

论著·基础研究

下调 miR-27a 表达对三阴乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

程 龙¹, 徐五琴², 张 鹏¹, 黄建军¹, 李小宁¹

1. 皖南医学院弋矶山医院检验科, 芜湖 241001; 2. 皖南医学院弋矶山医院病理科, 芜湖 241001

[摘要] **目的**·探讨下调 miR-27a 表达对三阴乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 细胞系 MDA-MB-453 增殖、迁移和侵袭的影响。**方法**·采用实时荧光定量 PCR 方法检测 68 例 TNBC 患者癌组织及癌旁组织标本的 miR-27a 表达, 分析 miR-27a 表达与患者临床特征的关系; 并检测 TNBC 细胞系 MDA-MB-453 及正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 中 miR-27a 表达的差异。在 MDA-MB-453 细胞中转染 miR-27a 抑制物 (miR-27a inhibitor), 采用 CCK-8 实验、Transwell 小室法检测 miR-27a inhibitor 转染组 (miR-27a inhibitor 组) 与 miR-27a 阴性对照片段转染组 (NC 组) TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的差异。蛋白质印迹法检测转染 miR-27a 抑制物对 MDA-MB-453 细胞泛素连接酶 FBW7 (F-box and WD repeat domain-containing 7) 及 Egl 9 同源物 2 (Egl nine homolog 2, EGLN2) 蛋白表达的影响。**结果**·TNBC 组织中 miR-27a 表达明显高于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 并且 miR-27a 表达与患者组织学分级、临床分期、淋巴结转移以及肿瘤最大直径相关 (均 $P<0.05$), 与患者年龄、是否绝经以及细胞增殖核抗原 Ki-67 指数无明显相关性。与 MCF-10A 细胞相比, MDA-MB-453 细胞系中 miR-27a 表达明显增高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。转染 miR-27a 抑制物后, MDA-MB-453 细胞增殖与 NC 组相比明显减弱 ($P<0.05$)。在细胞迁移和侵袭实验中, miR-27a inhibitor 组穿膜细胞均少于 NC 组 (均 $P<0.05$)。下调 miR-27a 表达后 miR-27a inhibitor 组较 NC 组 FBW7 蛋白表达显著升高, 而 EGLN2 蛋白表达明显下降 (均 $P<0.05$)。**结论**·miR-27a 在 TNBC 组织及细胞株中表达升高; 下调 miR-27a 表达可以抑制 TNBC 细胞 MDA-MB-453 的增殖、迁移和侵袭能力, 这可能与下调后 FBW7 蛋白表达增加、EGLN2 蛋白表达减少有关。

[关键词] miR-27a; 三阴乳腺癌; FBW7; Egl 9 同源物 2; 增殖; 迁移; 侵袭

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.02.007 **[中图分类号]** R737.9 **[文献标志码]** A

Effect of miR-27a down-regulation on proliferation, migration and invasion in triple-negative breast cancer cells

CHENG Long¹, XU Wu-qin², ZHANG Peng¹, HUANG Jian-jun¹, LI Xiao-ning¹

1. Clinical Laboratory, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China; 2. Department of Pathology, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the effect of miR-27a down-regulation on proliferation, migration and invasion in triple-negative breast cancer (TNBC) cell line MDA-MB-453. **Methods**·Sixty-eight pairs of breast cancer tissues and para-carcinoma tissues from the TNBC cancer patients were harvested for the study. The differential expression of miR-27a in the collected tissues, MDA-MB-453 cell line and normal breast epithelial cell line MCF-10A were detected by quantitative real-time PCR (qPCR). The relationship between miR-27a expression and the clinical characteristics of TNBC patients was analyzed. miR-27a inhibitor was transfected into MDA-MB-453 cell line. CCK-8 assay and Transwell chamber test were used to detect the difference in proliferation, migration and invasion of MDA-MB-453 cells between miR-27a inhibitor group and negative control group (NC group). The levels of F-box and WD repeat domain-containing 7 (FBW7) and Egl nine homolog 2 (EGLN2) protein expression were examined by Western blotting. **Results**·The expression of miR-27a in TNBC tissues was significantly higher than that in para-carcinoma tissues ($P<0.05$). The expression of miR-27a in the TNBC patients was related with histological grade, clinical stage, lymph node metastasis and maximum tumor diameter (all $P<0.05$). There was no correlation between miR-27a expression and age, menopause or Ki-67 index. The expression of miR-27a in MDA-MB-453 was significantly higher than that in MCF-10A ($P<0.05$). Transfection of miR-27a inhibitor decreased the proliferation of MDA-MB-453 cells ($P<0.05$). After down-regulation of miR-27a in MDA-MB-453 cells, in the Transwell migration and invasion assay, invaded cells were significantly less than those in NC group (both $P<0.05$). Moreover, compared with the NC group, the protein expression of FBW7 in the miR-27a inhibitor group increased significantly ($P<0.05$), while the expression of EGLN2 protein in the miR-27a inhibitor group decreased significantly ($P<0.05$). **Conclusion**·The expression of miR-27a in TNBC tissues and TNBC cell line increases. Down-regulation of miR-27a can inhibit the proliferation, migration and invasion of MDA-MB-453 cells, which may be through increasing FBW7 expression and decreasing EGLN2 expression.

[Key words] miR-27a; triple-negative breast cancer (TNBC); F-box and WD repeat domain-containing 7 (FBW7); Egl nine homolog 2 (EGLN2); proliferation; migration; invasion

[基金项目] 重大疾病非编码 RNA 转化研究安徽普通高校重点实验室 (皖南医学院) 开放课题 (RNA201904); 活性生物大分子研究安徽省重点实验室自主研究项目 (LAB201809)。

[作者简介] 程 龙 (1985—), 男, 主管检验师, 硕士; 电子信箱: chenglong@wnmc.edu.cn。

[通信作者] 李小宁, 电子信箱: lixiaoning19702006@126.com。

[Funding Information] Open Project of Key Laboratory for Non-coding RNA Transformation Research of Anhui Higher Education Institution (Wannan Medical College) (RNA201904); Anhui Province Key Laboratory of Active Biological Macro-molecules Research (LAB201809)。

[Corresponding Author] LI Xiao-ning, E-mail: lixiaoning19702006@126.com。



三阴乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 是指雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2) 表达均为阴性的乳腺癌, 其占有所有乳腺癌的 15% ~ 25%, 且具有特殊的生物学表达及临床病理特性^[1]。与非三阴乳腺癌 (non-triple-negative breast cancer, non-TNBC) 相比, TNBC 具有较高的复发率及转移率, 患者生存时间短, 且因其 HER2 表达阴性而无法应用曲妥珠单抗等靶向治疗药物^[1-2]。因此探讨 TNBC 发生发展的分子机制, 寻找有效的 TNBC 治疗靶点已成为目前乳腺癌研究领域的热点。

miRNA 是一类具有转录后调节功能的单链 RNA 分子, 其异常表达在肿瘤发生过程中发挥重要作用^[3]。miR-27a 作为一种致癌因子在多种实体肿瘤中表达升高, 并能够促进肿瘤细胞增殖和侵袭^[4-5]。研究^[4, 6]发现, miR-27a 在乳腺癌组织中高表达, 其通过抑制锌指蛋白 ZBTB10 (zinc finger and BTB domain containing 10)、泛素连接酶 FBW7 (F-box and WD repeat domain-containing 7, FBW7) 等蛋白表达促进乳腺癌细胞的增殖和侵袭。FBW7 是泛素-蛋白酶体系统中的一种重要蛋白, 可通过介导多种肿瘤相关蛋白, 如 Egl 9 同源物 2 (Egl nine homolog 2, EGLN2) 泛素化发挥抑癌作用^[7]。EGLN2 又名脯氨酸羟甲基化酶 1 (proly hydroxylase 1, PHD1), 具有在特定环境下调控缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) 的作用^[8]。EGLN2 在乳腺癌中的表达升高, 并促进乳腺癌细胞系的增殖及耐药^[9]。本研究通过实验检测 miR-27a 表达对 TNBC 细胞的增殖、迁移与侵袭的影响, 并阐释其调控的分子机制, 以期对 TNBC 的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 临床标本和细胞株

选取 2017 年 1 月—2018 年 12 月皖南医学院弋矶山医院甲乳外科行乳腺癌改良根治术的 TNBC 新鲜组织标本 68 例, 经常规病理学检查明确为非特殊类型的浸润性导管癌, 且免疫组织化学法染色 ER、PR、HER2 均为阴性。于距离肿瘤边缘 3 cm 以上处取正常乳腺组织作为癌旁组织对照, 标本收集后保存于液氮中备用。收集患者基本临床资料, 包括年龄、是否绝经、肿瘤最大直径、肿瘤组织学分级、肿瘤临床分期、增殖细胞核抗原 Ki-67 指数、有无淋巴结转移等。采用 2012 版 WHO 乳腺癌肿瘤组织学分级将乳腺癌分为 I 级 (高分化)、II 级 (中分化)、III 级 (低分化), 肿瘤临床分期采用 TNM 分期将乳腺癌分为

I 期、II 期、III 期、IV 期。根据荧光定量 PCR 结果, miR-27a 表达较癌旁组织升高大于等于 50% 列为 miR-27a 高表达组, miR-27a 表达较癌旁组织不升高或升高小于 50% 列为 miR-27a 低表达组。所有患者术前均未行放射治疗和化学治疗。本研究经皖南医学院弋矶山医院伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书。人转移性 TNBC 细胞系 MDA-MB-453 以及人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 均购自中国科学院细胞库。

1.2 主要试剂

RPMI-1640 培养基、DMEM 高糖培养基、胎牛血清、0.25% 胰酶细胞消化液均购自美国 Gibco 公司, miR-27a 抑制物及其对照购自上海吉玛公司, 转染试剂 Lipofectamine 3000、总 RNA 抽提试剂 TRIzol 购自美国 ThermoFisher 公司, SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒、miR-27a 及 U6 引物购自日本 TaKaRa 公司, IPA 裂解液、蛋白酶抑制剂 PMSF、BCA 蛋白浓度检测试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、CCK-8 试剂及凋亡检测试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司, Transwell 小室购自美国 Corning 公司, Matrigel 基底膜基质胶购自美国 BD 公司, FBW7、EGLN2、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体及二抗购自美国 Abcam 公司。

1.3 细胞培养

TNBC 细胞 MDA-MB-453 采用 RPMI-1640 培养基培养, MCF-10A 细胞采用 DMEM 高糖培养基培养。培养基均加入 10% 胎牛血清、100 U/L 青霉素和 100 U/L 链霉素, 培养箱条件为 37 °C、95% 饱和湿度及 5% CO₂。根据细胞生长状态 2 ~ 3 d 换液 1 次。细胞生长至 70% 融合时, 0.25% 胰酶细胞消化液消化传代, 取第 3 代对数生长期细胞用于后续实验。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 miR-27a 表达

采用 TRIzol-氯仿提取组织及细胞总 RNA, 将 mRNA 反转录为 cDNA。SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒检测 miR-27a 表达, 以 U6 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算目的基因的相对定量结果。miR-27a 上、下游引物序列^[10]分别为 5'-CGGCGGTTTCACAGTGGCTAAG-3' 和 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTAT-3'; U6 上、下游引物序列分别为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3' 和 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。

1.5 细胞转染

取对数生长期细胞接种于 6 孔板, 使用 Lipofectamine

3 000 转染试剂, 参考说明书分别向 MDA-MB-453 细胞转染 miR-27a 抑制物 (miR-27a inhibitor 组) 和 miR-27a 阴性对照片段 (NC 组), 未转染组作为空白对照 (control 组)。荧光显微镜下检查转染效率, 转染成功后培养板置 37 ℃ 培养箱继续培养, 48 h 后收集细胞进行后续实验。miR-27a 抑制物序列为 5'-GCGGAACUUAGCCCACUGUGAA-3'。

1.6 CCK-8 实验检测细胞增殖能力

收集转染 48 h 后的细胞接种于 96 孔板中, 每孔接种 2×10^4 细胞, 分别在接种后 1、2、3、4、5 d, 采用 CCK-8 法检测细胞活性。直接向每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 试剂, 37 ℃ 培养箱中避光孵育 30 min, 酶标仪上测定 450 nm 处吸光度值 [$D(450 \text{ nm})$], 根据吸光度值计算各组细胞生存率。

1.7 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力

收集各组对数生长期细胞, 采用无血清 RPMI-1640 培养基重悬细胞后接种于 Transwell 上室, 每组设置 5 个复孔, 每室接种 100 μ L 密度为 $2.5 \times 10^5/\text{mL}$ 的细胞悬液。其中迁移实验直接使用未处理的 Transwell 小室, 侵袭实验采用包被 Matrigel 基质胶的 Transwell 小室。下室加入 600 μ L 含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 37 ℃ 培养箱中培养 24 h。4% 多聚甲醛固定后, 结晶紫染色, 高倍镜下计数穿膜细胞数。

1.8 蛋白质印迹法检测 FBW7 和 EGLN2 蛋白表达

细胞裂解法提取各组细胞总蛋白, BCA 法检测蛋白质浓度, 并行蛋白质印迹法 (Western blotting) 检测。于 SDS-PAGE 蛋白电泳结束后转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 3 h, 加入一抗, 4 ℃ 封闭过夜, 次日洗膜后加入二抗, 37 ℃ 孵育 1 h。洗膜后加入化学发光底物, 凝胶成像系统扫描成像。以 β -actin 作为内参照, 分析所得条带灰度值, 计算蛋白相对含量。

1.9 统计学分析

应用 SPSS 13.0 和 Graphpad Prism 8.0 软件进行数据分析和作图。定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 定性资料用频数和百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。所有实验至少进行 3 次独立重复实验。

2 结果

2.1 miR-27a 表达与 TNBC 患者临床特征的关系

通过分析 miR-27a 表达与 TNBC 患者临床特征的

关系, 发现 miR-27a 表达与患者组织学分级、临床分期、淋巴结转移以及肿瘤最大直径相关 (均 $P < 0.05$); 而与患者年龄、是否绝经以及 Ki-67 指数无明显相关性 (表 1)。

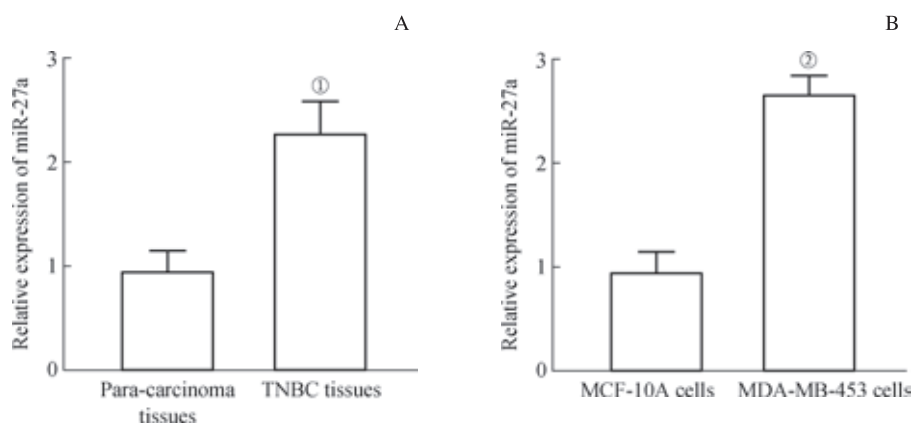
表 1 不同 miR-27a 表达水平的 TNBC 患者临床特征比较 [$n(\%)$]

Tab 1 Comparison of clinical characteristics of TNBC patients with different levels of miR-27a expression [$n(\%)$]

Index	miR-27a expression		χ^2 value	P value
	High expression group (N=39)	Low expression group (N=29)		
Age			0.060	0.806
<45 years	20 (51.3)	14 (48.3)		
≥ 45 years	19 (48.7)	15 (51.7)		
Menopause			0.067	0.797
No	23 (59.0)	18 (62.1)		
Yes	16 (41.0)	11 (37.9)		
Tumor size			7.986	0.018
<2 cm	10 (25.6)	16 (55.2)		
≥ 2 cm and <5 cm	21 (53.8)	12 (41.4)		
≥ 5 cm	8 (20.5)	1 (3.4)		
Histological grade			7.487	0.024
I	4 (10.3)	11 (37.9)		
II	24 (61.5)	13 (44.8)		
III	11 (28.2)	5 (17.2)		
Clinical stage			8.753	0.032
I	5 (12.8)	12 (41.4)		
II	20 (51.3)	13 (44.8)		
III	9 (23.1)	3 (10.3)		
IV	5 (12.8)	1 (3.4)		
Ki-67 index			2.102	0.156
$\leq 15\%$	8 (20.5)	10 (34.5)		
$> 15\%$	31 (79.5)	19 (65.5)		
Lymph node metastasis			4.867	0.027
Yes	29 (74.4)	14 (48.3)		
No	10 (25.6)	15 (51.7)		

2.2 miR-27a 在 TNBC 组织及 MDA-MB-453 细胞系中的表达

实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 检测结果显示, TNBC 组织中 miR-27a 表达明显高于癌旁组织 ($P=0.039$) (图 1A), miR-27a 在 TNBC 细胞系 MDA-MB-453 中表达显著高于正常乳腺上皮细胞 MCF-10A ($P=0.015$) (图 1B)。



Note: A. miR-27a expression in TNBC tissues and para-carcinoma tissues. B. miR-27a expression in MDA-MB-453 cells and MCF-10A cells. ① $P=0.039$, compared with para-carcinoma tissues; ② $P=0.015$, compared with MCF-10A cells.

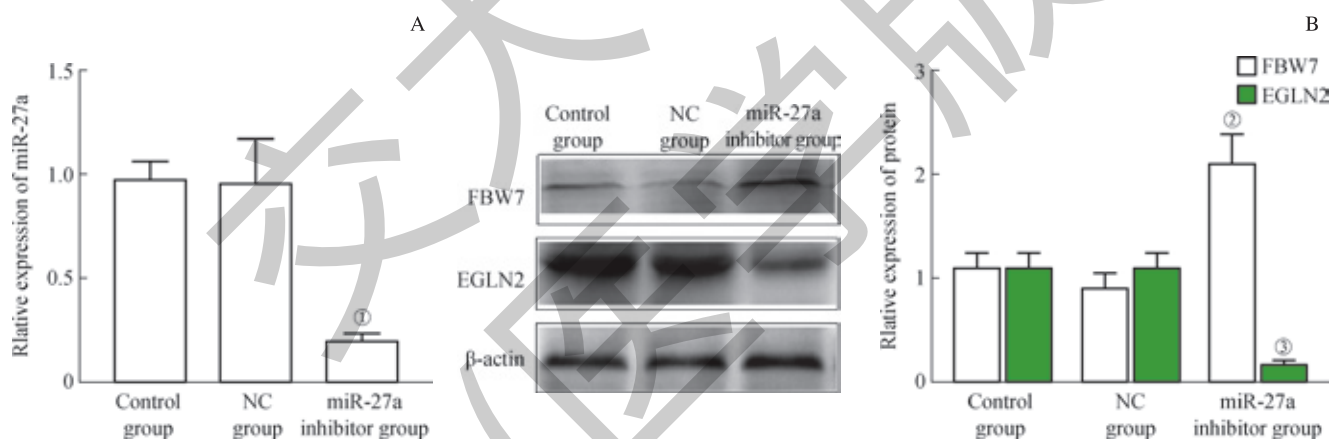
图 1 qPCR 检测 miR-27a 在 TNBC 组织及细胞系中的表达水平

Fig 1 Expression of miR-27a in TNBC tissues and TNBC cell line detected by qPCR

2.3 MDA-MB-453 细胞系中 miR-27a 干预实验

MDA-MB-453 细胞转染 miR-27a 抑制物后 48 h, 细胞内 miR-27a 含量与 NC 组相比显著下降 ($P=0.041$), 而 NC 组细胞 miR-27a 含量与 control 组相比差异无统计学意义 (图 2A)。Western blotting 实验结果显示, 转染 miR-27a

抑制物后, 细胞内 FBW7 蛋白表达显著上升, 而 EGLN2 蛋白表达明显下降 (均 $P<0.05$) (图 2B)。这表明抑制 TNBC 细胞中 miR-27a 表达可以上调 FBW7 蛋白质表达, 同时抑制 EGLN2 蛋白表达。



Note: A. miR-27a expression detected by qPCR. B. FBW7 and EGLN2 expression detected by Western blotting. ① $P=0.041$, ② $P=0.032$, ③ $P=0.013$, compared with the NC group.

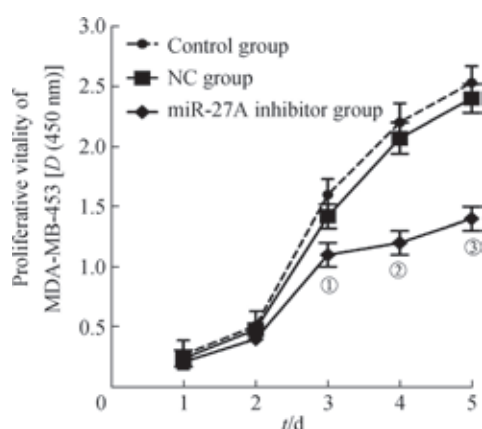
图 2 转染 miR-27a 抑制物对 MDA-MB-453 细胞 miR-27a 表达以及 FBW7、EGLN2 蛋白表达的影响

Fig 2 Effect of transfection of miR-27a inhibitor on miR-27a, FBW7 and EGLN2 expression in MDA-MB-453 cells

2.4 转染 miR-27a 抑制物对 MDA-MB-453 细胞增殖的影响

CCK-8 检测结果, 在接种后 3、4 和 5 d, miR-27a inhibitor 组细胞增殖活性较 NC 组明显降低 (均 $P<0.05$);

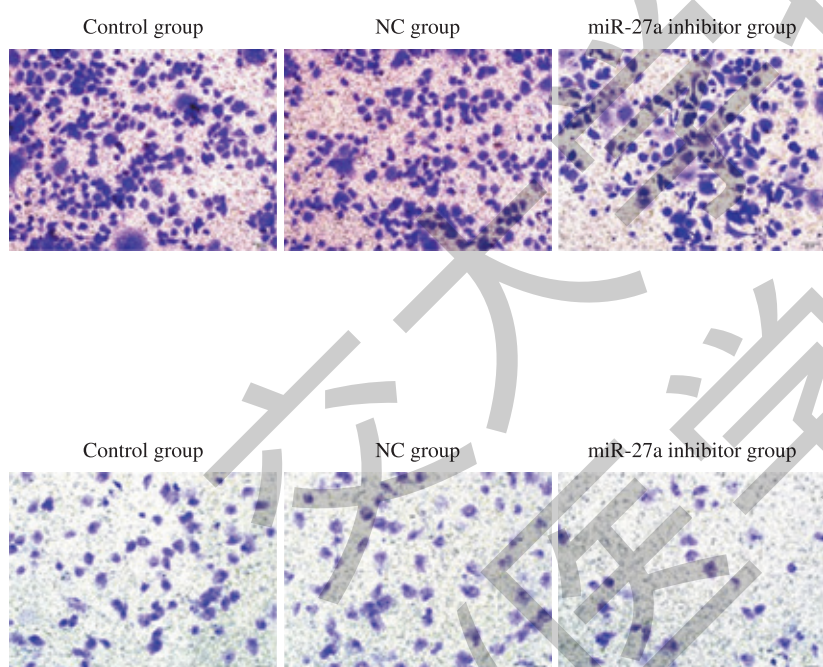
而在各检测时间点, NC 组与 control 组, 增殖活性差异无统计学意义 (图 3)。表明下调 MDA-MB-453 细胞中 miR-27a 表达可显著抑制细胞增殖能力。



Note: ① $P=0.036$, ② $P=0.040$, ③ $P=0.044$, compared with the NC group.

图3 下调 miR-27a 表达对 MDA-MB-453 细胞增殖能力的影响

Fig 3 Effect of miR-27a down-regulation on the proliferation of MDA-MB-453 cells



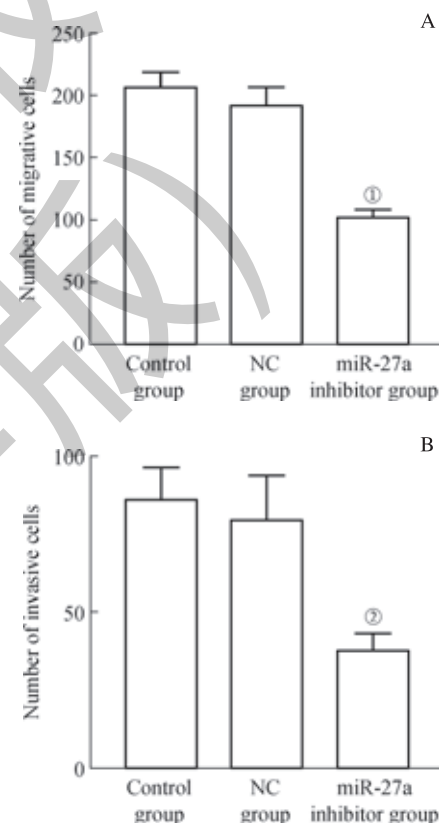
Note: A. Migration experiment. B. Invasion experiment. ① $P=0.018$, ② $P=0.026$, compared with the NC group.

图4 下调 miR-27a 表达对 MDA-MB-453 细胞迁移和侵袭的影响 (×400, 结晶紫染色)

Fig 4 Effect of miR-27a down-regulation on the migration and invasion of MDA-MB-453 cells (×400, crystal violet staining)

2.5 转染 miR-27a 抑制物对 MDA-MB-453 细胞迁移和侵袭的影响

Transwell 迁移实验结果显示, 转染 miR-27a 抑制物 48 h 后穿膜细胞数明显少于 NC 组 ($P<0.05$), 而 NC 组与 control 组相比穿膜细胞数无明显差异 (图 4A); 同样, Transwell 侵袭实验呈现出一致的结果 (图 4B)。表明下调 miR-27a 表达可抑制 TNBC 细胞 MDA-MB-453 的迁移和侵袭能力。



3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在全球范围内逐年增高, 研究乳腺癌发病的分子机制成为世界普遍关注的热点。TNBC 作为一种特殊类型的乳腺癌, 有发病年龄低、家族史明显、恶性程度高、淋巴结转移率和复发率高等特点^[11-12], 其发生、发展机制更加值得关注。

miR-27a 作为一种致癌因子已被发现在多种实体肿瘤中表达升高, 并且与肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭密切相关。Xia 等^[13]研究发现, 胰腺癌细胞中 miR-27a 呈高表达, 而下调 miR-27a 表达能够显著抑制胰腺癌细胞系的增殖和侵袭能力。最近的研究发现, miR-27a 参与调控乳腺癌细胞的增殖和侵袭。如 miR-27a 能够通过特异性地调控 FBW7 蛋白促进乳腺癌细胞发生上皮间质转化^[14]; 此外

miR-27a 可直接上调转录因子 SP1, 促进肿瘤细胞 G₁/S 期转换, 导致乳腺癌细胞异常增殖, 而下调 miR-27a 能够显著抑制乳腺癌细胞增殖^[15]。本研究在 TNBC 组织中检测发现 miR-27a 表达升高, 并且 miR-27a 表达与 TNBC 患者组织学分级、临床分期、淋巴结转移以及肿瘤最大直径相关, 差异具有统计学意义。此外, 在 TNBC 细胞株 MDA-MB-453 中同样发现 miR-27a 高表达; 进一步转染 miR-27a 抑制物下调 miR-27a 表达, 并检测细胞增殖、迁移和侵袭能力。实验结果显示, miR-27a inhibitor 组细胞在接种后 3、4 和 5 d 的细胞增殖活性明显低于 NC 组, 并且 Transwell 迁移和侵袭实验中 miR-27a inhibitor 组穿膜细胞数均显著少于 NC 组。证实了下调 miR-27a 可抑制 TNBC 细胞 MDA-MB-453 的增殖、迁移和侵袭。

近年来有研究^[7]发现, 在 TNBC 细胞中 FBW7 表达

缺失, 这一缺失导致 EGLN2 蛋白升高并与肿瘤细胞的生长和转移相关。FBW7 是一种泛素连接酶, 其基因在多种肿瘤包括直肠癌、胃癌、卵巢癌和乳腺癌中存在着突变或缺失。FBW7 可直接结合和靶向作用多种转录激活因子或原癌基因并对其进行泛素化修饰^[16], 诱导靶蛋白水解, 从而调控肿瘤细胞的增殖与凋亡^[17]。为进一步明确 miR-27a 对 TNBC 细胞生物学功能影响的分子机制, 本实验对各组细胞 FBW7 以及 EGLN2 蛋白表达进行了检测。结果显示, 与 NC 组相比下调 miR-27a 表达导致 MDA-MB-453 细胞中 FBW7 表达上升, 而 EGLN2 蛋白表达显著下降。已有研究^[18-20]证实 miR-27a 可负向调控 FBW7 蛋白表达, 与本实验结果一致。综上所述, 在 TNBC 细胞 MDA-MB-453 中下调 miR-27a 表达可显著抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭, 并可能与 FBW7 介导的 EGLN2 蛋白泛素化密切相关。

参 考 文 献

- [1] Costa RLB, Han HS, Gradishar WJ. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in triple-negative breast cancer: a review[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 169(3): 397-406.
- [2] 管小青, 袁牧, 顾书成, 等. 含有基底细胞样表型三阴性乳腺癌的病理特点及其临床意义[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2014, 6(1): 19-34.
- [3] Bhagirath D, Yang TL, Bucay N, et al. MicroRNA-1246 is an exosomal biomarker for aggressive prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(7): 1833-1844.
- [4] Zhang S, Ma C, Pang H, et al. Arsenic trioxide suppresses cell growth and migration via inhibition of miR-27a in breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(1): 55-61.
- [5] Mashayekhi S, Saeidi Saedi H, Salehi Z, et al. Effects of miR-27a, miR-196a2 and miR-146a polymorphisms on the risk of breast cancer[J]. *Br J Biomed Sci*, 2018, 75(2): 76-81.
- [6] 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.
- [7] Takada M, Zhuang M, Inuzuka H, et al. EglN2 contributes to triple negative breast tumorigenesis by functioning as a substrate for the FBW7 tumor suppressor[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 6787-6795.
- [8] Appelhoff RJ, Tian YM, Raval RR, et al. Differential function of the prolyl hydroxylases PHD1, PHD2, and PHD3 in the regulation of hypoxia-inducible factor[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(37): 38458-38465.
- [9] Zhang J, Wang C, Chen X, et al. EglN2 associates with the NRF1-PGC1 α complex and controls mitochondrial function in breast cancer[J]. *EMBO J*, 2015, 34(23): 2953-2970.
- [10] 蒋雪梅, 权毅. 上调 miRNA-27a-3p 对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(2): 279-283.
- [11] 林丹丽, 陈机琼, 冯慧艳, 等. PARP-1 在三阴乳腺癌细胞中的表达及与 Ca153 和 CEA 的临床相关性研究[J]. *中国实验诊断学*, 2018, 22(12): 2015-2017.
- [12] 吴唐维, 蒋丽媛, 张天竺, 等. MiR-25 对三阴乳腺癌侵袭转移的影响及其潜在机制[J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(2): 104-111.
- [13] Xia J, Cheng L, Mei C, et al. Genistein inhibits cell growth and invasion through regulation of miR-27a in pancreatic cancer cells[J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(33): 5348-5353.
- [14] Jiang G, Shi W, Fang H, et al. miR-27a promotes human breast cancer cell migration by inducing EMT in a FBXW7-dependent manner[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6): 5417-5426.
- [15] Jurkovicova D, Magyerkova M, Sestakova Z, et al. Evaluation of expression profiles of microRNAs and two target genes, *FOXO3a* and *RUNX2*, effectively supports diagnostics and therapy predictions in breast cancer[J]. *Neoplasma*, 2016, 63(6): 941-951.
- [16] Li X, Zhang N, Zhang Y, et al. E3 ligase Fbw7 participates in oxidative stress-induced myocardial cell injury via interacting with Mcl-1[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(2): 1561-1568.
- [17] Tong J, Tan S, Zou F, et al. FBW7 mutations mediate resistance of colorectal cancer to targeted therapies by blocking Mcl-1 degradation[J]. *Oncogene*, 2017, 36(6): 787-796.
- [18] Lerner M, Lundgren J, Akhoondi S, et al. MiRNA-27a controls FBW7/hCDC4-dependent cyclin E degradation and cell cycle progression[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(13): 2172-2183.
- [19] Spruck C. miR-27a regulation of SCF (Fbw7) in cell division control and cancer[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(19): 3232-3233.
- [20] Wang Q, Li DC, Li ZF, et al. Upregulation of miR-27a contributes to the malignant transformation of human bronchial epithelial cells induced by SV40 small T antigen[J]. *Oncogene*, 2011, 30(36): 3875-3886.

[收稿日期] 2019-06-24

[本文编辑] 瞿麟平

