

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201701010

· 论 著 ·

MiR-22 经上皮 – 间质转化调控头颈鳞癌的侵袭转移

谭浩蕾^{1,2}, 朱刚才^{1,3}, 余 笠¹, 魏 明¹, 陈昌瀚¹, 黄东海¹, 田勇泉¹, 张 欣¹, 刘 勇¹

(1. 中南大学湘雅医院 耳鼻咽喉重大疾病研究湖南省重点实验室 耳鼻咽喉头颈外科, 湖南 长沙 410008; 2. 湖南省肿瘤医院 中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院 头颈外一科, 湖南 长沙 410013; 3. 中南大学湘雅二医院 耳鼻咽喉头颈外科, 湖南 长沙 410011)

摘 要: **目的** 探讨 miR-22 对头颈部鳞状细胞癌(头颈鳞癌)上皮 – 间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和侵袭转移的影响。**方法** 利用脂质体介导的 miR-22 mimic 及 inhibitor(含阴性对照)分别转染头颈鳞癌 Tu686 细胞,划痕实验及 Transwell 侵袭实验检测其体外迁移及侵袭能力的改变,Western blotting 检测 EMT 分子标志物的改变。**结果** hsa-miR-22 mimic 能抑制 Tu686 细胞的体外迁移及侵袭能力,相反 hsa-miR-22 inhibitor 能促进 Tu686 细胞的体外迁移及侵袭能力。且 miR-22 过表达后能在 Tu686 细胞中抑制 EMT 的分子标志物改变,即 E-cadherin 的表达上调和 Vimentin 的表达下调。**结论** 本研究表明 miR-22 对头颈鳞癌细胞的体外迁移侵袭能力具有调控作用,该调控作用的发生与 miR-22 对 EMT 的抑制作用密切相关。

关 键 词: 头颈部鳞状细胞癌; MiR-22; 迁移; 侵袭; 上皮 – 间质转化

中图分类号: R739. 91 文献标识码: A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2017, 23(1): 43 – 48]

MiR-22 regulates the invasion and metastasis via remodeling epithelial-mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma

TAN Hao-lei^{1,2}, ZHU Gang-cai^{1,3}, SHE Li¹, WEI Ming¹, CHEN Chang-han¹,
HUANG Dong-hai¹, TIAN Yong-quan¹, ZHANG Xin¹, LIU Yong¹

(1. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Xiangya Hospital Central South University, Otolaryngology Major Disease Research Key Laboratory of Hunan Province, Changsha 410008, China; 2. Department of Head and Neck Surgery, Hunan Cancer Hospital, the Affiliated Tumour Hospital of Xiangya Medical School, Central South University, Changsha 410013, China; 3. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of miR-22 on the epithelial-mesenchymal transition (EMT), invasion and metastasis in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) in vitro. **Methods** MiR-22 mimic or inhibitor was transfected into cells of head and neck squamous cell carcinoma (Tu686) by liposome transfection technique. Alterations of migration and invasion were assayed by scratches and transwell experiments. Western blotting was used to detect the changes of EMT-associated markers. **Results** MiR-22 mimic successfully inhibited migration and invasion of HNSCC Tu686 cell line in vitro. On the contrary, miR-22 inhibitor enhanced the migration and invasion. Meanwhile, miR-22 mimic caused changes of EMT molecular markers including up-regulated expression of E-cadherin and down-regulated expression of Vimentin. **Conclusion** miR-22 has a regulatory effect on the migration and invasion of HNSCC in vitro, which is closely related to the inhibitory effect of miR-22 on EMT.

Key words: Head and neck squamous cell carcinoma; MiR-22; Invasion; Metastasis; Epithelial-mesenchymal transition

[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2017, 23(1): 43 – 48]

MiR-22 是 2001 年首次由 Lagos-Quintana 等^[1] 笔者从 HeLa 细胞系内发现,并通过 Northern Blot 杂交发现其在多种脊椎动物体内均有表达。近几年 miR-22 在肿瘤的作用和机制研究关注较多。MiR-

基金项目: 国家自然科学基金(81602389, 81202128, 81272974, 81472696); 湖南省自然科学基金(2015JJ3137)。
作者简介: 谭浩蕾, 女, 博士, 医师。
通信作者: 刘 勇, Email: braver19840112@ hotmail. com

22 参与乳腺癌、结肠癌、卵巢癌等多种肿瘤的调控,通过相应的靶基因抑制肿瘤细胞的增殖、转移和侵袭能力,还能通过衰老、自噬等途径抑制肿瘤细胞增殖。然而,miR-22 在头颈鳞癌中的作用目前尚无报道。因此,本研究在体外细胞实验中探讨 miR-22 对头颈鳞癌 Tu686 细胞侵袭转移能力的影响,并对其作用机制进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 实验材料

DMEM/F12 (1:1) 培养基,南美胎牛血清 (HyClone, 美国), 0.25% 胰蛋白酶消化液, miR-22 mimic、miR-22 negative control (N. C.)、miR-22 inhibitor 和 miR-22 inhibitor control (N. C., 苏州吉玛股份有限公司), Lipofectamine 2000 转染试剂盒 (Invitrogen, 美国), 兔抗人 E-cadherin 多克隆抗体 (Protein-tech Group, INC, 美国), 兔抗人 Vimentin 多克隆抗体 (Santa Cruz, 美国), 小鼠抗人 β -actin 单克隆抗体 (上海碧云天公司), microRNA 抽提试剂盒 (Qiagen, 德国), 逆转录试剂盒和 All-in-One™ miRNA qPCR Detection Kit (广州复能基因有限公司), Transwell 小室 (Costar, Cambridge, 美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 头颈鳞癌 Tu686 细胞培养 本研究所采用的 Tu686 细胞为口咽部头颈鳞癌细胞, 由美国 Emory 大学 Grogia Chen 教授赠送, 该细胞在 37℃, 5% CO₂ 及饱和湿度条件下, 用含 10% 优质胎牛血清的 DMEM/F12 培养基培养, 常规 0.25% 胰蛋白酶消化传代。实验所用细胞均为对数生长期细胞。

1.2.2 头颈鳞癌 Tu686 细胞的转染 根据 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明书进行。将 miR-22 mimic 和 miR-22 negative control (N. C.) 分别转染头颈鳞癌 Tu686 细胞, miR-22 inhibitor 和 miR-22 inhibitor control (N. C.) 分别转染 Tu686 细胞。转染时采用无血清培养基, 转染 5 h 后更换正常培养基。转染 48 h 后采用实时荧光定量 PCR 检测转染效率。实验共分 3 组: ①亲本细胞组 (未转染 miR-22 mimic 或 inhibitor 的 Tu686 细胞); ②阴性对照组 (转染阴性对照的 Tu686 细胞); ③实验组 (转染 miR-22 mimic 或 inhibitor 的 Tu686 细胞)。

1.2.3 qRT-PCR 检测 miR-22 mimic 及 inhibitor 的转染效果 根据 Qiagen microRNA 抽提试剂盒步骤进行, 将转染了 miR-22 mimic/inhibitor 的实验组、阴

性对照组和亲本细胞组细胞分别提取 microRNA, 再依据逆转录试剂盒和 All-in-One™ miRNA qPCR Detection Kit 说明书分别逆转录及加样, 以 U6 为内参, 亲本细胞组 miR-22 的表达量为 1, 每组设 3 个复孔, Bio-Rad qPCR 仪上检测 miR-22 在各组细胞中的相对表达情况。实验重复 3 次。

1.2.4 划痕愈合实验 转染 48 h 后各组细胞以 0.25% 胰酶消化, 再以每毫升相同细胞数接种于 6 孔板中, 培养过夜, 更换培养基, 使细胞呈单层贴壁生长状态并达到 90% ~ 100% 融合率时, 以 10 μ l 移液器头给 6 孔板中细胞划痕, PBS 轻轻洗去刮下的漂浮细胞。分别于划痕后 0、36、48 h 后细胞拍照, 观察划痕愈合能力。实验重复 3 次。

1.2.5 Transwell 侵袭小室实验 实验小室预先加入无血清培养基 30 min 让其水化, 以每个小室加入 2×10^4 细胞数, 上室以无血清培养基培养, 下室以加入 10% 血清的培养基进行趋化。37℃, 5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养 36 h 或 48 h, 取出 Transwell 小室, 用棉签擦尽上室面的胶和细胞, 下室面以 4% 多聚甲醛固定 15 min 后, 结晶紫或伊红染色, 倒置显微镜下观察并拍照。取随机 5 个高倍镜视野计数。实验重复 3 次。

1.2.6 Western blotting 检测 EMT 相关标志蛋白的改变 提取细胞总蛋白, 二喹啉甲酸法测定蛋白浓度, 40 μ g 蛋白变性处理后, 8% ~ 12% SDS-PAGE 胶电泳。蛋白电泳分离后转至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h。兔抗人 E-cadherin 多克隆抗体 (1:1000), 兔抗人 Vimentin 多克隆抗体 (1:200) 于 4℃ 冰箱孵育过夜, 洗膜并二抗孵育后再次洗膜, Bio-Rad 显影仪上显影。 β -actin 作为内参, 实验均重复 3 次。

1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。采用多样本均数的方差分析进行组间样本均数的比较。检验均采用双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 上调 miR-22 及下调 miR-22 在头颈鳞癌 Tu686 中的表达

为阐明 miR-22 对头颈鳞癌细胞侵袭转移的影响, 首先采用脂质体 2000 将 miR-22 mimic 和 miR-22 inhibitor 分别转染 Tu686 细胞。转染 48 h 后, qPCR 验证转染效果显示实验组与阴性对照组和

亲本细胞组之间 miR-22 的表达,分别为(6.48 ± 1.72)倍和(0.28 ± 0.07)倍,差异具体统计学意义($P < 0.05$,图 1),而阴性对照组与亲本细胞组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。表明 miR-22 mimic 和 inhibitor 成功上调及下调了 Tu686 细胞中 miR-22 的表达水平。

2.2 miR-22 对头颈鳞癌 Tu686 细胞体外迁移能力的影响

首先用划痕实验比较转染 miR-22 mimic 48 h 后各组细胞的愈合能力,可见阴性对照组和亲本细胞组划痕愈合率明显高于实验组,实验组只有少数越过划痕边缘,实验组细胞迁移能力明显减弱,分别为(77.5 ± 2.5)%、(75.0 ± 10.0)%、(25.0 ± 5.0)%,图 2A。再用划痕实验比较转染 miR-22 inhibitor 36 h 后 Tu686 细胞各组的愈合能力,结果阴性对照组和亲本细胞组划痕愈合率明显低于实验组,分别为(41.7 ± 1.9)%、(45.0 ± 2.9)%、(88.3 ± 2.5)%,图 2B。

2.3 miR-22 对头颈鳞癌 Tu686 细胞体外侵袭能力的影响

进一步采用 Transwell 侵袭小室实验比较各组细胞的侵袭能力,结果转染 miR-22 mimic 后,实验组细胞的体外侵袭能力较阴性对照组和亲本细胞组明显减弱,48 h 后穿过 Transwell 侵袭小室的每高倍镜视野细胞数分别为(120.5 ± 8.0)个,而亲本细胞组和阴性对照组分别为(238.5 ± 11.5)和(224.8 ± 12.5)个,采用多样本均数的方差分析,阴性对照组和亲本细胞组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),而实验组较阴性对照组和亲本细胞组穿过的细胞数明显减少,差异具有统计学意义(图 3A, $P < 0.05$)。相反,转染 miR-22 inhibitor 后,实验组细胞的体外侵袭能力较亲本细胞组和阴性对照组细胞则明显增强,36 h 后穿过 Transwell 侵袭小室的每高倍镜视野细胞数为(217.7 ± 24.6)个,而阴性对照组和亲本细胞组分别为(112.3 ± 4.6)个和(125.0 ± 7.2)个(图 3B, $P < 0.05$)。

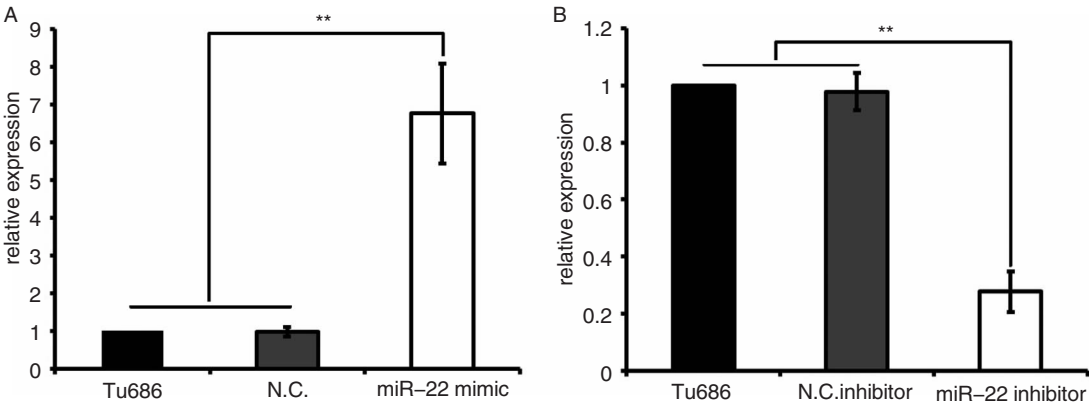


图 1 qPCR 检测 Tu686 细胞 miR-22 mimic(A) 及 inhibitor(B) 的转染效率

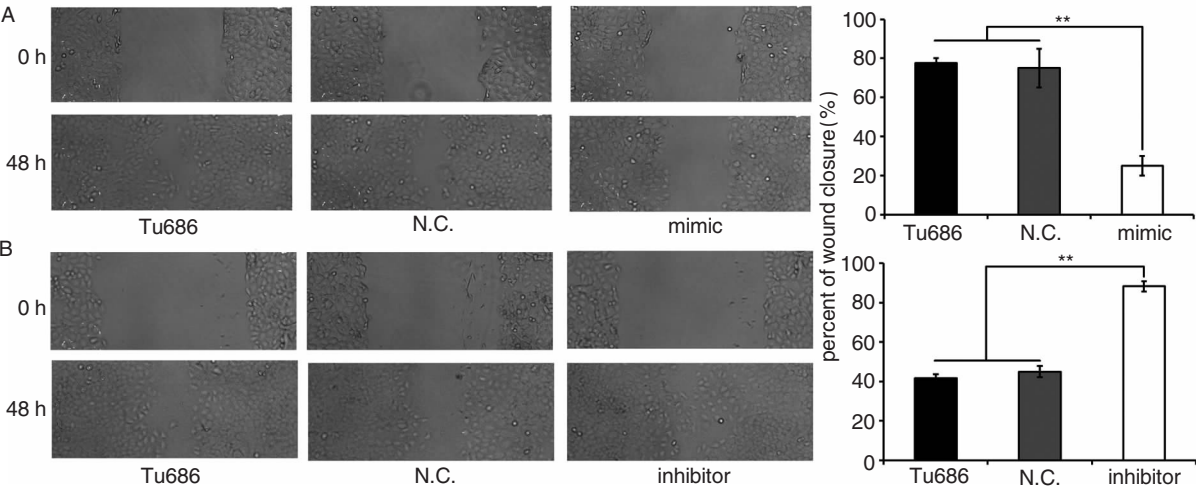


图 2 miR-22 mimic(A) 及 inhibitor(B) 转染对头颈鳞癌 Tu686 细胞体外迁移能力的影响 A:结晶紫 $\times 200$; B:伊红 $\times 200$

2.4 miR-22 对头颈鳞癌 Tu686 细胞 EMT 的调控

鉴于上皮 - 间质转化(EMT)在头颈鳞癌侵袭转移中的重要作用,我们进一步用 Western blotting 检测 EMT 相关分子标志物的变化。研究结果发现 miR-22 mimic 转染 Tu686 细胞后,EMT 过程受到抑制。实验组中上皮细胞标志物 E-cadherin 表达增强,而间质细胞标志物 Vimentin 表达减弱(图 4),该结果表明 miR-22 对 EMT 过程发生了调控作用。

3 讨论

MiRNAs 是近年来发现的一类长约 22 核苷酸大小的内源性非编码 RNA,广泛存在于多种生物体内,通过碱基互补配对的方式与靶基因 mRNA 的 3'-UTR 区部分或完全互补,剪切靶基因的转录产物或者抑制转录产物的翻译,从而起到转录后调控靶基因表达的作用。最近研究认为 miRNA 在肿瘤的发生、发展、侵袭转移等方面发挥着重要作用。其中,miR-22 在多种肿瘤中异常表达,与细胞的生长、周期、凋亡和转移相关。本研究主要探讨 miR-22 对头颈鳞癌上皮 - 间质转化和侵袭转移的影响。

研究表明,miR-22 表达量在多种肿瘤组织中降低,其中包括急性白血病^[2]、乳腺癌^[3]、肺癌^[4]、结肠癌^[5]、胃癌^[6-7]等。低表达 miR-22 的肿瘤分期更差,更容易发生淋巴结转移和远处转移。而高表达 miR-22 的结肠癌^[8]、胃癌^[7,9]、乳腺癌^[10]患者术后生存率显著高于低表达者。这些临床相关性研究,很好地说明 miR-22 的表达下降与多种人类恶性肿瘤的病变进展及不良预后密切相关。而我们在头颈鳞癌细胞中对 miR-22 的作用进行了体外实验,发现 miR-22 在头颈鳞癌体外细胞实验中能抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭能力,并且该调控作用的发生与 miR-22 对 EMT 的抑制作用相关,提示 miR-22 在头颈肿瘤中的侵袭转移中发挥抑瘤效果。我们的体外实验结果与其他团队在胃癌^[6-7,11]、乳腺癌^[10]、结肠癌^[12]等实体瘤中的结果一致。

研究表明,上皮 - 间质转化(EMT)的发生可促进肿瘤细胞发生转移^[13]。多个 microRNAs 在肿瘤中被证实与 EMT 相关,如 miR-661^[14], miR-200^[15-17],miR-30^[18]以及 miR-203^[19]。关于 miR-22 与 EMT 的关系也逐渐引起关注。Long 等^[20]发现 EMT 的诱导物之一 TGF- β 能下调 miR-22 表达,

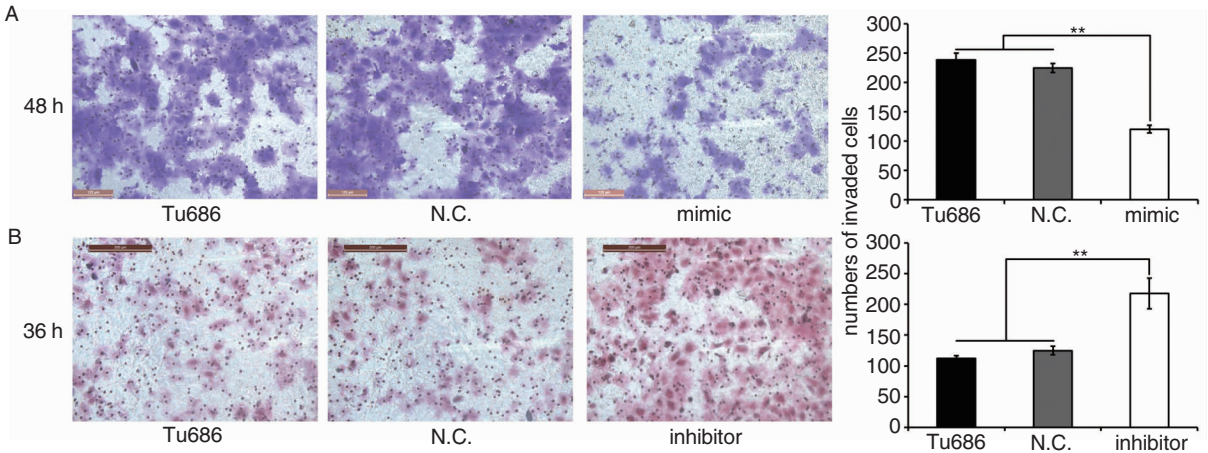


图 3 miR-22 mimic 与 inhibitor 转染对头颈鳞癌 Tu686 细胞体外侵袭能力的影响 A:结晶紫 $\times 200$; B:伊红 $\times 200$

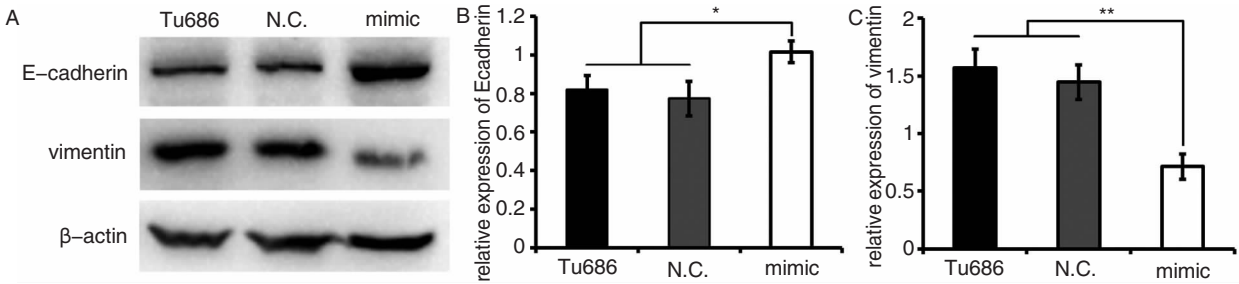


图 4 Western blot 检测 miR-22 mimic 转染后头颈鳞癌 Tu686 细胞 EMT(A)标志物 E-cadherin(B)和 vimentin(C)的改变

miR-22 能够通过 BMP7/6 通路抑制肾纤维化。Zuo 等^[7]也证实在胃癌中 miR-22 可通过靶向 Snail 抑制细胞发生 EMT 改变。为了验证 miR-22 是否通过逆转 EMT 从而抑制头颈鳞癌细胞的侵袭转移,我们检测了上皮细胞标志物 E-cadherin 及间质细胞标志物 Vimentin 的蛋白水平改变情况。结果高表达 miR-22 的细胞 E-cadherin 表达增高,Vimentin 表达降低,同样对 EMT 起着负性调节作用。我们认为 miR-22 可能通过抑制头颈鳞癌细胞发生 EMT 从而抑制其侵袭转移。然而 Song 等^[21]认为 miR-22 在乳腺癌中高表达,并能够通过 TET 家族成员拮抗 miR-200 的表达,促进 EMT 的发生从而促进乳腺癌细胞的侵袭转移,高表达的 miR-22 的乳腺癌患者生存率较低,发挥着癌基因的功能。这与我们在头颈肿瘤细胞中的实验结果及大多数其他肿瘤中的研究结果截然相反,其中包括与 Koufaris、Chen 等学者^[10,22]在同样在乳腺癌中的结果不一致。乳腺癌是一种激素相关的肿瘤,我们认为 miR-22 在激素相关的肿瘤中的表达可能与激素受体有着关联。不同文章中报道的 miR-22 在乳腺癌中的表达差异可能与乳腺癌细胞株的选取以及肿瘤组织标本的组成有关,与 EMT 的关系也可能和激素受体的表达情况有着复杂的联系。因此和我们的结果出现了不一致的情况。此外,有研究报道 miR-22 还可能通过诱导细胞衰老^[23]、促进 DNA 修复维持基因组稳定性^[24]、抑制自噬促进细胞凋亡^[25]、抑制 HIF-1 α 的表达和血管生成^[26]等机制抑制肿瘤的生长及转移。MiR-22 在头颈肿瘤中是否通过这些机制起作用还有待进一步的研究。

MiRNA 多通过对相应的靶基因发挥调控作用,进而在多种生理或病理情况下发挥作用^[27]。我们在本研究中并未对 miR-22 直接作用的靶基因及下游通路进行探索。但现有研究发现,miR-22 能对 GLUT1^[10]、MTDH^[11]、BTG1^[25]、HMGB1^[28]、Sp1^[6]等基因进行直接靶向调控,从而影响肿瘤的生长、侵袭、转移。

总而言之,本研究在体外水平阐明了 miR-22 对头颈鳞癌 Tu686 细胞的侵袭和转移能力具有调控作用,且该调控作用的发生与 miR-22 对 EMT 的抑制作用密切相关。课题组亦着手对 miR-22 作用的基因靶点、及其对 EMT 和转移调控的分子信号通路进行深入探讨,力求为 miR-22 作为头颈鳞癌抗转移靶点提供实验数据。

参考文献:

- [1] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001,294(5543):853-858.
- [2] Mi S, Lu J, Sun M, et al. MicroRNA expression signatures accurately discriminate acute lymphoblastic leukemia from acute myeloid leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(50): 19971-19976.
- [3] Xiong J, Du Q, Liang Z. Tumor-suppressive microRNA-22 inhibits the transcription of E-box-containing c-Myc target genes by silencing c-Myc binding protein [J]. *Oncogene*, 2010, 29(35): 4980-4988.
- [4] Ling B, Wang GX, Long G, et al. Tumor suppressor miR-22 suppresses lung cancer cell progression through post-transcriptional regulation of ErbB3 [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(8): 1355-1361.
- [5] Zhang G, Xia S, Tian H, et al. Clinical significance of miR-22 expression in patients with colorectal cancer [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(5): 3108-3112.
- [6] Guo MM, Hu LH, Wang YQ, et al. miR-22 is down-regulated in gastric cancer, and its overexpression inhibits cell migration and invasion via targeting transcription factor Sp1 [J]. *Med Oncol*, 2013, 30(2): 542.
- [7] Zuo QF, Cao LY, Yu T, et al. MicroRNA-22 inhibits tumor growth and metastasis in gastric cancer by directly targeting MMP14 and Snail [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(23): 2000.
- [8] Li J, Zhang Y, Zhao J, et al. Overexpression of miR-22 reverses paclitaxel-induced chemoresistance through activation of PTEN signaling in p53-mutated colon cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 357(1-2): 31-38.
- [9] Tang H, Kong Y, Guo J, et al. Diallyl disulfide suppresses proliferation and induces apoptosis in human gastric cancer through Wnt-1 signaling pathway by up-regulation of miR-200b and miR-22 [J]. *Cancer Lett*, 2013, 340(1): 72-81.
- [10] Chen B, Tang H, Liu X, et al. miR-22 as a prognostic factor targets glucose transporter protein type 1 in breast cancer [J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2 Pt B): 410-417.
- [11] Tang Y, Liu X, Su B, et al. microRNA-22 acts as a metastasis suppressor by targeting metadherin in gastric cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1): 454-460.
- [12] Li B, Song Y, Liu TJ, et al. miRNA-22 suppresses colon cancer cell migration and invasion by inhibiting the expression of T-cell lymphoma invasion and metastasis 1 and matrix metalloproteinases 2 and 9 [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(5): 1932-1938.
- [13] 杨年婷,刘超,李果,等. Mir-324-3p 经上皮-间质转化调控鼻咽癌侵袭转移的实验分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2016, 22(2): 95-99.
- [14] Vetter G, Saumet A, Moes M, et al. miR-661 expression in SNAI1-induced epithelial to mesenchymal transition contributes to breast cancer cell invasion by targeting Nectin-1 and StarD10 mes-

- sengers[J]. *Oncogene*,2010,29(31):4436-4448.
- [15] Korpai M, Lee ES, Hu G, et al. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2[J]. *J Biol Chem*,2008,283(22):14910-14914.
- [16] Park SM, Gaur AB, Lengyel E, et al. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2[J]. *Genes Dev*,2008,22(7):894-907.
- [17] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1[J]. *Nat Cell Biol*,2008,10(5):593-601.
- [18] Braun J, Hoang-Vu C, Dralle H, et al. Downregulation of microRNAs directs the EMT and invasive potential of anaplastic thyroid carcinomas[J]. *Oncogene*,2010,29(29):4237-4244.
- [19] Wellner U, Schubert J, Burk UC, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs[J]. *Nat Cell Biol*,2009,11(12):1487-1495.
- [20] Long J, Badal SS, Wang Y, et al. MicroRNA-22 is a master regulator of bone morphogenetic protein-7/6 homeostasis in the kidney[J]. *J Biol Chem*,2013,288(51):36202-36214.
- [21] Song SJ, Poliseno L, Song MS, et al. MicroRNA-antagonism regulates breast cancer stemness and metastasis via TET-family-dependent chromatin remodeling[J]. *Cell*,2013,154(2):311-324.
- [22] Koufaris C, Valbuena GN, Pomyen Y, et al. Systematic integration of molecular profiles identifies miR-22 as a regulator of lipid and folate metabolism in breast cancer cells[J]. *Oncogene*,2016,35(21):2766-2776.
- [23] Xu D, Takeshita F, Hino Y, et al. miR-22 represses cancer progression by inducing cellular senescence[J]. *J Cell Biol*,2011,193(2):409-424.
- [24] Lee JH, Park SJ, Jeong SY, et al. MicroRNA-22 Suppresses DNA Repair and Promotes Genomic Instability through Targeting of MDC1[J]. *Cancer Res*,2015,75(7):1298-1310.
- [25] Zhang H, Tang J, Li C, et al. MiR-22 regulates 5-FU sensitivity by inhibiting autophagy and promoting apoptosis in colorectal cancer cells[J]. *Cancer Lett*,2015,356(2 Pt B):781-790.
- [26] Yamakuchi M, Yagi S, Ito T, et al. MicroRNA-22 regulates hypoxia signaling in colon cancer cells[J]. *PLoS One*,2011,6(5):e20291.
- [27] 胡安,金晓杰. MicroRNA 与头颈部肿瘤[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2010,16(1):73-76.
- [28] Guo S, Bai R, Liu W, et al. miR-22 inhibits osteosarcoma cell proliferation and migration by targeting HMGB1 and inhibiting HMGB1-mediated autophagy[J]. *Tumour Biol*,2014,35(7):7025-7034.

(收稿日期:2016-09-22)

(上接第42页)

- [7] Joo YH, Chang DY, Kim JH, et al. Anti-inflammatory effects of intranasal cyclosporine for allergic rhinitis in a mouse model[C]. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 2016.
- [8] Seidman MD, Gurgel RK, Lin SY, et al. Clinical Practice Guideline Allergic Rhinitis[J]. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 2015, 152(1 suppl): S1-S43.
- [9] 赵娜,石磊. 翼管神经切断术的研究进展[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2016(1): 81-84.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:616.
- [11] 李红念,梅全喜,戴卫波,等. 玉屏风散的临床应用与药理作用研究进展[J]. *广州中医药大学学报*,2016,33(2):284-287.
- [12] 王慧珠,洪敏,桂黎黎,等. 玉屏风散抗 OVA 致小鼠过敏性哮喘的作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(7): 1052-1055.
- [13] 梁方琪,王海娟,田理. 加味玉屏风散喷雾剂治疗变应性鼻炎制备工艺研究[J]. *中国中医药科技*,2014,21(z2):35.
- [14] Nishijima H, Kondo K, Toma-Hirano M, et al. Denervation of nasal mucosa induced by posterior nasal neurectomy suppresses nasal secretion, not hypersensitivity, in an allergic rhinitis rat model[J]. *Laboratory Investigation*, 2016,37(4):287-293.
- [15] 刘杰. p38 MAPK 在变应性鼻炎大鼠发病机制中的研究[D]. 华中科技大学, 2010.
- [16] Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM, et al. Features of airway remodeling and eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis: is the histopathology similar to asthma[J]. *Journal of allergy and clinical immunology*, 2003, 112(5): 877-882.
- [17] 张强,徐佳,李玉茹,欧阳亮. 变应性鼻炎的细胞因子免疫机制进展[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2012,23(26):1102-1104.
- [18] 续艳,孔德明,楚慧伦,等. 温润辛金培本中药复方对变应性鼻炎豚鼠的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2016, 39(10): 833-838.
- [19] 魏肖云,汪受传. 消风宣窍汤对变应性鼻炎豚鼠模型 IgE, IL-4, IFN- γ , 组胺的调控作用[J]. *浙江中医药大学学报*, 2014(7): 881-884.
- [20] 冯会杰,杨扬,周焕,等. 变应性鼻炎鼻黏膜组织重塑的研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2012, 26(5): 205-208.
- [21] 杨钦泰,黄雪琨,陈壮桂,等. 变应性鼻炎小鼠模型鼻黏膜组织重塑和转录因子 T-bet/GATA-3 的表达[J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2013(1): 70-74.
- [22] 余文煜. 实验性变应性鼻炎鼻黏膜组织重塑的特点及地塞米松和普仑司特的影响[D]. 吉林大学, 2006.

(收稿日期:2016-10-08)