

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.04.003

saRNA 上调人前列腺癌 PC-3 细胞中 Numb 基因表达的研究*

陈金彪, 颜醒愚[△]

(福建医科大学附属第二医院泌尿外科, 福建泉州 362000)

[摘要] 目的 基于小激活 RNA(saRNA)的肿瘤治疗策略,筛选具有激活 Numb 基因功能并相对高效的 saRNA 分子。方法 设计与合成针对 Numb 基因的 3 对候选小分子双链 RNA(dsRNA)分子,对照组 dsRNA(dsControl)设计成与人类基因组序列非同源。将 dsRNA 分子转染人前列腺癌细胞(PC-3 细胞)。采用 RT-qPCR 法检测转染后 PC-3 细胞中靶基因 Numb 的 mRNA 表达水平。Western blot 验证转染后 PC-3 细胞靶基因 Numb 的蛋白表达水平。结果 dsNumb-870、dsNumb-948 均未能上调 PC-3 细胞中靶基因 Numb mRNA 和蛋白水平;而 dsNumb-298 能上调细胞内 Numb mRNA 和蛋白水平。结论 dsNumb-298 具有特异性激活 PC-3 细胞中 Numb 基因表达的功能。

[关键词] 小激活 RNA;Numb;人前列腺癌 PC-3 细胞

[中图分类号] R737.25

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)04-0439-03

Study on saRNA's upregulation of Numb gene expression in human prostate carcinoma PC-3 cells*

Chen Jinbiao, Yan Xingyu[△]

(Department of Urology, the Second Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China)

[Abstract] **Objective** To screen the relatively high efficiency small activating RNA (saRNA) molecule possessing activating the target gene Numb based on the tumor treatment strategy of saRNA. **Methods** Three pairs of candidate small double-stranded RNA (dsRNA) molecules were designed and synthesized for target gene Numb, and the dsRNA in the control group(dsControl) was designed to be non-homologous with the human genome sequence. The dsRNA molecules were transfected into prostate carcinoma PC-3 cells. The real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was employed to detect the mRNA expression levels of the target gene Numb in PC-3 cells after transfection. Then Western blot was used to verify the protein expression levels of the target gene Numb in PC-3 cells after transfecting the saRNA into the cells. **Results** dsNumb-870 and dsNumb-948 failed to up-regulate both the mRNA and protein expression levels of the target gene Numb in human prostate carcinoma PC-3 cells, while dsNumb-298 was succeed to elevate them significantly. **Conclusion** The dsNumb-298 molecule has the function to specially activate the gene Numb expression in human prostate carcinoma PC-3 cells.

[Key words] small activating RNA;Numb;human prostate carcinoma PC-3 cells

前列腺癌(prostate cancer, PCA)是一种严重威胁老年男性健康的常见泌尿系恶性肿瘤。晚期 PCA 患者一般经过 18~20 个月的内分泌治疗,由雄激素依赖性 PCA (androgen-dependent prostate cancer, ADPC)转化为去势抵抗性 PCA (castration-resistant prostate cancer, CRPC),且往往伴随着骨转移的发生^[1-2]。目前临床上对 CRPC 尚无切实有效的治疗方法。

Numb 基因作为细胞命运决定因子^[3],参与细胞生长与分化的调控。Numb 蛋白除了能发挥抑癌作用^[4-6]外,相关文献也报道了 Numb 对多种正常细胞和肿瘤细胞具有诱导分化作用^[4,7-11]。随着小激活 RNA(small activating RNA, saRNA)发挥激活 RNA(RNAa)作用的发现^[12-13],应用 saRNA 上调肿瘤中相关基因的表达成为肿瘤基因治疗的研究热点。

本课题组前期研究发现,Numb 蛋白在 PCA 中的表达显著低于良性前列腺增生标本^[14],因此,本研究推测 PCA 发生与转变过程与 Numb 的表达下调密切相关。应用 saRNA 激活 Numb 基因,可能诱导 CRPC 细胞的分化并恢复对激素的敏感性,为 PCA 的治疗开辟新篇章。本研究中,首先利用已有文献提供的 saRNA 的设计规则,设计并合成 3 对靶向 Numb 基因

启动子的候选小分子双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)分子,然后筛选出具有激活功能并相对高效的功能性 saRNA 分子。

1 材料与方法

1.1 材料 化学合成 3 对靶向 Numb 基因启动子的候选 dsRNA 分子和 dsControl 购自广州伯信生物科技有限公司。人前列腺癌细胞(PC-3 细胞)购自中国科学院细胞库。PC-3 细胞属于 CRPC。DMEM/HIGH GLUCOSE 培养液、胎牛血清购自美国 HyClone 公司,EndoFectin™-Lenti 转染试剂购自美国 GeneCopoeia 公司,Trizol 购自美国 Invitrogen 公司,miScript Reverse Transcription Kit,miScript SYBR Green PCR Kit 购自德国 Qiagen 公司,全蛋白提取试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司,Anti-Numb 购自美国 Santa Cruz 公司,辣根过氧化物酶(HRP)羊抗鼠、HRP 羊抗鼠购自 BOSTER 公司,BeyoECL Plus(超敏 ECL 化学发光试剂盒)购自碧云天生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 dsRNA 的设计 dsNumb-298、dsNumb-870、dsNumb-

* 基金项目:福建省自然科学基金资助项目(2012J01334)。 作者简介:陈金彪(1989-),在读硕士研究生,主要从事泌尿系肿瘤研究。

[△] 通讯作者, Tel:15392221355; E-mail:18101908821@163.com。

948 分别为针对 Numb 基因启动子区相对转录起始点-298、-870、-948 附近设计的与该段启动子互补配对,长度为 21 个核苷酸碱基对的 dsRNA 分子。对照组 dsRNA(dsControl)与已知人基因组序列非同源,长度同样为 21 个核苷酸碱基对的 dsRNA 序列。

1.2.2 细胞的培养与转染 PC-3 细胞生长在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。实验分为 3 组:空白组、对照组(转染 dsControl)和实验组(转染候选 dsRNA)。用转染试剂将 dsNumb-298、dsNumb-870、dsNumb-948、dsControl 分别转染入 PC-3 细胞。转染时细胞汇合度控制约为 80%,将 EndoFectin-Lenti、dsRNAs、无血清 DMEM 平衡至室温;用无血清 DMEM 培养液稀释适量 dsRNAs,用同样的培养液稀释 EndoFectin-Lenti 试剂;轻轻涡旋 dsRNA 溶液,并逐滴添加稀释的 EndoFectin-Lenti 试剂,充分混匀后,室温静置 20 min 以形成 RNA-EndoFectin-Lenti 复合物;将 RNA-EndoFectin-Lenti 复合物逐滴加入培养板中,边加边摇晃;并使得每个实验组的 dsRNA 终浓度为 100、50、30 nmol/L。

1.2.3 总 RNA 的提取及 RT-qPCR 分析 转染 48 h 后收集细胞用于 Numb mRNA 表达的分析。总 RNA 的提取使用 Trizol 试剂,每个 RNA 的样本用 DNA 酶处理以去除残余的 DNA。逆转录步骤参考 TaKaRa PrimeScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (D6210A)试剂盒说明书。合成的 cDNA 利用实时荧光定量 PCR 试剂及特异性引物通过 qPCR 进行扩增。引物序列:Numb 上游 5'-TCA GCA GAT GGA CTC AGA GTT-3',下游 5'-AGG CTC TAT CAA AGT TCC TGT CT-3';GAPDH 上游 5'-AAC GGA TTT GGT CGT ATT GGG-3',下游 5'-CCT GGA AGA TGG TGA TGG GAT-3'。反应体系的配制及反应参数,参考 TaKaRa SYBR™ Premix Ex Taq™ II (Perfect Real Time)试剂盒说明进行。运用 Bio-Rad CFX96Real Time PCR 仪配套的 Bio-Rad CFX Manager Software1.6 数据分析软件进行分析。以 GAPDH 为内参对 Numb 进行相对定量。采用 2^{-ΔΔCt} 法来计算,表达量以倍数表示。

1.2.4 Western blot 检测 dsRNA 转染细胞 72 h 后收集细胞用于蛋白表达的分析,并加入 PBS 清洗细胞 3 次,加入 10 倍体积的裂解液(含苯甲磺酰氟 PMSF),冰上裂解 30 min;4 °C 12 000 r/min,离心 15 min 收集上清液。考马斯亮蓝 G250 测定蛋白质溶液的 OD 值,调整样品的蛋白浓度,使各个样品的浓度在同一水平 4 μg/μL。每个样本提取的蛋白上样 40 μg 进行不连续系统蛋白质十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝

胶电泳(SDS-PAGE),蛋白转膜后,加入 5% 脱脂奶粉封闭液封闭 1 h 后,参考一抗说明书,按 1:200(Numb)比例稀释一抗;将 PVDF 膜分别放入含各自一抗溶液中,4 °C 孵育一抗过夜。继而参考二抗说明书,按照 1:5 000 比例稀释 HRP 标记的二抗。将 PVDF 膜加入稀释好的二抗,室温摇动孵育 1 h;使用 BeyoECLPlus 化学发光试剂观察免疫反应条带。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 dsRNA 的设计 (1)利用 Genbank 数据库,找到 Numb 基因启动子区序列。调控区域序列(选择启动子上游 200~1 200 bp 的序列作为设计 dsRNA 的模板;Sequence ID:ref|NC_000014.9|的 73459139 to 73460138),见图 1。(2)各个基因候选 dsRNA 序列如下,数字代表序列相对于转录起始点的位置,见图 2。

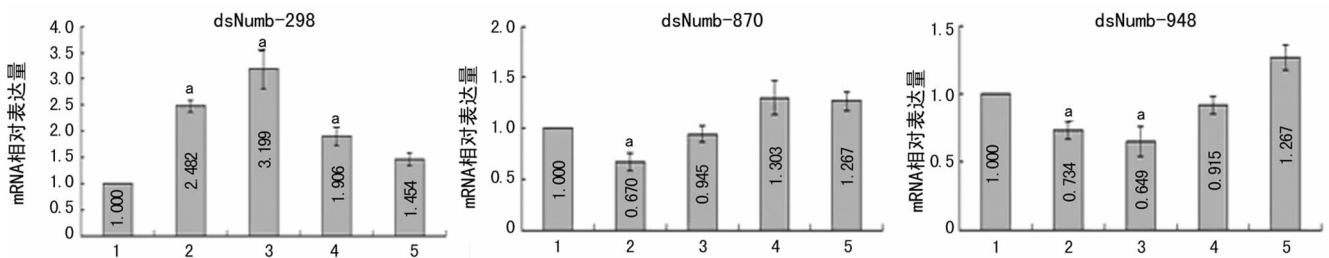
```

TGGGTATGTATCATAGGTGGGGTGTGAGAAAGTACATTTAAATCTGATTAGAAAAT
GAAAGAGTAATCAGACCAGCATTTTGTATTATTAGGAGCAGGAAAAGTGGGTGAAAA
AAAGGAAAAACAAAAGCTAATGATGAATATATTCTAGGAGCACAAGAGTTTTATAG
CAACATTAGATTTCTCAAAAATGCCACTGTGATTGTACCCAAGTGAATAAAAAATGC
AATCATTATTCTTGTGCATTGTGCCAAGTGAGGAAAAAACAACACACACACA
CAACCCGCAATTCATTCAATGGCCCTAATTTAGACTCTAGGAAAGAGGTTAGAAAA
AAAAAGAGAGAGAGAGAGAGAAGCTTTAAAGTATCTGACACACAGCTAGTAGGGC
TATTTAAGAAGTCTGTAACAGAAAACAAAGTGGCAGTGAGAGGTGGGGGAAAGCA
GAATTCCTATTCCAGAGCATATAAAGGGTATAATGTGGCCCGCTTATTAGAAAGTTGC
TGGCCGGCCGGCTGGCTTACGCCCTGTAATACCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGGCGGGC
GGATCACCCTGAGGTTGGGAGTTCGAGACTAGCCTGACCAACATGGAGAAACCCCGTCT
CATGCCTATAATCCAGCTACTCGGGAGGCTAAGGCAGAAAGTCCGTTGAACTGGG
AGGCGTAGGTTGCGATGAGCCGAGATAGCACCATTGCATCCAGCCTGGGCAACAAG
AGAGAACTCCGCTCTCACAGAAAAAAGAAAAAAGTTGCTAATGGCTGTC
TGCTCAATTGGCAGGGTCAGCCAGGAGTGGATCTGGAAAGCTGGGAACTCTCAATAC
GCCATTCAGTTTATTGACGACATTTATAATGCAACCGAAGTTGACTGATTTCTGCTAA
ATGAAAGTTTGGCCTTTAGCATTGAGGCTCTGGAAGAAGTCAATGAAAT
TGGATGCATTTG
    
```

图 1 Numb 基因启动子区序列及候选 dsRNA 靶点

dsNumb-948	正义链: 5'-CAUJUGCCAAGUGAGGAA A[dT][dT]-3' 反义链: 5'-UUCUCCACUUGGCACAAU C[dT][dT]-3'
dsNumb-870	正义链: 5'-GCUAGGAAGAGGUUJAGAA A[dT][dT]-3' 反义链: 5'-UUCUAAACCUCUCCUAGC C[dT][dT]-3'
dsNumb-298	正义链: 5'-GCAACCGAAGUJGACUGAU A[dT][dT]-3' 反义链: 5'-AUCAGUCAACUUCGGUJGC C[dT][dT]-3'
dsControl	正义链: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGU A[dT][dT]-3' 反义链: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAA C[dT][dT]-3'

图 2 Numb 基因各个候选 dsRNA 的序列及位置



1:对照组;2:30 nmol/L组;3:50 nmol/L组;4:100 nmol/L组;5:空白组;a:*P* < 0.05,与对照组比较。

图 3 dsNumb-298、dsNumb-870 及 dsNumb-948 转染 PC-3 细胞 48 h 后 mRNA 表达量

2.2 dsRNA 对 CRPC PC-3 细胞靶基因 Numb mRNA 水平的

影响 为了明确所设计的 dsRNA 是否具有激活靶基因的作用

用,本研究通过 RT-qPCR 法检测不同 dsRNA 转染后靶基因 Numb mRNA 的表达水平。根据靶基因表达水平筛选出功能性 saRNA。将“功能性 saRNA”定义为使靶基因 mRNA 表达量增加至少 2 倍(RT-qPCR 法)。将 dsNumb-298、dsNumb-870、dsNumb-948 分别以 30、50、100 nmol/L 的浓度转染 PC-3 细胞 48 h 后,收集细胞进行 qRT-PCR 检测。dsNumb-298 中 30、50、100 nmol/L 3 个浓度组 Numb mRNA 的表达水平较对照组显著升高($P < 0.05$),其中 50 nmol/L 组为对照组的 3 倍以上。dsNumb-870、dsNumb-948 中 30 nmol/L 组 Numb mRNA 的表达水平与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),但其相对表达量仅为对照组的 0.67;50 nmol/L 组、100 nmol/L 组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 3。

2.3 dsRNA 对 CRPC PC-3 细胞靶基因 Numb 蛋白质水平的影响 通过 RT-qPCR 检测表明,dsNumb-298 可以上调 Numb mRNA 的表达,为明确其是否也可以上调 Numb 蛋白的表达,本研究将 dsNumb-298 转染入 PC-3 细胞,并通过 Western blot 检测转染 72 h 后各组细胞内 Numb 蛋白表达情况。结果表明,对照组 Numb 蛋白相对表达量为 0.386,dsNumb-298 组为 0.910,空白组为 0.253(数据为 Numb/GAPDH 比值,来源于 3 次独立实验的平均值),dsNumb-298 组 Numb 蛋白表达水平较对照组显著升高($P < 0.05$),为对照组的 2 倍以上,见图 4。

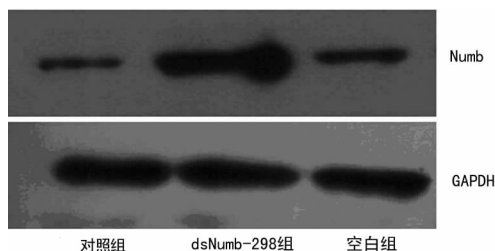


图 4 dsNumb-298 上调 PC-3 细胞内 Numb 蛋白的表达

3 讨论

内分泌治疗方式为中国 PCA 患者的主要治疗方法^[15]。但一般经过 18~20 个月,ADPC 将转化为 CRPC,目前临床上对 CRPC 尚无切实有效的方法来治疗,成为泌尿外科领域研究重点。2006 年 Li 等^[12]意外发现 dsRNA 上调了目的基因的表达,并把此现象命名为 RNA 引起的基因激活(RNAa)。dsRNA 是通过靶向特定基因启动子区或反义转录本可以介导相应基因转录水平的激活^[12,16],从而上调 mRNA 的表达水平,发挥着与 RNAi 相反的作用。抑制癌基因的高表达或恢复并增强抑癌基因的低表达从而达到抑制肿瘤细胞生长目的是肿瘤基因治疗的一种重要选择。Chen 等^[17]使用 dsp21-322 在膀胱癌细胞中成功诱导了 p21 的基因上调,并发现上调的 p21 可以发挥抗肿瘤作用。

有研究表明,Numb 基因是通过不对称分裂和促进细胞分化来决定细胞命运,因此被称为细胞命运决定因子^[3]。相关研究表明,在人类神经胶质瘤、乳腺癌和肝癌细胞中 Numb 基因的表达下调^[18-20]。此外,有研究发现约 50% 的乳腺癌患者出现 Numb 表达下调或丢失,丧失了对 Notch 的负性调控是诱发乳腺癌的重要原因^[5]。Colaluca 等^[6]对 Numb 的抑癌作用作出了新的解释,证实 Numb 可以调控抑癌基因 P53 的活性。

以上说明了 Numb 基因可能发挥抑癌基因的作用。Numb 基因在正常细胞和肿瘤细胞的分化中亦发挥着及其重

要的作用。如近年来,Di Marcotullio 等^[4]发现 Numb 也可以抑制 hedgehog 转录因子 Gli1 从而抑制髓母细胞瘤的生长并促进髓母细胞瘤的分化。刘伟等^[8]研究表明,Numb 的上调可以促进肾小管上皮细胞发生转分化。大多数患者就诊时已经是中晚期 PCA,失去了早期行根治性前列腺切除术的机会,而采用内分泌治疗方式^[16]。最终大多发展的 CRPC,目前仍继续采用雄激素抑制治疗^[16]。因此,CRPC 患者的肿瘤标本较 ADPC 患者难以获得,亦较难进行 CRPC 中 Numb 蛋白表达水平及与 ADPC 比较的相关研究。国内外文献也未查找到相关研究。但本课题组前期研究发现,Numb 蛋白在 PCA 中的表达显著低于良性前列腺增生标本^[14],因此,本研究推测 PCA 发生与转变过程与 Numb 的表达下调密切相关。

本研究发现,dsNumb-298 不同浓度组与对照组比较均差异有统计学意义($P < 0.05$),且 Numb mRNA 的相对表达量为对照组的 2 倍以上。通过 Western blot 检测发现,与对照组比较,dsNumb-298 组细胞内 Numb 蛋白的表达显著增加($P < 0.05$),为对照组的 2 倍以上。表明 dsNumb-298 为功能性 saRNA,具有特异性激活 PC-3 细胞中 Numb 基因的功能。

PC-3 细胞属于 CRPC 细胞,通过上调该细胞中 Numb 基因的表达,将对今后进一步研究抑制 PCA 细胞生长,或是诱导 CRPC 细胞向 ADPC 细胞转化,恢复对激素的依赖性,在基因水平上寻求治疗中晚期 PCA 的新方法奠定了理论和实践基础。是否存在对 Numb 基因激活效果比 dsNumb-298 更好的 dsRNA? dsRNA 发挥作用,除了靶向启动子不同区域外,是否与局部染色质结构等微环境的影响有关? 激活 Numb 基因表达后,是否能诱导 PC-3 细胞的分化? 针对这些问题的研究,成为今后通过 saRNA 激活靶基因,治疗肿瘤等疾病的难题。因此,进一步研究 dsRNA 发挥激活作用的机制,进一步发现更高效的功能性 saRNA,从而更好地对中晚期 PCA 进行更高效的基因治疗。

综上所述,dsNumb-298 为筛选出的功能性 saRNA,能上调细胞内 Numb mRNA 和蛋白水平,具有特异性激活人前列腺癌细胞株中 Numb 基因的功能。

参考文献

- [1] Miyamoto H, Messing EM, Chang C, et al. Androgen deprivation therapy for prostate cancer: current status and future prospects[J]. Prostate, 2004, 61(4): 322-353.
- [2] 汪涌, 邵晨, 张运涛, 等. 雄激素对前列腺癌细胞的双向作用及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2007, 24(1): 87-89.
- [3] 张晴晴, 李连宏. 细胞生长分化及肿瘤形成中 Numb 的作用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(11): 1256-1259.
- [4] Di Marcotullio L, Ferretti E, Greco A, et al. Numb is a suppressor of Hedgehog signaling and targets Gli1 for Itch-dependent ubiquitination[J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(12): 1415-1423.
- [5] Stylianou S, Clarke RB, Brennan K. Aberrant activation of notch signaling in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2006, 66(3): 1517-1525.
- [6] Colaluca IN, Tosoni D, Nuciforo P, et al. NUMB controls p53 tumor suppressor activity [J]. Nature, 2008, 451(7174): 76-80.

- atitis B[J]. Turk J Gastroenterol, 2015, 26(1): 36-41.
- [4] Chung KH, Kim W, Kim BG, et al. Hepatitis B surface antigen quantification across different phases of chronic hepatitis B virus infection using an immunoradiometric assay[J]. Gut Liver, 2015, 9(5): 657-664.
- [5] Liao CC, Hsu CW, Gu PW, et al. Comparison of the Elecsys HBsAg II assay and the architect assay for quantification of hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B patients[J]. Biomed J, 2015, 38(3): 250-256.
- [6] Weng M, Zeng WZ, Wu XL, et al. Quantification of serum hepatitis B surface antigen in predicting the response of pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-positive chronic hepatitis B with prior lamivudine exposure[J]. Virol J, 2013, 10(14): 277-279.
- [7] Kuo YH, Chang KC, Wang JH, et al. Changing serum levels of quantitative hepatitis B surface antigen and hepatitis B virus DNA in hepatitis B virus surface antigen carriers: a follow-up study of an elderly cohort[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2015, 31(2): 102-107.
- [8] Gupta E, Pandey P, Kumar A, et al. Correlation between two chemiluminescence based assays for quantification of hepatitis B surface antigen in patients with chronic hepatitis B infection[J]. Indian J Med Microbiol, 2015, 33(1): 96-100.
- [9] Liu WW, Wang AZ, Xie FY, et al. Comparison between Elecsys HBsAg II and Architect assays for quantification of serum hepatitis B surface antigen in Chinese patients with chronic hepatitis B[J]. Clin Lab, 2015, 61(1/2): 141-147.
- [10] Jaroszewicz J, Reiberger T, Meyer-Olson D, et al. Hepatitis B surface antigen concentrations in patients with HIV/HBV co-infection[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43143.
- [11] Zeng LY, Lian JS, Chen JY, et al. Hepatitis B surface antigen levels during natural history of chronic hepatitis B: a Chinese perspective study [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(27): 9178-9184.
- [12] Cheng XD, Song LW, Fang LL, et al. Comparison of three luminescent immunoassays for hepatitis B virus surface antigen quantification during the natural history of chronic hepatitis B virus infection[J]. Clin Vaccine Immunol, 2014, 21(11): 1521-1527.
- [13] Kim JH, Choi YJ, Moon HW, et al. HBsAg level and clinical course in patients with chronic hepatitis B treated with nucleoside analogue: five years of follow-up data[J]. Clin Mol Hepatol, 2013, 19(4): 409-416.
- [14] Gheorghita VI, Caruntu FA, Curescu M, et al. Use of quantitative serum HBsAg for optimization of therapy in chronic hepatitis B patients treated with pegylated interferon alfa-2a: a Romanian cohort study[J]. J Gastrointest Liver Dis, 2013, 22(1): 27-32.
- [15] 邓安彦, 蔡艳娟, 周守容, 等. ELISA 法检测 HBsAg (CMIA) 低值血清样品的结果分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(2): 123-125.

(收稿日期: 2015-07-08 修回日期: 2015-10-16)

(上接第 441 页)

- [7] 赵恩昊, 金鑫, 刘骅, 等. Notch1 和 NUMB 在胃癌组织中的表达水平及意义[J]. 国际外科学杂志, 2011, 38(7): 444-448.
- [8] 刘伟, 朱凤新, 聂静, 等. Numb 基因在大鼠肾小管上皮细胞转分化过程中的作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2009, 25(5): 356-362.
- [9] Zhao C, Guo H, Li J, et al. Numb family proteins are essential for cardiac morphogenesis and progenitor differentiation[J]. Development, 2014, 141(2): 281-295.
- [10] Sheng W, Dong M, Zhou J, et al. Cooperation among Numb, MDM2 and p53 in the development and progression of pancreatic cancer[J]. Cell Tissue Res, 2013, 354(2): 521-532.
- [11] Yang Y, Zhu R, Bai J, et al. Numb modulates intestinal cells toward goblet cell phenotype by inhibiting the Notch signaling pathway[J]. Exp Cell Res, 2011, 317(11): 1640-1648.
- [12] Li LC, Okino ST, Zhao H, et al. Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(46): 17337-17342.
- [13] Janowski BA, Younger ST, Hardy DB, et al. Activating gene expression in mammalian cells with promoter-targeted duplex RNAs[J]. Nat Chem Biol, 2007, 3(3): 166-173.
- [14] 苏育南, 颜醒愚, 陈金飏. Numb 蛋白在前列腺癌组织中的表达及意义[J]. 重庆医学, 2014, 43(增刊): 232-234.
- [15] 那彦群, 叶章群, 孙颖浩, 等. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南. 2014 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 61-89.
- [16] Schwartz JC, Younger ST, Nguyen NB, et al. Antisense transcripts are targets for activating small RNAs[J]. Nat Struct Mol Biol, 2008, 15(8): 842-848.
- [17] Chen Z, Place RF, Jia ZJ, et al. Antitumor effect of dsRNA-induced p21 (WAF1/CIP1) gene activation in human bladder cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(3): 698-703.
- [18] 王超, 张楚瑶, 冯炜炜. Numb 在肿瘤中的作用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2012, 39(7): 541-544.
- [19] Euskirchen P, Skaftnesmo KO, Huszthy PC, et al. NUMB does not impair growth and differentiation status of experimental gliomas [J]. Exp Cell Res, 2011, 317(20): 2864-2873.
- [20] Rennstam K, McMichael N, Berglund P, et al. Numb protein expression correlates with a basal-like phenotype and cancer stem cell markers in primary breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 122(2): 315-324.

(收稿日期: 2015-08-08 修回日期: 2015-11-10)