

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2014.07.022

• 临床研究 •

宫颈癌及癌前病变组织中microRNAs的差异表达

曾康康, 莫祥兰, 刘 斐, 胡晓霞

Differential Expression of microRNAs in Cervical Cancer and Cervical Precancerous Lesions

ZENG Kangkang, MO Xianglan, LIU Fei, HU Xiaoxia

Department of Gynecology, The People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

Corresponding Author: HU Xiaoxia, E-mail: huxxia@hotmail.com

Abstract: Objective To identify potential miRNA involved in cervical cancer and cervical precancerous lesions. **Methods** miRNA microarray was applied to compare the miRNA expression profile in cervical cancer, cervical precancerous lesions and normal cervical tissues. Real-time quantitative RT-PCR was used to validate the expressions for 4 miRNAs in 60 cervical tissues. Bioinformatics programs were used to analyze potential target genes and their foundation. **Results** Differential miRNAs were identified in cervical cancer and high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL). MiR-218 was most down-regulated (0.175-fold) and miR-21 was most up-regulated (5.68-fold). Meanwhile, real-time quantitative RT-PCR result accorded with miRNA microarray result. Bioinformatic analysis indicated that the target genes of miR-218 and miR-21 may be involved in cancer invasion and metastasis. **Conclusion** miRNAs are aberrantly expressed in human cervical cancer and cervical precancerous lesions. These miRNAs may be involved in cervical carcinogenesis as potential tumor suppressor genes or oncogenes.

Key words: Cervical cancer; Cervical intraepithelial neoplasia; microRNAs; Microarray; Real-time RT-PCR

摘要: 目的 寻找与宫颈癌及宫颈癌前病变相关的microRNA。**方法** 利用miRNA芯片, 筛查宫颈癌组织、宫颈上皮内瘤变及正常宫颈组织中差异表达的miRNA, 并用实时定量RT-PCR在60份宫颈组织标本中对4个miRNA进行验证。利用生物信息学对部分差异表达的miRNA的靶基因进行功能分析。**结果** 与正常宫颈组织比较, 宫颈癌及高级别宫颈病变(HSIL)中存差异表达的miRNAs, 其中在宫颈癌中下调最明显的是miR-218(下调倍数为0.175), 上调最明显的是miR-21(上调倍数为5.68)。实时定量RT-PCR验证结果与miRNA芯片结果基本一致。功能分析显示预测的miR-218及miR-21的靶基因与肿瘤的生长、侵袭转移有关。**结论** 宫颈癌及癌前病变中存在异常表达的miRNA, 它们在宫颈癌发生过程中可能起癌基因或抑癌基因的作用。

关键词: 宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变; microRNA; 微阵列芯片技术; 实时定量反转录聚合酶链反应

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A

0 引言

宫颈癌的发生是一个多因素、多步骤的过程, 由正常宫颈上皮向宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN), 即癌前病变转化, 再发展为浸润性宫颈癌, 约需要十年时间, 仅有部分上皮内瘤变最终发展为宫颈癌, 因而, 寻找能预测宫颈病变发展的标志物尤为重要。持续性高危型HPV感染是宫颈癌发生的必要条件, 然而有证

据显示单一的HPV感染不足以导致宫颈癌, 宿主的基因变异在宫颈癌的发展中也起了重要作用, 明确这些遗传的改变对于宫颈癌的筛查和治疗有重要的意义^[1]。miRNA是一类长约19~25个核糖核苷酸的非编码调控单链小分子RNA。研究已经显示成千上万的蛋白编码的基因共同由miRNA调节^[2]。miRNA表达异常与多种肿瘤相关, 其在肿瘤的发生过程中发挥癌基因或抑癌基因的作用。已有研究发现miRNA在宫颈癌中有异常表达, 而在癌前病变中的研究不多, 研究结果也不一致。本研究采用miRNA芯片技术筛选宫颈癌、癌前病变及正常宫颈组织差异表达的miRNA, 探讨miRNA与宫颈癌的关系, 以为宫颈癌的筛查提供生物标志物, 为阐明宫颈癌发生的分子机制提供新的依据。

收稿日期: 2013-07-12; 修回日期: 2013-10-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81060219); 广西自然科学基金资助项目(桂科回 2011GXNSFC018018)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院妇科

通信作者: 胡晓霞, E-mail: huxxia@hotmail.com

作者简介: 曾康康(1985-), 女, 硕士在读, 主要从事妇科肿瘤的研究

1 资料与方法

1.1 标本资料

宫颈石蜡组织标本来自广西壮族自治区人民医院病理科。12份标本用于miRNA芯片检测,其中3份为宫颈鳞状细胞癌(SCC),3份为宫颈高度鳞状上皮内病变(HSIL)(CIN2/CIN3),3份为宫颈低度鳞状上皮内病变(LSIL)(CIN1)及3份正常宫颈组织;60份标本用作miRNA表达的验证,包括20份宫颈癌、20份HSIL、10份LSIL组织及10份正常宫颈组织。标本均由病理科医生复核。所有的宫颈癌患者在术前均未接受过放疗及其他治疗,正常宫颈组织来自因子宫良性病变切除的子宫。该研究已获得医院伦理委员会同意。

1.2 miRNA芯片检测

1.2.1 RNA抽提和纯化 选取宫颈石蜡切片中病变部分的组织,使病变组织达90%以上,采用RecoverAll™总核酸提取试剂盒(美国Ambion公司)根据生产厂商提供的标准操作流程进行样品的总RNA抽提,抽提所得总RNA经安捷伦2100生物分析仪(美国安捷伦科技公司)电泳质检合格后备用。

1.2.2 芯片实验 miRNA芯片杂交所用芯片为安捷伦人miRNA芯片(8×15K)V12.0芯片(覆盖866个人类相关miRNA以及89个人类病毒相关miRNA)。芯片杂交实验及后续结果分析在上海伯豪芯片生物技术有限公司完成。实验样品RNA采用Agilent miRNA芯片配套的试剂盒(美国安捷伦科技公司),按照标准操作流程对样品中的miRNA分子进行荧光标记及样品的杂交实验。芯片结果采用安捷伦微阵列芯片扫描仪进行扫描,用Feature Extraction软件10.7读取数据,最后采用Gene Spring软件11.0进行归一化处理。

1.3 实时定量PCR(real-time RT-PCR)验证

1.3.1 石蜡组织总RNA抽提及反转录 石蜡切片用二甲苯脱蜡,用QuantoBio总RNA提取试剂盒进行总RNA抽提;用加尾法进行cDNA第一条链的合成。借助E.coli聚合酶添加PolyA尾至总RNA,利用QuantoBio反转录系统将加PolyA尾的总RNA逆转录成加PolyA尾的cDNA。

1.3.2 Real-time PCR 以第一链cDNA为模板,利用SYBR Green PCR Master Mix进行PCR扩增,反应在20 μl的体系中进行。采用溶解曲线分析和凝胶电泳实验来检测real-time RT-PCR产物的特异性。U6 snRNA作为实验的内参基因。miRNA相对表达量为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\Delta Ct = (Ct_{miRNA} - Ct_{U6})$ 。

1.4 靶基因的预测及功能分析

利用生物信息学方法,通过miRNA靶标预测工具(TargetScan、PicTar、miRanda等)对在宫颈癌组织中明显下调的miR-218及明显上调的miR-21

的靶基因进行预测,取至少被3个软件同时预测的基因作为靶基因。采用Gene Ontology数据库(<http://www.geneontology.org>)对靶基因进行功能分析。

1.5 统计学方法

利用基因芯片显著性分析(SAM)和t检验(t-test)进行差异表达基因分析,差异倍数为2倍及以上(即 ≥ 2 或 ≤ 0.5),Q-value(错误发现率) $< 5\%$ 的miRNA为有差异的miRNA。应用SPSS软件对PCR结果进行统计分析,组间miRNA表达水平比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA芯片检测结果

2.1.1 宫颈癌组织中差异表达的miRNA 利用宫颈SCC、HSIL、LSIL组织和正常宫颈组织进行miRNAs芯片分析,聚类分析结果显示在不同的宫颈组织中存在差异表达的miRNA。与正常宫颈组织比较,宫颈癌组织中有15个miRNAs表达为上调(> 2 倍),10个miRNAs表达为下调(< 0.5 倍),其中上调4倍以上的miRNA有miR-21及miR-21*、miR-15b、miR-16,下调4倍以上的有miR-218及miR-376,其中上调最明显的是miR-21,下调最明显的是miR-218,见表1。

2.1.2 宫颈上皮内瘤变组织中差异表达的miRNA 芯片分析结果显示,与正常宫颈组织比较,HSIL中有13个miRNA表达为上调,31个miRNA表达为下调,其中上调4倍以上的有miR-663、miR-188-5p、miR-765、miR-1300、miR-483-5p,下调4倍以上的有miR-218、miR-376c、miR-374b、miR-149、miR-152、miR-142-3,见表2。LSIL与正常宫颈组织比较,仅miR-1260表现为2倍的下调(0.441倍, $P = 0.008$),其他miRNA未显示出差异性表达。

2.2 实时定量RT-PCR验证结果

从miRNA芯片检测结果中选取在宫颈癌组织中有异常表达的4个miRNA,利用荧光定量RT-PCR在20份宫颈癌、20份HSIL、10份LSIL及10份正常宫颈组织中进行验证。这4个miRNA分别为miR-21、miR-218、miR-31、miR-376a,U6作为内参照并进行标准化。结果显示与正常宫颈组织比较,miR-218在宫颈癌及HSIL中均显示明显下降($P = 0.000$ 、 $P < 0.05$),miR-21、miR-31表达在宫颈癌组织中明显增加($P < 0.00$);芯片检测结果显示miR-376a在宫颈癌及HSIL中均为下降($P < 0.01$),而PCR检测在HSIL中未显示出明显的下调($P > 0.05$),见图1。这4个miRNA经real-time RT-PCR验证,显示与miRNA芯片基本一致的变化。

2.3 靶基因的预测及功能分析

经miRNA靶标预测工具预测,miR-218预测的

表1 宫颈癌和正常宫颈组织中差异性表达的miRNA

Table1 Differential expression of miRNAs in cervical cancer and normal tissues

miRNA	Fold change ¹	Q-values ²	miRNA	Fold change	Q-values
hsa-miR-21	5.677	0.001	hsa-miR-130b	2.531	0.001
hsa-miR-21*	5.539	0.009	hsa-miR-185	2.107	0.007
hsa-miR-15b	4.258	0.000	hsa-miR-214	0.440	0.000
hsa-miR-16	4.107	0.000	hsa-let-7c	0.439	0.000
hsa-miR-20b	3.668	0.007	hsa-miR-10b	0.372	0.002
hsa-miR-106b	3.390	0.004	hsa-miR-497	0.357	0.001
hsa-miR-15a	3.223	0.002	hsa-miR-199b-5p	0.337	0.009
hsa-miR-20a	2.951	0.004	hsa-miR-195	0.315	0.001
hsa-miR-141	2.839	0.006	hsa-miR-100	0.261	0.007
hsa-miR-1280	2.805	0.008	hsa-miR-127-3p	0.259	0.002
hsa-miR-17	2.703	0.002	hsa-miR-376a	0.234	0.007
hsa-miR-93	2.674	0.003	hsa-miR-218	0.175	0.002
hsa-miR-31	2.551	0.003			

Notes: 1: mean fold changes of miRNA expressions in cervical cancer tissues compared with those in normal cervical tissues;2: the lowest false discovery rate of differential expression with statistically significance

表2 宫颈高度鳞状上皮内病变和正常宫颈组织中差异表达的miRNA

Table2 Differential expression of miRNAs in HSIL and normal tissues

miRNA	Fold change ¹	Q ²	miRNA	Fold change	Q
hsa-miR-663	9.402	0.000	hsa-miR-497	0.414	0.001
hsa-miR-1300_v13.0	8.245	0.004	hsa-miR-199b-5p	0.410	0.004
hsa-miR-483-5p	8.237	0.001	hsa-let-7f	0.409	0.008
hsa-miR-765	8.028	0.009	hsa-miR-106b	0.405	0.000
hsa-miR-188-5p	4.404	0.002	hsa-miR-127-3p	0.402	0.002
hsa-miR-671-5p	3.576	0.000	hsa-miR-224	0.399	0.009
hsa-miR-939	3.509	0.000	hsa-miR-455-3p	0.391	0.010
hsa-miR-1268	2.845	0.001	hsa-miR-19b	0.390	0.000
hsa-miR-638	2.710	0.003	hsa-miR-1274a	0.357	0.005
hsa-miR-1207-5p	2.683	0.009	hsa-miR-20b	0.343	0.007
hsa-miR-572	2.385	0.003	hsa-miR-365	0.340	0.008
hsa-miR-494	2.138	0.006	hsa-miR-140-5p	0.333	0.005
hsa-miR-150*	2.047	0.004	hsa-miR-150	0.322	0.007
hsa-miR-151-3p	0.487	0.003	hsa-miR-98	0.313	0.005
hsa-miR-99a	0.481	0.000	hsa-miR-210	0.306	0.001
hsa-miR-342-3p	0.479	0.000	hsa-miR-143	0.257	0.002
hsa-miR-27a	0.467	0.003	hsa-miR-218	0.227	0.002
hsa-miR-15a	0.447	0.009	hsa-miR-376c	0.225	0.003
hsa-miR-195	0.446	0.003	hsa-miR-374b	0.220	0.000
hsa-miR-193b	0.439	0.002	hsa-miR-149	0.190	0.007
hsa-miR-29a	0.436	0.009	hsa-miR-152	0.160	0.005
hsa-miR-20a	0.424	0.000	hsa-miR-142-3p	0.143	0.001

Notes: HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesion;1: mean fold changes of miRNA expressions in HSIL tissues compared to those in normal cervical tissues;2: the lowest false discovery rate of differential expression with statistically significance

靶基因有2 886个, 其中LAMB3 (层黏连蛋白β3) 和ROBO1 (迂回的轴突引导受体1) 已在一些肿瘤中证实为miR-218的靶基因。miR-21预测的靶基因有29 329, 其中PDCD4 (程序性细胞死亡蛋白4), PTEN (磷酸酶张力蛋白) 在一些肿瘤中得到验证。利用GO数据库对这几个靶基因进行功能分析, 结果显示miR-218的靶基因LAMB3和ROBO1与细胞的黏附和迁移有关, miR-21的靶基因PDCD4和PTEN与细胞的增殖、迁移和凋亡有关, 见表3。

3 讨论

目前, 已有研究显示miRNA在宫颈癌组织中有差异性表达。Lee等^[3]利用实时定量PCR比较10

例正常宫颈和10例宫颈鳞状细胞癌组织的miRNA谱的变化, 发现70个miRNA的表达有明显的改变, 其中68个上调, 仅有2个下调。Rao等^[4]利用芯片技术分析13例宫颈癌及癌旁正常组织的miRNA的表达, 发现在宫颈癌组织中18个miRNA表达升高, 而19个miRNA表达下降。Huang等^[5]研究显示宫颈癌组织中7个miRNA表现为明显降调节, 并与淋巴结转移和预后有关。在本研究中, 我们利用microRNA芯片对宫颈癌、HSIL、LSIL和正常宫颈组织进行筛查, 结果显示宫颈癌中15个miRNA表达上调, 10个miRNA表达下调, 其中上调最明显的是miR-21, 下调最明显的是miR-218。利用real-time RT-PCR对其中有异常表达的4个miRNA进行

表3 miR-218和miR-21靶基因的GO分析

Table3 Gene ontology annotation of target genes of miR-218 and miR-21

Gene symbols	Description	Gene Ontology
LAMB3	laminin, beta 3	GO:0032403 protein complex binding GO:0007155 cell adhesion GO:0044420 extracellular matrix part GO:0005198 structural molecule activity
ROBO1	roundabout, axon guidance receptor, homolog 1	GO:0007155 cell adhesion GO:0002042 cell migration involved in sprouting angiogenesis GO:0005515 protein binding GO:0008046 axon guidance receptor activity
PTEN	phosphatase and tensin homolog	GO:0005515 protein binding GO:0004721 phosphoprotein phosphatase activity GO:0008283 cell proliferation GO:0001525 angiogenesis GO:0006915 apoptotic process GO:0016477 cell migration
PDCD4	programmed cell death 4	GO:0006915 apoptotic process GO:0005515 protein binding GO:0003723 RNA binding

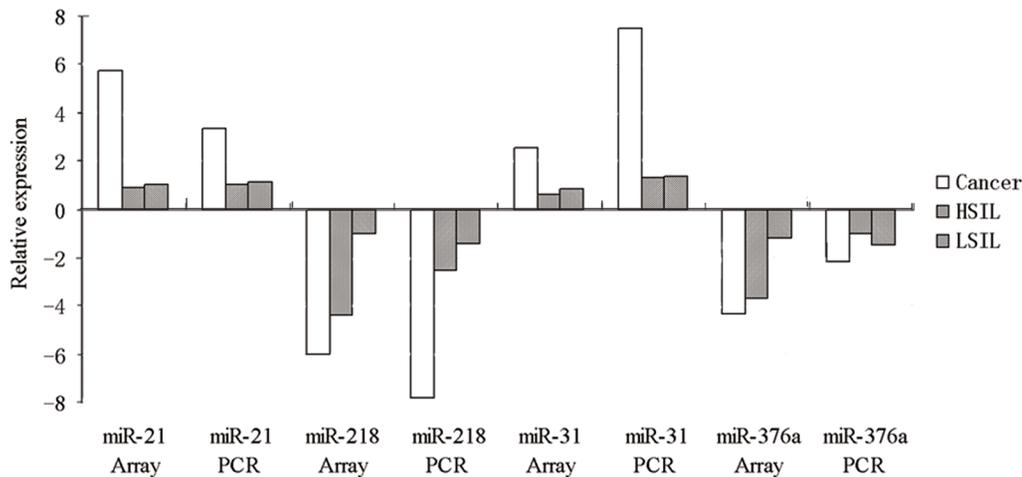


图1 Microarray和Real-time PT-PCR检测4个miRNAs在宫颈癌及癌前病变组织中相对表达结果比较

Figure1 Relative expressions of four miRNAs in cervical cancer and cervical precancerous lesions detected by real-time RT-PCR and microarray assay

验证，显示出基本一致的结果。这些研究结果显示，宫颈癌组织中存在miRNA的异常表达，这些差异表达的miRNA可能参与了宫颈癌的发生。然而，不同的研究显示差异表达的miRNA不一致，甚至相反，这些不一致的结果可能是由于高通量平台的差异、不同实验室采用的实验方法不同以及人群遗传变异体的不同造成^[6]。miRNA在用甲醛固定的石蜡组织中有较高的稳定性，利用FFPE标本进行miRNA表达谱分析具有准确性和实用性^[7-8]，因而我们选择较易获取的FFPE标本进行实验。由于宫颈CIN病变常为局灶性，我们通过HE染色鉴别病变部位，选择FFPE标本中病变部位组织进行实验，以减少由于标本的原因而影响结果的可靠性。

miRNA在宫颈癌前病变也表现为异常表达。Cheung等^[1]研究了宫颈癌前病变(CIN2/3)中miRNA表达谱，发现与正常宫颈比较，12个miRNA显示高表达，这些miRNA可能与凋亡和周期调节有关。Pereira等^[6]研究了在宫颈癌、宫

颈高度和低度鳞状上皮内病变及正常宫颈组织中miRNAs表达谱，发现至少有8个miRNA在宫颈正常组织向癌前病变及宫颈癌发展过程中显示明显的降调节，这些miRNA可能在肿瘤的发生中起抑制作用；5个miRNA在正常宫颈向癌前病变和宫颈癌转化过程中显示为上调，这些miRNA可能与宫颈异常细胞向宫颈癌转化有关。我们的研究结果也显示一些miRNA在HSIL中表现增高或下降，一些在宫颈癌中明显上调的miRNA在HSIL中并不显示高表达，而在宫颈癌中低表达的miRNA在HSIL中也显示为低表达，如miR-218、miR-195、miR-199b-5p、miR-497，推测宫颈癌前病变向宫颈癌转变可能与这些miRNAs的异常表达有关。芯片筛查结果还显示，在正常宫颈与LSIL之间不存在明显差异表达的miRNA，这可能与大部分LSIL病变可向正常宫颈逆转有关。

研究显示miR-218及miR-21在肿瘤组织中异常表达。miR-218在多种肿瘤组织和细胞中表现为下

调并与肿瘤的生长、侵袭和转移有关,被认为是肿瘤抑制因子^[9-11]。miR-218在宫颈癌组织、宫颈上皮内瘤变、宫颈癌细胞株中表现为明显的下调^[4,12-14],能明显抑制宫颈癌细胞侵袭和迁移^[15-16]。研究已经显示miR-21在多种肿瘤组织中表达增高,如头颈癌^[17]、子宫内膜样癌^[18]、肺癌^[19]等。也有报道miR-21与宫颈癌有关,在多种宫颈癌细胞及宫颈癌组织中表达明显增高^[15,20],而在癌前病变组织中并不增高^[21]。我们的结果与以上研究一致,提示miR-218在正常宫颈向宫颈癌转化过程中可能起抑癌基因的作用,而miR-21作为癌基因起作用。

miRNA在肿瘤发生过程中的作用尚不明确,对靶基因的功能分析有助于我们对miRNA作用机制的理解。靶基因的预测显示miR-218及miR-21有许多靶基因,一些靶基因在某些肿瘤中得到验证,如miR-218的靶基因LAMB3、Robo1^[22-24],miR-21的靶基因PDCD4、PTEN等^[25-26]。通过靶基因的功能分析,这些基因与肿瘤细胞的生长、凋亡、黏附和迁移等有关。研究显示miR-218通过作用于靶基因LAMB3与头颈鳞状细胞癌的发生有关^[24]。又有研究发现miR-218和LAMB3的多态性与宫颈癌的易感性有关^[27]。Robo1被认为是一个原癌基因,具有肿瘤迁移的活性,miR-218能通过Slit2/Robo1途径,抑制肿瘤细胞的生长、侵袭和转移^[22-23]。研究也显示miR-21能通过作用于PTEN和PDCD4促进肿瘤细胞增长^[18,26],参与肝细胞癌的侵袭和转移^[25]。这些研究显示miR-218及miR-21通过调节其下游的靶基因参与肿瘤的发生发展。

我们的研究显示,miRNA在宫颈癌及癌前病变中有异常表达,这些miRNA可能与肿瘤的发生发展有关,有可能成为潜在的肿瘤生物标志物和分子靶标,然而这些miRNA在宫颈癌中的作用还有待进一步研究,对miRNA靶基因的功能研究将有助对miRNA在宫颈癌发生发展机制的理解。

参考文献:

[1] Cheung TH,Man KN,Yu MY,et al.Dysregulated microRNAs in the pathogenesis and progression of cervical neoplasm[J].Cell Cycle,2012,11(15): 2876-84
 [2] Lewis BP,Burge CB,Bartel DP.Conserved seed pairing, often flanked by adenosines,indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J].Cell,2005,120(1):15-20.
 [3] Lee JW,Choi CH,Choi JJ,et al.Altered microRNA expression in cervical carcinomas[J].Clin Cancer Res,2008,14(9):2535-42.
 [4] Rao Q,Shen Q,Zhou H,et al.Aberrant microRNA expression in human cervical carcinomas[J].Med Oncol,2012,29(2):1242-8.
 [5] Huang L,Lin JX,Yu YH,et al.Downregulation of six microRNAs is associated with advanced stage,lymph node metastasis and poor prognosis in small cell carcinoma of the cervix[J].PLoS One,2012,7(3):e33762.
 [6] Pereira PM,Marques JP,Soares AR,et al.MicroRNA expression variability in human cervical tissues[J].PLoS One,2010,5(7): e11780.
 [7] Hall JS,Taylor J,Valentine HR,et al.Enhanced stability of

microRNA expression facilitates classification of FFPE tumour samples exhibiting near total mRNA degradation[J].Br J Cancer, 2012,107(4):684-94.
 [8] Hui AB,Shi W,Boutros PC,et al.Robust global micro-RNA profiling with formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissues[J].Lab Invest,2009,89(5):597-606.
 [9] Venkataraman S,Birks DK,Balakrishnan I,et al.MicroRNA 218 acts as a tumor suppressor by targeting multiple cancer phenotype-associated genes in medulloblastoma[J].J Biol Chem,2013,288(3):1918-28.
 [10] Davidson MR,Larsen JE,Yang IA,et al.MicroRNA-218 is deleted and downregulated in lung squamous cell carcinoma[J].PLoS One,2010,5(9):e12560.
 [11] Gao C,Zhang Z,Liu W,et al.Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer[J].Cancer,2010,116(1):41-9.
 [12] Martinez I,Gardiner AS,Board KF,et al.Human papillomavirus type 16 reduces the expression of microRNA-218 in cervical carcinoma cells[J].Oncogene,2008,27(18):2575-82.
 [13] Li Y,Liu J,Yuan C,et al.High-risk human papillomavirus reduces the expression of microRNA-218 in women with cervical intraepithelial neoplasia[J].J Int Med Res,2010,38(5):1730-6.
 [14] Gai HX.Preliminary research on the correlation between miR-218 down-regulation and cervical cancer[J].Zhongguo Xian Dai Yi Sheng,2012,50(27):28-30.[盖红霞. miR-218下调与宫颈癌发生相关性的初步研究[J].中国现代医生,2012,50(27):28-30.]
 [15] Yamamoto N,Kinoshita T,Nohata N,et al.Tumor suppressive microRNA-218 inhibits cancer cell migration and invasion by targeting focal adhesion pathways in cervical squamous cell carcinoma[J].Int J Oncol,2013,42(5):1523-32.
 [16] Li J,Ping Z,Ning H.MiR-218 impairs tumor growth and increases chemo-sensitivity to cisplatin in cervical cancer[J].Int J Mol Sci,2012,13(12):16053-64.
 [17] Tu HF,Lin SC,Chang KW.MicroRNA aberrances in head and neck cancer:pathogenetic and clinical significance[J].Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg,2013,21(2):104-11.
 [18] Qin X,Yan L,Zhao X,et al.microRNA-21 overexpression contributes to cell proliferation by targeting PTEN in endometrioid endometrial cancer[J].Oncol Lett,2012,4(6):1290-6.
 [19] Vösa U,Vooder T,Kolde R,et al.Meta-analysis of microRNA expression in lung cancer[J].Int J Cancer,2013,132(12):2884-93.
 [20] Gocze K,Gombos K,Juhasz K,et al.Unique microRNA expression profiles in cervical cancer[J].Anticancer Res,2013,33(6):2561-7.
 [21] Deftereos G,Corrie SR,Feng Q,et al.Expression of mir-21 and mir-143 in cervical specimens ranging from histologically normal through to invasive cervical cancer[J].PLoS One,2011,6(12): e28423.
 [22] Tie J,Pan Y,Zhao L,et al.MiR-218 inhibits invasion and metastasis of gastric cancer by targeting the Robo1 receptor[J].PLoS Genet,2010,6(3):e1000879.
 [23] Alajez NM,Lenarduzzi M,Ito E,et al.MiR-218 suppresses nasopharyngeal cancer progression through downregulation of survivin and the SLIT2-ROBO1 pathway[J].Cancer Res,2011,71(6):2381-91.
 [24] Kinoshita T,Hanazawa T,Nohata N,et al.Tumor suppressive microRNA-218 inhibits cancer cell migration and invasion through targeting laminin-332 in head and neck squamous cell carcinoma[J].Oncotarget,2012,3(11):1386-400.
 [25] Yao Q,Xu H,Zhang QQ,et al.MicroRNA-21 promotes cell proliferation and down-regulates the expression of programmed cell death 4 (PDCD4) in HeLa cervical carcinoma cells[J].Biochem Biophys Res Commun,2009,388(3):539-42.
 [26] Zhang JG,Wang JJ,Zhao F,et al.MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J].Clin Chim Acta,2010,411(11-12):846-52.
 [27] Zhou X,Chen X,Hu L,et al.Polymorphisms involved in the miR-218-LAMB3 pathway and susceptibility of cervical cancer,a case-control study in Chinese women[J].Gynecol Oncol,2010,117(2):287-90.

[编辑: 安 凤; 校对: 邱颖慧]