

低氧经 miR-130a-3p 靶向 Sirt7 对人滋养细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化的影响

杨春芬 钟黎黎 盛莹

摘要 目的 探究低氧条件下 miR-130a-3p 靶向去乙酰化酶 7 (Sirt7) 对人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/SVneo 迁移、侵袭及上皮-间质转化(EMT)的影响及其作用机制。方法 以 HTR-8/SVneo 细胞为研究对象,将 miR-130a-3p inhibitor 及其阴性对照 inhibitor-NC 转染至细胞中或联合 Sirt7 抑制剂 97491 干预,采用低氧(1% O₂)处理 48 h,qRT-PCR 检测细胞中 miR-130a-3p 及 Sirt7 mRNA 表达水平;Transwell 检测细胞迁移和侵袭能力;Western blot 检测细胞中 Sirt7、HIF-1 α 、MMP-2、MMP-9、E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平;TargetScan Human 7.1 在线软件和双荧光素酶报告基因实验预测并验证 miR-130a-3p 与 Sirt7 的靶向关系。结果

低氧可上调 HTR-8/SVneo 细胞中 miR-130a-3p 表达水平,下调 Sirt7 mRNA 和蛋白表达水平;miR-130a-3p 低表达可升高 Sirt7 mRNA 表达水平;提高细胞迁移及侵袭能力;下调 HIF-1 α 和 E-cadherin 蛋白表达水平,上调 Sirt7、MMP-2、MMP-9、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平。然而,联合 Sirt7 抑制剂 97491 处理可逆转 miR-130a-3p 低表达对低氧细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化的促进作用。结论 miR-130a-3p 在低氧诱导的滋养细胞中高表达,抑制 miR-130a-3p 表达可促进低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化,其可能通过靶向 Sirt7 调控 HIF-1 α 实现的。

关键词 低氧;miR-130a-3p;去乙酰化酶 7;滋养细胞;迁移;侵袭;上皮-间质转化

中图分类号 R 714.244

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)06-0935-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.06.010

子痫前期(preeclampsia,PE)是发生在妊娠 20 周后的特发性疾病,伴随高血压、蛋白尿、恶心等症状,是导致孕产妇妊娠期及围生儿死亡的主要因素^[1]。目前,PE 病因和发病机制尚不清楚。有研

究^[2]表明,在妊娠早期胎盘组织形成初始阶段,持续低氧会致使滋养细胞凋亡、侵袭能力降低,导致胎盘血管及器官发育异常,可能是 PE 病发的主要因素。miRNA 是一类真核生物内源性、具有调控功能的小分子非编码单链 RNA,参与不同生物过程的调节,包括发育模式、细胞分化、细胞增殖等过程。miR-130a-3p 作为 miRNA 的一员,在细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化(mesenchymal transformation,EMT)等过程中起重要作用。例如,Chen et al^[3]研究表明,上调 miR-130a-3p 抑制乳腺癌细胞活性、迁移、侵袭和 EMT 进展。Yang et al^[4]研究表明,miR-130a-3p 在 PE 患者胎盘组织中高表达,但具体功能和作用机制不详。去乙酰化酶(sirtuin-7,Sirt7)在机体中发挥多种调控作用,如细胞衰老、应激、肿瘤发生等。有研究^[5]表明,Sirt7 能够保护 H9C2 心肌细胞和原代心肌细胞免受低氧诱导的损伤和细胞凋亡。但 Sirt7 在滋养层细胞中表达情况以及 miR-130a-3p 是否可靶向 Sirt7 调控 PE 发展进程,目前尚未见报道。因此,该研究旨在探讨低氧条件下经 miR-130a-3p 靶向 Sirt7 对人滋养细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化的影响及其作用机制,为 PE 的治疗提供新的靶点及理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料 人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/SVneo(美国 ATCC 公司);RPMI-1640 培养基、胎牛血清(美国 Sigma 公司);Sirt7 抑制剂 97491(美国 Selleck 公司);Transwell 小室(美国 Corning 公司);Matrigel 基质胶(美国 BD 公司);miR-130a-3p mimics 及其阴性对照 mimics-NC、miR-130a-3p inhibitor 及其阴性对照 inhibitor-NC(广州锐博生物技术有限公司);Lipofectamine 2000 试剂盒(美国 Introvigen 公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);总 RNA 提取试剂盒、cDNA 反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);Sirt7 抗体、HIF-1 α 抗体、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)抗体、MMP-9 抗体、E-cadherin 抗体、

2023-03-17 接收

基金项目:湖南省自然科学基金(编号:2021JJ30626);湖南省卫生健康委科研立项课题(编号:202105012226)

作者单位:南华大学衡阳医学院附属第一医院产科,衡阳 421001

作者简介:杨春芬,女,硕士,副主任医师;

钟黎黎,女,硕士,主治医师,责任作者,E-mail:lili841114@126.com

N-cadherin 抗体、Vimentin 抗体、GAPDH 抗体和辣根过氧化物酶(HPR)偶联的二抗(北京博奥森生物技术有限公司); FQD-16A 荧光定量 PCR 仪(杭州博日科技股份有限公司); Tanon-5200 化学发光成像系统(上海天能科技有限公司); XD-202 倒置生物显微镜(南京江南永新光学有限公司)。

1.2 细胞培养 HTR-8/SVneo 细胞采用含 5% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基并置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养,每 2 d 传代 1 次。

1.3 细胞转染 取对数期 HTR-8/SVneo 细胞,调整细胞密度以 2 × 10⁵ 个/孔接种于 6 孔板中过夜,待细胞密度达 70% 时,使用 Lipofectamine 2000 将 miR-130a-3p inhibitor 及其阴性对照 inhibitor-NC 转染至 HTR-8/SVneo 细胞中,将细胞依次分为 miR-130a-3p inhibitor 组和 inhibitor-NC 组,另设置空白对照组(blank),置于培养箱培养 48 h 后,采用 qRT-PCR 检测转染效率。

1.4 细胞处理及分组 第 1 部分实验:探讨低氧诱导过程中 HTR-8/SVneo 细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 表达水平,即将 HTR-8/SVneo 细胞分为常氧组和低氧组,其中常氧组细胞采用常氧培养条件(21% O₂ + 5% CO₂ + 74% N₂) 分别培养 12、24、48 h; 而低氧组细胞采用低氧条件(1% O₂ + 5% CO₂ + 94% N₂) 分别培养 12、24、48 h。第 2 部分实验:探讨抑制 miR-130a-3p 表达对低氧条件 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭及 EMT 的影响及机制,根据实验需要作如下分组:对照组(Con 组):未经转染的 HTR-8/SVneo 细胞在常氧条件下培养 48 h; 低氧组(Hyp 组):未经转染的 HTR-8/SVneo 细胞在低氧条件下培养 48 h; 低氧 + inhibitor NC 组(Hyp + inhibitor NC 组):转染 inhibitor NC 的 HTR-8/SVneo 细胞在低氧条件下培养 48 h; 低氧 + miR-130a-3p inhibitor 组(Hyp + inhibitor 组):转染 miR-130a-3p inhibitor 的 HTR-8/SVneo 细胞在低氧条件下培养 48 h; 低氧 + miR-130a-3p inhibitor + Sirt7 抑制剂 97491 组(Hyp + inhibitor + 97491 组):转染 miR-130a-3p inhibitor 的 HTR-8/SVneo 细胞采用 10 μmol/L Sirt7 抑制剂 97491 预处理 2 h,再在低氧条件下培养 48 h。

1.5 Transwell 检测细胞迁移及侵袭能力 取对数期 HTR-8/SVneo 细胞,细胞密度为 2 × 10⁵ 个/孔接种于 6 孔板中,待细胞密度达 70% 时进行分组处理。收集各组细胞,使用无血清培养基调整细胞浓度至 2 × 10⁵ 个/ml,上室加入 200 μl 细胞悬液,下室加入 600 μl 含 10% 胎牛血清的完全培养基,培养

24 h 后,取出小室,经固定、染色、水洗、晾干处理,使用显微镜拍照并记录迁移细胞数目。细胞侵袭:提前在小室中加入 50 μl 基质胶(1 mg/ml)置于培养箱中温育 4 h,其他步骤同迁移实验。

1.6 qRT-PCR 检测细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 mRNA 表达水平 分组处理后收集各组细胞沉淀,使用总 RNA 提取试剂盒提取细胞中总 RNA。采用反转录试剂盒反转录总 RNA 为 cDNA,并以此为模板进行 PCR 扩增反应。PCR 条件为 94 °C 预变性 30 s,94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 45 s,扩增 35 个循环后,72 °C 终末延伸 10 min。以 U6 或 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-130a-3p 与 Sirt7 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
miR-130a-3p	F: TTCACATTGTGCTACTGTCTGC R: GCTCTGACITTTATTGCACTACT
Sirt7	F: CGTCCGGAACGCCAAATACT R: TCAGGTCGGCAGCACTAAC
U6	F: CTCGCTTCGGCAGCACAA R: AACGCTTCACGAATTTGCGT
GAPDH	F: GAAAGCCTGCCGGTACTAA R: GCCCAATACGACCAAATCAGAGA

1.7 Western blot 实验 取对数期 HTR-8/SVneo 细胞,调整细胞密度以 2 × 10⁵ 个/孔接种于 6 孔板中,过夜,按 1.4 项下第 2 部分实验分组处理后收集各组细胞沉淀,加入 RIPA 裂解液充分裂解,使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白含量。取 40 μg 蛋白经金属浴煮沸 10 min 变性,经电泳、转膜及封闭处理后,加入 Sirt7 抗体(1 : 1 000)、HIF-1α 抗体(1 : 1 000)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)抗体(1 : 1 000)、MMP-9 抗体(1 : 1 000)、E-cadherin 抗体(1 : 1 000)、N-cadherin 抗体(1 : 1 000)、Vimentin 抗体(1 : 1 000)、GAPDH 抗体(1 : 1 000)在 4 °C 下孵育过夜。洗膜 3 次后,加入辣根过氧化物酶(HPR)偶联的二抗(1 : 10 000)在室温下孵育 1 h,洗膜 3 次,滴加 ECL 显影液。使用 Image J 软件分析待测蛋白的相对 GAPDH 的表达水平。

1.8 双荧光素酶实验验证 miR-130a-3p 与 Sirt7 靶标关系 采用在线 miRNA 靶基因预测网站 TargetScan Human 7.1 预测 miR-130a-3p 与 Sirt7 基因 3'-UTR 区域结合位点。设计合成 Sirt7 野生型(Sirt7-WT)和 Sirt7 突变型(Sirt7-Mut)荧光素酶表达载体,合成相应荧光素酶载体质粒,使用 Lipo-

fectamine 2000 将 Sirt7-WT、Sirt7-Mut 分别与 miR-130a-3p mimics、mimics-NC 转染至 HTR-8/SVneo 细胞中,转染后检测相应荧光素酶活性,即萤火虫荧光素酶的检测值与海肾荧光素酶检测值的比值(Firefly Luciferase/Renilla Luciferase)。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较行单因素方差分析,事后组内两两比较行 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低氧对 HTR-8/SVneo 细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 表达水平影响 qRT-PCR 实验结果(图 1A)显示,与常氧组比较,低氧 12、24、48 h 后低氧组细胞中 miR-130a-3p 表达水平逐渐升高($F = 46.295, P < 0.001$),而 Sirt7 mRNA 表达水平逐渐降低($F = 75.993, P < 0.001$)。Western blot 结果(图 1B)显示,与常氧组比较,低氧 12、24、48 h 后低氧组细胞中 Sirt7 蛋白表达水平逐渐降低($F = 18.152, P < 0.001$)。

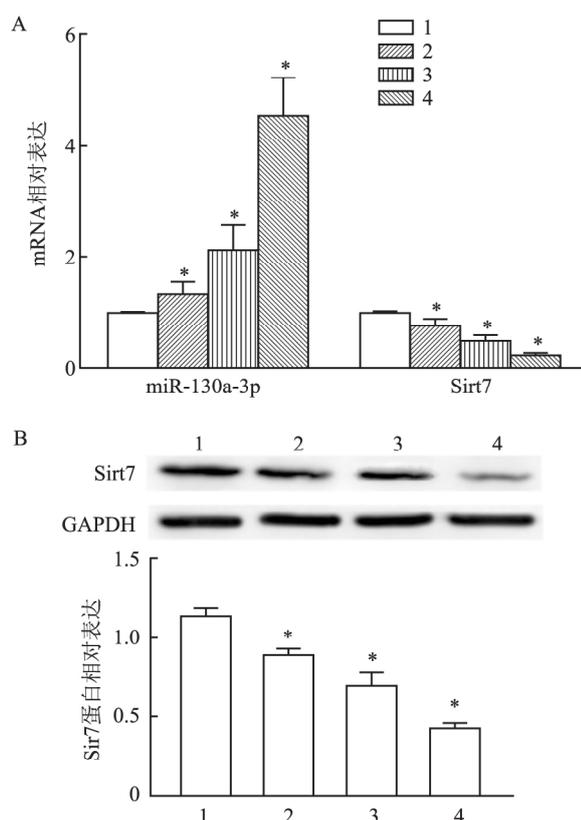


图1 各组细胞中 miR-130a-3p、Sirt7 表达水平

A: qRT-PCR 检测各组细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 mRNA 表达水平; B: 各组细胞中 Sirt7 蛋白表达水平; 1: 常氧组; 2: 低氧 12 h 组; 3: 低氧 24 h 组; 4: 低氧 48 h 组; 与常氧组比较: * $P < 0.05$

2.2 抑制 miR-130a-3p 表达对低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 表达水平影响 qRT-PCR 结果显示,与 blank 组比较,miR-130a-3p inhibitor 组细胞中 miR-130a-3p 表达水平降低($P < 0.05$),而 inhibitor-NC 组无变化($P > 0.05$),提示 miR-130a-3p 过表达的 HTR-8/SVneo 细胞构建成功,见图 2A。与 Con 组比较,Hyp 组 miR-130a-3p 水平升高($P < 0.05$),Sirt7 mRNA 水平降低;与 Hyp + inhibitor NC 组比较,Hyp + inhibitor 组 miR-130a-3p 水平降低($P < 0.05$),Sirt7 mRNA 水平升高;与 Hyp + inhibitor 组比较,Hyp + inhibitor + 97491 组 miR-130a-3p 水平无变化($P > 0.05$),Sirt7 mRNA 水平降低($P < 0.05$),见图 2B。

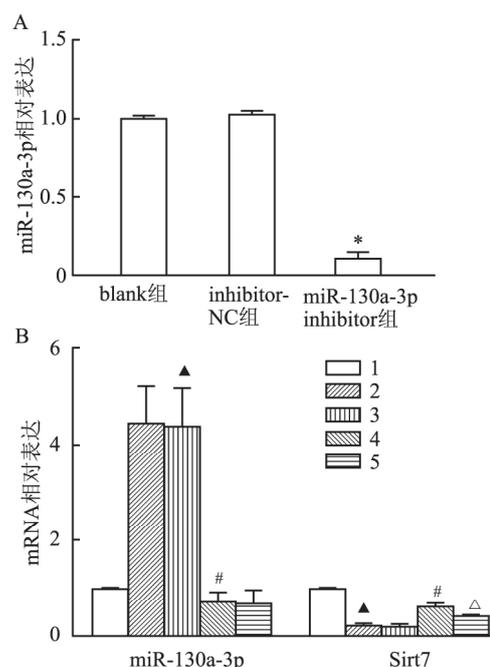


图2 各组细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 表达水平

A: HTR-8/SVneo 细胞转染效率验证; B: 抑制 miR-130a-3p 表达对低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞中 miR-130a-3p 和 Sirt7 表达水平影响; 1: Con 组; 2: Hyp 组; 3: Hyp + inhibitor NC 组; 4: Hyp + inhibitor 组; 5: Hyp + inhibitor + 97491 组; 与 blank 组比较: * $P < 0.05$; 与 Con 组比较: $\blacktriangle P < 0.05$; 与 Hyp + inhibitor NC 组比较: # $P < 0.05$; 与 Hyp + inhibitor 组比较: $\triangle P < 0.05$

2.3 抑制 miR-130a-3p 表达对低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞迁移和侵袭能力的影响 Transwell 结果(图 3)所示,与 Con 组比较,Hyp 组细胞迁移及侵袭数目减少($P < 0.05$);与 Hyp + inhibitor NC 组比较,Hyp + inhibitor 组细胞迁移及侵袭数目增加($P < 0.05$);与 Hyp + inhibitor 组比较,Hyp + inhibitor + 97491 组细胞迁移及侵袭数目减少($P < 0.05$)。

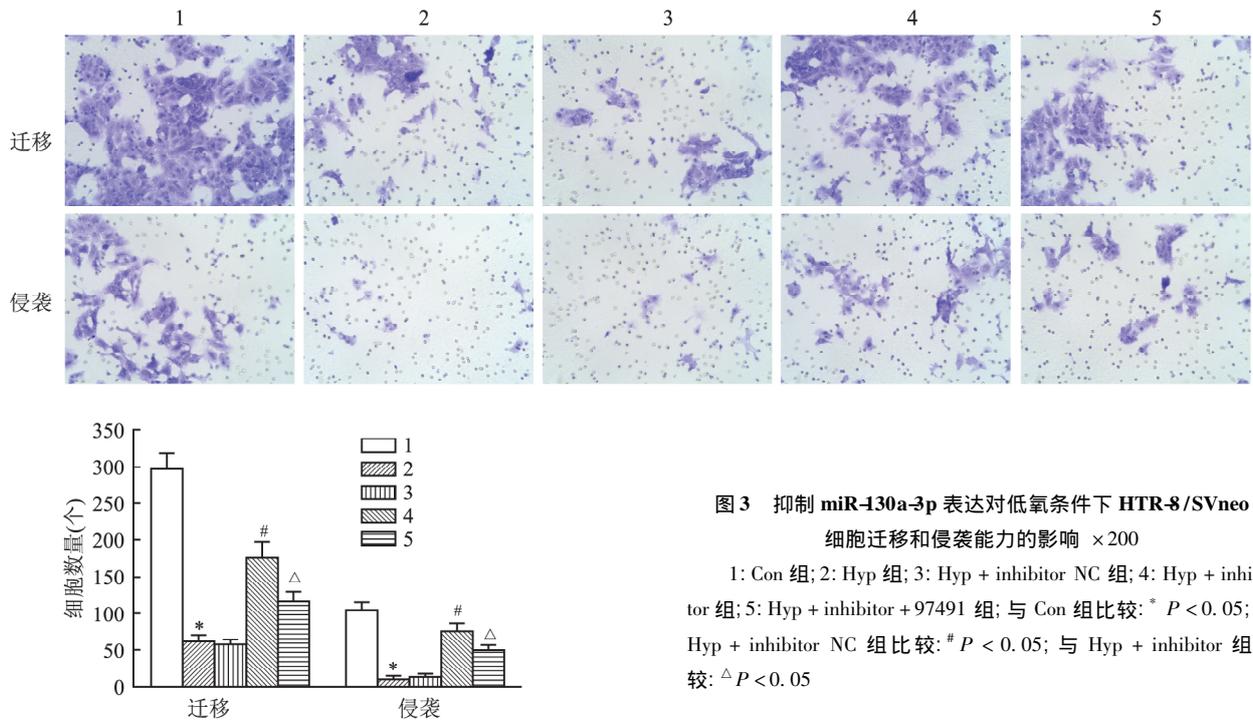


图3 抑制 miR-130a-3p 表达对低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞迁移和侵袭能力的影响 ×200

1: Con 组; 2: Hyp 组; 3: Hyp + inhibitor NC 组; 4: Hyp + inhibitor 组; 5: Hyp + inhibitor + 97491 组; 与 Con 组比较: * $P < 0.05$; 与 Hyp + inhibitor NC 组比较: # $P < 0.05$; 与 Hyp + inhibitor 组比较: Δ $P < 0.05$

2.4 抑制 miR-130a-3p 表达对低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞中 Sirt7、HIF-1α、MMP-2、MMP-9、E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平的影响 Western blot 结果(图4)显示,与 Con 组比较,Hyp 组 Sirt7、MMP-2、MMP-9、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白水平降低($P < 0.05$),HIF-1α 和 E-cadherin 蛋白水平升高($P < 0.05$);与 Hyp + inhibitor NC 组比较,Hyp + inhibitor 组 Sirt7、MMP-2、MMP-9、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白水平升高($P < 0.05$),HIF-1α 和 E-cadherin 蛋白水平降低($P < 0.05$);与 Hyp + inhibitor 组比较,Hyp + inhibitor + 97491 组 Sirt7、MMP-2、MMP-9、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白水平降

低($P < 0.05$),HIF-1α 和 E-cadherin 蛋白水平升高($P < 0.05$)。

2.5 miR-130a-3p 靶向 Sirt7 调控关系验证 在线 miRNA 靶基因预测网站 TargetScan Human 7.1 数据库预测结果(图5A)显示,Sirt7 的 3'-UTR 中存在与 miR-130a-3p 互补序列。双荧光素酶报告结果(图5B)显示,与 mimics-NC 组比较,miR-130a-3p mimics 组与 Sirt7-WT 组共转染后可以降低其荧光素酶活性[(1.03 ± 0.01) vs (0.24 ± 0.03), $P < 0.05$],而与 Sirt7-Mut 共转染后对其荧光素酶活性无影响[(1.02 ± 0.01) vs (1.01 ± 0.01), $P > 0.05$]。

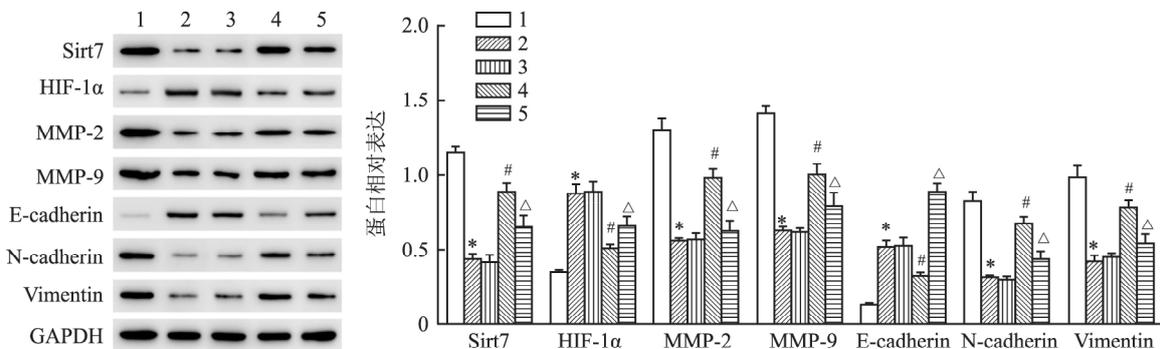


图4 各组细胞中 Sirt7、HIF-1α、MMP-2、MMP-9、E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平

1: Con 组; 2: Hyp 组; 3: Hyp + inhibitor NC 组; 4: Hyp + inhibitor 组; 5: Hyp + inhibitor + 97491 组; 与 Con 组比较: * $P < 0.05$; 与 Hyp + inhibitor NC 组比较: # $P < 0.05$; 与 Hyp + inhibitor 组比较: Δ $P < 0.05$

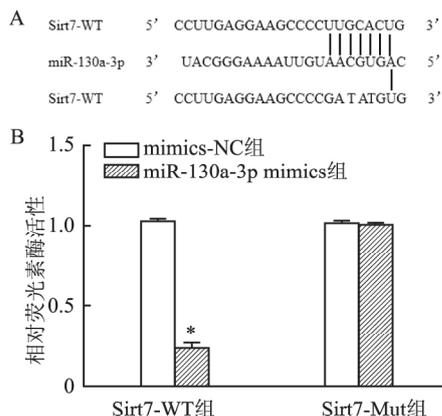


图5 miR-130a-3p 靶向 Sirt7 调控关系验证

A: TargetScan 预测 miR-130a-3p 与 Sirt7 靶向关系; B: 双荧光素酶报告基因分析确定靶向关系; 与 mimics-NC 组比较: * $P < 0.05$

3 讨论

滋养层细胞维持正常的生理功能是胎盘正常发育和孕妇正常妊娠的前提。在妊娠早期,胎盘形成初始阶段处于相对低氧的环境,这种环境可以促进滋养细胞侵袭及血管形成;然而,持续低氧导致的低氧诱导因子(HIF-1 α)的持续高表达会导致胎盘发育异常,诱发与妊娠相关疾病的发生,如PE和胎儿生长受限^[6-7]。该研究结果显示,miR-130a-3p可靶向 Sirt7 调控 HIF-1 α 进而影响低氧条件下滋养层细胞 HTR-8/SVneo 迁移、侵袭及上皮-间质转化。

既往研究^[8-9]表明,不同 miRNA 在正常妊娠和 PE 妊娠的胎盘组织中表达有所差异,同时这些 miRNA 介导的滋养层功能揭示了 PE 的发病机制。miR-130a-3p 是 miR-130 家族成员之一,其调控细胞增殖、迁移、侵袭等生物学功能已有研究揭示。例如在癌症研究^[10]中,miR-130a-3p 在结直肠癌组织中表达下调,可靶向 WNT1 抑制结直肠癌细胞增殖;然而,胃癌组织和细胞系中 miR-130a-3p 水平上调,可通过激活下游信号通路促进胃癌细胞增殖、迁移和侵袭^[11];此外,miR-130a-3p 在体外和体内均可抑制人食管鳞状细胞癌 EC-1 细胞的迁移、侵袭及上皮-间质转化^[12]。目前,关于 miR-130a-3p 在 PE 中作用机制还尚未见报道。该研究表明 miR-130a-3p 在低氧诱导的人滋养层细胞 HTR-8/SVneo 中表达上调。实验结果显示,敲低 miR-130a-3p 表达可促进低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭,上调 MMP-2、MMP-9、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平,下调 E-cadherin 蛋白表达水平,说明敲低 miR-130a-3p 表达对 PE 有治疗作用。该研究结果显示

敲低 miR-130a-3p 表达可上调 Sirt7 蛋白表达水平,下调 HIF-1 α 蛋白表达水平。然而,miR-130a-3p 与 Sirt7 的靶向关系以及 Sirt7 是否参与 HIF-1 α 的调控仍需进一步研究。

Sirt7 是 sirtuin 家族中一员,其作为一个关键的转录因子在多种癌症的发生发展过程中发挥重要的调节作用,如对于表观遗传学的调控、维持恶性肿瘤细胞的表型、调控肿瘤细胞的特异性生长、细胞侵袭以及细胞转移等肿瘤的生物学过程^[13-14]。HIF-1 α 是具有转录活性的核蛋白,参与细胞增殖、分化、血管形成等多种生理进程。Hubbi et al^[15] 研究表明敲低 Sirt7 表达可上调 HeLa、Hep3B、MDA-MB-231 和 293T 细胞中 HIF-1 α 蛋白表达水平。张展等^[16] 研究表明,低氧可促进滋养细胞 JEG-3 中 HIF-1 α 表达,沉默 HIF-1 α 可抑制其侵袭和迁移能力。然而,Sirt7 与 HIF-1 α 在 PE 发展进程中的关系未知。该实验结果显示 Sirt7 在低氧诱导的 HTR-8/SVneo 细胞中表达下调,其表达上调可降低 HIF-1 α 水平,并促进低氧诱导的 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化。进一步研究表明,miR-130a-3p inhibitor 联合 Sirt7 抑制剂干预后,可逆转 miR-130a-3p 低表达对低氧 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化的促进作用,并上调 HIF-1 α 表达。此外,该研究通过双荧光素酶报告表明 miR-130a-3p 与 Sirt7 之间存在靶向调控关系,提示 miR-130a-3p 靶向 Sirt7 调控 HIF-1 α 进而影响低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化。

综上所述,敲低 miR-130a-3p 表达可促进低氧条件下 HTR-8/SVneo 细胞迁移、侵袭及上皮-间质转化,其机制可能与靶向调控 Sirt7 有关。该研究可为治疗 PE 提供新的思路,但仍需体内实验研究来进一步阐明 miR-130a-3p 在 PE 中作用的分子机制。

参考文献

- [1] Filipek A, Jurewicz E. Preeklampsja-choroba kobiet w ciAąży [Preeclampsia-a disease of pregnant women] [J]. Postepy Biochem, 2018, 64(4): 232-29.
- [2] Tong W, Giussani D A. Preeclampsia link to gestational hypoxia [J]. J Dev Orig Health Dis, 2019, 10(3): 322-33.
- [3] Chen Z, Pei L, Zhang D, et al. HDAC3 increases HMGB3 expression to facilitate the immune escape of breast cancer cells via down-regulating microRNA-130a-3p [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2021, 135: 105967.
- [4] Yang S, Li H, Ge Q, et al. Deregulated microRNA species in the plasma and placenta of patients with preeclampsia [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 527-34.

- [5] Zhan L, Lei S, Li W, et al. Suppression of microRNA-142-5p attenuates hypoxia-induced apoptosis through targeting SIRT7 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 394–401.
- [6] Yu N, Wu J L, Xiao J, et al. HIF-1 α regulates angiogenesis via Notch1/STAT3/ETBR pathway in trophoblastic cells [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(24): 3502–12.
- [7] Zhang Z, Huang C, Wang P, et al. HIF-1 α affects trophoblastic apoptosis involved in the onset of preeclampsia by regulating FOXO3a under hypoxic conditions [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(6): 2484–92.
- [8] Peng P, Song H, Xie C, et al. MiR-146a-5p-mediated suppression on trophoblast cell progression and epithelial-mesenchymal transition in preeclampsia [J]. *Biol Res*, 2021, 54(1): 30.
- [9] 杨娟, 谢莹莹. miR-182 调控 HIF-2 α 通路对低氧诱导子病前期滋养细胞侵袭的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(6): 876–81.
- [10] Song G L, Xiao M, Wan X Y, et al. MiR-130a-3p suppresses colorectal cancer growth by targeting wnt family member 1 (WNT1) [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 8407–18.
- [11] Hu W, Zheng X, Liu J, et al. MicroRNA MiR-130a-3p promotes gastric cancer by targeting glucosaminyl N-acetyl transferase 4 (GCNT4) to regulate the TGF- β 1/SMAD3 pathway [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 11634–47.
- [12] Tian X, Fei Q, Du M, et al. miR-130a-3p regulated TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition depends on SMAD4 in EC-1 cells [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(3): 1197–208.
- [13] Yang F, Hu Y, Shao L, et al. SIRT7 interacts with TEK (TIE2) to promote adriamycin induced metastasis in breast cancer [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2021, 44(6): 1405–24.
- [14] Sun R, Guo M, Fan X, et al. MicroRNA-148b inhibits the malignant biological behavior of melanoma by reducing sirtuin 7 expression levels [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 9568976.
- [15] Hubbi M E, Hu H, Kshitiz, et al. Sirtuin-7 inhibits the activity of hypoxia-inducible factors [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(29): 20768–75.
- [16] 张展, 李鹏云, 闫欢, 等. 缺氧微环境中 HIF-1 α 基因沉默的人绒毛膜癌细胞系 JEG-3 侵袭和迁移能力观察 [J]. *山东医药*, 2018, 58(3): 15–8.

Effects of miR-130a-3p on the migration, invasion and epithelial mesenchymal transformation of human trophoblast cells by targeting Sirt7 under hypoxic condition

Yang Chunfen, Zhong Lili, Sheng Ying

(Dept of Obstetrics, The First Affiliated Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001)

Abstract Objective To investigate the effects of miR-130a-3p targeting Sirtuin7 (Sirt7) on the migration, invasion and epithelial-mesenchymal transformation (EMT) of human trophoblast cells HTR-8/SVneo under hypoxic condition and its mechanism. **Methods** HTR-8/SVneo cells were studied as subjects, miR-130a-3p inhibitor and its negative control inhibitor-NC were transfected into the cells or combined with Sirt7 inhibitor 97491 intervention, treated with hypoxia (1% O₂) for 48 h. qRT-PCR was used to detect the expression levels of miR-130a-3p and Sirt7 mRNA. Transwell assay was used to detect the ability of cells migration and invasion. The protein expression levels of Sirt7, HIF-1 α , MMP-2, MMP-9, E-cadherin, N-cadherin and Vimentin were detected by Western blot. The targeting relationship between miR-130a-3p and Sirt7 was predicted and verified by TargetScan Human 7.1 online software and dual luciferase reporter assay. **Results** Hypoxia up-regulated the expression of miR-130a-3p in HTR-8/SVneo cells, down-regulated the expression of Sirt7 mRNA and protein. The low expression of miR-130a-3p increased the expression of Sirt7 mRNA, promoted the migration and invasion ability of cells, down-regulated the expression of HIF-1 α and E-cadherin protein, and up-regulated the expression of Sirt7, MMP-2, MMP-9, N-cadherin and Vimentin protein. However, Combined treatment with Sirt7 inhibitor 97491 reversed the promotion effect of miR-130a-3p low expression on the migration, invasion and EMT of hypoxic cells. **Conclusion** miR-130a-3p is highly expressed in hypoxia-induced trophoblast cells. Inhibiting the expression of miR-130a-3p promotes the ability of migration, invasion and EMT of HTR-8/SVneo cells under hypoxic condition, which may be achieved by targeting Sirt7 to regulate HIF-1 α .

Key words hypoxic; miR-130a-3p; sirtuin-7; trophoblast cells; migration; invasion; epithelial mesenchymal transformation