

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.002

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.002>

## MiRNA-206 通过抑制 CDK9 表达对鼻咽癌 CNE2 细胞的生长及转移的影响

王晓辉, 沙树奎, 闫嘉俊, 姚明月

(南阳市中医院耳鼻咽喉头颈外科, 河南 南阳 473003)

**[摘要]** 目的: 探讨miRNA-206对人鼻咽癌CNE2细胞的增殖和转移能力的影响, 并分析细胞周期蛋白依赖性激酶9(cyclin-dependent kinase 9, CDK9)在其中的作用。方法: 采用实时荧光定量PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)法检测miR-206在鼻咽上皮NP69细胞和人鼻咽癌CNE2细胞中的表达水平后, 将miR-206模拟物或对照物分别导入CNE2细胞。通过CCK-8试验、Annexin V-FITC/PI染色、克隆形成试验、Transwell细胞迁移试验和Transwell细胞侵袭试验分别评价miR-206过表达对CNE2细胞活力、凋亡、克隆形成、迁移和侵袭的影响。最后采用蛋白质印迹法检测CDK9在NP69细胞和CNE2细胞中的表达。进一步检测过表达CDK9对miR-206过表达CNE2细胞的迁移和侵袭的影响。结果: MiR-206在CNE2细胞系中低表达。MiR-206过表达降低CNE2细胞的活性、克隆形成、迁移、侵袭并诱导细胞凋亡。CNE2细胞中CDK9呈现高表达。过表达miR-206显著抑制CNE2细胞中CDK9表达水平; 而CDK9过表达能逆转miR-206过表达对CNE2细胞侵袭与迁移的抑制作用。结论: MiRNA-206对CNE2细胞的生长和转移起抑制作用, 可通过抑制CDK9表达来介导。

**[关键词]** miRNA-206; 细胞周期蛋白依赖性激酶9; 鼻咽癌; 增殖; 转移

## Effect of miRNA-206 on the growth and metastasis of nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells by inhibiting expression of CDK9

WANG Xiaohui, SHA Shukui, YAN Jiajun, YAO Mingyue

(Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Nanyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanyang Henan 473003, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the effect of miR-206 on proliferation and metastasis of human nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells, and to analyze the role of cyclin-dependent kinase 9 (CDK9). **Methods:** Expression levels of miR-206 in nasopharyngeal epithelial NP69 cells and human nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). The mimic and control of miR-206 were introduced into CNE2 cells, respectively. CCK-8 assay, Annexin V-FITC/PI staining, clone formation assay, transwell migration assay and transwell invasion assay were used to evaluate the effect of miR-206 over-

收稿日期 (Date of reception): 2019-01-14

通信作者 (Corresponding author): 王晓辉, Email: 647003147@qq.com

expression on cell viability, apoptosis, colony formation, migration and invasion in CNE2 cells, respectively. Finally, Expression levels of CDK9 in CNE2 cells and NP69 cells were detected by Western blot. The effect over-expression of CDK9 on migration and invasion in over-expression of miR-206 of CNE2 cells was further detected. **Results:** MiR-206 was lower expression in CNE2 cells. Over-expression of miR-206 decreased cell viability, colony formation, migration and invasion and induced apoptosis in CNE2 cells. CDK9 was higher expression in CNE2 cells. Over-expression of miR-206 inhibited Expression of CDK9 in CNE2 cells. However, over-expression of CDK9 could reverse the inhibitory effect of over-expression of miR-206 on the invasion and migration of CNE2 cells. **Conclusion:** MiRNA-206 inhibits the growth and metastasis in CNE2 cells, which may be mediated through inhibiting Expression of CDK9.

**Keywords** miRNA-206; cyclin-dependent kinase 9; nasopharyngeal carcinoma; proliferation; metastasis

鼻咽癌是我国南方和东南亚地区最常见的头颈部肿瘤,同时也是这些地区最严重的公共卫生问题之一<sup>[1]</sup>。目前,放射治疗(简称“放疗”)是鼻咽癌的首选治疗方法,尽管放化疗已被证明能提高生存,鼻咽癌5年局部控制率虽已达到80%~90%,但仍有15%~30%的患者会发生远处转移<sup>[2]</sup>。因此,阐明鼻咽癌转移的机制对于改善预后和治疗效果具有重要意义。微小RNA(microRNAs, miRNA)通过与靶mRNA的特异性结合参与基因表达的转录后调控,会导致翻译抑制或mRNA降解<sup>[3]</sup>。MiRNA在不同种类的肿瘤中充当肿瘤抑制基因或癌基因的功能,调控多种癌细胞的增殖、侵袭、迁移和凋亡<sup>[4]</sup>。MiR-206参与多种疾病的发生发展,包括肺病<sup>[5]</sup>、心力衰竭<sup>[6]</sup>、阿尔茨海默病<sup>[7]</sup>及各种癌症<sup>[8]</sup>。在透明细胞肾细胞癌、胃癌和横纹肌肉瘤中,miR-206通常表达下调<sup>[9-10]</sup>,在肿瘤的发生发展中起负向调节细胞周期和抑癌作用。然而miR-206在鼻咽癌发生发展中的作用机制尚不清楚。细胞周期蛋白依赖性激酶9(cyclin-dependent kinase 9, CDK9)是正转录延长因子b(P-TEFb)的激酶,在细胞周期调控和细胞凋亡中起重要作用<sup>[11]</sup>。CDK9与许多转录因子(transcription factor, TF)相互作用,并调节抗凋亡蛋白的表达以维持癌细胞的存活<sup>[12]</sup>。CDK9在大多数恶性肿瘤中表达失调,并在鼻咽癌中其表达上调<sup>[13]</sup>。抑制CDK9活性可导致短寿命抗凋亡蛋白迅速下调,抑制细胞增殖,诱导癌细胞凋亡。因此推测抑制CDK9可能有利于鼻咽癌的治疗。本研究旨在探索miR-206对鼻咽癌细胞的生长与转移的影响,并分析CDK9与miR-206之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人鼻咽癌细胞系CNE2及鼻咽上皮细胞系NP69

购自上海素冉生物公司;胎牛血清、RPMI-1640培养基、表皮生长因子、脂质体2000试剂和辣根过氧化物酶购自美国Invitrogen公司;TRIzol试剂盒、RNA反转录试剂盒和Annexin/PI染色试剂盒购自美国AppliedBio公司;PrimeScript RT试剂盒、SYBR预混Ex Taq购自北京Takara公司;CDK9和Tublin蛋白一抗购自美国Santa Cruz公司;PVDF膜、BCA蛋白测定试剂盒、化学发光(ECL)试剂盒购自美国Millipore公司;CCK-8检测试剂盒购自广州赖德生物公司;跨孔室购自美国康宁公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

CNE2细胞系在添加10%胎牛血清的RPMI-1640中培养, NP69为永生化的鼻咽上皮细胞系,在KSMF培养基中培养,该培养基中添加表皮生长因子。所有细胞系在37℃, 5%CO<sub>2</sub>加湿室中培养。

#### 1.2.2 RNA提取与实时荧光定量PCR

使用TRIzol试剂盒从细胞系中分离出包括miRNA的总RNA。分别使用RNA反转录试剂盒和PrimeScript RT试剂盒进行反转录。使用SYBR预混Ex Taq在ABI 7500实时PCR系统(Life Technologies, 美国)上进行实时荧光定量PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)。以U6作为内参对照。用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算miRNA的相对表达水平。

#### 1.2.3 MiRNA和慢病毒转染

MiR-206模拟物(miR-206 mimic)和阴性对照(miR-206-NC)均来源于上海GenePharma公司。根据制造商的说明,使用脂质体2000试剂(Invitrogen, 美国)进行辅助miR-206 mimic转染48 h。CDK9过表达及对照慢病毒购自上海吉凯生物公

司, 转染48 h。转染的细胞后进行实验。

#### 1.2.4 细胞增殖试验

使用CCK-8检测试剂盒检测细胞活性。MiR-206模拟物或NC转染CNE2细胞48 h后, 收集细胞, 以每孔 $1 \times 10^3$ 个细胞的密度接种到96孔板中。根据说明书, 连续4 d测定细胞生长速率。实验结束后, 将CCK-8溶液加入各孔中, 于37 °C下孵育1.5 h, 用微板阅读器(Bio-Rad)测量490 nm的光密度。

#### 1.2.5 细胞凋亡分析

用miR-206模拟物或NC转染CNE2细胞48 h后, 收集细胞, 在PBS中洗涤, 然后在室温下与500  $\mu$ L结合缓冲液、5  $\mu$ L FITC结合蛋白V和5  $\mu$ L碘化丙啶(PI)孵育15 min。流式细胞仪检测细胞凋亡率。

#### 1.2.6 集落形成试验

用miR-206模拟物或NC转染CNE2细胞48 h后, 将细胞接种于6孔板(500个细胞/孔)中。每4 d更换1次培养基。2周后, 用PBS冲洗, 甲醇固定, 0.5%结晶紫染色。在倒置显微镜(Olympus, 日本)下计数菌落数(>50个细胞)。

#### 1.2.7 迁移和入侵试验

采用孔径为8  $\mu$ m的Transwell跨孔室进行细胞迁移和侵袭检测。用miR-206模拟物或NC转染CNE2细胞48 h后, 收集细胞, 然后将无血清DMEM培养基制备的细胞悬液( $5 \times 10^4$ 个细胞)置于上腔, 上腔预先包被Matrigel(用于侵袭试验)或不包被Matrigel(用于迁移试验)。将含有10%FBS的培养基作为诱导剂添加到下腔室。细胞在37 °C下孵育24 h, 然后用棉签取出上腔室剩余的细胞。下腔室表面侵袭或迁移的细胞用100%甲醇固定, 0.5%结晶紫染色。在倒置显微镜下, 从每个腔室中随机选取5个区域, 观察并计数侵袭和迁移的细胞数目。

#### 1.2.8 蛋白质印迹法

用RIPA缓冲液裂解转染的细胞。用BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。通过12%SDS-PAGE将等量的蛋白质(40  $\mu$ g)分离, 然后转移到PVDF膜上。用5%脱脂牛奶在4 °C下隔夜封闭, 然后与CDK9和Tublin蛋白一抗在4 °C下孵育, 与相应的辣根过氧化物酶(HRP)孵育。用ECL试剂盒进行化学发光显影, 用Tublin蛋白作为内参, 使用Image J软件对蛋白条带灰度值进行扫描。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 18.0统计学软件进行数据分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。采用双尾非配对

*t*检验分析两组间差异的统计学意义。所有实验至少独立进行3次。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MiR-206在CNE2细胞中低表达

与NP69细胞相比, CNE2细胞中miR-206表达显著降低( $P < 0.01$ , 图1A)。为进一步探讨miR-206在鼻咽癌中的生物学作用, 将miR-206模拟物或对照物分别转染CNE2细胞, RT-qPCR结果显示: miR-206模拟物转染组的CNE2细胞的miR-206表达较NC转染组增加了3倍以上(图1B)。

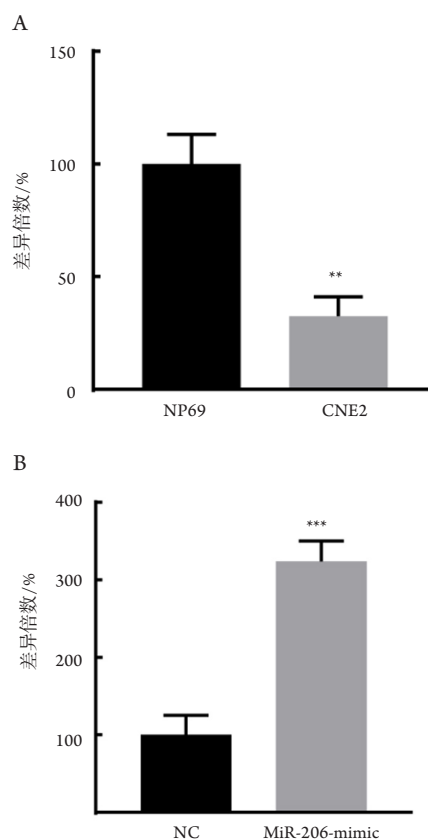


图1 MiR-206在CNE2细胞中的表达

Figure 1 Expression of miR-206 in CNE2 cells

(A) miR-206在鼻咽上皮细胞系(NP69)和人鼻咽癌细胞系(CNE2)中的表达水平。\*\* $P < 0.01$  vs NP69 cells; (B) CNE2细胞转染miR-206 mimic后, miR-206的表达水平。\*\*\* $P < 0.001$  vs NC group。

(A) Expression of miR-206 in nasopharyngeal epithelial cell line (NP69) and human nasopharyngeal carcinoma cell line (CNE2). \*\* $P < 0.01$  vs NP69 cells; (B) Expression level of miR-206 in CNE2 cells after transfected with miR-206 mimic. \*\*\* $P < 0.001$  vs NC group.

## 2.2 MiR-206 过表达降低 CNE2 细胞的活性并诱导凋亡

CCK-8 检测结果显示: 与 NC 转染组相比, miR-206 模拟物转染组的 CNE2 细胞在 1~4 d 的  $D(490\text{ nm})$  值均显著降低 ( $P < 0.01$ , 图 2A), 说明 miR-206 过表达抑制 CNE2 细胞的活性。流式细胞仪检测显示: miR-206 的高表达显著提高 CNE2 细胞的凋亡百分率 ( $P < 0.01$ ; 图 2B, 2C)。

## 2.3 MiR-206 过表达降低 CNE2 细胞的生长能力

细胞集落形成结果显示: miR-206 模拟物转染组的 CNE2 细胞的集落数较 NC 转染组明显减少 ( $P < 0.01$ , 图 3), 提示细胞生长能力下降。

## 2.4 MiR-206 过表达降低 CNE2 细胞的迁移和侵袭能力

Transwell 试验结果显示: 与 NC 转染组比较, miR-206 模拟物转染组的 CNE2 细胞的侵袭细胞

数 ( $P < 0.001$ ; 图 4A, 4B) 和迁移细胞数 ( $P < 0.01$ ; 图 4C, 4D) 均明显降低, 说明 miR-206 过表达减弱 CNE2 细胞侵袭和迁移。

## 2.5 MiR-206 过表达降低 CNE2 细胞 CDK9 的表达

与 NP69 细胞相比, CNE2 细胞中 CDK9 表达显著增加 ( $P < 0.01$ ; 图 5A, 5B); miR-206 过表达显著抑制了 CNE2 细胞中 CDK9 蛋白质表达水平 ( $P < 0.01$ ; 图 5C, 5D)。与 miR-206 mimic 转染组比较, 过表达 CDK9 促进 miR-206 过表达的 CNE2 细胞侵袭数明显增加 ( $P < 0.001$ ; 图 5E, 5F) 和细胞迁移数也明显增加 ( $P < 0.01$ ; 图 5G, 5H)。提示 CDK9 过表达逆转 miR-206 过表达对 CNE2 细胞侵袭迁移抑制作用, 进一步说明 CDK9 参与 miR-206 对 CNE2 细胞生长与转移的调控。

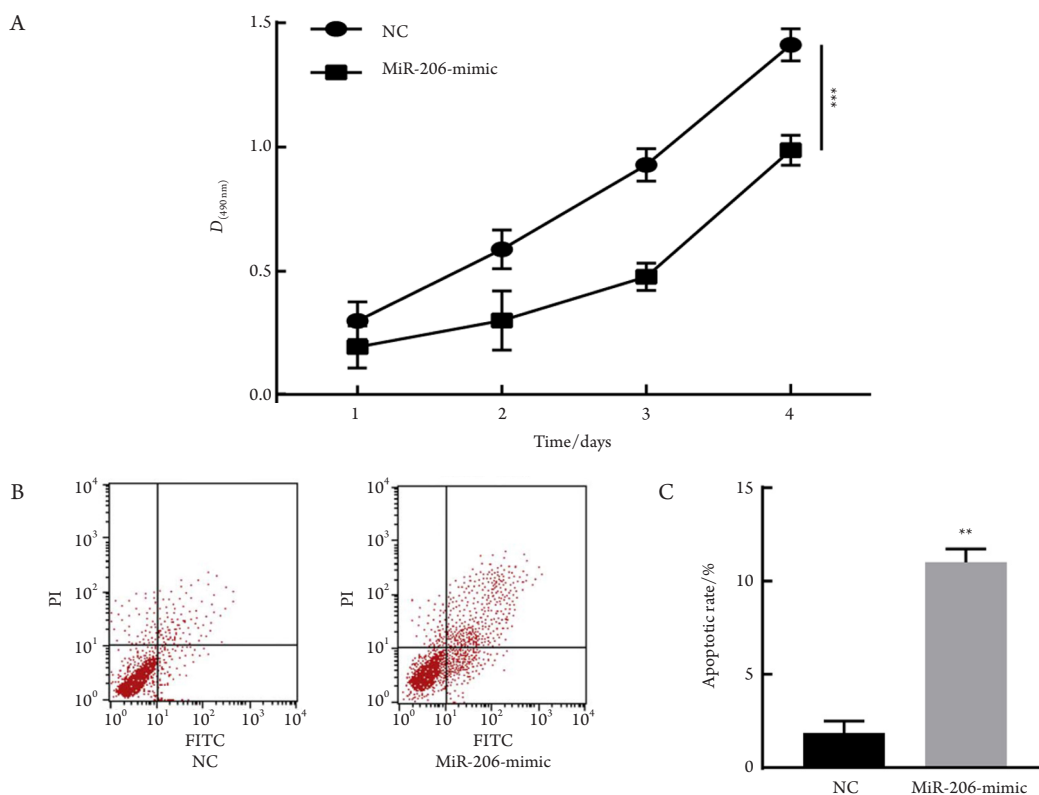


图2 miR-206过表达抑制CNE2细胞的活性并诱导凋亡

Figure 2 Over-expression of miR-206 inhibits cell viability and induces apoptosis in CNE2 cells

(A) 过表达miR-206后CNE2细胞的活性水平; (B) 流式细胞术检测CNE2细胞过表达miR-206后的凋亡情况; (C) 流式细胞术的统计结果。\*\* $P < 0.001$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs NC组。

(A) Cell viability level of CNE2 cells after over-expression of miR-206; (B) Flow cytometry was used to detect apoptosis of CNE2 cells after over-expression of miR-206; (C) Statistical results of flow cytometry. \*\* $P < 0.001$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs NC group.

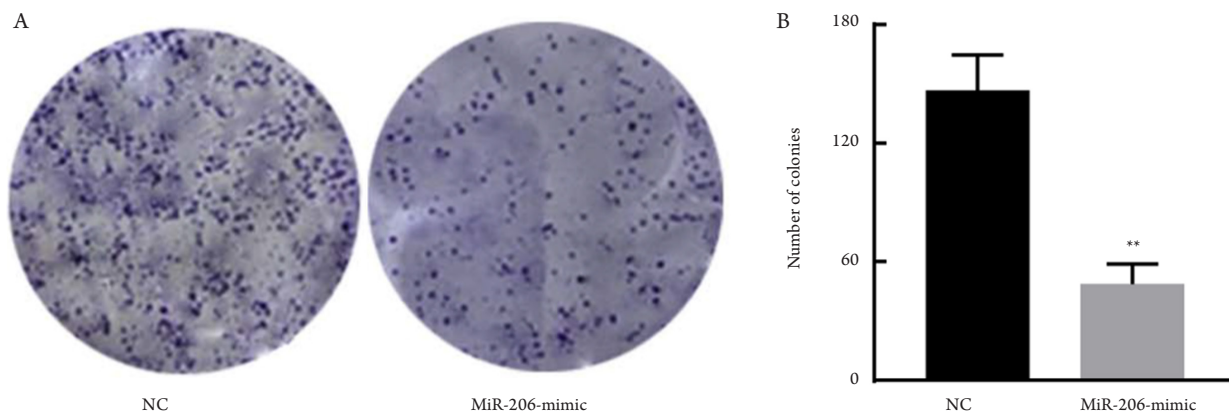


图3 MiR-206过表达抑制CNE2细胞的生长能力

**Figure 3 Over-expression of miR-206 inhibits growing ability of CNE2 cells**

(A)过表达miR-206后CNE2细胞的集落形成实验结果( $\times 200$ ); (B)集落形成实验统计结果。\*\* $P < 0.01$  vs NC组。

(A) Results of colony formation of CNE2 cells after over-expression of miR-206 ( $\times 200$ ); (B) Statistical results of colony formation experiment. \*\* $P < 0.01$  vs NC group.

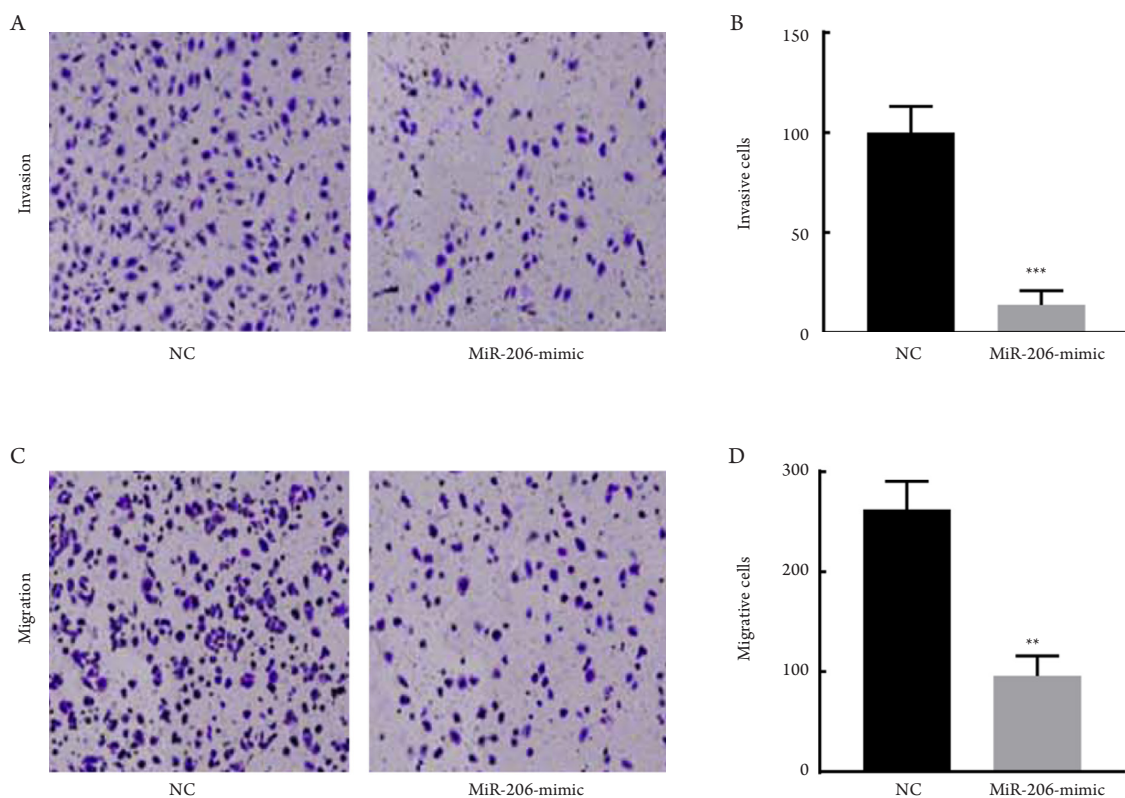


图4 miR-206过表达抑制CNE2细胞的迁移和侵袭能力

**Figure 4 Over-expression of miRNA-206 inhibits the migration and invasion in CNE2 cells**

(A)过表达miR-206后CNE2细胞侵袭实验结果( $\times 200$ ); (B)细胞侵袭实验结果统计结果; (C)过表达miR-206后CNE2细胞细胞迁移实验结果( $\times 200$ ); (D)细胞迁移实验结果统计结果。\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs NC组。

(A) Invasion of CNE2 cells after over-expression of miRNA-206 ( $\times 200$ ); (B) Statistical results of cell invasion experiment; (C) Migration of CNE2 cells after over-expression of miRNA-206 ( $\times 200$ ). (D) Statistical results of cell migration experiment. \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs NC group.

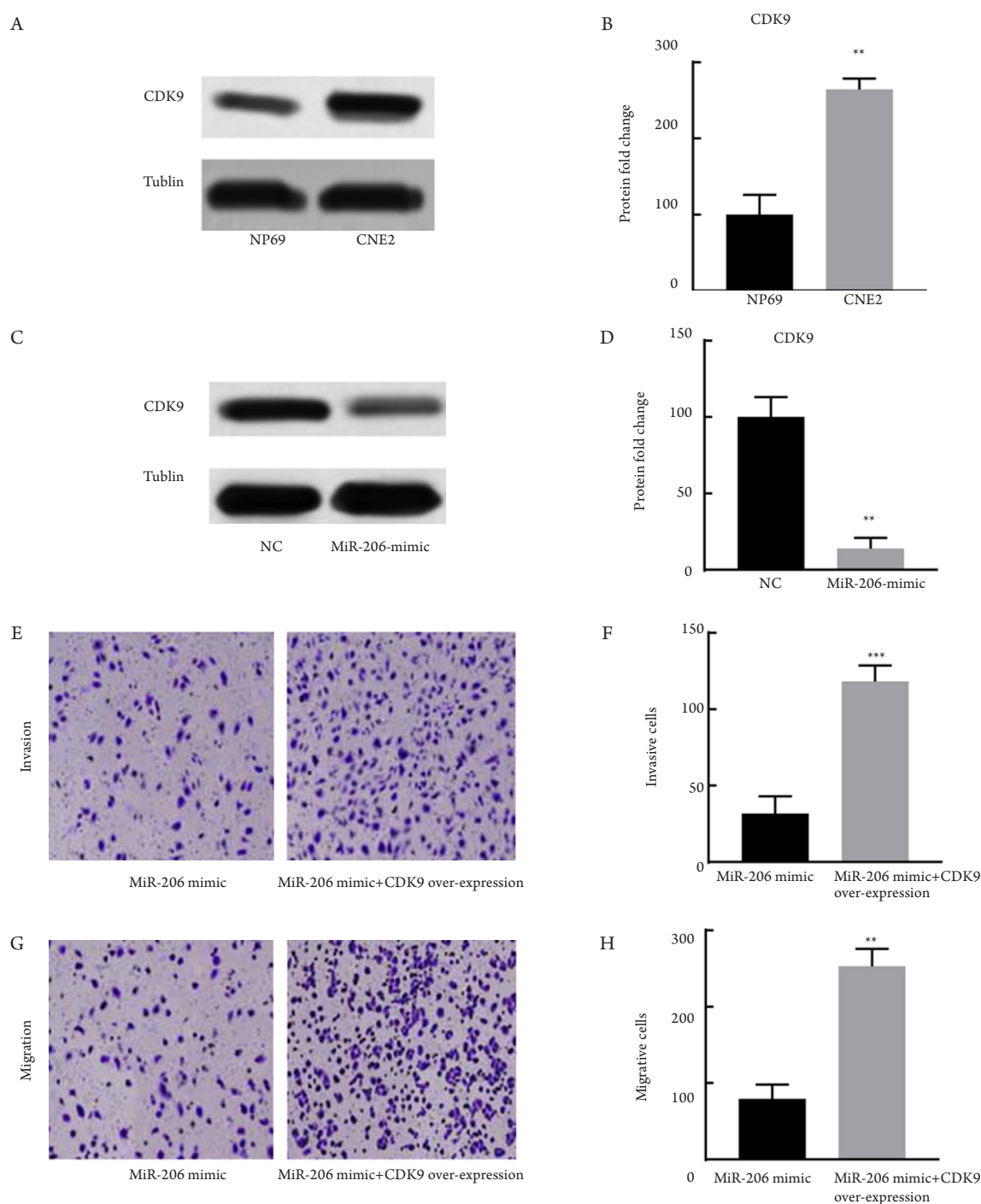


图5 CDK9在CNE2细胞系中的表达

**Figure 5 Expression of CDK9 in CNE2 cells**

(A) CDK9在NP69细胞和CNE2细胞中的表达水平; (B) CDK9在NP69细胞和CNE2细胞中的表达水平的统计结果; (C) CDK9在CNE2细胞细胞过表达miR-206后的表达水平; (D) CDK9在CNE2细胞细胞过表达miR-206后的表达水平的统计结果; (E) 过表达CDK9后miR-206模拟物转染的CNE2细胞侵袭实验结果( $\times 200$ ); (F) 细胞侵袭实验的统计结果; (G) 过表达CDK9后miR-206模拟物转染的CNE2细胞迁移实验结果( $\times 200$ ); (H) 细胞迁移实验结果统计结果。\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs NP69 cells or NC group or control。

(A) Expressions of CDK9 in NP69 cells and CNE2 cells; (B) Statistical results of expressions of CDK9 in NP69 cells and CNE2 cells; (C) Expression level of CDK9 in CNE2 cells after over-expression of miRNA-206; (D) Statistical results of expression level of CDK9 in CNE2 cells after over-expression of miRNA-206; (E) Invasion of miR-206 mimic-transfected CNE2 cells after over-expression of CDK9 ( $\times 200$ ); (F) Statistical results of cell invasion experiment; (G) Migration of miR-206 mimic-transfected CNE2 cells after over-expression of CDK9 ( $\times 200$ ); (H) Statistical results of cell migration experiment. \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs NP69 cells or NC group or control.

### 3 讨论

由于鼻咽癌的高转移水平、高复发风险和不良预后, 75%~90%的鼻咽癌患者在疾病达到晚期时才被诊断<sup>[1]</sup>。在过去的十年中, 已有数以千计的miRNA被发现, 与鼻咽癌相关的miRNA为早期检测、诊断和分期以及预后和治疗结果预测提供可利用的工具, 引起临床关注。研究<sup>[14]</sup>显示: 在头颈部癌症谱中, miRNA的表达发生改变。在鼻咽癌中, 肿瘤抑制因子miRNA呈低表达<sup>[15]</sup>, 包括miRNA-29c, miRNA-9, let-7家族, miRNA-200家族, 致癌性miRNA的高表达<sup>[16]</sup>, 以及例如miR-18a/b, miR-141, miR-155, miR-214等。然而miR-206在鼻咽癌中的作用尚不明确。本研究发现miR-206在鼻咽癌CNE2细胞低表达, 高表达miR-206能抑制CNE2细胞生长与转移。

MiRNA通过促进靶mRNA的降解或抑制靶mRNA的翻译来转录调节基因表达。MiRNA的异常表达与人类癌症的发生密切相关。既往研究<sup>[17-19]</sup>表明: miR-206通过直接靶向如MUC1, CDK9和G6PD等多种基因抑制多种癌细胞增殖。CDK9是CDC2家族的成员, 具有促进细胞增殖的作用, 对癌症发生有重要贡献<sup>[17]</sup>。CDK9是重要的转录调控因子, 已成为癌症治疗研究中一个新的明星靶点<sup>[13]</sup>。CDK9能促进多种肿瘤包括鼻咽癌的发生发展<sup>[20]</sup>。在本研究中, miR-206显著下调鼻咽癌细胞中的CDK9, 导致细胞生长抑制、凋亡增加和转移减弱。而Georgantas等<sup>[21]</sup>研究表明: miR-206对黑色素瘤中CDK9的表达无显著影响, 提示miR-206在不同肿瘤中选择性调节CDK9的表达。本研究发现miR-206可作为CDK9抑制剂在鼻咽癌中的发挥作用, 明确了miR-206是鼻咽癌细胞CDK9的调控因子, 提示miR-206/CDK9通路在鼻咽癌抑制中的潜在靶点作用。

综上, miR-206在鼻咽癌细胞中显著下调, 并与CDK9水平呈负相关。miR-206通过阻断CDK9下游相关通路, 从诱导鼻咽癌细胞凋亡、抑制鼻咽癌细胞增殖、降低鼻咽癌细胞的侵袭迁移能力等方面发挥抑癌作用。靶向miR-206/CDK9通路可能是治疗鼻咽癌的新途径。笔者团队未来将继续寻找miR-206的靶基因及其下游分子机制。

### 参考文献

- Long M, Fu Z, Li P, et al. Cigarette smoking and the risk of nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis of epidemiological studies[J]. *BMJ Open*, 2017, 7(10): e016582.

- Kamran SC, Riaz N, Lee N. Nasopharyngeal carcinoma[J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2015, 24(3): 547-561.
- Bartel DP. Metazoan microRNAs[J]. *Cell*, 2018, 173(1): 20-51.
- Akçakaya P, Ekelund S, Kolosenko I, et al. miR-185 and miR-133b deregulation is associated with overall survival and metastasis in colorectal cancer[J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(2): 311-318.
- 赵建, 刘建亮. miR-206及Bcl-2蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. *解剖科学进展*, 2014, 20(6): 555-558.
- ZHAO Jian, LIU Jianliang. Expression and significance of miR-206 and Bcl-2 in non-small cell lung cancer[J]. *Progress of Anatomical Sciences*, 2014, 20(6): 555-558.
- Di Pietro L, Baranzini M, Berardinelli MG, et al. Potential therapeutic targets for ALS: miR206, miR208b and miR499 are modulated during disease progression in the skeletal muscle of patients[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9538.
- 姜磊, 谢冰, 张睿, 等. 血清miR-206和miR-132联合检测在轻度认知障碍诊断中的价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(7): 529-531.
- JIANG Lei, XIE Bing, ZHANG Rui, et al. Combined detection of serum miR-206 and miR-132 in the diagnosis of mild cognitive impairment[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2016, 39(7): 529-531.
- 葛新, 曹章, 吕鹏威, 等. miR-206抑制SDF-1/CXCR4信号活化诱导的乳腺癌细胞迁移和增殖[J]. *肿瘤基础与临床*, 2016, 29(4): 294-298.
- GE Xin, CAO Zhang, LÜ Pengwei, et al. MiR-206 suppresses breast cancer cell migration and proliferation induced by SDF-1/CXCR4 signaling[J]. *Journal of Basic and Clinical Oncology*, 2016, 29(4): 294-298.
- 陈晓燕, 王教, 王瓯晨. microRNA-206对人横纹肌肉瘤细胞增殖的影响[J]. *实用肿瘤杂志*, 2009, 24(6): 538-541.
- CHEN Xiaoyan, WANG Jiao, WANG Ouchen. Effect of microRNA-206 on proliferation of human rhabdomyosarcoma cells[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2009, 24(6): 538-541.
- 黄和, 孙维建, 李丕宏, 等. 微小RNA-206抑制胃癌细胞增殖的机制研究[J]. *中华普通外科杂志*, 2013, 28(8): 636-637.
- HUANG He, SUN Weijian, LI Pihong, et al. Study on the mechanism of microRNA-206 on inhibition of proliferation in gastric cancer cells[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2013, 28(8): 636-637.
- Papadimitriou NE, Durvale MC, Canduri F. The emerging picture of CDK9/P-TEFb: more than 20 years of advances since PITALRE[J]. *Mol Biosyst*, 2017, 13(2): 246-276.
- Gilmour J, Assi SA, Noailles L, et al. The co-operation of RUNX1 with LDB1, CDK9 and BRD4 drives transcription factor complex relocation during haematopoietic specification[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10410.

13. Franco LC, Morales F, Boffo S, et al. CDK9: a key player in cancer and other diseases[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 119(2): 1273-1284.
14. 汤迪, 陶磊. MicroRNA在头颈部鳞状细胞癌中的研究进展[J]. *中国眼耳鼻喉科杂志*, 2015, 15(2): 135-137.  
TANG Di, TAO Lei. Research progress of microRNA in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Chinese Journal of Ophthalmology and Otorhinolaryngology*, 2015, 15(2): 135-137.
15. 李璐, 王建红, 黄辉, 等. 鼻咽癌血清miRNA表达谱分析[J]. *华夏医学*, 2014, 27(6): 1-4.  
LI Lu, WANG Jianhong, HUANG Hui, et al. Analysis of the serum miRNA expression in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Acta Medicinae Sinica*, 2014, 27(6): 1-4.
16. 李曼, 王永平, 陈始明, 等. 鼻咽癌中microRNA的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(9): 22-26.  
LI Man, WANG Yongping, CHEN Shiming, et al. Research progress of microRNA in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Journal of Medical Research*, 2016, 45(9): 22-26.
17. Pang C, Huang G, Luo K, et al. miR-206 inhibits the growth of hepatocellular carcinoma cells via targeting CDK9[J]. *Cancer med*, 2017, 6(10): 2398-2409.
18. Deng M, Qin Y, Chen X, et al. MiR-206 inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by targeting the MUC1 gene[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 849-859.
19. Cui J, Pan Y, Wang J, et al. MicroRNA-206 suppresses proliferation and predicts poor prognosis of HR-HPV-positive cervical cancer cells by targeting G6PD[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 5946-5952.
20. Morales F, Giordano A. Overview of CDK9 as a target in cancer research[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(4): 519-527.
21. Georgantas RW 3rd, Streicher K, Luo X, et al. MicroRNA-206 induces G1 arrest in melanoma by inhibition of CDK4 and Cyclin D[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2014, 27(2): 275-286.

本文引用: 王晓辉, 沙树奎, 闫嘉俊, 姚明月. MiRNA-206 通过抑制CDK9表达对鼻咽癌CNE2细胞的生长及转移的影响[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(10): 2102-2109. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.002

**Cite this article as:** WANG Xiaohui, SHA Shukui, YAN Jiajun, YAO Mingyue. Effect of miRNA-206 on the growth and metastasis of nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells by inhibiting expression of CDK9[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(10): 2102-2109. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.002