

双酚 A 对前列腺癌 PC-3 细胞增殖和 miR-19 表达的影响

谢春风, 李小婷, 朱剑云, 黄 聪, 梁照锋, 谢 玮, 朱明明, 朱维维, 吴 睿, 武洁姝, 耿珊珊, 钟才云*

(南京医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学系, 江苏 南京 210029)

[摘要] **目的:**探讨双酚 A(bisphenol A, BPA)对人前列腺癌 PC-3 细胞增殖和 miR-19 表达的影响。**方法:**不同浓度 BPA 处理人前列腺癌 PC-3 细胞,以雌二醇(E2)作为阳性对照,6 d 后采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法和 Hoechst 33258 荧光染色法测定 BPA 对 PC-3 细胞增殖的影响,real-time PCR 检测 miR-19a 和 miR-19b 表达水平的变化,Western blot 检测细胞中 miR-19 的靶基因 PTEN 及细胞增殖相关基因 p-AKT、AKT、PCNA 和 CyclinD1 的蛋白表达变化。**结果:** 5×10^{-6} ~ 5×10^{-5} mol/L BPA 显著促进 PC-3 细胞增殖,增加 PC-3 细胞中 miR-19a 和 miR-19b 的表达水平,降低 PTEN 表达并上调 p-AKT、PCNA 和 CyclinD1 表达水平。**结论:**BPA 可促进前列腺癌 PC-3 细胞增殖,其机制可能与 BPA 引起 miR-19 表达上调有关。

[关键词] 双酚 A; 前列腺癌; PC-3 细胞; 增殖; miR-19

[中图分类号] R737.25

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)12-1768-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20141245

Effects of bisphenol A on proliferation and miR-19 expression in PC-3 prostate cancer cells

Xie Chunfeng, Li Xiaoting, Zhu Jianyun, Huang Cong, Liang Zhaofeng, Xie Wei, Zhu Mingming, Zhu Weiwei, Wu Rui, Wu Jieshu, Geng Shanshan, Zhong Caiyun*

(Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of bisphenol A on proliferation and miR-19 expression in PC-3 prostate cancer cells. **Methods:** Cell viability of PC-3 cells was measured by MTT and Hoechst 33258 staining 6 days after treatment with different concentrations of Bisphenol A; miR-19 expression was measured by real-time PCR; expression levels of PTEN, p-AKT, AKT, Cyclin D1 and PCNA were determined by Western blot. **Results:** Bisphenol A 5×10^{-6} to 5×10^{-5} mol/L with concentration from increased cell proliferation of PC-3 cells. Expression levels of miR-19a and miR-19b were unregulated by Bisphenol A. Meanwhile, Bisphenol A decreased PTEN expression and increased the expression of p-AKT, PCNA and CyclinD1 in PC-3 cells. **Conclusion:** Bisphenol A promoted PC-3 cell proliferation, and up-regulation of miR-19 may be involved in the regulation of proliferative process induced by Bisphenol A.

[Key words] bisphenol A; prostate cancer; PC-3 cells; proliferation; miR-19

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(12): 1768-1773]

前列腺癌是男性最常见的肿瘤之一,位居男性常见恶性肿瘤死亡率第二,严重威胁着男性健康。前列腺癌的发生与遗传、饮食和环境因素有关。目前,越来越多的证据表明,环境内分泌干扰物与前列腺癌的发展密切相关。环境内分泌干扰物(endocrine-disrupting compounds, EDCs)是一种能模拟和干扰动物及人类内分泌机能的物质,与体内天然激素有相似作用,能够刺激或抑制激素生物效应,

引起动物或人体内分泌、神经免疫及生殖系功能紊乱,增加肿瘤发生的风险^[1-2]。

双酚 A(bisphenol A, BPA)是一种使用非常广泛的环境内分泌干扰物,作为工业生产聚碳酸酯、环氧树脂等产品的前体物质被普遍应用于食品容器、食品包装材料、餐具、罐头内包装、某些家庭用具等生产过程中。BPA 因其不完全聚合、反复使用或暴露于高温、酸、碱等环境时从食品容器或包装材料浸出,食源性污染成为 BPA 进入人体的主要途径。资料显示,随着 BPA 的广泛应用,绝大部分人群均普遍暴露于 BPA^[3-4]。BPA 对生殖、发育、免

[基金项目] 国家自然科学基金(81373005, 81072330)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: cyzhong@njmu.edu.cn

疫等系统的健康危害引起了全球性的高度关注。近年来有关 BPA 对激素相关性肿瘤如前列腺癌的影响尤受重视^[5-6]。目前,探讨包括 BPA 在内的环境内分泌干扰物在肿瘤发生发展过程中的作用及具体分子机制已成为非常重要的研究领域。

microRNA(miRNA)是一类大小约 22 个核苷酸的非编码 RNA 分子,其对基因表达的调控作用已成为近年来生命科学研究的热点领域。目前越来越多的证据表明,miRNA 通过对靶基因转录后水平的负性调控作用,在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用^[7-8]。有关 BPA 与 miRNA 关系的研究刚刚起步。Avissar-Whiting 等^[9]发现,BPA 通过上调人胎盘细胞中 miR-146a 的表达降低胎盘细胞生长速率。Tilghman 等^[10-11]通过 miRNA 芯片分析报道了 BPA 影响小鼠睾丸支持细胞和乳腺癌 MCF-7 细胞中 miRNA 的差异性表达。miR-19 是 miR-17-92 簇中关键性的致癌性 miRNA。本课题组前期研究发现,BPA 通过调控 miR-19/PTEN/Akt/p53 轴促进乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖^[12]。然而有关各种 miRNA 在 BPA 介导的促进前列腺癌细胞增殖的作用及其调控机制的研究尚属领域空白,迄今未见任何研究报告。因此,本研究以雄激素非依赖性前列腺癌 PC-3 细胞为体外模型,率先探讨 BPA 促前列腺癌细胞的增殖作用及其对相关 miRNA 表达水平的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

前列腺癌细胞 PC-3 细胞株(中国科学院上海细胞库);BPA 和雌二醇(E2)(98%)(Sigma 公司,美国);DMEM/F12 培养基(Gibco 公司,美国);胎牛血清(南美 PAA Laboratories);四甲基偶氮唑盐[3-(4,5)-dimethylthiazoliumromide, MTT]、二甲基亚砜(DMSO)(Amresco 公司,美国);胰酶和 Hoechst 33258 荧光染色试剂盒(上海碧云天公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海 BioLab 生物技术有限公司);逆转录试剂盒、Taq 酶和 qRT-PCR 试剂盒(TaKaRa 公司,日本);TRIzol(Invitrogen 公司,美国);抗人 PTEN、p-AKT、AKT、PCNA 和 CyclinD1 抗体(Cell Signaling Technology 公司,美国); β -actin 抗体(Bioworld 公司,美国);miR-19a/19b 引物 U6(广州锐博生物有限公司);GAPDH(上海 Invitrogen 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

PC-3 细胞培养在含 10%胎牛血清、青霉素 100 U/ml、链霉素 100 μ g/ml 的 DMEM/F12 培养基中,在 37℃和 5% CO₂ 恒温培养箱中培养,每 2 d 换液 1 次,待细胞长满至 80%左右时,用 0.25%胰蛋白酶溶液进行消化、传代。取生长良好的细胞进行实验。

1.2.2 MTT 方法检测细胞活力

取对数生长期的前列腺癌 PC-3 细胞,制成 2×10^4 个/ml 单细胞悬液,接种于 96 孔培养板,2 000 个细胞/孔,24 h 后加入含有浓度为 1×10^{-8} ~ 5×10^{-5} mol/L BPA 的培养液,以 E2(10 nmol/L)作为阳性对照组,每组设 6 个平行孔。处理 6 d 后,每孔加入 20 μ l 50 mg/ml 的 MTT 液体继续培养 4 h 后,用酶标仪 490 nm 波长测定吸光度,观察 BPA 对 PC-3 增殖能力的影响。

1.2.3 Hoechst 33258 荧光染色

取对数生长期的前列腺癌细胞制成 2×10^4 个/ml 单细胞悬液,接种于 6 孔板 24 h 后,加入含有 1×10^{-8} ~ 5×10^{-5} mol/L BPA 的培养液,并以 E2(10 nmol/L)作为阳性对照。处理 6 d 后,弃去原培养液,用 PBS 洗 2 次。按 Hoechst 33258 荧光染色试剂盒说明书染色。荧光显微镜观察细胞,拍照。显微镜所用激发波长 352 nm,发射波长 461 nm。

1.2.4 real-time PCR 检测 miR-19a 和 miR-19b 表达

取对数生长期的前列腺癌细胞制成 2×10^4 个/ml 单细胞悬液,接种于 6 孔板 24 h 后,加入含有 5×10^{-6} mol/L BPA 的培养液,并以 E2(10 nmol/L)作为阳性对照。处理 6 d 后,弃去原培养液,用 PBS 洗 2 次,按照 TRIzol 法提取总 RNA,测定 RNA 浓度,逆转录合成 cDNA,按试剂盒说明书配制反应体系,每组设 3 个平行样,利用 7300 进行 real-time PCR 实验。

1.2.5 Western blot 检测蛋白表达

取对数生长期的前列腺癌细胞制成 1×10^5 个/ml 单细胞悬液,接种于 60 mm 培养皿 24 h 后,加入含有 5×10^{-6} mol/L BPA 的培养液,并以 E2(10 nmol/L)作为阳性对照。处理 6 d 后,弃去原培养液,用 PBS 洗 2 次,按照总蛋白提取试剂盒说明提取总蛋白,-20℃保存备用。用 BCA 法进行蛋白定量。取 60 μ g 蛋白质样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳转膜,对膜依次进行封闭、一抗(1:1 000)4℃过夜、二抗(1:10 000)室温孵育 1 h。ECL 显色、显影、定影。采用 Image J 软件对免疫印迹条带扫描后进行分析,

各实验组重复 3 次以上。

1.3 统计学方法

数据以 SPSS11.0 统计软件处理分析,各组之间的数据比较采用 ANOVA 分析,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。各实验组重复 3 次以上。

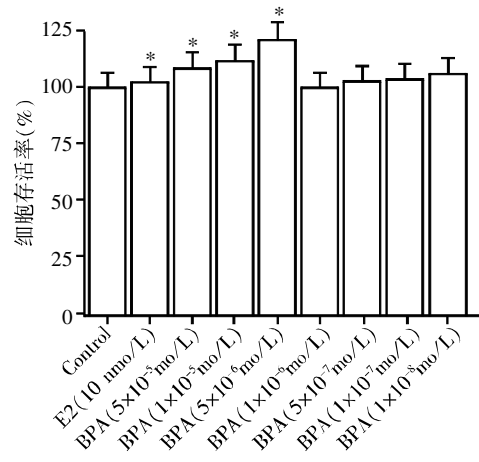
2 结果

2.1 BPA 对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的影响

前列腺癌的发生与激素密切相关。雌激素作为性激素的一种,是前列腺上皮细胞的癌变因素^[13]。BPA 作为一种使用广泛的环境内分泌干扰物,具有弱的雌激素样作用^[14]。因此,为观察 BPA 对前列腺癌细胞增殖能力的影响,用不同浓度的 BPA($1 \times 10^{-8} \sim 5 \times 10^{-5}$ mol/L)处理 PC-3 细胞 6 d,同时以雌二醇(E2)作为阳性对照。MTT 结果显示,与雌激素类似,BPA 在 $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5}$ mol/L 时能明显促进 PC-3 细胞的增殖(图 1)。以上结果表明,BPA 具有促进前列腺癌 PC-3 细胞增殖的作用。

2.2 BPA 对前列腺癌 PC-3 细胞存活数量的影响

为了进一步观察 BPA 对 PC-3 细胞生存情况的影响,用不同浓度的 BPA 处理 PC-3 细胞后,Hoechst



与 Control 组相比, * $P < 0.05$ 。

图 1 双酚 A 对前列腺癌 PC-3 细胞活力的影响

Figure 1 Effect of Bisphenol A on the viability of PC-3 cells

33258 检测细胞存活率,同时以 E2 作为阳性对照。结果显示,与对照组相比, $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5}$ mol/L BPA 处理后,PC-3 细胞存活的数量显著增加(图 2)。

2.3 BPA 对前列腺癌 PC-3 细胞中 miR-19 表达的影响

miRNA 作为重要的调节分子,参与细胞增殖、凋亡、肿瘤发生发展等重要过程。本课题组前期研究发

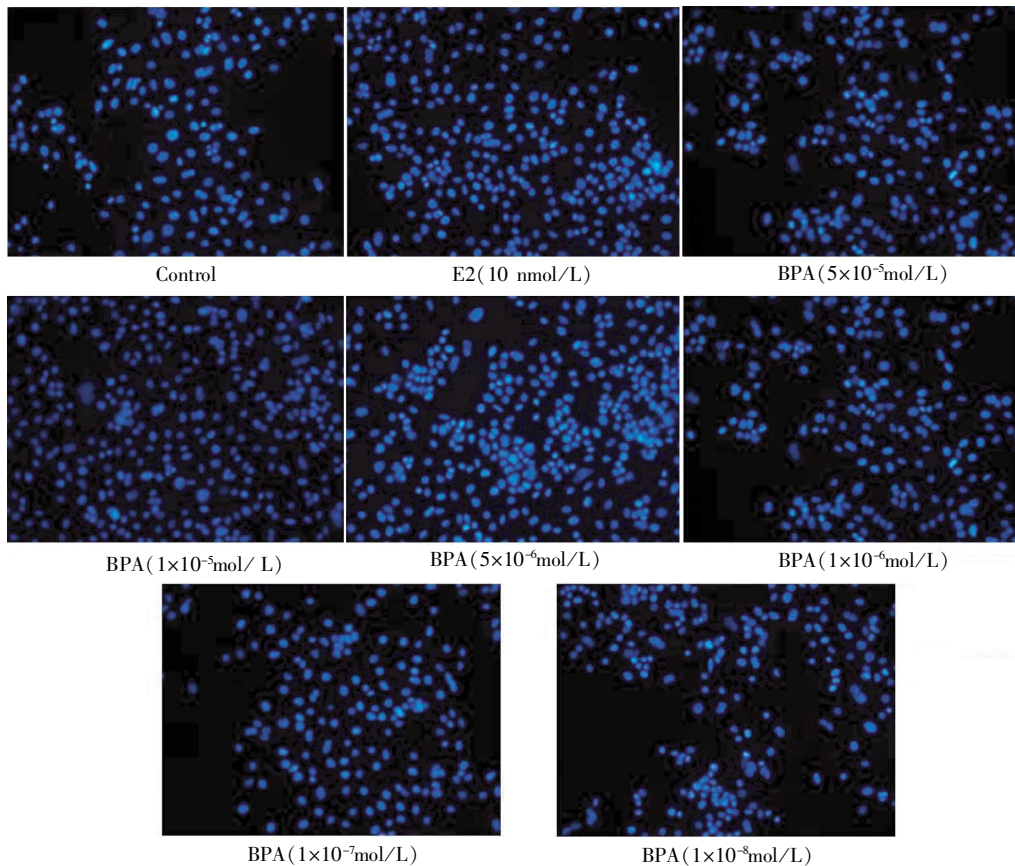


图 2 双酚 A 对 PC-3 细胞数量的影响($\times 100$)

Figure 2 Effect of bisphenol A on the numbers of PC-3 cells($\times 100$)

现,BPA 能影响乳腺癌 MCF-7 细胞中 miR-19a 和 miR-19b 的表达^[12]。因此,为了观察 BPA 对 PC-3 细胞中 miR-19a 和 miR-19b 表达的影响,用 5×10^{-6} mol/L 的 BPA 处理 PC-3 细胞,同时以 E2(10 nmol/L)作为阳性对照。real-time PCR 结果显示,BPA 能显著上调 PC-3 细胞中 miR-19a 和 miR-19b 的表达(图 3)。

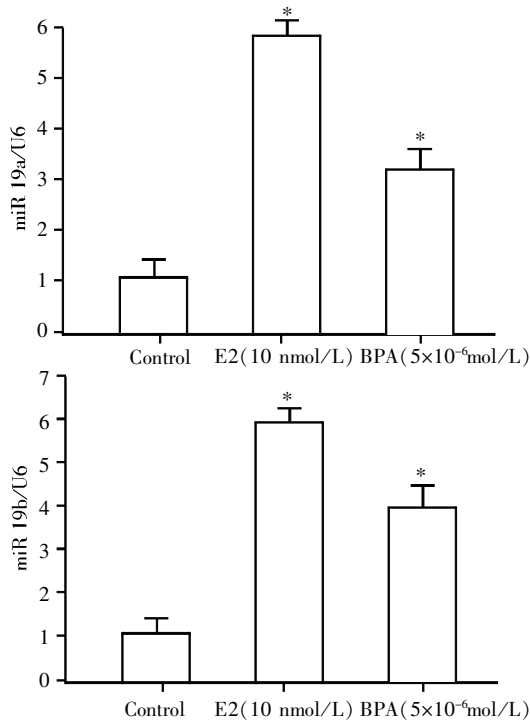


图 3 双酚 A 对 PC-3 细胞 miR-19a 和 miR-19b 表达的影响
Figure 3 Effect of Bisphenol A on the expression of miR-19a and miR-19b in PC-3 cells

2.4 BPA 对 PTEN、p-AKT、PCNA 和 CyclinD1 表达的影响

信号通路的异常改变是肿瘤细胞的重要生物学特性之一,其中 PI3K/AKT 信号通路与恶性细胞生物学特性有着密切关系。PI3K/AKT 信号通路受抑癌基因 PTEN 的调节,PTEN 能使 p-AKT 去磷酸化而抑制 AKT 的活化。PTEN 的突变或缺失可导致 AKT 活化,引起细胞发生癌变。miR-19 与 PI3K/AKT 信号通路关系密切,可通过负向调节 PTEN 进而激活 PI3K/AKT 通路来发挥促癌作用。图 4 结果显示,BPA 抑制 PTEN 的表达,同时在不影响总 AKT 表达水平的前提下,上调 p-AKT 的表达,激活 AKT 催化活性;与此同时,BPA 能上调细胞周期蛋白 Cyclin D1 和增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen,PCNA) 的表达。结果表明,BPA 可能通过影响前列腺癌 PC-3 细胞中 PTEN/p-AKT 活

性而起促癌作用,而 PTEN/p-AKT 活性可能与 miR-19 表达上调有关。

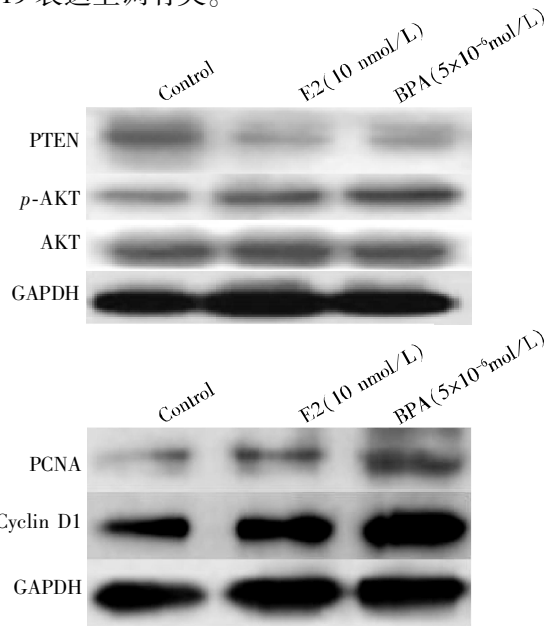


图 4 双酚 A 对 PTEN、p-AKT、PCNA 和 Cyclin D1 蛋白表达水平的影响
Figure 4 Effect of BPA on protein expression of PTEN, p-AKT, PCNA and Cyclin D1 in PC-3 cells

3 讨论

随着人类社会工业化不断发展和环境污染的加重,环境中内分泌干扰物已经成为影响人类身体健康的重要因素之一,与各种疾病的发生发展有着密切的关系。BPA 作为一种环境内分泌干扰物,在人的体内几乎都达到可测量水平^[15]。2008 年,加拿大是首个将 BPA 列入有毒化学品名单并禁止其用于食品包装业的国家。但在世界上的大多数国家,这种含有 BPA 的塑料容器仍在正常使用。目前国际通用的 BPA 的每日容许摄入量为 $50 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,已有研究发现低于或等于该剂量的 BPA 也会对人类健康造成一定的影响。许多的证据显示 BPA 暴露的增加导致了乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌及子宫内膜癌等与雌激素相关肿瘤发病率呈现上升趋势,其安全性问题已成为了公众关注的焦点。

在 1993 年,Krishnon 等^[16]发现 BPA 具有弱的雌激素样作用。低浓度的 BPA 能增加 CD-1 小鼠的子宫湿重,提高雌激素诱导的乳铁蛋白的表达。长期低浓度的 BPA 暴露能增加激素相关肿瘤的发病风险。在生命早期接触 BPA 能增加患前列腺癌的发病风险^[17]。Derouiche 等^[18]研究发现,BPA 能提高前列腺癌 LNCap 细胞的迁移能力。本文观察了

BPA对前列腺PC-3细胞增殖的诱导效应。PC-3细胞是雄激素非依赖性前列腺癌细胞,表达雌激素受体^[19]。本研究发现,BPA能促进前列腺癌PC-3细胞的增殖,此种效应呈现剂量-效应关系。

目前越来越多的证据表明,miRNAs作为一种新的基因表达调控机制,通过对靶基因转录后水平的负性调控作用,在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用。已有研究表明,特定miRNAs可能作为癌基因或抑癌基因发挥功能^[20]。本文应用microarray芯片在前列腺癌PC-3细胞株中筛选BPA处理组与对照组差异性miRNA谱。结果显示BPA处理组能引起多种miRNAs的差异性表达。进一步,通过实时定量PCR(qRT-PCR)分析证实,BPA引起了PC-3细胞中miR-19a和miR-19b的高表达。miR-17-92簇位于人类13号染色体,编码7个成熟的miRNAs([miR-17-5p(miR-17)、miR-17-3p、miR-18a、miR-19a、miR-19b、miR-20a、miR-92a])。miR-17-92是公认的致癌性miRNA,在细胞生存、增殖、分化及血管形成中发挥着重要作用^[21-22]。miR-19是miR-17-92簇中关键性的致癌性miRNA^[23-24]。最新研究显示,在前列腺癌转移患者的血清中miR-19过表达^[25],而受到辐射处理后前列腺癌LNCaP细胞的miR-19表达显著下调^[26]。为了探讨BPA对前列腺癌促增殖作用是否与miR-19有关,本文分析了BPA对PC-3细胞中miR-19a和miR-19b表达水平的影响。结果发现,BPA处理PC-3细胞后,miR-19a和miR-19b的表达明显上调,表明miR-19可能参与到BPA促前列腺癌细胞增殖的过程中。

目前已证实大约有30种mRNA是miR-17-92基因簇的靶基因,包括PTEN。miR-19可直接调控PTEN的表达,其通过与PTEN mRNA的3'UTR区匹配直接降解mRNA或抑制其翻译;上调或下调miR-19可分别抑制或促进PTEN表达水平。Olive等^[24]研究证实PTEN是miR-19的直接作用靶点,miR-19通过抑制PTEN的表达而促进肿瘤细胞的增殖。PTEN作为重要的抑癌基因,可通过抑制其下游AKT的磷酸化而抑制细胞增殖。BPA可通过磷酸化AKT促进人卵巢癌OVCAR-3细胞的增殖^[27]。BPA诱导人成神经瘤SK-N-SH细胞的增殖和侵袭转移与AKT的磷酸化水平升高有关^[28]。PI3K特异性抑制剂LY294002能抑制BPA所引起的侵袭转移相关蛋白MMP-2和MMP-9的表达^[28]。PI3K/AKT信号通路受抑癌基因PTEN的调节,PTEN能使p-AKT去磷酸化而抑制AKT的活化。Qin等^[29-30]也证

实miR-19可以作用于Cyclin D1,从而调控细胞周期的变化。在本研究中发现,BPA在上调PC-3细胞中miR-19表达的同时,能够抑制PTEN的表达,上调AKT活性,增加CyclinD1和PCNA表达,促进细胞增殖。结果表明BPA促进PC-3细胞的增殖作用可能通过上调miR-19、抑制PTEN的表达实现的。

综上所述,BPA作为一种环境内分泌干扰物,可上调PC-3细胞miR-19表达水平并促进前列腺癌细胞PC-3的增殖。miR-19可能在BPA诱导的细胞增殖中发挥着重要作用,然而其确切的作用机制还需要进一步研究加以验证。从miRNA角度探讨BPA促前列腺癌的增殖作用,将为后续开展以机制为导向的干预研究提供重要的科学依据。

[参考文献]

- [1] Tsuda H, Naito A, Kim CK, et al. Carcinogenesis and its modification by environmental endocrine disruptors: in vivo experimental and epidemiological findings[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2003, 33(6): 259-270
- [2] Birnbaum LS, Fenton SE. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors[J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111(4): 389-394
- [3] Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, et al. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population[J]. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(4): 391-395
- [4] Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Human exposure to bisphenol A[J]. *Toxicology*, 2006, 226(2-3): 79-89
- [5] Tarapore P, Ying J, Ouyang B, et al. Exposure to bisphenol A correlates with early-onset prostate cancer and promotes centrosome amplification and anchorage-independent growth *in vitro*[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90332
- [6] Wu JH, Jiang XR, Liu GM, et al. Oral exposure to low-dose bisphenol A aggravates testosterone-induced benign hyperplasia prostate in rats[J]. *Toxicol Ind Health*, 2011, 27(9): 810-819
- [7] Pichiorri F, Suh SS, Ladetto M, et al. MicroRNAs regulate critical genes associated with multiple myeloma pathogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(35): 12885-12890
- [8] 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 U S A*, 2004, 101(9): 2999-3004
- [9] Avissar-Whiting M, Veiga KR, Uhl KM, et al. Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells[J]. *Reprod Toxicol*, 2010, 29(4): 401-406

- [10] Tilghman SL, Bratton MR, Segar HC, et al. Endocrine disruptor regulation of microRNA expression in breast carcinoma cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e32754
- [11] Singh S, Li SS. Epigenetic effects of environmental chemicals bisphenol a and phthalates[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(8):10143–10153
- [12] Li X, Xie W, Xie C, et al. Curcumin Modulates miR-19/PTEN/AKT/p53 Axis to Suppress Bisphenol A-induced MCF-7 Breast Cancer Cell Proliferation[J]. *Phytother Res*, 2014, [Epub ahead of print]
- [13] Yu S, Zhang Y, Yuen MT, et al. 17-Beta-estradiol induces neoplastic transformation in prostatic epithelial cells[J]. *Cancer Lett*, 2011, 304(1):8–20
- [14] Keri RA, Ho SM, Hunt PA, et al. An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A [J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 24(2):240–252
- [15] Schonfelder G, Wittfoht W, Hopp H, et al. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit[J]. *Environ Health Perspect*, 2002, 110(11):A703–707
- [16] Fenton SE. Endocrine-disrupting compounds and mammary gland development; early exposure and later life consequences[J]. *Endocrinology*, 2006, 147(6 Suppl):S18–24
- [17] Hu WY, Shi GB, Lam HM, et al. Estrogen-initiated transformation of prostate epithelium derived from normal human prostate stem-progenitor cells[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(6):2150–2163
- [18] Derouiche S, Warnier M, Mariot P, et al. Bisphenol A stimulates human prostate cancer cell migration remodelling of calcium signalling[J]. *Springerplus*, 2013, 2(1):54
- [19] Ye Q, Chung LW, Cinar B, et al. Identification and characterization of estrogen receptor variants in prostate cancer cell lines[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2000, 75(1):21–31
- [20] He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene[J]. *Nature*, 2005, 435(7043):828–833
- [21] Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(21):9628–9632
- [22] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers[J]. *Nature*, 2005, 435(7043):834–838
- [23] Yan HL, Xue G, Mei Q, et al. Repression of the miR-17-92 cluster by p53 has an important function in hypoxia-induced apoptosis[J]. *EMBO J*, 2009, 28(18):2719–2732
- [24] Olive V, Bennett MJ, Walker JC, et al. miR-19 is a key oncogenic component of mir-17-92[J]. *Genes Dev*, 2009, 23(24):2839–2849
- [25] Wang SY, Shiboski S, Belair CD, et al. miR-19, miR-345, miR-519c-5p serum levels predict adverse pathology in prostate cancer patients eligible for active surveillance [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e98597
- [26] John-Aryankalayil M, Palayoor ST, Makinde AY, et al. Fractionated radiation alters oncomir and tumor suppressor miRNAs in human prostate cancer cells [J]. *Radiat Res*, 2012, 178(3):105–117
- [27] Ptak A, Gregoraszczyk EL. Bisphenol A induces leptin receptor expression, creating more binding sites for leptin, and activates the JAK/Stat, MAPK/ERK and PI3K/Akt signalling pathways in human ovarian cancer cell [J]. *Toxicol Lett*, 2012, 210(3):332–337
- [28] Zhu H, Zheng J, Xiao X, et al. Environmental endocrine disruptors promote invasion and metastasis of SK-N-SH human neuroblastoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2009, 23(1):129–139
- [29] Qin X, Wang X, Wang Y, et al. MicroRNA-19a mediates the suppressive effect of laminar flow on cyclin D1 expression in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(7):3240–3244
- [30] Machová Polaková K, Lopotová T, Klamová H, et al. Expression patterns of microRNAs associated with CML phases and their disease related targets [J]. *Mol Cancer*, 2011, 10:41

[收稿日期] 2014-06-13