

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.18.004

文章编号: 1005-8982(2017)18-0022-06

临床研究·论著

miR-29a 在宫颈癌组织中的表达及其上调后 对宫颈癌细胞恶性生物学行为的影响

黄智述¹, 任黔川²

(1. 西南医科大学, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院 妇产科, 四川 泸州 646000)

摘要: **目的** 检测微小 RNA(miR)-29a 在宫颈癌组织和不同种类宫颈癌细胞系中的表达情况及其上调后对宫颈癌 SiHa 细胞增殖、凋亡、侵袭及迁移等恶性生物学行为的影响。**方法** ①组织标本检测: 收集 2014 年 7 月-2016 年 7 月西南医科大学附属医院活检或手术切除的宫颈组织标本 160 例, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 miR-29a 的表达情况, 并分析宫颈癌组织中 miR-29a 的表达与临床病理特征的关系。②细胞学实验: 采用 qRT-PCR 检测 miR-29a 在不同种类的人宫颈癌细胞系(SiHa、HeLa、Caski 及 C33a)和人正常宫颈细胞系 Ect1/E6E7 中的表达水平, 选取 miR-29a 表达最低的宫颈癌细胞系 SiHa 进行后续研究, 使用 miR-29a mimics 转染 SiHa 细胞, qRT-PCR 检测转染后细胞 miR-29a 的表达变化, CCK-8 法检测转染后细胞增殖活力的变化, 流式细胞仪检测转染后细胞凋亡率的变化, Transwell 实验检测转染后细胞迁移和侵袭能力的变化。**结果** 宫颈鳞癌组织中 miR-29a 表达低于 HSIL、LSIL 及正常宫颈组织($P<0.05$); HSIL 组织中 miR-29a 表达低于 LSIL 及正常宫颈组织($P<0.05$), LSIL 与正常宫颈组织间 miR-29a 的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。宫颈鳞癌组织中 miR-29a 的表达与患者临床分期和淋巴结转移密切相关($P<0.05$)。miR-29a 在人宫颈癌细胞系(SiHa、HeLa、Caski 和 C33a)中的表达低于人正常宫颈细胞系 Ect1/E6E7($P<0.05$)。SiHa 细胞转染 miR-29a mimics 后, miR-29a 表达水平增高($P<0.05$), 细胞增殖活力降低($P<0.05$), 细胞凋亡率增高($P<0.05$), 细胞迁移和侵袭能力下降($P<0.05$)。**结论** miR-29a 在宫颈癌组织和细胞中均呈低表达, 上调 miR-29a 的表达能够抑制宫颈癌 SiHa 细胞的增殖及侵袭迁移能力, 促进细胞的凋亡。

关键词: miR-29a; 子宫颈癌; SiHa 细胞

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

Expression of miR-29a in cervical cancer and effect of miR-29a up-regulation on malignant biologic behaviors of cervical cancer cells

Zhi-shu Huang¹, Qian-chuan Ren²

(1. Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of
Gynaecology and Obstetrics, the Affiliated Hospital of Southwest
Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of miR-29a in specimens and cells of cervical cancer and explore the effect of up-regulation of miR-29a expression on proliferation, apoptosis, invasion and migration of cervical cancer cells further. **Methods** Totally 160 cases of biopsy or surgical specimens were collected in the Affiliated Hospital of Southwest Medical University from July 2014 to July 2016, including 80 cases of cervical cancer, 40 cases of high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), 20 cases of low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) and 20 cases of normal cervix. The expression levels of miR-29a in

收稿日期: 2017-01-25

[通信作者] 任黔川, E-mail: tyl_wf@yeah.net

different cervical tissues were examined by qRT-PCR. The correlations of miR-29a expression with the clinicopathological parameters of patients were analyzed. The expressions of miR-29a in four cervical cancer cell lines (SiHa, HeLa, Caski, C33a) and one normal cervical cell line Ect1/E6E7 were also examined by qRT-PCR. SiHa cells with the lowest expression of miR-29a were selected in the follow-up studies. SiHa cells were transfected with miR-29a mimics, and the expression of miR-29a in transfected cells was detected by qRT-PCR. CCK-8 assay, flowcytometry and Transwell assay were used to analyze the effect of miR-29a mimics on the proliferation, apoptosis, invasion and migration of SiHa cells. **Results** The expression of miR-29a in cervical squamous cancer was lower than that in HSIL, LSIL and normal cervical tissue ($P < 0.05$), and the expression of miR-29a in HSIL was lower than that in LSIL and normal cervical tissue ($P < 0.05$), while there was no significant difference between LSIL and normal cervical tissues ($P > 0.05$). The expression level of miR-29a in cervical squamous cancer was correlated with clinical stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The expression of miR-29a in cervical cancer cell lines was lower than that in normal cervical cell line ($P < 0.05$). After transfection with miR-29a mimics, the expression of miR-29a was significantly increased ($P < 0.05$), the proliferation activity was significantly decreased ($P < 0.05$), the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$), and the cell migration and invasion abilities in SiHa cells were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of miR-29a significantly decreases in cervical cancer tissues and cells. Up-regulation of miR-29a can inhibit proliferation, migration and invasion, and promote apoptosis in SiHa cells.

Keywords: miR-29a; cervical cancer; SiHa cell

宫颈癌是女性常见妇科恶性肿瘤之一,在范围内,宫颈癌的发病率和病死率已居于女性生殖系统恶性肿瘤首位^[1],并且近年来呈年轻化趋势^[2]。根治性手术和放化疗是目前宫颈癌的主要治疗方式,但由治疗产生的不良反应严重影响患者的生命质量。因此,从分子水平探讨宫颈癌的发生机制,寻找临床治疗宫颈癌有效的基因靶点迫在眉睫。microRNA 是一组内源性、长度在 18~25 个核苷酸非编码蛋白质的单链 RNA,其可以通过与靶基因 mRNA 的 3'-UTR 区结合调节靶基因的表达,参与机体炎症反应、免疫应答、细胞增殖及凋亡等生理病理过程^[3-4]。目前研究显示,微小 RNA-29a(miR-29a)在多种人类恶性肿瘤组织中起着促癌基因或者抑癌基因的作用^[5-7],但至今为止,miR-29a 在宫颈癌方面的研究国内外甚少。本研究检测 miR-29a 在宫颈癌组织和宫颈癌细胞系中的表达并分析上调 miR-29a 表达对宫颈癌 SiHa 细胞增殖、凋亡、侵袭及迁移等恶性生物学行为的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本 选取 2014 年 7 月-2016 年 7 月在西南医科大学附属医院妇产科门诊活检或手术切除的宫颈组织标本共 160 例。其中,宫颈鳞癌标本 80 例,宫颈高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion,HSIL)标本 40 例,宫

颈低级别鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion,LSIL)标本 20 例,正常宫颈组织标本 20 例。标本取出后立即放入液氮中,置入 -80℃ 冰箱冷冻保存。所有患者活检或术前均未行放化疗等治疗,全部病理切片经过西南医科大学附属医院病理科专家复阅确诊。宫颈癌患者临床分期采用国际妇产科联盟(FIGO)的分期标准,Ⅰ期 35 例,Ⅱ期 45 例;病理分级:G₁ 19 例,G₂ 39 例,G₃ 22 例;有淋巴结转移 23 例,无淋巴结转移者 57 例。本研究所有患者均签署知情同意书并经医院伦理委员会批准。

1.1.2 细胞系 人宫颈癌细胞系(SiHa、HeLa、Caski 和 C33a)和人正常宫颈细胞株 Ect1/E6E7(购自中国科学院上海细胞库),用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基培养,置于 37℃ 含 5% 二氧化碳 CO₂ 的培养箱中。

1.1.3 主要试剂 miR-29a mimics 及阴性对照 mimics-NC(均购自上海吉玛制药技术公司),Trizol 试剂和 Lipofectamine™ 2000(购自美国 Invitrogen 公司),RNA 逆转录试剂盒及实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒(购自日本 TaKaRa 公司),miR-29a 及内参 U6 引物由广州锐博生物公司设计合成,Cell counting Kit-WST-8(CCK-8)试剂盒(购自上海东仁公司),Annexin V-FITC/PI 双染凋亡检测试剂盒(购自南京凯基生物公司),Transwell 小室(购自美国 Corning 公司),基质胶(购自美国 BD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞转染 将对数生长期的 SiHa 细胞接种于 6 孔板中,常规条件培养,融合度达到 50%~60% 时进行细胞转染,按照 Lipofectamine™ 2000 试剂盒说明书进行转染操作,实验组每孔加入 100 pmol miR-29a mimics 及 5 μ l 转染试剂,对照组每孔加入 100 pmol mimics-NC 及 5 μ l 转染试剂,转染后 qRT-PCR 检测 miR-29a 的表达,确定转染效果再进行体外细胞实验。

1.2.2 qRT-PCR 法检测组织和细胞中 miR-29a 的表达 Trizol 法提取组织或细胞总 RNA,超微量分光光度计测 RNA 浓度,严格按试剂盒说明书逆转录反应合成 cDNA,反应条件:37℃水浴 60 min,95℃干溶 5 min。取逆转录产物为模板,利用定量 PCR 试剂盒、miR-29a 及内参 U6 特异性引物进行 qRT-PCR 检测,反应条件:95℃预变性 15 min,94℃变性 20 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30s,扩增 45 个循环。以 U6 作为内参基因,2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 miR-29a 相对表达量,实验重复 3 次。

1.2.3 CCK-8 实验检测细胞增殖 活力细胞接种于 96 孔板,常规条件培养,融合度达到 50%~60% 时进行细胞转染,分别于转染后 24、48、72 及 96 h 取出培养箱,参照 CCK-8 试剂盒操作说明书操作向每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液,37℃避光孵育 1 h 后用酶标仪测定波长 450 nm 处的各孔对应的吸光度值,每组设 5 个复孔。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率 上述转染细胞于 48 h 后,用不含 EDTA 的胰酶消化后离心收集细胞,PBS 洗涤细胞,离心弃上清液,调整细胞浓度为 (1~5) $\times 10^5$ 个/ml,加入 Annexin V-FITC 和碘化丙啶(PI)染色,室温避光孵育 15 min 后进行流式细胞仪检测,计算细胞凋亡百分比,实验重复 3 次。

1.2.5 Transwell 体外迁移和侵袭实验检测细胞的迁移和侵袭能力 上述细胞转染后 24 h,胰蛋白酶消化收集细胞,用无血清培养液对各组细胞进行饥饿处理,Transwell 小室膜水化预处理后,向上室每孔加入含 2×10^5 个细胞的细胞悬液,下层加入含 10% FBS 的完全培养基,置培养箱继续培养 24 h 后取出小室,棉签小心擦去上室表面未迁移的细胞,固定、染色,显微镜下观察、拍照,随机选取显微镜下选 5 个视野,计数穿出细胞数,取平均数,实验重复 3 次。侵袭实验时,将 Transwell 小室进行包被基质膜处理,用基质胶包被 Transwell 小室基底膜,待基质胶凝固后进

行后续实验,之后的实验步骤同迁移实验。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析,计数资料以率(%)表示并行 χ^2 检验,两两比较用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈鳞癌、HSIL、LSIL 及正常宫颈组织中 miR-29a 的相对表达量

经 qRT-PCR 检测宫颈鳞癌、HSIL、LSIL 及正常宫颈组织中 miR-29a 的表达水平,组间整体比较差异有统计学意义($F=1394.78, P=0.000$);进一步多重比较结果显示,LSIL 及正常宫颈组织中 miR-29a 的表达水平比较差异无统计学意义($P < 0.05$),宫颈鳞癌和 HSIL 组织中 miR-29a 表达低于 LSIL 及正常宫颈组织($P < 0.05$),且宫颈癌组织中 miR-29a 表达低于 HSIL 组织($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 miR-29a 表达与宫颈鳞癌临床病理特征的相关性分析

以宫颈鳞癌组织 miR-29a 均值水平为临界值,分为 miR-29a 高表达和 miR-29a 低表达,与患者年龄、肿瘤直径、病理分级、间质浸润深度、临床分期及有无淋巴转移等临床病理特征的相关性进行统计学分析,结果表明,宫颈鳞癌组织中 miR-29a 的低表达与临床分期和淋巴结转移相关($P < 0.05$),提示低表达的 miR-29a 可能参与肿瘤的发展及转移过程。见附表。

2.3 各细胞系 miR-29a 的相对表达量

经 qRT-PCR 检测,miR-29a 在正常宫颈细胞系 Ect1/E6E7 和宫颈癌细胞系(SiHa、HeLa、Caski 及 C33a)组间整体差异有统计学意义($F=155.33, P=0.000$);进一步多重比较结果显示,宫颈癌细胞系(SiHa、HeLa、

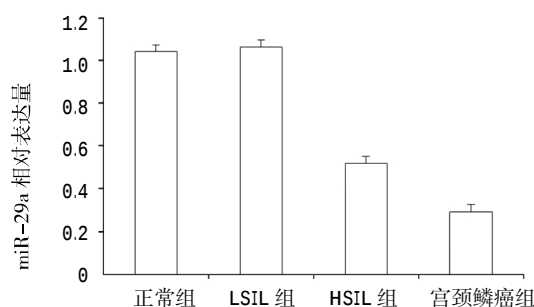


图 1 宫颈组织中 miR-29a 的相对表达

附表 不同临床病理特征与宫颈鳞癌 miR-29a 低表达率关系				
临床病理特征	例数	低表达 例(%)	χ^2 值	P 值
年龄				
≥45 岁	45	24(53.33)	0.457	0.498
<45 岁	35	16(45.71)		
肿瘤直径				
≥2.5 cm	56	27(48.21)	0.238	0.625
<2.5 cm	24	13(54.17)		
病理分级				
G ₁ ~ G ₂	58	26(44.83)	2.257	0.133
G ₃	22	14(63.63)		
间质浸润深度				
≥2/5 间质	60	28(46.67)	1.067	0.302
<2/5 间质	20	12(60.00)		
临床分期				
I 期	35	12(34.29)	6.146	0.013
II 期	45	28(62.22)		
淋巴结转移				
有	23	17(73.91)	7.384	0.007
无	57	23(40.35)		

Caski 及 C33a)中 miR-29a 的表达水平较正常宫颈细胞系 Ect1/E6E7 均降低($P<0.05$)(见图 2)。其中,SiHa 细胞系相对表达最低,因此选择 SiHa 细胞系作为后续实验的研究对象,SiHa 细胞转染 miR-29a mimics,经 qRT-PCR 证实,miR-29a 在 miR-29a mimics 组、mimics-NC 组和空白对照组 3 组间整体差异有统计学意义($F=1798.47,P=0.000$);进一步多重比较结果显示,miR-29a mimics 组中 miR-29a 的表达水平高于 mimics-NC 组和空白对照组($P<0.05$),提示转染 miR-29a mimics 可上调 SiHa 细胞 miR-29a 的表达水平($P<0.05$),证明转染效率较高。见图 3。

2.4 上调 miR-29a 的表达抑制 SiHa 细胞的增殖

将 miR-29a mimics 组和 mimics-NC 组 SiHa 细胞于转染后 24、48、72 及 96 h 时进行 CCK-8 增殖实验,采用重复测量设计的方差分析,结果显示:①转染后不同时间的细胞增殖比较,差异有统计学意义($F=6.489,P=0.000$);②miR-29a mimics 组和 mimics-NC 组细胞增殖情况比较,差异有统计学意义($F=10.559,P=0.000$);③miR-29a mimics 组和 mimics-NC 组细胞增殖的变化趋势比较,差异有统计学意义($F=5.148,P=0.000$)。见图 4。

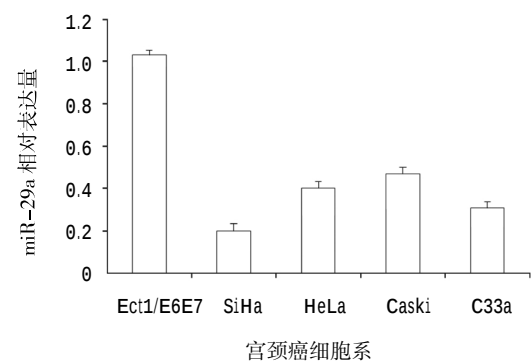
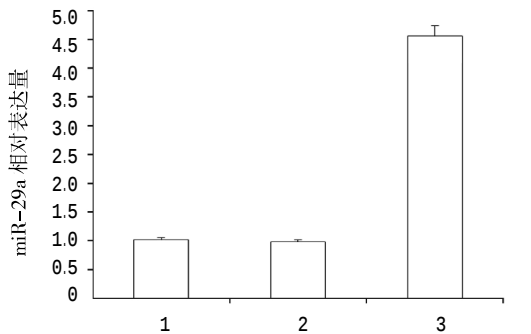


图 2 miR-29a 在正常宫颈细胞系与宫颈癌细胞系中的相对表达



1:空白对照组;2:mimics-NC 组;3:miR-29a mimics 组

图 3 各组 SiHa 细胞中 miR-29a 的相对表达

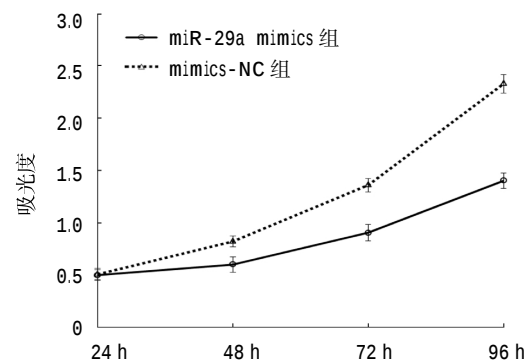


图 4 转染 miR-29a mimics 对 SiHa 细胞增殖活力的影响

2.5 上调 miR-29a 的表达促进 SiHa 细胞的凋亡

流式细胞术结果显示,miR-29a mimics 组 SiHa 细胞的凋亡率高于 mimics-NC 组细胞($t=11.364,P=0.000$),提示上调 miR-29a 的表达能够促进 SiHa 细胞的凋亡。见图 5。

2.6 上调 miR-29a 的表达抑制 SiHa 细胞的迁移及侵袭能力

Transwell 迁移实验检测上调 miR-29a 后 SiHa 细胞迁移能力的变化,miR-29a mimics 组和 mimics-NC 组细胞穿入下层小室的细胞数目分别为:($112 \pm$

10)和 (202 ± 18) 个/HP,miR-29a mimics 组穿膜细胞数少于 mimics-NC 组($t=7.570, P=0.002$),表明上调miR-29a 的表达能够抑制 SiHa 细胞的迁移能力。Transwell 侵袭实验检测上调 miR-29a 后 SiHa 细胞侵袭能力的变化,结果表明,miR-29a mimics 组和 mimics-NC 组细胞穿入下层小室的细胞数目分别为 (86 ± 8) 和 (184 ± 16) 个/HP,miR-29a mimics 组穿膜细胞数少于 mimics-NC 组($t=9.489, P=0.001$),表明上调 miR-29a 的表达能够抑制 SiHa 细胞的侵袭能力。见图 6。

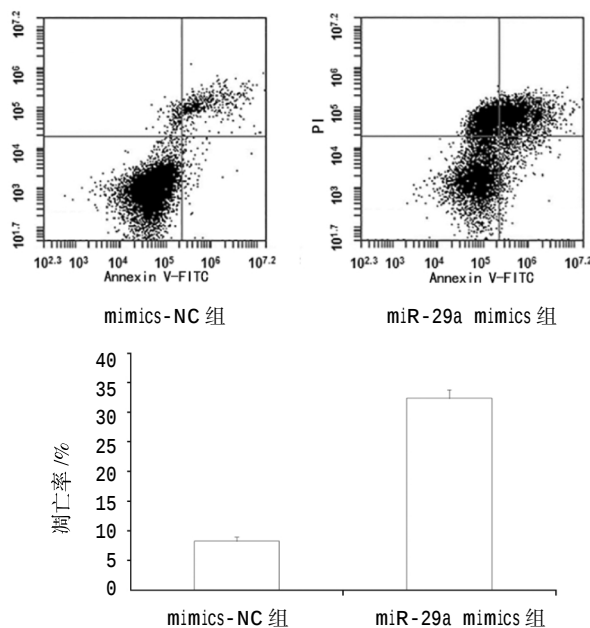


图 5 转染 miR-29a mimics 对 SiHa 细胞凋亡率的影响

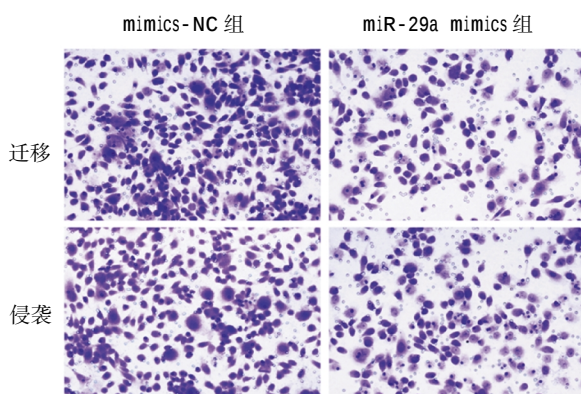


图 6 转染 miR-29a mimics 对 SiHa 细胞迁移和侵袭能力的影响

3 讨论

在人类复杂的基因调控网络中 miRNA 起着极其重要的作用,miRNA 在转录后水平调节基因的表

达,参与肿瘤细胞的增殖、凋亡及侵袭和迁移,参与恶性肿瘤的发生、发展^[8-9]。miR-29a 是 miR-29 家族成员之一,其定位于人染色体 7q32.3 的负链,其在人类的脑及心脏组织中高表达,在机体免疫反应、肿瘤形成等生理病理过程中发挥重要作用^[10]。miR-29 家族主要包括 miR-29a、miR-29b 及 miR-29c 3 个成员。目前,miR-29a 与肿瘤关系的研究较少,并且作用机制尚不完全明确。近期逐渐增多的研究表明 miR-29a 在恶性肿瘤组织中表达减低,提示 miR-29a 的低表达可能参与恶性肿瘤的发生、发展。MU-NIYAPPA 等^[11]在研究中发现 miR-29a 在侵袭性肺癌细胞中表达降低,上调 miR-29a 的表达可以抑制其侵袭能力。XU 等^[12]通过 qRT-PCR 发现 miR-29a 在多种实体恶性肿瘤中表达降低。WU 等^[5]在研究中证实 miR-29a 在乳腺癌组织及细胞中表达水平下降,miR-29a 可以靶向调控 *B-Myb* 基因抑制肿瘤细胞的增殖。本研究发现,在不同的宫颈病变组织中表达水平有差异,随着子宫颈病变由正常宫颈和 LSIL 逐步向 HSIL 和宫颈癌演变的过程中,miR-29a 的表达水平逐步减低,miR-29a 在正常宫颈和 LSIL 组织中表达水平相对较高,而在宫颈鳞癌及 HSIL 组织中呈低表达,且 miR-29a 在宫颈鳞癌组织中的表达低于 HSIL,随后笔者进一步对正常宫颈细胞系和宫颈癌细胞系检测发现 miR-29a 在宫颈癌细胞系中的表达低于正常宫颈细胞系,因此推测 miR-29a 的表达缺失可能与宫颈癌的发生、发展有关。目前研究已证实,在儿童急性髓细胞白血病中,miR-29a 的表达水平越低,临床分期越晚,预后越差^[13]。在大肠癌中,低水平的 miR-29a 提示癌症的分级高,预后差^[14]。本研究进一步统计分析发现宫颈癌组织中 miR-29a 的表达与患者的临床分期和淋巴结转移相关,低水平的 miR-29a 提示患者较晚的分期及淋巴结转移的可能。

肿瘤患者 90% 死于转移^[15],肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭及转移等恶性生物学行为是肿瘤进展、影响患者生存期的重要原因。本研究细胞学试验证实上调 miR-29a 的表达能抑制肿瘤细胞的增殖活力,增高肿瘤细胞的凋亡率,并且降低肿瘤细胞的迁移和侵袭能力,提示 miR-29a 在宫颈癌中属于抑癌基因,有望成为临床治疗宫颈癌的基因靶点。有关 miR-29a 调控肿瘤细胞恶性生物学行为的具体分子生物学机制尚不明确。目前研究表明,miR-29a 能够抑制 NF-KB 信号通路^[16],直接抑制 DNA 甲基转移酶活

性^[17],诱导肿瘤细胞凋亡。GEBESHUBER 等^[18]在研究中还发现,miR-29a 能够通过抑制锌脂蛋白 36 的表达抑制肿瘤的 EMT 过程。目前,miR29a 在宫颈癌中调控其恶性生物学行为的具体机制还缺乏充分的解释,尚需要在更进一步的研究阐明。

综上所述,miR-29a 在宫颈癌中的表达水平降低,可作为宫颈癌进展的有效分子指标,上调 miR-29a 的表达能够抑制宫颈癌细胞的增殖及侵袭迁移能力,促进细胞的凋亡,为宫颈癌的发病机制及临床诊疗提供新的思路。

参 考 文 献:

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] KOH W J, GREER B E, ABURUSTUM N R, et al. Cervical cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2013, 11(3): 320-343.
- [3] GRUBER A R, MARTIN G, MULLER P, et al. Global 3' UTR shortening has a limited effect on protein abundance in proliferating T cells[J]. Nat Commun, 2014(5): 5465.
- [4] ZHOU P, XU W, PENG X, et al. Large-scale screens of miRNA-mRNA interactions unveiled that the 3'UTR of a gene is targeted by multiple miRNAs[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e68204.
- [5] WU Z, HUANG X, HUANG X, et al. The inhibitory role of miR-29 in growth of breast cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2013, 32(1): 98.
- [6] LU L, XUE X, LAN J, et al. MicroRNA-29a upregulates MMP2 in oral squamous cell carcinoma to promote cancer invasion and anti-apoptosis[J]. Biomed Pharmacother, 2014, 68(1): 13-19.
- [7] ZHAO D, JIANG X, YAO C, et al. Heat shock protein 47 regulated by miR-29a to enhance glioma tumor growth and invasion[J]. J Neurooncol, 2014, 118(1): 39-47.
- [8] LIZ J, ESTELLER M. lncRNAs and microRNAs with a role in cancer development [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1859(1): 169-176.
- [9] WANG W, ZHANG E, LIN C. MicroRNAs in tumor angiogenesis [J]. Life Sci, 2015(136): 28-35.
- [10] LISTON A, PAPADOPOULOU A S, DANSO-ABEAM D, et al. MicroRNA-29 in the adaptive immune system: setting the threshold[J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(21): 3533-3541.
- [11] MUNIYAPPA M K, DOWLING P, HENRY M, et al. MiRNA-29a regulates the expression of numerous proteins and reduces the invasiveness and proliferation of human carcinoma cell lines[J]. Eur J Cancer, 2009, 45(17): 3104-3118.
- [12] XU H, CHEUNG I Y, GUO H F, et al. MicroRNA miR-29 modulates expression of immunoinhibitory molecule B7-H3: potential implications for immune based therapy of human solid tumors[J]. Cancer Res, 2009, 69(15): 6275-6281.
- [13] ZHU C, WANG Y, KUAI W, et al. Prognostic value of miR-29a expression in pediatric acute myeloid leukemia[J]. Clin Biochem, 2013, 46(1/2): 49-53.
- [14] WEISSMANN-BRENNER A, KUSHNIR M, LITHWICK Y G, et al. Tumor microRNA-29a expression and the risk of recurrence in stage II colon cancer[J]. Int J Oncol, 2012, 40(6): 2097-2103.
- [15] GUPTA G P, MASSAGUORN. Cancer metastasis: building a framework[J]. Cell, 2006, 127(4): 679-695.
- [16] ZHOU Q, COSTINEAN S, CROCE C M, et al. MicroRNA 29 targets nuclear factor- κ B recurrence in stage II colon cancer[J]. Int J Oncol the Gastroenterology, 2015, 148(1): 158-169.
- [17] FABBRI M, GARZON R, CIMMINO A, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(40): 15805-15810.
- [18] GEBESHUBER C A, ZATLOUKAL K, MARTINEZ J. miR-29a suppresses tristetraprolin, which is a regulator of epithelial polarity and metastasis[J]. EMBO Rep, 2009, 10(4): 400-405.