

阿霉素耐药 Raji 细胞株的建立与 Prohibitin 及微小 RNA-27a 的表达情况分析

郑荣立 姜玉杰 王欣

【摘要】 目的 建立阿霉素(ADR)耐药 Raji 细胞株(Raji/A),检测线粒体抗增殖蛋白(Prohibitin, PHB)及微小 RNA-27a(miR-27a)在 Raji 细胞及其敏感株(Raji/S)中的表达变化并探讨其临床意义。**方法** 建立 Raji/A 细胞株,采用 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率,采用相差显微镜观察细胞一般形态并计数,采用 RT-PCR 方法检测 Raji/A 及 Raji/S 细胞中 PHB mRNA 与 miR-27a 的表达水平,采用 Western blot 法检测 PHB1 蛋白在 Raji/A 及 Raji/S 细胞线粒体中的表达水平。**结果** 不同浓度 ADR 处理 48 h, Raji/A 及 Raji/S 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为 344.17 及 1.12 μg/ml,耐药倍数为 306.47 倍。Raji/A 与 Raji/S 细胞经 4 μg/ml ADR 处理 24 h,凋亡率分别为(13.48±2.20)%及(69.89±1.94)%,差异有统计学意义($P<0.05$)。PHB1 mRNA 在 Raji/A 细胞中的表达明显高于 Raji/S 细胞,为(7.66±3.27)倍($P<0.05$); PHB2 mRNA 在 Raji/A 细胞中的表达是 Raji/S 的(1.25±0.47)倍,差异无统计学意义($P>0.05$); miR-27a 在 Raji/A 细胞中的表达明显高于 Raji/S 细胞,为(128.40±31.59)倍($P<0.05$)。PHB1 蛋白在 Raji/A 及 Raji/S 细胞线粒体中的相对表达量分别为 9.87±0.22 及 1.96±0.06($P<0.05$)。**结论** 成功构建稳定 Raji/A 细胞模型,PHB1 及 miR-27a 在 Raji/A 细胞中表达升高,其高表达可能参与 Raji 细胞 ADR 耐药机制。

【关键词】 Raji 细胞; 抗药性; 基因,PHB; 微 RNAs

The establishment of Raji drug-resistant cell line and analyses of prohibitin and miR-27a expression Zheng Rongli, Jiang Yujie, Wang Xin. Department of Hematology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan 250021, China
Corresponding author: Wang Xin, Email: xinw@sdu.edu.cn

【Abstract】 Objective To establish Raji adriamycin (ADR)-resistant cell lines and analysis the expression of mitochondria Prohibitin (PHB) and microRNA-27a (miR-27a), as well as discuss its clinical significance. **Methods** Built ADR-resistant Raji cells, detected their resistant index and drug-resistant spectrum and stability, observed their morphology and growth characteristics in general; evaluated the expression of phb mRNA and miR-27a in ADR-resistant cells (Raji/A) and sensitive cells (Raji/S) via real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** The ADR-resistant Raji cell lines were built; expression of PHB1 mRNA in Raji/A was evidently higher than in Raji/S ($P<0.05$), the expressing difference of PHB2 mRNA in Raji/A and Raji/S was statistically meaningless ($P>0.05$), the expression of miR-27a in Raji/A was much higher than in Raji/S ($P<0.05$). **Conclusion** By building the experimental model of Raji ADR-resistant cell lines, high expression level of PHB1 and miR-27a were detected in the cell lines, indicating that PHB1 and miR-27a may be associated with ADR-resistance of Raji cells.

【Key words】 Raji cells; Drug resistance; Gene, PHB; MicroRNAs

目前,CHOP(环磷酰胺+阿霉素+长春新碱+泼尼松)方案化疗是治疗大多数类型非霍奇金淋巴瘤

(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)的一线方案^[1]。然而,NHL 细胞耐药已成为 NHL 治疗失败一个重要原因,其耐药机制复杂,可能涉及多种耐药相关基因及其蛋白表达的改变以及相关信号通路的激活。针对耐药相关基因、蛋白与信号通路生物靶点的研究成为近年来的热点^[2-3]。抗增殖蛋白(Prohibitin, PHB)是一类进化上高度保守的蛋白,广泛存在于各种生物细胞中,其基因家族可定位于线

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.04.015

基金项目:国家自然科学基金(81270598、31340009);山东省自然科学基金(ZR2012HZ003、ZR2011HQ009)

作者单位:250021 济南,山东大学附属省立医院血液科

通信作者:王欣,Email: xinw@sdu.edu.cn

粒体、细胞核及细胞膜,具有多样的生物学功能^[4]。MicroRNA(miRNA)是广泛存在于真核生物中由20~23个核苷酸组成的单链小分子RNA,通过转录后水平调节基因的表达并参与调控细胞增殖、分化、凋亡等生物学功能^[5]。近年来,越来越多研究表明PHB及miRNA与肿瘤细胞对化疗药物的敏感性有关,且亦有研究证实PHB为miR-27a的靶向作用基因^[6-10]。然而,目前还未见PHB与miR-27a在NHL中表达情况的报道。本研究中,我们建立阿霉素(ADR)耐药细胞株(Raji/A),并检测Raji/A及其敏感株(Raji/S)中PHB及miR-27a的表达改变,现报道如下。

材料和方法

1. 主要试剂:胎牛血清及RPMI 1640培养液为美国Hyclone公司产品;ADR为意大利Actavis公司产品;CCK-8试剂盒为日本同仁化学研究所产品;mRNA及miRNA相关RT-PCR试剂盒均为日本TaKaRa公司产品;线粒体PHB提取试剂盒为英国EnoGene公司产品;兔抗人PHB1抗体为美国Cell Signaling公司产品;鼠抗人 β -actin抗体为美国Santa Cruz公司产品;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔、羊抗鼠二抗为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。

2. 细胞来源及培养:人Burkitt淋巴瘤Raji细胞株来源于上海生物化学与细胞生物研究所,用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,在37℃、5%CO₂条件下培养,每2~3d传代1次。

3. CCK-8法测定Raji细胞的增殖抑制率:将Raji细胞按 5×10^4 孔均匀铺在96孔细胞培养板内,分别加入终浓度为0、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 $\mu\text{g/ml}$ 的ADR溶液,37℃培养箱孵育48 h后,每孔加入CCK-8溶液10 μl ,37℃继续孵育4 h。用酶标仪测定450 nm处的吸光度(A)值,根据公式计算细胞增殖抑制率。实验重复3次,每组设5个复孔。

$$\text{细胞增殖抑制率}(\%) = (1 - A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}}) \times 100\%$$

4. Raji/A细胞株的建立:取对数生长期Raji细胞,ADR初始浓度为0.8 $\mu\text{g/ml}$,通过逐步筛选待活细胞超过显微镜视野2/3以上时ADR浓度增加到2.0 $\mu\text{g/ml}$ 继续诱导筛选,再待活细胞超过显微镜视野2/3以上时ADR浓度增加到4 $\mu\text{g/ml}$,通过逐步筛选最终得到稳定生长的Raji/A细胞株。整个过程历时约3个月,Raji/A细胞株建成后培养在含4 $\mu\text{g/ml}$ ADR的RPMI 1640培养液中。

5. Raji/A细胞株耐药倍数、耐药谱、耐药稳定性检测及细胞生物学特性观察:采用CCK-8法测定Raji/A及Raji/S细胞经终浓度分别为0、10、20、40、80、160、320、640 $\mu\text{g/ml}$ 的ADR溶液作用48 h后的增殖抑制情况,并计算半数抑制浓度(IC₅₀)及耐药倍数。同时采用CCK-8法分别测定Raji/A及Raji/S细胞对长春新碱(VCR)、高三尖杉酯碱(HHT)及甲氨蝶呤(MTX)的增殖抑制率,观察其交叉耐药性。另取Raji/A细胞脱药培养1个月后,采用CCK-8法检测细胞增殖抑制率,计算IC₅₀值,观察其药物稳定性。所有操作均按试剂盒说明书进行。

采用相差显微镜观察Raji/A与Raji/S细胞的一般形态并计数,连续计数6 d。Raji/A与Raji/S细胞分别在含4 $\mu\text{g/ml}$ ADR的RPMI 1640培养基中培养24 h,采用流式细胞术检测两者凋亡率。每组设3个复管,实验重复3次。

6. RT-PCR检测PHB1 mRNA、PHB2 mRNA与miR-27a的表达:选取对数生长期的Raji/A及Raji/S细胞离心,分别收集于1.5 ml离心管中。根据试剂盒说明书操作提取细胞总RNA及miRNA。根据mRNA试剂盒说明书进行mRNA逆转录反应:37℃ 15 min,85℃ 5 s;根据miRNA试剂盒说明进行miRNA逆转录及加尾反应:37℃ 60 min,85℃ 5 s。PCR引物序列见表1。PCR体系:mRNA:上下游引物各0.8 μl ,SYBRw Green 10 μl ,cDNA 2 μl ,dH₂O 6.4 μl ,总体积20 μl ;miRNA:miR-27a引物0.8 μl ,Uni-miR qPCR引物0.8 μl ,SYBRw Green 10 μl ,cDNA 2 μl ,dH₂O 6.4 μl ,总体积20 μl 。PCR条件:mRNA:95℃ 5 min,95℃ 15 s、60℃ 1 min(共40个循环),72℃ 15 s;miRNA:95℃ 30 s,95℃ 5 s、60℃ 20 s(共40个循环),65℃ 15 s。实验重复3

表1 RT-PCR引物序列

基因	引物序列(5'→3')
PHB 1	F:ATCTTCACCAGCATCGGAGAG R:CATCAAAGCGAGCCACCA
PHB 2	F:TCAATCGGATCGGTGGAGTG R:AGGTCTGGCCGAATGTCATAG
β -actin	F:TGGCACCCAGCACAATGAA R:CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA
miR-27a	F:UUCACAGUGGCUAAGUCCGC R:Uni-miR qPCR引物(为TaKaRa试剂盒试剂)
U6 SnRNA	F:CTGCTTCGGCAGCACA R:Uni-miR qPCR引物(为TaKaRa试剂盒试剂)

注:F:上游引物,R:下游引物;PHB:抗增殖蛋白

次。每次反应均使用不加模板的反应体系作为空白对照以排除污染可能。所有的PCR产物经15 g/L琼脂糖凝胶电泳证实为目的基因的特异性扩增片段。

7. Western blot法检测PHB1在Raji/A与Raji/S细胞线粒体中的表达:常规方法收集 5×10^7 个细胞于1.5 ml离心管中,以2 000 r/min离心(离心半径为15 cm)5 min,吸尽上清,根据线粒体蛋白提取试剂盒操作说明提取线粒体蛋白并采用BCA法进行蛋白定量。以 β -actin为内参,取50 μ g蛋白上样、电泳(30 V 60 min, 100 V 90 min)、转膜、室温封闭60 min,一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜,二抗室温孵育60 min,洗涤、显影,比较PHB1在Raji/A与Raji/S细胞线粒体中的表达情况。

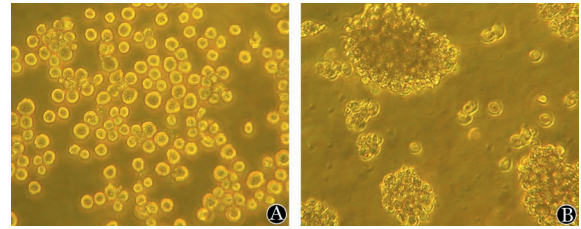
8. 统计学处理:采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,经验证数据符合正态分布,以均数 \pm 标准差表示,各组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Raji/A细胞株的建立及其耐药特征:不同浓度ADR作用48 h, Raji/A细胞的 IC_{50} 为344.17 μ g/ml, Raji/S细胞的 IC_{50} 为1.12 μ g/ml,耐药倍数为306.47倍。Raji/A与Raji/S细胞对VCR作用的 IC_{50} 值分别为1.41和0.41 μ g/ml,耐药倍数为3.44倍;对HHT作用的 IC_{50} 值分别为13.54和4.70 μ g/ml,耐药倍数为2.88倍;对MTX作用的 IC_{50} 值分别为35.64和25.64 μ g/ml,耐药倍数仅为1.39倍;提示Raji/A细胞对VCR和HHT产生交叉耐药性,但耐药倍数较低,对MTX无交叉耐药性。Raji/A细胞脱药培养1个月后 IC_{50} 为336.76 μ g/ml,耐药倍数为300.68倍,提示Raji/A细胞仍保持良好的耐药性。

2. Raji/A细胞株的一般形态:相差显微镜下Raji/A与Raji/S细胞的一般形态如图1所示, Raji/A细胞呈圆形,较Raji/S细胞体积增大,呈半贴壁生长,成簇生长特性不明显。连续6 d细胞计数结果见表2, Raji/A与Raji/S细胞倍增时间分别为51.36与41.68 h, Raji/A细胞的增殖速度较Raji/S细胞缓慢。

3. ADR处理Raji/A细胞株与Raji/S细胞株的凋亡差异:经4 μ g/ml ADR处理24 h, Raji/A与Raji/S细胞的凋亡率分别为 $(13.48 \pm 2.20)\%$ 及 $(69.89 \pm 1.94)\%$, Raji/A细胞凋亡率明显低于Raji/S细胞,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



A:Raji/A细胞;B:Raji/S细胞

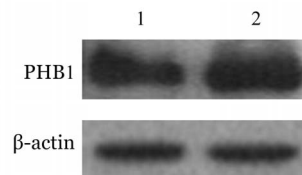
图1 相差显微镜下观察阿霉素耐药Raji细胞株(Raji/A)及其敏感株(Raji/S)的一般形态($\times 100$)

表2 阿霉素耐药Raji细胞株(Raji/A)及其敏感株(Raji/S)连续6 d的细胞计数($\times 10^6$)

组别	细胞计数					
	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	第6天
Raji/A细胞	5	6	8	14	28	35
Raji/S细胞	5	7	15	35	49	55

4. PHB1 mRNA、PHB2 mRNA及miR-27a的表达水平:RT-PCR结果显示,PHB1 mRNA在Raji/A和Raji/S中的相对表达量分别为 16.31 ± 2.58 和 2.13 ± 0.27 , PHB1 mRNA在Raji/A中的表达明显升高,为Raji/S的 (7.66 ± 3.27) 倍,差异有统计学意义($P < 0.05$);PHB2 mRNA在Raji/A和Raji/S中的相对表达量分别为 17.25 ± 1.97 和 13.78 ± 1.07 ,为 (1.25 ± 0.47) 倍,差异无统计学意义($P > 0.05$);miR-27a在Raji/A和Raji/S中的相对表达量分别为 $(2.66 \pm 0.48)\%$ 和 $(2.07 \pm 0.38)\%$, miR-27a在Raji/A的表达明显升高,是Raji/S的 (128.40 ± 31.59) 倍,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

5. PHB1在Raji/A与Raji/S细胞线粒体中的表达:如图2所示,PHB1在Raji/A细胞线粒体中的相对表达量为 9.87 ± 0.22 ,明显高于Raji/S细胞线粒体中的 1.96 ± 0.06 ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



1:Raji/S细胞;2:Raji/A细胞

图2 Western blot方法检测抗增殖蛋白1(PHB1)在阿霉素耐药Raji细胞株(Raji/A)及其敏感株(Raji/S)线粒体中的表达

讨 论

NHL是起源于淋巴造血组织的恶性肿瘤,虽然目前NHL的诊治有了很大进展,但仍有相当一部分

患者对治疗药物产生耐药性,导致NHL治疗失败。ADR是一种经典的蒽环类抗生素,通过抑制RNA和DNA的合成发挥抗肿瘤效应,但与之相关的心脏毒性和化学耐药性限制了其在NHL中的治疗效果^[11]。Burkitt淋巴瘤是一种高度侵袭性的NHL,目前临床治疗效果仍不理想,其体外建立的Burkitt淋巴瘤细胞系——Raji,一直以来被广泛应用于人B细胞淋巴瘤的研究中。我们通过建立ADR耐药的Raji细胞株,检测Raji/A及Raji/S细胞中PHB mRNA及miR-27a的表达改变,为发现与NHL耐药相关的新的靶标基因,并进一步了解PHB与miR-27a在NHL的调控关系提供依据。

人类PHB1和PHB2聚合形成高分子量环状复合物,主要定位于线粒体内膜,在维持线粒体呼吸链酶复合体及其形态和功能稳定性中发挥重要作用^[12]。小分子干扰RNA PHB导致线粒体膜功能破坏,增强地蒽酚介导的细胞凋亡,提示PHB通过调控线粒体膜功能在细胞抗凋亡中起保护性作用^[13]。在紫杉醇耐药的人急性T淋巴细胞白血病细胞中,线粒体PHB一方面可以调节呼吸链蛋白的组合,稳定电子传递链;另一方面可以保护线粒体蛋白免受基质辅助的m-AAA蛋白酶复合物的降解,保护线粒体的完整性,抑制紫杉醇诱导的细胞凋亡的发生,从而在耐药机制中发挥重要作用^[6]。针对PHB合成的shRNA能有效抑制卵巢癌耐药细胞株中PHB基因表达,沉默PHB基因后其耐药细胞株对紫杉醇敏感性增加,细胞增殖能力下降,凋亡率增加,提示干扰PHB基因的表达可降低卵巢癌细胞株的紫杉醇耐药性^[7]。在前列腺癌细胞中,敲除PHB后可降低17- β -雌二醇(E2)诱导的紫杉醇抵抗,增强肿瘤细胞的药物敏感性^[8]。此外,研究证实,人淋巴瘤细胞中PHB表达水平增高可以阻断由拓扑异构酶I抑制剂喜树碱诱导的细胞凋亡。喜树碱通过使RB失活而活化E2F1,活化后能够导致细胞凋亡,而高浓度的PHB可以阻断这种凋亡,从而保护肿瘤细胞免受喜树碱诱导的凋亡^[14]。我们的前期研究证实,ADR处理Raji细胞后线粒体PHB表达上调,应用P13K/AKT通路抑制剂可以下调PHB的表达,并增加Raji细胞对ADR的化疗敏感性^[15]。本研究中我们发现线粒体PHB1 mRNA在Raji/A细胞中的表达明显高于在Raji/S细胞中的表达,提示线粒体PHB1在NHL耐药机制中发挥重要作用。我们推测,线粒体PHB1在NHL耐药细胞中高表达,可能通过增强线粒体膜功能并维持线粒体的完整性,在

ADR诱导的细胞抗凋亡过程中起保护性作用,从而导致肿瘤细胞耐药性的产生。我们的研究揭示了与NHL耐药机制密切相关的一个分子靶标,研究针对线粒体PHB1的靶向药物将有望改善NHL细胞的多药耐药性,对于提高NHL的临床治疗效果具有重要意义。

已知细胞核定位的PHB可参与细胞周期调控,通过调控转录因子E2F1及TP53的转录活性抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,发挥抑癌基因的作用^[16-18]。在胃癌及前列腺癌的研究中证实,miR-27a可靶向下调PHB的表达,从而作为原癌基因发挥促增殖作用^[9-10]。最近,大量研究表明miR-27a还参与肿瘤细胞的多药耐药机制,其高表达与多种肿瘤细胞多药耐药的发生密切相关,如紫杉醇耐药的卵巢癌、复发的急性白血病、胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌等^[19-24]。我们的研究发现,miR-27a在Raji/A细胞中的表达明显高于在Raji/S细胞中的表达,提示miR-27a与NHL多药耐药的发生密切相关。然而,在我们的NHL耐药细胞中,线粒体PHB1 mRNA的表达水平明显增高,提示miR-27a并不靶向调控线粒体PHB1。我们猜想,miR-27a在NHL耐药细胞中高表达,可能通过靶向下调细胞核定位的PHB,促进肿瘤细胞增殖,从而导致耐药性的产生。miR-27a不能调控线粒体PHB1,可能与miRNA通过抑制或降解细胞核转录后的靶mRNA从而调节基因表达的作用机制有关。总之,miRNA与NHL耐药性关系的研究为NHL的治疗提供了新的思路,我们的研究揭示了与NHL耐药机制密切相关的另一个分子靶标,通过合成抗miR-27a寡核苷酸,抑制miRNA-27a的表达,并与抗肿瘤药物联合应用,提示了一条有效改善NHL细胞耐药性、更好治疗NHL的新途径。

我们通过建立ADR耐药的B细胞淋巴瘤细胞系,发现线粒体PHB1与miR-27a在耐药细胞中表达水平明显升高,从线粒体蛋白及miRNA的角度揭示了与NHL多药耐药性密切相关的新的分子靶标。结论的提出为进一步认识NHL耐药机制并探索有效的多药耐药逆转剂,最终战胜NHL临床耐药性难题提供了有力支持。然而,我们的结论仍需要进一步的临床试验验证,通过深入研究PHB1及miR-27a在NHL耐药机制中的作用通路,并设计与之相关的小分子化合物干扰其表达,改变其在重要通路中的调控作用,最终改善肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,从而提高肿瘤的治疗效果。

参考文献

- [1] Sonneveld P, de Ridder M, van der Lelie H, et al. Comparison of doxorubicin and mitoxantrone in the treatment of elderly patients with advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma using CHOP versus CNOP chemotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 1995, 13(10):2530-2539.
- [2] Maxwell SA, Mousavi-Fard S. Non-Hodgkin's B-cell lymphoma: advances in molecular strategies targeting drug resistance [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2013, 238(9):971-990.
- [3] 张希远, 王欣. 信号转导通路在非霍奇金淋巴瘤中的作用研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(2):532-536.
- [4] Zhou TB, Qin YH. Signaling pathways of prohibitin and its role in diseases [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2013, 33(1):28-36.
- [5] Tétreault N, De Guire V. miRNAs: Their discovery, biogenesis and mechanism of action [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(10-11):842-845.
- [6] 朱金武, 钱之玉, 关勇彪. 线粒体 Prohibitin 蛋白在紫杉醇耐药的 CCRF-CEM 细胞中表达的变化 [J]. *中国新药杂志*, 2007, 16(1):40-44.
- [7] 唐娟, 曹兰琴, 易红, 等. Prohibitin 蛋白与卵巢癌紫杉醇耐药相关性的初步研究 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2012, 37(12):1221-1227.
- [8] Dong P, Jiang L, Liu J, et al. Induction of paclitaxel resistance by ER α mediated prohibitin mitochondrial-nuclear shuttling [J]. *Plos One*, 2013, 8(12): e83519.
- [9] Liu T, Tang H, Lang Y, et al. MicroRNA-27a functions as an oncogene in gastric adenocarcinoma by targeting prohibitin [J]. *Cancer Lett*, 2009, 273(2):233-242.
- [10] Fletcher CE, Dart DA, Sita-Lumsden A, et al. Androgen-regulated processing of the oncomir miR-27a, which targets Prohibitin in prostate cancer [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(14):3112-3127.
- [11] Multani P, White CA, Grillo-López A. Non-Hodgkin's lymphoma: review of conventional treatments [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2001, 2(4):279-291.
- [12] Artal-Sanz M, Tavernarakis N. Prohibitin and mitochondrial biology [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20(8):394-401.
- [13] Kim SY, Kim Y, Hwang HY, et al. Altered expression of prohibitin in psoriatic lesions and its cellular implication [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(3):653-658.
- [14] Fusaro G, Wang S, Chellappan S. Differential regulation of Rb family proteins and prohibitin during camptothecin-induced apoptosis [J]. *Oncogene*, 2002, 21(29):4539-4548.
- [15] Jiang YJ, Sun Q, Fang XS, et al. Comparative mitochondrial proteomic analysis of Rji cells exposed to adriamycin [J]. *Mol Med*, 2009, 15(5-6):173-182.
- [16] Theiss AL, Sitaraman SV. The role and therapeutic potential of prohibitin in disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(6):1137-1143.
- [17] Mishra S, Murphy LC, Nyomba BL, et al. Prohibitin: a potential target for new therapeutics [J]. *Trends Mol Med*, 2005, 11(4):192-197.
- [18] Fusaro G, Dasgupta P, Rastogi S, et al. Prohibitin induces the transcriptional activity of p53 and is exported from the nucleus upon apoptotic signaling [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(48):47853-47861.
- [19] 李智敏, 胡沙, 肖兰, 等. 微小RNA27a 在卵巢上皮性癌紫杉醇耐药细胞中的表达及其与耐药的关系 [J]. *中华妇产科杂志*, 2010, 45(5):372-375.
- [20] Feng DD, Zhang H, Zhang P, et al. Down-regulated miR-331-5p and miR-27a are associated with chemotherapy resistance and relapse in leukaemia [J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(10):2164-2175.
- [21] Zhao X, Yang L, Hu J. Down-regulation of miR-27a might inhibit proliferation and drug resistance of gastric cancer cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30:55.
- [22] Zhang H, Li M, Han Y, et al. Down-regulation of miR-27a might reverse multidrug resistance of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(9):2545-2551.
- [23] Chen Z, Ma T, Huang C, et al. MiR-27a modulates the MDR1/P-glycoprotein expression by inhibiting FZD7/ β -catenin pathway in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(12):2693-2701.
- [24] Noratto GD, Jutooru I, Safe S, et al. The drug resistance suppression induced by curcuminoids in colon cancer SW-480 cells is mediated by reactive oxygen species-induced disruption of the microRNA-27a-ZBTB10-Sp axis [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(9):1638-1648.

(收稿日期:2014-09-07)

(本文编辑:刘爽)