

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.09.001

❖ 基础研究 ❖

miR-183-5p 靶向 FOXN2 促进前列腺癌细胞 PC3 增殖及侵袭的机制研究

杨帅,汪盛,陈志军,伍宏亮,关翰

(蚌埠医学院第一附属医院泌尿外科,安徽 蚌埠 233000)

【摘要】目的: 探究 miR-183-5p 对 PC3 细胞生物学功能的影响和作用机制。**方法:** 从 GEO 数据库中筛选在前列腺癌中显著高表达的 miR-183-5p,在 PC3 细胞中过表达 miR-183-5p 作为 miR-183-5p mimics 组;将转染空白质粒的 PC3 细胞作为 miR-NC 组,通过细胞克隆、5-乙炔基-2'-脱氧尿苷 (EdU) 实验、噻唑蓝 (MTT)、细胞划痕、Transwell 小室迁移及侵袭实验检测 miR-183-5p mimics 组与 miR-NC 组前列腺癌细胞 PC3 生物学功能的影响。在 PC3 细胞中稳定过表达 miR-183-5p 进行皮下成瘤实验观察 miR-183-5p 在体内对细胞增殖能力的影响。通过预测软件筛选出叉头框蛋白 (FOXN2) 作为 miR-183-5p 的下游靶基因并检测 miR-183-5p 对其蛋白表达的影响。在 PC3 细胞中转染 FOXN2 过表达质粒,共转染 miR-183-5p 后进行回复实验验证 miR-183-5p 通过靶向 FOXN2 促进 PC3 细胞增殖及侵袭。**结果:** 与 miR-NC 组比较,miR-183-5p mimics 组细胞增殖、迁移及侵袭能力均更高 ($P < 0.05$),且其在体内亦可促进瘤体生长 ($P < 0.05$)。miR-183-5p 组与靶基因 FOXN2 表达量高于 miR-NC 组 ($P < 0.05$),转染 FOXN2 质粒后可逆转 miR-183-5p mimics 对细胞增殖及侵袭的促进作用。**结论:** miR-183-5p 可通过靶向 FOXN2 促进前列腺癌细胞 PC3 的增殖和侵袭能力。

【关键词】 前列腺癌;miR-183-5p;叉头框蛋白;增殖;侵袭

【中图分类号】 R737.25 **【文献标志码】** A

miR-183-5p promote the proliferation and invasion of prostate cancer cell PC3 by targeting FOXN2 in colorectal cancer

YANG Shuai, WANG Sheng, CHEN Zhi-jun, WU Hong-liang, GUAN Han

(Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, Anhui, China)

【Abstract】Objective: To explore the effect and mechanism of miR-183-5p on the biological function of PC3 cells. **Methods:** GEO database screened miR-183-5p, which was significantly highly expressed in prostate cancer, for research, overexpressed miR-183-5p in PC3 cells was selected as the miR-183-5p mimics group, PC3 cells transfected with blank plasmids were selected as miR-NC group. Cell cloning, EdU experiment, MTT, cell scratch, Transwell chamber migration and Invasion assay were used to detect the effects of miR-183-5p mimics group and miR-NC group on the biological function of prostate cancer cell PC3. Stably overexpressing miR-183-5p in PC3 cells for subcutaneous tumorigenesis experiments to observe the effect of miR-183-5p on cell proliferation in vivo. Forkhead box N2 (FOXN2) was screened out by the prediction software as the downstream target gene of miR-183-5p and the effect of miR-183-5p on its protein expression was detected. The FOXN2 overexpression plasmid was transfected in PC3 cells, and miR-183-5p was co-transfected, and the recovery experiment was carried out to verify that miR-183-5p promoted the proliferation and invasion of PC3 cells by targeting FOXN2. **Results:** Compared with the miR-NC group, the miR-183-5p mimics group showed higher cell proliferation, migration and invasion ($P < 0.05$), and it could promote tumor growth in vivo ($P < 0.05$). The expression of the target gene FOXN2 in miR-183-5p group was higher than that in miR-NC group ($P < 0.05$), and the effect of miR-183-5p mimics on cell proliferation and invasion could be reversed after transfection of the FOXN2 plasmid promotion. **Conclusion:** miR-183-5p can promote the proliferation and invasion of prostate cancer cell PC3 by targeting FOXN2.

【Key words】 Prostate cancer; miR-183-5p; FOXN2; Proliferation; Invasion

前列腺癌严重威胁人类生命健康,2021 年癌症数据统计显示,不论是新发病率还是死亡率,前列腺

癌在男女中均位于第 3 位,且 >65 岁人群的发病率逐年升高^[1]。前列腺癌的发病过程复杂,影响因素

基金项目:安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2021A0777);安徽省自然科学基金(2008085QH358);安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2019A0355)

作者简介:杨帅(1985-),男,硕士,副主任医师。E-mail:ys19851018@163.com

通讯作者:关翰,博士。E-mail:gh668689@126.com

较多,早期诊断治疗患者可得到较好的治疗效果,一旦病情发展至晚期,常规抗雄激素治疗常常无效,进展至去势抵抗性前列腺癌预后极差。故尝试寻找前列腺癌新的诊断及治疗方向,对于提高前列腺癌诊断和治愈具有重要意义。微小 RNA (micro RNA, miRNA) 在肿瘤的发生发展中发挥着重要的作用^[2],可通过与互补位点结合诱导靶点 mRNA 的降解或翻译后的表达^[3-4],调控细胞分化、发育、增殖、凋亡等多种生理功能。GEO 数据库中 GSE36803 数据集显示 miR-183-5p 在前列腺癌中显著高表达,但相关报道极少,miR-183-5p 对前列腺癌细胞 PC3 生物学功能影响的研究尚无。因此,本研究拟通过在前列腺癌细胞 PC3 细胞中过表达 miR-183-5p 探索 miR-183-5p 对细胞生长及侵袭作用的影响。

1 材料与方 法

1.1 细胞培养及瞬时转染

人前列腺癌细胞株 (DU145、LNCAP 及 PC3)、人前列腺上皮细胞 RWPE-1 来自 ATCC 细胞库。细胞培养在 10% 胎牛血清、100 U/mL 含青霉素-链霉素的 RPMI-1640 培养基中,在 37 °C、5% 二氧化碳的细胞培养箱中培养。由 GenePharma 公司 (中国,上海) 合成 Hsa-miR-183-5p 模拟物 (miR-183-5p mimics) 和阴性对照 (miR-NC),又头框蛋白 (Forkhead box N2, FOXN2) 过表达质粒 (pcDNA3.1-FOXN2) 和空质粒 (Vector-NC),转染过程使用 Lipo3000 和 Opti-MEM 培养基,转染效率通过荧光定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 进行验证。

1.2 RT-qPCR 实验

使用 Trizol 提取细胞中的核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA),严格按照说明书进行操作, RNA 样品在 260 nm 和 280 nm 下的光密度比值 (OD₂₆₀/OD₂₈₀) = 1.9 ~ 2.1 代表 RNA 无明显杂质可用于后续实验。使用逆转录试剂盒 (Thermo Fisher) 按照说明书进行操作。miRNA 逆转录引物为 RT-Primer,内参和 mRNA 的逆转录引物为 Random Hexamer Primer。将 RNA 逆转录为 cDNA。荧光试剂盒购买自罗氏公司。八连管中加入引物, cDNA 模板、荧光染料,无菌去离子水补足体积至 20 μL。上机检测仪器 PCR 条件设置为 95 °C 10 min, 40 个循环,循环条件 95 °C 15 s, 60 °C 1 min。循环结束后在 60 °C 时收集数据,绘制扩增曲线。以 U6 作为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-183-5p 的相对表达量。

1.3 MTT 实验

转染 48 h 后, 2 000 个细胞/孔接种于 96 孔板

中,将细胞分为 24、48、72、96 h 组,在每孔加入 MTT 试剂 20 μL,培养 4 h 后去除上清,加入 200 μL 二甲基亚砷 (DMSO), 37 °C 培养箱孵育 10 min 后检测每孔的 OD 值,吸收波长 570 nm。

1.4 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷 (5-Ethynyl-2'- deoxyuridine, Edu) 实验

使用 BeyoClick™ EdU-594 细胞增殖检测试剂盒进行细胞增殖检测,将转染 48 h 后的细胞布孔到 24 孔板中,细胞核使用 4',6-二脒基-2 苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI, 碧云天公司, C1002) 染色标记,实验方法遵循生产商的使用说明。使用荧光显微镜拍照,在高倍镜下每张玻片随机选取 5 个不同的视野。

1.5 细胞克隆实验

将转染后的前列腺癌细胞 (500 个/孔) 种植到 6 孔板中, 3 ~ 4 d 进行细胞换液,培养 8 ~ 12 d 后观察阳性克隆团块形成 (> 50 细胞/团块) 数量。甲醇固定 15 min,结晶紫进行染色 20 min 后拍照。

1.6 Transwell 小室迁移及侵袭实验

侵袭实验使用 Transwell 小室在 24 孔板中进行,在小室的基底膜上层加入基质胶。将转染后的细胞 (5 × 10⁴ 个/孔) 种植于小室上层, 24 h 后擦去上层细胞,甲醇固定小室下层侵袭的细胞 15 min,然后用结晶紫染色 20 min。迁移实验所有操作步骤相同,但不使用基质胶。高倍显微镜下 (200 ×) 每个小室中随机选取 5 个视野进行拍照。

1.7 生物信息学靶基因预测

采用 TargetScan (<http://www.targetscan.org/>)、miRDB (<https://mirdb.org/>)、miR Walk (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>)、miR Tarbase (<https://ngdc.cncb.ac.cn/>) 预测 miR-183-5p 的潜在靶基因,将数据库筛选出靶基因取交集,最终筛选出 26 个潜在下游靶基因,结合既往文献报道,选择 FOXN2 作为靶基因进行进一步研究。

1.8 Western blot

48 h 后从转染的 PC3 细胞中提取蛋白并进行 BCA 蛋白浓度测定。采用 SDS-PAGE 配制试剂盒配置 10% 的分离胶,电泳时的电压设置为 80 V 运行约 30 min 电压调增至 110 V。PVDF 转膜时电流设置为 200 mA 运行 90 ~ 120 min。封闭使用 5% 的脱脂奶粉,摇床封闭 2 ~ 3 h。孵育一抗使用的抗体分为:内参-小鼠来源的 β-actin (1:1 000, AA128, 碧云天公司),目的-鼠来源的 FOXN2 (1:1 000, ab17204, Abcam 公司)。孵育二抗使用的抗体有:羊抗小鼠 (1:1 000, A0216, 碧云天公司),羊抗兔 (1:1 000, A0208, 碧云天公司)。最后使用 Bio-Rad 公

司的曝光仪进行条带发光显影。

1.9 裸鼠皮下成瘤实验

裸鼠购买自杭州子源实验动物科技有限公司,品系为 BALB/c Nude 小鼠,SPF 级别,4 周雄性,饲养于 SPF 级屏障系统内,使用无菌饲料及垫料[生产许可证号 SCXK(浙)2019-0004]。慢病毒 LV-miR-183-5p 及其对照慢病毒购自上海吉凯生物科技有限公司。按照说明书进行操作,将过表达 miR-183-5p 的慢病毒和对照病毒按病毒感染复数(multiplicity of infection, MOI) MOI = 10 感染 PC3 细胞,72 h 后使用 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘌呤霉素筛选细胞。慢病毒转染效率及方法是否成功通过转染带绿色荧光蛋白的(green fluorescent protein, GFP)慢病毒,在荧光显微镜下观察绿色荧光明确。取 0.2 mL 细胞悬液(细胞密度 $1 \times 10^7/\text{mL}$)分别在裸鼠腋下皮下接种,瘤体生长至合适大小后处死裸鼠,获取瘤体。肿瘤体积 = 长径 \times 短径 2×0.5 。

1.10 荧光素酶报告基因实验

应用 TargetScan 预测库预测 miR-183-5p 的靶基因可能为 FOXN2 并且存在结合位点,构建含有 FOXN2 的 3'UTR 序列及突变后 FOXN2 的 3'UTR 序列,合成两种目的基因片段分别克隆至双荧光素酶报告基因载体上,构建双荧光素酶报告基因野生型载体(p-FOXN2-3'UTR Wt)及其突变型载体(p-FOXN2-3'UTR Mut)。使用 Lipofectamine 2000 转染

试剂分别将两种载体质粒与 miR-183-5p mimics 或 miR-NC 阴性对照共转染 PC3 细胞,应用双荧光素酶检测系统检测各组细胞。

1.11 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6.01 软件对数据进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较使用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-183-5p 在前列腺癌细胞中的差异表达及转染效率验证

分析 GEO 数据库 GSE36803 数据集,收集和处理来自 21 对前列腺癌和癌旁良性前列腺组织的总 RNA 进行差异 miRNA 检测,选择 $P < 0.05$ 且排名靠前的 miR-183-5p 进行研究。miR-183-5p 在前列腺组织中的表达高于癌旁组织($P < 0.05$)。前列腺上皮细胞 RWPE-1、3 种前列腺癌细胞中采用 RT-qPCR 检测 miR-183-5p 的相对表达量,癌细胞中 miR-183-5p 表达量均高于上皮细胞,PC3 细胞中 miR-183-5p 表达量最高($P < 0.05$),故选取 PC3 细胞进行后续实验。为确保后续实验可靠性,瞬时转染 PC3 细胞后应用 RT-qPCR 检测 PC3 细胞中 miR-183-5p 表达量,结果高于对照组($P < 0.05$),可进行后续功能学实验。见图 1。

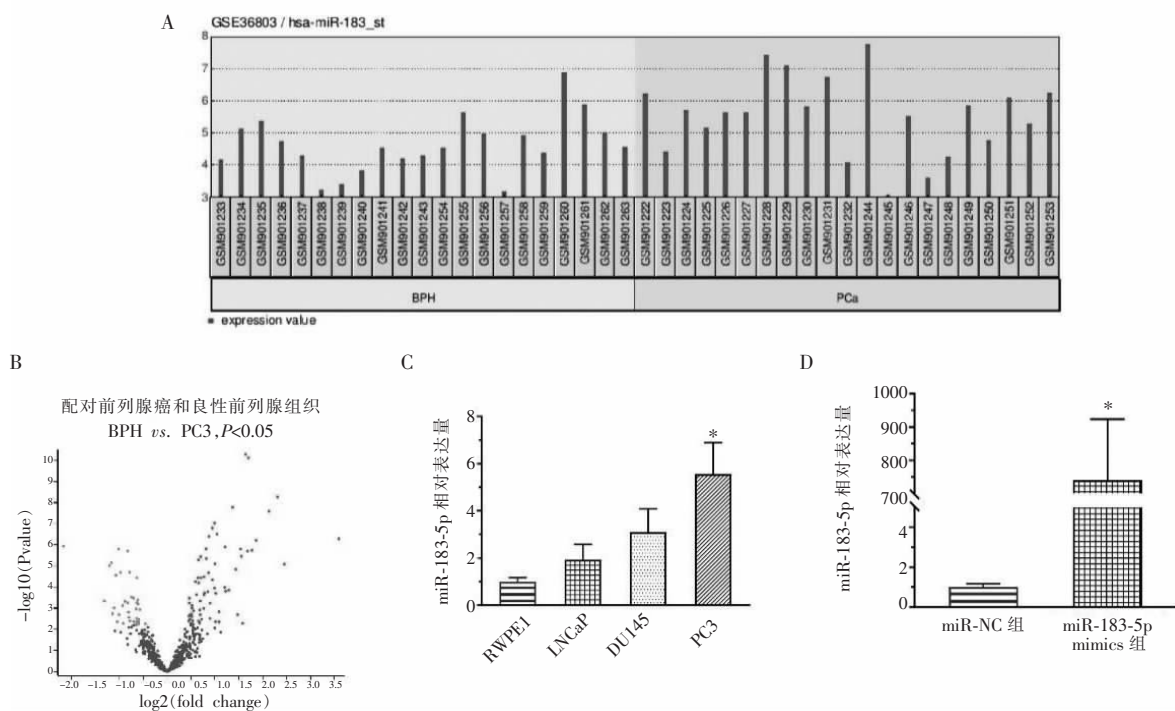


图 1 miR-183-5p 在前列腺癌细胞中的差异表达及转染效率验证

A-B. GSE36803 数据集分析;C. 各前列腺癌细胞系 miR-183-5p 的相对表达量;D. 转染过表达 miR-183-5p 质粒后 PC3 细胞 miR-183-5p 相对表达量。

2.2 过表达 PC3 细胞中的 miR-183-5p 可促进细胞的增殖、迁移及侵袭

miR-183-5p 过表达后可增强 PC3 细胞的增殖能力。miR-183-5p mimics 组细胞迁移及侵袭细胞数量均多于对照组 ($P < 0.05$)。在细胞内转染慢病

毒 LV-miR-183-5p 和 LV-miR-NC, 在细胞内稳定过表达 miR-183-5p 进行裸鼠皮下成瘤实验, 皮下注射细胞 15 d 后瘤体成形, LV-miR-183-5p 组瘤体体积较大, 重量较重, 生长较对照组相快 ($P < 0.05$)。见图 2。

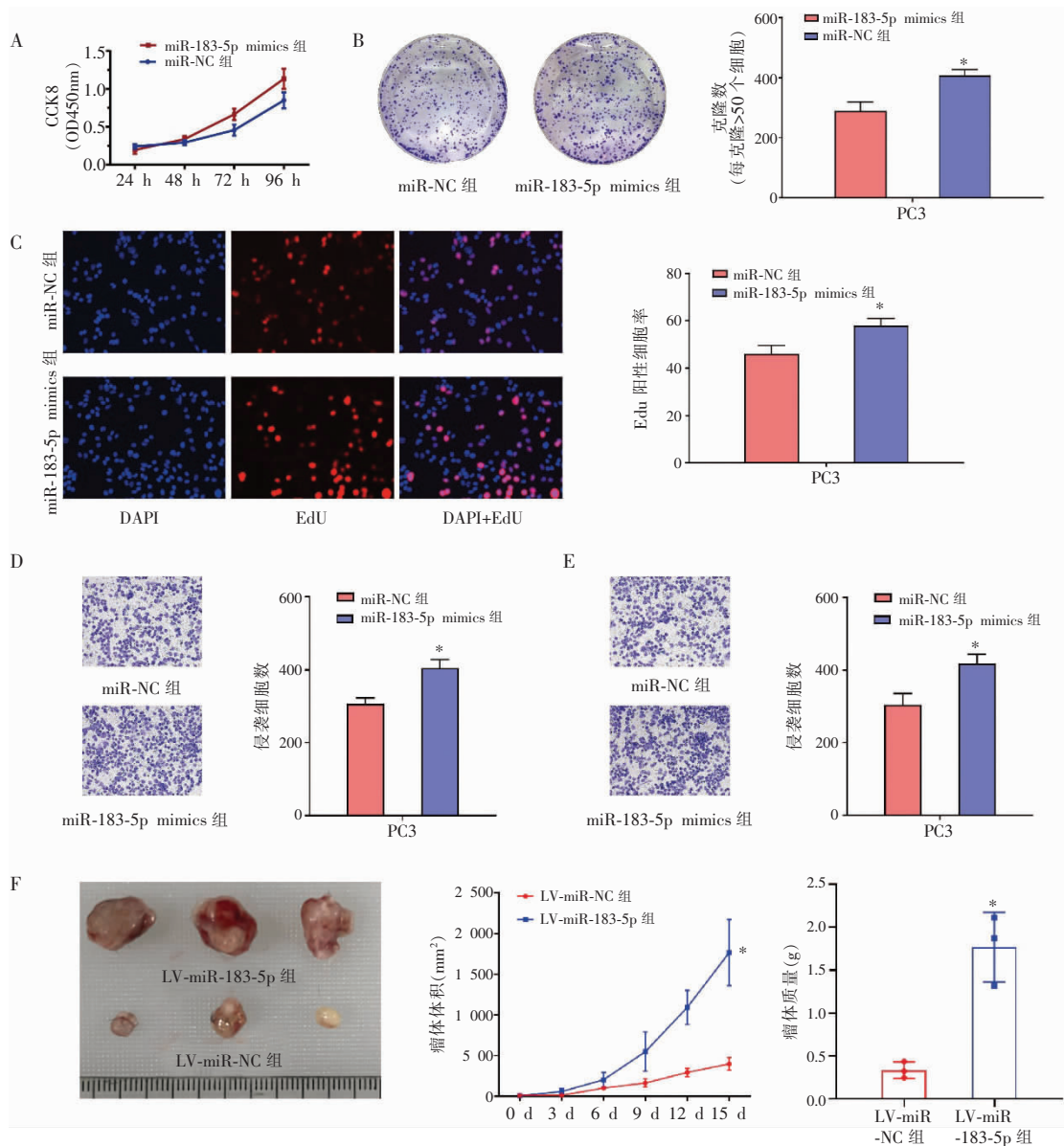


图 2 miR-183-5p 在体内外均可发挥促进细胞增殖、侵袭及迁移能力

A. MTT 实验; B. 克隆形成实验; C. EdU 实验; D-E. Transwell 小室及侵袭实验; F. 裸鼠皮下成瘤实验。

2.3 过表达 FOXN2 可逆转 miR-183-5p mimics 的促癌作用

采用 TargetScan、miRDB、miR Walk、miR Tarbase 数据库预测 miR-183-5p 的潜在靶基因, 将数据库筛选出靶基因取交集, 最终筛选出 26 个潜在下游靶基因包括 ITGB1、IDH2、PPP2CB、FOXN2、CTDSPL、AKAP12、KIF2A、SREK1IP1、EZR、STC1、KLHL24、PDCD4、LRP6、CLCN3、ENAH、PDCD6、ARHGAP21、TMED7、ARFGAP2、SRSF10、FOXP1、CELF1、

NR3C1、ZBTB34、DGKH、NUFIP2。TargetScan 网站预测 miR-183-5p 与 FOXN2 结合位点。在 PC3 细胞中瞬转双荧光素酶报告基因野生型载体 (p-FOXN2-3' UTR Wt) 及其突变型载体 (p-FOXN2-3' UTR Mut)、miR-183-5p mimics 或 miR-NC 后进行实验, miR-183-5p 和野生型载体共转染组荧光素酶相对活性下降 ($P < 0.05$), 提示 miR-183-5p 可直接和 FOXN2 的 3' UTR 区结合。Western blot 结果提示转染 miR-183-5p 后 FOXN2 的蛋白表达量下降。在转

染 miR-183-5p 的基础上共转染 FOXN2 过表达质粒 (pcDNA3.1-FOXN2) 和空质粒 (Vector-NC) 进行 CCK8 实验,共转染 pcDNA3.1-FOXN2 后细胞 96 h 的 OD 值下降 ($P < 0.05$),提示增殖能力减弱;克隆形成实验结果显示共转染 pcDNA3.1-FOXN2 组克

隆形成数量低于对照组 ($P < 0.05$),侵袭及迁移实验说明共转染 pcDNA3.1-FOXN2 组细胞侵袭及迁移细胞数量下降 ($P < 0.05$)。故 miR-183-5p 可直接靶向 FOXN2,降低 FOXN2 的表达,过表达 FOXN2 可逆转 miR-183-5p 的促癌作用。见图 3。

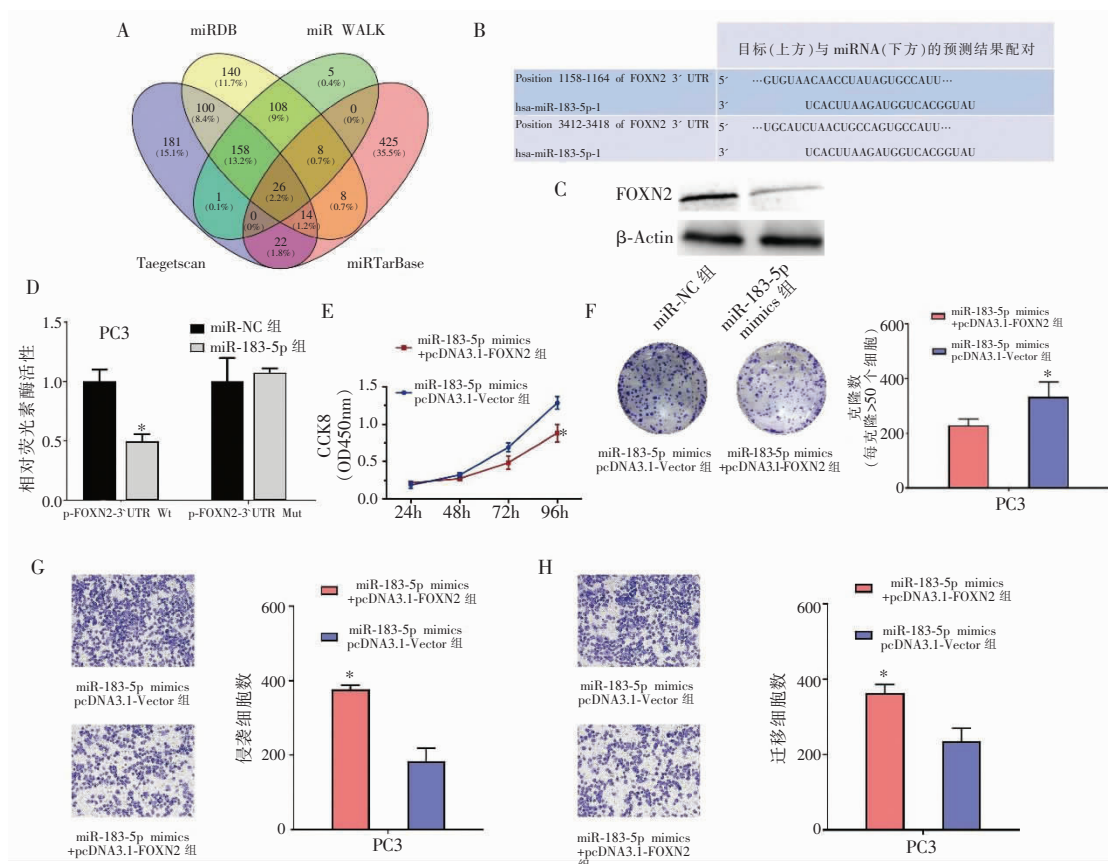


图 3 miR-183-5p 通过靶向 FOXN2 发挥功能

A. TargetScan、miRDB、miR Walk、miR Tarbase 数据库筛选 miR-183-5p 的靶基因并取交集;B. TargetScan 网站预测 miR-183-5p 与 FOXN2 的结合位点;C. Western blot 实验;D. 荧光素酶报告基因实验;E. CCK8 试验;F. 共转染 miR-183-5p 和 FOXN2 过表达质粒;G-H. 共转染 miR-183-5p 和 FOXN2 过表达质粒。

3 讨论

miRNA 的异常表达虽不直接发挥功能,但通过调控转录后基因表达参与机体各种生理过程,并且 miRNA 可通过各种方式进入循环系统,与 AGO2 等 RNA 结合蛋白结合,防止被降解,可作为各种肿瘤的潜在标志物^[5]。miR-183-5p 在众多肿瘤或肺肿瘤疾病的发生发展过程中异常表达,可靶向调节 FAT1 基因,通过 miR-183-5p/FAT1/YAP1 信号通路调节唾液腺腺样囊性癌的生物行为^[6],还可被长链非编码 RNA 吸附发挥作用,如 lncRNA LINC00960 即可通过海绵吸附 miR-183-5p 从而减少其对下游靶基因泛素连接酶 Nrdp1 的降解作用从而发挥功能^[7];在乳腺癌中,过表达的 miR-183-5p 可引起非肿瘤性乳腺上皮细胞的侵袭和增殖能力增强^[8];miR-183-5p 在肌萎缩侧索硬化症患者脊

髓中异常上调,并可以靶向 SOSTM1/p62 减少其表达并导致神经元和非神经元细胞中 TDP-43 蛋白水平的增加^[9];miR-183-5p 还在甲基苯丙胺成瘾过程中发挥重要作用,重复注射甲基苯丙胺可增加纹状体 miR-183-5p 表达并通过调节大鼠的糖皮质激素受体的表达来调节甲基苯丙胺成瘾诱导的运动,可作为甲基苯丙胺诱导的新型调节剂^[10];在大肠癌中,miR-183-5p 的过表达与结直肠癌的晚期临床分期、淋巴结转移和不良预后高度相关^[11]。本研究发现 miR-183-5p 在前列腺癌中显著高表达,且在 PC3 细胞中过表达 miR-183-5p 后 PC3 细胞的增殖能力增强,侵袭及迁移能力也增强,过表达 miR-183-5p 的 PC3 细胞在裸鼠体内的生长速度较对照组相比显著增加,即 miR-183-5p 可能在前列腺癌中发挥促癌的作用。

miR-188-5p 与 FOXN2 的 3'UTR 结合,导致

FOXN2 表达失调从而促进癌症进展^[12]; FOXN2 在肝癌组织和细胞中的表达均显著降低, FOXN2 的上调显著抑制肝癌细胞的增殖和侵袭^[13]; FOXN2 是 miR-203a-5p 的直接下游靶基因, miR-203a-5p 的上调可逆转 WT1-AS 基因在宫颈癌细胞中的抑癌作用^[14], 故 FOXN2 在乳腺癌组织和细胞中表达下调, 并与肿瘤大小、病理分级和淋巴结转移相关, 可显著抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 抑制 FOXN2 还可通过调节 SLUG 促进乳腺癌的上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[15]。本研究表明, 体内或体外 miR-183-5p 的过表达均增强 PC3 细胞的增殖、侵袭和侵袭能力, 且 miR-183-5p 可直接结合 FOXN2 的 3'UTR 区抑制其表达。此外, 本研究还显示共转染 pcDNA3.1-FOXN2 后可逆转 miR-183-5p mimics 的促癌作用, 提示 miR-183-5p 可通过靶向 FOXN2 促进细胞的恶性进展。

综上, miR-183-5p 在前列腺癌中发挥促癌作用, 并可能成为前列腺癌的新的监测和治疗靶点。

参考文献

- [1] Ju W, Zheng R, Zhang S, *et al.* Cancer statistics in Chinese older people, 2022: current burden, time trends, and comparisons with the US, Japan, and the Republic of Korea [J]. *Science China Life Sciences*, 2023, 66(5): 1079 - 1091.
- [2] Roshani Asl E, Rasmi Y, Baradaran B. microRNA-124-3p suppresses PD-L1 expression and inhibits tumorigenesis of colorectal cancer cells via modulating STAT3 signaling [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(10): 7071 - 7087.
- [3] Zhang C, Chen W, Pan S, *et al.* SEVs-mediated miR-6750 transfer inhibits pre-metastatic niche formation in nasopharyngeal carcinoma by targeting M6PR [J]. *Cell Death Discovery*, 2023, 9: 2.
- [4] Lai YH, Liu WL, Lee TY, *et al.* Magnolol regulates miR-200c-3p to inhibit epithelial-mesenchymal transition and retinoblastoma progression by modulating the ZEB1/E-cadherin axis in vitro and in vivo [J]. *Phytomedicine*, 2023, 110: 154597.
- [5] Ameli-Mojarad M, Ameli-Mojarad M, Hadizadeh M, *et al.* The effective function of circular RNA in colorectal cancer [J]. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1): 496.
- [6] Chen BJ, Jiang J, Li T, *et al.* miR-183-5p overexpression orchestrates collective invasion in salivary adenoid cystic carcinoma through the FAT1/YAP1 signaling pathway [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2023, 655: 127 - 137.
- [7] Yang H, Jiang T, Fan L, *et al.* lncRNA LINC00960 promotes apoptosis by sponging ubiquitin ligase Nrdp1-targeting miR-183-5p [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2023, 55(1): 91 - 102.
- [8] Naser Al Deen N, Atallah Lanman N, Chittiboyina S, *et al.* Overexpression of miR-183-5p or miR-492 triggers invasion and proliferation and loss of polarity in non-neoplastic breast epithelium [J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 21974.
- [9] Kim HC, Zhang Y, King PH, *et al.* microRNA-183-5p regulates TAR DNA-binding protein 43 neurotoxicity via SQSTM1/p62 in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2023, 164(5): 643 - 657.
- [10] Song SH, Jang WJ, Jang EY, *et al.* Striatal miR-183-5p inhibits methamphetamine-induced locomotion by regulating glucocorticoid receptor signaling [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 997701.
- [11] Sanjabi F, Nekouian R, Akbari A, *et al.* Plasma miR-183-5p in colorectal cancer patients as potential predictive lymph node metastasis marker [J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2022, 18(4): 921 - 926.
- [12] Jeong S, Kim SA, Ahn SC. HOXC6-mediated miR-188-5p expression induces cell migration through the inhibition of the tumor suppressor FOXN2 [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 23(1): 9.
- [13] Liu XH, Liu LP, Xu XM, *et al.* FOXN2 suppresses the proliferation and invasion of human hepatocellular carcinoma cells [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2021, 25(2): 731 - 737.
- [14] Dai SG, Guo LL, Xia X, *et al.* Long non-coding RNA WT1-AS inhibits cell aggressiveness via miR-203a-5p/FOXN2 axis and is associated with prognosis in cervical cancer [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(2): 486 - 495.
- [15] Ye H, Duan M. FOXN2 is downregulated in breast cancer and regulates migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition through regulation of SLUG [J]. *Cancer Management and Research*, 2019, 11: 525 - 535.

(收稿日期: 2023-04-15

修回日期: 2023-06-10)