

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.006

· 基础研究 ·

miRNA-210 对人乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

张楠¹, 李少遛¹, 巩雅宁¹, 任俊宇², 田晰晰², 董坚¹(1. 昆明医科大学第一附属医院 肿瘤内科, 云南昆明 650032; 2. 昆明医科大学第一附属医院 肿瘤科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的:**探讨 miRNA-210(miR-210)在人乳腺癌组织中的表达及其对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖、迁移和侵袭的影响。**方法:**收集 2011 年 10 月至 2012 年 6 月期间昆明医科大学第一附属医院 20 例乳腺癌患者组织标本, real-time PCR 检测乳腺癌组织和癌旁组织以及乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和正常乳腺细胞 MCF-10a 中 miR-210 的表达。采用 Lipofectamine™ 2000 将 miR-210 inhibitor 转染至 MDA-MB-231 细胞中,通过荧光显微镜检测 miR-210 的转染效率,MTT 和软琼脂克隆形成实验检测 MDA-MB-231 细胞的增殖,流式细胞术检测细胞周期和凋亡,Transwell 法检测细胞的迁移、侵袭能力。**结果:**miR-210 在乳腺癌组织和 MDA-MB-231 细胞中的表达水平均显著高于癌旁组织和正常乳腺细胞($P < 0.01$)。miR-210 inhibitor 成功转染 MDA-MB-231 细胞,转染效率为 $(88.29 \pm 2.98)\%$,转染 miR-210 inhibitor 后 MDA-MB-231 细胞的增殖和克隆形成能力明显减弱($P < 0.05$),被阻滞于 G_0/G_1 期的细胞数明显增多[$(64.23 \pm 3.12)\%$ vs $(55.53 \pm 0.96)\%$, $P < 0.01$],凋亡细胞比例也显著增加[$(31.90 \pm 3.05)\%$ vs $(15.98 \pm 0.63)\%$, $P < 0.01$],细胞的迁移[(291.00 ± 43.12) vs (1137.38 ± 83.49) 个, $P < 0.01$],侵袭[(131.63 ± 32.01) vs (647.88 ± 31.20) 个, $P < 0.01$]均受到明显抑制。**结论:**miR-210 在乳腺癌组织和细胞中过表达,转染 miR-210 inhibitor 后乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖、迁移和侵袭能力明显减弱。

[关键词] 乳腺癌;MDA-MB-231;miRNA;miRNA-210;增殖;迁移;侵袭

[中图分类号] R737.9; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)03-0289-06

Effect of miRNA-210 on proliferation, migration and invasion of human breast cancer cells

Zhang Nan¹, Li Shaoyou¹, Gong Yaning¹, Ren Junyu², Tian Xixi², Dong Jian¹(1. Department of Medical Oncology, First Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan, China; 2. Department of Oncology, First Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan, China)

[Abstract] **Objective:**To investigate the expression of miRNA-210(miR-210) in breast cancer tissues and its effect on proliferation, migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells. **Methods:** Tissues of breast cancer patients were collected from Department of Medical Oncology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University during October 2011 to June 2012. The expressions of miR-210 were compared between breast cancer tissues and the para-carcinoma tissues of 20 patients, as well as between breast cancer MDA-MB-231 cells and normal breast MCF-10a cells by real-time PCR. miR-210 inhibitor was transfected into breast cancer MDA-MB-231 cells by Lipofectamine™ 2000 and the transfection efficiency was examined under a fluorescence microscope. Cell proliferation was evaluated by MTT assay and soft-agar colony formation assay. The cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry assay. The cell migration and invasion abilities were detected by migration and invasion assay. **Results:** The expressions of miR-210 in breast cancer tissues and cells were both significantly higher than those in para-carcinoma tissues and normal breast cells ($P < 0.01$). miR-210 inhibitor was successfully transfected into MDA-MB-231 cells with a high transfection efficiency of $(88.29 \pm 2.98)\%$. The proliferation ability of

[基金项目] 云南省科技条件平台建设计划项目基金资助(No. 2007DA006);昆明医科大学研究生创新基金(No. 2012N06)。Project supported by the Science and Technology Condition Platform Construction Foundation of Yunnan Province (No. 2007DA006), and the Graduate Students Innovation Foundation of Kunming Medical University (No. 2012N06)

[作者简介] 张楠(1988 -),女,江苏省赣榆县人,硕士生,主要从事肿瘤生物治疗方面的研究。E-mail:adroitcueng@163.com

[通信作者] 董坚(Dong Jian, corresponding author), E-mail:dongjian18@yahoo.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20130605.0925.007.html>

MDA-MB-231 cells was decreased significantly after transfection of miR-210 inhibitor ($P < 0.05$). The percentages of cells in G₀/G₁ phase ($[64.23 \pm 3.12]\%$ vs $[55.53 \pm 0.96]\%$, $P < 0.01$) and of the apoptotic cells ($[31.90 \pm 3.05]\%$ vs $[15.98 \pm 0.63]\%$, $P < 0.01$) were significantly increased. The migration ($[291.00 \pm 43.12]$ vs $[137.38 \pm 83.49]$, $P < 0.01$) and invasion ($[131.63 \pm 32.01]$ vs $[647.88 \pm 31.20]$, $P < 0.01$) of MDA-MB-231 cells were significantly inhibited. **Conclusion:** miR-210 is over-expressed in breast cancer tissues and cells. The proliferation, migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-231 cells are inhibited after the transfection of miR-210 inhibitor.

[**Key words**] breast cancer; MDA-MB-231; miRNA; miRNA-210; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(3): 287-294]

miRNA 是内源性非编码短链 RNA, 在转录后水平调节血管生成、细胞周期、细胞凋亡、细胞侵袭和迁移等肿瘤相关基因的表达, 进而影响肿瘤的增殖、侵袭和转移^[1-2]。有研究^[3]表明, miRNA-210(miR-210) 在肾癌、胰腺癌、大肠癌中表达上调, 且在肾癌组织中调控癌细胞的增殖、迁移和侵袭。缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF) 作为诱导缺氧的关键因素, 很可能起到调控 miR-210 的作用。在肾癌 RCC4 细胞中, miR-210 通过对抑癌基因 *VHL*(von Hippel-Lindau) 的调控产生缺氧效应^[4]。有关 miR-210 对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭影响的研究尚少。本课题旨在研究 miR-210 在乳腺癌组织和癌旁乳腺组织以及乳腺癌细胞和正常乳腺细胞中表达的差异, 并在体外实验中进一步探讨 miR-210 对乳腺癌细胞增殖、迁移以及侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞株和临床资料

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 由本实验室购于美国模式培养物储存库(ATCC), 用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。人正常乳腺上皮细胞 MCF-10a 由中国科学院昆明动物研究所惠赠。20 例乳腺癌组织及对应癌旁组织(距离癌灶边缘 5 cm) 均取自 2011 年 10 月至 2012 年 6 月期间昆明医科大学第一附属医院乳腺外科患者。实验中涉及到人乳腺癌组织标本及临床资料的收集经医院伦理委员会批准, 并与患者签署了知情同意书。乳腺癌患者的年龄、癌灶组织直径及病理类型见表 1。

1.2 主要试剂与仪器

RPMI 1640 培养基购自美国 Gibco 公司, 胎牛血清购自上海依科赛公司, 总 RNA 提取试剂、反转录试剂盒、real-time PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司, miR-210 引物合成自上海生工生物公司, 转染试剂 Lipofectamine™ 2000、Opti-MEM 均购自美国 Invitrogen 公司, miR-210 inhibitor^[3]及 miRNA inhibitor

表 1 20 例乳腺癌患者年龄、癌灶直径及病理类型

Tab.1 Ages of 20 breast cancer patients and diameter and pathological type of neoplastic foci

No.	Age(t/a)	Diameter (d/cm)	Pathological type
1	46	2.5	Invasive ductal carcinoma
2	54	0.6	Invasive lobular carcinoma
3	56	2.0	Invasive ductal carcinoma
4	49	2.0	Invasive ductal carcinoma
5	55	3.0	Mucinous adenocarcinoma
6	47	2.0	Invasive ductal carcinoma
7	72	2.0	Invasive ductal carcinoma
8	27	1.5	Invasive lobular carcinoma
9	58	1.0	Invasive ductal carcinoma
10	63	0.5	Invasive lobular carcinoma
11	57	1.5	Invasive ductal carcinoma
12	60	2.0	Invasive ductal carcinoma
13	47	2.0	Intraductal papillary carcinoma
14	56	1.5	Mucinous adenocarcinoma
15	53	1.0	Invasive lobular carcinoma
16	50	1.2	Intraductal papillary carcinoma
17	46	1.5	Invasive ductal carcinoma
18	43	1.0	Invasive ductal carcinoma
19	55	2.0	Invasive lobular carcinoma
20	40	0.5	Invasive ductal carcinoma

NC 均合成自美国 Invitrogen 公司, MTT 购自美国 Amresco 公司, 细胞周期检测试剂盒 DNA Prep™ 购自美国 Beckman Coulter 公司, 凋亡抗体 Annexin V-PE 购自美国 BD 公司, 琼脂购自 Biosharp 公司, Millicell 8.0 μm 孔径 PET 膜购自美国 Millipore 公司。CO₂ 培养箱购自美国 Thermo 公司, PCR 仪购自

美国 BIO-RAD 公司, 荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司, 离心机购自美国 Sigma 公司, 倒置显微镜购自日本尼康公司, 荧光倒置显微镜购自德国莱卡, 酶标仪购自美国 Thermo 公司, 流式细胞仪购自美国 BD 公司。

1.3 Real-time PCR 法检测 miR-210 的表达

乳腺癌组织进行总 RNA 提取并将总 RNA 反转录为 cDNA。miR-210 的上游引物序列为 CTGTGCGT-GTGACAGCGGCTGA, 下游引物为通用引物 Uni-miR real-time PCR 引物 (TaKaRa 产品)。以 cDNA 为模板, *U6B* 为内参, 按 SYBR Primix Ex Taq II (TaKaRa 试剂盒) 进行扩增, 设置 3 个复孔。反应条件: 95 °C、30 s 预变性后, 95 °C、5 s 变性、60 °C、31 s 退火和延伸 (共 40 个循环)。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示 miR-210 的表达量。

1.4 miR-210 inhibitor 转染 MDA-MB-231 细胞

将带有 FAM 荧光标记的 miR-210 inhibitor (序列为 UCAGCCGCUGUCACACGCACAG)、miRNA inhibitor NC (序列为 CAGUACUUUGUGUAGUACAA, 该序列与人类基因组非同源, 对任何 miRNA 均无干扰作用, 简称 miR-INC) 粉末离心后配制成 20 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液。转染前 1 d 铺 24 孔板, 使细胞融合度达到 30% ~ 50%。培养板中加 500 μl 无抗生素的培养基。将稀释后的 miRNA 和 Lipofectamine™ 2000 混合, 室温孵育 20 min。将混合物加入 MDA-MB-231 细胞中摇晃混匀, 37 °C 温箱孵育。荧光显微镜检测并计算转染效率。

1.5 MTT 法检测转染 miR-210 inhibitor 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

按照 Lipofectamine™ 2000 说明书进行 96 孔板的转染, 设置转染 miR-210 inhibitor 实验组 (miR-210 inhibitor 转染组)、miR-INC 对照组 (miR-INC 转染组)、未转染组, 每组设置 6 个复孔。分别于转染后 1、2、3、4、5 d 进行检测, 每孔加入 20 μl MTT 试剂, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 4 h 后, 每孔加入 150 μl DMSO 溶解, 振荡过夜, 酶标仪测定 570 nm 波长处光密度 (*D*) 值。实验重复 3 次。

1.6 软琼脂克隆形成实验检测转染 miR-210 inhibitor 对 MDA-MB-231 细胞克隆形成能力的影响

MDA-MB-231 细胞于转染后 48 h 进行实验。将 0.6% 琼脂与含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基 1:1 混合后 (1.5 ml), 铺于 6 孔板中, 凝固后, 将 0.3% 琼脂与含 10% 胎牛血清、 1×10^3 个细胞/孔的细胞悬液混合 (1.5 ml), 铺于上层, 凝固后置于培养箱中, 0.4% 结晶紫染色, 随机选取 4 个视野 ($\times 100$) 计数大

于 10 个细胞的克隆数。实验重复 2 次。

1.7 流式细胞术检测转染 miR-210 inhibitor 对 MDA-MB-231 细胞凋亡和细胞周期的影响

转染后 48 h 的 MDA-MB-231 细胞用于实验。细胞凋亡的检测: 收集 1×10^4 个细胞, 用 100 μl PBS 悬浮, 加入 100 μl DNA Prep LPR, 孵育 20 min 后加入 1 ml DNA Prep Stain, 孵育 20 min, 流式细胞仪检测细胞周期: 收集 1×10^5 个细胞, PBS 洗涤, 加入 50 μl Annexin 缓冲液、5 μl 7AAD、5 μl Annexin V-PE, 反应 15 min 后, 加入 200 μl 缓冲液后上流式细胞仪分析。实验重复 4 次。

1.8 Transwell 迁移实验检测转染 miR-210 inhibitor 对 MDA-MB-231 细胞迁移的影响

细胞转染后 48 h 进行实验。实验前一天将 24 孔板中加入 1 300 μl 完全培养基, 放入培养小室后置于培养箱中过夜。调整细胞密度为 1×10^6 个/ml, 每孔中加入含 0.2% BSA 的无血清细胞悬液 200 μl , 其下层孔板中加入完全培养基 1 300 μl , 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后用 70% 甲醇固定, 0.4% 结晶紫染色, 封片后随机选取 4 个视野 ($\times 100$) 计数, 并取平均值。实验重复 2 次。

1.9 Transwell 侵袭实验检测转染 miR-210 inhibitor 对 MDA-MB-231 细胞侵袭的影响

MDA-MB-231 细胞转染后 48 h 进行实验。实验前 1 d 将基质胶与无血清培养基按 1:8 稀释后铺于培养小室上 (60 μl), 风干后待用。调整细胞密度至 1×10^6 个/ml, 每孔中加入含 0.2% BSA 的无血清细胞悬液 200 μl , 其下层孔板中加入完全培养基 1 300 μl , 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 用 70% 甲醇固定, 0.4% 结晶紫染色, 封片后随机选取 4 个视野 ($\times 100$) 计数。实验重复 2 次。

1.10 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件, 采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织和细胞中 miR-210 表达量高于正常乳腺组织和细胞

miR-210 在乳腺癌组织中表达量显著高于癌旁组织 [(9.52 ± 4.81) vs (1.0 ± 0.19) , $P < 0.01$]; miR-210 在乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中的相对表达量亦显著高于正常乳腺上皮细胞 MCF-10a [(6.03 ± 1.73) vs (1.0 ± 0.16) , $P < 0.01$]。结果提示, 在乳腺癌组织和细胞中, miR-210 的表达水平平均明显高

于正常乳腺组织和细胞。

2.2 miR-210 inhibitor 成功转染 MDA-MB-231 细胞
miR-210 inhibitor 转染后, 细胞内出现绿色荧光, 分布于细胞质中(图 1), 转染效率高达 $(88.29 \pm 2.98)\%$ 。说明 miR-210 inhibitor 已成功转染至 MDA-MB-231 细胞。

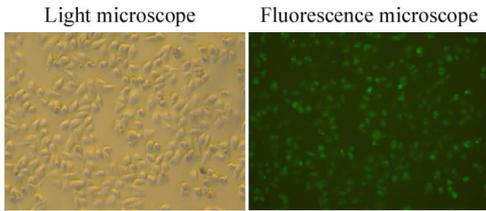


图 1 miR-210 inhibitor 转染后 MDA-MB-231 细胞中 FAM 的表达 (×100)

Fig. 1 Expression of FAM in MDA-MB-231 cells after miR-210 inhibitor transfection (×100)

2.3 转染 miR-210 inhibitor 抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖

细胞转染后的 3、4、5 d, 转染 miR-210 inhibitor 组细胞的增殖能力比转染 miR-INC 组有所减弱 ($P < 0.05$), 而未转染组与转染 miR-INC 组间并无明显差异 ($P > 0.05$) (图 2)。转染 miR-210 inhibitor 组细胞形成的克隆集落数 (17.38 ± 2.97) 个明显少于转染 miR-INC 组细胞形成的克隆集落数 (31.75 ± 3.92) 个 ($P < 0.01$), 而未转染组与转染 miR-INC 组间无明显差异 ($P > 0.05$) (图 3)。结果提示, miR-210 inhibitor 可抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖。

2.4 转染 miR-210 inhibitor 阻滞 MDA-MB-231 细胞周期于 G₀/G₁ 期

miR-210 inhibitor 转染组 MDA-MB-231 细胞处于 G₀/G₁ 期的细胞数较 miR-INC 转染组增多 [$(64.23 \pm 3.12)\%$ vs $(55.53 \pm 0.96)\%$, $P < 0.05$], 处于 S 期的细胞数较 miR-INC 转染组则无明显变化 [$(23.85 \pm 2.82)\%$ vs $(25.83 \pm 2.39)\%$, $P > 0.05$], 处于 G₂/M 期的细胞数较 miR-INC 转染组减少 [$(11.68 \pm 0.61)\%$ vs $(16.93 \pm 0.60)\%$, $P < 0.05$] (图 4)。结果提示, miR-210 inhibitor 可使乳腺癌细胞 MDA-MB-231 阻滞于 G₀/G₁ 期, 从而抑制其增殖。

2.5 转染 miR-210 inhibitor 促进 MDA-MB-231 细胞凋亡

miR-210 inhibitor 转染组 MDA-MB-231 细胞凋

亡率显著高于 miR-INC 转染组 [$(31.90 \pm 3.05)\%$ vs $(15.98 \pm 0.63)\%$, $P < 0.01$], 而 miR-INC 转染组与未转染组之间无明显差异 ($P > 0.05$) (图 5)。结果提示, miR-210 inhibitor 可促进乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的凋亡。

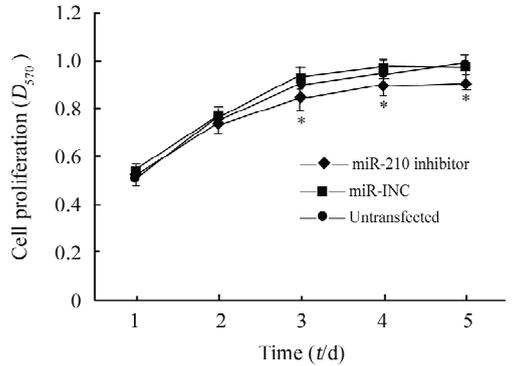


图 2 转染 miR-210 inhibitor 抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖

Fig. 2 miR-210 inhibitor transfection inhibited proliferation of MDA-MB-231 cells

* $P < 0.05$ vs miR-INC group

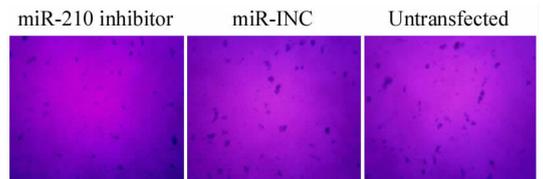


图 3 转染 miR-210 inhibitor 抑制 MDA-MB-231 细胞的克隆形成能力 (×100)

Fig. 3 miR-210 inhibitor transfection inhibited the colony formation ability of MDA-MB-231 cells (×100)

2.6 转染 miR-210 inhibitor 抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭

迁移实验结果(图 6A)显示, miR-210 inhibitor 转染组细胞迁出数量 [(291.00 ± 43.12) 个] 较 miR-INC 转染组 [(1137.38 ± 83.49) 个] 明显减少 ($P < 0.01$), 但 miR-INC 转染组和未转染组间无明显差异 ($P > 0.05$)。侵袭实验结果显示(图 6B), miR-210 inhibitor 转染组细胞降解基质胶并且迁出的数量 [(131.63 ± 32.01) 个] 较 miR-INC 转染组 [(647.88 ± 31.20) 个] 亦明显减少 ($P < 0.01$), 而 miR-INC 转染组与未转染组间无显著差异 ($P > 0.05$)。提示抑制 miR-210 表达后, 乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的迁移和侵袭能力明显减弱。

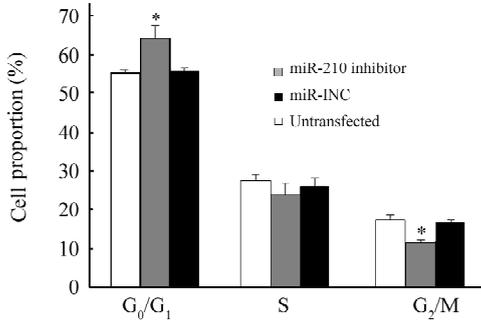


图4 转染 miR-210 inhibitor 阻滞 MDA-MB-231 细胞周期于 G_0/G_1 期

Fig. 4 miR-210 inhibitor transfection arrested MDA-MB-231 cell cycle in G_0/G_1 phase

* $P < 0.05$ vs miR-INC group

3 讨论

乳腺癌是目前女性最常见的恶性肿瘤,在我国发病率呈逐年上升趋势,是常见的女性恶性肿瘤患者

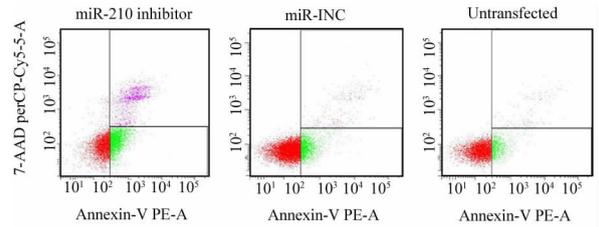


图5 转染 miR-210 inhibitor 促进 MDA-MB-231 细胞凋亡

Fig. 5 miR-210 inhibitor transfection promoted the apoptosis of MDA-MB-231 cells

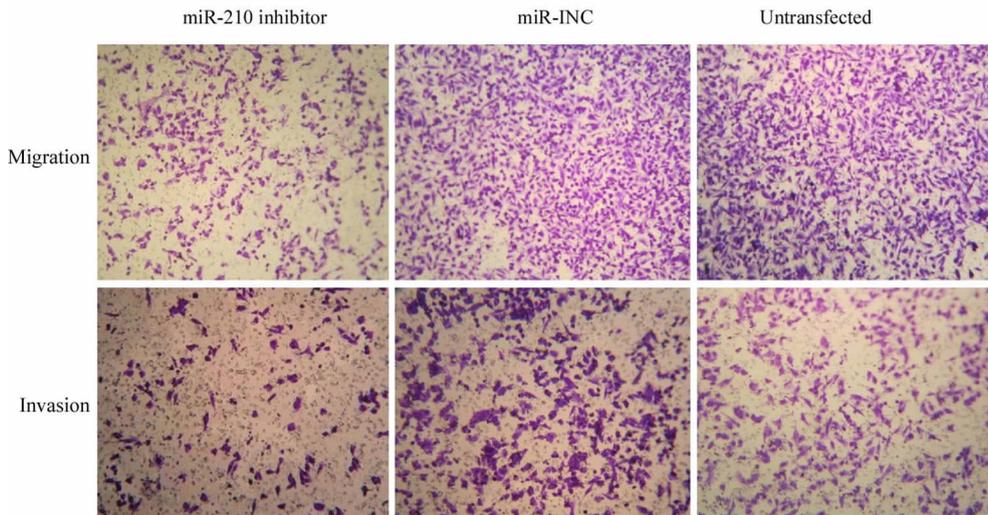


图6 转染 miR-210 inhibitor 抑制 MDA-MB-231 的迁移和侵袭 ($\times 100$)

Fig. 6 miR-210 inhibitor transfection inhibited the migration and invasion of MDA-MB-231 cells ($\times 100$)

第6位死亡原因^[5]。分子靶向治疗是近年来新兴的治疗手段,寻找有效的治疗靶点是其研究的热点,而 miRNA 的出现为研究乳腺癌的诊断和治疗提供新的靶点^[6]。研究^[7]显示,超过一半的 miRNA 位于肿瘤相关基因组的区域和脆性位点、杂合型丢失区、扩增区或断裂点区,提示 miRNA 可作为致癌基因或抑癌基因而发挥作用。目前,miRNA 已知的功能是在转录后水平调控基因的表达,主要作为基因表达的负调控因子。研究^[8]证明,miRNA 的作用靶点可为抑癌基因,定位于扩增区,若使该种 miRNA 表达下调,则发挥抑癌基因样作用;其靶点也可为癌基因,当此种 miRNA 表达水平升高时,则能发挥阻止细胞恶性转化的作用。研究^[9]发现在包括乳腺癌在

内的肿瘤中,有许多 miRNA 的表达异常,并且在肿瘤细胞迁移、侵袭和血管形成等不同阶段起到不同的作用。

已有研究^[10-11]证明,乳腺癌中 miR-21 表达上调,抑癌基因 *TPM1*、*PDCD4* 是其可能的靶基因。miR-10b 可通过抑制 *HOXD10* 促进乳腺癌细胞的转移^[12]。另外,miR-206 在乳腺癌中的表达水平和 ER 的表达成负相关^[13]。最近研究^[14-15]表明,miR-125b 可以通过下调 *ERK1/2* 和 *AKT* 减弱乳腺癌细胞的生长、侵袭和迁移,miR-155 通过下调 *SOCS1* 发挥癌基因的作用。有研究^[16]表明,miR-210 在三阴性乳腺癌组织中表达上调。本研究将其范围扩大,通过对临床乳腺癌患者样本和乳腺癌细胞中

miR-210 表达的定量检测,发现 miR-210 在乳腺癌组织和细胞中的表达均高于正常乳腺组织和细胞,在利用 miR-210 的阻断剂 miR-210 inhibitor 抑制 miR-210 的表达后,乳腺癌细胞的增殖和克隆形成能力下降,并将细胞阻滞于 G₀/G₁ 期。本研究结果还显示,转染 miR-210 inhibitor 增加了乳腺癌细胞的凋亡比例。另外,在成功抑制了 miR-210 的表达后,乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的侵袭和迁移能力均明显减弱,提示,miR-210 在乳腺癌的侵袭和迁移中起到了重要作用。

有研究^[2, 17]显示,乳腺癌患者的外周血循环 miRNA 表达谱与相应组织的 miRNA 表达谱相关,并且与肿瘤临床分期、淋巴结转移、预后密切相关,预示了 miRNA 具有成为乳腺癌诊断和预后标志物的潜力。而且血清 miRNA 检测具有无创性、稳定性好、灵敏度高等优点,具备成为理想肿瘤标记物的条件^[18]。本研究中,miR-210 作为在乳腺癌中高表达的 miRNA,有可能成为乳腺癌诊断的新一代生物标志物。

miRNA 不仅具有诊断价值,还可能成为一种新的靶向治疗手段。一种 miRNA 可以同时调控多种癌基因或抑癌基因的表达,以 miRNA 作为治疗靶点比以单一的癌基因或抑癌基因作为治疗靶点更加有效^[19]。目前,与 miRNA 功能相类似的小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 相关药物已经进入临床试验阶段。现已有报道^[20],将 miRNA 的阻断剂转入细胞,可特异性沉默促进肿瘤转移的靶基因表达,并且防止转移灶的形成。本课题的研究结果也提示,若将 miR-210 的阻断剂导入肿瘤患者,就有可能靶向地抑制乳腺癌的增殖、侵袭和转移。结果表明,沉默 miRNA 相关的技术在乳腺癌的治疗领域会有潜在的应用前景,因此,miR-210 有可能成为新的乳腺癌治疗靶点,与传统治疗手段联合应用于临床将有望提高乳腺癌患者的生存率。

[参 考 文 献]

[1] Negrini M, Calin GA. Breast cancer metastasis: A microRNA story [J]. Breast Cancer Res, 2008, 10(2): 203-206.
 [2] 于少硕, 苏铎, 张意. MicroRNA 与黑素瘤 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(2): 255-258.
 [3] Redova M, Poprach A, Besse A, et al. MiR-210 expression in tumor tissue and *in vitro* effects of its silencing in renal cell carcinoma [J]. Tumour Biol, 2013, 34(1): 481-491.
 [4] Camps C, Buffa FM, Colella S, et al. Hsa-miR-210 is induced by

hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(5): 1340-1348.
 [5] 郑莹, 吴春晓, 吴凡. 中国女性乳腺癌死亡现况和发展趋势 [J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(2): 98-102.
 [6] Corcoran C, Friel AM, Duffy MJ, et al. Intracellular and extracellular microRNAs in breast cancer [J]. Clin Chem, 2011, 57(1): 18-32.
 [7] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2008, 110(1): 13-21.
 [8] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases [J]. Cell Res, 2008, 18(10): 983-984.
 [9] Dumont N, Tlsty TD. Reflections on miR-ing effects in metastasis [J]. Cancer Cell, 2009, 16(1): 3-4.
 [10] Zhu S, Si ML, Wu H, et al. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1) [J]. J Biol Chem, 2007, 282(19): 14328-14336.
 [11] Frankel L B, Christoffersen N R, Jacobson A, et al. Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of microRNA-21 in breast cancer cells [J]. Biol Chem, 2008, 283(2): 1026-1033.
 [12] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumor invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. Nature, 2007, 449(7163): 682-688.
 [13] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer [J]. Cancer Res, 2005, 65(16): 7065-7070.
 [14] Scott GK, Goga A, Bhaumik D, et al. Coordinate suppression of ERBB2 and ERBB3 by enforced expression of miR-125a or miR-125b [J]. J Biol Chem, 2007, 282(2): 1479-1486.
 [15] Jiang S, Zhang HW, Lu MH, et al. MicroRNA-155 functions as an oncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene [J]. Cancer Res, 2010, 70(8): 3119-3127.
 [16] Jelena R, Apostolos Z, Thomas V, et al. MicroRNA expression analysis in triple-negative (ER, PR and Her2/neu) breast cancer [J]. Cell Cycle, 2011, 10(3): 507-517.
 [17] O' Day E, Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(2): 201-206.
 [18] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(30): 10513-10518.
 [19] 黄关立, 郭贵龙, 张筱晔. MicroRNA 在乳腺癌中的研究进展 [J]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2008, 2(3): 301-307.
 [20] Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis [J]. Cell, 2004, 117(7): 927-939.

[收稿日期] 2013 - 01 - 28 [修回日期] 2013 - 04 - 10
 [本文编辑] 周玲琳