

miR-625-3p 基因沉默对结直肠癌小鼠的抑瘤作用及对肠道菌群的影响

张颖¹ 王世杰¹ 刘磊¹ 李楠²

(¹ 济宁医学院中西医结合学院, 济宁 272067; ² 沈阳医学院中医药学院, 沈阳 110032)

摘要 **目的** 基于 16s rRNA 测序分析微小 RNA-625-3p (miR-625-3p) 基因沉默对结直肠癌小鼠的肿瘤抑制作用及对肠道菌群的影响。**方法** 制备、获取 miR-625-3p 基因沉默 (Si) 和沉默阴性对照 (SiNe) 外泌体。BALB/C 小鼠腹腔注射 SW620 细胞 (5×10^6), 随机分为模型 (A) 组, 奥沙利铂 (Oxaliplatin, B) 组, Oxaliplatin+exo-miR-625-3p-Si (C) 组和 Oxaliplatin+exo-miR-625-3p-SiNe (D) 组, 每组 3 只。观察 miR-625-3p 基因沉默对结直肠癌小鼠肿瘤体积、肿瘤细胞凋亡、肠道内容物菌群丰度及多样性的影响。**结果** 成功分离出 miR-625-3p-Si 和 miR-625-3p-SiNe 外泌体并鉴定。外泌体干预后, 与 D 组比较, C 组 miR-625-3p 表达降低 ($t = -4.057$, $P < 0.05$), 肿瘤体积减小 ($t = -2.331$, $P = 0.08$), 凋亡增加 ($t = 2.945$, $P < 0.05$); OTUs 数量降低; 门水平上, Bacteroidetes 丰度升高 ($t = 3.590$, $P < 0.05$), Firmicutes 丰度降低 ($t = -3.608$, $P < 0.05$); 筛选出 C、D 两组间存在显著差异菌种 29 种。**结论** MiR-625-3p 基因沉默能抑制结直肠癌的发展, 促进结直肠癌细胞凋亡, 其机制可能与改善小鼠肠道微生态环境有关。

关键词 16s rRNA 测序; miR-625-3p 基因沉默; 结直肠癌; 肠道菌群; 凋亡

中图分类号: R73 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2023)10-305-06

To investigate the anti-tumor effect of miR-625-3p gene silencing on colorectal cancer and effect on intestinal flora in mice

ZHANG Ying¹, WANG Shijie¹, LIU Lei¹, LI Nan²

(¹ College of Integrative Chinese and Western Medicine of Jining Medical University, Jining 272067, China;

² College of Traditional Chinese Medicine of Shenyang Medical University, Shenyang 110032, China)

Abstract: Objective The effects of microRNA-625-3p (miR-625-3p) gene silencing on tumor inhibition and intestinal flora in colorectal cancer mice were analyzed based on 16s rRNA sequencing. **Methods** Prepare and acquire of miR-625-3p gene silencing (Si) and silencing negative control (SiNe) exosomes. SW620 (5×10^6) was intraperitoneal injected and divided into model (A) group, Oxaliplatin (B) group, Oxaliplatin+exo-miR-625-3p-Si (C) group and Oxaliplatin+exo-miR-625-3p-SiNe (D) group, three mice per group. To observe the effects of miR-625-3p gene silencing on tumor volume, tumor cell apoptosis, abundance and diversity of intestinal flora in colorectal cancer mice. **Results** Exo-miR-625-3p-Si and exo-miR-625-3p-SiNe were successfully isolated and identified. After exosome intervention, compared with group D, the expression of miR-625-3p in group C decreased ($t = -4.057$, $P < 0.05$), tumor volume decreased significantly ($t = -2.331$, $P = 0.08$), and apoptosis increased ($t = 2.945$, $P < 0.05$). The number of OTUs decreases; at the phylum level, the abundance of Bacteroidetes increased ($t = 3.590$, $P < 0.05$) and the abundance of Firmicutes decreased ($t = -3.608$, $P < 0.05$); Twenty-nine strains with significant differences between the C and D groups were screened. **Conclusion** MiR-625-3p gene silencing can inhibit the development of colorectal cancer and

[基金项目] 2023 年度山东省中医药科技项目 (M-2023043), 2021 年山东省大学生创新训练计划项目 (S202110443027)

[作者简介] 张颖, 博士, 副教授, 研究方向: 中医药抗肿瘤的作用机制, E-mail: dingyoumami@163.com

[通信作者] 李楠, E-mail: linan1986@symc.edu.cn

promote the apoptosis of colorectal cancer cells, which may be related to the improvement of the intestinal microecological environment of mice.

Keywords: 16s rRNA sequencing; miR-625-3p gene silencing; Colorectal cancer; Intestinal flora; Apoptosis

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是所有癌症中排名第三的消化道恶性肿瘤,其发病与遗传、环境、感染和菌群失衡等多种因素有关,其中肠道菌群失调为肿瘤的生长提供了有利的微环境^[1-3]。肿瘤相关成纤维细胞(cancer associated fibroblasts, CAFs)在肿瘤微环境中扮演着重要角色,CAFs 中的微小 RNA(microRNA, miRNA)失调以及肿瘤细胞和微环境之间的外泌体 miRNA 迁移与信号通路激活、癌症进展密切相关^[4-5]。目前,关于肿瘤微环境中的 miRNA 能否通过影响肠道菌群引起肿瘤细胞表型改变知之甚少。我们前期研究发现,miR-625-3p 与肿瘤侵袭、转移、耐药等恶性行为密切相关^[6]。本研究将进一步验证 miR-625-3p 基因沉默对肠道微生物群的影响,旨在明确 CAFs 递送的 miR-625-3p 与肠道菌群失调之间的关联,为基因治疗及肠道菌群调节对 CRC 防治的临床应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株与动物 SW620 细胞购于赛百慷(上海)生物技术股份有限公司,货号 iCell-h206。选用雌性 SPF 级 BALB/C 小鼠,体重(14±1)克,购于北京华阜康生物科技股份有限公司。由济宁医学院动物伦理委员会审核批准使用(JNMC-2021-DW-028)。

1.1.2 药物与试剂 Oxaliplatin(阿拉丁公司); CD63, TSG101, 内参抗体 β -actin, 全蛋白提取试剂盒, TUNEL 试剂盒(沈阳万类生物科技公司); PVDF 膜(美国 Millipore 公司,批号 IPVH00010); DAPI(上海 Aladdin 生化科技股份有限公司); 抗荧光淬灭剂, 2×Taq PCR MasterMix, SYBR Green(北京索莱宝科技有限公司); TRIpure(北京百泰克生物技术有限公司); 磁珠法提取试剂盒(Qiagen 公司)。

1.1.3 仪器 德国 Leica RM2235 石蜡切片机, 日本 OLYMPUS BX53 显微镜, 湖南湘仪 H-2050R 超速冷冻离心机, 美国 BIONEER ELX-800 酶标仪; 北京六一生物 DYCZ-24DN 双垂直蛋白电泳仪, 美国

Thermo 公司 NANO 2000 紫外分光光度计, 韩国 Bioneer 公司 Exicycler96 荧光定量 PCR 仪, 美国 Illumina 公司 NovaSeq 6000 测序仪。

1.2 方法

1.2.1 外泌体的提取与鉴定 构建 miR-625-3p 沉默的慢病毒载体/阴性对照(miR-625-3p-Si/SiNe), CAFs 细胞按每孔 5×10^4 个接种于 12 孔板中。待细胞贴壁后, 使用移液器吸取准确体积(MOI 值为 100)的病毒液加入准备好的培养基中, 将细胞上清液弃去更换为带病毒的培养基, 置于 37℃ 5% CO₂ 的培养箱内培养, 感染 48h 后收集各组细胞上清, 离心提取外泌体(exo-miR-625-3p-Si/SiNe)。

1.2.2 实验造模、干预与取材 将 5×10^6 个 SW620 细胞注射到小鼠的前肢皮下, 随机分为模型(A)组, 奥沙利铂(Oxaliplatin, B)组, Oxaliplatin+exo-miR-625-3p-Si(C)组和 Oxaliplatin+exo-miR-625-3p-SiNe(D)组, 基于 3R 原则, 每组 3 只。其中, B、C、D 组腹腔注射 Oxaliplatin, 0.005g/kg, 1 次/3d, A 组腹腔注射等量 PBS。C、D 组分别将 exo-miR-625-3p-Si/SiNe 注入皮下肿瘤, 100 μ g/次, 2 次/周。建模 35d 后处死小鼠, 收集肿瘤组织。于小鼠处死前 48h, 将其直肠中粪便收集并标记冻存于 -80℃ 冰箱, 以供进一步行菌群分析。

1.2.3 Western blot 检测外泌体 CD63、TSG101 蛋白表达 裂解液置于室温融化, 低温离心, 分离蛋白质, BCA 反应测定蛋白浓度。40 μ g 蛋白在凝胶上电泳, 然后放置在 PVDF 膜上 1h。用 5% 脱脂奶粉稀释 CD63、TSG101 一抗至 1:500, 4℃ 孵育过夜。洗膜后, 加入二抗, 37℃ 下孵育 45min。加入 ECL 化学发光试剂, 曝光。用凝胶图象处理系统分析目标条带的光密度值。

1.2.4 肿瘤体积观察 每日观察小鼠状态, 包括进食量、活动量等。自建模第 3 天始, 每隔 3d, 以游标卡尺对瘤体长、短径分别进行测量, 计算小鼠肿瘤体积并记录。肿瘤体积(mm³)计算公式=长径(Length)×短径²(Width²)×1/2。

1.2.5 PCR 检测 miR-625-3p 的表达 分离纯化提取总 RNA, 利用生工 miRNA 第一链 cDNA 合成

(加尾法)试剂盒将上述的 RNA 进行反转录。has-miR-625-3p F 上游引物由金斯瑞生物科技有限公司根据设计合成,序列为 GACTATAGAACTTTCC CCCTCA。以人 U6 snRNA 为内参,U6 F 以及通用 R 均为加尾法试剂盒自带。荧光定量统计数据结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析。

1.2.6 TUNEL 检测细胞凋亡 肿瘤组织常规包埋,梯度酒精脱水,切片,烘干。TUNEL 反应液(Enzyme solution 及 Label Solution 按 1:9 配制)滴加 50 μ L,DAPI 复染 5min,滴加荧光淬灭剂封片。 $\times 400$ 倍显微镜下观察染色效果,并拍照。

1.2.7 直肠内容物菌群丰度及多样性检测 按照天根磁珠法说明提取样本基因组 DNA,进行细菌 PCR 扩增,通用引物 forward primer(5'-3')序列: CCTAYGGGRBGCASCAG(341F)reverse primer(5'-3')序列:GGACTACNNGGTATCTAAT(806R),扩增细菌核糖体 RNA 基因 V3~V4 区,得到片段。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 3min;98 $^{\circ}$ C 变性 25s,58 $^{\circ}$ C 退火 15s,72 $^{\circ}$ C 延伸 20s,重复 30 个循环,72 $^{\circ}$ C 延伸 5min。对 PCR 产物进行测序数据处理。根据 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs (Operational Taxonomic Units),应用 Qiime 软件和 R 软件进行样本复杂度分析和多样本比较分析。

1.3 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计分析,正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 one-way ANOVA,组间两两比较用 LSD 法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体的标记和鉴定

Western blot 检测外泌体标志蛋白 CD63、TSG101 的表达情况,证实外泌体分离成功。见图 1。

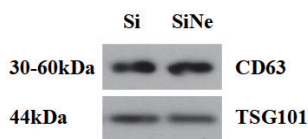


图 1 外泌体 CD63、TSG101 的蛋白表达情况

2.2 各组肿瘤组织 miR-625-3p 的表达

与 D 组比较,C 组 miR-625-3p 基因表达显著降低($t=-4.057, P<0.05$),证实 miR-625-3p 基因沉默处理可以引起肿瘤组织 miR-625-3p 基因低

表达。

2.3 各组小鼠肿瘤体积

与 A 组比较,B、C、D 组肿瘤体积均显著降低,证实奥沙利铂化疗对于结直肠癌的肿瘤生长有干预效果;与 D 组比较,C 组肿瘤体积较小($t=-2.331, P=0.08$),表明 miR-625-3p 基因沉默对 CRC 荷瘤小鼠肿瘤的生长具有一定的抑制作用。

2.4 各组小鼠肿瘤细胞凋亡情况

与 D 组比较,C 组肿瘤细胞凋亡明显增加($t=2.945, P<0.05$),表明 miR-625-3p 基因沉默促进 CRC 荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡。见图 2。

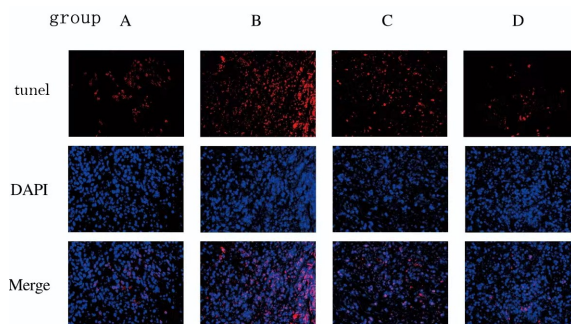


图 2 miR-625-3p 基因沉默对小鼠肿瘤细胞凋亡的影响

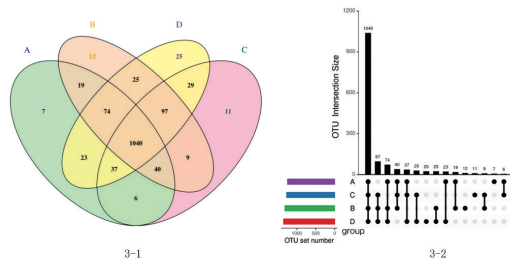
2.5 各组小鼠肠道菌群 OTUs 数量

通过测序生成 7.98×10^5 条 Raw Data 后,过滤、拼接、去除嵌合体总共得到 5.98×10^5 条 Effective Tags。在 97% 的相似水平下聚类生成 OTU,利用分组 Venn 图分析组间菌群 OTU 数量和其种类交叉情况,各组特异性/总共的 OTU 数目分别为:A 组 7/1246、B 组 12/1316、C 组 11/1269、D 组 25/1350,各组共检测 OTU 1454 个,其中共有 OTU 1040 个,为总 OTU 数的 71.53%。与 A 组比较,B 组的总 OTU 数量升高,表明 Oxaliplatin 化疗后肠道菌群的整体水平和多样性有所增加;与 D 组比较,C 组的总 OTU 数量降低,这一结果表明 miR-625-3p 基因沉默可能降低了肠道菌群的整体水平和多样性。见图 3。

2.6 Alpha Diversity 多样性

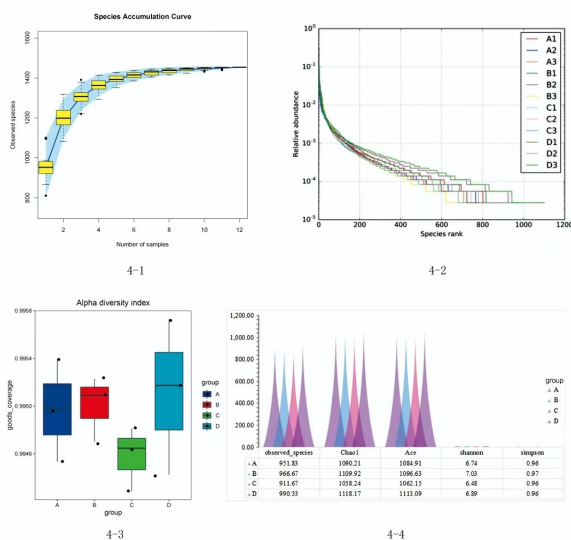
物种累积曲线趋于平缓,可以判断测序样本量充分;物种多样性曲线(Rank-Abundance 曲线)宽度适中、光滑平缓,可以判断物种丰富且分布均匀,可有效反映出样本中群落结构的情况;微生物覆盖率分析(Good's Coverage 指数)接近 1,测序深度对样品物种全覆盖。各组小鼠肠道菌群丰富程度(包括 observed_species、Chao1、Ace 指数)和均匀程

度(包括 shannon、simpson 指数)显示,与 A 组比较,B 组丰富程度和均匀度均升高;与 D 组比较,C 组丰富程度和均匀度均降低,但均无统计学意义($P>0.05$)。见图 4。



注:3-1. 分组 Venn 分析;3-2. 基于 OTU 的 UpSet 图。

图 3 各组小鼠肠道菌群 OTU 分析



注:4-1. 物种累积曲线;4-2. Rank-Abundance 曲线;4-3. 微生物覆盖率分析;4-4. 各组小鼠肠道菌群丰富程度和均匀度比较。

图 4 Alpha Diversity 多样性分析

2.7 各组小鼠肠道菌群组成与结构

除去未检测出的菌门,各组小鼠肠道菌群拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)的丰度在检测出的菌门中比例均达到 90%以上。与 A 组比较,B 组小鼠肠道中 Bacteroidetes 丰度降低($t=-2.886, P<0.05$),Firmicutes 丰度升高;与 D 组比较,C 组 Bacteroidetes 丰度升高($t=3.590, P<0.05$),Firmicutes 丰度降低($t=-3.608, P<0.05$)。表明 Oxaliplatin 化疗会改变肠道菌群的菌门水平和结构组成,miR-625-3p 基因沉默后可将肠道菌群的菌门水平和结构回调。见图 5。

2.8 LEfSe 分析

LDA 值分布柱状图展示了 LDA Score 大于设

定值的菌门,即组间具有统计学差异的 Biomarker,柱状图的长度代表差异菌门的影响大小。在进化分支图中,由内至外辐射的圆圈代表了由门至属(或种)的分类级别。在不同分类级别上的每一个小圆圈代表该水平下的一个分类,其直径大小与相对丰度呈正比。无显著差异的 Biomarker 为黄色,差异 Biomarker 跟随组进行着色,红色、绿色节点分别表示在红色、绿色组别中起到重要作用的菌种。筛选 C 与 D 两组间丰度存在显著差异的菌种,共 29 种。其中,在 C 组起到重要作用的菌种共 3 种,在 D 组起到重要作用的菌种共 26 种。见图 6,表 1。

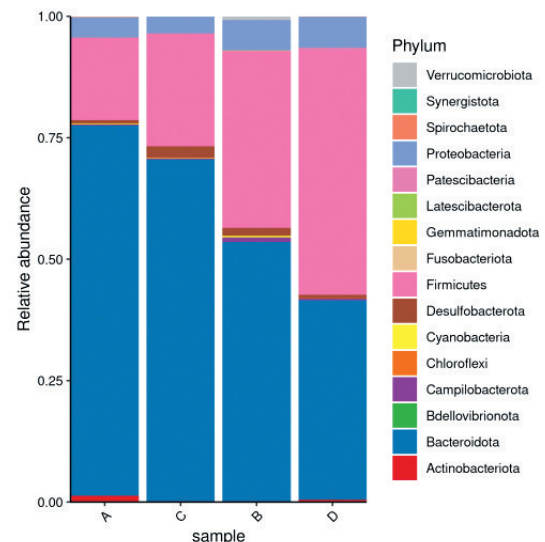


图 5 各组小鼠肠道菌群在门水平上的组成



注:6-1. LDA 值分布柱状图;6-2 进化分支图。

图 6 LEfSe 分析组间丰度存在显著差异的菌种

3 讨论

CRC 作为我国常见消化道恶性肿瘤,其临床治疗多采用外科手术、化疗等方法。然而外科手术具有易引起并发症的风险,而化疗药物在提高患者生存率的同时也伴随着体重减轻、恶心、呕吐、免疫力降低等不良反应,故而 CRC 的治疗效果并不理想^[7]。因此,全面了解 CRC 的发病机制有助于寻

表 1 LEfSe 分析组间丰度存在显著差异的菌种 biomarker

生物标记物	Log 值	组别	LDA 值	P 值
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales	5.528956	D	5.03114913	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Bacteroidota.c_Bacteroidia.o_Bacteroidales	5.846622	C	5.13372861	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Bacteroidota.c_Bacteroidia.o_Flavobacteriales.f_Flavobacteriaceae.g_Flavobacterium.s_uncultured_bacterium	1.567811	C	3.92085622	0.0369039536137
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Gammaproteobacteria.o_Aeromonadales.f_Aeromonadaceae	3.744846	D	3.19273258	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Gammaproteobacteria.o_Enterobacterales.f_Enterobacteriaceae.g_Escherichia_Shigella.s_Escherichia_coli	4.478659	D	4.20651772	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Gammaproteobacteria.o_Aeromonadales.f_Aeromonadaceae.g_Aeromonas	3.738295	D	3.21543293	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae.g_Lachnospiraceae_ND3007_group	2.196361	D	3.32517087	0.0463015949151
d_Bacteria.p_Bacteroidota.c_Bacteroidia	5.846999	C	5.08453613	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Bacteroidota.c_Bacteroidia.o_Flavobacteriales.f_Weeksellaceae.g_Chryseobacterium	3.003389	D	3.21772751	0.0463015949151
d_Bacteria.p_Bacteroidota	5.846999	C	5.17320944	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae.g_Lachnospiraceae_NK4A136_group.s_uncultured_bacterium	5.276688	D	4.82085285	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Gammaproteobacteria.o_Enterobacterales.f_Enterobacteriaceae.g_Escherichia_Shigella	4.478659	D	4.18230759	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Bacteroidota.c_Bacteroidia.o_Flavobacteriales.f_Weeksellaceae	3.003389	D	3.08120861	0.0463015949151
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Alphaproteobacteria.o_Rhizobiales	3.382606	D	3.06972142	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Alphaproteobacteria.o_Rhizobiales.f_Rhizobiaceae.g_Allorhizobium_Neorhizobium_Pararhizobium_Rhizobium	3.358659	D	3.09540201	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae.g_Roseburia	4.421884	D	4.05460370	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes	5.702418	D	5.11872754	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Peptostreptococcales.Tissierellales.f_Peptostreptococcaceae	3.562567	D	3.04532568	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Peptostreptococcales.Tissierellales	3.711045	D	3.24956954	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Bacilli.o_Mycoplasmatales.f_Mycoplasmataceae	2.045063	D	3.38004187	0.0463015949151
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Oscillospirales.f_Clostridium_methylpentosum_group.g_Clostridium_methylpentosum_group	3.277732	D	3.01182059	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae.g_Roseburia.s_uncultured_bacterium	4.421884	D	4.04606282	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae.g_Lachnospiraceae_ND3007_group.s_uncultured_bacterium	2.196361	D	3.35333094	0.0463015949151
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Bacilli.o_Mycoplasmatales	2.045063	D	3.38847449	0.0463015949151
d_Bacteria.p_Proteobacteria.c_Alphaproteobacteria.o_Rhizobiales.f_Rhizobiaceae	3.365638	D	3.08274336	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae.g_Lachnospiraceae_NK4A136_group	5.305763	D	4.79947682	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia	5.673986	D	5.09345073	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Oscillospirales.f_Clostridium_methylpentosum_group	3.277732	D	3.00744621	0.0495346134356
d_Bacteria.p_Firmicutes.c_Clostridia.o_Lachnospirales.f_Lachnospiraceae	5.528956	D	5.06572505	0.0495346134356

找特异性的治疗策略和药物靶标,深入探讨其发病机理对其防治具有重要意义。CRC 发病机制复杂,受遗传、环境、感染和菌群失衡等多种因素的影响^[8]。

肠道拥有人体最大的微生物群, CRC 肠道微生物群失调可能导致细胞因子活性改变、炎症信号通路激活, 致使肠道屏障功能减弱, 进而导致肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 改变为利于

肿瘤生长的炎性微环境^[9]。

肿瘤相关成纤维细胞(cancer associated fibroblasts, CAFs)作为 TME 中最重要的间质细胞,目前在临床中被视作抗癌治疗的重要靶点^[10]。CAFs 分泌的外泌体在促进炎症反应、组织再生及促进肿瘤发展中扮演着重要角色^[11]。

存在于 TEM 中的外泌体通过蛋白质、脂质和核酸以对细胞进行调节,其为一类 30~120nm 的小

囊泡,可影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移及耐药等^[12]。本课题组前期研究发现,miR-625-3p 在 CRC 中存在高表达情况,其能够促进结肠癌细胞增殖迁移和侵袭,发挥促癌作用^[6]。基于肠道微生物群在 CRC 治疗中的重要作用,本研究在前期基础上进一步探讨了 CAFs 源外泌体递送 miR-625-3p 对肠道微生物群的影响。本研究中,首先进行了 CAFs 源外泌体的分离和鉴定,证实外泌体提取成功,并将进一步用于对小鼠的干预。干预后结果显示,与 D 组比较,C 组肿瘤体积和 miR-625-3p 基因表达均降低,肿瘤细胞凋亡明显增加,证实 miR-625-3p 基因沉默处理可以干预 CRC 荷瘤小鼠肿瘤的生长,促进肿瘤细胞凋亡。接下来,我们通过 16s rRNA 测序进行菌群分析,并着重对比 miR-625-3p 基因沉默及其阴性对照组数据,结果显示,与 D 组比较,C 组的总 OTU 数量、丰富程度和均匀度均降低,表明 miR-625-3p 基因沉默可能降低了肠道菌群的整体水平和多样性,但差异不显著;C 组 Bacteroidetes 丰度升高, Firmicutes 丰度降低,表明 miR-625-3p 基因沉默可将 Oxaliplatin 化疗引起的肠道菌群的菌门水平和结构降低进行回调;与 D 组比较,C 组小鼠丰度存在显著差异的菌种有 29 种。

综上所述,肠道菌群引起肿瘤微环境改变在 CRC 的发生、发展中起到重要作用。CAFs 作为肿瘤微环境中最重要的组分,基因沉默其所递送的 miR-625-3p,能抑制 CRC 的发展,促进肿瘤细胞的凋亡,改善小鼠肠道微生态环境,可将 miR-625-3p 作为 CRC 基因治疗的切入点,展开进一步研究以应用于临床。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10. 3322/caac. 21262.
- [2] Pu J, Zhou X, Liu J, et al. Therapeutic potential and deleterious effect of glucocorticoids on azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colorectal cancer in mice[J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(10): 4866-4883.
- [3] Li D, Feng Y, Tian M, et al. Dietary barley leaf mitigates tumorigenesis in experimental colitis-associated colorectal cancer[J]. Nutrients, 2021, 13(10): 3487.
- [4] Shao X, Sun S, Zhou Y, et al. Bacteroides fragilis restricts colitis-associated cancer via negative regulation of the NLRP3 axis[J]. Cancer Lett, 2021, 523: 170-181. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2021. 10. 002.
- [5] Zhang L, Zhang S, Yao J, et al. Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth[J]. Nature, 2015, 527(7576): 100-104. DOI: 10. 1038/nature15376.
- [6] Zhang Y, Yin CJ, Wei C, et al. Exosomal miR-625-3p secreted by cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer promotes EMT and chemotherapeutic resistance by blocking the CELF2/WWOX pathway[J]. Pharmacol Res, 2022, 186: 106534.
- [7] Luo Q, Huang S, Zhao L, et al. Chang qing formula ameliorates colitis-associated colorectal cancer via suppressing IL-17/NF- κ B/STAT3 pathway in mice as revealed by network pharmacology study[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 893231.
- [8] Ding PP, Xu YQ, Li LY, et al. Intracellular complement C5a/C5aR1 stabilizes β -catenin to promote colorectal tumorigenesis[J]. Cell Rep, 39, 110851. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2022. 110851.
- [9] Liu LS, Shah Khalid. The potential of the gut microbiome to reshape the cancer therapy paradigm: A review[J]. JAMA Oncol, 2022, 8(7): 1059-1067. DOI: 10. 1001/jamaoncol. 2022. 0494.
- [10] Chen Y, McAndrews KM, Kalluri R. Clinical and therapeutic relevance of cancer-associated fibroblasts[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(12): 792-804. DOI: 10. 1038/s41571-021-00546-5.
- [11] Zhang HY, Deng T, Liu R, et al. CAF secreted miR-522 suppresses ferroptosis and promotes acquired chemoresistance in gastric cancer[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 43. DOI: 10. 1186/s12943-020-01168-8.
- [12] Milane L, Singh A, Mattheolabakis G, et al. Exosome mediated communication within the tumor microenvironment[J]. J Control Release, 2015, 219: 278-294. DOI: 10. 1016/j. jconrel. 2015. 06. 029.

(收稿日期 2023-06-02)

(本文编辑:石俊强)