

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.10.004

· 基础研究 ·

## miR-627-3p 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其对癌细胞恶性生物学行为的影响

朱永刚<sup>a,b</sup>, 田子强<sup>a</sup>, 赵振翔<sup>c</sup>, 王明博<sup>a</sup>, 曹峰<sup>a</sup>, 温士旺<sup>a</sup>, 李振华<sup>a</sup>, 单保恩<sup>b</sup> (河北医科大学第四医院 a. 胸外科; b. 科研中心; c. 神经外科, 河北 石家庄 050011)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-627-3p 在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中的表达及其对 ESCC 细胞生物学行为的影响。**方法:** 收集 2015 年 1 月至 2015 年 10 月河北医科大学第四医院胸外科手术切除的 ESCC 组织 86 例及对应的癌旁组织标本 20 例。通过 qPCR 法检测 miR-627-3p 在 86 例 ESCC 组织及癌旁组织中的表达, 分析其表达与 ESCC 患者临床病理学指标及预后的关系; 利用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库进一步分析数据库中 hsa-miR-627 的表达与 ESCC 患者预后的关系; 通过 qPCR 法检测 miR-627-3p 在 4 株 ESCC 细胞系中的表达, 选取表达水平最低的食管癌细胞转染 miR-627-3p mimic, 选取表达水平最高的 ESCC 细胞转染 miR-627-3p inhibitor, 采用 CCK-8 法检测细胞的增殖, 采用 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭; 采用 KEGG 分析探讨 miR-627-3p 可能介导的信号转导通路, 并采用 qPCR 法验证 miR-627-3p 对信号通路中关键基因表达的影响。**结果:** miR-627-3p 在 ESCC 组织中的表达明显低于在癌旁组织中的表达, miR-627-3p 的表达与 ESCC 患者淋巴结转移和临床分期相关(均  $P < 0.05$ ); miR-627-3p 高表达的 ESCC 患者的 5 年生存率明显高于 miR-627-3p 低表达的食管癌患者( $P < 0.05$ )。ESCC 细胞系 KYSE170 中 miR-627-3p 表达最低, KYSE30 中 miR-627-3p 表达最高; 在 KYSE170 细胞中转染 miR-627-3p mimic 后, 细胞的增殖能力无明显变化( $P > 0.05$ ), 但细胞的迁移( $P < 0.05$ )和侵袭能力( $P < 0.05$ )显著降低; 在 KYSE30 细胞中转染 miR-627-3p inhibitor 后, 细胞的增殖能力无明显变化( $P > 0.05$ ), 但细胞的迁移( $P < 0.05$ )和侵袭能力( $P < 0.05$ )显著增高。KEGG 分析结果显示, miR-627-3p 介导了多条与肿瘤相关的信号转导通路。**结论:** miR-627-3p 在 ESCC 组织中的表达明显低于在癌旁组织中的表达, 其低表达与 ESCC 患者的不良预后相关, miR-627-3p 抑制 ESCC 细胞的迁移和侵袭, 可能是通过干扰多条与肿瘤相关的信号通路发挥生物学功能。

**[关键词]** miR-627-3p; 食管鳞状细胞癌; KYSE170 细胞; KYSE30 细胞; 迁移; 侵袭; 预后

**[中图分类号]** R730.54; R735.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2021)10-0978-07

## Expression of miR-627-3p in ESCC tissues and its effect on malignant biological behaviors of cancer cells

ZHU Yonggang<sup>a,b</sup>, TIAN Ziqiang<sup>a</sup>, ZHAO Zhenxiang<sup>c</sup>, WANG Mingbo<sup>a</sup>, CAO Feng<sup>a</sup>, WEN Shiwang<sup>a</sup>, LI Zhenhua<sup>a</sup>, SHAN Baoen<sup>b</sup> (a. Thoracic Surgery Department; b. Scientific Research Center; c. Neurosurgery Department, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of miR-627-3p in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) tissues and its effect on biological behaviours of ESCC cells. **Methods:** From January 2015 to October 2015, 86 ESCC tissue specimens and 20 coresponding adjacent normal tissue specimens from Thoracic Surgery Department of the Fourth Hospital of Hebei Medical University were collected. qPCR was used to detect the expression level of miR-627-3p in 86 cases of ESCC tissues and 20 cases of adjacent normal tissues. The relationship between miR-627-3p expression and clinicopathological parameters as well as prognosis was analyzed. The Kaplan-Meier plotter online database was used to further analyze the relationship between hsa-miR-627 expression and the prognosis of ESCC patients. qPCR was used to detect the expression of miR-627-3p in the four ESCC cells. miR-627-3p mimic was transfected into low-expressed cells, and miR-627-3p inhibitor was transfected into high-expressed cells. The cell proliferation was

**[基金项目]** 河北省医学科学研究课题计划资助项目(No.20210074)。Project supported by the Medical Science Research Project of Hebei Province (No.20210074)

**[作者简介]** 朱永刚(1976—),男,硕士,主治医师,主要从事食管癌的临床治疗与基础研究, E-mail: zyghbyd@163.com

**[通信作者]** 单保恩(SHAN Baoen, corresponding author),教授,博士生导师,主要从事食管癌的基础研究, E-mail: baoenshan@hotmail.com

detected by CCK-8 assay, and the cell migration and invasion were detected by Transwell assay, respectively. KEGG analysis was used to explore the possible signal pathways mediated by miR-627-3p, and qPCR was used to verify the effect of miR-627-3p on the expression of key genes in the signal pathway. **Results:** The expression of miR-627-3p in ESCC tissues was significantly lower than that in adjacent normal tissues. The expression of miR-627-3p was negatively correlated with lymph node metastasis and clinical stage of ESCC patients (all  $P < 0.05$ ). The five-year survival rate of ESCC patients with high miR-627-3p expression was significantly higher than that of the patients with low miR-627-3p expression ( $P < 0.05$ ). The expression of miR-627-3p was lowest in KYSE170 cells, and highest in KYSE30 cells. After transfection of miR-627-3p mimic into KYSE170 cells, the cell proliferation ability was not changed ( $P > 0.05$ ), but cell migration ( $P < 0.05$ ) and invasion ( $P < 0.05$ ) abilities were significantly decreased. After transfection of miR-627-3p inhibitor into KYSE30 cells, the cell proliferation ability was not changed ( $P > 0.05$ ), but cell migration ( $P < 0.05$ ) and invasion ( $P < 0.05$ ) abilities were significantly increased. KEGG analysis showed that miR-627-3p mediated multiple tumor-related signal pathways. **Conclusion:** The expression of miR-627-3p in ESCC tissues is significantly lower than in adjacent normal tissues, and its low expression is related to the poor prognosis of ESCC patients. miR-627-3p inhibits the migration and invasion of ESCC cells, which might play a biological function by interfering with multiple tumor-related signal pathways.

**[Key words]** miR-627-3p; esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); KYSE170 cell; KYSE30 cell; migration; invasion; prognosis  
[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(10): 978-984. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.10.004]

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是全球癌症死亡的第六大原因,是最具侵袭性的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。在中国,ESCC是食管癌最主要的组织学类型<sup>[2]</sup>。在过去的20年中,以手术、放化疗为主的食管癌治疗方法已经有了很大改善,但由于复发和转移率高,导致ESCC的整体5年生存率仍不理想<sup>[3]</sup>。ESCC复发和转移的具体分子机制仍未阐明。

miRNA可靶向作用于mRNA的3'非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR),抑制靶基因的表达<sup>[4]</sup>。越来越多的研究<sup>[5-9]</sup>表明,miRNA在恶性肿瘤的发生发展中发挥着至关重要的作用,包括影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭、转移、自噬以及肿瘤的化疗耐药等<sup>[10]</sup>。ESCC中多种miRNA表达异常,影响ESCC细胞的恶性生物学行为<sup>[11-12]</sup>。关于miR-627-3p在肿瘤中的研究较少,尤其在ESCC中的研究还未见报道。本课题组在前期研究中检测到miR-627-3p在高侵袭转移的食管癌组织中表达降低(数据待发表)。本研究检测了86例ESCC患者的食管癌组织样本及对应的20例癌旁正常食管黏膜组织中miR-627-3p的表达水平,分析其表达与食管癌患者临床指标及预后的关系,通过细胞学实验探究miR-627-3p对ESCC细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响,并通过生物信息分析探讨miR-627-3p下游的信号通路,为阐明ESCC侵袭转移的分子机制提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

收集2015年1月至2015年10月河北医科大学第四医院胸外科手术切除的ESCC组织86例及对应

的癌旁正常组织标本20例,手术标本在新鲜状态下放入液氮中冷冻,后转到 $-80^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存以备提取RNA。术前,所有患者均未行放化疗,均已被告知并签署知情同意书。研究方案征得医院伦理委员会批准。

### 1.2 细胞系及主要试剂

人ESCC系KYSE30、KYSE170、Eca109、TE1购自武汉普诺赛生命科技有限公司。RPMI 1640培养基、胰蛋白酶、胎牛血清购自美国Gibco公司,青链霉素双抗混合液购自上海翊圣生物科技有限公司,TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司,荧光定量PCR Mix试剂盒购自美国Promega公司,Hi-perfect转染试剂购自德国QIAGEN公司,NC mimic、miR-627-3p mimic、NC inhibitor、miR-627-3p inhibitor购自广州锐博生物技术有限公司。Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒购自美国MCE公司,Transwell小室购自美国康宁公司,matrigel胶购自美国BD公司,miR-627-3p和内参基因U6的特异性逆转录和扩增引物购自广州锐博生物技术有限公司。

### 1.3 qPCR检测ESCC组织及细胞中miR-627-3p的表达水平

使用TRIzol提取组织和细胞的总RNA,使用promega逆转录和扩增试剂盒制备cDNA模板,并进行qPCR扩增反应,反应条件为 $95^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min, $95^{\circ}\text{C}$ 变性15 s, $58^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, $72^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算miR-627-3p的相对表达量。

### 1.4 miR-627-3p mimic和inhibitor的转染

细胞生长至对数生长期,接种于6孔板中( $1 \times 10^6$ 个/孔)培养24 h,按照Hi-perfect Reagent推荐的转染

方法,每孔加入 10  $\mu$ l miR-627-3p mimic 或 NC mimic 或 miR-627-3p inhibitor 或 NC inhibitor 和 50  $\mu$ l 不含胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,充分混匀,室温下放置 5 min。同时将 4  $\mu$ l Hiperfect Reagent 加入 50  $\mu$ l 不含胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,充分混匀,室温下放置 5 min。将质粒与转染试剂充分混匀后,室温下放置 20 min,加入每孔,使终体积达到 2 ml。转染 6~8 h 后,更换新鲜的完全培养基,继续孵育 24~48 h。

### 1.5 CCK-8 实验检测 miR-627-3p 对 ESCC 细胞增殖的影响

细胞生长至对数生长期,接种于 96 孔板中 ( $5 \times 10^3$  个/孔),每孔加入 100  $\mu$ l 细胞悬液。分别于第 0、24、48、72、96 h 时,每孔加入 10  $\mu$ l CCK-8 试剂,轻轻摇匀后置于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中孵育 1~2 h。用酶标仪测量细胞的 450 nm 波长处的光密度(D)值。

### 1.6 细胞划痕实验检测 miR-627-3p 对 ESCC 细胞迁移能力的影响

用 Marker 笔在 6 孔板背后划横线,间隔 0.5~1.0 cm,横穿过孔。孔中加入  $5 \times 10^5$  个细胞。第 2 天用 200  $\mu$ l 枪头垂直于横线划裂线,用 PBS 冲洗细胞 3 次,加入无血清培养基,在 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。于普通光学显微镜下观察 0、6、12、24 h 划痕闭合情况,并拍照。

### 1.7 Transwell 实验检测 miR-627-3p 对 ESCC 细胞迁移和侵袭能力的影响

将低温融化的 matrigel 胶与无血清 RPMI 1640 培养液按照 1:7 稀释,充分混匀,在 24 孔板中加入 20  $\mu$ l,置于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中过夜凝固。选取对数生长期的 KYSE170 细胞重悬于 200  $\mu$ l 不含胎牛血清的

RPMI 1640 培养基中,按照  $2 \times 10^5$  个/孔的密度种植于 Transwell 小室上,在 24 孔板每孔中加入 800  $\mu$ l 含胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养基。注意在 24 孔板中加入 matrigel 胶时检测细胞的侵袭能力,不加 matrigel 胶时检测细胞的迁移能力。细胞于培养箱中孵育 48 h 后,用 4% 多聚甲醛固定 20 min,用结晶紫染色 10 min,于普通光学显微镜下观察计数穿膜的细胞数目,并拍照。

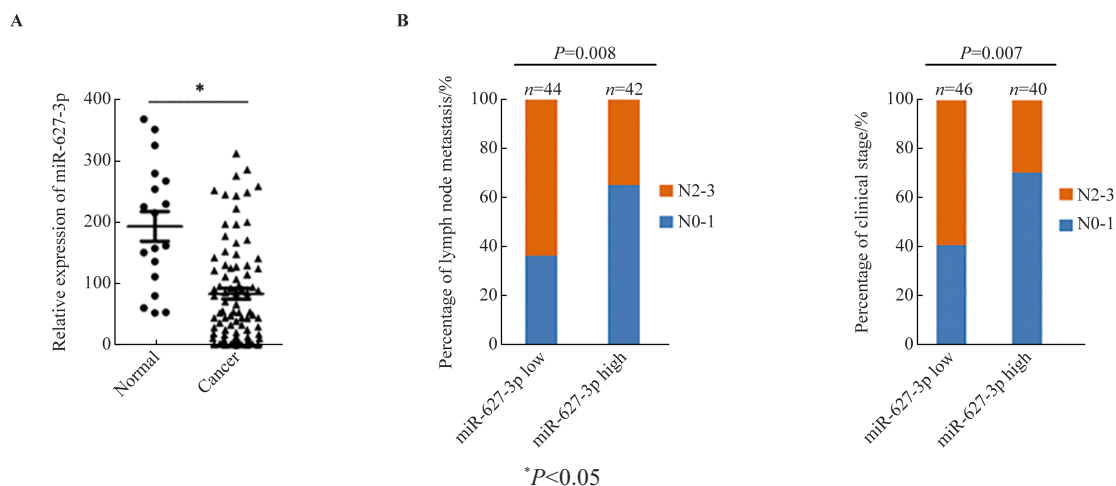
### 1.8 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析数据。符合正态分布的计量资料的数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,采用卡方检验分析 miR-627-3p 表达高低与 ESCC 患者临床指标的关系,通过 Kaplan-Meier 方法评估患者的总体生存率,通过 Log-Rank 检验比较各组差异,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-627-3p 在 ESCC 组织中的表达及临床意义

qPCR 法检测 miR-627-3p 的表达结果显示,miR-627-3p 在 ESCC 组织中的表达明显低于在癌旁食管组织中的表达(图 1A)。miR-627-3p 的表达与 ESCC 患者的年龄、性别、组织学分级无明显相关性,与食管癌患者的淋巴结转移( $P=0.008$ ,图 1B)和临床分期呈负相关关系( $P=0.007$ ,图 1B)。miR-627-3p 高表达的食管癌患者 5 年总生存率明显高于 miR-627-3p 低表达的食管癌患者( $P=0.040$ ,图 2A);Kaplan-Meier Plotter 在线数据库分析显示,has-miR-627 高表达的食管癌患者 5 年总生存率明显高于 has-miR-627 低表达的食管癌患者( $P=0.082$ ,图 2B)。

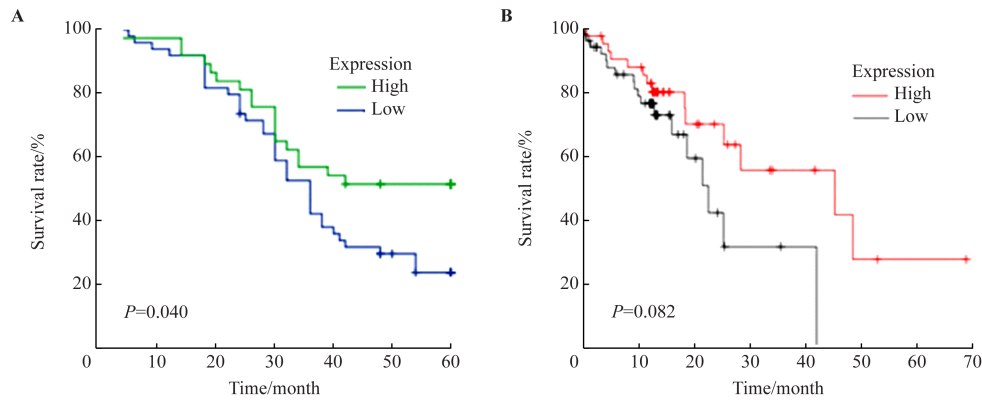


A: The expression of miR-627-3p in ESCC tissues was significantly lower than that in adjacent normal esophageal tissues;

B: miR-627-3p was negatively correlated with lymph node metastasis and clinical stage of ESCC patients

图1 miR-627-3p 在 ESCC 组织中的表达以及与临床指标的关系

Fig.1 miR-627-3p expression in ESCC tissues and its relationship with clinical parameters



A: The five-year overall survival rate of esophageal cancer patients with high expression of miR-627-3p was significantly higher than that of esophageal cancer patients with low expression of miR-627-3p; B: The five-year overall survival rate of esophageal cancer patients with high expression of has-miR-627 was significantly higher than that of esophageal cancer patients with low expression of has-miR-627

图2 miR-627-3p 的表达与 ESCC 患者预后的关系

Fig.2 Relationship between miR-627-3p expression and prognosis of ESCC patients

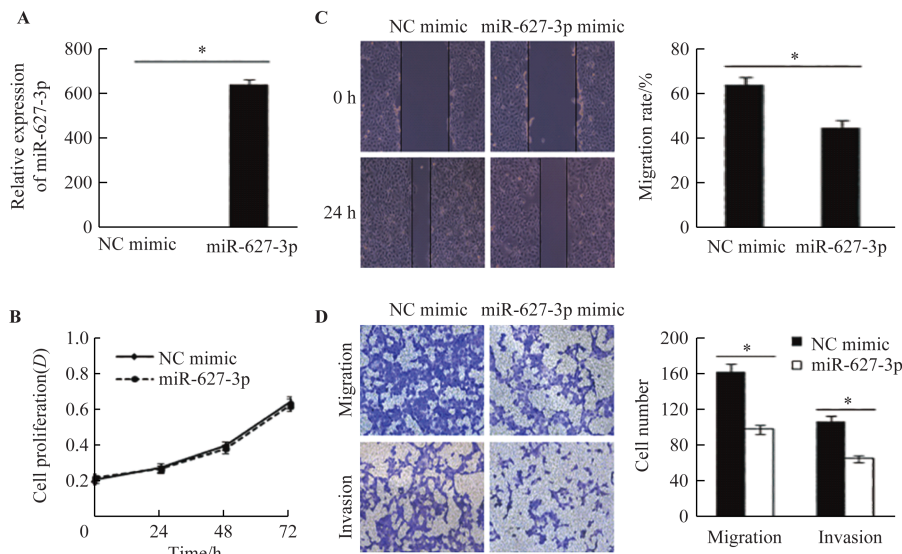
2.2 miR-627-3p 在 ESCC 细胞系中的表达

qPCR 法检测人 ESCC KYSE170、Eca109、TE1、KYSE30 等 4 种细胞系中 miR-627-3p 的表达水平, 结果显示, 以上 4 种细胞系中 miR-627-3p 的相对表达量分别为 1.00±0.09、1.07±0.05、1.30±0.17 和 2.11±0.19。其中, KYSE170 细胞中 miR-627-3p 的表达水平最低, KYSE30 细胞中 miR-627-3p 的表达水平最高, 因此, 选用 KYSE170 细胞进行过表达实验, 选用 KYSE30 细胞进行敲低实验。

2.3 转染 miR-627-3p mimic 对 ESCC 细胞功能的影响

miR-627-3p mimic 转染 ESCC 细胞 KYSE170 后,

qPCR 法检测结果显示, miR-627-3p mimic 转染组细胞中 miR-627-3p 表达水平与对照组相比明显升高, 差异具有统计学意义(图 3A,  $P < 0.05$ ), 表明 miR-627-3p 过表达成功。CCK-8 法检测结果显示, miR-627-3p 过表达组 KYSE170 细胞的增殖能力与对照组相比无明显变化(图 3B,  $P > 0.05$ )。细胞划痕实验检测结果显示, 转染 miR-627-3p mimic 组中细胞的迁移率与对照组相比明显降低, 差异具有统计学意义(图 3C,  $P < 0.05$ )。Transwell 迁移和侵袭实验结果显示, 转染 miR-627-3p mimic 组中细胞的迁移和侵袭数量与对照组相比明显减少, 差异具有统计学意义(图 3D,  $P < 0.05$ )。



\* $P < 0.05$

A: Transfection efficiency of miR-627-3p mimic into KYSE170 cells; B: The proliferation of KYSE170 cells did not change after miR-627-3p overexpression; C: The migration ability of KYSE170 cells in miR-627-3p mimic group was decreased; D: The migration and invasion abilities of KYSE170 cells in miR-627-3p mimic group were decreased

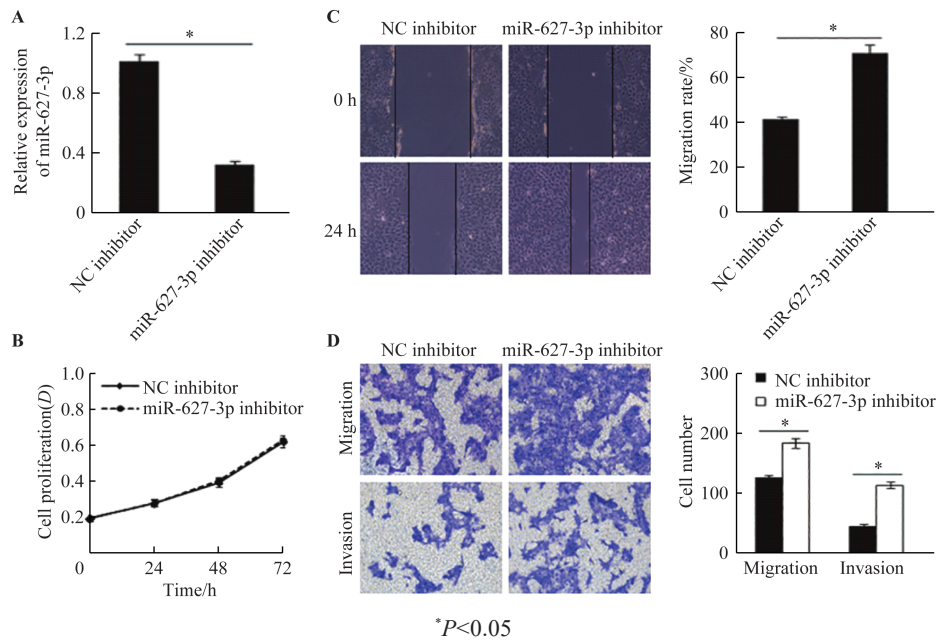
图3 转染 miR-627-3p mimic 对 ESCC 细胞功能的影响

Fig.3 Effect of miR-627-3p mimic transfection on the function of ESCC cells

### 2.4 转染 miR-627-3p inhibitor 对 ESCC 细胞功能的影响

将 miR-627-3p inhibitor 转染至 ESCC 细胞 KYSE30 后, qPCR 检测结果显示, 与对照组相比, miR-627-3p inhibitor 转染组细胞中 miR-627-3p 表达水平明显降低, 差异具有统计学意义 (图 4A,  $P < 0.05$ ), 表明 miR-627-3p inhibitor 转染成功。CCK-8 法检测结果显示, 与对照组相比, 转染

miR-627-3p inhibitor 组 KYSE30 细胞的增殖能力无明显变化 (图 4B,  $P > 0.05$ )。划痕实验结果显示, 与对照组相比, 转染 miR-627-3p inhibitor 组中细胞的迁移率明显增加, 差异具有统计学意义 (图 4C,  $P < 0.05$ )。Transwell 迁移和侵袭实验结果显示, 与对照组相比, 转染 miR-627-3p inhibitor 组中细胞的迁移和侵袭数量明显增多, 差异具有统计学意义 (图 4D,  $P < 0.05$ )。



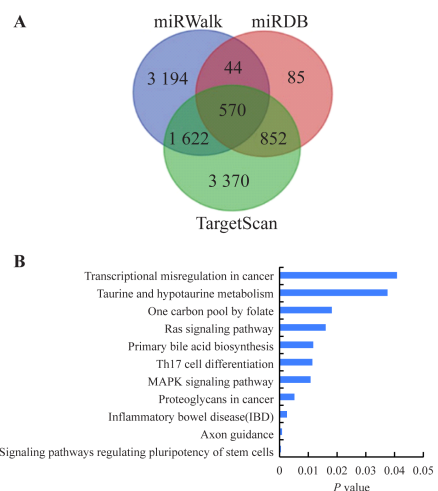
A: Transfection efficiency of miR-627-3p inhibitor into KYSE30 cells; B: The proliferation of KYSE30 cells did not change after miR-627-3p inhibitor transfection; C: The migration ability of KYSE30 cells in miR-627-3p inhibitor group was increased; D: The migration and invasion abilities of KYSE30 cells in miR-627-3p inhibitor group were increased

图4 抑制 miR-627-3p 对 ESCC 细胞功能的影响

Fig.4 Effect of miR-627-3p inhibitor on the function of ESCC cells

### 2.5 miR-627-3p 通过多种信号途径抑制 ESCC 的发展

为进一步探讨 miR-627-3p 抑制食管癌侵袭转移进而影响 ESCC 发展的分子机制, 本研究采用 miRWalk、miRDB 和 TargetScan 3 个数据库对 miR-627-3p 下游靶基因进行筛选, 共有 570 个靶基因同时存在于 3 个数据库 (图 5A)。570 个靶基因的 KEGG 分析结果显示, miR-627-3p 可能介导了 11 个信号通路, 其中, 有多条信号通路与肿瘤的发生、发展密切相关, 如调节干细胞多能性的信号通路 (signaling pathways regulating pluripotency of stem cells)、肿瘤蛋白聚糖相关信号通路 (proteoglycans in cancer)、MAPK 信号通路 (MAPK signaling pathway)、Ras 信号通路 (ras signaling pathway) 和肿瘤的转录失调 (transcriptional misregulation in cancer)。



A: A total of 570 target genes existed in the three databases; B: miR-627-3p might mediate multiple tumor related signal pathways

图5 miR-627-3p 潜在的靶基因和介导的信号通路  
Fig.5 Potential target genes and signaling pathways mediated by miR-627-3p

### 3 讨论

miRNA 是一类由内源基因编码长度约 2~23 个核苷酸的单链非编码 RNA 分子, 在真核细胞内普遍存在<sup>[4]</sup>, 是近年来研究较为广泛的一类非编码 RNA。miRNA 在 ESCC 中表达失调, 影响肿瘤细胞增殖、凋亡、转移和侵袭等多种生物学行为, 成为目前该领域的研究热点。本研究首次探讨了 miR-627-3p 在 ESCC 细胞中表达的临床意义以及对 ESCC 细胞生物学功能的影响, 为 ESCC 的发生发展机制提供了新的理论依据。

本研究采用 qPCR 方法检测了在 86 例 ESCC 组织及 20 例癌旁食管黏膜组织中 miR-627-3p 的表达状况, 结果显示, miR-627-3p 在 ESCC 组织中的表达明显低于在癌旁食管组织中的表达, 且与 ESCC 患者的淋巴结转移和临床分期呈负相关。生存分析结果表明, miR-627-3p 高表达的 ESCC 患者 5 年总生存率明显高于低表达的 ESCC 患者, 与 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库的生存分析结果一致。以上结果显示, miR-627-3p 可能在 ESCC 的发生发展过程中发挥了抑癌作用, 与 ESCC 的淋巴结转移和不良预后相关。

在细胞功能方面, 本研究发现, miR-627-3p 在 KYSE170 细胞中的表达水平最低, 在 KYSE30 细胞中的表达水平最高。转染 miR-627-3p mimic 后, 细胞的增殖能力无明显变化, 而细胞的迁移和侵袭能力明显降低; 转染 miR-627-3p inhibitor 后, 细胞的增殖能力无明显变化, 而细胞的迁移和侵袭能力明显增加。以上结果提示, miR-627-3p 可能抑制 ESCC 细胞的迁移和侵袭, 进而影响 ESCC 的转移和进展。有研究<sup>[13]</sup>报道, 在骨肉瘤中, miR-627-3p 可通过抑制靶基因 PTN 从而抑制骨肉瘤细胞的增殖和转移。此外, miR-627-3p 可抑制肺腺癌的增殖和浸润<sup>[14]</sup>。miRNA 的作用方式多样, 可通过结合其他 RNA 或蛋白发挥作用, 例如结合 circRNA 发挥海绵分子效应从而影响肺癌细胞的增殖与侵袭<sup>[15-16]</sup>, 介导多种下游信号转导通路从而影响肿瘤的发生发展进程<sup>[17-18]</sup>。本研究通过 KEGG 分析探讨了 miR-627-3p 可能介导的下游信号转导通路, 结果显示, miR-627-3p 影响了多条与肿瘤的发生发展密切相关的信号通路, 具体机制有待进一步研究。

综上所述, miR-627-3p 在 ESCC 组织中低表达, 且低表达与 ESCC 患者的不良预后相关, miR-627-3p 抑制 ESCC 细胞的迁移和侵袭, 且可能通过干扰多条与肿瘤相关的信号通路发挥生物学功能。

### [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 Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [2] ABNET C C, ARNOLD M, WEI W Q. Epidemiology of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(2): 360-373. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.08.023.
- [3] PENNATHUR A, GIBSON M K, JOBE B A, et al. Oesophageal carcinoma[J]. *Lancet*, 2013, 381: 400-412. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60643-6.
- [4] LAI E C. Micro RNAs are complementary to 3'UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation[J]. *Nat Genet*, 2002, 30(4): 363-364. DOI: 10.1038/ng865.
- [5] GREGORY R I, SHIEKHATTAR R. MicroRNA biogenesis and cancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(9): 3509-3512. DOI: 10.1158/0008-5472.
- [6] SUN F, ZHANG C, MA D, et al. MicroRNA-544 inhibits esophageal squamous cell carcinoma cell proliferation and enhances sensitivity to cisplatin by repressing E2F transcription factor 5[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(4): 4203-4209. DOI: 10.3892/ol.2019.10749.
- [7] JIN J, ZHANG J, XUE Y, et al. miRNA-15a regulates the proliferation and apoptosis of papillary thyroid carcinoma via regulating AKT pathway[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 6217-6226. DOI: 10.2147/OTT.S213210.
- [8] WANG Y, MU L, HUANG M. MicroRNA195 suppresses rectal cancer growth and metastasis via regulation of the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(5): 4449-4458. DOI: 10.3892/mmr.2019.10717.
- [9] WANG F, SHAN S, HUO Y, et al. MiR-155-5p inhibits PDK1 and promotes autophagy via the mTOR pathway in cervical cancer[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 99: 91-99. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.04.005.
- [10] MAHAWONGKAJIT P, TOMTITCHONG P. Expression of miRNA in 5-FU resistant esophageal cancer[J]. *Mol Clin Oncol*, 2020, 13(2): 221-227. DOI: 10.3892/mco.2020.2070.
- [11] SANG C, CHAO C, WANG M, et al. Identification and validation of hub microRNAs dysregulated in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Aging*, 2020, 12(10): 9807-9824. DOI: 10.18632/aging.103245.
- [12] YE Z, FANG J, WANG Z, et al. Bioinformatics-based analysis of the lncRNA-miRNA-mRNA and TF regulatory networks reveals functional genes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(8): BSR20201727. DOI: 10.1042/BSR20201727.
- [13] HE M, SHEN P, QIU C, et al. miR-627-3p inhibits osteosarcoma cell proliferation and metastasis by targeting PTN[J]. *Aging*, 2019, 11(15): 5744-5756. DOI: 10.18632/aging.102157.
- [14] LI D, WANG L, FENG J, et al. RP11-284F21.9 promotes lung carcinoma proliferation and invasion via the regulation of miR-627-3p/CCAR1[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(4): 1638-1648. DOI: 10.3892/or.2020.7732.

- [15] SHI Y, FANG N, LI Y, et al. Circular RNA LPAR3 sponges microRNA-198 to facilitate esophageal cancer migration, invasion, and metastasis[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(8): 2824-2836. DOI:10.1111/cas.14511.
- [16] WANG Q, LIU H, LIU Z, et al. Circ-SLC7A5, a potential prognostic circulating biomarker for detection of ESCC[J]. *Cancer Genet*, 2020, 240(1): 33-39. DOI: 10.1016/j.cancergen.2019.11.001.
- [17] WANG L, ZHANG Z, YU X, et al. SOX9/miR-203a axis drives PI3K/AKT signaling to promote esophageal cancer regression[J]. *Cancer Lett*, 2020, 468(1): 14-26. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.10.004.
- [18] WANG X B, GU M, JU Y J, et al. PIK3C3 acts as a tumor suppressor in esophageal squamous cell carcinoma and was regulated by miR-340-5p[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e920642[2020-04-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32207410/>. DOI: 10.12659/MSM.920642.
- [收稿日期] 2021-03-27 [修回日期] 2021-08-24  
[本文编辑] 韩丹