

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.05.001

· 科研成果综述 ·

人肺腺癌多西他赛耐药机制的研究

陈龙邦 (南京军区 南京总医院 肿瘤内科, 江苏 南京 210002)



陈龙邦 教授、医学博士,南京军区南京总医院肿瘤内科主任、主任医师,南京大学教授、第二军医大学教授、博士生导师,中国医师协会肿瘤分会委员、中国临床肿瘤学会执行委员、江苏省肿瘤化疗与生物治疗专业委员会副主任委员、南京军区肿瘤学专业委员会副主任委员,《医学研究生学报》常务编委,《中国肿瘤生物治疗杂志》、《癌症进展》、《临床肿瘤学杂志》等杂志编委。长期从事肿瘤临床和科研工作,具有丰富的临床经验和较深的学术造诣,近年来的研究方向主要为肺癌的表观遗传学和耐药机制的研究。主持多项国家自然科学基金课题,近3年以通讯作者在 *Oncogene*、*J Cell Mol Med*、*Int J Cancer*、*Cancer Lett*、*Cancer Science*、*Lung Cancer* 等杂志发表 SCI 论文 30 多篇。曾主编《循证肿瘤治疗学》、《现代肿瘤循证诊疗手册》等专著。获得教育部自然科学二等奖和军队医疗成果二等奖等多项成果,培养博士及硕士研究生 20 多名。E-mail: chenlongbang@yeah.net

[摘要] 深入研究肺腺癌对多西他赛(docetaxel, DTX)耐药的分子机制,不仅有助于筛选出可用于临床指导 DTX 个体化用药的分子靶标,也可为耐药的干预策略研究提供研究方向。笔者课题组采用体外逐步提高 DTX 浓度的方法诱导建立了稳定传代的人肺腺癌 SPC-A1 耐 DTX 细胞系 SPC-A1/DTX,并从细胞形态、化疗敏感性、增殖、凋亡、细胞周期、药物转运等方面比较了亲本细胞与耐药细胞间的差异。进一步通过基因芯片及 miRNA 芯片分析,筛选出耐药细胞中差异表达显著的基因(如 *ING4*)以及 miRNA(如 miR-200b、miR-100),在体内、外模型中进行功能获得性和(或)缺失性研究,证实 *ING4* 表达下调、miR-200b/*E2F3* 及 miR-100/*Plk-1* 通路的异常参与了肺腺癌细胞 DTX 耐药表型的形成。

[关键词] 人肺腺癌;多西他赛;多药耐药

[中图分类号] R734.2; R979.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)05-0467-05

Research on the mechanisms of docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma

CHEN Long-bang (Department of Medical Oncology, Najing General Hospital of Nanjing Command, PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

[Abstract] In-depth study of the molecular mechanisms of lung adenocarcinoma resistance to docetaxel (DTX) not only offers us the new promising targets of individualized treatment for lung adenocarcinoma patients, but also provides new insights into clinical intervention strategies. In this study, the docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma cell line SPC-A1/DTX was derived from parental SPC-A1 cell line by continuous exposure to increasing concentration of DTX *in vitro*. Differences in biological characteristics, such as cell morphology, chemosensitivity, cell proliferation, apoptosis, cell cycle, and drug transportation were compared between SPC-A1 and SPC-A1/DTX cell lines. Based on gene expression- and miRNA-microarray analysis, differentially expressed genes, such as *ING4* and miRNAs (*e.g.* miR-200b and miR-100) were screened out from SPC-A1/DTX cells. With further gain-of-function and (or) loss-of-function studies of these molecules in both *in vitro* and *in vivo* models, we provided potential mechanistic explanations for DTX resistance of human lung adenocarcinoma. It was found that down-regulation of *ING4* gene and abnormalities of crosstalk between miR-200b and *E2F3* gene and crosstalk between miR-100 and *Plk-1* gene might be essential for DTX resistance in human lung adenocarcinoma.

[Key words] human lung adenocarcinoma; docetaxel; multidrug resistance

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(5): 467-471]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81071806, No. 81172106, No. 81272474)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81071806, No. 81172106, No. 81272474)

[网络出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120926.0851.008.html

目前,肺癌已经成为世界范围内发病率与死亡率居第一位的恶性肿瘤^[1]。在我国,肺癌已占全部恶性肿瘤病死患者的 22.7%。近年来,在肺癌的不同病理类型中,肺腺癌的发病率明显上升,已占非小细胞肺癌总数的 50% 以上。由于肺腺癌容易转移,在诊断时 3/4 以上的患者已发生局部扩散或远处转移而失去手术的机会,对这些患者而言,以化疗为主的综合治疗对于延长其生存时间、提高生活质量具有重要价值。即使对于可手术的肺腺癌患者,术后辅助化疗也是综合治疗方案的重要组成部分。

多西他赛(docetaxel, DTX)是治疗非小细胞肺癌尤其是肺腺癌的重要一线和二线用药,其作用机制为促进细胞微管聚合并抑制其解聚,致微管动力学异常,激活纺锤体组装检验点(spindle assembly checkpoint, SAC),阻滞细胞有丝分裂中期向后期的转化,使细胞周期阻滞于 G₂/M 期,并可使线粒体膜通透性改变,引起促凋亡物质的释放,最终导致细胞凋亡^[2]。然而,化疗药物普遍存在的多药耐药现象限制了此类药物的疗效和更广泛的临床应用。因此,深入研究肺腺癌对 DTX 耐药的分子机制,不仅有助于筛选出可用于临床指导 DTX 个体化用药的分子靶标,也可为耐药的干预策略研究提供研究方向。本文总结了从基因调控的不同层次探索肺腺癌细胞 DTX 耐药机制的研究进展,并试图通过本课题组研究的经验和得失给开展类似研究工作的同行以些许启迪。

1 建立肺腺癌 DTX 耐药细胞模型

为了开展肺腺癌 DTX 耐药表型形成机制的研究工作,本课题组首先采用体外逐步提高 DTX 浓度的方法,诱导建立了稳定传代的人肺腺癌 SPC-A1 耐 DTX 细胞系,命名为“SPC-A1/DTX”。与 SPC-A1 亲本细胞相比,SPC-A1/DTX 细胞体积较大,呈不规则多边形,细胞融合前具有较多细长的伪足,提示有较强的迁移能力。进一步研究表明,该耐药细胞对 DTX 呈现较高的耐药性(耐药指数达 13.20),同时对紫杉醇、顺铂、卡铂、吉西他滨、长春瑞滨、表柔比星、依托泊苷等多药耐药。与亲本细胞相比,SPC-A1/DTX 耐药细胞倍增时间明显延长,S 期细胞明显增多,对于 DTX 诱导的凋亡及 G₂/M 期检查点阻滞的应答能力明显降低。裸鼠皮下成瘤实验结果提示,SPC-A1/DTX 耐药细胞较亲本细胞在体内的成瘤能力明显增强,产生的肿瘤对随后的 DTX 治疗敏感性明显降低^[3,4]。

紫杉醇类化疗药物为 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gP)的作用底物之一,其耐药机制与 MDR1 基因扩增导致的 P-gP 高表达密切相关。耐药谱检测发现,SPC-A1/DTX 耐药细胞表现出对表柔比星(P-gP 作用底物之一)较高的耐药性。细胞内罗丹明(P-gP 的另一作用底物)蓄积实验也证实,SPC-A1/DTX 耐药细胞内罗丹明蓄积较亲本 SPC-A1 细胞明显减少。流式细胞术结果提示,SPC-A1/DTX 细胞 P-gP 表达水平较亲本 SPC-A1 细胞明显上调,使用质膜药泵抑制剂维拉帕米后 P-gP 的表达下降。这些结果均表明,P-gP 的高表达与 SPC-A1/DTX 细胞的耐药表型密切相关。

SPC-A1/DTX 细胞是国内首次建成的耐 DTX 的肺癌细胞系,为深入研究肺腺癌多药耐药机制及逆转策略提供了可靠的实验技术平台。从初步研究来看,经体外诱导耐药建立的 SPC-A1/DTX 细胞在体内、外均表现出对 DTX 较高的耐药性,并呈多药耐药特性,与亲本 SPC-A1 细胞的生物学特性存在明显差异。但当时本课题研究焦点主要集中于质膜药泵蛋白 P-gP 的异常表达,即更多专注于对“多药耐药”表型的探究。鉴于 DTX 是一类以微管为作用靶点的周期特异性化疗药物,在产生化疗耐药表型的过程中必然发生或伴有细胞增殖、凋亡及细胞周期的调控紊乱,对这些机制的深入探讨似乎更能说明 DTX 有别于其他化疗药物的耐药成因。

2 肿瘤干细胞影响肺腺癌细胞耐药表型

肿瘤干细胞理论认为,肿瘤是由异质细胞构成的一个群体,肿瘤的形成及生长由称为肿瘤干细胞的一小群细胞驱动。干细胞是具有自我更新能力和多向分化潜能的一类未分化的细胞,由于其高表达 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白,通常处于静止期,并具有较强的 DNA 修复能力及抗凋亡能力,因而对传统化疗药物耐药^[5]。肿瘤干细胞由于高表达 ABC 转运蛋白,呈现天然耐药状态,利用这一特性,可以从肿瘤细胞中分选出一种富含干细胞组分的侧群(side population, SP)细胞,成为研究干细胞特别是肿瘤干细胞的重要方法之一。

在前期构建 DTX 耐药细胞系 SPC-A1/DTX 的基础上,本课题组进一步比较了 SPC-A1 及 SPC-A1/DTX 细胞间 SP 细胞比例的差异及其生物学特性,以及 ABC 转运蛋白的表达及其对 DTX 耐药性的影响。结果发现,SPC-A1 及 SPC-A1/DTX 细胞中均存在 SP 细胞,SPC-A1/DTX 细胞中的 SP 细胞比例高

于 SPC-A1 细胞;耐药蛋白 P-gP 和乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP) 在 SPC-A1/DTX 及 SPC-A1/DTX-SP 细胞中均有明显表达,而在 SPC-A1-SP 细胞中仅有 BCRP 的表达增高;SPC-A1-SP 细胞的增殖、克隆形成率及致瘤性均显著高于 SPC-A1/DTX-SP 细胞;SPC-A1/DTX 细胞的耐药性可被维拉帕米逆转,而相同浓度的维拉帕米不能完全逆转 SPC-A1-SP 细胞的耐药性。

上述实验结果表明,耐药蛋白 BCRP 在分选 SPC-A1 细胞中具有肿瘤干细胞性质的 SP 细胞时起主要作用,由此分选出的 SPC-A1-SP 细胞基本具备了肿瘤干细胞的特性,且 BCRP 表达也是 SPC-A1-SP 细胞 DTX 耐药的一个重要因素^[6-8]。

3 *ING4* 基因影响肺腺癌细胞耐药表型

肺癌耐药与多种基因的表达异常相关,研究肺癌细胞耐药前后基因表达的差异,寻找新的耐药相关基因,对探讨肺癌化疗耐药机制无疑可起到重要作用。通过对亲本 SPC-A1 细胞及耐药 SPC-A1/DTX 细胞进行全基因组 cDNA 芯片分析,发现 SPC-A1/DTX 耐药细胞与亲本细胞之间差异表达的基因共 934 条,其中表达上调的 428 条、下调的 506 条;基因功能涉及药物转运、细胞周期、凋亡、 β -微管蛋白结构等诸多细胞生理学进程^[9-10],初步分类如下:

(1) ABC 转运体类:与亲本 SPC-A1 细胞相比,SPC-A1/DTX 细胞中 *ABCB1*、*ABCC4* (*MRP4*)、*ABCC5* (*MRP5*)、*ABCC6* (*MRP6*)、*ABCC10* (*MRP7*)、*ABCG2* 等的表达明显增高;

(2) 凋亡相关基因:与亲本细胞相比,SPC-A1/DTX 细胞中 *Bcl-2*、*EIRC5* (编码 *survivin*)、*PRKCB1*、*PRKCD*、*PRKCBP1* 等表达明显增高,*CASP3*、*CASP8*、*Bax* 表达明显降低;

(3) β 微管蛋白同种异构体:编码 β 微管蛋白同种型的基因 *TUBB2A*、*TUBB2C*、*TUBB3* 在 SPC-A1/DTX 细胞中的表达明显增高,其所编码蛋白分别为 β II、 β IVb、 β III。

在芯片筛选结果的基础上,通过 RT-PCR、Western blotting 和免疫组化方法均证实,*ING4* (inhibitory of growth 4) 基因是耐药细胞中下调最为显著的基因之一。*ING4* 是 *ING* 家族的成员之一,具有抑癌作用,与肿瘤生长、血管发生、DNA 修复等密切相关。进一步研究表明,DTX 作用后,SPC-A1 细胞中 *ING4* mRNA 表达水平的降低呈时间依赖性,但无浓度依赖性。提示 *ING4* 表达水平与 SPC-A1/DTX 细胞耐药密切相关。接下来本课题组构建了 *ING4* 基因的

过表达载体 (pcDNA/ING4),转染 SPC-A1/DTX 细胞后,发现 *ING4* 基因表达水平的上调可显著增强 SPC-A1/DTX 细胞对 DTX 的敏感性,同时伴有细胞凋亡率的增加及细胞周期 G_2/M 期的阻滞;相反,将 *ING4* 的 RNA 干扰载体 (pSil/shING4) 转染 SPC-A1 亲本细胞后,*ING4* 基因表达水平下调,且 SPC-A1 细胞对 DTX 的化疗敏感性显著降低,同时 S 期细胞增多、 G_2/M 期细胞减少。进一步研究发现,*ING4* 诱导 SPC-A1/DTX 细胞凋亡过程中,伴有抗凋亡蛋白 *Bcl-2* 的明显下调和促凋亡蛋白 *Bax* 的明显上调,且正是 *Bcl-2/Bax* 比例的失衡最终导致了 *caspase-3* 的活化和细胞凋亡。裸鼠皮下移植瘤体内实验中,上调 *ING4* 的表达联合 DTX 治疗可协同抑制移植瘤的生长,并显著降低移植瘤组织中核增殖抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的表达。在已接受过 6 周期 DP (DTX + 顺铂) 或 DC (DTX + 卡铂) 方案化疗的 IIIa 期肺腺癌患者的肿瘤组织标本中,免疫组化分析发现,*ING4* 蛋白的表达水平与患者对 DTX 为基础的化疗方案的反应性呈正相关,且 *ING4* 高表达的患者无进展生存期显著长于 *ING4* 低表达者。以上研究首次阐明了 *ING4* 表达下调是肺腺癌细胞 DTX 耐药过程中的一个重要调节因子,有望成为逆转肺腺癌 DTX 耐药的分子靶标,同时也提示肿瘤中 *ING4* 表达水平可能作为肺腺癌患者 DTX 治疗疗效的预测指标之一^[11]。

全基因组 cDNA 芯片分析技术是筛选差异表达基因的重要手段,但其得到的数据往往是海量的,从中筛选出主要的差异基因进行进一步的功能研究才能证实其实际功能,这是此项研究工作的重要启示。

4 miR-200b/E2F3 及 miR-100/Plk-1 通路影响肺腺癌细胞耐药表型

肿瘤细胞耐药表型的形成是一个多步骤、多因素参与的复杂过程,涉及关键基因的遗传学及表观遗传学调控。遗传学调控指 DNA 核苷酸序列的改变,包括基因突变、缺失、扩增、重排等;表观遗传学调控指碱基修饰及染色质构象的改变,包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化、基因组印记、非编码 RNA 的转录后调控等。表观遗传学调控机制虽然不改变遗传信息,但可通过碱基修饰及染色质构象变化等促使细胞遗传性质发生变化,在基因表达调控上提供了一种高层次的调控模式,被认为是控制基因活动的“开关”,已成为后基因组时代的研究热点。

miRNA 是一类广泛存在于生物体内的短链非编码小 RNA,通过与靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区

(3'-untranslated region, 3'-UTR) 结合, 在转录后水平抑制靶基因的翻译, 从而实现对基因表达的负性调控^[18]。miRNA 广泛参与分子信号通路、细胞生长、分化和凋亡等的调控。近年来, 由于 miRNA 表达改变导致靶基因表达紊乱, 促进肿瘤发生、发展已有较多报道^[12]。越来越多的证据^[13-14]表明, miRNA 对肿瘤细胞 DTX 耐药过程中的关键基因具有重要的调控作用。

为了更加深入地理解 SPC-A1/DTX 细胞耐药机制并探索可能的逆转策略, 本课题组利用高通量芯片技术分析了耐药 SPC-A1/DTX 细胞与亲本 SPC-A1 细胞之间的 miRNA 差异表达谱, 结果提示: 在差异表达倍数 ≥ 2 的条件下, SPC-A1/DTX 细胞中存在高表达和低表达的 miRNA 各 8 条, 其中下调最为显著的是 miR-200b (12.4 倍)。该结果亦通过 real-time PCR 得到了验证^[15]。miR-200b 是 miR-200 家族成员之一, 在进化上高度保守。普遍认为, 上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是肿瘤侵袭、转移过程的重要起始步骤。已有的研究^[13]结果提示, miR-200b 可通过靶向抑制 ZEB1/2, 促进 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达, 是 EMT 过程中重要的负性调控因子, 与肿瘤侵袭、转移及化疗耐药密切相关。亦有报道^[13]提示, miR-200b 表达异常与肿瘤细胞增殖、凋亡及细胞周期调控紊乱密切相关。

基于肿瘤转移与化疗耐药间存在一些共同点, 如对凋亡的抵抗、侵袭能力增强等, 本课题组选定 miR-200b 为研究对象, 构建 miR-200b 基因过表达载体 (pcDNA/miR-200b) 和单链抑制物 (miR-200b inhibitor), 并分别转染 SPC-A1/DTX 和 SPC-A1 细胞, 通过人为改变细胞内 miR-200b 表达水平, 探索 miR-200b 对肺腺癌细胞增殖、凋亡、细胞周期及化疗敏感性的影响。结果发现: miR-200b 在体外可显著逆转耐药 SPC-A1/DTX 细胞对 DTX 的敏感性, 抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡, 有效减少 S 期细胞比例, 并使细胞发生 G₂/M 期阻滞。裸鼠皮下移植瘤实验证实: 上调 miR-200b 的表达联合 DTX 治疗可协同降低 SPC-A1/DTX 细胞的裸鼠成瘤能力, 并显著降低肿瘤组织内 PCNA 的表达, 抑制 SPC-A1/DTX 细胞增殖。

miRNA 和靶基因之间的作用具有一定的规律性, 并遵循以下原则: (1) miRNA 与其靶位点的互补性; (2) miRNA 靶位点在不同物种之间的保守性; (3) miRNA-mRNA 双链之间的热稳定性; (4) miRNA 靶位点处不应有复杂二级结构; (5) miRNA 与靶

基因 5' 端的结合能力强于 3' 端。鉴于上述原则, 本课题组在后期的研究中, 利用 4 种不同的 miRNA 及靶基因预测分析软件 (<http://www.targetscaan.org>, <http://microna.sanger.ac.uk/targets/v5>, <http://www.diana.pcbi.upenn.edu> 和 <http://www.microna.org/microna/home.do>) 进行了生物信息学预测分析, 结果发现: 转录因子 E2F3 的 mRNA 3'-UTR 序列 1779 ~ 1801、4149 ~ 4168、4567 ~ 4589 碱基位置含有 3 个潜在的 miR-200b 结合位点, 提示 E2F3 是 miR-200b 的候选靶基因, 这一结果亦通过双向荧光素酶报告基因实验得到了直接证实。E2F3 是转录因子 E2F 家族成员, 可通过细胞 G₁/S 期转化而促进细胞增殖^[16]。近年来的研究^[16-18]表明, E2F3 尚可通过 Cdk1、aurora-A、survivin 等关键基因参与对细胞有丝分裂进程的调控。在接下来的实验中, 本课题组合成了针对 E2F3 的小干扰 RNA (siRNA/E2F3), 转染 SPC-A1/DTX 细胞, 下调 E2F3 表达, 以期探索 E2F3 对 SPC-A1/DTX 细胞增殖、凋亡、细胞周期及化疗敏感性的影响。结果发现: 干扰 E2F3 表达可显著增加 SPC-A1/DTX 细胞对 DTX 的敏感性, 抑制细胞的增殖, 有效减少 S 期细胞比例, 并诱导细胞发生 G₂/M 期阻滞, 这些结果与上述 miR-200b 过表达实验的结果基本吻合; 不同之处在于, 抑制 E2F3 并不影响细胞早期凋亡, 这提示 E2F3 可能通过调控细胞周期进展, 尤其是有丝分裂参与 SPC-A1/DTX 细胞耐药。最后, 本课题组选取了 53 例临床上使用过包含 DTX 化疗方案治疗的晚期肺腺癌患者, 通过 real-time PCR 检测其肿瘤组织中 miR-200b、E2F3 的表达情况并结合临床资料进行分析, 发现 miR-200b 的表达水平与患者的化疗敏感性及总生存期呈正相关, 而与 E2F3 mRNA 表达水平呈负相关^[19]。

以上结果表明, miR-200b 可通过下调 E2F3 基因的表达, 显著逆转肺腺癌细胞的化疗耐药, 提示 miR-200b/E2F3 通路有望成为临床逆转肺腺癌化疗耐药的新型分子靶点, 其表达水平也可能作为预测肺腺癌患者 DTX 临床疗效和预后的重要指标之一^[20]。

采用相似的实验手段, 本课题组还探索了 SPC-A1/DTX 细胞中另一条 miRNA/靶基因通路: miR-100/Plk-1 通路。结果发现: 肺腺癌细胞中 miR-100 表达下调引起的 Plk-1 异常上调可通过异常活化 G₂/M 期转化, 促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 参与肺腺癌细胞 DTX 化疗耐药, 提示 miR-100/Plk-1 通路可能作为临床肺腺癌患者 DTX 化疗耐药的又一

分子治疗靶点和疗效预测指标^[21]。

5 结 语

纵观本课题组围绕人肺腺癌 DTX 耐药机制研究进行的一系列工作,不难发现,这是一条从现象到本质、从宏观到微观的溯源之路,也是一条在实践中不断修正方向、探索前进之路。肿瘤细胞的耐药现象与肿瘤的其他生物学特征一样,其背后有着错综复杂的调控网络,只有抓住不同调控层次的主要矛盾,由表及里、逐渐深入,才能推动研究工作的顺利进行。目前,笔者实验室研究体系初步形成,但仍面临着许多亟待解决的问题。首先,前期研究已经发现 *ING4* 基因、miR-200b/E2F3 及 miR-100/Plk-1 通路参与了肺腺癌 DTX 耐药机制的形成,但其表达水平能否作为临床指导 DTX 个体化用药的分子靶标,还需要开展大样本的临床研究加以证实;其次,深入研究 miR-200b 表达水平下调的分子机制将有助于进一步了解 miR-200b 与肺腺癌多药耐药之间的关系。由这一思路发散开来,继续寻找和验证更多异常表达的 miRNA/靶基因轴,并探索其网络关联性,探讨相关抑癌基因甲基化及组蛋白乙酰化在耐药中的作用必将为肺腺癌患者的早期诊断、预后判断,以及治疗中新型分子靶向药物的开发提供更为坚实的理论基础,这方面的研究工作本课题组正在进行中。

[参 考 文 献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008 [J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58(2): 71-96.
- [2] 孙海, 耿建, 陈龙邦. 紫杉类药物耐药机制的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2007, 20(3): 315-323.
- [3] 孙海, 耿建, 金洁, 等. 人肺腺癌细胞系 SPC-A1 多西他赛耐药细胞系的建立及其特性 [J]. 中国癌症杂志, 2007, 17(4): 283-287.
- [4] 刘小北, 孙海, 陈龙邦. 凋亡抵抗在人肺腺癌 SPC-A1/多西紫杉醇细胞系耐药机制中的作用 [J]. 医学研究生学报, 2008, 21(2): 121-125.
- [5] 朱言亮, 陈龙邦. 肿瘤干细胞与肿瘤多药耐药的关系 [J]. 实用癌症杂志, 2009, 24(2): 218-220.
- [6] Zhu YL, Chen LB, Wang JH, et al. Identification and characterization of side population cells in human lung adenocarcinoma SPC-A1 cells [J]. Chin J Cancer Res, 2010, 22(3): 211-217.
- [7] 朱言亮, 陈龙邦, 王靖华, 等. 肺腺癌细胞株 SPC-A1 中侧群细胞的分离与肿瘤干细胞样特征的鉴定 [J]. 中国肺癌杂志, 2008, 11(5): 681-685.
- [8] 朱言亮, 陈龙邦, 王靖华, 等. ABC 转运蛋白在 SPC-A1 细胞系中 SP 细胞多药耐药机制的研究 [J]. 医学研究生学报, 2009, 22(7): 692-700.
- [9] 孙海, 耿建, 陈龙邦. 应用基因芯片技术筛选人肺腺癌 SPC-A1 多西他赛耐药差异表达基因 [J]. 中国肺癌杂志, 2007, 10(5): 356-361.
- [10] Sun H, Chen LB. Mechanism of drug resistance identified in human lung adenocarcinoma cell line SPC-A1 selected for resistance to docetaxel [J]. Chin J Cancer Res, 2009, 21(3): 207-216.
- [11] Wang R, Huang J, Feng B, et al. Identification of ING4 (inhibitor of growth 4) as a modulator of docetaxel sensitivity in human lung adenocarcinoma [J]. Mol Med, 2012, 18(1): 874-886.
- [12] Park SM, Gaur AB, Lengyel E, et al. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2 [J]. Genes Dev, 2008, 22(7): 894-907.
- [13] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1 [J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(5): 593-601.
- [14] Tryndyak VP, Beland FA, Pogribny IP. E-cadherin transcriptional down-regulation by epigenetic and microRNA-200 family alterations is related to mesenchymal and drug-resistant phenotypes in human breast cancer cells [J]. Int J Cancer, 2010, 126(11): 2575-2583.
- [15] Wang R, Feng B, Song HZ, et al. Identification of microRNA profiles in docetaxel-resistant human non-small cell lung carcinoma cells (SPC-A1) [J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(1/2): 206-214.
- [16] Sharma N, Timmers C, Trikha P, et al. Control of the p53-p21CIP1 axis by E2F1, E2F2, and E2F3 is essential for G₁/S progression and cellular transformation [J]. J Biol Chem, 2006, 281(47): 36124-36131.
- [17] Zhu W, Giangrande PH, Nevins JR. E2Fs link the control of G₁/S and G₂/M transcription [J]. EMBO J, 2004, 23(23): 4615-4626.
- [18] He L, Yang H, Ma Y, et al. Identification of aurora-A as a direct target of E2F3 during G₂/M cell cycle progression [J]. J Biol Chem, 2008, 283(45): 31012-31020.
- [19] Feng B, Wang R, Song HZ, et al. MicroRNA-200b reverses chemoresistance of docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma cells by targeting E2F3 [J]. Cancer, 2012, 118(13): 3365-3376.
- [20] Feng B, Wang R, Chen LB. Review of miR-200b and cancer chemosensitivity [J]. Biomed Pharmacother, 2012, 66(6): 397-402.
- [21] Feng B, Wang R, Chen LB. MiR-100 resensitizes docetaxel-resistant Human lung adenocarcinoma cells (SPC-A1) to docetaxel by targeting Plk-1 [J]. Cancer Lett, 2012, 317(2): 184-191.

[收稿日期] 2012 - 07 - 11

[修回日期] 2012 - 08 - 22

[本文编辑] 王莹, 周玲琳