

## miR-135a/b 逆转肺癌 A549/CDDP 细胞对顺铂耐药性及相关机制研究

周 丽,邱天竹,陈雯姣,朱 伟,束永前,刘 平\*

(南京医科大学第一附属医院肿瘤科,江苏 南京 210029)

**[摘 要]** **目的:** 研究 miR-135a/b 对肺癌耐顺铂细胞株 A549/CDDP 顺铂耐药的影响。**方法:** 运用实时荧光定量 PCR 检测 miR-135a/b 在 A549 和 A549/CDDP 细胞株中的差异表达;MTT 法检测转染后 A549 及 A549/CDDP 细胞对 CDDP 的敏感性;构建 MCL1-3'-UTR 荧光素酶报告质粒验证 miR-135a/b 的靶基因;Western blot 检测转染前后细胞 MCL1 蛋白的表达差异;流式细胞术检测转染后耐药细胞对顺铂诱导凋亡的影响。**结果:** miR-135a/b 在 A549/CDDP 细胞中表达量降低;在耐药株中上调 miR-135a/b 后显著增加细胞对顺铂的敏感性;荧光素酶实验证实 MCL1 是 miR-135a/b 的靶基因;抗凋亡蛋白 MCL1 在 A549/CDDP 细胞中呈高表达,上调 miR-135a/b 明显抑制耐药细胞中 MCL1 蛋白的表达;miR-135a/b 显著增加 A549/CDDP 细胞对顺铂诱导的凋亡。**结论:** miR-135a/b 通过靶向调控 MCL1 蛋白表达增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性和凋亡。

**[关键词]** miR-135a/b;顺铂耐药;凋亡;MCL1;肺癌

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)04-449-07

**doi:**10.7655/NYDXBNS20130406

## Mechanism of miR-135a/b on regulating cisplatin resistance of human lung cancer cell line A549/CDDP

Zhou Li, Qiu Tianzhu, Chen Wenjiao, Zhu Wei, Shu Yongqian, Liu Ping\*

(Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate whether miR-135a/b could modulate the drug resistance of the human lung cancer cell line A549/CDDP to cisplatin(CDDP), and explore the mechanism of miR-135a/b on the CDDP sensitivity of A549/CDDP cells. **Methods:** MiR-135a/b expression was measured by quantitative real-time PCR. Transient transfection was used in A549 and A549/CDDP cell lines. Cell viability was detected by MTT assay. MCL1 3'-untranslated region-based luciferase reporter plasmids was constructed to testify the target gene of miR-135a/b. Protein expressions were measured by western blot. Flow cytometry was used to detect CDDP-induced apoptosis. **Results:** We found that miR-135a/b were downregulated while MCL1 was upregulated in A549/CDDP cells, compared with the parental A549 cells. In vitro drug sensitivity assay demonstrated that the over-expression of miR-135a/b sensitized A549/CDDP cells to cisplatin. The luciferase activity of MCL1 3'-untranslated region-based reporter constructed in A549/CDDP cells suggested that MCL1 was the direct target gene of miR-135a/b. Enforced miR-135a/b expression reduced MCL1 protein level and sensitized A549/CDDP cells to CDDP-induced apoptosis. **Conclusion:** This study demonstrated that hsa-miR-135a/b could play a role in the development of CDDP resistance in lung cancer cell line at least in part by modulation of apoptosis via targeting MCL1.

**[Key words]** miR-135a/b; cisplatin resistance; apoptosis; MCL1; lung cancer

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(4): 449-455]

在世界范围内,无论是发病率还是病死率方面,肺癌均是居首位的恶性肿瘤。尽管近年来有计划、

合理综合应用现有的几种治疗手段,肺癌的治愈率和生存期都有所提高,但是肺癌预后仍然不容乐观,治疗失败的其中一个主要原因就是耐药的产生。

microRNA(miRNA)是在真核生物中发现的一类小分子非编码 RNA,在转录后水平调节基因表达。研究表明,miRNA 作为类似癌基因或抑癌基因作用参与细胞增殖、凋亡和分化的调控,在肿瘤的发

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81171908);江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(JX10231801);江苏高校优势学科建设工程资助

\*通信作者(Corresponding author), E-mail:liu-ping@csc.org.cn

生发展过程中发挥着重要的生物学作用<sup>[1-2]</sup>,且可通过靶向调控药物外排泵分子、细胞周期蛋白或凋亡调节蛋白等不同途径介导肿瘤耐药<sup>[3-6]</sup>。对异常表达的 miRNA 进行干预(上调或下调)可改变肿瘤的耐药行为,增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性<sup>[7-10]</sup>,提示了 miRNA 在介导和调控肿瘤耐药过程中的重要作用。因此,深入研究 miRNA 表达异常与肿瘤耐药的调控机制具有非常重要的价值。顺铂是非小细胞肺癌(NSCLC)化疗的一线药物,但获得性耐药制约了其疗效的发挥。本实验通过研究 miR-135a/b 靶向抑制抗凋亡蛋白 MCL1 表达对肺癌耐顺铂细胞株 A549/CDDP 顺铂耐药性的影响,旨在探索 miR-135a/b 调控 NSCLC 顺铂耐药性的可能机制,进而为基于 miRNA 的 NSCLC 逆转顺铂耐药治疗策略提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人非小细胞肺癌细胞株 A549 及其耐顺铂细胞株 A549/CDDP 购自上海麦莎生物科技有限公司;RPMI1640 培养基、小牛血清购自美国 Gibco 公司;TRIzol、Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司;四甲基偶氮唑盐(MTT)、DMSO 购自美国 Sigma 公司;顺铂购自南京先声药业;miR-135a/b 模拟物及抑制物购自上海吉玛制药技术有限公司;has-miR-135a/b 引物购自广州锐博生物科技有限公司;SYBR Green 购自日本 TaKaRa 公司;7900HT 荧光定量 PCR 仪购自英国 ABI 公司;反转录酶、荧光素酶报告试剂盒购自美国 Promega 公司;MCL1-3'UTR 荧光素酶报告质粒由南通百奥迈科生物技术公司构建;MCL1 抗体、 $\beta$ -tubulin 抗体、羊抗兔二抗分别购自美国 Cell Signal 公司、美国 Bioworld 公司、美国 Santa Cruz 公司;Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购自美国 Millipore 公司;流式细胞仪购自美国 BD 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

人非小细胞肺癌细胞株 A549 和其耐药株 A549/CDDP 用含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液,置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的细胞培养箱中培养,为保持 A549/CDDP 的耐药性,该细胞培养液中含终质量浓度为 4  $\mu$ g/ml 的 CDDP。细胞呈贴壁生长,0.25%胰酶消化传代。

#### 1.2.2 实时荧光定量 PCR 检测 miR-135a/b 在

#### A549 和 A549/CDDP 细胞株中的差异表达

收集 A549 及 A549/CDDP 细胞,用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,将其反转录成 cDNA,cDNA 合成过程中采用 miR-135a/b RT 特异性引物构建反转录体系,反应条件为:42℃ 60 min,70℃ 10 min。以 cDNA 为模板,利用 miR-135a/b 特异性引物和 SYBR Green 进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为:95℃ 20 s,95℃ 10 s,60℃ 20 s,70℃ 10 s,共 40 个循环。反应结束后分析 PCR 反应曲线,得到 Ct 值,即荧光达到阈值所需的 PCR 循环数。miR-135a/b 相对表达量采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 方法计算。 $\Delta\Delta$ Ct= $\Delta$ Ct<sub>A549/CDDP</sub>- $\Delta$ Ct<sub>A549</sub>,  
 $\Delta$ Ct=Ct<sub>miRNA</sub>-Ct<sub>U6 snRNA</sub>。

#### 1.2.3 细胞转染

A549 及 A549/CDDP 细胞以 6×10<sup>5</sup> 个/孔铺于 6 孔培养板,贴壁 24 h 后,按 Lipofectamine 2000 说明书,将 miR-135a 模拟物、miR-135b 模拟物及阴性对照分别转染到 A549/CDDP 细胞中,同样地,将 miR-135a 抑制物、miR-135b 抑制物及阴性对照分别转染到 A549 细胞中(表 1)。

#### 1.2.4 MTT 法检测转染后 A549 及 A549/CDDP 细胞对 CDDP 的敏感性

细胞转染 24 h 后,以 5×10<sup>3</sup> 个/孔、100  $\mu$ l/孔接种于 96 孔培养板,待细胞贴壁后,加入终浓度分别为 0.02、0.20、2.00、20.00  $\mu$ g/ml 的 CDDP,100  $\mu$ l/孔。以不加药物干预作为对照组,以不接种细胞而仅加培养液作为调零孔,每个浓度设 3 个复孔。细胞培养 44 h 后,加新鲜配制的 MTT 溶液(5 g/L)20  $\mu$ l/孔,继续培养 4 h 后,终止培养。小心吸弃孔内培养上清液,加入 DMSO 150  $\mu$ l/孔,振荡 10 min,在酶联免疫检测仪上测定 490 nm 波长处各孔的吸光度值,取 3 个重复孔的平均吸光度值。按以下公式计算细胞的生长抑制率:细胞生长抑制率=(对照组吸光度-实验组吸光度)/对照组吸光度×100%,运用 SPSS 软件计算 CDDP 对细胞的半数抑制浓度 IC<sub>50</sub>。

#### 1.2.5 荧光素酶实验

在转染前 24 h,A549/CDDP 细胞以 15×10<sup>5</sup> 个/孔接种于 24 孔培养板。按照 Lipofectamine 2000 说明书,将 200 ng pGL3-MCL1-3'-UTR、80 ng 海肾内参质粒、60 pmol miR-135a/b 模拟物或其阴性对照共转染入 A549/CDDP 细胞,24 h 后检测荧光素酶活性差异。

#### 1.2.6 Western blot 检测转染前后细胞 MCL1 蛋白的表达差异

A549 及 A549/CDDP 细胞以 6×10<sup>5</sup> 个/孔铺于

表 1 miR-135a/b 模拟物、抑制物及阴性对照序列

Table 1 The sequence of miR-135a/b mimics, miRNA mimic control, 2'-O-methyl (2'-O-Me) modified miR-135a/b inhibitors and miRNA inhibitor control

名 称		序列(5'→3')
miR-135a 模拟物	Sense	UAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGA
	Anti-sense	ACAUAGGAAUAAAAAGCCAUUU
miR-135b 模拟物	Sense	UAUGGCUUUUCAUCCUAUGUGA
	Anti-sense	ACAUAGGAAUGAAAAGCCAUUU
miR 模拟物阴性对照	Sense	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	Anti-sense	ACGUGACACGUUCGGAGAATT
miR-135a 抑制物		UCACAUAGGAAUAAAAAGCCAUU
miR-135b 抑制物		UCACAUAGGAAUGAAAAGCCAUU
miR 抑制物阴性对照		CAGUACUUUUGUGUAGUACAA

6 孔培养板,贴壁后,将 miR-135a/b 模拟物及阴性对照分别转染至 A549/CDDP 细胞中,培养 72 h 后,收集 A549 细胞及转染后的 A549/CDDP 细胞,蛋白裂解液抽提总蛋白,BCA 法测定蛋白质浓度,10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质,以  $\beta$ -tubulin 为内参,检测 A549/CDDP 细胞与母代 A549 细胞抗凋亡蛋白 MCL1 的表达差异,以及转染 miR-135a/b 模拟物 72 h 后 MCL1 的表达差异,MCL1 抗体稀释度为 1:1 000, $\beta$ -tubulin 抗体稀释度为 1:5 000,羊抗兔二抗浓度效价为 1:5 000,运用 Image J 软件对图像进行灰度扫描。

### 1.2.7 Annexin V-FITC 凋亡检测实验

A549/CDDP 细胞以  $6 \times 10^5$  个/孔铺于 6 孔培养板,细胞贴壁后,按 Lipofectamine 2000 说明书,将 miR-135a 模拟物、miR-135b 模拟物及阴性对照分别转染到 A549/CDDP 细胞中,转染 24 h 后,加入终浓度分别为 5、20  $\mu\text{g/ml}$  的 CDDP,继续培养 48 h,消化细胞,加入 Annexin V-FITC 检测试剂,流式细胞仪检测 AnnexinV-FITC-positive-PI-negative 细胞比例。

### 1.3 统计学方法

每组实验至少重复 3 次。由 SPSS11.0 统计软件进行统计分析,计量数据用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两样本均数间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析及  $q'$  检验, $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

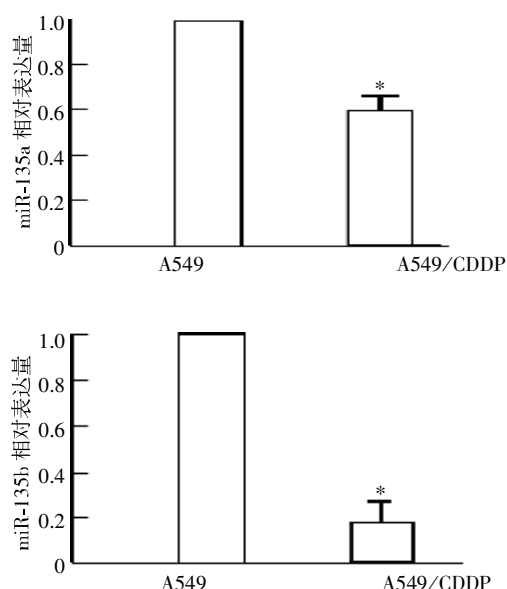
### 2.1 miR-135a/b 在 A549 及 A549/CDDP 细胞中的表达差异

实时荧光定量 PCR 检测结果显示,与母代细胞株 A549 相比,miR-135a、miR-135b 在耐药细胞株 A549/CDDP 中的表达量均降低,下调倍数分别为:

( $1.66 \pm 0.06$ ) 和 ( $5.56 \pm 0.09$ ) 倍(图 1,  $P < 0.05$ )。

### 2.2 miR-135a/b 对 NSCLC 细胞 CDDP 耐药性的影响

MTT 实验显示,与转染阴性对照片段相比,转染 miR-135a 及 miR-135b 模拟物明显增加了 A549/CDDP 细胞对 CDDP 的药物敏感性, $IC_{50}$  值分别为 ( $22.0 \pm 2.0$ )、( $3.4 \pm 1.2$ )、( $4.9 \pm 1.9$ )  $\mu\text{g/ml}$  (图 2A);相反,较转染阴性对照片段而言,在 A549 细胞中分别转入 miR-135a 抑制物、miR-135b 抑制物后,细胞对 CDDP 的耐药性显著增加, $IC_{50}$  值分别



与 A549 细胞比较, \* $P < 0.05$  ( $n = 3$ )。

图 1 实时荧光定量 PCR 检测 miR-135a/b 在 A549/CDDP 细胞及 A549 细胞中的表达差异

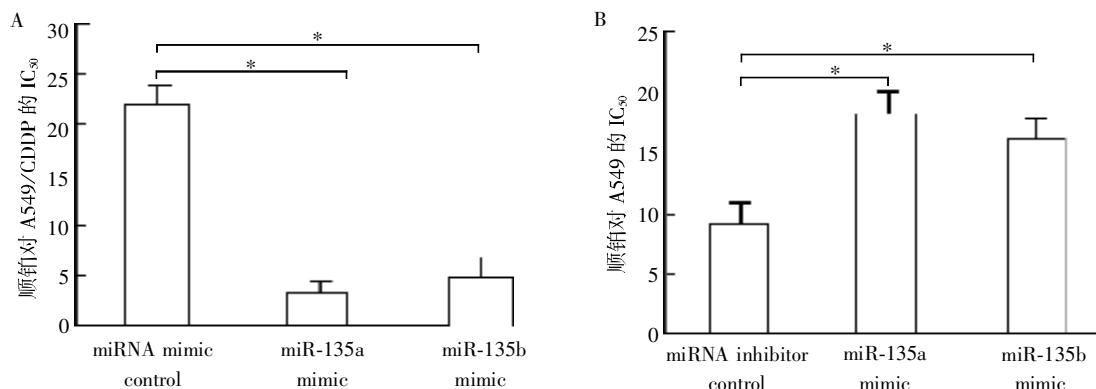
Figure 1 Real-time quantification of miR-135a/b by stem-loop RT-PCR showed that miR-135a/b were downregulated in A549/CDDP cell line compared with A549 cell line

为  $(9.0 \pm 1.8)$ 、 $(18.0 \pm 2.1)$ 、 $(16.0 \pm 1.7)$   $\mu\text{g/ml}$  (图 2B,  $P < 0.05$ )。

### 2.3 miR-135a/b 调控靶基因的验证

TargetScan 预测 MCL1 是 miR-135a/b 的靶基因

(图 3)。在荧光素酶实验中,与转染阴性对照片段的对照组相比,实验组 MCL1-3'-UTR 荧光素酶报告质粒活性显著降低,下调倍数分别为  $(3.33 \pm 0.12)$ 、 $(2.48 \pm 0.09)$  倍(图 4,  $P < 0.05$ )。



A: 转染 miR-135a 模拟物、miR-135b 模拟物的 A549/CDDP 细胞显著减少对顺铂的耐药;B: 转染 miR-135a 抑制物、miR-135b 抑制物的 A549 细胞,对 CDDP 的耐药性明显增加。\* $P < 0.05$  ( $n = 3$ )。

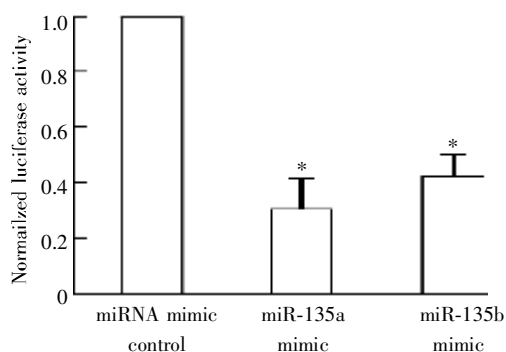
图 2 miR-135a/b 增加 A549/CDDP 细胞对顺铂的敏感性

Figure 2 miR-135a/b sensitized A549/CDDP cells to CDDP

	predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	
Position 2114-2120 of MCL1 3' UTR	5'	...GCCUGCCCAUCUCAGAGCCAUAA...
hsa-miR-135a	3'	AGUGUAUCCUUAUUUUUCGGUAU
Position 2114-2120 of MCL1 3' UTR	5'	...GCCUGCCCAUCUCAGAGCCAUAA...
hsa-miR-135b	3'	AGUGUAUCCUUAUUUUUCGGUAU

图 3 TargetScan 预测显示 MCL1 是 miR-135a/b 的靶基因

Figure3 The conserved target site for miR-135a/b in the 3'UTR of MCL1 by TargetScan prediction



转染荧光素酶报告质粒 pGL3-MCL1-3'-UTR、miR-135a/b 模拟物后的 A549/CDDP 细胞中质粒活性明显降低,与转染对照质粒比较, \* $P < 0.05$  ( $n = 3$ )。

图 4 荧光素酶实验检测转染后 A549/CDDP 细胞质粒活性

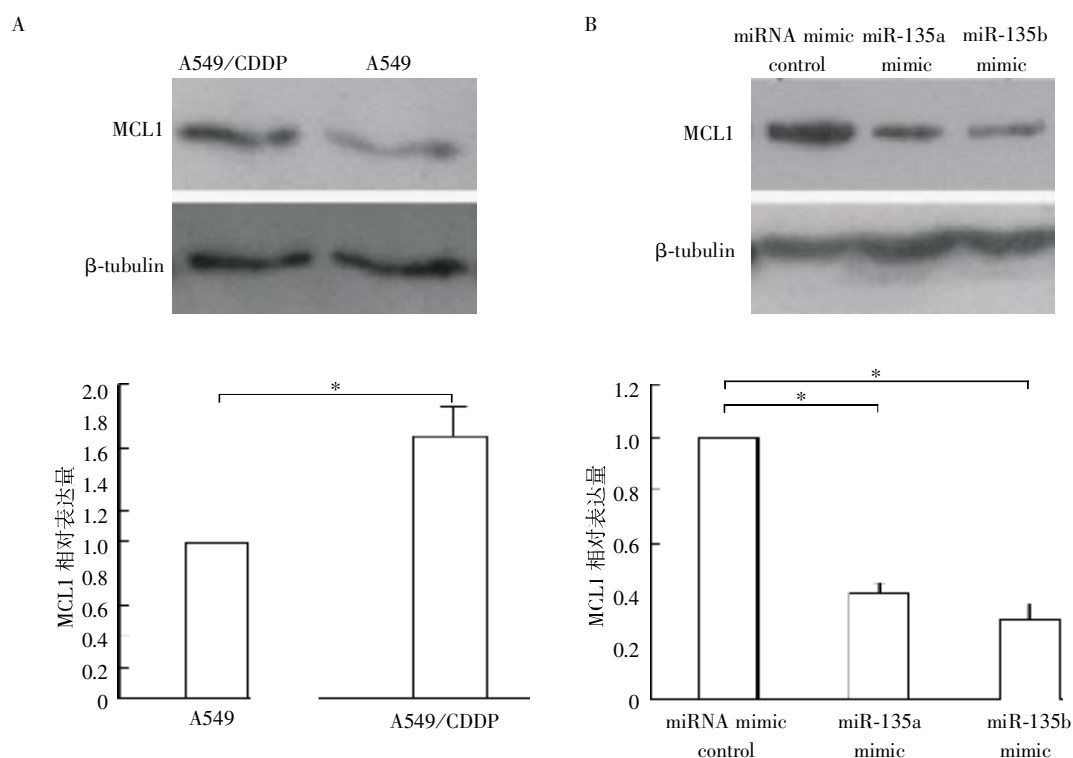
Figure 4 Dual luciferase assay performed in A549/CDDP cells suggested that MCL1 was the target gene of the miR-135a/b

### 2.4 miR-135a/b 对 A549/CDDP 细胞中 MCL1 蛋白表达的影响

与母代细胞 A549 相比, MCL1 蛋白的表达量在耐药细胞 A549/CDDP 中明显增加,上调  $(1.67 \pm 0.20)$  倍(图 5A)。荧光素酶实验提示 MCL1 是 miR-135a/b 的靶基因,故推测 miR-135a/b 可能通过抑制 MCL1 蛋白表达来调控 NSCLC 细胞耐药。实验结果显示,在 A549/CDDP 细胞中转入 miR-135a 模拟物、miR-135b 模拟物、阴性对照片段 72 h 后,实验组 MCL1 蛋白表达量显著低于对照组,下调倍数分别为  $(2.44 \pm 0.04)$ 、 $(3.22 \pm 0.06)$  倍(图 5B,  $P < 0.05$ )。

### 2.5 上调 miR-135a/b 对顺铂诱导 A549/CDDP 细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测显示,转染 miR-135a/b 模拟物



A: 与母代细胞 A549 相比, MCL1 蛋白的表达量在耐药细胞 A549/CDDP 中明显增加; B: 转染 miR-135a 模拟物、miR-135b 模拟物 72 h 后, A549/CDDP 细胞中 MCL1 蛋白表达量显著下降。\* $P < 0.05$  ( $n = 3$ )。

图 5 Western 印迹法检测转染 miR-135a/b 模拟物后 A549/CDDP 细胞中 MCL1 蛋白的表达

Figure 5 Expression of MCL1 protein in A549 /CDDP cells after miR-135a/b mimics transfection detected by Western blot

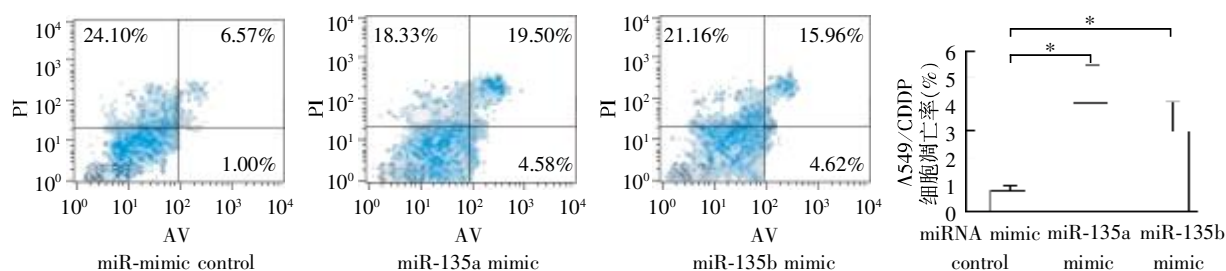
的实验组对 CDDP 诱导的凋亡程度 ( $4.05 \pm 1.42$ )%、( $3.01 \pm 1.14$ )% 显著高于转染阴性对照片段的对照组 ( $0.77 \pm 0.21$ )% (图 6,  $P < 0.05$ )。转染 miR-135a/b 模拟物的实验组对 CDDP 诱导的凋亡程度显著高于转染阴性对照片段的对照组。

### 3 讨论

顺铂作为一种在临床上被广泛应用于包括肺癌在内的多种肿瘤化疗的药物, 已经使用了将近 30 年。然而由于原发性耐药和获得性耐药的发生, 常常

导致肿瘤化疗的失败。研究表明, miRNAs 的异常表达与肿瘤耐药性的产生相关, 而调控 miRNAs 的表达水平在一定程度上能够改变肿瘤细胞对药物的敏感性<sup>[7-12]</sup>; 本研究发现, 相较于肺癌母代细胞而言, 在肺癌耐药细胞中 miR-135a/b 的表达下降, 转染/上调 miR-135a/b 后, 肺癌耐药细胞对顺铂的敏感性提高, 凋亡程度增强, 部分逆转了肺癌 A549/CDDP 细胞的耐药性。

目前已发现的肿瘤耐药机制包括: 肿瘤细胞内药物泵出; 还原型谷胱甘肽及其转移酶过度表达; 拓扑



转染 miR-135a/b 模拟物的 A549/CDDP 细胞对 CDDP 诱导的凋亡程度显著高于转染阴性对照片段的 A549/CDDP 细胞。\* $P < 0.05$  ( $n = 3$ )。

图 6 miR-135a/b 增加 A549/CDDP 细胞对顺铂诱导凋亡的敏感性

Figure 6 miR-135a/b mimics sensitized A549/CDDP cells to CDDP-induced apoptosis

异构酶改变;DNA 损伤修复能力增强;细胞对化疗诱导的凋亡产生抵抗等<sup>[3-6]</sup>。而本实验证实,miR-135a/b 至少在某种程度上通过靶向下调抗凋亡蛋白 MCL1 的表达,从而增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性。

miR-135a 由 MIRN135A1 和 MIRN135A2 两个基因编码,分别位于 3p21.1、12q23.1;miR-135b 编码基因 MIRN135B 位于 1q32.1。TargetScan 数据库预测 MCL1、SMAD5、STAT6 等均是 miR-135a/b 的靶基因。近年来关于 miR-135a/b 调控靶基因的研究报道日渐增多。Wu 等<sup>[13]</sup>发现在恶性脑胶质瘤中,miR-135a 表达量降低程度与病理分级呈正相关,miR-135a 通过调控 STAT6、SMAD5、BMP2 基因引起线粒体依赖的凋亡。此外,Navarro 证实过表达 miR-135a 能减少 JAK2 蛋白的表达,进而抑制霍奇金淋巴瘤细胞的增殖<sup>[14]</sup>。与这些研究相一致,本研究发现 miR-135a/b 能增加肺癌耐药细胞的凋亡,这部分是通过靶向抑制 MCL1 的表达实现的,证实了 TargetScan 的预测。MCL1 作为一种抑制细胞色素 C 释放的线粒体依赖抗凋亡蛋白,在很多肿瘤中过表达,并且在凋亡抵抗的肿瘤耐药过程中发挥了重要作用<sup>[15]</sup>。然而,鉴于 miRNAs 靶基因的多样性,miR-135a/b 的生物学功能在不同细胞中具有明显的差异性。例如 Chen 等<sup>[16]</sup>研究发现,miR-135a 通过靶向调控 HOXA10 促进乳腺癌细胞的侵袭和转移,Matsuyama 等<sup>[17]</sup>提出 miR-135b 影响 NPM-ALK 介导的间变性大细胞淋巴瘤的致瘤性,上调 miR-135b 降低了 Jurkat 细胞的药物敏感性。miR-135a/b 这种在不同种类肿瘤中的功能差异可能取决于其所有不同功能靶基因的综合表达水平<sup>[18]</sup>。

目前关于肺癌耐药细胞中 miR-135a/b 异常表达的上游调控机制研究仍然很少。本研究发现 miR-135a/b 在耐药细胞 A549/CDDP 的表达量低于其母代细胞。通过查询 UCSC 数据库(<http://genome.ucsc.edu>)发现,在多种肿瘤细胞中存在 MIRN135A1、MIRN135A2、MIRN135B 基因的启动子区域 CpG 岛甲基化现象,推测启动子甲基化程度的差异可能导致了 miR-135a/b 在耐药细胞中的下调,但是确实的机制需要进一步的实验来阐明。

近几年针对肿瘤耐药现象,有研究者提出寻找耐药逆转剂的策略,但是因其严重的不良反应和影响抗肿瘤药物药代动力学等问题,尚未有一种药物开发成功<sup>[19]</sup>。而本研究发现,通过上调低表达的 miRNA 可增加肿瘤细胞的药物敏感性,这可能是将来提高化疗疗效的一种途径。

综上所述,本研究首次发现了 miR-135a/b 通过靶向调控 MCL1 蛋白表达增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性和凋亡。肿瘤耐药与基因表观遗传学水平的变异密切相关,miRNAs 是参与其中的重要方面,但 miR-135a/b 的上游调控机制尚不明确,有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Aigner A. MicroRNAs (miRNAs) in cancer invasion and metastasis;therapeutic approaches based on metastasis-related miRNAs [J]. J Mol Med (Berl),2011,89 (5): 445-457
- [2] Cho WC. MicroRNAs:potential biomarkers for cancer diagnosis,prognosis and targets for therapy[J]. Int J Biochem Cell Biol,2010,42(8):1273-1281
- [3] Szakacs G,Paterson JK,Ludwig JA, et al. Targeting multidrug resistance in cancer[J]. Nat Rev Drug Disc,2006, 5(3):219-234
- [4] Rabik CA,Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents[J]. Cancer Treat Rev,2007,33(1):9-23
- [5] Johnstone RW,Ruefli AA,Lowe SW. Apoptosis;a link between cancer genetics and chemotherapy[J]. Cell,2002, 108(2):153-164
- [6] Zhang K,Mack P,Wong KP. Glutathione-related mechanisms in cellular resistance to anticancer drugs[J]. Int J Oncol,1998,12(4):871-882
- [7] Chen J,Tian W,Cai H, et al. Down-regulation of microRNA-200c is associated with drug resistance? in human breast cancer [J]. Med Oncol,2011,29(4):2527-2534
- [8] Xu K,Liang X,Cui D, et al. miR-1915 inhibits Bcl-2 to modulate multidrug resistance by increasing drug-sensitivity in human colorectal carcinoma cells[J]. Mol Carcinog,2013,52(1):70-78
- [9] Fu X,Tian J,Zhang L, et al. Involvement of microRNA-93,a new regulator of PTEN/Akt signaling pathway,in regulation of chemotherapeutic drug cisplatin chemosensitivity in ovarian cancer cells[J]. FEBS Lett,2012,586 (9):1279-1286
- [10] Zhang S,Wan Y,Pan T,et al. MicroRNA-21 inhibitor sensitizes human glioblastoma U251 stem cells to chemotherapeutic drug Temozolomide [J]. J Mol Neurosci,2012, 47(2):346-356
- [11] Li H,Hui L,Xu W. miR-181a sensitizes a multidrug-resistant leukemia cell line K562/A02 to daunorubicin by targeting BCL-2 [J]. Acta Biochim Biophys Sin,2012,44 (3):269-277
- [12] Ru P,Steele R,Hsueh EC, et al. Anti-miR-203 upregulates SOCS3 expression in breast cancer cells and en-

- hances cisplatin chemosensitivity[J]. Genes Cancer, 2011,2(7):720-727
- [13] Wu S,Lin Y,Xu D, et al. MiR-135a functions as a selective killer of malignant glioma[J]. Oncogene,2011,31(34):3866-3874
- [14] Navarro A,Diaz T,Martinez A, et al. Regulation of JAK2 by miR-135a:prognostic impact in classic Hodgkin lymphoma [J]. Blood,2009,114(14):2945-2951
- [15] Quinn BA,Dash R,Azab B, et al. Targeting Mcl-1 for the therapy of cancer[J]. Expert Opin Investig Drugs,2011,20(10):1397-1411
- [16] Chen Y,Zhang J,Wang H, et al. miRNA-135a promotes breast cancer cell migration and invasion by targeting HOXA10 [J]. BMC Cancer,2012,12:111
- [17] Matsuyama H,Suzuki HI,Nishimori H, et al. miR-135b mediates NPM-ALK-driven oncogenicity and renders IL-17-producing immunophenotype to anaplastic large cell lymphoma[J]. Blood,2011,118(26):6881-6892
- [18] Hummel R,Hussey DJ,Haier J. MicroRNAs:predictors and modifiers of chemo- and radiotherapy in different tumour types[J]. Eur J Cancer,2010,46(2):298-311
- [19] Borowski E,Bontemps-Gracz MM,Piwkowska A. Strategies for overcoming ABC-transporters-mediated multidrug resistance (MDR) of tumor cells [J]. Acta Biochim Pol, 2005,52(3):609-627
- [收稿日期] 2012-11-24

## 科技出版物中阿拉伯数字的书写规则

1. 为使多位数字便于阅读,可将数字分成组,从小数点起,向左或向右每 3 位分成 1 组,组间留空隙(约为一个汉字的 1/4),不得用逗号、圆点或其他方式。
2. 纯小数必须写出小数点前用以定位的“0”。
3. 阿拉伯数字不得与除万、亿及法定计量单位词头外的汉字数字连用。如 453 000 000 可写成 45 300 万或 4.53 亿或 4 亿 5 300 万,但不能写成 4 亿 5 千 3 百万;三千元写成 3 000 元或 0.3 万元,但不能写成 3 千元。
4. 一个用阿拉伯数字书写的数值,包括小数与百分数,不能拆开转行。
5. 表示用阿拉伯数字书写的数值范围,使用波浪号“~”。如 10%~20%, $(2\sim6)\times 10^3$  或  $2\times 10^3\sim 6\times 10^3$ ,30~40 km。

(本刊编辑:接雅俐)