

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.011

· 基础研究 ·

## miR-129-5p 通过 HMGB1 调控乳腺癌 MCF-7 细胞对紫杉醇的敏感性

路璐<sup>1a</sup>, 王云凤<sup>1a</sup>, 吕以东<sup>1b</sup>, 汪杰<sup>1b</sup>, 魏园玉<sup>1a</sup>, 常爱民<sup>1a</sup>, 任静静<sup>1a</sup>, 马丹<sup>1a</sup>, 石瑛<sup>1a,2</sup> (1. 郑州大学第三附属医院 a. 检验科; b. 乳腺外科; 2. 郑州大学检验系, 河南 郑州 450052)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-129-5p 通过调控高迁移率族蛋白 B1 基因 (high mobility group box 1, *HMGB1*) 影响乳腺癌 MCF-7 细胞对紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 的敏感性。 **方法:** 采用脂质体转染技术将 miR-129-5p mimics、HMGB1 小干扰 RNA (si-HMGB1) 分别转染入 MCF-7 细胞, 用 PTX 刺激培养细胞后, 用实时荧光定量 PCR 检测转染后 MCF-7 细胞 miR-129-5p 和 *HMGB1* mRNA 的表达, Western blotting 检测转染后 MCF-7 细胞 HMGB1 蛋白的表达, CCK-8 增殖实验检测转染后 PTX 对 MCF-7 细胞增殖的影响, 流式细胞术检测转染后对 PTX 诱导 MCF-7 细胞凋亡的影响。 **结果:** 转染 miR-129-5p mimics 后, MCF-7 细胞中 miR-129-5p 的表达水平明显高于阴性对照组细胞 ( $P < 0.01$ ); 过表达 miR-129-5p 后可明显增强 PTX 抑制 MCF-7 细胞的增殖和诱导细胞凋亡的能力 (均  $P < 0.05$ ), 并显著抑制 *HMGB1* mRNA 和蛋白的表达 (均  $P < 0.05$ )。转染 si-HMGB1 后, 显著降低 MCF-7 细胞 *HMGB1* mRNA 和蛋白的表达 (均  $P < 0.05$ ); 干扰 *HMGB1* 表达进一步促进 PTX 抑制 MCF-7 细胞的增殖并诱导细胞凋亡 (均  $P < 0.05$ )。 **结论:** miR-129-5p 通过下调 *HMGB1* 的表达增强乳腺癌 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性。

**[关键词]** 乳腺癌; MCF-7 细胞; miR-129-5p; 高迁移率族蛋白 B1; 紫杉醇; 增殖; 凋亡

**[中图分类号]** R737.9; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)01-0062-06

## MiR-129-5p influences the sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to paclitaxel by regulating HMGB1

LU Lu<sup>1a</sup>, WANG Yunfeng<sup>1a</sup>, LYU Yidong<sup>1b</sup>, WANG Jie<sup>1b</sup>, WEI Yuanyu<sup>1a</sup>, CHANG Aimin<sup>1a</sup>, REN Jingjing<sup>1a</sup>, MA Dan<sup>1a</sup>, SHI Ying<sup>1a,2</sup> (1a. Clinical Laboratory; 1b. Department of Breast Surgery, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan, China; 2. Department of Laboratory Examination, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-129-5p on the sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to paclitaxel (PTX) by regulating high mobility group box 1 (*HMGB1*). **Methods:** MCF-7 cells were transfected with miR-129-5p mimics or si-HMGB1 by liposomes transfection technology before stimulated with PTX, respectively. Then, the mRNA expressions of *HMGB1* and miR-129-5p in MCF-7 cells were detected by Real-time fluorescence quantitative PCR. Assessment of the expression of HMGB1 protein in MCF-7 cells was performed using Western blotting, and the effect of PTX on the proliferation of MCF-7 cells was performed by CCK-8 assay. Finally, the effect of transfection on PTX-induced apoptosis of MCF-7 cells was detected by flow cytometry. **Results:** After being transfected with miR-129-5p mimics, the expression of miR-129-5p was significantly higher than that of the negative control group ( $P < 0.01$ ). Over-expression of miR-129-5p significantly enhanced the inhibition of MCF-7 cells proliferation by PTX ( $P < 0.05$ ) and PTX-induced apoptosis ( $P < 0.05$ ), meanwhile it also significantly inhibited the expression of *HMGB1* mRNA and protein (all  $P < 0.05$ ). Transfection with si-HMGB1 significantly reduced the expression of *HMGB1* mRNA and protein (all  $P < 0.05$ ) in MCF-7 cells. *HMGB1* interference further promoted PTX-induced proliferation inhibition and apoptosis of MCF-7 cells (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** miR-129-5p enhanced the sensitivity of MCF-7 cells to PTX by down-regulating *HMGB1*.

**[Key words]** breast cancer; MCF-7 cell line; miR-129-5p; high mobility group box 1 (HMGB1); paclitaxel (PTX); proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(1): 62-67. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.01.011]

**[基金项目]** 河南省高等学校重点科研计划项目 (No.14A320038)。Project supported by the Key Research Program of Higher Education in Henan Province (No.14A320038)

**[作者简介]** 路璐 (1989-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫学检验研究, E-mail: luluchen703@126.com

**[通信作者]** 石瑛 (SHI Ying, corresponding author), 博士, 副主任技师-副教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫学检验研究, E-mail: syybr@126.com

**[优先发表]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20180115.1553.002.html>

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其病死率位居女性肿瘤的第2位<sup>[1]</sup>。目前,紫杉醇(paclitaxel,PTX)作为乳腺癌一线化疗药物,提高了乳腺癌患者生存率<sup>[2]</sup>,但因耐药性的出现限制了其临床疗效,导致癌症复发或转移<sup>[3]</sup>,因此,提高乳腺癌对PTX的敏感性显得十分重要。有研究<sup>[4-6]</sup>发现,miRNA可通过调控其下游靶基因参与肿瘤多药耐药(multidrug resistance,MDR)。miR-129-5p是一种重要的肿瘤相关miRNA,在乳腺癌及其他多种肿瘤中低表达,不仅与肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移和凋亡相关,也可调控化疗耐药<sup>[7-9]</sup>;miR-129-5p可靶向结合高迁移率族蛋白B1基因(high mobility group box 1,HMGB1)的3'-UTR区,后者作为一种高度保守的DNA连接蛋白,可调控细胞中DNA转录、复制和修复<sup>[10-11]</sup>,在乳腺癌及多种肿瘤中高表达,可参与肿瘤的发生发展、增强肿瘤化疗敏感性<sup>[12-13]</sup>。miR-129-5p可通过靶向抑制HMGB1表达抑制自噬,从而提高乳腺癌细胞对放疗的敏感性<sup>[14]</sup>。放疗主要用于乳腺癌多处淋巴结转移的高危患者,而化疗广泛用于不同的乳腺癌患者,放疗的同时也需辅助化疗<sup>[15]</sup>。因此,研究miR-129-5p是否通过调控HMGB1表达增强乳腺癌对化疗的敏感性,将有助于改善乳腺癌患者的预后。本研究通过体外过表达miR-129-5p,探讨其对MCF-7细胞PTX敏感性的影响和HMGB1可能参与乳腺癌的发生机制,为深入研究乳腺癌发病和耐药机制提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株和主要试剂

人乳腺癌细胞株MCF-7购自美国ATCC细胞库。胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司,RPMI 1640不完全培养基购自北京索莱宝科技有限公司,PTX购自西安昊轩生物科技有限公司,miR-129-5p模拟物(miR-129-5p mimics)、HMGB1小干扰RNA(si-HMGB1)及其阴性对照(miR-NC)由生工生物工程(上海)有限公司合成,脂质体转染试剂Lipo-High、UNIQ-10柱式TRIzol总RNA和miRNA抽提试剂盒均购自生工生物工程(上海)有限公司,兔抗人HMGB1单克隆抗体购自美国Abcam公司,兔抗人GAPDH多克隆抗体和羊抗兔IgG-HRP购自生工生物工程(上海)有限公司,细胞凋亡检测试剂盒购自美国BD公司,细胞增殖毒性检测(CCK-8)试剂盒购自日本同仁化学研究所。

### 1.2 细胞培养和转染

乳腺癌MCF-7细胞培养于含10%灭活胎牛血清的RPMI 1640完全培养基中,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养,待细胞汇合度达到80%~90%时进行传代或用于后续实验。

将对数生长期MCF-7细胞接种到6孔板中(2.5×10<sup>5</sup>个/孔)。细胞转染按照脂质体LipoHigh试剂说明书进行,根据转染的目的基因不同进行如下分组:miR-129-5p组(转染miR-129-5p mimics)、miR-NC组(转染miRNA阴性对照组)、si-HMGB1组(转染干扰RNA)、si-NC组(转染siRNA阴性对照)。将各组待转染脂质体和LipoHigh分别用OPTI无血清培养基稀释后,再将两者混匀静置20 min,加入各孔细胞中,用无血清培养基继续培养6 h后,更换为完全培养基培养用于后续实验。

### 1.3 miR-129-5p的靶基因预测

通过在线靶基因预测网站Target genes([http://www.targetscan.org/vert\\_71/](http://www.targetscan.org/vert_71/))预测miR-129-5p的靶基因,并查询其与靶基因的结合位点。

### 1.4 CCK-8法检测PTX对MCF-7细胞增殖的影响

将对数生长期的MCF-7细胞接种到96孔板中(8×10<sup>3</sup>个/孔),转染24 h后,各孔加入相应浓度的PTX(终浓度分别为0、7.8、31.2、125.0、500.0和1 000.0 nmol/L)继续培养24 h后弃原培养基,加入100 μl不完全培养基和10 μl CCK-8溶液继续培养1 h,然后使用酶标仪测定波长在450 nm处的光密度(D)值,并按照公式[增殖抑制率(%)=(1-实验组D值/对照组D值)×100%]计算细胞的增殖抑制率,最后根据计算所得的增殖抑制率通过SPSS软件计算出PTX的IC<sub>30</sub>值,miR-NC组PTX的IC<sub>30</sub>值约为31.2 nmol/L,后续实验均使用此浓度刺激培养MCF-7细胞。每组设4个平行孔,实验重复3次。

### 1.5 流式细胞术检测PTX对MCF-7细胞凋亡的影响

取转染24 h的各组细胞,加入IC<sub>30</sub>的PTX继续培养24 h,用不含EDTA的胰酶消化后收集各组细胞。用预冷的0.01 mol/L PBS洗涤1~2次后加入100 μl结合缓冲液重悬细胞,再加入5 μl异硫氰酸荧光素(FITC)标记的磷脂结合蛋白Annexin V和5 μl碘化丙啶(PI)轻轻混匀,室温避光15~30 min,洗涤3次。最后,加入400 μl结合缓冲液重悬细胞,30 min内上机检测。细胞自动获取与数据分析由BD FACSDiva.8软件进行。细胞总凋亡率以早期凋亡率和晚期凋亡率的总和进行计算。每组设3个平行孔,实验重复3次。

### 1.6 实时荧光定量PCR(qPCR)检测转染后MCF-7细胞miR-129-5p的表达

取转染48 h后的各组细胞,严格按照miRNA抽提试剂盒说明书提取细胞中的miRNA。按照miRNA第一链cDNA合成(茎环法)试剂盒说明书逆转录合成cDNA,逆转录条件:37℃ 60 min,85℃ 5 min,PCR反应体系为20 μl。按照qPCR试剂盒(染料法)

说明书进行定量 PCR 检测,检测条件:95°C 30 s; 95°C 5 s, 60°C 30 s, 共 40 个循环。引物序列:miR-129-5p 上游为 5'-CTTTTTGCGGTCTGGGCTTG-3', 下游为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; U6 上游为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游为 5'-AACGCTTCACGAATTTGC-3'。实验结果以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  公式计算 miR-129-5p 的相对表达量。每组设 3 个平行孔,实验重复 3 次。

### 1.7 qPCR 检测转染后 MCF-7 细胞 HMGB1 mRNA 的表达

取转染 24 h 后的各组细胞,加入  $IC_{30}$  的 PTX 继续培养 24 h,然后收集各组细胞。TRIzol 法提取总 mRNA,按照总 mRNA 提取试剂盒说明书进行。按照 M-MuLV 第一链 cDNA 合成试剂盒说明书逆转录,逆转录条件:42°C 60 min, 85°C 5 min; PCR 反应体系为 25  $\mu$ l。按照 mRNA 荧光定量 PCR 试剂盒说明书进行扩增,扩增条件:95°C 3 min, 95°C 20 s, 60°C 30 s, 共 40 个循环。引物序列:HMGB1 上游为 5'-ACAAGGCCCGTTATGAAAGA-3', 下游为 5'-GAAGAGGAAGAAGGCCGAAG-3'; GAPDH 上游为 5'-CAGGAGGCATTGCTGATGAT-3', 下游为 5'-GAAGGCTGGGGCTCATT-3'。实验结果以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因的相对表达量。每组设 3 个平行复孔,实验重复 3 次。

### 1.8 Western blotting 检测转染后 MCF-7 细胞 HMGB1 蛋白的表达

取转染 48 h 后各组细胞,加入  $IC_{30}$  的 PTX 继续培养 24 h,然后按照 RIPA 蛋白裂解缓冲液使用说明提取各组总蛋白。取 20  $\mu$ g 总蛋白加 1 $\times$ 上样缓冲液煮沸变性,SDS-PAGE 后,将蛋白全部转移到 0.22  $\mu$ m PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入稀释后的兔抗人 HMGB1 单克隆抗体(1:10 000)和兔抗人 GAPDH 多克隆抗体(1:1 000),4°C 孵育过夜,再用稀释后羊抗兔 IgG-HRP (1:10 000)为二抗室温孵育 1 h。TBST 再次洗膜后,采用 ECL 显色并分析条带,用 Image J 软件进行灰度值分析。目的蛋白相对表达水平=目的蛋白灰度值/GAPDH 灰度值。每组设 3 个平行孔,实验重复 3 次。

### 1.9 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件,计量数据以  $\bar{x}\pm s$  表示,细胞增殖抑制率采用两组定量资料  $t$  检验或校正  $t$  检验,细胞转染后多组定量资料间的比较采用单因素方差分析及 LSD- $t$  检验。以  $P<0.05$  或  $P<0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

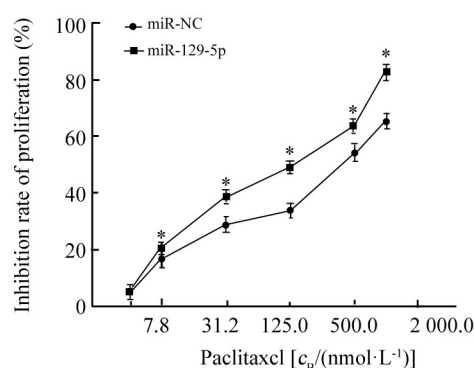
### 2.1 转染 miR-129-5p 后 MCF-7 细胞中 miR-129-5p

高表达

qPCR 检测结果显示,miR-129-5p 组 MCF-7 细胞中的 miR-129-5p 的表达水平明显高于 miR-NC 组 ( $142.00\pm 3.33$  vs  $1.16\pm 0.05$ ,  $t=73.15$ ,  $P<0.01$ )。因此,miR-129-5p 组 MCF-7 细胞满足后续实验的要求。

### 2.2 过表达 miR-129-5p 增加 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性

CCK-8 检测结果(图 1)显示,与 miR-NC 组比较,过表达 miR-129-5p 后,不同浓度的 PTX 对 MCF-7 细胞的增殖均有抑制作用,且随着药物浓度的升高,其抑制率显著升高 ( $P<0.05$ )。结果提示 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性增强。



\* $P<0.05$  vs miR-NC group

图 1 过表达 miR-129-5p 对 MCF-7 细胞 PTX 的敏感性的影响  
Fig. 1 Effect of miR-129-5p over-expression on sensitivity of MCF-7 cells to paclitaxel

### 2.3 过表达 miR-129-5p 促进 PTX 诱导 MCF-7 细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图 2)显示,miR-129-5p 组细胞的凋亡率(Q2+Q4)明显高于 miR-NC 组 [ $(12.87\pm 0.51)\%$  vs  $(7.13\pm 2.90)\%$ ,  $t=3.37$ ,  $P<0.05$ ]; miR-NC+PTX 组细胞的凋亡率明显高于 miR-NC 组 [ $(16.70\pm 0.80)\%$  vs  $(7.13\pm 2.90)\%$ ,  $t=5.51$ ,  $P<0.05$ ]; miR-129-5p+PTX 组细胞的凋亡率明显高于 miR-NC+PTX 组 [ $(24.70\pm 2.71)\%$  vs  $(16.70\pm 0.80)\%$ ,  $t=4.91$ ,  $P<0.05$ ]。实验结果提示,过表达 miR-129-5p 后,PTX 对 MCF-7 细胞凋亡的诱导活性明显增加。

### 2.4 miR-129-5p 抑制 HMGB1 mRNA 和蛋白表达

靶基因预测网站 Target genes 结果(图 3A)显示,miR-129-5p 与 HMGB1 的 3'-UTR 结构域有两个结合区域。qPCR(图 3B)和 Western blotting(图 3C、D)结果显示,miR-129-5p 组 HMGB1 mRNA 和蛋白的相对表达水平明显低于 miR-NC 组 ( $t=9.37$ ,  $5.95$ ; 均  $P<0.05$ ); miR-NC+PTX 组明显低于 miR-NC 组 ( $t=6.95$ ,  $3.86$ ; 均  $P<0.05$ ); miR-129-5p+PTX 组明显低于 miR-NC+PTX 组 ( $t=5.74$ ,  $9.938$ ; 均  $P<0.05$ )。结果提示,

miR-129-5p抑制HMGB1的表达。

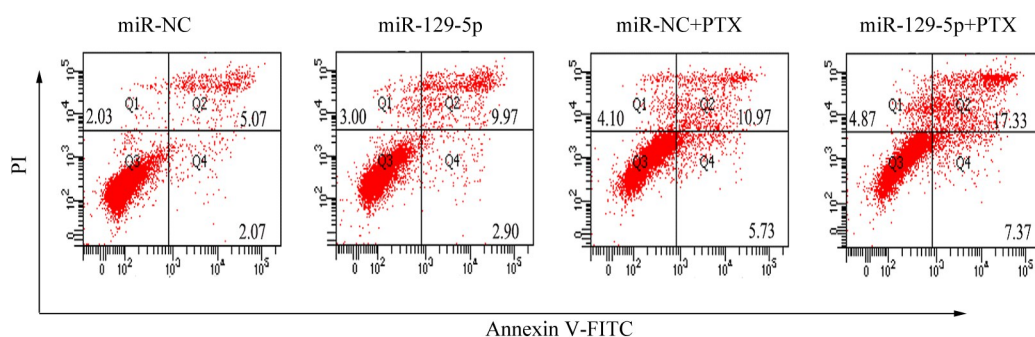
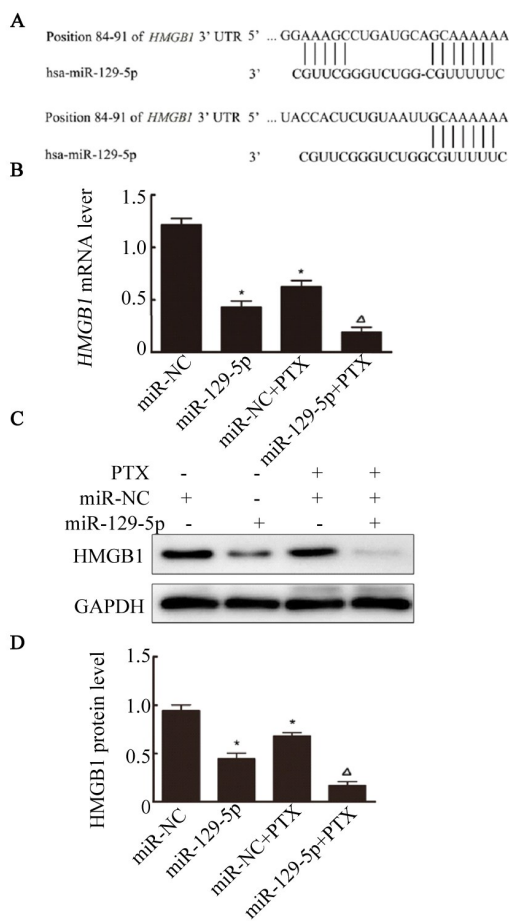


图2 过表达miR-129-5p对PTX诱导MCF-7细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effect of miR-129-5p over-expression on paclitaxel-induced MCF-7 cell apoptosis

2.5 HMGB1在转染si-RNA的MCF-7细胞中低表达 qPCR和Western blotting(图4)检测结果显示,si-HMGB1组MCF-7细胞的HMGB1 mRNA及其蛋白

的表达水平明显低于si-NC组(HMGB1 mRNA:0.31±0.15 vs 1.22±0.13, t=7.79, P<0.01; HMGB1蛋白:0.29±0.04 vs 0.68±0.08, t=36.68, P<0.05)。结果表明, si-RNA有效抑制HMGB1的表达。



\*P<0.05 vs miR-NC group; <sup>Δ</sup>P<0.05 vs miR-NC+PTX group

A: The predicted results of target genes; B: Detection of HMGB1 mRNA level by qPCR;

C, D: Detection of HMGB1 protein level by Western blotting

图3 miR-129-5p调控HMGB1 mRNA和蛋白的表达

Fig. 3 miR-129-5p regulates the expressions of HMGB1 mRNA and protein

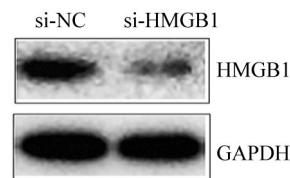


图4 HMGB1蛋白在转染si-RNA的MCF-7细胞中的表达

Fig. 4 Expression of HMGB1 protein in si-RNA-transfected MCF-7 cells

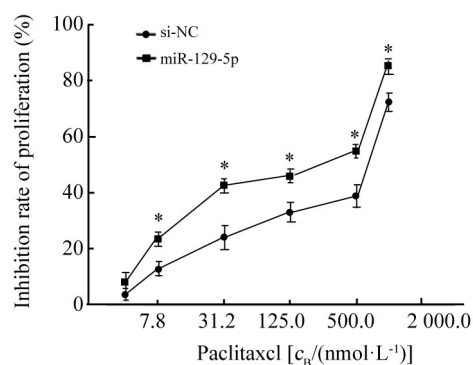
2.6 低表达HMGB1增加MCF-7细胞对PTX的敏感性 CCK-8检测结果(图5)显示,与si-NC组比较,干扰HMGB1表达后,不同浓度的PTX对MCF-7细胞均有增殖抑制作用,且随着药物浓度的升高,其增殖抑制率显著升高(P<0.05)。结果提示MCF-7细胞对PTX的敏感性增强。

2.7 低表达HMGB1促进PTX诱导MCF-7细胞凋亡 流式细胞术检测结果(图6)显示,si-HMGB1组MCF-7细胞的凋亡率(Q2+Q4)明显高于si-NC组[(16.40±0.96)% vs (10.53±1.91)% , t=6.04, P<0.05]; si-NC+PTX组细胞的凋亡率明显高于si-NC组[(16.33±5.17)% vs (10.53±1.91)% , t=3.81, P<0.05]; si-HMGB1+PTX组细胞的凋亡率明显高于si-NC+PTX组[(23.87±2.84)% vs (16.33±5.17)% , t=3.61, P<0.05]。结果提示,转染si-HMGB1后,PTX对MCF-7细胞凋亡的诱导活性明显增加。

### 3 讨论

miR-129-5p是新近发现的一种肿瘤抑制miR-

NA, 在乳腺癌中低表达<sup>[9]</sup>。miR-129-5p 除可抑制肿瘤细胞的侵袭、迁移、上皮间质转化外<sup>[7-8]</sup>, 还具有逆转肿瘤耐药的重要功能<sup>[9,16]</sup>。过表达 miR-129-5p 可增强 MCF-7/ADM 细胞对多柔比星、长春新碱的敏感性<sup>[9]</sup>, 还可直接靶向抑制脂肪前体细胞因子 1 (delta-like 1 homologue, *DLK1*) 基因影响非小细胞肺癌干细胞的耐药<sup>[16]</sup>。本研究利用脂质体转染技术使 MCF-7 细胞过表达 miR-129-5p, 结果发现 PTX 明显增强对 MCF-7 细胞的增殖抑制作用。凋亡是细胞的 I 型程序性死亡, 许多研究<sup>[4-6]</sup> 已证实, miRNA 可通过促进肿瘤细胞凋亡、增强化疗药物的敏感性。本研究发现, 过表达 miR-129-5p 后, PTX 明显增加 MCF-7 细胞的凋亡。以上结果表明, miR-129-5p 可通过促进细胞凋亡, 增强 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性。



\*P<0.05 vs si-NC group

图5 低表达 *HMGB1* 对 MCF-7 细胞 PTX 敏感性的影响  
Fig. 5 Effect of down-regulating *HMGB1* on sensitivity of MCF-7 cells to paclitaxel

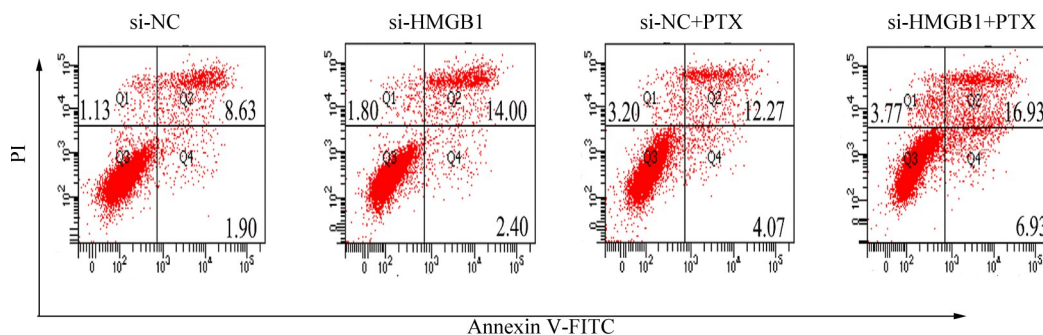


图6 低表达 *HMGB1* 对 PTX 诱导 MCF-7 细胞凋亡的影响

Fig. 6 Effect of down-regulating *HMGB1* on paclitaxel-induced MCF-7 cell apoptosis

miRNA 往往通过靶向调控其下游基因发挥生物学功能。有研究<sup>[17]</sup> 发现, miR-129-5p 可通过靶向抑制 *HMGB1* 表达抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移; 也可通过靶向抑制 *HMGB1* 表达增强乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞对放疗的敏感性<sup>[14]</sup>。本课题通过靶基因预测网站发现 *HMGB1* 是 miR-129-5p 的靶基因之一, 并经实验证实 miR-129-5p 可能通过抑制 *HMGB1* 表达影响 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性。

有研究<sup>[18-19]</sup> 发现, PTX 通过 Caspase 家族和 Fas/FasI 通路作用于 *P53*、*Bax* 和 *Bcl-2* 等基因促进细胞凋亡, 是 PTX 发挥抗肿瘤作用的机制之一。*HMGB1* 则可通过调控凋亡相关因子 Caspase 3、Caspase 8 和 Caspase 9 的活性和 *Bcl-2* 的表达抑制细胞凋亡<sup>[20-21]</sup>; 可通过促进细胞凋亡增加骨肉瘤细胞对顺铂、甲氨蝶呤和多柔比星的敏感性<sup>[22]</sup>。因此, *HMGB1* 可能通过凋亡影响 PTX 的抗肿瘤效果, 从而影响 PTX 的敏感性。本研究利用 si-RNA 技术干扰 *HMGB1* 表达后, 发现 PTX 诱导 MCF-7 细胞凋亡和抑制细胞增殖的作用明显增强, 结果表明抑制 *HMGB1* 表达可通过

促进细胞凋亡而增强 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性。

综上所述, miR-129-5p 可通过抑制 *HMGB1* 表达促进细胞凋亡, 从而增强 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性, Caspase 家族和 Fas/FasI 通路可能参与其发生机制。本研究仅利用体外实验进行了验证, 实验结果尚具有一定的局限性, 但本研究结果为进一步证实 miR-129-5p 低表达或缺失的耐药细胞株中通过靶向导入 miR-129-5p 可以提高细胞对抗肿瘤药物的敏感性, 以及为逆转肿瘤细胞耐药提供了实验数据支持。

[参考文献]

[1] SHIOI Y, KASHIWABA M, INABA T, et al. Long-term complete remission of metastatic breast cancer, induced by a steroidal aromatase inhibitor after failure of a non-steroidal aromatase inhibitor[J]. Am J Case Rep, 2014, 15: 85-89[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3936946/>. DOI: 10.12659/AJCR.890023.

[2] ROWINSKY E K. The development and clinical utility of the taxane class of antimicrotubule chemotherapy agents[J]. Ann Rev Med, 1997, 48(48): 353-374. DOI: 10.1146/annurev.med.48.1.353.

- [3] WANG H, VO T, HAJAR A, et al. Multiple mechanisms underlying acquired resistance to taxanes in selected docetaxel-resistant MCF-7 breast cancer cells[J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1): 37[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4447372/>. DOI: 10.1186/1471-2407-14-37.
- [4] PENG X, CAO P, HE D, et al. MiR-634 sensitizes nasopharyngeal carcinoma cells to paclitaxel and inhibits cell growth both in vitro and in vivo[J/OL]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(10): 6784-6791 [2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230079/>. DOI:10.1080/15384047.2014.1001287.
- [5] YE J, ZHANG Z, SUN L, et al. MiR-186 regulates chemo-sensitivity to paclitaxel via targeting MAPT in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(11): 3417-3424. DOI: 10.1039/c6mb00576d.
- [6] 姜靖雯,陈学武,方唯意,等. MiR-340通过下调CCND1表达增加结肠癌细胞对5-Fu的耐药[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(5): 467-471. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X. 2017.05.002.
- [7] DUAN L, HAO X, LIU Z, et al. MiR-129-5p is down-regulated and involved in the growth, apoptosis and migration of medullary thyroid carcinoma cells through targeting RET[J]. *FEBS Lett*, 2016, 588(9): 1644-1651. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.03.002.
- [8] JIANG Z, WANG H, LI Y, et al. MiR-129-5p is down-regulated and involved in migration and invasion of gastric cancer cells by targeting interleukin-8[J]. *Neoplasma*, 2016, 63(5): 673-680. DOI: 10.4149/neo\_2016\_503.
- [9] LUAN Q X, ZHANG B G, LI X J, et al. MiR-129-5p is downregulated in breast cancer cells partly due to promoter H3K27m3 modification and regulates epithelial-mesenchymal transition and multi-drug resistance[J/OL]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(20): 4257-4265[2017-09-20]. <http://www.europeanreview.org/>.
- [10] MELVIN V S, HARRELL C, ADELMAN J S, et al. The role of the C-terminal extension (CTE) of the estrogen receptor alpha and beta DNA binding domain in DNA binding and interaction with HMGB1[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(15): 14763-14771. DOI: 10.1074/jbc.M313335200.
- [11] YUAN F, GU L, GUO S, et al. Evidence for involvement of HMGB1 protein in human DNA mismatch repair[J]. *J Bio Chem*, 2004, 279(20): 20935-20940. DOI: 10.1074/jbc.M401931200.
- [12] ZHENG H, CHEN J N, YU X, et al. HMGB1 enhances drug resistance and promotes in vivo tumor growth of lung cancer cells[J]. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(10): 622-627. DOI: 10.1089/dna.2016.336.
- [13] YANG M, LIU L, XIE M, et al. Poly-ADP-ribosylation of HMGB1 regulates TNFSF10/TRAIL resistance through autophagy[J/OL]. *Autophagy*, 2015, 11(2): 214-224[2017-09-20]. <http://www.tandfonline.com/doi/ref/10.4161/15548627.2014.994400>. DOI: 10.4161/15548627.2014.994400.
- [14] LUO J, CHEN J, HE L. Mir-129-5p attenuates irradiation-induced autophagy and decreases radioresistance of breast cancer cells by targeting HMGB1[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 4122-4129 [2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4700864/>. DOI: 10.12659/MSM.896661.
- [15] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017年版)[J/OL]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(9): 695-760 [2017-09-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1727.R.20170928.1039.004.html>.
- [16] MA Z, CAI H, ZHANG Y, et al. MiR-129-5p inhibits non-small cell lung cancer cell stemness and chemoresistance through targeting DLK1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2): 309-316. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.06.041.
- [17] LIU K, HUANG J, NI J, et al. MALAT1 promotes osteosarcoma development by regulation of HMGB1 via miR-142-3p and miR-129-5p[J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(6): 578-587. DOI: 10.1080/15384101.2017.1288324.
- [18] SRUMM S, MEYER A, LINDNER M, et al. Paclitaxel treatment of breast cancer cell lines modulates Fas/FasL ligand expression and induces apoptosis which can be inhibited the CD40 receptor[J]. *Oncology*, 2004, 66(2): 101-111. DOI:10.1159/000077435.
- [19] SALAH-ELDIN A E, INOUE S, TSUKAMOTO S, et al. An association of Bcl-2 phosphorylation and Bax localization with their functions after hyperthermia and paclitaxel treatment[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(1): 53-60. DOI:10.1002/ijc.10782.
- [20] BREZNICEANU M V K, BOSSE S, SOLBACH C, et al. HMGB1 inhibits cell death in yeast and mammalian cells and is abundantly expressed in human breast carcinoma[J]. *FASEB J*, 2003, 17(10): 1295-1297. DOI: 10.1096/fj.02-0621fj.
- [21] YU Y, XIE M, HE Y L, et al. Role of high mobility group box 1 in adriamycin-induced apoptosis in leukemia K562 cells[J]. *Chin J Cancer*, 2008, 27(9):929-933.
- [22] HUANG J, LIU K, SONG D, et al. Krüppel-like factor 4 promotes high-mobility group box 1-induced chemotherapy resistance in osteosarcoma cells[J/OL]. *Cancer Sci*, 2016, 107(3): 242-249[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4814257/>. DOI: 10.1111/cas.12864.

[收稿日期] 2017-09-18 [修回日期] 2017-11-10

[本文编辑] 党瑞山

欢迎订阅《中国肿瘤生物治疗杂志》