

乳腺癌患者外周血 miRNA-134 表达及化疗耐药的机制

顾峰,周岩,韦培培

(上海市浦东新区人民医院检验科 201200)

[摘要] **目的** 探讨乳腺癌患者外周血 miRNA-134 表达及化疗耐药的机制。**方法** 将 98 例初诊乳腺癌患者根据化疗情况分为化疗敏感组(68 例)和化疗耐药组(30 例),采用 RT-PCR 检测外周血 miRNA-134 表达。将 miRNA-mimics、miRNA-inhibitor 转染至表柔比星和多西他赛耐药细胞株,检测细胞凋亡情况及 Bax、Caspase-3 蛋白表达水平。**结果** 化疗敏感组血清 miRNA-134 表达水平明显高于化疗耐药组($P < 0.05$);表柔比星耐药和多西他赛耐药细胞增殖能力明显低于 MCF-7 细胞($P < 0.05$)。与正常 MCF-7 细胞系比较,表柔比星耐药细胞系、多西他赛耐药细胞系 miRNA-134 表达水平均明显降低($P < 0.05$)。转染 miRNA-mimics 细胞凋亡率明显高于未转染细胞和细胞 miRNA-inhibitor 细胞($P < 0.05$)。转染 miRNA-mimics 细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达水平明显高于未转染细胞和转染 miRNA-inhibitor 细胞($P < 0.05$)。**结论** miRNA-134 可能通过促进 Bax、Caspase-3 的表达,增强乳腺癌细胞对化疗的敏感性。

[关键词] 乳腺癌;新辅助化疗;耐药;miRNA-134;作用机制

[中图分类号] R737.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)06-0779-04

Expression of peripheral blood miRNA-134 in patients with breast cancer and mechanism of chemotherapy drug resistance

GU Feng, ZHOU Yan, WEI Peipei

(Department of Clinical Laboratory, Pudong New Area People's Hospital, Shanghai, 201200, China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression of peripheral blood miRNA-134 in the patients with breast cancer and chemotherapy drug resistance mechanism. **Methods** A total of 98 cases of newly diagnosed breast cancer were divided into the chemotherapy sensitive group($n=68$) and chemotherapy drug resistant group($n=30$). The expression of miRNA-134 in peripheral blood was measured by adopting RT-PCR. miRNA-mimics and miRNA-inhibitor were transfected into epirubicin and docetaxel resistant cell lines, the cell apoptosis and expression levels of Bax and Caspase-3 protein were detected. **Results** The level of serum miRNA-134 expression in the chemotherapy sensitive group was significantly higher than that in the chemotherapy drug resistant group ($P < 0.05$); the proliferation capacity of epirubicin and docetaxel resistant cell lines was significantly lower than that in the MCF-7 cells ($P < 0.05$). Compared with normal MCF-7 cell line, the expression level of miRNA-134 in the epirubicin and docetaxel resistant cell lines was significantly decreased ($P < 0.05$). The apoptosis rate in the miRNA-mimics group was significantly higher than that in the control group and miRNA-inhibitor group ($P < 0.05$). The expression of Bax and Caspase-3 protein in the miRNA-mimics group was significantly higher than that in the control group and miRNA-inhibitor group ($P < 0.05$). **Conclusion** MiRNA-134 may enhance the sensitivity of breast cancer cells to chemotherapy by promoting the expression of Bax and Caspase-3.

[Key words] breast neoplasms; neoadjuvant chemotherapy; drug resistance; micro RNA-134; mechanism

微 RNA(microRNAs, miRNA)是哺乳动物体内存在的一类非编码 RNA,在细胞内主要调节基因的表达^[1]。国外研究证实 miRNA 表达异常可能诱导癌基因或抑癌基因表达,并诱导肿瘤细胞对化疗药物耐药^[2-3]。miRNA-134 是广泛存在于多种恶性肿瘤中的 miRNA,研究证实 miRNA-134 具有抑制肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭和诱导肿瘤细胞凋亡等一系列生物学功能^[4-5]。RONG 等^[6]证实诱导 miRNA-134 高表达能够增加人肺腺癌对化疗药物的敏感性,提示 miRNA-134 可能与化疗耐药有关。本研究采用 miRNA 基因芯片技术检测乳腺癌化疗敏感和化疗耐药患者外周血 miRNA-134 表达,并通过体外建立表柔比星、多西他赛耐药的乳腺癌细胞系,观察各细胞系间 miRNA-134 表达的差异,旨在探讨外周血 miRNA-134 预测乳腺癌化疗耐药的作用机制,现将研究成果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 7 月至 2014 年 7 月在本院行多西他赛+表柔比星+环磷酰胺方案(TEC 方案)化疗的初诊乳

腺癌患者 98 例,所有患者经病理学确诊后行 TEC 新辅助化疗:静脉滴注多西他赛 75 mg/m²,第 1 天;静脉滴注表柔比星 50 mg/m²,第 1 天;静脉滴注环磷酰胺 500 mg/m²,第 1 天;21 d 为 1 个周期,总计化疗 6 个周期。6 个化疗周期结束后参考 RECIST 1.1 版实体瘤疗效评价标准^[7]对疗效进行评价,完全缓解(CR):所有目标病灶消失;部分缓解(PR):基线病灶长径总和和缩小大于或等于 30%;进展(PD):基线病灶长径总和增加大于或等于 20%或出现新病灶;稳定(SD):基线病灶长径总和和有缩小但未达 PR 或有增加但未达 PD。根据化疗耐药的评 价标准^[8]:将 CR 和 PR 患者列为化疗敏感组($n=68$),SD 和 PD 患者列为化疗耐药组($n=30$)。化疗结束后抽取患者外周肘静脉血 3 mL,静置 10~20 min,12 000 r/min 离心 15 min,吸取上清液置于一 80 ℃ 冰箱保存待检。

1.2 方法

1.2.1 材料与试剂 人乳腺癌细胞系 MCF-7 为本院实验室保存,正常传代培养;多西他赛注射液购自海正辉瑞制药有限

公司,盐酸表柔比星注射液购自奥地利依比威药品有限公司, RNeasy MineElute clanup kit、miScript II RT Kit、miScript SYBR® Green PCR Kit 均购自德国 QIAGEN 公司, RNA 寡核苷酸 miRNA mimics、miRNA 抑制剂 miRNA inhibitor 均购自上海吉凯基因化学技术有限公司, 转染试剂 Lipofectamine™ 2000、总 RNA 抽提试剂 Trizol 均购自美国 Invitrogen 公司, 小鼠抗人 Bax 单克隆抗体、小鼠抗人 Caspase-3 单克隆抗体、荧光标记的羊抗兔 IgG 抗体购自武汉博士德生物工程有限公司, RPMI 1640 培养基、胎牛血清(FBS)、二甲亚砜(DMSO)购自美国 Gibco 公司。

1.2.2 仪器 VILBER 凝胶成像仪及凝胶成像分析系统购自法国 VILBER LOURMAT 公司, 流式细胞仪购自美国 BD 公司, 紫外可见分光光度计和酶标仪均购自美国 BioRad 公司, PCR 扩增仪购自德国 Eppendorf 公司, 倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司, 高速离心机购自美国贝克曼库尔特公司。

1.2.3 血清 miRNA-134 检测 取约 500 μ L 血清, 参考 RNeasy MineElute clanup kit 说明书提取总 RNA, 检测总 RNA 吸光度(optical density, OD)值, 以 OD_{260/280} 值 1.8~2.0 表示样品合格。将总 RNA 用反转录试剂盒反转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板、实时定量 miRNA-134 作为引物进行 PCR 反应, 反应条件: 引物浓度 0.3 μ mol/L, 96 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 总计 35 个循环。70~94 $^{\circ}$ C 绘制熔解曲线, 分析 PCR 熔解曲线, 每个样品设 3 个平行孔, 以 U6 作为内参照, 计算 miRNA-134 的相对表达量($2^{-\Delta\Delta C_t}$)。引物委托上海生物科技有限公司合成, miRNA-134 引物序列上游: 5'-CCT AGC AGC ACA GAA A-3', 下游: 5'-GAG CAG GCT GGA GAA-3'; 内参 U6 上游: 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CAT G-3', 下游: 5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT G-3'。

1.2.4 表柔比星耐药细胞系的构建 参考 QIN 等^[9]报道的方法, 取对数生长期细胞, 加入 150 μ L 胰蛋白酶充分消化, 1 500 r/min 离心 5 min 收集细胞, 加入不含血清的培养基重悬, 调整细胞计数为 1.0×10^9 个/L; 取 10 mL 细胞常规接种于培养瓶中, 继续培养 24 h; 再向培养瓶中加入含 10 mg/L 表柔比星的培养液, 培养 48 h 后弃去培养液; 加入新鲜培养液继续培养 48 h。待细胞重新恢复生长, 继续消化细胞, 再换用含 50 mg/L 表柔比星的培养液培养 48 h, 如此反复, 分别加入含 10、50、100、200、500 mg/L 表柔比星的培养液反复诱导培养, 最终获得耐 500 mg/L 表柔比星的细胞株, 将此细胞株在不含表柔比星的培养液中继续培养。

1.2.5 多西他赛耐药细胞系的构建 参考 QIN 等^[9]报道的方法, 多西他赛耐药细胞株诱导方法同表柔比星耐药细胞系, 只是向培养瓶中加入含 10 mg/L 多西他赛的培养液, 最终获得耐 500 mg/L 多西他赛的细胞株, 将此细胞株在不含多西他赛的培养液中继续培养。

1.2.6 细胞增殖能力检测 采用噻唑蓝(MTT)比色法检测各组细胞增殖能力; 取对数生长期细胞, 加入 150 μ L 胰蛋白酶充分消化, 1 500 r/min 离心 5 min 收集细胞, 加入不含血清的培养基重悬, 调整细胞计数为 1.0×10^9 个/L; 轻轻混匀细胞, 于 96 孔板每孔中加入 100 μ L 细胞悬液, 再分别加入 10、50、100、200、500 mg/L 的表柔比星或多西他赛, 每组浓度设置 3 个复孔, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 下孵育。分别于孵育 2、3、4、5、6、7 d 后各取出 1 块 96 孔板, 弃去原培养液, 加入新配置 RPMI 1640

培养液, 再于每孔中加入 20 μ L 浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 继续孵育 4 h, 然后终止培养; 再向每孔中加入 100 μ L DM-SO, 充分振荡 15 min, 检测各孔 570 nm 处的 OD 值。

1.2.7 miRNA mimics、miRNA inhibitor 转染 取对数生长期的 MCF-7 细胞(MCF-7 组)和经表柔比星、多西他赛处理过的 MCF-7 细胞(表柔比星组、多西他赛组), 分别加入 150 μ L 胰蛋白酶充分消化, 1 500 r/min 离心 5 min 收集细胞, 加入不含血清的培养基重悬, 调整细胞计数为 1.0×10^9 个/L, 将细胞接种于 24 孔板中, 约 2.0×10^5 个/孔, 再向每孔中含有 Lipofectamine™ 2000、miRNA mimics 或 miRNA inhibitor 的培养基, 以仅加入 Lipofectamine™ 2000 试剂孔作为对照组, 转染 36 h 后弃去原培养液, 重新更换新鲜含 FBS 完全培养基, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 下继续培养。

1.2.8 细胞凋亡检测 取对数生长期的 MCF-7 细胞(MCF-7 组)和经表柔比星、多西他赛处理过的 MCF-7 细胞(表柔比星组、多西他赛组), PBS 冲洗 3 次, 调整细胞计数为 1.0×10^9 个/L, 向 Falcon 试管中加入 200 μ L 细胞悬液, 再分别加入 Annexin V 和核酸染料, 轻轻摇匀, 室温避光静置 10 min, 再分别加入 5 μ L PI 和 0.5 μ g SA-V-FITC 试剂, 于 1 h 内上流式细胞仪进行检测。

1.2.9 细胞 Bax、Caspase-3 蛋白检测 取 200 μ L 细胞悬液, 接种于培养瓶中, 待培养瓶细胞融合度大于或等于 80% 时, 将培养液吸出, PBS 冲洗 3 次; 再向每孔中加入 100 μ L 含 1% PMSF 的细胞裂解液, 待细胞完全裂解后, 15 000 r/min 离心 5 min, 留取上清液。将上清液移至 EP 管中, 加入等量上样液, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 5 min, 使蛋白完全变性。采用 Western blot 检测细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达; 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白, 并转移至 PVDF 膜上, 100 mA、40 min 电转后将 PVDF 膜取出。5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 分别加入 Bax 单克隆抗体和 Caspase-3 单克隆抗体, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; PBS 冲洗 3 次, 再分别加入羊抗兔 IgG 抗体(二抗), 室温下振荡 3 h, PBS 冲洗 3 次。荧光图像扫描及条带灰度值分析, 目的蛋白相对表对量为样本条带与 GAPDH 条带灰度值之比。

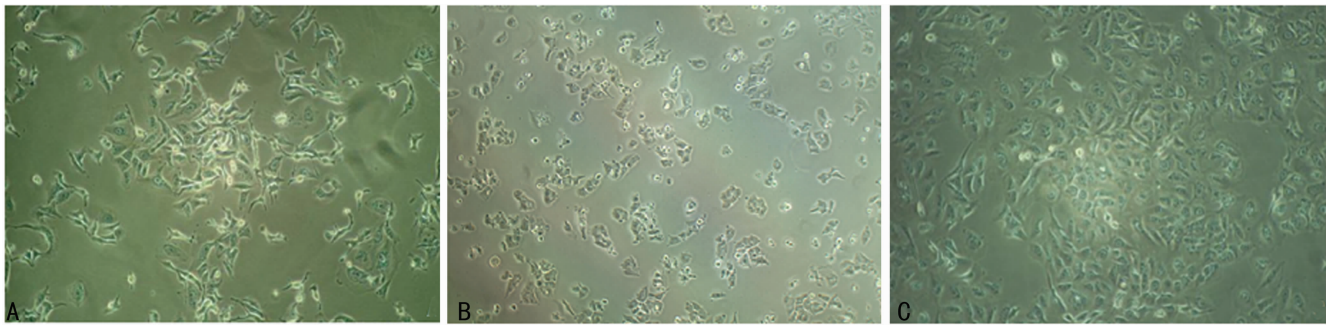
1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用 ANOVA 单因素方差分析, 之后两两比较采用 SNK-*q* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 化疗耐药组与化疗敏感组血清 miRNA-134 表达比较 化疗耐药组、化疗敏感组 miRNA-134 表达水平分别为 0.763 ± 0.069 、 1.048 ± 0.114 , 化疗敏感组血清 miRNA-134 表达水平明显高于化疗耐药组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

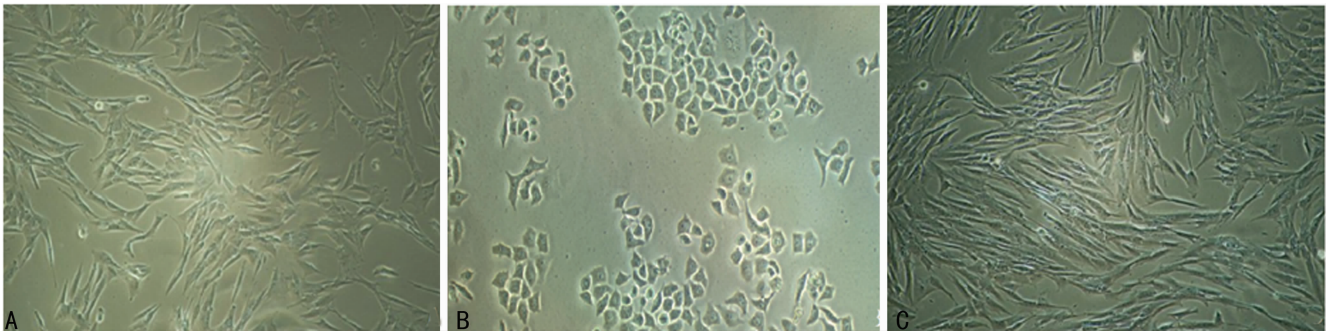
2.2 表柔比星、多西他赛耐药细胞系形态学表征 加药前 MCF-7 细胞呈长梭形, 排列均匀; 加入表柔比星 24 h 后, 细胞胞体变圆, 部分出现凸起, 折光率变强; 加入多西他赛 24 h 后, 细胞核明显肿胀, 颗粒感增强; 随着撤药时间的延长, 表柔比星耐药细胞和多西他赛耐药细胞均恢复长梭形, 见图 1、2。

2.3 3 组细胞增殖能力比较 MCF-7 组、表柔比星组、多西他赛组增殖能力均随时间延长逐渐增强, 第 3、4、5、6、7 天表柔比星组、多西他赛组细胞增殖能力明显低于 MCF-7 组($P < 0.05$), 见表 1。



A:加药前;B:加药 24 h;C:不含表柔比星的培养液继续培养第 20 天

图 1 表柔比星加药前后细胞形态变化(×100)



A:加药前;B:加药 24 h;C:不含多西他赛的培养液继续培养第 20 天

图 2 多西他赛加药前后细胞形态变化(×100)

表 1 各组细胞增殖能力比较($\bar{x} \pm s, OD_{570 \text{ nm}}$)

组别	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
MCF-7 组	20.3 ± 3.2	57.9 ± 8.9	79.1 ± 8.1	137.4 ± 14.1	163.7 ± 20.5	178.9 ± 17.9
表柔比星组	20.7 ± 2.9	35.1 ± 4.5 ^a	45.8 ± 5.6 ^a	58.2 ± 6.7 ^a	114.8 ± 10.3 ^a	131.2 ± 14.9 ^a
多西他赛组	21.1 ± 4.5	33.8 ± 5.4 ^a	44.5 ± 6.5 ^a	57.6 ± 7.2 ^a	116.4 ± 11.2 ^a	129.9 ± 15.4 ^a

^a: $P < 0.01$, 与 MCF-7 细胞组比较

表 2 miRNA mimics 等转染后细胞 miRNA-134 表达($\bar{x} \pm s$)

组别	转染 miRNA mimic 细胞	未转染细胞	转染 miRNA inhibitor 细胞
MCF-7 组	1.954 ± 0.201	1.209 ± 0.097 ^a	1.109 ± 0.011 ^a
表柔比星组	1.274 ± 0.107	0.601 ± 0.057 ^a	0.591 ± 0.059 ^a
多西他赛组	1.229 ± 0.113	0.597 ± 0.048 ^a	0.605 ± 0.054 ^a

^a: $P < 0.01$, 与同组转染 miRNA mimic 细胞比较

表 3 miRNA mimics 等转染后细胞凋亡率($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	转染 miRNA mimic 细胞	未转染细胞	转染 miRNA inhibitor 细胞
MCF-7 组	27.4 ± 2.9	13.7 ± 1.4 ^a	13.2 ± 1.1 ^a
表柔比星组	22.3 ± 3.2	10.7 ± 0.9 ^a	10.9 ± 1.1 ^a
多西他赛组	23.1 ± 4.2	11.3 ± 1.5 ^a	11.5 ± 1.8 ^a

^a: $P < 0.01$, 与同组转染 miRNA-mimic 细胞比较

表 4 转染后细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

组别	转染 miRNA mimic 细胞		未转染细胞		转染 miRNA inhibitor 细胞	
	Bax	Caspase-3	Bax	Caspase-3	Bax	Caspase-3
MCF-7 组	1.05 ± 0.11	1.48 ± 0.12	0.58 ± 0.05 ^a	0.89 ± 0.10 ^a	0.51 ± 0.06 ^a	0.92 ± 0.11 ^a
表柔比星组	1.16 ± 0.14	1.67 ± 0.12	0.61 ± 0.06 ^a	1.04 ± 0.11 ^a	0.58 ± 0.03 ^a	0.98 ± 0.08 ^a
多西他赛组	1.13 ± 0.15	1.57 ± 0.16	0.57 ± 0.04 ^a	1.05 ± 0.16 ^a	0.56 ± 0.04 ^a	1.02 ± 0.03 ^a

^a: $P < 0.01$, 与同组转染 miRNA mimic 细胞比较

2.4 MCF-7 细胞、表柔比星耐药细胞、多西他赛耐药细胞 miRNA-134 表达水平比较 MCF-7 细胞、表柔比星耐药细胞、多西他赛耐药细胞 miRNA-134 表达水平分别为 1.145 ± 0.103、0.604 ± 0.057、0.597 ± 0.062。与 MCF-7 细胞系比较, 表柔比星耐药细胞系、多西他赛耐药细胞系 miRNA-134 表达水平平均明显降低($P < 0.05$)。

2.5 miRNA mimics、miRNA inhibitor 转染后各组细胞 miRNA-134 表达水平比较 各组转染 miRNA mimic 细胞 miRNA-134 表达明显高于未转染细胞和转染 miRNA inhibitor 细胞($P < 0.05$); 未转染细胞与转染 miRNA inhibitor 细胞 miRNA-134 表达比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2.6 miRNA mimics、miRNA inhibitor 转染后各组细胞凋亡

水平比较 各组转染 miRNA mimics 细胞凋亡率明显高于未转染细胞和转染 miRNA inhibitor 细胞 ($P < 0.05$), 未转染细胞与转染 miRNA inhibitor 细胞凋亡率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

2.7 miRNA mimics、miRNA inhibitor 转染后各组细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达 各组转染 miRNA mimics 细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达水平均明显高于未转染细胞和转染 miRNA inhibitor 细胞 ($P < 0.05$); 未转染细胞与转染 miRNA inhibitor 细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

3 讨论

WHO 调查显示, 近 10 年来乳腺癌发病率呈明显上升, 且发病呈现年轻化趋势^[10]。新辅助化疗是治疗局部中晚期乳腺癌的标准方案, 但是并非所有乳腺癌患者均能从新辅助化疗中获益。耐药是导致化疗失败的主要原因。由于疾病的特异质和个体差异, 目前依然有 15%~30% 的患者对化疗不敏感^[11]。因此, 寻找准确、方便、快捷的化疗耐药预测指标, 对提高乳腺癌患者的综合疗效具有重要意义。KATANODA 等^[12] 报道称 miRNA 能够通过抑制细胞周期阻滞、促进损伤 DNA 修复、增强细胞侵袭能力等过程参与肿瘤化疗耐药。miRNA 属于独立于细胞外的 RNA, 可以避免血液循环酶系的降解, 其水平相对稳定^[13], 外周血 miRNA 也成为理想的生物标志物。

本研究显示, 化疗敏感组血清 miRNA-134 表达水平明显高于化疗耐药组 ($P < 0.05$)。ANDERSON 等^[14] 报道称 miRNA-134 能够通过调控叉头框蛋白 M1、多药耐药相关蛋白 1 的表达, 提高肺癌细胞对铂类药物的敏感性。本研究在光镜下观察发现, 加药前细胞主要以梭形为主, 化疗药物诱导初期, 敏感的细胞逐渐凋亡, 这部分细胞形态从梭形向圆形转变; 但是撤药后细胞形态逐渐恢复, 提示细胞形态学改变可能与乳腺癌细胞耐药有关。另外, 耐药细胞增殖能力和 miRNA-134 表达明显降低, 说明 miRNA-134 可能与乳腺癌细胞增殖、分化有关。VIVEK 等^[15] 研究也发现 miRNA-134 能够通过抑制细胞增殖达到抗癌作用。

本研究分别用 miRNA mimic 和 miRNA inhibitor 上调和下调乳腺癌细胞株 miRNA-134 表达, 结果显示未转染细胞和转染 miRNA inhibitor 细胞 miRNA-134 表达比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 这可能是 miRNA-134 在乳腺癌细胞中本身即存在低表达, 即使转染 miRNA inhibitor, miRNA-134 下降的差异依然不明显。此外, 转染 miRNA mimics 细胞凋亡率明显升高, 提示 miRNA-134 可以促进乳腺癌细胞发生凋亡。顾玺等^[16] 研究发现, 用他莫昔芬诱导获得敏感的子宫内膜癌细胞株 miRNA-134 表达明显升高, 而耐药细胞株 miRNA-134 表达明显降低; 且 miRNA-134 高表达的细胞株更容易发生凋亡, 说明 miRNA-134 的耐药机制与细胞凋亡有关。

Bax 蛋白是 Bcl-2 家族中的促凋亡蛋白, KUMAR 等^[17] 研究发现, Bax 不仅能促进细胞自发凋亡, 还能启动细胞能多种凋亡信号途径诱导细胞凋亡。Caspase-3 蛋白是白细胞介素 1 β 家族成员, 在细胞凋亡中发挥关键作用^[18-19]。窦越等^[20] 研究发现, 乳腺癌化疗耐药细胞株 Caspase-3 蛋白表达明显降低, 细胞凋亡受阻。GAO 等^[21] 报道称 Bax 是 Caspase-3 重要的上游调控基因, 上调 Bax 表达能够通过线粒体途径促进细胞色素 C 的释放, 并促进下游靶基因 Caspase-3 的表达, 起到诱导细胞凋

亡的作用。本研究发现 miRNA-134 可能通过促进 Bax、Caspase-3 的表达, 负调控乳腺癌化疗耐药, 这也可能是乳腺癌化疗耐药逆转的一条信号路径。

综上所述, miRNA-134 可能通过促进 Bax、Caspase-3 的表达, 增强乳腺癌细胞对化疗的敏感性。

参考文献

- [1] WANG C, WANG X C, KIBET N K, et al. Deep sequencing of grapevine flower and berry short RNA library for discovery of novel microRNAs and validation of precise sequences of grapevine microRNAs deposited in miRBase [J]. *Physiol Plant*, 2011, 143(1): 64-81.
- [2] FENDLER W, MALACHOWSKA B, MEGHANI K, et al. Evolutionarily conserved serum microRNAs predict radiation-induced fatality in nonhuman primates [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(379): 2408-2409.
- [3] MA C P, LIU S, SHI C. Ultrasensitive detection of microRNAs based on hairpin fluorescence probe assisted isothermal amplification [J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 58(12): 57-60.
- [4] MURRAY S T, HANIGAN C L, WOSTER P M, et al. Histone deacetylase inhibition overcomes drug resistance through a miRNA-Dependent mechanism [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(10): 2088-2099.
- [5] POULIOT L M, SHEN D W, SUZUKI T, et al. Contributions of microRNA dysregulation to cisplatin resistance in adenocarcinoma cells [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(4): 566-574.
- [6] RONG H, LIU T B, YANG K J, et al. MicroRNA-134 plasma levels before and after treatment for bipolar mania [J]. *J Psychiatr Res*, 2011, 45(1): 92-95.
- [7] SUN C C, LI S J, LI D J. Hsa-miR-134 suppresses non-small cell lung cancer (NSCLC) development through down-regulation of CCND1 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 35960-35978.
- [8] BICKER S, KHUDAYBERDIEV S, WEIB K, et al. The DEAH-box helicase DHX36 mediates dendritic localization of the neuronal precursor-microRNA-134 [J]. *Genes Dev*, 2013, 27(9): 991-996.
- [9] QIN Q, WEI F R, ZHANG J B, et al. miR-134 inhibits non-small cell lung cancer growth by targeting the epidermal growth factor receptor [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(10): 1974-1983.
- [10] SATO Y, WATANABE H, SONE M, et al. Tumor response evaluation criteria for HCC (hepatocellular carcinoma) treated using TACE (transcatheter arterial chemoembolization): RECIST (response evaluation criteria in solid tumors) version 1.1 and mRECIST (modified RECIST): JIVROSG-0602 [J]. *Ups J Med Sci*, 2013, 118(1): 16-22.
- [11] 屈洪波, 范原铭, 韩明利, 等. 化疗后残存乳腺癌组织中乳腺癌耐药蛋白、P-糖蛋白的表达及其与(下转第 785 页)

综上所述,肿瘤患者免疫功能与肿瘤发生、发展,以及对患者预后的影响已经受到广大学者们的广泛关注,本研究对鼻咽癌不同期别、不同病理类型及诱导化疗前后鼻咽癌患者外周血 HLA-DR-CD33⁺ CD14⁻ CD11b⁺ 的 MDSC 比例做了初步研究,发现鼻咽癌患者外周血 HLA-DR-CD33⁺ CD14⁻ CD11b⁺ 的 MDSC 比例明显升高,提示可能与鼻咽癌免疫逃避有关,值得进一步研究。

参考文献

- [1] ALBEITUNI S H, DING C, YAN C. Hampering immune suppressors; therapeutic targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer[J]. *Cancer J*, 2013, 19(6): 490-501.
- [2] TONGU M, HARASHIMA N, MONMA H, et al. metronomic chemotherapy with low-dose cyclophosphamide plus gemcitabine can induce anti-tumor T cell immunity in vivo[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(2): 283-391.
- [3] GANTT S, GERVASSI A, JASPAN H, et al. The role of myeloid derived suppressor cells in immune ontogeny[J]. *Front Immunol*, 2014, 5(3): 387.
- [4] ZHANG H, GUTKIN D W, HAN B, et al. Origin and pharmacological modulation of tumor-associated regulation dendritic cells [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(11): 2633-2645.
- [5] GAO Q, JIANG J, CHU Z, et al. Arsenic trioxide inhibits tumor-induced myeloid-derived suppressor cells and enhances T-cell activity[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(4): 2141-2150.
- [6] 张娜, 蓝瑞隆, 钟光贤. MCT1 在鼻咽癌病人外周血 MDSC 中的表达及意义[J]. *大连医科大学学报*, 2016, 38(2): 114-117.
- [7] 李亚东, 刘瑞青, 刘杰, 等. 非小细胞肺癌患者外周血 MDSC 的比例及意义[J]. *中国实用医刊*, 2013, 40(1): 61-64.
- [8] 郑全辉, 刘英文, 张雪梅. 肺癌小鼠 MDSC 和 T 细胞变化[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(5): 595-599.
- [9] GABRILOVICH D I, NAGARAJ S. Myeloid-derived-suppressor cells as regulators of the immune System[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(3): 162-174.
- [10] DIAZ-MONTERO C M, SALEM M L, NISHIMURA M I, et al. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(1): 49-59.
- [11] LI Z L, YE S B, OUYANG L Y, et al. COX-2 promotes metastasis in nasopharyngeal carcinoma by mediating interactions between cancer cells and myeloid-derived suppressor cells [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(11): e1044712.
- [12] SINHA P, OKORO C, FOELL D, et al. proinflammatory S100 proteins regulate the accumulation of myeloid-derived suppressor cells[J]. *Immunol*, 2008, 181(7): 4666-4675.
- [13] 吴志丹, 王胜军. 髓源性抑制细胞在胃癌患者外周血的变化及临床意义[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2013, 23(5): 414-416.
- [14] 肖秀兰, 任统伟. 宫颈鳞癌患者放疗前后外周血中 MDSC 和调节性 T 细胞含量变化及其与放疗敏感性的关系[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2016, 36(11): 843-850.
- [15] (上接第 782 页)
癌干细胞的相关性[J]. *中国医学科学院学报*, 2013, 35(2): 171-176.
- [12] KATANODA K, YAKO-SUKETOMO H. Comparison of time trends in breast cancer mortality(1990-2006) in the world, from the WHO mortality database[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40(2): 182-183.
- [13] MESLIN F, HAMAÏ A, GAO P, et al. Silencing of prion protein sensitizes breast adriamycin-resistant carcinoma cells to TRAIL-mediated cell death[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(22): 10910-10919.
- [14] ANDERSON D, SEIB C, TJONDRONEGORO D, et al. The women's wellness after cancer program; a multisite, single-blinded, randomised controlled trial protocol [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 98-99.
- [15] VIVEK R, THANGAM R, NIPUNBABU V, et al. Multi-functional HER2-Antibody conjugated polymeric nano-carrier-Based drug delivery system for multi-drug-resistant breast cancer therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(9): 6469-6480.
- [16] 顾玺, 张文海. miRNA 在乳腺癌化疗耐药中的作用[J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(8): 538-541.
- [17] KUMAR S, KEERTHANA R, PAZHANIMUTHU A, et al. Overexpression of circulating miRNA-21 and miRNA-146a in plasma samples of breast cancer patients[J]. *Indian J Biochem Biophys*, 2013, 50(3): 210-214.
- [18] 俞万钧, 汪一萍, 李纪鹏, 等. miR-134 调控人肺腺癌细胞顺铂耐药[J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(7): 1214-1218.
- [19] 阳圣, 张雯, 杨燕青, 等. 胃癌组织 miRNA 差异表达的初步分析[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2010, 30(11): 1317-1323.
- [20] 窦越, 唐勇. 微小 RNA 在胃癌中的研究进展[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2015, 42(10): 780-782.
- [21] GAO Y T, LIU T, HUANG Y Y. MicroRNA-134 suppresses endometrial cancer stem cells by targeting POGlut1 and Notch pathway proteins [J]. *FEBS Lett*, 2015, 589(2): 207-214.

(收稿日期: 2017-07-23 修回日期: 2017-10-16)

(收稿日期: 2017-07-03 修回日期: 2017-09-12)