

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2026.04.017

论著 · 基础

miR-203a-3p 靶向 LPP 调控舌鳞状细胞癌进展的机制研究

张雅琳, 崔子峰, 彭士雄, 王锦航



基金项目: 河北省医学科学研究课题计划资助(20240889)

作者单位: 050051 石家庄市第二医院口腔科(张雅琳、王锦航); 050011 石家庄 河北医科大学第四医院口腔科(崔子峰、彭士雄)

通信作者: 王锦航, E-mail: wangjinhang1021@163.com

【摘要】 目的 探讨 miR-203a-3p 在舌鳞状细胞癌(TSCC)中的表达水平、生物学功能及其分子机制,分析其是否通过靶向含 LIM 的脂肪瘤首选伴侣(LPP)影响 TSCC 的恶性进展。方法 于 2024 年 12 月—2025 年 5 月在濠茂生物科技有限公司进行实验。收集 15 例 TSCC 患者癌组织及相应正常组织,采用 qPCR 检测 miR-203a-3p 表达水平;在 HSC3 细胞中过表达 miR-203a-3p,评估其对细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响;利用荧光素酶报告实验、qPCR 及 Western blot 验证 miR-203a-3p 对 LPP 的靶向调控关系;通过 LPP 的挽救实验进一步探讨其在 miR-203a-3p 介导的表型调控中的作用。结果 与正常组织比较,miR-203a-3p 在 TSCC 组织中表达降低($t/P=3.975/0.001$)。在 HSC3 细胞中过表达 miR-203a-3p 后,与转染 NC-mimics 的对照组比较,HSC3 细胞在增殖、迁移、侵袭方面的能力受到抑制($t/P=6.656/0.003, 14.606/<0.001, 11.056/<0.001$)。生物信息学分析及荧光素酶实验表明 miR-203a-3p 可直接靶向结合 LPP 的 3'UTR(共转染 miR-203a-3p mimics 和 LPP-WT vs. 共转染 NC-mimics 和 LPP-WT $q/P=23.052/<0.001$)并负向调控 LPP mRNA(转染 miR-203a-3p mimics vs. 转染 NC-mimics $t/P=15.589/<0.001$)及蛋白表达。LPP 过表达可部分逆转 miR-203a-3p 所致的 HSC3 细胞在增殖(共转染 miR-203a-3p mimics 和 pcDNA3.1-LPP vs. 共转染 miR-203a-3p mimics 和 pcDNA3.1 $q/P=4.280/0.049$)、迁移($q/P=7.475/0.005$)与侵袭($q/P=17.221/<0.001$)方面的抑制效应,表明 LPP 是 miR-203a-3p 重要的功能性下游靶基因。结论 miR-203a-3p 通过靶向下调 LPP 表达抑制 TSCC 细胞恶性行为,miR-203a-3p/LPP 轴在 TSCC 的发生发展中发挥关键调控作用。该通路有望成为 TSCC 早期诊断与靶向治疗的潜在干预靶点。

【关键词】 舌鳞状细胞癌;微小 RNA-203a-3p;含 LIM 的脂肪瘤首选伴侣;作用机制;靶向治疗**【中图分类号】** R739.86**【文献标识码】** A

Study on the mechanism of miR-203a-3p targeting LPP to regulate the progression of tongue squamous cell carcinoma

Zhang Yalin*, Cui Zifeng, Peng Shixiong, Wang Jinhang.* Department of Stomatology, The Second Hospital of Shijiazhuang, Hebei, Shijiazhuang 050051, China

Funding program: Medical Science Research Project of Hebei (20240889)

Corresponding author: Wang Jinhang, E-mail: wangjinhang1021@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression, biological function, and molecular mechanism of miR-203a-3p in tongue squamous cell carcinoma (TSCC), with a focus on whether it suppresses TSCC progression by targeting LPP. **Methods** A total of 15 paired TSCC and adjacent normal tissues were collected for miR-203a-3p expression analysis using qPCR. HSC3 cells were transfected with miR-203a-3p mimics, and their proliferative, migratory, and invasive capabilities were evaluated. The interaction between miR-203a-3p and LPP was validated via bioinformatics prediction, dual-luciferase reporter assay, qPCR, and Western blotting. LPP rescue experiments were performed to further explore its role in miR-203a-3p-mediated phenotypic regulation. **Results** Compared with normal tissues, miR-203a-3p expression was significantly reduced in TSCC tissues ($t/P=3.975/0.001$). In HSC3 cells, overexpression of miR-203a-3p significantly inhibited proliferation ($t/P=6.656/0.003$), migration ($t/P=14.606/<0.001$), and invasion ($t/P=11.056/<0.001$) relative to the negative control (NC-mimics) group. Bioinformatic analyses and luciferase reporter assays showed that miR-203a-3p directly targets the LPP 3'UTR (co-transfection of miR-203a-3p mimics with LPP-WT vs. NC-mimics with LPP-WT, $q/P=23.052/<0.001$), negatively regulating LPP mRNA (miR-203a-3p mimics vs. NC-mimics, $t/P=15.589/<0.001$) and protein expression. Overexpression of LPP partially rescued

the miR-203a-3p-mediated suppression of HSC3 cell proliferation (miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP vs. miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1, $q/P = 4.280/0.049$), migration ($q/P = 7.475/0.005$), and invasion ($q/P = 17.221/<0.001$), indicating that LPP is an important functional downstream target of miR-203a-3p. **Conclusion** miR-203a-3p suppresses TSCC cell proliferation, migration, and invasion by directly targeting and downregulating LPP. The miR-203a-3p/LPP axis plays a crucial regulatory role in TSCC progression and may serve as a potential target for early diagnosis and therapeutic intervention.

【Key words】 Tongue squamous cell carcinoma; miR-203a-3p; LPP; Mechanism; Targeted therapy

舌鳞状细胞癌 (tongue squamous cell carcinoma, TSCC) 是口腔鳞状细胞癌中最常见的组织学类型,其发病率高、恶性程度强且预后不佳,约占头颈部鳞癌的 31.9%^[1-2]。由于 TSCC 早期症状隐匿,患者多在中晚期才得以确诊,这严重影响了治疗效果与生存率^[3-4]。目前, TSCC 的标准治疗以手术联合放化疗为主,但疗效受肿瘤分期、转移状态等多种因素影响。因此,实现更有效的早期诊断并发展分子靶向策略,是改善 TSCC 患者预后的关键。

微小 RNA (microRNA, miR) 是一种长度为 18~22 个核苷酸的小分子非编码 RNA,它通过结合靶标 mRNA 的 3'-UTR 区域,介导其降解或翻译抑制,从而在多种肿瘤的发生发展中发挥转录后调控作用^[5-6]。miRNA 的表达具有组织与疾病特异性,其异常上调或下调与肿瘤的进展、侵袭和转移密切相关^[7]。在 TSCC 中, miR-21、miR-27a、miR-181b 等表达上调起促癌作用,而 miR-137、miR-375、miR-99a 等表达下调则发挥抑癌功能^[8]。文献报道 miR-203a-3p 在胃癌、乳腺癌等多种肿瘤中参与调控肿瘤进程,但其在 TSCC 中的具体功能及作用机制尚不明确^[9-10]。本研究旨在系统解析 miR-203a-3p 在 TSCC 中的表达模式与生物学功能,重点验证其是否通过靶向含 LIM 的脂肪瘤首选伴侣 (LIM domain containing preferred translocation partner in lipoma, LPP) 蛋白来抑制 TSCC 的恶性表型,以期为 TSCC 的分子机制研究与靶向治疗提供理论依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞: 人舌鳞状细胞癌细胞系 HSC3 购自美国典型培养物保藏中心。(2) 组织样本: 2024 年 6—12 月在获得患者知情同意的前提下,于肿瘤切除术中采集 15 例匹配的 TSCC 癌组织 (TSCC 组) 及其对应的正常组织 (Normal 组),即刻置于液氮中冷冻,并储存于 -80℃ 冰箱以待后续实验。患者为原发性 TSCC,年龄 >18 岁,且术前未接受任何肿瘤相关的辅助治疗。本研究获得医院伦理委员会批准 (2020KY283)。(3) 试剂、试剂: 胎牛血清 (FBS, 10099141, Gibco)、高糖型 DMEM 培养基 (11965092,

Gibco)、青链霉素混合液 (P1400, Solarbio)、Lipofectamine 2000 转染试剂 (11668027, Invitrogen)、Trizol 裂解液 (T9424, Sigma)、qPCR Mix 试剂 (AN19L918, Life-iLab)、RIPA 裂解液 (P0013B, Beyotime)、Matrigel 基底胶 (M8370, Solarbio)。(4) 仪器、设备: 二氧化碳培养箱 (371, Thermo)、实时荧光定量 PCR 仪 (QuantStudio™1, Thermo)、多模式酶标仪 (Synergy HTX, Agilent)、凝胶成像仪 (GBOX Chemi-XT4, Syngene)、倒置显微镜 (DM IL, Leica)、TaqMan® microRNA 逆转录试剂盒 (4366597, Applied Biosystems)、HiScript IV 第一链 cDNA 合成试剂盒 (R412-01, Vazyme)、BCA 蛋白定量试剂盒 (P0012, Beyotime)、CCK-8 细胞增殖检测试剂盒 (C0037, Beyotime)、ECL 化学发光试剂盒 (P0018S, Beyotime)、Transwell 小室 (14341, Labselect)、荧光素酶报告基因检测系统 (E2920, Promega)。

1.2 实验方法 于 2024 年 12 月—2025 年 5 月在濠茂生物科技有限公司进行实验。

1.2.1 细胞培养与转染分组: HSC3 细胞在含 10% FBS、青霉素 (100 U/ml) 和链霉素 (100 mg/L) 的高糖 DMEM 培养基中,于 37℃、5% CO₂ 条件下培养。转染过程按照 Lipofectamine 2000 试剂说明书操作。将 HSC3 细胞接种于 6 孔板中,并在培养箱中贴壁培养过夜。待细胞汇合度达到 60%~70% 时进行转染操作。NC-mimics、miR-203a-3p mimics (5'-CUGAAAUGUUU-AGGACCACUAG-3') 由河马生物科技有限公司合成, pcDNA3.1、pcDNA3.1-LPP 由森灵生物科技有限公司合成。探究 miR-203a-3p 功能的转染实验设计为 2 组: 转染 NC-mimics (NC-mimics 组) 转染 miR-203a-3p mimics (miR-203a-3p mimics 组)。针对 LPP 的挽救转染实验设计为 3 组: 共转染 NC-mimics 和 pcDNA3.1 (NC-mimics + pcDNA3.1 组), 共转染 miR-203a-3p mimics 和 pcDNA3.1 (miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组), 共转染 miR-203a-3p mimics 和 pcDNA3.1-LPP (miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组)。

1.2.2 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 检测 miR-203a-3p 和 LPP mRNA 的表达水平:

使用 Trizol 试剂提取肿瘤切除术中采集的 TSCC 癌组织及其对应正常组织的总 RNA, 同样使用 Trizol 试剂提取细胞实验中处理后细胞的总 RNA, 并通过多模式酶标仪进行浓度测定。使用 microRNA/mRNA 逆转录试剂盒将总 RNA 反转录为 cDNA。随后, 使用 qPCR Mix 进行 qPCR 反应。热循环条件如下: 95℃ 预变性 10 min; 随后进行 40 个循环: 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s。以 U6、GAPDH 作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行相对表达量分析, 引物序列见表 1。

表 1 miR-203a-3p、LPP 与内参基因的引物序列

Tab. 1 Primers for miR-203a-3p, LPP and endogenous reference genes

基因	上游引物	下游引物
miR-203a-3p	5'-GCGGCGGGTGAAATG- TTTAGGAC-3'	5'-ATCCAGTGCAGGGTC- CGAGG-3'
LPP	5'-GTTTCACCTGCGTGA- TGTGCCA-3'	5'-GGCTGGCATAATAGG- CTCCTTG-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCA- CA-3'	5'-AACGCTTACGAATT- TGCCT-3'
GAPDH	5'-CAAGGCTGAGAACGG- GAAG-3'	5'-TGAAGACGCCACTGG- ACTC-3'

1.2.3 蛋白免疫印迹检测 LPP 蛋白的表达水平: 使用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解细胞, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白质经 SDS-PAGE 分离后转移至 PVDF 膜上。使用 5% 脱脂奶粉溶液封闭膜后, 于 4℃ 下与一抗孵育过夜。使用鼠抗人 LPP 抗体 (1:1 000, 220186, Zenbio) 和兔抗人 β -Actin 抗体 (1:10 000, 251485, Zenbio) 作为一抗。次日, 膜与 HRP 标记的二抗在室温下孵育 1 h, 包括羊抗小鼠 IgG (H+L) 抗体 (1:10 000, 550108, Zenbio) 和羊抗兔 IgG (H+L) 抗体 (1:10 000, 550018, Zenbio) 作为二抗。条带通过 ECL 化学发光试剂显影, 图像由 GBOX Chemi-XT4 成像系统捕获。

1.2.4 CCK-8 实验检测细胞增殖能力: CCK-8 实验将各组 HSC3 细胞接种于 96 孔板, 每孔接种 1 000 个细胞。在 0 h、24 h、48 h、72 h 分别向每孔加入 CCK-8 溶液 10 μ l, 继续孵育 1 h。使用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度。

1.2.5 细胞划痕实验检测细胞迁移能力: 将各组 HSC3 细胞在 6 孔板中培养至 90%~100% 融合度后, 用无菌 20 μ l 枪头划痕。去除原培养基后, 用 PBS 洗涤 3 次, 并更换为无血清培养基。分别在 0 h 和 24 h 拍摄划痕图像, 使用 ImageJ (v 1.51) 软件测量划痕面积, 并与 0 h 对比计算细胞迁移率。迁移率 = (0 h 划

痕面积 - 24 h 划痕面积) / 0 h 划痕面积。

1.2.6 Transwell 实验检测细胞侵袭能力: 将 Matrigel 基质按 1:9 比例稀释后铺于 Transwell 上室内, 并于 37℃ 培养箱中静置 1 h 以凝胶化。向上室中加入无血清培养基 200 μ l, 含有 5×10^4 个细胞; 下室加入含 10% FBS 的完全培养基 600 μ l 作为趋化液。细胞在培养箱中孵育 24 h。使用棉签轻轻擦除上室未穿膜细胞, 随后用 4% 多聚甲醛固定并用 0.5% 结晶紫染色。用显微镜随机选取视野拍照, 并使用 ImageJ (v 1.51) 软件对侵袭细胞进行计数。

1.2.7 荧光素酶报告基因实验检测 miR-203a-3p 的下游靶基因: 根据 TargetScanHuman 8.0 (https://www.targetscan.org/vert_80/) 预测, LPP 的 3'-UTR 区域包含 miR-203a-3p 的潜在结合位点。为验证 miR-203a-3p 对 LPP 的特异性靶向作用, 构建荧光素酶报告载体。将 LPP 3'-UTR 的野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 序列分别克隆至荧光素酶报告载体中。使用 Lipofectamine 2000 转染试剂将 LPP-WT 或 LPP-MUT 与 NC-mimics 或 miR-203a-3p mimics 共转染至 HSC3 细胞中。转染 48 h 后, 采用荧光素酶报告基因检测系统测定荧光素酶活性。在荧光素酶报告基因实验中共分为 4 组, 共转染 NC-mimics 和 LPP-WT (NC-mimics + LPP-3'-UTR-WT 组), 共转染 miR-203a-3p mimics 和 LPP-WT (miR-203a-3p mimics + LPP-3'-UTR-WT 组), 共转染 NC-mimics 和 LPP-MUT (NC-mimics + LPP-3'-UTR-MUT 组), 共转染 miR-203a-3p mimics 和 LPP-MUT (miR-203a-3p mimics + LPP-3'-UTR-MUT 组)。

1.3 统计学方法 使用 R (v 4.2.1) 软件进行实验数据分析及绘图。计数资料以频数或构成比 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 通过 Shapiro-Wilk 法进行正态性检验, 通过 Levene 检验分析方差齐性; 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用 F 检验, 进一步两两比较采用 Tukey HSD 检验; 符合正态性但不满足方差齐性的计量资料, 2 组间比较采用 Welch 方差分析, 多组间比较采用 Games-Howell 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-203a-3p 在 TSCC 组织及正常组织中的表达比较 15 例配对组织样本的 qPCR 结果显示, 与 Normal 组比较, TSCC 组中 miR-203a-3p 的表达水平降低 ($t/P = 3.975/0.001$), 见表 2。

2.2 过表达 miR-203a-3p 对 HSC3 细胞增殖与迁移能力的影响 qPCR 结果显示, miR-203a-3p mimics 组

miR-203a-3p 相对表达量高于 NC-mimics 组 ($t/P = 13.943/0.005$); CCK-8 检测结果显示,在 96 h 时与 NC-mimics 组比较,miR-203a-3p mimics 组在 450 nm 波长下吸光度降低,细胞增殖能力降低 ($t/P = 6.656/0.003$); 细胞划痕实验结果表明,与 NC-mimics 组比较,miR-203a-3p mimics 组细胞迁移率降低 ($t/P = 14.606/<0.001$),见表 3、图 1。

表 2 Normal 组与 TSCC 组 miR-203a-3p 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Expression of miR-203a-3p in TSCC and normal tissues

组别	n	miR-203a-3p
Normal 组	15	1.015±0.087
TSCC 组	15	0.701±0.312 ^a

注:与 Normal 组比较,^a $P<0.01$ 。

表 3 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组 miR-203a-3p 相对表达量及增殖、迁移能力比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Expression of miR-203a-3p and proliferation and migration abilities in different HSC3 cell groups

组别	n	miR-203a-3p	吸光度	迁移率
NC-mimics 组	3	0.943±0.055	1.059±0.049	0.452±0.018
miR-203a-3p mimics 组	3	8.502±0.937 ^a	0.773±0.056 ^a	0.149±0.031 ^a

注:与 NC-mimics 组比较,^a $P<0.01$ 。

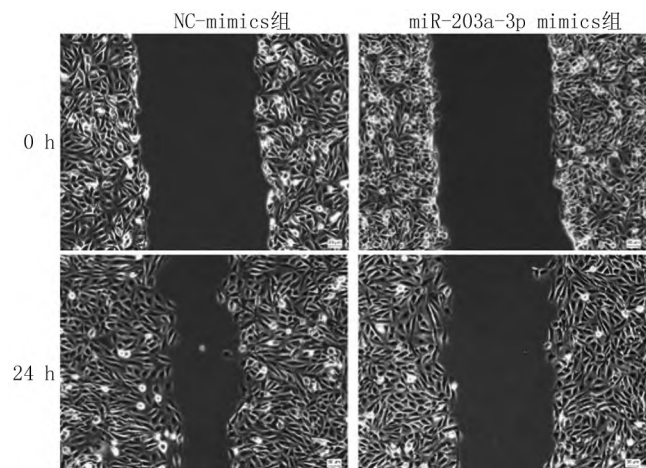


图 1 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组 HSC3 细胞迁移情况 ($\times 100$)

Fig.1 Migration of different HSC3 cell groups ($\times 100$)

2.3 过表达 miR-203a-3p 对 HSC3 细胞侵袭能力的影响 Transwell 侵袭实验显示,miR-203a-3p mimics 组侵袭细胞数低于 NC-mimics 组 ($t/P = 11.056/<0.001$),见表 4、图 2。

表 4 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组侵袭细胞数比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 The number of invasive cells in different HSC3 cell groups

组别	n	侵袭细胞数
NC-mimics 组	3	752.670±63.885
miR-203a-3p mimics 组	3	320.330±22.502 ^a

注:与 NC-mimics 组比较,^a $P<0.001$ 。

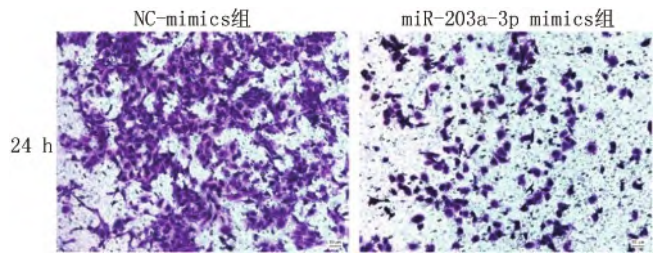


图 2 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组 HSC3 细胞侵袭情况 ($\times 100$)

Fig.2 Invasion status of different HSC3 cell groups ($\times 100$)

2.4 miR-203a-3p 与 LPP 的靶向关系 通过 TargetScanHuman 8.0 数据库 (https://www.targetscan.org/vert_80/) 预测发现,LPP 是 miR-203a-3p 的高置信度靶基因,见图 3。荧光素酶报告基因实验结果显示,与 NC-mimics + LPP-3'-UTR-WT 组比较,miR-203a-3p mimics+LPP-3'-UTR-WT 组相对荧光素酶活性降低 ($q/P = 23.052/<0.001$); NC-mimics+LPP-3'-UTR-MUT 组与 miR-203a-3p mimics+LPP-3'-UTR-MUT 组相对荧光素酶活性比较,差异无统计学意义 ($q/P = 1.418/0.752$),见表 5。表明 miR-203a-3p 过表达降低了含有 LPP 野生型 3'UTR 报告质粒的荧光素酶活性,但对突变型报告质粒的荧光素酶活性无影响,提示 miR-203a-3p 可靶向 LPP 的 3'UTR,LPP 为其下游靶基因。

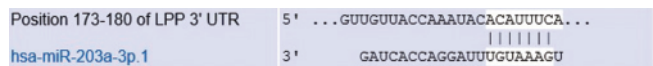


图 3 TargetScanHuman 预测 LPP 为 miR-203a-3p 的靶基因
Fig.3 TargetScanHuman predicted that LPP is a target gene of miR-203a-3p

表 5 不同 HSC3 细胞组相对荧光素酶活性 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.5 Relative luciferase activity of different HSC3 cell groups

组别	n	相对荧光素酶活性
NC-mimics+LPP-3'-UTR-WT 组	3	0.995±0.045
miR-203a-3p mimics+LPP-3'-UTR-WT 组	3	0.394±0.030 ^a
NC-mimics+LPP-3'-UTR-MUT 组	3	0.987±0.060
miR-203a-3p mimics+LPP-3'-UTR-MUT 组	3	1.024±0.041

注:与 NC-mimics+LPP-3'-UTR-WT 组比较,^a $P<0.001$ 。

2.5 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组 LPP mRNA 及蛋白表达比较 qPCR 结果显示,与 NC-mimics 组比较,miR-203a-3p mimics 组中 LPP mRNA 相对表达量降低($t/P = 15.589 / < 0.001$),见表 6。Western blot 结果显示,miR-203a-3p mimics 组 LPP 蛋白表达低于 NC-mimics 组,与 LPP mRNA 水平变化趋势一致,见图 4。

表 6 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组 LPP mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.6 Expression of LPP in different HSC3 cell groups

组别	n	LPP mRNA 表达水平
NC-mimics 组	3	0.991±0.026
miR-203a-3p mimics 组	3	0.420±0.058 ^a

注:与 NC-mimics 组比较,^a $P < 0.001$ 。

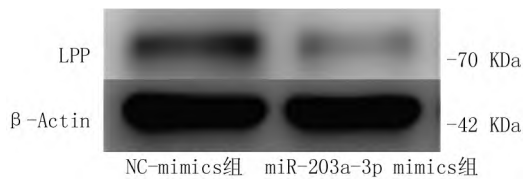
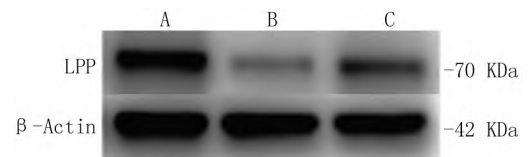


图 4 NC-mimics 组与 miR-203a-3p mimics 组 LPP 蛋白表达比较

Fig.4 Expression of LPP protein in different HSC3 cell groups

2.6 过表达 LPP 可逆转 miR-203a-3p 对 LPP 的抑制作用 鉴于 LPP 已被确认是 miR-203a-3p 的直接靶基因,且其表达受到 miR-203a-3p 的负向调控,为进一步探讨 miR-203a-3p 对 HSC3 细胞生物学行为的抑制作用是否部分通过调控 LPP 表达实现,设计了 LPP 的挽救实验,在过表达 miR-203a-3p 的基础上进一步过表达 LPP。qPCR 结果显示,miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组 LPP mRNA 相对表达量低于 NC-mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 17.885 / < 0.001$); miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组 LPP mRNA 相对表达量高于 miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 7.916 / 0.003$),见表 7。Western blot 结果显示,miR-203a-3p

mimics + pcDNA3.1 组 LPP 蛋白表达水平低于 NC-mimics + pcDNA3.1 组,miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组 LPP 蛋白表达水平高于 miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组,见图 5。



注: A. NC-mimics + pcDNA3.1 组; B. miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组; C. miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组。

图 5 不同 HSC3 细胞组中 LPP 蛋白表达比较

Fig.5 Expression of LPP protein in different HSC3 cell groups

2.7 过表达 LPP 对 HSC3 细胞增殖能力的影响

CCK-8 检测结果显示,miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组在 96 h 时 450 nm 波长下吸光度低于 NC-mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 10.840 / < 0.001$); miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组在 96 h 时 450 nm 波长下吸光度高于 miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 4.280 / 0.049$),见表 7。

2.8 过表达 LPP 对 HSC3 细胞迁移能力的影响

细胞划痕实验表明,miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组细胞迁移率低于 NC-mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 19.759 / < 0.001$); miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组细胞迁移率高于 miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 7.475 / 0.005$),见表 7、图 6。

2.9 过表达 LPP 对 HSC3 细胞侵袭能力的影响

Transwell 侵袭实验显示,miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组侵袭细胞数低于 NC-mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 36.842 / < 0.001$); miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组的侵袭细胞数多于 miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组($q/P = 17.221 / < 0.001$),见表 7、图 7。

3 讨论

TSCC 是最常见的口腔癌类型,因舌的频繁机械运动及丰富的血液和淋巴循环,较口腔其他部位表现

表 7 不同 HSC3 细胞组中 LPP mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.7 Expression of LPP mRNA in different HSC3 cell groups

组别	n	LPP mRNA 表达水平	吸光度	迁移率	侵袭细胞数
NC-mimics + pcDNA3.1 组	3	1.004±0.046	1.150±0.070	0.522±0.023	675.670±13.204
miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组	3	0.420±0.058 ^a	0.793±0.049 ^a	0.191±0.013 ^a	266.330±15.567 ^a
miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1-LPP 组	3	0.679±0.065 ^b	0.934±0.050 ^b	0.316±0.043 ^b	457.67±26.350 ^b

注:与 NC-mimics + pcDNA3.1 组比较,^a $P < 0.001$;与 miR-203a-3p mimics + pcDNA3.1 组比较,^b $P < 0.05$ 。

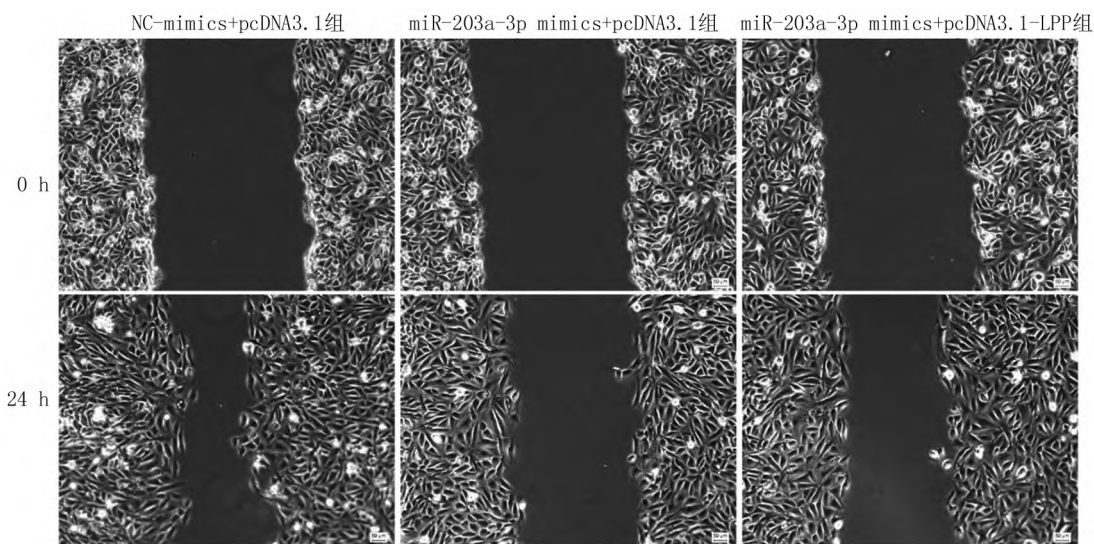


图 6 不同 HSC3 细胞组的细胞迁移情况(×100)
Fig.6 Migration of different HSC3 cell groups(×100)

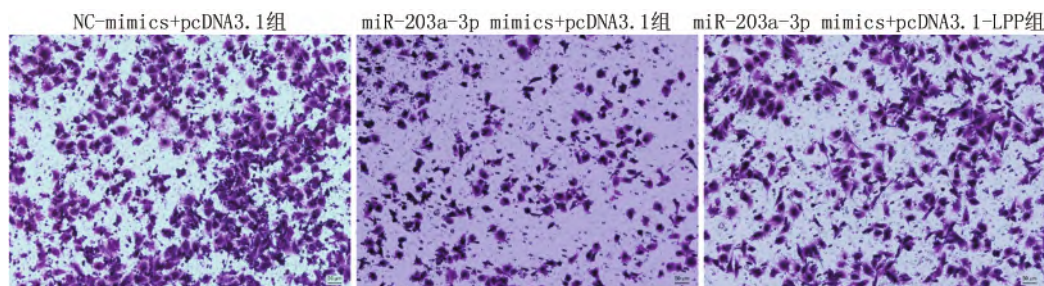


图 7 不同 HSC3 细胞组的细胞侵袭情况(×100)
Fig.7 Invasion status of different HSC3 cell groups(×100)

出更高的生物侵袭性和较差的临床预后^[11]。研究显示,唾液中的 DNA 片段、免疫基因转录本或 miRNA 具有早期诊断的潜力,能够在一定程度上弥补传统分期系统的不足^[12]。在此背景下,miRNA 以其细胞外稳定性和适用于液体活检的特点,成为获取更可靠诊断技术与治疗靶点的研究热点^[13]。

miR-203a-3p 是 miR-203 家族的重要成员。本研究发现,其在 TSCC 组织中表达下调,并在抑制 TSCC 细胞进展中发挥关键作用,与 miR-203a-3p 在多种肿瘤中的研究结果一致,提示其在多种实体瘤中具有抑癌效应,但其下游作用因子具有肿瘤类型特异性。直肠癌中 miR-203a-3p 表达下调,通过抑制 TLR4 阻断下游信号,从而抑制细胞增殖及免疫逃逸;胃癌中 miR-203a-3p 通过靶向 IGF-1R 发挥抑癌作用;食管癌中 miR-203a-3p 通过调控 DRP1 表达抑制细胞增殖和转移^[14-16]。为继续阐明 miR-203a-3p 调控 TSCC 的具体机制,本研究发现其关键下游通路由 LPP 介导。LPP 为含 LIM 结构域、可在黏着斑与细胞核间穿梭的蛋

白,参与应力纤维组装与黏着斑动力学,并与 α -actinin 等骨架元件形成复合体^[17]。已有研究表明,LPP 兼具核穿梭与黏附定位能力,能促进侵袭性伪足形成,是肿瘤迁移、侵袭与转移的重要驱动因子^[18]。在浸润性子宫内膜癌中 LPP 上调且 ETV5 依赖其响应 EGF 刺激,重构细胞间及细胞-基质接触以增强侵袭,在乳腺癌中 LPP 介导 TGF- β 诱导的 ERBB2 阳性细胞迁移与侵袭,EMT 后的迁移和侵袭增强亦依赖 LPP^[19-20]。

根据上述结果可推测,在 miR-203a-3p 持续下调时对 LPP 的抑制减弱,LPP 过度活化或可造成黏着斑成熟与周转加快,整合素/FAK/Src 与 Rho GTPases 信号被放大,在划痕与侵袭实验中表现为功能增强。此外,LPP 的核内定位还提示其与应激反应性转录程序及 YAP/TAZ 等力学信号耦合。当 LPP 活性占优时,对细胞周期推进与蛋白合成的上游驱动同步增强,从而提升增殖与细胞活力。因此,本研究提出的 miR-203a-3p/LPP 轴符合 TSCC 高迁移和高转移的临床表型特点。未来在干预策略上,上游可考虑 miR-203a-3p

模拟物,以“单因子、多通路”的方式同步压低迁移、侵袭与增殖相关环路。在蛋白层面,LPP与 α -actinin的蛋白-蛋白相互作用界面可为小分子或肽类阻断提供结构入口。诊疗转化方面,若miR-203a-3p可在体液中稳定检测,可评估其在唾液或血浆中的分层与疗效监测价值,并探索与LPP或相关通路活性指标的组标志物体系。但本研究尚存在一定的局限性:证据主要来源于体外细胞实验,细胞系数量有限且缺乏原位或转移动物模型验证;临床样本量较小且为单中心来源,存在选择偏倚风险;miR-203a-3p/LPP轴的若干关键节点尚缺乏更直接的机制学证据。

4 结论

综上所述,本研究证实miR-203a-3p在TSCC组织中表达下调。体外功能实验显示,过表达miR-203a-3p可有效抑制HSC3细胞的增殖、迁移及侵袭能力。机制研究表明,miR-203a-3p可通过直接靶向LPP的3'UTR区域,负向调控LPP的表达水平。挽救实验进一步证实,外源性过表达LPP能够部分逆转miR-203a-3p对HSC3细胞恶性表型的抑制作用,提示miR-203a-3p/LPP轴在TSCC进展中发挥关键调控作用。因此,miR-203a-3p不仅具备作为TSCC诊断标志物的潜力,其模拟物或针对LPP的干预策略同样有望成为新的治疗方向。后续研究需在更大样本及体内模型中进一步验证miR-203a-3p/LPP轴的临床转化价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张雅琳:数据获取、统计分析、论文撰写;崔子峰:实施研究过程、论文撰写;彭士雄:课题设计、论文修改;王锦航:课题设计、实施研究过程、论文修改

参考文献

[1] Wang S, Li K, Zhao T, et al. Oral tongue squamous cell carcinoma diagnosis from tissue metabolic profiling [J]. *Oral Dis*, 2024, 30(4): 2158-2165. DOI: 10.1111/odi.14696.

[2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.

[3] Liang L, Li Y, Ying B, et al. Mutation-associated transcripts reconstruct the prognostic features of oral tongue squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oral Sci*, 2023, 15(1): 1. DOI: 10.1038/s41368-022-00210-3.

[4] 王苏彬, 吴峥, 韩亚骞, 等. cNO舌鳞癌隐性淋巴结转移研究进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2025, 52(4): 198-201. DOI: 10.12354/j.issn.1000-8179.2025.20241129.

[5] Naeli P, Winter T, Hackett AP, et al. The intricate balance between microRNA-induced mRNA decay and translational repression [J]. *FEBS J*, 2023, 290(10): 2508-2524. DOI: 10.1111/febs.16422.

[6] Kim T, Croce CM. MicroRNA: Trends in clinical trials of cancer di-

agnosis and therapy strategies [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(7): 1314-1321. DOI: 10.1038/s12276-023-01050-9.

[7] 吴超颖, 杨波, 顾硕, 等. miRNA与头颈部肿瘤关系的研究进展 [J]. *锦州医科大学学报*, 2025, 46(2): 110-113. DOI: 10.3969/j.issn.2096-305X.2025.02.019.

[8] Sun Y, Li Y, Zhou W, et al. MicroRNA expression as a prognostic biomarker of tongue squamous cell carcinoma (TSCC): A systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Oral Health*, 2024, 24(1): 406. DOI: 10.1186/s12903-024-04182-0.

[9] Entezari M, Soltani BM, Sadeghizadeh M. MicroRNA-203a inhibits breast cancer progression through the PI3K/Akt and Wnt pathways [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 4715. DOI: 10.1038/s41598-024-52940-5.

[10] 唐凤英, 董汾, 曾玉婷, 等. miR-203a-3p通过ALOX15途径抑制胃癌细胞铁死亡 [J]. *中南医学科学杂志*, 2022, 50(6): 796-800. DOI: 10.15972/j.cnki.43-1509/r.2022.06.004.

[11] Ogawa M, Yokoo S, Yamaguchi T, et al. Treatment strategy for cervical lymph node metastases from early-stage tongue and floor of the mouth squamous cell carcinoma using tumour budding and depth of invasion as predictors [J]. *Clin Oral Investig*, 2024, 28(11): 580. DOI: 10.1007/s00784-024-05974-y.

[12] Starska-Kowarska K. Salivaomic biomarkers-an innovative approach to the diagnosis, treatment, and prognosis of oral cancer [J]. *Biology (Basel)*, 2025, 14(7): 852. DOI: 10.3390/biology14070852.

[13] 李少平, 王迪, 杨若巍, 等. 液体活检在肿瘤诊疗全程管理中的现状及展望 [J]. *中国临床研究*, 2024, 37(6): 959-964. DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2024.06.030.

[14] Jin Y, Tao H, Liu Y, et al. LINC00704 boosts the immunologic escape of colorectal cancer cells by upregulating TLR4 by binding with miR-203a-3p [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1): 263. DOI: 10.1186/s40001-025-02514-6.

[15] Wang Z, Zhao Z, Yang Y, et al. Author correction: MiR-99b-5p and miR-203a-3p function as tumor suppressors by targeting IGF-1R in gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 906. DOI: 10.1038/s41598-023-27961-1.

[16] Jiang Z, Yang Y, Zhou J, et al. Targeting Drp1 inhibits ESCC progression via the ROS-PCG1- α -Nrf1/2 pathway [J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1): 674. DOI: 10.1186/s12967-025-06697-8.

[17] Sporkova A, Nahar T, Cao M, et al. Characterisation of lipoma-preferred partner as a novel mechanotransducer in vascular smooth muscle cells [J]. *Cells*, 2023, 12(18): 2315. DOI: 10.3390/cells12182315.

[18] Ngan E, Kiepas A, Brown CM, et al. Emerging roles for LPP in metastatic cancer progression [J]. *J Cell Commun Signal*, 2018, 12(1): 143-156. DOI: 10.1007/s12079-017-0415-5.

[19] Campo L, Zhang C, Breuer EK. EMT-Inducing molecular factors in gynecological cancers [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 420891. DOI: 10.1155/2015/420891.

[20] Kiepas A, Voorand E, Senecal J, et al. The SHCA adapter protein cooperates with lipoma-preferred partner in the regulation of adhesion dynamics and invadopodia formation [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(31): 10535-10559. DOI: 10.1074/jbc.RA119.011903.

(收稿日期: 2025-07-15)