

· 论 著 ·

肺腺癌组织微 RNA 表达谱及在 CD133⁺ 肺癌细胞中的表达研究*胡欣春, 徐建军, 喻东亮, 彭金华, 魏益平[△]

(南昌大学第二附属医院心胸外科, 江西南昌 330006)

摘要:目的 探讨肺癌组织中微 RNA(miRNA)的表达谱以及在 CD133⁺ A549 中的表达。方法 取肺腺癌患者的肺癌组织标本和癌旁组织标本,进行 miRNA 表达芯片分析。利用流式细胞术(FCM)分选并培养 CD133⁺ A549 细胞 2 周,检测 CD133⁺、CD44⁺表达分析并应用实时荧光定量 PCR 检测 miRNA-892b 和 miRNA-4686 在 CD133⁺ A549 细胞中的表达情况。结果 肺癌组织中有 27 个 miRNA 表达较癌旁组织中的表达上调($P < 0.05$),6 个 miRNA 的表达较癌旁组织中的表达下调($P < 0.05$)。CD133⁺ A549 细胞 CD133⁺、CD44⁺双阳性表达率为 75.0%。CD133⁺ A549 细胞中 miRNA-892b 和 miRNA-4686 的表达显著高于 A549 细胞($P < 0.01$)。结论 肺腺癌组织中 miRNA 存在异常表达谱,miRNA-892b 和 miRNA-4686 可能在维持 CD133⁺ 肺癌细胞生物学特性中发挥着一定的作用。

关键词:肺肿瘤;微 RNAs;CD133

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.12.001

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)12-1409-03

Expression profile of microRNAs in lung adenocarcinoma tissue and its expression in CD133⁺ lung cancer cells*Hu Xinchun, Xu Jianjun, Yu Dongliang, Peng Jinhua, Wei Yiping[△]

(Department of Cardiothoracic Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

Abstract: Objective To study the expression profile of microRNAs in the lung adenocarcinoma tissue and its expression in CD133⁺ lung cancer cells. **Methods** The specimens of adenocarcinoma tissue and pericarcinomatous tissue were collected for conducting the microRNA expression chip analysis. The flow cytometry(FCM) was adopted to sort and culture CD133⁺ A549 cells in serum-free medium for 2 weeks. The positive rate of CD133⁺ CD44⁺ in those cells was assayed. The expression of miRNA-892b and miRNA-4686 in CD133⁺ A549 cells were detected by real-time qPCR. **Results** Compared with the pericarcinomatous tissue, 27 miRNAs expressions in the lung adenocarcinoma tissue were up-regulated($P < 0.05$) and 6 miRNAs expressions were down-regulated($P < 0.05$). The positive rate of cancer stem like cells CD133⁺ CD44⁺ was 75.0%. The expression of miRNA-892b and miRNA-4686 in CD133⁺ A549 cells was higher than A549 cells($P < 0.01$). **Conclusion** Abnormal expression profile of miRNAs in lung adenocarcinoma tissue, and miRNA-892b and miRNA-4686 may play a certain role to maintain the biological characteristics of CD133⁺ lung cancer cells.

Key words: lung neoplasms; microRNAs; CD133

肺癌发生率日趋增高,其中非小细胞肺癌占到 80%以上。目前 70%以上肺癌患者被诊断明确时已无法切除肿瘤,只能以放、化疗为主。由于多次治疗后的肿瘤对放、化疗耐受能力提高以及肿瘤的复发,最终导致治疗失败。有研究表明肿瘤放、化疗耐受能力提高的根源在肿瘤干细胞^[1],而目前尚无有效杀灭干细胞的药物。故亟待对肿瘤干细胞进行深入的研究,阐明其相关机制,为肿瘤防治提供新的策略。

微 RNA (mircoRNA, miRNA) 一类是存在于细胞质中的非编码蛋白 RNA,其通过对靶向 mRNA 的翻译抑制或 mRNA 清除达到对基因表达的调控作用^[2]。生物信息学研究表明单个 miRNA 可绑定数百个靶 mRNA,因此,其在多种生物进程中发挥着非常重要的作用^[3]。国外研究表明,miRNA 与肿瘤的发生、发展有着非常密切的关系^[4]。本研究旨在通过对肺癌组织与癌旁组织的比较,探讨 miRNA 在肺腺癌中的异常表达谱以及 miRNA 在肿瘤干细胞中的表达。

1 材料与方**1.1 材料** DMEM 培养基、DMEM/F12 培养基、胎牛血清购

自 Hyclone 公司;表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF),碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和 opti-Mem 购自 Gibco 公司;B27、胰岛素购自 Sigma 公司;APC 标记抗人 CD133/1(AC133)抗体购自 Miltenyi Biotec 公司;FITC 标记抗人 CD44 抗体购自 BD 公司;TR-IZOL 购自 Invitrogen 公司;肿瘤干细胞培养基(Serum Free Medium, SFM): DMEM/F12 + 胰岛素(4 U/L) + B27(1x) + EGF(20 μg/L) + bFGF(20 μg/L)。总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒以及 PCR 试剂盒均购自东洋纺公司,miRCURYTM Array Power Labeling kit 购自 Exiqon 公司, Hairpin-itTM miRNAs 定量 PCR 试剂盒购自吉玛公司。

1.2 方法

1.2.1 采集标本 收集本院因肺癌进行手术患者的肿瘤组织和癌旁组织标本 5 对,肿瘤组织经病理检测均为腺癌,编号分别为:557019CA 和 557019CAB, 554528CA 和 554528CAB, 557382CA 和 557382CAB, 556130CA 和 556130CAB, 556638CA 和 556638CAB(CA:肺癌组织;CAB:癌旁组织)。

* 基金资助:国家自然科学基金资助项目(81160293);国家重大科学仪器设备开发专项(2011YQ170067);江西省教育厅青年科学基金资助项目(GJJ10067)。作者简介:胡欣春(1976-),副主任医师,在职博士研究生,主要从事心胸外科疾病诊治研究。△ 通讯作者, Tel: 13687919322; E-mail: 17344296@qq.com。

表 1 CD133、CD44 和 GAPDH 的引物序列(5'→3')

基因	正向引物	反向引物	扩增片段(bp)
CD133	TGG CTT TGG CCA TAT TTT TC	CCG ATG TAC TGC ATG TGG TC	199
CD44	CTG TGC TAT CCC TGT ACG CCT CTG	GTG ATC TCC TTC TGC ATC CTG RCG	200
GAPDH	GAA AGC CTG CCG GTG ACT AA	TGG AAT TTG CCA TGG GTG GA	274

表 2 miRNA-892b、miRNA-4686 和 U6 的引物序列(5'→3')

基因	正向引物	反向引物	扩增片段(bp)
hsa-miRNA-892b	CTC TCA CTG GCT CCT TTC TGG	GGA ACG CTT CAC GAA TTT G	74
hsa-miRNA-4686	CTC TCA CTG GCT CCT TTC TGG	TAT GCT TGT TCT CGT CTC TGT GTC	76
U6	ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT	GGA ACG CTT CAC GAA TTT G	70

1.2.2 miRNA 的检测 将一定量的组织标本加入 4 mL 离心管中,加入 1 mL TRIzol 后使用组织匀浆器将组织充分匀浆后,按照总 RNA 提取说明书进行操作,提取总 RNA。按照 miRCURYTM Array Power Labeling kit 操作说明完成对 miRNA 的标记并在芯片上杂交,使用 Axon GenePix 4000B microarray scanner 对其芯片进行扫描。芯片图像的原始荧光强度数据由 GenePix Pro6.0 软件完成分析,通过原始值减去背景值来做修正,并用中值做标准化,分别计算出 10 个样本中 miRNA 的标准值及两两之间标准值的比值。用 Volcano Plot filtering 挑选差异表达的 miRNA,用 MEV 软件对差异表达 miRNA 进行聚类分析^[5]。

1.2.3 肺癌及癌旁组织 CD133 mRNA 及 CD44 mRNA 检测 合成 CD133、CD44 和内参 GAPDH 的引物,见表 1。按照 TRIzol 提取总 RNA 试剂盒说明书提取组织总 RNA。取 3 μg 总 RNA 按照逆转录试剂盒说明书以 37 °C 15 min,85 °C 5 s 将总 RNA 逆转录为 cDNA。使用通用 PCR 试剂盒对目的基因进行扩增后,进行琼脂糖电泳,CCD 照相后使用 IPP 软件进行半定量分析。

1.2.4 非小细胞肺癌细胞 A549 的培养 A549 细胞培养于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,细胞置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度下的培养箱中传代培养,取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.5 流式细胞术(FCM)对 CD133⁺、CD44⁺ 细胞的分选以及表达检测 收集 10⁷ 个细胞后用含有 2% 胎牛血清的 PBS (buffer)重悬,300×g 离心 10 min 后弃去上清液,加入 80 μL buffer 后,加入 10 μL CD133/1(AC133)抗体和 20 μL CD44 抗体,充分混匀后置于 4 °C 避光孵育 15~20 min。加入 1 mL buffer 后 300×g 离心 10 min 后弃去上清液,加入 200 μL buffer 重悬细胞后,上机分选或检测。

1.2.6 CD133⁺ A549 细胞的培养 将分选后的 CD133⁺、CD44⁺ 的 A549 细胞加入适量的 SFM,置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度下的培养箱中培养。2 周后 CD133⁺ A549 细胞状态良好。

1.2.7 miRNA-892b 和 miRNA-4686 的检测 合成 miRNA-892b、miRNA-4686 和 U6 的引物,见表 2。按照 TRIzol 提取总 RNA 试剂盒说明书提取细胞的总 RNA。逆转录条件为 25 °C 30 min,42 °C 30 min,85 °C 10 min。cDNA 采用 SYBR Seclect Master Mix 系统进行实时荧光定量 PCR 检测 miRNA-892b 和 miRNA-4686 的表达,以 U6 作为内参。每个待测基因设 4 个复孔。数据通过 Sequence detection software 1.3 系统

进行处理,按照公式 $RQ=2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算各组间的倍数关系。

1.3 统计学处理 使用 SPSS13.0 对数据进行分析,miRNA 芯片实验结果按照 Ratio>2.0 倍或 Ratio<0.5 倍为标准。其他实验至少重复 3 次,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺癌与癌旁组织 miRNA 表达比较 对肺癌组织及癌旁组织的 miRNA 表达进行分析后发现,肺癌组织中有 27 个 miRNA 表达较癌旁组织中的表达上调 2 倍以上(P<0.05),肺癌组织中有 6 个 miRNA 的表达较癌旁组织中的表达下调(P<0.05),见表 3、4。

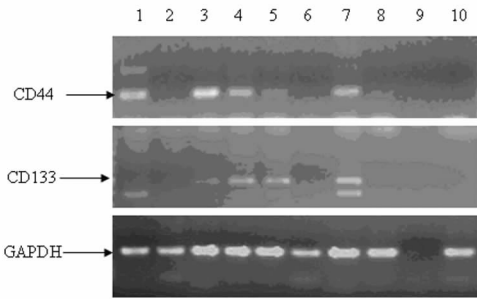
表 3 肺癌较癌旁组织中表达上调的 27 个 miRNA

项目	肺癌组织	癌旁组织	上调倍数	P
hsa-miRNA-105-5p	0.058	0.026	2.231	0.036
hsa-miRNA-892b	0.431	0.194	2.222	0.036
ebv-miRNA-BART4-5p	0.161	0.042	3.833	0.035
hsa-miRNA-4699-3p	0.219	0.093	2.355	0.042
kshv-miRNA-K12-3-3p	0.125	0.049	2.551	0.033
hsa-miRNA-26a-2-3p	0.167	0.035	4.771	0.038
hsa-miRNA-4449	0.123	0.040	3.075	0.034
hsa-miRNA-1275	0.996	0.424	2.349	0.031
hsa-miRNA-1976	1.093	0.545	2.005	0.049
hsa-miRNA-3655	0.443	0.212	2.090	0.000
hsa-miRNA-3615	0.306	0.131	2.336	0.030
hsa-miRNA-4686	0.164	0.071	2.310	0.034
Hcmv-miRNA-US25-2-3p	0.155	0.047	3.298	0.018
hsa-miRNA-450a-3p	0.194	0.082	2.366	0.013
hsa-miRNA-4732-5p	0.131	0.051	2.569	0.033
hsv1-miRNA-H14-3p	0.192	0.075	2.560	0.028
hsa-miRNA-5582-5p	0.279	0.117	2.385	0.010
hsa-miRNA-4648	0.168	0.065	2.585	0.026
hsa-miRNA-1296	0.091	0.030	3.033	0.030
hsa-miRNA-622	0.124	0.037	3.351	0.031
hsa-miRNA-4800-5p	0.341	0.122	2.795	0.030
hsa-miRNA-618	0.432	0.195	2.215	0.009
ebv-miRNA-BART13-5p	0.481	0.191	2.518	0.026
hsa-miRNA-760	0.185	0.067	2.761	0.004
hsv2-miRNA-H11-5p	0.082	0.032	2.563	0.004
hsa-miRNA-4673	0.150	0.051	2.941	0.003
hsa-miRNA-4661-3p	0.092	0.046	2.000	0.040

表 4 肺癌较癌旁组织表达下调的 6 个 miRNA

项目	肺癌组织	癌旁组织	下调倍数	P
hsa-miRNA-5002-3p	1.435	3.217	0.446	0.035
hsa-miRNA-4511	1.040	2.184	0.476	0.044
hsa-miRNA-4799-3p	1.278	4.314	0.296	0.039
hsa-miRNA-5699	2.902	7.478	0.388	0.024
hsa-miRNA-221-5p	2.256	4.729	0.477	0.036
hsa-miRNA-1321	1.798	3.768	0.477	0.042

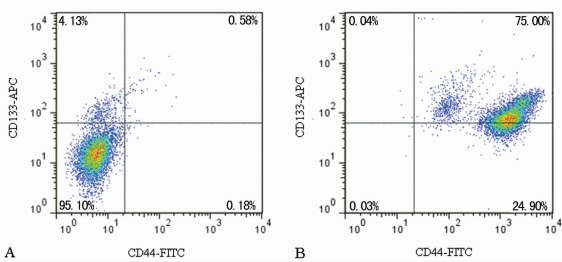
2.2 肺癌组织及癌旁组织中 CD133 mRNA、CD44 mRNA 的表达 对各对肺癌组织和癌旁组织中 CD133 mRNA 和 CD44 mRNA 的检测发现,样品 554528CA、557382CA、556130CA 呈高表达,见图 1。



1: 557019CA; 2: 557019CAB; 3: 554528CA; 4: 554528CAB; 5: 557382CA; 6: 557382CAB; 7: 556130CA; 8: 556130CAB; 9: 556638CA; 10: 556638CAB。

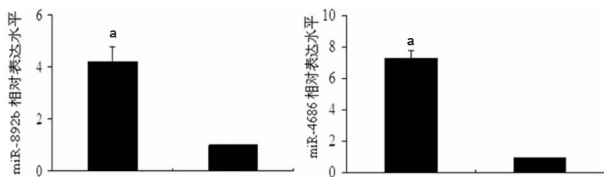
图 1 各个样本中 CD133、CD44 的表达情况

2.3 CD133⁺ A549 细胞的 CD133⁺、CD44⁺ 双阳性表达率 FCM 检测分选后培养 2 周的 CD133⁺ A549 细胞中 CD133⁺、CD44⁺ 双阳性细胞占总细胞数的 75.00%。A549 细胞中 CD133⁺、CD44⁺ 双阳性细胞约占总数的 0.58%,见图 2。



A: A549 细胞; B: CD133⁺ A549 细胞。

图 2 细胞 CD133⁺CD44⁺ 阳性率检测



1: CD133⁺ A549 细胞; 2: A549 细胞; a: P < 0.01, 与 A549 细胞比较。

图 3 miRNA-892b 和 miRNA-4686 的表达情况

2.4 miRNA-892b 和 miRNA-4686 在 CD133⁺ A549 细胞中的表达 miRNA-892b 的表达在 CD133⁺ A549 细胞中为 A549

细胞中的(4.20 ± 0.58)倍(P < 0.01); miRNA-4686 的表达在 CD133⁺ A549 细胞中为 A549 细胞中的(7.31 ± 0.52)倍(P < 0.01),见图 3。

3 讨论

本实验研究发现,miRNA-892b、miRNA-4686 等 27 个 miRNA 在肺癌组织中呈高表达,6 个 miRNAs 在肺癌组织中较癌旁组织低表达。在对肺癌组织 CD133 mRNA 和 CD44 mRNA 表达的检测中,554528CA、557382CA、556130CA 癌组织样本 CD133 mRNA 和 CD44 mRNA 的表达均显著高于癌旁组织。在进一步研究中分选并培养表达 CD133⁺ A549 细胞,并对 miRNA-892b、miRNA-4686 的表达进行验证,发现两者在 CD133⁺ A549 细胞中的表达显著高于 A549 细胞。

目前认为 miRNA 的主要功能是逆转细胞发育、增殖、凋亡、分化,促进肿瘤的发生和发展^[6]。在肿瘤中,miRNA 既发挥着肿瘤促进作用,也发挥着肿瘤抑制作用。Capodanno 等^[7]研究发现 Let-7g 的低表达与肺癌的淋巴结转移有一定的关系,而 miRNA-21 的过表达与 K-ras 的突变关系密切。Takahashi 等^[8]发现 miRNA-107、miRNA-185 和 Let-7a 在肺癌组织和肿瘤细胞中呈低表达,而过表达的 miRNA-107 和 miRNA-185 通过将细胞周期阻滞在 G₁ 期从而有效地抑制 A549 和 H1299 细胞的增殖。本研究发现肺癌组织中多个 miRNA 较癌旁组织显著上调及下调,说明上述 miRNA 表达的异常在肺癌的发生、发展中发挥着一定的作用。本研究发现 miRNA-622 在肺癌组织中是显著上调的,但其他研究认为 miRNA-622 通过抑制 K-ras 等靶点发挥抑癌作用,其原因尚不清楚,需进一步研究。同样 Let-7 主要通过抑制 Ras、c-Myc 等靶点发挥抑癌作用^[9-10]。有研究表明,40% 的肺部肿瘤和 60% 的肺癌细胞系低表达 Let-7^[11],但本研究中 Let-7 多种亚型在肿瘤组织和癌旁组织中表达差异无统计学意义,原因尚不清楚。

最新的研究发现,miRNA 在调节肿瘤干细胞的增殖、自我更新等方面同样发挥着重要的作用^[12]。miRNA-130b 通过靶点 TP53INP1 从而促进肝癌干细胞的增殖和自我更新^[13]。miRNA-34a 通过直接抑制 CD44 而达到抑制前列腺癌侵袭的作用^[14]。Let-7 的过表达可抑制乳腺癌干细胞的增殖、微球体的形成、减少未分化状态细胞的数量以及肿瘤的形成和侵袭^[15]。本研究发现 miRNA-892b、miRNA-4686 在 CD133⁺ A549 细胞中高表达,提示其可能在维持肿瘤干细胞生物学特性中发挥着一定的作用,但发挥何种作用以及机制尚需进一步的研究。

参考文献:

- [1] Malanchi I, Santamaria-Martínez A, Susanto E, et al. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization[J]. Nature, 2011, 481(7379): 85-89.
- [2] Baek D, Villén J, Shin C, et al. The impact of microRNAs on protein output[J]. Nature, 2008, 455(7209): 64-71.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. Cell, 2009, 136(2): 215-33.
- [4] Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, et al. A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia[J]. N Engl J Med, 2005, 353(17): 1793-1801.

GDF-5 的生物学功能及其相关疾病的基因治疗奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] Hogan M, Girish K, James R, et al. Growth differentiation factor-5 regulation of extracellular matrix gene expression in murine tendon fibroblasts [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(3):191-200.
- [2] Saiga K, Furumatsu T, Yoshida A, et al. Combined use of bFGF and GDF-5 enhances the healing of medial collateral ligament injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402(2):329-334.
- [3] O'Sullivan DB, Harrison PT, Sullivan AM. Effects of GDF5 over expression on embryonic rat dopaminergic neurones in vitro and in vivo [J]. *J Neural Transm*, 2010, 117(5):559-572.
- [4] Zaidi SH, Huang Q, Momen A, et al. Growth differentiation factor 5 regulates cardiac repair after myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(2):135-143.
- [5] Moore YR, Dickinson DP, Wikesjö UM. Growth/differentiation factor-5; a candidate therapeutic agent for periodontal regeneration? A review of pre-clinical data [J]. *J Clin Periodontol*, 2010, 37(3):288-298.
- [6] Feng G, Wan Y, Balian G, et al. Adenovirus-mediated expression of growth and differentiation factor-5 promotes chondrogenesis of adipose stem cells [J]. *Growth Factors*, 2008, 26(3):132-142.
- [7] 胡英明, 梅晰凡, 宋长威, 等. 大鼠 ZnT1 基因重组腺病毒载体的构建及鉴定 [J]. *重庆医学*, 2012, 41(20):2055-2061.
- [8] 徐兰兰, 游莉, 郭元元, 等. 人 S100 A9 重组腺病毒载体的

构建和鉴定 [J]. *重庆医学*, 2011, 40(22):2231-2233.

- [9] He TC, Zhou S, da Costa LT, et al. A simplified system for generating recombinant adenoviruses [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(5):2509-2514.
- [10] Daans M, Luyten FP, Lories RJ. GDF5 deficiency in mice is associated with instability-driven joint damage, gait and subchondral bone changes [J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(1):208-213.
- [11] Loughlin J. Knee osteoarthritis, lumbar-disc degeneration and developmental dysplasia of the hip-an emerging genetic overlap [J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(2):108.
- [12] Wu DD, Li GM, Jin W, et al. Positive selection on the osteoarthritis-risk and decreased-height associated variants at the GDF5 gene in East Asians [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8):e42553.
- [13] Shin MH, Lee SJ, Kee SJ, et al. Genetic association analysis of GDF5 and ADAM12 for knee osteoarthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2012, 79(5):488-491.
- [14] Williams FM, Popham M, Hart DJ, et al. GDF5 single-nucleotide polymorphism rs143383 is associated with lumbar disc degeneration in Northern European women [J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(3):708-712.
- [15] Eskola PJ, Lemmelä S, Kjaer P, et al. Genetic association studies in lumbar disc degeneration: a systematic review [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e49995.
- [16] Liang H, Ma SY, Feng G, et al. Therapeutic effects of adenovirus-mediated growth and differentiation factor-5 in a mice disc degeneration model induced by annulus needle puncture [J]. *Spine*, 2010, 10(1):32-41.

(收稿日期:2013-09-17 修回日期:2013-12-20)

(上接第 1411 页)

- [5] 熊青, 徐龙, 李强, 等. 肠易激综合征血循环 microRNA 的表达谱 [J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(5):386-391.
- [6] Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, et al. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs [J]. *Nature*, 2008, 455(7209):58-63.
- [7] Capodanno A, Boldrini L, Proietti A, et al. Let-7g and miR-21 expression in non-small cell lung cancer: Correlation with clinicopathological and molecular features [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(3):765-774.
- [8] Takahashi Y, Forrest AR, Maeno E, et al. MiR-107 and MiR-185 can induce cell cycle arrest in human non small cell lung cancer cell lines [J]. *PLoS One*, 2009, 4(8):e6677.
- [9] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family [J]. *Cell*, 2005, 120(5):635-647.
- [10] Sampson VB, Rong NH, Han J, et al. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(20):

9762-9770.

- [11] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11):3753-3756.
- [12] Heinrich EM, Dimmeler S. MicroRNAs and stem cells: control of pluripotency, reprogramming, and lineage commitment [J]. *Circ Res*, 2012, 110(7):1014-1022.
- [13] Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, et al. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes [J]. *Cell*, 2005, 120(1):21-24.
- [14] Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, et al. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units [J]. *Genome Res*, 2004, 14(10A):1902-1910.
- [15] Yu F, Yao H, Zhu P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells [J]. *Cell*, 2007, 131(6):1109-1123.

(收稿日期:2013-10-09 修回日期:2013-12-07)