DOI:10.16016/j.1000-5404.201505060

结直肠癌中 microRNA-451 部分逆转 MDR1/P-gp 途径介导的多药耐药

赵 岗[1],郑泰浩[1],黄 秀[1],吴春蓉[2],李 萌[3],李 明[1] (402160 重庆,重庆医科大学附属永川医院肿瘤科[1];402260 重庆,重庆市江津区中心医院肿瘤科[2];646000 四川 泸州,四川医科大学附属第一医院肿瘤科[3])

[摘要] **目的** 研究 microRNA-451 在结直肠癌组织与细胞中的表达及其在 MDR1/P-gp 途径介导的多药耐药中的作用。**方法** 收集 68 例新鲜结直肠癌及癌旁组织,RT-qPCR 检测其 miR-451 表达情况,Western blot 检测 P-gp 蛋白是否表达,并分析其关系;RT-qPCR 检测结直肠癌耐奥沙利铂细胞 HCT116/L、耐阿霉素细胞 LoVo/adr 及对应亲本细胞中 miR-451 的表达;利用脂质体将 miR-451 mimics(模拟物)、NC RNAs 转染 2 组耐药细胞,RT-qPCR 和 Western blot 分别检测转染后其 MDR1 mRNA 和 P-gp 的表达;MTT 检测转染细胞在不同浓度奥沙利铂、阿霉素下的增殖并计算其半数抑制浓度(IC_{50});流式细胞术进一步比较 NC 转染组和 mimics 转染组耐药细胞在同一浓度奥沙利铂、阿霉素下凋亡率。**结果** 相对于癌旁组织,miR-451 在结直肠癌组织中低表达,其表达下调与 P-gp 阳性表达存在相关性($r=-0.404$,$P=0.002$);与亲本细胞相比,miR-451 在 2 组耐药细胞中表达明显降低($P<0.01$);mimics 转染组细胞 MDR1 mRNA、P-gp 相对表达量明显下降,IC_{50}及凋亡率与 NC 组均有显著差异($P<0.05$)。**结论** miR-451 在结直肠癌中通过 MDR1/P-gp 途径参与多药耐药,耐药细胞转染 miR-451 mimics 后,可部分逆转耐药。

[关键词] 结直肠癌;MicroRNA-451;化疗;多药耐药基因;P-糖蛋白
[中图法分类号] R394.2;R735.35;R915 [文献标志码] A

Role of microRNA-451 in reversion of multidrug resistance mediated by MDR1/P-gp pathway in colorectal carcinoma

Zhao Gang[1], Zheng Taihao[1], Huang Xiu[1], Wu Chunrong[2], Li Meng[3], Li Ming[1] ([1]Department of Oncology, Yongchuan Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 402160; [2]Department of Oncology, Jiangjin Central Hospital, Chongqing, 402260; [3]Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Sichuan Medical College, Luzhou Sichuan Province, 646000, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression of microRNA-451 in colorectal cancer (CRC) tissue and cell lines, and explore its role in multidrug resistance mediated by multidrug resistance gene 1 (MDR1)/P-glycoprotein (P-gp) pathway. **Methods** The expression of microRNA-451 and P-gp in 68 cases of CRC and matched non-tumor adjacent tissues was detected by RT-qPCR and Western blotting, and the correlation was analyzed. The expression of microRNA-451 in CRC cells (HCT116 and LoVo) and corresponding drug-resistant cells [HCT116/oxaliplation (L-OHP) and LoVo/adriamycin (Adr)] was detected by RT-qPCR. The drug-resistant cells were transfected with microRNA-451 mimics and NC RNAs using Lipofectamine 2000, and then the expression of MDR1 and P-gp was measured by RT-qPCR and Western blotting. The proliferation of the transfected resistant cells treated with different concentrations of L-OHP or Adr was detected by MTT assay, and the IC_{50} values were calculated. Flow cytometry was used to analyze the apoptotic rate of the transfected resistant cells treated with the same concentration of L-OHP or Adr. **Results** Compared with the non-tumor adjacent tissues, microRNA-451 exhibited lower expression

[基金项目] 重庆市卫生局医学科研项目(2012-2-171)
[通信作者] 李 明,E-mail:1832385734@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151016.1043.010.html(2015-10-16)

level in CRC tissues, and its down-regulation was associated with P-gp positive expression ($r = -0.404$, $P = 0.002$). The microRNA-451 levels were significantly lower in HCT-116/L-OHP cells and LoVo/Adr cells than in their parental cells ($P < 0.01$). The expression of MDR1 mRNA and P-gp was decreased in the microRNA-451 mimic transfection group as compared with the NC RNA transfection group, moreover, the IC_{50} and apoptotic rate had significant differences between the 2 groups ($P < 0.05$). **Conclusion** MicroRNA-451 contributes to multidrug resistance through modulating the expression of MDR1/P-gp in colorectal carcinoma, and its overexpression can partly reverse the multidrug resistance.

[**Key words**] colorectal carcinoma; microRNA-451; chemotherapy; multidrug resistance gene 1; P-glycoprotein

Supported by the Project of Medical Scientific Research of Chongqing Mumicipal Health Bureau (2012-2-171). Corresponding author: Li Ming, E-mail: 1832385734@163.com

miRNAs 是一类微小的、内源性的、非编码的单链 RNA,通过翻译抑制或 mRNA 降解来调节基因表达[1]。已经证实在较多实体肿瘤中一些 miRNAs 存在异常水平的表达,展示了其在诊断、治疗、预后判断等方面所起到的重要作用[2-4]。新近研究发现,miRNAs 被识别为能参与调控肿瘤治疗及化疗耐受的关键基因[5]。Zhu 等[6]证实了 miRNA 可通过调控 MDR1/P-gp 介导的药物外排途经参与多药耐药,随后 miRNA 参与耐药的一些其他可能机制被相继报道,比如细胞周期分布[7-8]和细胞凋亡[9]的异常调节。Kovalchuk 等[10]发现在乳腺癌 MCF-7 细胞中 miR-451 参与调节多药耐药基因 1(multidrug resistance gene 1, MDR1)的表达,但目前尚少有在结直肠癌中 miR-451 能否通过 MDR1/P-gp 途径参与多药耐药的相关研究报道。因此,本研究检测了 miR-451 及相关耐药蛋白在结直肠癌临床标本、耐药及敏感细胞中的表达差异,并进一步于体外研究 miR-451 表达水平与 MDR1/P-gp 途径介导的多药耐药的调控关系,探索 miR-451 在结直肠癌中对临床治疗的指导意义,为肿瘤化疗敏感性筛选提供有用的指标,以期为临床克服化疗耐药问题提供新的思路及理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

结直肠癌亲本及耐药细胞:HCT116,HCT116/L-OHP;LoVo,LoVo/adr 购于上海博谷生物科技公司,RPMI1640 培养基购于 Gibco 公司,胎牛血清购于浙江天杭生物科技公司,Hairpin-it miRNAs RT-PCR 定量试剂盒、Custom qRT-PCR、miR-451 模拟物(mimics)均购于上海吉玛公司,引物序列由上海生工生物公司合成,Lipofectamine 2000 购于 Invitrogen 公司,MTT 试剂盒购于北京康为世纪公司,鼠抗人 P-gp 单克隆抗体购于 Merck 公司,二抗羊抗鼠 IgG 及 β-actin 购于 Sigma 公司,Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒购于美国 BD Biosciences 公司。

1.2 组织标本及细胞培养

68 例结直肠癌及癌旁组织均取自于永川医院胃肠外科患者术中,新鲜冻存于 -80 ℃待用(临床标本使用经我院医学伦理委员会审查通过,取得患者知情同意)。所有患者术前未接受过放化疗,术后病理均为结直肠腺癌,癌旁组织为距肿瘤边缘 5 cm 以上切缘组织,病理证实为非癌组织。亲本细胞 HCT116、LoVo 及耐药细胞 HCT116/L-OHP、LoVo/adr 均使用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青链霉素的 RPMI1640 培养液,于37 ℃、5% CO_2、90% 湿度孵箱中培养,细胞贴壁。HCT116/L-OHP 细胞培养基中奥沙利铂浓度从 5 000 ng/mL 逐步提高至 10 000 ng/mL,LoVo/adr 细胞培养基中阿霉素浓度从 100 ng/mL 逐步提高至 200 ng/mL,以维持细胞耐药性。

1.3 定量 PCR 检测 miR-451、MDR1 mRNA 表达

采用 TRIzol 试剂提取样本组织、对数期细胞总 RNA,凝胶电泳检验总 RNA 完整性。使用 Hairpin-it™ miRNAs RT-PCR Quanitation Kit 检测 miR-451 表达情况,包括逆转录反应和实时荧光定量 PCR 两部分。20 μL 逆转录反应体系主要包括:dNTP 0.375 mmol/L,miRNA-RT primers 60 nmol/L,RNA Sample 2 μg 等;反应程序:25 ℃ 30 min,42 ℃ 30 min,85 ℃ 5 min。染料法定量 PCR 20 μL 反应体系主要包括:SYBR 10 μL,miRNA 特异引物 0.2 μmol/L,DNA 拓扑聚合酶 1U 等;反应程序:95 ℃预变性 3 min 后,进行 95 ℃ 12 s、62 ℃ 40 s 共 40 个循环,以 U6 snRNA 作为内参,扩增反应在 Bio-Rad 公司 CFX 96 Real-time PCR 检测系统中进行。按照 Custom gene qRT-PCR Quantitation Kit 试剂盒操作步骤检测目的细胞 MDR1 mRNA 表达。计算相对表达率采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法($\triangle Ct$ = Ct miRNA − Ct U6;$\triangle\triangle Ct$ = $\triangle$Ct 样本 − $\triangle$Ct 校正样品)。每个样本

设3个复孔,复孔间Ct值差异≤0.5,否则重复该样本实验。引物序列如下:miR-451扩增引物正义链:5′-CGTCATCAAACCGTTACCATTAC-3′,反义链:5′-AAA-GGTTGTTCTCCACTCTCTCTC-3′,产物长度67 bp;U6 snRNA正义链:5′-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3′,反义链:5′-GGAACGCTTCACGAATTTG-3′,产物长度70 bp;MDR1正义链:5′-CCCATCATTGCAATAGCAGG- 3′,反义链:5′-TGTTCAAACTTCTGCTCCTGA-3′,产物长度136 bp。

1.4 细胞转染

参照Lipofectamine 2000试剂盒转染说明,2组耐药细胞胰酶消化后以3.5×10^5/孔分别接种至6孔板上,待其贴壁生长后每孔更换加入1.5 mL无血清培养基,分别取miR-451模拟物(mimics)及NC RNAs各150 pmol与5 μL脂质体Lipofectamine 2000混匀,最后分别转染HCT116/L与LoVo/adr耐药细胞,于37 ℃、5% CO_2、90%湿度孵箱中孵育6 h后,更换含10%胎牛血清培养基继续培养备用。

1.5 Western blot检测P-gp蛋白的表达

采用RIPA裂解液裂解结直肠癌组织或目的细胞,BCA法计算样品蛋白浓度。选择8% SDS-PAGE分离样品蛋白60 μg,转膜至硝酸纤维滤膜,于室温摇床封闭2 h后,置于含鼠抗人P-gp单抗(1∶200),鼠抗人β-actin单抗(1∶300)封闭液中,4 ℃孵育过夜。将膜置于含辣根过氧化物酶偶联的羊抗鼠IgG二抗中(1∶5 000),室温摇床孵育2 h后采用ECL Plus发光试剂显色。采用Image Lab软件分析蛋白条带灰度值,以P-gp/β-actin比值反映P-gp蛋白相对表达水平。每组实验重复3次。

1.6 MTT检测转染细胞增殖情况

转染miR-451 mimics(模拟物转染组)及NC RNAs(空白转染组)24 h后的各组耐药细胞以8.0×10^3/孔的密度接种至96孔板中,每孔200 μL终体积。待细胞贴壁后,按照以下药物浓度梯度,L-OHP:0、10、20、40、80、160、320 μg/mL;Adr:0、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 μg/mL,向转染后的HCT116/L-OHP,LoVo/adr对应加入L-OHP或Adr,每个浓度设3个复孔。加药后于孵箱中培养48 h,再向各孔中加入20 μL MTT(5 mg/mL),避光37 ℃孵育4 h后,加入150 μL二甲基亚砜(DMSO),避光振荡5 min。自动酶标仪于570 nm波长处读取每孔的光密度值[D(570)]。细胞存活率 = 实验组D(570)值/空白组D(570)值 × 100%。根据各浓度点细胞存活率,BLISS法计算半数抑制浓度IC_{50},得出逆转指数RI = NC转染组细胞IC_{50}值/mimics转染组IC_{50}值。

1.7 FCM检测细胞凋亡情况

接受miR-451 mimics、NC RNAs转染后的2组耐药细胞以3.5×10^5/孔密度接种于6孔板上,培养24 h。将终浓度为80 μg/mL的L-OHP,1.5 μg/mL的Adr(药物浓度依据IC_{50}值,大于模拟物转染组IC_{50}值,小于空白转染组IC_{50}值)分别加入相应细胞孔内。培养48 h后收集细胞,200 μL缓冲液重悬细胞后加入5 μL Annexin V/FITC和10 μL碘化丙啶,避光孵育15 min后加入300 μL缓冲液待用。使用BD流式细胞仪分类计数。右上象限及右下象限分别代表晚期与早期凋亡细胞。

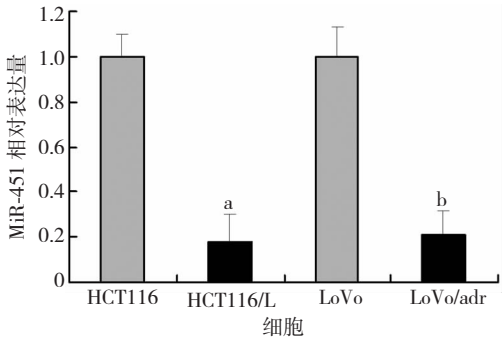
1.8 统计学方法

使用IBM SPSS 19.0统计软件。实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,配对四格表资料关联性分析采用χ^2检验或连续校正χ^2检验,两组数据间比较使用t检验,两组以上数据比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 miR-451在结直肠癌与癌旁组织,亲本与耐药细胞中的mRNA差异性表达

以U6为内参,荧光定量qPCR检测结果显示,miR-451在结直肠癌组织与癌旁组织中相对表达比率($2^{-\triangle\triangle Ct}$)分别为(0.405±0.237)、(0.712±0.174),与癌旁组织相比,miR-451在结直肠癌组织中呈低表达,平均下调43.12%($t=-8.60$,$P<0.01$)。相较于亲本细胞,miR-451在结直肠癌耐药细胞HCT116/L和LoVo/adr中显著低表达:miR-451在HCT116/L中表达水平较HCT116中降低82%,在LoVo/adr中表达水平较LoVo中降低79%($P<0.01$,图1)。



a:$P<0.01$,与HCT116比较;b:$P<0.01$,与LoVo比较

图1 MiR-451在结直肠癌亲本及耐药细胞中的差异表达

2.2 结直肠癌组织中miR-451低表达与临床因素及P-gp相关性

68例结直肠癌及癌旁组织中,miR-451水平在癌组织中较相对应癌旁组织中降低43.12%以上,即视

该例 miR-451 低表达。统计得出,miR-451 低表达与患者性别、年龄、肿瘤分级、淋巴转移或远处转移与否无统计学差异,但其与临床分期存在相关性($r=-0.285$, $P=0.029$,表 1)。miR-451 与 P-gp 蛋白在 68 例结直肠癌组织中的表达情况见表 2,统计得出,结直肠癌组织中 miR-451 低表达与 P-gp 的阳性表达存在相关性($r=-0.404$, $P=0.002$)。

表 1 结直肠癌组织中 miR-451 水平与临床因素关系

临床特征		n	miR-451 表达水平		P 值[a]
			低表达(例)	未低表达(例)	
性别	男	38	29	9	0.379
	女	30	20	10	
年龄(岁)	≤57	36	26	10	0.975
	>57	32	23	9	
分级	G1	6	2	4	0.086
	G2	20	15	5	
	G3	42	32	10	
淋巴转移	N0	8	4	4	0.139
	N1	60	45	15	
远处转移	M0	46	32	14	0.508
	M1	22	17	5	
临床分期	Ⅰ-Ⅱ	31	18	13	0.029
	Ⅲ-Ⅳ	37	31	6	

a:采用行列表方差分析计算 P 值

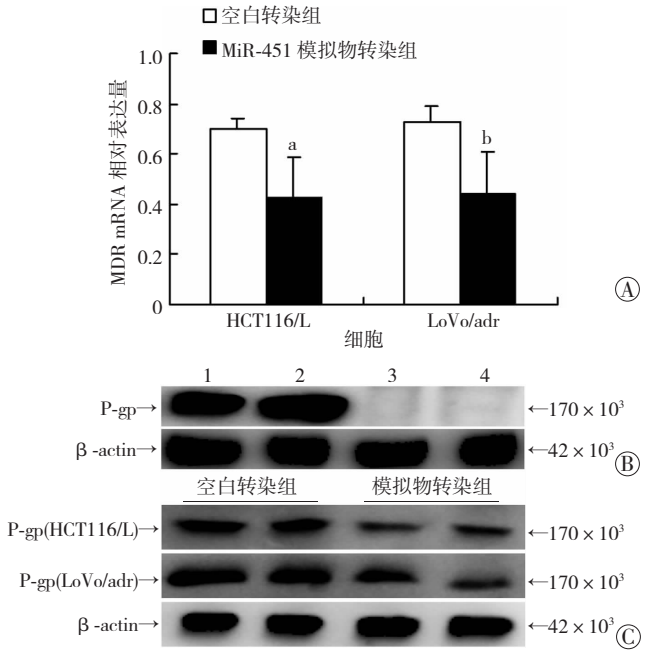
表 2 68 例结直肠癌组织中 miR-451 与 P-gp 表达情况(例)

MiR-451 表达情况	P-gp 表达情况		合计
	−	+	
低表达	22	27	49
未低表达	17	2	19
合计	39	29	68

采用交叉表连续校正方差分析,$\chi^2=9.374$;φ 系数 $=-0.404$;Cramer 氏系数 V $=0.404$;相关系数 $r=-0.404$, $P=0.002$

2.3 miR-451 模拟物转染耐药细胞后 MDR1 mRNA 与 P-gp 蛋白的差异性表达

HCT116/L、LoVo/adr 耐药细胞在 miR-451 mimics 或 NC RNAs 转染 48 h 后,实时荧光定量 qPCR 检测发现,与空白转染组相比,模拟物转染组中两种耐药细胞 MDR1 mRNA 相对表达水平均下降(图 2A)。在无转染情况下,Western blot 检测耐药及亲本细胞中 P-gp 蛋白的表达(图 2B),在耐药细胞中 P-gp 高表达,而在亲本细胞中未检测到其表达。耐药细胞转染 72 h 后,Western blot 检测两组细胞 P-gp 表达见图 2C。在“HCT116/L + mimics”组中 P-gp 相对表达量为(45 ± 15)%,与空白转染组(85 ± 13)% 相比,下降约 47%($t=3.85$, $P=0.018$);在“LoVo/adr + mimics”组中 P-gp 相对表达量为(51 ± 18)%,与空白转染组(89 ± 7)% 相比,下降约 43%($t=3.45$, $P=0.026$)。

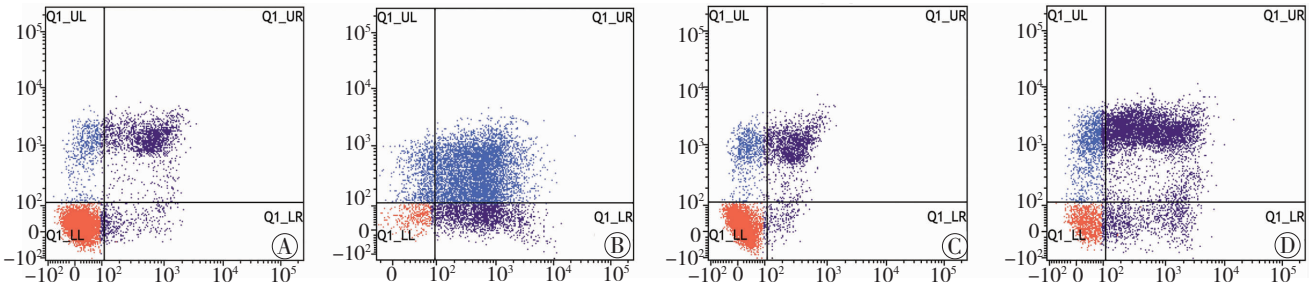


A:MiR-451 模拟物及空白转染 2 组耐药细胞后 MDR1 的差异表达 a:$P=0.048$,b:$P=0.049$,与空白转染组比较;B:P-gp 蛋白在耐药与亲本细胞中的表达 1、2:HCT116/L、LoVo/adr;3、4:HCT116、LoVo;C:两组耐药细胞转染后 P-gp 的差异表达

图 2 MiR-451 模拟物转染耐药细胞后 MDR1 与 P-gp 蛋白的差异性表达

2.4 miR-451 模拟物转染耐药细胞后增殖及凋亡率改变

MTT 检测不同药物浓度时模拟物转染组与空白转染组耐药细胞的存活率,BLISS 法得出转染后的半数抑制浓度 IC_{50} 值。空白转染组 L-OHP 对 HCT116/L 的 IC_{50} 为(138.04 ± 2.21) μg/mL,模拟物转染组为(72.39 ± 1.80) μg/mL($t=39.55$, $P<0.01$);Adr 对 LoVo/adr 的半数抑制浓度在空白转染组及模拟物转染组分别为(2.09 ± 0.14)与(1.36 ± 0.19)($t=5.38$, $P=0.006$)。计算得出逆转指数 RI 分别为:1.91(138.04/72.39)与 1.54(2.09/1.36)。同时,HCT116/L、LoVo/adr 细胞转染后,分别在 L-OHP:80 μg/mL,Adr:1.5 μg/mL 条件下培养 48 h 后行流式细胞术比较凋亡情况(图 3)。空白转染组及模拟物转染组 HCT116/L 细胞凋亡率分别为(38.81 ± 5.27)%、(70.38 ± 7.43)%($t=-6.0$, $P=0.004$);LoVo/adr 细胞凋亡率分别为(40.80 ± 4.49)%,(67.88 ± 5.53)%($t=-6.58$, $P=0.003$)。



A:HCT116/L 空白转染组;B:HCT116/L MiR-451 模拟物转染组;C:LoVo/adr 空白转染组;D:LoVo/adr MiR-451 模拟物转染组;右上象限及右下象限分别代表晚期与早期凋亡细胞

图 3 FCM 检测耐药细胞在空白及 miR-451 模拟物转染后凋亡率变化

3 讨论

miR-451 的异常表达在结直肠癌细胞的增殖、侵袭等生物学行为方面发挥重要作用[11],但是,其在 MDR1/P-gp 途径介导的多药耐药中的作用尚未知。因此,本研究从临床结直肠癌组织切入,以探寻在结直肠癌组织中 miR-451 表达情况与患者临床因素、耐药蛋白表达之间联系,并进一步研究在结直肠癌耐药细胞株中,人为提高 miR-451 表达水平,观察能否影响 MDR1/P-gp 表达而逆转耐药。

国外学者 Bitarte 等[12]在研究结直肠癌干细胞(CSCs)中的 miRNA 表达谱情况时发现,与亲代细胞相比,克隆细胞系中 miR-451 表达明显下降。miR-451 表达增加能抑制细胞自我更新、肿瘤形成及对伊立替康的化疗耐受,他们识别出 COX-2(环氧化酶-2)是 miR-451 的间接靶点,COX-2 使 Wnt 信号通路活化,而 Wnt 是 CSCs 增长至关重要的因素,此外,提高 miR-451 表达能抑制耐药相关基因 ABCB1 的表达,进而使伊立替康化疗敏感。在本研究中,首先通过检测 68 例结直肠癌及癌旁组织中 miR-451 相对表达水平,证实了 miR-451 在结直肠癌组织中呈相对低水平表达。Wang 等[13]研究发现在实体肿瘤非小细胞肺癌组织中,miR-451 出现了下调,杨再林等[14]在慢性髓细胞白血病患者中也检测到了 miR-451 的下调。通过进一步检测在结直肠癌组织中 P-gp 是否表达,发现了在 miR-451 相对表达下降的样本中,更易检测到 P-gp 的阳性表达,统计得出其相关系数($r = -0.404$)。当然,miR-451 低表达与 P-gp 阳性表达相关程度并不是很高($r = -0.404$),且检测的组织样本量有限($n = 68$)。因此,还需进一步更大组织样本量的观察研究,同时也将继续观察该 68 例患者对化疗的敏感性及总生存期等。

与此同时,检测并证实了在两组结直肠癌耐药细胞株(HCT16/L,LoVo/adr)中,miR-451 相对表达水平相对于亲本细胞降低了约 80%,这在其他一些实体肿瘤耐药细胞中也有类似的发现[15-17]。以上在结直肠癌组织及细胞中 miR-451 表达水平差异的发现,推测 miR-451 在结直肠癌耐药细胞中可参与到 MDR1/P-gp 途径介导的多药耐药。在进一步研究中发现,miR-451 mimics 转染 HCT116/L、LoVo/adr 两组耐药细胞以人为提高 miR-451 水平后,经检测,与 NC RNAs 转染组相比,其 MDR1 mRNA 与 P-gp 蛋白水平明显降低。同时检测比较细胞增殖、凋亡情况发现,转染 miR-451 mimics 的两组耐药细胞 IC_{50} 值降低,凋亡率增高,即对化疗药物敏感性增加,达到了部分逆转耐药,逆转指数 RI 分别为 1.91 和 1.54。这一研究结果与 Kovalchuk[10]在乳腺癌 MCF-7 细胞中发现 miR-451 参与调节 MDR1 基因一致。由此可证明,miR-451 在结直肠癌耐药细胞中,通过负性调控 MDR1/P-gp 途径影响耐药,当细胞中 miR-451 水平降低,这种负性调节作用减弱或消失,MDR1/P-gp 表达增强,而提高 miR-451 水平,负性调控增强,MDR1/P-gp 表达减弱,肿瘤细胞化疗敏感性增加。

综上所述,本研究证实了在结直肠癌组织中 miR-451 低表达与临床分期及 P-gp 阳性表达存在相关性。此外,在结直肠癌耐药细胞中 miR-451 部分逆转 MDR1/P-gp 途径介导的多药耐药。提示 miR-451 对预测患者化疗敏感性及评估预后方面有着重要的意义,其可能成为结直肠癌化疗中新的潜在治疗靶点,以克服多次化疗后出现的耐药问题。当然,导致多药耐药的机制不止 MDR1/P-gp 途径一种,miRNA 与耐药的发生、发展机制尚需进一步研究明确。

参考文献:

[1] Bartel D P. Micrornas: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281 – 297.

[2] Tricoli J V, Jacobson J W. MicroRNA: Potential for Cancer Detection, Diagnosis, and Prognosis[J]. Cancer Res, 2007, 67(10): 4553 – 4555. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-0563

[3] Blenkiron C, Miska E A. miRNAs in cancer: approaches, aetiology, diagnostics and therapy[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16 (Spec 1): R106-R113. DOI: 10.1093/hmg/ddm056

[4] 韩超,王健东.非编码微小RNA在胆囊癌中的表达及功能[J].中华消化外科杂志,2015,14(10):877 – 880. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673 – 9752.2015.10.021

[5] Allen K E, Weiss G J. Resistance may not be futile: microRNA biomarkers for chemoresistance and potential therapeutics[J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(12): 3126 – 3136. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-10-0397

[6] Zhu H, Wu H, Liu X, *et al*. Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(5): 582 – 588.

[7] Yamamura S, Saini S, Majid S, *et al*. MicroRNA-34a modulates c-Myc transcriptional complexes to suppress malignancy in human prostate cancer cells[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29722. DOI:10.1371/journal.pone.0029722

[8] Yamanaka S, Campbell N R, An F, *et al*. Coordinated effects of microRNA-494 induce G_2/M arrest in human cholangiocarcinoma[J]. Cell Cycle, 2012, 11(14): 2729 – 2738.

[9] Xie Y, Tobin L A, Camps J, *et al*. MicroRNA-24 regulates XIAP to reduce the apoptosis threshold in cancer cells[J]. Oncogene, 2013, 32(19): 2442-2451. DOI:10.1038/onc.2012.258

[10] Kovalchuk O, Filkowski J, Meservy J, *et al*. Involvement of microRNA-451 in resistance of the MCF-7 breast cancer cells to chemotherapeutic drug doxorubicin[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(7): 2152 – 2159.

[11] 吴春蓉,罗治彬,陈伟. miR-451对结肠癌细胞系SW620生物学行为的影响[J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(5): 478 – 482.

[12] Bitarte N, Bandres E, Boni V, *et al*. MicroRNA-451 is involved in the self-renewal, tumorigenicity, and chemoresistance of colorectal cancer stem cells[J]. Stem Cells, 2011, 29(11): 1661 – 1671. DOI:10.1002/stem.741

[13] Wang X C, Tian L L, Jiang X Y, *et al*. The expression and function of miRNA-451 in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Lett, 2011, 311(2): 203 – 209. DOI:10.1016/j.canlet.2011.07.026

[14] 杨再林,叶枫,但国蓉,等. 慢性髓细胞白血病患者骨髓单个核细胞miR-203、miR-451、miR-17表达及其临床意义[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(22): 2296 – 2300.

[15] Wang R, Wang Z X, Yang J S, *et al*. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14)[J]. Oncogene, 2011, 30(23): 2644 – 2658. DOI:10.1038/onc.2010.642

[16] Bandres E, Bitarte N, Arias F, *et al*. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(7): 2281 – 2290. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-08-1818

[17] Nan Y, Han L, Zhang A, *et al*. MiRNA-451 plays a role as tumor suppressor in human glioma cells[J]. Brain Res, 2010, 1359: 14-21. DOI:10.1016/j.brainres.2010.08.074

(**收稿**:2015-05-11;**修回**:2015-06-24)

(编辑 汪勤俭)