·论著·

微小 RNA-449a 靶向调控 KDM3A 对乳腺癌细胞生物学功能的影响*

宿伟鹏　张洋　敖登高娃　刘攀

（新疆医科大学第一附属医院肿瘤一科，新疆 乌鲁木齐 830054）

【摘要】 目的 探究微小 RNA-449a(miR-449a)通过靶向赖氨酸脱甲基酶 3A (KDM3A)对乳腺癌细胞生物学行为的影响。**方法** 采用实时荧光定量 PCR 技术和 Western Blot 分别检测乳腺癌组织及癌旁正常组织、人正常乳腺上皮细胞系(MCF10A)及人乳腺癌细胞系(MDA-MB-231、BT-474、MCF-7、SK-BR-3)中 miR-449a 与 KDM3A 的表达水平，双荧光素酶报告基因实验分析 miR-449a 与 KDM3A 的靶向关系；然后将 MCF-7 细胞分为 5 组进行转染处理：对照组、阴性对照(NC mimic)组、miR-449a 模拟物(miR-449a mimic)组、miR-449a mimic+pcDNA3.1 组、miR-449a mimic+pcDNA3.1-KDM3A 组，CCK-8 法、Transwell 小室及细胞划痕实验分别检测各组 MCF-7 细胞增殖、迁移和侵袭，Annexin V-FITC/PI 双染法和 Western Blot 分别检测各组 MCF-7 细胞凋亡及细胞中凋亡相关蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)3、Caspase9、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的表达水平。**结果** 与癌旁正常组织、MCF10A 细胞比较，乳腺癌组织和几种细胞系 MDA-MB-231、BT-474、MCF-7、SKBR-3 中 miR-449a 相对表达量降低，而 KDM3A 蛋白相对表达量升高($P<0.05$)；miR-449a 与 KDM3A 存在靶向关系，miR-449a 负调控 KDM3A 的表达；与对照组、NC mimic 组比较，miR-449a mimic 组在 24 h、48 h、72 h 同一时间下的增殖活性降低，细胞迁移及侵袭的数目减少，划痕愈合率降低，同时细胞凋亡率增加，细胞内凋亡相关蛋白 Caspase3、Caspase9 及促凋亡蛋白 Bax 的相对表达量上调，抑凋亡相关蛋白 Bcl-2 的相对表达量下调($P<0.05$)；与 miR-449a mimic 组比较，miR-449a mimic+pcDNA3.1 KDM3A 组同一时间下的增殖活性则升高，细胞迁移及侵袭的数目增加，划痕愈合率升高，细胞凋亡率减少，且细胞内 Caspase3、Caspase9 及 Bax 的蛋白相对表达量均下调，Bcl-2 蛋白相对表达量上调($P<0.05$)。**结论** miR-449a 可能通过靶向抑制 KDM3A 的表达，抑制乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭并促进其凋亡，从而发挥抗乳腺癌作用。

【关键词】 乳腺癌；微小 RNA-449a；赖氨酸脱甲基酶 3A；增殖；凋亡

【中图分类号】 R737.9　**【文献标志码】** A　**DOI**：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.002

Study on the effect of microRNA-449a targeting KDM3A on the biological function of breast cancer cells

SU Weipeng, ZHANG Yang, AO Denggaowa, LIU Pan

(*Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi* 830054, *China*)

【Abstract】 Objective To explore the effect of microRNA-449a (miR-449a) on the biological behavior of breast cancer cells by targeting lysine demethylase 3A (KDM3A). **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR and Western Blot were used to detect the expression levels of miR-449a and KDM3A in breast cancer tissues and adjacent normal tissues, human normal breast epithelial cell line (MCF10A) and human breast cancer cell lines (MDA-MB-231, BT-474, MCF-7, SK-BR-3), and dual luciferase reporter gene assay was used to analyze the targeting relationship between miR-449a and KDM3A. Then, MCF-7 cells were divided into five groups for transfection: control group, negative control (NC mimic) group, miR-449a mimic group, miR-449a mimic+pcDNA3.1 group, miR-449a mimic+pcDNA3.1-KDM3A group, CCK-8 method, Transwell chamber and cell scratch assay were used to detect MCF-7 cell proliferation, migration

基金项目：2023 年度“青年科研起航”专项基金项目(2023YFY-QKQN-24)；“天山英才”医药卫生高层次人才培养计划项目(TSYC202301B143)

通信作者：刘攀，副主任医师，E-mail：suweipeng8@hotmail.com

引用本文：宿伟鹏，张洋，敖登高娃，等. 微小 RNA-449a 靶向调控 KDM3A 对乳腺癌细胞生物学功能的影响[J]. 西部医学，2026，38(9)：1256-1262，1269. DOI：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.002

and invasion in each group, Annexin V-FITC/PI double staining method and Western Blot were used to detect MCF-7 cell apoptosis and the expression levels of apoptosis-related proteins caspase 3, caspase 9, B cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax) in each group. **Results** Compared with adjacent normal tissues and MCF10A cells, the relative expression of miR-449a in breast cancer tissues and several cell lines MDA-MB-231, BT-474, MCF-7 and SKBR-3 was decreased, while the relative expression of KDM3A protein was increased ($P<0.05$); there was a targeting relationship between miR-449a and KDM3A, and miR-449a negatively regulated the expression of KDM3A; Compared with the control group and the NC mimic group, the proliferation activity of the miR-449a mimic group was decreased at 24 h, 48 h and 72 h at the same time, the number of cell migration and invasion was reduced, the scratch healing rate was reduced, and the cell apoptosis rate was increased, the relative expression of intracellular apoptosis-related proteins Caspase3 and Caspase9 and pro-apoptotic protein Bax was upregulated, and the relative expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 was downregulated ($P<0.05$); Compared with the miR-449a mimic group, miR-449a In the mimic + pcDNA3.1 KDM3A group, the proliferation activity increased at the same time, the number of cell migration and invasion increased, the scratch healing rate increased, the cell apoptosis rate decreased, and the relative expression of Caspase3, Caspase9 and Bax proteins in the cells was downregulated, while the relative expression of Bcl-2 protein was upregulated ($P<0.05$). **Conclusion** miR-449a may inhibit the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells and promote their apoptosis by targeting and inhibiting the expression of KDM3A, thereby playing an anti-breast cancer role.

【Key words】 Breast cancer; microRNA-449a; Lysine demethylase 3A; Proliferation; Apoptosis

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一，其发病率逐年上升，严重威胁女性的生命健康[1]。尽管目前在手术、放疗、化疗及内分泌治疗等多种治疗手段的综合应用下，乳腺癌患者的总体生存率有所提高，但仍有 15%的患者在确诊后 3 年内出现远端转移，并有 90%的转移性患者发生死亡[2]。其高迁移与高侵袭的生物学特性仍是影响治疗效果和预后的关键因素[3]。因此，深入探索乳腺癌发生发展及转移过程中关键的分子机制，对于开发有效的治疗方法至关重要。微小 RNA(microRNA，miRNA)是一类内源性非编码短链 RNA，长度约为 18～25 个核苷酸，能通过与编码蛋白质的 mRNA 3′-非翻译区(3′-untranslated regions，3′-UTR)特异性结合来调控基因的表达，从而参与细胞增殖、分化、迁移、凋亡及代谢等多种细胞生物学过程。miR-449a 是近年来研究较为广泛的抑癌 miRNA 之一。研究表明，其在多种肿瘤中的表达水平下调，并与肿瘤细胞的恶性生物学行为密切相关[4-5]。然而，miR-449a 在乳腺癌中的具体作用及其调控机制尚未明确。赖氨酸特异性脱甲基酶 3A(lysine demethylase 3A，KDM3A)是一种组蛋白去甲基化酶，属于 Jumonji C 结构域家族成员，通过降低组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸二甲基化(Histone 3 lysine 9 dimethylation，H3K9me2)来促进转录激活，在表观遗传修饰中起关键作用[6]。KDM3A 在肿瘤组织中通常表达失调，其高表达与促肿瘤及患者的预后不良有关[7-8]。已有研究表明，在乳腺癌细胞中敲低 KDM3A 表达能够抑制肿瘤恶性程度并促进肿瘤凋亡[9]。但其在乳腺癌中的上游调控机制仍有待进一步研究。本研究旨在探讨 miR-449a 是否通过靶向调控 KDM3A，从而影响乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡等生物学行为，以期为乳腺癌的治疗研究提供潜在靶点及理论依据。

1 材料与方法

1.1 临床资料 本研究经新疆医科大学第一附属医院伦理委员会审核(伦理编号：K202312-43)，收集 20 例来自本院于 2024 年 1 月—2025 年 1 月期间接受手术治疗的乳腺癌患者的肿瘤组织及对应的癌旁正常组织样本，癌旁正常组织取自距离肿瘤边缘 2 cm 以外的非肿瘤乳腺组织，经病理学证实无肿瘤细胞浸润。所有组织样本于手术采集后，迅速置于液氮中冷冻保存，并转存于－80 ℃冰箱中备用。纳入标准：①经病理确诊为乳腺癌。②年龄≥18 岁。③有完整的临床病理资料。排除标准：①合并其他恶性肿瘤或严重系统性疾病。②在术前接受放疗、化疗或内分泌治疗者。

1.2 主要材料与试剂 人正常乳腺上皮细胞系 MCF10A 和人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、BT-474、MCF-7、SK-BR-3 由中科院上海细胞生物学研究所提供。RPMI-1640 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司，TRIzol 总 RNA 提取试剂和 Lipofectamine 3000 转染试剂购自美国 Invitrogen 公司，miRNA 反转录试剂盒和定量检测试剂盒购自日本 Takara 公司，miR-449a mimic 及阴性对照 NC mimic 由广州广州市锐博生物科技有限公司合成，pcDNA3.1 空载质粒与 pcDNA3.1-KDM3A 过表达质粒购自上海吉玛医药科技有限公司，双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自武汉金开瑞生物工程有限公司，BCA 蛋白定量试剂盒、CCK-8 细胞增殖检测试剂盒及结晶紫购自上海碧云

天生物科技公司，Matrigel 基质胶和 Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BD Biosciences 公司，一抗 KDM3A、Caspase 3、Caspase 9、Bax、Bcl2 抗体、二抗 IgG 山羊抗兔抗体及内参 GAPDH 抗体等购自英国 Abcam 公司。

1.3　方法

1.3.1　实时荧光定量 PCR 技术　采用 TRIzol 试剂提取乳腺癌组织、癌旁正常组织及细胞系的总 RNA，分光光度计测定 RNA 纯度和浓度，1%琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。使用 miRNA 第一链 cDNA 合成试剂盒和 TaqMan miRNA Assays 试剂盒分别进行反转录和 qPCR 反应，在 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 系统上进行扩增。miR-449a，上游引物 5′-TGGCAGTGTATTGTTAGCTGGT-3′，下游引物 5′-GTGCAGGGTCCGAGGT-3′；内参 U6，上游引物 5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′，下游引物 5′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3′。扩增条件如下：预变性 95 ℃，10 min；95 ℃变性 15 s，60 ℃退火/延伸 1 min，共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 miR-449a 的相对表达量，每组样本设置 3 个复孔，实验重复 3 次。

1.3.2　Western Blot　取新鲜组织样本和培养的细胞，经 PBS 清洗后加入 RIPA 裂解液分离总蛋白。通过 BCA 法测定蛋白浓度后，加热变性，取等量 30 μg 蛋白上样到 SDS-PAGE 凝胶孔上，进行电泳分离并转至 PVDF 膜。将膜在 5%脱脂奶粉中室温封闭 1 h，分别加入一抗 KDM3A(1∶1 000)、Caspase 3(1∶1 000)、Caspase 9(1∶1 000)、Bax(1∶2 000)、Bcl2(1∶2 000)及内参 GAPDH 抗体(1∶5 000)，于 4 ℃孵育过夜。次日加入二抗(1∶5 000)，室温孵育 1 h 后，采用 ECL 显色，使用成像系统扫描条带，并通过 Image J 软件分析灰度值。

1.3.3　双荧光素酶报告基因实验分析　通过 TargetScan 数据库预测 miR-449a 的潜在靶基因，筛选出 KDM3A 3′-UTR 区域中可能的结合位点。扩增 KDM3A 中含有 miR-449a 结合位点的 3′-UTR 片段，克隆到 pmirGLO 双荧光素酶载体中，记为 KDM3A 野生型(wt)，通过突变结合位点获得的突变体，扩增并克隆到载体，记为 KDM3A 突变型(mut)。将构建好的质粒分别与 miR-449a mimics 或阴性对照 NC mimic 共同转染至 MCF-7 细胞，按照 Lipofectamine 3000 说明书操作，48 h 后采用双荧光素酶报告基因系统检测荧光素酶活性。

1.3.4　细胞分组与转染处理　将 MCF-7 细胞分为 5 组进行转染处理：对照组，不做任何处理；NC mimic 组，转染阴性对照 NC mimic；miR-449a mimic 组，转染 miR-449a mimic；miR-449a mimic+pcDNA3.1 组，共转染 miR-449a mimic 与空载质粒 pcDNA3.1；miR-449a mimic + pcDNA3.1-KDM3A 组，共转染 miR-449a mimic 与 KDM3A 过表达质粒 pcDNA3.1-KDM3A。细胞接种至 6 孔板中，密度为 2×10^6 个细胞/孔，当汇合度达 70%～80%时，采用 Lipofectamine 3000 进行转染，转染 48 h 后进行后续实验。

1.3.5　CCK-8 法　将 MCF-7 细胞接种于 96 孔板中，每孔约 5×10^3 个细胞，进行分组及转染，设置 0、24、48 和 72 h 四个时间点，各时间点加入 10 μL CCK-8 试剂，置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中孵育 2 h，使用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD)值并记录，绘制细胞增殖曲线图。

1.3.6　Transwell 小室迁移与侵袭检测实验　迁移实验中，取转染 48 h 后的各组 MCF-7 细胞，用无血清培养基重悬并调整浓度为 1×10^5/mL，取 200 μL 细胞悬液加入不含基质胶的上室，下室加入含 10% 胎牛血清的培养基 600 μL，37 ℃孵育 24 h。侵袭实验操作基本相同，但在 Transwell 上室接种细胞前，需预先铺设 Matrigel 稀释液进行包被。孵育结束后，移除上室未迁移/侵袭的细胞，用 4%多聚甲醛固定 30 min，结晶紫染色 15 min，PBS 清洗后，在光学显微镜下随机选 6 个视野计数穿膜细胞数，取平均值进行统计分析。

1.3.7　细胞划痕实验　取转染后的各组 MCF-7 细胞接种于 6 孔板中培养至单层融合约 90%，使用无菌枪头在孔板中间划出一条垂直划痕，用 PBS 轻轻清洗以去除脱落细胞，加入无血清培养基继续培养。分别于0 h和 24 h 使用倒置显微镜拍摄划痕区域图像，利用 Image J 软件测量划痕宽度，计算划痕愈合率，愈合率(%) =(初始 0 h 宽度－24 h 宽度)/初始 0 h 宽度 ×100%。

1.3.8　Annexin V-FITC/PI 双染法　转染 48 h 后收集各组 MCF-7 细胞，PBS 清洗后，用预冷的 1×Binding Buffer 重悬细胞，并调整浓度至 1×10^6 个/mL，取 100 μL 细胞悬液加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI，室温避光反应 15 min，再加 400 μL 1×Binding Buffer 混匀后，立即上机检测，通过流式细胞仪采集信号来分析凋亡细胞比例。

1.4　统计学分析　所有实验数据均采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析，结果以($\bar{x}\pm s$)表示。两组间比较采用双侧独立样本 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，进一步采用 LSD-t 法进行组间两两比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　乳腺癌组织和细胞系中 miR-449a、KDM3A 表达比较　相较于癌旁正常组织，miR-449a 在乳腺癌组织中呈低表达（$P<0.05$）；与 MCF10A 细胞比较，乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、BT-474、MCF-7、SK-BR-3 中 miR-449a 相对表达量也显著降低（$P<0.05$）。见图 1。而与癌旁正常组织比较，KDM3A 蛋白在乳腺癌组织中表达升高（$P<0.05$）；且乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、BT-474、MCF-7、SKBR-3 中 KDM3A 蛋白相对表达量也显著高于 MCF10A 细胞（$P<0.05$）。见图 2。

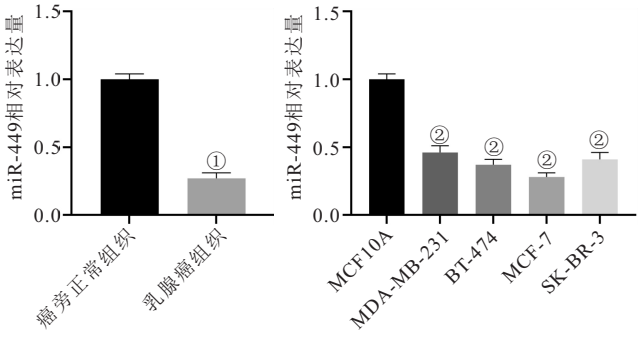

图 1　miR-449a 在乳腺癌组织和细胞系中表达变化

Figure 1　Expression changes of miR-449a in breast cancer tissues and cell lines

注：与癌旁正常组织比较，①$P<0.05$；与 MCF10A 细胞比较，②$P<0.05$。

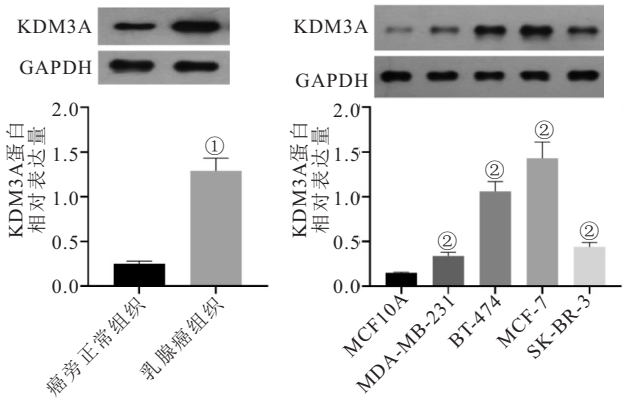

图 2　KDM3A 在乳腺癌组织和细胞系中表达变化

Figure 2　Expression changes of KDM3A in breast cancer tissues and cell lines

注：与癌旁正常组织比较，①$P<0.05$；与 MCF10A 细胞比较，②$P<0.05$。

2.2　miR-449a 与 KDM3A 的靶向调控关系　生物信息学软件 TargetScan 预测显示，miR-449a 与 KDM3A 的 3′UTR 存在靶向结合位点；通过设计 KDM3A wt 和 KDM3A mut，并将其分别与 NC mimic、miR-449a mimic 共转染后发现，miR-449a mimic 与 KDM3A wt 共转染的细胞相对荧光素酶活性显著低于 NC mimic 与 KDM3A wt 共转染的细胞（$P<0.05$）。见图 3。

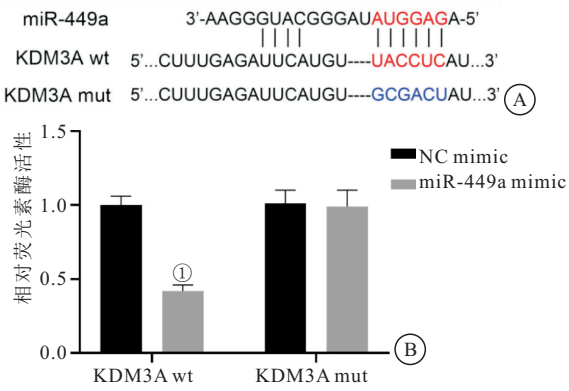

图 3　miR-449a 与 KDM3A 靶向关系预测及验证

Figure 3　Prediction and verification of the targeting relationship between miR-449a and KDM3A

注：A. TargetScan 预测 miR-449a 与 KDM3A 3′UTR 的结合位点；B. 细胞相对荧光素酶活性测定。与 NC mimic 比较，①$P<0.05$。

2.3　各组 MCF-7 细胞增殖水平比较　在 MCF-7 细胞处理后同一检测时间 24、48 和 72 h，与对照组、NC mimic 组比较，miR-449a mimic 组同一时间下的增殖活性显著降低（$P<0.05$）；与 miR-449a mimic 组比较，miR-449a mimic+pcDNA3.1 KDM3A 组同一时间下的增殖活性显著升高（$P<0.05$），而 miR-449a mimic+pcDNA3.1 组同一时间下的增殖活性相较于 miR-449a mimic 组的变化无统计学意义（$P>0.05$）。见图 4。

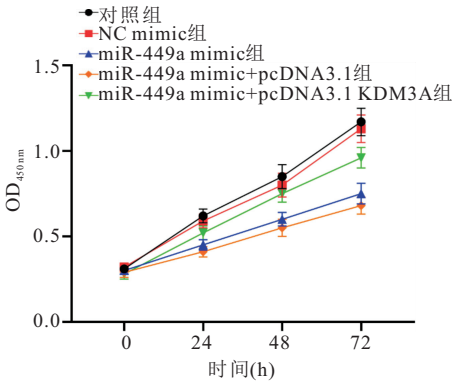

图 4　不同处理下 MCF-7 细胞增殖活性的变化

Figure 4　Changes in proliferation activity of MCF-7 cells under different treatments

2.4　各组 MCF-7 细胞迁移与侵袭比较　与对照组、NC mimic 组比较，miR-449a mimic 组 MCF-7 细胞迁移及侵袭的数目显著减少（$P<0.05$）；与 miR-449a mimic 组比较，miR-449a mimic+pcDNA3.1 KDM3A 组迁移及侵袭的数目显著增加（$P<0.05$），而 miR-449a mimic+pcDNA3.1 组迁移、侵袭的数目相较于 miR-449a mimic 组的变化均无统计学意义（$P>0.05$）。见图 5。此外，miR-449a mimic 组 MCF-7 细

胞划痕愈合率较对照组、NC mimic 组显著降低（$P<0.05$）；而 miR-449a mimic+pcDNA3.1 KDM3A 组划痕愈合率较 miR-449a mimic 组又显著升高（$P<0.05$），miR-449a mimic+pcDNA3.1 组划痕愈合率相较于 miR-449a mimic 组的变化无统计学意义（$P>0.05$）。见图 6。

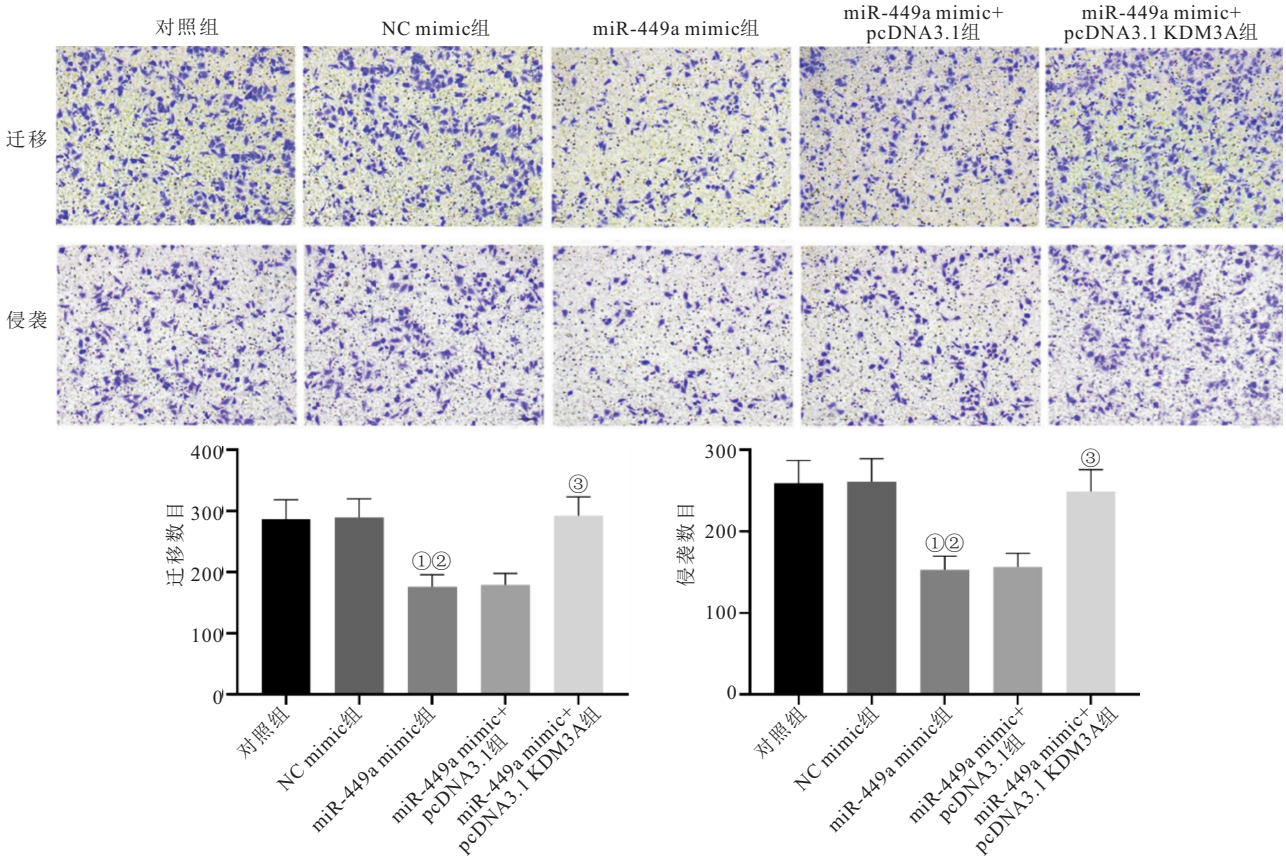

图 5　不同处理下 MCF-7 细胞迁移与侵袭的变化（标尺=100 μm）

Figure 5　Changes in migration and invasion of MCF-7 cells under different treatments

注：与对照组比较，①$P<0.05$；与 NC mimic 组比较，②$P<0.05$；与 miR-449a mimic 组比较，③$P<0.05$。

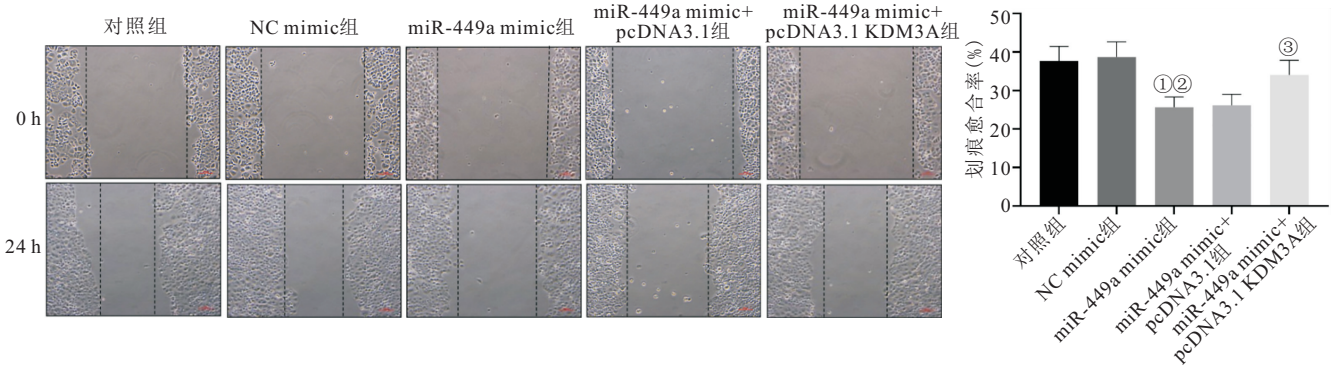

图 6　不同处理下 MCF-7 细胞划痕愈合率的变化（标尺=100 μm）

Figure 6　Changes in the scratch healing rate of MCF-7 cells under different treatments

注：与对照组比较，①$P<0.05$；与 NC mimic 组比较，②$P<0.05$；与 miR-449a mimic 组比较，③$P<0.05$。

2.5　各组 MCF-7 细胞凋亡率及凋亡相关蛋白 Caspase 3、Caspase 9、Bax、Bcl2 的表达比较　与对照组、NC mimic 组比较，miR-449a mimic 组 MCF-7 细胞凋亡率显著增加（$P<0.05$）；与 miR-449a mimic 组比较，miR-449a mimic+pcDNA3.1 KDM3A 组细胞凋亡率显著减少（$P<0.05$），而 miR-449a mimic+pcDNA3.1 组细胞凋亡率未有显著变化（$P>0.05$）。见图 7。与对照组、NC mimic 组比较，miR-449a mimic 组 MCF-7 细胞凋亡相关蛋白 Caspase3、Caspase9 及促凋亡蛋白 Bax 的相对表达量显著上调，抑凋亡相

关蛋白 Bcl-2 的相对表达量显著下调（$P<0.05$）；与 miR-449a mimic 组比较，miR-449a mimic + pcDNA3.1 KDM3A 组细胞中 Caspase3、Caspase9 及 Bax 的蛋白相对表达量被显著下调，而 Bcl-2 蛋白相对表达量则显著上调（$P<0.05$），miR-449a mimic + pcDNA3.1 组以上蛋白相对表达量均未发生显著变化（$P>0.05$）。见图 8。

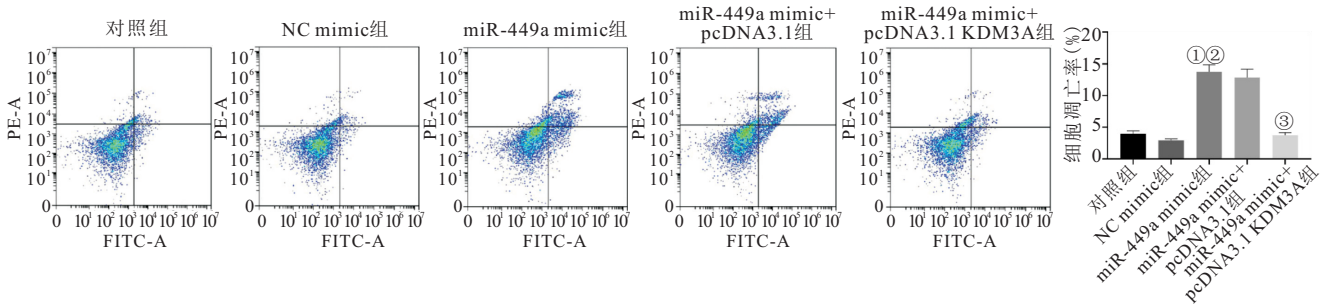

图 7　不同处理下 MCF-7 细胞凋亡率的变化

Figure 7　Changes in apoptosis rate of MCF-7 cells under different treatments

注：与对照组比较，①$P<0.05$；与 NC mimic 组比较，②$P<0.05$；与 miR-449a mimic 组比较，③$P<0.05$。

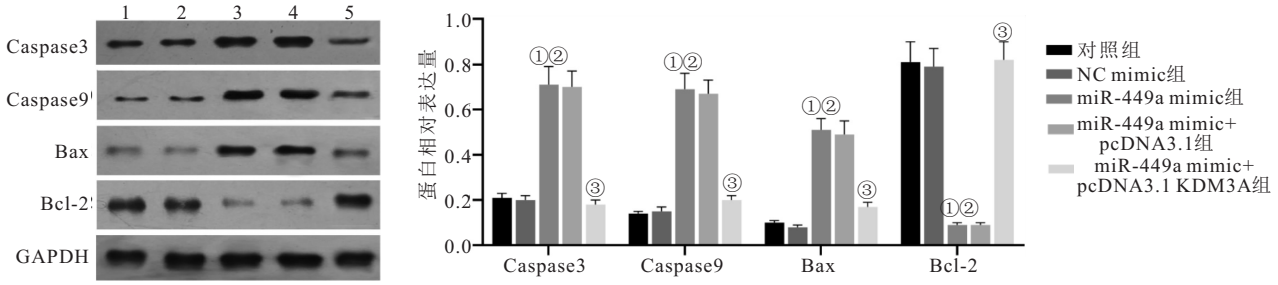

图 8　不同处理下 MCF-7 细胞中 Caspase 3、Caspase 9、Bax 及 Bcl2 蛋白的表达水平

Figure 8　Expression levels of Caspase 3, Caspase 9, Bax and Bcl2 proteins in MCF-7 cells under different treatments

注：1. 对照组；2. NC mimic 组；3. miR-449a mimic 组；4. miR-449a mimic + pcDNA3.1 组；5. miR-449a mimic + pcDNA3.1 KDM3A 组。与对照组比较，①$P<0.05$；与 NC mimic 组比较，②$P<0.05$；与 miR-449a mimic 组比较，③$P<0.05$。

3　讨论

目前，手术切除仍是乳腺癌的主要治疗方式，但约 20%～40%的患者因癌细胞扩散而出现复发或远处转移，远处转移是乳腺癌相关死亡的首要原因[10]。尽管乳腺癌的早期诊断和治疗取得了显著进展，分子靶向治疗和免疫治疗也在部分晚期患者中显示出疗效，但乳腺癌依然威胁女性健康。乳腺癌的发生和转移是一个多因素、多基因相互作用的复杂生物学过程。大量研究表明，miRNA 在乳腺癌中的异常表达与肿瘤增殖、侵袭、凋亡及化学耐药性密切相关，提示 miRNA 有望成为乳腺癌的治疗分子靶点[11-13]。然而，不同 miRNA 的具体生物学功能仍待进一步阐明。

已有研究发现，miR-449a 在乳腺癌组织及细胞系中普遍呈下调表达，且其低表达与肿瘤转移及不良预后密切相关，提示 miR-449a 可能作为一种抑癌因子发挥作用[14]。功能研究表明，miR-449a 通过靶向调控 p53、TPD52 等关键基因，抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移与侵袭，并促进细胞凋亡[15-16]。此外，miR-449a 还能增强乳腺癌细胞对化疗药物他莫昔芬的敏感性，提示其在逆转耐药方面具有潜在价值[17]。然而，也有研究表明，在某些类型乳腺癌组织中 miR-449a 的表达升高，并可能促进肿瘤的进展[18]。林慧等[19]研究显示，在三阴性乳腺癌和管腔型乳腺癌中的表达存在显著差异，其表达水平与激素受体 ER、PR 的阳性状态相关。这一表达差异反映了乳腺癌的分子异质性。此外，miRNA 的功能高度依赖于细胞背景及其靶基因网络，因此需要对其作用的具体靶点深入探讨以明确具体功能。本研究结果显示，miR-449a 在乳腺癌组织及细胞系中的表达显著低于癌旁正常组织及正常乳腺上皮细胞 MCF10A；在表达最低的雌激素受体阳性乳腺癌细胞系 MCF-7 中转染 miR-449a mimic 后，检测结果显示，miR-449a 过表达显著抑制 MCF-7 细胞的增殖、迁移与侵袭能力。表明 miR-449a 在该亚型乳腺癌细胞中可能发挥抑癌作用。

通过进一步分析发现，KDM3A 在乳腺癌组织及细胞系中的表达显著高于癌旁正常组织和 MCF10A 细胞，与 miR-449a 呈现相反的表达趋势，提示两者可能存在表达上的关联。通过生物信息学预测及双荧

光素酶报告基因实验验证了 miR-449a 可靶向结合 KDM3A 的 3′-UTR 并抑制其表达，证实 KDM3A 是 miR-449a 的靶基因。KDM3A 作为一种组蛋白去甲基化酶，在多种生理和病理过程中扮演重要角色，并在多种肿瘤中高表达，是调控肿瘤生长与转移的关键因子[20]。而 KDM3A 的表达受 miRNA 精细调控，并对肿瘤的发生发展产生重要影响。例如，miR-335 靶向抑制 KDM3A 表达，抑制透明细胞肾细胞癌的生长及转移[21]；miR-22-3p 通过靶向 KDM3A 调控 Hippo 信号通路，抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力[22]。本研究结果进一步表明，过表达 KDM3A 可逆转 miR-449a 对 MCF-7 细胞的抑癌效应，提示 miR-449a 通过负向调控 KDM3A 表达发挥其抑癌作用。

在肿瘤的发生与进展过程中，凋亡机制通常受到破坏，癌细胞逃避程序性死亡，从而获得持续增殖和侵袭能力[23]。凋亡障碍是乳腺癌恶性程度升高和转移潜能增强的重要机制[24]。因此，促进肿瘤细胞凋亡是抗肿瘤治疗的关键策略之一。Caspase-3 和 Caspase-9 是线粒体介导内源性凋亡通路的核心调控因子[25]。Bcl-2 是经典的抗凋亡蛋白，在多种肿瘤组织中高表达，促进肿瘤细胞存活、进展及耐药。Bax 是 Bcl-2 家族中的促凋亡成员，能够与 Bcl-2 形成异聚体，拮抗其抗凋亡作用，并激活 Caspase 级联反应，诱导细胞凋亡[26]。本研究结果显示，miR-449a 过表达显著促进 MCF-7 细胞凋亡，上调 Caspase3、Caspase9 及 Bax 蛋白的表达，并下调 Bcl-2 蛋白表达，提示 miR-449a 具有促进 MCF-7 细胞凋亡的作用；而在同时过表达 KDM3A 后，MCF-7 细胞凋亡减少，Caspase3、Caspase9 及 Bax 蛋白表达下调，Bcl-2 蛋白表达则上调，表明 miR-449a 通过靶向 KDM3A 介导乳腺癌细胞凋亡。

4　结论

miR-449a 在乳腺癌组织及细胞系中表达下调，其通过直接靶向 KDM3A 抑制细胞增殖、迁移及侵袭，促进细胞凋亡，在乳腺癌进展中发挥抑癌作用。这一发现有助于深入理解乳腺癌的分子机制，并为开发靶向治疗策略提供潜在靶点。但本研究仍存在一定局限性，尚未在动物模型中验证 miR-449a/KDM3A 轴的体内作用。未来可通过构建裸鼠异种移植瘤模型来进一步验证这一信号轴在乳腺癌发生发展中的作用机制及其治疗潜力。

【参考文献】

[1] Xiong X, Zheng L W, Ding Y, *et al*. Breast cancer: pathogenesis and treatments[J]. Sig Transduct Target Ther, 2025, 10(1): 49. doi: 10.1038/s41392-024-02108-4. PMID: 39966355.

[2] Jordan-Alejandre E, Campos-ParraA D, Castro-López D L, *et al*. Potential miRNA use as a biomarker: from breast cancer diagnosis to metastasis[J]. Cells, 2023, 12(4): 525. doi: 10.3390/cells12040525. PMID: 36831192.

[3] Xu D Y, Hu Z F, Wang K Y, *et al*. Why does HER2-positive breast cancer metastasize to the brain and what can we do about it? [J]. Crit Rev Oncol, 2024, 195: 104269. doi: 10.1016/j.critrevonc.2024.104269.

[4] Barati T, Mirzaei Z, Ebrahimi A, *et al*. miR - 449a: a promising biomarker and therapeutic target in cancer and other diseases [J]. Cell Biochem Biophys, 2024, 82(3): 1629-1650.

[5] Cossu A M, Melisi F, Noviello T M R, *et al*. miR-449a antagonizes EMT through IL-6-mediated trans-signaling in laryngeal squamous cancer[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2024, 35(1): 102140. doi: 10.1016/j.omtn.2024.102140. PMID: 38425711.

[6] Chopra A, Willmore W G, Biggar K K. Insights into a cancer-target demethylase: substrate prediction through systematic specificity analysis for KDM3A[J]. Biomolecules, 2022, 12(5): 641. doi: 10.3390/biom12050641. PMID: 35625569.

[7] Polat D, Onur E, Yılmaz N, *et al*. KDM3A, a novel blood-based biomarker in colorectal carcinogenesis[J]. Balkan J Med Genet, 2023, 25(2): 23-27.

[8] 罗志鹏，苗志国，魏海云. 大肠癌组织和细胞中 KDM3A 的表达及其对癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 现代肿瘤医学，2023，31(13)：2395-2400.

[9] Han Y X, Maimaiti N, Sun Y, *et al*. Knockout of KDM3A in MDA-MB-231 breast cancer cells inhibits tumor malignancy and promotes apoptosis[J]. J Mol Histol, 2024, 55(1): 139-148.

[10] Liu K, Huang A L, Chen X Q, *et al*. Patterns of distant metastasis and survival outcomes in de novo metastatic breast cancer according to age groups [J]. Front Endocrinol, 2024, 15: 1385756. doi: 10.3389/fendo.2024.1385756.

[11] Samara M, Thodou E, Patoulioti M, *et al*. Integrated miRNA signatures: advancing breast cancer diagnosis and prognosis[J]. Biomolecules, 2024, 14(11): 1352. doi: 10.3390/biom14111352.

[12] Abolhasanzadeh N, Sarabandi S, Dehghan B, *et al*. Exploring the intricate relationship between miRNA dysregulation and breast cancer development: insights into the impact of environmental chemicals[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1333563. doi: 10.3389/fimmu.2024.1333563. PMID: 38807590.

[13] Balkrishna A, Mittal R, Bishayee A, *et al*. miRNA signatures affecting the survival outcome in distant metastasis of triple-negative breast cancer [J]. Biochem Pharmacol, 2025, 231: 116683. doi: 10.1016/j.bcp.2024.116683.

[14] Xu B, Zhang X P, Wang S S, *et al*. miR-449a suppresses cell migration and invasion by targeting PLAGL2 in breast cancer [J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(5): 790-795.

[15] Huang G C, Zhong X W, Yao L H, *et al*. microRNA-449a inhibits cell proliferation and migration by regulating mutant p53 in MDA-MB-468 cells[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(3): 1020. doi: 10.3892/etm.2021.10452. PMID: 34373706.

（下转第 1269 页）

pression of miR150 and FOXO4 and the local recurrence and metastasis of nasopharyngeal carcinoma after intensive radiotherapy [J]. J BUON, 2018, 23(6): 1671-1678.

[15] Kang S H, Oh S Y, Lee K Y, *et al*. Differential effect of cancer-associated fibroblast-derived extracellular vesicles on cisplatin resistance in oral squamous cell carcinoma via miR-876-3p[J]. Theranostics, 2024, 14(2): 460-479.

[16] Panvongsa W, Pegtel D M, Voortman J. More than abubble: extracellular vesicle microRNAs in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancers, 2022, 14(5): 1160. doi: 10.3390/cancers14051160. PMID: 35267467.

[17] Du L, Chen X, Cao Y, *et al*. Overexpression of PIK3CA in murine head and neck epithelium drives tumor invasion and metastasis through PDK1 and enhanced TGFβ signaling[J]. Oncogene, 2016, 35(35): 4641-4652.

[18] Cai X J, Tang Z N, Liu Y P, *et al*. Head and neck carcinoma in children: a clinicopathological study of 42 cases[J]. J Dent Sci, 2023, 18(4): 1486-1492.

[19] Yoshida K, Htike K, Eguchi T, *et al*. Rab11 suppresses head and neck carcinoma by regulating EGFR and EpCAM exosome secretion[J]. J Oral Biosci, 2024, 66(1): 205-216.

[20] Wang Z R, Kang W T, Li O W, *et al*. Abrogation of USP7 is an alternative strategy to downregulate PD-L1 and sensitize gastric cancer cells to T cells killing[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(3): 694-707.

[21] Fu Y, Wu W, Wan Y G, *et al*. Effect and mechanism of Dahuang Zhechong Pills in improving liver aging in rats by regulating ROS-mediated PI3K/Akt/FoxO4 signaling pathway[J]. Zhongguo zhongyao zazhi, 2023, 48(11): 3014-3021.

[22] Wang Y, Kang X L, Zeng F C, *et al*. Correlations of Foxo3 and Foxo4 expressions with clinicopathological features and prognosis of bladder cancer[J]. Pathol Res Pract, 2017, 213(7): 766-772.

[23] 迪丽努尔·尼加提，王珍，刘浩，等. lncRNA BLACAT1 通过调控细胞自噬途径增强下咽鳞状细胞癌放疗抵抗性[J]. 西部医学，2025，37(12)：1751-1757.

[24] 刘维华，谭娜，郑洪. FOXO1 在肿瘤中的自噬调节作用及其研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志，2021，37(12)：1469-1472.

[25] Frontiers Editorial Office. Retraction: exosomal miR-128-3p promotes epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cells by targeting FOXO4 via TGF-β/SMAD and JAK/STAT3 signaling[J]. Front Cell Dev Biol, 2024, 12: 1459522. doi: 10.3389/fcell.2024.1459522. PMID: 39100098.

[26] Zhong T F, Li Y, Jin M, *et al*. Downregulation of 4-HNE and FOXO4 collaboratively promotes NSCLC cell migration and tumor growth[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(7): 546. doi: 10.1038/s41419-024-06948-4. PMID: 39085238.

[27] 寇博，孙晓鹏，刘伟. FOXO4 在甲状腺癌中的表达及其对上皮间质转化的影响[J]. 山西医科大学学报，2022，53(7)：787-793.

[28] Qi M, Sun L A, Jiang X C, *et al*. FOXO4 expression associates with glioblastoma development and FOXO4 expression inhibits cell malignant phenotypes in vitro and in vivo[J]. Life Sci, 2020, 247: 117436. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117436.

[29] 刘瑾源，汪旭，王典日，等. 头颈部肿瘤外科诊疗的研究进展[J]. 中华医学杂志，2025，105(20)：1668-1674.

[30] Dib M, Justian N, Scharf C, *et al*. Recapitulating the pharmacological interactions of cetuximab with sunitinib and cisplatin in head and neck carcinoma cells in vitro[J]. Pharmacology, 2023, 108(1): 90-100.

（收稿日期：2026-01-05；修回日期：2026-03-23；编辑：张翰林）

（上接第 1262 页）

[16] Duan A Z, Kong L M, An T, *et al*. Star-PAP regulates tumor protein D52 through modulating miR-449a/34a in breast cancer [J]. Biol Open, 2019, 8(11): bio045914. doi: 10.1242/bio.045914. PMID: 31649118.

[17] Li J, Lu M J, Jin J, *et al*. miR-449a suppresses tamoxifen resistance in human breast cancer cells by targeting ADAM22[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(1): 136-149.

[18] Barati T, Mirzaei Z, Ebrahimi A, *et al*. Evaluation of miR-27a-5p and miR-449a as potential serum biomarkers for breast cancer: a combined bioinformatics and experimental study[J]. Mol Biol Rep, 2025, 52(1): 590. doi: 10.1007/s11033-025-10705-x.

[19] 林慧，陈佳菁，王灿明，等. miR-449a 在乳腺癌组织中的表达及生物信息学分析[J]. 生物信息学，2023，21(3)：171-178.

[20] Fan L L, Sudeep K, Qi J F. Histone demethylase KDM3 (JMJD1) in transcriptional regulation and cancer progression[J]. Adv Exp Med Biol, 2023, 1433: 69-86.

[21] Zhang W Q, Liu R Y, Zhang L, *et al*. Downregulation of miR-335 exhibited an oncogenic effect via promoting KDM3A/YAP1 networks in clear cell renal cell carcinoma[J]. Cancer Gene Ther, 2022, 29(5): 573-584.

[22] Jin R R, Zeng C Y, Chen Y X. miR-22-3p regulates the proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells by directly targeting KDM3A through the Hippo pathway[J]. Histol Histopathol, 2022, 37(12): 1241-1252.

[23] Moyer A, Tanaka K, ChengE H. Apoptosis in cancer biology and therapy[J]. Annu Rev Pathol, 2025, 20(1): 303-328.

[24] Gourisankar S, Krokhotin A, Ji W Z, *et al*. Rewiring cancer drivers to activate apoptosis[J]. Nature, 2023, 620(7973): 417-425.

[25] Cao K, Riley J S, Heilig R, *et al*. Mitochondrial dynamics regulate genome stability via control of caspase-dependent DNA damage[J]. Dev Cell, 2022, 57(10): 1211-1225.e6.

[26] Lopez A, ReynaD E, Gitego N, *et al*. Co-targeting of BAX and BCL-XL proteins broadly overcomes resistance to apoptosis in cancer[J]. Nat Commun, 2022, 13: 1199. doi: 10.1038/s41467-022-28741-7.

（收稿日期：2025-10-23；修回日期：2026-06-11；编辑：张翰林）