

miR-373-3p 通过靶向 Rab22a 调节结肠癌 SW480 细胞增殖和转移

杨 熹, 丁永斌, 宋冬梅, 葛 军, 颜雪方

摘要 目的 探究 miR-373-3p 通过靶向 Rab 蛋白 22a (Rab22a) 对结肠癌 SW480 细胞增殖和转移的调节作用。方法 RT-PCR 检测结肠癌组织和细胞中 miR-373-3p 的表达。荧光素酶报告检测 miR-373-3p 和 Rab22a 相互作用关系。将 SW480 细胞分为空白对照组 (SW480 组)、阴性对照组 (mimic NC 组)、miR-373-3p mimic 组、pLV-Rab22a 组、pLV-Rab22a + miR-373-3p 组, 各组分别转染 miR-373-3p 或 Rab22a 重组慢病毒, RT-PCR 检测 miR-373-3p 和 Rab22a 转录水平, CCK-8 法检测细胞增殖水平, 划痕愈合法检测细胞迁移, Transwell 法检测细胞侵袭, Western blot 检测 Rab22a、Ki67、上皮性钙黏附蛋白 (E-cadherin)、神经性钙黏附蛋白 (N-cadherin) 蛋白表达。结果 与正常结肠组织比较, 结肠癌组织中 miR-373-3p 表达降低。与人正常结肠细胞 NCM460 比较, 结肠癌细胞株 miR-373-3p 均降低。在荧光素酶报告实验中, 与 Rab22a WT + mimic NC 比较, Rab22a WT + miR-373-3p mimic 荧光素酶活性降低。在细胞实验中, 与 SW480 组比较, miR-373-3p mimic 组 miR-373-3p 表达和 E-cadherin 蛋白表达升高, Rab22a 基因和蛋白表达、细胞增殖水平、迁移和侵袭能力、Ki67、N-cadherin 蛋白表达降低, pLV-Rab22a 组细胞增殖水平、迁移和侵袭能力、Rab22a、Ki67、N-cadherin 蛋白表达升高, E-cadherin 蛋白表达降低; 与 pLV-Rab22a 组比较, pLV-Rab22a + miR-373-3p 组细胞增殖水平、迁移和侵袭能力、Rab22a、Ki67、N-cadherin 蛋白表达降低, E-cadherin 蛋白表达升高。结论 miR-373-3p 可靶向作用于 Rab22a, 对结肠癌 SW480 细胞增殖和转移起抑制作用。

关键词 结肠癌; miR-373-3p; Rab22a; 增殖; 转移

中图分类号 R 735.3 + 5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)07-1002-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.07.004

结肠癌是临床常见的癌症类型, 是癌症导致死亡的主要原因之一, 癌基因的过度激活与抑癌基因的失活是导致结肠癌发生的主要因素^[1]。目前对

结肠癌的治疗方案主要包括手术治疗、化学治疗、放射治疗以及靶向治疗^[2]。手术治疗是目前结肠癌治疗的一线方案, 然而由于肿瘤的转移和复发, 能够取得的效果有限^[3]。MicroRNA (miRNA) 是一类非编码 RNA 分子, 在细胞分化、细胞增殖与生存等各个方面均发挥着重要的作用, miRNA 可靶向结合于目的 mRNA, 导致目的 mRNA 翻译抑制或者降解, miRNA 在癌组织中的异常表达与癌症的发生发展有着密切联系, 因此, 基于 miRNA 的理论, 目前已发展出了一系列全新的诊断和治疗方案^[4]。miR-373-3p 是一种人类胚胎干细胞特异性的 miRNA, 研究表明, 其在癌细胞中扮演着截然不同的角色。有证据指出 miR-373-3p 在一些癌症中发挥着致癌基因的角色, 然而, 同样有文献报道了 miR-373-3p 对一些癌症的抑制作用^[5]。该研究在前人研究的基础上, 培养结肠癌细胞 SW480, 并通过 miR-373-3p mimic 和 Rab22a 过表达细胞株, 探究了在结肠癌细胞中 miR-373-3p 与 Rab 蛋白 22a (Rab22a) 的相互作用关系及其调控作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 RPMI 1640 培养液、胎牛血清购自美国 Gibco 公司; 青链霉素、TRizol 提取液、RIPA 裂解液、BCA 试剂盒、CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物技术研究所; lipofectamine 2000 购自美国 Thermo Fisher 公司; miR-373-3p mimic、阴性对照 mimic (mimic NC)、Rab22a 重组慢病毒由上海吉玛制药技术有限公司合成; 所用引物由上海生工生物公司合成; Primescript RT Reagent kit 和 SYBR PremixEX Taq II 试剂盒购自日本 Takara 公司; 荧光素酶报告系统购自美国 Promega 公司; GAPDH、Rab22a、Ki67、上皮性钙黏附蛋白 (E-cadherin)、神经性钙黏附蛋白 (N-cadherin) 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 细胞培养 NCM460 人正常结肠上皮细胞和 SW480、SW620、HCT116 和 LOVO 人结肠癌细胞株购自美国 ATCC 公司, 使用加入了 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素的 RPMI 1640

2020-04-01 接收

基金项目: 江苏省卫生计生委科研项目 (编号: BJ16008)

作者单位: 南京医科大学附属医院江苏盛泽医院消化内科 苏州 215228

作者简介: 杨 熹, 女, 副主任医师;

颜雪方, 女, 本科, 主管护师, 责任作者, E-mail: xixi_young@sina.com

培养液培养细胞,培养条件 5% CO₂、37 ℃。

1.3 细胞分组及处理 将 SW480 细胞分为不经任何处理的结肠癌 SW480 细胞组(SW480 组)、阴性对照组(mimic NC 组)、miR-373-3p mimic 组、pLV-Rab22a 组、pLV-Rab22a + miR-373-3p 组, mimic NC 转染 mimic NC 组细胞, miR-373-3p mimic 转染 miR-373-3p 组细胞, Rab22a 重组慢病毒转染 pLV-Rab22a 组、miR-373-3p mimic 和 Rab22a 重组慢病毒共转染 pLV-Rab22a + miR-373-3p 组, miRNA 转染的操作按照 lipofectamine2000 说明书进行。转染 48 h 用于后续实验。

1.4 结肠癌样本获取 27 例结肠癌组织及配对正常结肠组织样本取自南京医科大学附属江苏盛泽医院 2016 年 12 月~2019 年 1 月结肠癌患者手术切除标本, 年龄 37~77(61.33 ± 12.27) 岁, 术前未经过任何放化疗治疗处理, 样本取材后使用液氮速冻, -80 ℃ 冰箱中保存, 本研究已获该院伦理委员会批准并取得患者或家属同意。

1.5 慢病毒转染 SW480 细胞 取对数生长期的细胞接种于 6 孔板, 细胞数量约为 5×10^4 个, 细胞铺满板中 70% 时, 每孔加入 $10 \mu\text{l } 1 \times 10^8$ TU/ml 重组慢病毒转染 24 h, 换完全培养液 5% CO₂、37 ℃ 继续培养 48 h, 用于后续实验。

1.6 RT-PCR 检测 使用 TRIzol 溶液, 抽提各组样品总 RNA, 反转录获得 cDNA, 根据 SYBR Premix-EX Taq II 试剂盒说明书进行 RT-PCR 检测 mRNA 或 miRNA 水平, PCR 按 95 ℃ 预变性 2 min 95 ℃ 变性 5 s 60 ℃ 退火 10 s, 重复 40 个循环的条件进行扩增。通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算。

1.7 荧光素酶实验 通过生物信息学预测 miR-373-3p 和 Rab22a 的靶向结合位点, 根据位点序列构建 pGL3 luciferase promoter 野生型(wt)和突变型(mut)载体, 载体分别与 miR-373-3p mimic 和 mimic NC 共转染 HEK293 细胞, 转染 48 h 后检测荧光素酶活性。

1.8 CCK-8 检测细胞增殖 将各组细胞按 1.3 项的方法处理后, 常规条件下继续培养, 每 1 d 使用 CCK-8 法测定细胞增殖倍数, 连续测定 3 d。测定时将细胞接种于 96 孔板, 每孔 $10 \mu\text{l}$ 的 CCK8 试剂处理 4 h, 通过酶标仪测定在 450 nm 的吸光度值。

1.9 划痕法检测细胞迁移 细胞接种于 6 孔板, 当细胞在板内铺满 80% 后, 使用中等枪头垂直于水平面进行划线, 使用 PBS 缓冲液清洗, 在常规条件下继续培养 24 h, 通过显微镜观察划痕愈合率。

1.10 Transwell 法检测细胞侵袭 在 Transwell 小室中加入 $50 \mu\text{l}$ 基质胶, 37 ℃ 凝固 3 h, 上室和下室分别加入无血清培养液和完全培养液, 细胞接种于上室, 常规条件下培养 48 h, 擦洗掉未能通过膜的细胞, 残余细胞通过多聚甲醛进行固定, 结晶紫染色后显微镜观察。

1.11 Western blot 检测 使用 RIPA 溶液, 抽提各组样品总蛋白, BCA 试剂盒定量, 根据蛋白浓度, 在点样孔中按每孔 $30 \mu\text{g}$ 上样量加样, 10% SDS-PAGE 分离蛋白, 半干转膜法将蛋白转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后, 加入适量一抗 4 ℃ 孵育过夜, PBS 清洗后加入适量二抗继续孵育 2 h, ECL 显色液显影。

1.12 统计学处理 应用 SPSS 18.0 处理数据, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间采用 *t* 检验, 多组间采用单因素方差分析进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-373-3p 在结肠癌组织和细胞中表达下调

对 27 例临床样本进行 RT-PCR 检测, 如图 1 所示, 与配对正常结肠组织比较, 结肠癌组织中 miR-373-3p 表达降低, 差异有统计学意义($t = 10.58$, $P < 0.01$); 对人正常结肠上皮细胞和结肠癌细胞进行 RT-PCR 检测, 与正常结肠上皮细胞株 NCM460 比较, SW480、SW620、HCT116 和 LOVO 细胞株中 miR-373-3p 表达均下降, 差异有统计学意义($F = 35.44$, $P < 0.01$)。

2.2 miR-373-3p 抑制 Rab22a mRNA 转录 miR-373-3p 转染 SW480 细胞, 并通过 RT-PCR 检测细胞中 miR-373-3p 和 Rab22a 相对表达水平, 如图 2 所示, 与 SW480 组比较, mimic NC 组中 miR-373-3p 表达差异无统计学意义, miR-373-3p mimic 组中 miR-373-3p 表达升高, 差异有统计学意义($F = 358.42$, $P < 0.01$), 表明 miR-373-3p 成功转染了 SW480 细胞株; 同时, 与 SW480 组比较, mimic NC 组 Rab22a 转录水平差异无统计学意义, miR-373-3p mimic 组 Rab22a 转录水平降低, 差异有统计学意义($F = 92.33$, $P < 0.01$)。

2.3 miR-373-3p 靶向作用于 Rab22a 生物信息学分析了 miR-373-3p 与 Rab22a 的相互作用位点, 检测荧光素酶活性, 如图 3 所示, 与 Rab22a WT + mimic NC 组比较, Rab22a WT + miR-373-3p mimic 组荧光素酶活性降低, 差异有统计学意义($F = 74.33$,

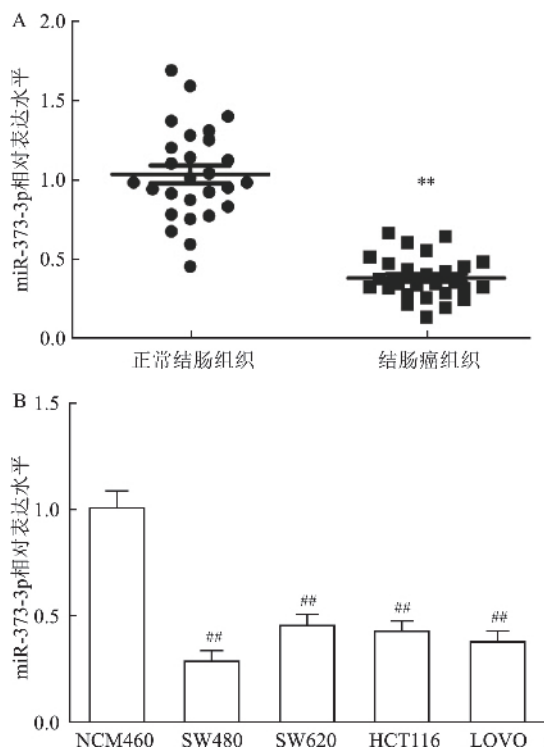


图1 RT-PCR检测miR-373-3p在结肠癌组织及细胞株中的表达
A: miR-373-3p在结肠癌组织中表达;与正常结肠组织比较:
** $P < 0.01$; B: miR-373-3p在细胞株中表达;与NCM360细胞比较:
$P < 0.01$

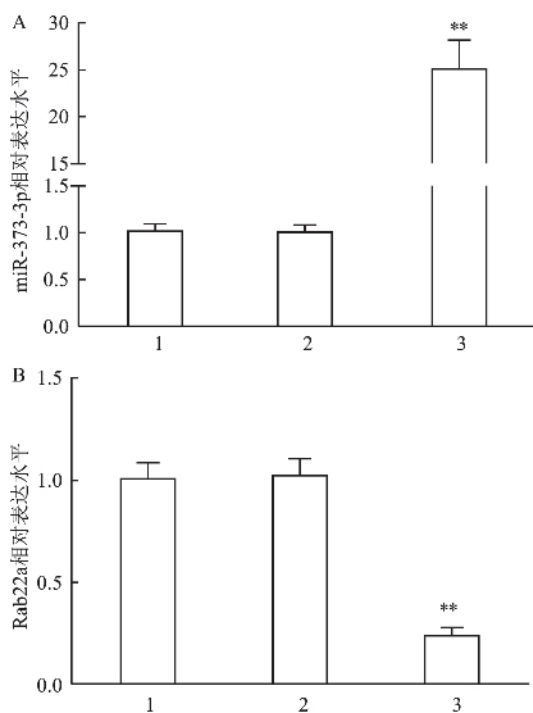


图2 RT-PCR检测SW480细胞株中miR-373-3p和Rab22a的基因表达

A: miR-373-3p相对表达水平; B: Rab22a相对表达水平; 1: SW480组; 2: mimic NC组; 3: miR-373-3p mimic组; 与SW480组比较: ** $P < 0.01$

RAB22A 3' UTR	5' ...UGUAAAGGGGAAAAUU--AGCACUUU... 3'
hsa-miR-373-3p	3' UGUGGGGUGUUAGCUUCGUGAAG 5'

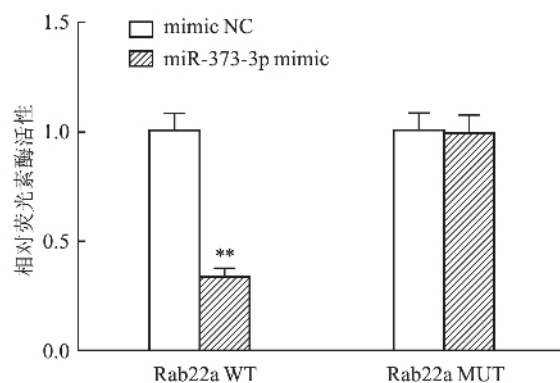


图3 荧光素报告基因检测miR-373-3p与Rab22a靶向作用关系
与mimic NC组比较: ** $P < 0.01$

$P < 0.01$); 同时, Rab22a MUT + miR-373-3p mimic组与Rab22a MUT + mimic NC组比较差异无统计学意义。

2.4 miR-373-3p抑制细胞增殖 通过CCK-8检测了各组细胞在3 d内的细胞增殖水平,如图4所示,与SW480组比较,miR-373-3p mimic组细胞增殖水平降低($F = 178.42$, $P < 0.01$)。pLV-Rab22a组细胞增殖水平升高,差异有统计学意义($F = 62.48$, $P < 0.01$);与pLV-Rab22a组比较,pLV-Rab22a + miR-373-3p组SW480细胞增殖水平降低,差异有统计学意义($F = 49.21$, $P < 0.01$)。

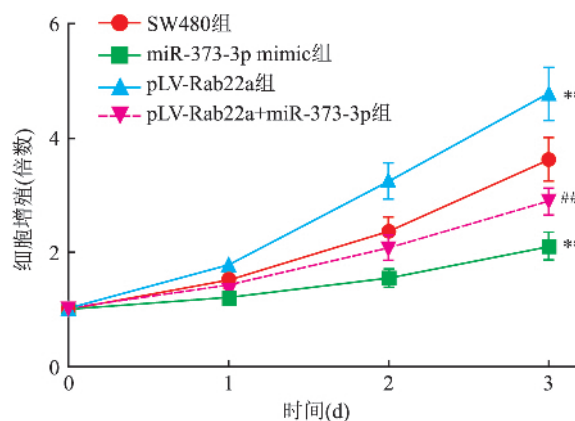


图4 CCK-8检测SW480细胞株细胞增殖水平
与SW480组比较: ** $P < 0.01$; 与pLV-Rab22a组比较: ## $P < 0.01$

2.5 miR-373-3p抑制细胞迁移 通过划痕愈合法检测了各组细胞的迁移能力,如图5所示,SW480、miR-373-3p mimic、pLV-Rab22a、pLV-Rab22a + miR-

373-3p 各组细胞划痕愈合率分别为 ($67.3 \pm 8.0\%$)、($26.8 \pm 5.1\%$)、($89.3 \pm 9.3\%$)、($51.0 \pm 6.5\%$)，与 SW480 组比较，miR-373-3p mimic 组细胞划痕愈合率降低 ($F = 78.85$, $P < 0.01$)，pLV-Rab22a 组细胞划痕愈合率升高 ($F = 31.43$, $P < 0.01$)，差异有统计学意义；与 pLV-Rab22a 组比较，pLV-Rab22a + miR-373-3p 组细胞划痕愈合率降低，差异有统计学意义 ($F = 62.61$, $P < 0.01$)。

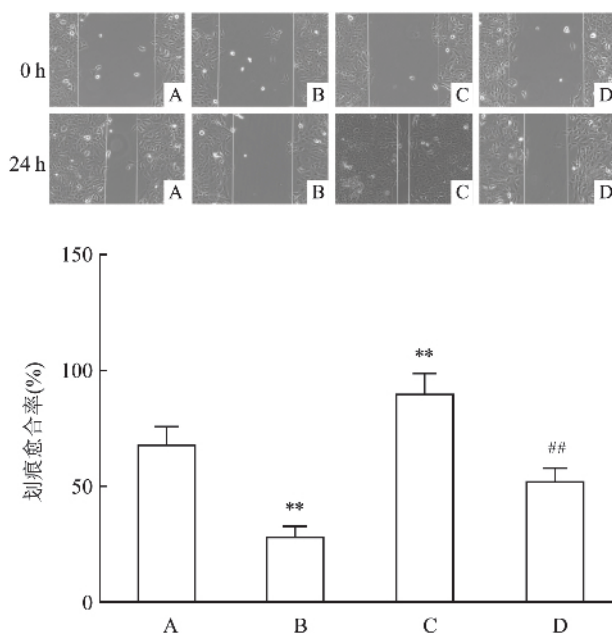


图5 划痕愈合法检测 SW480 细胞株迁移能力 ×100

A: SW480 组; B: miR-373-3p mimic 组; C: pLV-Rab22a 组; D: pLV-Rab22a + miR-373-3p 组; 与 SW480 组比较: ** $P < 0.01$; 与 pLV-Rab22a 组比较: ## $P < 0.01$

2.6 miR-373-3p 抑制细胞侵袭 通过 Transwell 法检测了各组细胞的侵袭能力，如图 6 所示，SW480、miR-373-3p mimic、pLV-Rab22a、pLV-Rab22a + miR-373-3p 各组细胞侵袭数目分别为 (147 ± 11)、(56 ± 7)、(241 ± 22)、(134 ± 15)，与 SW480 组比较，miR-373-3p mimic 组细胞侵袭数目降低 ($F = 89.30$, $P < 0.01$)，pLV-Rab22a 组细胞侵袭数目升高 ($F = 55.28$, $P < 0.01$)，差异有统计学意义；与 pLV-Rab22a 组比较，pLV-Rab22a + miR-373-3p 组细胞侵袭数目降低，差异有统计学意义 ($F = 75.35$, $P < 0.01$)。

2.7 miR-373-3p 抑制 Rab22a 蛋白表达并调控增殖和转移相关蛋白表达 通过 Western blot 检测了各组中 Rab22a 和增殖转移相关蛋白的表达，如图 7 所示，与 SW480 组比较，miR-373-3p mimic 组

Rab22a、Ki67、N-cadherin 蛋白表达降低，E-cadherin 蛋白表达升高 ($F = 102.03$, $P < 0.01$)，同时 pLV-Rab22a 组 Rab22a、Ki67、N-cadherin 蛋白表达升高，E-cadherin 蛋白表达降低 ($F = 233.43$, $P < 0.01$)，差异有统计学意义；与 pLV-Rab22a 组比较，pLV-Rab22a + miR-373-3p 组 Rab22a、Ki67、N-cadherin 蛋白表达降低，E-cadherin 蛋白表达升高，差异有统计学意义 ($F = 172.35$, $P < 0.01$)。

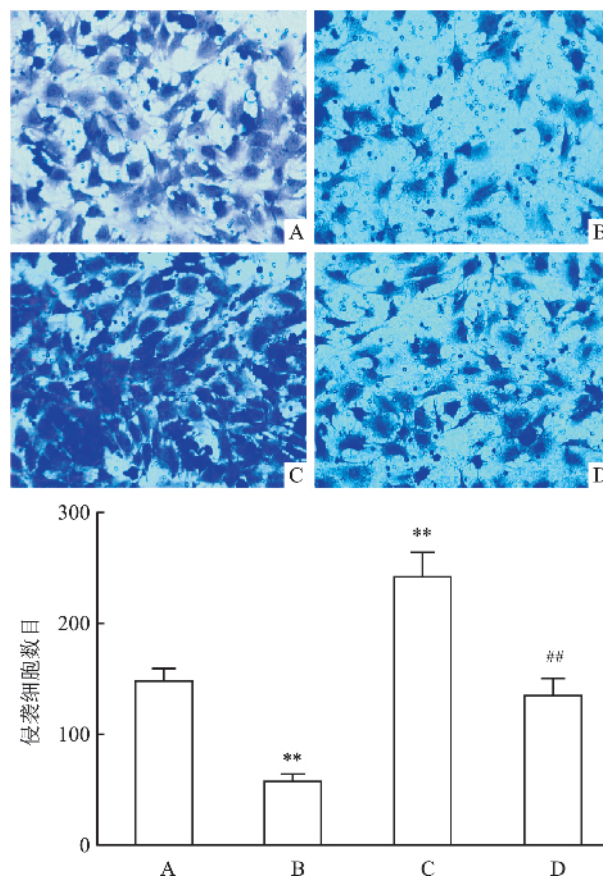


图6 Transwell 检测 SW480 细胞株侵袭能力 ×200

A: SW480 组; B: miR-373-3p mimic 组; C: pLV-Rab22a 组; D: pLV-Rab22a + miR-373-3p 组; 与 SW480 组比较: ** $P < 0.01$; 与 pLV-Rab22a 组比较: ## $P < 0.01$

3 讨论

Rab 家族属于 Ras 小 GTP 酶超家族，在细胞内与蛋白囊泡运输有着重要的关系，已有超过 60 种已知的 Rab 蛋白定位于不同的膜结合区域。这些 GTP 酶与 GDP 结合时处于失活状态，与 GTP 结合时处于激活状态，活化的 Rab 蛋白可与特定胞膜结合并促进效应因子复合物的形成，在膜识别、融合、膜脂成分改变、细胞器运动等各个方面起着重要作用^[6]。Rab22a 是 Rab 家族的成员之一，在内体囊泡转运过程中发挥着关键作用，Rab22a 过表达可导致内体形

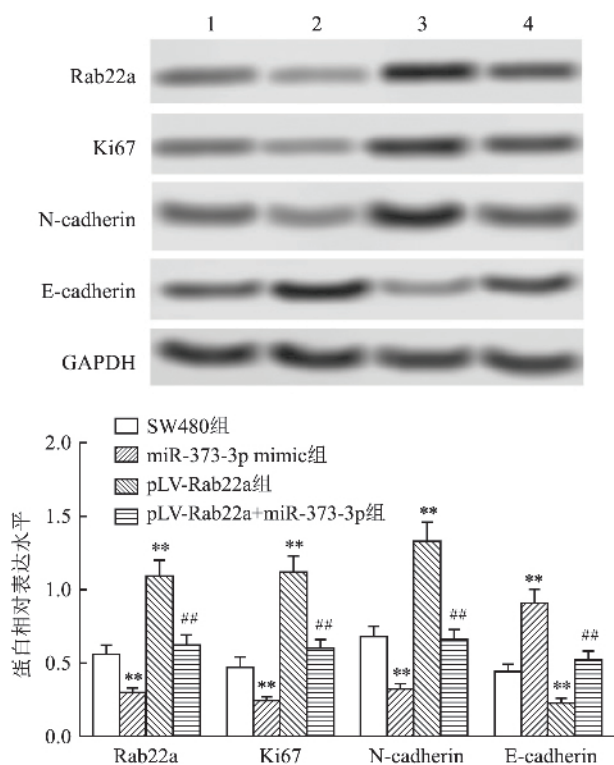


图7 Western blot 检测 Rab22a、Ki67、N-cadherin、E-cadherin 蛋白表达

1: SW480 组; 2: miR-373-3p mimic 组; 3: pLV-Rab22a 组; 4: pLV-Rab22a + miR-373-3p 组; 与 SW480 组比较: ** $P < 0.01$; 与 pLV-Rab22a 组比较: ## $P < 0.01$

态改变,并妨碍内体向高尔基体的分子交流^[7]。研究^[8]表明,Rab22a在多种人类癌症疾病中表达上调,在粘着斑形成、肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移等过程中起着重要调节作用,被认为是一种致癌基因。Rab22a在结肠癌中也起着促进肿瘤发生的作用,Yin et al^[9]报道了miR-204-5p可通过下调Rab22a的表达抑制结肠直肠癌细胞的增殖与侵袭,并增加其对化疗药物的敏感性。miR-373-3p是一种在人类胚胎干细胞中特异性高表达的miRNA^[10],在不同肿瘤组织中miR-373-3p呈现异常表达,根据肿瘤细胞类型的不同,分别发挥着促瘤和抑瘤的作用,表明miR-373-3p在肿瘤中的调控作用具有细胞特异性^[11]。在结肠癌中,文献报道了miR-373-3p具有肿瘤抑制作用,Tanaka et al^[12]发现在结肠癌中miR-373-3p发生异常甲基化,导致表达量下调,同时促癌基因Rab22a mRNA表达水平升高;同时Zhang et al^[13]研究表明在卵巢癌中miR-373-3p通过靶向下调Rab22a表达抑制肿瘤侵袭和转移,推测在结肠癌中miR-373-3p也可通过靶向下调Rab22a的表达抑制肿瘤生长和转移。为了证实这一推测,本研究首

先检测了miR-373-3p在结肠癌组织和细胞中的表达水平,结果表明在结肠癌组织和细胞中miR-373-3p表达水平降低。进一步通过miR-373-3p mimic转染SW480细胞株,结果显示miR-373-3p抑制了Rab22a的转录和蛋白表达水平,证实了miR-373-3p对Rab22a存在调控作用。通过双荧光素酶报告实验,验证了miR-373-3p与Rab22a的靶向作用关系。结合以上实验结果表明miR-373-3p在SW480细胞内可靶向抑制Rab22a的表达。

细胞增殖不受限制、易发生转化和转移是肿瘤细胞主要特征,Rab22a具有促进结肠癌细胞增殖和转移的作用^[9]。为了进一步探究miR-373-3p靶向作用于Rab22a对结肠癌细胞SW480的增殖和转移的调控作用,本研究对SW480细胞增殖、迁移和侵袭等方面进行了检测,结果表明miR-373-3p抑制了SW480细胞的增殖,Rab22a过表达可减轻miR-373-3p对增殖的抑制作用;同时,本研究显示miR-373-3p抑制了SW480细胞的迁移和侵袭,Rab22a过表达可减轻miR-373-3p对迁移和侵袭的抑制作用。此外,miR-373-3p降低了Ki67和N-cadherin的蛋白表达,提高了E-cadherin的表达,Rab22a可逆转miR-373-3p的调控作用。Ki67是常见的细胞增殖标志物,其水平变化可反映出细胞增殖的情况^[14];N-cadherin是一种间叶细胞标志物,E-cadherin是一种上皮细胞标志物,E-cadherin下调以及N-cadherin上调标志着细胞从上皮细胞向间叶细胞表型的转变,细胞的迁移和侵袭能力提升^[15-16]。结合以上实验结果表明miR-373-3p可通过下调Rab22a表达抑制SW480细胞增殖和转移。

综上,在结肠癌细胞中,miR-373-3p可靶向作用于Rab22a,降低Rab22a的基因和蛋白表达水平,抑制Ki67和N-cadherin的表达,提高E-cadherin的表达,进而抑制结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究从体外水平SW480研究了miR-373-3p对Rab22a的靶向关系及其对结肠癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用,今后考虑构建裸鼠移植瘤模型,进一步探讨miR-373-3p和Rab22a在裸鼠体内的调控作用及机制。

参考文献

- [1] Sogaard M, Thomsen R W, Bossen K S, et al. The impact of co-morbidity on cancer survival: a review [J]. Clin Epidemiol, 2013, 5(Suppl 1): 3-39.
- [2] Banerjee A, Pathak S, Subramaniam V D, et al. Strategies for targeted drug delivery in treatment of colon cancer: current trends

- and future perspectives[J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(8): 1224–32.
- [3] Moghadamyehqaneh Z, Hanna M H, Hwang G, et al. Outcomes of colon resection in patients with metastatic colon cancer[J]. *Am J Surg*, 2016, 212(2): 264–71.
- [4] 田敬华, 杨金玲, 秦杰, 等. miR-34 启动子甲基化在胃癌发病过程中的作用研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(1): 17–21.
- [5] Fan X, Xu S, Yang C. miR-373-3p promotes lung adenocarcinoma cell proliferation *via* APP [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(1): 1046–50.
- [6] Pfeffer S R. Rab GTPases: master regulators that establish the secretory and endocytic pathways[J]. *Mol Biol Cell* 2017, 28(6): 712–5.
- [7] Su F, Chen Y, Zhu S, et al. RAB22A overexpression promotes the tumor growth of melanoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(44): 71744–53.
- [8] Mayorga L S, Cebrian I. Rab22a: A novel regulator of immune functions [J]. *Mol Immunol*, 2019, 113: 87–92.
- [9] Yin Y, Zhang B, Wang W, et al. miR-204-5p inhibits proliferation and invasion and enhances chemotherapeutic sensitivity of colorectal cancer cells by downregulating RAB22A [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23): 6187–99.
- [10] Suh M R, Lee Y, Kim J Y, et al. Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs [J]. *Dev Biol*, 2004, 270(2): 488–98.
- [11] Wei F, Cao C, Xu X, et al. Diverse functions of miR-373 in cancer [J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 162.
- [12] Tanaka T, Arai M, Wu S, et al. Epigenetic silencing of microRNA-373 plays an important role in regulating cell proliferation in colon cancer [J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(5): 1329–35.
- [13] Zhang Y, Zhao F J, Chen L L, et al. MiR-373 targeting of the Rab22a oncogene suppresses tumor invasion and metastasis in ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(23): 12291–303.
- [14] Wu K, Xu K, Liu K, et al. Long noncoding RNA BC200 regulates cell growth and invasion in colon cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 99: 219–25.
- [15] Alaei M, Danesh G, Pasdar M. Plakoglobin reduces the *in vitro* growth, migration and invasion of ovarian cancer cells expressing N-cadherin and mutant p53 [J]. *Plos One*, 2016, 11(5): e0154323.
- [16] 吕金燕, 王刚, 王若雨, 等. E-cadherin 以及转录因子 ZEB1 在乳腺癌中的表达及与 ER、PR、HER-2 及 Ki-67 表达的相关性 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2019, 16(1): 52–6.

MiR-373-3p regulates proliferation and metastasis of colon cancer SW480 cells by targeting Rab22a

Yang Xi, Ding Yongbin, Song Dongmei, et al

(Dept of Gastroenterology, Jiangsu Shengze Hospital, Nanjing Medical University, Suzhou 215228)

Abstract Objective To explore the regulation of miR-373-3p on proliferation and metastasis of colon cancer SW480 cells by targeting Rab22a. **Methods** The expression of miR-373-3p in colon cancer tissues and cells was detected by RT-PCR. Luciferase reporter assay was used for testing the targeting relationship between miR-373-3p and Rab22a. Cells were divided into Control (SW480), Negative control (mimic NC), miR-373-3p mimic, pLV-Rab22a, pLV-Rab22a + miR-373-3p groups, each group was transfected with miR-373-3p or Rab22a recombinant lentivirus. RT-PCR was used to measure the relative transcript levels of miR-373-3p and Rab22a, cell proliferation was detected by CCK-8, wound scratch way was performed for detecting the migration of cells, the invasion of cells were detected by Transwell assay, the protein expressions of Rab22a, Ki67, E-cadherin, N-cadherin were determined by Western blot. **Results** Compared with normal colon tissues, the expression of miR-373-3p in colon cancer tissues notably decreased. Compared with human normal colon cancer cell NCM460, the expression of miR-373-3p in colon cancer cells markedly decreased. In luciferase reporter assay, compared with Rab22a WT + mimic NC, the luciferase activity in Rab22a WT + miR-373-3p mimic decreased. In cytological experiments, compared with SW480 group, the gene expression of miR-373-3p and protein expression of E-cadherin increased in miR-373-3p mimic group, and the gene and protein expression of Rab22a, cell growth level, migration and invasion ability, protein expression of Ki67, N-cadherin decreased, meanwhile, the cell growth level, migration and invasion ability, protein expressions of Rab22a, Ki67, N-cadherin increased in pLV-Rab22a group, the E-cadherin protein expression decreased; Compared with pLV-Rab22a group, the cell growth level, migration and invasion ability, protein expressions of Rab22a, Ki67, N-cadherin decreased in pLV-Rab22a + miR-373-3p group, and the E-cadherin protein expression increased. **Conclusion** miR-373-3p can target Rab22a, and inhibit the proliferation and metastasis of colon cancer SW480 cells.

Key words colon cancer; miR-373-3p; Rab22a; proliferation; metastasis