

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.05.006

## miRNA-101 通过下调 COX-2 的表达影响肺癌细胞的生物学功能

张志强<sup>1</sup>, 杨艳荣<sup>1</sup>, 马海英<sup>2</sup>, 赵欣<sup>1</sup>, 姬颖华<sup>3</sup> (1. 新乡医学院第一附属医院呼吸科, 河南新乡 453100; 2. 新乡医学院第一附属医院心血管外科, 河南新乡 453100; 3. 新乡医学院第一附属医院肿瘤科, 河南新乡 453100)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miRNA-101(miR-101)在肺癌组织和细胞中的表达及其对人肺癌细胞增殖、克隆形成和成瘤能力的影响。**方法:** 采用 Western blotting 和实时荧光定量 RT-PCR 技术分别检测 10 例患者肺癌组织及相应癌旁组织、人肺癌细胞 A549 和 NCI-H26 及正常人胚肺成纤维细胞 MRC-5 中环氧化酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)及 miR-101 的表达。A549 和 NCI-H26 细胞分别转染 miR-NC 和 miR-101 构建过表达 miR-101 的细胞系及其对照, Western blotting、CCK-8 和克隆形成实验分别检测过表达 miR-101 对 A549、NCI-H26 细胞中 COX-2 的表达、细胞增殖和克隆形成能力的影响。用 A549、A549/NC、A549/101 细胞在 BALB/c 裸鼠皮下构建移植瘤模型, 观察过表达 miR-101 对 A549 细胞小鼠移植瘤生长的影响。**结果:** 在肺癌组织和 A549、NCI-H26 细胞中, COX-2 的表达明显高于癌旁组织( $t = 20.03, P = 0.001$ )和 MRC-5 细胞( $t = 14.59, P = 0.012$ ), 而 miR-101 的表达则相反(组织: $t = 18.33, P = 0.002$ ; 细胞: $t = 28.95, P = 0.000$ )。成功构建过表达 miR-101 的 A549/101、NCI-H26/101 细胞系, 与 A549、NCI-H26 细胞相比, A549/101( $t = 26.03, P = 0.000$ )、NCI-H26/101( $t = 23.29, P < 0.01$ )细胞内 COX-2 表达量显著降低, A549/101 和 NCI-H26/101 细胞的活力和克隆形成能力也显著降低(均  $P < 0.05$ )。A549/101 细胞小鼠皮下肿瘤的生长速度较 A549 细胞和 A549/NC 细胞显著减慢( $F = 14.81, P = 0.003$ )。**结论:** 肺癌组织和 A549、NCI-H26 细胞中 miR-101 低表达、COX-2 高表达, 过表达 miR-101 可以抑制 A549、NCI-H26 细胞的增殖, 其机制可能与下调了 COX-2 表达有关。

**[关键词]** miRNA-101; 环氧化酶-2; 肺癌; 细胞增殖

**[中图分类号]** R739.63; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)05-0584-06

## miRNA-101 influence the biological function of lung cancer cells through down-regulate COX-2 expression

Zhang Zhiqiang<sup>1</sup>, Yang Yanrong<sup>1</sup>, Ma Haiying<sup>2</sup>, Zhao Xin<sup>1</sup>, Ji Yinghua<sup>3</sup> (1. Department of Respiration, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453100, Henan, China; 2. Department of Cardiovascular Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453100, Henan, China; 3. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453100, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of miRNA-101(miR-101) in lung cancer specimens and lung cancer cell lines as well as its impact on the proliferative, colony-forming and tumorigenic capacities of human lung cancer cells. **Methods:** Cyclooxygenase-2(COX-2) and miR-101 mRNA and protein levels were assessed, respectively, by RT-PCR and Western blotting in clinical specimens(lung cancer tissue and the surrounding normal tissue) collected from 10 patients, human lung cancer cell lines A549 and NCI-H226, and human diploid MRC-5 fibroblasts. A549 and NCI-H226 cells were transfected with miR-NC and miR-101 respectively. The transfectants were assessed for COX-2 protein content by Western blotting, proliferative activity by CCK-8, colony-forming capacity by colony formation experiments, and tumorigenic capacity in vivo by xenograft experiments in nude BALB/C mice. **Results:** COX-2 protein content was significantly higher in cancer tissue specimens than in both para-cancer tissue specimens( $t = 20.03, P = 0.001$ ) and human diploid MRC-5 fibroblasts( $t = 14.59, P = 0.012$ ). In contrast, the expression of miR-101 was down-regulated in lung cancer

**[基金项目]** 河南省卫生厅课题资助项目(No. 1203068)。Project supported by the Research Foundation of Education Bureau of Henan Province (No. 1203068)

**[作者简介]** 张志强(1976-),男,河南新乡人,硕士,主要从事呼吸系统疾病的基础与临床研究, E-mail: zhangzhiqiangdoc@163.com

**[通信作者]** 姬颖华(Ji Yinghua, corresponding author), E-mail: sunny8441\_cn@sina.com

**[优先发表]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20151017.1621.010.html>

tissue specimens and cell lines as compared with para-cancer tissue specimens ( $t = 18.33$ ,  $P = 0.002$ ) and human diploid MRC-5 fibroblasts ( $t = 28.95$ ,  $P = 0.000$ ). Overexpression of miR101 resulted in a significant decreases in COX-2 expression ( $t = 26.03$ ,  $P = 0.000$ ) and proliferative ( $F = 5.783$ ,  $P = 0.017$ ) and colony-forming (Dunnett  $t$  test I-J =  $-0.28$ ,  $P = 0.035$ ) capacities of A549 and NCI-H226 lung cancer cells in vitro. A549 cells overexpressing miR101 had a remarkably reduced tumorigenic capacity in nude BALB/c mice in vivo ( $F = 14.8$ ,  $P = 0.003$ ). **Conclusion:** MicroR-101 is downregulated whereas COX-2 is up-regulated in lung cancer. Over-expression of miR-101 results in significant inhibition of proliferation, colony formation and tumorigenesis of lung cancer cells through down-regulation of COX-2 and thus may offer a potential therapeutic option for lung cancer.

[ **Key words** ] miRNA-101; Cyclooxygenase-2 (COX-2); lung cancer; cell proliferation

[ Chin J Cancer Biother, 2015, 22(5): 584-589 ]

肺癌是世界范围内常见的恶性肿瘤之一,根据世界卫生组织 GLOBOCAN 2012 的统计,肺癌的病死率排在所有恶性肿瘤的首位<sup>[1-2]</sup>。目前,手术是肺癌治疗的最有效方法,然而相当一部分患者诊断时已经处于中晚期,不能通过根治性手术而治愈<sup>[3]</sup>。因此进一步阐明肺癌发生发展的机制对改善肺癌患者的治疗和预后具有极其重要的意义。环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 是前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 合成过程中重要的限速酶<sup>[4]</sup>。研究<sup>[4-8]</sup>表明, PGE2 在许多恶性肿瘤组织中表达升高,其与肿瘤的进展和预后不良息息相关。MicroRNA (miRNA, miR) 是一类长度约 18 ~ 25 nt 的非编码内源性小 RNA 分子,参与调控了人体内约 30% 的编码基因<sup>[9-10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>表明, miR-101 可以在转录后水平抑制 COX-2 的表达。本研究比较正常和肺癌组织及细胞中 miR-101 的表达,并将 miR-101 转染到 A549 细胞中,观察过表达 miR-101 对 A549 细胞增殖、克隆形成和成瘤能力的影响,进而探讨其在肺癌发生发展过程中可能的作用及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2013 年 9 月 1 日至 2013 年 11 月 30 日于新乡医学院第一附属医院呼吸内科行手术治疗的 10 例肺癌患者。患者年龄 48 ~ 62 岁,中位年龄 56 岁,其中男性 7 例、女性 3 例,均经病理诊断确诊为肺癌,确诊前未经任何治疗。采集患者手术标本中肺癌组织及癌旁组织(距肿瘤边缘至少 5 cm 的肺组织),离体 10 min 内放入液氮保存。术前告知患者科研实验的目的和方法,并签署知情同意书。本研究所有研究方案均经新乡医学院伦理委员会同意。

### 1.2 主要材料与试剂

6 ~ 8 周龄的雌性 BALB/c 裸鼠购自郑州大学实验动物中心[实验动物合格证号:HNDW(豫)-

20130023]。人肺癌细胞株 A549、NCI-H226 及人正常人胚肺成纤维细胞 MRC-5 均购自美国模式培养物集存库(ATCC),常规培养。Western blotting 所用鼠抗人 COX-2 单克隆抗体,HRP 标记兔抗鼠单克隆抗体以及 HRP 标记兔抗人 GAPDH 单克隆抗体均购自 Cell Signaling 公司。总 RNA 提取试剂盒购自达科为生物技术有限公司, RNA 逆转录试剂盒购自 TaKaRa 公司, CCK-8 试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。瑞氏-吉姆萨复合染色液购自北京雷根生物技术有限公司。Real-time PCR 试剂盒购自德国伯乐公司, Lipofectamine™ 2 000 转染试剂盒购自 Invitrogen 公司。

### 1.3 Western blotting 检测 COX-2 在肺癌组织和细胞中的表达

常规方法抽提肺癌组织、癌旁组织及 A549、NCI-H226、MRC-5 细胞总蛋白,蛋白样品经 8% SDS-PAGE 分离后电转移至硝酸纤维素膜,加入一抗(鼠抗人 COX-2 单克隆抗体)和二抗(HRP 标记的兔抗鼠单克隆抗体)孵育后 DAB 显色。所得的图像用 Quality One 软件做灰度扫描后用 COX-2 与 GAPDH 灰度的比值来代表其相对表达量。

### 1.4 实时定量 RT-PCR 检测 miR-101 在肺癌组织和细胞中的表达

取液氮保存的肺癌组织及癌旁组织标本,研磨后加入 1 ml TRIzol;收集 A549、NCI-H226、MRC-5 细胞, PBS 洗涤, 800 × g 离心 5 min 后,加入 1ml TRIzol。按照 miRNA 分离提取试剂盒所提供的步骤提取 miRNA。用紫外分光光度仪测定所提取 RNA 的浓度及纯度,之后加将其逆转录为 cDNA,反应条件:25 °C × 30 min, 42 °C × 30 min, 85 °C × 5 min。以 cDNA 为模板,按照 Bio-Rad 公司 RT-qPCR 试剂盒提供的步骤加入相关试剂及 miR-101 引物(表 1),以 U6 为内参,在 ABI-7300 实时荧光定量仪上进行 PCR 扩增。反应条件:95 °C × 3 min,

(95 °C × 12 s, 62 °C × 40 s) × 40 循环。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法进行相对定量分析。

**表 1 miR-101 及其引物的序列**  
**Tab. 1 Sequence of human miR-101 and primers used in PCR analysis**

Item	Sequences
miR-101	5'-TGCCCTGGCTCAGTTATCACAGTGCTGAT-GCTGTCTATTCTAAAGGTACAGTACTGTGATAACTGAAGGATGGCA-3'
Primer	RT 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGA GG-TATTCCGACTGGATACGACTTCAGT-3'
	Forward 5'-ACGGGCGAGCTACAGTACTGTG-3'
	Reverse 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTA-3'

1.5 miRNA 转染肺癌 A549、NCI-H226 细胞

按 Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒说明书操作, 将 miR-NC 和 miR-101 转染至对数生长期 A549、NCI-H226 细胞, 构建过表达 miR-101 的 A549/101、NCI-H226/101 细胞及其阴性对照。Real-time PCR 检测转染后细胞内 miR-101 的表达水平。转染 24 h 后将细胞冻存培养, 供后续实验使用。

1.6 Western blotting 检测过表达 miR-101 对肺癌细胞中 COX-2 表达的影响

收集转染了 miR-NC 和 miR-101 的对数生长期 A549、NCI-H226 细胞, 加入细胞裂解液裂解后, 提取总蛋白, Western blotting 检测 COX-2 的表达水平, 操作方法与 1.3 相同。

1.7 CCK-8 法检测 miR-101 过表达对肺癌 A549、NCI-H226 细胞活力的影响

分别取野生型 A549、NCI-H226 细胞以及转染过空载体 miR-NC 和 miR-101 的 A549、NCI-H226 细胞接种于 48 孔板, 细胞初始密度为 3 000 个/孔, 分别于培养第 2、3、4、5 天按照 CCK-8 试剂盒提供的操作步骤检测细胞活力并进行统计学分析。细胞活力按照如下公式进行计算: 细胞活力(%) =  $(D_{day n} - D_{blank}) / (D_{day 0} - D_{blank}) \times 100\%$ 。

1.8 克隆形成实验检测 miR-101 过表达对肺癌 A549、NCI-H226 细胞克隆形成能力的影响

收集野生型 A549、NCI-H226 细胞以及转染过空载体 miR-NC 和 miR-101 的 A549、NCI-H226 细胞, 计数后按 100 个/孔接种于 6 孔板。培养 2 周后, 当细胞培养板中出现肉眼可见克隆时终止培养,

用 PBS 小心冲洗 2 次, 用 4% 的中性甲醇固定细胞 15 min, 加入瑞氏-吉姆萨复合染色液染色 30 min, 流水缓慢洗涤后自然空气干燥。在显微镜下计数大于 50 个细胞的克隆数, 参考文献[12]提供的计算方法, 按照如下公式计算克隆形成率: 克隆形成率(%) = 克隆数/接种细胞数 × 100%<sup>[12]</sup>。

1.9 裸鼠皮下成瘤实验检测 miR-101 过表达对肺癌 A549 细胞移植瘤生长的影响

取 6~8 周龄的雌性 BALB/c 裸鼠, 分别皮下接种 5 × 10<sup>6</sup> 个的 A549、A549/NC 和 A549/miR-101 细胞<sup>[13]</sup>, 每周测量小鼠肿瘤长径和短径, 观察皮下肿瘤成瘤及生长情况。6 周后颈椎脱臼法处死小鼠, 取肿瘤组织称质量, 并对其质量进行统计学分析。小鼠肿瘤体积按照如下公式计算: 肿瘤体积 = 1/2 长径 × 短径<sup>2</sup><sup>[13]</sup>。

1.10 统计学分析

采用 SPSS11.0 软件进行统计学分析, 对于两组均数的比较采用非配对 *t* 检验; 对于 3 组和 3 组以上均数的比较采用单因素方差分析, 并以 Dunnett *t* 检验进行组间两两比较; 对于同一研究对象的某一观察指标在不同时间点进行的多次测量结果采用重复测量数据的方差分析进行比较, 以 *P* < 0.05 或 *P* < 0.01 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 COX-2 在肺癌组织和细胞中的表达显著高于癌旁组织和正常人胚肺成纤维细胞

Western blotting 检测结果(图 1)显示, 肺癌组织中 COX-2 的相对表达量显著高于癌旁组织(0.917 ± 0.103 vs 0.204 ± 0.41, *t* = 20.03, *P* = 0.001); 肺癌 A549、NCI-H226 细胞中 COX-2 的相对表达量显著高于正常人胚肺成纤维 MRC-5 细胞(0.616 ± 0.093, 0.518 ± 0.071 vs 0.305 ± 0.032; *t* = 14.59, *P* = 0.012)。

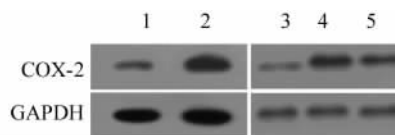


图 1 肺癌组织和细胞中 COX-2 的表达显著高于癌旁组织和正常人胚肺成纤维细胞

Fig. 1 COX-2 in lung cancer tissue specimens and cell lines were significantly higher than that in para-cancer tissues and human diploid fibroblasts

1: Normal tissue; 2: Cancer tissue; 3: MRC-5; 4: A549; 5: NCI-H226

2.2 miR-101 在肺癌组织及细胞中的表达显著低于癌旁组织和正常正常人胚肺成纤维细胞

实时荧光定量 RT-PCR 检测结果(图 2)显示,肺癌组织中 miR-101 的相对表达量显著低于癌旁组织 [  $1.036 \pm 0.13$  vs  $5.678 \pm 1.817$ ,  $t = 18.33$ ,  $P = 0.002$  ]。在 A549、NCI-H226 细胞中 miR-101 的相对表达量均显著低于 MRC-5 细胞 [  $1.043 \pm 0.181$ ,  $1.332 \pm 0.238$  vs  $4.630 \pm 0.67$ ;  $t = 28.95$ ,  $P < 0.001$  ]。

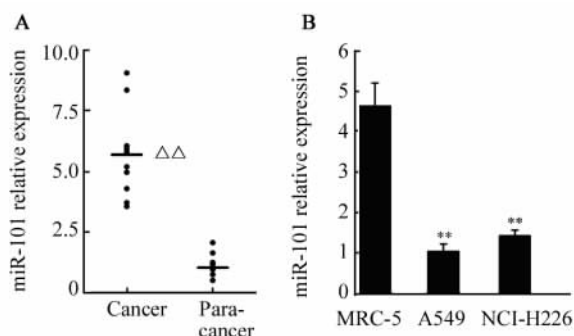


图 2 miR-101 在肺癌组织( A)和细胞( B)中的相对表达  
Fig. 2 Relative levels of miR-101 in lung cancer tissue specimens ( A ) and different lung cancer cell lines ( B )

$\Delta\Delta P < 0.01$  vs para-cancer,  $** P < 0.01$  vs MRC-5

2.3 过表达 miR-101 降低 A549、NCI-H226 细胞中 COX-2 的表达

Real-time PCR 检测结果(图 3)显示,转染了 miR-101 的 A549、NCI-H226 细胞内 miR-101 的表达水平显著高于对应的转染空载体的细胞和野生型细胞(均  $P < 0.01$ ),说明已成功构建了过表达 miR-101 的 A549/101、NCI-H226/101 细胞系。

Western blotting 检测结果(图 4)显示, A549/101 ( $0.919 \pm 0.117$  vs  $1.733 \pm 0.214$ ;  $t = 26.03$ ,  $P < 0.01$  )、NCI-H226/101 细胞 ( $0.806 \pm 0.411$  vs  $1.381 \pm 0.112$ ;  $t = 23.29$ ,  $P < 0.01$  )中 COX-2 的相对表达量显著低于对应的野生型细胞。

2.4 过表达 miR-101 对 A549、NCI-H226 细胞体外增殖能力的影响

CCK-8 检测结果(图 5)显示,以刚接种时的细胞活力为 100%,经过 5 天培养后, A549、NCI-H226 细胞的活力分别为 ( $682.5 \pm 92.7$ )% 和 ( $712.7 \pm 106.5$ )%,显著高于 A549/101、NCI-H226/101 细胞的活力 ( $327.0 \pm 45.2$ )% 和 ( $307.3 \pm 40.3$ )% ( $F = 5.783$ ,  $P = 0.017$ ;  $F = 5.116$ ,  $P = 0.012$ ),但与 A549/NC、NCI-H226/NC 细胞活力无显著差异 ( $F =$

$1.41$ ,  $P = 0.326$ ;  $F = 1.25$ ,  $P = 0.265$ )。

克隆形成实验结果显示, A549/101 [ ( $27.55 \pm 4.01$ )% vs ( $75.32 \pm 5.09$ )% ,  $t = 20.34$ ,  $P < 0.01$  ] 和 NCI-H226/101 细胞 [ ( $26.03 \pm 2.9$ )% vs ( $77.41 \pm 5.22$ )% ,  $t = 21.992$ ,  $P < 0.01$  ] 的克隆形成率较 A549 细胞与 NCI-H226 细胞显著下降。

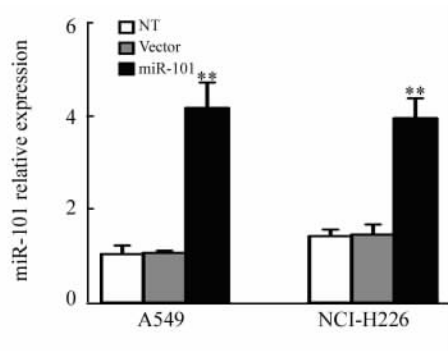


图 3 转染 miR-101 显著提高 A549、NCI-H226 细胞内 miR-101 的表达

Fig. 3 Relative levels of miR-101 in A549 and NCI-H226 transfected with the indicated vectors

$** P < 0.01$  vs vector and NT group

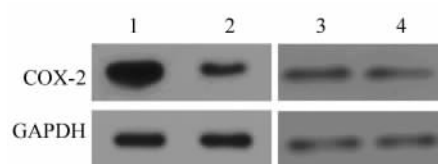


图 4 过表达 miR-101 降低 A549、NCI-H226 细胞中 COX-2 的表达

Fig. 4 A representative Western blotting analysis of COX-2 in wild-type and miR-101-overexpressing A549 and NCI-H226 cells

1: A549; 2: A549/101; 3: NCI-H226; 4: NCI-H226/101

2.5 过表达 miR-101 对 A549 细胞体内肿瘤生长速率的影响

成功构建了 A549 细胞 BALB/c 裸鼠皮下移植瘤模型,并对肿瘤模型中 A549、A549/NC 以及 A549/101 细胞的成瘤以及肿瘤生长情况进行观察。结果(图 6)显示,在瘤细胞皮下接种 14 d 左右,能够在裸鼠皮下检测到明显的肺癌肿块。随后肿瘤缓慢生长,在接种后 42 d, A549/101 组小鼠皮下肿瘤体积显著低于 A549 组和 A549/NC 组 [ ( $742.3 \pm 195.4$ ) vs ( $2009.5 \pm 41.5$ )、( $1989.4 \pm 457.9$ )  $\text{mm}^3$ ,  $F = 1.57$ ,  $P = 0.226$  ],且 A549/101 组小鼠肿瘤生长速率较 A549 组 ( $F = 14.8$ ,  $P = 0.003$ ) 与 A549/NC

组 ( $F = 15.31, P = 0.002$ ) 明显减慢。A549/101 组小鼠肿瘤质量显著低于 A549 组及 A549/NC 组的肿瘤质量 [ $(0.61 \pm 0.17)$  vs  $(1.92 \pm 0.35)$ 、 $(1.84 \pm 0.41)$ g, Dunnett  $t$  test I-J =  $-0.47, P = 0.005$ ; Dunnett  $t$  test I-J =  $-0.32, P = 0.007$  ]。

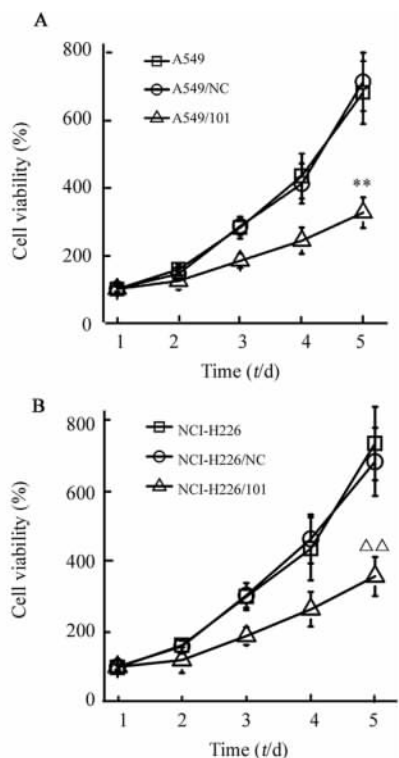


图 5 过表达 miR-101 降低 A549 (A)、NCI-H226 (B) 细胞的体外增殖能力

Fig. 5 Proliferation capacities of A549 (A) and NCI-H226 (B) cells were inhibited by miR-101 overexpression

\*\*  $P < 0.01$  vs A549/NC or A549 cells;

$\Delta\Delta P < 0.01$  vs NCI-H226 or NCI-H226/NC cells

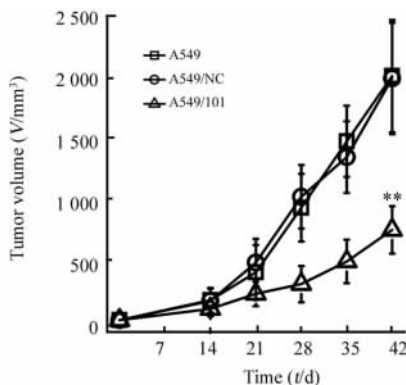


图 6 过表达 miR-101 抑制 A549 细胞裸鼠移植瘤的生长

Fig. 6 Tumor volume and mass were inhibited by miR-101 overexpression

\*\*  $P < 0.01$  vs A549 and A549/NC cells

### 3 讨论

miRNA 通过影响 mRNA 的降解和翻译来控制靶基因的表达,在胚胎发育、细胞周期调控、增殖分化和凋亡等重要的生命过程中发挥着重要的作用<sup>[14-16]</sup>。越来越多的证据显示,人类肿瘤中存在多种 miRNA 的表达异常,提示 miRNA 可以通过调节癌基因或抑癌基因的表达,在恶性肿瘤的发生发展过程中发挥着重要的作用,有可能成为人类攻克肿瘤的有效手段<sup>[17-18]</sup>。

本研究证实,在患者肺癌组织和细胞内,miR-101 的表达较癌旁组织和正常细胞内显著减少,而 COX-2 的表达量则显著上升。生物信息学分析则显示,miR-101 有 COX-2 的结合位点。为证实肺癌组织细胞中 miR-101 表达量的下调与 COX-2 表达量的上调之间的关联,本研究用在肺癌细胞中成功转染 miR-101,发现过表达 miR-101 的肺癌细胞内 COX-2 的表达量明显上调。进一步的实验结果证实,过表达 miR-101 的肺癌细胞体外增值和侵袭能力显著降低。实验发现, A549/101 细胞在 BALB/c 小鼠体内能够成瘤,但是肿瘤生长速率明显低于野生型 A549 肿瘤模型。COX-2 是 PGE2 合成过程中重要的限速酶<sup>[4]</sup>,而 PGE2 在许多恶性肿瘤组织中表达升高,其可以抑制机体的免疫功能,与肿瘤的发生、浸润、转移和预后不良息息相关<sup>[4-8]</sup>。Masferrer 等<sup>[19]</sup>研究表明,COX-2 在肿瘤微血管的形成以及肿瘤细胞凋亡抵制方面发挥着重要的作用。本研究发现,在肺癌组织和细胞中,miR-101 与 COX-2 的表达呈负相关,且过表达 miR-101 的肺癌细胞体内外增殖和侵袭能力都显著下降。这些结果提示 miR-101 很可能是通过调控其靶基因 COX-2 的表达,在肺癌的发生发展过程中发挥着重要的作用。因此,通过上调肺癌组织细胞内 miR-101 的表达有可能为肺癌的治疗提供重要的方向。

### [ 参考文献 ]

[ 1 ] WHO. Latest world cancer statistics global cancer burden rises to 14.1 million new cases in 2012: marked increase in breast cancers must be addressed [ R ], 2013.  
 [ 2 ] Ridge CA, Mcerlean AM, Ginsberg MS. Epidemiology of lung cancer [ J ]. Semin Intervent Radiol, 2013, 30( 2 ):93-98.  
 [ 3 ] Zhan P, Qian Q, Yu LK. Prognostic value of COX-2 expression in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis [ J ]. J Thorac Dis, 2013, 5( 1 ): 40-47.  
 [ 4 ] 郝世平,刘鸿齐. 胃癌根治术 60 例预后因素的 COX 分析 [ J ]. 中国药物与临床, 2010, 10( 12 ): 1378-1379.  
 [ 5 ] Karavitis J, Zhang M. COX2 regulation of breast cancer bone me-

- tastasis [ J ]. *Oncoimmunology*, 2013, 2( 3 ): e23129.
- [ 6 ] Tyagi A, Agarwal C, Dwyer-Nield LD, et al. Silibinin modulates TNF-alpha and IFN-gamma mediated signaling to regulate COX2 and iNOS expression in tumorigenic mouse lung epithelial LM2 cells [ J ]. *Mol Carcinog*, 2012, 51( 10 ): 832-842.
- [ 7 ] 苏帅,陈鑫,姜葵,等. CDX2 COX-2 和 NF-κB 在胃癌和癌前病变中的表达和意义 [ J ]. *中国肿瘤临床*, 2013( 22 ): 1387-1390.
- [ 8 ] 王明明,徐亮,郑芹林. Cox-2、Topo- II 在结直肠癌组织中的表达及对奥沙利铂化疗患者预后的影响 [ J ]. *山东医药*, 2013, 53( 42 ): 12-14.
- [ 9 ] 杨喈. miRNA-21 与肿瘤相关研究新进展 [ J ]. *中国肿瘤临床*, 2011, 38( 6 ): 357-360.
- [ 10 ] Farh KK, Grimson A, Jan C, et al. The widespread impact of mammalian MicroRNAs on mRNA repression and evolution [ J ]. *Science*, 2005, 310( 5755 ): 1817-1821.
- [ 11 ] Chakrabarty A, Tranguch S, Daikoku T, et al. MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo implantation [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104( 38 ): 15144-15149.
- [ 12 ] 牟霞,李明. siRNA 沉默新趋化因子 VCC-1 抑制 SMMC7721 肝癌细胞体外克隆形成能力和体内成瘤性 [ J ]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29( 4 ): 347-349, 353.
- [ 13 ] Deng M, Tang HL, Lu XH, et al. miR-26a suppresses tumor growth and metastasis by targeting FGF9 in gastric cancer [ J ]. *PLoS ONE*, 2013, 8( 8 ): e72662.
- [ 14 ] Wu C, Li H, Zhao H, et al. Potentiating antilymphoma efficacy of chemotherapy using a liposome for integration of CD20 targeting, ultra-violet irradiation polymerizing, and controlled drug delivery [ J ]. *Nanoscale Res Lett*, 2014, 9( 1 ): 447.
- [ 15 ] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [ J ]. *Cell*, 2004, 116( 2 ): 281-297.
- [ 16 ] 张众,石宇,李连宏,等. 细胞生命进程中 microRNA 调控的意义 [ J ]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28( 5 ): 477-481.
- [ 17 ] Mets E, van der Meulen J, van Peer G, et al. MicroRNA-193b-3p acts as a tumor suppressor by targeting the MYB oncogene in T-cell acute lymphoblastic leukemia [ J ]. *Leukemia*, 2014, 29( 4 ): 798-806.
- [ 18 ] Mueller M, Zhou J, Yang L, et al. Preimplantation factor promotes neuroprotection by targeting microRNA let-7 [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111( 38 ): 13882-13887.
- [ 19 ] Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, et al. Antiangiogenic and anti-tumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors [ J ]. *Cancer Res*, 2000, 60( 5 ): 1306-1311.
- [ 收稿日期 ] 2015 - 04 - 22 [ 修回日期 ] 2015 - 08 - 10
- [ 本文编辑 ] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 凡临床试验都应在中国临床试验注册中心注册

中国临床试验注册中心( Chinese Clinical Trial Register, ChiCTR )为卫生部下属的国家临床试验注册中心,是世界卫生组织国际临床试验注册协作网一级注册机构( World Health Organization International Clinical Trial Registration Platform Primary Register, WHO ICTRP Primary Register ),由卫生部中国循证医学中心和四川大学华西医院等于 2005 年 7 月 25 日正式成立并运行。

全球临床试验注册制度由世界各国政府共同决定由 WHO 领导建立。临床试验注册具有伦理和科学的双重意义,目的是为了尊重和珍惜所有试验参与者的贡献,他们的贡献用于改善全社会的医疗保健,因此,任何临床试验都与公众利益相关。公开临床试验的信息,并将其置于公众监督之下是试验研究者的义务和道德责任。临床试验注册不仅能确保追溯每个临床试验的结果,公开在研试验或试验结果信息还有助于减少不必要的重复研究。

ChiCTR 的宗旨是联合中国和全球的临床医师、临床流行病学家、统计学家、流行病学家和医疗卫生管理者,严格科学地管理中国临床试验信息,提高其质量,为广大医务工作者、医疗卫生服务消费者和政府卫生政策制定者提供可靠的临床试验证据,让医疗卫生资源更好地服务于中国人民和全人类的健康事业。

所有在人体实施的试验均属于临床试验,都应该先注册后实施。凡已注册临床试验都会被授予 WHO ICTRP 全球统一的唯一注册号。

我国众多医学期刊已和中国临床试验注册中心共同建立了临床试验报告发表机制,正在分步实施优先发表、直到只发表具有全球性唯一注册号的临床试验报告。

ChiCTR 接受中国地区及全球的临床试验注册申请,还接受获得 WHO ICTRP 认证的二级注册机构输送的注册资料,并向 WHO ICTRP 中央数据库输送注册信息供全球检索。除注册临床试验外,ChiCTR 以卫生部中国循证医学中心、循证医学教育部网上合作研究中心、中国 Cochrane 中心、英国 Cochrane 中心、四川大学华西医院国际临床流行病学网华西资源与培训中心为人才和技术支持平台,负责指导临床试验设计、中心随机、论文写作、教育培训,推动提高我国临床试验的质量。

通过 ChiCTR 检索入口网址 [www.chictr.org](http://www.chictr.org), 公众可方便地查询已注册临床试验信息,并与 WHO 全球检索入口链接,可方便地查询全球已注册临床试验。

( 本刊编辑部 )