

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.05.009

· 临床研究 ·

miR-103a-3p 在乳腺癌组织和血清中的表达及通过下调 *PDK4* 抑制乳腺癌细胞的有氧糖酵解及增殖

张亚珍^a, 何贵省^a, 吴晓明^a, 宋杰峰^b, 吴煌福^a(海南医学院第二附属医院 a. 肿瘤外科; b. 放射科, 海南 海口 570311)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-103a-3p 在乳腺癌组织及血清中的表达及其作用机制。**方法:** 选用 2017 年 3 月 1 日至 2017 年 8 月 31 日在海南医学院第二附属医院肿瘤外科手术切除、经病理确诊为乳腺癌的 31 例癌组织及对应的 21 例癌旁组织标本, 38 例乳腺癌患者及 22 例健康体检者的血清标本, 以及乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDA-MB-231, 分别利用慢病毒载体 pHBLV-U6-Luc-T2A-Puro 和 PLL3.7 敲低乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDA-MB-231 中的 miR-103a-3p 和 *PDK4*, qPCR 法和 Western blotting 法检测 miR-103a-3p 和 *PDK4* 在癌组织、血清及乳腺癌细胞系中 mRNA 和蛋白的表达, CCK-8 细胞增殖实验检测转染的乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 的细胞增殖水平, 用 Olympus AU5400 检测葡萄糖消耗与乳酸生成。**结果:** 乳腺癌患者组织和血清中 miR-103a-3p 表达水平均显著低于癌旁组织 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。敲低 miR-103a-3p 后, 乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDA-MB-231 中葡萄糖消耗 ($P < 0.01$) 与乳酸生成增多 ($P < 0.01$)、细胞增殖增强 ($P < 0.01$)、*PDK4* 表达上调 ($P < 0.01$); 在 miR-103a-3p 沉默的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中, 敲低 *PDK4* 导致减弱葡萄糖消耗 ($P < 0.01$)、乳酸生成 ($P < 0.01$) 和细胞增殖 ($P < 0.01$)。**结论:** 乳腺癌细胞中 miR-103a-3p 通过抑制 *PDK4* 减弱糖酵解活动, 从而抑制乳腺癌细胞增殖。

[关键词] 乳腺癌; MCF-7 细胞; MDA-MB-231 细胞; miR-103a-3p; 丙酮酸脱氢酶激酶 4; 糖酵解; 细胞增殖

[中图分类号] R737.9; R730.23 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)05-0490-07

Expression of miR-103a-3p in breast cancer tissues and its suppression on glycolysis and proliferation of breast cancer cells via down-regulating *PDK4*

ZHANG Yazhen^a, HE Guisheng^a, WU Xiaoming^a, SONG Jiefeng^b, WU Huangfu^a(a. Department of Oncological Surgery, b. Department of Radiology, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570311, Hainan, China)

[Abstract] **Objective:** To explore miR-103a-3p expression in the tumor tissues and the serum of breast cancer patients, and its role and mechanism in breast cancer development. **Methods:** Pathologically confirmed 31 cases of tumor tissues and 21 cases of para-cancerous tissues resected at Department of Oncological Surgery of the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University (Haikou, China) from March 1, 2017 to August 31, 2017 were collected for this study; in addition, serum samples from 38 breast cancer patients and 22 healthy subjects as well as the breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231 were used in this study. pHBLV-U6-Luc-T2A-Puro and PLL3.7 lentivirus were applied to knock down miR-103a-3p and *PDK4* in MCF-7 and MDA-MB-231 cells, respectively. qPCR and Western blotting were performed to examine the mRNA and protein expressions of miR-103a-3p and *PDK4* in tissues and serums of breast cancer patients as well as the in cell lines, respectively; CCK-8 assay was applied to detect the proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 cells; Olympus AU5400 was applied to detect the glucose consumption and lactate production in indicated cell line. **Results:** miR-103a-3p was significantly decreased in tumor tissues compared with the paracancerous tissues ($P < 0.01$). miR-103a-3p knockdown activated the glucos consumption and lactate production (all $P < 0.01$), increased the *PKD4* expression ($P < 0.01$) in MCF-7 and MDA-MD-231 cells, and promoted the proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 cells ($P < 0.01$). Furthermore, knockdown of *PDK4* suppressed the glucose consumption, lactate production and proliferation in MCF-7 and MDA-MB-231 cells with miR-103a-3p silencing (all $P < 0.01$). **Conclusion:** In the breast cancer, miR-103a-3p inhibited the proliferation of breast cancer cells through down-regulation

[基金项目] 海南省卫生厅科研项目(No. 2011-73); 海南省重点研发计划资助项目(No. ZDYF2017087)。Project supported by the Health Department of Hainan Province(No. 2011-73), and the Key Research and Development Plan of Hainan Province(No. ZDYF2017087)

[作者简介] 张亚珍(1983-), 女, 学士, 主治医师, 主要从事乳腺癌的基础及临床研究, E-mail: yazhenzhang@yeah.net

[通信作者] 吴煌福(WU Huangfu, corresponding author), 硕士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事乳腺癌的基础及临床研究, E-mail: wuhuangfu2017@sina.com

of PDK4 and PDK4-mediated aerobic glycolysis.

[Key words] breast cancer; MCF-7 cells; MDA-MB-231 cells; miR-103a-3p; PDK4; aerobic glycolysis; cell proliferation

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(5): 490-496. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.05.009]

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一^[1],有着较高的发病率与病死率。乳腺癌的复发与转移是临床治疗失败的最主要原因。大规模的基因组分析进一步揭示了乳腺癌是一种复杂且具有多突变基因特征性疾病^[2-3]。尽管激素治疗与靶向治疗已取得一定的效果,但是耐药问题却普遍存在^[4]。尤其是针对三阴性乳腺癌,目前尚无有效的治疗方法^[5-6]。近年来,微小RNA(microRNA, miRNA)在乳腺癌的发生发展中的作用受到越来越多的关注^[7-8]。有研究报道,miRNA133(miR-133)在乳腺癌MCF-7细胞的侵袭和迁移中发挥重要作用^[9]; miR-129-5p可以影响乳腺癌MCF-7细胞对紫杉醇的敏感性^[10]。有氧糖酵解作为肿瘤细胞的典型生物学特征^[11],与丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4)在乳腺癌的发生发展中有着重要的作用及其联系,但是具体的作用机制还不是十分清楚^[12]。本研究利用慢病毒载体,观察沉默miR-103a-3p对乳腺癌细胞系MCF-7和MDA-MB-231的增殖能力和有氧糖酵解的影响,并探讨其相关作用机制,旨在为乳腺癌的诊治提供新的参考依据。

1 资料与方法

1.1 组织标本

采集2017年3月1日至2017年8月31日期间海南医学院第二附属医院肿瘤外科手术切除并经病理确诊的31例乳腺癌组织标本及对应的21例癌旁组织标本、38例乳腺癌患者血清样本,以及同期22例健康体检者的血清样本。所有标本的采集前均告知患者并签署知情同意书,研究方案得到本医院伦理委员会的批准。

1.2 细胞系及主要试剂

乳腺癌细胞系MCF-7和MDA-MB-231购自ATCC细胞库,正常乳腺细胞、293T细胞分别来自上海拜力生物科技有限公司和赛默飞世尔。PDK4(Abcam公司), β -actin一抗抗体、二抗抗体(Santa Cruz Biotechnology),胎牛血清(Gibco公司),DMEM培养基及胰蛋白酶(Hyclone公司),TRIzol、Lipofectamine™ 2000转染试剂(Invireogen公司),ReverTra Ace qPCR RT Kit (TOYOBO公司),TransStart SYBR Green qPCR SuperMix(全式金公司),RNA酶抑制剂和RNA酶 free water(Promega公司),pHBLV-U6-Luc-T2A-Puro及miR-103a-3p sponge序列(汉恒生物公司)。

1.3 细胞培养及转染

将乳腺癌MCF-7、MDA-MB-231及正常乳腺细胞置于DMEM完全培养基(含10%胎牛血清、1%青链霉素混合液和89%DMEM培养基)中,于5%CO₂、37℃恒温培养箱中培养,培养至对数生长期的细胞用于后续实验。

将pHBLV-U6-Luc-T2A-Puro慢病毒载体中插入miR-103a-3p sponge序列,并与包装质粒pSPAX2和pMD2G共转染到293T细胞,72 h后收集病毒上清,然后用0.45 μ m滤器过滤,病毒液用于感染MCF-7和MDA-MB-231细胞,用嘌呤霉素(puromycin)筛选稳定敲低细胞株。pLL3.7载体中插入PDK4靶向序列,293T细胞包装病毒,转染72 h后收集上清,感染目的细胞。

1.4 生物信息学预测miR-103a-3p可能的靶基因

利用生物信息学预测软件TargetScanHuman进行miR-103a-3p可能的靶基因预测。

1.5 qPCR法检测乳腺癌组织及血清中miR-103a-3p表达

按照康为世纪RNA提取试剂盒提取乳腺癌细胞的总RNA,依据miRNeasy Serum/Plasma Kit(QIAGEN)试剂盒提取血液总RNA。用东洋纺(TOYOBO)去基因组反转录试剂盒进行RNA反转录,TransStar SYBR Green qPCR SuperMix用于qPCR反应,反应条件:95℃ 10 min,45个循环;在95℃变性10 s,在60℃退火和延伸60 s。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算乳腺癌组织及血清中miR-103a-3p和PDK4表达水平。实验重复3次。

1.6 Western blotting检测MCF-7和MDA-MB-231细胞中PDK4蛋白表达

细胞蛋白用裂解液(1 g SDS、0.75 g DTT、3 ml Tris, pH6.8、5 ml甘油,加水定容至50 ml,一定量溴酚蓝)室温裂解5 min,98℃恒温金属浴10 min,13 800×g离心5 min,于-20℃保存待用。BCA蛋白试剂盒用于测定蛋白浓度,取上述蛋白50~80 μ g,SDS-PAGE分离,转移至PVDF膜,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,4℃孵育PDK4一抗过夜后,孵育PDK4二抗,化学发光仪显色,凝胶成像系统成像扫描分析。

1.7 CCK-8法检测MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖

使用CCK-8试剂盒检测细胞增殖。将 4×10^3 个细胞置于96孔板,加入200 μ l完全培养基/孔,设定4~6 h时细胞贴壁为0 h。分别在培养0、24、48、96 h于每孔加入20 μ l CCK-8溶液,并在37℃孵育2 h。

酶标仪检测 450 nm 处光密度(D)值,运用重复测量 方差分析与独立样本 *t* 检验计算细胞相对增殖活力。 设 3 个复孔,实验重复 3 次。

表 1 qPCR 引物
Tab.1 Primers for qPCR

Gene	Sequence (5'-3')
U6 RT primer	AAAATATGGAACGCTTCACGAATTTG
<i>U6</i>	F:CTCGCTTCGGCAGCACATATACT R:ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC
miR-103a-3p RT primer	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACTCATAG
miR-103a-3p	F:GCAGCAGCATTGTACAGGG R:GTGCAGGGTCCGAGGT
<i>PDK4</i>	F:GGAAGCATTGATCCTAACTGTGA R:GGTGAGAAGGAACATACACGATG
<i>β-actin</i>	F:GAGCTGCGTGTGGCTCCC R:CCAGAGGCGTACAGGGATAGCA

1.8 Olympus AU5400 生化仪检测 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞葡萄糖与乳酸含量

将(6~8)×10⁵ 细胞铺置于 12 孔板并培养过夜。测量之前,血细胞计数器对细胞进行计数。Olympus AU5400 与 Dade Behring RXL MAX 系统用于检测葡萄糖消耗与乳酸生成。计算并标准化葡萄糖消耗与乳酸生成。实验重复 3 次。

1.9 统计学处理

采用 GraphPad Prism 7 统计软件,两组之间比较

用 *t* 检验,多组之间比较用 One-way ANOVA 检验。以 *P*<0.05 或 *P*<0.01 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-103a-3p 在乳腺癌组织与血清中均低表达

qPCR 法检测结果(图 1A)显示,乳腺癌组织中 miR-103a-3p 表达水平显著低于癌旁组织(*t*=15.21, *P*<0.01);乳腺癌患者血清中 miR-103a-3p 表达水平显著低于健康人(*t*=3.22, *P*<0.05;图 1B)。

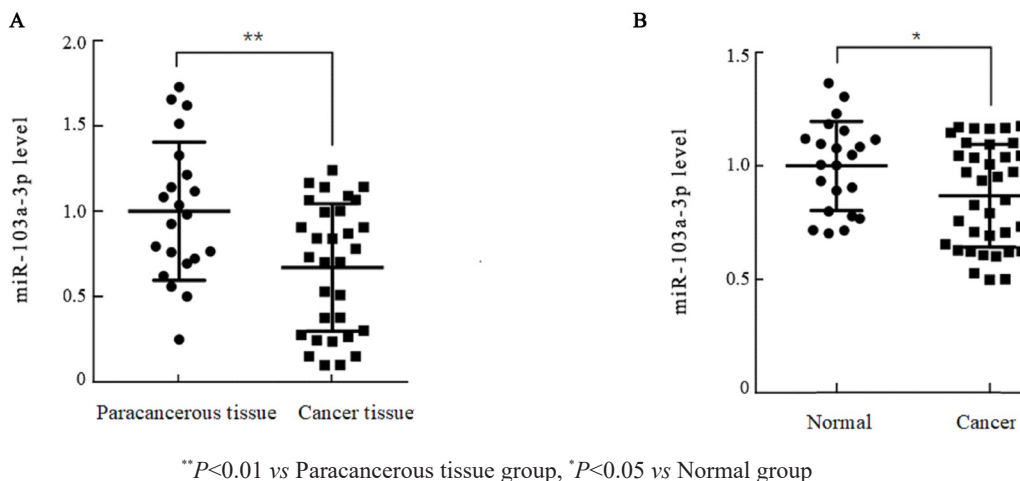


图 1 miR-103a-3p 在乳腺癌组织(A)与血清(B)中的表达情况

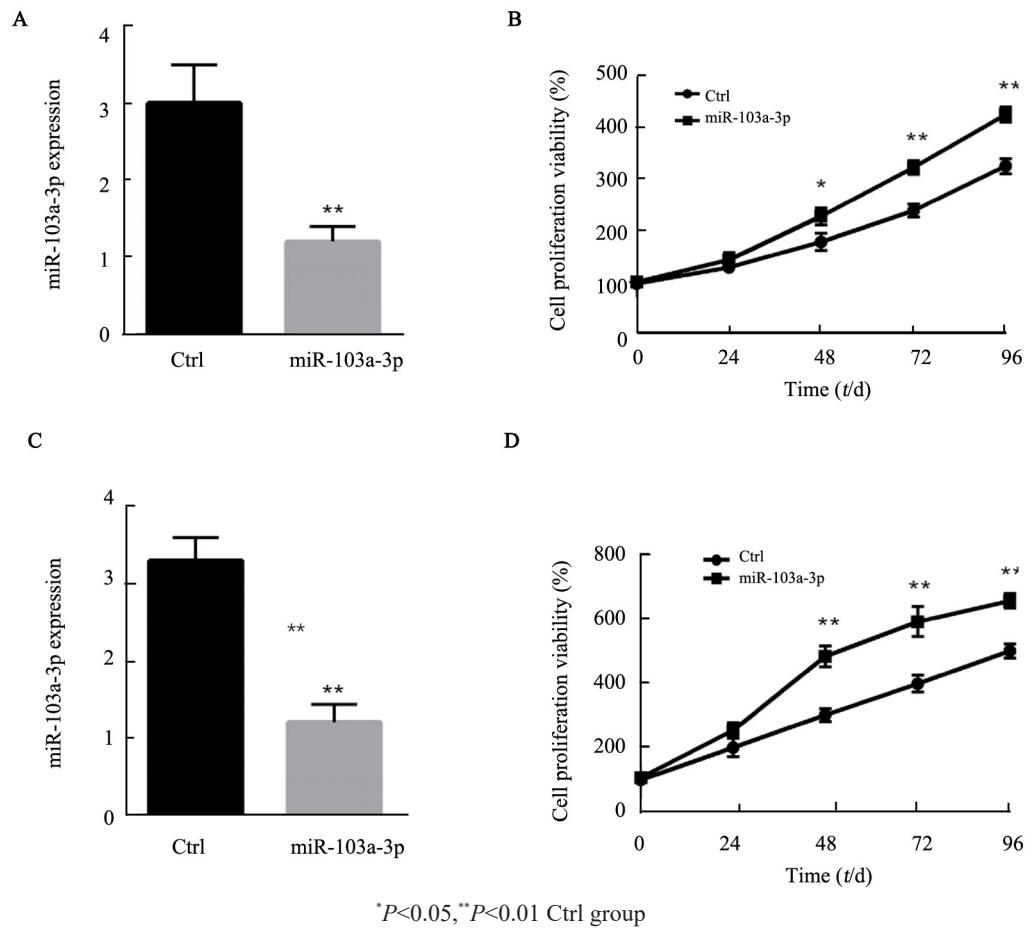
Fig. 1 Expression of miR-103a-3p in tissue (A) and serum samples (B) of breast cancer patients

2.2 下调 miR-103a-3p 增强 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的增殖

利用慢病毒载体 pHBLV-U6-Luc-T2A-Puro 在 MCF 与 MDA-MB-231 细胞中敲低 miR-103a-3p 后, qPCR 检测结果(图 2A、2C)显示,两组细胞 miR-103a-3p 的表达水平均显著低于对照组(*t*=15.81, 20.09;均

P<0.01)。CCK-8 细胞增殖实验结果(图 2B、2D)显示,在 0 和 24 h 的敲低 miR-103a-3p 的 MCF 与 MDA-MB-231 细胞的增殖速率较对照细胞无显著差异(*t*=1.03, 1.33, 0.54, 0.20; 均 *P*>0.05);但在 48、72 和 96 h 时,敲低 miR-103a-3p 的 MCF 细胞与 MDA-MB-231 细胞较对照组细胞增殖速率显著增强(*F*=7.81,

14.81, $P < 0.05$; 图2B、2D)。



A, C: Expression of miR-103a-3p; B, D: Cell proliferation

图2 下调miR-103a-3p促进乳腺癌细胞MCF-7(A,B)和MDA-MB-231(C,D)的增殖

Fig. 2 miR-103a-3p knockdown promoted the proliferation of MCF-7(A,B) and MDA-MB-231(C,D) cells

2.3 miR-103a-3p抑制乳腺癌细胞糖酵解活动

Olympus AU5400检测结果显示,较MCF-7对照组细胞,敲低miR-103a-3p的MCF-7细胞的葡萄糖消耗显著增加($t=4.35, P < 0.05$;图3A)、乳酸生成增加($t=17.68, P < 0.01$;图3B);敲低miR-103a-3p的MDA-MB-231细胞的葡萄糖消耗显著增加($t=15.43, P < 0.01$;图3C)、乳酸生成增多($t=12.39, P < 0.01$;图3D)。

2.4 miR-103a-3p抑制乳腺癌细胞中PDK4的表达

专业的预测软件TargetScanHuman显示,*PDK4*的UTR区域能与miR-103a-3p结合(图4A)。

qPCR法及Western blotting法检测结果(图4)显示,敲低miR-103a-3p后,MCF-7细胞中*PDK4* mRNA和蛋白表达升高($t=11.27, 26.31$;均 $P < 0.01$;图4B);同样地,在MDA-MB-231细胞中敲低miR-103a-3p后,*PDK4* mRNA和蛋白表达升高($t=8.06, 23.22$,均 $P < 0.01$;图4C)。

2.5 下调PDK4抑制敲低miR-103a-3p的乳腺癌细胞的糖酵解活性和细胞增殖

Olympus AU5400检测结果(图5)显示,在miR-

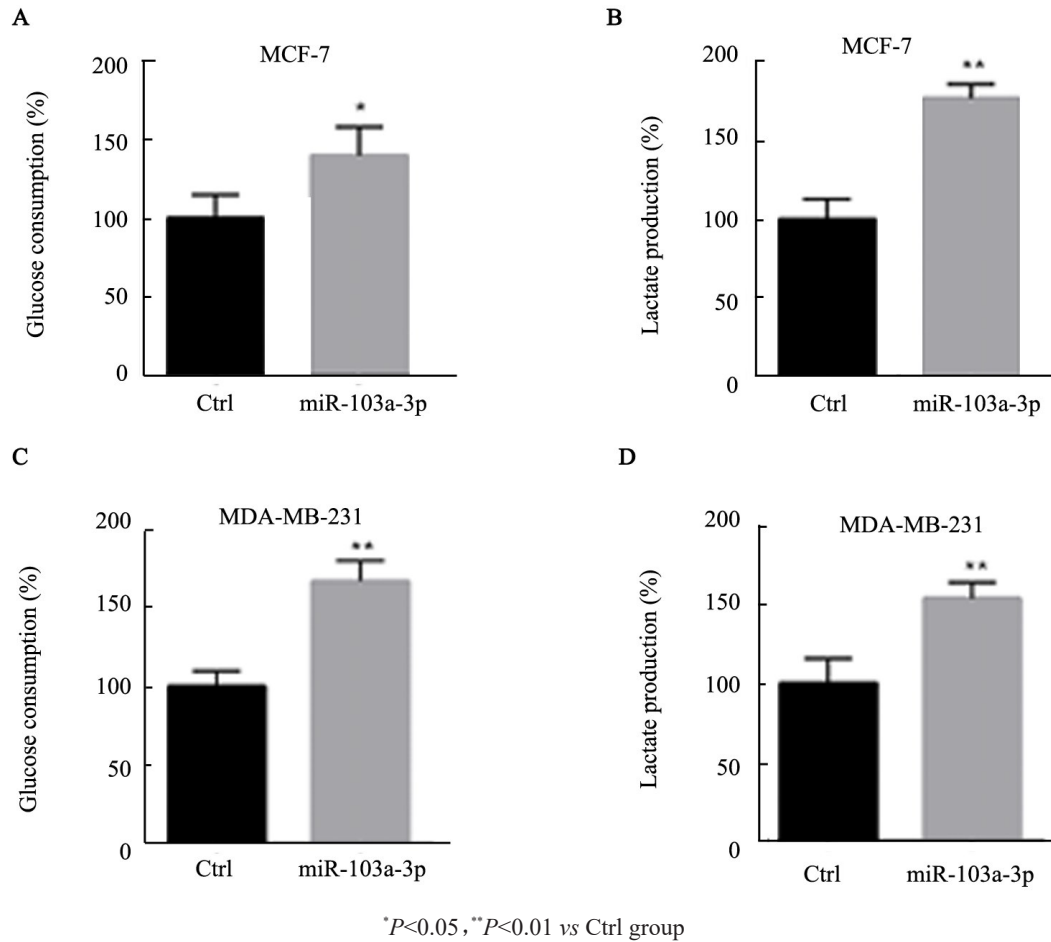
103a-3p稳定敲低的乳腺癌细胞中沉默*PDK4*基因后,MCF-7细胞的糖酵解活性减弱($t=4.33, P < 0.05$;图5A)、乳酸产物减少($t=4.21, P < 0.05$;图5B)、细胞增殖被抑制($F=7.90, P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;图5C);MDA-MB-231细胞的糖酵解活性减弱($t=10.84, P < 0.01$;图5A)、乳酸产物减少($t=11.61, P < 0.01$;图5B)、细胞增殖被抑制($F=8.71, P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;图5D)。

3 讨论

miRNA是一种高度保守的短序列非编码RNA,它在转录后水平上调节基因表达^[13]。越来越多的证据^[14]表明,miRNA在调控细胞增殖、分化与凋亡等重要生物学过程中发挥着重要作用。miRNA表达异常与人类癌症息息相关^[15]。有研究^[16]认为,miR-103a-3p参与卵巢癌增殖、迁移、侵袭等重要活动。miR-103a-3p被认为是结肠癌、乳腺癌的重要预后分子^[17-20]。本研究结果发现,乳腺癌组织与患者血清中miR-103a-3p表达水平显著低于癌旁组织及正常人血清(均 $P < 0.01$)。因此,本研究认为miR-103a-3p在乳

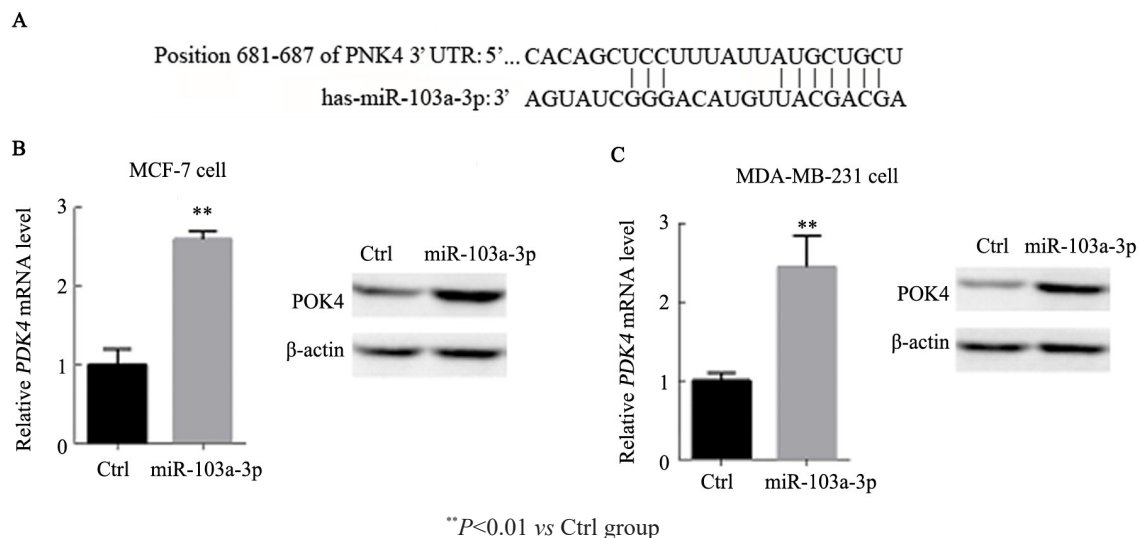
腺癌中可能有抑癌作用。为验证以上推断,本课题组在乳腺癌 MCF-7 及 MDA-MB-231 细胞中敲低 miR-103a-3p,通过检测乳腺癌细胞的增殖能力变化发现,敲低 miR-103a-3p 的乳腺癌 MCF-7 与 MDA-

MB231 细胞的增殖能力显著增强。以上结果提示 miR-103a-3p 在乳腺癌中是一个抑癌因子,此为乳腺癌的诊断与治疗带来新的方向。



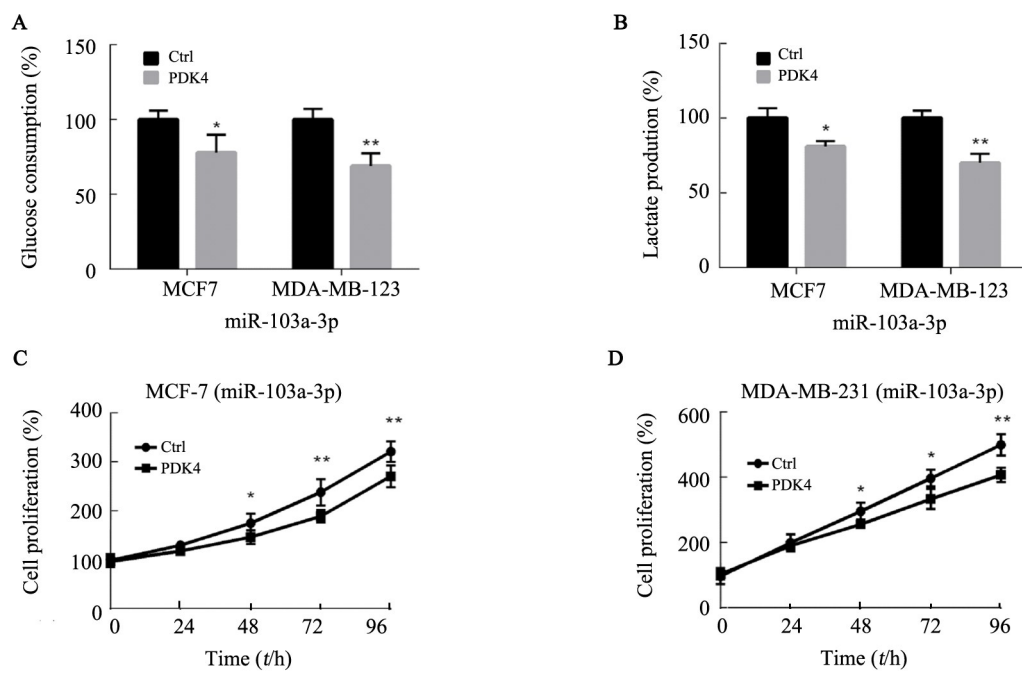
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl group
A, C: Glucose consumption; B, D: Lactate production

图3 下调 miR-103a-3p 促进乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 的糖酵解活动
Fig. 3 miR-103a-3p knockdown promoted glycolysis in MCF-7 and MDA-MB-231 cells



** $P < 0.01$ vs Ctrl group
A: miR-103a-3p binds 3' UTR of PDK4; B, C: The mRNA and protein level of PDK4

图4 miR-103a-3p 调控 PDK4 的表达
Fig. 4 miR-103a-3p regulates the expression of PDK4



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl group

A: Glucose consumption; B: Lactate production; C: Proliferation of MCF-7 cells; D: Proliferation of MDA-MB-231 cells

图5 沉默PDK4抑制miR-103a-3p敲低的乳腺癌细胞糖酵解活动和细胞增殖

Fig. 5 Knockdown of PDK4 suppressed the glycolysis and cell proliferation in miR-103a-3p silenced breast cancer cells

在正常细胞中,糖酵解活动是由低氧环境引起的;而肿瘤细胞即使在有氧条件下也偏向于通过糖酵解方式进行葡萄糖代谢。这一现象被称为瓦博格效应(Warburg effect)。如今,该效应已被认为是肿瘤细胞代谢的典型特征。葡萄糖消耗或者乳酸生成增加是糖酵解活动增强的两个重要指标。在本研究中,miR-103a-3p敲低后乳腺癌细胞葡萄糖消耗增加且乳酸生成速率增强,提示着糖酵解活动增强。此外,在MCF-7细胞与MDA-MB-231细胞中敲低miR-103a-3p,PDK4 mRNA与蛋白表达水平都显著上调。由于PDK4是糖酵解活动重要的上游调节因子,本研究认为miR-103a-3p可能是通过下调PDK4抑制糖酵解活动。为了验证该猜想,在miR-103a-3p沉默的MCF-7和MDA-MB-231细胞中进一步敲低PDK4,观察结果显示,敲低PDK4的MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖速率显著降低(均 $P < 0.01$)。

本研究首次阐明了miR-103a-3p在乳腺癌中的抑癌作用。miR-103a-3p在乳腺癌组织与患者血清中表达水平降低。稳定敲低miR-103a-3p促进乳腺癌细胞增殖。此外,敲低miR-103a-3p后,乳腺癌细胞中的PDK4表达增加并伴随糖酵解活动增强。进一步地,笔者在miR-103a-3p稳定敲低的乳腺癌细胞中沉默PDK4,细胞的糖酵解活动和细胞增殖能力受到显著抑制。

综上所述,miR-103a-3p是乳腺癌的重要抑癌

miRNA,它通过调控PDK4表达和影响有氧糖酵解抑制乳腺癌细胞增殖。该研究可以为乳腺癌诊断和治疗带来新的方向。

[参考文献]

- [1] DESANTIS C, MA J, BRYAN L, JEMAL A. Breast cancer statistics, 2013[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 52-62. DOI: 10.3322/caac.21203.
- [2] CIRIELLO G, GATZA M L, BECK A H, et al. Comprehensive molecular portraits of invasive lobular breast cancer[J]. Cell, 2015, 163(2): 506-519. DOI: 10.1016/j.cell.2015.09.033.
- [3] NIK-ZAINAL S, DAVIES H, STAAF J, et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences[J]. Nature, 2016, 534(7605): 47-54. DOI: 10.1038/nature17676.
- [4] LUQUE-CABAL M, GARCÍA-TEJIDO P, FERNÁNDEZ-PÉREZ Y, et al. Mechanisms behind the resistance to trastuzumab in HER2-amplified breast cancer and strategies to overcome it[J]. Clin Med Insights Oncol, 2016, 10(Suppl 1): 21-30. DOI: 10.4137/CMO.S34537.
- [5] KALIMUTHO M, PARSONS K, MITTAL D, et al. Targeted therapies for triple-negative breast cancer: combating a stubborn disease [J]. Trends Pharmacol Sci, 2015, 36(12): 822-846. DOI: 10.1016/j.tips.2015.08.009.
- [6] GU G, DUSTIN D, FUQUA S A. Targeted therapy for breast cancer and molecular mechanisms of resistance to treatment[J/OL]. Curr Opin Pharmacol, 2016, 31: 97-103[2017-10-16].http://www.sciencedirect.com/science/journal/14714892. DOI: 10.1016/j.coph.2016.11.005.
- [7] WANG W, LUO Y P. MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential[J]. J Zhejiang Uni Sci B,

- 2015, 16(1): 18-31. DOI: 10.1631/jzus.B1400184.
- [8] WANG J, YANG M, LI Y, et al. The role of microRNAs in the chemoresistance of breast cancer[J]. *Drug Dev Res*, 2015, 76(7): 368-374. DOI: 10.1002/ddr.21275.
- [9] 张建波, 宋魏, 王媛媛, 等. miR-133 通过 Notch1 信号通路调控 BCAR4 对乳腺癌迁移和侵袭的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(7): 733-741. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.07.007.
- [10] 路璐, 王云凤, 吕以东, 等. miR-129-5p 通过 HMGB1 调控乳腺癌 MCF-7 细胞对紫杉醇的敏感性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(1): 62-67. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.011.
- [11] WARBURG O. On the origin of cancer cells[J]. *Science(New York, NY)*, 1956, 123(3191): 309-314.
- [12] TAKUBO K, NAGAMATSU G, KOBAYASHI C I, et al. Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(1): 49-61. DOI: 10.1016/j.stem.2012.10.011.
- [13] CANNELL I G, KONG Y W, BUSHELL M. How do microRNAs regulate gene expression?[J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 6): 1224-1231. DOI: 10.1042/BST0361224.
- [14] ESQUELA-KERSCHER A, SLAK F J. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4): 259-269. DOI: 10.1038/nrc1840.
- [15] HAYES J, PERUZZI P P, LAWLER S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460-469. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.06.005.
- [16] BIGNOTTI E, CALZA S, TASSI RA, et al. Identification of stably expressed reference small non-coding RNAs for microRNA quantification in high-grade serous ovarian carcinoma tissues[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(12): 2341-2348. DOI: 10.1111/jcmm.12927.
- [17] SHEN S, SUN Q, LIANG Z, et al. A prognostic model of triple-negative breast cancer based on miR-27b-3p and node status[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e100664[2017-10-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4063964/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0100664.
- [18] VIGNERI P, MARTORANA F, MANZELLA L, et al. Biomarkers and prognostic factors for malignant pleural mesothelioma[J]. *Future Oncol*, 2015, 11(24 Suppl): 29-33. DOI: 10.2217/fon.15.317.
- [19] HAMAYA Y, KURIYAMA S, TAKAI T, et al. A distinct expression pattern of the long 3' -untranslated region dicer mRNA and its implications for posttranscriptional regulation in colorectal cancer[J/OL]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2012, 3(7): e17[2017-10-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3412679/>. DOI: 10.1038/ctg.2012.12.
- [20] CHANG J T, WANG F, CHAPIN W, et al. Identification of microRNAs as breast cancer prognosis markers through the cancer genome atlas[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0168284. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5154569/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0168284.

[收稿日期] 2017-12-28

[修回日期] 2018-03-14

[本文编辑] 党瑞山