

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.05.001

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.05.001>

· 论著 ·

MiR-136 通过下调靶基因 ITGAV 表达抑制骨肉瘤细胞增殖及迁移的分子机制

刘伟, 赵宝辉, 刘晓峰

(河北大学附属医院骨科, 河北 保定 071000)

[摘要] 目的: 分析miR-136对骨肉瘤(osteosarcoma, OS)细胞生物学行为的调控机制研究, 揭示miR-136在OS中的作用及其机制。方法: 检测OS组织和癌旁正常组织中miR-136和整合素 α V亚基(integrin subunit alpha V, ITGAV)的表达; 采用TargetScan和双荧光素酶报告基因实验、反转录PCR和蛋白质印迹法证实ITGAV是否为miR-136的靶基因; 采用CCK-8法、流式细胞法和细胞划痕试验检测miR-136和ITGAV对MG63细胞增殖、周期和迁移的影响。构建OS小鼠模型验证miR-136以及ITGAV对体内肿瘤生长的影响。结果: 在OS癌组织中, miR-136明显降低, 而ITGAV的表达则明显升高。miR-136能特异性结合ITGAV的3'-UTR并负调控ITGAV。细胞实验结果显示: ITGAV组可以提高OS细胞MG63和U2OS增殖、S期细胞比例以及迁移能力, 而miR-136组可抑制OS细胞MG63和U2OS增殖、S期细胞比例以及迁移能力, 而miR-136+ITGAV组可以逆转miR-136组对MG63和U2OS细胞增殖、S期细胞比例以及迁移能力的抑制效果。OS小鼠模型显示: miR-136在裸鼠体内具有抑制OS生长的作用, ITGAV在miR-136 mimic组中的表达较对照组明显降低, 而在miR-136 inhibitor组中出现相反的效果。结论: MiR-136的异常表达可能与OS有关, miR-136通过靶向调控ITGAV的表达, 从而抑制OS细胞的生物学行为以及体内肿瘤生长, 提示miR-136可能具有抑制OS的作用。

[关键词] 骨肉瘤; miR-136; 整合素 α V亚基

Molecular mechanism of miR-136 inhibiting proliferation and migration of osteosarcoma cells by down-regulating the target gene integrin subunit alpha V

LIU Wei, ZHAO Baohui, LIU Xiaofeng

(Department of Orthopaedics, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding Hebei 071000, China)

Abstract **Objective:** To analyze the regulatory mechanism of miR-136 on the biological behavior of osteosarcoma cells, and reveal the role and mechanism of miR-136 in osteosarcoma. **Methods:** The expressions of miR-136 and ITGAV

收稿日期 (Date of reception): 2021-03-27

通信作者 (Corresponding author): 赵宝辉, Email: zhaobaohui@aliyun.com

基金项目 (Foundation item): 河北省医学科学研究课题 (20212125)。This work was supported by the Medical Science Research Project of Hebei Province, China (20212125).

in OS tissues and adjacent normal tissues were detected. TargetScan, Dual-Luciferase Reporter Assay, reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blotting were used to confirm whether ITGAV was the target gene of miR-136. The effects of miR-136 and ITGAV on the proliferation, cycle, and migration of MG63 cells were determined by using CCK-8, flow cytometry and Scratch-wound assay. The mouse model of osteosarcoma was established, and the effect of miR-136 on ITGAV expression was detected by using RT-PCR and Western blotting. **Results:** We found that the expression of miR-136 in OS tissues was significantly decreased, while the expression of ITGAV was increased. MiR-136 could specifically bind to the 3'-UTR of ITGAV and negatively regulate ITGAV. Adopting cell experiments, cell proliferation, S-phase cell ratio, and migration ability of MG63 and U2OS osteosarcoma cell were increased in ITGAV group, while such ability was inhibited in miR-136 group, and the miR-136+ITGAV group could reverse the inhibitory effects of miR-136 group on MG63 and U2OS cell proliferation, S-phase cell ratio, and migration ability. In nude mouse model, miR-136 could inhibit osteosarcoma development, and ITGAV expression was decreased in the miR-136 mimic group as comparing with the control group, but an opposite result occurred in the miR-136 inhibitor group. **Conclusion:** The abnormal expression of miR-136 may be associated with osteosarcoma. MiR-136 inhibits the biological behavior of osteosarcoma cells and *in vivo* tumor growth by targeting the expression of ITGAV, suggesting that miR-136 may pose tumor-suppressive effects.

Keywords osteosarcoma; miR-136; integrin subunit alpha V

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是全球最常见的骨肿瘤类型^[1], 随着OS治疗策略的发展, OS的临床治疗效果在一定程度上已得到改善^[2], 但由于OS高转移率、化疗耐药性、预后较差等特点, 其5年生存率并不理想。因此确定OS效应分子、探究OS发生和转移的遗传和分子机制显得尤为重要^[3-4]。

研究^[5]表明: 表观遗传学在OS发病机制中有重要作用, 微小RNA(microRNAs, miRNAs)作为非编码RNA家族的一员, 在调节转录后基因表达中发挥关键作用。Liu等^[6]研究发现: miRNA-505在OS组织表达降低与OS TNM分期和转移状态密切相关, miRNA-505通过调控HMGB1抑制MG63细胞增殖、迁移和侵袭。Xu等^[1]研究发现: miR-106b在OS组织中表达明显增高, 并与肺转移及临床分期呈正相关, miR-106b被抑制后, OS U2-OS细胞的增殖和迁移均受到抑制。包括miRNA-543^[7]、miRNA-379^[8]在内的多种miRNA在OS细胞癌变过程中发挥重要作用。整合素 α V亚基(integrin subunit alpha V, ITGAV)属于整合素家族, 在多种癌症的病理过程中发挥作用, 例如ITGAV OS肿瘤细胞异常高表达, 并在转移性OS中表达最高^[9]。本研究主要探究miR-136在OS中的表达变化, 分析miR-136对ITGAV的调节功能, 揭示miR-136在OS中的作用及其机制。

1 对象与方法

1.1 对象

选取河北大学附属医院102例OS患者的肿瘤标本及癌旁正常组织标本, 患者术前未接受放射治疗、化学药物等治疗, 且病理确诊为OS肿瘤。本研究操作符合临床实验伦理规范。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染

MG63细胞株细胞系购自中国科学院上海细胞库, 用10%胎牛血清DMEM培养, 在37 °C、5% CO₂细胞培养箱中培养。将MG63、U2OS分别分为对照组、ITGAV组、miR-136组及miR-136+ITGAV组, 待MG63、U2OS细胞生长至70%~90%融合时, 根据组别, 参照转染试剂Lipofectamine™ 2000试剂说明书分别将细胞转染阴性对照、ITGAV过表达质粒、miR-136 mimic, 以及共转染miR-136 mimic和ITGAV。

1.2.2 反转录PCR

使用TRIzol试剂从MG63细胞系或OS组织中提取总RNA, 用紫外分光光度法测定RNA的含量, 采用反转录试剂盒将提取的总RNA合成cDNA, 并按照说明书进行PCR反应。以U6为内参检测miR-136的表达水平; 以GAPDH为内参检测ITGAV的表达水平。

1.2.3 蛋白质印迹法

提取MG63细胞或OS组织蛋白, 遵照BCA法测定蛋白质浓度, 取上样缓冲液与样品混合并置于95 °C变性10 min。蛋白质样品以每孔50 μg加到10% SDS-PAGE中电泳分离蛋白质, 在5%脱脂奶粉的封闭缓冲液中, 室温封闭2 h, 加入一抗ITGAV抗体(1:500), 内参抗体(1:1 000)。于4 °C孵育过夜。用TBST漂洗3次后加入辣根过氧化物酶标记的兔二抗(1:1 000), 于室温孵育1 h。以TBST洗涤3次。用ECL液于暗室发光显影, 采集图像并分析。

1.2.4 双荧光素酶报告基因实验

通过TargetScan发现miR-136在ITGAV基因3'-UTR上的潜在结合位点, 构建ITGAV野生型3'-UTR荧光素酶报告基因质粒pMIR-ITGAV-wt和突变型报告基因质粒pMIR-ITGAV-Mut, 将野生型或突变型报告基因质粒与miR-NC、miR-136 mimic、NC(抑制剂)inhibitor或miR-136 inhibitor共转染进MG63细胞。转染24 h后, 按照说明书检测各组的荧光素酶活性。

1.2.5 免疫组织化学

将石蜡切片梯度脱蜡、水化; 加入3% H₂O₂溶液以阻断内源性过氧化物酶的活性; 采用微波加热法以修复抗原; 加入5%的正常羊血清封闭, 置室温孵育15 min。加入一抗ITGAV抗体(1:100)或Ki-67抗体(1:100), 于4 °C过夜。加入辣根过氧化物酶标记的兔二抗(1:200), 于常温孵育30 min。采用DAB显色后, 以苏木精室温染色2 min, 而后进行脱水和中性树脂封片。采用正置显微镜观察切片。

1.2.6 CCK-8实验

将MG63或U2OS细胞以2 000个/孔的量接种到96孔板, 按照CCK-8试剂盒说明书检测MG63或U2OS细胞的增殖, 在450 nm波长处测定每孔光密度值。

1.2.7 流式细胞法

将对数生长期的MG63或U2OS细胞收集于5 mL离心管中, 用0.01%胰蛋白酶消化30 min。用普通离心机100×g离心5 min后弃上清, 然后用4 °C预冷的70%乙醇固定细胞1 h。去除乙醇后用PBS洗涤1次, 用流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.8 细胞划痕实验

将MG63或U2OS细胞接种于6孔板上, 当细胞汇合度达到80%~90%时, 用200 μL的移液器枪头在正中央位置划一直线, 形成单层细胞间的划痕。利用PBS冲洗将脱落的细胞冲洗掉, 直至空中无脱

落细胞存在。将细胞培养板置于显微镜下观察并拍照。

1.2.9 Transwell 迁移实验

将MG63或U2OS细胞调整细胞密度为1×10⁶个/mL。在上室加入100 μL细胞悬液; 在下室加入600 μL含10%胎牛血清的培养基; 置于37 °C、5% CO₂培养箱中培养24 h。取出小室后用PBS淋洗3次; 将小室置于95%乙醇中固定5 min; 在0.5%结晶紫染色液中染色10 min后, 用PBS漂洗去除未结合细胞的染色液。用棉签轻拭去小室滤膜上层的细胞, 在显微镜下观察滤膜下层细胞。

1.2.10 构建OS裸鼠移植瘤模型

选取体重14~19 g的BALB/c裸鼠24只, 随机分为miR-NC组(*n*=6)、miR-136 mimic组(*n*=6)、NC-inhibitor组(*n*=6)、miR-136 inhibitor组(*n*=6)。转染MG63细胞后, 调整细胞浓度达到5×10⁷个/mL, 用1 mL注射器将细胞悬液注射到裸鼠的右后肢腋部皮下。在SPF级动物实验室饲养注射后的裸鼠21 d, 麻醉并引颈脱臼处死裸鼠, 测量肿瘤重量。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析, 数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组数据间的比较采用*t*检验, 三组或三组以上的比较采用One-way ANOVA, *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OS组织中miR-136及其靶基因ITGAV表达变化

采用反转录PCR检测miR-136和ITGAV在OS组织中的表达, 结果显示: 较正常骨组织相比, miR-136癌组织中的表达明显降低(图1A), 而ITGAV的表达则明显升高(图1B)。蛋白质印迹法和免疫组织化学检测结果表明: ITGAV蛋白在OS组织中的表达明显高于正常骨组织(图1C、1D)。

2.2 预测并验证ITGAV是miR-136靶基因

TargetScan筛选结果显示: miR-136在ITGAV的3'-UTR上具有潜在的结合位点(图2A)。在MG63细胞中分别转染miR-136 mimic或inhibitor以及各自阴性对照后, 反转录PCR检测结果显示: 转染miR-136 mimic明显上调了细胞中miR-136的表达, 而miR-136 inhibitor则导致miR-136的表达明显降低(图2B), 表明转染成功。

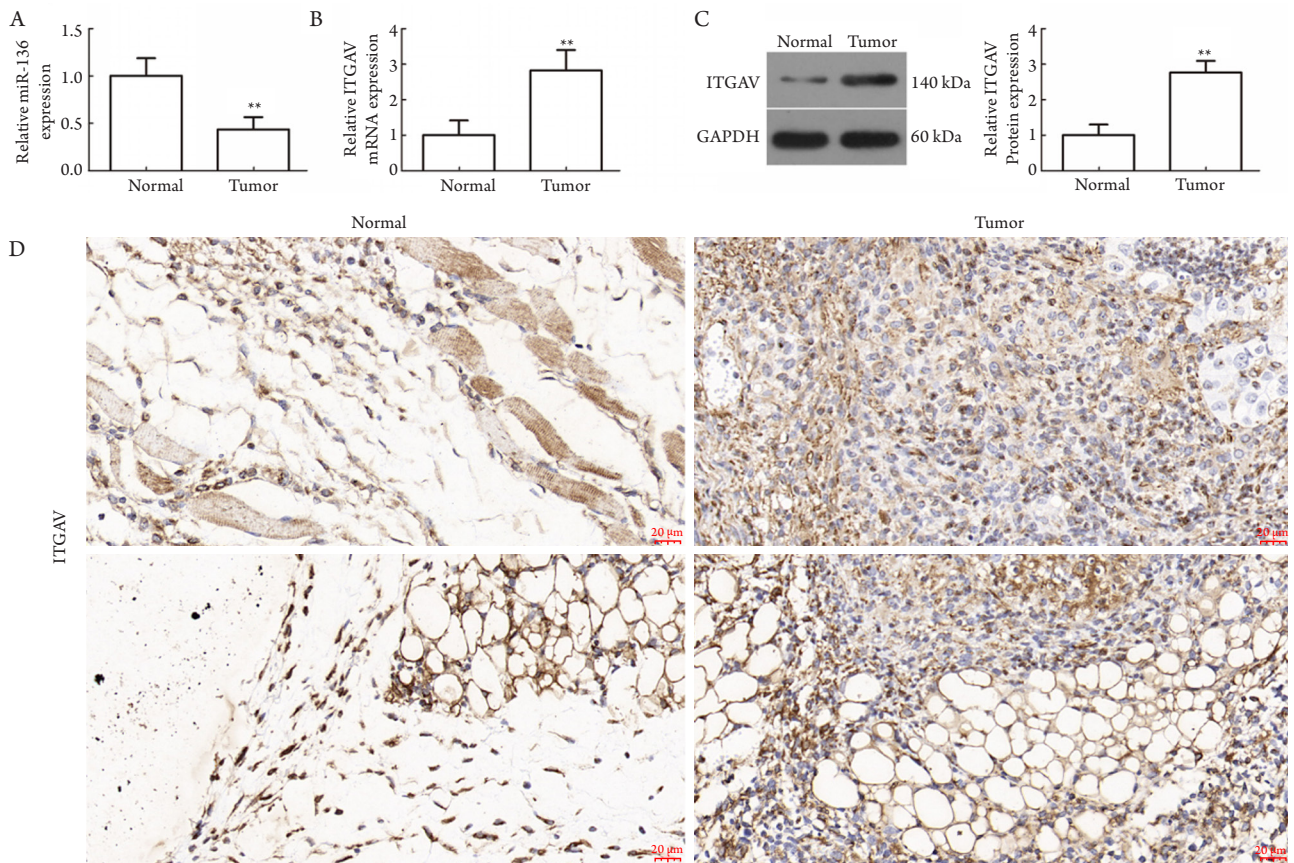


图1 MiR-136及其靶基因ITGAV在OS组织中的作用

Figure 1 Function of miR-136 and target gene ITGAV in OS tissues

(A) 反转录PCR(OS组织): miR-136 mRNA相对表达降低; (B) 反转录PCR(OS组织): ITGAV mRNA相对表达增加; (C) 蛋白质印迹法(OS组织): ITGAV蛋白的表达增加; (D) 免疫组织化学(OS组织): ITGAV的表达增加。比例尺=20 μm 。 ** $P < 0.01$ 。

(A) RT-PCR: mRNA expression of miR-136 was decreased in OS tissues; (B) RT-PCR: mRNA expression of ITGAV was increased in OS tissues; (C) Western blotting: ITGAV protein expression was increased in OS tissues; (D) Immunohistochemistry: ITGAV expression was increased in OS tissues. Scale bar=20 μm . ** $P < 0.01$.

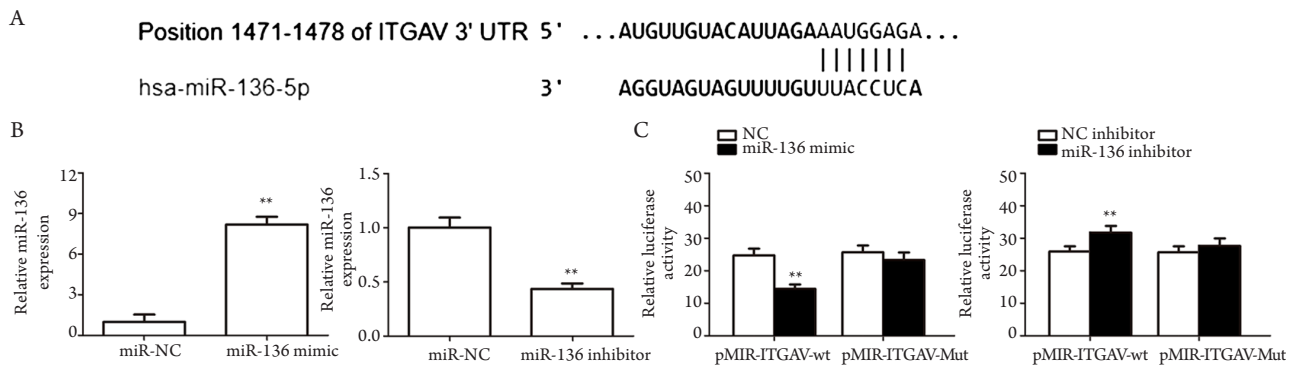


图2 ITGAV是miR-136靶基因

Figure 2 ITGAV is the target gene of miR-136

(A) TargetScan软件预测结果; (B) 反转录PCR(MG63细胞): miR-136 mRNA相对表达降低; (C) 双荧光素酶报告基因实验显示pMIR-ITGAV-wt质粒荧光素酶活性变化。 ** $P < 0.01$ 。

(A) TargetScan was used to predict results; (B) RT-PCR: mRNA expression of miR-136 was decreased in MG63 cells; (C) Dual-Luciferase Reporter Assay: changes of luciferase activity of pMIR-ITGAV-wt plasmids. ** $P < 0.01$.

随后在MG63细胞中结合定点突变进行了荧光素酶报告质粒分析, 结果显示: pMIR-ITGAV-wt质粒与miR-136 mimic共转染进MG63细胞时, 荧光素酶活性明显降低。而转染miR-136 inhibitor则能明显增强pMIR-ITGAV-wt质粒的荧光素酶活性。但是pMIR-ITGAV-Mut质粒与miR-136 mimic或inhibitor共转染时, 荧光素酶活性均无明显变化(图2C)。

2.3 MiR-136负性调控ITGAV的表达

将miR-136 mimic转染进MG63细胞后, 反转录PCR结果显示ITGAV的mRNA表达较对照组明显降低(图3A)。蛋白质印迹法结果显示miR-136 mimic能明显下调ITGAV蛋白的表达(图3B)。另一方面, 与对照组相比, 转染miR-136 inhibitor能明显上调MG63细胞中ITGAV的mRNA和蛋白表达(图3C、3D)。

2.4 MiR-136和ITGAV对MG63和U2OS细胞增殖、周期和迁移的影响

CCK-8法结果显示: 相比对照组, MG63和U2OS细胞中, ITGAV组增殖能力明显升高, 而miR-136组两种细胞的增殖能力则明显降低, 进一步相比miR-136组, miR-136+ITGAV组, 细胞增殖能力增强。采用流式细胞法检测S期细胞比

值, 结果显示: MG63和U2OS细胞中, 相比对照组, ITGAV组细胞S期细胞比值明显升高, 而miR-136组细胞的S期细胞比值明显降低, 同时miR-136+ITGAV组相比miR-136组则能促进S期阻滞。细胞划痕试验以及Transwell迁移实验结果显示: 相比对照组, ITGAV组细胞迁移能力增加, 而miR-136组能抑制细胞的迁移能力, miR-136+ITGAV组可以逆转miR-136组对细胞迁移能力的抑制效果(图4、5)。

2.5 MiR-136在OS裸鼠移植瘤模型中的作用

利用转染了miR-136 mimic或inhibitor以及各自阴性对照的MG63细胞构建OS裸鼠移植瘤模型, 21 d后采用免疫组织化学检测各组裸鼠瘤体组织中Ki-67的表达, 结果显示: miR-136 mimic组裸鼠中Ki-67的表达明显低于对照组, 而miR-136 inhibitor组中Ki-67的表达则明显升高(图6)。

2.6 OS裸鼠移植瘤模型中miR-136负性调控ITGAV的表达

进一步检测各组裸鼠瘤体组织中ITGAV的表达, 结果显示: ITGAV在miR-136 mimic组中的表达较对照组明显降低, 而在miR-136 inhibitor组中出现相反的效果(图7)。

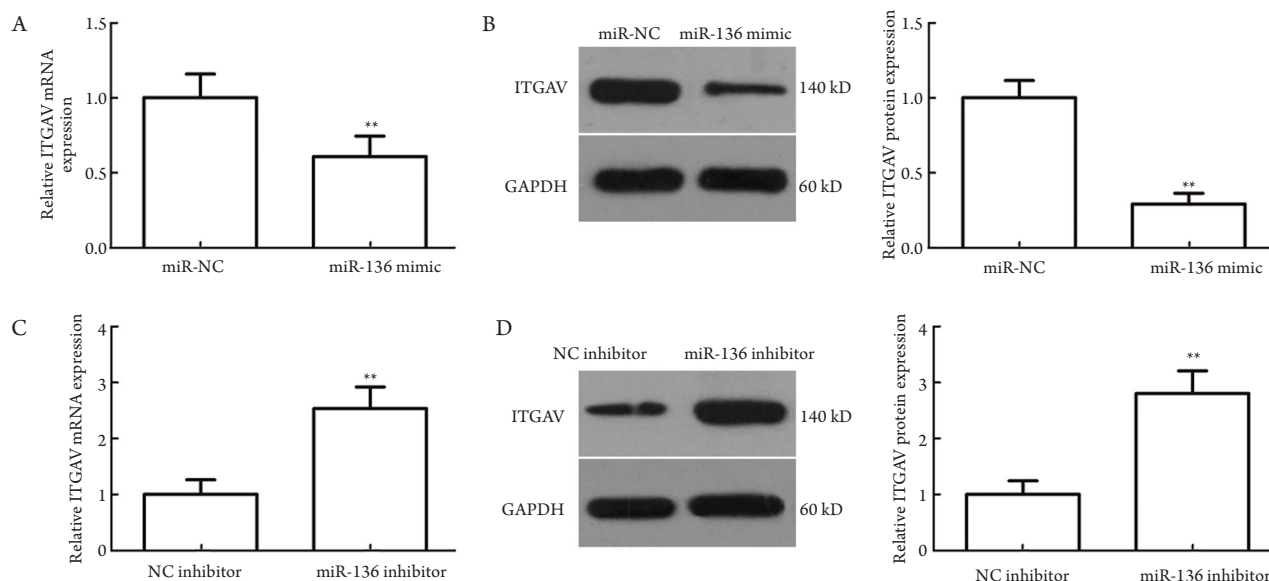


图3 MiR-136负性调控ITGAV的表达

Figure 3 MiR-136 negatively regulates ITGAV expression

(A、C)反转录PCR检测ITGAV的mRNA表达; (B、D)蛋白质印迹法检测ITGAV蛋白的表达。

(A, C) RT-PCR was used to detect mRNA expression of ITGAV; (B, D) Western blotting was used to detect ITGAV protein expression.

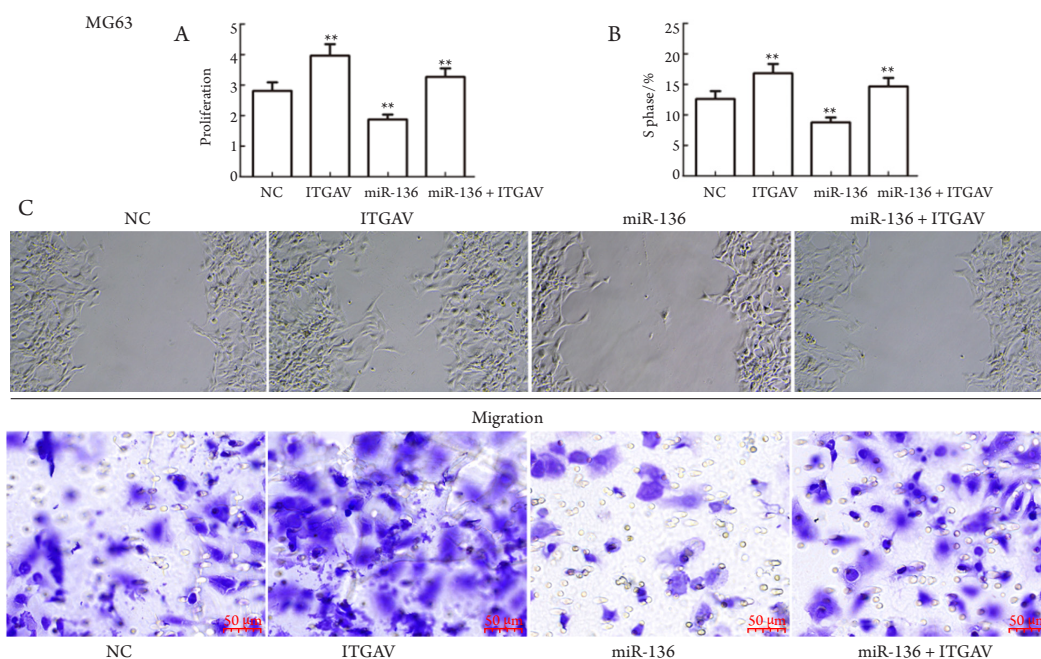


图4 MiR-136和ITGAV对MG63细胞增殖、周期和迁移的影响

Figure 4 Effect of miR-136 and ITGAV on MG63 cell proliferation, cell cycle and migration

(A)采用CCK-8法检测MG63细胞的增殖能力；(B)采用流式细胞法检测MG63细胞S期细胞比值；(C)采用细胞划痕试验以及Transwell迁移实验检测MG63细胞的迁移能力。结晶紫染色，比例尺=50 μm 。** $P < 0.01$ 。

(A) CCK-8 method was used to detect the proliferation ability of MG63 cells; (B) Flow cytometry was used to detect the ratio of cells in S phase of MG63 cells; (C) Cell scratch test and Transwell migration test were used to detect the migration ability of MG63 cells. Crystal violet staining, scale bar=50 μm . ** $P < 0.01$.

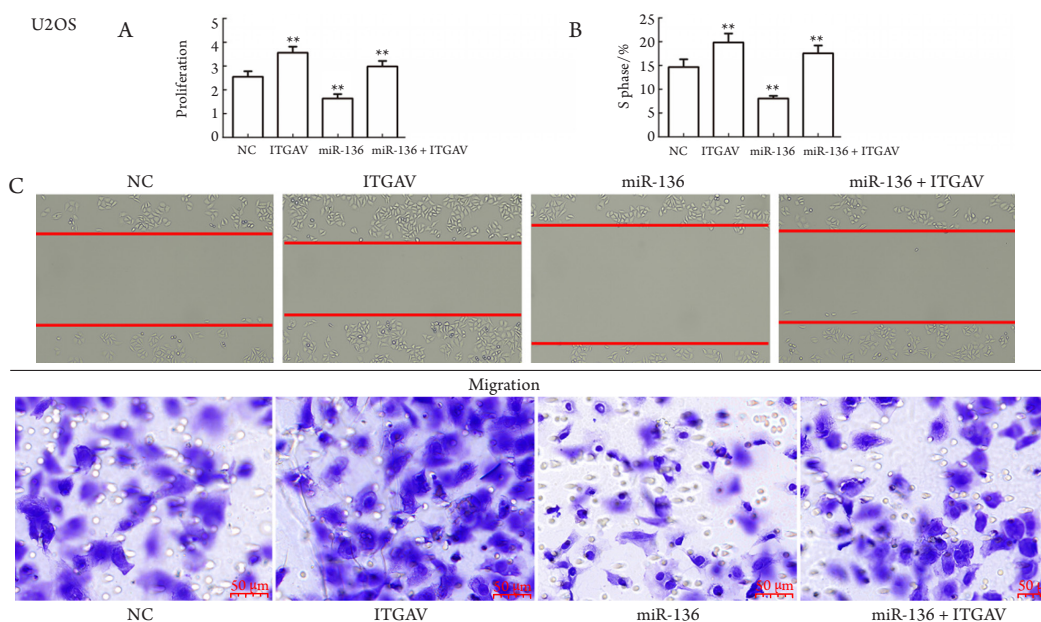


图5 MiR-136和ITGAV对U2OS细胞增殖、周期和迁移的影响

Figure 5 Effect of miR-136 and ITGAV on U2OS cell proliferation, cell cycle and migration

(A)采用CCK-8法检测U2OS细胞的增殖能力；(B)采用流式细胞法检测U2OS细胞S期细胞比值；(C)采用细胞划痕试验以及Transwell迁移实验检测U2OS细胞的迁移能力。结晶紫染色，比例尺=50 μm 。** $P < 0.01$ 。

(A) CCK-8 assay was used to detect the proliferation ability of U2OS cells; (B) Flow cytometry was used to detect the S phase cell ratio of U2OS cells; (C) Cell scratch test and Transwell migration assay were used to detect the migration ability of U2OS cells. Crystal violet staining, scale bar=50 μm . ** $P < 0.01$.

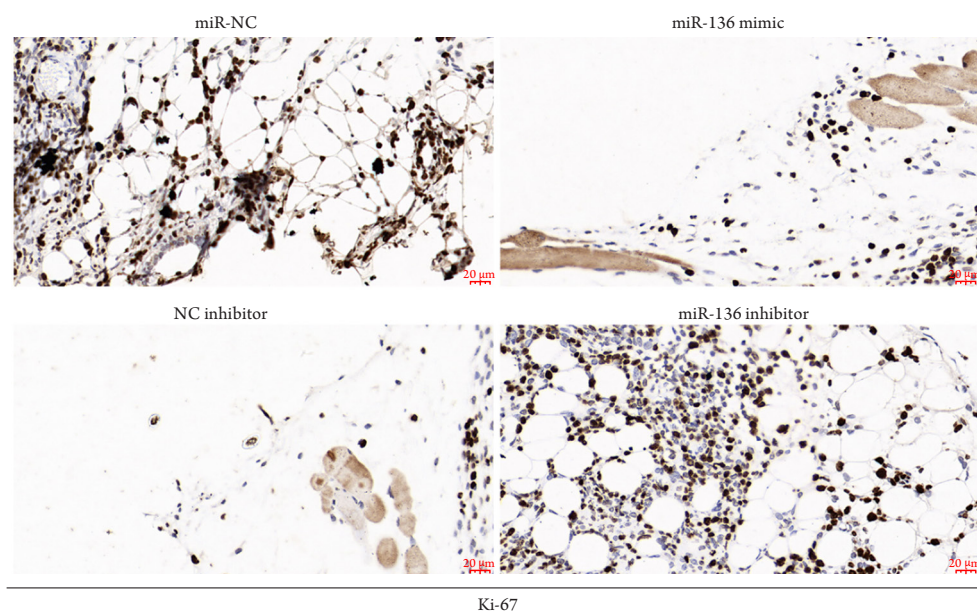


图6 免疫组织化学检测裸鼠瘤体组织中Ki-67的表达(比例尺=20 μm)

Figure 6 Ki-67 expression of OS tissues in nude mice was detected by using immunohistochemistry (scale bar=20 μm)

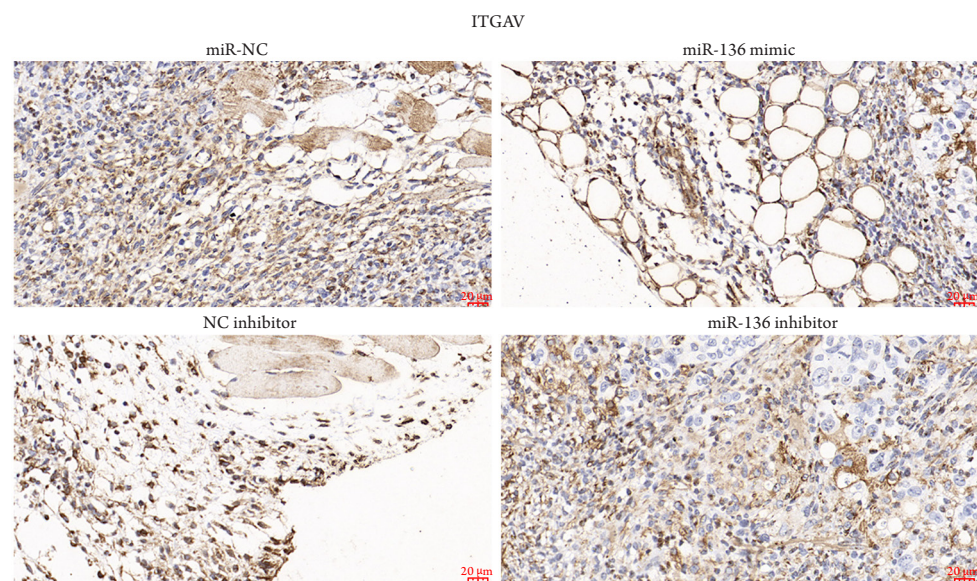


图7 免疫组织化学检测裸鼠瘤体组织中ITGAV的表达(比例尺=20 μm)

Figure 7 ITGAV expression of OS tissues in nude mice was detected by using immunohistochemistry (scale bar=20 μm)

3 讨论

OS是最常见的原发性恶性骨肿瘤, 尽管辅助化疗、广泛肿瘤切除和放射治疗等治疗策略方面取得了进展, 但转移性OS的5年生存率仍不理想^[10]。OS的潜在分子遗传机制仍不清楚, 近年来miRNAs通过调控多种靶基因的表达, 参与细胞凋亡、转移等多个过程^[11], 因此研究OS中miRNAs的

异常表达有助于发现新的miRNAs生物标志物。

MiR-136参与多种癌症的癌变和进展, 其中包括结肠癌^[12]、肝细胞癌^[13]等。本研究发现: miR-136在OS组织中的表达明显低于癌旁正常组织, 提示miR-136的异常表达可能与OS存在关联。MiRNA与其靶基因调控关系被破坏可能导致肿瘤形成、转移、耐药等并发症^[14]。研究^[15]表明: 在非小细胞肺癌中, miR-136靶向调控PPP2R2A并激

活Erk1/2信号通路。Yang等^[16]研究发现: miR-136可以靶向Smad2和Smad3可以抑制肺腺癌细胞的转移相关特征。

本研究首先通过TargetScan发现miR-136在ITGAV的3'-UTR上具有潜在的结合位点, 然后双荧光素酶报告基因实验的结果也证实miR-136 mimic能抑制ITGAV野生型3'-UTR报告基因质粒的荧光素酶活性, 而miR-136 inhibitor则产生相反的效果。同时, miR-136 mimic或inhibitor对ITGAV突变型报告基因质粒的荧光素酶活性均无明显影响, 表明miR-136的确能与ITGAV的3'-UTR特异性结合。进一步发现在MG63细胞中过表达miR-136能明显下调ITGAV的mRNA和蛋白表达, 与之相反的是, 抑制miR-136的表达后ITGAV的表达则明显升高, 表明ITGAV受miR-136的负性调控。

研究^[17]表明: ITGAV的异常高表达对癌症前期诊断、治疗和预后具有重要意义, ITGAV在癌症患者中的过度表达往往预示着预后不良。Luo等^[18]发现: 在OS细胞143B、SaoS2和HOS中, 敲除ITGAV显著抑制细胞活力。与该研究结果类似, 本研究发现OS组织中ITGAV异常高表达。

本研究进一步通过细胞实验观察miR-136和ITGAV对MG63细胞生物学行为的影响, 发现过表达miR-136能抑制OS细胞的增殖、S期阻滞和迁移能力, 而上调ITGAV的表达则出现相反的结果, 并且miR-136对细胞的调控效果会被ITGAV逆转, 表明miR-136是通过抑制ITGAV的表达从而调控OS细胞的生物学行为。为进一步分析miR-136在OS中的作用, 我们利用转染了miR-136 mimic或inhibitor的MG63细胞构建OS裸鼠移植瘤模型, 发现过表达miR-136在ITGAV和Ki-67的表达均明显低于对照组, 而抑制miR-136的表达则产生促进效果, 这表明与体外实验结果类似miR-136在裸鼠体内对OS具有抑制作用, 并且可以负调控ITGAV表达。

综上所述, 本研究结果表明miR-136的异常低表达可能与OS有关, miR-136过表达可以抑制MG63细胞的增殖、S期阻滞和迁移能力, 并进一步揭示了ITGAV是miR-136发挥调控作用的关键靶基因, 提示miR-136可能具有抑制OS的作用。

参考文献

- Xu M, Zhang YY, Wang HF, et al. The expression and function of miRNA-106 in pediatric osteosarcoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(4): 715-722.
- Tang F, Min L, Seebacher NA, et al. Targeting mutant TP53 as a potential therapeutic strategy for the treatment of osteosarcoma[J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(3): 789-798.
- Su P, Mu S, Wang Z, et al. Long Noncoding RNA SNHG16 promotes osteosarcoma cells migration and invasion via sponging miRNA-340[J]. *DNA Cell Biol*, 2019, 38(2): 170-175.
- Xie L, Liao Y, Shen L, et al. Identification of the miRNA-mRNA regulatory network of small cell osteosarcoma based on RNA-seq[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 42525-42536.
- Wang J, Pang W, Zuo Z, et al. MicroRNA-520b suppresses proliferation, migration, and invasion of spinal osteosarcoma cells via downregulation of frizzled-8[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(8): 1297-1304.
- Liu YJ, Li W, Chang F, et al. MicroRNA-505 is downregulated in human osteosarcoma and regulates cell proliferation, migration and invasion[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(2): 491-500.
- Zhang H, Guo X, Feng X, et al. MiRNA-543 promotes osteosarcoma cell proliferation and glycolysis by partially suppressing PRMT9 and stabilizing HIF-1 α protein[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2): 2342-2355.
- Li Z, Shen J, Chan MT, et al. MicroRNA-379 suppresses osteosarcoma progression by targeting PDK1[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(2): 315-323.
- Pei Y, Zhang Y, Zheng K, et al. Ilex hainanensis Merr targets ITGAV to suppress the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 4499-4507.
- Chao LM, Sun W, Chen H, et al. MicroRNA-31 inhibits osteosarcoma cell proliferation, migration and invasion by targeting PIK3C2A[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(21): 7205-7213.
- Rehei AL, Zhang L, Fu YX, et al. MicroRNA-214 functions as an oncogene in human osteosarcoma by targeting TRAF3[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16): 5156-5164.
- Yuan Q, Cao G, Li J, et al. MicroRNA-136 inhibits colon cancer cell proliferation and invasion through targeting liver receptor homolog-1/Wnt signaling[J]. *Gene*, 2017, 628: 48-55.
- Jia H, Wang H, Yao Y, et al. miR-136 inhibits malignant progression of hepatocellular carcinoma cells by targeting cyclooxygenase 2[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(6): 967-976.
- Wu X, Zhou H, Yue B, et al. Upregulation of microRNA-25-3p inhibits proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells in vitro by directly targeting SOX4[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4293-4300.
- Shen S, Yue H, Li Y, et al. Upregulation of miR-136 in human non-small cell lung cancer cells promotes Erk1/2 activation by targeting PPP2R2A[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1): 631-640.
- Yang Y, Liu L, Cai J, et al. Targeting Smad2 and Smad3 by miR-136

- suppresses metastasis-associated traits of lung adenocarcinoma cells[J].
Oncol Res, 2013, 21(6): 345-352.
17. Tome Y, Yano S, Sugimoto N, et al. Use of α integrin linked to green fluorescent protein in osteosarcoma cells and confocal microscopy to image molecular dynamics during lung metastasis in nude mice[J].
Anticancer Res, 2016, 36(8): 3811-3816.
18. Luo Z, Li D, Luo X, et al. Decreased expression of miR-548c-3p in osteosarcoma contributes to cell proliferation via targeting ITGAV[J].
Cancer Biother Radiopharm, 2016, 31(5): 153-158.

本文引用: 刘伟, 赵宝辉, 刘晓峰. MiR-136通过下调靶基因ITGAV表达抑制骨肉瘤细胞增殖及迁移的分子机制[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(5): 1013-1021. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.05.001

Cite this article as: LIU Wei, ZHAO Baohui, LIU Xiaofeng. Molecular mechanism of miR-136 inhibiting proliferation and migration of osteosarcoma cells by down-regulating the target gene integrin subunit alpha V[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2022, 42(5): 1013-1021. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.05.001