

• 实验研究 •

miRNA-125b-1 对乳腺癌 SKBR-3 细胞放射敏感性的影响

胡斌 吴爱国 李学孝 纪术峰 王梦川 吴凯 邵国利

【摘要】 目的 探讨 miRNA-125b-1 对乳腺癌 SKBR-3 细胞放射敏感性的影响,及其对靶基因 HER-2 蛋白表达的影响。**方法** 合成 miRNA-125b-1 并通过 lipofectamine™ 2000 转染 SKBR-3 细胞,分别用逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)和 Western blot 法检测 HER-2 mRNA 和蛋白质表达水平的变化;流式细胞仪检测细胞周期;四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)法检测细胞增殖抑制率;经不同剂量 X 线照射后,平板克隆形成实验计算细胞存活率,用单击多靶数学模型进行曲线拟合作图,求曲线参数 D_0 、 D_q 和 N 值,比较细胞放射敏感性的变化。RT-PCR 和 Western blot 定量结果的组间比较采用单因素方差分析,细胞周期及细胞增殖实验结果的组间比较采用重复测量方差分析。**结果** miRNA-125b-1 转染后的 SKBR-3 细胞中 HER-2 mRNA ($F=447.78$, $P=0.00$) 和蛋白质水平 ($F=10.07$, $P=0.01$) 显著下降;转染后的 SKBR-3 细胞出现了 G_2M 期阻滞;miRNA-125b-1 组细胞增殖抑制率明显高于阴性对照组 ($F=163.28$, $P=0.00$);曲线拟合后显示,转染后的细胞 ($D_0=1.87$, $D_q=2.68$, $N=4.21$) 与对照组 ($D_0=2.51$, $D_q=4.10$, $N=5.11$) 相比 D_0 、 D_q 和 N 值均下降 ($SER=1.34$, $P<0.05$),提示细胞放射敏感性增加。**结论** miRNA-125b-1 使乳腺癌 SKBR-3 细胞的放射敏感性增加,可为 HER-2 阳性的乳腺癌提供新的治疗方法。

【关键词】 乳腺肿瘤;放射疗法;miRNA-125b-1;微小 RNA;人表皮生长因子受体 2

【中图法分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A

Effect of miRNA-125b-1 on radiosensitivity of SKBR-3 breast cancer cells HU Bin, WU Ai-guo, LI Xue-xiao, JI Shu-feng, WANG Meng-chuan, WU Kai, SHAO Guo-li. Department of General Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China

Corresponding author: Wu Ai-guo, E-mail: wagtyz@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of miRNA-125b-1 on the radiosensitivity of SKBR-3 breast cancer cells, and its influence on HER-2 protein expression. **Methods** A recombinant miRNA-125b-1 was introduced by lipofectamine™ 2000 mediated gene transfection into cultured SKBR-3 cells. The transfected cell clones were collected and analyzed by RT-PCR to determine the level of HER-2 mRNA. The protein level

基金项目:广东省科技计划基金资助项目(2008B030301345)

作者单位:510282 广州,南方医科大学珠江医院普外科

通信作者:吴爱国,020-61643215, E-mail: wagtyz@sina.com

of HER-2 was detected by Western blot. The cell cycle phases were determined by flow cytometry, and the cell proliferation inhibitory rate was measured using MTT assay. The surviving fraction of the cells was examined by colony forming assay after the irradiation of different doses of X-ray. A single-hit, multi-target mathematic model was established to estimate the values of D_0 , D_q and N . The radiosensitivity of cells was compared accordingly. One-way ANOVA was used for comparison of the results by RT-PCR and Western blot between groups, and ANOVA of repeated measurement data was carried out for comparison of cell cycle phases and cell proliferation between groups. **Results** In the experiment group, both the mRNA and protein expression levels of HER-2 gene in the transfected SKBR-3 cells were reduced significantly (all $P < 0.05$). Most of the transfected SKBR-3 cells were blocked in G_2M phase of cell cycle. The cell proliferation inhibitory rate was obviously higher than that in the negative control group ($P < 0.05$). The values of D_0 , D_q and N were obtained through the cell survival curves. The values of transfected SKBR-3 cells ($D_0 = 1.87, D_q = 2.68, N = 4.21$) were significantly lower than those in the control group ($D_0 = 2.51, D_q = 4.10, N = 5.11; SER = 1.34, P < 0.05$), which demonstrated that the radiosensitivity of these cells was enhanced. **Conclusion** miRNA-125b-1 can markedly increase the radiosensitivity of SKBR-3 breast cancer cells, which inspires a new treatment for HER-2 positive breast cancer.

【Key words】 breast neoplasms; radiotherapy; miRNA-125b-1; microRNA; HER-2

miRNA-125b-1 是 microRNA 家族中的一员,与正常乳腺组织相比,在大多数乳腺癌细胞系中表达下降,推测其发挥抑癌作用^[1-3]。有关 miRNA-125b-1 对乳腺癌细胞放射敏感性的影响国内外罕见报道,目前 miRNA-125b-1 的作用机制尚未完全阐明。Scott 等^[4]发现人 miRNA-125b-1 的靶基因是 HER-2。乳腺癌细胞普遍存在 HER-2 表达异常。miRNA-125b-1 对乳腺癌 SKBR-3 细胞放射敏感性的影响是否也通过 HER-2 得以实现,值得研究。本实验旨在探讨 miRNA-125b-1 对乳腺癌细胞放射敏感性的影响,及其对 HER-2 蛋白表达的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

人乳腺癌细胞系 SKBR-3(高表达 HER-2)购自中国科学院上海生命科学研究院;RPMI1640 培养基、胎牛血清及碘化丙啶(propidium iodide, PI)购自美国 Gibco 公司;四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)购自美国 Sigma 公司;脂质体(lipofectamineTM2000)、trizol RNA 分离试剂及逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;引物亦由该公司合成。引物系列:正义链为 5'-

CGCTTTGTGGTCATCCAGAATG-3', 反义链为 5'-TCGTGTTTCACTGGCAGTC-3'。小鼠抗人单克隆抗体及羊抗小鼠 IgG 为美国 Cell Signal 公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 miRNA-125b-1 的合成:根据基因数据库 GenBank 中报道的 miRNA-125b-1 基因核苷酸序列,最后设计出序列为 5'-UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA-3'(正义链)和 3'-ACAAGUUAGGGUCUCAGGGAUU-5'(反义链);阴性对照组为 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'(正义链)及 3'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-5'(反义链)。miRNA-125b-1 及阴性对照组均由上海吉玛制药技术有限公司合成,末端以绿色荧光蛋白标记,于-20℃避光保存。

1.2.2 细胞培养及分组:SKBR-3 细胞株在含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基,37℃,5% CO₂ 培养箱中培养;待细胞融合率达 70% 时进行瞬时转染。在 SKBR-3 细胞进入对数生长期后,用胰酶消化,计数;调整细胞数为 2×10^5 /ml 接种于 6 孔板,继续培养 24 h,约 70% 细胞融合时开始实验。实验分为 3 组:脂质体对照组(脂质体转染 SKBR-3 细胞株);阴性对照组(siRNA 转染 SKBR-3 细胞株);miRNA-125b-1 组(miRNA-125b-1 转染 SKBR-3 细胞株)。每组设 2 个复孔。细胞转染按 lipofectamine™2000 试剂盒说明书进行。CO₂ 培养箱中孵育 6 h 后除去复合物,更换培养基,继续培养 24 h。

1.2.3 荧光显微镜观察 miRNA-125b-1 转染率:为获得最高转染效率时 miRNA-125b-1 与脂质体的比例,将 SKBR-3 细胞接种于 24 孔板中,孵箱培养 24 h,约 70% 细胞融合时开始实验。设 2 个 miRNA-125b-1 浓度梯度,即 40、80 nmol/L,和 3 个脂质体用量梯度,即每孔 0.6、0.8、1.0 μl;转染 6 h 后换为含 10% 血清的 1640 完全培养基,荧光显微镜摄片,比较各组转染情况。在绿色荧光激发波长下 SKBR-3 细胞显示为绿色(图 1)。

1.2.4 RT-PCR 法检测细胞 HER-2 mRNA 的表达:按 trizol 试剂说明书步骤提取各组细胞的总 RNA;检测 RNA 质量及浓度后,按逆转录试剂盒说明合成 cDNA。取 2 μg 逆转录产物进行 PCR 扩增。反应条件:95℃变性 1 min;95℃ 1 min,64.2℃ 1 min,72℃ 1 min,共 30 个循环;72℃ 10 min。GAPDH 作为内参照,扩增产物以 17 g/L 琼脂糖凝胶电泳观察拍照,以 UVIKON 923 凝胶图像分析系统(UVIKON 公司,法国)扫描各电泳条带的灰度值。以 HER-2/GAPDH 的比值代表 HER-2 mRNA 的半定量水平。

1.2.5 Western blot 法检测 HER-2 蛋白的表达:3 组细胞分别培养 48 h 后,收集细胞, PBS 漂洗 3 次;使用 Western blot 裂解液裂解细胞,离心收集蛋白,二喹啉甲酸法检测蛋白浓度;常规十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis),封闭,加入抗体,漂洗,发光,X 线暗室曝

光、显影定影。以 BioRad 图像分析系统进行图像分析,用蛋白条带的平均光强度值表示 HER-2 蛋白表达的相对强度。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞周期:收集 3 组 SKBR-3 细胞 1×10^7 个,以离心半径 7.5 cm,1000 r/min 离心 5 min;细胞沉淀用 PBS 洗 1 次,分散成单细胞悬液后,加入 70% 冷乙醇 4 ℃ 固定过夜。以离心半径 7.5 cm,1200 r/min 离心 5 min,弃去上清液;用少量 PBS 重悬细胞,加入 PI,终质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$,混匀,4 ℃ 放置 1 h,用流式细胞仪分析细胞周期。

1.2.7 MTT 法观察 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞增殖的抑制情况:每孔取贴壁良好的细胞 50/ μl 培养基接种于 96 孔板,CO₂ 培养箱中培养 24 h,待细胞融合达到 70% 后,分组转染。继续培养 6 h 后,更换为含 10% 血清的 1640 完全培养基,继续培养 20、44、68 h;每孔加入 20 μl MTT 试剂(PBS 稀释为质量浓度 5 g/L),避光培养 4 h;每孔换为 150 μl DMSO,在摇床上摇动 15 min 后,用酶标仪检测各孔吸光度(optical density, OD)。计算抑制率。抑制率 = (1 - 实验组测定值/空白对照组测定值) $\times 100\%$ 。以时间为横轴,细胞生长抑制率为纵轴绘制细胞生长曲线。

1.2.8 放射线敏感性实验:取对数生长期细胞,每种细胞株均按不同浓度梯度(80、100、250、500 和 2000 个)分成 5 组接种于直径为 60 mm 的细胞培养皿内,每组 3 孔。待细胞完全贴壁后,采用直线加速器 6 MV X 线按不同剂量(2、4、6、8 Gy),源皮距 100 cm,剂量率 2 Gy/min 进行照射。照射后的细胞置于 37 ℃ 培养箱中继续培养 10 ~ 14 d 后弃去培养基;用 PBS 小心浸洗 2 次,1% 结晶紫染色 20 min,流水冲洗后晾干,计算克隆数(≥ 50 个细胞的细胞群视为 1 个克隆)。实验重复 3 次。

贴壁率(plating efficiency, PE) = 对照组集落数/细胞种植数 $\times 100\%$;

存活率(surviving fraction, SF) = 实验组集落数/(细胞种植数 \times 贴壁率) $\times 100\%$ 。

根据不同的放射剂量获得相应的一系列 SF,再用单击多靶数学模型(single-hit multi-target model)求出平均致死剂量(D_0)、准域剂量(D_q)和外推数(N)。用 GraphPad Prism 4.0 软件拟合细胞存活曲线。用放射增敏比(SER)作为放射敏感性的量化指标^[5]。SER = $D_0(\text{control})/D_0(\text{treated})$ 。单击多靶数学模型公式: $SF = 1 - (1 - e^{-kD})^N$; $SF = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^N$; ($D_0 = 1/k$)。

1.3 统计学处理

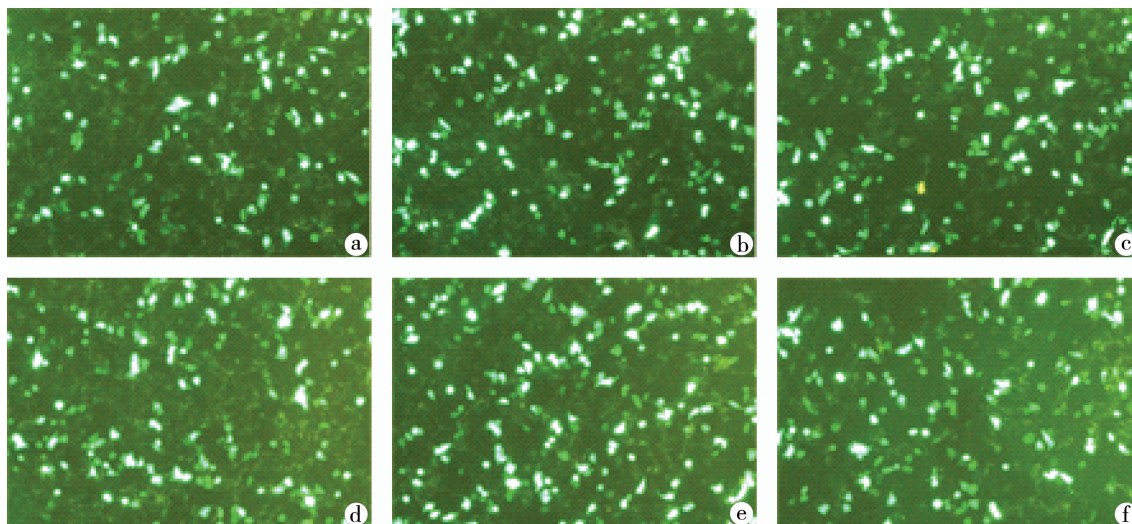
应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 Shapiro Wilk 法进行正态分布检验, $P > 0.05$ 为满足正态分布;使用 Leven' test 进行方差齐性检验, $P > 0.05$ 为满足方差齐性;在满足正态分布和方差齐性的

条件下进行方差分析。对细胞周期及细胞增殖实验结果使用 Mauchly's test of sphericity 进行球形检验, $P>0.05$ 满足球形假设检验, 并采用重复测量方差分析; RT-PCR 和 Western blot 定量结果采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-125b-1 的转染情况

miRNA-125b-1 转染浓度为 40 nmol/L 组与 80 nmol/L 组, 两组在脂质体为 0.6、0.8、1.0 μl 时的转染效率相近。SKBR-3 细胞在 miRNA-125b-1 转染浓度为 80 nmol/L, 脂质体为 0.8 μl 时转染效率较高(图 1), 说明 miRNA-125b-1 转染成功。



a: 转染浓度为 40 nmol/L, 脂质体为 0.6 μl ; b: 转染浓度为 40 nmol/L, 脂质体为 0.8 μl ; c: 转染浓度为 40 nmol/L, 脂质体为 1.0 μl ; d: 转染浓度为 80 nmol/L, 脂质体为 0.6 μl ; e: 转染浓度为 80 nmol/L, 脂质体为 0.8 μl ; f: 转染浓度为 80 nmol/L, 脂质体为 1.0 μl 。

图 1 miRNA-125b-1 转染 SKBR-3 细胞后绿色荧光蛋白的表达($\times 100$)

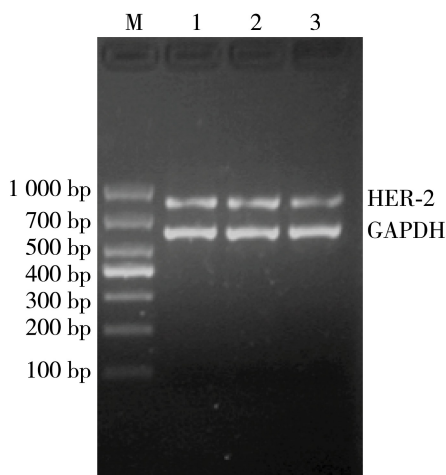
2.2 转染 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞 HER-2 基因 mRNA 的影响

脂质体对照组、阴性对照组和 miRNA-125b-1 组均成功扩增出相应目的基因的 PCR 产物, 经条带与分子质量标志(marker)比较, 并通过测序证实与扩增的目的片段大小完全吻合。与统一标本的 GAPDH 条带的灰度值经校正后进行比较, miRNA-125b-1 组 HER-2 mRNA 的表达量比空白对照组和阴性对照组均降低($P<0.05$)。脂质体对照组与阴性对照组 HER-2 mRNA 的表达量差异无统计学意义($P=0.22$)(表 1, 图 2)。

表 1 转染 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞 HER-2 基因 mRNA 的影响

组别	HER-2 mRNA 表达量	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
脂质体对照组	0.82±0.00 ^a	447.78	0.00
阴性对照组	0.81±0.00 ^b		
miRNA-125b-1 组	0.66±0.01		

a: $P < 0.05$, 与阴性对照组和脂质体对照组比较; b: $P > 0.05$, 与脂质体对照组比较



M: DNA 标记条带; 1: 脂质体对照组; 2: 阴性对照组; 3: miRNA-125b-1 组

图 2 各组 SKBR-3 细胞 HER-2 mRNA 的表达情况

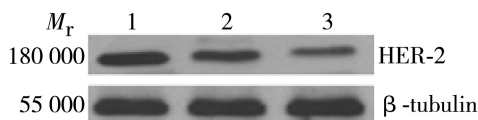
2.3 转染 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞 HER-2 基因蛋白表达的影响

Western blot 结果显示转染 miRNA-125b-1 后 HER-2 蛋白表达水平较脂质体对照组、阴性对照组显著下降 ($P < 0.05$), 而阴性对照组与脂质体对照组的蛋白表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 2, 图 3)。

表 2 转染 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞 HER-2 基因蛋白的影响

组别	HER-2 mRNA 表达量	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
脂质体对照组	0.79±0.05 ^a	10.07	0.01
阴性对照组	0.59±0.13 ^b		
miRNA-125b-1 组	0.36±0.15		

a: $P < 0.05$, 与阴性对照组和脂质体对照组比较; b: $P > 0.05$, 与脂质体对照组比较



1: 脂质体对照组; 2: 阴性对照组; 3: miRNA-125b-1 组

图 3 miRNA-125b-1 对乳腺癌 SKBR-3 细胞 HER-2 蛋白表达的影响

2.4 转染 miRNA-125b-1 引起 SKBR-3 细胞周期阻滞

对脂质体对照组、阴性对照组及 miRNA-125b-1 组 SKBR-3 细胞进行细胞

周期检测发现,转染 miRNA-125b-1 的 SKBR-3 细胞与前两者相比出现了间隙 2 期及有丝分裂期(G_2M)阻滞,未出现静止期(S 期)及间隙 1 期(G_0-G_1)的阻滞(表 3)。

表 3 流式细胞仪对各组 SKBR-3 细胞周期的检测值 (%)

组别	G_0-G_1 期	G_2M 期	S 期
脂质体对照组	67.22±7.30	8.07±1.73	24.71±6.41
阴性对照组	64.56±6.88	10.42±1.47	25.02±5.66
miRNA-125b-1 组	50.56±0.93	23.20±1.07	26.13±0.93

2.5 SKBR-3 细胞的抑制率

两组之间的细胞增殖抑制率差异有统计学意义($P<0.05$),miRNA-125b-1 组显著高于阴性对照组。在不同时间段,细胞增殖抑制率无统计学差异($P<0.05$),但在 miRNA-125b-1 组,随着时间推移,细胞增殖抑制率也逐渐上升(表 4,图 4)。

表 4 MTT 法检测 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞增殖的抑制作用

组别	抑制率 (%)			F 值	P 值
	24 h	48 h	72 h		
阴性对照组	14±3	14±3	13±2	163.28	0.00
miRNA-125b-1 转染组	40±5	44±6	46±13		

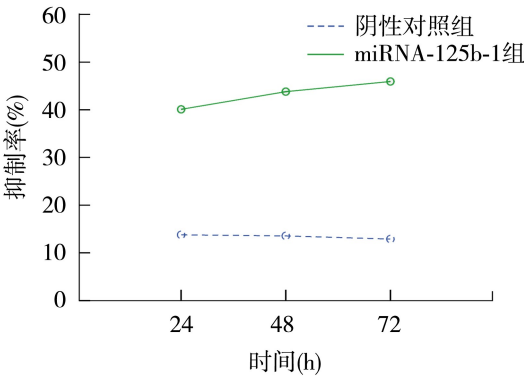


图 4 阴性对照组和 miRNA-125b-1 组在不同时间段的细胞增殖抑制情况

2.6 转染 miRNA-125b-1 对 SKBR-3 细胞放射敏感性的影响

取 miRNA-125b-1 转染的 SKBR-3 细胞作为实验组,未作处理的 SKBR-3 细胞作为对照组,按照方法 1.2.8 进行实验并绘制细胞存活曲线。可见 miRNA-125b-1 干扰基因使 SKBR-3 细胞的存活曲线发生明显变化(图 5)。根据该曲线提供的信息,按照单击多靶模式拟合相关参数,实验组得出代表细胞放射敏感性的 3 个参数: $D_0=1.87, D_q=2.68, N=4.21$ 。对照组: $D_0=2.51, D_q=4.10, N=$

5.11 ($SER = 1.34, P < 0.05$)。这表明 miRNA-125b-1 能增加乳腺癌 SKBR-3 细胞的放射敏感性。

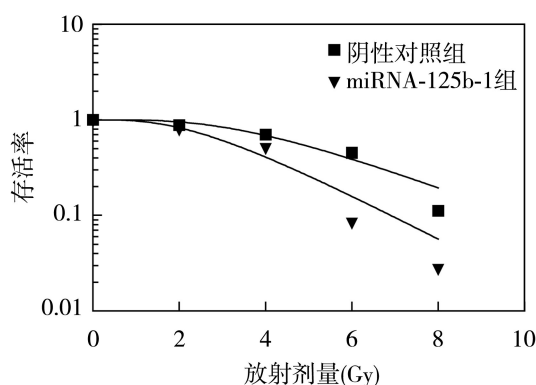


图5 SKBR-3 细胞的存活曲线

3 讨论

乳腺癌基因治疗的研究包括抑制原癌基因的功能、恢复抑癌基因的功能、基因免疫治疗、自杀基因治疗、多药耐药基因治疗、抗肿瘤血管形成基因治疗、凋亡基因治疗以及使用溶瘤病毒等^[6],但在小干扰 RNA(miRNAs)方面的研究甚少。Esquela-Kerscher 等^[7]报道,使用 miRNAs 的基因治疗可能是抑制肿瘤细胞增殖的有效方法。let-7 已被证实可以抑制 RAS 癌基因^[8],miR-15 和 miR-16 也可抑制 BCL2 基因活性^[9]。

现已知 miRNAs 广泛存在于真核生物细胞内,是最大的基因家族之一,约占整个基因组的 1%^[10]。miRNA-125b-1 是 miRNAs 家族中的一员,其定位于染色体 11q24.1 基因外显子区^[11-12]。有研究报道,在乳腺癌、卵巢癌、肺癌细胞中,染色体 11q23 ~ 24 常发生丢失^[2, 13-14],推测在该区域有抑癌基因存在,且与正常组织相比,miRNA-125b-1 在大多数乳腺癌细胞系中表达下降^[1-3],推测其可发挥抑癌作用。研究表明,miRNAs 作用的分子机制可分为两大类:(1)成熟的 miRNA 通过与靶 mRNA 3'端非翻译区(3'UTR)不完全互补结合,进而抑制其翻译过程,但不影响 mRNA 的稳定性(如 lin-4 及 let-7);(2)另有一类 miRNAs(如 miR-39 及 miR-171),与靶 mRNA 完全互补结合,然后发挥与 siRNA 相似的作用,降解 mRNA,从而阻止其翻译^[15-16]。miRNA-125b-1 通过第一种方式起调节作用。Scott 等^[4]用逆转录病毒转导 miRNA-125b-1,使得 SKBR-3 细胞中 miRNA-125b-1 含量增加,导致 HER-2 在转录和翻译水平上的抑制,本实验也证实了此结论。笔者还利用 miRNA-125b-1 转染乳腺癌 SKBR-3

细胞,与对照组相比,其放射敏感性增加。

HER-2 原癌基因,又称 C-erbB-2 原癌基因,定位于人染色体 17q21,编码一种具有酪氨酸蛋白激酶(tyrosine protein kinase, TPK)活性的物质 p185 蛋白,即 HER-2 蛋白。HER-2 高表达者瘤细胞增殖旺盛,侵袭力强,肿瘤的转移潜能很高,对内分泌治疗、化疗和放疗耐受性高,患者存活率低^[17]。研究发现,过表达 HER-2 能在缺乏细胞外配体的情况下激活 PI3K-Akt 通路和 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路,进而促进细胞的分裂、增殖和转化^[18-21]。本实验显示,miRNA-125b-1 可通过靶向作用于 HER-2 mRNA 和蛋白质,使 SKBR-3 细胞阻滞于 G₂M 期,并增加肿瘤细胞的放射敏感性。

传统应用抗 HER-2 单克隆抗体 herceptin 与 HER-2 受体胞外结合域进行特异结合,抑制 ErbB2 同源二聚化,达到阻断下游信号传导的目的。但该方法对于缺乏细胞外配体结合域的受体(P95ErbB2)及 ErbB2 异源二聚体(ErbB2/ErbB3, ErbB1/ErbB2, ErbB1/ErbB3)无效^[22]。即使是 HER-2 高表达或基因扩增的患者,有效率也仅为 12% ~ 34%,中位缓解期约 9 个月,而且多数患者在 1 年内出现获得性耐药。因此认为,曲妥珠单抗抵抗是一个重要的临床问题^[23],而 miRNA-125b-1 可与 HER-2 癌基因 mRNA 3'UTR 区特异性结合,在转录和翻译水平上抑制 HER-2^[4]。由此可见,全新的作用机制决定了 miRNA-125b-1 能从 mRNA 水平阻断 HER-2 受体信号传导通路,达到抑制肿瘤细胞的目的。

本实验中,miRNA-125b-1 增加 SKBR-3 乳腺癌细胞放射敏感性的机制为 miRNA-125b-1 阻断 HER-2 过表达,并使细胞阻滞于 G₂M 期,导致生长阻滞并增加其放疗敏感性。这为探索 HER-2 过表达乳腺癌治疗的新方法提供了依据。

参考文献

- [1] O'Day E, Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(2):201.
- [2] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(16):7065-7070.
- [3] Baffa R, Fassan M, Volinia S, et al. MicroRNA expression profiling of human metastatic cancers identifies cancer gene targets[J]. J Pathol, 2009, 219(2):214-221.
- [4] Scott GK, Goga A, Bhaumik D, et al. Coordinate suppression of ERBB2 and ERBB3 by enforced expression of microRNA miR-125a or miR-125b[J]. J Biol Chem, 2007, 282(2):1479-1486.
- [5] 杨光伟,高时荣,冯俊光,等. 临床放射治疗中增敏比的计算法[J]. 肿瘤研究与临床, 2002, 14(1):66-68.
- [6] 吴爱国. 乳腺癌基因治疗研究现状[J]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2008, 2(05):561-570.
- [7] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(4):259-269.
- [8] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family[J]. Cell, 2005, 120(5):635-647.

- [9] Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(39): 13944-13949.
- [10] Lim LP, Glasner ME, Yekta S, et al. Vertebrate microRNA genes[J]. Science, 2003, 299(5612): 1540.
- [11] Hui AB, Lenarduzzi M, Krushel T, et al. Comprehensive MicroRNA profiling for head and neck squamous cell carcinomas[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(4): 1129-1139.
- [12] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(9): 2999-3004.
- [13] Mohri T, Nakajima M, Takagi S, et al. MicroRNA regulates human vitamin D receptor[J]. Int J Cancer, 2009, 125(6): 1328-1333.
- [14] Martin ES, Cesari R, Pentimalli F, et al. The BCSC-1 locus at chromosome 11q23-q24 is a candidate tumor suppressor gene[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(20): 11 517-11 522.
- [15] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [16] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120(1): 15-20.
- [17] Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, et al. Prognostic value of c-erbB2 expression in breast cancer[J]. J Surg Oncol, 2002, 79(4): 216-223.
- [18] Gutierrez C, Schiff R. HER-2: biology, detection, and clinical implications [J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(1): 55-62.
- [19] Sanchez-Soria P, Camenisch TD. ErbB signaling in cardiac development and disease[J]. Semin Cell Dev Biol, 2010, 21(9): 929-935.
- [20] Hatakeyama M. System properties of ErbB receptor signaling for the understanding of cancer progression[J]. Mol Biosyst, 2007, 3(2): 111-116.
- [21] Normanno N, Bianco C, Strizzi L, et al. The ErbB receptors and their ligands in cancer: an overview[J]. Curr Drug Targets, 2005, 6(3): 243-257.
- [22] 文彤, 胡夕春. ErbB2 阳性乳腺癌靶向治疗的新策略[N]. 中国医学论坛报, 2009, 11(5): B05.
- [23] Bender LM, Nahta R. HER-2 cross talk and therapeutic resistance in breast cancer[J]. Front Biosci, 2008, 13: 3906-3912.

(收稿日期: 2011-03-21)

(本文编辑: 刘军兰)

胡斌, 吴爱国, 李学孝, 等. miRNA-125b-1 对乳腺癌 SKBR-3 细胞放射敏感性的影响[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2011, 5(6): 703-712.