

◆实验研究◆

石榴皮多酚通过调控miR-4316表达抑制肺癌细胞增殖、迁移及侵袭实验研究

施胜钰¹, 王旭文¹, 赵良伟², 杜燕青¹, 江明³, 刘重斌⁴

1. 浙江中医药大学附属湖州中医院普外科, 浙江 湖州 313000
2. 浙江中医药大学附属湖州中医院泌尿外科, 浙江 湖州 313000
3. 浙江中医药大学附属湖州中医院麻醉科, 浙江 湖州 313000
4. 湖州师范学院, 浙江 湖州 313000

[摘要] 目的: 探讨石榴皮多酚在肺癌中的抗肿瘤作用及可能机制。方法: RT-qPCR 检测肺癌组织中 miR-4316 表达水平。将肺癌细胞 A549 分为石榴皮多酚-低组、石榴皮多酚-中组、石榴皮多酚-高组、对照组、miR-NC 组、miR-4316 组、石榴皮多酚+anti-miR-NC 组、石榴皮多酚+anti-miR-4316 组。细胞迁移、增殖及侵袭分别采用划痕愈合实验、平板克隆实验和 CCK-8 法、Transwell 实验检测。结果: 肺癌组织中 miR-4316 表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。石榴皮多酚(低、中、高)组 A549 细胞抑制率、miR-4316 水平较对照组高, 克隆形成数、划痕愈合率、侵袭数较对照组低 ($P < 0.05$)。与 miR-NC 组比较, miR-4316 组较 miR-NC 组 A549 细胞抑制率更高 ($P < 0.05$), 克隆形成数、划痕愈合率及侵袭数 miR-4316 组较 miR-NC 组低 ($P < 0.05$)。石榴皮多酚+anti-miR-4316 组较石榴皮多酚+anti-miR-NC 组 A549 细胞抑制率更低 ($P < 0.05$), 克隆形成数、划痕愈合率及侵袭数石榴皮多酚+anti-miR-4316 组较石榴皮多酚+anti-miR-NC 组高 ($P < 0.05$)。结论: 石榴皮多酚通过上调 miR-4316 表达来抑制肺癌细胞增殖、迁移及侵袭。

[关键词] 肺癌; 石榴皮多酚; miR-4316; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2023) 19-0001-07

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2023.19.001

Experimental Study on Inhibition of Proliferation, Migration and Invasion of Lung Cancer Cells by the Regulation of miR-4316 Expression by Pomegranate Peel Polyphenols

SHI Shengyu¹, WANG Xuwen¹, ZHAO Liangwei², DU Yanqing¹, JIANG Ming³, LIU Chongbin⁴

1. Department of General Surgery, Huzhou Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Huzhou Zhejiang 313000, China; 2. Department of Urology, Huzhou Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Huzhou Zhejiang 313000, China; 3. Department of Anesthesiology, Huzhou Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Huzhou Zhejiang 313000, China; 4. Huzhou University, Huzhou Zhejiang 313000, China

Abstract: Objective: To investigate the antitumor effect and possible mechanism of pomegranate peel polyphenols in lung cancer. **Methods:** The expression level of miR-4316 in lung cancer tissues was

[收稿日期] 2023-03-21
[修回日期] 2023-07-10
[基金项目] 浙江省湖州市科学技术项目 (2021GY02)
[作者简介] 施胜钰 (1980-), 男, 副主任医师, E-mail: 13587931530@163.com。
[通信作者] 赵良伟 (1990-), 男, 主治医师, E-mail: zhaoliangwei2014@163.com。

detected by RT-qPCR. Lung cancer cells A549 were divided into pomegranate peel polyphenols-low group, pomegranate peel polyphenols-medium group, pomegranate peel polyphenols-high group, control group, miR-NC group, miR-4316 group, pomegranate peel polyphenols+anti-miR-NC group and pomegranate peel polyphenols+anti-miR-4316 group. Cell migration, proliferation and invasion were detected by scratch healing assay, plate cloning assay, CCK-8 assay and Transwell assay, respectively. **Results:** The expression level of miR-4316 in lung cancer tissues was significantly decreased ($P < 0.05$). The inhibition rate of A549 cells and the level of miR-4316 in pomegranate peel polyphenols (-low, -medium and -high) groups were higher than those in control group, and the number of clone formation, scratch healing rate and invasion number were lower than those in control group ($P < 0.05$). Compared with the miR-NC group, the inhibition rate of A549 cells in the miR-4316 group was significantly higher than that in the miR-NC group ($P < 0.05$), and the number of clone formation, scratch healing rate and invasion number in the miR-4316 group were lower than that in the miR-NC group ($P < 0.05$). The inhibition rate of A549 cells in pomegranate peel polyphenols+anti-miR-4316 group was lower than that in pomegranate peel polyphenols+anti-miR-NC group ($P < 0.05$). The number of clone formation, scratch healing rate and invasion number of pomegranate peel polyphenols+anti-miR-4316 group were higher than those of pomegranate peel polyphenols+anti-miR-NC group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Pomegranate peel polyphenols inhibit the proliferation, migration and invasion of lung cancer cells by up-regulating the expression of miR-4316.

Keywords: Lung cancer; Pomegranate peel polyphenols; miR-4316; Proliferation; Migration; Invade and attack

2020 年全球肺癌新发病例超 220 例, 死亡病例达 179 万例, 肺癌是全球癌症致死的首位原因^[1]。尽管肺癌的诊断方法、手术技术和化疗方案不断进步, 但由于肿瘤转移复发率高, 其 5 年生存率仍然较低^[2]。微小 RNA(miRNA)是在转录后调控中发挥作用的小型非编码 RNA, 研究报道 miRNA 异常表达与细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡以及肿瘤转移等生物学过程相关, 是肿瘤治疗的潜在靶点^[3]。胃癌中 miR-4316 表达降低, 上调 miR-4316 通过降低血管内皮生长因子 A(VEGF-A)表达可抑制胃癌迁移和集落形成能力^[4]。膀胱癌中 miR-4316 具有抑癌作用, 长链非编码 RNA(lncRNA)钙调素类蛋白样 3 基因反义 RNA1(CALML3-AS1)通过抑制 miR-4316 表达促进膀胱癌发生^[5]。然而, miR-4316 在肺癌中的作用仍有待阐明。石榴皮多酚广泛存在于石榴的皮、果肉和籽中, 具有抗氧化、抗肿瘤、调节血脂、抗炎等有益作用^[6-7]。研究报道石榴皮多酚具有抵抗前列

腺癌及乳腺癌的作用, 可能与石榴皮多酚对细胞生长具有一定抑制作用有关, 且可以促进细胞凋亡^[8-9]。但石榴皮多酚在肺癌中的抗癌作用未见报道。本研究首先分析了 miR-4316 在肺癌中的表达作用, 并探索石榴皮多酚是否通过调控 miR-4316 表达在肺癌中发挥抗肺癌功能。

1 材料与方法

1.1 组织来源 将浙江中医药大学附属湖州中医院 2018 年 1 月—2019 年 12 月行手术切除的 45 例肺癌患者及癌旁组织纳入研究(男 25 例, 女 20 例; 年龄 48~75 岁, 中位年龄 57 岁), 排除术前进行放射治疗及化学治疗的患者。所有组织保存在液氮中直到使用。样本采集和使用均获得书面知情同意。本研究经浙江中医药大学附属湖州中医院伦理委员会批准(伦理编号: 2021-041-A)。

1.2 细胞及试剂 肺癌 A549 细胞系购自中国科学院上海细胞库; 细胞计数试剂盒(CCK-8)、RPMI-

1640 培养基、RIPA 缓冲液购自北京索莱宝生物公司；miRNA 逆转录试剂盒、miRNA 荧光定量专用预混剂购自南京诺唯赞生物公司；miRNA 模拟物(mimics)、miRNA 抑制物(anti-miRNA)及各自阴性对照(miR-NC、anti-miR-NC)、Trizol 试剂购自上海生工生物公司；Transwell 小室购自美国 BD 公司；脂质体 2000 购自美国 Invitrogen 公司；一抗和酶标二抗购自美国 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 RT-qPCR 检测 miR-4316 表达 用 Trizol 试剂从肺癌组织中提取总 RNA，以总 RNA 为模板通过 miRNA 逆转录试剂盒进行 cDNA 反转录。采用 miRNA 荧光定量专用预混剂进行 RT-qPCR。U6 作为 miR-4316 的内参，用相对定量方法($2^{-\Delta\Delta C_t}$)计算 miR-4316 表达量。miR-4316 上游引物 5'-AAC GAG ACG ACG ACA GAC-3'，下游引物 5'-GGT GAG GCT AGC TGG TG-3'；U6 上游引物 5'-AAC GAG ACG ACG ACA GAC-3'，下游引物 5'-GCA AAT TCG TGA AGC GTT CCA TA-3'。

1.3.2 细胞培养及分组 A549 细胞在含 10%胎牛血清 RPMI-1640 培养基置于含 5% CO₂、95%湿度、37℃温箱孵育，细胞 80%汇合时 1:3 传代。取对数期 A549 细胞按照 2×10^4 个/孔接种 24 孔板，在细胞 50%汇合时用脂质体 2000 将 miR-NC、miR-4316 mimics 分别转染 A549 细胞以上调 miR-4316 表达，分为 miR-NC 组、miR-4316 组。同时，将 anti-miR-NC、anti-miR-4316 分别转染 A549 细胞，收集转染 48 h 细胞备用。参照王春梅等^[9]实验方法制备石榴皮多酚，用含 0 mg/mL、0.5 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL 石榴皮多酚的培养液分别孵育 A549 细胞 72 h，依次记为对照组、石榴皮多酚-低组、石榴皮多酚-中组、石榴皮多酚-高组。用含 2 mg/mL 石榴皮多酚的培养液分别孵育转染 anti-miR-NC、anti-miR-4316 的 A549 细胞 72 h，依次记为石榴皮多酚+ anti-miR-NC 组、石榴皮多酚+ anti-miR-4316 组。

1.3.3 CCK-8 检测 未转染 A549 细胞以及转染 miR-NC、miR-4316 mimics、anti-miR-NC 或 anti-miR-4316 的 A549 细胞接种 96 孔板，贴壁后，按照 1.3.2 分组，首先进行 72 h 的石榴皮多酚的培养液孵育，然后进行 2 h CCK-8(浓度 10%)培养液孵育，吸

光度(A)用分光光度计在 450 nm 下测定。抑制率(%)=(1-实验 A/对照 A)×100%。

1.3.4 平板克隆实验 每组取 5×10^2 个细胞接种 6 孔板，37℃培养 2 周后，用甲醇固定细胞集落，结晶紫染色 20 min，计数大于 50 个细胞的集落数。

1.3.5 划痕愈合实验 将各组细胞接种于 6 孔板，细胞单层采用移液枪头划伤(10 μL)，然后细胞采用磷酸缓冲盐溶液(PBS)进行 2 次清洗，清洗完毕在培养基(无血清)中孵育 48 h。在测量开始及 24 h 后以显微镜对划痕宽度进行拍照测量，划痕愈合率(%)=(初始划痕宽度-24 h 划痕宽度)/初始划痕宽度×100%。

1.3.6 Transwell 实验 侵袭实验：准备好无血清培养基重悬的细胞悬液(2×10^5 个细胞)后进行细胞接种，并将剂量为 200 μL 的血清培养液置入其下室，共同置入培育箱，持续 24 h 后完成培养液丢弃操作后将浓度为 4%多聚甲醛置入并完成固定，染色剂采用结晶紫染色液，染色剂使用剂量为 400 μL，浓度为 0.5%，显微镜仪器对被侵袭的细胞进行观察并记录数量。

1.3.7 Western Blot 检测 MMP-2、MMP-9 蛋白表达 向各组细胞中加入 RIPA 缓冲液，在冰上反应 30 min，蛋白离心和定量后，将上清液按照 30 μg/泳道在 SDS-PAGE 凝胶上分离进行蛋白检测。将蛋白湿转到 PVDF 膜，用 5%脱脂牛奶在 37℃下阻断 1 h，并暴露于 MMP-2 兔多克隆抗体(ab37150)、MMP-9 兔多克隆抗体(ab73734)、GAPDH 兔多克隆抗体(ab9485)中 4℃孵育过夜。用山羊抗兔 IgG 酶标二抗(ab205718)在 37℃下孵育 1 h。洗膜 3 次后进行化学发光显色，相对灰度值的检测采用 Image J 软件。

1.4 统计学方法 以 SPSS25.0 对本研究中所有统计资料进行分析，确定符合正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，t 检验 2 组间数据，单因素方差检验多组间数据，LSD-t 检验组间数据比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-4316 在肺癌组织中的表达 见表 1。肺癌组织中 miR-4316 表达较癌旁组织低($P < 0.05$)。

2.2 miR-4316 过表达对肺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭的影响 见图 1~2、表 2。与 miR-NC 组比较，miR-4316 组 A549 细胞抑制率、miR-4316 表

达水平更高,克隆形成数、划痕愈合率、侵袭数、MMP-2蛋白水平及MMP-9蛋白水平表达更低($P<0.05$)。

2.3 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞增殖的影响 见表3。石榴皮多酚-低、中、高组 A549 细胞抑制率均较对照组高,克隆形成数较对照组低($P<0.05$),且具有剂量依赖性。

表1 miR-4316 在肺癌组织中的表达($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-4316
癌旁组织	45	1.00 ± 0.07
肺癌组织	45	0.39 ± 0.04 ^①
<i>t</i> 值		50.755
<i>P</i>		<0.001

注: ①与癌旁组织比较, $P<0.05$

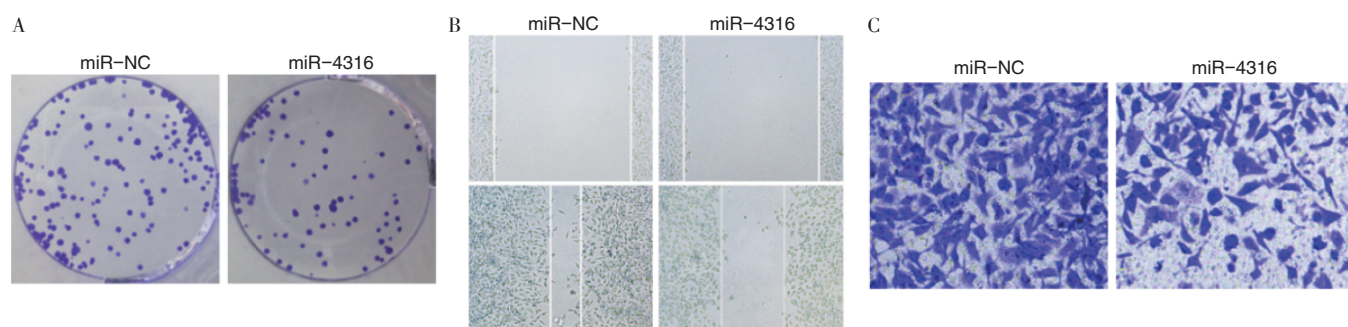
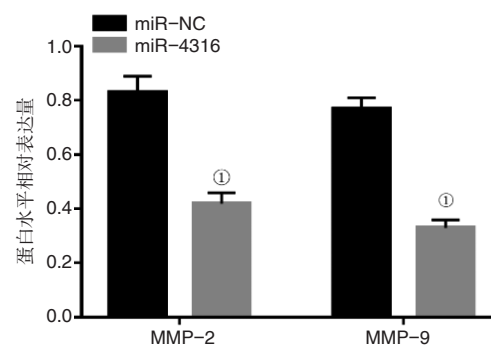
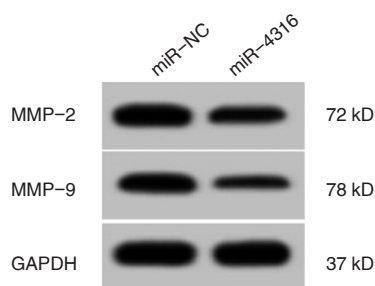


图1 miR-4316 过表达对肺癌 A549 细胞克隆形成数、划痕愈合率及侵袭数的影响($\times 100$)



注: ①与 miR-NC 组比较, $P<0.05$

图2 miR-4316 过表达对肺癌 A549 细胞迁移侵袭相关蛋白表达的影响

表2 miR-4316 过表达对肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-4316	抑制率(%)	细胞克隆形成数(个)	划痕愈合率(%)	侵袭细胞数(个)
miR-NC	9	1.00 ± 0.00	5.92 ± 0.52	106.37 ± 11.57	74.45 ± 6.61	129.36 ± 12.62
miR-4316	9	3.04 ± 0.22 ^①	50.96 ± 4.11 ^①	53.48 ± 5.06 ^①	32.64 ± 3.14 ^①	60.14 ± 6.34 ^①
<i>t</i> 值		27.818	32.616	12.565	17.140	14.704
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: ①与 miR-NC 组比较, $P<0.05$

表3 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	抑制率(%)	细胞克隆形成数(个)
对照组	9	0.00 ± 0.00	108.72 ± 11.57
石榴皮多酚-低组	9	22.45 ± 2.05 ^①	83.21 ± 7.59 ^①
石榴皮多酚-中组	9	43.93 ± 4.30 ^{①②}	64.11 ± 5.67 ^②
石榴皮多酚-高组	9	65.21 ± 5.52 ^{①②③}	46.64 ± 4.31 ^{①②③}
<i>F</i> 值		32.072	105.312
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注: ①与对照组比较, $P<0.05$; ②与石榴皮多酚-低组比较, $P<0.05$; ③与石榴皮多酚-中组比较, $P<0.05$

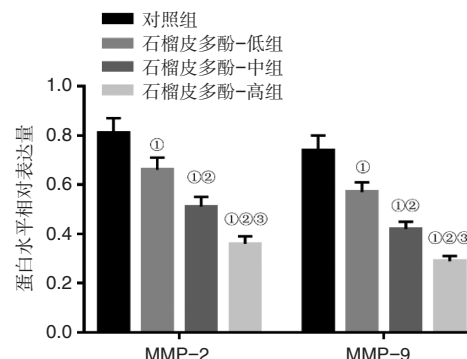
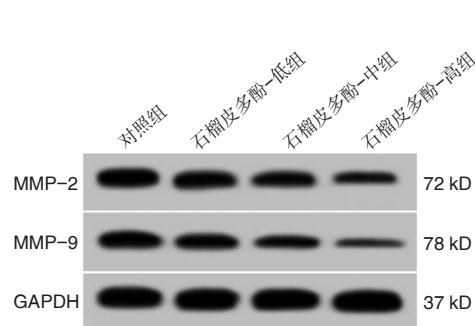
2.4 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞迁移侵袭的影响 见图3、表4。石榴皮多酚-低、中、高组较对照组 A549 细胞划痕愈合率、侵袭数、MMP-2 蛋白水平、MMP-9 蛋白表达水平低($P<0.05$)。

2.5 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞 miR-4316 表达的影响 见表5。石榴皮多酚-低、中、高组 A549 细胞 miR-4316 较对照组高($P<0.05$)。

2.6 下调 miR-4316 表达逆转了石榴皮多酚(2mg/mL)

对肺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭的作用 见图 4、表 6。石榴皮多酚+anti-miR-4316 组 A549 细胞抑制率、miR-4316 表达水平较石榴皮多酚+anti-miR-NC

组低 ($P < 0.05$)，克隆形成数、划痕愈合率、侵袭数、MMP-2 蛋白水平、MMP-9 蛋白表达水平较石榴皮多酚+anti-miR-NC 组高 ($P < 0.05$)。



注：①与对照组比较， $P < 0.05$ ；②与石榴皮多酚-低组比较， $P < 0.05$ ；③与石榴皮多酚-中组比较， $P < 0.05$

图3 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞迁移侵袭相关蛋白表达的影响

表4 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞迁移侵袭的影响 ($\bar{x} \pm s$)

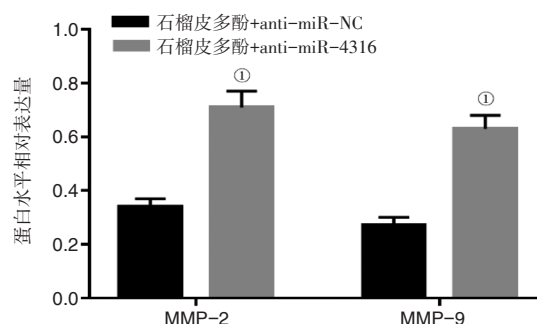
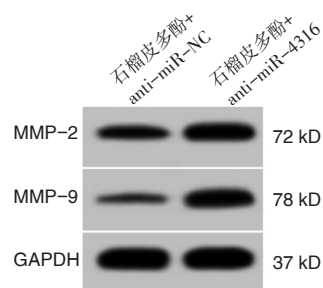
组别	n	划痕愈合率(%)	侵袭细胞数(个)
对照组	9	73.27 ± 6.21	126.54 ± 10.39
石榴皮多酚-低组	9	55.90 ± 4.04 ^①	97.61 ± 7.39 ^①
石榴皮多酚-中组	9	41.92 ± 4.09 ^{①②}	74.37 ± 5.17 ^②
石榴皮多酚-高组	9	26.88 ± 2.51 ^{①②③}	52.37 ± 4.22 ^{①②③}
F 值		180.983	175.720
P		< 0.001	< 0.001

注：①与对照组比较， $P < 0.05$ ；②与石榴皮多酚-低组比较， $P < 0.05$ ；③与石榴皮多酚-中组比较， $P < 0.05$

表5 石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞 miR-4316 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-4316
对照组	9	1.00 ± 0.00
石榴皮多酚-低组	9	1.64 ± 0.12 ^①
石榴皮多酚-中组	9	2.26 ± 0.21 ^{①②}
石榴皮多酚-高组	9	3.18 ± 0.33 ^{①②③}
F 值		185.520
P		< 0.001

注：①与对照组比较， $P < 0.05$ ；②与石榴皮多酚-低组比较， $P < 0.05$ ；③与石榴皮多酚-中组比较， $P < 0.05$



注：①与石榴皮多酚+anti-miR-NC 组比较， $P < 0.05$

图4 下调 miR-4316 表达逆转了石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞迁移及侵袭相关蛋白表达的作用

表6 下调 miR-4316 表达逆转了石榴皮多酚对肺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭的作用 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-4316	抑制率(%)	细胞克隆形成数(个)	划痕愈合率(%)	侵袭细胞数(个)
石榴皮多酚+anti-miR-NC	9	1.00 ± 0.00	66.69 ± 5.43	43.54 ± 4.06	25.21 ± 2.20	50.95 ± 4.13
石榴皮多酚+anti-miR-4316	9	0.45 ± 0.04 ^①	27.31 ± 2.26 ^①	88.86 ± 6.21 ^①	61.33 ± 5.12 ^①	104.61 ± 9.51 ^①
t 值		41.250	20.087	18.325	19.445	15.527
P		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注：①与石榴皮多酚+anti-miR-NC 组比较， $P < 0.05$

3 讨论

研究表明 miR-4316 在乳腺癌组织表达降低, 沉默环状 RNA 肌凝蛋白 9B (circMYO9B) 通过增加 miR-4316 表达能够延缓肿瘤生长, 抑制乳腺癌细胞增殖和转移^[10]。甲状腺癌组织中 miR-4316 水平表达低, 有利于甲状腺癌细胞的增殖、周期进展及侵袭^[11]。在肝癌中 miR-4316 低表达还参与细胞的增殖、上皮间质转化和迁移^[12]。此外, 结直肠癌患者外周血中 miR-4316 表达升高可能是其早期诊断标志物^[13]。本研究检测到肺癌组织中 miR-4316 表达下调, 这暗示 miR-4316 低表达可能参与肺癌进展。功能测定显示, 过表达 miR-4316 可降低肺癌细胞克隆形成能力, 抑制细胞增殖、迁移及侵袭。MMP-2 和 MMP-9 是 IV 型胶原降解酶, 其能破坏基底膜和细胞外基质促进肿瘤细胞侵袭, MMP-2 和 MMP-9 表达上调与肺癌等多种人类癌症的高转移潜能有关^[14-15]。本研究中过表达 miR-4316 显著抑制 MMP-2 和 MMP-9 表达, 这与其抗转移作用吻合, 表明 miR-4316 在肺癌中发挥抑癌功能。

石榴皮多酚具有抗增殖、抗血管生成、抗炎、抗转移等抑癌活性, 研究报道从石榴中提取的多种多酚可诱导乳腺癌细胞毒性, 抑制细胞侵袭和迁移能力^[16]。石榴皮多酚通过调节雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/S6K 信号通路来抑制前列腺癌细胞迁移和集落形成^[17]。石榴皮多酚还通过阻断肝癌细胞周期进展和诱导线粒体凋亡, 抑制细胞生长^[18]。此外, 有报道称低剂量的石榴皮多酚对卵巢癌细胞亦具有较强抗增殖作用^[19]。本研究发现石榴皮多酚以剂量依赖方式降低肺癌细胞克隆形成能力, 抑制细胞增殖、迁移和侵袭, 同时下调 MMP-2 和 MMP-9 表达水平, 这提示石榴皮多酚具有抗肺癌功能。近年研究表明, miRNA 与中药有效成分的抗肿瘤作用密切相关^[20-21]。例如, 氧化苦参通过促进 miR-367-3p 表达来抑制肺癌进展^[22]。黄芩苷通过影响 miR-126 的表达抑制乳腺癌细胞的侵袭及转移^[23]。本研究发现石榴皮多酚处理后肺癌细胞 miR-4316 表达显著增加, 提示 miR-4316 可能是石榴皮多酚防治肺癌的新靶标。进一步分析发现, 下调 miR-4316 表达显著减弱石榴皮多酚处理对肺癌细胞克隆形成、MMP-2 及 MMP-9 表达, 还可以抑制细胞的迁移、增殖及侵袭, 说明抑制肺癌的发展可以通过石榴皮多酚上调 miR-4316

表达来完成。但是否有其他 miRNA 介导石榴皮多酚的抗癌作用仍需要不断探索。

综上所述, 石榴皮多酚通过上调 miR-4316 表达来抑制肺癌细胞恶性生物学行为, 这些发现确定了石榴皮多酚和 miR-4316 之间的新关系, 为石榴皮多酚在肺癌治疗中的应用提供重要依据, 也可能为抗肺癌药物开发提供新思路。

[参考文献]

- [1] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-13.
- [2] BADE B C, DELA-CRUZ C S. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention[J]. Clin Chest Med, 2020, 41(1): 1-24.
- [3] 黎文华, 王鹏, 陆伦根. microRNA-454 在肿瘤中的研究进展[J]. 中国临床研究, 2019, 32(2): 264-266.
- [4] MOUSA H, YUAN M, ZHANG X, et al. MicroRNA-4316 inhibits gastric cancer proliferation and migration via directly targeting VEGF-A[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1): 62-72.
- [5] WANG F, ZU Y, HUANG W, et al. LncRNA CALML3-AS1 promotes tumorigenesis of bladder cancer via regulating ZBTB2 by suppression of microRNA-4316[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 504(1): 171-176.
- [6] 李佳, 李建科. 石榴皮多酚抗肿瘤活性及其机制研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(21): 381-384.
- [7] ZHAO R, LONG X, YANG J, et al. Pomegranate peel polyphenols reduce chronic low-grade inflammatory responses by modulating gut microbiota and decreasing colonic tissue damage in rats fed a high-fat diet[J]. Food Funct, 2019, 10(12): 8273-8285.
- [8] 章迅, 吴艾平, 章永红. 石榴皮多酚对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖及凋亡的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(4): 214-217.
- [9] 王春梅, 马桂芝, 高晓黎, 等. 石榴皮多酚对人前列腺癌 PC-3 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(3): 271-274.
- [10] WANG N, GU Y, LI L, et al. Circular RNA circMYO9B facilitates breast cancer cell proliferation and invasiveness via upregulating FOXP4 expression by sponging miR-4316[J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 653(1): 63-70.
- [11] WU X, YAN Y, LI H, et al. DNA copy number gain-mediated lncRNA LINC01061 upregulation predicts poor prognosis and promotes papillary thyroid cancer progression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(3): 1247-1253.
- [12] E C, YANG J, LI H, et al. LncRNA LOC105372579 promotes proliferation and epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via activating miR-4316/FOXP4 signaling[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11(1): 2871-2879.

- [13] KRAWCZYK P, POWROZEK T, OLESINSKI T, et al. Evaluation of miR-506 and miR-4316 expression in early and non-invasive diagnosis of colorectal cancer[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2017, 32(7): 1057-1060.
- [14] 李景攀, 王永生, 李启源, 等. siRNA 沉默FAM83A 基因表达对非小细胞肺癌细胞增殖, 迁移和侵袭的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(9): 25-28.
- [15] KARMAKAR D, MAITY J, MONDAL P, et al. E2F5 promotes prostate cancer cell migration and invasion through regulation of TFPI2, MMP-2 and MMP-9[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(12): 1767-1780.
- [16] MOGA M A, DIMIENESCU O G, BALAN A, et al. Pharmacological and Therapeutic Properties of Punica granatum Phytochemicals: Possible Roles in Breast Cancer[J]. *Molecules*, 2021, 26(4): 1054-1064.
- [17] CHAVES F M, PAVAN I C B, DA SILVA L G S, et al. Pomegranate Juice and Peel Extracts are Able to Inhibit Proliferation, Migration and Colony Formation of Prostate Cancer Cell Lines and Modulate the Akt/mTOR/S6K Signaling Pathway[J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2020, 75(1): 54-62.
- [18] SONG B B, LI J, LI J K. Pomegranate peel extract polyphenols induced apoptosis in human hepatoma cells by mitochondrial pathway[J]. *Food Chem Toxicol*, 2016, 93(1): 158-166.
- [19] MODAEINAMA S, ABASI M, ABBASI M M, et al. Anti Tumoral Properties of Punica Granatum (Pomegranate) Peel Extract on Different Human Cancer Cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(14): 5697-5701.
- [20] 王兵, 侯伟. 中医药抗肿瘤研究的新靶点—microRNA[J]. *肿瘤防治研究*, 2013, 40(12): 1200-1203.
- [21] 周红光, 李黎, 李沐涵, 等. miRNA 是中医药防治恶性肿瘤的新靶标[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(11): 4531-4534.
- [22] YU Q, LUO J, ZHANG J, et al. Oxymatrine inhibits the development of non-small cell lung cancer through miR-367-3p upregulation and target gene SGK3 downregulation[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(9): 5538-5550.
- [23] 肖玉洁, 王婷, 毛丹, 等. 黄芩苷通过影响 miRNA 的表达抑制乳腺癌细胞的侵袭转移[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(2): 41-44.

(责任编辑: 吴凌, 李海霞)