

miR-143 通过负向调控 Bcl-2 抑制食管癌细胞的增殖

胡琛琛, 张 莉*

(湖北省肿瘤医院重症医学科, 武汉 430079)

【摘要】 目的 探讨 miR-143 通过负向调控 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 抑制食管癌细胞的增殖。**方法** RT-PCR 法检测食管癌细胞 TE-1、EC109、EC9706、KYSE150、KYSE510、SEG-1 及人正常食管上皮细胞 HEEC 中 miR-143 表达, 使用脂质体 Lipofectamine™ 2000 将 miR-143 mimics 和 miR-143 NC 转入 EC9706 细胞中, 48 h 后, RT-PCR 法检测 miR-143 表达, CCK-8 法检测细胞活力, EdU 染色检测细胞增殖情况, 流式细胞术检测细胞周期, RT-PCR 及 Western blot 检测 Bcl-2 蛋白及 mRNA 的表达。**结果** miR-143 在食管癌细胞 TE-1、EC109、EC9706、KYSE150、KYSE510 及 SEG-1 中的表达量 [(1.36 ± 0.13), (1.08 ± 0.10), (0.89 ± 0.09), (0.95 ± 0.09), (1.32 ± 0.14), (0.96 ± 0.11)] 显著低于 miR-143 在人正常食管上皮细胞 HEEC (2.38 ± 0.15) 中的表达量 ($P < 0.01$)。与 miR-143 NC 组比较, miR-143 mimics 组 miR-143 表达量显著升高 ($P < 0.01$), 细胞活力下降 ($P < 0.01$), 细胞增殖能力降低 ($P < 0.01$), 细胞周期阻滞在 G1 期 ($P < 0.01$), 同时 Bcl-2 蛋白及 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.01$)。**结论** miR-143 过表达能通过下调 Bcl-2 表达抑制 EC9706 细胞增殖。

【关键词】 miR-143; 食管癌; EC9706; 增殖; B 淋巴细胞瘤-2, Bcl-2
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2017) 09-0065-06
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.09.012

Inhibition of proliferation of esophageal cancer cells by miR-143 through negative regulation of Bcl-2 expression

HU Chen-chen, Zhang Li*

(Department of Intensive Care Medicine, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430079, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of miR-143 on proliferation of esophageal cancer cells by negative-regulation of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2). **Methods** The expression levels of miR-143 in the esophageal cancer cells TE-1, EC109, EC9706, KYSE150, KYSE510 and SEG-1 and human normal esophageal epithelial cells HEEC were detected by RT-PCR. miR-143 mimics and miR-143 NC were transfected into EC9706 cells by Lipofectamine™ 2000. After 48 h, the expression levels of miR-143 were detected by RT-PCR, the viability and proliferation of the cells were measured using CCK-8 and EdU staining, the cell cycle was analyzed by flow cytometry, and the expression of Bcl-2 protein and mRNA was detected by Western blot and RT-PCR. **Results** The expression levels of miR-143 in esophageal cancer cells TE-1, EC109, EC9706, KYSE150, KYSE510 and SEG-1 [(1.36 ± 0.13), (1.08 ± 0.10), (0.89 ± 0.09), (0.95 ± 0.09), (1.32 ± 0.14) and (0.96 ± 0.11)] were significantly lower than that in the human normal esophageal epithelial cells HEEC (2.38 ± 0.15) ($P < 0.01$). Compared with the miR-143 NC group, the expression level of miR-143 was significantly increased ($P < 0.01$), the cell viability and proliferation were decreased ($P < 0.01$), the cell cycle was

[作者简介] 胡琛琛 (1979 -), 女, 医学硕士, 研究方向: 重症医学。E-mail: 1789972061@qq.com
[通讯作者] 张莉 (1978 -), 女, 副主任医师, 医学硕士, 研究方向: 肿瘤重症。E-mail: koshenshen@sina.com.cn

arrested in the G1 phase ($P < 0.01$), and the expression of Bcl-2 protein and mRNA was significantly decreased ($P < 0.01$) in the miR-143 mimics group. **Conclusions** Over-expression of miR-143 can inhibit the proliferation of esophageal cancer EC9706 cells through down-regulation of Bcl-2 expression.

[Key words] miR-143; Esophageal cancer; Cell line EC9706; Proliferation; B-cell lymphoma-2, Bcl-2

食管癌是消化系统中常见的恶性肿瘤之一,我国每年约有 15 万人死于食管癌,占了世界病死率将近 50%^[1, 2]。目前食管癌的主要治疗方式为手术、放疗、化疗相结合,但是患者一旦确诊基本处于中晚期,5 年生存率不足 20%,因此寻找有效的能够早期诊断、治疗食管癌的生物标志物已成为食管癌等肿瘤领域研究的热点^[1, 2]。miRNA 是一类高度保守的非编码 RNA 分子,能与靶基因 mRNA 的 3' 非翻译区 (untranslated region, UTR) 结合,进而降解或者抑制靶基因的转录,从而参与细胞增殖、凋亡、细胞周期等生物学行为的调控^[3, 4]。现研究已经显示 miRNA 的异常表达与肿瘤的发生发展密切相关^[5, 6]。同时在食管癌组织及其正常组织中发现多种差异性表达的 miRNA, miR-143 就是其中的一种,且其在其它肿瘤中的作用机制已被深入探讨,但在食管癌的发生发展的具体作用机制尚未见报道^[5-9]。此外肿瘤细胞呈现无限增殖与凋亡抑制,并受凋亡相关蛋白调控, Bcl-2 就是其中的一种凋亡抑制蛋白,且有研究显示 miR-143 能通过下调 Bcl-2 表达抑制骨肉瘤细胞、宫颈癌细胞增殖^[10, 11],因而本研究推测 miR-143 是否也可以通过靶向调控 Bcl-2 进而影响食管癌细胞增殖,本研究将对此推测展开以下实验研究。

1 材料和方法

1.1 细胞株

食管癌细胞 TE-1、EC109、EC9706、KYSE150、KYSE510 及 SEG-1 购于中国科学院上海细胞库,人正常食管上皮细胞 HEEC 购于上海酶研生物科技有限公司。

1.2 主要试剂和仪器

miR-143 mimics 和 miR-143 NC 购于上海吉玛制药技术有限公司;兔抗 Bcl-2 单克隆抗体购于美国 Epitomics 公司;胎牛血清, DMEM 培养基购于美国 Gibco 公司;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H + L), BCA 试剂盒, Trizol 法试剂盒, CCK-8 试剂盒, 细胞周期检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; Lipofectamine™2000 脂质体, 一步法 RT-PCR 试剂盒购自大连宝生生物技术有限公司; EdU

细胞增殖试剂盒购自广州市锐博生物科技有限公司。DYCZ-425D 型双垂直电泳仪, DYCZ-40D 型迷你转印电泳仪购于北京六一仪器厂; GelDoc XR System 凝胶成像系统购于美国 Bio-Rad 公司; FAC-SCalibur 型流式细胞仪, 168-1000XC 型酶标仪购于美国 BD 公司; AF6000 型荧光显微镜购自德国莱卡公司。

1.3 实验方法

1.3.1 RT-PCR 法检测细胞中 miR-143 及 Bcl-2 的表达

采用 TRIzol 法抽提细胞中总 RNA, 并检测 RNA 纯度, 通过一步法 RT-PCR 逆转录 RNA, 扩增产物用于琼脂糖凝胶电泳。引物由上海生工生物工程有限公司合成。miR-143 上游引物: 5'-ACACTCCAGCTGGGTGAGATGAAGCACTGTAG-3', 下游引物: 5'-CTCAACTGGTGTCTGGA-3'; Bcl-2 上游引物: 5'-CAGCTGCACCTGACGCCCTT-3', 下游引物: 5'-GCCTCCGTTATCCTGGATCC-3'; GAPDH 上游引物: 5'-AGCCACATCGCTCAGACA-3', 下游引物: 5'-TG GACTCCACGACGTACT-3'。

1.3.2 细胞转染

当 EC9706 细胞汇合度达到 50% ~ 70% 左右时候, 利用 Lipofectamine™2000 脂质体转染 miR-143 mimics 和 miR-143 NC, 6 h 以后换成含 10% 血清的 DMEM 培养基; 37℃, CO₂ 培养箱培养 48 h。应用 RT-PCR 法检测细胞中的 miR-143。

1.3.3 CCK-8 法检测 EC9706 细胞活力

将 5×10^4 个细胞接种于 96 孔板, 分别于 24 h、48 h、72 h、96 h 加入 CCK-8 试剂, 继续培养 4 h 后, 于酶标仪中检测 OD 值, 波长设置为 570 nm, 所测 OD 值即细胞活力。

1.3.4 EdU 染色检测细胞增殖

将 5×10^4 个细胞接种于 96 孔板, 48 h 后, 消化收集细胞, 加入含有 EdU 的培养基孵育 2 h, PBS 洗涤后, 4% 多聚甲醛固定 30 min 后, 按试剂盒说明书要求分别加入试剂 B、C、D、E 进行孵育, 接着 PBS 洗涤, 最后用 Hoechst33342 染色液室温孵育 30 min, 后 PBS 洗涤, 并于荧光显微镜下进行观察拍照, 最后用 Image J 进行统计分析。

1.3.5 流式细胞术检测细胞周期

将 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板,48 h 后,消化收集细胞,接着根据细胞周期检测试剂盒说明书对细胞进行固定,染色并于 1 h 内在流式细胞仪中进行检测。

1.3.6 Western blot 检测细胞中 Bcl-2 蛋白表达

将 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板,48 h 后,收集细胞,并加入适量的细胞裂解液,裂解 30 min,离心收集上清液,即收获总蛋白。接着采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,蛋白经煮沸变性后上样,进行十二烷基苯磺酸钠凝胶电泳,后湿法转膜 30 min。5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,一抗溶液(兔 Bcl-2 单克隆抗体,稀释度为 1:100)4℃ 过夜孵育,次日室温二抗溶液[辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L)]孵育 1~2 h,在凝胶成像系统中曝光,最后采用“Quantity One”软件分析各个抗体条带的灰度值。

1.3.7 荧光素酶报告基因表达分析

miR-143 及 Bcl-2 重组载体共转染到 EC9706 细胞中。分组如下:(miR-143 mimics) + (pMIR Bcl-2 3' UTR-Wt), (miR-143 NC) + (pMIR Bcl-2 3' UTR-Mut), (miR-143 mimics) + (pMIR Bcl-2 3' UTR-Mut), (miR-143 NC) + (pMIR Bcl-2 3' UTR-Mut)。应用双荧光素酶检测系统检测转染好的荧光素酶活性,计算公式:相对荧光值 = 萤火虫荧光素酶荧光值/海肾荧光素酶荧光值。每个实验组三个平行复孔。

1.4 统计学方法

所有数据均用 SPSS 17.0 统计分析,用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,经 t 检验差异显著性,以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

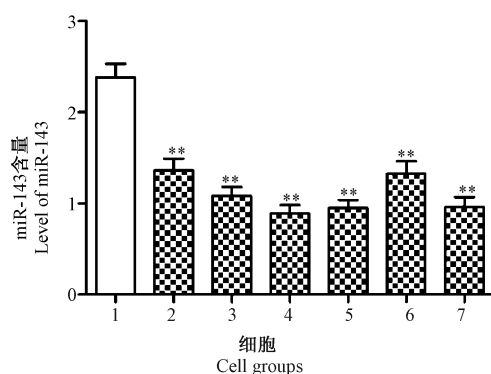
2 结果

2.1 miR-143 在食管癌及正常食管上皮细胞中的表达

如图 1 所示,miR-143 在食管癌细胞 TE-1、EC109、EC9706、KYSE150、KYSE510 及 SEG-1 中的表达量 [(1.36 $\pm$ 0.13), (1.08 $\pm$ 0.10), (0.89 $\pm$ 0.09), (0.95 $\pm$ 0.09), (1.32 $\pm$ 0.14), (0.96 $\pm$ 0.11)] 显著低于 miR-143 在人正常食管上皮细胞 HEEC (2.38 $\pm$ 0.15) 中的表达量,且差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.2 miR-143 mimics 转染效果的检测

如图 2 所示,与 miR-143 NC 组 (0.76 $\pm$ 0.07)

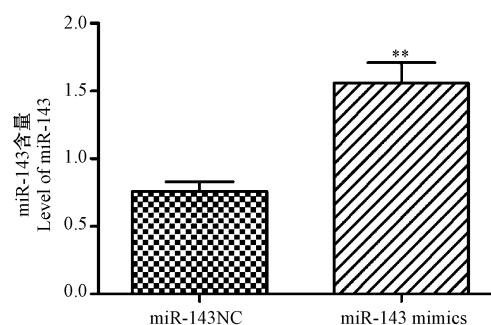


注: 1. HEEC; 2. TE-1; 3. EC109; 4. EC9706; 5. KYSE150; 6. KYSE510; 7. SEG-1。与 HEEC 比较, ** $P < 0.01$ 。

图 1 miR-143 在食管癌细胞及正常食管上皮细胞中的表达

Note. 1. HEEC; 2. TE-1; 3. EC109; 4. EC9706; 5. KYSE150; 6. KYSE510; 7. SEG-1. Compared with HEEC, ** $P < 0.01$.

Fig. 1 Expression levels of miR-143 in the esophageal cancer cells and normal esophageal epithelial cells



注: 与 miR-143 NC 组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 2 miR-143 mimics 转染效果的检测

Note. Compared with the miR-143 NC group, ** $P < 0.01$.

Fig. 2 Efficiency of transfection of miR-143 mimics

比较,miR-143 mimics 组 (1.56 $\pm$ 0.15) 中 miR-143 表达量显著上调,差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.3 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞活力的影响

如图 3 所示,随着转染时间的延长,与 miR-143 NC 组比较,miR-143 mimics 组细胞活力均显著降低,差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.4 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞增殖的影响

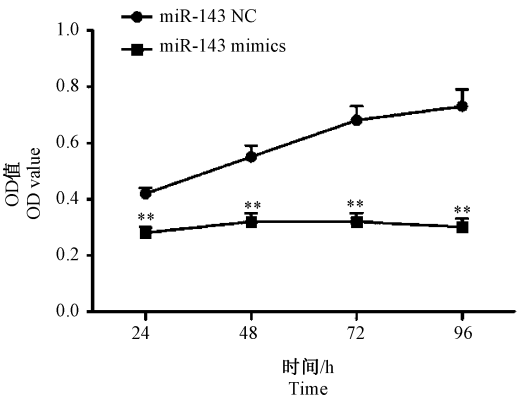
如图 4 所示,与 miR-143 NC 组 (128.58 $\pm$ 12.51) 比较,miR-143 mimics 组 (21.74 $\pm$ 0.22) 细胞增殖数目显著降低,差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.5 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞周期的影响

如图 5、表 1 所示,与 miR-143 NC 组比较,miR-143 mimics 组细胞周期阻滞在 G1 期 ($P < 0.01$)。

2.6 报告基因分析

将 miR-143 mimics、miR-143 NC 及野生型载体



注:与 miR-143 NC 组比较,** $P < 0.01$ 。

图 3 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞活力的影响
Note. Compared with the miR-143 NC group, ** $P < 0.01$.

Fig. 3 Effect of miR-143 mimics on the viability of EC9706 cells

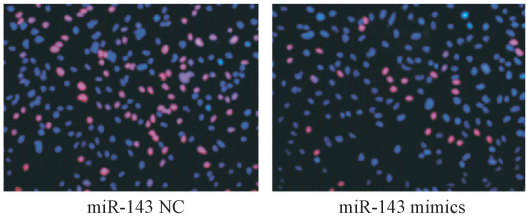


图 4 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞增殖的影响($\times 200$)

Fig. 4 Effect of miR-143 mimics on the proliferation of EC9706 cells

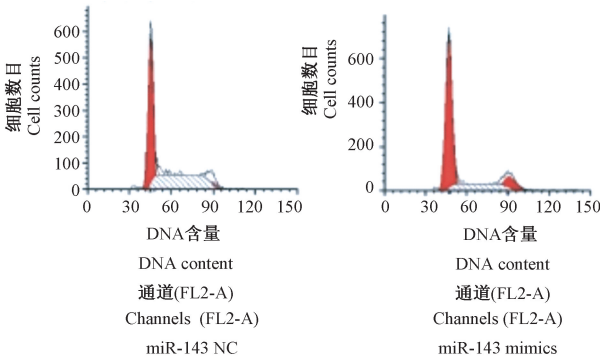


图 5 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞周期的影响
Fig. 5 Effect of miR-143 mimics on the cell cycle of EC9706 cells

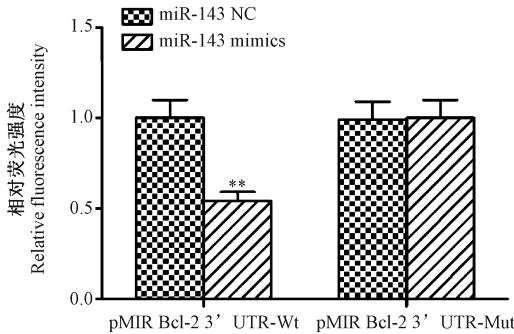
pMIR Bcl-2 3' UTR-Wt、突变型载体 pMIR Bcl-2 3' UTR-Mut 转入 EC9706 细胞中,结果发现,miR-143 mimics 与野生型载体 pMIR Bcl-2 3' UTR-Wt 共转染组的荧光信号强度明显弱于其它转染组 ($P < 0.01$)。而对于突变型载体 pMIR Bcl-2 3' UTR-Mut

来说,各组间荧光强度差异无显著性 ($P > 0.05$),见图 6。

表 1 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 Effect of miR-143 mimics on the cell cycle of EC9706 cells

组别 Groups	G1 期 G1 phase	S 期 S phase	G2 期 G2 phase
miR-143 NC	52.38 $\pm$ 5.25	16.74 $\pm$ 1.72	30.88 $\pm$ 1.72
miR-143 mimics	64.57 $\pm$ 6.21 **	12.46 $\pm$ 1.25 **	22.97 $\pm$ 2.60 **

注:与 miR-143 NC 组比较,** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the miR-143 NC group, ** $P < 0.01$.



注:与 pMIR Bcl-2 3' UTR-Wt 比较,** $P < 0.01$ 。

图 6 报告基因分析

Note. Compared with pMIR Bcl-2 3' UTR-Wt, ** $P < 0.01$.

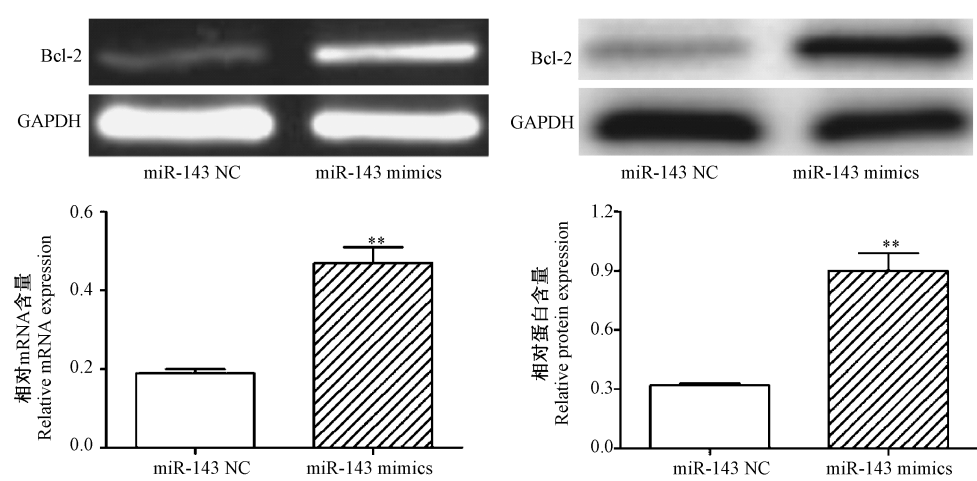
Fig. 6 Analysis of the reporter genes

2.7 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞中 Bcl-2 蛋白及 mRNA 表达的影响

如图 7 所示,与 miR-143 NC 组比较,miR-143 mimics 组 Bcl-2 蛋白及 mRNA 表达量下调 ($P < 0.01$)。

3 讨论

1993 年 Ambros 等学者在秀丽隐杆线虫中第一次发现了 miRNA,即 lin-4,随后又有学者于 2000 年在秀丽隐杆线虫中发现了第二个 miRNA,即 let-7。往后的二十几年间学者陆续于脊椎动物、植物及病毒中发现了上千种的 miRNA,在这期间有学者于 2002 年发现了 miRNA 与肿瘤的关系,在慢性淋巴细胞白血病中存在着 miR-15 与 miR-16 的表达量下调或者缺失,并且这两个 miRNA 还与白血病的发生发展密切相关,引起了研究者深厚的兴趣,并进一步的深入研究 miRNA 在肿瘤中的作用机制^[3, 4]。miRNA 在食管癌组织及正常组织中存在着差异性表达,miR-143 就是其中的一种。miR-143 位于人类染色体 5q32,最早被发现于鼠类,具有显著的组织



注:与 miR-143 NC 组比较, ** $P < 0.01$ 。

图7 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞中 Bcl-2 蛋白及 mRNA 表达量的影响

Note. Compared with the miR-143 NC group, ** $P < 0.01$.

Fig. 7 Effect of miR-143 mimics on the expression of Bcl-2 protein and mRNA in EC9706 cells

特异性。Wu 等^[7]利用 miRNA 微阵列分析方法发现了 miR-143 在食管癌组织及正常组织中存在差异性表达,进一步用 RT-PCR 也证实了 miR-143 在食管鳞状细胞癌患者中的表达量是下调的,且将稳定表达 miR-143 的质粒转染到食管癌细胞后,发现细胞迁移能力显著的降低。后续 Liu 等^[12], Ni 等^[13]也都证实了 miR-143 在食管癌中的低表达。同时 miR-143 在其他肿瘤中的具体作用机制已深入报道,在食管癌中的具体作用还尚未可知^[8, 9],因此本研究将对此展开讨论。

本研究首先利用 RT-PCR 法检测了 6 株食管癌细胞中 (TE-1, EC109, EC9706, KYSE150, KYSE510 及 SEG-1) 及 1 株人正常食管上皮细胞 HEEC 中 miR-143 的表达,结果表明 miR-143 在组织标本中的表达趋势一致,食管癌细胞中的 miR-143 表达量也显著低于正常食管细胞。接着利用脂质体转染 miR-143 NC 和 miR-143 mimics,转染效果通过 RT-PCR 验证,结果也表明转染成功。进一步的利用 CCK-8 及 EdU 染色检测 miR-143 mimics 对 EC9706 食管癌细胞活力及增强情况的影响,结果表明 miR-143 mimics 能显著的降低 EC9706 细胞活力,并抑制细胞增殖能力,与 miR-143 在结直肠癌细胞中的作用效果一致^[8, 9]。说明提高 EC9706 细胞中 miR-143 表达量能显著的抑制细胞的增殖能力。另外肿瘤细胞的无限增殖源自于细胞周期的不可控制,细胞周期关键调控点包括 G1, S 及 G2 期,且这 3 个调控

点是众多肿瘤药物作用于肿瘤细胞的靶点之一^[14, 15]。因此本研究进一步探讨 miR-143 mimics 对 EC9706 细胞周期的影响,结果表明 miR-143 mimics 能显著延长 G1 期,使细胞周期阻滞在 G1 期,抑制细胞的复制与增殖,与 miR-143 在肝癌细胞中作用效果一致^[16]。从而说明 miR-143 mimics 能通过阻滞 EC9706 细胞周期于 G1 期,从而抑制细胞的增殖与活力。

肿瘤细胞的无限增殖与凋亡抑制受到细胞凋亡蛋白的调控作用,其中 Bcl-2 家族是最常见的细胞凋亡调控家族。Bcl-2 是研究最为广泛的凋亡抑制蛋白,是第一个在淋巴细胞中被发现的能抑制细胞凋亡的蛋白,能与促凋亡蛋白 Bax 形成异二聚体,进而调控细胞的增殖与凋亡。而 miRNA 对于细胞生物学行为的调控作用,主要是通过对其下游靶基因的调控作用实现的^[17],且已有研究表明 miR-143 能通过下调 Bcl-2 表达抑制骨肉瘤细胞、宫颈癌细胞增殖^[10, 11],但是否能够此作用机制抑制食管癌细胞的增殖还尚不可知。所以本研究首先利用荧光素酶报告基因检测了 miR-143 mimics 对野生型 Bcl-2 载体及突变型 Bcl-2 载体荧光信号的影响,结果证实只有野生型 Bcl-2 载体的信号减弱,说明 miR-143 mimics 能够结合于 Bcl-2 的 3' UTR 区域,进而抑制其表达。接着利用 Western blot 及 RT-PCR 进一步证实了 miR-143 mimics 能通过下调 Bcl-2 蛋白及 mRNA 表达,从而说明 miR-143 mimics 通过负

向调控 Bcl-2 表达,进而使 EC9706 细胞周期阻滞于 G1 期,并抑制细胞增殖与活力。

综上所述,miR-143 在 TE-1, EC109, EC9706, KYSE150, KYSE510 及 SEG-1 细胞中的表达量显著低于其在 HEEC 细胞中的表达量,因此上调 EC9706 细胞中 miR-143 表达量能显著降低 Bcl-2 表达,进而抑制细胞活力及增殖能力,并使细胞周期阻滞在 G1 期。

参考文献:

[1] 叶韬, 孙苏平. 食管癌术后放射治疗的研究进展 [J]. 癌症进展, 2012, 10(6): 576-579.

[2] 李定安, 彭开桂. 食管癌术前同步放化疗的临床研究进展 [J]. 中华全科医学, 2014, 12(9): 1466-1468.

[3] Gambari R, Brognara E, Spandidos DA, et al. Targeting oncomiRNAs and mimicking tumor suppressor miRNAs: New trends in the development of miRNA therapeutic strategies in oncology (Review) [J]. Int J Oncol, 2016, 49(1): 5-32.

[4] 许文剑, 苏秀兰, 刘明. miRNA 与肿瘤关系的研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19(17): 3120-3123.

[5] 蔡晓波, 李庆, 郭俊明, 等. MicroRNA 与食管癌的研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2013, 35(9): 1405-1411.

[6] Sharma P, Sharma R. miRNA-mRNA crosstalk in esophageal cancer: from diagnosis to therapy [J]. Crit Rev Oncol Hemat, 2015, 96(3): 449-462.

[7] Wu BL, Xu LY, Du ZP, et al. miRNA profile in esophageal squamous cell carcinoma: downregulation of miR-143 and miR-145 [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(1): 79-88.

[8] Yang F, Xie YQ, Tang SQ, et al. miR-143 regulates proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells and exhibits altered expression in colorectal cancer tissue [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9): 15308-15312.

[9] Su J, Liang H, Yao W, et al. miR-143 and miR-145 regulate IGF1R to suppress cell proliferation in colorectal cancer [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114420.

[10] Li WH, Wu HJ, Li YX, et al. MicroRNA-143 promotes apoptosis of osteosarcoma cells by caspase-3 activation via targeting Bcl-2 [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 80: 8-15.

[11] Liu L, Yu X, Guo X, et al. miR-143 is downregulated in cervical cancer and promotes apoptosis and inhibits tumor formation by targeting Bcl-2 [J]. Mol Med Rep, 2012, 5(3): 753-760.

[12] Liu R, Liao J, Yang M, et al. The cluster of miR-143 and miR-145 affects the risk for esophageal squamous cell carcinoma through co-regulating fascin homolog 1 [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33987.

[13] Ni Y, Meng L, Wang L, et al. MicroRNA-143 functions as a tumor suppressor in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. Gene, 2013, 517(2): 197-204.

[14] Sommariva S, Tarricone R, Lazzeri M, et al. Prognostic value of the cell cycle progression score in patients with prostate cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Eur Urol, 2016, 69(1): 107-115.

[15] Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer [J]. Cell Prolif, 2003, 36(3): 131-149.

[16] Liu X, Gong J, Xu B. miR-143 down-regulates TLR2 expression in hepatoma cells and inhibits hepatoma cell proliferation and invasion [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 12738-12747.

[17] 龚勇, 谢海龙. 肿瘤中 miRNA 异常表达的分子调控机制及研究进展 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(10): 1152-1155.

[收稿日期]2016-12-19