

miR-194对非小细胞肺癌A549/DDP细胞顺铂耐药性的影响

徐江浩^{1,2}, 刘晶¹, 王鹤¹, 万里¹, 杨育才¹, 王朝霞^{1*}

(¹南京医科大学第二附属医院肿瘤科, 江苏 南京 210011; ²南京医科大学第一临床医学院临床医学系, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨 microRNA-194(miR-194)对非小细胞肺癌 A549/DDP 细胞顺铂耐药性的影响及其可能的作用机制。方法:采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测非小细胞肺癌耐药细胞 A549/DDP 及其亲本细胞株 A549 中 miR-194 的表达差异,并在 A549/DDP 细胞中转染 miR-194-inhibitor 后检测 miR-194 的表达变化;应用 MTT 法、克隆形成实验、流式细胞术检测转染后 A549/DDP 细胞对 DDP 的敏感性、细胞增殖能力及凋亡变化;Western blot 检测转染后 A549/DDP 细胞中 Bax 和 Bcl-2 的表达变化。结果:miR-194 在耐药细胞 A549/DDP 中的表达量显著高于其亲本细胞株 A549 ($P < 0.05$),A549/DDP 在转染 miR-194-inhibitor 24 h 后 miR-194 的表达水平较对照组显著下降($P < 0.05$)。抑制 miR-194 表达后,相对于对照组,DDP 对转染 miR-194-inhibitor 的 A549/DDP 细胞的半数抑制浓度(half inhibition concentration, IC_{50})减低($P < 0.05$),转染 miR-194-inhibitor 的 A549/DDP 细胞增殖能力减弱,经 DDP 处理后凋亡细胞增多($P < 0.05$)。Western blot 结果显示,与对照组相比,转染 miR-194-inhibitor 的 A549/DDP 细胞 Bax 表达水平升高,Bcl-2 表达水平降低。结论:miR-194 可能通过抑制细胞凋亡,上调 Bcl-2 蛋白及下调 Bax 蛋白表达而增加 A549/DDP 细胞对 DDP 的耐药性,抑制 miR-194 的表达可逆转 A549/DDP 细胞的耐药性。

[关键词] 非小细胞肺癌;miR-194;耐药性

[中图分类号] R734.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)06-711-05

doi:10.7655/NYDXBNS20140604

Effect of microRNA-194 on cisplatin resistance of non-small cell lung cancer A549/DDP cell lines

Xu Jianghao^{1,2}, Liu Jing¹, Wang He¹, Wan Li¹, Yang Yucai¹, Wang Zhaoxia^{1*}

(¹Department of Oncology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210011; ²Department of Clinical Medicine, the First Medical college of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:**To explore the effect of microRNA-194 (miR-194) on cisplatin resistance of non-small cell lung cancer (NSCLC) A549/DDP cell lines and its related mechanisms. **Methods:**The real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) was performed to detect miR-194 expression differences between NSCLC A549/DDP cells and A549 cells. MiR-194 expression differences were detected after MiR-194-inhibitor transfected into A549/DDP cells. MMT assay, colony formation and flow-cytometric analysis were sequentially performed to detect transfected A549/DDP cells to DDP drug sensitivity, cell proliferation ability, and apoptosis on treatment with DDP. The protein expressions of Bax and Bcl-2 in transfected A549/DDP cells were detected by Western blot. **Results:**The level of miR-194 in A549/DDP cells was significantly higher than that in A549 cells ($P < 0.05$). The miR-194 level in A549/DDP cells was significantly lower than that in A549/DDP cells after transfected with miR-194 inhibitor ($P < 0.05$). The inhibited expression of miR-194 could produce following effects: compared to the control group, the half inhibition concentration (IC_{50}) of DDP in A549/DDP with miR-194-inhibitor cells was decreased ($P < 0.05$), proliferation ability of A549/DDP with miR-194-inhibitor cells was diminished ($P < 0.05$), apoptosis after treatment with DDP was increased ($P < 0.05$). Western blotting results showed that, the expression of Bcl-2 was down-regulated and the expression of Bax was up-regulated in A549/DDP/miR-194-inhibitor cells than those in the control group. **Conclusion:**miR-194 increases the resistance of A549/DDP cells to DDP through inhibition of apoptosis, up-regulating Bcl-2 protein expression and down-regulating Bax. The inhibition of miR-194 expression can reverse the

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81272601);江苏省医学重点人才基金资助项目(RC2011080)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhaoxiawang88@ hotmail.com

resistance of A549/DDP cells to DDP.

[Key words] non-small cell lung cancer;microRNA-194;resistance

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(06): 711-715, 733]

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC)的化疗耐药长期困扰着临床治疗,耐药原因涉及基因表达和对基因表达调控的全过程。利用非编码 miRNA 表达谱的改变可以预测 NSCLC 化疗耐药。我们前期运用 miRNA 芯片高通量分析技术从人 NSCLC 组织中筛选出特异性高表达的 miR-194,为了明确 miR-194 在 NSCLC 耐药中的调控作用,我们选取了 NSCLC 人肺腺癌细胞株 A549 和具有对顺铂 (cis-diaminedichloroplatinum, DDP)耐药的 A549/DDP 细胞作为研究对象,本研究将 miR-194 inhibitor 转染到 A549/DDP 细胞株中,观察 miR-194 的表达变化及其对 DDP 耐药的影响,并探讨其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

A549 细胞株、A549/DDP 细胞株均购自北京中国医学科学院肿瘤研究所。胎牛血清和 RPMI1640 培养基购自加拿大维森特公司;DDP 购自长春齐鲁制药有限公司;TRLzol、Lipofectamine 2000 试剂购自美国 Invitrogen 公司;荧光定量多聚酶链反应试剂盒购自美国 Ambion 公司;miR-194-inhibitor 及阴性对照 miR-NC 由美国 Invitrogen 公司合成。3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐、二甲基亚砜 (DMSO)、结晶紫购自美国 Hyclone 公司;兔抗人 bax 抗体、兔抗人 bcl-2 抗体、鼠抗人 β-actin 抗体购自美国 Abcam 公司;辣根过氧化物酶偶联的抗鼠、抗兔 IgG 购自武汉博士德公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和细胞转染

A549 细胞用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培

养基、A549/DDP 细胞用含终浓度 1 μg/ml DDP 和 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基,在 37℃、5% CO₂ 及相对湿度条件下培养。

取对数生长期 A549/DDP 细胞于转染前 24 h 接种于 6 孔板中 (3 × 10⁵ 个/孔),培养至细胞达 70%融合时进行细胞转染。按照操作说明将 miR-194-inhibitor 及 miR-NC 分别转染到 A549/DDP 细胞中。细胞转染 24 h 后,提取细胞总 RNA 进行 qRT-PCR 检测转染后细胞中 miR-194 的表达水平,并收集细胞进行药物敏感性检测、克隆形成实验、流式细胞术分析;细胞转染 72 h 后,提取细胞总蛋白进行 Western blot 检测。

1.2.2 实时荧光定量 PCR

miRNA 的逆转录-实时定量多聚酶链反应 (qRT-PCR)参照说明书的方法。对 miR-194 设计 1 条逆转录引物以及相应的 PCR 上下游引物(表 1)。10 μl 转录体系中 M-MLV 逆转录酶 100 U、50 nmol/L 引物、总 RNA 50 ng。用相应的 PCR 引物在 PRISM7000 型定量 PCR 仪 (Applied Biosystems 公司,美国)进行 PCR 定量检测。试剂采用 FastStart DNAMaster SYBRGreen I 试剂盒。PCR 的条件为 95℃ 30 s,95℃ 5 s,60℃ 34 s,进行 40 个循环,采用 U6 RNA 作为内参。3 次独立样本独立实验所得数据用比较 CT 值法 (2^{-ΔΔCT})进行相对定量分析。

1.2.3 MTT 法检测细胞对顺铂的敏感性

细胞转染后 24 h,以 0.25%胰酶消化细胞,用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基制成单细胞悬液,细胞接种于 96 孔培养板中,6 × 10³ 个/孔。细胞贴壁后,加入终浓度为 2、4、8、16、32、64 μg/ml 的 DDP,100 μl/孔。细胞培养 48 h 后,加 MTT 溶液 (5 mg/ml) 20 μl/孔后继续孵育 4 h,弃孔内旧培养液,每孔

表 1 qRT-PCR 检测 miR-194 的引物序列

Table 1 Primers sequences for miR-194 detection in qRT-PCR

基因	引物	序列(5'→3')
miR-194	RT 引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGACTGGATACGACTCCACA
	PCR 引物	上游:CGCGGTGTAACAGCAACTCC 下游:CAGTGCAGGGTCCGAGGTATTC
U6	PCR 引物	上游:CTCGCTTCGGCAGCACA
		下游:AACGCTTACGAATTTGCGT

加入 150 μl 二甲基亚砜(DMSO),振荡 10 min,用酶标仪检测 490 nm 处各孔吸光度值,3 孔重复取平均值,计算 DDP 对细胞的半数抑制浓度 IC_{50} 值。

1.2.4 平板克隆形成实验检测细胞增殖能力

细胞转染后 24 h,以 0.25%胰酶消化细胞,用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基制成单细胞悬液,接种细胞至 6 孔板,细胞数约 800 个/孔,分布均匀,继续培养 10 d,至出现肉眼可见的克隆后终止,用 4%多聚甲醛固定 15 min,结晶紫染液染色 5 min,洗净晾干,拍照记录。

1.2.5 流式细胞术检测联合 DDP 处理对转染后细胞凋亡的影响

将对数生长期的 A549/DDP 细胞调整浓度至 3×10^5 个/ml,以 2 ml/孔接种于 6 孔板,转染 24 h 后加入终浓度为 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 DDP,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 及饱和湿度条件下的培养箱中继续培养 48 h,收集细胞,用 PBS 洗涤细胞,二次收集细胞。按说明书方法采用 Annexin V/PI 双染:用 100 μl 的标记溶液重悬细胞,室温下避光孵育 10~15 min,离心沉淀细胞。加入荧光(SA-FLOUS)溶液 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min,避光并不时振动。流式细胞仪分析:流式细胞仪激发光波长 488 nm,用 515 nm 的滤器检测 FITC 荧光,560 nm 的滤器检测 PI。结果判断:在双变量流式细胞仪的散点图上,左下象限显示活细胞,为 (FITC-/PI-);右上象限显示凋亡中、晚期细胞,为 (FITC+/PI+);右下象限显示凋亡早期细胞,为 (FITC+/PI-)。

1.2.6 Western blot 实验检测细胞相关凋亡蛋白 Bcl-2、Bax 表达的变化

收集转染后 72 h 的细胞,加入细胞裂解液,提取总蛋白,用 Bradford 法对蛋白定量,进行 SDS-PAGE 电泳,将电泳分离的蛋白质电转移至 PVDF 膜,5%脱脂牛奶封闭,分别加入 1:500 兔抗人 Bcl-2、Bax 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST 洗 3 次,10 min/次,再用 TBS 洗膜 10 min,发光压片显色,以 β -actin 作内参,分析结果,并用 Image J 软件将结果转化为柱状图形式。

1.3 统计学方法

所有实验均重复 3 次,运用 SPSS15.0 统计软件分析。数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 t 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

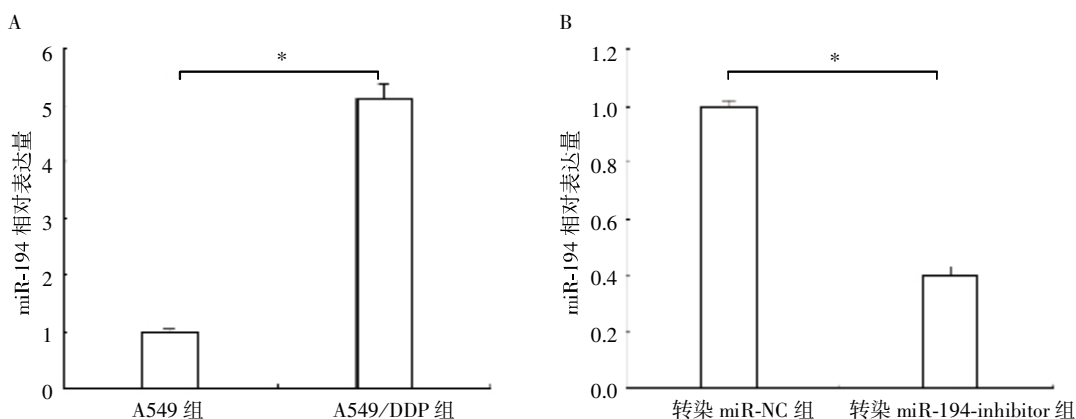
2 结果

2.1 miR-194 在细胞中的表达及转染效率的测定

用 qRT-PCR 法分别检测 A549、A549/DDP、转染 miR-194-inhibitor 24 h 后的 A549/DDP 及转染 miR-NC 的 A549100P 细胞中 miR-194 的表达量(图 1)。结果显示,A549/DDP 细胞中 miR-194 的相对表达量是 A549 细胞的(5.10 ± 0.21)倍,显著高于敏感细胞株中的表达量($P < 0.05$,图 1A)。与转染 miR-NC 的细胞相比,A549/DDP 细胞转染 miR-194-inhibitor 24 h 后,细胞中 miR-194 的表达水平仅为对照组的(42.03 ± 0.32)% ($P < 0.05$,图 1B)。

2.2 miR-194 对 A549/DDP 细胞 DDP 耐药的影响

采用 MTT 法检测 miR-194 对 A549/DDP 细胞 DDP 药物敏感性的影响。结果显示:A549/DDP 细胞转染 miR-194-inhibitor 后,DDP 对其 IC_{50} 值为 (12.05 ± 1.24) $\mu\text{g}/\text{ml}$;A549/DDP 细胞转染 miR-NC



A:qRT-PCR 检测 miR-194 在 A549 和 A549/DDP 细胞中的表达;B:qRT-PCR 检测 miR-194 在转染后 A549/DDP 细胞中的表达。两组比较,* $P < 0.05$ 。

图 1 qRT-PCR 检测 miR-194 在 A549 和 A549/DDP 细胞中的表达

Figure 1 miR-194 expression in A549 and A549/DDP cells detected by qRT-PCR

后,DDP 对其 IC_{50} 值为 $(29.76 \pm 2.13)\mu\text{g/ml}$ 。DDP 对转染 miR-NC 细胞的 IC_{50} 值明显高于转染 miR-194-inhibitor 的细胞 ($P < 0.05$, 图 2)。结果表明抑制 miR-194 表达可明显增加 A549/DDP 细胞对 DDP 的药物敏感性。

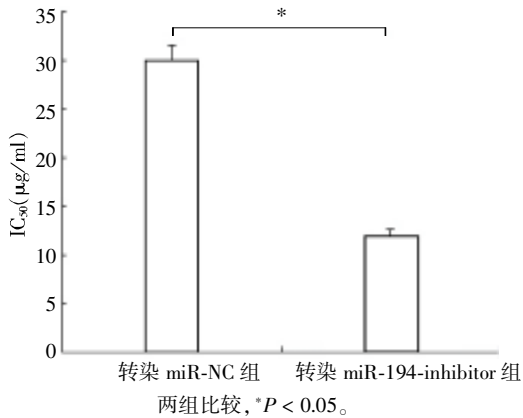


图 2 顺铂对转染后 A549/DDP 细胞的 IC_{50} 值

Figure 2 The value of IC_{50} for cisplatin on transfected A549/DDP cells

2.3 miR-194 对 A549/DDP 细胞增殖及凋亡的影响

细胞平板克隆形成实验表明转染 miR-194-in-

hibitor 的 A549/DDP 细胞形成的克隆集落明显少于转染 miR-NC 的细胞 (图 3A); MTT 法测得细胞生长曲线, 结果显示转染了 miR-194-inhibitor 的细胞增殖能力明显降低, 说明抑制 miR-194 能够抑制细胞增殖能力 (图 3B)。

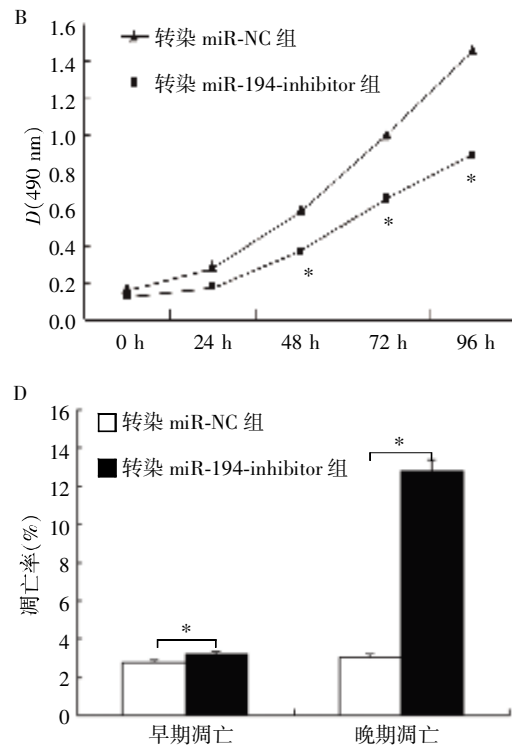
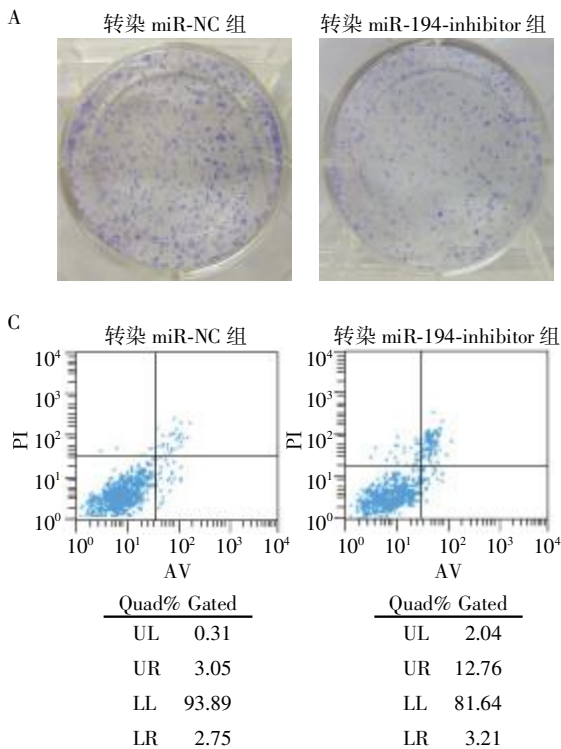
采用流式细胞术分析下调 miR-194 表达水平后, A549/DDP 细胞凋亡的改变。分析显示, 给予 DDP 处理后, 转染 miR-194-inhibitor 的 A549/DDP 细胞晚期凋亡率为 $(15.15 \pm 0.45)\%$; 而转染 miR-NC 的 A549/DDP 细胞晚期凋亡率为 $(8.31 \pm 0.42)\%$, 差异具有统计学差异 ($P < 0.05$, 图 3C、D)。说明下调 miR-194 的表达水平可促使细胞凋亡, 从而增强 A549/DDP 细胞对 DDP 的敏感性。

2.4 miR-194 对转染后 A549/DDP 细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示, 相对照组, 下调 miR-194 能够引起 Bax 蛋白表达水平的上升和 Bcl-2 蛋白表达水平的下降 (图 4)。

3 讨论

MicroRNA 作为一种内源性非编码转录后调控



A: 克隆形成实验检测 miR-194 对 A549/DDP 细胞增殖能力的影响; B: MTT 法测得细胞生长曲线; C、D: 流式细胞术检测 miR-194 对给予顺铂处理的 A549/DDP 细胞凋亡的影响。两组比较, $*P < 0.05$ 。

图 3 miR-194 对 A549/DDP 细胞增殖及凋亡的影响

Figure 3 The effect of miR-194 on proliferation and apoptosis of A549/DDP cells

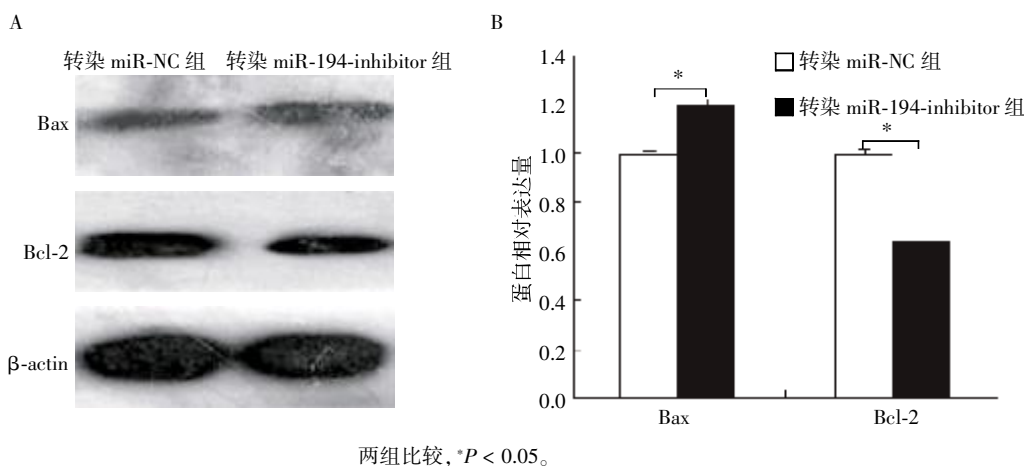


图 4 Western blot 检测转染后 A549/DDP 细胞 Bax、Bcl-2 蛋白的表达

Figure 4 Expressions of Bax, Bcl-2 proteins in transfected A549/DDP cells by Western blot

因子, 主要通过转录后抑制来调节基因表达。由 miRNA 构成的复杂调节网络可以精细调控多个基因, 从而发挥对生物发育、细胞增殖和凋亡等的影响。近年来越来越多的研究显示, 在肿瘤的形成和发展过程中, miRNA 的过表达或低表达表现出类似癌基因或抑癌基因的作用^[1-2]。随着成百上千的 miRNAs 在植物、动物和病毒中被鉴定出来, 通过抑制或增加细胞中某个 miRNA 的表达水平来研究其功能迅速发展为一个重要的研究领域。例如近期研究显示: miR-34a、miR-21、miR-224 在肾透明细胞癌中表达上调^[3]; 而 miR-125b、miR-145、miR-21 和 miR-155 在乳腺癌组织中显著下调^[4], 并且这些 miRNAs 的表达往往与肿瘤的病理生理特征密切相关。本课题组利用 micorRNA 芯片高通量分析技术发现, miR-451 在 NSCLC 组织中显著低表达, 将其上调可通过靶向抑制 RAB14 而逆转 NSCLC 细胞的恶性表型^[5]。此外, 上调 miR-451 还可通过诱导细胞凋亡而增强 NSCLC 细胞 A549 对顺铂的敏感性^[6]。而 miR-335 在 NSCLC 组织中显著高表达, 将其下调能抑制肺癌 SPC-A1 细胞的迁移和侵袭能力^[7]。

最近研究发现, miR-194 参与多种肿瘤的发生发展。据文献报道, miR-194 在 I 型子宫内膜癌组织中低表达且其表达水平与肿瘤分期相关, 它通过抑制 BMI-1 (B cell-specific MLV integration site-1) 使肿瘤发生上皮-间质转化进而增强肿瘤的侵袭转移能力^[8]。在肾细胞癌中, miR-194 呈特征性低表达, 恢复其表达水平可减少肿瘤的侵袭转移能力^[9]。Wu 等^[10]在 NSCLC 的研究中发现, miR-194 可显著减缓肿瘤发展, 其机制为抑制 NSCLC 细胞中骨形态发生蛋白 1 (bone morpho-genetic protein 1, BMP1) 和细胞周期

素依赖性蛋白激酶抑制蛋白 (p27kip1) 的表达来分别调节 TGF- β 通路和 Rho 通路, 进而抑制肿瘤发展。此外, miR-194 与肿瘤耐药的关系也有文献报道, 例如在耐药乳腺癌 MCF-7/DDP 细胞中, miR-194 是表达上调的 miRNAs 之一, 靶向 DNA 甲基转移酶和结合蛋白进而影响 DNA 甲基化^[11]。然而 miR-194 与肺癌耐药的关系还未被阐明。

本课题组前期利用 miRNA 芯片及荧光实时定量 PCR 技术, 获得了 NSCLC 组织与癌旁正常组织的 miRNA 差异表达图谱, 其中 NSCLC 组织中 miR-194 的表达水平较癌旁正常组织显著增高。本研究通过 qRT-PCR 分析发现, 耐 DDP 细胞株中 miR-194 的表达水平比敏感细胞株高约 5 倍。为进一步观察 miR-194 在肺癌细胞耐药中的作用, 本研究将 miR-194-inhibitor 转染 A549/DDP 细胞使 miR-194 的表达显著降低。药物敏感试验发现 DDP 对转染 miR-194-inhibitor 细胞的 IC₅₀ 值较转染 miR-NC 的细胞显著降低, 提示 miR-194 的低表达能增加 A549/DDP 细胞对 DDP 的敏感性。另外, MTT 实验显示转染 miR-194-inhibitor 的 A549/DDP 细胞的增殖能力显著下降, 流式细胞术显示转染 miR-194-inhibitor 的细胞凋亡率较对照组显著增加, 这提示抑制 miR-194 的表达可明显抑制肿瘤细胞的克隆增殖能力, 促进细胞凋亡。Western blot 实验揭示了 miR-194 低表达促进 A549/DDP 细胞凋亡的机制, 转染 miR-194-inhibitor 的细胞 Bcl-2 蛋白表达下降, Bax 蛋白表达上升。Bax 可以和 Bcl-2 形成异二聚体或自身形成同二聚体, 当 Bcl-2 表达下降且 Bax 表达上升时, Bax 同二聚体形成增多, 细胞对死亡信号反应增加, (下转第 733 页)

- toxin delays alveolarization during postnatal rat lung development [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(5):726-737
- [10] Eriksson L, Haglund B, Odland V, et al. Prenatal inflammatory risk factors for development of bronchopulmonary dysplasia [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2013, doi:10.1002/ppul.22881 [Epub ahead of print]
- [11] Schmidt B. Chorioamnionitis and inflammation of the fetal lung [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001(184):173-177
- [12] Chen H, Bai C, Wang X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4(6):773-783
- [13] Le Rouzic V, Wiedinger K, Zhou H. Attenuated mRNA expression of inflammatory mediators in neonatal rat lung following lipopolysaccharide treatment [J]. *J Inflamm Res*, 2012, 5:99-109
- [14] Tang JR, Michaelis KA, Nozik-Grayck E, et al. The NF-kappaB inhibitory proteins I kappa Balpha and I kappa Bbeta mediate disparate responses to inflammation in fetal pulmonary endothelial cells [J]. *J Immunol*, 2013, 190(6):2913-2923
- [15] Le W. TNFR1-dependent pulmonary apoptosis during ischemic acute kidney injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 5(303):449-459
- [16] 曹 蕾. 发育肺炎症损伤和信号转导途径的研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2004
- [17] 张晓鸣, 顾绍庆. 水飞蓟素对急性肺损伤小鼠肺组织 IL-1 β 、IL-6、趋化因子 fractalkine 表达的影响 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2012, 132(8):1083-1086
- [18] Hawkins DL. Human interleukin 10 suppresses production of inflammatory mediators by LPS-stimulated equine peritoneal macrophages [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1998, 1(66):1-10

[收稿日期] 2014-02-25

(上接第 715 页)

细胞死亡增多^[12]。

以上研究表明, miR-194 增加了 A549/DDP 细胞对顺铂的耐药性, 可能是通过抑制细胞凋亡、增强细胞增殖以及上调 Bcl-2、下调 Bax 蛋白引起。这一研究为 miR-194 的联合抗肿瘤治疗提供了实验依据, 提示 miR-194 可能是 NSCLC 基因治疗的新靶点。miR-194 在 NSCLC 中的功能和机制还需进一步完善。

[参考文献]

- [1] Lal A, Navarro F, Maher CA, et al. MiR-24 Inhibits cell proliferation by targeting E2F2, MYC, and other cell-cycle genes via binding to "seedless" 3' UTR microRNA recognition elements [J]. *Mol Cell*, 2009, 35(5):610-625
- [2] Sevignani C, Calin GA, Nnadi SC, et al. MicroRNA genes are frequently located near mouse cancer susceptibility loci [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(19):8017-8022
- [3] Cheng T, Wang L, Li Y, et al. Differential microRNA expression in renal cell carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(3):769-776
- [4] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16):7065-7070
- [5] Wang R, Wang ZX, Yang JS, 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
- [6] Bian HB, Pan X, Yang JS, et al. Upregulation of microRNA-451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549) [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1):20
- [7] 王 鹤, 刘志利, 德 伟, 等. microRNA-335 对人非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭及增殖能力的影响 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2012, 32(6):795-799
- [8] Zhai H, Karaayvaz M, Dong P, et al. Prognostic significance of miR-194 in endometrial cancer [J]. *Biomark Res*, 2013, 1(1):12
- [9] Khella HW, Bakhet M, Allo G, et al. MiR192, miR194 and miR 215: a convergent microRNA network suppressing tumor progression in renal cell carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(10):2231-2239
- [10] Wu X, Liu T, Fang O, et al. miR 194 suppresses metastasis of non small cell lung cancer through regulating expression of BMP1 and p27kip1 [J]. *Oncogene*, 2014, 33(12):1506-1514
- [11] Pogribny IP, Filkowski JN, Tryndyak VP, et al. Alterations of microRNAs and their targets are associated with acquired resistance of MCF-7 breast cancer cells to cisplatin [J]. *Inter J Cancer*, 2010, 127(8):1785-1794
- [12] Su JC, Lin KL, Chien CM, et al. Naphtho [1,2-b]furan-4,5-dione inactivates EGFR and PI3K/Akt signaling pathways in human lung adenocarcinoma A549 cells [J]. *Life Sci*, 2010, 86(5-6):207-213

[收稿日期] 2014-01-27