

## miR-642a-3p 对藻蓝色素抑制非小细胞肺癌活性的调控作用

李前程, 郝帅\*, 李爽, 刘媛璞, 李凡念, 杨起, 张文静  
(老年营养与健康教育部重点实验室(北京工商大学) 北京市食品添加剂工程技术研究中心  
北京工商大学食品与健康学院 北京 100048)

**摘要** 藻蓝色素(PC)是一种来自海洋藻类的天然色素蛋白复合体,也是一类重要的食品功能因子,具有抗肿瘤、抗炎、增强免疫等生理活性,被广泛应用于功能性食品、医药及化妆品等领域。藻蓝色素对非小细胞肺癌(NSCLC)细胞活性的抑制作用已被证实,然而其机制尚不明确。本研究以 miR-642a-3p 为切入点,探究藻蓝色素抑制 NSCLC 细胞活性的机制。试验结果表明,藻蓝色素能够上调 4 种 NSCLC 细胞(A549、H1299、H460 和 LTEP-a2)中 miR-642a-3p 的表达水平。过表达干预细胞中的 miR-642a-3p 水平能够显著抑制 4 种细胞的体外增殖、迁移和非锚定生长能力。此外,转染 miRNA 抑制剂干预 miR-642a-3p 的表达,在一定程度上增强了细胞的活性。本研究初步揭示 miR-642a-3p 上调表达参与藻蓝色素抑制 NSCLC 细胞活性的过程,为藻蓝色素的深入研究和利用提高科学依据。

**关键词** 藻蓝色素; miR-642a-3p; 非小细胞肺癌; 细胞活性

**文章编号** 1009-7848(2023)11-0013-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.11.002

近年来,肿瘤对于人类健康的威胁越来越明显<sup>[1]</sup>,其发病率和死亡率呈阶梯式上升,特别是在我国,肺癌的发病率和死亡率居高不下<sup>[2]</sup>,已经严重威胁到人们的健康生存。肺癌的治疗主要抑制是癌细胞的增殖和转移,因此靶向治疗成为研究热点<sup>[3]</sup>。藻蓝色素(Phycocyanin, PC)是存在于螺旋藻中的一种捕光色素蛋白复合体,也是一类重要的食品功能因子,具有抗癌<sup>[4]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup>、抗炎<sup>[6]</sup>以及抗肿瘤<sup>[7]</sup>等多种生理活性的天然活性物质,可以通过调节人体中多种酶的合成,抑制癌细胞的生长,被广泛应用于功能性食品、化妆品和医药等领域中。前期研究发现藻蓝色素具有抑制非小细胞肺癌细胞(Non-small cell lung cancer, NSCLC)生长、增殖、迁移以及侵袭等作用<sup>[8-10]</sup>,然而具体调控机制尚不明确。

microRNA(miRNA)是一类由 22 bp 左右核苷酸组成的非编码小分子 RNA,对细胞的增殖、迁移和分化等生理过程起重要的调控作用<sup>[11]</sup>。狄

奕成等<sup>[12]</sup>发现 miR-195-5p 能够促进 IL-17 诱导的肺癌细胞增殖、迁移和侵袭过程。万启飞等<sup>[13]</sup>研究发现 miR-142-3p 可靶向下游基因,从而抑制肺癌 A549 细胞增殖。此外,有报道称 miR-642a-3p 在 NSCLC 中具有重要的调控作用<sup>[14]</sup>。为进一步探究 miR-642a-3p 是否参与藻蓝色素抑制 NSCLC 的过程,本研究以 4 种典型的非小细胞肺癌细胞(A549、H1299、H460、LTEP-a2)为模型,通过干预 miR-642a-3p 的表达水平,从细胞增殖、凋亡、迁移以及克隆形成等试验探索 miR-642a-3p 对细胞活性的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

1.1.1 细胞株 人类非小细胞肺癌 H1299 细胞系、H460 细胞系、LTEP-a2 细胞系(以下简称“A2”)、A549 细胞系由本实验室(北京市食品添加剂工程技术研究中心)保存。

1.1.2 试剂 胎牛血清,康源生物技术有限公司;实时荧光定量聚合酶链式反应(Quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)相关试剂,广州锐博生物技术有限公司、北京全式金生物技术有限公司;1%青霉素-链霉素,美国 Corning 公司;Entranster-R4000,英格恩生物公司;CCK-8 试剂盒,碧云天生物技术有限公司;miRNA 模拟

收稿日期:2022-11-03

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32072231,32272321);北京市属高等学校优秀青年人才培育计划项目(BPHR202203042)

第一作者:李前程,女,硕士生

通信作者:郝帅 E-mail: haoshuai@btbu.edu.cn

物(miR-642a-3p mimic),广州锐博生物技术有限公司。

## 1.2 仪器与设备

恒温 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱, Heraeus Eppendorf 公司; Spectra Max i3 多功能酶标仪, 美国 MD 公司; 超净工作台, 上海博迅医疗生物仪器股份有限公司; 漩涡振荡器, 德国 IKA 公司; BSA224S 型数字电子天平, 德国 Sartorius 公司; CFX96 Touch qPCR 检测系统, 美国 Bio-Rad 公司。

## 1.3 方法

1.3.1 细胞培养 将 H460 细胞、H12999 细胞、A549 细胞、A2 细胞用含体积分数 10% 胎牛血清、质量分数 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的相对饱和湿度培养箱中培养, 使细胞贴壁生长。

1.3.2 细胞生长曲线测定 利用血球计数板计数, 以 5 000 个/100 μL 每孔的细胞量接入 96 孔板中正常培养, 37 °C 正常培养 12 h 后用 50 nmol/L 的 miR-642a-3p 模拟物培养液处理细胞, 做 4 个复孔, 分别以不同的时间梯度进行培养后, 加入 100 μL 配制好的 CCK-8 溶液, 继续孵育 2~4 h 后用酶标仪于波长 450 nm 处测各孔吸光度。连续测定 5 d, 记录试验数据, 统计细胞生长情况。以横坐标为时间, 纵坐标为吸光度, 绘制细胞生长曲线。

1.3.3 显微镜下观察细胞形态 取生长状态良好的细胞, 37 °C 正常培养 12 h 后加入终浓度为 50 nmol/L 的 miR-642a-3p 模拟物培养液分别处理细胞 24, 48 h, 倒置显微镜下观察细胞形态变化并拍照。

1.3.4 细胞划痕试验 将处于对数期的细胞接种于培养皿中, 底部预先用记号笔画出 3 条平行线作为参考坐标, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养至几乎 100% 汇合度。用吸头快速垂直于培养皿底部划出一道直线, 用培养基轻轻冲洗除去细胞碎片, 加入含有终浓度为 50 nmol/L 的 miR-642a-3p 模拟物培养液培养。分别于 0, 24 h 和 48 h 时在固定的划痕位置进行拍照, 测量划痕区的宽度 ( $H$ ) 并计算细胞的迁移率 ( $I$ ), 其中 0 μmol/L 藻蓝蛋白处理组为对照组, 迁移率按式 (1) 计算。

$$I(\%) = \frac{H_{\text{试验组}} - H_{\text{对照组}}}{H_{\text{对照组}}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.5 细胞克隆试验 取处于对数生长期的细胞按照 2×10<sup>3</sup>/孔密度铺于六孔板中过夜培养, 待细胞贴壁以后, 将终浓度为 50 nmol/L 的 miR-642a-3p 模拟物培养液加入孔板中, 处理细胞 10~15 d, 对照组不做处理。当六孔板中细胞的克隆集落肉眼可见时, 用吉姆萨染色, 将染色后的细胞集落拍照保存并进行数量统计。

1.3.6 qPCR 检测 miR-642a-3p 基因表达 取生长状态良好的细胞接种在六孔板中培养 24 h, 加入终浓度为 50 nmol/L 的 miR-642a-3p 模拟物培养液处理 48 h, 用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 测定 RNA 浓度。参照试剂盒说明进行 cDNA 合成如表 1 所示。

表 1 RT 反应体系

Table 1 RT reaction condition

试剂	体积/μL
RNA 模版 (1 μg)	$x$
随机引物 (200 μmol/L)	1
多聚胸腺嘧啶核苷酸链 (25 μmol/L)	1
5X 反转录溶液	2
反转录酶混合液	2
无 RNA 酶的纯水	至 10

注: RNA 模版按照质量 (1 μg) 进行上样, 体积不固定。

以上体系混匀后, 瞬时离心, RT 反应程序: 42 °C 60 min, 70 °C 10 min。参照试剂盒说明进行 qPCR 反应, 反应体系如表 2 所示。

1.3.7 数据处理 数据处理软件采用 Microsoft Excel 2010, 作图软件为 Origin 8.5, 每个试验重复 3 次。显著性差异分析采用 Student  $t$ -test 双尾检验分析, 其中  $P < 0.05$  为显著性差异,  $P < 0.01$  为极显著差异。

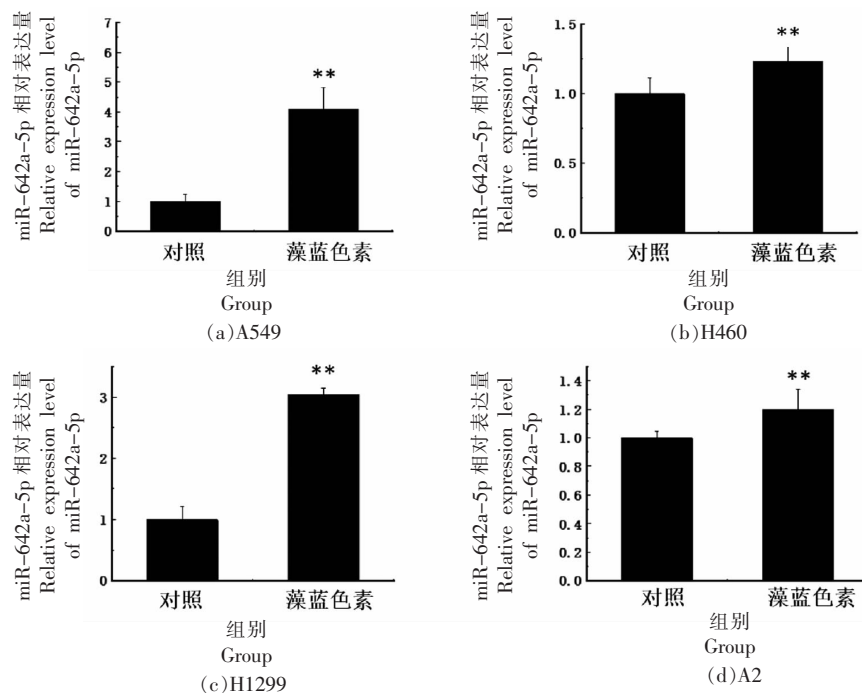
## 2 结果与分析

### 2.1 藻蓝色素对 miR-642a-3p 表达的影响

藻蓝色素处理细胞后, 对 4 种细胞内 miR-642a-3p 的表达水平进行了定量 PCR 的检测, 结果如图 1 所示, 细胞中的 miR-642a-3p 均出现不同程度的显著性上调, 这表明藻蓝色素具有调控 NSCLC 中内源性 miR-642a-3p 表达水平的作用。

表 2 miRNA PCR 反应体系  
Table 2 miRNA PCR reaction condition

试剂	体积/ $\mu\text{L}$
2X SYBR Green 荧光混合液	10
反转录产物	2
gen/lnc/circDETECTM RNA-qPCR 正向引物 (5 $\mu\text{mol/L}$ )	0.8
gen/lnc/circDETECTM RNA-qPCR 反向引物 (5 $\mu\text{mol/L}$ )	0.8
ddH <sub>2</sub> O	至 20



注:\*. 与对照组比差异显著( $P<0.05$ );\*\*. 与对照组比差异极显著( $P<0.01$ ).

图 1 藻蓝色素对 miR-642a-3p 表达水平的影响

Fig.1 Effects of phycocyanin on the expression level of miR-642a-3p

## 2.2 miR-642a-3p 过表达效果在细胞中的验证

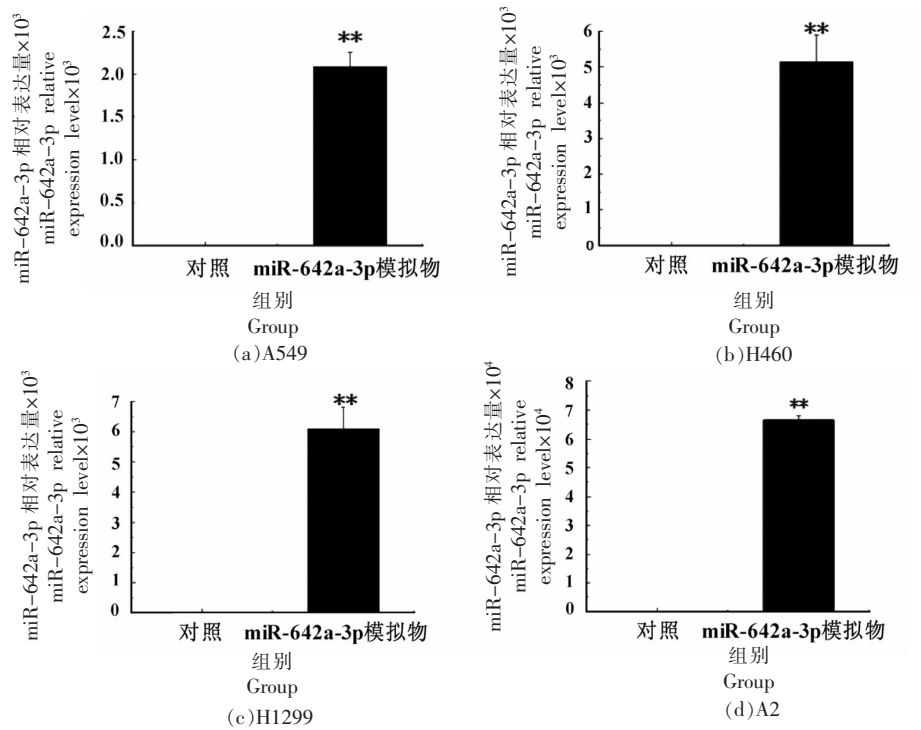
为进一步探究 miR-642a-3p 表达水平的干预是否会对细胞表型造成影响, 将 miR-642a-3p 的模拟物转染至细胞中进行荧光定量分析, 发现转染 miRNA 模拟物之后, miR-642a-3p 的表达显著上调(图 2), 结果表明 miR-642a-3p 在 4 种细胞中被成功干预。

## 2.3 miR-642a-3p 过表达对细胞活性的影响

根据前期预试验的摸索, 终浓度为 50 nmol/L 的 miR-642a-3p 模拟物即可达到预期的过表达效果, 因此将细胞转染终浓度设置在 50 nmol/L。

将 miR-642a-3p mimic 转染后的 4 种细胞进行体外增殖能力检测, 如图 3 所示, 与对照组相比, 转染 miR-642a-3p mimic 后细胞的体外增殖能力出现显著降低, 表明 miR-642a-3p 的过表达会抑制细胞生长。

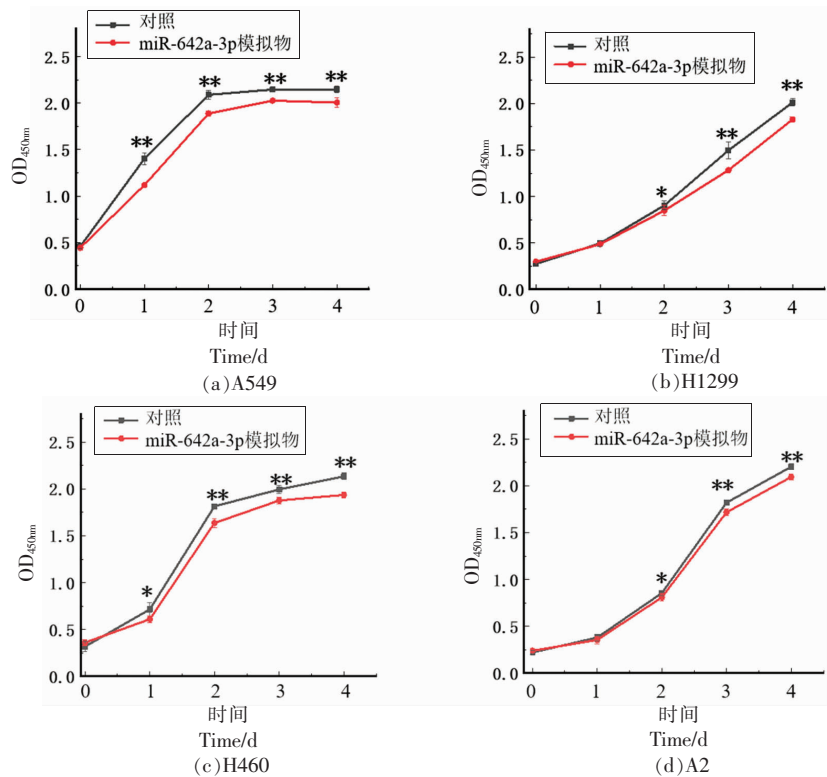
细胞划痕试验发现过表达 miR-642a-3p 后, 对照组与过表达组的细胞迁移能力有着显著差异, 过表达组细胞的迁移率随时间延长逐渐降低, 迁移能力受到明显抑制(图 4), 表明 miR-642a-3p 对 NSCLC 细胞的体外迁移能力也有抑制效果。



注: \* 与对照组比差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 与对照组比差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

图2 miR-642a-3p模拟物作用4种细胞48h后miR-642a-3p的qPCR表达情况

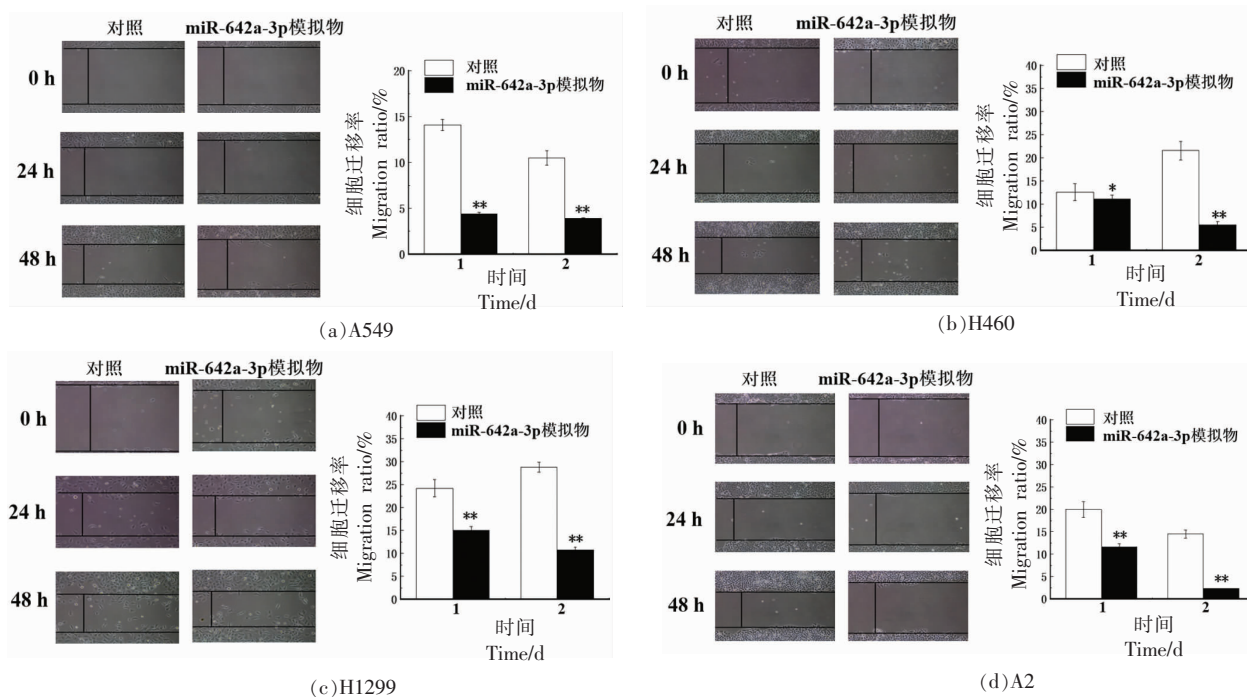
Fig.2 qPCR expression of miR-642a-3p in four types of cells treated with miR-642a-3p mimic for 48 hours



注: \* 与对照组比差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 与对照组比差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

图3 miR-642a-3p模拟物对4种细胞增殖能力的影响

Fig.3 Effects of miR-642a-3p mimics on the proliferation ability of four types of cells



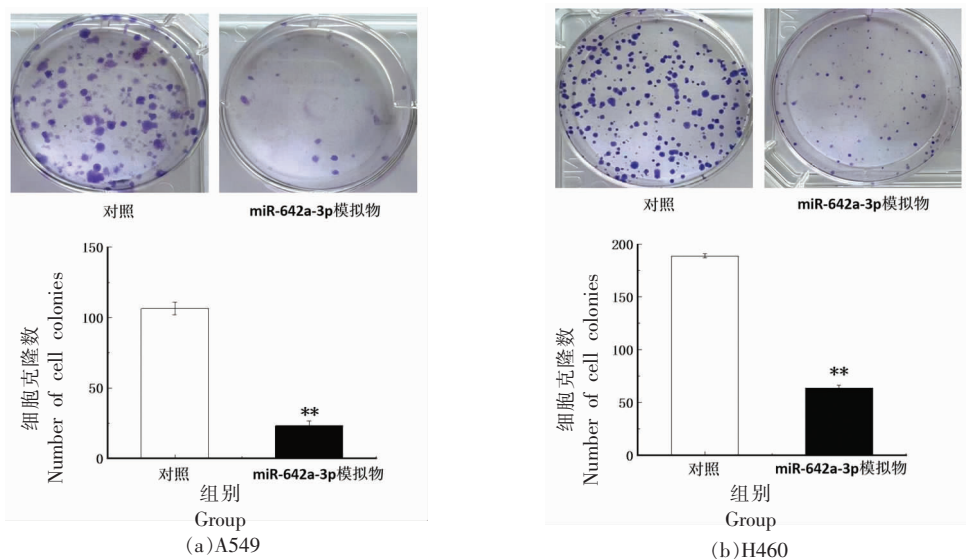
注: \* 与对照组比差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 与对照组比差异极显著 ( $P < 0.01$ ).

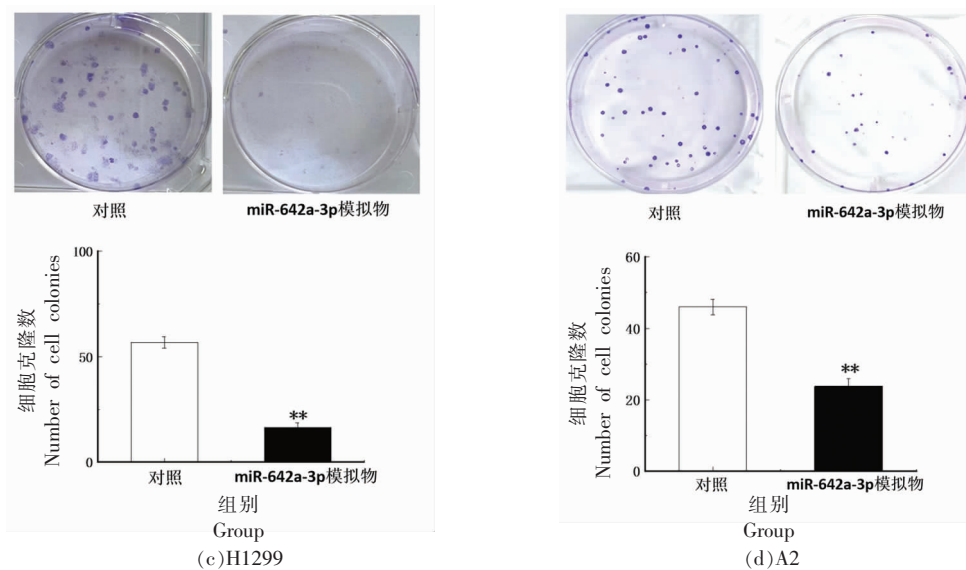
图 4 miR-642a-3p 模拟物对 4 种细胞迁移率的影响

Fig.4 The effects of miR-642a-3p mimics on the migration rates of four types of cells

细胞克隆形成试验能够测定细胞的体外非锚定生长能力,如图 5 结果所示,过表达 miR-642a-3p 后,4 种细胞的克隆集落形成数量均明显少于对照组,表明 miR-642a-3p 对 NSCLC 细胞的体外非锚定生长能力具有显著抑制效果。

综上所述,过表达 miR-642a-3p 会对细胞活性产生一定影响,细胞的增殖、迁移、克隆形成能力均受到抑制,这些结果与藻蓝色素对细胞的影响趋势一致,初步表明藻蓝色素能够通过上调 miR-642a-3p 的表达而抑制 NSCLC 细胞的活性。





注:\*. 与对照组比差异显著( $P<0.05$ );\*\*. 与对照组比差异极显著( $P<0.01$ )。

图5 miR-642a-3p模拟物对4种细胞克隆数的影响

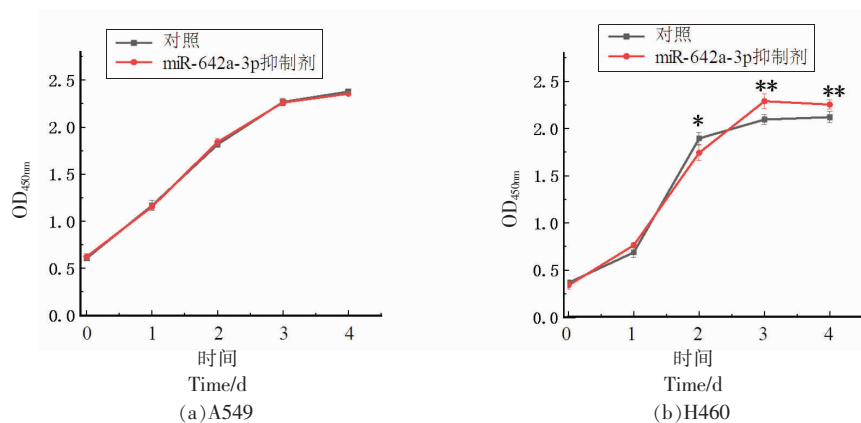
Fig.5 Effects of miR-642a-3p mimics on the number of colonies of four types of cells

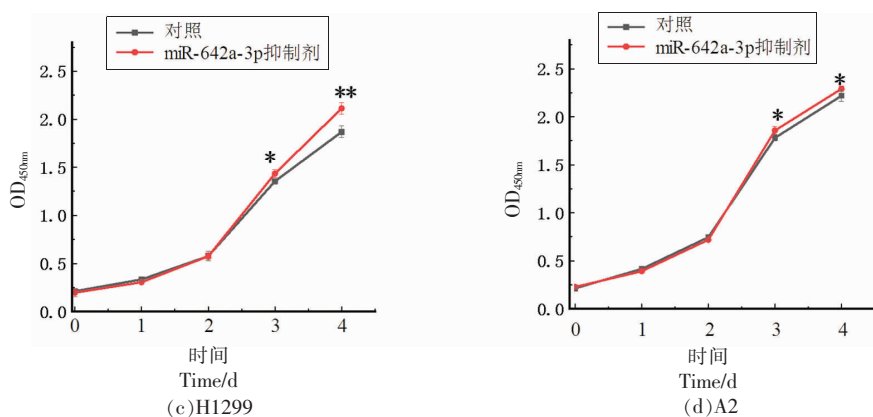
## 2.4 miR-642a-3p表达水平的抑制对细胞活性的影响

为了进一步探究 miR-642a-3p 是否对细胞的增殖水平产生影响,将 50 nmol/L 终浓度的 miR-642a-3p 抑制剂在 4 种细胞中进行了转染并测定细胞生长曲线,结果如图 6 所示,除 A549 细胞外, H460、H1299 和 A2 细胞在转染 3~4 d 时生长速率出现了显著增加,这一现象与过表达 miR-642a-3p 的结果呈现相反趋势,进一步表明 miR-642a-3p 确实对 NSCLC 细胞的生长具有明显调控作用。

同样地,本文对抑制 miR-642a-3p 表达后的

细胞迁移能力也进行了检测,结果显示, A549 和 H1299 细胞在转染 miR-642a-3p 抑制剂后,细胞的迁移能力出现了显著提高,然而 H460 和 A2 细胞却依然表现出迁移能力降低的现象(图 7),推测在不同的非小细胞肺癌亚型细胞中, miR-642a-3p 可能调控了不同的靶基因,因此对细胞迁移能力的影响会有差异。A549 和 H1299 的结果虽与 miR-642a-3p 过表达的趋势相反,但也在一定程度上验证了 miR-642a-3p 会对 NSCOC 细胞的迁移产生调控作用。

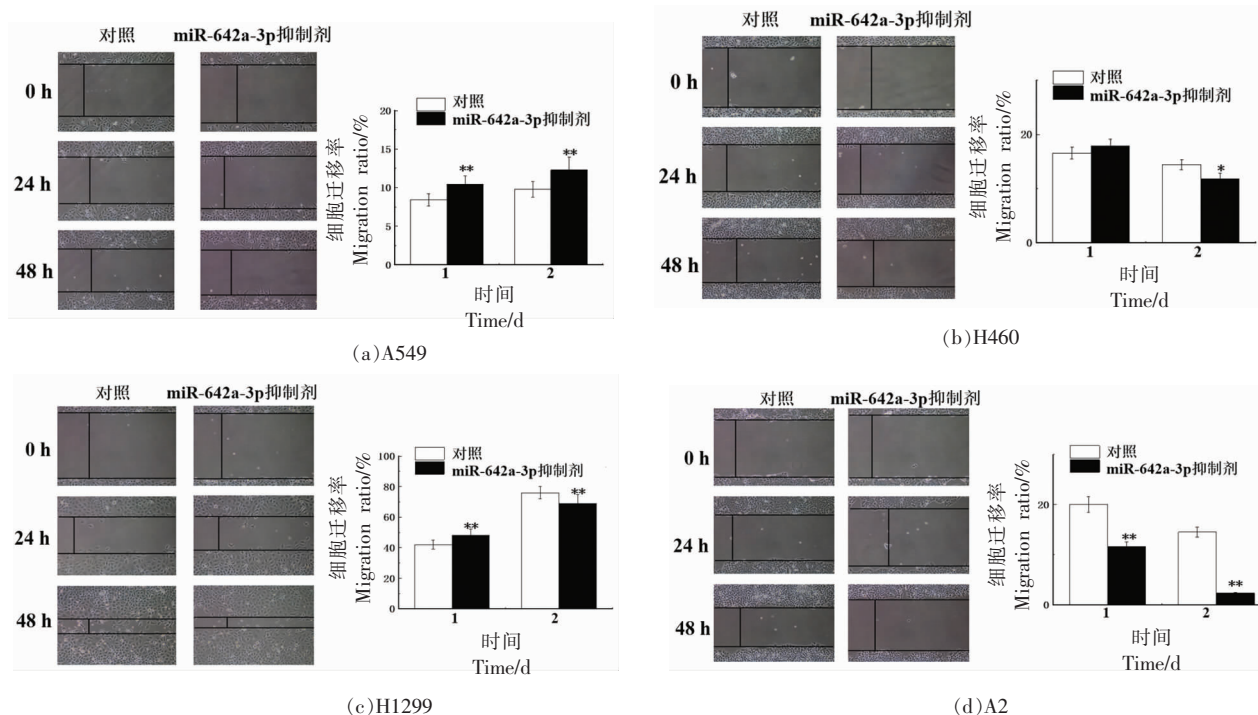




注:\*. 与对照组比差异显著(P<0.05);\*\*. 与对照组比差异极显著(P<0.01)。

图 6 miR-642a-3p 抑制剂对 4 种细胞生长的影响

Fig.6 Effects of miR-642a-3p inhibitors on the proliferation of four types of cells



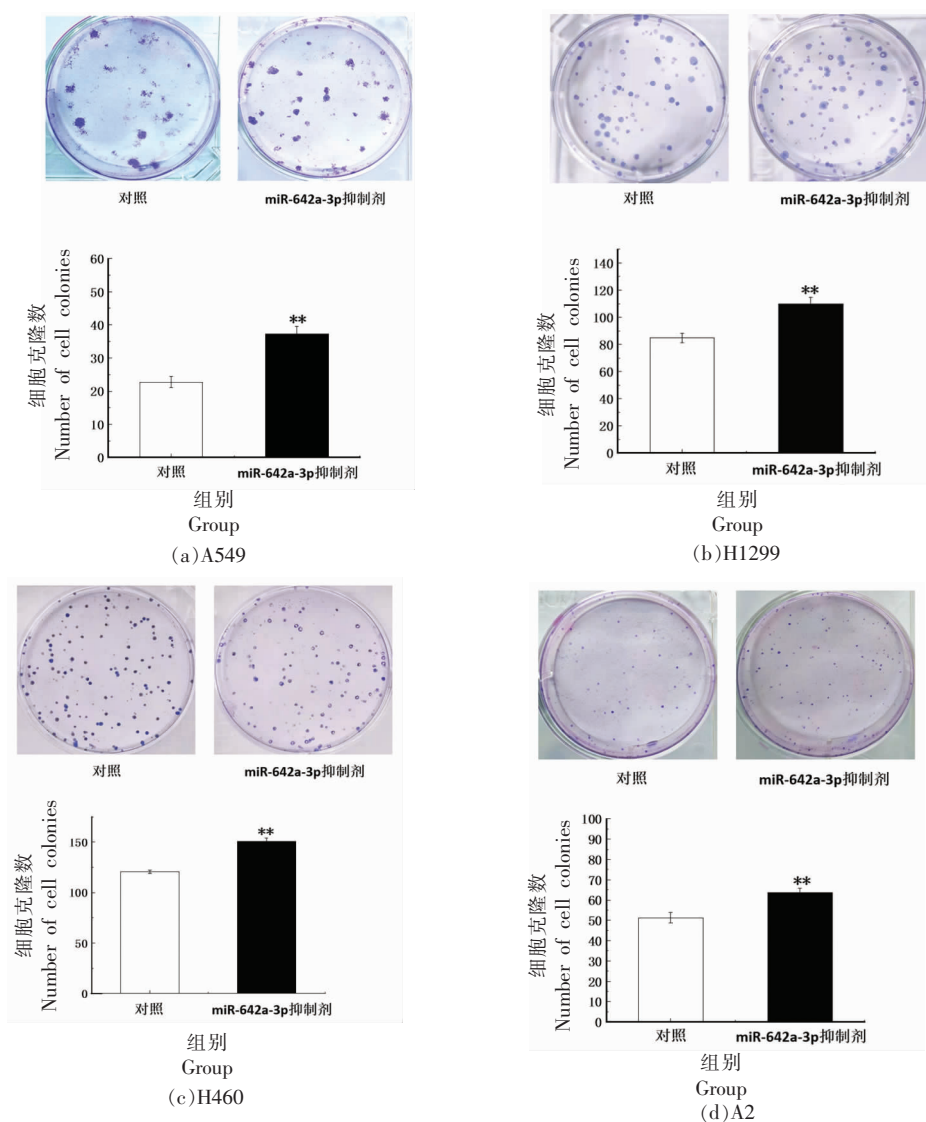
注:\*. 与对照组比差异显著(P<0.05);\*\*. 与对照组比差异极显著(P<0.01)。

图 7 miR-642a-3p 抑制剂对 4 种细胞迁移率的影响

Fig.7 Effects of miR-642a-3p inhibitor on migration rate of four cell migration rates

对细胞的非锚定生长能力检测显示 (图 8), 抑制 miR-642a-3p 的表达后, A549、H1299 和 A2 细胞的集落形成数量出现了显著增加, 而 H460 细胞的克隆数量虽有一定增加, 但没有显著差异。这一结果也进一步说明 miR-642a-3p 对 NSCLC 细胞的体外非锚定生长能力具有明显的调控效应。

综上所述, 采用抑制 miR-642a-3p 的表达能够在一定程度上显著增加多种 NSCLC 细胞的体外生长、迁移和非锚定生长能力, 这些结果与 miR-642a-3p 的过表达结果趋势相反, 是对 miR-642a-3p 结果的进一步证实, 也表明藻蓝色素能够通过上调 miR-642a-3p 的表达而抑制 NSCLC 细胞的活性。



注:\*. 与对照组比差异显著( $P < 0.05$ );\*\*. 与对照组比差异极显著( $P < 0.01$ ).

图8 miR-642a-3p抑制剂对4种细胞克隆数的影响

Fig.8 Effects of miR-642a-3p inhibitor on the number of colonies of four types of cells

### 3 讨论与结论

肿瘤是一种基因疾病,单核苷酸突变、拷贝数变异、插入/缺失等均会造成细胞内DNA序列的改变从而引发肿瘤,因此肿瘤发生、发展跟基因的改变息息相关。肿瘤的发生与死亡率与日俱增,严重威胁到人类健康,近年来,随着医学生物技术的改进,高通量测序成为搜寻肿瘤标志物的有力工具。通过细胞测序可以获得大量信息,从而揭示肿瘤细胞与基因结构和基因表达状态之间的特殊关系,成为肿瘤治疗中新方向<sup>[15]</sup>。肺癌在我国癌症中

的发病率和死亡率居高不下,非小细胞肺癌占比约85%,对于已经进入肺癌中晚期的患者来说传统的手术和化疗并不能有效提高生存率,因此靶向治疗非小细胞肺癌细胞就成了突破口,探索NSCLC进展的潜在机制,寻找潜在的预后生物标志物和治疗靶点势在必行<sup>[16]</sup>。

microRNA是一种不编码蛋白质的微小RNA,在肿瘤细胞中起到关键调控功能,在具有广泛配对互补的位点上,microRNA可以通过与其靶向的mRNA直接结合,催化mRNA的裂解从而抑制蛋



白质的翻译过程<sup>[17]</sup>。许多 microRNA 通过靶向 mRNA 参与肿瘤的发生发展过程,如增殖分化等,这一发现可能成为癌症治疗干预的研究新方向<sup>[18]</sup>。microRNA 的这一机制现已在胃癌<sup>[19]</sup>、甲状腺癌<sup>[20]</sup>、肝癌<sup>[21]</sup>、肺癌<sup>[22]</sup>等多种肿瘤中被发现,并证实其对肿瘤的发生发展存在调控作用。

前期的研究通过转录组学筛选出一个潜在的调控因子 miR-642a-5p,藻蓝色素能够上调 miR-642a-5p 的表达从而抑制 NSCLC 细胞的生长和迁移<sup>[23]</sup>。本研究发现 miR-642a-3p 同样介导了藻蓝色素的调控过程。miR-642a-5p 和 miR-642a-3p 是 miRNA-642a 前体上 2 个臂分别产生的 2 条成熟 miRNA,它们的碱基序列和细胞中的靶位点是不同的,因此具有不同的调控功能和机制。本研究的结果证实 miR-642a-3p 和 miR-642a-5p 都能够参与藻蓝色素抑制 NSCLC 细胞活性的过程,这也是对藻蓝色素调控机制的进一步补充和完善。

综上所述,本研究首先在 4 种 NSCLC 细胞(A549、H460、H1299 以及 A2)中验证了 miR-642a-3p 的表达水平受到藻蓝色素的调控,并通过在 4 种细胞中过表达 miR-642a-3p,测定细胞增殖能力、迁移以及体外非锚定生长能力,发现上调 miR-642a-3p 的表达能够显著抑制细胞的活性,与藻蓝色素的作用结果一致;相反,抑制 miR-642a-3p 的表达也能在一定程度上增强细胞的活性。本研究表明藻蓝色素能够通过上调 miR-642a-3p 的表达进而抑制 NSCLC 细胞的活性,这为食品功能因子藻蓝色素的深度研究和利用提供了重要的理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] 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—a Cancer Journal for Clinicians*, 2018, 68(6): 394–424.
- [2] 王宁, 刘硕, 杨雷, 等. 2018 全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2019, 5(1): 87–97. WANG N, LIU S, YANG L, et al. Interpretation on the report of Global Cancer Statistics 2018[J]. *Journal of Multidisciplinary Cancer Management*, 2019, 5(1): 87–97.
- [3] RUIZ-CORDERO R, DEVINE W P. Targeted therapy and checkpoint immunotherapy in lung cancer[J]. *Surgical Pathology Clinics*, 2020, 13(1): 17–33.
- [4] ZHANG J, ZOU N, SUN D H, et al. A summary of the document on anticancer activity of Spirulina component [J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(14): 212–216.
- [5] LISSI E A, PIZARRO M, ASPEE A, et al. Kinetics of phycocyanine bilin groups destruction by peroxyl radicals[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 28(7): 1051–1055.
- [6] ROMAY C, ARRESTO J, REMIREZ D, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae[J]. *Inflammation Research*, 1998, 47(1): 36–41.
- [7] YING J, WANG J, JI H J, et al. Transcriptome analysis of phycocyanin inhibitory effects on SKOV-3 cell proliferation[J]. *Gene*, 2016, 585(1): 58–64.
- [8] 李爽, 郝帅, 王静, 等. 藻蓝蛋白对非小细胞肺癌 H1299 生长、迁移和凋亡的功能影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(12): 278–284. LI S, HAO S, WANG J, et al. Functional research of phycocyanin on the proliferation, migration and apoptosis of non-small cell lung cancer H1299 cells [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(12): 278–284.
- [9] 闫燕, 郝帅, 李爽, 等. 藻蓝蛋白对肺癌 LTP-a-2 细胞的体外功能 [J]. *中国食品学报*, 2018, 18(8): 24–32. YAN Y, HAO S, LI S, et al. The *in vitro* functional of phycocyanin on lung cancer LTP-a-2 cells[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(8): 24–32.
- [10] 郝帅, 李凡念, 刘媛璞, 等. 藻蓝色素调控 RIPK1 对多种非小细胞肺癌细胞活性的影响[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(2): 18–27. HAO S, LI F N, LIU Y P, et al. Effects of phycocyanin regulating RIPK1 on the activities of multiple non-small cell lung cancer cells[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(2): 18–27.
- [11] AMBROS V. The functions of animal microRNAs[J]. *Nature*, 2004, 431(7006): 350–355.
- [12] 狄奕成, 宋勇, 马兴群, 等. LINC00680 通过靶向 miR-195-5p 调控 IL-17 诱导的肺癌细胞增殖、迁移

- 和侵袭[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(2): 248-256.
- DI Y C, SONG Y, MA X Q, et al. LINC00680 regulates IL-17-induced proliferation, migration and invasion of lung cancer cells by targeting miR-195-5p[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2022, 44(2): 248-256.
- [13] 万启飞, 朱晓明, 李基伟, 等. miR-142-3p 靶向调控 *RHOBTB3* 基因对肺癌 A549 细胞增殖能力的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2022, 36(3): 237-241.
- WAN Q F, ZHU X M, LI J W, et al. Influence of miR-142-3p targeting *RHOBTB3* on the proliferation ability of lung cancer A549 cells[J]. Journal of Chinese Practical Diagnosis and Therapy, 2022, 36(3): 237-241.
- [14] QIN X B, YU S R, XU X Y, et al. Comparative analysis of microRNA expression profiles between A549, A549/DDP and their respective exosomes[J]. Oncotarget, 2017, 8(26): 42125-42135.
- [15] LI Q Q, WANG R, YANG Z L, et al. Molecular profiling of human non-small cell lung cancer by single-cell RNA-seq[J]. Genome Medicine, 2022, 14(1): 87.
- [16] LI C, TIAN C, ZENG Y L, et al. Machine learning and bioinformatics analysis revealed classification and potential treatment strategy in stage 3-4 NSCLC patients[J]. BMC Medical Genomics, 2022, 15(1): 33.
- [17] BARTEL D P. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions[J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233.
- [18] KUMAR M S, ERKELAND S J, PESTER R E, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(10): 3903-3908.
- [19] HAO B, ZHU W. Exosomal miRNA-455 from bone marrow stromal cells (BMSCs) promotes macrophage phagocytosis and restrains progression of gastric cancer (GC)[J]. Journal of Biomaterials and Tissue Engineering, 2022, 12(3): 558-563.
- [20] 李勇, 郭敏, 康英英. MicroRNA 在甲状腺癌中的研究进展[J]. 中华全科医学, 2022, 20(2): 298-301, 351.
- LI Y, GUO M, KANG Y Y. Research progress of microRNA in thyroid cancer[J]. Chinese Journal of General Practice, 2022, 20(2): 298-301, 351.
- [21] 卞知玄, 潘秋辉. microRNA 海绵沉默人肝癌和骨肉瘤细胞中 microRNA-122 肿瘤抑制功能的研究[C/OL]. 2021 年中国肿瘤标志物学术大会暨第十五届肿瘤标志物青年科学家论坛论文集, (2021-12-10) [2022-05-03]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=xzY5Ip\\_Them6e3SNTvuYBhzJ\\_-R\\_CQDkS1Eli1B1Avz7BrE0Ak7l9dMkBdVErD\\_MS\\_jSRyZK-nhoQzrnX5rLLexiXXrRbb5zWGKEIP73JRWrpmJM20jmEIwDjdef2laZ6X&uniplatform=NZKPT](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=xzY5Ip_Them6e3SNTvuYBhzJ_-R_CQDkS1Eli1B1Avz7BrE0Ak7l9dMkBdVErD_MS_jSRyZK-nhoQzrnX5rLLexiXXrRbb5zWGKEIP73JRWrpmJM20jmEIwDjdef2laZ6X&uniplatform=NZKPT).
- BIAN Z X, PAN Q H. microRNA sponge silencing microRNA-122 tumor suppressor in human hepatoma and osteosarcoma cells [C/OL]. Proceedings of the 2021 China Tumor Markers Academic Conference and the 15<sup>th</sup> Cancer Markers Young Scientists Forum, (2021-12-10)[2022-05-03]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=xzY5Ip\\_Them6e3SNTvuYBhzJ\\_-R\\_CQDkS1Eli1B1Avz7BrE0Ak7l9dMkBdVErD\\_MS\\_jSRyZK-nhoQzrnX5rLLexiXXrRbb5zWGKEIP73JRWrpmJM20jmEIwDjdef2laZ6X&uniplatform=NZKPT](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=xzY5Ip_Them6e3SNTvuYBhzJ_-R_CQDkS1Eli1B1Avz7BrE0Ak7l9dMkBdVErD_MS_jSRyZK-nhoQzrnX5rLLexiXXrRbb5zWGKEIP73JRWrpmJM20jmEIwDjdef2laZ6X&uniplatform=NZKPT).
- [22] TUO Z N, LIANG L, ZHOU R M. LINC00852 is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer patients and its inhibition suppresses cancer cell proliferation and chemoresistance via the hsa-miR-145-5p/KLF4 axis [J]. Journal of Gene Medicine, 2021, 23(12): e3384.
- [23] 郝帅, 李爽, 刘媛璞, 等. 藻蓝色素蛋白通过调控 miR-642a-5p 抑制 LTEP-a2 细胞的增殖和迁移[J]. 北京理工大学学报, 2021, 41(8): 886-893.
- HAO S, LI S, LIU Y P, et al. Regulating miR-642a-5p for phycocyanin to inhibit proliferation and migration of LTEP-a2 cells[J]. Transactions of Beijing Institute of Technology, 2021, 41(8): 886-893.

### The Regulation Function of miR-642a-3p on the Inhibitory Activity of Non-small Cell Lung Cancer Mediated by Phycocyanin

Li Qiancheng, Hao Shuai\*, Li Shuang, Liu Yuanpu, Li Fannian, Yang Qi, Zhang Wenjing

(Key Laboratory of Geriatric Nutrition and Health (Beijing Technology and Business University), Ministry of Education,

*Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, School of Food and Health,  
Beijing Technology and Business University, Beijing 100048)*

**Abstract** Phycocyanin (PC) is a kind of natural pigment protein complex derived from marine algae. It is also a type of important food functional factor with anti-cancer, anti-inflammatory, and immune-enhancing activities, and has been widely used in functional food, medicine and cosmetics. Phycocyanin has been proven to inhibit the activity of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells, but the underlying regulatory mechanism is not fully understood. This study focused on miR-642a-3p, and investigated the potential regulating mechanism of phycocyanin in NSCLC cells. The results showed that phycocyanin upregulated the expression level of miR-642a-3p in four NSCLC cells (A549, H1299, H460 and LTEP-a2). Overexpression of miR-642a-3p levels significantly inhibited the proliferation, migration and unanchored growth of four cells *in vitro*. In addition, transfection of miRNA inhibitors to interfere with the expression of miR-642a-3p could enhance cell viability to a certain extent. This study preliminarily revealed that the up-regulation expression of miR-642a-3p was involved in the regulation of inhibiting NSCLC cell viabilities by phycocyanin, which could lay a scientific theoretical basis for the in-depth study and utilization of phycocyanin.

**Keywords** phycocyanin; miR-642a-3p; non-small cell lung cancer; cell viability