

· 基础研究 ·

桂皮醛对人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435S 侵袭能力的抑制作用及与 miR-27a 表达的关系探讨

王瑞平¹ 王 歌² 孙庆敏¹ 吴 坚¹ 邹 玺¹

摘要 目的 探讨桂皮醛对人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435S 侵袭能力的抑制作用及与其调节 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 表达的相关性。方法 聚碳酸酯膜细胞培养小室(transwell 小室)法检测桂皮醛对 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响;脂质体 2000 转染 miR-27a 模拟物/抑制物联合实时定量聚合酶链式反应(real time-polymerase chain reaction, Real-time PCR)及 transwell 小室模型法探讨 miR-27a 表达在 MDA-MB-435S 细胞侵袭中的作用和桂皮醛对 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 表达的干预及其与影响细胞侵袭能力的关系。结果 桂皮醛作用 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后,穿过 transwell 小室的细胞数量均较对照组明显减少($P < 0.05$);miR-27a 模拟物与 miR-27a 抑制物转染后 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 的表达量分别是对照组的 962.07 倍和 40%,经 miR-27a 抑制物转染后 MDA-MB-435S 细胞穿过 transwell 小室的细胞数量显著下降($P < 0.05$);桂皮醛作用 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后可下调其 miR-27a 的表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分别为 0.56、0.18 和 0.18);先经 miR-27a 模拟物转染预处理后经桂皮醛作用的 MDA-MB-435S 细胞穿过小室的数量均较未预处理的对照组明显增多($P < 0.05$)。结论 桂皮醛对人乳腺癌 MDA-MB-435S 细胞株的侵袭能力具有抑制作用;miR-27a 的过表达在 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力中发挥重要作用;桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力与下调其 miR-27a 的表达有关。

关键词 桂皮醛;MDA-MB-435S 细胞;miR-27a;侵袭

Inhibitory Effect of Cinnamaldehyde on Invasion Capacities of Human Breast Cancer Cell Line MDA-MB-435S and Its Relation with Regulating the Expression of MiR-27a WANG Rui-ping¹, WANG Ge², SUN Qing-min¹, WU Jian¹, and ZOU Xi¹ 1 Department of Oncology, Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210029), China; 2 First Clinical Medical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210046), China

ABSTRACT Objective To explore the inhibitory effect of cinnamaldehyde on invasion capacities of human breast cancer cell line MDA-MB-435S and its relation with regulating the expression of miR-27a. Methods The effect of cinnamaldehyde on invasive capacities of MDA-MB-435S was measured by Transwell matrigel invasion assay. The effect of miR-27a expression on invasive capabilities of MDA-MB-435S, the intervention of cinnamaldehyde in the miR-27a expression, and its relation with its effect on invasive capabilities were detected with liposome 2000 transinfection miRNA27a mimics/inhibitors, real time-polymerase chain reaction (Real-time PCR), and Transwell chamber model. Results Compared with the control group, the number of cells passing through the transwell chamber was more significantly reduced after treated by cinnamaldehyde for 12 h ($P < 0.05$). The miR-27a expression was 962.07 times and 40% of that of the control group after transinfected by miR-27a mimics and miR-27a inhibitors. After transinfected by miR-27a inhibitors, the number of cells passing through the transwell chamber was more significantly reduced ($P < 0.05$). The miR-27a expression of MDA-MB-435S was down-regulated by 12-h

基金项目:江苏省中医药领军人才项目(N0.LJ 200908);江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者单位:1.江苏省中医院肿瘤科(南京 210029);2.南京中医药大学第一临床医学院(南京 210046)

通讯作者:邹 玺, Tel:13601403528, E-mail:zxvery@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.08.0964

treatment of cinnamaldehyde ($2^{-\Delta\Delta Ct} = 0.56, 0.18, 0.18$, respectively). The number of miR-27a mimics transfection pretreated MDA-MB-435S cells passing through the transwell chamber increased more obviously than the number of un-pretreated MDA-MB-435S cells in the control group ($P < 0.05$). Conclusions Cinnamaldehyde could inhibit invasive capabilities of human breast cancer cell line MDA-MB-435S. The over-expression of miR-27a played an important role in the invasive capability of MDA-MB-435S. The inhibition of cinnamaldehyde on invasive capabilities of MDA-MB-435S cells was correlated with down-regulating the expression of miR-27a.

KEYWORDS cinnamaldehyde; MDA-MB-435S cell; miR-27a; invasion

乳腺癌高居全球女性恶性肿瘤发病率的第 1 位,其发病率和病死率在我国呈快速上升趋势^[1],乳腺癌的转移依旧是治疗的难点和患者的主要死因。传统的化疗、内分泌治疗及逐渐兴盛的分子靶向治疗已在复发转移性乳腺癌的治疗中起到了非常重要作用^[2]。但占乳腺癌 1/3 的雌激素受体 (ER) 阴性患者乳腺癌耐药性显著,预后差,治疗颇为棘手^[3]。近年来,中医药在抗乳腺癌转移方面的有效性和安全性愈加受到重视,因此,本实验以 ER 阴性的高转移性人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435S 为研究对象,探讨桂皮醛对其侵袭能力的影响。

微小 RNA (microRNA 或 miRNA) 是真核生物中一类长度约为 22 个核苷酸的参与基因转录后调控的非编码小分子 RNA。研究发现,多种 miRNA 分子通过沉默癌细胞生长相关基因的表达,参与了癌细胞重要的细胞生物程序的调控,间接起着“促癌和抑癌基因”的作用^[4]。miR-27a 是近年来发现的一个与多种肿瘤侵袭转移密切相关的发挥癌基因功能的 miRNA,但其是否在 MDA-MB-435S 细胞的侵袭转移中亦起重要作用未见相关报道,本研究旨在探讨桂皮醛影响 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力是否与调节 miR-27a 表达有关。

材料与方法

1 细胞 人乳腺导管癌细胞株 MDA-MB-435S 购自中国科学院上海细胞研究所细胞库。

2 药物 桂皮醛, 0.5 mL/瓶, 桂皮醛纯度 > 98.6%, 分子式: C_9H_8O , 分子量: 132.16。最后加入培养体系中的终浓度为: 80、40、20 $\mu\text{g/mL}$, 中国药品生物制品检定所提供。

3 试剂及仪器 Leibovitz's L-15 培养基 (500 mL/瓶, GIBCO 公司); 胎牛血清 (100 mL/瓶, 杭州四季青生物公司); 结晶紫 (crystal violet, 25 g/瓶, 上海凌峰化学试剂有限公司); miRNA-27a 模拟物、抑制物及对照物 (上海吉玛生物有限公司); Trizol RNA 提

取试剂、脂质体 2000 (Invitrogen 公司产品); Taq-Man Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems 公司); Taq-Man[®] MicroRNA assays 探针、MicroRNA 逆转录试剂盒 (Taq-Man[®] MicroRNA Reverse Transcription Kit, Ambion 公司); DEPC (Biosharp 公司); 氯仿 (Sigma 公司); 异丙醇 (南京宁试化学试剂有限公司); 人工重构基底膜材料 Matrigel 胶、transwell 小室 (MILLIPORE 公司); CO_2 培养箱 (FORMA 公司); 倒置显微镜 (Olympus 公司); 各种规格微量加样器 (EPPENDORF 公司)。

4 方法

4.1 细胞培养 MDA-MB-435S 细胞采用含 10% 胎牛血清、0.01 mg/mL 胰岛素的 L-15 培养液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、100% 空气培养箱中, 每 2 ~ 3 天传代 1 次。实验时取对数生长期细胞。

4.2 miRNA-27a 模拟物/抑制物/对照物的脂质体 2000 转染 共设 4 个组, 分别为 miR-27a 模拟物组 (简称 I 组)、miR-27a 模拟物对照组 (简称 II 组)、miR-27a 抑制组 (简称 III 组)、miR-27a 抑制对照组 (简称 IV 组)。转染前 1 天, 取对数生长期的 MDA-MB-435S 细胞, 0.25% 胰酶加 0.02% EDTA 混合液消化, 将其接种到 6 孔板内, 换用不含抗生素的 L-15 培养基中, 使次日转染时细胞融合度达 70% 左右。转染当日将细胞上清液弃去, 用 PBS 溶液轻轻地冲洗细胞 1 次。稀释 miR-27a 模拟物/抑制物/对照物: 5 μL (储备液 20 $\mu\text{mol/L}$) 加 100 μL 无血清 L-15, 轻轻混匀, 室温孵育 5 min; 稀释脂质体 2000: 脂质体 2000 5 μL 加 100 μL 无血清 L-15 培养液, 轻轻混匀, 并室温孵育 5 min, 将上述两种液体 (各 105 μL) 轻轻混匀, 室温孵育 20 min, 将混合液 (210 μL) 加入板内, 并补充无血清 L-15 790 μL , 使 miR-27a 模拟物/抑制物/对照物的终浓度为 100 nmol/L, 4 ~ 6 h 后吸去培养液, 换为含 10% 胎牛血清的 L-15 培养基继续培养 20 h。

4.3 实时定量聚合酶链式反应 (real time-polymerase chain reaction, Real-time PCR) 方法检

测 MDA-MB-435S 细胞 miRNA-27a 表达情况 应用 Trizol RNA 提取试剂提取细胞的总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 纯度,按 MicroRNA 逆转录试剂盒说明将总 RNA 逆转录成 cDNA,取 1.33 μL 逆转录产物进行 PCR 扩增。扩增条件为:预变性:50 ℃ 2 min,95 ℃ 10 min,循环 1 次;循环中的变性:95 ℃ 15 s;延伸:60 ℃ 60 s,循环 40 次。采用 2^{-ΔΔCt}方法对 PCR 结果进行数据分析,计算 ΔCt(域循环数) = Ct(miR-27a) - Ct(U6);ΔΔCt = ΔCt(实验组) - ΔCt(对照组);差别倍数 = 2^{-ΔΔCt},其中对照组的数值均为 1。

探针序列:hsa-miR-27a: 5'-AGGGCTTAGCT-GCTTGTGAG-3',即 20bp;U6 :5'-ATACAGAGAA GATTAGCATGGCCCCTGCGCAAGGATGACACGC AAATTCGTGAAGCGTTCATATTTT-3',即 68 bp。

4.4 Transwell 小室模拟法检测细胞侵袭 含 1%胎牛血清的 L-15 培养液饥饿 MDA-MB-435S 细胞 12 h,取上清离心并滤膜过滤,作为条件培养液 4 ℃备用。含 1%胎牛血清的 L-15 培养液稀释桂皮醛为 3 种终浓度:80、40、20 μg/mL,给饥饿的细胞换液,对照组换为无桂皮醛的含 1%胎牛血清的 L-15 培养液继续培养 12 h。向每个小室上室滤膜上加入 50 μL 浓度为 100 μg/mL 的 Matrigel 胶,轻轻震荡铺平,超净台风干备用。接种细胞实验前,每个小室加入 50 μL 含 1%胎牛血清的 L-15 培养液,37 ℃,30 min 来水化基底膜。消化预处理后的细胞,用含 1%胎牛血清的 L-15 培养液重悬调整浓度至 1 × 10⁶ 个/mL,取 200 μL 接种于上室(即每个小室接种 2 × 10⁵ 个细胞),将小室置入 24 孔板中,下室分别加入条件培养液 300 μL 及完全培养液 300 μL,每个药物浓度组设 3 个小室,继续培养 24 h。取出小室,弃上室余液,PBS 溶液清洗上室,用棉签擦去上室未侵袭细胞及 Matrigel 胶,95%酒精固定,取下微孔滤膜,将附着于滤膜背面的细胞用 0.1%结晶紫染色。在光学显微镜(×400 倍)下计数细胞并拍照,每个小室随机计数 2 个视野的穿膜细胞,即每组 6 个视野,取平均数。细胞侵袭抑制率(%) = (1 - 实验组侵袭细胞数)/对照组侵袭细胞数 × 100%。

4.5 统计学方法 统计分析采用 SPSS 16.0 软件包进行数据处理,侵袭细胞数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

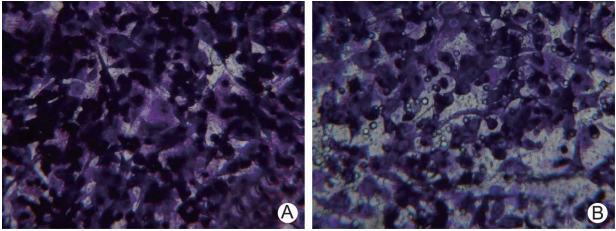
1 miR-27a 模拟物/抑制物转染后 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 表达比较(表 1) miR-27a 模拟物转染后 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 的表达量是对照物的 962.07 倍(2^{-ΔΔCt} = 962.07 ± 136.87);miR-27a 抑制物转染后 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 的表达量是对照物的 40%(2^{-ΔΔCt} = 0.40 ± 0.05)。

2 miR-27a 抑制物转染对 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响(表 2,图 1) 经 miR-27a 抑制物转染后 MDA-MB-435S 细胞穿过 transwell 小室的细胞数量较对照组明显减少(*P* < 0.05),且细胞形态有所改变。

表 2 miR-27a 抑制物转染对 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	每视野细胞数(个)
Ⅳ	6	286.50 ± 2.89
Ⅲ	6	163.78 ± 4.51 *

注:与Ⅳ组比较,**P* < 0.05



注:A 为Ⅳ组;B 为Ⅲ组

图 1 miR-27a 抑制组及抑制对照组穿过小室的 MDA-MB-435S 细胞图 (结晶紫染色,×400)

3 不同浓度桂皮醛对 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响(表 3,图 2) 20、40、80 μg/mL 浓度的桂皮醛预处理 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后,穿过 transwell 小室的细胞数量均较对照组明显减少(*P* < 0.05),抑制率呈现一定的浓度依赖性。40、80 μg/mL 浓度组穿过 transwell 小室的细胞形态发生改变,由正常的梭形变为多角形或不规则形,体积变小。

表 1 miR-27a 模拟物/抑制物转染后 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Ct(miR-27a)	Ct(U6)	ΔCt	ΔΔCt	2 ^{-ΔΔCt}
I	6	17.32 ± 0.43	17.26 ± 0.33	0.06 ± 0.09	-9.70 ± 0.24	962.07 ± 136.87
II	6	22.57 ± 0.65	12.81 ± 0.40	9.76 ± 0.29	0	1
III	6	25.33 ± 0.10	13.19 ± 0.13	12.13 ± 0.17	1.35 ± 0.19	0.40 ± 0.05
IV	6	23.34 ± 0.18	12.55 ± 0.16	10.79 ± 0.02	0	1

表 3 不同浓度桂皮醛对 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	每视野细胞数(个)	侵袭抑制率(%)
A	6	44.83 ± 4.51 *	84.49 ± 0.54
B	6	142.22 ± 10.09 *	50.74 ± 1.14
C	6	169.56 ± 15.15 *	41.33 ± 1.33
D	6	288.72 ± 19.50	—

注:注:A 为桂皮醛 80 $\mu\text{g/mL}$ 组;B 为桂皮醛 40 $\mu\text{g/mL}$ 组;C 为桂皮醛 20 $\mu\text{g/mL}$ 组;D 为空白对照组;与 D 组比较, * $P < 0.05$;图 2, 表 5 同

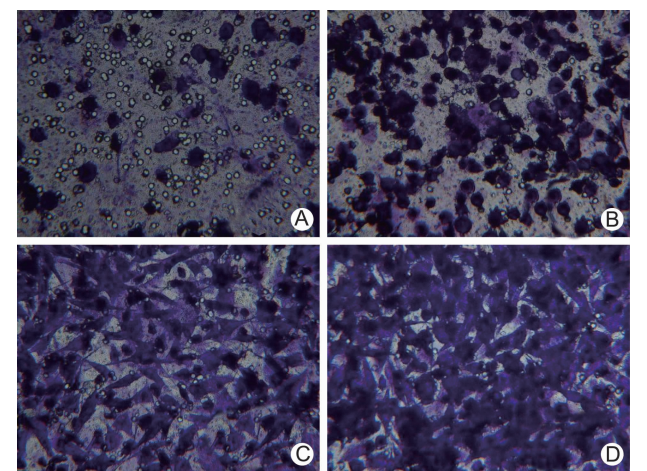


图 2 不同浓度桂皮醛作用后穿过小室的 MDA-MB-435S 细胞图 (结晶紫染色, $\times 400$)

4 miR-27a 模拟物转染的预处理对不同浓度桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响(表 4,图 3) miR-27a 模拟物转染预处理使经 20、40、

表 4 miR-27a 模拟物转染预处理对不同浓度桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	每视野细胞数(个)
A	6	210.83 ± 11.24 *
B	6	167.83 ± 7.37
C	6	162.89 ± 8.97 *
D	6	143.94 ± 5.84
E	6	74.83 ± 4.80 *
F	6	44.17 ± 4.97

注: A 为 miR-27a 模拟物加桂皮醛 20 $\mu\text{g/mL}$ 组;B 为 miR-27a 模拟物对照加桂皮醛 20 $\mu\text{g/mL}$ 组;C 为 miR-27a 模拟物加桂皮醛 40 $\mu\text{g/mL}$ 组;D 为 miR-27a 模拟物对照加桂皮醛 40 $\mu\text{g/mL}$ 组;E 为 miR-27a 模拟物加桂皮醛 80 $\mu\text{g/mL}$ 组;F 为 miR-27a 模拟物对照加桂皮醛 80 $\mu\text{g/mL}$ 组;与同浓度对照组比较, * $P < 0.05$;图 3 同

表 5 不同浓度桂皮醛作用 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后 miR-27a 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ct(miR-27a)	Ct(U6)	ΔCt	$\Delta\Delta\text{Ct}$	$2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$
A	6	24.81 ± 0.13	11.88 ± 0.17	12.94 ± 0.06	2.47 ± 0.08	0.18 ± 0.01
B	6	24.86 ± 0.11	11.88 ± 0.15	12.98 ± 0.05	2.51 ± 0.08	0.18 ± 0.01
C	6	24.26 ± 0.13	12.97 ± 0.21	11.30 ± 0.08	0.83 ± 0.11	0.56 ± 0.04
D	6	24.18 ± 0.17	13.71 ± 0.14	10.47 ± 0.03	0	1

80 $\mu\text{g/mL}$ 桂皮醛作用 12 h 的 MDA-MB-435S 细胞穿过 transwell 小室的数量显著增多($P < 0.05$)。

5 不同浓度桂皮醛作用 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后 miR-27a 表达情况比较(表 5) 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 桂皮醛作用 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后均较空白对照组下调其 miR-27a 的表达量($2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 分别为 0.56 ± 0.04 、 0.18 ± 0.01 和 0.18 ± 0.01)。

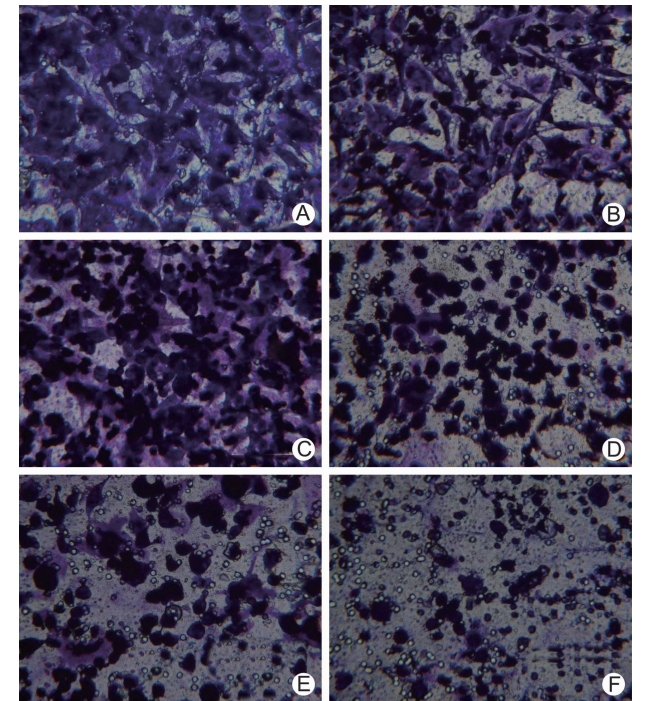


图 3 miR-27a 模拟物转染预处理对不同浓度桂皮醛作用后穿过小室的 MDA-MB-435S 细胞图 (结晶紫染色, $\times 400$)

讨 论

桂皮醛又名肉桂醛,是传统温阳类中药肉桂(*Cinnamomum cassia* presL.)挥发油中的主要成分,其化学名称为 3-苯基-2-丙烯醛。国内外已有大量的研究证实,桂皮醛通过多种机制发挥防癌、抗癌功能,包括:防癌抗突变^[5]、抑制增殖^[6]、诱导凋亡^[7]、抗肿瘤耐药^[8]以及增强免疫以抗癌^[9]等。但关于桂皮醛影响肿瘤细胞侵袭转移的研究相对薄弱, Koppikar J 等^[10]已发现肉桂的水提物(含有桂皮醛和多酚类化合

物)可通过下调基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)的表达来抑制宫颈癌 SiHa 细胞的迁移。笔者在前期实验中已发现桂皮醛对 MDA-MB-435S 细胞有显著的抑制增殖、黏附和迁移能力,本研究采用 transwell 法发现 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的桂皮醛作用 MDA-MB-435S 细胞 12 h 后均可显著抑制其侵袭能力,抑制率呈现出浓度梯度,且 40、80 $\mu\text{g/mL}$ 浓度组的细胞形态发生了改变,可能与细胞侵袭能力的下降有关。

miRNA 模拟物是针对 miRNA 成熟体设计并合成的小片段双链 miRNA,作用与 miRNA 的成熟体相同,可以上调细胞内相应 miRNA 的含量,增强内源性 miRNA 的功能,即增强内源 miRNA 的沉默作用,降低细胞内蛋白表达量,可用于功能获得性研究;相反,化学合成的 miRNA 抑制物是单链 RNA 分子,转染至细胞后特异性抑制 miRNA 功能,可以结合到成熟的 miRNA 上、干扰 miRNA 的生成、阻止 miRNA 加工、或者阻止其从核内转运到胞浆发挥作用,进而削弱内源 miRNA 的基因沉默效应,提高蛋白表达量,可用于功能缺失性(loss-of-function)研究。miRNA 模拟物/抑制物可以用来筛选 miRNA 靶位点,筛选调控某一基因表达的 miRNA,筛选影响细胞发育过程的 miRNA。

既往研究提示,miR-27a 的表达增高可促进结肠癌的血管生成^[11],并通过上调黏附分子 CD44 的表达来提高肾癌细胞的侵袭能力^[12],且可增加神经胶质瘤 U87 细胞的增殖和侵袭活性^[13]。在乳腺癌方面,Tang W 等^[14]对 102 例乳腺癌患者的临床研究发现,miR-27a 的高表达与患者的总生存期下降密切相关,是预后欠佳的一个指标。miR-27a 可通过抑制锌指 ZBTB10 的表达来上调特异性蛋白(specificity proteins, SP)转录因子的表达,进而促进乳腺癌细胞的存活和血管生成^[15]。除此之外,对于雌激素受体阳性的乳腺癌细胞(如 MCF-7 细胞),miR-27a 通过抑制锌指 ZBTB10 的表达来上调雌激素受体 α 的表达,进而促使细胞从 G0/G1 期向 S 期的进展^[16];对于雌激素受体阴性的乳腺癌细胞(如 MDA-MB-231 细胞),miR-27a 抑制锌指 ZBTB10 的表达后既可促使细胞从 G0/G1 期向 S 期进展,也可下调癌基因 Myt-1 来促使细胞从 G2 期向 M 期进展^[15]。另外,miR-27a、miR-96 及 miR-182 可共同抑制具有抑癌功效的 FOXO1 转录因子来增加乳腺癌细胞的恶性行为^[17]。由此,我们对 miR-27a 是否与 MDA-MB-435S 细胞的高侵袭能力有关产生了浓厚兴趣,本实验采用 miR-

27a 模拟物/抑制物的脂质体 2000 转染方法转染 MDA-MB-435S 细胞,通过 real-time PCR 证实其 miR-27a 的表达增高和降低,提示转染达到目的,继而采用 transwell 法检测发现转染了 miR-27a 抑制物的 MDA-MB-435S 细胞较未转染者的侵袭能力显著下降($P < 0.05$),提示 miR-27a 的低表达与 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力降低密切相关,即同其他恶性肿瘤类似,miR-27a 亦可发挥促进 MDA-MB-435S 细胞侵袭的癌基因的功效。在此基础上,该研究进一步发现,20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的桂皮醛可下调 MDA-MB-435S 细胞 miR-27a 的表达,此时我们可初步得出结论:桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力与下调其 miR-27a 的表达相关。为进一步证实此结论,我们研究发现,miR-27a 模拟物转染预处理联合桂皮醛组细胞的侵袭能力显著高于对照物预处理联合桂皮醛组,即预先使 miR-27a 过高表达可部分逆转桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞侵袭能力的作用。

综上所述,桂皮醛对人乳腺癌 MDA-MB-435S 细胞株的侵袭能力具有抑制作用;miR-27a 的过表达在 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力中发挥重要作用;桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力与下调其 miR-27a 的表达有关。但桂皮醛是否因此对 miR-27a 的诸多靶基因起间接调控作用,以及桂皮醛抑制 MDA-MB-435S 细胞的侵袭能力的其他分子和信号转导机制值得进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Ziegler RG, Anderson WF, Gail MH. Increasing breast cancer incidence in China: the number add up[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(19): 1339-1341.
- [2] 黄红艳,江泽飞.复发转移性乳腺癌分子靶向药物治疗进展[J]. 中华乳腺病杂志, 2010, 4(2): 149-154.
- [3] 孟超. 雌激素受体阴性乳腺癌的耐药机制和治疗的研究进展[J]. 东南大学学报(医学版), 2012, 31(4): 523-525.
- [4] 曾益新主编. 肿瘤学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 108.
- [5] Imai T, Yasuhara K, Tamura T, et al. Inhibitory effects of cinnamaldehyde on 4-(methyl nitro-samino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung carcinogenesis in rasH2 mice[J]. Cancer Lett, 2002, 175(1): 9-16.
- [6] Ng LT, Wu SJ. Anti-proliferative activity of Cinna-

- momum cassia* constituents and effects of Pifithrin alpha on their apoptotic signaling pathways in HepG₂ cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 220(5): 1093–1098.
- [7] Ka H, Park HJ, Jung HJ, et al. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL60 cells[J]. Cancer Lett, 2003, 196(2): 143–152.
- [8] Iersel ML, Ploemen JP, Struik I, et al. Inhibition of glutathione S-transferase by α , β -unsaturated carbonyl derivatives. Effects of acrolein, cinnamaldehyde, citral, crotonaldehyde, curcumin, ethacrynic acid, and trans-2-hexenal[J]. Chem Biol Interact, 1996, 102(2): 117–132.
- [9] 黄敬群, 罗晓星, 王四旺, 等. 桂皮醛抗肿瘤活性及对 S180 荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(11): 107–110.
- [10] Koppikar SJ, Choudhari AS, Suryavanshi SA, et al. Aqueous cinnamon extract (ACE-c) from the bark of *Cinnamomum cassia* causes apoptosis in human cervical cancer cell line (SiHa) through loss of mitochondrial membrane potential [J]. BMC Cancer, 2010, 10: 210.
- [11] Chintharlapalli S, Papineni S, Abdelrahim M, et al. Oncogenic microRNA-27a is a target for anti-cancer agent methyl-2-cyano-3,11-dioxo-18beta-olean-1,12-dien-30-oate in colon cancer cells[J]. Int J Cancer, 2009, 125(8): 1965–1974.
- [12] 廖凯, 洪艳, 尹冰德, 等. miR-27a、miR-200c 及 miR-145 对肾癌细胞侵袭能力的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(10): 1925–1929.
- [13] Feng SY, Dong CG, Wu WK, et al. Lenti-viral expression of anti-microRNAs targeting miR-27a inhibits proliferation and invasiveness of U87 glioma cells[J]. Mol Med Rep, 2012, 6(2): 275–281.
- [14] Tang W, Zhu J, Su S, et al. MiR-27 as a prognostic marker for breast cancer progression and patient survival [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51702.
- [15] Mertens-Talcott SU, Chintharlapalli S, Li X, et al. The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. Cancer Res, 2007, 67(22): 11001–11011.
- [16] Li X, Mertens-Talcott SU, Zhang S, et al. MicroRNA-27a indirectly regulates estrogen receptor-alpha expression and hormone responsiveness in MCF-7 breast cancer cells [J]. Endocrinology, 2010, 151(6): 2462–2473.
- [17] Gutilla IK, White BA. Coordinate regulation of FOXO1 by miR-27a, miR-96, and miR-182 in breast cancer cells[J]. J Biol Chem, 2009, 284(35): 23204–23216.

(收稿:2013-04-09 修回:2014-03-30)

中国中西医结合杂志社微信公共账号已开通

近日,中国中西医结合杂志社已经开通微信公共账号,可通过扫描右方二维码或者搜索微信订阅号“中国中西医结合杂志社”加关注。本杂志社将通过微信不定期发送《中国中西医结合杂志》、《Chinese Journal of Integrative Medicine》的热点文章信息,同时可查看两本期刊的全文信息,欢迎广大读者订阅。

