

肿瘤发病机制与治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000050

miR-93 反义核苷酸对乳腺癌细胞增殖及凋亡的影响

骆 萍¹, 钟晓鸣², 谢春伟¹

(1. 南昌市第三医院乳腺外科, 南昌 330009; 2. 江西省肿瘤医院乳腺外科, 南昌 330029)

【摘要】目的:研究 miR-93 在乳腺癌组织中的表达情况, 并分析 miR-93 反义核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响。**方法:**运用荧光定量 PCR 定量检测 120 例乳腺癌组织及对应癌旁组织中 miR-93 的表达; 通过 miR-93 ASO 降低乳腺癌细胞中 miR-93 的表达, 利用 MTT、细胞克隆形成实验、流式细胞仪观察 miR-93 ASO 对乳腺癌细胞产生的生物学效应。实验分为 3 组: 空白对照组, 无义干扰组和 miR-93 ASO 组。**结果:**在 120 例乳腺癌病例中, 63.33%(76/120)的乳腺癌组织 miR-93 表达明显高于对应癌旁组织($P<0.05$); miR-93 ASO 可以显著降低 miR-93 的表达($P<0.05$); MTT 实验结果显示乳腺癌细胞转染 miR-93 ASO 24、48 h 和 96 h 后的细胞存活数量均明显低于空白对照组和无义干扰组($P<0.05$); 克隆形成实验结果显示 miR-93 ASO 组克隆形成率比空白对照组和无义干扰组显著降低($P<0.05$); 流式细胞仪检测结果显示转染 miR-93 ASO 组较 2 个对照组细胞凋亡指数明显增加($P<0.05$); 另外, 降低 miR-93 的表达后发现 Bcl2 的 mRNA 和蛋白均明显下降($P<0.05$)。**结论:**miR-93 在乳腺癌组织中表达上调, 降低 miR-93 的表达可有效抑制乳腺癌细胞生长、促进细胞凋亡。miR-93 有可能成为乳腺癌基因表达调控的新靶点。

【关键词】miR-93; 反义核苷酸; 乳腺癌; 细胞增殖; 细胞凋亡

【中图分类号】R735.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-05-04

Effects of miR-93 antisense oligonucleotides on cell proliferation and apoptosis in breast cancer

Luo Ping¹, Zhong Xiaoming², Xie Chunwei¹

(1. Department of Breast Surgery, the Third Hospital in Nanchang; 2. Department of Breast Surgery, Jiangxi Provincial Cancer Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of miR-93 in breast cancer tissues and to explore the regulative effects of miR-93 antisense oligonucleotide (ASO) on the proliferation and apoptosis of breast cancer cells. **Methods:** Expression of miR-93 in 120 breast cancer tissues and their adjacent tissues was detected by real-time quantitative PCR. After transfection with miR-93 ASO, biological effects of miR-93 on breast cancer cells were measured by MTT assay, colony formation experiment and flow cytometry. **Results:** Expression of miR-93 was higher in 63.33%(76/120) breast cancer tissues than in adjacent tissues($P<0.05$). miR-93 ASO could reduce the expression of miR-93 significantly($P<0.05$). MTT assay results showed that breast cancer cells survival rate at 24, 48, 96 h decreased greatly after transfection with miR-93 ASO($P<0.05$). Clone formation assay revealed that colony formation rate was significantly lower in miR-93 ASO group than in blank control group and nonsense interference group($P<0.05$). Flow cytometry indicated that the apoptotic index was significantly higher in miR-93 ASO group than in two control groups($P<0.05$). In addition, Bcl2 mRNA and protein levels were significantly decreased after reducing expression of miR-93. **Conclusions:** miR-93 is overexpressed in the human breast cancer. Reducing expression of miR-93 can effectively inhibit the growth of breast cancer cells and promote apoptosis. miR-93 may become a new target for the regulation of gene expression in breast cancer.

【Key words】miR-93; antisense oligonucleotides; breast cancer; cell proliferation; cell apoptosis

微小 RNA 分子(micro RNA, miRNA)是一种内源性的非编码小分子 RNA, 广泛分布于动植物细胞体内, 大量研究发现 miRNA 在恶性肿瘤细胞的发

生、发展中发挥重要作用, 其中包括调控细胞的增殖、分化和凋亡^[1-2]。近年研究报道, miR-93 在肝癌、结肠癌等组织中表达增高, miR-93 的过表达可能与骨肉瘤细胞的生长和侵袭有关^[3-5]。另外 miR-93 不但可以调控抑癌基因肺癌候选基因 FUS1 的表达, 而且还可以通过整合素 $\beta 8$ (integrin- $\beta 8$) 而参与调控恶性肿瘤的发生发展^[6-7]。然而 miR-93 在乳腺癌

作者介绍: 骆 萍, Email: huaigen@163.com,

研究方向: 乳腺癌的基础和临床。

通信作者: 谢春伟, Email: leizhen6677@163.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000050.html>

中的功能研究尚未见报道。本实验采用荧光定量 PCR 的方法检测 miR-93 在乳腺癌组织中的表达情况,同时设计并利用 miR-93 的反义核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)抑制 miR-93 在乳腺癌细胞中的表达,研究抑制 miR-93 对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响,同时分析其调控的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 临床资料 收集 2006 年 1 月至 2011 年 1 月南昌市第三医院乳腺外科乳腺癌及对应癌旁组织手术标本($n=120$)。所有标本均经病理学检查确诊,均为女性患者,年龄 31~68 岁。所有患者术前均未接受放化疗。

1.1.2 主要试剂 乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞购自中国科学院上海细胞库;TaqMan miRNA 分析试剂盒(美国 ABI 公司);DMEM 高糖培养基(北京博润莱特科技有限公司)、胎牛血清(美国 Hyclone 公司)、脂质体 Lipfectamine™ 2000(美国 Invitrogen 公司);miR-93 ASO(大连宝生物公司);Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒(南京凯基公司);总蛋白提取试剂盒(北京普利莱);鼠抗人 Bcl2 单克隆抗体(美国 santa cruz 公司), β -actin 二抗((北京中杉金桥公司)。

1.2 方法

1.2.1 荧光定量 PCR 检测 miR-93 的表达 采用 RNA 提取试剂提取癌组织及癌旁组织中总 RNA,测定浓度, -80°C 保存。运用 miRNA 分析试剂盒检测 miR-93 的表达。首先取 2 μg 总 RNA 为反应模板与 3 μl 逆转录酶相互混合,反应体系为 20 μl ,反应条件为:16 $^{\circ}\text{C}$ 30 min,45 $^{\circ}\text{C}$ 30 min,85 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。反应结束后,收集 cDNA。采用 SYBR Green 法定量检测,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 15 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,59 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,共 45 个循环,最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。在每个循环的最后增加溶解曲线。阈值定义为基准荧光信号的 10 个标准差,即时循环数为 Ct,依据标准曲线计算目的基因的 mRNA 量。实验重复 3 次。

1.2.2 miR-93 ASO 的设计 获取人 miR-93 的序列(<http://www.sanger.ac.uk/software/Rfam/mirna>),设计其 ASO 序列,运用 NCBI BLAST 检索程序以排除其它的同源序列。另外,同时设计一条无义干扰对照序列,如下所示:反义 miR-93 上游引物序列:5'-AGUCACUAGUGGUCCGUUUA-3',下游引物序列:5'-TAAACGGAACCACTAGTGACT-3',随机序列上游引物序列:5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3',下游引物序列:5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3',送上海英骏生物技术公司合成。

1.2.3 细胞培养和 ASO 转染 将 MCF-7 和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞接种于 10%胎牛血清 DMEM 培养基,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养。运用 Lipfectamine™ 2000 转染试剂盒进行转染,miR-93 ASO 终浓度分别为:50、100、150、200 nmol/L 和 250 nmol/L。本实验组筛选出最佳终干扰浓度为 150 nmol/L。转染后培养时间分别为 24、48、72 h,初步筛出最佳作用时间为 48 h。上述操作重复 3 次。

1.2.4 荧光定量 PCR 检测转染 miR-93 ASO 对 miR-93 表达变化 转染终浓度为 150 nmol/L 的 miR-93 ASO 48 h 后,提取总 RNA,测定浓度,逆转录为 cDNA(反应条件同 1.2.1),测定 cDNA 浓度。运用 microRNA 检测试剂盒检测 miR-93 的表达(具体条件同 1.2.1)。上述操作重复 3 次。

1.2.5 克隆形成实验检测乳腺癌细胞的增殖 实验分为 3 组:空白对照组,无义干扰组和 miR-93 ASO 组。转染乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞后,取对数生长期的细胞接种于 6 孔培养板中,约 400~500 个/孔,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 ,培养 2~3 周。期间观察培养细胞的生长情况,当出现肉眼可见的克隆细胞团时,终止细胞培养。去上清,PBS 漂洗 2 次。固定 20 min,去固定液,加姬姆萨染色液染色 30 min,之后利用 ddH₂O 清洗染色液,干燥后在普通光学显微镜下计算大于 50 个细胞的克隆数,克隆形成率=克隆数/接种细胞数 $\times 100\%$ 。上述操作重复 3 次。

1.2.6 MTT 检测乳腺癌细胞增殖情况 实验分组同 1.2.5,收集各组 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞,将细胞充分打匀,接种于 96 孔培养板(6×10^3 个/孔),24 h 后换液。每组设有 6 个复孔。转染后第 1 天至第 4 天,每孔加入 MTT 试剂(浓度为 5 mg/ml)20 μl ,在 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下继续孵育 4 h。去各孔上清,滴入 DMSO 每孔 150 μl ,在室温摇 10 min,以完全溶解 MTT 结晶。测定各孔吸光值(波长 490 nm)。每组重复 3 次。按下列公式计算细胞生长抑制率(%):细胞生长抑制率=(实验组平均 $A_{490\text{ nm}}$ -对照组平均 $A_{490\text{ nm}})/$ 对照组平均 $A_{490\text{ nm}} \times 100\%$ 。上述操作重复 3 次。

1.2.7 流式细胞仪分析细胞早期凋亡 实验分组同 1.2.5,将乳腺癌细胞接种于 6 孔板中,转染 miR-93 ASO。48 h 后收集细胞,PBS 漂洗 2 次,离心,弃上清。最后运用 Annexin V-FITC 早期凋亡试剂盒和流式细胞仪检测各组细胞的早期凋亡情况。上述操作重复 3 次。

1.2.8 检测各组细胞 Bcl2 mRNA 的表达水平 实验分组同 1.2.5,各组细胞加入裂解液,提取总 RNA,逆转录为 cDNA,运用 SYBR Green Real Time PCR Master Mix 通过荧光定量 PCR 方法检测 Bcl2 的 mRNA 表达。Bcl2 的引物序列为上游:5'-AACTGGGG GAGGATTGTGGC-3';下游:5'-GATCCAGG-TGTGCAGGTGCC-3'。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,40 个循环。以 GAPDH 作为内参。在 ABI7500 反应平台上进行 PCR 反应。

1.2.9 检测各组细胞 Bcl2 蛋白的表达水平 实验分组同 1.2.5,收集各组乳腺癌细胞,运用总蛋白提取试剂盒提取总蛋白,经 10%SDS-PAGE 电泳后转膜,将膜放在含 5%脱脂奶粉的 TBST 缓冲液中 37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 2 h,加一抗稀释液 1:600 稀释鼠抗人 Bcl2 单克隆抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,1 $\times$ TBST 缓冲液 3 次(每次 10 min),加辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠 IgG(1:5 000 稀释),置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h,1 $\times$ TBST 缓冲液 3 次(每次 10 min),运用 ECL 化学发光法检测目的蛋白条带。以 β -actin 作为内参。

1.3 统计处理

采用 SPSS 17.0 统计软件包进行分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,癌及癌旁组织比较采用配对样本 t

检验,多组均数之间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 乳腺癌组织 miR-93 的表达情况

利用荧光定量 PCR 检测 120 例乳腺癌病人癌及癌旁组织中 miR-93 的表达,结果发现:63.33%(76/120)例病例乳腺癌组织 miR-93 的表达明显高于相对应的正常癌旁组织,结果有统计学意义($t=34.66, P<0.05$)(图 1)。

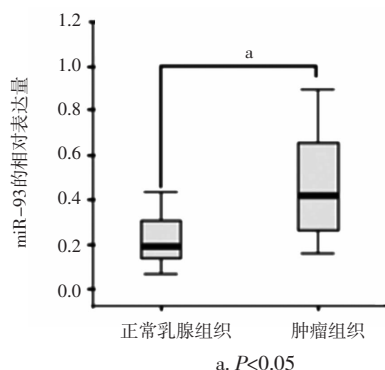


图 1 荧光定量 PCR 检测 120 例病人乳腺癌及对应的癌旁组织 miR-93 的表达的盒须图

Fig.1 Box plot of miR-93 expression in breast cancer and adjacent normal tissues in 120 patients using real-time quantitative PCR

2.2 转染 miR-93 ASO 后对 miR-93 表达的影响

荧光定量 PCR 方法检测结果发现:MCF-7 细胞转染 miR-93 ASO 组 miR-93 的相对表达量(0.16 ± 0.04)较空白对照组(0.41 ± 0.09)和转染随机 ASO 组(0.43 ± 0.08)明显降

低(组间 $F=292.43, P=0.000$);MDA-MB-231 细胞同样发现 miR-93 ASO 组 miR-93 的相对表达量(0.18 ± 0.03)较空白对照组(0.53 ± 0.07)和转染随机 ASO 组(0.59 ± 0.11)明显下调(组间 $F=366.75, P=0.000$),见图 2。

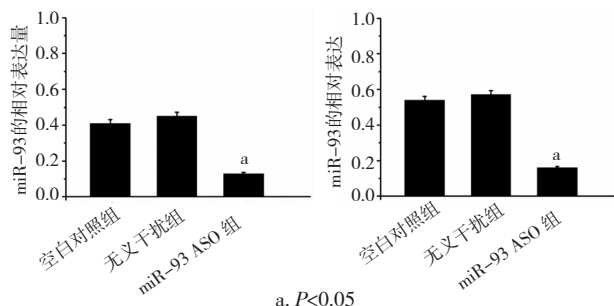


图 2 转染 miR-93 ASO 后,MCF-7 (左)和 MDA-MB-231 (右)细胞 miR-93 的表达变化

Fig.2 Changes in expression of miR-93 in MCF-7 (left) and MDA-MB-231 (right) cells after the transfection of miR-93 ASO

MTT 检查结果发现:MCF-7 细胞转染 miR-93 ASO 组的生长较空白对照组和转染随机 ASO 组明显减慢,而空白对照组和转染随机 ASO 组细胞生长情况无明显差别,见表 1 和图 3。MDA-MB-231 细胞与 MCF-7 细胞结果一致,见表 2 和图 3。

2.3 降低 miR-93 的表达乳腺癌细胞增殖的影响

克隆形成实验结果提示:miR-93 ASO 转染 MCF-7 细胞后,克隆形成率(12.23%)比空白对照组(46.25%)和转染随机 ASO 组(47.14%)明显降低($P<0.05$)。MDA-MB-231 细胞与 MCF-7 细胞结果一致(miR-93 ASO 克隆形成率为 11.52%,空白对照组和转染随机 ASO 组分别为 43.15%和 42.86%),见图 4。

表 1 不同处理组 MCF-7 细胞增殖率的 A 值 ($n=3, \bar{x} \pm s$)
Tab.1 A value of MCF-7 cell proliferation rate in different groups ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0.503 ± 0.069	1.663 ± 0.084	2.828 ± 0.16	5.448 ± 0.158
转染随机 ASO 组	0.501 ± 0.081	1.628 ± 0.091	2.763 ± 0.141	5.523 ± 0.119
miR-93 ASO 组	0.504 ± 0.086	0.724 ± 0.073	1.241 ± 0.078	1.528 ± 0.131
F 值	1.162	15.413	43.970	29.192
P 值	0.876	0.006	0.003	0.009
转染随机 ASO 组与空白对照组 P 值	0.774	0.090	0.104	0.436
miR-93 ASO 组与空白对照组相比 P 值	0.457	0.003	0.004	0.007

表 2 不同处理组 MDA-MB-231 细胞增殖率的 A 值 ($n=3, \bar{x} \pm s$)
Tab.2 A value of MDA-MB-231 cell proliferation rate in different groups ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0.527 ± 0.071	1.629 ± 0.094	2.753 ± 0.157	5.376 ± 0.169
转染随机 ASO 组	0.544 ± 0.085	1.613 ± 0.083	2.701 ± 0.137	5.337 ± 0.123
miR-93 ASO 组	0.547 ± 0.073	0.695 ± 0.093	1.113 ± 0.178	1.346 ± 0.169
F 值	0.060	30.437	18.951	15.219
P 值	0.921	0.002	0.005	0.007
转染随机 ASO 组与空白对照组 P 值	0.432	0.220	0.104	0.431
miR-93 ASO 组与空白对照组相比 P 值	0.900	0.007	0.230	0.004

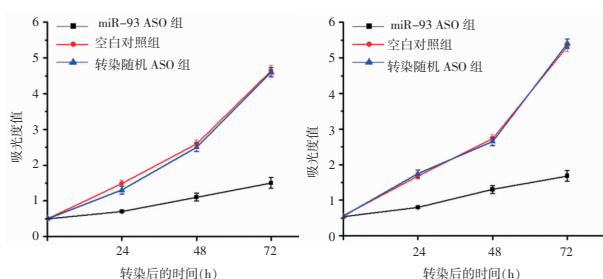


图3 转染 miR-93 ASO 后, MCF-7 (左) 和 MDA-MB-231 (右) 细胞的生长情况变化

Fig.3 Growth of MCF-7 (left) and MDA-MB-231 (right) after the transfection of miR-93 ASO

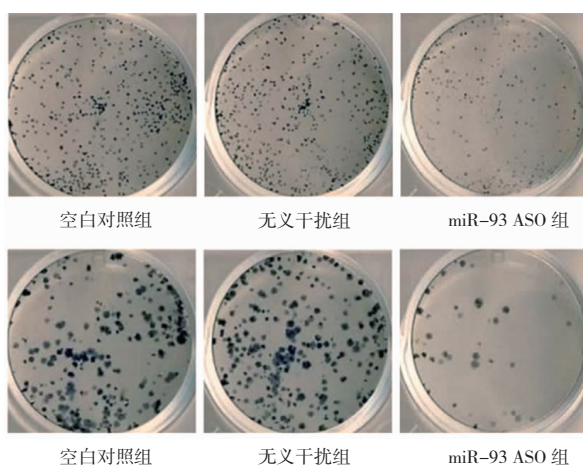


图4 转染 miR-93 ASO 后, MCF-7 (上) 和 MDA-MB-231 (下) 细胞克隆形成率明显降低

Fig.4 Significantly reduced colony formation rate of MCF-7 (upper) and MDA-MB-231 (lower) cell after the transfection of miR-93 ASO

2.4 降低 miR-93 的表达对乳腺癌细胞凋亡的影响

乳腺癌细胞 MCF-7 转染 miR-93 ASO 后, 流式细胞仪检测细胞凋亡的结果显示: miR-93 ASO 组的凋亡指数 (39.12%) 比空白对照组 (9.26%) 和转染随机 ASO 组 (8.84%) 明显增加 ($F=43.67, P=0.005$)。MDA-MB-231 细胞与 MCF-7 细胞结果一致 (miR-93 ASO 组凋亡指数为 40.32%, 空白对照组和转染随机 ASO 组分别为 11.42% 和 9.1%), 见图 5。

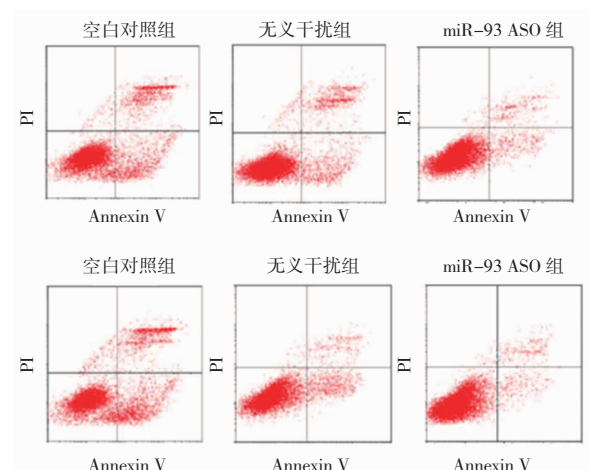


图5 流式细胞仪检测 miR-93 ASO 转染后的 MCF-7 (上) 和 MDA-MB-231 (下) 细胞凋亡情况

Fig.5 Apoptosis in MCF-7 (upper) and MDA-MB-231 (lower) cells after the transfection of miR-93 ASO detected by flow cytometry

2.5 降低 miR-93 的表达对 Bcl2 mRNA 和 Bcl2 蛋白表达的影响

miR-93 ASO 转染 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞后, 利用荧光定量 PCR 和 Western blot 检查各组细胞中 Bcl2 mRNA 和 Bcl2 蛋白表达水平, 结果发现 miR-93 ASO 组 Bcl2 mRNA 和 Bcl2 蛋白的相对表达水平明显低于空白对照组和转染随机 ASO 组, 见表 3, 图 6、图 7。

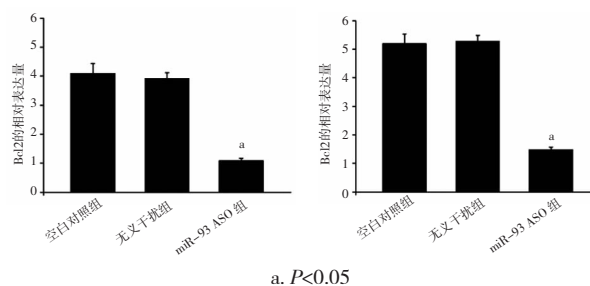


图6 Bcl2 mRNA 在转染 miR-93 ASO 的 MCF-7 (左) 和 MDA-MB-231 (右) 细胞中的表达变化

Fig.6 Expression of Bcl2 mRNA level in MCF-7 (left) and MDA-MB-231 (right) cell after the transfection of miR-93 ASO

表3 降低 miR-93 后各组细胞 Bcl2 mRNA 及蛋白的表达情况 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab.3 mRNA and protein expression of Bcl2 after miR-93 down-regulation in different groups ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	MCF-7 细胞 mRNA	MDA-MB-231 细胞 mRNA	MCF-7 细胞蛋白	MDA-MB-231 细胞蛋白
空白对照组	4.20 ± 0.34	5.23 ± 0.24	0.73 ± 0.04	1.00 ± 0.00
转染随机 ASO 组	3.92 ± 0.08	5.43 ± 0.32	0.88 ± 0.61	1.08 ± 0.19
miR-93 ASO 组	1.03 ± 0.11	1.44 ± 0.06	0.15 ± 0.02	0.12 ± 0.74
F 值	73.805	112.663	38.680	141.271
P 值	0.005	0.004	0.001	0.000
转染随机 ASO 组与空白对照组 P 值	0.261	0.445	0.441	0.280
miR-93 ASO 组与空白对照组相比 P 值	0.006	0.474	0.007	0.005

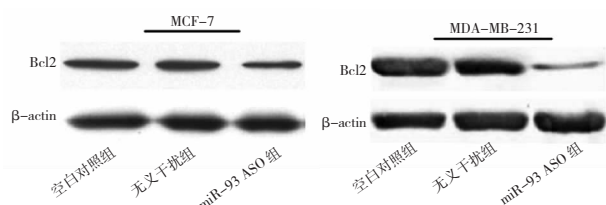


图 7 Bcl2 蛋白在转染 miR-93 ASO 的 MCF-7 (左) 和 MDA-MB-231 (右) 细胞中的表达变化

Fig.7 Expression of Bcl2 protein level in MCF-7(left) and MDA-MB-231(right) cell after the transfection of miR-93 ASO

3 讨论

研究已经证实 miRNA 是一类新的基因调节子,其在控制细胞的生长、分化及凋亡等生物学过程中发挥着非常重要的作用^[8-9]。随着 miRNA 的发现以及逐渐深入的研究,研究发现 miRNA 与癌症的发生及侵袭转移关联紧密^[10]。因此 miRNA 有可能成为诊断恶性肿瘤的分子标志和判断肿瘤侵袭转移及预后的分子靶点,此外 miRNA 在转录后水平调节其靶基因的表达,这将更有助于癌症的早期发现、早期诊断和早期治疗,其必将具有非常广阔的临床应用前景。

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,目前已经成为严重影响妇女身心健康和危及妇女生命的疾病。晚期乳腺癌可出现淋巴结转移,肝、肺等远处器官转移。所以乳腺癌发现的时间越早,治疗效果越理想,因此,迫切地需要找到新的肿瘤标志物来进一步提高乳腺癌的早期诊断效果。近年来随着 miRNA 研究的逐渐增多和深入,研究已经证实许多异常表达的 miRNA 可以通过调控目标靶基因的表达而调节包括乳腺癌在内的多种恶性肿瘤的发生发展,临床大规模的筛选恶性肿瘤发生及发展过程中出现的异常表达的 miRNA 将为人们全面研究癌症的生物学行为发挥重要作用,同时也为乳腺癌的早期诊治提供了新的希望。研究报道 miR-93 在多种肿瘤组织和细胞中表达增高,但 miR-93 在乳腺癌中的作用目前还不清楚。

本实验首先利用实时荧光定量 PCR 检测临床乳腺癌标本和对应的正常癌旁组织,结果发现 miR-93 在肿瘤组织中呈明显高表达,两者差异具有统计学意义。这表明 miR-93 在乳腺癌发生发展中发挥重要作用。目前有大量研究针对目的 miRNA 设计相应的 ASO 来研究 miRNA 在细胞中的生物学功能^[11]。为了进一步分析 miR-93 对乳腺癌细胞功能的影响,本实验首先通过转染 miR-93 ASO 降低乳腺癌细胞中 miR-93 的表达,同时利用 MTT 方法检测降低 miR-93 的表达后乳腺癌细胞生长情况,结果发现转染 miR-93 ASO 的乳腺癌细胞存活率明显

降低。此外运用克隆形成实验还观察到转染 miR-93 ASO 后,乳腺癌细胞克隆形成率比空白对照组和无义干扰组明显减少。表明 miR-93 在乳腺癌细胞的生长中发挥着非常重要的作用。

为了进一步分析降低 miR-93 表达对乳腺癌细胞凋亡情况的影响,本实验运用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,结果发现转染 miR-93 ASO 组细胞凋亡较对照组明显增加。因为 Bcl2 与细胞凋亡的关系密切。为证实 miR-93 对乳腺癌细胞凋亡的影响是否与 Bcl2 相关,本实验通过检测 miR-93 ASO 组和对照组 Bcl2 的 mRNA 和蛋白变化,结果发现转染 miR-93 ASO 组 Bcl2 mRNA 和蛋白水平明显降低。这表明 miR-93 可能通过调节 Bcl2 的表达而影响细胞的凋亡,从而进一步达到对肿瘤细胞增殖能力的调控。

综上所述,miR-93 在调控乳腺癌细胞的增殖和凋亡方面发挥重要作用,其很可能成为一个乳腺癌新的癌前标记物,为乳腺癌临床基因治疗提供新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Croce CM, Calin GA. miRNAs cancer, and stem cell division[J]. Cell, 2005, 122(1): 6-7.
- [2] Chen CZ, Li L, Lodish HF, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation[J]. Science, 2004, 303(5654): 83-86.
- [3] Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, et al. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues[J]. Oncogene, 2006, 25(17): 2537-2545.
- [4] Jiang J, Gusev Y, Aderca I, et al. Association of MicroRNA expression in hepatocellular carcinomas with hepatitis infection, cirrhosis, and patient survival[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(2): 419-427.
- [5] Montanini L, Lasagna L, Barili V, et al. MicroRNA cloning and sequencing in osteosarcoma cell lines: differential role of miR-93[J]. Cell Oncol (Dordr), 2012, 35(1): 29-41.
- [6] Du L, Schageman JJ, Subauste MC, et al. miR-93, miR-98, and miR-197 regulate expression of tumor suppressor gene FUS1[J]. Mol Cancer Res, 2009, 7(8): 1234-1243.
- [7] Fang L, Deng Z, Shatseva T, et al. MicroRNA miR-93 promotes tumor growth and angiogenesis by targeting integrin $\beta 8$ [J]. Oncogene, 2011, 30(7): 806-821.
- [8] Sarver AL, French AJ, Borralho PM, et al. Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states [J]. BMC Cancer, 2009, 9(2): 401-415.
- [9] Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, et al. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in Drosophila[J]. Cell, 2003, 113(1): 25-36.
- [10] Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: building a framework [J]. Cell, 2006, 127(4): 679-695.
- [11] Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs' [J]. Nature, 2005, 438(7068): 685-689.

(责任编辑:关蕴良)