

miR-130a 对卵巢癌 A2780 细胞顺铂耐药性的影响及其机制的研究*

李宁蔚, 王红静[△], 杨凌云, 贾西彪, 陈 岑, 王 雪

四川大学华西第二医院 妇产科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨 miR-130a 表达的改变对卵巢癌 A2780 细胞(包括顺铂敏感细胞株 A2780s 和耐药株 A2780/DDP)顺铂耐药性的影响及其机制。**方法** 将 A2780s、A2780/DDP 细胞各分为 4 组,分别予以单纯脂质体处理、转染阴性对照小 RNA、miR-130a 模拟物(可使 miR-130a 表达增加)、miR-130a 抑制物(降低 miR-130a 表达)处理,MTS 法检测各组细胞增殖情况和对顺铂的耐药性,RT-PCR、Western blot 法检测未处理和处理后细胞多耐药基因 1(MDR1)、抑癌基因(PTEN) mRNA 和蛋白的表达。**结果** A2780/DDP 细胞 MDR1 mRNA 和 MDR1 的表达产物 P-糖蛋白(P-gp)的表达高于 A2780s 细胞($P<0.05$),而 PTEN mRNA 及蛋白的表达在两者间差异无统计学意义。上调 miR-130a 的表达对 A2780s 和 A2780/DDP 细胞的增殖无直接影响,但能增强其对顺铂的耐药性,且提高 MDR1 mRNA 和 P-gp 表达水平;下调 miR-130a 的表达,同样不影响细胞的增殖,但增强其对顺铂的敏感性,并可降低 MDR1 mRNA 和 P-gp 的表达,提高 PTEN 蛋白的表达。**结论** miR-130a 抑制物通过上调 PTEN 蛋白和下调 P-gp 的表达来逆转卵巢癌 A2780 细胞系对顺铂的耐药性。miR-130a 有望成为耐药性卵巢癌基因治疗的新靶点。

【关键词】 卵巢癌 顺铂耐药 miR-130a 抑癌基因(PTEN) 多耐药基因 1(MDR1) P-糖蛋白(P-gp)

Regulatory Effects and Associated Mechanisms of miR-130a Molecules on Cisplatin Resistance in Ovarian Cancer A2780

Cell Lines LI Ning-wei, WANG Hong-jing[△], YANG Ling-yun, JIA Xi-biao, CHEN Cen, WANG Xue.

Department of Obstetrics and Gynecology, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: whjcdx@163.com

【Abstract】 Objective To determine the regulatory effects and associated mechanisms of miR-130a on cisplatin resistance in ovarian cancer A2780 cell lines (including cisplatin sensitive A2780s and its resistant A2780/DDP cells). **Methods** A2780s and A2780/DDP cells were divided into four groups, and treated with lipo2000 (Lip), miR-negative (miR-NC) control, miR-130a-mimics (miR-130a-M increasing the expression of miR-130a and the agent), and miR-130a-inhibitor (miR-130a-I downregulating miR-130a expression), respectively. The proliferation of cells and their sensitivity to cisplatin were detected by MTT assay. RT-PCR and western blot were performed to examine the levels of MDR1, PTEN mRNA and proteins. **Results** The expressions of MDR1 mRNA and P-gp in the A2780/DDP cells were significantly higher than those in the A2780s cells. However, no differences in the expressions of PTEN mRNA and proteins were detected between the two cell lines. Over-expressions of miR-130a had no effect on cell proliferation, but increased the resistance of the cells to cisplatin and up-regulated the expressions of MDR1 mRNA and P-gp in both cell lines. Down-regulated miR-130a did not affect cell proliferations, but enhanced the sensitivity of the cells to cisplatin, inhibited the expressions of MDR1 mRNA and P-gp and increased the expression of PTEN proteins. **Conclusion** MiR-130a expression may be associated with cisplatin resistance of ovarian cancer cells. MiR-130a inhibitor can reverse the cisplatin resistance by up-regulating the expression of PTEN proteins and down-regulating P-gp in A2780 cell lines. MiR-130 may become a new potential target of genetic therapy for cisplatin-resistant ovarian cancers.

【Key words】 Ovarian cancer Cisplatin resistance miR-130a PTEN MDR1 P-gp

* 四川省科技计划项目(No. 2012SZ0022)、长江学者和创新团队发展计划(No. IRT0935)资助

△ 通讯作者, E-mail: whjcdx@163.com

卵巢癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,其发病隐匿,超过 70% 患者在首诊时已属中晚期,标准的治疗方案为彻底的卵巢癌细胞减灭术及术后以铂类为基础的辅助化疗。铂类联合紫杉醇作为晚期卵巢癌

术后一线化疗的首选,其临床缓解率 $>80\%$,完全缓解率达 $40\%\sim 60\%$ ^[1]。但由于化疗耐药性的产生,半数以上患者在常规治疗后仍然出现复发和转移,5年生存率低于 30% ^[2]。因此,我们需要寻找有效的干预方法增加化疗敏感性,改善患者的长期生存率。微小RNA(miRNA)是一组非编码小RNA,它通过降解mRNA或抑制蛋白质而调控基因表达,参与个体发育、细胞分化、凋亡及肿瘤形成等多种生理或病理过程。越来越多的研究显示miRNA也参与调节肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。在本课题组前期研究^[3,4]中,我们通过基因芯片技术和荧光定量PCR比较了卵巢癌顺铂敏感株(A2780s)和耐药株(A2780/DDP)miRNA表达的差异,结果显示miR-130a在卵巢癌A2780/DDP细胞株中异常高表达,可能与卵巢癌顺铂耐药性密切相关。本实验用miR-130a模拟物(miR-130a-M,可使miR-130a表达增加)及抑制物(miR-130a-I,使miR-130a表达抑制)转染卵巢癌A2780s和A2780/DDP细胞,观察改变miR-130a的表达量能否改变卵巢癌细胞对顺铂的敏感性,并探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要试剂

A2780s细胞株(四川大学华西妇幼研究院妇科肿瘤实验室保种),A2780/DDP细胞株为前期实验以A2780s为亲本细胞采用浓度递增法构建的顺铂耐药株。miR-130a-M、miR-130a-I、miR阴性对照物(miR-NC)、Cy3荧光标记对照小RNA购于广州锐博生物公司;多耐药基因1(MDR1)、抑癌基因(PTEN)、管家基因甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)PCR引物由上海生工合成;MTS细胞活力增殖及毒性检测试剂盒购于Promega公司;顺铂购于江苏豪森;Trizol试剂、脂质体(lipofectamin2000,Lip)为Invitrogen公司产品;逆转试剂盒、PCR试剂盒购自TakaRa公司;MDR1的表达产物P-糖蛋白(P-gp)单克隆抗体购自Calbiochem公司,PTEN单克隆抗体购自Santa Cruz公司,GAPDH抗体和HRP标记鼠二抗购自北京中衫金桥公司。

1.2 细胞分组

A2780s和A2780/DDP细胞复苏培养,将细胞分别分为Lip组(予以单纯Lip转染)、miR-NC组(终浓度 100 nmol/L miR-NC转染)、miR-130a-M组(终浓度 100 nmol/L miR-130a-M转染)、miR-

130a-I组(终浓度 100 nmol/L miR-130a-I转染)。

1.3 瞬时转染效率的检测

将生长良好、处于对数生长期的A2780s和A2780/DDP细胞制成悬液,以每孔 $400\text{ }\mu\text{L}$ 、 1×10^5 /孔的浓度接种于24孔板中。24 h后细胞生长面积约为 $40\%\sim 50\%$,每孔换为无血清培养基 $400\text{ }\mu\text{L}$,饥饿细胞4 h,按说明书配制Cy3荧光标记小RNA-Lip($1\text{ }\mu\text{L}$)混合液 $100\text{ }\mu\text{L}$,分别加入孔中,此时荧光标记小RNA终浓度为 50 nmol/L ,4 h后换液,加入新鲜培养基。24 h后于荧光显微镜下观察,计数荧光细胞个数,计算转染效率。转染效率=荧光视野中细胞个数/正常视野中细胞个数 $\times 100\%$ 。重复3次,取平均值。

1.4 MTS法检测各组细胞增殖及miR-130a对卵巢癌细胞顺铂耐药性的影响

收集A2780s和A2780/DDP细胞,制成细胞悬液,分别按 $3\,000$ /孔, $5\,000$ /孔细胞、体积 $100\text{ }\mu\text{L}$,接种于96孔板中。24 h后,分别按1.2分组转染细胞,4 h后换液。在转染后24 h、48 h两个时间点,检测细胞增殖情况,向每孔加入MTS溶液 $20\text{ }\mu\text{L}$,继续培养3 h后,在Bio-Rad酶标仪上选择 490 nm 波长测定各孔吸光度(A)值,比较各组细胞增殖活性。实验重复3次。相同方法检测转染试剂对细胞顺铂耐药性的影响,转染24 h后每孔内更换为含不同浓度顺铂的培养基,A2780s细胞的顺铂浓度梯度为 0 、 0.2 、 0.4 、 0.8 、 1.6 、 3.2 、 $6.4\text{ }\mu\text{g/mL}$,A2780/DDP的顺铂浓度梯度为 0 、 2 、 4 、 8 、 16 、 32 、 $64\text{ }\mu\text{g/mL}$,每个浓度设5个复孔,48 h后MTS法检测各组细胞生长增殖情况。通过计算各组细胞增殖抑制及半数抑制浓度(IC_{50}),观察miR-130a对卵巢癌细胞顺铂耐药性的影响。

1.5 细胞总RNA和总蛋白的提取

将A2780s和A2780/DDP细胞以 2×10^5 /孔接种于6孔板中,24 h后细胞生长面积约为 $40\%\sim 50\%$,分别按1.2分组转染细胞,48 h后,提取各处理组细胞的总RNA和总蛋白。

1.6 RT-PCR检测MDR1、PTEN mRNA的表达

用紫外分光光度计检测总RNA浓度和纯度, 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测总RNA质量。按照TaKaRa逆转试剂盒说明合成cDNA第一链,再进行PCR扩增。PTEN引物上游: $5'$ -AAAGGGACGAAGTGGTGTAATG- $3'$,下游: $5'$ -TGGTCCTTACTTCCCCATAGAA- $3'$,扩增片段 101 bp ;MDR1引物上游: $5'$ -ATAATGCGACAGGAGATAGGC- $3'$,

下游：5'-ATGTTGCCATTGACTGAAAGAA-3'，扩增片段 136 bp；*GAPDH* 引物上游：5'-AGAA GGCTGGGGCTCATTTG-3'，下游：5'-AGGGGC CATCCACAGTCTTC-3'，扩增片段为 258 bp。反应参数为：94 ℃ 预变性 5 min；94 ℃ 30 s，56 ℃ 30 s（3 对引物退火时间相同），72 ℃ 60 s，35 个循环；72 ℃ 延伸 5 min。取 PCR 产物 4 μL 于 20 g/L 琼脂糖凝胶中电泳，采用凝胶成像分析系统对条带进行扫描，imageJ 软件读取条带的灰度值，以 *GAPDH* 为内参，分析各基因 mRNA 的相对表达量。

1.7 Western blot 检测 P-gp、PTEN 蛋白的表达

BCA 法定量蛋白样品，100 ℃、10 min 变性。将 20 μg 蛋白样品加在 10% 的 SDS-PAGE 胶电泳，

电转至 PVDF 膜，5% 脱脂奶（TBST）4 ℃ 封闭过夜，一抗（P-gp、PTEN）常温孵育 2 h、二抗常温孵育 1 h，ECL 发光液于暗室中显影，imageJ 软件读取条带的灰度值，以 *GAPDH* 为内参，分析各基因蛋白的相对表达量。

1.8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间均数比较采用方差分析，两两比较采用 *t* 检验， $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 转染效率

见图 1。A2780s、A2780/DDP 细胞的平均转染效率分别为 85%、93%。

2.2 miR-130a 对卵巢癌细胞生长的影响

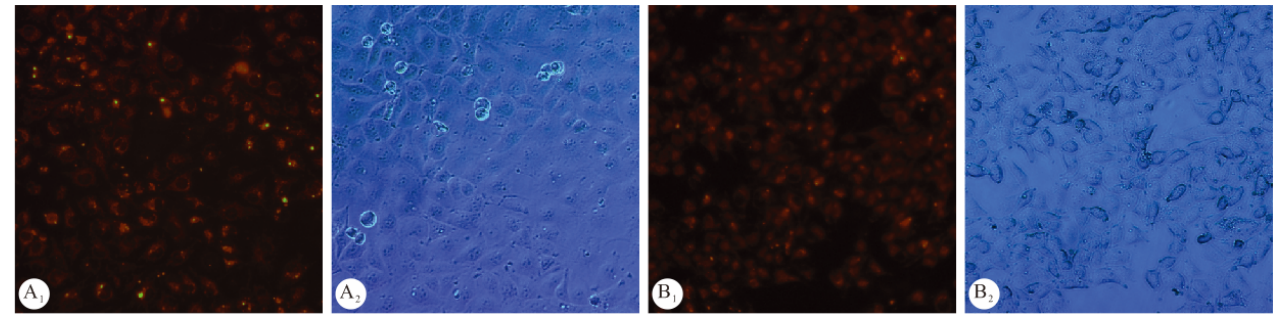


图 1 荧光标记小 RNA 转染 A2780s 和 A2780/DDP 细胞。×100

Fig 1 A2780s and A2780/DDP cells transfected with cy3-fluorescein labeled control miRNA. ×100

A: A2780s cells (A₁, fluorescent light, A₂, normolight); B: A2780/DDP cells (B₁, fluorescent light, B₂, normolight)

见表 1，结果显示：转染 24 h 和 48 h 后，对照组之间（Lip 组、miR-NC 组）增殖活性的差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），实验组（miR-130a-M 和 miR-130a-I 组）与对照组相比，差异也无统计学意义（ $P>0.05$ ）。

2.3 miR-130a 对卵巢癌细胞顺铂耐药性的影响

见图 2。结果显示：A2780s、A2780/DDP 细胞在不同浓度顺铂作用下，两对照组之间细胞增殖抑制率差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）；在 miR-130a-M 组中，当 A2780s 细胞在顺铂浓度 $\geq 1.6 \mu\text{g/mL}$ 、A2780/DDP 为 2、8、16、64 μg/mL 时，与对照组相比，细胞抑制率降低（ $P<0.05$ ）；在 miR-130a-I 中，

当 A2780s 细胞在顺铂浓度 $\geq 0.8 \mu\text{g/mL}$ ，A2780/DDP $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ 时，抑制率明显升高（ $P<0.05$ ）。转染 miR-130a-M 后，A2780s、A2780/DDP 细胞对顺铂的 IC₅₀ 值明显高于对照组（ $P<0.05$ ）；转染 miR-130a-I 后，它们的 IC₅₀ 值明显低于对照组（ $P<0.05$ ），见表 2。

2.4 PTEN、MDR1 mRNA 和 PTEN、P-gp 蛋白在 A2780s 和 A2780/DDP 中的表达

PTEN mRNA 和蛋白的表达水平在 A2780s、A2780/DDP 细胞中差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），MDR1 mRNA 和其表达产物 P-gp 蛋白在 A2780/DDP 细胞中高表达，分别为 A2780s 细胞表达水平

表 1 转染后不同时间点各组细胞的增殖活性(A₄₉₀值，n=5)

Table 1 The proliferation activity (A₄₉₀ value) of cells after transfection at different time points (n=5)

Group	A2780s		A2780/DDP	
	24 h	48 h	24 h	48 h
Lip	0.761±0.040	1.814±0.084	1.692±0.048	2.433±0.008
miR-NC	0.759±0.040	1.777±0.084	1.711±0.053	2.426±0.018
miR-130a-M	0.782±0.025	1.798±0.053	1.694±0.045	2.486±0.033
miR-130a-I	0.770±0.064	1.896±0.119	1.744±0.011	2.550±0.092

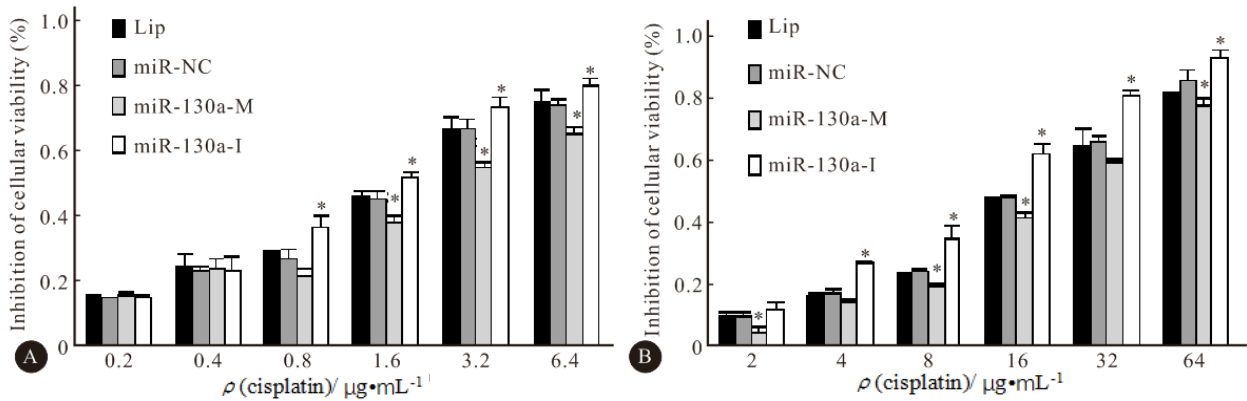


图 2 miR-130a 调节 A2780s,A2780/DDP 细胞对顺铂的敏感性

Fig 2 The regulative effect of miR-130a on cisplatin sensitivity of A2780s, A2780s/DDP cells

A: A2780s cells; B: A2780/DDP cells. * $P<0.05$, vs. Lip and miR-NC groups

表 2 处理后各组细胞的 IC₅₀(μg/mL)值

Table 2 IC₅₀(μg/mL) of cells in each group

Group	n	A2780s	A2780/DDP
Lip	5	2.31±0.15	19.30±1.55
miR-NC	5	2.45±0.35	20.92±1.27
miR-130a-M	5	4.14±0.25*	23.70±0.67*
miR-130a-I	5	1.57±0.07*	13.10±1.62*

* $P<0.05$, vs. Lip and miR-NC groups

($P<0.05$);miR-130a-M 转染后,MDR1 mRNA

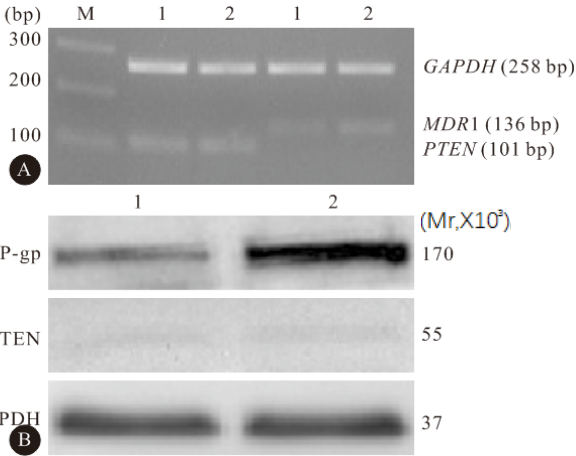


图 3 PTEN 和MDR1 基因和 PTEN、P-gp 蛋白在 A2780s 和 A2780/DDP 中的表达

Fig 3 The expression of PTEN, MDR1 mRNA and PTEN, P-gp protein in A2780s and A2780/DDP cells

A: PTEN and MDR1 mRNA; B: PTEN and P-gp protein; M: Marker; 1,2: A2780s and A2780/DDP

表 3 各组细胞 PTEN、MDR1 mRNA 和 PTEN、Pgp 蛋白相对表达量 (n=5)

Table 3 Relative expression of PTEN,MDR1 mRNA and PTEN,Pgp in cells of each groups (n=5)

	mRNA		Protein	
	PTEN	MDR1	PTEN	Pgp
A2780s				
Lip	1±0.06	1±0.03	1±0.09	1±0.06
miR-130a-M	0.90±2.72	1.99±0.16**	0.79±0.05	1.34±0.03**
miR-130a-I	0.86±0.09	0.55±0.05**	3.21±0.09**	0.90±0.02*
miR-NC	0.90±0.11	1.09±0.06	0.84±0.05	1.03±0.08
A2780/DDP				
Lip	1±0.03	1±0.07	1±0.05	1±0.00
miR-130a-M	0.86±0.09	1.44±0.05**	1.08±0.04	1.19±0.02**
miR-130a-I	0.85±0.11	0.43±0.05**	2.43±0.07*	0.18±0.01**
miR-NC	0.93±0.11	0.80±0.01	0.95±0.02	1.08±0.00

* $P<0.05$, ** <0.01 , vs. Lip and miR-NC groups

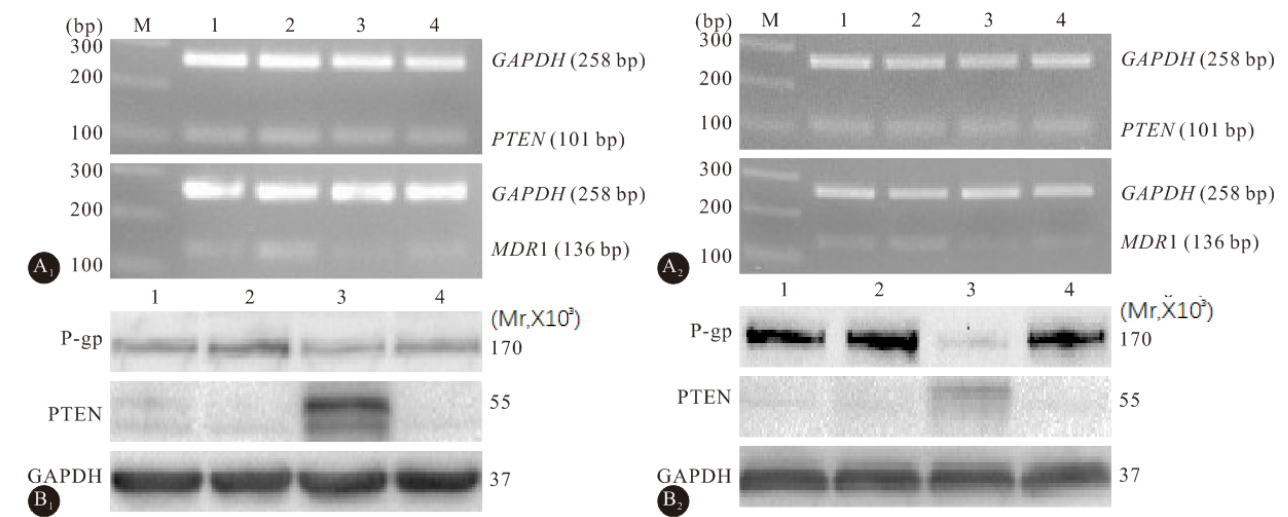


图 4 转染后各组细胞 *PTEN*、*MDR1* mRNA (A₁、A₂) 和 *PTEN*、P-gp 蛋白 (B₁、B₂) 的表达

Fig 4 The expression of *PTEN*, *MDR1* mRNA (A₁, A₂) and *PTEN*, P-gp protein (B₁, B₂) in transfected cells

A₁, A₂: *PTEN*, *MDR1* mRNA expression analyzed by RT-PCR in A2780s and A2780/DDP transfected cells; B₁, B₂: *PTEN*, *MDR1* protein expression analyzed by Western blot in A2780s and A2780/DDP transfected cells; M: Marker; 1-4: Lipo2000, miR-130a-mimics, miR-130a-inhibitor and miR-negative control group

和其蛋白 Pgp 的表达在 A2780s、A2780/DDP 细胞中高于对照组 ($P<0.01$)。

3 讨论

尽管顺铂是治疗妇科恶性肿瘤最有效的化疗药物之一,但大部分患者常规治疗(肿瘤减灭术+术后以顺铂为基础的辅助化疗)后仍出现复发和转移。卵巢癌细胞对顺铂耐药是化疗失败的主要原因,是目前亟待解决的难题。miRNA 广泛参与各种生命过程的调节,包括肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,Moitra 等^[5]的研究显示 miR-382 等 6 个 miRNA 在 MCF-7 乳腺癌依托泊苷耐药株中异常升高或降低,它们共同参与了耐药性的形成;Kurokawa 等^[6]研究显示,miR-19b 在结肠癌耐 5-氟尿嘧啶细胞株中异常升高,可能通过靶作用于人肺氨酸/谷氨酰胺富含性剪接因子(SFPQ)和 v-Myb 鸟类成髓细胞血症病毒致癌基因同系物样 2(MYBL2)基因来调节细胞的周期。

在前期研究^[3]中,我们成功构建了卵巢癌顺铂耐药株(SKOV3/DDP、A2780/DDP),发现 miR-130a 表达水平在耐药细胞株中一致性升高。在此基础上,本实验进一步探讨 miR-130a 的功能及其机制。MTS 结果显示,上调或下调 miR-130a 的表达水平,对 A2780s 和 A2780/DDP 的细胞增殖无影响;而与顺铂联合应用时,能明显改变它们对顺铂的敏感性,表现为 miR-130a-M 使 A2780s 和 A2780/DDP 细

DDP 细胞对顺铂的敏感性降低,miR-130a-I 增加其敏感性。根据这一结果和 miR-130a 在卵巢癌顺铂耐药细胞中高表达,我们推测 miR-130a 表达的改变是耐药形成的机制之一,且 miR-130a 表达水平的高低与卵巢癌细胞对顺铂的耐药程度相关。近年来关于 miR-130a 的研究,也呈现出相同趋势,Xu 等^[7]发现 miR-130a 在接受顺铂化疗的肝癌患者中显著升高,它下调抑癌基因 *RUNX3* 的表达,从而增强肝癌细胞对顺铂的耐药性;Cui 等^[8]证实 miR-130a 在乳腺癌 MCF-7 阿霉素耐药细胞株中表达上调。

抑癌基因 *PTEN* 位于染色体 10q23.3,编码具有酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸磷酸残基去磷酸作用的双重特异性磷酸酶,通过磷酸酶活性阻断细胞因子介导的信号传导通路,从而抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移,促进细胞凋亡^[9]。在许多恶性肿瘤中如乳腺癌、直肠癌、卵巢癌、白血病等,*PTEN* 基因和蛋白有不同程度的低表达和表达缺失^[9,10]。本实验中,*PTEN* 蛋白在 A2780 顺铂敏感株和耐药株中低表达,且在两者中差异无统计学意义,表明卵巢癌细胞获得性耐药的产生不是由 *PTEN* 基因表达改变所引起的。研究^[11-13]已证实 *PTEN* 是多个 miRNA 分子的靶基因,包括 miR-21、miR-214、miR-221 和 miR-222 等,它们与 *PTEN* mRNA 3'-UTR 完全或不完全互补结合来抑制 *PTEN* 基因的表达。本实验显示,下调 A2780s 和 A2780/DDP 细

胞中 miR-130a 的表达,对 *PTEN* mRNA 的表达无明显影响,但能显著提高 *PTEN* 蛋白的表达水平,说明 miR-130a 不参与 *PTEN* 转录水平的调控,而是抑制转录后的翻译水平。由此推测,*PTEN* 可能为 miR-130a 的靶基因之一,miR-130a 抑制物通过上调 *PTEN* 蛋白来逆转卵巢癌细胞对顺铂的耐药性。

P-gp 属于 ABC 型膜载体蛋白的一种,它可将多种抗肿瘤药物泵出细胞外,降低细胞内有效药物浓度,使肿瘤细胞逃逸药物的毒杀作用^[14]。*MDR1* mRNA 和 P-gp 在 A2780s 细胞中微量表达,而在 A2780/DDP 细胞中其表达水平提高到 2.33 倍和 1.88 倍。由此可见,*MDR1* 基因表达增加是卵巢癌细胞获得性耐药的重要机制之一。进一步的机制研究发现,miR-130a-M 转染 A2780s 和 A2780/DDP 细胞后 *MDR1* mRNA 和 P-gp 表达上调,细胞耐药性增加;miR-130a-I 的作用则相反。表明在卵巢癌 A2780 细胞株中 miR-130a 在转录水平调控 *MDR1* 的表达,且 P-gp 含量随 miR-130a 的表达水平升高而增加。

综上,miR-130a 抑制物通过上调 *PTEN* 蛋白的表达和下调 P-gp 的表达逆转卵巢癌 A2780 细胞系对顺铂的耐药性。miR-130a 有望成为耐药性卵巢癌基因治疗的新靶点,但是 miR-130a 不是卵巢癌耐药细胞株中唯一异常表达的 miRNA,我们尚需对基因芯片中发现的其他异常 miRNA 进行功能和机制的研究,找出它们之间的联系,进一步为耐药性卵巢癌基因治疗提供理论支持。

参 考 文 献

- Kim A, Ueda Y, Naka T, *et al.* Therapeutic strategies in epithelial ovarian cancer. *J Exp Clin Cancer Res*,2012;31:14.
- Bast RC Jr, Mills GB. Personalizing therapy for ovarian cancer:BRCAness and beyond. *J Clin Oncol*,2010;28(22):3545-3548.
- 杨凌云,王红静,贾西彪等. miR-130a 在卵巢癌顺铂耐药细胞株中的表达及其意义. *四川大学学报(医学版)*,2012;43(1):60-64.
- Yang LY, Wang HJ, Li NW, *et al.* Altered microRNA expression in cisplatin-resistant ovarian cancer cells and upregulation of miR-130a associated with MDR1/P-glycoprotein-mediated drug resistance. *Oncol Rep*,2012;28(2):592-600.
- Moitra K, Im K, Limpert K, *et al.* Differential gene and microRNA expression between etoposide resistant and etoposide sensitive MCF7 breast cancer cell lines. *PLoS One*,2012;7(9):e45268. doi: 10.1371/journal.pone.0045268. Epub 2012 Sep 18.
- Kurokawa K, Tanahashi T, Iima T, *et al.* Role of miR-19b and its target mRNAs in 5-fluorouracil resistance in colon cancer cells. *J Gastroenterol*,2012;47(8):883-895.
- Xu N, Shen C, Luo Y, *et al.* Upregulated miR-130a increases drug resistance by regulating RUNX3 and Wnt signaling in cisplatin-treated HCC cell. *Biochem Biophys Res Commun*,2012;425(2):468-472.
- 崔秀英,郭运杰,姚和瑞. 耐药乳腺癌细胞株 MCF-7/ADR 中 microRNA 的分析. *南方医科大学学报*,2008;28(10):1813-1815.
- Carracedo A, Alimonti A, Pandolfi PP. PTEN level in tumor suppression:how much is too little? *Cancer Res*,2011;71(3):629-633.
- Mao C, Zhou J, Yang Z, *et al.* KRAS, BRAF and PIK3CA mutations and the loss of PTEN expression in Chinese patients with colorectal cancer. *PLoS One*,2012;7(5):e36653. doi: 10.1371/journal.pone.0036653. Epub 2012 May 7.
- Buscaglia LE, Li Y. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. *Chin J Cancer*,2011;30(6):371-380.
- Jindra PT, Bagley J, Godwin JG, *et al.* Costimulation-dependent expression of microRNA-214 increases the ability of T cells to proliferate by targeting Pten. *J Immunol*,2010;185(2):990-997.
- Chun-Zhi Z, Lei H, An-Ling Z, *et al.* MicroRNA-221 and microRNA-222 regulate gastric carcinoma cell proliferation and radioresistance by targeting PTEN. *BMC Cancer*,2010;10:367. doi:10.1186/1471-2407-10-367.
- Leonard GD, Fojo T, Bates SE. The role of ABC transporters in clinical practice. *Oncologist*,2003;8(5):411-424.

(2013-04-07 收稿,2013-07-03 修回)

编辑 沈 进