

shRNA 干扰沉默 RNPC1a 基因对 SUM1315 细胞增殖、迁移及侵袭的影响

梁秀清,潘红,周文斌,薛金秋,成琳,王莹,丁强*

(南京医科大学第一附属医院乳腺外科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究 RNPC1a 基因对 SUM1315 细胞增殖、迁移及侵袭的影响。方法:应用脂质体技术将 RNPC1a 短发夹 RNA (shRNA) 转染至 SUM1315 细胞,通过嘌呤霉素筛选出稳定细胞株,采用实时荧光定量 PCR 和 Western blot 方法检测其干涉效率,并用噻唑蓝 (MTT) 比色法检测细胞的增殖情况,划痕实验及 Transwell 细胞侵袭实验检测其迁移和侵袭能力。结果:经 qRT-PCR 和 Western blot 方法证实稳定转染 RNPC1a shRNA 的 SUM1315 细胞中 RNPC1a 的 mRNA 和蛋白水平较对照组均明显下降 ($P < 0.05$), 同时 RNPC1a 干扰后细胞的增殖、迁移及侵袭能力均减弱 ($P < 0.05$)。结论:RNPC1a shRNA 能有效地降低 SUM1315 细胞中 RNPC1a 基因的表达, RNPC1a 基因沉默可以抑制 SUM1315 细胞的增殖、迁移及侵袭。

[关键词] shRNA 干扰; RNPC1a 基因; 生物学功能

[中图分类号] Q813

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)07-861-06

doi:10.7655/NYDXBNS20130701

Effect of shRNA interference targeting RNPC1a gene on proliferation, migration and invasion of cell line SUM1315

Liang Xiuqing, Pan Hong, Zhou Wenbin, Xue Jinqiu, Cheng Lin, Wang Ying, Ding Qiang*

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

[Abstract] **Objective:** To investigate inhibitory effect of RNPC1a short hairpin RNA (shRNA) on the expression of RNPC1a in cell line SUM1315 and determine the effect of RNPC1a down-expression on the proliferation, migration and invasion of SUM1315 cells. **Methods:** The RNPC1a shRNA was transfected into SUM1315 cells with lipofectine. Puromycin was used for selecting stable cell line. Real-time PCR and Western blot were performed to analyze the mRNA and protein expression of RNPC1a in SUM1315 cells. Cell proliferation, migration and invasion were assessed by methyl thiazol tetrazolium (MTT), wound-healing experiment and Matrigel invasion assay. **Results:** The mRNA and protein expressions of RNPC1a gene in the shRNA-RNPC1a-SUM1315 group were significantly lower than those in the control group, confirmed by RT-PCR and Western blot, respectively ($P < 0.05$). The proliferation of SUM1315 cells was markedly inhibited by RNPC1a shRNA with the inhibition rate at 26.5% ($P < 0.05$), while scratch repair time extended. Meantime transwell cell invasion assay showed that the invasive ability of SUM1315 cell was also inhibited in the shRNA-RNPC1a-SUM1315 group (23 ± 7), compared with the SUM1315 group (213 ± 12) ($P < 0.01$). **Conclusion:** Down-regulation of RNPC1a by RNPC1a shRNA can inhibit the proliferation, migration and invasion of SUM1315 cells.

[Key words] shRNA interference; RNPC1a gene; biological function

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(7): 861-866]

人 RNPC1 基因是近年来新发现的与肿瘤发生发展有密切关系的基因, 它能编码两种亚基, 其中仅

RNPC1a 具有生物学功能, 通过调节多个靶基因 mRNA 的稳定性发挥相应的作用, 如通过稳定 p21 mRNA 来调节细胞周期^[1-2], 抑制 p63 表达促进细胞分化^[3], 同时也是 p53 和 MDM2 的靶基因和负性调节因子^[4]。人 RNPC1 基因位于染色体 20q13.3, 该位点通常在乳腺癌^[5]、前列腺癌^[6]、卵巢癌^[7]、结直肠

[基金项目] 国家自然科学基金资助(81272916)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: dqnj2000@yahoo.com.cn

癌^[8]和慢性淋巴细胞白血病^[9]中扩增。另外已经发现 RNPC1 在淋巴瘤^[10]中表达量较高,而且 RNPC1 高表达能促进结肠腺瘤向腺癌转变^[11]。然而, RNPC1a 在乳腺癌细胞中的表达及功能尚不清楚。本研究采用稳定转染技术降低人乳腺癌细胞 SUM1315 中 RNPC1a 的表达水平,并采用 MTT 法、划痕实验及 Transwell 细胞侵袭实验观察下调 RNPC1a 基因的表达对细胞增殖活性、迁移及侵袭能力的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

乳腺癌细胞株 SUM1315 由美国密歇根大学的 Stephen Ethier 教授惠赠,干扰质粒短发夹 RNA (shRNA) 由美国 Origen 公司设计合成,序列为 5'-GGCACCCTTTCGTGCAGTACCAGCGCC-3',其表达载体 pGFP-V-RS 携带卡那霉素和嘌呤霉素抗性及绿色荧光蛋白。Plasmid mini kit I 质粒提取试剂盒(美国 Omega 公司),阳离子脂质体转染试剂 Lipofectamine™ 2000、卡那霉素、嘌呤霉素(美国 Invitrogen 公司),兔抗人 RNPC1 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),感受态细胞 DH5 α 、小鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体、辣根过氧化物标记的绵羊抗兔 IgG 抗体、辣根过氧化物标记的兔抗小鼠 IgG 抗体、蛋白裂解液 RIPA、蛋白酶抑制剂 PMSF、RNase Free H₂O、一抗稀释液、ECL 液、0.25%胰酶(上海碧云天公司),RNA 提取试剂盒、RNA 扩增试剂盒(日本 TaKaRa 公司),PVDF 膜(美国 Millipore 公司),二甲基亚砜(DMSO,美国 Sigma 公司),DMEM 培养基、胎牛血清、青链霉素双抗(美国 Gibco 公司),所有引物均由 Invitrogen 公司上海部合成。StepOne 定量 PCR 仪(ABI StepOnePlus™,美国 ABI 公司),Image lab software、酶标仪(美国 Bio-Rad 公司),Nanodrop 分光光度计(美国 Thermo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 干扰质粒 shRNA 扩增

根据 RNPC1a 基因序列(NM_017495.5)设计合成 RNPC1a 干扰序列。将质粒转化至感受态细胞 DH5 α ,并在含 25 μ g/ml 卡那霉素的 LB 平板涂板,37 $^{\circ}$ C 过夜后挑单克隆,再接种至含卡那霉素的 LB 培养基中,37 $^{\circ}$ C,200 r/min,振荡过夜。次日将少量菌液用 10%甘油混匀保存在-70 $^{\circ}$ C 冰箱,同时提取并纯化质粒,步骤均按照 Plasmid mini kit I 质粒提取试剂盒说明书操作,经 Nanodrop 分光光度计测定浓

度后将质粒贮存在-20 $^{\circ}$ C 备用。

1.2.2 干扰质粒转染并筛选稳定表达细胞株

细胞培养:SUM1315 细胞用含 10%胎牛血清和青链霉素的 DMEM 高糖培养基在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 的恒温培养箱中培养,倒置相差显微镜观察细胞形态。

确定合适的嘌呤霉素筛选浓度:取对数生长期的细胞,用 0.25%胰酶消化,1~2 min 后用含 10% FBS 的 DMEM 培养基终止,1 000 r/min 离心 3 min,弃上清,用含 10%胎牛血清、无抗生素的 DMEM 培养基重悬细胞,计数细胞浓度,接种合适的细胞数,培养 24 h,待细胞密度达到 80%~90%时,更换为含有嘌呤霉素的培养基,嘌呤霉素的浓度为 0、0.125、0.250、0.500、1.000、2.000 μ g/ml,每天换液。培养 3~5 d 后,以细胞全部死亡的最低浓度为最适筛选浓度。

细胞转染与筛选:待细胞处于对数生长期时,接种至 6 孔板中,采用 count star 细胞计数器计数细胞数目,每孔达到约 2×10^5 个/ml 细胞,终体积 2 ml,培养 20~24 h,细胞密度约 70%~80%时进行转染。转染过程严格按照 Lipofectamine™ 2000 说明书进行:将 1 μ g 质粒和 3 μ l Lipofectamine™ 2000 分别加入 250 μ l 无血清无抗生素的 DMEM 培养基中,室温静置 5 min;然后将两者轻轻混合,室温静置 20 min。同时吸掉 6 孔板中的培养基,并用 PBS 洗 2 遍,加入上述混合液,再用无血清无抗生素的 DMEM 培养基将各孔补足 2 ml,置于恒温培养箱中培养。转染 6 h 后,更换为含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基。培养 24~48 h 后,更换含有 0.5 μ g/ml 嘌呤霉素的培养基,培养 2 周筛选稳定细胞。实验分成 3 组:未转染的空白对照组、转染空载体的阴性对照组和转染干扰质粒的实验组。

1.2.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 RNPC1a 在 mRNA 水平的表达

当细胞密度达到 80%~90%时,按照 TRIzol Reagent 说明书提取其总 RNA,并将所得的 RNA 溶解于 RNase Free H₂O。经 Nanodrop 分光光度计测量 RNA 浓度及纯度后,依据 PrimeScript® RT Master Mix Perfect Real Time 说明书各取 1 μ g 总 RNA 作为反转录模板,产物 cDNA 再根据美国 ABI 公司 SYBR®Premix Ex Taq™ 说明书进行 qRT-PCR 操作。反应体系为 cDNA 2.0 μ l、Mix 10.0 μ l、10 μ mol/L 的上下游引物各 0.4 μ l、Dye 0.4 μ l、ddH₂O 6.8 μ l。扩增条件为 95 $^{\circ}$ C 变性 1 min,随后 95 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 30 s 循环 40 次。实验过程及数据储存与分析均由美国 ABI 公司 StepOnePlus™ 完成。用 β -肌动

蛋白(β -actin)作为内参,每个样品设 3 个复孔,取平均值,实验重复 2 次。反应结束后确认其扩增曲线和熔解曲线,检测样品目的基因的相对表达量用样本的阈循环值(threshold cycle,Ct 值)方法计算。 $\Delta Ct = Ct_{\text{RNPC1a}} - Ct_{\text{GAPDH}}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{si-RNPC1a}} - \Delta Ct_{\text{si-NC}}$;目的基因 mRNA 表达差别倍数以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 来表示并作图。抑制效率(%)=(1-实验组表达量/空白对照组表达量) $\times 100\%$ 。引物均由上海英骏生物技术有限公司设计和合成,基因 RNPC1a 的上游引物 5'-CTGCCG-TACCACACTACCG-3',下游引物 5'-ATGATGGGT-TCGGTCTTTG-3'; β -actin 的上游引物 5'-GATGAC-CCAGATCATGTTTGA-3',下游引物 5'-ATGAGGTA-GTCAGTCAGGTCC-3'。

1.2.4 Western blot 检测 RNPC1a 蛋白水平的表达

收集对数生长期的细胞,按照 RIPA 裂解液说明书提取总蛋白,用二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量法进行定量后,加入 $5 \times$ Protein Loading Buffer,煮沸 5 min,使蛋白充分变性后 -70°C 保存备用。根据 GAPDH 调整上样量,每个泳道蛋白上样量为 40 μg ,进行 12%的聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。以湿转法将蛋白转移至 0.45 μm 的 PVDF 膜上,用含 5%脱脂奶粉的封闭液室温封闭 2 h,分别加入用一抗稀释液配制的兔抗人 RNPC1 多克隆抗体(1:200)和小鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体(1:1 000), 4°C 摇床反应过夜。次日用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,分别加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(1:1 000)和辣根过氧化物酶标记的兔抗小鼠 IgG 抗体(1:1 000),室温摇床反应 2 h,洗膜后,加入 ECL 显色液,置于 Image lab software 仪器中曝光,记录并采用 Image-Pro Plus 检测分析比较各组灰度值。

1.2.5 噻唑蓝(MTT)检测细胞的增殖情况

取对数生长期的细胞,接种于 96 孔板,每孔细胞总数达到 2×10^3 个,终体积 200 μl ,分别在培养 24、48、72、96 h 后,每孔加入 20 μl MTT, 37°C 避光培养 4 h,小心吸尽上清液,加入 DMSO 150 μl ,避光震荡 10 min 至甲臞完全溶解,酶标仪读取 492 nm 时的吸光度值,每组 6 个复孔,计算平均值,实验重复 3 次,按以下公式计算细胞抑制率:抑制率(%)=(1-实验组与对照组吸光度比值) $\times 100\%$ 。

1.2.6 细胞划痕法检测细胞迁移情况

在划痕前 1 d 接种对数生长期细胞于 6 孔板中,次日待细胞汇合度达 100%后,使用 200 μl pipete tip 沿培养板底部划出均匀的竖线,用无血清培养基洗涤 3 次,更换新的培养基(含 1%胎牛血

清),在倒置显微镜下拍照,每组选 3 个位点,分别记录同一位点细胞在 0、12、24 h 的迁移情况。采用 Image-Pro Plus 测量划痕宽度,计算划痕愈合程度=(初始宽度-不同时间测量宽度)/初始宽度 $\times 100\%$ 。实验重复 3 次。

1.2.7 Transwell 侵袭小室测定细胞侵袭情况

Transwell 小室中加入 50 μl ECM 胶(用 10 倍体积的无血清 DMEM 稀释),过夜凝固。取对数生长期细胞常规消化离心后用无血清培养基重悬并计数,上室中加入 150 μl 细胞悬浮液,调整细胞数为 5.0×10^4 个/孔,在下室中加入 500 μl 含 10% FBS 的 DMEM 培养基。每组设 3 个平行样孔,置 37°C 、5% CO_2 细胞培养箱内培养 24 h。小心取出上室,吸尽上室内液体,用湿棉签擦去膜表面未穿膜的细胞,用 PBS 小心洗涤 2 次,风干后以无水乙醇固定,结晶紫染色。显微镜下观察穿膜细胞,并随机取高倍镜下 5 个视野计数取均值。实验重复 3 次。

1.3 统计学方法

采用 SPSS18.0 统计学软件进行分析,数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两因素方差分析比较不同时间点的组间差异,组间两两比较采用 SNK- q 检验, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 干扰质粒在 SUM1315 细胞中的转染和表达

由于本实验中干扰质粒的表达载体 pGFP-V-RS 携带有绿色荧光蛋白基因,故可以通过观察荧光强度检测转染效率。培养筛选后的稳定细胞,倒置荧光显微镜观察显示:实验组和阴性对照组细胞中绿色荧光蛋白的表达率达 100%(图 1)。

2.2 qRT-PCR 检测 RNPC1a mRNA 水平的干扰效果

将稳定转染的细胞接种至 6 孔板,当细胞生长达到对数期时,提取其总 RNA,经过 qRT-PCR 检测显示,与空白对照组和阴性对照组比较,实验组对 RNPC1a mRNA 表达的抑制率达 80%($P < 0.01$,图 2),与对照组之间没有明显差异($P > 0.05$)。

2.3 Western blot 检测 RNPC1a 蛋白水平干扰效果

将稳定转染的细胞接种至 6 孔板,培养至对数生长期时,提取总蛋白,通过 Western blot 检测 RNPC1a shRNA 稳定转染后细胞中 RNPC1a 蛋白的表达,测定各组蛋白灰度值,并以空白对照组为参照,比较各组灰度值的差异,结果如图 3 所示,与对照组比较,实验组的蛋白水平明显下降($P < 0.01$)。

2.4 RNPC1a 表达下调抑制 SUM1315 细胞增殖

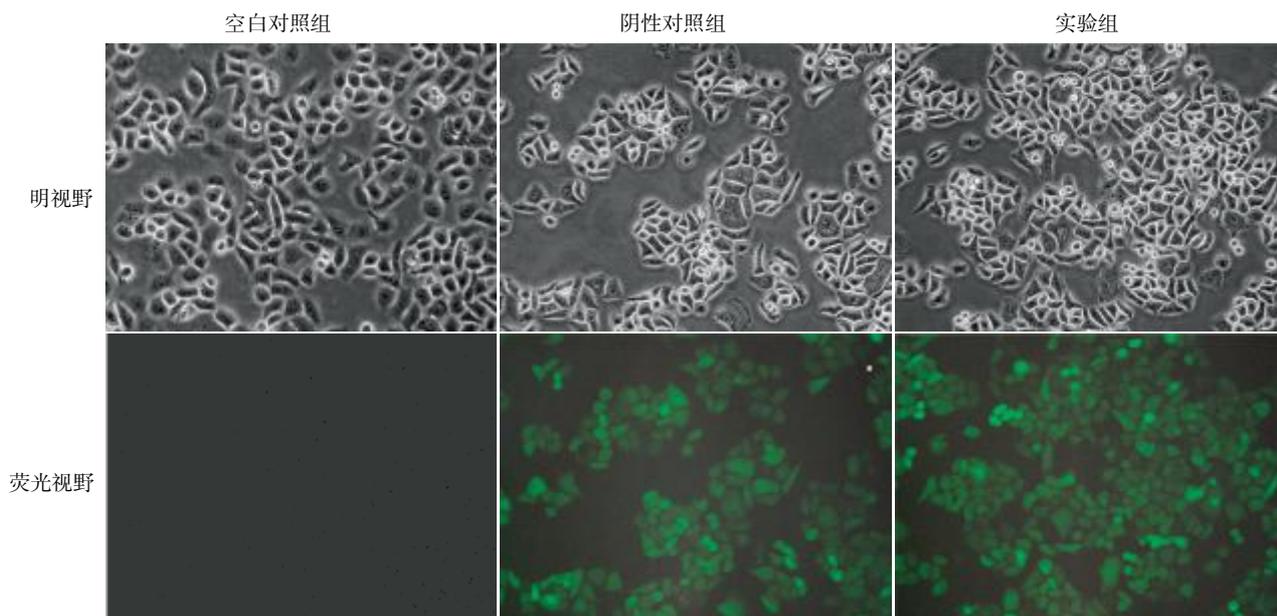
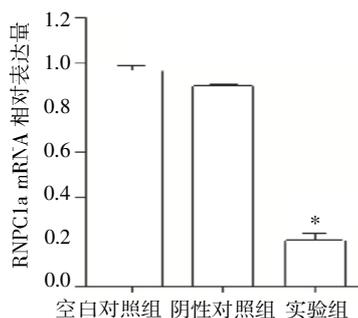


图1 荧光显微镜观察绿色荧光蛋白的表达($\times 200$)

Figure 1 Expressions of green fluorescent proteins were observed by fluorescence microscopy ($\times 200$)



与2个对照组比较, $*P < 0.01$ 。

图2 qRT-PCR 检测 RNPC1a mRNA 表达

Figure 2 Expression of RNPC1a mRNA was detected by qRT-PCR

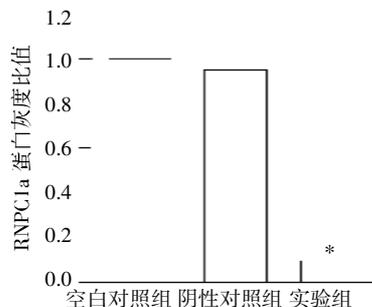
如图4所示,空白对照组与阴性对照组之间差异没有统计学意义($P > 0.05$)。与对照组相比较,实验组细胞增殖活力较低,96 h的抑制率达到26.5%,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示下调RNPC1a的表达能抑制SUM1315细胞的增殖活性。

2.5 RNPC1a 表达下调抑制 SUM1315 细胞迁移

观察划痕后12 h和24 h的修复情况,发现空白对照组和阴性对照组的愈合明显快于实验组。24 h时空白组愈合程度已达到90%,阴性对照组愈合近70%,而实验组愈合程度约20%,实验组与对照组间的差异有统计学意义($P < 0.01$,图5),而两对照组之间无明显差异($P > 0.05$)。

2.6 RNPC1a 表达下调抑制 SUM1315 细胞侵袭

结晶紫染色风干后,在倒置显微镜下观察各组



与2个对照组比较, $*P < 0.01$ 。

图3 Western blot 检测 RNPC1a 蛋白表达

Figure 3 Expressions of RNPC1a proteins were detected by Western blot

穿膜细胞数,发现实验组穿膜细胞数为(23 ± 7)个,空白对照组为(213 ± 12)个,阴性对照组为(183 ± 15)个。与对照组相比,实验组细胞的侵袭能力显著减弱($P < 0.01$,图6)。

3 讨论

SUM1315 细胞是从乳腺浸润性导管癌患者的骨转移肿瘤中分离并培养的细胞株,是一种具有种

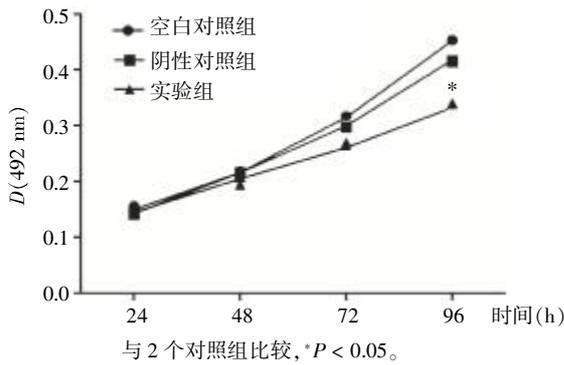


图 4 RNPC1a 表达下调对 SUM1315 细胞增殖的影响

Figure 4 Effects of RNPC1a down-regulation on SUM1315 cell proliferation

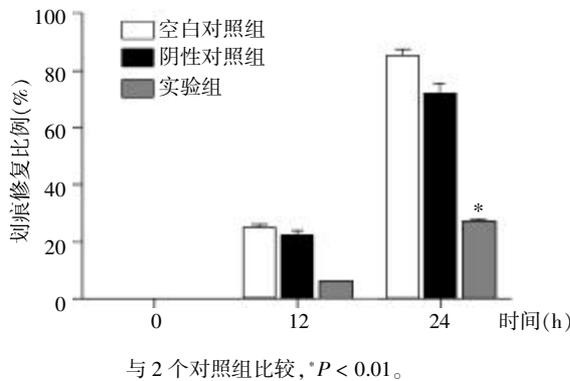


图 5 RNPC1a 表达下调对 SUM1315 细胞迁移的影响

Figure 5 Effects of RNPC1a down-regulation on SUM1315 cell migration

属特异性的骨转移细胞。Wang 等^[12]的研究发现 SUM1315 具有 p53 基因突变、CD44⁺CD24^{-low} 细胞比例大等特征,并与其高度恶性、侵袭性强且极易转移等特性有关;同时 SUM1315 雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)均为阴性,而人表皮生长因子受体 2 (Her2/Neu) 却扩增的特点也是其促进肿瘤复发转移的因素之一^[13]。除此以外,本研究发现 RNPC1a 基因也参与促进 SUM1315 细胞增殖、迁移和侵袭。

RNPC1 基因也叫 RBM38,属于 RNA 结合蛋白家族成员,它能编码 2 种亚基,即 RNPC1a 和 RNPC1b。前者是带有 239 个氨基酸的大亚基,后者仅带有的 121 个氨基酸与前者的 N-末端区域一致。两者都包含一个标准的 RNA 识别位点,即 RRM(氨基酸 35~107),能与其靶基因识别并结合,但只有 RNPC1a 能发挥其相应的生物学功能^[1]。此外,RNPC1a 既是 p53 和 HuR 的靶基因,又能调节 p53 家族(p53、p63、p73)、HuR 和 MDM2 等的表达。它通过与其靶基因 3'非编码区(3'UTR)上的 AU-/U-/CU-丰富元件结合来调节它们 mRNA 的稳定性^[4]。目前的研究报道

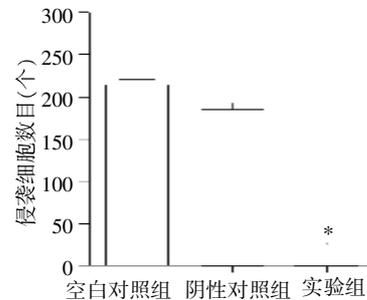
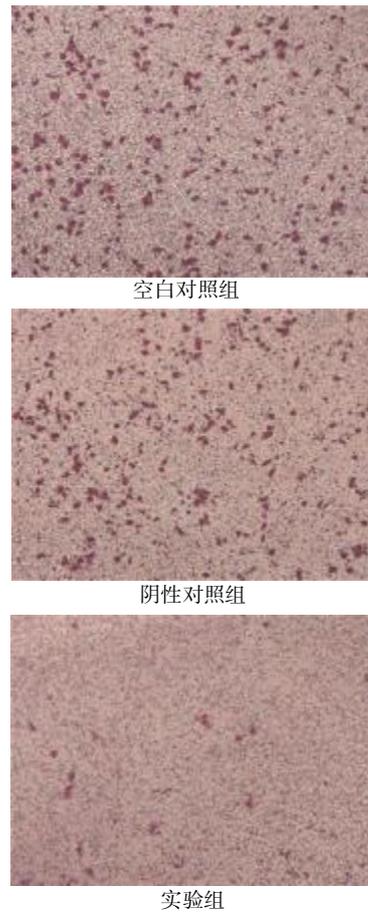


图 6 RNPC1a 表达下调对 SUM1315 细胞侵袭的影响

Figure 6 Effects of RNPC1a down-regulation on SUM1315 cell invasion

均认为,RNPC1a 介导调节的靶基因不同,其相应的机制和表现出来的生物学功能也会不同^[14]。例如,RNPC1a 能稳定 HuR mRNA 并协同 HuR 抑制细胞增殖^[4],并通过调节 p21 mRNA 稳定性使细胞周期停止在 G1^[1-2];然而,RNPC1a 也能通过抑制野生型 p53 的翻译参与淋巴瘤的发生与发展^[10]。

RNPC1a 是新近发现的肿瘤相关基因,到目前为止,关于 RNPC1a 基因的具体作用机制及功能尚未达成一致意见。本研究选取的 SUM1315 细胞恶性

程度比较高、具有较强侵袭和骨转移能力。SUM1315细胞较强的侵袭和骨转移能力与基质金属蛋白酶家族(MMPs)表达上调有关。Kwon等^[15]的研究结果表明Gli1能通过上调MMP-11促进SUM1315细胞侵袭和转移,但沉默MMP-11后能消除Gli1的促进作用,这说明MMP-11在Gli1促进SUM1315细胞侵袭转移过程起关键作用。同时Taubenberger等^[16]提出MMP-2和MMP-9能协同 β 1-integrin促进SUM1315细胞与人成骨细胞黏附,而人成骨细胞分泌的细胞外基质与细胞转移至骨并在骨定居生长密切相关。本研究通过shRNA干扰SUM1315细胞中RNPC1a的表达,并用MTT法、划痕实验和细胞侵袭实验检测细胞增殖、迁移及侵袭情况。结果显示,RNPC1a shRNA能有效降低细胞中RNPC1a mRNA和蛋白质的表达,与对照组相比较,RNPC1a表达沉默后可抑制SUM1315细胞增殖,96 h的抑制率达到26.5%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,划痕实验和细胞侵袭实验也证实RNPC1a的表达下调能显著抑制SUM1315细胞迁移和侵袭($P < 0.01$)。但是RNPC1a促进SUM1315增殖及侵袭转移的作用是否与MMPs有关还有待于进一步研究。另外,由于RNPC1a能与3'UTR带有AU-/U-/CU-丰富元件的基因广泛结合,进而调节该靶基因的功能,所以可能会表现出多种生物学行为。

本研究结果提示RNPC1a的shRNA能有效降低RNPC1a基因的表达,同时RNPC1a基因下调能抑制SUM1315细胞的增殖、迁移及侵袭。但该结果是否具有广谱性以及其内在的作用机制则需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Shu L, Yan W, Chen X. RNPC1, an RNA-binding protein and a target of the p53 family, is required for maintaining the stability of the basal and stress-induced p21 transcript[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(21): 2961-2972
- [2] Cho SJ, Zhang J, Chen X. RNPC1 modulates the RNA-binding activity of, and cooperates with, HuR to regulate p21 mRNA stability [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(7): 2256-2267
- [3] Zhang J, Cho SJ, Chen X. RNPC1, an RNA-binding protein and a target of the p53 family, regulates p63 expression through mRNA stability[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(21): 9614-9619
- [4] Cho SJ, Jung YS, Zhang J, et al. The RNA-binding protein RNPC1 stabilizes the mRNA encoding the RNA-binding protein HuR and cooperates with HuR to suppress cell proliferation[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(18): 14535-14544
- [5] Ginestier C, Cervera N, Finetti P, et al. Prognosis and gene expression profiling of 20q13-amplified breast cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(15): 4533-4544
- [6] Zheng SL, Xu J, Isaacs SD, et al. Evidence for a prostate cancer linkage to chromosome 20 in 159 hereditary prostate cancer families [J]. *Hum Genet*, 2001, 108(5): 430-435
- [7] Tanner MM, Grenman S, Koul A, et al. Frequent amplification of chromosomal region 20q12-q13 in ovarian cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(5): 1833-1839
- [8] Knosel T, Schluns K, Stein U, et al. Genetic imbalances with impact on survival in colorectal cancer patients[J]. *Histopathology*, 2003, 43(4): 323-331
- [9] Krackhardt AM, Witzens M, Harig S, et al. Identification of tumor-associated antigens in chronic lymphocytic leukemia by SEREX[J]. *Blood*, 2002, 100(6): 2123-2131
- [10] Zhang J, Cho SJ, Shu L, et al. Translational repression of p53 by RNPC1, a p53 target overexpressed in lymphomas [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(14): 1528-1543
- [11] Carvalho B, Postma C, Mongera S, et al. Multiple putative oncogenes at the chromosome 20q amplicon contribute to colorectal adenoma to carcinoma progression [J]. *Gut*, 2009, 58(1): 79-89
- [12] Wang L, Zhang D, Zhang C, et al. A microRNA expression signature characterizing the properties of tumor-initiating cells for breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2012, 3(1): 119-124
- [13] Xia TS, Wang GZ, Ding Q, et al. Bone metastasis in a novel breast cancer mouse model containing human breast and human bone [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 132(2): 471-486
- [14] Xu E, Zhang J, Chen X. MDM2 expression is repressed by the RNA-binding protein RNPC1 via mRNA stability[J]. *Oncogene*, 2012, 32(17): 2169-2178
- [15] Kwon YJ, Hurst DR, Steg AD, et al. Gli1 enhances migration and invasion via up-regulation of MMP-11 and promotes metastasis in ERalpha negative breast cancer cell lines[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2011, 28(5): 437-449
- [16] Taubenberger AV, Quent VM, Thibaudeau L, et al. Delimiting breast cancer cell interactions with engineered bone microenvironments[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(6): 1399-1411

[收稿日期] 2013-01-06