

MiR-218通过抑制Robo1的表达影响肺癌细胞迁移侵袭

陈平 赵云龙 李英杰

【摘要】背景与目的 本研究旨在探讨肺癌中miR-218的表达，研究miR-218在肺癌细胞中的功能及其可能的分子机制。方法 应用实时荧光定量PCR（qRT-PCR）检测15例肺癌组织和15例癌旁组织中miR-218的表达。在肺癌细胞A549中转染miR-218的抑制物（Anti-miR-218），在肺癌细胞HCC4006中转染miR-218的模拟物后，用Transwell实验检测细胞的迁移侵袭能力的变化。用Targetscan和MiRanda软件预测miR-218的可能靶点，转染miR-218的抑制物及模拟物后用qRT-PCR和Western blot检测Robo1的mRNA和蛋白表达水平。用双荧光素酶报告基因方法鉴定miR-218和Robo1的调控关系。用Anti-miR-218、miR-218模拟物或阴性对照与Si-Robo1或Si-NC同时转染细胞，应用Transwell实验检测转染后细胞的侵袭迁移能力的变化。结果 与癌旁组织比较，肺癌组织中miR-218在肺癌组织中表达水平显著降低（ $P<0.01$ ）。在A549细胞中转染miR-218的抑制物，能够显著降低miR-218的表达，促进了细胞的迁移侵袭。在HCC4006中转染miR-218的模拟物能够显著提高miR-218的表达，同时抑制了细胞的迁移侵袭能力。利用生物信息学预测出在Robo1的3'UTR区有miR-218的结合位点，双荧光素酶报告基因实验进一步证实miR-218能够调控Robo1的转录活性。抑制miR-218能够提高Robo1的表达；过表达miR-218显著降低Robo1的表达，且miR-218能够通过调控Robo1影响细胞的迁移侵袭。结论 MiR-218在肺癌组织中呈现低表达状态，miR-218可能是通过抑制Robo1的表达抑制肺癌细胞侵袭迁移。

【关键词】 肺肿瘤；miR-218；Robo1；迁移；侵袭

MiR-218 Inhibits Migration and Invasion of Lung Cancer Cell by Regulating Robo1 Expression

Ping CHEN, Yunlong ZHAO, Yingjie LI

First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Corresponding author: Yingjie LI, E-mail: zxzaa@vip.tom.com

【Abstract】 **Background and objective** To explore the function and the potential molecular mechanism of miR-218 in lung cancer cell. **Methods** The expression of miR-218 mRNA was determined by real-time PCR in lung cancer tissues, adjacent tissues and lung cancer cells. Transwell assay was used to detect the migration and invasion of A549 cell after transfected with Anti-miR-218 or negative control and HC4006 cell after transfected with miR-218 mimics and miR-218 negative control. Targetscan and MiRanda were used to calculate the potential targets of miR-218 and Luciferase reporter assay was performed to identify that the *Robo1* was one target genes of miR-218. Transwell assay was used to detect whether miR-218 regulated the invasion of lung cancer cell transfected with anti-miR-218 or negative control via Robo1. **Results** The expression of miR-218 in the lung cancer tissues was significantly lower than that in the adjacent tissues ($P<0.05$). Inhibition of miR-218 improved the migration and invasion of A549 cell. Overexpression of miR-218 suppressed the migration and invasion of HCC4006 cell. The co-transfection of anti-miR-218 or miR-218 mimics and the Robo1 3'UTR increased or reduced the luciferase activity of Robo1 compared with the control group ($P<0.05$). Inhibition of miR-218 and Robo1 recovered the invaded cells of A549. Overexpression of miR-218 and inhibition of Robo1 reduced the number of the invaded cells of HCC4006. These results suggested that miR-218 banded Robo1 directly and inhibited lung cancer cell invasion by targeting Robo1. **Conclusion** MiR-218 inhibited the migration and invasion of lung cancer cells through regulating Robo1 expression.

【Key words】 Lung neoplasms; miR-218; Robo1; Migration; Invasion

作者单位：100048 北京，解放军总医院第一附属医院（通讯作者：李英杰，E-mail: zxzaa@vip.tom.com）

肺癌是死亡率最高的癌症之一，肺癌分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌，其中80%属于非小细胞肺癌^[1]。肺腺癌属于非小细胞肺癌，其侵袭和转移是一个多步骤、多

基因参与的复杂过程,在这一过程中有大量的基因发生改变。尽管早期诊断技术有了很大的发展,放化疗技术不断的进步,但肺癌的5年生存率仍然很低^[2]。MicroRNA (miRNA) 是一类非编码小RNA,长度大约为22个核苷酸左右,越来越多的研究证明miRNA与肿瘤的发生和发展存在着密切的相关性^[3]。近年研究发现miR-218能在多种肿瘤中表达,包括肺癌、膀胱癌、鼻咽癌等,且发挥着癌基因或者抑癌基因的作用^[4-6],但其作用机制尚未清楚。因此,本实验研究miR-218的功能,寻找它的靶点,探究其在肺癌中的作用机制,以期为肺癌的治疗提供新的靶点和理论依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选择2015年6月-2016年6月解放军总医院第一附属医院手术切除的15例肺腺癌组织及其相应的癌旁组织标本,年龄为32岁-77岁,中位年龄为53岁。按肿瘤-淋巴结-转移(tumor-node-metastasis, TNM)分期, I期4例, II期5例, III期6例。所有患者手术前均未接受放疗、化疗及内分泌治疗。所有患者均已签署知情同意书,手术切除部分组织用于浸泡福尔马林中用于组织切片鉴定,其余组织马上放入液氮中存储待用。

1.2 试剂 肺腺癌细胞系A549、NCI-H1299、Calu-3、NCI-H2228、NCI-H1975、HCC4006、NCI-H23、NCI-H1435均购于ATCC, DMEM培养液购自Gibco公司, miR-218的抑制物(Anti-miR-218)和对照组(Negative control); Robo-siRNA及对照组干扰片段均由上海吉玛有限公司合成。转染试剂Lipfectmine 2000购于Invitrogen公司,兔源性的一抗Robo1、E-cadherin、N-cadherin、鼠源性的一抗GAPDH抗体购自Santa Cruz公司,二抗均购自北京中杉金桥公司; TRIzol购自Invitrogen公司,反转录及PCR试剂盒购自TAKARA公司。Transwell小室购自美国Corning公司。miRNA RT Kit和MiRNA qPCR kit购自上海天根生化公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 所用的肺腺癌细胞均用DMEM培养液(含10%胎牛血清, 100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素)培养,置于37°C、体积为5%的CO₂培养箱中。

1.3.2 转染 将Anti-miR-218和negative control, miR-218模拟物及miR-218阴性对照, Robo1-SiRNA和对照Si-Con片段分别与Lip2000混匀,在室温条件下混匀静置20 min后,慢慢滴入培养液中混匀,共培养细胞4 h后,换成新

鲜的正常培养液继续培养24 h,再用于后续实验。Anti-miR-218序列为: 5'-ACAUGGUUAGAUCAAGCACAA-3', Negative control序列为: 5'-UUGUACUACACAAAAGUACUG-3'。Robo1 siRNA序列为: Sense: 5'-CCCAAGATGTCTGATCAAdtdt-3', Antisense: 5'-UUGAUCGACAUCUUGGGdtdt-3'。对照序列si-NC序列为: Sense: 5'-AGCGCGCTTTGTAGGATTC-Gdtdt-3'; Antisense: 5'-GCAATCCTACAAAGCGCGCTdtdt-3'。miR-218模拟物(miR-218 mimics)序列为: 5'-UUGUGCUUGAUCUAACCAUGU-3', miR-218阴性对照(miR-218 negative control, miR-218NC)序列为: 5'-UCACAACCUCCUAGAAAGAGUAGA-3'。

1.3.3 qRT-PCR检测miRNA和mRNA的表达 用TRIzol提取经转染的A549, HCC4006细胞总RNA,分别测定RNA浓度及纯度。采用上海天根生化公司的miRNA RT Kit将miRNA逆转录为cDNA,按照上海天根生化公司的MiRNA qPCR kit说明进行miRNA的PCR反应及定量分析。mRNA定量分析按照TAKARA公司反转录和定量PCR试剂盒说明书操作。Robo1定量PCR引物序列: Forward: 5'-CCTGTGTCTACAGACAGCAACATGA-3', Reverse: 5'-GCACTGGAGGTGGTGGGAAGA-3'; β -actin Forward: 5'-AGCGAGCATCCCCCAAAGTT-3'; Reverse: 5'-GGGCA CGAAGGCTCATCAT-3'。

1.3.4 蛋白质印迹检测蛋白的表达 细胞转染培养24 h后,弃培养基,用PBS清洗细胞,加入蛋白裂解液RIPA, 12,000 rpm离心15 min,吸取上清液待测。用BCA试剂盒定量蛋白浓度。在10%的SDS-PAGE凝胶中进行电泳(电压100 V),之后在300 mA的电流下冰浴转膜。转膜后室温下用5%BSA-TBST封闭PVDF膜1 h,在4°C条件下孵育一抗(1:1,000)过夜,0.1%的TBST洗3次,每次5 min。在室温条件下与二抗共孵育1 h,0.1%的TBST洗3次,每次5 min。用化学发光法来检测蛋白表达,试验重复3次。

1.3.5 Transwell实验检测细胞迁移及侵袭 转染的细胞经0.25%胰酶消化,用无血清DMEM培养基制成单细胞悬液,用细胞计数板计数。稀释后,取400 μ L(约含 1×10^5 个细胞)加入到Transwell上室中(孔径为8 μ m),在下室中加入500 μ L含有15%FBS的DMEM培养液,细胞继续培养20 h。用棉签擦去上室的上表面细胞, PBS清洗2遍,无水甲醇固定20 min;室温下用0.4%的结晶紫染液孵育2 h。在显微镜下拍照,每张膜随机选取上、中、下各3个视野,进行统计分析,每组设3个重复。侵袭实验唯

一的区别在于在Transwell上室上表面涂有一层基质胶，能够模仿细胞外基质。其他步骤与迁移实验相同。

1.3.6 萤光素酶报告基因载体构建 运用生物学信息软件预测miR-218的靶基因，发现*Robo1*为候选靶基因之一。提取A549细胞基因组DNA，通过PCR扩增*Robo1*全长的3'UTR序列，扩展引物分别添加*Xho I*和*Not I*酶切位点。*Xho I*和*Not I*双酶切PCR扩增产物，随后将扩增片段连接到psiCHECK-2载体上。连接产物转化感受态DH5α大肠杆菌，酶切鉴定正确的阳性克隆送测序。将构建好的psiCHECK-2-ROBO1-3'UTR与Neg control及Anti-miR-218 (100 nmol/L)按Lipofectamine 2000转染试剂盒说明书操作进行共转染A549；将构建好的psiCHECK-2-ROBO1-3'UTR与miR-NC及miR-218 mimics (100 nmol/L)组严格按Lipofectamine 2000转染试剂盒说明书操作进行共转染HCC4006，最后进行双荧光素酶检测。

1.4 统计学方法 数据用SPSS 13.0软件分析，用均数±标准差 (Mean±SD)表示计量资料，组间比较采用t检验，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MiRNA-218在肺癌组织和肺癌细胞株中的表达 通过定量PCR检测了15例肺癌组织和15例癌旁组织内miR-218的表达，结果显示肺癌组织中miRNA-218的表达明显低于癌旁组织 (P<0.05, 图1A)。对肺腺癌细胞株A549、NCI-H1299、Calu-3、NCI-H2228、NCI-H1975、HCC4006、NCI-H23、NCI-H1435中miRNA-218的检测发现细胞株A549中miRNA-218的表达高于其他细胞中

miRNA-218的表达，而HCC4006细胞中miRNA-218的表达最低 (图1B)。

2.2 抑制miR-218对肺癌细胞株中的迁移侵袭的影响 在肺癌细胞系A549中转染Anti-miR-218的实验组及对照组 (negative control)，用定量PCR检测干扰后的效果，结果显示：细胞转染Anti-miR-218后，miR-218的表达明显降低，为对照组的0.27倍 (P<0.05, 图2A)。为了证实miR-218对于细胞迁移侵袭的影响，细胞转染后进行Transwell实验，结果显示转染Anti-miR-218组，细胞迁移数为 (123.26±9.17)，对照组细胞迁移数为 (76.62±6.81) (P<0.05, 图2B-图2C)；细胞侵袭数Anti-miR-218实验组为 (102.83±11.67)，对照组细胞侵袭数为 (62.43±8.44) (P<0.05, 图2B-图2C)。同时，我们在HCC4006细胞中转染miR-218的模拟物 (miR-218 mimics)，结果显示转染后，miR-218表达较对照组显著升高 (P<0.05, 图2D)；转染组细胞迁移数为 (45.58±5.22)，对照组细胞迁移数为 (73.31±8.95) (P<0.05, 图2E-图2F)；转染组细胞侵袭数为 (26.84±3.67)，对照组细胞侵袭数为 (56.53±5.46) (P<0.05, 图2E-图2F)。上述的迁移侵袭结果说明抑制miR-218能够显著增强A549细胞的迁移侵袭能力；过表达miR-218能够显著抑制HCC4006细胞的迁移侵袭能力。

2.3 肺癌细胞中miR-218的靶基因预测 通过TargetsCan和MiRanda软件预测miR-218的靶基因，我们发现miR-218能够识别*Robo1*基因的3'UTR区 (图3A)。我们应用qPCR和蛋白印迹方法，分别检测干扰miR-218后，A549肺癌细胞中*Robo1*的表达情况；过表达miR-218后，HCC4006细胞中*Robo1*的表达情况。结果显示Anti-miR-218组中*Robo1*的mRNA表达是对照组的2.87倍 (图3B, P<0.05)；Western

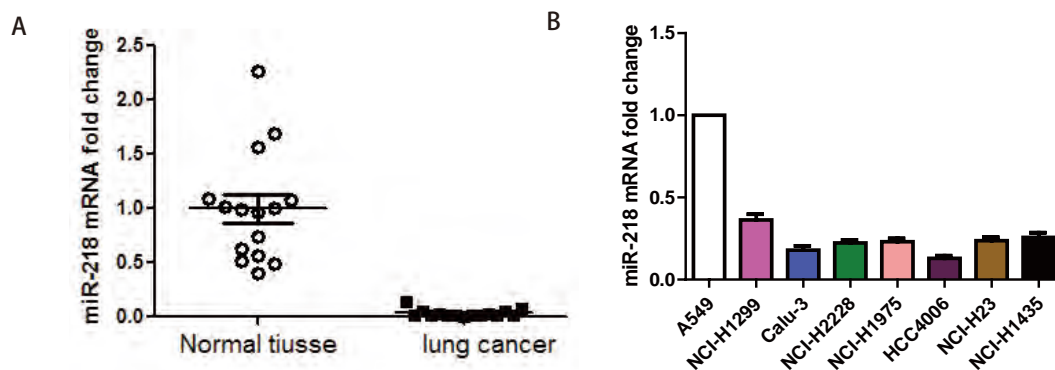


图1 miRNA-218在组织和细胞中的表达情况。A: qPCR检测miR-218在肺癌组织及癌旁组织中的表达情况；B: qPCR检测miR-218在肺癌细胞系中的表达情况。

Fig 1 Expression of miRNA-218 in tissues and cells. A: qPCR analysis of miR-218 expression in lung cancer tissues and adjacent tissues; B: qPCR analysis of miR-218 expression in lung cancer cell lines.

blot结果显示Anti-miR-218组中Robo1的蛋白表达量明显高于对照组（图3C），结果提示我们抑制miR-218增加了A549细胞中Robo1的表达。在HCC4006细胞中转染miR-218 mimics，发现miR-218表达显著降低，为对照组的0.48倍（图3D， $P<0.05$ ）；Western blot结果显示转染组中Robo1的蛋白表达量明显低于对照组（图3E）。我们进一步用双荧光素酶报告基因实验验证miR-218靶基因的准确性，将Anti-miR-218与psiCheck2-Robo1-3'UTR或对照质粒共转染A549细胞；将miR-218 mimics与psiCheck2-Robo1-3'UTR或对照质粒共转染HCC4006细胞培养，培养48 h后，检测荧光素酶表达水平。结果发现，在A549细胞中抑制miR-218能够显著增强Robo1的转录活性，而对对照组的荧光素酶的表达不受影响（图3F， $P<0.05$ ）；在HCC4006细胞中过表达miR-218能够显著抑制Robo1的转录活性（图3G， $P<0.05$ ）。结果提示miR-218能与Robo1

基因的3'UTR区有结合，影响Robo1的表达。

2.4 miR-218通过Robo1调控肺癌细胞的侵袭能力 为了验证miRNA-218是否通过Robo1来调控细胞的侵袭能力，我们在A549细胞中将侵袭实验分为4个组，分别为：Negative control+Robo1的Si-NC组为第1组，Anti-miRNA-218+Robo1的Si-NC组为第2组，Negative control+Si-Robo1组为第3组，Anti-miRNA-218+Si-Robo1组为第4组。每组分别共转染A549细胞，继续培养24 h后。再用Transwell小室按照细胞侵袭实验步骤进行操作。结果显示第2组与第1组比较，穿越Matrigel胶的细胞数明显增多，分别为 $[(102.82 \pm 11.67), (66.43 \pm 8.45)]$ （图4A-图4B， $P<0.05$ ）；第3组细胞数为 (44.36 ± 7.02) 与第1组比较明显减少（图4A-图4B， $P<0.05$ ）；第4组细胞数为 (58.62 ± 9.15) ，与第1组比较没有统计学意义。在HCC4006中将侵袭实验也分为4组，分别为miR-NC+Si-NC组为A组，miRNA-218+Si-NC

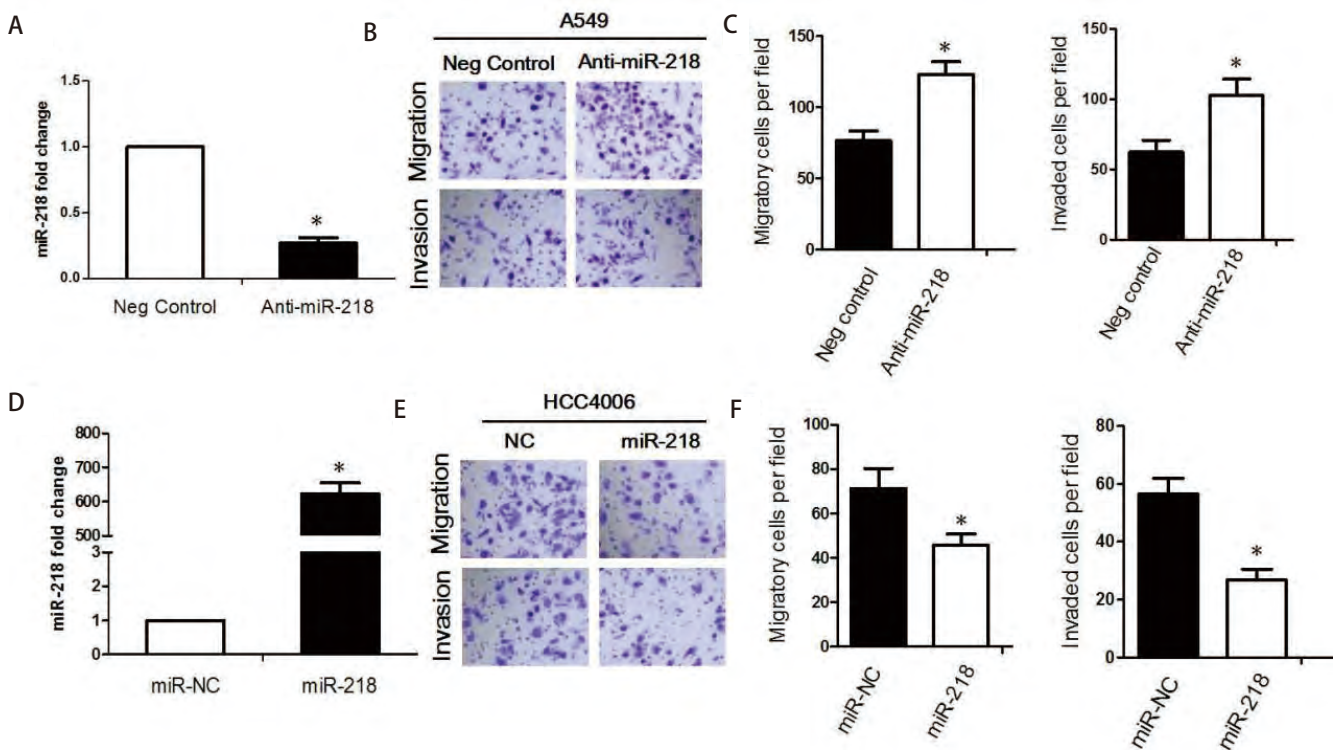


图2 MiR-218影响肺癌细胞的迁移侵袭能力。A：qPCR检测在A549细胞中干扰miR-218后，miR-218的表达；B：干扰miR-218后，细胞的迁移侵袭实验（20×）；C：干扰miR-218后，A549细胞迁移侵袭数量的统计分析；D：qPCR检测在HCC4006细胞中转染miR-218 mimics后，miR-218的表达情况；E：转染miR-218 mimics后，HCC4006细胞的迁移侵袭实验（20×）；F：转染miR-218 mimics后，HCC4006细胞的迁移侵袭数量的统计分析。

Fig 2 MiR-218 affect the migration and invasion of lung cancer cells. A: qPCR analysis of miRNA-218 expression in A549 cell after transfected with Anti-miR-218; B: Transwell assay analysis of A549 cell after transfected with Anti-miR-218 (20×); C: Statistical analysis the migrated and invaded A549 cells after transfected with Anti-miR-218; D: qPCR analysis of miRNA-218 expression in HCC4006 cell after transfected with miR-218 mimics; E: Transwell assay analysis of HCC4006 cell after transfected with miR-218 mimics (20×); F: Statistical analysis the migrated and invaded HCC4006 cells after transfected with miR-218 mimics.

组为B组, miR-NC+Si-Robo1组为C组, miR-218+Si-Robo1组为D组。结果显示A组穿越Matrigel胶的细胞数(86.53±11.58), B组穿越Matrigel胶的细胞数(47.87±9.05), C组细胞数为(51.56±7.89), D组细胞数为(78.55±8.94)。B组及C组分别与A组比较差异显著,有统计学意义(图4C-图4D, $P<0.05$); D组与A组比较没有显著差异。提示miR-218是通过调控Robo1的表达来影响细胞的侵袭。

3 讨论

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一。随着现代化在我国进程的快速发展,肺癌的发病率呈持续升高的态

势。尽管目前临床上对肿瘤诊治水平有了很大的进步,但针对肺癌的有效治疗效果不显著^[7]。由于肺癌的发生发展机制目前并不清楚,患者生存预后较差。因此,深入研究肺癌发生发展的分子机制十分必要。

MiRNA参与到肿瘤的发生发展已被证实^[8]。其中,miR-218不仅在多种组织中(如脂肪、皮肤等)发挥着重要的作用^[9-11]。在人类多种恶性肿瘤中miR-218能够影响肿瘤细胞的增殖和凋亡,起着抑癌基因的作用^[4-6]。本研究通过qPCR证明了miR-218在肺癌患者组织中是低表达的。已有的研究^[12,13]发现在人类多种肿瘤中miR-218均为低表达,并推测miR-218起着抑癌基因的作用。在肺癌中,有研究^[4]认为miR-218低表达的是由于其甲基化作用

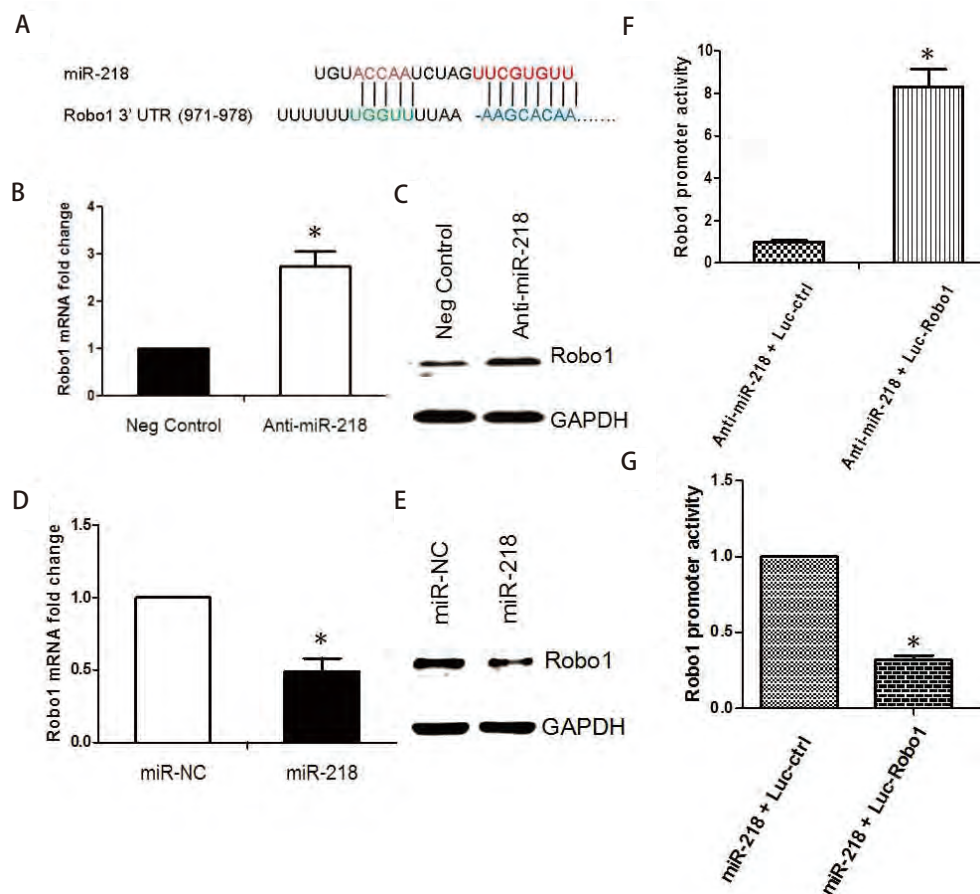


图3 MiR-218靶基因的预测及验证。A: miR-218与Robo1的3'UTR结合示意图; B: 干扰miR-218后, Robo1的mRNA变化情况; C: 干扰miR-218后, Robo1蛋白的表达变化; D: qPCR检测在HCC4006细胞中转染miR-218 mimics后, Robo1的mRNA表达; E: 在HCC4006细胞中转染miR-218 mimics后, Robo1的蛋白表达; F, G: 双荧光素酶检测miR-218对Robo1转录活性的影响, 其中F: 干扰miR-218; G: 过表达miR-218。

Fig 3 Predicting and verifying the target genes of miR-218. A: Schematic diagram for binding of miR-218 in 3' UTR of Robo1; B: qPCR analysis of Robo1 expression after Anti-miR-218 transfection; C: The protein level of Robo1 after Anti-miR-218 transfection; D: qPCR analysis of Robo1 expression in HCC4006 cell after transfected with miR-218 mimics; E: The protein level of Robo1 in HCC4006 cell after transfected with miR-218 mimics; F, G: Luciferase reporter assay analysis of the transcription activity of Robo1 in cells transfected with Anti-miR-218 (F) or over-expressed with miR-218 (G).

的结果，并且miR-218是影响NSCLC生存和无复发预后的独立因素。本研究在miR-218高表达的A549细胞中抑制miR-218的表达发现细胞的转移侵袭功能增强，这与以前的研究^[14,15]结论相似。

MiR-218靶基因众多，包括Ecop、PAXILLIN、Robo1等，意味着miR-218有多种的调控通路。有研究已证实miRNA-218能通过调控Robo1参与多种癌症细胞侵袭和转移^[6,16]。在结肠直肠癌细胞中，miR-218可通过下调Bmi1的表达抑制细胞的增殖，促进细胞凋亡^[17]。Wu等^[4]研究发现miR-218通过靶向调控Paxillin基因表达来影响口腔鳞癌患者的生存及预后。miR-218可直接结合于ECOP的mRNA 3'-UTR，抑制ECOP基因表达，从而达到抑制胶质瘤细胞增殖的结果^[18]。可见miR-218可参与多种调控肿瘤转移的

机制中，但在肺癌中的调控机制尚不明确。

Robo1是轴突导向性受体，近来研究发现Robo1参与调控肿瘤的侵袭和转移^[12,19,20]。我们用软件预测确实显示Robo1为miR-218靶基因之一，因此我们推测miR-218-Robo1通路可能也参与调控肺癌的侵袭和转移。我们通过外源性miR-218的抑制物瞬时干扰A549细胞中miR-218的表达，显著抑制了Robo1的表达。然后通过双荧光素酶报告基因实验进一步验证miR-218能够调控Robo1的转录活性，这些结果都表明在肺癌细胞A549中Robo1是miR-218下游的靶基因之一。用miR-218抑制剂和Robo1的SiRNA同时转染细胞，发现抑制了miR-218增强细胞侵袭的能力，进一步证明了miR-218通过抑制Robo1的表达从而调控肿瘤细胞的迁移侵袭功能。在乳腺癌、胃癌和鼻

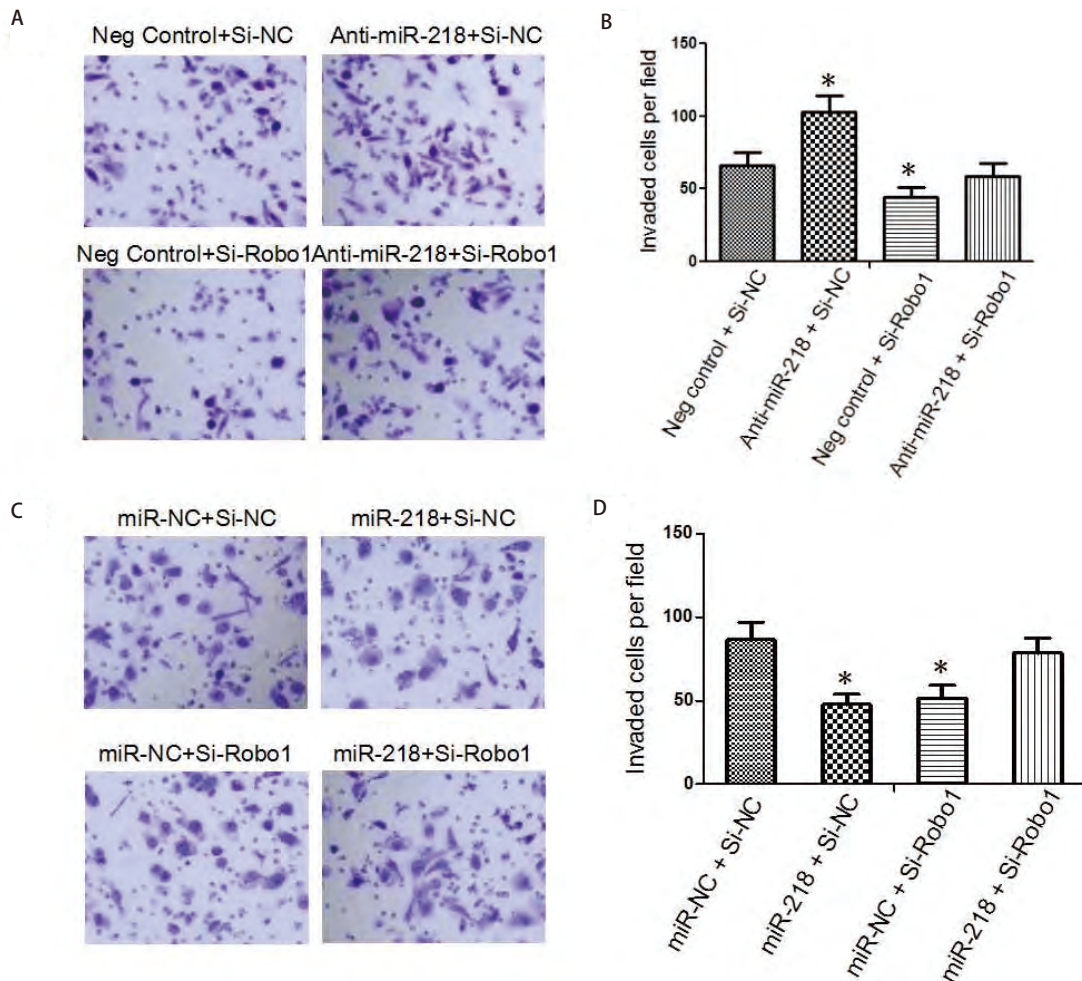


图4 MiR-218通过调控Robo1影响肺癌细胞的侵袭能力。A: Anti-miR-218和Si-Robo1及其对照组后，A549细胞侵袭能力的改变(20×)；B: 侵袭细胞的统计结果；C: 转染miR-218 mimics和Si-Robo1及其对照组后，HCC4006细胞侵袭能力的改变(20×)；D: HCC4006细胞侵袭能力统计结果分析。

Fig 4 MiR-218 can influence the invasion ability of lung cancer cells by regulating Robo1 expression. A: Comparing the invasion ability of A549 cell transfected with Anti-miR-218 or Si-Robo1 to their control (20×); B: Statistical analysis of invaded cells in A549; C: Comparing the invasion ability of HCC4006 cell transfected with Anti-miR-218 or Si-Robo1 to their control (20×); D: Statistical analysis of invaded cells in HCC4006.

咽癌等癌症中, 同样存在miR-218-Robo1通路, 且参与了调控肿瘤细胞的转移^[6,17,21]。

综上所述, *Robo1*基因是miR-218的靶基因之一, miR-218能够通过调控*Robo1*基因的表达影响肺癌细胞的迁移侵袭, 提示miR-218可通过调控下游靶基因来影响肺癌的发生发展。因此, miR-218可作为肺癌分子治疗中潜在的靶点, 为临床治疗提供一个新思路及理论基础。

参 考 文 献

- Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*, 2007, 57(1): 43-66.
- Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, *et al.* Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*, 2006, 9(3): 189-198.
- Wu DW, Cheng YW, Wang J, *et al.* Paxillin predicts survival and relapse in non-small cell lung cancer by microRNA-218 targeting. *Cancer Res*, 2010, 70(24): 10392-10401.
- Leite KR, Sousa-Canavez JM, Reis ST, *et al.* Change in expression of miR-let7c, miR-100, and miR-218 from high grade localized prostate cancer to metastasis. *Urol Oncol*, 2011, 29(3): 265-269.
- Alajez NM, Lenarduzzi M, Ito E, *et al.* MiR-218 suppresses nasopharyngeal cancer progression through downregulation of survivin and the SLIT2-ROBO1 pathway. *Cancer Res*, 2011, 71(6): 2381-2391.
- Sugimura H, Yang P. Long-term survivorship in lung cancer. *Chest*, 2006, 129(4): 1088-1097.
- Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460-469.
- Botchkareva NY. MicroRNA/mRNA regulatory networks in the control of skin development and regeneration. *Cell Cycle*, 2012, 11(3): 468-474.
- Gu J, Xuan Z. Inferring the perturbed microRNA regulatory networks in cancer using hierarchical gene co-expression signatures. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81032.
- Bengstrate L, Virtue S, Campbell M, *et al.* Genome-wide profiling of microRNAs in adipose mesenchymal stem cell differentiation and mouse models of obesity. *PLoS One*, 2011, 6(6): e21305.
- Schmid BC, Reznicek GA, Fabjani G, *et al.* The neuronal guidance cue slit2 induces targeted migration and may play a role in brain metastasis of breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 106(3): 333-342.
- Yang M, Liu R, Sheng J, *et al.* Differential expression profiles of microRNAs as potential biomarkers for the early diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*, 2013, 29(1): 169-176.
- Yamasaki T, Seki N, Yoshino H, *et al.* MicroRNA-218 inhibits cell migration and invasion in renal cell carcinoma through targeting caveolin-2 involved in focal adhesion pathway. *J Urol*, 2013, 190(3): 1059-1068.
- Sher YP, Wang LJ, Chuang LL, *et al.* ADAM9 up-regulates N-cadherin via miR-218 suppression in lung adenocarcinoma cells. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94065.
- He X, Dong Y, Wu CW, *et al.* MicroRNA-218 inhibits cell cycle progression and promotes apoptosis in colon cancer by downregulating BMI1 polycomb ring finger oncogene. *Mol Med*, 2013, 18: 1491-1498.
- Tie J, Pan YL, Zhao LN, *et al.* Mir-218 inhibits invasion and metastasis of gastric cancer by targeting the robo1 receptor. *PLoS Genetics*, 2010, 6(3): e1000879.
- Hongping X, Yukui Y, Minghua H, *et al.* MiR-218 sensitizes glioma cells to apoptosis and inhibits tumorigenicity by regulating ECOP-mediated suppression of NF- κ B activity. *Neuro Oncol*, 2013, 15(4): 413-422.
- Yang L, Li Q, Wang Q, *et al.* Silencing of mirna-218 promotes migration and invasion of breast cancer via slit2-robo1 pathway. *Biomed Pharmacother*, 2012, 66(7): 535-540.
- Mertsch S, Schmitz N, Jeibmann A, *et al.* Slit2 involvement in glioma cell migration is mediated by robo1 receptor. *J Neurooncol*, 2008, 87(1): 1-7.
- Wang B, Xiao Y, Ding BB, *et al.* Induction of tumor angiogenesis by slit-robosignaling and inhibition of cancer growth by blocking robo activity. *Cancer Cell*, 2003, 4(1): 19-29.

(收稿: 2016-12-27 修回: 2017-05-19 接受: 2017-05-20)

(本文编辑 丁燕)



Cite this article as: Chen P, Zhao YL, Li YJ. MiR-218 inhibits migration and invasion of lung cancer cell by regulating Robo1 expression. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2017, 20(7): 452-458. [陈平, 赵云龙, 李英杰. MiR-218通过抑制Robo1的表达影响肺癌细胞迁移侵袭. *中国肺癌杂志*, 2017, 20(7): 452-458.] doi: 10.3779/j.issn.1009-3419.2017.07.03