

miR-513a-3p 在结肠癌中 高表达并诱导细胞生长和迁移的机制研究

缪作华¹, 刘素云², 李丹¹

摘要 目的 观察 miR-513a-3p 在结肠癌组织与癌旁正常组织的表达差异,探讨 miR-513a-3p 诱导结肠癌(CRC)细胞生长和迁移的机制。方法 收集 CRC 患者 30 例作为研究对象,原位杂交和实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)分别检测 CRC 组织与癌旁组织 miR-513a-3p 的表达水平。取入 CRC 细胞株 HT-29 和 SW480 培养后,转染 miR-513a-3p 类似物作为促进表达组,设置阴性对照组,四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法实验两组细胞活力,Transwell 法检测细胞侵袭情况,细胞划痕实验检验细胞迁移能力,Western blot 法检测 NF- κ B 和 Wnt/ β -catenin 通路相关蛋白表达水平。结果 原位杂交检测结果显示,CRC 组织 miR-513a-3p 阳性表达高于癌旁组织。qRT-PCR 检测结果显示,CRC 组织和癌旁组织 miR-513a-3p 相对表达量分别为(0.37 ± 0.09)和(1.01 ± 0.16),差异有统计学意义($P < 0.01$)。与阴性对照组比较,促进表达组细胞活力在 3、4 d 中均升高($P < 0.01$),促进表达组的 HT-29 和 SW480 细胞侵袭细胞比例升高($P < 0.01$),促进表达组 HT-29 和 SW480 的细胞迁移能力增强。Western blot 结果显示,与阴性对照组比较,促进表达组的 HT-29 细胞和 SW480 细胞 p- Γ 65、p-I κ B α 、Wnt3a、Wnt5a 和 β -catenin 蛋白相对表达量均升高($P < 0.01$)。结论 CRC 组织 miR-513a-3p 表达异常升高,过表达的 miR-513a-3p 促进 CRC 细胞生长、迁移和侵袭作用,其作用机制可能与 NF- κ B 通路和 Wnt/ β -catenin 通路激活有关。

β -catenin 通路激活有关。

关键词 miR-513a-3p; 结肠癌; 细胞迁移; NF- κ B 和 Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号 R 735.35; R 331.1; R 181.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)07-1088-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.07.016

结肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大常见癌症,也是常见的癌症相关死因之一^[1]。既往研究^[2]表明,肿瘤抑制基因的失活和致癌基因的激活均有可能导致 CRC 发病,这些功能基因被很多分子调控,比如多种 MicroRNAs(miRNAs)在 CRC 发病中发挥着重要的作用^[3]。miRNAs 是一种长度在 19~24 个核苷酸之间小型的非编码 RNA,通过与靶蛋白 mRNA 3'端非编码区(3'-UTR)结合,导致靶蛋白翻译抑制^[4],靶蛋白可影响细胞的生物学作用,因而 miRNAs 在细胞生长、增殖、凋亡和分化等多种生物学过程中发挥着重要作用^[5-6]。miR-513a-3p 作为 miRNAs 中一员,被证实介导了多种肿瘤增殖^[7-8]。关于 CRC 与 miR-513a-3p 相关报道较为少见,其作用机制也尚未明确。因此,该研究通过观察 CRC 患者癌组织与肺癌组织 miR-513a-3p 的差异,证实 CRC 发病与 miR-513a-3p 异常表达的关系,再用人 CRC 细胞株 HT-29 和 SW480 细胞进行体外实验,初步探究 miR-513a-3p 对 CRC 细胞生长和迁移的诱导机制。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2018 年 10 月—2019 年 4 月

2021-03-11 接收

基金项目:江西省卫生计生委科技计划项目(编号:20195362)

作者单位:¹赣南医学院第一附属医院黄金院区病理科,赣州 341000

²南昌大学第一附属医院,南昌 330000

作者简介:缪作华,男,本科;

李丹,女,博士,副主任医师,硕士生导师,E-mail: li-danna@163.com

increased ($P < 0.05$), but the concentration of hemoglobin A1c (HbA1c), triglyceride (TG) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), systolic blood pressure (SP), diastolic blood pressure (DP) and IRI in peripheral blood significantly increased in the above two groups ($P < 0.05$). The trend of the above indexes in miR-15a-5p mimic group was completely opposite to that in miR-15a-5p inhibitor and saxagliptin group ($P < 0.05$). In addition, saxagliptin combined with miR-15a-5p inhibitor had more effective capacity in relieving insulin resistance than treating the diabetic rats with saxagliptin or miR-15a-5p inhibitor alone ($P < 0.05$). **Conclusion** Based on the results observed during this study, the paper shows that saxagliptin has distinct effect on relieving insulin resistance by down regulating miR-15a-5p to up regulate INSR expression in diabetic rats.

Key words saxagliptin; miR-15a-5p; INSR; Type 2 diabetes; insulin resistance

在该院确诊为 CRC 患者的 CRC 组织及癌旁正常组织 30 例作为研究对象,男女比例为 17 : 13,年龄为 (58.32 ± 12.47) 岁。入选条件:术前未接受放射性治疗、化疗或者药物治疗。手术切除 CRC 变组织和临近非癌变组织,各选取 1 ~ 2 cm 漂洗干净后放置于 4% 多聚甲醛中固定,其余部分液氮中速冻留用。实验中所涉及的患者均经本人或家属同意,并签署知情同意书,且经医院伦理委员会审核后实行研究。

1.2 试剂与仪器 人 CRC 细胞株 HT-29 (HTB-38) 和 SW480 (cl-228) 购自美国菌种保藏中心 ATCC; miR-454-3p 探针由上海吉玛制药技术有限公司构建;10% 胎牛血清购自上海前尘生物科技有限公司;胃蛋白酶购自深圳市文乐生物科技有限公司;NTE 缓冲液购自北京沃凯生物科技有限公司;SCS 缓冲液购自深圳市文乐生物科技有限公司;地高辛抗体购自北京拜尔迪生物技术有限公司;DAB 显色剂购自北京绿源大德生物科技有限公司;TRIzol 试剂盒购自北京中成谨念科技有限公司;反转录试剂盒购自武汉科尔普生物科技有限公司;SYBR Green PCR 混合试剂盒购自成都柏诺科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 培养在含 10% 胎牛血清 (FBS, Gibco, 10099141) 和 1% 双抗 (Gibco, 1566407) 的 DMEM (Hyclone, 8118174) 高糖完全培养基中,放置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱内培养,每 2 ~ 3 d 传代并更换培养液。

1.3.2 miR-513a-3p 表达的检测 ① 原位杂交检测 miR-513a-3p 在组织中的表达水平。将组织从 4% 多聚甲醛中拿出,进行常规脱水、浸蜡和石蜡包埋后 6 μm 切片,二甲苯脱蜡处理,然后用高浓度到低浓度的乙醇水化,放入 30% 过氧化氢和蒸馏水 1 : 10 混合液中 (25 °C 5 ~ 10 min) 灭活内源性酶,滴加 3% 枸橼酸新鲜稀释的胃蛋白酶,37 °C 消化 15 min,1% 多聚甲醛/0.1 mol/L 的 PBS,含有 1/1 000 DEPC,室温后固定 10 min,洗净后 42 °C 预杂交 2 ~ 4 h,随后滴加 30 μl 探针杂交液。42 °C 湿盒孵育过夜,SSC 振荡漂洗,NTE 缓冲液漂洗。37 °C 封闭 30 min,滴加地高辛抗体 37 °C 封闭 60 ~ 120 min,随后 SABC、生物素化过氧化物酶分别处理,DAB 显色,显色后冲洗,乙醇脱水,透明后封片。② miR-513a-3p 相对表达水平的检测。取冻存的组织 (或者细胞) 标本,严格按照 TRIzol 试剂盒的说明书提取组织中总 RNA,再根据反转录试剂盒说明书将 RNA 反转录为 cDNA,最后把其作为模板通过 qRT-PCR

检测 miR-513a-3p 的表达水平,上海生工生物工程 (上海) 股份有限公司协助完成引物设计和合成,严格按照 SYBR Green PCR 混合试剂盒操作要求进行定量操作。miR-513a-3p 正向和反向引物分别是 5'-TAAATTTACCTTTCTGAGAAGG-3' 和 5'-GCGAG-CACAGAATTAATACGAC-3';U6 作为内参,它的正向和反向引物分别为 5'-CTCGCTTCGGCAGCAA-3' 和 5'-AACGCTTCACGATTTGCGT-3'。使用 2^{-ΔΔCt} 法进行定量计算,实验重复 3 次。

1.3.3 人 CRC 细胞株 HT-29 和 SW480 细胞转染 miR-513a-3p 将细胞株分别接种于 96 孔板中,37 °C 5% CO₂ 培养箱内培养 24 h,细胞密度达到 50% ~ 70% 时参照 Lipofectamine 2000 试剂 (Invitrogen) 说明书将 miR-513a-3p 模拟物 (miR-513a-3p mimics) (促进表达组) 及阴性对照 (miR-513a-3p NC) (阴性对照组) 转染于细胞株。

1.3.4 MTT 法检测转染 miR-513a-3p 后细胞的活力 将转染后的细胞接种于 96 孔板中,培养箱中分别培养 1、2、3、4 d 后,倒去旧的培养基,各孔加入基础培养基稀释好的 MTT,使得最终每孔 MTT 终浓度为 0.5 mg/ml,100 μl 每孔,相同条件下继续培养 4 h。最后倒去旧培养基,每孔加入 150 μl 的 DMSO。置于酶标仪中中速振荡 10 min,以加速结晶溶解,在 490 nm 处测定吸光度值。

1.3.5 细胞克隆实验观察转染 miR-513a-3p 后细胞的增殖能力 将转染后的细胞消化充分并吹打至单个细胞,然后接种到铺好琼脂糖及细胞培养液的 6 孔板中 (细胞 200 个/孔),培养箱中培养 7 d 后,4% 多聚甲醛固定细胞 15 min,PBS 洗 2 ~ 3 遍后 0.1% 结晶紫溶液染色 15 min,镜下观察细胞集落 (细胞数量 > 20 个) 的数目。

1.3.6 细胞划痕实验观察转染 miR-513a-3p 后细胞的迁移能力 种板前用标记笔在 6 孔板外侧底部,用直尺均匀地画 4 条直线;细胞 5 × 10⁵ 个/孔接种于 6 孔板,贴壁长满后,倒掉培养液,用 200 μl 移液枪头在底部中央作一直线划痕,PBS 洗 3 次去除细胞表面残骸和碎片,分别在培养 0、12、24 h 后观察细胞迁移情况,并拍照记录。每孔沿划痕从上到下观察 6 个视野,每组 3 个复孔共 18 个视野。

1.3.7 Transwell 实验检测转染 miR-513a-3p 细胞的侵袭能力 细胞饥饿 24 h 后充分消化,接种到 transwell 小室 (稀释的 Matrigel 基质胶包被) 基底膜的上室表面,接种密度 1 × 10⁵ 个/室,下层小室内为 10% 含血清完全培养基,37 °C 培养 24 h 后,4% 多

聚甲醛固定后 0.1% 结晶紫染色细胞 ,显微镜下选 5 个视野计数穿出细胞数目。

1.3.8 NF-κB 和 Wnt/β-catenin 通路相关蛋白表达的检测 提取 HT-29 和 SW480 细胞中的蛋白 ,随后用 BCA 蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度 ,样品定量后上样 ,十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离 (SDS-PAGE) 凝胶 ,然后按照 “三明治” 标准进行转膜 ,300 mA 恒流 60 min ,封闭后分别于 4 ℃ 孵育 p-p65 (ab16502)、p65 (ab86299)、p-IκBα (ab92700)、IκBα (ab32518)、Wnt3a (ab28472)、Wnt5a (ab72583)、β-catenin (ab32572) 和 β-actin (ab8226) 一抗 4 ℃ 孵育过夜 ,二抗 (CST ,#7076) 室温孵育 1 h ,最后使用化学发光仪曝光 ,所得条带的蛋白灰度值采用 Image-J 进行分析 ,按目的蛋白 / 内参相对灰度值作为分析结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计学分析 ,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,组间差异采用 t 检验或单因素方差分析 (ANOVA) ,当 $P < 0.05$ 时 ,差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织中 miR-513a-3p 的表达 原位杂交检测结果显示 (图 1A) ,CRC 组织 miR-513a-3p 阳性表达

(棕色区域) 较癌旁组织增加。qRT-PCR 检测结果显示 (图 1B) ,CRC 组织 miR-513a-3p 相对表达量较癌旁组织升高 ($t = 12.357, P < 0.01$)。

2.2 miR-513a-3p 过表达促进细胞增殖能力 促进表达组的 HT-29 和 SW480 细胞 miR-513a-3p 相对表达量均高于阴性对照组 ($t = 16.371, 13.579$; 均 $P < 0.01$) ,提示 miR-513a-3p 在 HT-29 和 SW480 细胞中转染成功 (图 2A) 。阴性对照组和促进表达组的 HT-29 细胞活力在 1、2、3、4 d 时间中逐渐升高 ($F = 8.761, 21.459$; 均 $P < 0.01$; 图 2B) ,阴性对照组和促进表达组的 SW480 细胞活力在 1、2、3、4 d 时间中亦逐渐升高 ($F = 8.136, 18.673$; 均 $P < 0.01$; 图 2C) 。与阴性对照组比较 ,促进表达组细胞活力在 3、4 d 两个时间段中均升高 ($t = 9.962, 12.918$; 均 $P < 0.01$)。

2.3 miR-513a-3p 过表达对细胞迁移能力的影响 与阴性对照组比较 ,促进表达组的 HT-29 和 SW480 细胞侵袭细胞比例增加 ($t = 43.675, 36.782$; 均 $P < 0.01$; 图 3A、B) 。促进表达组 HT-29 和 SW480 的细胞迁移能力增强 ,划痕面积愈合快 (图 3C)。

2.4 miR-513a-3p 过表达对 NF-κB 和 Wnt/β-catenin 通路的影响 Western blot 结果如图 4 所示 ,

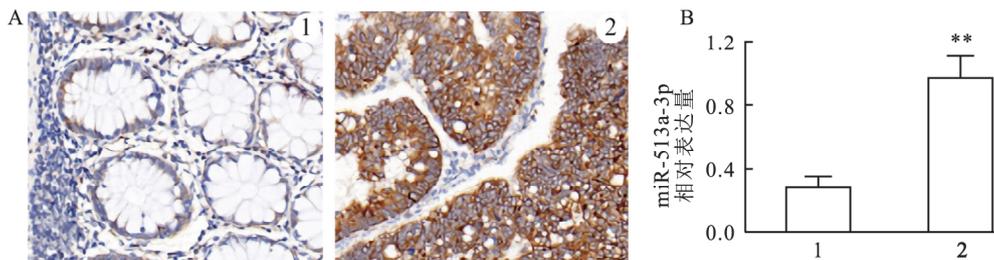


图 1 CRC 组织中 miR-513a-3p 的表达

A: 原位杂交检测结果 ×200; B: qRT-PCR 检测结果; 1: 癌旁组织组; 2: CRC 组织组; 与癌旁组织组比较: ** $P < 0.01$

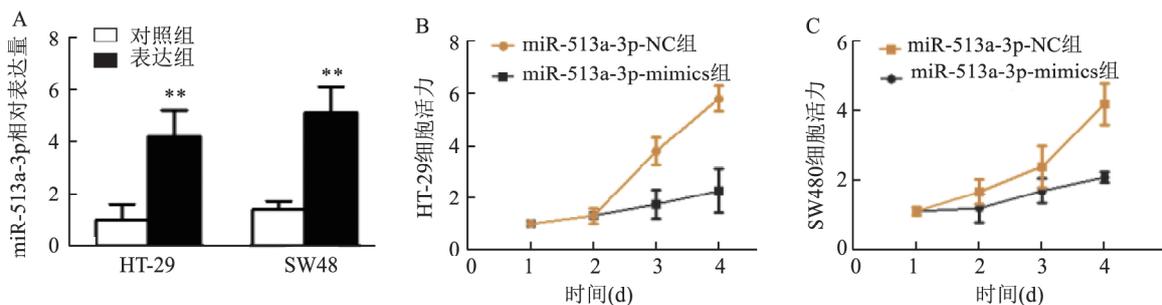


图 2 miR-513a-3p 过表达促进细胞增殖能力

A: 在 HT-29 和 SW480 细胞中成功过表达 miR-513a-3p; B: 过表达 miR-513a-3p 后 HT-29 细胞活力; C: 过表达 miR-513a-3p 后 SW480 细胞活力; 与阴性对照组比较: ** $P < 0.01$

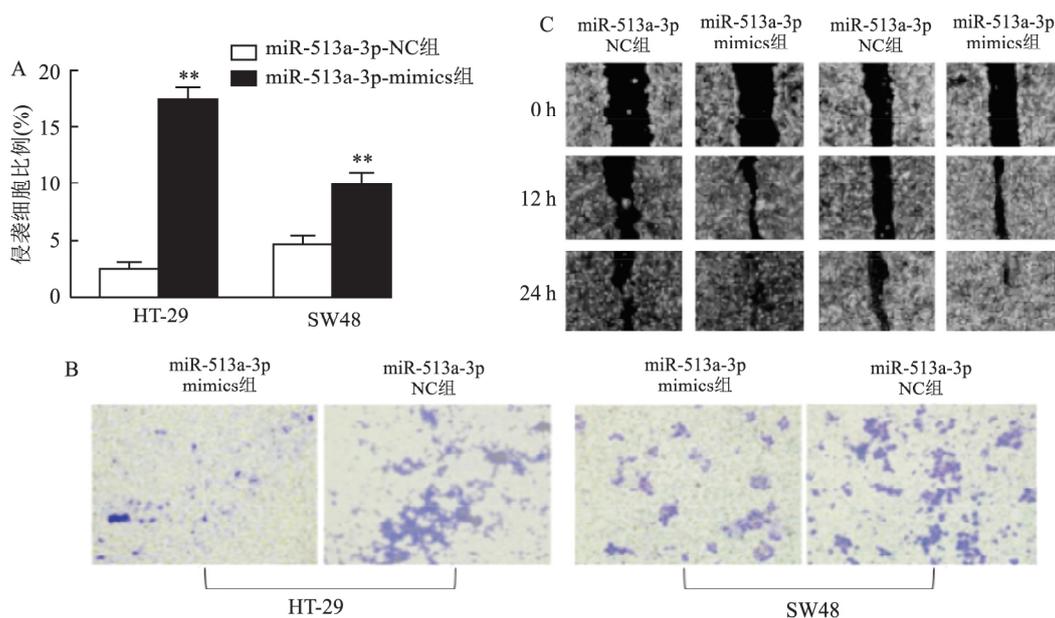


图3 miR-513a-3p 过表达对细胞迁移能力的影响

A: 穿过 Transwell 膜的 HT-29 和 SW480 细胞比例 $\times 100$; B: 细胞侵袭情况; C: 细胞迁移情况 $\times 40$; 与 miR-513a-3p NC 组比较: $** P < 0.01$

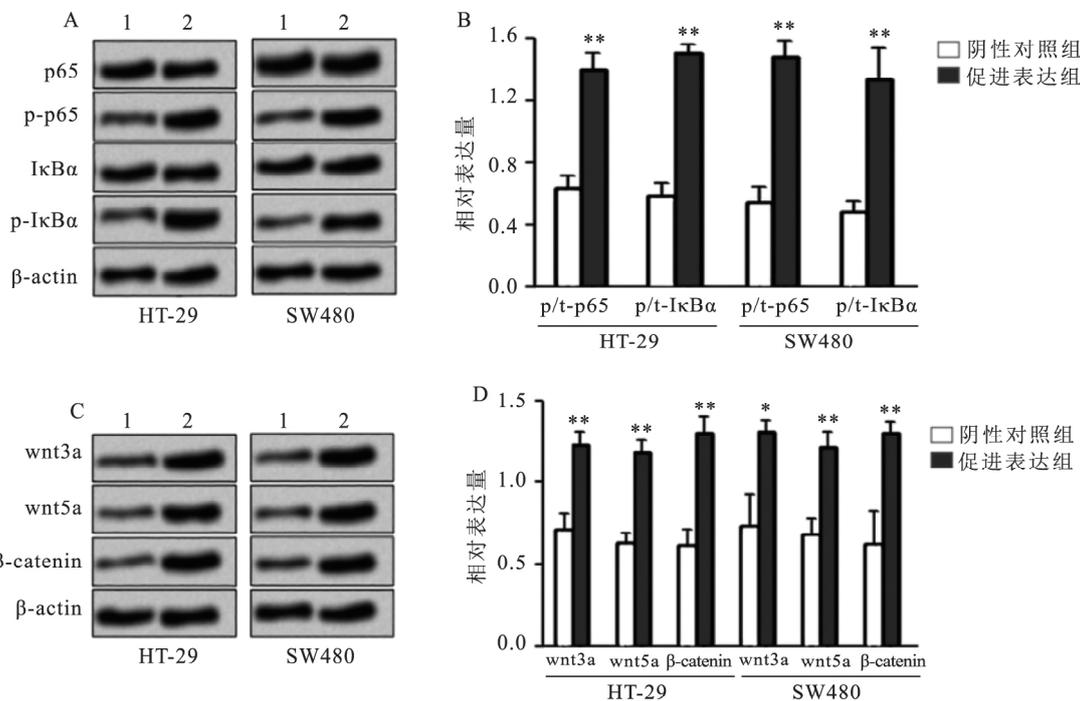


图4 miR-513a-3p 过表达对 NF-κB 和 Wnt/β-catenin 通路的影响

A: NF-κB 通路相关蛋白条带图; B: NF-κB 通路相关蛋白磷酸化比值; C: Wnt/β-catenin 通路相关蛋白条带图; D: Wnt/β-catenin 通路相关蛋白相对灰度值; 1: 阴性对照组; 2: 促进表达组; 与阴性对照组比较: $* P < 0.05$, $** P < 0.01$

与阴性对照组比较,促进表达组的 HT-29 细胞 p-p65 和 p-IκBα、Wnt3a、Wnt5a 和 β-catenin 蛋白相对表达量均升高 ($t = 14.719、14.878、8.957、9.137、9.132$; 均 $P < 0.01$),促进表达组的 SW480 细胞 p-

p65 和 p-IκBα、Wnt3a、Wnt5a 和 β-catenin 蛋白相对表达量均升高 ($t = 15.134、15.579、5.362、6.964、10.950$; 均 $P < 0.05$),提示 miR-513a-3p 过表达两种细胞的 p65/p-IκBα 通路、Wnt/β-catenin 通路均

被激活。

3 讨论

全球每年有 100 多万 CRC 新确诊病例^[9],CRC 不仅加重社会和家庭经济负担,且严重威胁到患者的生命健康。CRC 早期临床症状并不明显,部分 CRC 患者确诊时已发展到中晚期,这给予临床治疗带来巨大的挑战。另一方面,随着医疗技术不断进步,以手术、化疗和放射治疗等治疗手段为主治疗 CRC,虽然有效改善 CRC 患者的生存和预后情况,但患者病死率依旧居高不下,每年仍有约 60.8 万人死亡。因此,开展 CRC 相关研究探讨其分子引起的发病机制,以期为 CRC 寻求治疗药物或治疗靶点具有重要的意义。该研究旨在观察 miR-513a-3p 在 CRC 组织及癌旁正常组织表达差异,初步探究 miR-513a-3p 与 CRC 发病机制的关系。

既往研究^[10]表明 miRNAs 参与介入几乎所有类型的癌症和恶性肿瘤,而 CRC 患者中或 CRC 组织中也有多种 miRNAs 异常表达^[11]。多项研究^[9-10,12]中表明 miR-513a-3p 充当“癌基因”的角色,其高表达能促进癌症发生发展,与上述结果相似,该研究应用原位杂交和 qRT-PCR 检测 CRC 组织和癌旁正常组织的 miR-513a-3p 表达情况,结果显示 CRC 组织 miR-513a-3p 均高于癌旁组织,提示 miR-513a-3p 过表达可能增加 CRC 发生风险。癌症易扩散、易复发归因于癌细胞增殖快、迁移侵袭能力强等恶性特征^[13],基于以上结果可以推测,miR-513a-3p 过表达可能通过影响癌细胞增殖、迁移、侵袭等恶性特征参与 CRC 发病机制,为了验证以上推论,该研究利用两种不同来源的癌细胞株转染 miR-513a-3p 类似物,以达到 miR-513a-3p 过表达的目的,结果显示,促进表达组 miR-513a-3p 相对表达量明显高于阴性对照组,表明实验转染成功。进一步检查细胞活力、迁移能力和侵袭能力显示,促进表达组细胞活力增高,迁移和侵袭能力明显增强,结果提示过表达的 miR-513a-3p 能够促进癌细胞增殖、迁移和侵袭作用。

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)赋予细胞迁移和侵袭性,EMT 参与 CRC 的迁移进程,而 Wnt/ β -catenin 信号通路参与调控 EMT 的过程^[14-15],Wnt/ β -catenin 信号途径被激活时 E-cadherin/catenin 复合物稳定性遭到破坏而发生一系列生物学作用,最终会导致 EMT 的发生。该研究采用 Western blot 检测两种癌细胞 Wnt/ β -cate-

nin 信号通路相关蛋白显示,促进表达组 Wnt3a、Wnt5a 和 β -catenin 蛋白相对表达量均较阴性对照组升高,提示 Wnt/ β -catenin 信号通路活化,过表达的 miR-513a-3p 可能通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路表达促进癌细胞迁移和侵袭作用。研究^[16]显示 NF- κ B 信号通路在抑制 CRC 细胞增殖中也扮演重要的角色。该研究结果显示,促进表达组 Wnt3a、Wnt5a 和 β -catenin 蛋白相对表达量均升高,促进表达组 p-p65 和 p-I κ B α 蛋白相对表达量均较阴性对照组升高,提示 NF- κ B 信号通路活化,过表达的 miR-513a-3p 可能通过调控 NF- κ B 信号通路表达促进癌细胞增殖作用。

综上所述,miR-513a-3p 在 CRC 组织中的表达升高,细胞实验证实过表达的 miR-513a-3p 能促进人 CRC 细胞株 HT-29 和 SW480 的生长和迁移,其作用机制可能与 NF- κ B 和 Wnt/ β -catenin 通路的激活相关。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA: A Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Li S, Li T, Li X, et al. MicroRNA-32 regulates development and progression of hepatocellular carcinoma by targeting ADAMTS9 and affects its prognosis [J]. *Med Sci Monitor Basic Res*, 2018, 24: 177-87.
- [3] 郑俊俊,毛玉娣,汪朝靓,等. 结肠癌组织中 microRNA 表达谱的变化[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(3): 348-53.
- [4] Sartori E M, Magro-Filho O, Silveira Mendonca D B, et al. Modulation of micro RNA expression and osteoblast differentiation by nanotopography [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2018, 33(2): 269-80.
- [5] 郑海伦,赵睿,李大鹏,等. miR-625-3p 在结肠癌组织和细胞中的表达[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(8): 1376-82.
- [6] 曾长青,黄良祥,郑羽,等. miR-146a 在结肠癌中的表达及意义[J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(3): 396-400.
- [7] Ghanbarian M, Afgar A, Yadegarazari R, et al. Through oxaliplatin resistance induction in colorectal cancer cells, increasing ABCB1 level accompanies decreasing level of miR-302c-5p, miR-3664-5p and miR-129-5p [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1070-80.
- [8] da Silveira M B, Lima K F, da Silva A R, et al. miR-513a-3p contributes to the controlling of cellular migration processes in the A549 lung tumor cells by modulating integrin β -8 expression [J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 444(1-2): 43-52.
- [9] Qi Y, Li J. Triptolide inhibits the growth and migration of colon carcinoma cells by down-regulation of miR-491 [J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 107: 23-31.

- [10] 潘 晟, 黄林飞, 夏甘霖, 等. miR-129-5p、p62 和 STAT3 在结肠癌组织中的表达及临床意义 [J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(8): 600-5.
- [11] 杨愈刚, 姚开源, 薛吓娟, 等. 血清 miR-34a 表达在结肠癌诊治中的临床意义 [J]. 贵州医药, 2020, 44(7): 1030-2.
- [12] Zhang X, Zhu J, Xing R, et al. miR-513a-3p sensitizes human lung adenocarcinoma cells to chemotherapy by targeting GSTP1 [J]. *Lung Cancer*, 2012, 77: 488-94.
- [13] Xiao C, Wu C H, Hu H Z, et al. LncRNA UCA1 promotes epithelial-mesenchymal transition (EMT) of breast cancer cells via enhancing Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016 20(13): 2819-24.
- [14] Ma X, Yan W, Dai Z, et al. Baicalein suppresses metastasis of breast cancer cells by inhibiting EMT via downregulation of SATB1 and Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10(4): 1419-41.
- [15] Yang Y, Weng W, Peng J, et al. *Fusobacterium nucleatum* increases proliferation of colorectal cancer cells and tumor development in mice by activating toll-like receptor 4 signaling to nuclear factor- κ B, and up-regulating expression of microRNA-21 [J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(4): 851-66.
- [16] Yan P Y, Zhang X A. Knockdown of E2F8 suppresses cell proliferation in colon cancer cells by modulating the NF- κ B pathway [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2019, 49(4): 474-80.

Studies on the mechanism of miR-513a-3p overexpression and induction of cell growth and migration in colorectal cancer

Miao Zuohua¹, Liu Suyun², Li Dan¹

(¹Dept of Pathology, Golden Hospital, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou 341000; ²The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000)

Abstract Objective To investigate the expression of miR-513a-3p in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues, and to explore the mechanism of miR-513a-3p inducing colorectal cancer (CRC) cell growth and migration. **Methods** The total of 30 patients with colon cancer were selected as the research objects. The expression levels of miR-513a-3p in colon cancer tissues and adjacent tissues were detected by in situ hybridization and real-time fluorescence quantitative PCR. CRC cell lines HT-29 and SW480 were cultured and transfected with miR-513a-3p analogues as the expression promoting group. The negative control group was set up. The cell viability was detected by tetramethyl azo salt (MTT) colorimetry, the cell invasion was detected by Transwell method and cell migration was detected by cell scratch test. The expression of NF- κ B and Wnt/ β -Catenin pathway related proteins was detected by Western blot. **Results** The results of situ hybridization showed that the positive expression of miR-513a-3p in colon cancer tissues was higher than that in adjacent tissues. The results of qRT-PCR showed that the relative expression of miR-513a-3p was (0.37 ± 0.09) in colon cancer tissues and (1.01 ± 0.16) in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with the negative control group, the cell viability of the promoted expression group increased in 3 and 4 d ($P < 0.01$), the invasion rate of HT-29 and SW480 cells in the promoting expression group increased ($P < 0.01$), and the cell migration ability of HT-29 and SW480 in the promoting expression group was enhanced. The results of Western blot showed that compared with the negative control group, the relative expressions of p-p65, p-I κ B α , Wnt3a, Wnt5a and β -Catenin protein in HT-29 cells and SW480 cells significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** The overexpression of miR-513a-3p promotes the growth, migration and invasion of colon cancer cells. The possible mechanism is related to the activation of NF- κ B pathway and Wnt/ β -Catenin pathway.

Key words miR-513a-3p; colorectal cancer; cell migration; NF- κ B and Wnt/ β -catenin signal pathway