

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X·2008·05·004

· 基础研究 ·

microRNA-10a 对胃癌细胞系 BGC823 迁移和侵袭能力的影响

彭亮, 潘健, 胡海, 孙力超, 周转, 冉宇靓*, 杨治华(中国医学科学院中国协和医科大学肿瘤研究所细胞及分子生物学研究室, 北京 100021)

[摘要] 目的: 研究人微小 RNA-10a (microRNA-10a, miR-10a) 对胃癌细胞系 BGC823 迁移和侵袭能力的影响。方法: 利用 Transwell 小室对胃癌细胞系 BGC823 进行侵袭筛选, 获得高侵袭能力的 BGC823-P3 亚系; 通过 miRNA 芯片差异分析发现 miR-10a 在高侵袭能力 BGC823-P3 细胞的表达显著高于 BGC823 细胞。通过化学方法合成成熟型的人 miR-10a, 以脂质体包裹合成的 miR-10a (25、50、100、150 nmol/L) 转染 BGC823 细胞, 并设空白转染、无关序列转染对照组; Real-time PCR 分别检测以上各组细胞 miR-10a 的表达。采用细胞计数试剂盒-8 (Cell Counting Kit-8, CCK-8) 检测 miR-10a 对细胞增殖的影响, 流式分析检测 miR-10a 对细胞凋亡的影响, Transwell 小室检测 miR-10a 对细胞的迁移和侵袭能力的影响。结果: 化学合成的成熟型 miR-10a 转染后, BGC823 细胞 miR-10a 表达的提高以 100 nmol/L miR-10a 转染组最佳, 较无关序列转染组提高了 2.06 倍。miR-10a (100 nmol/L) 的转染对胃癌细胞系 BGC823 的增殖和凋亡无明显影响, 但对 BGC823 的迁移和侵袭能力有明显的促进作用, 促进率分别为 $(88.34 \pm 0.61)\%$ 和 $(56.02 \pm 3.13)\%$ 。结论: 转染成熟型人 miR-10a 能使胃癌细胞系 BGC823 中 miR-10a 的表达提高, 并能显著促进胃癌细胞系 BGC823 的迁移和侵袭。

[关键词] 胃癌细胞; 微小 RNA-10a; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.33; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)05-0417-05

Effect of microRNA-10a on migration and invasion of gastric cancer cell line BGC823

PENG Liang, PAN Jian, HU Hai, SUN Li-chao, ZHOU Zhuan, RAN Yu-liang*, YANG Zhi-hua (Department of Cellular Biology and Molecular Biology, Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of human microRNA-10a (miR-10a) on the migration and invasion of gastric cancer cell line BGC823. **Methods:** The Transwell system was used to select highly invasive sub-cell lines from gastric cancer cell line BGC823. Using miRNA microchip, we compared the miRNA expression in paired cell lines with high and low invasive potentials. MiR-10a was relatively overexpressed in the highly invasive cell lines when compared with its counterpart. The mature type human miR-10a was synthesized chemically. The synthesized miR-10a (25, 50, 100, and 150 nmol/L) was transfected into BGC823 cells via lipofectamin 2000. Cells were also transfected with empty vectors and unrelated fragment to serve as controls. The expression of mature type miR-10a was detected by real-time PCR. Cell counting kit-8 was used to study the effect of miR-10a on the proliferation of BGC823 cells. Flow cytometry was performed to detect the effect of miR-10a on the apoptosis of BGC823 cells. The migration and invasion of BGC823 cells were investigated by Transwell assay. **Results:** Real-time PCR showed that cells transfected with mature type miR-10a had significantly higher expression of miR-10a, with the optimal concentration of miR-10a being 100 nmol/L; the associated miR-10a expression was 2.06 folds that of unrelated group. miR-10a (100 nmol/L) had no obvious influence on the proliferation and apoptosis of BGC823 cells; however, it promoted the migration and invasion of BGC823 cells, with the promoting rates being $(88.34 \pm 0.61)\%$ and $(56.02 \pm 3.13)\%$, respectively. **Conclusion:** Synthesized mature type human miR-10a can effectively enhance miR-10a expression and promote the migration and invasion of the BGC823 cells.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30570818); 国家重点基础研究发展计划 (973) 资助项目 (No. 2009CB521804)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30570818); the Major State Basic Research and Development Program (973) of China (No. 2009CB521804)

[作者简介] 彭亮 (1980-), 男, 河北省唐山市人, 博士, 主要从事肿瘤基因功能方面的研究

* Corresponding author. E-mail: ran_yuliang@126.com

[**Key words**] gastric cancer cell; microRNA-10a; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(5): 417-421]

肿瘤是目前对人类生命和健康危害最严重的疾病之一。经过多年研究,在肿瘤相关的原癌基因、抑癌基因、相关信号转导通路等方面均取得了不少成果,但是肿瘤发生发展的确切机制仍未完全阐明。一类新的非蛋白质编码微小 RNA (microRNA, miRNA) 的出现为肿瘤研究提供了新的思路^[1]。

miRNA 是一类长约 20~25 个核苷酸的非编码的单链 RNA 分子。它通过与靶 mRNA 完全或不完全的互补配对,促进目标 mRNA 降解或抑制蛋白翻译,在细胞增殖、分化、凋亡、基因调控及肿瘤的发生中扮演重要的角色^[1-2]。目前已确认人类基因组中的 miRNA 约 500 种,至少有 200 多种 miRNA 序列与肿瘤密切相关^[3],研究特定 miRNA 在肿瘤发生发展中的作用正在成为肿瘤研究的一个新的热点。

本课题将胃癌细胞系 BGC823 以 Transwell 小室实验进行 3 轮侵袭筛选,获得高侵袭能力的细胞系 BGC823-P3。通过对 BGC823-P3 与 BGC823 进行 miRNA 芯片差异分析,发现 microRNA-10a (miR-10a) 在 BGC823-P3 中上调表达。在此基础上,将化学合成的成熟 miR-10a 转染 BGC823 细胞,观察其在胃癌细胞中的上调表达及其对胃癌细胞侵袭和迁移的影响。

1 材料与方 法

1.1 细胞与试剂

胃癌细胞系 BGC823 由本室保存。RPMI1640 培养基为 Hyclone 公司产品,胎牛血清 (FBS) 为北京元亨圣马生物科技公司产品,Trizol 购自 Invitrogen 公司。细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 购自日本同仁化学所。人成熟型 miR-10a 由上海康成生物公司合成。转染试剂脂质体 Lipofectamin 2000 购自 Invitrogen 公司。4',6'-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6'-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 为 Sigma 产品,Matrigel 购自 BD Bioscience 公司。Transwell 小室购自 Costar 公司。低血清培养基 (OPTI-MEMR I) 购自 GIBCO 公司。

1.2 高侵袭胃癌细胞 BGC823 亚系的建立

为了获得高侵袭能力的胃癌细胞亚系,将胃癌细胞 BGC823 接种于孔径 8 μm 、Matrigel 包被的 Transwell 上层小室,经过 24 h 的侵袭,将穿过并黏附于膜下层的细胞收集、扩大,用于第 2 轮的侵袭筛选^[4-5];经过 3 轮侵袭筛选,获得了高侵袭能力的胃

癌细胞 BGC823 亚系,命名为 BGC823-P3。

1.3 miRNA 芯片差异分析

将 BGC823-P3 以及 BGC823 细胞培养至状态良好后加入 Trizol 试剂送博奥生物有限公司进行 miRNA 芯片差异分析。

1.4 细胞转染

细胞实验分组:(1)空白对照组,仅加入脂质体;(2)无关序列组,加入无关序列和脂质体;(3)miR-10a 转染组,加入合成的成熟型 miR-10a 25、50、100、150 nmol/L 和相应剂量的脂质体。

转染前 24 h,接种 BGC823 于 6 孔培养板中。待生长至 30%~50% 汇合时,取成熟型 miR-10a、脂质体 10 μl ,分别经 opti-MEM 稀释至 250 μl ,于室温中作用 5 min 后将两者缓缓混合,静置 20 min,加入 BGC823 中摇晃混匀。培养 6 h 后,换含 10% 胎牛血清的 1640 培养液,培养 24~48 h,吸弃培养液,PBS 洗涤后加入 Trizol, -70 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.5 Real-time PCR 检测转染细胞 miR-10a 表达

提取空白对照组、无关序列组和 miR-10a 组细胞总 RNA,送上海康成生物公司进行 RT-PCR 测定,每样品测 3 次。成熟型 miRNA 的实时定量检测包括 2 个步骤:茎环 RT 反应 (stem-loop reverse transcription reaction) 和实时 PCR 检测^[6-8]。茎环 RT 引物结合到 miRNA 分子的 3' 端,利用逆转录酶进行逆转录,反应条件是 16 $^{\circ}\text{C}$ 30 min、42 $^{\circ}\text{C}$ 30 min、85 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。利用 miRNA 特异的正向、反向引物和染料分子标记探针对 RT 产物进行定量检测,反应条件如下:94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min 后连续 45 个循环,每个循环内 94 $^{\circ}\text{C}$ 20 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 25 s (检测荧光强度)、72 $^{\circ}\text{C}$ 20 s。实时定量检测 miRNA 的内参照是 U6 snRNA。miR-10a 实时定量检测过程中茎环 RT 引物为:5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGACTG GATACGACCACA AA-3', miR-10a 正向引物为:5'-TCGCTTACCCTGTAG-3', 反向引物为:5'-GTG-CAGGGTCCGAGGTAT-3'。Real-time 分析采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法。该方法是目的基因与内参基因的 CT 值比较后 (ΔCT),再将实验组与空白对照组比较 ($\Delta\Delta\text{CT}$)。故 $\Delta\Delta\text{Ct} = \text{样品的} [(\text{hsa-miR-10a})\text{CT} - \text{U6CT}] - \text{空白对照组第 1 次检测的} [(\text{hsa-miR-10a})\text{CT} - \text{U6CT}]$ 。

1.6 CCK-8 检测肿瘤细胞的增殖能力

参照 CCK-8 试剂盒说明书进行。将转染 24 h

的BGC823细胞按 6×10^3 个/孔接种于96孔培养板(100 μ l/孔)中。3~4 h后,待细胞贴壁后加入100 μ l 1640完全培养液、CCK-8 10 μ l,37 $^{\circ}$ C,5% CO_2 培养2 h,酶标仪测定 D_{450} 值。

1.7 流式细胞仪分析肿瘤细胞的凋亡

胰酶消化细胞,制成单细胞悬液,离心。PBS洗2次后用300 μ l PBS重悬,充分吹打。将细胞悬液逐滴加入700 μ l冷无水乙醇中,4 $^{\circ}$ C 3 h。离心,PBS洗1次,加入0.5 ml PBS,使细胞密度 $>1 \times 10^6$ /ml。冰浴中加入0.3~0.5 ml碘化丙啶(propidium iodide, PI)染液(15% PI,0.1%枸橼酸钠,0.3% NP-40),30 min后流式细胞仪检测。

1.8 Transwell侵袭实验检测肿瘤细胞的侵袭能力

侵袭实验:将冻存于-20 $^{\circ}$ C的Matrigel 4 $^{\circ}$ C过夜预冷成液态,无血清培养液将10 mg/ml Matrigel冰上操作稀释成1 mg/ml,混匀后加入Transwell小室,每孔100 μ l。37 $^{\circ}$ C包被1 h,无血清培养液洗3次后备用。以后按Costar24-Well Transwell™说明书操作。消化BGC823细胞后用无血清培养液洗2次,计数,用1640无血清培养液重悬细胞,调整细胞密度至 1×10^6 /ml。向上部培养嵌室(insert)内加入50 μ l细胞悬液(含5万个细胞),每组设3个复孔。向底部培养室加入600 μ l含15% FBS的1640完全培养液。37 $^{\circ}$ C,5% CO_2 培养24 h。吸去嵌室内的液体,用棉棒擦去嵌室底部内表面上的细胞,将嵌室浸入固定液(50%甲醇+50%丙酮)固定15 min,PBS洗3遍。揭膜,用含1 μ g/ml DAPI,50%甘油的PBS封片。荧光显微镜下每个培养孔随机选择6个视野拍照,IPP5.1plus计数并计算每个视野的平均数。

1.9 Transwell迁移实验检测肿瘤细胞的迁移能力

与侵袭实验相比,迁移实验不需要对Transwell进行Matrigel胶包被,其他实验步骤同侵袭实验。

1.10 统计学处理

采用SPSS 13.0软件分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 BGC823-P3的建立及miRNA芯片差异分析

利用BGC823进行侵袭筛选获得BGC823-P3,将BGC823及BGC823-P3进行侵袭能力比较,BGC823的穿膜数为(109.7 \pm 8.2),而BGC823-P3的细胞穿膜数为(249.7 \pm 11.0),BGC823-P3的侵袭能力相对于BGC823提高了1.28倍(图1, $P < 0.01$)。将BGC823-P3以及BGC823送博奥生物有

限公司进行miRNA芯片差异分析,发现miR-10a在BGC823-P3上调表达约为BGC823的2.3倍(基因芯片差异分析结果另文发表)。

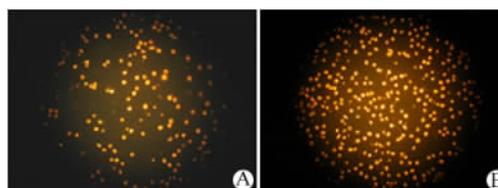


图1 BGC823及高侵袭BGC823-P3细胞的侵袭能力($\times 100$)

Fig. 1 Invasive ability of parent BGC823 cells and highly invasive BGC823-P3 cells ($\times 100$)

A: BGC823; B: BGC823-P3

2.2 成熟型miR-10a转染后BGC823细胞中miR-10a的表达

各组细胞转染36 h后提取不同转染组别的胃癌细胞总RNA,采用Real-time PCR定量检测miR-10a表达情况。结果显示,空白对照组 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 为 0.94 ± 0.06 ;无关序列组 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 为 1.05 ± 0.03 ;miR-10a组的 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 值,在miR-10a 25、50、100、150 nmol/L时分别为 1.28 ± 0.01 、 1.72 ± 0.02 、 3.21 ± 0.1 、 3.42 ± 0.08 。结果表明,100、150 nmol/L miR-10a转染细胞后能明显提高胃癌细胞miR-10a的表达,而且两者的表达值相似,故采用100 nmol/L miR-10a进行正式转染实验。检测结果显示,转染后细胞的miR-10a表达水平较对照组提高2.06倍($P < 0.01$,图2)。

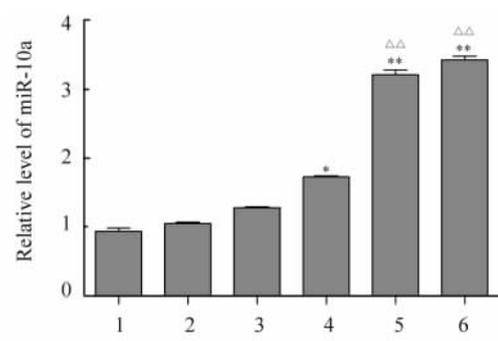


图2 Real-time PCR检测各转染组BGC823细胞miR-10a的表达量

Fig. 2 Expression of miR-10a in transfected BGC823 cells detected by real-time PCR

1: Parent; 2: Control; 3: 25 nmol/L miR-10a; 4: 50 nmol/L miR-10a; 5: 100 nmol/L miR-10a; 6: 150 nmol/L miR-10a

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control or parent;

$\Delta\Delta P < 0.01$ vs 25 nmol/L or 50 nmol/L miR-10a

2.3 成熟型 miR-10a 对 BGC823 增殖能力的影响

用 CCK-8 试剂盒检测合成成熟型 miR-10a(100 nmol/L)转染 BGC823 细胞 24 h 后的增殖情况。图 3 显示,各组细胞生长曲线较为相似,统计学分析显示各组细胞的增殖速度无明显差别,说明 miR-10a 对 BGC823 增殖能力无明显的影响。

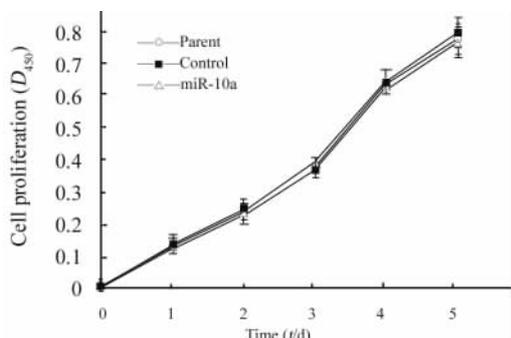


图 3 成熟型 miR-10a(100 nmol/L)转染对 BGC823 增殖能力的影响

Fig.3 Effect of mature type miR-10a(100 nmol/L) on BGC823 cell proliferation

2.4 成熟型 miR-10a 对 BGC823 细胞凋亡的影响

miR-10a(100 nmol/L)转染 BGC823 细胞 36 h 后,采用流式细胞仪检测各组细胞凋亡的发生情况,结果显示空白对照组细胞凋亡率为 0.9%,无关序列组细胞凋亡率为 1.1%,miR-10a 组细胞凋亡率为 0.2%,各组细胞间凋亡发生率无明显差异,表明 miR-10a 对 BGC823 细胞的凋亡无明显影响(图 4)。

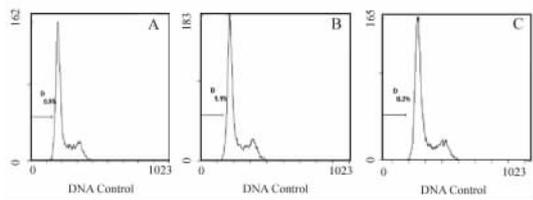


图 4 成熟型 miR-10a 转染对 BGC823 细胞凋亡的影响

Fig.4 Effect of mature type miR-10a on BGC823 cell apoptosis

A: Parent; B: Control; C: miR-10a

2.5 成熟型 miR-10a 对 BGC823 侵袭能力的影响

miR-10a 转染 BGC823 细胞 36 h 后,采用 Transwell 侵袭实验检测各组细胞的侵袭能力。结果显示 miR-10a 转染组 BGC823 细胞穿膜数为(199.7 ± 9.0),显著高于空白对照组(127.0 ± 8.6)和无关序列转染组(128 ± 5.0)(P < 0.01,图 5)。这些实验结果表明,miR-10a 能明显提高 BGC823 细胞的侵袭能力,促进率为(56.02 ± 3.13)%。

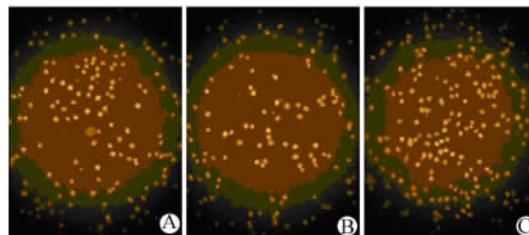


图 5 miR-10a 转染对 BGC823 细胞侵袭能力的影响(×100)

Fig.5 Effect of mature type miR-10a on BGC823 cell invasion(×100)

A: Parent; B: Control; C: miR-10a

2.6 成熟型 miR-10a 对 BGC823 迁移能力的影响

miR-10a 转染 36 h 后,采用 Transwell 迁移实验检测各组细胞的迁移能力。结果显示,miR-10a 转染组细胞穿膜数为(155.0 ± 7.1),显著高于空白对照组(80.3 ± 3.7)和无关序列组(82.3 ± 6.6)(P < 0.01,图 6)。实验表明 miR-10a 能明显提高 BGC823 细胞的迁移能力,促进率为(88.34 ± 0.61)%。

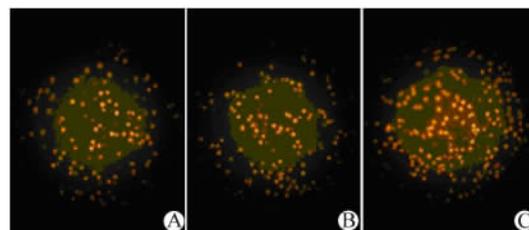


图 6 miR-10a 转染对 BGC823 细胞迁移的影响(×100)

Fig.6 Effect of mature type miR-10a on BGC823 cell migration(×100)

A: Parent; B: Control; C: miR-10a

3 讨论

miRNA 是一种长度约为 22 nt 的非编码 RNA,通过 miRNA 介导的特异性基因沉默导致靶 mRNA 降解及抑制蛋白质的合成,调控转录后基因表达水平。已证明,miRNA 能够调控多种生理、病理学过程,如细胞分化、细胞增殖和肿瘤形成^[9]。某些 miRNA 可直接参与人类肿瘤(如肺癌、乳腺癌、颅脑肿瘤、肝癌、结直肠癌及淋巴瘤等)的形成。miRNA 既可作为癌基因又可作为抑癌基因,参与人类肿瘤形成的多条信号通路^[10]。因此,特定 miRNA 功能的研究为肿瘤治疗和防治提供了新的方向^[11]。近年研究发现,许多 miRNA 与肿瘤的增殖、凋亡密切相关^[12-15],但与肿瘤侵袭及转移的报道很少^[18-20]。

而影响胃癌预后的主要因素就是胃癌的侵袭转移情况^[16],因此研究与胃癌侵袭及转移密切相关的特定 miRNA 具有重要意义。

本课题将胃癌细胞系 BGC823 接种于 Transwell 上部培养嵌室内,将穿过的细胞收集扩大培养,经过 3 轮筛选,获得了高侵袭能力的细胞系 BGC823-P3。然后将 BGC823-P3 与 BGC823 进行 miRNA 芯片差异分析,发现 miR-10a 在 BGC823-P3 中上调表达,提示 miR-10a 可能与胃癌细胞的侵袭能力密切相关,而此前尚未有报道 miR-10a 与肿瘤的侵袭具有相关性^[17]。最近 Li 等^[18]证明 miR-10a 同一家族的另一个成员 miR-10b 能够促进乳腺癌的侵袭以及转移,提示 miR-10a 也有可能是在胃癌的侵袭及转移中扮演重要的角色。因此本研究对 miR-10a 的功能进行了进一步的研究。通过功能检测发现,miR-10a 的表达能够明显促进 BGC823 的侵袭以及迁移能力。

本研究通过直接瞬时转染化学合成成熟性 miRNA 的方法对 miR-10a 的功能进行了检测,这种方法的优点在于化学合成成熟型 miRNA 简单、快捷^[19],避免了构建表达载体的步骤,能够有效提高特定 miRNA 的表达,但缺点是增强表达的持续时间较短。实验发现,miR-10a 的转染在 96 h 内能有效地增强 miRNA 表达,表明采用直接瞬时转染化学合成成熟型 miRNA 的方法能够快速简单地对 miRNA 的各种功能进行检测。本研究中,miR-10a 转染后的表达量仅提高 2.06 倍,明显低于通常的提高 10 倍左右。因此,对 miR-10a 转染后对细胞增殖和凋亡无影响的实验结果,尚不能肯定是 miR-10a 确实对 BGC823 细胞增殖和凋亡无影响,还是 miR-10a 表达量太低所致。该问题有待以后探讨。

综上所述,本实验利用 miRNA 转染技术和 Real-time PCR 证明化学合成的成熟型 miR-10a 能够成功地提高 miR-10a 在转染细胞中的表达;采用 Transwell 实验发现提高 miR-10a 的表达能够显著促进 BGC823 细胞的迁移和侵袭能力。以上研究首次证明了 miR-10a 在胃癌细胞系 BGC823 的侵袭转移中发挥重要的作用,为 miRNA 作为靶向肿瘤基因治疗的新靶点提供了重要的实验依据。

[参 考 文 献]

- [1] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(11): 857-866.
- [2] 张亮. miRNA 在肿瘤诊断与生物治疗中的潜在作用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(3): 159-161.
- [3] 沈月兰, 蒋义国. microRNA 与癌症发生相关性研究的现状

[J]. *中华肿瘤防治*, 2008, 15(1): 68-71.

- [4] Chu YW, Yang PC, Yang SC, *et al.* Selection of invasive and metastatic subpopulations from a human lung adenocarcinoma cell line [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 17(3): 353-360.
- [5] Shieh YS, Lai CY, Kao YR, *et al.* Expression of axl in lung adenocarcinoma and correlation with tumor progression [J]. *Neoplasia*, 2005, 7(12): 1058-1064.
- [6] 张斌, 单志新, 林秋雄, 等. 人微小 RNA-133a 重组腺病毒的构建和鉴定 [J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(7): 1402-1407.
- [7] Schmittgen TD, Lee EJ, Jiang J, *et al.* Real-time PCR quantification of precursor and mature microRNA [J]. *Methods*, 2008, 44(1): 31-38.
- [8] Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, *et al.* Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(20): e179.
- [9] Manikandan J, Aarthi JJ, Kumar SD, *et al.* Oncomirs: the potential role of non-coding microRNAs in understanding cancer [J]. *Bioinformatics*, 2008, 2(8): 330-334.
- [10] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4): 259-269.
- [11] Waldman SA, Terzic A. MicroRNA signatures as diagnostic and therapeutic targets [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(6): 943-944.
- [12] Voorhoeve PM, le Sage C, Schrier M, *et al.* A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors [J]. *Cell*, 2006, 124(3): 1169-1181.
- [13] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, *et al.* RAS is regulated by the let-7 microRNA family [J]. *Cell*, 2005, 120(5): 635-647.
- [14] He L, Thomson JM, Hemann MT, *et al.* A microRNA polycistron as a potential human oncogene [J]. *Nature*, 2005, 435(7043): 828-833.
- [15] Pillai RS, Bhattacharyya SN, Artus CG, *et al.* Inhibition of translational initiation by Let-7 MicroRNA in human cells [J]. *Science*, 2005, 309(5740): 1573-1576.
- [16] Ito T, Shimada Y, Kan T, *et al.* Pituitary tumor-transforming 1 increases cell motility and promotes lymph node metastasis in gastric squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(9): 3214-3224.
- [17] Ørom UA, Nielsen FC, Lund AH. MicroRNA-10a binds the 5' UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(4): 460-471.
- [18] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. *Nature*, 2007, 449(7163): 682-688.
- [19] Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, *et al.* The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(2): 202-210.
- [20] Worley LA, Long MD, Onken MD, *et al.* MicroRNAs associated with metastasis in uveal melanoma identified by multiplexed microarray profiling [J]. *Melanoma Res*, 2008, 18(3): 184-190.

[收稿日期] 2008-07-24

[修回日期] 2008-08-26

[本文编辑] 郁晓路