

doi: 103969/j. issn. 0490-6756. 2016. 01. 038

# miR-330 调控 TAp73 $\alpha$ 介导的结直肠癌 细胞 HCT116 对顺铂的敏感性

黄玲<sup>1</sup>, 张渝君<sup>1</sup>, 肖智雄<sup>1</sup>, 童英<sup>1</sup>

(四川大学生命科学学院生长代谢与衰老研究中心 生物资源和生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

**摘要:** microRNA 调控靶向基因的表达, 影响其细胞周期进程、凋亡等过程的进行. 采用双荧光素酶报告基因的方法, 发现 miR-330 可以降低结合 P73-3'UTR 的荧光活性, 同时在 HCT116 细胞中, 慢病毒过表达 miR-330 可以抑制内源性 TAp73 蛋白的表达, 在此基础上, 用 cisplatin 处理细胞后, 过表达 miR-330 的细胞加速凋亡, 而这一过程在恢复 TAp73 的表达后, 细胞凋亡活动又被减弱. 另一方面, 包装慢病毒 shRNA-P73 感染 HCT116 细胞所引起的生物学效应与 miR-330 一致. 而且这种作用不依赖于 p53. 所以, 在结肠癌细胞 HCT116 中, 过表达 miR-330 可下调 P73 的表达并增强细胞对治疗药物顺铂的敏感性, 为治疗顺铂抗性的肿瘤细胞提供了一条新途径.

**关键词:** p73; miR-330; 细胞凋亡; 顺铂; 结肠癌

中图分类号: Q291

文献标识码: A

文章编号: 0490-6756(2016)01-0228-07

## TAp73 $\alpha$ -mediated cisplatin sensitivity was suppressed by miR-330 in colorectal cancer cell HCT116

HUANG Ling<sup>1</sup>, ZHANG Yu-Jun<sup>1</sup>, XIAO Zhi-Xiong<sup>1</sup>, TONG Ying<sup>1</sup>

(Center of Growth, Metabolism and Aging, Key Laboratory of Biological Resources and Ecological Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610064, China.)

**Abstract:** microRNA could regulate the expression of targeted genes via influencing its cell cycle, apoptosis and other processes. P73-3'UTR dual-luciferase activity could be decreased by overexpressing miR-330. And endogenous TAp73 protein level could be downregulated via miR-330 overexpression by packaging lenti-virus. Meanwhile, apoptosis activities can be increased after cisplatin treatment in HCT116 cell lines stable expression miR-330. However, the process could be rescued by restoring the TAp73 expression, which is independent of p53. What's more, The same biological effects could be imitated by downregulating P73 protein level via packaging shRNA-P73. So TAp73 $\alpha$ -mediated cisplatin sensitivity was suppressed by miR-330 in colorectal cancer cell HCT116, providing an effective strategy for therapeutic treatment of cisplatin-resistant cancer cells.

**Key words:** p73; MiR-330; Apoptosis; Cisplatin; Colorectal cancer

收稿日期: 2015-04-09

基金项目: 国家自然科学基金(31171362)

作者简介: 黄玲(1987-), 女, 甘肃天水人, 硕士, 主要研究方向为细胞衰老的分子机理. E-mail: pots611@126.com

通讯作者: 童英. E-mail: tongying@scu.edu.cn

## 1 引言

p53 基因家族成员 p73 是一个重要的转录因子, 参与调控细胞周期、细胞凋亡等一系列活动。但是其在肿瘤发生中的作用依旧不清楚。p73 在 N 端有两种不同的启动子, 形成两种亚型 TAp73 和  $\Delta$ Np73。TAp73 含有 N 端的转录激活域, 与 p53 的功能相似,  $\Delta$ Np73 缺失这一区域。根据 C 端剪切方式的不同, p73 又可形成不同的  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  亚型<sup>[1]</sup>。

TAp73 在维持基因组稳定性方面发挥了重要作用<sup>[2]</sup>, 并可激活 p53 相关基因以诱导细胞凋亡的发生<sup>[1]</sup>。然而最近的研究为 TAp73 在特定条件下促增值的作用提供了新证据。在 TAp73 基因敲除的小鼠中, 由线粒体功能紊乱和活性氧 (ROS) 稳态平衡的破坏所诱导的氧化损伤和细胞衰老, 导致小鼠个体加速衰老<sup>[3]</sup>。在一些肿瘤细胞中, TAp73 可激活葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD) 以促进细胞的增值, 揭示了其调节磷酸戊糖代谢的功能<sup>[4]</sup>。此外, 在小细胞肺癌 (SCLC) 细胞中, TAp73 $\alpha$  可抑制药物诱导的凋亡活性, 表现出致癌基因的作用<sup>[5-7]</sup>。

microRNAs 是一类长度在 18~25 核苷酸左右的非编码小 RNA, 主要通过与下游靶标基因的 3'UTR 配对结合来调控基因的表达, 在细胞增殖、凋亡和肿瘤发生中具有关键作用。hsa-miR-330 (miR-330) 在脑癌、前列腺癌、肺癌、结肠癌和血液癌中表达下调<sup>[8,9]</sup>, 其表达水平还与癌症转移和临床治疗效果相关<sup>[10,11]</sup>。然而 miR-330 在人类癌症发病机制中的详细作用目前仍所知甚少。miR-330 基因编码两种成熟 miRNA, miR-330-5p 和 miR-330-3p。近年的研究发现 miR-330-3p 在肿瘤发生中具有重要作用。在前列腺癌细胞中, miR-330-3p 可以通过抑制 E2F1 介导的 Akt 磷酸化来诱导细胞凋亡, 也可通过下调转录因子 Sp1 表达来抑制细胞迁移<sup>[12,13]</sup>。miR-330-3p 还可靶向 Cdc42 以抑制结直肠癌细胞的增值<sup>[14]</sup>。然而, 也报道了一些相反的结果。在成胶质细胞瘤细胞中, miR-330-3p 能够靶向 SH3GL2 (endophilin-1) 以促进细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[15]</sup>。在乳腺癌细胞中, miR-330-3p 可通过抑制 CD44 的表达来促进细胞的增值<sup>[16]</sup>。目前虽然没有发现确切的 miR-330-5p 的靶向基因, 但 miR-330-5p 的表达也与人类癌症相关, 其在肿瘤发生中的功

能和分子机制有待进一步阐明。

目前, 仅有三个 microRNA (miR-193-5p、miR-602 和 miR-765) 已被证实能够不同水平地抑制 p73 的表达<sup>[17]</sup>, 其它调控 p73 的 microRNA 还在大量筛选中。

本文中我们报道, p73 基因沉默可增强顺铂诱导的细胞凋亡。miR-330 通过靶向结合 TAp73 $\alpha$  的 3'UTR 抑制其蛋白的表达。在结肠癌细胞 HCT116 中, 过表达 miR-330 可下调 TAp73 的表达并增强细胞对治疗药物顺铂的敏感性。我们的数据为治疗顺铂耐受性肿瘤提供了一种新的策略。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

pmir-GLO、pLvX-puro、pcDNA-Flag-TAp73 $\alpha$  和 pcDNA-Flag-TAp73 $\beta$  慢病毒表达载体以及用于病毒包装的载体 PMD2. G、psPXA2 均由本实验室保存。293T、H1299 和 HCT116 细胞均为本实验室保存。DMEM 高糖培养基购自 Hyclone 公司。脂质体 Lipofectamin 2000 购自 Invitrogen 公司。Western 显色试剂购自 BD Biosciences。碘化丙啶 (PI, P4170, Sigma) 和 RNase A (12091-021) 分别购自 Sigma 和 Invitrogen。p73 (1636-1, 1:1000) 购自 Epitomics, p53 (sc-126, 1:1000) 购自 Santa Cruz Biotechnology, Bax (2772, 1:1000) 购自 Cell Signaling Technology, GAPDH (R1208-3, 1:1000) 购自 HuaAn Biotechnology, 二抗羊抗鼠 (sc-2005, 1:3000)、羊抗兔 IgG-HRP (sc-2004, 1:3000) 购自 Santa Cruz Biotechnology; 其他试剂购自成都奥克生物。

### 2.2 方法

2.2.1 载体构建 miRNA 和 p73-3'UTR 序列从人基因组 DNA 中扩增, 分别克隆到慢病毒载体 pLVX-puro 和 pmirGLO 双荧光报告载体 (p73-3'UTR-Luc)。hsa-miR-330 扩增引物 (F: CATGAATTCCTCTCCCGTTTCTCCCTCTGC, R: GATTCTAGATC-TCCCCACTCACCCACACTG), p73 3'UTR 扩增引物 (F: TCTGTGCGACTCCACTGCCCCCTGCCCTAATG R: CCTGCGGCCGCGAGCCGCCCTGTTTGTCTGAG), shRNA-p73 (F: 5'-GATCCGCTGATGAGGACCACTACC TTCAAGA GAGGTAGTGGTCCTCATCAG CTTTTTTG-3', R: 5'-AATTCAAAAAAGCTGATGAGGACCAC-

TACCTCTCTTGAAGGTAGTGGTCCTCAT-CAGCG-3') 克隆到 pLVX-puro 中。

2.2.2 双荧光报告基因 选择生长状态良好的 H1299 细胞培养至密度达 30% 左右时, 换为不含抗生素和血清的 DMEM 培养基, 按照 Lipofectamin2000 说明书的方法进行 pLVX-vec/pLVX-miRNA 与 p73-3'UTR-Luc 的共转染. 4-6h 后换为正常培养基, 24h 后裂解细胞, 分别测量 Luc 和 Renilla 的荧光值. MiR-330 与 p73- $\Delta$ UTR-Luc 实验方法相同。

2.2.3 Western blot 检测 收集细胞, 离心后加入裂解液作匀浆及涡旋振荡处理, 样品经 10% 的 SDS-PAGE 电泳, 转移到 PVDF 膜上, 4% 脱脂奶粉封闭 1h 后, 加入一抗 4 °C 孵育过夜, 二抗室温孵育 1 h, 最后经 ECL 显影成像。

2.2.4 流式细胞术 消化并收集 HCT116 细胞, PBS 洗涤两次, 离心去 PBS, 加入预冷的 70% 乙醇固定细胞, 4 °C, 2h, 离心弃去固定液, PBS 重悬, 离心弃去 PBS, 加入 500  $\mu$ L PBS, 其中含有终浓度为 50  $\mu$ g/mL 的 PI (碘化丙啶) 和 100  $\mu$ g/mL 的 RNase A, 37 °C 避光染色 40min, 流式细胞仪检测并分析实验结果。

### 3 结果与分析

#### 3.1 沉默 p73 的表达可增强 HCT116 细胞对顺铂的敏感性

p73 在调控基因组稳定性和细胞凋亡中扮演重要角色, 为了检测 HCT116 细胞中内源性 p73 的亚型, 我们在检测不到内源 p73 表达的肺癌细胞 H1299 中, 异源表达 TAp73  $\alpha$  或 TAp73 $\beta$ . Western 结果表明, TAp73 $\alpha$  是 HCT116 细胞的主要表达亚型 (图 1A)。

我们用 shRNA 沉默 p73 的表达, 检测 p73 在顺铂诱导的 HCT116 细胞凋亡中的作用. 流式分析表明, 没有顺铂处理时, 对照组 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞的 sub-G1 群体很低 (0.54  $\pm$  0.20%), TAp73 $\alpha$  的沉默导致该群体稍有上升 (2.88  $\pm$  0.93%), 顺铂处理 24h 则使 sub-G1 群体增加到 8.83  $\pm$  1.69%. 当用顺铂处理 TAp73 $\alpha$  沉默的细胞 24 h 后, sub-G1 细胞比对照组多了 5.2 倍 (46.25  $\pm$  6.29%,  $P < 0.01$ ) (图 1B, C). Western 检测证明了 TAp73 $\alpha$  表达水平的显著下降和顺铂处理时 p53 表达的增加. Western 同时显示, 细胞凋亡的另一个重要标记 Bax, 也随

TAp73 $\alpha$  的沉默而上调 (图 1D). 因此 TAp73 $\alpha$  沉默和顺铂处理所引起的细胞死亡具有细胞凋亡的特点。

在 HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中进行的平行实验中, 对照组细胞的背景死亡率为 0.53  $\pm$  0.02% (图 1E, F), 单独沉默 TAp73 $\alpha$  或顺铂处理后, 细胞的死亡率分别为 3.66  $\pm$  0.55%、6.97  $\pm$  0.46%, 而沉默 TAp73 $\alpha$  使顺铂诱导的细胞死亡率上升到 39.29  $\pm$  7.16% ( $P < 0.01$ ), 同时伴随 Bax 表达的上升 (图 1G). 因此, 沉默 TAp73 $\alpha$  的表达可增强表达 p53 以及不表达 p53 的 HCT116 细胞对顺铂的敏感性。

#### 3.2 miR-330 直接下调 TAp73 $\alpha$ 的表达

我们首先采用 TargetScan、miRDB、miRanda 等生物信息学程序筛选可能参与调控 p73 的 miRNA, 将候选 miRNA 克隆到 pLVX-puro 载体, 并构建含 p73 3'UTR 的双荧光素酶报告基因 (p73-3'UTR-Luc), 然后用两种质粒共转染 H1299 细胞, 检测荧光素酶活性的变化情况. 实验结果表明, miR-330 的转染使荧光素酶活性降低到对照的 72.5% ( $P < 0.001$ ), 表明 miR-330 有可能通过结合 p73 的 3'UTR 来抑制荧光素酶的活性. 文献报道的 miR-193 (正对照) 同样可降低报告基因的表达, 而 miR-106b 和 miR-612 则不能影响荧光素酶活性 (图 2A). 在 p73 的 3'UTR 上有一个 miR-330 的可能靶点 (图 2B), 这个靶点在 p73 所有亚型中都含有, 并在哺乳类中保守存在. 我们构建了缺失该结合位点核心序列的载体 p73- $\Delta$ UTR-Luc. 将 miR-330 和 p73-3'UTR-Luc 或 p73- $\Delta$ UTR-Luc 分别共转染 H1299 细胞, 结果表明, miR-330 可降低野生型 p73 3'UTR 的荧光素酶活性, 而核心序列的缺失导致其作用丧失了 ( $P < 0.001$ ) (图 2C). 因此, miR-330 可直接结合 p73 的 3'UTR 并抑制其表达. 进一步的实验表明, 在 HCT116<sup>p53+/+</sup> 和 HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中, 过表达 miR-330 均可下调内源性 TAp73 $\alpha$  的表达 (图 2D)。

#### 3.3 miR-330 通过下调 TAp73 $\alpha$ 的表达来增强 HCT116 细胞对顺铂的敏感性

我们探究了 miR-330 在肿瘤细胞化疗中的作用. 在 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞中, miR-330 的异源表达可使 sub-G1 的细胞数从背景水平 (0.53  $\pm$  0.16%) 上升到 3.27  $\pm$  0.84% ( $P < 0.05$ ). 顺铂处理的 sub-G1 细胞数则为 8.41  $\pm$  1.48% ( $P < 0.01$ ).

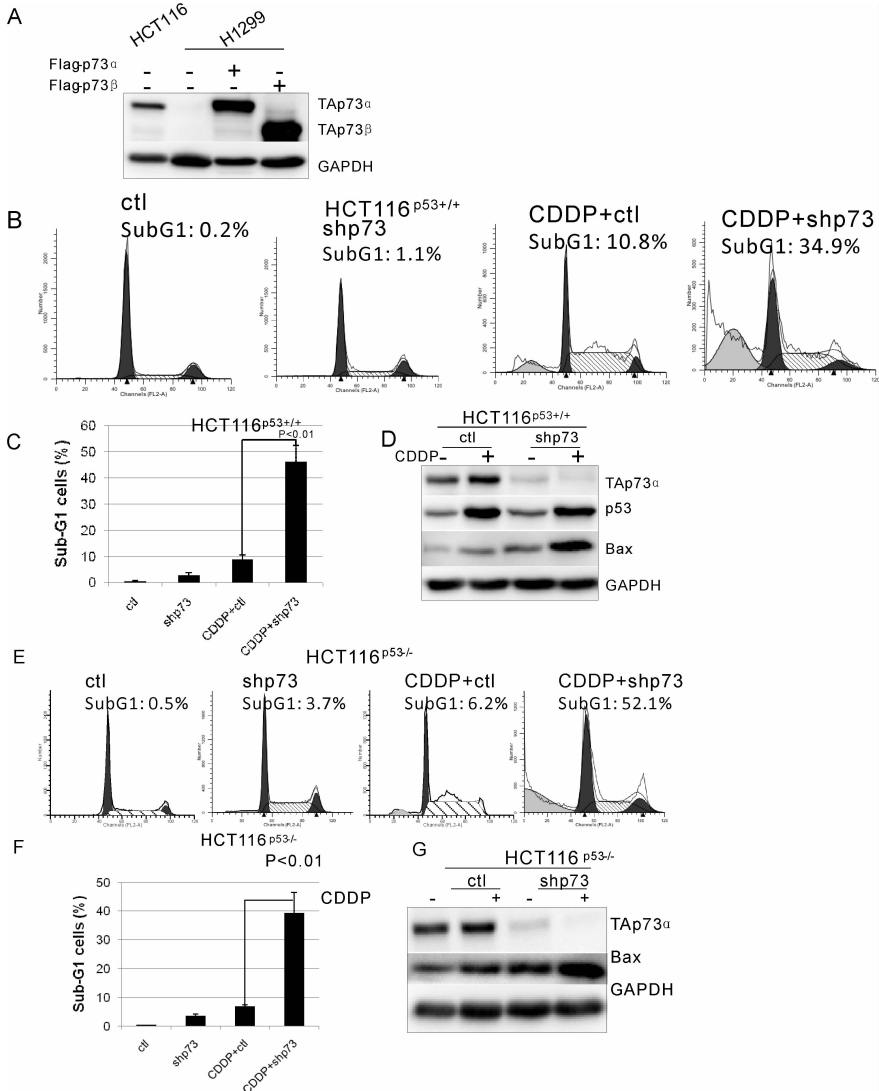


图 1 p73 的沉默可增强 HCT116 细胞对顺铂的敏感性

A. HCT116 细胞主要表达 TAp73 $\alpha$  亚型。B-D. 沉默 p73 的表达可增强 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞对顺铂的敏感性。图示流式细胞仪检测的直方图 (B) 和三次独立实验所得的 sub-G1 数据的统计分析, (C) Western 检测蛋白表达量的变化 (D)。E-G. HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中的平行实验。

Fig. 1 Knockdown p73 enhances chemosensitivity to cisplatin in HCT116 cells.

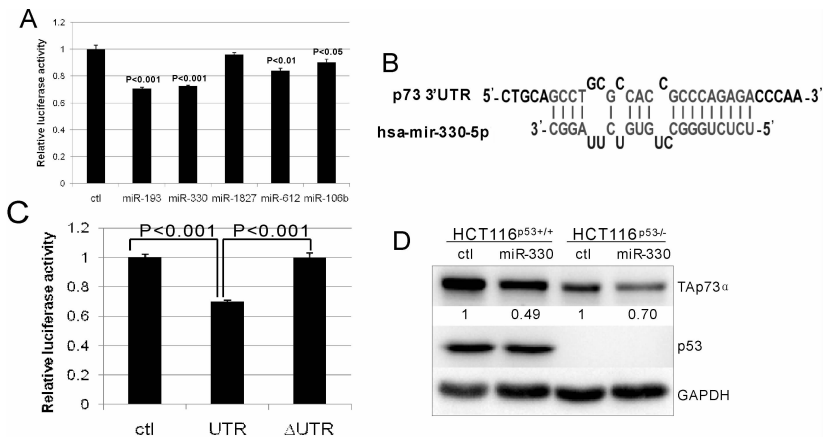


图 2 miR-330 通过靶向结合 p73 3'-UTR 抑制 TAp73 $\alpha$  的表达

Fig. 2 Expression of miR-330 inhibits TAP73 $\alpha$  expression via directly targeting p73 3'-UTR.

A. miR-330 表达抑制可 p73 3'-UTR-luc 的活性。B. p73-3'UTR 上 miR-330 的预测结合位点, 划线部分为核心序列。C. 核心序列的缺失导致 miR-330 对 p73 的作用丧失。D. miR-330 过表达可下调 HCT116<sup>p53+/+</sup> 和 HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中内源性 TAp73 $\alpha$  的水平。

转染 miR-330 的细胞经顺铂处理后, sub-G1 数上升为  $28.66 \pm 2.47\%$  ( $P < 0.01$ ), 比对照组增加了 3.4 倍, 表明 miR-330 的过表达可促进顺铂诱导的细胞死亡 (图 3A, B).

Western 实验显示, 顺铂处理 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞可诱导 TAp73 $\alpha$  表达的上升, miR-330 的过表达则抑制了顺铂诱导的 TAp73 $\alpha$  上调. 另一方面, 在对照和过表达 miR-330 的细胞中, 顺铂都

可诱导 p53 表达的上升 (图 3C). 因此在 HCT116 细胞中, TAp73 $\alpha$ , 而不是 p53, 可能参与调控 miR-330 诱导的药物敏感性.

在 HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中, 我们得到相似的结果. miR-330 的过表达使顺铂诱导的细胞死亡从  $6.41 \pm 0.34\%$  上升至  $16.93 \pm 2.36\%$  ( $P < 0.01$ ) (图 3D, E, F). 这些结果表明, miR-330 和顺铂可以协同地作用于 TAp73 $\alpha$  以调控细胞的凋亡.

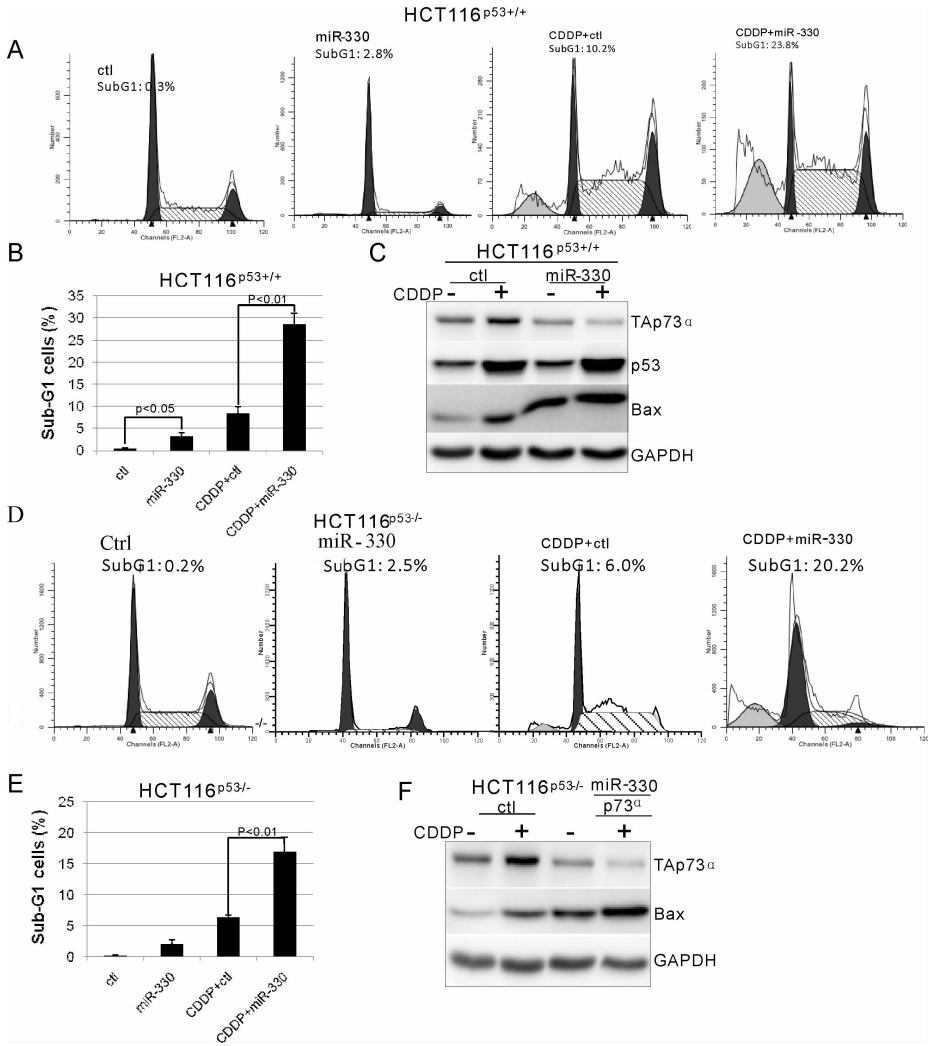


图 3 miR-330 增强 HCT116 细胞对顺铂的敏感性

Fig. 3 miR-330 increases chemosensitivity to cisplatin in HCT116 cells.

A-C. 稳定感染 pLVX-miR-330 或 pLVX-vec 的 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞, 顺铂处理后流式细胞仪检测结果, 图示代表的直方图 (A) 和三次独立实验所得的 sub-G1 数据的统计分析 (B), Western 检测蛋白表达量的变化 (C). D-F. HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中的平行实验.

### 3.4 TAp73 $\alpha$ 拮抗 HCT116 细胞中 miR-330 诱导的顺铂敏感性

为进一步证实 TAp73 $\alpha$  在 miR-330 诱导的顺铂敏感性中的作用, 我们在过表达 miR-330 的 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞中重新引入 TAp73 $\alpha$ . TAp73 $\alpha$  的过表达导致凋亡的细胞数轻微下降 (从  $3.23 \pm$

$0.58\%$  降至  $1.85 \pm 0.16\%$ ). 经顺铂处理 24h 后, 与转染 TAp73 $\alpha$  的细胞相比, 对照转染空载体的细胞, 其凋亡数从  $29.17 \pm 2.51\%$  显著减少到  $7.12 \pm 0.42\%$  (图 4A, B). Western 检测也证实, TAp73 的引入降低了 Bax 的表达, 而顺铂诱导的 p53 上调则不受影响 (图 4C).

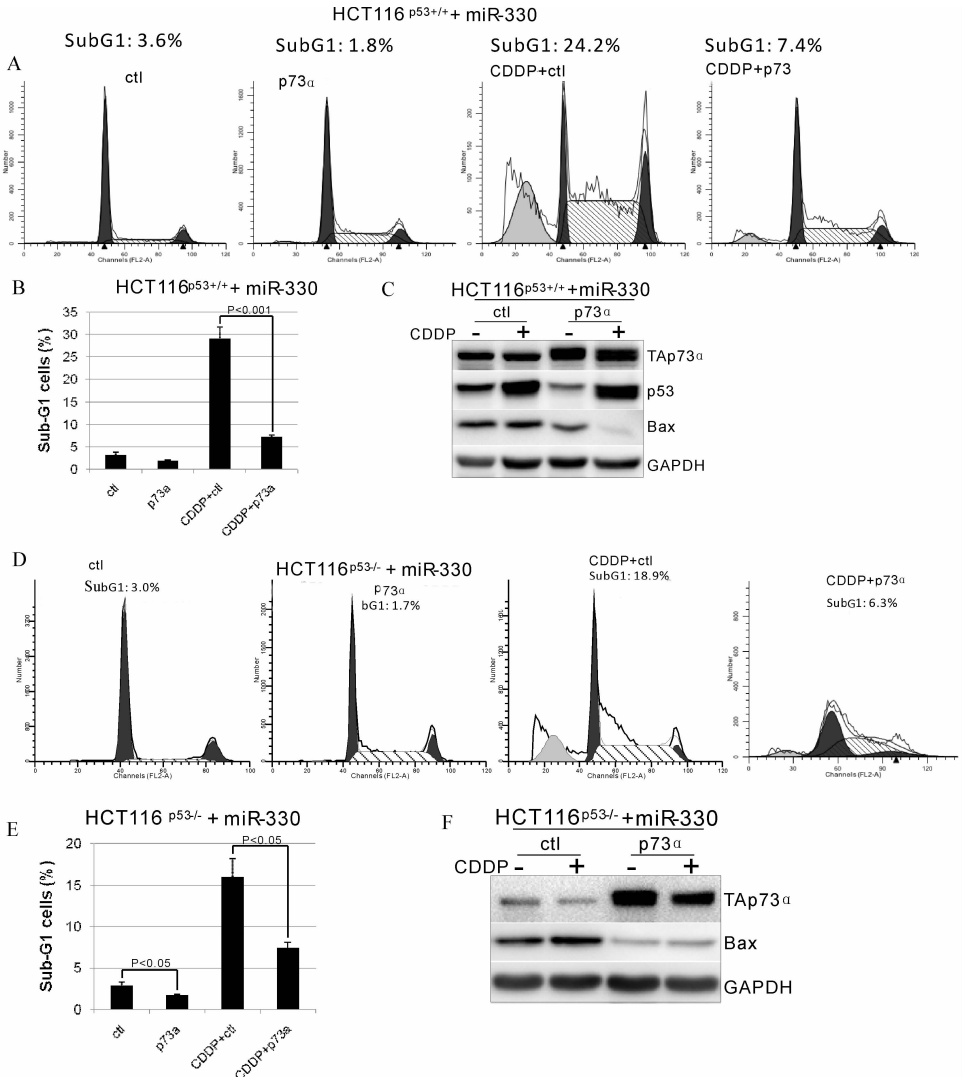


图 4 TAp73 $\alpha$  可拮抗 HCT116 细胞中 miR-330 诱导的顺铂敏感性

Fig. 4 TAp73 $\alpha$  counteracts miR-330 induced cisplatin-sensitivity in HCT116 cells.

A-C. 稳定表达 miR-330 的 HCT116<sup>p53+/+</sup> 细胞中转染 pcDNA-Flag-TAp73 $\alpha$ /pcDNA-vec, 顺铂处理后流式细胞仪检测结果, 图示代表的直方图(A)和三次独立实验所得的 sub-G1 数据的统计分析(B), Western 检测蛋白表达量的变化(C). D-F. HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中的平行实验.

随后, 在 HCT116<sup>p53-/-</sup> 细胞中的实验得到了相似的结果. 当在过表达 miR-330 的细胞中恢复 TAp73 $\alpha$  的表达时, 细胞的死亡率从  $2.88 \pm 0.39\%$  降为  $1.73 \pm 0.12\%$  ( $P < 0.05$ ), 顺铂的处理则使死亡率从  $15.99 \pm 2.21\%$  降至  $7.48 \pm 0.62\%$  ( $P < 0.05$ ) (图 4D, E). 与预期一致的是, TAp73 $\alpha$  的过表达抑制了 Bax 的表达(图 4F). 这些恢复实验的结果表明, TAp73 $\alpha$  可拮抗 HCT116 细胞中 miR-330 诱导的顺铂敏感性.

## 4 讨论

TAp73 主要作为促凋亡因子发挥作用. 然而

最近的研究表明, 在一些肿瘤细胞中, TAp73 也可以抑制凋亡的发生. 我们的实验结果表明, 沉默 p73 或过表达 miR-330 都能增强 HCT116 细胞对顺铂的敏感性, 这与文献报道的 TAp73 $\alpha$  可抑制小细胞肺癌 (SCLC) 细胞对化疗药物的敏感性一致<sup>[5-7]</sup>. miR-330 的促凋亡作用可能不是通过 p53 途径. 因为在 p53 缺失的结肠癌细胞系中, miR-330 具有相似的作用, 而且在表达野生型 p53 的 HCT116 细胞中, miR-330 也不影响 p53 的表达. 文献报道, 在 HCT116 细胞系中, 沉默 TAp73 表达可降低葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD) 的活性, 抑制线粒体功能、破坏 ROS 平衡<sup>[3-4]</sup>. 因此, miR-

330/TAp73 $\alpha$  对药物敏感性的调控有可能是通过改变细胞新陈代谢来实现的. 下一步可研究 330/p73 通路的下游靶点以及与其它信号途径的关系.

不同的剪切形成 p73 不同的亚型, 包括 N 端的 TAp73 和  $\Delta$ Np73 两种亚型, 以及 C 端的  $\alpha$ ,  $\beta$  和  $\gamma$  三种亚型<sup>[1]</sup>. 我们的实验发现 miR-330 可抑制 TAp73 $\alpha$  的表达并增强 HCT116 细胞对顺铂的敏感性. 我们发现的 p73 3'UTR 上 miR-330-5p 的结合位点在所有 p73 亚型中都存在, 因此, miR-330-5p 也可能在不同的细胞中靶向其它的 p73 亚型, 从而参与不同的生物学过程.

总结起来, 我们的实验表明, TAp73 $\alpha$ /miR-330 途径可调节结肠癌细胞 HCT116 对顺铂的敏感性, 这种作用不依赖于 p53. TAp73 $\alpha$ /miR-330 与顺铂的联合应用可为顺铂耐受性肿瘤细胞的治疗提供新的方法.

#### 参考文献:

- [1] Conforti F, Sayan A E, Sayan B S, *et al.* Regulation of p73 activity by post translational modifications[J]. Cell Death Dis, 2012, 3: e285.
- [2] Tomasini R, Tsuchihara K, Mak TW, *et al.* TAp73 knockout shows genomic instability with infertility and tumor suppressor functions[J]. Genes Dev, 2008, 22: 2677.
- [3] Rufini A, Niklison-Chirou M V, Mak T W, *et al.* TAp73 depletion accelerates aging through metabolic dysregulation[J]. Genes Dev, 2012, 26: 2009.
- [4] Du W, Jiang P, Yang X, *et al.* TAp73 enhances the pentose phosphate pathway and supports cell proliferation[J]. Nat Cell Biol, 2013, 15: 991.
- [5] Nyman U, Sobczak-Pluta A, Joseph B, *et al.* Full-length p73 $\alpha$  represses drug-induced apoptosis in small cell lung carcinoma cells[J]. J Biol Chem, 2013, 280:34159.
- [6] Muppani N, Nyman U, Joseph B. TAp73 $\alpha$  protects small cell lung carcinoma cells from caspase-2 induced mitochondrial mediated apoptotic cell death [J]. Oncotarget, 2011, 2: 1145.
- [7] Nyman U, Muppani N R, Joseph B, *et al.* Hsp72 mediates TAp73 $\alpha$  anti-apoptotic effects in small cell lung carcinoma cells[J]. J Cell Mol Med, 2010 15: 1757.
- [8] Gaur A, Jewell D A, Israel M A, *et al.* Characterization of microRNA expression levels and their biological correlates in human cancer cell lines[J]. Cancer Res, 2007, 67: 2456-68.
- [9] Visani M, Baruzzi A, Pession A, *et al.* Expression of 19 microRNAs in glioblastoma and comparison with other brain neoplasia of grades I-III[J]. Mol Oncol, 2014, 8: 417.
- [10] Lionetti M, Musto P, Neri A, *et al.* Biological and clinical relevance of miRNA expression signatures in primary plasma cell leukemia[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19: 3130.
- [11] Arora S, Ranade A R, Weiss G J, *et al.* MicroRNA-328 is associated with (non-small) cell lung cancer (NSCLC) brain metastasis and mediates NSCLC migration [J]. Int J Cancer, 2011, 129: 2621.
- [12] Lee K H, Chen Y L, Lu P J, *et al.* MicroRNA-330 acts as tumor suppressor and induces apoptosis of prostate cancer cells through E2F1-mediated suppression of Akt phosphorylation [J]. Oncogene, 2009, 28: 3360.
- [13] Mao Y, Chen H, Xie L, *et al.* MicroRNA-330 inhibits cell motility by downregulating Sp1 in prostate cancer cells[J]. Oncol Rep, 2013, 30: 327.
- [14] Li Y, Zhu X, Yan J, *et al.* MiR-330 regulates the proliferation of colorectal cancer cells by targeting Cdc42[J]. Biochem Biophys Res Commun. 2013, 431: 560.
- [15] Qu S, Yao Y, Liu Y, *et al.* MicroRNA-330 is an oncogenic factor in glioblastoma cells by regulating SH3GL2 gene[J]. PLoS One, 2012, 7: e46010.
- [16] Jeyapalan Z, Deng Z, Yang B B, *et al.* Expression of CD44 3'-untranslated region regulates endogenous microRNA functions in tumorigenesis and angiogenesis[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39: 3026.
- [17] Ory B, Ellisen LW. A microRNA-dependent circuit controlling p63/p73 homeostasis: p53 family cross-talk meets therapeutic opportunity[J]. Oncotarget, 2011, 2: 259.