

消化系统肿瘤

DOI:10.13406/j.cnki.cyxh.000261

miRNA205 启动子甲基化与 Barrett 食管癌变关系的体外研究

刘天宇, 吕琳, 梅浙川, 高建

(重庆医科大学第二附属医院消化内科, 重庆 400010)

【摘要】目的:探讨 microRNA205(miR205)启动子甲基化与 Barrett 食管(Barrett's esophagus, BE)癌变的关系。**方法:**运用 RT-PCR 检测经去甲基化处理前后 BE、食管癌和正常食管粘膜细胞中 miR205 表达水平,采用甲基化特异性聚合酶链式反应(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)检测样本中 miR205 启动子甲基化水平。**结果:**BE 和食管癌细胞 miR205 表达量较正常食管明显减低($P=0.002$);去甲基化处理后,样本 miR205 表达量水平明显升高($P=0.000$)。MSP 结果显示 BE 和食管癌细胞 miR205 启动子经去甲基化处理后呈低甲基化或非甲基化。**结论:**miR205 在 BE 和食管癌细胞中表达降低与其启动子甲基化有关,miR205 启动子甲基化贯穿了 BE 的癌变过程,有可能成为 BE 癌变过程中的关键分子生物学标志,并可能成为预防和治理 BE 癌变的靶点。

【关键词】Barrett 食管;miR205;甲基化**【中图分类号】**R735.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-11-14

In vitro study of relationship between miRNA205 promoter methylation and Barrett's esophagus cancerous

Liu Tianyu, Lyu Lin, Mei Zhechuan, Gao Jian

(Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the relationship between MiR205 promoter methylation and Barrett's esophagus cancerous. **Methods:** The expression of miRNA205 in Barrett's esophagus, esophageal cancer and normal esophageal mucosa cells before and after demethylation processing was detected by RT-PCR. MiR205 promoter methylation levels were measured by methylation specific polymerase chain reaction (MSP). **Results:** miR205 expression was reduced obviously in Barrett's esophagus and esophageal cancer cells than in normal esophageal, with statistically significant differences ($P=0.002$). After demethylation, miR205 expression was significantly increased in Barrett's esophagus (BT, B-T10) and esophageal cancer (EC109, TE-10, SEG-1) cells, with statistically significant differences ($P=0.000$). MSP showed miR205 promoter changes to be low-methylation or non-methylation. **Conclusion:** Reduced expression of miR205 in Barrett's esophagus and esophageal cancer cells is related to its promoter methylation. Throughout the carcinogenesis of Barrett's esophagus, miR205 promoter methylation may become a key molecular biomarker in process of Barrett's esophagus canceration and may become the prevention and treatment targets of Barrett's esophagus canceration.

【Key words】Barrett esophagus; miR205; methylation

Barrett 食管(Barrett's esophagus, BE)是指食管下段黏膜的复层鳞状上皮被单层柱状上皮所替代的一种病理现象,被认为是食管癌的癌前病变。研究表明,BE 患者发生食管癌的风险明显高于非 BE 患者^[1];近年来,BE 发病率呈上升趋势,由 BE 发展为食管癌的患病率也随之攀升。能否发现 BE 向食

管癌转变过程中的一些关键分子生物学标志,并针对这些靶点进行有效的治疗,阻断其向食管癌的进一步发展,具有重要的临床意义。

表观遗传学是肿瘤的形成机制之一,DNA 甲基化是表观遗传学中重要的修饰手段^[2],与肿瘤细胞分化、增殖、凋亡等细胞的生物学特性密切相关^[3]。目前,microRNA(miRNA)已经成为肿瘤研究领域研究热点。miRNA 是一种长度为 21~25 个核苷酸(nucleotide, nt)的内源性非编码 RNA,它主要通过靶基因 mRNA 3'-UTR 完全或不完全配对,从而降解靶基因 mRNA 或抑制其翻译。miRNA 可通过

作者介绍:刘天宇,Email:scholl121@163.com,

研究方向:消化内科学。

通信作者:梅浙川,Email:meizhechuan@21cn.com。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号:81101827)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000261.html

调节信号分子^[4](如细胞因子、生长因子、转录因子和促凋亡、抗凋亡蛋白等)的表达对多种生物学过程发挥重要调控作用。有研究显示,肿瘤的形成过程中许多 miRNA 直接参与人类肿瘤的形成过程,并且有一些 miRNA^[5]发挥着促癌基因或者是抑癌基因的作用。在癌细胞中具有肿瘤抑制功能的miRNA 由于 DNA 过度甲基化而沉默,并关闭该 miRNA 启动子区域的染色质结构^[6],从而影响 miRNA 表达。有研究发现,食管癌^[7]及 BE^[8]中 miR205 的表达均低于正常组织,并通过 ZEB2 途径成为抑制食管鳞癌的特定 miRNA^[9];但是 BE 癌变过程中相关 miRNA 启动子甲基化状态的研究还未见报道。本研究试图探讨 miR205 启动子甲基化与 BE 癌变关系。

1 材料与方法

1.1 材料

BE(B-T、B-T9、B-T10)、食管癌(EC109、TE-10、SEG-1)和正常食管黏膜(normal esophageal mucosa cells,NES)细胞株均购自美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection,ATCC),细胞培养使用 GBICO 公司生产的 RPMI1640 培养基及 EXCEL 胎牛血清,small-RNA 提取试剂盒 RNAiso 购自 TAKARA 公司,DNA 提取试剂盒购自 TAKARA 公司,逆转录试剂盒购自 GeneCopoeia 公司,RT-PCR 试剂盒购自 GeneCopoeia 公司,miR205 的上下游引物及内参 GAPDH 由 GeneCopoeia 公司设计合成,甲基化引物由北京阅微基因设计合成,去甲基化药物 5-氮杂-脱氧胞苷(5-aza-deoxycytidine,Aza)、曲古抑菌素 A(trichostatin A,TSA)及溶剂二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO)购自 Sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养和干预 以上述细胞为样本,用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基培养细胞,待培养瓶中各细胞生长良好且铺满瓶壁 90%时,用胰酶消化细胞,收集至无酶 EP 管,每株细胞均用作提取 RNA 及 DNA。经 RT-PCR 后,将需要作去甲基化处理的细胞培养,待细胞培养瓶内细胞生长良好且铺满瓶壁 60%时作“饥饿处理”,使用无血清 RPMI1640 培养液培养细胞 8 h,后改用含 10%胎牛血清 RPMI1640 培养液加入 1% Aza(DMSO 溶解)处理 72 h,之后加用 0.1%TSA(DMSO 溶解)处理 24 h,用胰酶消化细胞,收集至无酶 EP 管,以再次用作提取 RNA 及 DNA。

1.2.2 RT-PCR 检测 将收集的细胞按照 TAKARA 公司 small-RNA 提取试剂盒 RNAiso 说明书提取各细胞 RNA,使用分光光度计测量各吸光度(absorbance,A)值均在 1.8~2.0,将其逆转得到 cDNA。使用 RT-PCR 方法检测各细胞 miR205 表达情况。冰上配置 20 μ l 反应体系:2 $\times$ AllinOne Q-PCR Mix 10 μ l,ddH₂O 1 μ l,PCR Forward Primer 4 μ mol/L 2 μ l,PCR Reverse Primer 4 μ mol/L 2 μ l,Template 5 μ l。反应条件

为 95 $^{\circ}$ C 10 s,56 $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C 15 s,荧光信号监测(miR205引物见表 1,以 GAPDH 作内参)。

1.2.3 DNA 亚硫酸氢盐修饰 新鲜配置 3 mmol/L 氢氧化钠(NaOH)、饱和亚硫酸氢钠(40.5%)和 10 mmol/L 氢醌;取适量待测样品 DNA(100 ng~1 μ g)用 3 mmol/L NaOH 和双蒸水(ddH₂O)调整至终体积 60 μ l,NaOH 终浓度 0.3 mmol/L。57 $^{\circ}$ C 孵育 25 min,95 $^{\circ}$ C 5 min,置于冰上;加入 510 μ l 饱和 NaHSO₃和 15 μ l 10 mmol/L 氢醌,用 NaOH 调 PH 到 5.0;57 $^{\circ}$ C 孵育 12~16 h;通过脱盐柱进行脱盐纯化,最终洗脱体积 50 μ l;加入 5.5 μ l 3 mmol/L NaOH,37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min;乙醇沉淀修饰后 DNA;4 000 r/min 离心 15 min 后 70%乙醇洗涤 1 次;加入 30 μ l 水重悬 DNA,即得到修饰后 DNA。

1.2.4 miR205 启动子 MSP 检测 待培养瓶中各细胞生长良好且铺满瓶壁 90%时,用胰酶消化细胞,收集至无酶 EP 管,按照 TAKARA 公司 DNA 提取试剂盒说明书,提取各细胞 DNA,使用分光光度计测量各 A 值均在 1.8~2.0。预测miR205 启动子序列及转录起始位点(见图 1),MSP 检测各细胞 miR205 启动子甲基化水平。PCR 扩增条件:95 $^{\circ}$ C,5 min 预变性;95 $^{\circ}$ C 30 s,65 $^{\circ}$ C to 55 $^{\circ}$ C Δ 1 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 45 s,共 43 循环;72 $^{\circ}$ C 10 min 延伸(miR205-MSP 引物及扩增体系见表 1、2)。

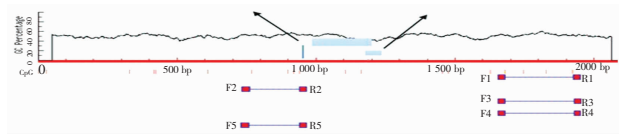


图 1 预测 miR205 启动子序列及转录起始位点
Fig.1 Prediction of miR205 promoter sequences and transcription start site

表 1 miR205 引物序列
Tab.1 miR205 primer sequences

项目	引物名称	序列(5'-3')
RT-PCR	miR205逆转录	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTA
		TTCGCACTGGATACGACAGACTCC
	miR205上游	GGCTTATCCTTCATTCCACC
	miR205下游	TCGTATCCAGTGCAGGGTCC
MSP	miR205-F	TTTTTGGAGGATGTGATTTTATG
	miR205-M-R	AATCTAATTAATAATAAAACAACTC-CG
	miR205-U-R	AAATCTAATTAATAATAAAACAAA-CTCCA

表 2 MSP 扩增体系
Tab.2 miR205 MSP amplification system

PCR反应组分	10 μ l 体系
修饰后 DNA 模板	1 μ l
MSP primers (5 mmol/L)	0.6 μ l
2.5 $\times$ PCR 缓冲液	4 μ l
Taq酶	0.1 μ l
ddH ₂ O	至 10 μ l

1.3 统计学方法

运用 SPSS 18.0 统计软件,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Dunnett-*t* 法和 LSD-*t* 法;对处理前后细胞 miR205 表达差异采用配对 *t* 检验,方差不齐则采用 Satterthwaite 的 *t'* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 细胞生长增殖情况

BE 和食管癌细胞经去甲基化处理后约 72 h 生长增殖

可铺满 25 ml 培养瓶瓶底,计数约 5×10^6 个,经处理后细胞生长增殖受抑制,120 h 后生长范围占瓶底约 70%~80%,计数约 $(3\sim4) \times 10^6$ 个。表明经去甲基化处理后,BE 和食管癌细胞生长增殖速度明显减慢(图 2)。

2.2 miR205 在样本中的表达情况

通过荧光定量 PCR 方法对所有样本 miR205 表达量进行检测,结果显示所有 BE 及食管癌细胞样本 miR205 表达量均低于正常食管黏膜细胞,其差异具有统计学意义 ($F=6.308, P=0.002$,图 3A)。说明 miR205 的低表达,可能参与了 BE 癌变的过程。

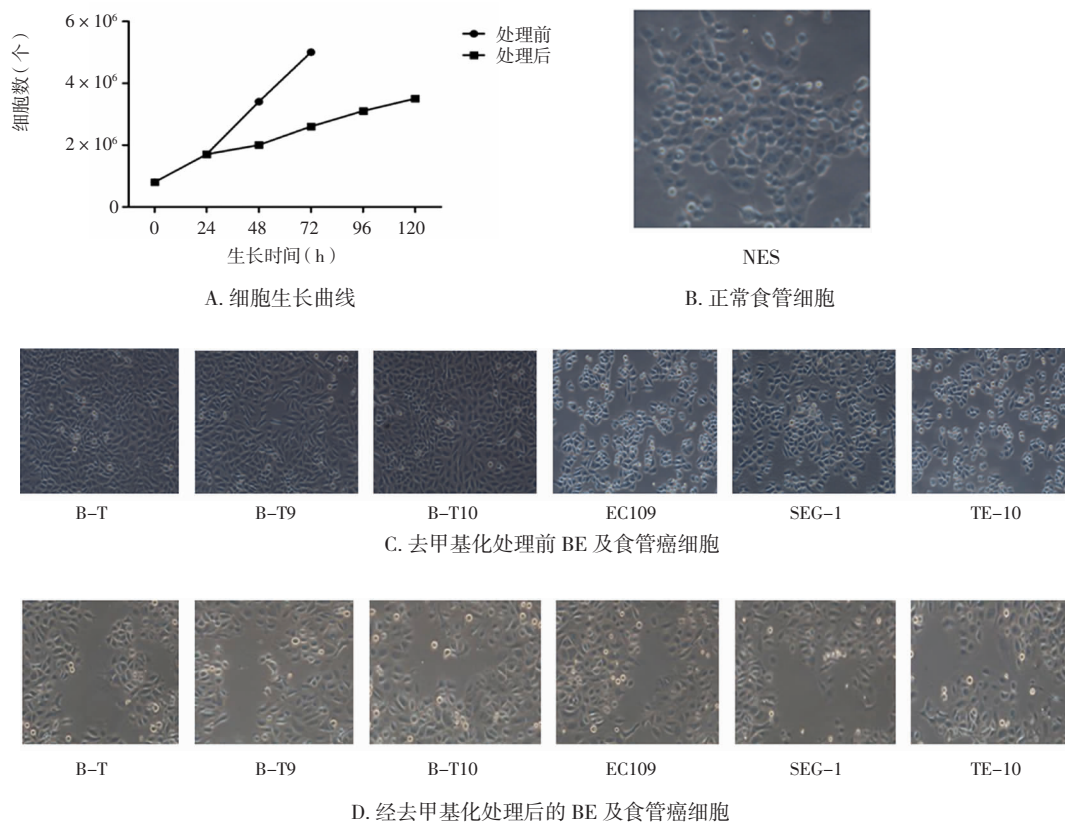
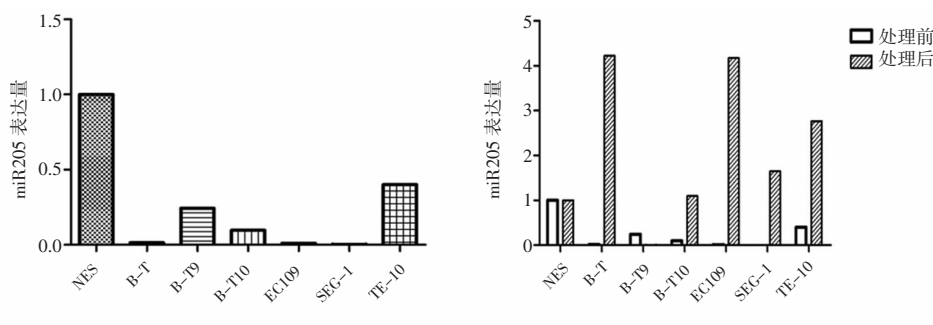


图 2 细胞培养图片

Fig.2 Cell culture images



各样本中 miR205 表达水平及与 NES 的差异:与 NES 比较,B-T ($P=0.002$)、B-T9 ($P=0.012$)、B-T10 ($P=0.004$)、EC109 ($P=0.003$)、SEG-1 ($P=0.000$)、TE-10 ($P=0.011$) 启动子 miR205 表达水平平均明显降低;B.各样本处理前后 miR205 表达水平及其差异

图 3 miR205 表达量及差异

Fig.3 Differential expression of miR205

2.3 样本经去甲基化处理后 miR205 的表达情况

给予去甲基化药物处理后, BE 细胞株 B-T、B-T10 及食管癌细胞株 EC109、TE-10、SEG-1 的 miR205 表达量较之前明显升高, 其处理前后 miR205 表达差异具有统计学意义 ($P=0.000$, 图 3B、表 3)。说明 BE 细胞株 B-T、B-T10 及食管癌细胞株 EC109、TE-10、SEG-1 可能存在 miR205 启动子甲基化, 且去甲基化药物处理有效。从 BE 细胞(B-T、B-T10)和三株食管癌细胞表达 miR205 升高幅度来看, 虽然经去甲基化处理后, 食管癌细胞 miR205 表达量较 BE 细胞升高幅度更大, 但其差异并不具有统计学意义 ($P=0.176$)。

表 3 去甲基化处理后 miR205 表达差异 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Differential expression of miR205 before and after demethylase processing ($\bar{x} \pm s$)

组别	处理前表达量	处理后表达量	t 值	P 值
NES	1	1	-	-
B-T	0.266 ± 0.220	5.617 ± 1.775	-5.352	0.033
B-T9	0.421 ± 0.182	0.274 ± 0.246	1.317	0.318
B-T10	0.330 ± 0.210	4.089 ± 3.011	-4.918	0.039
EC109	0.314 ± 0.301	5.555 ± 1.253	-8.386	0.014
TE-10	0.123 ± 0.133	4.624 ± 2.889	-6.763	0.021
SEG-1	0.417 ± 0.160	4.536 ± 1.787	-5.190	0.035

注: -, 无此项

2.4 样本 miR205 启动子区甲基化检测结果

MSP 检测所有样本启动子甲基化情况, 结果显示正常食管黏膜细胞株(NES)启动子呈非甲基化, BE 和食管癌细胞株启动子呈甲基化或高甲基化(图 4A), 使用去甲基化药物处理 miR205 表达降低或缺失的细胞后, MSP 检测到相应的启动子呈低甲基化或非甲基化(图 4B)。

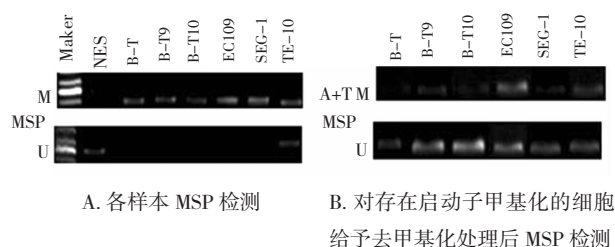


图 4 miR205 甲基化特异性 PCR 检测

Fig.4 PCR detection of specificity of MiR205 methylation

3 讨论

BE 可通过化生-异型增生-腺癌的顺序导致食管癌的发生。目前临床对 BE 患者的内镜和病理随访是发现其向食管癌进展的有效方法, 但内镜检出的食管癌大多已属进展期肿瘤, 尽管治疗方法较多(如黏膜剥离、支架植入、手术等), 但其预后仍较差。本实验希望从表观遗传学角度出发, 能发现从 BE 上皮化生到上皮非典型增生再到癌变这一过程的某种分子生物学标志, 能更进一步阐明 BE 癌变

的机制, 并为这一类疾病的诊断和治疗提供潜在的分子生物学靶点。

miRNA 的表达调控机制十分复杂, 主要表现在转录、转录后调控以及基因所在的位置^[10-11]等方面; miRNA 通过完全互补或不完全互补的方式识别并结合到靶基因 mRNA 的 3'UTR, 从而降解靶基因 mRNA 或抑制其翻译表达^[12], 以此方式实现对基因转录后水平调控。基因启动子甲基化是常见的表观遗传学修饰手段之一, 已有国内外研究^[13-14]表明 Aza 联合 TSA 的去甲基化作用更显著。最新的国内外实验^[15-17]检测了 miR205 在食管癌、肺癌、乳腺癌和前列腺癌等多种肿瘤中表达量明显下降; 而在作为食管癌癌前病变的 BE 中的研究较少。

本实验首先建立了 BE、食管癌和正常食管黏膜细胞的培养方法和相应细胞的启动子去甲基化处理办法。之后运用 miR205 荧光定量检测方法, 通过与正常食管黏膜细胞的比较, 明确了 BE 和食管癌细胞较正常食管黏膜细胞中 miR205 表达缺失或降低; 然后采用去甲基化药物 Aza+TSA 处理 miR205 表达缺失或下调的细胞, 经过去甲基化处理后, BE 和食管癌细胞的生长增殖速度较处理明显前降低。通过 miR205 real-time PCR 检测发现去甲基化处理后 BE 细胞 B-T、B-T10 和所有食管癌细胞 miR205 表达量较之前明显升高, 说明这些细胞可能存在 miR205 启动子甲基化。之后采用 MSP 检测样本^[18], 发现样本中 BE 和食管癌细胞 miR205 启动子确实存在甲基化或高甲基化状态; 对经过去甲基化处理后的细胞再次进行 MSP 检测, 发现处理后样本 miR205 启动子甲基化率明显减低, 这进一步证实了 BE 和食管癌细胞与正常食管黏膜细胞相比, 在 miR205 启动子区存在高甲基化状态。这表明 BE 和食管癌细胞 miR205 表达缺失或降低, 与其上游启动子区高甲基化状态密切相关。对于 BE 细胞株 B-T9 经过去甲基化处理后表达量较之前有所下降, 而其启动子区甲基化仍存在, 可能是由于其 miR205 表达量降低不完全是由启动子甲基化所致, 可能与其染色质异构及分化方向、恶性程度等有关, 而 MSP 结果表明其 miR205 启动子区仍存在甲基化, 去甲基化处理对其仍有效。

从去甲基化处理后 miR205 在 BE 和食管癌细胞中升高幅度来看, 食管癌细胞较 BE 细胞升高幅度更大, 但两者并无统计学意义。这进一步证实了 BE 是食管癌的癌前病变, 并表明 miR205 启动子甲基化导致 miR205 表达缺失或降低参与了 BE 癌变的过程, 但这个过程目前尚不能用数量级来表示。可能是由于 BE 癌变这一过程除 miR205 外, 还与其

他 miRNAs^[19-21]参与(如 miR203、215 等)以及表观遗传学的其他因素,如组蛋白修饰^[22]和染色质异构^[23]以及遗传学因素有关。

最近的研究表明 miR205 参与了人体诸多癌症的发生发展过程。Gandellini 等^[24]报道了 miR205 参与前列腺癌 Kinase C 蛋白的下调;Tabruyn 等^[25]报道了 miR205 参与肿瘤毛细血管内皮细胞的改变;赵崇晖等^[26]又报道了 miR205 对人胃癌细胞株 SGC7901 增殖的抑制作用。本实验的研究结果显示,miR205 在 BE 和食管癌细胞中较正常食管黏膜细胞降低,其降低的原因与其启动子甲基化密切相关。miR205 启动子甲基化参与了 BE 的癌变过程,在体外去甲基化处理能抑制 BE 细胞(B-T、B-T10)和食管癌细胞(EC109、TE-10、SEG-1)的增殖,说明 miR205 在 BE 的癌变过程中起到抑制作用,可能成为预防 BE 癌变的靶点。

总之,本实验通过检测 miR205 在 BE、食管癌和正常食管黏膜细胞株中的表达情况及其启动子甲基化水平,发现 miR205 的表达水平降低与 BE 癌变有关,并发现 BE 和食管癌细胞株中 miR205 的表达水平下调是由于其启动子高甲基化所致,说明 miR205 的表达及其甲基化水平可以作为评价 BE 癌变的指标,对 BE 癌变的预防、诊断及治疗有重大意义,在下一步将在相对应组织中进一步加以证实。

(本实验出自重庆医科大学第二附属医院消化内科吕琳博士负责的课题,在此谨致谢意!)

参 考 文 献

- [1] Feber A, Xi L, Luketich JD, et al. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer[J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135(2): 255-260.
- [2] Esteller M. Cancer epigenetics: DNA methylation and chromatin alterations in human cancer[J]. Adv Exp Med Bio, 2003(532): 39-49.
- [3] Rahertson KD. DNA methylation and human disease[J]. Nat Rev Genet, 2005, 6(8): 597-610.
- [4] Barrel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [5] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs—microRNAs with a role in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(4): 259-269.
- [6] Saito Y, Jones PA. Epigenetic activation of tumor suppressor microRNAs in human cancer cells[J]. Cell Cycle, 2006, 5(19): 2220-2222.
- [7] Guo Y, Chen Z, Zhang L, et al. Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Res, 2008, 68(1): 26-33.
- [8] Dijkmeester WA, Wijnhoven BP, Watson DI, et al. MicroRNA-143 and -205 Expression in neosquamous esophageal epithelium following argon plasma ablation of Barrett's esophagus[J]. J Gastrointest Surg, 2009, 13(5): 846-853.
- [9] Matsushima K, Isomoto H, Yamaguchi N, et al. MiRNA-205 modulates cellular invasion and migration via regulating zinc finger E-box binding homeobox 2 expression in esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. J Transl Med, 2011(9): 30.
- [10] Yang N, Coukos G, Zhang L. MicroRNA epigenetic alterations in human cancer: one step forward in diagnosis and treatment[J]. Int J Cancer, 2008, 122(5): 963-968.
- [11] Esteller M. Epigenetics in cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 358(11): 1148-1159.
- [12] Huang Y, Zou Q, Song F, et al. The regulation of silkworm fibroin L chain production by miRNA-965 and miRNA-1926 in insect cells[J]. Bioorg Khim, 2012, 38(4): 417-481.
- [13] Ying J, Srivastava G, Hsieh WS, et al. The stress-responsive gene GADD45G is a functional tumor suppressor, with its response to environmental stresses frequently disrupted epigenetically in multiple tumors[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(18): 6442-6449.
- [14] Wang Y, Li J, Cui Y, et al. Located at the critical tumor suppressor locus 16q22.1, is silenced by CpG methylation in carcinomas and inhibits tumor cell growth through inducing apoptosis[J]. Cancer Res, 2009, 69(12): 5194-5201.
- [15] Iorio MV, Casalini P, Piovan C, et al. MicroRNA-205 regulates HER3 in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(6): 2195-2200.
- [16] Majid S, Dar AA, Saini S, et al. MicroRNA-205-directed transcriptional activation of tumor suppressor genes in prostate cancer[J]. Cancer, 2010, 116(24): 5637-5649.
- [17] Markou A, Tsaroucha EG, Kaklamanis L, et al. Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR[J]. Clin Chem, 2008, 54(10): 1696-1704.
- [18] Kristensen LS, Mikeska T, Krypuy M, et al. Sensitive Melting Analysis after Real Time-Methylation Specific PCR (SMART-MSP): high-throughput and probe-free quantitative DNA methylation detection[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36(7): e42.
- [19] Hu Y, Correa AM, Hoque A, et al. Prognostic significance of differentially expressed miRNAs in esophageal cancer[J]. Int J Cancer, 2011, 128(1): 132-143.
- [20] Cao XF, Li SQ. Role of miRNA in the diagnosis, prognosis and treatment of esophageal cancer[J]. Chinese Journal of Oncology, 2011, 33(3): 161-164.
- [21] Revilla-Nuin B, Parrilla P, Lozano JJ, et al. Predictive value of MicroRNAs in the progression of Barrett esophagus to adenocarcinoma in a long-term follow-up study[J]. Ann Surg, 2013, 257(5): 886-893.
- [22] Lee S, Jung JW, Park SB, et al. Histone deacetylase regulates high mobility group A2-targeting microRNAs in human cord blood-derived multipotent stem cell aging[J]. Cell Mol Life Sci, 2011, 68(2): 325-336.
- [23] Qu H, Xu W, Huang Y, et al. Circulating miRNAs: promising biomarkers of human cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(5): 1117-1125.
- [24] Gandellini P, Folini M, Longoni N, et al. MiR-205 exerts tumor-suppressive functions in human prostate through down-regulation of protein kinase C[J]. Cancer Res, 2009, 69(6): 2287-2295.
- [25] Tabruyn SP, Hansen S, Ojeda-Fernandez ML, et al. MiR-205 is downregulated in hereditary hemorrhagic telangiectasia and impairs TGF-beta signaling pathways in endothelial cells[J]. Angiogenesis, 2013, 16(4): 877-887.
- [26] 赵崇晖, 王梅, 沈俐, 等. miR-205 对人胃癌细胞株 SGC7901 增殖的抑制作用[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(4): 270-273.

(责任编辑:唐宗顺)