·论著·

miR-762/ BCL2L13 分子轴在乳头状甲状腺癌组织中的表达及其对 TPC-1 细胞恶性生物学行为的影响*

郭剑辉[1] 李心红[2]

(1.呼和浩特市第一医院甲乳疝外科,内蒙古 呼和浩特 010030;2.内蒙古医科大学附属医院放疗科,内蒙古 呼和浩特 010030)

【摘要】 目的 探讨抑制 miR-762 表达对乳头状甲状腺癌(PTC)细胞 TPC-1 增殖和凋亡的影响及其机制。**方法** 采用qRT-PCR 法检测 83 例 PTC 癌组织及癌旁组织中 miR-762 和 Bcl-2 样蛋白 13(BCL2L13)mRNA 的表达,并对两者表达水平进行相关性分析。采用生物信息学软件和双荧光素酶报告基因实验分析 miR-762 与 BCL2L13 的靶向关系。采用脂质体法将 miR-762 inhibitor 和 BCL2L13 siRNA 干扰质粒(si-BCL2L13)转染至 TPC-1 细胞中,qRT-PCR 检测细胞中 miR-762 和 BCL2L13 mRNA 表达水平;MTT 法和 BrdU 染色检测细胞增殖水平;流式细胞仪检测细胞凋亡水平;Western blot 检测细胞中 BCL2L13、Cleaved- caspase-3 以及线粒体和胞浆中细胞色素 C(Cyt C)等蛋白表达水平。**结果** 与癌旁组织比较,在 PTC 癌组织中 miR-762 表达水平升高,而 BCL2L13 mRNA 表达水平降低,且两者呈负相关性($r=-0.70$,$P<0.01$)。双荧光素酶报告基因实验证实,BCL2L13 是 miR-762 靶基因。抑制 miR-762 表达可明显下调 TPC-1 细胞中 miR-762 表达水平,上调 BCL2L13 mRNA 和蛋白表达,抑制细胞增殖,提高细胞凋亡水平,并上调 Cleaved-caspase-3 蛋白和胞浆中 Cyt C 蛋白表达水平,下调线粒体 Cyt C 蛋白表达。而干扰 *BCL2L13* 基因表达可显著下调 TPC-1 细胞中 BCL2L13 mRNA 和蛋白表达,促进细胞增殖,抑制细胞凋亡,上调线粒体 Cyt C 蛋白表达,下调 Cleaved-caspase-3 蛋白和胞浆中 Cyt C 蛋白表达。此外,干扰 *BCL2L13* 基因表达可显著逆转 miR-762 inhibitor 对 TPC-1 细胞增殖的抑制作用以及凋亡的促进作用。**结论** miR-762 在人 PTC 组织中高表达,抑制 miR-762 表达可诱导 TPC-1 细胞凋亡和抑制细胞增殖,其机制可能与靶向上调 *BCL2L13* 基因表达有关。

【关键词】 乳头状甲状腺癌;miR-762;BCL2L13;增殖;凋亡

【中图分类号】 R736.1 **【文献标志码】** A **DOI**:10.3969/j.issn.1672-3511.2026.01.007

Expression of the miR-762/BCL2L13 axis in papillary thyroid carcinoma and its influence on the malignant biological behavior of TPC-1 cells

GUO Jianhui[1], LI Xinhong[2]

(1. *Department of Breast Hernia Surgery, Hohhot First Hospital, Hohhot* 010030, *China*;
2. *Department of Radiotherapy, Inner Mongolia Medical University Affiliated Hospital, Hohhot* 010030, *China*)

【Abstract】 Objective To explore the effect of inhibiting the expression of miR-762 on the proliferation and apoptosis of papillary thyroid cancer (PTC) cells TPC-1 and its mechanism. **Methods** The qRT-PCR method was used to detect the expression of miR-762 and Bcl-2-like protein 13 (BCL2L13) mRNA in 83 cases of PTC cancer tissues and adjacent tissues, and the correlation between the expression levels of them was analyzed. Bioinformatics prediction software and dual luciferase reporter gene experiment were used to analyze the targeting relationship between miR-762 and BCL2L13. The liposome method was used to transfect miR-762 inhibitor and BCL2L13 siRNA interference plasmid (si-BCL2L13) into TPC-1 cells. qRT-PCR was used to measure the relative transcript levels of miR-762 and BCL2L13, cell proliferation level was detected by MTT and BrdU staining, apoptosis level was detected by flow cytometry, the expression levels of BCL2L13, Cleaved-caspase-3 and cytochrome C (Cyt C) in mitochondria and cytoplasm were detected by

基金项目:内蒙古自治区卫健委卫生健康科技计划项目(202201275)

通信作者:李心红,主任医师,E-mail:cherie_8153@163.com

引用本文:郭剑辉,李心红.miR-762/ BCL2L13 分子轴在乳头状甲状腺癌组织中的表达及其对 TPC-1 细胞恶性生物学行为的影响[J].西部医学,2026,38(1):39-44,52.DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2026.01.007

Western blot. **Results** Compared with the adjacent tissues, the expression level of miR-762 increased in PTC cancer tissues, while the expression level of BCL2L13 mRNA decreased, and there was a negative correlation between the two ($r=-0.70$, $P<0.01$). The double luciferase reporter gene experiment confirmed that BCL2L13 was the target gene of miR-762. Inhibition of miR-762 expression could significantly down-regulate the expression level of miR-762 in TPC-1 cells, up-regulate the expression of BCL2L13 mRNA and protein, inhibit cell proliferation, increase the level of apoptosis, and up-regulate the expression level of Cleaved-caspase-3 protein and cytoplasmic Cyt C protein, decrease the expression level of mitochondrial Cyt C protein. Interference with *BCL2L13* gene expression could notably down-regulate BCL2L13 mRNA and protein expression in TPC-1 cells, promote cell proliferation, inhibit cell apoptosis, up-regulate mitochondrial Cyt C protein expression, and decrease Cleaved-caspase-3 protein and Cyt C protein expression in cytoplasm. In addition, interference with *BCL2L13* gene expression could significantly reverse the inhibitory effect of miR-762 inhibitor on TPC-1 cell proliferation and the promotion of miR-762 inhibitor on apoptosis. **Conclusion** miR-762 is highly expressed in human PTC tissues, and inhibition of miR-762 expression can induce TPC-1 cell apoptosis and inhibit cell proliferation. The mechanism may be related to the targeted up-regulation of *BCL2L13* gene expression.

【Key words】 Papillary thyroid carcinoma; miR-762; BCL2L13; Proliferation; Apoptosis

近年来，全球甲状腺癌的发病率快速上升，其中乳头状甲状腺癌（Papillary thyroid cancer，PTC）约占所有甲状腺恶性肿瘤的 80.0%[1-4]。尽管 PTC 通常生长缓慢，且大多数患者的预后良好，10 年生存率可达 90%，但仍然约有 15%的患者因颈部淋巴结转移或肺、骨等远处器官转移而存在局部侵犯和治疗耐受[5-7]。因此，探索 PTC 发生发展机制，对其精准治疗显得愈发重要。MicroRNA（miRNA）是一类非编码 RNA 分子，在细胞分化、增殖等各个方面均发挥着重要的作用，其与靶基因 3′非编码区特异性结合，在转录后水平调控靶基因的表达[8-10]。研究发现，miR-762 在卵巢癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和胰腺癌等多种肿瘤组织中高表达，通过调控靶基因的表达来参与肿瘤细胞发生、发展[11-14]。但 miR-762 在 PTC 发生、发展中的作用有待研究。本研究通过生物信息学软件预测和双萤光素酶报告系统证实 miR-762 与 Bcl-2 样蛋白 13（BCL2L13）基因之间存在靶向调控关系，并进一步分析抑制 miR-762 表达对乳头状甲状腺癌 TPC-1 细胞增殖、凋亡的影响及机制。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 组织样本 选择 2017 年 1 月—2019 年 1 月在呼和浩特市第一医院接受 PTC 切除手术的 83 例患者，其中女性 65 例，男性 18 例，平均年龄（37.5±4.1）岁。患者均签订知情同意书，切除收集 PTC 癌组织及癌旁组织（距癌巢中心距离<3 cm），随后样本放液氮罐保存。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 细胞、主要试剂及仪器 人乳头状甲状腺癌细胞系 TPC-1 购自上海细胞库。DMEM 培养基、胰蛋白酶、胎牛血清和 TRIzol 购自美国 Gibco 公司；引物序列均由江苏百奥迈科生物技术有限公司合成；BCA 蛋白浓度测定试剂盒、胞质和线粒体蛋白质提取试剂盒、MTT 和 BrdU 细胞增殖检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司；Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自北京四正柏生物科技有限公司；荧光素酶报告系统购自美国 Promega 公司；反转录试剂盒和实时荧光定量聚合酶链反应试剂盒购自日本 Takara 公司；lipofectamine 2000 购自美国 Thermo Fisher 公司；GAPDH 二抗购自英国 Abcam 公司，BCL2L13、细胞色素 C（Cyt C）、Cleaved-caspase-3 抗体购自美国 CST 公司，COX IV 抗体购自美国 Abbkine 公司；miR-762 抑制物（inhibitor）及其阴性对照（inhibitor-NC）和 BCL2L13 干扰质粒载体（si-BCL2L13）及其阴性对照载体（si-NC）由上海吉凯制药技术有限公司设计构建。流式细胞仪购自美国 BD 公司；Chemi DocTM XRS+凝胶成像系统和 qRT-PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.3 细胞培养 TPC-1 细胞用 DMEM 培养基（含 10%胎牛血清）培养，置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱；取对数期生长状况良好的细胞用于后续实验。

1.4 细胞分组及转染 将 TPC-1 细胞以每孔 2×10^5 个细胞接种于 6 孔板，待细胞融合度达约 80%时，将 TPC-1 细胞分为 inhibitor-NC 组（转染 miR-762 inhibitor 阴性对照 mimics NC）、miR-762 inhibitor 组（转染 miR-762 inhibitor）、si-NC 组（转染 si-BCL2L13 阴性对照）、si-BCL2L13 组（转染 si-BCL2L13）和 miR-762 inhibitor+si-BCL2L13 组（转染 miR-762 inhibitor 和 si-BCL2L13），用未转染的 TPC-1 细胞作为空白对照组（blank 组）。依据 Lipofectamine 2000 说明书进行操作。

1.5 qRT-PCR 检测 提取 PTC 组织、细胞中的 RNA，然后逆转录合成 cDNA。配制 SYBR Green 反应体系，放入荧光定量 PCR 仪。分别以 U6 和 GAD-

PH 为内参定量，计算 miR-762 和 BCL2L13 mRNA 的表达。引物序列如下：U6，5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′（上游），5′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3′（下游）；miR-762，5′-ACACGGGGCUGGGGCCGGGGCCGAGCGCCTC-3′（上游），5′-CT CAGGGGCUGGGGCCGGGGCCGAGCCAGA-3′（下游）。GAPDH，5′-CTCTGCTCCTCCTGTTCGAC-3′（上游），5′-GCGCCCAATACGACCAAATC -3′（下游）；BCL2L13，5′-GCCTCTGGTTTTGCTACGAC-3′（上游），5′-GCTGGGCAGGATGT AAATGT-3′（下游）。

1.6 MTT 实验 转染后 TPC-1 细胞接种到 96 孔板（1×10^4 个/孔）分别培养 12、24、48、72 h。向各孔加 20 μL MTT，孵育 4 h，倒掉上清，各孔加 150 μL DMSO，酶联免疫标记分析仪 490 nm 测各孔吸光度值（OD_{490}）。

1.7 BrdU 染色 转染后 TPC-1 细胞接种到 6 孔板（1.5×10^5 个/孔）培养 24 h，用含 0.4% FBS 的培养液饥饿处理 72 h。更换含 10%FBS 培养基继续培养 24 h，加 BrdU（终浓度为 0.03 μg/mL）孵育 40 min，1×PBS 洗 3 次，用多聚甲醛固定 10 min，加入 0.5 mg/mL DAPI 室温避光染色 20 min，按照说明书进行细胞增殖检测。镜下观察并记录各组 BrdU 阳性细胞数目。

1.8 流式细胞仪检测细胞凋亡 转染后 TPC-1 细胞接种到 6 孔板（1.5×10^5 个/孔）培养 24 h，收集各组细胞，加入 100 μL 缓冲液重悬细胞，再依次加入 2 μL PI 和 1 μL Annexin V-FITC，避光染色 20 min，用流式细胞仪检测分析。选择 FL-1 通道为横坐标，FL-2 通道为纵坐标，采用 BD Accuri C6 进行数据分析。

1.9 Western blot 实验 用裂解液充分提取细胞中总蛋白，另外用胞质和线粒体蛋白质提取试剂盒分别提取胞质蛋白和线粒体蛋白，用 BCA 试剂盒定量。各组蛋白用 10% SDS-PAGE 电泳分离后移至 PVDF 膜。将膜置于摇床上用 5%脱脂奶粉封闭 2 h，加一抗 BCL2L13（1∶1 000）、Cleaved-caspase-3（1∶1 000）、GADPH（1∶1 000）、COX IV（1∶500）、Cyt C（1∶500）置于 4 ℃摇床上孵育过夜，二抗（1∶10 000）室温孵育 1 h，化学凝胶成像系统曝光条带。以 COX IV 或 GAPDH 为内参，用 Image J 软件定量分析，并计算各组线粒体及胞浆中 Cyt C 表达以及细胞中 BCL2L13 和 Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量。

1.10 双荧光素酶报告基因实验 Targetscan 7.1 软件预测 miR-762 在 BCL2L13 3′-UTR 上的假定结合位点，并依据预测结果构建含野生型（WT）和突变型（MUT）BCL2L13 3′-UTR 序列的 BCL2L13-WT 和 BCL2L13-MUT 荧光素酶报告质粒。两种质粒分别与 miR-762 mimics 和 mimics-NC 转染 TPC-1 细胞，48 h 后检测相对荧光素酶活性（萤火虫荧光素酶活性/肾荧光素酶活性）。

1.11 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件行统计学分析，所有数据以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间采用单因素方差（多组）、LSD-t 检验进行差异分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTC 组织中 miR-762 和 BCL2L13 mRNA 表达水平 qRT-PCR 结果显示，PTC 癌组织中 miR-762 表达水平明显高于癌旁组织（$t=11.0$，$P<0.01$），见图 1A，而 PTC 癌组织中 BCL2L13 mRNA 表达水平明显低于癌旁组织（$t=13.29$，$P<0.01$），见图 1B。Pearson 分析结果显示，miR-762 和 BCL2L13 mRNA 在 PTC 癌组织中的表达水平呈负相关性（$r=-0.62$，$P<0.01$），见图 1C。

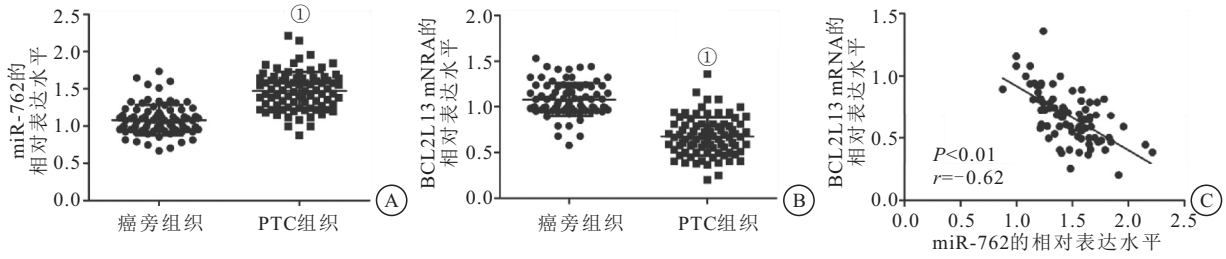

图 1 PTC 癌组织中 miR-762 和 BCL2L13 mRNA 表达水平以及相关性分析

Figure 1 Expression levels and correlation analysis of miR-762 and BCL2L13 mRNA in PTC cancer tissues

注：A. qRT-PCR 检测 PTC 癌组织中 miR-762 表达水平；B. qRT-PCR 检测 PTC 癌组织中 BCL2L13 mRNA 表达水平；C. PTC 癌组织中 miR-762 和 BCL2L13 mRNA 表达水平相关性分析。与癌旁组织比较，①$P<0.01$。

2.2 miR-762 与 BCL2L13 的靶向关系 *BCL2L13* 基因 3′-UTR 区域上存在 miR-762 假定的碱基结合位点（图 2A）。双荧光素酶报告实验证实对于 BCL2L13-WT 质粒，miR-762 mimics 可以明显降低其相对荧光素酶活性（$t=5.03$，$P<0.01$），见图 2B；而对于 BCL2L13-MUT 质粒的相对荧光素酶活性无显著影

响（$P>0.05$）。qRT-PCR 结果显示，inhibitor 组 TPC-1 细胞中 miR-762 表达水平较 blank 组或 inhibitor-NC 组明显降低（$P<0.01$），见图 2C，而 BCL2L13 mRNA 表达水平明显升高（$P<0.01$），见图 2D。表明 miR-762 可以靶向负调控 BCL2L13。

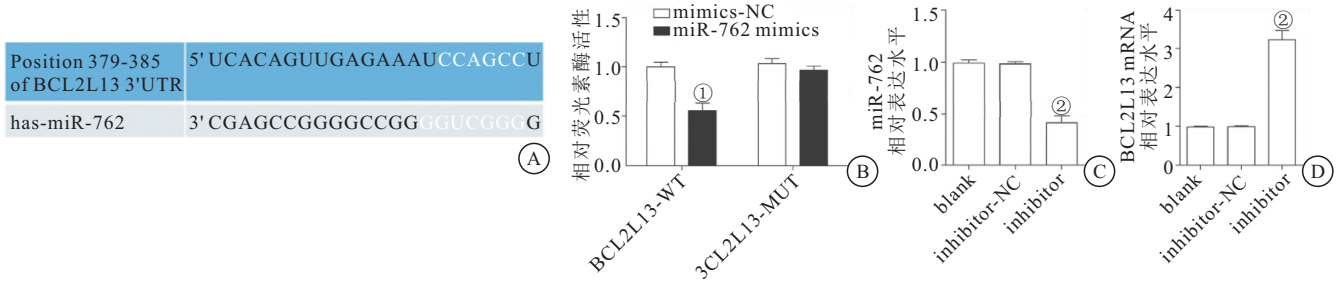

图 2　miR-762 和 BCL2L13 靶向关系

Figure 2　The targeting relationship between miR-762 and BCL2L13

注：A. miR-762 和 BCL2L13 的结合位点；B. 相对荧光素酶活性；与 mimics-NC 组比较：①$P<0.01$；C. qRT-PCR 检测细胞中 miR-762 表达水平；D. qRT-PCR 检测细胞中 BCL2L13 mRNA 表达水平；与 blank 组或 inhibitor-NC 组比较：②$P<0.05$。

2.3　抑制 miR-762 表达对 TPC-1 细胞中 BCL2L13 蛋白表达的影响　Western blot 实验结果显示，inhibitor 组 TPC-1 细胞中 BCL2L13 蛋白表达水平较 blank 组或 inhibitor-NC 组明显升高（$P<0.01$）；si-BCL2L13 组 TPC-1 细胞中 BCL2L13 蛋白表达水平较 blank 组或 si-NC 组明显降低（$P<0.05$）。inhibitor+si-BCL2L13 组 BCL2L13 蛋白表达水平较 inhibitor 组明显降低（$P<0.01$）。见图 3。

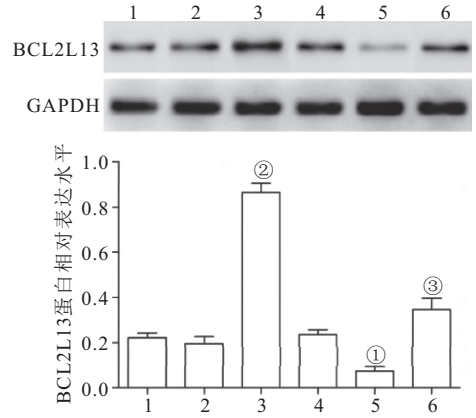

图 3　各组 TPC-1 细胞中 BCL2L13 蛋白表达水平

Figure 3　The expression level of BCL2L13 protein in TPC-1 cells of each group

注：1. balnk 组；2. inhibitor-NC 组；3. inhibitor 组；4. si-NC 组；5. si-BCL2L13 组；6. inhibitor+ si-BCL2L13；与 blank 组比较，①$P<0.05$，②$P<0.01$；与 inhibitor 组比较，③$P<0.01$。

2.4　抑制 miR-762 表达靶向上调 BCL2L13 对 TPC-1 细胞增殖的影响　细胞培养 24 h 后，MTT 检测细胞增殖活性，inhibitor 组 TPC-1 细胞增殖活性较 blank 组或 inhibitor-NC 组明显降低（$P<0.01$）；si-BCL2L13 组细胞增殖活性较 blank 组或 si-NC 组明显升高（$P<0.01$）；inhibitor+ si-BCL2L13 组细胞增殖活性较 inhibitor 组明显升高（$P<0.01$）。见图 4。相似的 BrdU 染色结果显示，inhibitor 组 TPC-1 细胞 BrdU 阳性细胞数较 blank 组或 inhibitor-NC 组明显降低（$P<0.01$）；si-BCL2L13 组 TPC-1 细胞 BrdU 阳性细胞数比 blank 组或 si-NC 组明显增加（$P<0.01$）；inhibitor+si-BCL2L13 组 BrdU 阳性细胞数比 inhibitor 组明显增加（$P<0.01$）。见图 5。

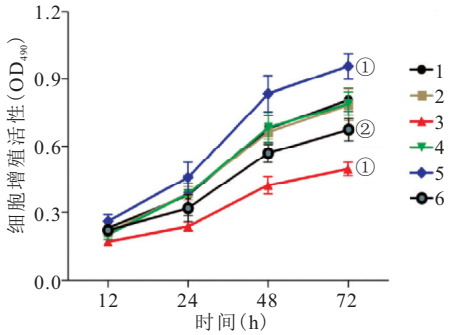

图 4　MTT 检测各组细胞增殖活性

Figure 4　The proliferation activity of cells in each group detected by MTT

注：1. balnk 组；2. inhibitor-NC 组；3. inhibitor 组；4. si-NC 组；5. si-BCL2L13 组；6. inhibitor+ si-BCL2L13；与 blank 组比较，①$P<0.05$；与 inhibitor 组比较，②$P<0.05$。

2.5　抑制 miR-762 表达靶向上调 BCL2L13 对 TPC-1 细胞凋亡的影响　流式结果显示，inhibitor 组 TPC-1 细胞凋亡率较 blank 组或 inhibitor-NC 组明显升高（$P<0.01$）；而 si-BCL2L13 组 TPC-1 细胞凋亡率较 blank 组或 si-NC 组明显降低（$P<0.01$）；inhibitor+ si-BCL2L13 组 TPC-1 细胞凋亡率较 inhibitor 组又明显降低（$P<0.01$）。见图 6。用 Western blot 进一步验证，结果显示，inhibitor 组 TPC-1 细胞线粒体 Cyt C 蛋白表达较 blank 组或 inhibitor-NC 组明显降低（$P<0.01$），而 inhibitor 组胞浆 Cyt C 蛋白和全蛋白

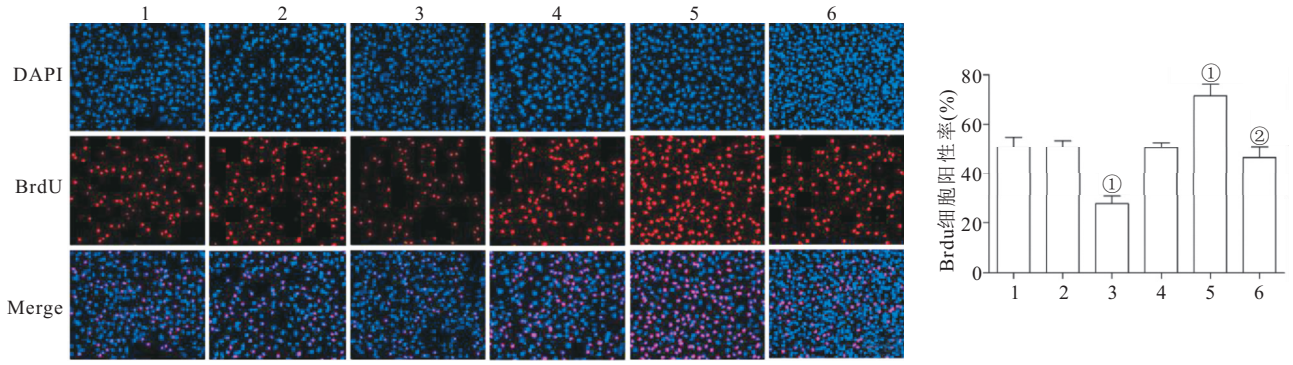

图 5 Brdu 检测各组细胞增殖情况（标尺＝200 μm，100×）

Figure 5 Proliferation of cells in each group detected by Brdu

注：1. balnk 组；2. inhibitor-NC 组；3. inhibitor 组；4. si-NC 组；5. si-BCL2L13 组；6. inhibitor+ si-BCL2L13；与 blank 组比较，①$P<0.05$；与 inhibitor 组比较，②$P<0.05$。

Cleaved-caspase-3 表达明显升高（$P<0.01$）；si-BCL2L13 组 TPC-1 细胞中线粒体 Cyt C 蛋白表达较 blank 组或 si-NC 组明显升高（$P<0.01$），而 si-BCL2L13 组胞浆 Cyt C 蛋白及全蛋白 Cleaved-caspase-3 表达明显降低（$P<0.01$）。inhibitor＋si-BCL2L13 组中 TPC-1 细胞线粒体 Cyt C 表达较 inhibitor 组明显升高（$P<0.01$），而 inhibitor＋si-BCL2L13 组胞浆 Cyt C 蛋白及全蛋白 Cleaved-caspase-3 表达明显降低（$P<0.01$）。见图 7。

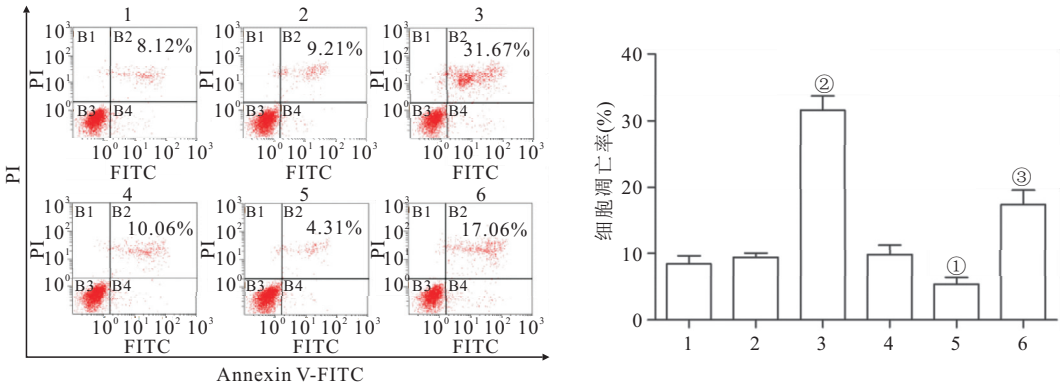

图 6 流式细胞术检测各组细胞凋亡率

Figure 6 The apoptosis rate of each group was detected by flow cytometry

注：1. balnk 组；2. inhibitor-NC 组；3. inhibitor 组；4. si-NC 组；5. si-BCL2L13 组；6. inhibitor+ si-BCL2L13；与 blank 组比较，①$P<0.05$，②$P<0.01$；与 inhibitor 组比较，③$P<0.01$。

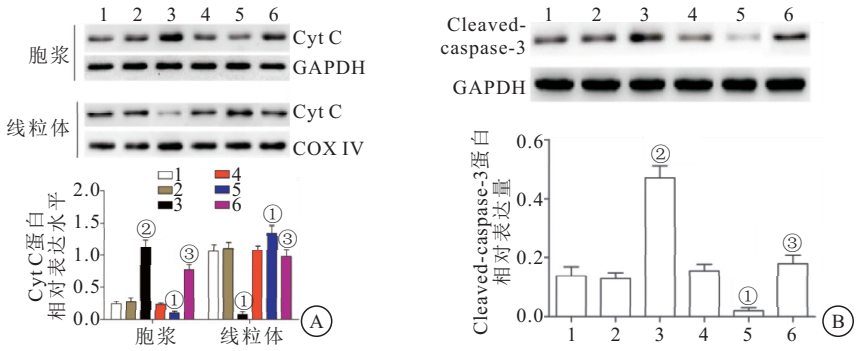

图 7 Western blot 检测各组细胞中 Cyt C 和 Cleaved-caspase-3 蛋白表达水平

Figure 7 Expression levels of Cyt C and Cleaved caspase-3 protein in each group were detected by Western blot

注：A. 胞浆和线粒体中 Cyt C 蛋白表达水平；B. 细胞中 Cleaved-caspase-3 蛋白表达水平；1. balnk 组；2. inhibitor-NC 组；3. inhibitor 组；4. si-NC 组；5. si-BCL2L13 组；6. inhibitor+ si-BCL2L13；与 blank 组比较，①$P<0.05$，②$P<0.01$；与 inhibitor 组比较，③$P<0.01$。

3 讨论

B 细胞淋巴瘤 2（BCL2）蛋白家族在细胞凋亡中起着核心调节作用，并在人类细胞中普遍表达[15-16]。BCL2L13 由人类 22 号染色体上的 *BCL2L13* 基因编码，通过与 BH（BCL2 homology）结构域的序列同源性筛选而被发现是 BCL2 家族的成员。BCL2L13 与仅具有 BH3 域的某些其他 BCL2 样蛋白不同，其包含四个 BH 结构域和一个包含两对串联重复序列的 BHNo 区域，BHNo 区域后是跨膜（Transmembrane，TM）基序，其将 BCL2L13 固定在线粒体外膜中，而 BHNo 区域就嵌在 BH1-4 结构域和 TM 基序之间[17-18]。在哺乳动物细胞中，定位于线粒体的 BCL2L13 过表达诱导细胞线粒体依赖性凋亡[19]。例如，BCL2L13 的过表达诱导 HEK293T 或 Hela 细胞凋亡，而凋亡蛋白抑制剂可有效阻止这种细胞凋亡[18]。在 PC3 细胞中进一步研究发现 BCL2L13 与腺嘌呤核苷酸转运子相互作用，通过线粒体通透性转换孔的构象转化，使线粒体中细胞色素 C 进入细胞质中[18]。此外有研究发现，在胶质母细胞瘤细胞中，BCL2L13 的 BHNo 区域与神经酰胺合酶 2（CERS2）和 6（CERS6）结合，限制 CERS2/6 同型/杂二聚体的形成，从而抑制 BAX 的寡聚化，表现为一种抗凋亡蛋白[20]。因此，在不同条件下，BCL2L13 可能发挥促凋亡或抗凋亡作用。

研究发现，miR-762 在卵巢癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和胰腺癌等多种肿瘤组织中高表达，通过调控靶基因表达参与肿瘤细胞发生、发展[11-14]。例如，研究发现乳腺癌组织和细胞株高表达 miR-762，靶向调低 IRF7 基因表达促进肿瘤增殖与侵袭[12]。另有研究发现卵巢癌组织高表达 miR-762，可靶向下调抑癌基因 menin[13]。然而 miR-762 在 PTC 发生、发展中的作用还有待于研究。本研究前期分析 83 例临床样本组织中 miR-762 和 BCL2L13 mRNA 的表达情况。结果表明，PTC 组织较癌旁组织中 miR-762 的表达明显升高，而 BCL2L13 mRNA 明显表达降低，并且两者的表达呈负相关性。此外，通过生物信息学软件和双荧光素酶报告实验预测并证实 miR-762 与 BCL2L13 存在靶向关系。随后 qRT-PCR 和 Western blot 实验进一步验证抑制 TPC-1 细胞的 miR-762 表达时，BCL2L13 的表达明显上升。

本研究发现抑制 miR-762 表达，TPC-1 细胞增殖水平明显降低，细胞凋亡率明显升高，而沉默 *BCL2L13* 基因表达，TPC-1 细胞增殖水平明显升高，细胞凋亡率明显降低，进一步发现沉默 *BCL2L13* 基因表达可以明显逆转 miR-762 inhibitor 对 TPC-1 细胞增殖的抑制作用以及凋亡的促进作用。结果提示 BCL2L13 在 TPC-1 细胞中表现出促凋亡作用，抑制 miR-762 可通过上调 BCL2L13 的表达从而促进 TPC-1 细胞凋亡。

为进一步研究抑制 miR-762 上调 BCL2L13 的表达从而促进 TPC-1 细胞凋亡机制。本研究通过 Western blot 检测细胞线粒体及胞浆中 Cyt C 蛋白以及全蛋白 Cleaved-caspase-3 的表达水平。结果发现抑制 miR-762 表达，TPC-1 细胞线粒体 Cyt C 蛋白表达明显降低，而胞浆 Cyt C 蛋白和全蛋白 Cleaved-caspase-3 表达明显升高；而沉默 *BCL2L13* 基因表达，线粒体 Cyt C 表达明显升高，胞浆 Cyt C 和 C-caspase-3 表达明显降低。此外，沉默 *BCL2L13* 基因表达可以明显逆转 miR-762 inhibitor 导致的 TPC-1 细胞线粒体 Cyt C 蛋白表达下调以及胞浆 Cyt C 蛋白和全蛋白 Cleaved-caspase-3 表达上调。结果提示，抑制 TPC-1 细胞 miR-762 表达，可以上调 BCL2L13 表达，可能通过线粒体途径导致细胞凋亡。

4 结论

在 PTC 癌组织中 miR-762 高表达，而 *BCL2L13* 基因低表达。抑制 miR-762 表达可诱导 TPC-1 细胞凋亡和抑制细胞增殖，其机制可能与靶向上调 *BCL2L13* 基因表达有关。本研究从体外水平研究了 miR-762 对 BCL2L13 的靶向关系及其对 TPC-1 细胞增殖、凋亡的作用，今后可考虑构建动物模型，探讨 miR-762 和 BCL2L13 在模型体内的调控作用及机制。

【参考文献】

[1] MAROTTA V, SCAFURI L, MANSO J. Editorial: papillary thyroid cancer: prognostic factors and risk assessment[J]. Front Endocrinol, 2025, 16: 1578271.

[2] ABDULLAH M I, JUNIT S M, NG K L, *et al*. Papillary thyroid cancer: genetic alterations and molecular biomarker investigations[J]. Int J Med Sci, 2019, 16(3): 450-460.

[3] DOU Y, HU D X, CHEN Y J, *et al*. PTC located in the upper pole is more prone to lateral lymph node metastasis and skip metastasis[J]. World J Surg Oncol, 2020, 18(1): 188.

[4] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[5] 周静，何志伟，简善军，等. nm23-H1 和 HBME-1 在乳头状甲状腺癌中的表达及其临床意义[J]. 解放军医药杂志，2020，32(12)：5-9.

[6] NIE X L, TAN Z, GE M H. Skip metastasis in papillary thyroid carcinoma is difficult to predict in clinical practice[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 702.

（下转第 52 页）

Herbal Component of Topical Products for Skin Care and Treatment-A Review[J]. Molecules, 2022, 27(11): 3536-3536.
[11] 刘延泽, 王彩芳, 张振中, 等. 柳兰化学成分研究 I. 柳兰中的黄酮类化合物[J]. 中草药, 2002(4): 3-5.
[12] HONEGR J, POSPÍŠILOVÁ M. Determination of phenolic acids in plant extracts using CZE with on - line transient isotachophoretic preconcentration[J]. Journal of Separation Science, 2013, 36(4): 729-735.
[13] 刘延泽, 王彩芳, 韩全斌, 等. 柳兰化学成分研究Ⅱ. 鞣质及多元酚类化合物[J]. 中草药, 2003(11): 10-12.
[14] KISS A, KOWALSKI J, MELZIG M F. Induction of neutral endopeptidase activity in PC-3 cells by an aqueous extract of *Epilobium angustifolium* L. and oenothein B[J]. Phytomedicine, 2006, 13(4): 284-289.
[15] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展[J]. 药学学报, 2020, 55(10): 2273-2280.
[16] 殷华芳, 钱晓萍, 刘宝瑞. 阿魏酸抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(32): 4238-4240.
[17] 夏文. 杨梅酚类化合物生物活性、生物利用度及其抑制乳腺癌细胞增殖的机理研究[D]. 广东: 华南理工大学, 2022.
[18] 陈继荣, 王佳, 颢纾. 金丝桃苷通过作用人胰腺癌细胞对裸鼠体内肿瘤细胞的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(17): 4318-4322.
[19] 包婷雯, 左明丽, 丁玉, 等. 45 种藏药材的 CDC25A/CDC25B 磷酸酶抑制活性筛选[J]. 中国民族医药杂志, 2018, 24(03): 55-57.
[20] 任艳玲, 杨泽锐, 李金贤, 等. 药物基因多态性对 PD-1/PD-L1 抑制剂抗癌疗效及不良反应影响的研究进展[J/OL]. 中国现代应用药学, 1-8[2024-12-14].
[21] 陈立基, 马红梅, 张士法, 等. PD-1/PD-L1 抑制剂在食管癌新辅助治疗中的研究进展[J/OL]. 中国胸心血管外科临床杂志, 1-8[2024-12-14].
[22] 占想, 周凤格, 冯阿磊, 等. 放疗调控肿瘤免疫及联合 PD-1/PD-L1 抑制剂: 从基础到临床[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2024, 31(20): 1276-1284.
[23] ALRADWAN I, ZHI P, ZHANG T, *et al*. Nanoparticulate drug combination inhibits DNA damage repair and PD-L1 expression in BRCA-mutant and wild type triple-negative breast cancer[J]. Journal of Controlled Release, 2025, 377661-674.
[24] 赵建军, 李启青, 李小辉. 野香橼花的化学成分研究[J]. 药学前沿, 2025, 29(9): 1469-1481.
[25] WANG X, JING Z, HUANG X, *et al*. PD-L1 antibody conjugated dihydrotanshinone I-loaded polymeric nanoparticle for targeted cancer immunotherapy combining PD-L1 blockade with immunogenic cell death[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2024, 667(PB): 125004-125004.

（收稿日期：2024-12-20；修回日期：2025-10-11；编辑：张翰林）

（上接第 44 页）

[7] ZHAN S H, LUO D, GE W, *et al*. Clinicopathological predictors of occult lateral neck lymph node metastasis in papillary thyroid cancer: a meta-analysis[J]. Head Neck, 2019, 41(7): 2441-2449.
[8] LU T X, ROTHENBERG M E. microRNA[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(4): 1202-1207.
[9] MOLLAEI H, SAFARALIZADEH R, ROSTAMI Z. microRNA replacement therapy in cancer[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 12369-12384.
[10] GON Y, SHIMIZU T, MIZUMURA K, *et al*. Molecular techniques for respiratory diseases: microRNA and extracellular vesicles[J]. Respirology, 2020, 25(2): 149-160.
[11] CHEN L, LI Y X, LU J S. Identification of circulating miR-762 as a novel diagnostic and prognostic biomarker for non-small cell lung cancer [J]. Technol Cancer Res Treat, 2020, 19: 1533033820964222.
[12] LI Y P, HUANG R X, WANG L, *et al*. microRNA-762 promotes breast cancer cell proliferation and invasion by targeting IRF7 expression[J]. Cell Prolif, 2015, 48(6): 643-649.
[13] HOU R, YANG Z, WANG S Z, *et al*. miR-762 can negatively regulate menin in ovarian cancer[J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 2127-2137.
[14] 焦志凯, 冯宁宁, 张越山, 等. miR-762 在胰腺癌中的表达及对胰腺癌细胞生物学行为的影响[J]. 中国癌症杂志, 2019, 29(11): 869-874.
[15] NAKAZAWA M, MATSUBARA H, MATSUSHITA Y, *et al*. The human bcl-2 family member bcl-rambo localizes to mitochondria and induces apoptosis and morphological aberrations in *Drosophila*[J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0157823.
[16] CROCE C M, VAUX D, STRASSER A, *et al*. The BCL-2 protein family: from discovery to drug development[J]. Cell Death Differ, 2025, 32(8): 1369-1381.
[17] HASHINO T, MATSUBARA H, XU J H, *et al*. PGAM5 interacts with Bcl-rambo and regulates apoptosis and mitophagy [J]. Exp Cell Res, 2022, 420(1): 113342.
[18] MENG F, SUN N T, LIU D Y, *et al*. BCL2L13: physiological and pathological meanings[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(6): 2419-2428.
[19] XU J H, HASHINO T, TANAKA R, *et al*. The BCL-2 family protein BCL-RAMBO interacts and cooperates with GRP75 to promote its apoptosis signaling pathway[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 14041.
[20] JACOBS J, IRANPOUR R, BEHROOZ A B, *et al*. The role of BCL2L13 in glioblastoma: turning a need into a target[J]. Biochem Cell Biol, 2024, 102(2): 127-134.

（收稿日期：2025-04-10；修回日期：2025-10-27；编辑：张翰林）