

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.07.003

miR-125a-3p 调控人结肠癌细胞浸润转移的作用及机制研究*

万晓龙¹ 赵楠^{2a} 景鹏瑞³ 鲁晓岚¹ 董水滢¹ 史海涛¹

(1 西安交通大学第二附属医院消化科 陕西 西安 710004; 2 西安医学院公共卫生系 陕西 西安 710021;

3 山西医科大学晋祠学院临床医学系 山西 太原 030025)

摘要 目的:探讨 miR-125a-3p 在结肠癌细胞浸润与转移中的作用及其可能机制。**方法:**通过 qRT-PCR 方法检测 miR-125a-3p 在结肠癌细胞及组织样本中的表达;在结肠癌细胞过表达或沉默 miR-125a-3p 后,通过平板克隆实验、MTT 实验、划痕实验、Transwell 实验检测结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的变化;采用 Western blot 方法检测 miR-125a-3p 过表达后相关标志分子的表达水平变化情况。**结果:**miR-125a-3p 在结肠癌细胞及组织呈现异常低表达;过表达 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞 HCT116 及 SW480 的增殖能力;过表达或沉默 miR-125a-3p 分别抑制或增强结肠癌细胞的迁移与侵袭能力;过表达 miR-125a-3p 在 mRNA 及蛋白水平均能够显著抑制 Snail、N-cadherin 及 Vimentin 的表达,而增加 E-cadherin 的表达。**结论:**miR-125a-3p 参与调节结肠癌细胞浸润与转移,其机制可能是通过调控上皮间质转化途径介导的。

关键词:结肠癌;肿瘤进展;转移;miR-125a-3p;上皮间质转化

中图分类号:R-33;R735.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)07-1212-05

Effect and Mechanism of miR-125a-3p on the Infiltration and Metastasis of Human Colon Cancer Cells*

WAN Xiao-long¹, ZHAO Nan², JING Peng-rui³, LU Xiao-lan¹, DONG Shui-ying¹, SHI Hai-tao¹

(1 Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China;

2 Department of Public Health, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710021, China;

3 Department of clinical medicine, Jinci College of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi, 030025, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect and mechanism of miR-125a-3p on the infiltration and metastasis of colon cancer cells. **Methods:** The expression of miR-125a-3p in colon cancer cells and tissue samples were detected by qRT-PCR. The miR-125a-3p expression in the colon cancer cells was overexpressed or down-regulated, then the effects of miR-125a-3p on the proliferation, migration and invasion of colon cancer cells were detected by colony formation assay, cell proliferation assay, wound healing assay and transwell arrays. The expressions of epithelial-mesenchymal transition (EMT) related markers were detected by Western blot after miR-125a-3p-overexpressed colon cancer cells. **Results:** The expression of miR-125a-3p was significantly down-regulated in both colon cancer cells and tissues. Overexpression of miR-125a-3p inhibited the proliferation of colon cancer cells HCT116 and SW480. Overexpression or silence of miR-125a-3p inhibited or enhanced the migration and invasion of colon cancer cells respectively. In miR-125a-3p-overexpressed colon cancer cells, the expression of the Snail, N-cadherin and Vimentin were significantly decreased, whereas E-cadherin expression was increased in both mRNA and protein levels. **Conclusions:** miR-125a-3p participated in regulating the migration and invasion of colon cancer cells. The mechanism may be mediated by regulating the EMT pathway.

Key words: Colorectal cancer; Infiltration; Metastasis; miR-125a-3p; Epithelial mesenchymal transition

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R735.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)07-1212-05

前言

结肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球最常见的胃肠道恶性肿瘤之一,也是世界上癌症致死的第三大原因^[1,2],复发与转移是结肠癌患者死亡的主要原因^[3]。研究显示大约 50%的结肠

癌确诊患者死于肿瘤复发与转移^[4]。尽管近年来包括靶向治疗在内的综合治疗应用于临床,但患者 5 年生存率一直保持在 60%,并没有显著的提高^[5]。因此,寻找关于结肠癌患者疾病进展的有效预测因子或治疗靶点对提高患者疗效具有重要的意义。

miRNA 是一类长度约 18-25nt 的小非编码单链 RNA,可

* 基金项目:陕西省科学技术研究发展计划项目(2016SF-009)

作者简介:万晓龙(1971-),男,本科,主治医师,研究方向:消化道肿瘤浸润和转移机制的研究,电话:18591928685, E-mail: wanxl12123@sina.cn

△ 通讯作者:赵楠,女,硕士,讲师,研究方向:癌症患者肿瘤进展及其对生活质量的的影响, E-mail: zhaonanxiyi163@163.com

(收稿日期:2017-08-17 接受日期:2017-08-31)

结合于 mRNA 的 3'UTR 区并抑制靶基因转录或者激活 mRNA 降解,进而调节靶基因表达。miRNA 通常作为一类负性调控因子参与细胞增殖、分化、代谢、凋亡、侵袭及迁移等多种细胞进程^[67]。miR-125a-3p 在前列腺癌、乳腺癌及肝癌等多种肿瘤的发生中发挥重要作用^[8-10]。然而,miR-125a-3p 对结肠癌的进展是否存在调控作用尚不明确。因此,本研究主要探讨了 miR-125a-3p 在结肠癌组织的表达及其对结肠癌细胞迁移和侵袭能力的调控作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 细胞及组织样本

人结肠癌细胞系 HCT116、SW480、SW620、HT29、Colo205、LoVo、HCT15 和 LS174T 均来源于中国医学科学院肿瘤细胞库。所有细胞按照说明使用含有 10%标准胎牛血清(FBS)的 RPMI1640 或者 DMEM 培养液,常规培养于含 5% CO₂ 的 37℃ 恒温培养箱,0.25%胰酶消化传代。15 例原发性结肠癌组织及其配对的正常粘膜组织来源于西安交通大学第二附属医院手术患者,且均为病理确诊病例。

1.2 细胞转染

HCT116、SW480 及 SW620 细胞分别种植于 6 孔板,待细胞密度达到 50%-60%时,更换相应的无血清培养液,采用 lipo-fectamine-2000 将相应模拟序列或者干扰序列按照转染试剂操作说明分别转染与相应结肠癌细胞,转染 6 h 后换为含血清培养基继续培养。miR-125a-3p 的特异性干扰序列、模拟序列(mimics)及相应对照序列均购自北京奥科公司。miR-125a-3p mimics: 5'-ACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCC-3'; miR-NC mimics: 5'-UUCUCCGAACGU GUCACGUTT-3'。

1.3 实时定量 PCR(qRT-PCR)

结肠癌细胞及肿瘤组织总 RNA 使用 Trizol (Invitrogen 公司)提取,具体步骤参考操作说明,包括室温裂解、氯仿沉降、异丙醇沉淀、75%酒精洗涤、DEPC 水溶解及纯度和浓度检测,冻至 -80℃ 备用。按照 TaqMan miRNA reverse transcription kit 逆转录系统对相应总 RNA 进行反转录合成 cDNA。使用 ABI7500 实时定量 PCR 仪,以 U6 位内参对比,检测 miRNA 的表达水平。引物序列如下:miR-125a-3p, F: 5'-ACACTCCAGCTGGGACAGGTGAGGTTCT TG-3'; R: 5'-CTCAACTGGTGTCTGCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGGC TCCCA-3'; U6, F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'; R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; Snail, F: 5'-AAGATGCACATCCGAAGCCA-3'; R: 5'-CAAAAACCCACGCAGACAGG -3'; E-cadherin, F: 5'-GCCGAGCCCTGCCACCCTG-3'; R: 5'-CTTCTGTAGGTGGAGTCCC-3'; N-cadherin, F: 5'-GGAATCCCGCCTATGAGTGG -3'; R: 5'-CGTCTAGCCGTCTGATTCCC-3'; GAPDH, F: 5'-GCGAGACCCCACTAACATCA-3'; R: 5'-GAGTTGGGATAGGGCCTCTCTT-3'。

1.4 Western blot 实验

提取结肠癌总蛋白并采用 BCA 法测定样品蛋白浓度,将蛋白质样品与上样缓冲液混合后经 SDS-PAGE 电泳分离,转膜到 NC 膜(Millipore),5%脱脂奶粉封闭 1.5 h,相应一抗 4℃ 孵育过夜,HRP 标记的二抗孵育 1 h,化学发光显影(Millipore),采

用 Image J 软件测定各蛋白条带的灰度值,分别以各条带与 β -actin 吸光度的比值计算蛋白质的表达丰度。

1.5 平板克隆及 MTT 实验

平板克隆实验:6 孔板每个小孔种植 50 个细胞并轻轻晃动,使细胞分散均匀。置于 37℃ 5% CO₂ 细胞培养箱中培养 2 周后终止培养。4%多聚甲醛固定细胞,GIMS A 染色液染色,室温风干,计数克隆。MTT 实验:于 96 孔板每孔接种 2×10^3 结肠癌细胞,常规培养,于第 1 至第 6 天,每 24 h 取 1 块 96 孔板终止培养并加入 MTT 溶液(5 mg/mL),每孔加 20 μ L,避光孵育 4 h,弃孔内上清液,每孔加入 100 μ L DMSO 充分融解结晶物,在酶联免疫检测仪 490 nm 处测量各孔的吸光值。

1.6 划痕实验及 Transwell 实验

划痕实验:将细胞种植培养在六孔板,待细胞贴壁融合后,用 sterile pipette 枪头沿直线做划痕,PBS 冲洗去除漂浮细胞。划痕后无血清培养基培养 48h,分别在不同时间点(0 h、48 h)通过显微镜及 Image-Pro Plus 软件观察、拍照、记录划痕宽度值。Transwell 实验:Transwell 小室上室面不包被或包被(Migration 实验及 Invasion 实验) Matrigel 基质胶(BD, Biosciences),于每个小室上室内种植结肠癌细胞于无血清培养基悬浮液 200 μ L,细胞数为 1×10^5 ,每个 Transwell 下室内加入含 10%胎牛血清细胞培养基 600 μ L,常规培养 48 h 后苏木素染色液染色并擦去微孔膜上室面的细胞,倒置显微镜 200 $\times$ 视野下计数透过基底膜的细胞数并拍照。

1.7 统计学分析

采用 SPSS19.0 及 Graphpad prism 5.01 进行统计分析与作图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数比较采用 t 检验,多组均数比较采用单因素方差分析。所有 P 值均采用双尾检验,P<0.05 认为差异有统计学意义。* 表示 P<0.05;** 表示 P<0.01。

2 结果

2.1 miR-125a-3p 在结肠癌细胞及组织中呈显著低表达

qRT-PCR 方法检测 miR-125a-3p 在多种结肠癌细胞系的表达,结果显示与正常结肠表皮细胞系 NCM460 (1.000 ± 0.0692 , n=3) 相比,miR-125a-3p 在多个结肠癌细胞系,如 HCT116 (0.505 ± 0.067 , n=3, P=0.0068)、SW480 (0.355 ± 0.071 , n=3, P=0.0029)、SW620 (0.728 ± 0.050 , n=3, P=0.0335)、HT29 (0.304 ± 0.058 , n=3, P=0.0015)、Colo205 (0.499 ± 0.0766 , n=3, P=0.0083)、LoVo(0.206 ± 0.050 , n=3, P=0.0008)、HCT15(0.514 ± 0.110 , n=3, P=0.0201)、LS174T (0.3684 ± 0.06908 , n=3, P=0.0030)中均呈现低表达,差异具有统计学意义(图 1A)。此外,我们通过 qRT-PCR 方法进一步检测 miR-125a-3p 在结肠癌组织中的表达,结果显示 15 例结肠癌患者中,73.33%的结肠癌组织(Tumor, T)中 miR-125a-3p 的表达显著低于相应正常癌旁组织(Normal, N)(图 1B)。以上结果提示 miR-125a-3p 在结肠癌细胞或者组织呈异常低表达。

2.2 过表达 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞的增殖能力

我们首先在结肠癌细胞 HCT116 及 SW480 中转染 miR-125a-3p 模拟物(miR-125a-3p mimics),24 h 后通过 qRT-PCR 检测发现 miR-125a-3p 在细胞 HCT116 及 SW480 呈现过表达(图 2A)。通过平板克隆实验观察 miR-125a-3p 对结肠

癌细胞增殖能力的影响。如图 2B-C 所示,miR-125a-3p 过表达的结肠癌细胞 SW480 克隆形成能力较 miR-NC 过表达对照组明显降低。这表明过表达 miR-125a-3p 显著抑制结肠癌细胞的克隆形成能力。此外,进一步通过 MTT 实验观察发现过表达 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞 HCT116 的生长,差异具有统计学意义(图 2D)。

2.3 miR-125a-3p 调节结肠癌细胞的迁移和侵袭能力

在结肠癌细胞 HCT116 及 SW480 过表达 miR-125a-3p(图 2A),划痕实验结果显示经过 48 h 无血清培养后 miR-125a-3p 过表达组结肠癌 SW480 细胞划痕宽度较 0 h 相比无明显差异,而 miR-NC 组结肠癌细胞划痕宽度明显减小,且 48 h 培养后 SW480 细胞划痕宽度在 miR-125a-3p 过表达组大于 miR-NC 对照组,差异具有统计学意义(图 3A-B)。我们进一步采用 siRNA 对结肠癌细胞 HCT116 进行 miR-125a-3p 基因表达沉默,观察抑制 miR-125a-3p 基因是否有效结肠癌细胞的迁移和侵袭能力。经过 48h 无血清培养后划痕实验结果显示沉默 miR-125a-3p 显著增加了结肠癌 SW620 细胞的划痕修复能力,且较对照组相比差异具有统计学意义(图 3A-B)。

此外,通过 Transwell 实验(包括 Migration 实验及 Invasion 实验)观察 miR-125a-3p 过表达对结肠癌细胞迁移和侵袭能力的影响。结果显示:过表达 miR-125a-3p 后穿过 Transwell 小室底膜(未包被或包被 Matrigel 基质胶)的结肠癌细胞较对照组(过表达 miR-NC)数量明显减少,差异具有统计学意义(图 3C-D)。这些结果表明 miR-125a-3p 可抑制结肠癌细胞 HCT116 的迁移及侵袭能力。

2.4 miR-125a-3p 调控 EMT 标志分子的表达

为研究 miR-125a-3p 调控结肠癌细胞侵袭和转移的具体作用机制,我们进一步通过 qRT-PCR 和 Western blot 方法检测 miR-125a-3p 是否影响 EMT 相关标志分子的表达。首先,在结肠癌细胞 HCT116 中过表达 miR-125a-3p(图 2)。qRT-PCR 结果提示 miR-125a-3p 过表达显著抑制 Snail、N-cadherin 及 Vimentin 的 mRNA 表达,而增加 E-cadherin 的 mRNA 表达(图 4A)。在蛋白水平,miR-125a-3p 过表达同样增加 E-cadherin 的表达丰度,而抑制 Snail、N-cadherin 及 Vimentin 的表达丰度(图 4B)。而关于其他 EMT 相关标志分子(Slug、 β -catenin、MMP2 及 MMP9)的表达变化,我们未检测到(数据未呈现)。

3 讨论

目前,早期结肠癌的治疗主要以手术为主,晚期结肠癌则以化疗为主结合其他辅助治疗。晚期结肠癌一直维持较高死亡率主要是由于转移以及对化疗药物产生耐药所致。因此,如何高效便捷预测结肠癌进展及寻找有效的治疗靶点具有重要的临床意义。

肿瘤发生转移是在结肠癌的重要标志之一,而上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal-transformation,EMT)在肿瘤转移过程中起着举足轻重的作用。EMT 是指上皮表型细胞到间质表型细胞的生物学转换过程。在此过程中上皮细胞失去极性,进而脱离与基底膜的连接,获得较高的迁移、侵袭以及降解细胞外基质的能力^[11-13]。EMT 是上皮细胞源性恶性肿瘤细胞获得迁移、侵袭能力的重要生物学过程之一^[11]。因此,阐明调控

结肠癌细胞发生 EMT 的分子机制,明确其在结肠癌进展中的病理意义,并探索高效的结肠癌转移预测分子标志物进而靶向抑制 EMT 过程的治疗手段是目前研究热点,也是本课题的研究目标。

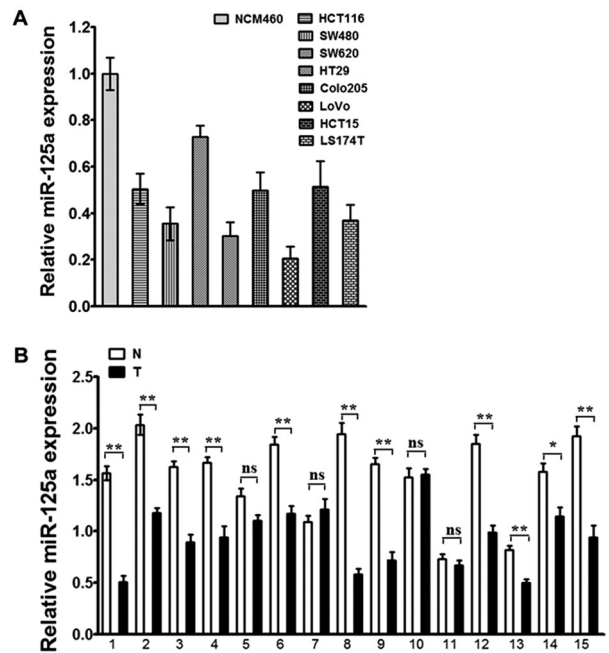


图 1 qRT-PCR 检测 miR-125a-3p 在不同结肠癌细胞系(A)及结肠癌组织样本(B)中的表达

Fig.1 Expressions of miR-125a-3p in different colorectal cancer cell lines and tissue samples. A. miR-125a-3p expression in normal colonic mucosa cells and different colorectal cancer cells were detected by qRT-PCR. B. miR-125a-3p expression in colorectal cancer clinical tissue samples and corresponding normal tissues were detected by qRT-PCR. *P<0.05; **P<0.01; ns: no significantly.

miRNA 的前体和成熟体具有高度保守性^[6,7,14],在动物和植物中广泛表达,并且具有抑制靶 mRNA 转录、翻译或者能够剪切靶 mRNA 并促进其降解的功能^[15,16]。因此,miRNA 被认为在基因表达调控及细胞进程中发挥重要作用^[14,17,18]。为了能够发现在结肠癌进展过程中发挥重要调控作用的 miRNA,前期我们通过 PicTar (<http://www.pictar.org>)、Target Scan (<http://www.targetscan.org>)、miRanda (<http://www.microrna.org>) 预测发现 miR-125a-3p 对转录因子 Snail 可能有调控作用。通过 qRT-PCR 检测多个结肠癌细胞系以及 15 例病理确诊的结肠癌患者组织及其对应正常组织中 miR-125a-3p 的表达,结果显示不论在结肠癌细胞或组织 miR-125a-3p 呈现普遍异常低表达。这表明 miR-125a-3p 异常低表达与结肠癌的发生和发展具有显著相关性,miR-125a-3p 在结肠癌的发生与发展过程中可能发挥重要调控作用。在此基础上,在结肠癌细胞中过表达或者沉默 miR-125a-3p,通过划痕实验、Migration 实验及 Invasion 实验研究发现 miR-125a-3p 能够显著抑制结肠癌细胞的迁移及侵袭能力。同时,平板克隆实验及 MTT 生长曲线测定研究提示 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞增殖与生长。综上所述,这些结果表明过表达 miR-125a-3p 不仅阻碍结肠癌细胞的生长,而且抑制结肠癌细胞的迁移与侵袭能力,其在结肠癌进展中发挥重要调控作用。因此,miR-125a-3p 在预测结肠癌进展方面具有潜在的临床价值。

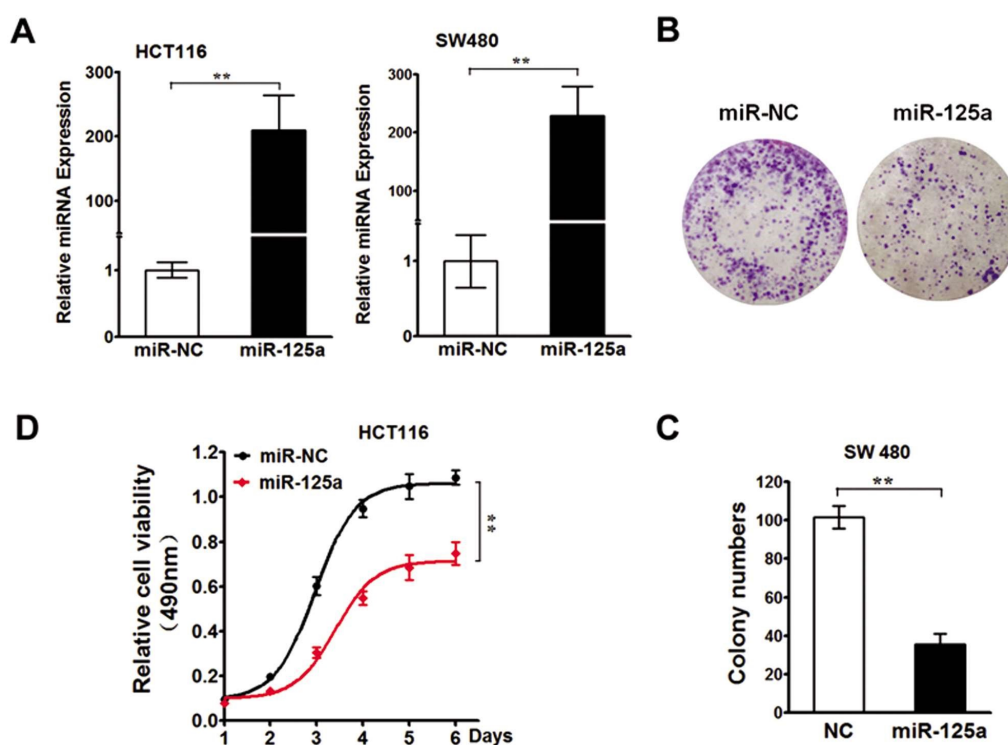


图2 过表达 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞的增殖能力。A:miR-125a-3p 转染 HCT116 及 SW480 细胞后,通过 qRT-PCR 检测发现在 miR-125a-3p 过表达组细胞 miR-125a-3p 表达显著高于对照组(转染 miR-NC)。B&C:细胞平板克隆形成实验表明 miR-125a-3p 过表达组细胞克隆形成数量显著小于对照组(转染 miR-NC)。D:MTT 实验发现 miR-125a-3p 过表达组结肠癌 HCT116 细胞生长能力显著低于对照组 HCT116 细胞(转染 miR-NC)。

Fig. 2 Overexpression of miR-125a-3p inhibited the proliferation of colorectal cancer cells. A. Overexpression of miR-125a-3p in colorectal cancer cells HCT116 and SW480 were detected by qRT-PCR. B&C. Cell colony formation assay suggested that overexpression of miR-125a-3p inhibited colony formation ability of colorectal cancer cell. D. Overexpression of miR-125a-3p inhibited proliferation of colorectal cancer cell compared to the control cells (overexpression of miR-NC). * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

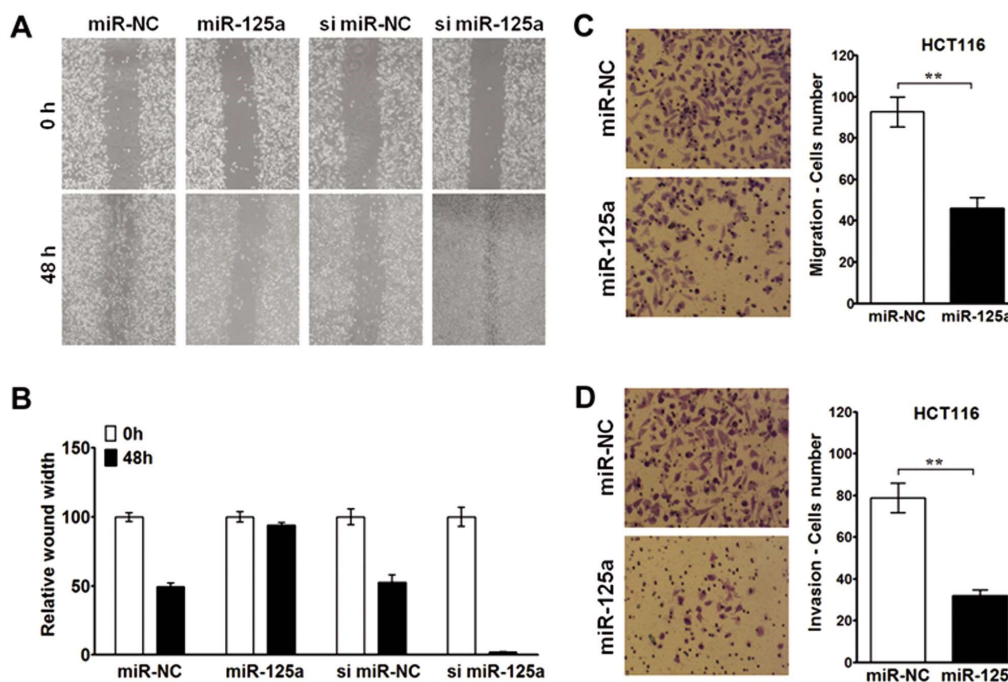


图3 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞的迁移和侵袭能力。A&B:划痕实验结果表明 miR-125a-3p 过表达组结肠癌 SW480 细胞划痕愈合能力显著低于对照组细胞。C&D: Migration 实验及 Invasion 实验表明 miR-125a-3p 过表达组结肠癌 HCT116 细胞迁移及侵袭能力显著低于对照组细胞。

Fig.3 Overexpression of miR-125a-3p inhibited the migration and invasion ability of colorectal cancer cells. A&B. Overexpression of miR-125a-3p inhibited scratch healing ability of colorectal cancer cells. C&D. Overexpression of miR-125a-3p inhibited migration and invasion ability of colorectal cancer cell HCT116. * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

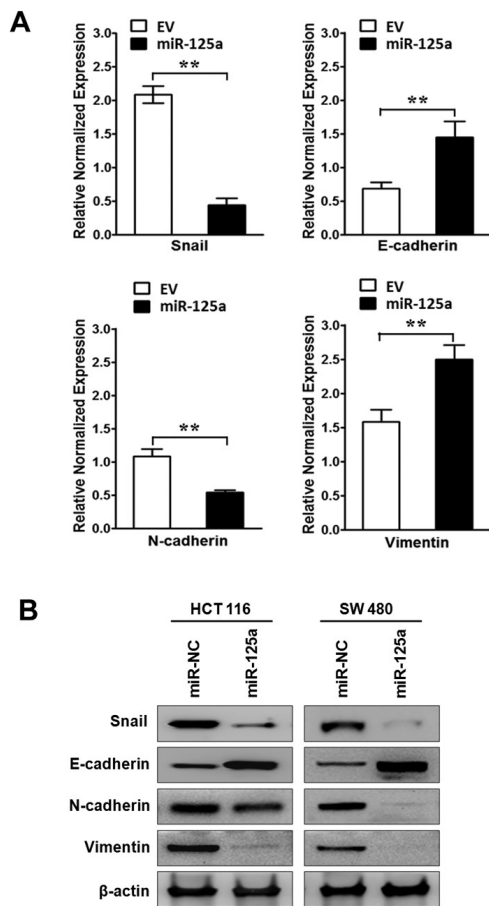


图4 过表达 miR-125a-3p 后,通过 qRT-PCR(A)及 Western blot(B)方法检测 EMT 相关标志分子(Snail、E-cadherin、N-cadherin 及 Vimentin)的表达变化情况。

Fig. 4 After overexpression of miR-125a-3p in HCT116 cells, Snail, E-cadherin, N-cadherin and Vimentin expression were detected by qRT-PCR (A) and Western blot (B). And it showed that the expression of the Snail N-cadherin and Vimentin were significantly inhibited, whereas E-cadherin expression was increased in both mRNA (A) and protein levels (B). *P<0.05, ** P<0.01.

为了进一步验证 miR-125a-3p 对转录因子 Snail 可能的调控作用,我们在结肠癌细胞 HCT116 中过表达 miR-125a-3p 后,通过 qRT-PCR 和 Western blot 方法检测 miR-125a-3p 对 EMT 相关分子表达的影响。研究显示在 mRNA 水平及蛋白水平,miR-125a-3p 均可调控这些 Snail、E-cadherin、N-cadherin 及 Vimentin 的表达,但我们未发现对 Slug、β-catenin、MMP2 及 MMP9 表达的调控作用。在 EMT 中主要特征性的变化有转录因子 Snail 和 Slug 的表达上调,细胞黏附分子(如 E-cadherin)表达的减少,N-cadherin 表达上调,角蛋白为主的细胞骨架转化为波形蛋白(Vimentin)为主的细胞骨架^[11,13,19],MMP2 及 MMP9 表达上调降解细胞外基质^[11,20,21]。miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞发生 EMT 表现在其抑制 Snail、N-cadherin 及 Vimentin 的表达,而增加 E-cadherin 表达。由此可见,miR-125a-3p 通过调控 EMT 相关分子的表达抑制结肠癌细胞迁移与侵袭。因此,特异性表达 miR-125a-3p 在抑制结肠癌转移以及治疗进展期结肠癌患者方面具有重要意义。

综上所述,本研究结果表明 miR-125a-3p 过表达抑制结肠

癌细胞发生 EMT,进而抑制结肠癌细胞的迁移及侵袭能力,同时 miR-125a-3p 在结肠癌细胞及组织呈现异常低表达,过表达 miR-125a-3p 增加结肠癌细胞的体外增殖能力。miR-125a-3p 与结肠癌进展密切相关,其作用机制可能是 miR-125a-3p 抑制结肠癌细胞发生 EMT,但 miR-125a-3p 参与结肠癌进展的具体机制仍需进一步研究证实。

参考文献(References)

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer Statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30
- [2] Song N, Shin A, Park J W, et al. Common risk variants for colorectal cancer: an evaluation of associations with age at cancer onset [J]. Sci Rep, 2017, 7
- [3] Marley A R, Nan, H. Epidemiology of colorectal cancer [J]. Int J Mol Epidemiol Genet, 2016, 7(3): 105-114
- [4] Kolligs F T. Diagnostics and Epidemiology of Colorectal Cancer [J]. Vis Med, 2016, 32(3): 158-164
- [5] Aran V, Victorino A P, Thuler L C, et al. Colorectal Cancer: Epidemiology, Disease Mechanisms and Interventions to Reduce Onset and Mortality [J]. Clin Colorectal Cancer, 2016, 15(3): 195-203
- [6] Shah M Y, Ferrajoli A, Sood A K, et al. microRNA Therapeutics in Cancer - An Emerging Concept[J]. EBioMedicine, 2016, 12(9): 34-42
- [7] Rupaimoole R, Slack F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases [J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(3): 203-222
- [8] Xu X, Lv Y G, Yan C Y, et al. Enforced expression of hsa-miR-125a-3p in breast cancer cells potentiates docetaxel sensitivity via modulation of BRCA1 signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 479(4): 893-900
- [9] Ninio-Many L, Grossman H, Levi M, et al. MicroRNA miR-125a-3p modulates molecular pathway of motility and migration in prostate cancer cells [J]. Oncoscience, 2014, 1(4): 250-261
- [10] Liu J Z, Yin F Y, Yan C Y, et al. Regulation of Docetaxel Sensitivity in Prostate Cancer Cells by hsa-miR-125a-3p via Modulation of Metastasis-Associated Protein 1 Signaling [J]. Urology, 2017, 105: 208.e11-208. e17
- [11] Santamaria P G, Moreno-Bueno G, Portillo F, et al. EMT: Present and future in clinical oncology[J]. Mol Oncol, 2017, 11(7): 718-738
- [12] Jolly M K, Ware K E, Gilja S, et al. EMT and MET: necessary or permissive for metastasis?[J]. Mol Oncol, 2017, 11(7): 755-769
- [13] Terry S, Savagner P, Ortiz-Cuaran S, et al. New insights into the role of EMT in tumor immune escape [J]. Molecular Oncology, 2017, 11(7): 824-846
- [14] Zheng B, Jeong S, Zhu Y, et al. miRNA and lncRNA as biomarkers in cholangiocarcinoma (CCA)[J]. Oncotarget, 2017 [Epub ahead of print]
- [15] Zou Q, Liang Y, Luo H, et al. miRNA-Mediated RNAa by Targeting Enhancers[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 983: 113-125
- [16] Tiwari A, Mukherjee B, Dixit M. MicroRNA Key to Angiogenesis Regulation: miRNA Biology and Therapy [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2017[Epub ahead of print]
- [17] Xue J, Yang J, Luo M, et al. MicroRNA-targeted therapeutics for lung cancer treatment [J]. Expert Opin Drug Discov, 2017, 12(2): 141-157

- terization of human docetaxel resistant breast cancer cell lines [J]. Journal of Third Military Medical University, 2011, 33(21): 2297
- [4] Krek A, Grun D, Poy MN, et al. Combinatorial microRNA target predictions[J]. Nat Genet, 2005, 37(5): 495-500
- [5] Kim SJ, Wang YG, Lee HW, et al. Up-regulation of neogenin-1 increases cell proliferation and motility in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2014, 5(10): 3386-3398
- [6] Ren J, Huang HJ, Gong Y, et al. MicroRNA-206 suppresses gastric cancer cell growth and metastasis[J]. Cell Biosci, 2014, 4: 26
- [7] Li Q, Wang JX, He YQ, et al. MicroRNA-185 regulates chemotherapeutic sensitivity in gastric cancer by targeting apoptosis repressor with caspase recruitment domain[J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1197
- [8] Ishiguro H, Kimura M, Takeyama H. Role of microRNAs in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(19): 5694-5699
- [9] Chen H, Lin YW, Mao YQ, et al. MicroRNA-449a acts as a tumor suppressor in human bladder cancer through the regulation of pocket proteins[J]. Cancer Lett, 2012, 320(1): 40-47
- [10] Chen P, Huang Y, Zhang B, et al. EphA2 enhances the proliferation and invasion ability of Lncap prostate cancer cells [J]. Oncol Lett, 2014, 8(1): 41-46
- [11] Herszenyi L, Tulassay Z. Epidemiology of gastrointestinal and liver tumors[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2010, 14(4): 249-258
- [12] Liu T, Hou L, Huang Y. Ezh2-specific microRNA-98 inhibits human ovarian cancer stem cell proliferation via regulating the prb-e2f pathway[J]. Tumour Biol, 2014, 35(7): 7239-7247
- [13] Iyer G, Milowsky MI. Fibroblast growth factor receptor-3 in urothelial tumorigenesis[J]. Urol Oncol, 2013, 31(3): 303-311
- [14] Tian L, Li M, Ge J, et al. Mir-203 is downregulated in laryngeal squamous cell carcinoma and can suppress proliferation and induce apoptosis of tumours[J]. Tumour Biol, 2014, 35(6): 5953-5963
- [15] Ye W, Xue J, Zhang Q, et al. Mir-449a functions as a tumor suppressor in endometrial cancer by targeting cdc25a[J]. Oncol Rep, 2014, 32(3): 1193-1199
- [16] Ren XS, Yin MH, Zhang X, et al. Tumor-suppressive microRNA-449a induces growth arrest and senescence by targeting e2f3 in human lung cancer cells[J]. Cancer Lett, 2014, 344(2): 195-203
- [17] Hu J, Fang Y, Cao Y, et al. Mir-449a regulates proliferation and chemosensitivity to cisplatin by targeting cyclin d1 and bcl2 in sgc7901 cells[J]. Dig Dis Sci, 2014, 59(2): 336-345
- [18] Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, et al. miRBase: tools for microRNA genomics[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36(Database issue): D154-158
- [19] Zhang S, Yu D. Pi(3)king apart pten's role in cancer[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(17): 4325-4330
- [20] Chen Y, Sun Y, Chen L, et al. Mirna-200c increases the sensitivity of breast cancer cells to doxorubicin through the suppression of e-cadherin-mediated pten/akt signaling [J]. Mol Med Rep, 2013, 7(5): 1579-1584
- [21] Tanic N, Milovanovic Z, Tanic N, et al. The impact of pten tumor suppressor gene on acquiring resistance to tamoxifen treatment in breast cancer patients[J]. Cancer Biol Ther, 2012, 13(12): 1165-1174
- [22] Barbareschi M, Cuorvo LV, Girlando S, et al. Pi3kca mutations and/or pten loss in her2-positive breast carcinomas treated with trastuzumab are not related to resistance to anti-her2 therapy [J]. Virchows Arch, 2012, 461(2): 129-139
- [23] Meunier L, Siddeek B, Vega A, et al. Perinatal programming of adult rat germ cell death after exposure to xenoestrogens: Role of microRNA mir-29 family in the down-regulation of DNA methyltransferases and mcl-1[J]. Endocrinology, 2012, 153(4): 1936-1947
- [24] Ji N, Yuan J, Liu J, et al. Developing multidrug-resistant cells and exploring correlation between bcrp/abcg2 over-expression and DNA methyltransferase[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2010, 42(12): 854-862
- [25] Fletcher CE, Dart DA, Sita-Lumsden A, et al. Androgen-regulated processing of the oncomir mir-27a, which targets prohibitin in prostate cancer[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(14): 3112-3127
- [26] Jeon HS, Lee SY, Lee EJ, et al. Combining microRNA-449a/b with a hdac inhibitor has a synergistic effect on growth arrest in lung cancer [J]. Lung Cancer, 2012, 76(2): 171-176
- [27] Buurman R, Gurlevik E, Schaffer V, et al. Histone deacetylases activate hepatocyte growth factor signaling by repressing microRNA-449 in hepatocellular carcinoma cells [J]. Gastroenterology, 2012, 143(3): 811-820 e811-815
- [28] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120(1): 15-20
- [29] Rivera E, Gomez H. Chemotherapy resistance in metastatic breast cancer[J]. The evolving role of ixabepilone[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(Suppl 2): S2
- [30] Wind NS, Holen I. Multidrug resistance in breast cancer: From in vitro models to clinical studies[J]. Int J Breast Cancer, 2011, 2011: 967419

(上接第 1216 页)

- [18] Srivastav S, Walitza S, Grunblatt E. Emerging role of miRNA in attention deficit hyperactivity disorder: a systematic review [J]. Atten Defic Hyperact Disord, 2017[Epub ahead of print]
- [19] Voon D C, Huang R Y, Jackson R A, et al. The EMT spectrum and therapeutic opportunities[J]. Mol Oncol, 2017, 11(7): 878-891
- [20] Banday M Z, Sameer A S, Mir A H, et al. Matrix metalloproteinase (MMP) -2, -7 and -9 promoter polymorphisms in colorectal cancer in ethnic Kashmiri population - A case-control study and a mini review [J]. Gene, 2016, 589(1): 81-89
- [21] Singh D, Srivastava S K, Chaudhuri T K, et al. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs)[J]. Front Mol Biosci, 2015, 2: 19