

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.009

沉默 *HuR* 的表达增加人乳腺癌耐药 MCF-7/Adr 细胞对多柔比星的敏感性

楚慧丽¹, 王俊¹, 朱忠鹏¹, 郭燕², 王宝成¹, 毕经旺¹, 李锴男¹, 梁秀菊¹(1. 中国人民解放军济南军区总医院 肿瘤科, 山东 济南 250031; 2. 山东省军区 门诊部, 山东 济南 250013)

[摘要] **目的:**研究 RNA 干扰人抗原 R (human antigen R, *HuR*) 基因的表达对人乳腺癌耐药细胞株 MCF-7/Adr 对多柔比星 (doxorubicin) 敏感性的影响。**方法:**构建靶向 *HuR* 基因的 shRNA 表达质粒 (pGenesil-siHuR), 稳定转染至 MCF-7/Adr 细胞, real-time PCR 检测细胞中 *MDR1* mRNA 的表达, Western blotting 检测 MCF-7/Adr 细胞中由 *MDR1* 基因编码的 P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 的表达, MTT 法检测 pGenesil-siHuR 转染后 MCF-7/Adr 细胞在多柔比星作用后的存活率和 IC₅₀, 流式细胞术检测 MCF-7/Adr 细胞的凋亡率。**结果:**与未转染的 MCF-7/Adr 细胞比较, pGenesil-siHuR 质粒转染 MCF-7/Adr 细胞中 *MDR1* mRNA 的表达水平明显减低 [(0.184 ± 0.029) vs (1.203 ± 0.026), $P < 0.01$], P-gp 表达水平明显降低。pGenesil-siHuR 质粒转染 MCF-7/Adr 细胞后, MCF-7/Adr 细胞对多柔比星的 IC₅₀ 从未转染的 (148.2 ± 2.3) nmol/L 降至 (42.9 ± 0.4) nmol/L; 经多柔比星处理后, pGenesil-siHuR 质粒转染组 MCF-7/Adr 细胞的凋亡率明显上升 [(34.6 ± 1.1)% vs (1.1 ± 0.2)% , $P < 0.01$]。**结论:**RNA 干扰 *HuR* 的表达能抑制 *MDR1* 基因的表达, 增加耐药乳腺癌 MCF-7/Adr 细胞对多柔比星的敏感性。

[关键词] 人抗原 R 基因; 乳腺癌; MCF-7/Adr 细胞; 多药耐药; 多柔比星; RNA 干扰

[中图分类号] R737.9; R730.54; R730.53 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2013)02-0182-05

Silencing *HuR* expression increases sensitivity of multidrug-resistant human breast cancer MCF-7/Adr cells to doxorubicin

Chu Huili¹, Wang Jun¹, Zhu Zhongpeng¹, Guo Yan², Wang Baocheng¹, Bi Jingwang¹, Li Kainan¹, Liang Xiuju¹(1. Department of Oncology, General Hospital, Jinan Military Command of People's Liberation Army, Ji'nan 250031, Shandong, China; 2. Department of Outpatient, Military Command of Shandong Province, Ji'nan 250013, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of interference of human antigen R (HuR) expression on sensitivity of human multidrug-resistant human breast cancer MCF-7/Adr cell line to Doxorubicin. **Methods:** The shRNA expression vector targeting HuR gene (pGenesil-siHuR) has been constructed and stably transfected into human breast cancer MCF-7/Adr cell line. The expression level of *MDR1* mRNA in MCF-7/Adr cells was assayed by real-time PCR. The P-gp protein (encoded by the *MDR1* gene) expression were determined by Western blotting. The survival rate and IC₅₀ of MCF-7/Adr cells to doxorubicin after pGenesil-siHuR transfection were evaluated by MTT method. The apoptosis rate of MCF-7/Adr cells was detected by flow cytometry. **Results:** Compared with untransfected MCF-7/Adr cells, the *MDR1* mRNA [(0.184 ± 0.029) vs [1.203 ± 0.026], $P < 0.01$) and P-gp protein expressions [(0.314 ± 0.011) vs [0.796 ± 0.007], $P < 0.01$) were significantly reduced in pGenesil-siHuR transfected MCF-7/Adr cells ($P < 0.01$). The IC₅₀ of MCF-7/Adr cells to doxorubicin decreased from (148.2 ± 2.3) nmol/L to (42.9 ± 0.4) nmol/L after pGenesil-siHuR transfection. Compared with untransfected MCF-7/Adr cells, the ratio of cell apoptosis was significantly increased in pGenesil-siHuR transfected MCF-7/Adr cells [(34.6 ± 1.1)% vs [1.1 ± 0.2)% , $P < 0.01$] after the treatment with doxorubicin. **Conclusion:** RNA interference of *HuR* can inhibit the expression of *MDR1* gene and increase the sensitivity of multidrug-resistant breast cancer cells to doxorubicin.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30901788, No. 81272619), 山东省自然科学基金资助项目 (No. ZR2010HQ038, No. ZR2010HM059)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30901788, No. 81272619), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2010HQ038, No. ZR2010HM059)

[作者简介] 楚慧丽 (1985 -), 女, 山东省菏泽市人, 硕士, 技师, 主要从事恶性肿瘤分子诊断的研究。E-mail: chuhuilic@163.com

[通信作者] 王俊 (Wang Jun, corresponding author), E-mail: ggjun2005@126.com

[**Key words**] human antigen R gene; breast cancer; MCF-7/Adr cell; multidrug-resistant; doxorubicin; RNA interference
[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(2): 182-186]

如何预防和逆转肿瘤耐药是当今肿瘤学领域研究的重要课题^[1],多药耐药(multidrug resistance, MDR),尤其是获得性MDR是肿瘤内科治疗的主要障碍,多药耐药基因1(MDR gene 1, *MDR1*)是高度保守的功能耐药基因,其表达产物为P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)。P-gp在多种肿瘤中高表达,是引起乳腺癌化疗后耐药的关键分子。*MDR1*介导乳腺癌MDR的主要机制是:通过膜受体介导的药物摄入和外流改变,使细胞内药物浓度降低,从而导致耐药^[2]。目前以*MDR1*为靶点逆转肿瘤MDR的策略主要是抑制*MDR1*基因产物的功能以及抑制*MDR1*基因的表达,但效果甚微。因此,深入探讨*MDR1*介导肿瘤MDR的分子机制,尤其是*MDR1*表达调控的重要机制,有助于寻找预防和治疗肿瘤耐药的有效途径。

人抗原R(human antigen R, HuR)属于胚胎致死异常视觉(embryonic lethal abnormal vision, ELAV)家族的RNA结合蛋白,可在转录后水平调控真核细胞基因表达。在肿瘤中,HuR的作用涉及调控肿瘤细胞增殖、分化、凋亡、血管生成和淋巴管生成等过程^[3]。HuR参与的转录后调控被认为与靶基因3'末端未翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)的富含腺嘌呤和尿嘧啶的序列(AU-rich element, ARE)的相互作用有关。然而,HuR是否参与了获得性多药耐药并不清楚^[4]。因此,本研究利用RNA干扰方法敲减HuR表达,探讨其对乳腺癌耐药细胞株对多柔比星(doxorubicin)敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

pGenesil-1载体购于武汉晶赛生物工程技术有限公司,pGenesil-siHuR和pGenesil-siControl由本室构建^[5]并保存。乳腺癌对多柔比星耐药细胞株MCF-7/Adr由第三军医大学全军肿瘤研究所提供。Lipofectamine™ 2000购于美国Invitrogen公司,B型质粒小样快速提取试剂盒购于北京博大泰克生物技术有限公司,MTT购自美国Sigma公司,DMEM、胎牛血清购自美国Invitrogen公司,逆转录试剂盒购自TaKaRa公司。注射用多柔比星购于浙江海正药业股份有限公司,规格10mg/支,批号100342。

1.2 pGenesil-siHuR质粒转染MCF-7/Adr细胞

转染MCF-7/Adr细胞前1d,胰酶消化细胞并

计数,用不含血清和抗生素的培养基悬浮细胞,细胞铺板在12孔板中,0.5 ml/孔,37℃、5% CO₂培养箱中孵育过夜。在50 μl无血清的DMEM中加入1 μl Lipofectamine™ 2000脂质体试剂,室温下放置3 min。将800 ng的质粒加至50 μl DMEM中,然后将稀释的Lipofectamine™ 2000和稀释的质粒混匀,室温放置20 min。吸弃培养孔中的上清,加入50 μl不含血清的DMEM,然后加入脂质体和质粒混合液。转染6 h后,吸弃培养上清,加入DMEM完全培养基,继续培养。转染48 h后,胰酶消化细胞,然后使用400 μg/ml的G418筛选建立稳定表达siRNA的细胞株。培养10 d后,荧光显微镜下挑选克隆,加入G418 200 μg/ml继续维持培养,3~5 d更换一次G418筛选液。实验同时设置阴性对照组(即未转染组)及pGenesil-siControl对照组(含无关对照序列,与人非同源)。

1.3 Real-time PCR检测pGenesil-siHuR转染对MCF-7/Adr细胞中*MDR1* mRNA表达的影响

消化收集稳定转染后的MCF-7/Adr细胞,使用Tripure抽提细胞总RNA,按TaKaRa试剂盒操作说明逆转录cDNA。*MDR1*上游引物:5'-CCCATCATTGCAATAGCAGG-3',下游引物:5'-GTTCAAACCTTCTGCTCCTGA-3'。以β-actin为内参照,其上游引物为:5'-GACTTAGTTGCGTTACACCCTTTC-3',下游引物:5'-GCTGTACCTTCACCGTTC-3'。Real-time PCR扩增条件为:94℃ 3 min;94℃ 30 s,52~60℃ 30 s,72℃ 40 s;72℃延伸3 min;循环40次;扩增完毕后进行溶解曲线分析。实验重复3次。*MDR1* mRNA的相对含量以以下公式计算: $MDR1 \text{ mRNA} / \beta\text{-actin mRNA} = 2^{CtA - CtB}$ (其中CtA为β-actin的Ct值,CtB为*MDR1* mRNA的Ct值)。

1.4 Western blotting检测pGenesil-siHuR转染对MCF-7/Adr细胞中P-gp蛋白表达的影响

使用RIPA缓冲液提取总蛋白(RIPA成分:50 mmol/L Tris-HCl pH 8.0,150 mmol/L NaCl,1% NP-40,0.5% sodium deoxycholate,1% SDS,2 mmol/L EDTA),提取100 μg蛋白,经10% SDS-PAGE电泳分离后,电转至NC膜,室温封闭过夜。加入1:200的抗P-gp抗体,4℃孵育过夜,洗膜后加过氧化物酶标记的IgG二抗,继续孵育2 h,NC膜洗涤后置于化学发光试剂中反应1~3 min,在暗室中曝光,凝胶成像仪观察并保存图片。此外,曝光后的NC膜继续用DAB

常规显色 5 min, 凝胶成像仪观察并保存图片。

1.5 MTT 法检测 pGenesil-siHuR 转染的 MCF-7/Adr 细胞对多柔比星敏感性的影响

取对数生长期的细胞 2×10^4 个, 接种于 96 孔板, 每孔 180 μl 。细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中培养 24 h, 随后加入不同浓度的多柔比星, 继续培养 48 h 后离心, 吸去上清, PBS 洗涤 2 次。每孔加入 180 μl 新鲜培养液, 再加入 20 μl MTT 溶液 (5 g/L), 继续培养 4 h, 吸去培养液后每孔加入 150 μl DMSO, 避光振荡 10 min, 使结晶物充分溶解。全自动酶标仪上测定 490 nm 处各孔的光密度值 (D_{490}), 并计算各组细胞增殖抑制率, 再按 Bliss 法计算出半数抑制浓度 (IC_{50})。细胞抑制率 (%) = $(1 - \text{处理组 } D_{490} / \text{未处理组 } D_{490}) \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

1.6 流式细胞术检测 MCF-7/Adr 细胞的凋亡

取对数生长期的 MCF-7/Adr 细胞, 分成非转染组、质粒转染组, 然后加或不加多柔比星。孵育 24 h 后分别收集各组细胞, PBS 洗涤 2 次, 离心弃上清, 沿管壁加入 70% 冷乙醇, 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜。PBS 洗涤 2 次后用 PI 染色, 室温避光孵育 30 min, 用流式细胞术检测 MCF-7/Adr 细胞凋亡率, Cell Quest 软件分析。每组实验重复 3 次。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS11.5 统计软件分析, 多组数据间用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pGenesil-siHuR 质粒转染抑制 MCF-7/Adr 细胞中 *MDR1* mRNA 的表达

前期研究^[5]显示, 干扰 HuR 的表达质粒 pGenesil-siHuR 可显著抑制肺癌细胞表达 HuR, HuR mRNA 和蛋白表达的抑制率分别达到 85% 和 73%。本研究采用 real-time PCR 检测了 pGenesil-siHuR 质粒转染对 MCF-7/Adr 细胞中 *MDR1* mRNA 表达的影响。如图 1 所示, 与未转染组 MCF-7/Adr 细胞比较, pGenesil-siHuR 转染组 MCF-7/Adr 细胞 *MDR1* mRNA 表达显著性下调: 未转染组为 (1.203 ± 0.026) , 转染组为 (0.184 ± 0.029) , 组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 但 pGenesil-siControl 转染组和未转染组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 pGenesil-siHuR 质粒转染抑制 MCF-7/Adr 细胞中 P-gp 的表达

P-gp 是 *MDR1* 基因的表达产物, 本研究进一步

分析 pGenesil-siHuR 质粒转染是否能影响 P-gp 的表达。如图 2 所示, 与未转染组 MCF-7/Adr 细胞比较, pGenesil-siHuR 转染组 MCF-7/Adr 细胞表达 P-gp 水平明显降低: 未转染组为 (0.796 ± 0.007) , 转染组为 (0.314 ± 0.011) , 组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 但 pGenesil-siControl 转染组和未转染组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

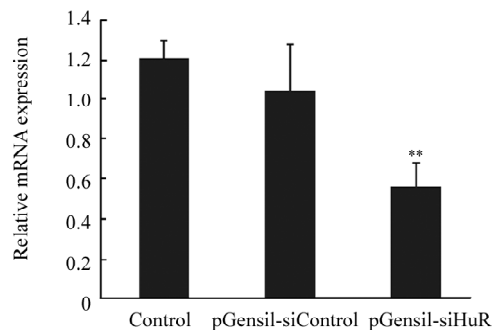


图 1 pGenesil-siHuR 质粒转染抑制 MCF-7/Adr 细胞 *MDR1* mRNA 的表达

Fig. 1 Inhibition of *MDR1* mRNA expression in MCF-7/Adr cells after pGenesil-siHuR transfection

** $P < 0.01$ vs control group

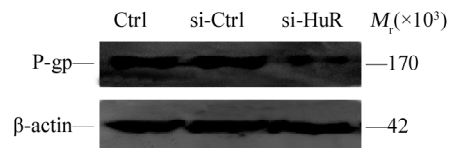


图 2 pGenesil-siHuR 质粒转染抑制 MCF-7/Adr 细胞 P-gp 蛋白的表达

Fig. 2 Inhibition of P-gp protein expression in MCF-7/Adr cells after pGenesil-siHuR transfection

2.3 pGenesil-siHuR 质粒转染增加 MCF-7/Adr 细胞对多柔比星的敏感性

MCF-7/Adr 细胞株稳定转染 pGenesil-siHuR 或 pGenesil-siControl, 然后加入不同浓度的多柔比星。未转染 MCF-7/Adr 细胞对多柔比星的 IC_{50} 为 (148.2 ± 2.3) nmol/L, pGenesil-siControl 转染组的 IC_{50} 为 (145.4 ± 1.2) nmol/L, 两者之间的 IC_{50} 无显著性差异。但是 pGenesil-siHuR 转染组 MCF-7/Adr 细胞的 IC_{50} 与未转染组细胞比较, 下降了 70.5%, 达到 (42.9 ± 0.4) nmol/L ($P < 0.05$)。见表 1。

2.4 pGenesil-siHuR 质粒转染对 MCF-7/Adr 细胞凋亡的影响

细胞加入 2 nmol/L 多柔比星 24 h 后, 通过流式

细胞术检测 MCF-7/Adr 细胞亚二倍体,反映细胞凋亡。多柔比星处理后, MCF-7/Adr 细胞凋亡率为 $(1.1 \pm 0.2)\%$, Genesil-siControl 转染组 MCF-7/Adr 细胞凋亡率为 $(1.5 \pm 0.09)\%$, 两组细胞凋亡率无

显著变化 ($P > 0.05$); 与未转染组 MCF-7/Adr 细胞相比, 转染 pGenesil-siHuR 组 MCF-7/Adr 细胞的凋亡率显著升高至 $(34.6 \pm 1.1)\%$ ($P < 0.01$)。

表 1 pGenesil-siHuR 转染降低 MCF-7/Adr 细胞在多柔比星作用下存活率 (%)

Tab. 1 pGenesil-siHuR transfection decreased survival rates of MCF-7/Adr cells treated by doxorubicin (%)

Group	Concentrations of doxorubicin ($c_B/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)						IC ₅₀ ($c_B/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
	0	25	50	100	150	300	
Control	100	97.4 ± 1.8	90.3 ± 0.2	72.1 ± 1.1	48.3 ± 2.2	11.7 ± 0.5	148.2 ± 2.3
pGenesil-Control	100	96.5 ± 0.9	86.4 ± 0.2	68.4 ± 1.7	46.9 ± 0.1	12.7 ± 0.3	145.4 ± 1.2
pGenesil-siHuR	81.5 ± 0.9	70.5 ± 1.1	38.4 ± 1.5	7.1 ± 0.7	5.3 ± 1.1	4.2 ± 0.5	42.9 ± 0.4*

* $P < 0.05$ vs control group

3 讨论

乳腺癌是妇女最常见的恶性肿瘤,含多柔比星方案是乳腺癌常用的联合化疗方案。尽管近年来新的化疗药物不断出现,化疗方案也不断改进,恶性肿瘤表现出来的耐药性仍然是化疗失败的主要原因^[6]。其中,MDR 作为肿瘤细胞免受药物攻击的重要的细胞防御机理,常使得肿瘤细胞同时对多柔比星、环磷酰胺等化学结构和作用机理迥然不同的抗癌药物产生耐药,极大降低了化疗的有效性。因此,寻求逆转 MDR 的途径和方法是肿瘤化疗过程中一个亟待解决的课题。

近 20 年来,科学家对 MDR 逆转剂开展了广泛深入的研究,已经发现钙离子通道阻滞剂、钙调蛋白抑制剂、亲脂性化合物、蛋白激酶 C 抑制剂、免疫抑制剂、抗生素类化合物、表面活性剂以及经过结构改造某些化合物能部分逆转 MDR, 其他的研究涉及反义 RNA、RNA 干扰等技术的应用。然而这些药物和技术存在一些局限性,例如毒性高、操作可行性差等。因此,有必要进一步研究 MDR 调控的分子机制,从而寻找更加适合的逆转 MDR 的靶分子^[1]。本研究显示, RNA 干扰 *HuR* 的表达可显著下调 *MDR1* mRNA 和 P-gp 蛋白表达,并增加耐药细胞 MCF-7/Adr 株对多柔比星的敏感性,提高了细胞凋亡率。因此, *HuR* 是调控 P-gp 表达的上游基因,它有望将来作为新的逆转 MDR 的靶点。

HuR 作为 ELAV 家族唯一可以增强 RNA 稳定性的 RNA 结合蛋白^[4,5], 通过 3 个 RNA 识别基序与 mRNA 3'UTR 的 ARE 及其他反式作用因子结合,从细胞核转运到细胞质,并改变 RNA 的空间结构,从

而抑制脱腺苷化、抑制 mRNA 募集至外切酶体或阻断可识别 ARE 的核酸内切酶的活性,增强 mRNA 的稳定性^[4]。本课题组前期研究^[5]发现, *HuR* 可能通过此机制调控 VEGF-C 表达,继而影响肺癌淋巴管生成和淋巴结转移; *HuR* 在细胞质的表达是肺癌患者独立的不良预后因子,并与微血管密度和微淋巴管密度呈正相关^[7]。Yague 等^[8]发现,白血病细胞 K562 暴露于多种化疗药物后, *MDR1* mRNA 半衰期增高 3 ~ 8 倍,增高的 mRNA 水平与增加的 mRNA 半衰期相关;破坏线粒体也可导致肿瘤细胞耐药和 *MDR1* 稳定性增高,这进一步表明 *MDR1* 基因表达调控涉及转录后因素。

研究发现,在不加化疗药多柔比星的情况下,敲减 *HuR* 表达也能部分抑制细胞存活、诱导细胞凋亡,包括敏感的 MCF-7 细胞和耐药细胞株。因此, *HuR* 可能参与了其他信号通路分子的表达调控,例如凋亡通路、细胞周期、细胞增殖相关基因等。通过这些通路, *HuR* 敲减诱导了细胞凋亡。例如, Filipova 等^[9]发现, *HuR* 可增加 Bcl-2 的表达,继而诱导凋亡抑制; *HuR* 也能激活 Akt 信号通路从而抑制细胞凋亡。此外, *HuR* 也调控多种增殖相关基因的表达,如 *cyclin A*、*cyclin B1* 和 *cyclin E1* 等^[10-11]。Latorre 等^[12]发现,高表达耐药蛋白 ABCG2 的乳腺癌细胞中 *HuR* 表达下降是其对多柔比星耐药的主要原因,而且 *HuR* 的胞质积累导致乳腺癌对他莫昔芬耐药^[13]。在胶质瘤细胞中, *HuR* 不仅是促进细胞增殖的重要分子,而且通过上调 Bcl-2 表达,抑制细胞凋亡,诱导肿瘤细胞耐药^[9,14]。在对卵巢癌的研究中,有学者发现胞质 *HuR* 高表达与 TUBB3 高表达呈正相关; *HuR* 和 miR-200c 共调控了 TUBB3 的

表达,在肿瘤细胞对紫杉醇和顺铂耐药的机制中发挥关键作用^[15-16]。结果说明,HuR是肿瘤耐药发生的重要分子。而另一方面,有研究证实HuR是肿瘤细胞对化疗药物敏感的标记物。在胰腺癌中,虽然胞质HuR阳性与肿瘤大小呈正相关,但对于接受吉西他滨治疗的患者,胞质HuR阳性是药物反应和良好预后的重要指标^[17]。后续研究^[18]发现,HuR是通过调控吉西他滨的活性代谢酶即脱氧胞苷激酶而发挥作用的。Calaluce等^[19]证实,在ER⁺和ER⁻细胞株中HuR的表达谱不同,其调节的靶分子也有区别,这说明HuR参与肿瘤细胞获得性耐药或固有性耐药远比预料中的复杂,不同的细胞、不同的底物,其机制也各不相同,究竟是哪些信号通路和分子影响了HuR的表达尚不清楚,值得进一步研究。

随着人们对HuR调控的深入研究,HuR在肿瘤发生、进展、转移和耐药中的作用会越来越明朗,将来HuR也有望作为新的抗肿瘤、逆转耐药的靶分子。例如,最近发现的多种植物提取物或天然单体成分包括绿茶、刺楸皂苷等能抑制HuR胞质转运或直接抑制HuR表达,为靶向抗肿瘤提出了新的方向^[20-23]。

[参考文献]

- [1] Dizdarevic S, Peters AM. Imaging of multidrug resistance in cancer [J]. *Cancer Imaging*, 2011, 11: 11-18.
- [2] Planas JM, Alfaras I, Colom H, et al. The bioavailability and distribution of trans-resveratrol are constrained by ABC transporters [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 527(2): 67-73.
- [3] Kim MY, Hur J, Jeong S. Emerging roles of RNA and RNA-binding protein network in cancer cells [J]. *BMB Rep*, 2009, 42(3): 125-130.
- [4] Hasegawa H, Kakuguchi W, Kuroshima T, et al. HuR is exported to the cytoplasm in oral cancer cells in a different manner from that of normal cells [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(12): 1943-1948.
- [5] Wang J, Zhao W, Guo Y, et al. The expression of RNA-binding protein HuR in non-small cell lung cancer correlates with vascular endothelial growth factor-C expression and lymph node metastasis [J]. *Oncology*, 2009, 76(6): 420-429.
- [6] Saurel CA, Patel TA, Perez EA. Changes to adjuvant systemic therapy in breast cancer: A decade in review [J]. *Clin Breast Cancer*, 2010, 10(3): 196-208.
- [7] Wang J, Wang B, Bi J, et al. Cytoplasmic HuR expression correlates with angiogenesis, lymphangiogenesis, and poor outcome in lung cancer [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(Suppl 1): S577-S585.
- [8] Yague E, Armesilla AL, Harrison G, et al. P-glycoprotein (MDR1) expression in leukemic cells is regulated at two distinct steps, mRNA stabilization and translational initiation [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(12): 10344-10352.
- [9] Filippova N, Yang X, Wang Y, et al. The RNA-binding protein HuR promotes glioma growth and treatment resistance [J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(5): 648-659.
- [10] Wang W, Caldwell MC, Lin S, et al. HuR regulates *cyclin A* and *cyclin B1* mRNA stability during cell proliferation [J]. *EMBO J*, 2000, 19(10): 2340-2350.
- [11] Guo X, Hartley RS. HuR contributes to *cyclin E1* deregulation in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(16): 7948-7956.
- [12] Latorre E, Tebaldi T, Viero G, et al. Downregulation of HuR as a new mechanism of doxorubicin resistance in breast cancer cells [J]. *Mol Cancer*, 2012, 11: 13-28.
- [13] Hostetter C, Licata LA, Witkiewicz A, et al. Cytoplasmic accumulation of the RNA binding protein HuR is central to tamoxifen resistance in estrogen receptor positive breast cancer cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(9): 1496-1506.
- [14] Bolognani F, Gallani AI, Sokol L, et al. mRNA stability alterations mediated by HuR are necessary to sustain the fast growth of glioma cells [J]. *J Neurooncol*, 2012, 106(3): 531-542.
- [15] Raspaglio G, De Maria I, Filippetti F, et al. HuR regulates beta-tubulin isotype expression in ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(14): 5891-5900.
- [16] Prislei S, Martinelli E, Mariani M, et al. MiR-200c and HuR in ovarian cancer [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 72-85.
- [17] Richards NG, Rittenhouse DW, Freydyin B, et al. HuR status is a powerful marker for prognosis and response to gemcitabine-based chemotherapy for resected pancreatic ductal adenocarcinoma patients [J]. *Ann Surg*, 2010, 252(3): 499-505.
- [18] Costantino CL, Witkiewicz AK, Kuwano Y, et al. The role of HuR in gemcitabine efficacy in pancreatic cancer: HuR up-regulates the expression of the gemcitabine metabolizing enzyme deoxycytidine kinase [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(11): 4567-4572.
- [19] Calaluce R, Gubin MM, Davis JW, et al. The RNA binding protein HuR differentially regulates unique subsets of mRNAs in estrogen receptor negative and estrogen receptor positive breast cancer [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 126.
- [20] Cao H, Kelly MA, Kari F, et al. Green tea increases anti-inflammatory tristetraprolin and decreases pro-inflammatory tumor necrosis factor mRNA levels in rats [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2007, 4: 1-12.
- [21] Zhang J, Ouyang W, Li J, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) inhibits EGF-induced cell transformation via reduction of *cyclin D1* mRNA stability [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 263(2): 218-224.
- [22] Hwang YS, Park KK, Chung WY. Kalopanaxsaponin A inhibits the invasion of human oral squamous cell carcinoma by reducing *metalloproteinase-9* mRNA stability and protein trafficking [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(3): 289-300.
- [23] Sun L, Zhang S, Jiang Z, et al. Triptolide inhibits COX-2 expression by regulating mRNA stability in TNF- α -treated A549 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 416(1/2): 99-105.

[收稿日期] 2012-11-09

[修回日期] 2013-01-25

[本文编辑] 王莹,黄静怡