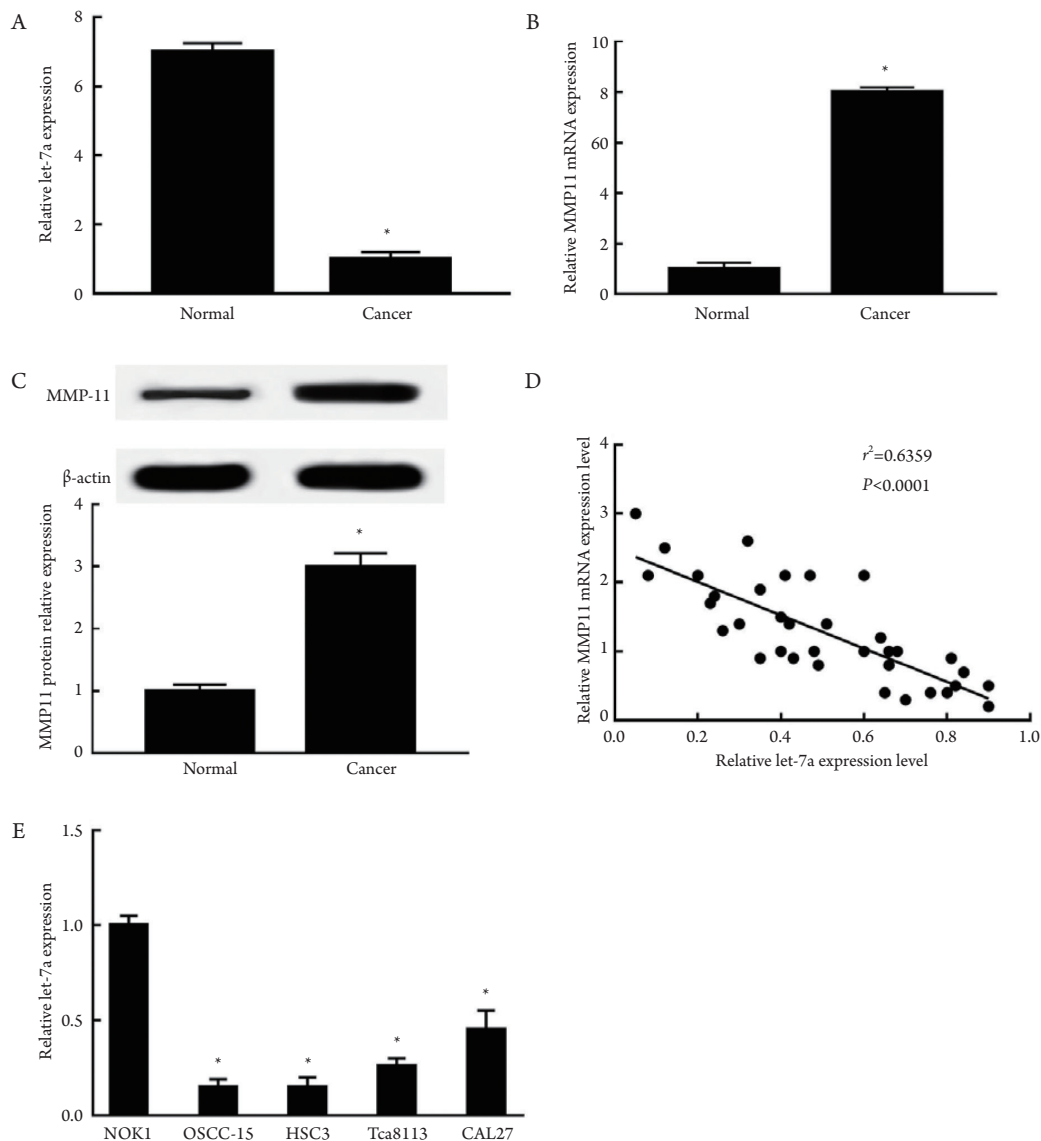


图1 Let-7a和MMP11在口腔鳞状细胞癌组织及其细胞系中的表达

Figure 1 Expression of let-7a and MMP11 in human oral squamous cell carcinoma tissues and cells

(A) Let-7a 在正常牙龈黏膜组织和 OSCC 癌组织中相对表达水平; (B) MMP11 在正常牙龈黏膜组织和 OSCC 癌组织中相对表达水平; (C) MMP11 蛋白在正常牙龈黏膜组织和 OSCC 癌组织中相对表达水平; (D) let-7a 和 MMP11 的相关性; (E) let-7a 在 OSCC 细胞系中相对表达水平。与 Normal 组或 NOK1 组相比, $*P<0.05$ 。

(A) Expression of let-7a in normal gingival mucosa and OSCC cancer tissues; (B) Expression of MMP11 in normal gingival mucosa and OSCC cancer tissues; (C) Expression of MMP11 protein in normal gingival mucosa and OSCC cancer tissues; (D) Relation of let-7a and MMP11; (E) Expression of let-7a in OSCC cells. Compared with the normal group or NOK1 group, $*P<0.05$.

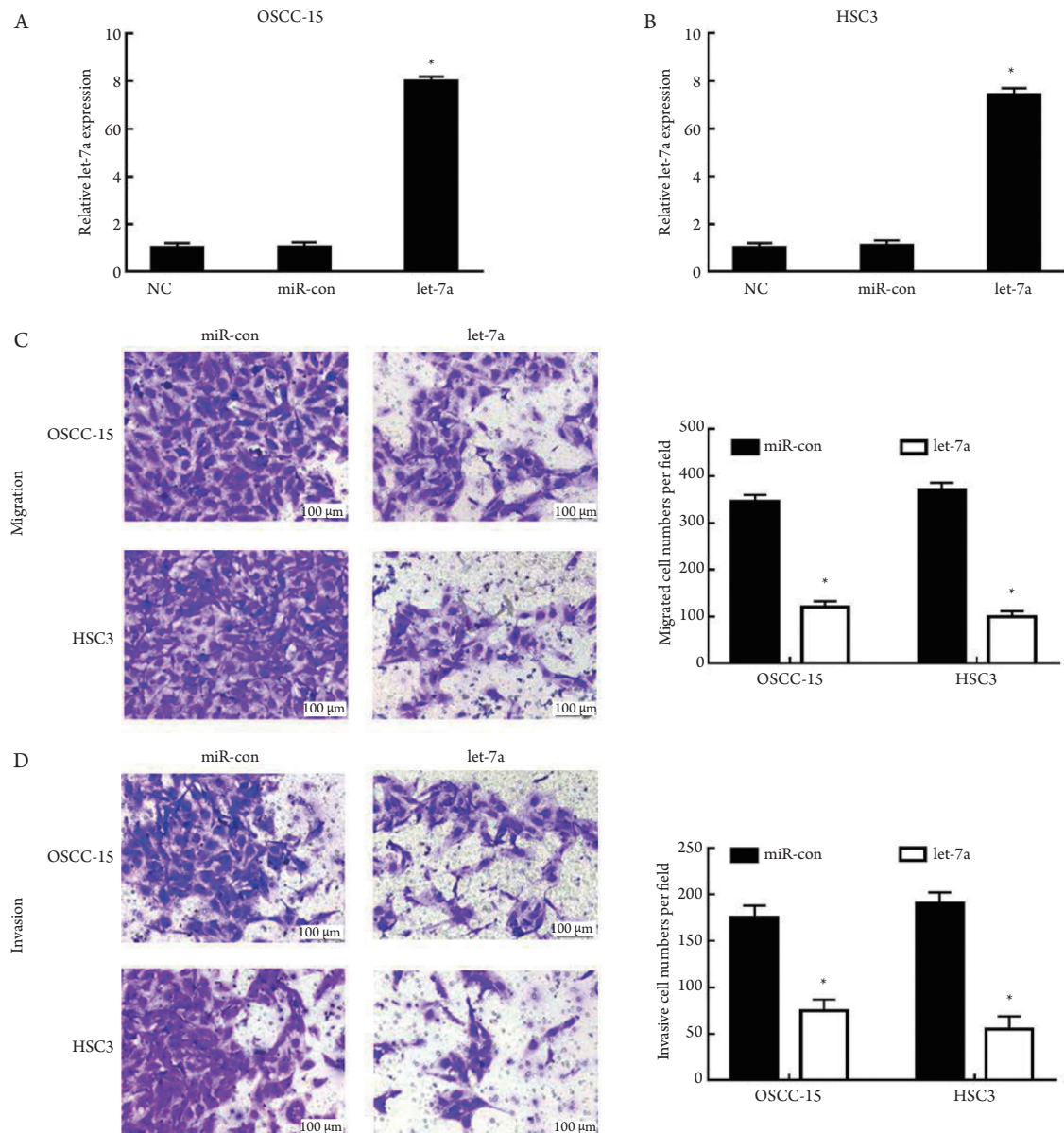


图2 Let-7a抑制OSCC-15, HSC3细胞迁移和侵袭

Figure 2 Let-7a could inhibit migration and invasion of OSCC-15 and HSC3 cells

(A)不同处理组OSCC-15细胞中let-7a相对表达水平; (B)不同处理组HSC3细胞中let-7a相对表达水平; (C)过表达let-7a OSCC-15和HSC3细胞迁移数; (D)过表达let-7a OSCC-15和HSC3细胞侵袭数。与NC组或miR-con组相比, * $P < 0.05$ 。

(A) Expression of let-7a in various OSCC-15 cells; (B) Expression of let-7a in various HSC3 cells; (C) Cell migration of let-7a over-expression in OSCC-15 and HSC3 cells; (D) Cell invasion of let-7a over-expression in OSCC-15 and HSC3 cells. Compared with the NC or miR-con group, * $P < 0.05$.

2.3 敲减MMP11抑制OSCC-15, HSC3细胞迁移和侵袭

Western印迹法检测MMP11蛋白表达, 发现OSCC-15和HSC3细胞si-MMP11组MMP11蛋白表达分别为 0.40 ± 0.11 和 0.60 ± 0.10 , 低于si-con组的 1.01 ± 0.09 和 1.03 ± 0.12 , 差异有统计学意义($t_1 = 7.434$, $t_2 = 4.768$, $P < 0.05$; 图3A, 3B)。

Transwell检测发现敲减MMP11能明显抑制OSCC-15和HSC3细胞迁移, 抑制细胞迁移的数目为 135.00 ± 12.33 和 162.00 ± 14.33 , 低于si-con组的 320.33 ± 15.00 和 366.00 ± 17.67 , 差异有统计学意义($t_1 = 16.681$, $t_2 = 15.5723$, $P < 0.05$; 图3C); 敲减MMP11能明显抑制OSCC-15和HSC3细胞侵袭, 抑制细胞侵袭的数目为 104.33 ± 10.67 和

118.67±11.33, 低于si-con组的243.33±15.33和261.67±17.33, 差异有统计学意义($t_1=13.066$, $t_2=12.147$, $P<0.05$; 图3D)。

2.4 Let-7a 调控 MMP11 表达

TargetScan在线预测发现MMP11 3'-UTR上存在let-7a的结合位点, 猜测MMP11是let-7a的潜在靶基因, 为验证这一结论进行双荧光素酶报告基因实验(图4B, 4C), 在OSCC-15, HSC3细胞中转染let-7a模拟物能明显抑制

MMP11 3'-UTR-Wt荧光酶活性($P<0.05$), 而不影响MMP11 3'-UTR-Mut荧光酶活性。Western印迹法实验结果(图4D, 4E)显示: 在OSCC-15, HSC3细胞中, let-7a组MMP11蛋白表达分别为0.40±0.11和0.41±0.10, 低于miR-con组1.05±0.09和1.04±0.11, 差异有统计学意义($t_1=7.921$, $t_2=7.340$, $P<0.05$); anti-let-7a组MMP11蛋白表达分别为2.29±0.12和2.31±0.10, 低于miR-con组1.03±0.10和1.01±0.09, 差异有统计学意义($t_1=13.971$, $t_2=16.737$, $P<0.05$)。

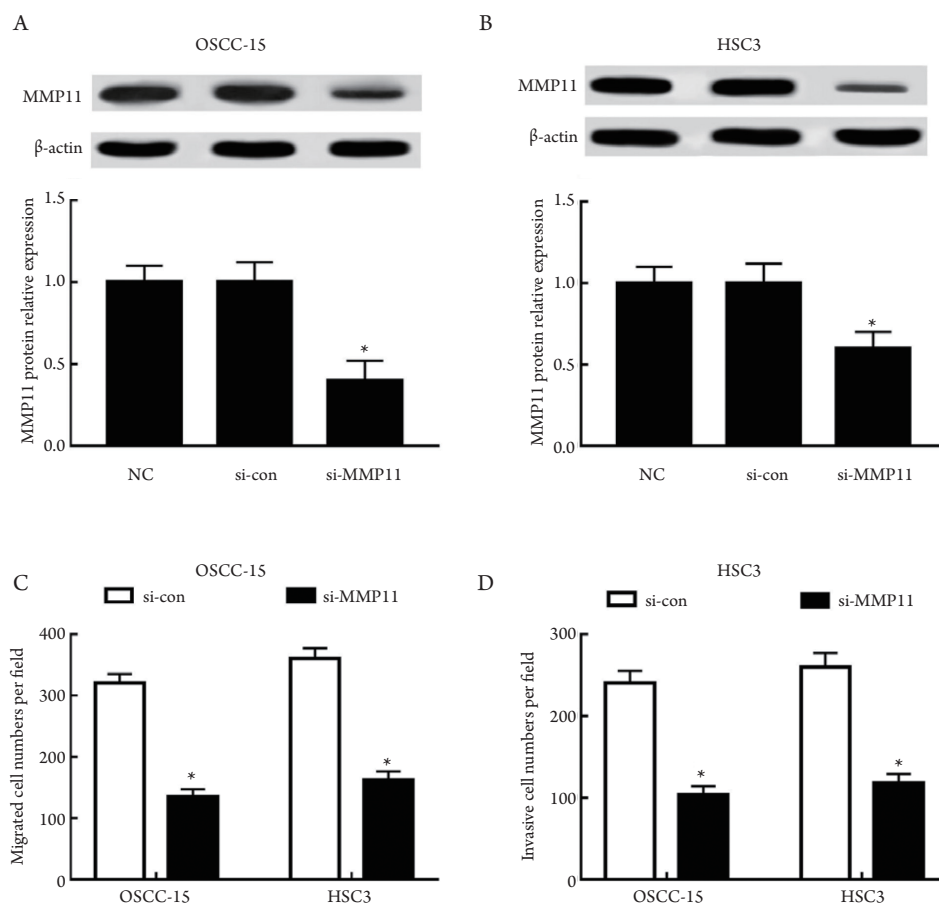


图3 敲减MMP11抑制OSCC-15, HSC3细胞迁移和侵袭

Figure 3 Knocking down the expression of MMP11 could inhibit migration and invasion of OSCC-15 and HSC3 cells

(A)不同处理组OSCC-15细胞MMP11蛋白表达水平; (B)不同处理组HSC3细胞MMP11蛋白表达水平; (C)敲减MMP11后OSCC-15, HSC3细胞迁移数变化; (D)敲减MMP11后OSCC-15, HSC3细胞侵袭数变化。与NC组或si-con组相比, $*P<0.05$ 。(A) Expression of MMP11 protein in various OSCC-15 cells; (B) Expression of MMP11 protein in various HSC3 cells; (C) Cell migration after knocking down the expression of MMP11 in OSCC-15 and HSC3 cells; (D) Cell invasion after knocking down the expression of MMP11 in OSCC-15 and HSC3 cells. Compared with the NC or si-con group, $*P<0.05$.

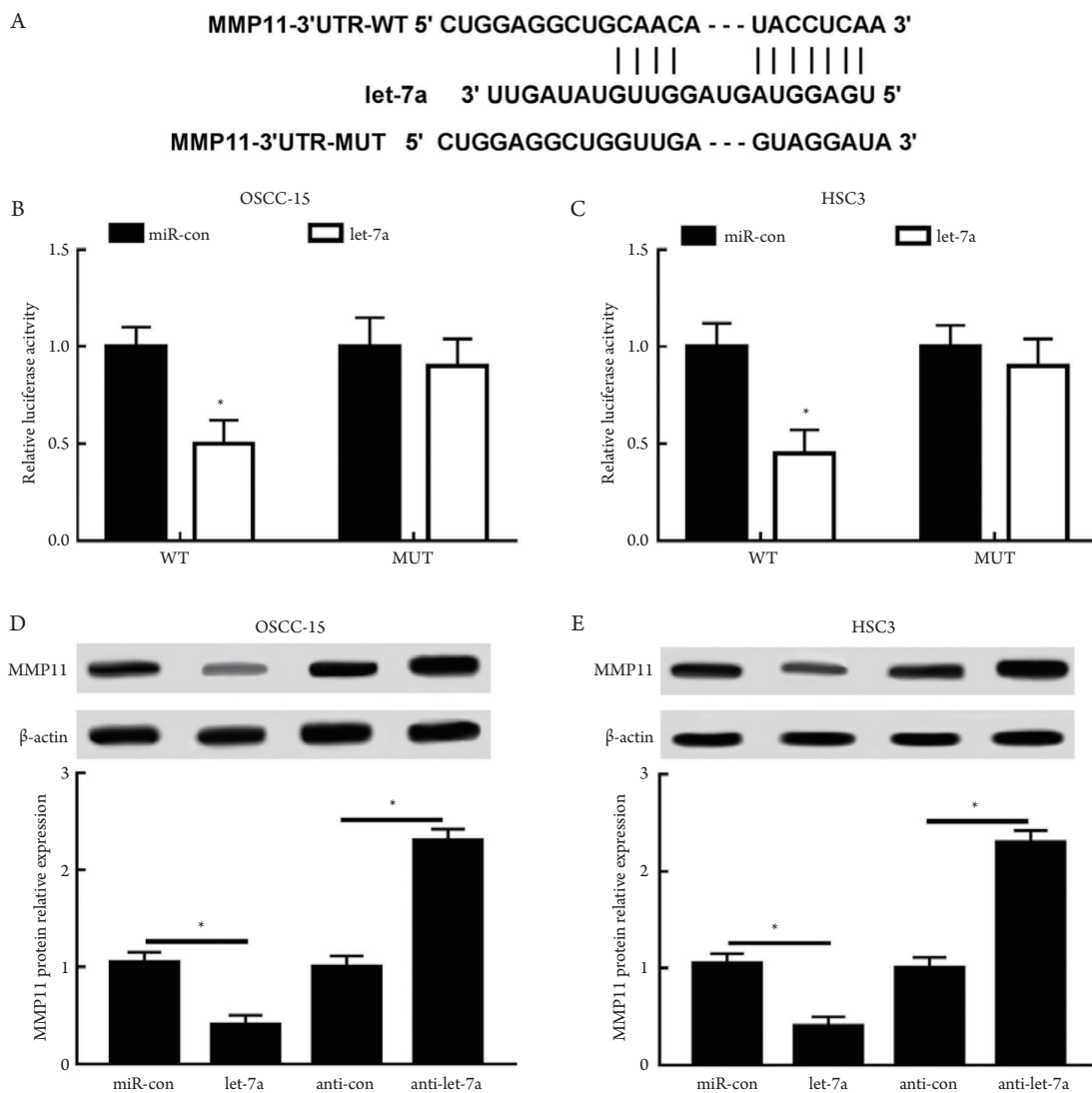


图4 Let-7a调控MMP11表达

Figure 4 Let-7a could regulate the expression of MMP11

(A) Let-7a和MMP11互补配对; (B) OSCC-15细胞中双荧光素酶活性检测结果; (C) HSC3细胞中双荧光素酶活性检测结果; (D) MMP11在不同处理组OSCC-15细胞中蛋白表达; (E) MMP11在不同处理组HSC3细胞中蛋白表达。与miR-con组或anti-miR-con组相比, $*P < 0.05$ 。

(A) Complementary sequence of let-7a and MMP11; (B) Result of dual-luciferase assay in OSCC-15 cells; (C) Result of dual-luciferase assay in HSC3 cells; (D) Expression of MMP11 protein in various OSCC-15 cells; (E) Expression of MMP11 protein in various HSC3 cells. Compared with the miR-con or anti-miR-con group, $*P < 0.05$.

2.5 MMP11 逆转 let-7a 对 OSCC-15, HSC3 细胞迁移和侵袭的抑制作用

Transwell检测不同处理组细胞的迁移和侵袭(图5), OSCC-15和HSC3细胞中let-7a组迁移细胞数分别为 121.00 ± 8.20 和 106.00 ± 10.00 , 侵袭细胞分别为 78.00 ± 9.90 和 85.00 ± 10.10 , 低于miR-con组的 339.00 ± 12.10 , 310.00 ± 11.90 , 190.00 ± 10.20 , 210.00 ± 10.00 , 差异有统计学意义

($t_1=25.833$, $t_2=22.732$, $t_3=13.647$, $t_4=15.233$, $P < 0.05$); let-7a+pcDNA-MMP11组迁移细胞数分别为 305.00 ± 13.40 和 279.00 ± 12.80 , 侵袭细胞分别为 160.00 ± 10.90 和 179.00 ± 11.10 , 低于let-7a+pcDNA-control组的 114.00 ± 8.10 , 105.00 ± 9.30 , 73.00 ± 9.20 , 90.00 ± 8.90 , 差异有统计学意义($t_1=21.128$, $t_2=19.048$, $t_3=10.565$, $t_4=10.835$, $P < 0.05$)。

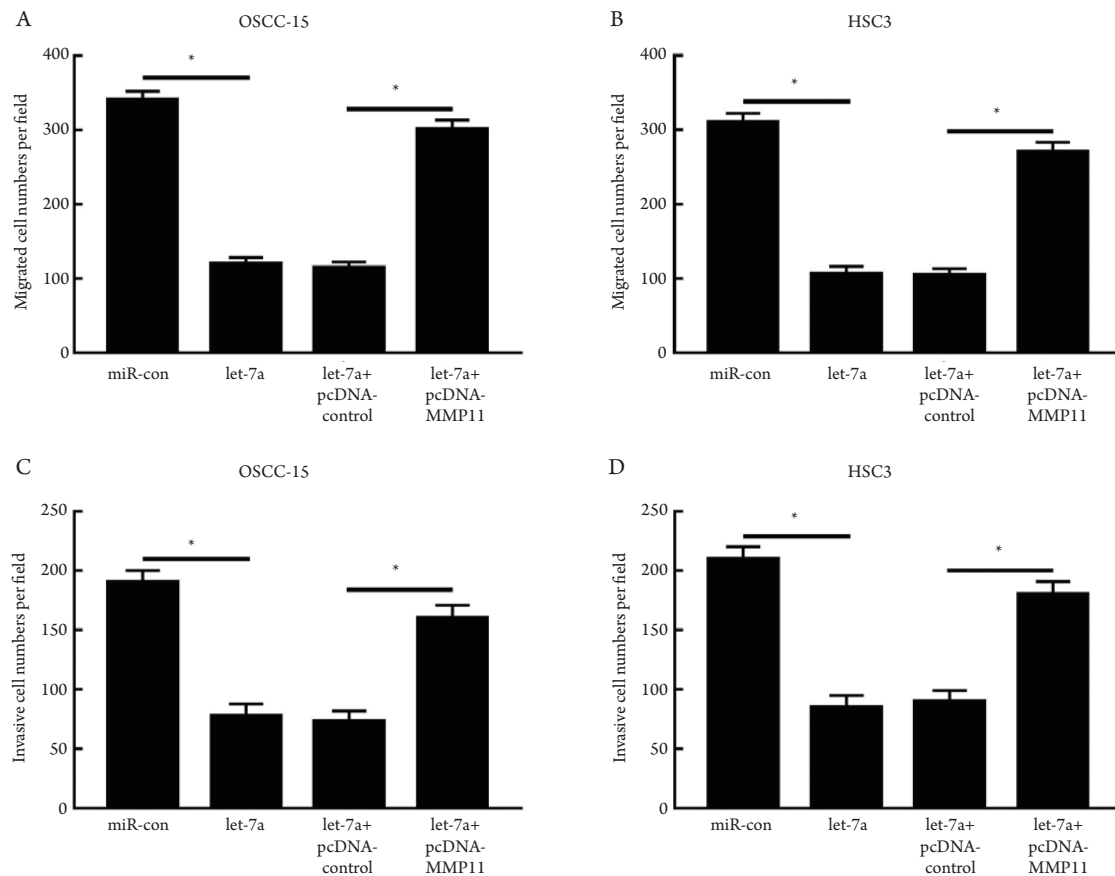


图5 MMP11逆转let-7a对OSCC-15、HSC3细胞迁移和侵袭的抑制作用

Figure 5 MMP11 could reverse the inhibition of let-7a on migration and invasion in OSCC-15 and HSC3 cells

(A)各处理组OSCC-15细胞迁移数变化；(B)各处理组HSC3细胞迁移数变化；(C)各处理组OSCC-15细胞侵袭数变化；(D)各处理组HSC3细胞侵袭数变化。* $P < 0.05$ 。

(A) Cell migration in various OSCC-15 cells; (B) Cell migration in various HSC-3 cells; (C) Cell invasion in various OSCC-15 cells; (D) Cell invasion in various HSC-3 cells. * $P < 0.05$.

3 讨论

OSCC是最常见的头颈部恶性肿瘤，极易向周围淋巴或血管等正常组织侵袭，导致其治疗及预后效果不佳^[10]。针对OSCC，目前主要的治疗方式仍是以手术为主、放疗或化疗为辅^[11]。虽然这一治疗方案取得了一定效果，但对患者身体产生毒副作用很大^[12]。因此，急需找到新型有效的治疗方式。近年来研究^[13]证明microRNA能通过调控靶mRNA表达抑制或促进肿瘤细胞生长、迁移，有些已经成为肿瘤前期诊断和预后评估中的分子标志物。MiR-133a-3p^[14]，miR-1^[15]，miR-20a^[16]等多种microRNA过表达能抑制OSCC细胞增殖、迁移及侵袭，抑制OSCC扩散。

Let-7家族是在人体中最早被鉴定出来的microRNA，能够调控细胞的增殖、分化、凋亡，

抑制多种肿瘤细胞生长、侵袭，被认为肿瘤抑制因子^[17]。Let-7a在多种肿瘤组织中表达下调，过表达let-7a能抑制肿瘤细胞生长、侵袭^[18-19]。Tang等^[18]研究表明：let-7a在胃癌中具有抗肿瘤作用，抑制癌细胞增殖和侵袭；Li等^[20]研究表明：let-7a能明显促进胶质瘤细胞凋亡，抑制细胞迁移；此外，在宫颈癌中let-7a表达下调，过表达let-7a能明显抑制癌细胞生长，促进细胞凋亡^[21]。在OSCC研究中，文献[8]报道let-7a能抑制癌细胞迁移和侵袭，但其作用机制并未完全明确。为探讨OSCC中let-7a的其他作用机制，本文检测49例OSCC组织和32例正常牙龈黏膜组织中let-7a的表达，发现let-7a在OSCC组织中表达明显下调，转染let-7a mimics，OSCC-15，HSC3细胞迁移和侵袭数减少。表明let-7a能抑制OSCC细胞株OSCC-15，HSC3细胞迁移和侵袭，与上述结论^[8]一致。

通过在线预测及双荧光素酶报告基因法验证可知MMP11是let-7a的潜在靶基因。

MMP11是MMP的一员, 最早在乳腺癌中被发现, 具有抗凋亡功能, 在肿瘤中能抑制癌细胞凋亡并促进肿瘤的发展^[22]。黄红颜等^[23]研究发现: MMP11在乳腺癌中高表达, 干扰MMP11表达能明显抑制癌细胞迁移和侵袭。在胰腺癌细胞中, MMP11与癌细胞迁移和侵袭有关, 过表达MMP11能促进胰腺癌的发生发展^[24]。OSCC患者5年生存率低, Hsin等^[25]通过检测OSCC组织中MMP11表达, 发现MMP11表达水平越高则患者存活率越低。上述研究均表明MMP11能促进癌细胞的生长及迁移, 有助于肿瘤的发生发展。为探讨OSCC中let-7a和MMP11的具体作用机制, 本研究以Western印迹法检测MMP11在OSCC组织和正常组织中的表达, 发现OSCC中MMP11蛋白表达明显上调, 且let-7a与MMP11表达水平呈负相关。在OSCC-15和HSC3细胞中, 敲减MMP11, 细胞迁移和侵袭数明显减少, 回补MMP11能逆转let-7a对OSCC-15和HSC3细胞迁移和侵袭的抑制作用。

综上所述, 在OSCC中, let-7a不仅能靶向STAT3抑制OSCC细胞迁移和侵袭^[8], 同时能靶向调控MMP11表达, 从而抑制OSCC细胞株OSCC-15和HSC3细胞迁移和侵袭, 为OSCC的治疗和预后提供新靶点。

参考文献

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5-29.
2. Keshavarzi M, Darijani M, Momeni F, et al. Molecular imaging and oral cancer diagnosis and therapy[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(10): 3055-3060.
3. Büsling I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(9): 400-409.
4. Balzeau J, Menezes MR, Cao S, et al. The LIN28/let-7 pathway in cancer[J]. *Front Genet*, 2017, 8: 31.
5. Tang R, Yang C, Ma X, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5972-5984.
6. Zhou B, Shan H, Su Y, et al. Let-7a inhibits migration, invasion and tumor growth by targeting AKT2 in papillary thyroid carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(41): 69746-69755.
7. Guo M, Zhao X, Yuan X, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in cervical cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28226-28236.
8. Li X, Ding R, Han Z, et al. Targeting of cell cycle and let-7a/STAT3 pathway by niclosamide inhibits proliferation, migration and invasion in oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 434-442.
9. Peruzzi D, Mori F, Conforti A, et al. MMP11: a novel target antigen for cancer immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(12): 4104-4113.
10. Capote-Moreno A, Naval L, Muñoz-Guerra MF, et al. Prognostic factors influencing contralateral neck lymph node metastases in oral and oropharyngeal carcinoma[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2010, 68(2): 268-275.
11. 曹雨庵, 郭伟. 我国口腔鳞癌的治疗现状[J]. *实用肿瘤杂志*, 2012, 27(2): 109-112.
CAO Yuan, GUO Wei. The current status of oral squamous cell carcinoma in China[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2012, 27(2): 109-112.
12. 陆建荣, 张玲, 班华杰, 等. TOF方案诱导化疗口腔鳞癌的近期疗效及不良反应观察[J]. *右江医学*, 2017, 45(1): 20-23.
LU Jianrong, ZHANG Ling, BAN Huajie. Observation of short term efficacy and adverse effects of TOF regimen in the chemotherapy of oral squamous cell carcinoma[J]. *Youjiang Medical Journal*, 2017, 45(1): 20-23.
13. Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460-469.
14. He B, Lin X, Tian F, et al. MiR-133a-3p inhibits oral squamous cell carcinoma (OSCC) proliferation and invasion by suppressing COL1A1[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 119(1): 338-346.
15. Peng CY, Liao YW, Lu MY, et al. Downregulation of miR-1 enhances tumorigenicity and invasiveness in oral squamous cell carcinomas[J]. *J Formos Med Assoc*, 2017, 116(10): 782-789.
16. Hu J, Ge W, Xu J. HPV 16 E7 inhibits OSCC cell proliferation, invasion, and metastasis by upregulating the expression of miR-20a[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(7): 9433-9440.
17. Sun X, Liu J, Xu C, et al. The insights of Let-7 miRNAs in oncogenesis and stem cell potency[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(9): 1779-1788.
18. Tang R, Yang C, Ma X, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5972-5984.
19. Mansoori B, Mohammadi A, Shirjang S, et al. Micro RNA 34a and let-7a expression in human breast cancers is associated with apoptotic expression genes[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(4): 1887-1890.
20. Li Y, Zhang X, Chen D, et al. Let-7a suppresses glioma cell proliferation and invasion through TGF- β /Smad3 signaling pathway by targeting HMGA2[J]. *Tumor Biol*, 2015, 37(6): 8107-8119.
21. Guo M, Zhao X, Yuan X, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in cervical

- cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28226-28236.
22. Zhang X, Huang S, Guo J, et al. Insights into the distinct roles of MMP-11 in tumor biology and future therapeutics (review)[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(5):1783-1793.
23. 黄红颜, 谭金祥, 任国胜. 基质金属蛋白酶-11协同14促进乳腺癌发展[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(7): 996-999.
- HUANG Hongyan, TAN Jinxiang, REN Guosheng. Matrix metalloproteinases-11 collabrotive matrix metalloproteinases-14 promote development of breast carcinoma[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2016, 32(7): 996-999.
24. 蒋浩海, 穆向明, 李晓红, 等. Let-7f调节MMP-11影响胰腺癌侵袭迁移[J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(16): 2608-2612.
- JIANG Haohai, MU Xiangming, LI Xiaohong, et al. Influence of Let-7f regulation on MMP-11 in migration and invasion of pancreatic cancer[J]. 2016, 32(16):2608-2612.
25. Hsin CH, Chou YE, Yang SF, et al. MMP-11 promoted the oral cancer migration and FAK/Src activation[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 32783-32793.

本文引用: 魏薇, 唐祎, 代婧, 陈胡杰. Let-7a通过靶向基质金属蛋白酶-11抑制口腔鳞状细胞癌细胞迁移和侵袭[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(11): 2298-2307. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.003

Cite this article as: WEI Wei, TANG Yi, DAI Jing, CHEN Hujie. Let-7a inhibits migration and invasion of human oral squamous cell carcinoma cells by targeting matrix metalloproteinase-11[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(11): 2298-2307. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.003