

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.15.004

文章编号: 1005-8982(2016)15-0022-06

论著

## 缺氧条件下沉默解聚素 - 金属蛋白酶 17 基因 对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响\*

陈国福, 吴丽君, 张雪鹏, 蔡准, 孟祥潮

(华北理工大学附属医院 肿瘤外科, 河北 唐山 063000)

**摘要:目的** 探讨在缺氧条件下靶向针对解聚素 - 金属蛋白酶 17 (*ADAM17*) 基因的短发夹 RNA (shRNA) 对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的作用机制。**方法** 针对 *ADAM17* 基因设计具有特异性 *ADAM17*-shRNA, 经电穿孔转染 MCF-7 细胞。依据细胞培养条件 (常氧和缺氧) 和细胞转染因素 (空白 PBS、转染无义序列 *ADAM17*-shNC、转染 *ADAM17*-shRNA), 实验分为常氧对照组、常氧 shNC 组、常氧 shRNA 组、缺氧对照组、缺氧 shNC 组和缺氧 shRNA 组。通过充入 1% 氧 O<sub>2</sub>、5% 二氧化碳 CO<sub>2</sub> 和 94% 氮 N<sub>2</sub> 的混合气体培养箱模拟缺氧环境, 分别采用实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR)、iCELLigence 系统、流式细胞仪检测 MCF-7 细胞的 *ADAM17* 基因的表达水平、细胞生长曲线、增殖活性和细胞周期。**结果** 靶向针对 *ADAM17* 基因的 *ADAM17*-shRNA 在缺氧条件下可以有效沉默人乳腺癌 MCF-7 细胞 *ADAM17* 基因的表达 (缺氧 shRNA 组  $2^{-\Delta\Delta CT} = 0.55 \pm 0.16$ )。从而导致 MCF-7 细胞生长速度减慢, 细胞增殖能力降低, 细胞周期延缓。**结论** *ADAM17* shRNA 和缺氧存在协同作用, 共同抑制肿瘤细胞的增殖。

**关键词:** 解聚素 - 金属蛋白酶 17; 乳腺癌; 缺氧; 增殖; 细胞周期

**中图分类号:** R737.9

**文献标识码:** A

## Effect of silencing *ADAM17* gene on proliferation of human breast cancer MCF-7 cells under hypoxia\*

Guo-fu Chen, Li-jun Wu, Xue-peng Zhang, Zhun Cai, Xiang-chao Meng

(Department of Surgical Oncology, the Affiliated Hospital, North China University of Science and Technology, Tangshan, Heibei 063000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of short hairpin RNA (shRNA) targeting at a disintegrin and metalloproteinase 17 (*ADAM17*) gene on proliferation of human breast cancer MCF-7 cells under hypoxia. **Methods** The specific *ADAM17*-shRNA expression vector was designed for *ADAM17* gene. They were transfected into human breast carcinoma cell line MCF-7 cells by electroporation. Depending on cell culture conditions (normoxia or hypoxia) and cell transfection factors (blank control PBS, transfection with *ADAM17*-shNC, transfection with *ADAM17*-shRNA), experiment groups were divided into normoxic control group, normoxic shNC group, normoxic shRNA group, hypoxic control group, hypoxic shNC group and hypoxic shRNA group. Hypoxic environment was acquired by a three gas incubator filled with 1% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> and 94% N<sub>2</sub>. qRT-PCR was used to study the expression levels of *ADAM17*. The proliferative ability and cell growth curve of MCF-7 cells were detected by iCELLigence. Cell cycle distribution of MCF-7 cells was analyzed by flow cytometry. **Results** The specific *ADAM17*-shRNA expression vector could effectively silence the expression of *ADAM17* gene in human breast cancer MCF-7 cells under hypoxia [hypoxic shRNA group  $2^{-\Delta\Delta CT} = (0.55 \pm 0.16)$ ]. The proliferative ability and cell growth speed of MCF-7 cells were inhibited and the cell cycle was

收稿日期: 2015-12-28

\* 基金项目: 河北省自然科学基金 (No: C2010001767); 唐山市科学技术研究与发展计划项目 (No: 14130256B)

[通信作者] 张雪鹏, E-mail: syzxp@sina.com

delayed by shRNA transfection and hypoxic incubation. **Conclusions** It suggests that the synergistic effect of ADAM17-shRNA and hypoxia inhibits the proliferation of tumor cells.

**Keywords:** ADAM17; breast cancer; hypoxia; proliferation

缺氧是恶性实体肿瘤的重要生物学特征之一,缺氧与肿瘤的增殖、侵袭、转移密切相关<sup>[1]</sup>。缺氧的肿瘤细胞易发生基因突变,对放疗化疗更加耐受<sup>[2]</sup>。相关研究已证实,缺氧是乳腺癌等实体肿瘤微环境的基本特征之一<sup>[3]</sup>。解聚素-金属蛋白酶 17(a disintegrin and metalloproteinases 17, ADAM17)是解聚素-金属蛋白酶家族的重要成员之一,目前,研究发现 ADAM17 在乳腺癌的发生、发展中起到极其重要的作用。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是一种强大的基因沉默技术。课题前期研究发现,利用 RNAi 技术转染 ADAM17 siRNA 到乳腺癌 MCF-7 细胞中,可沉默 MCF-7 细胞 ADAM17 基因的表达,抑制其细胞的侵袭、趋向运动能力及增殖能力<sup>[4-5]</sup>。但关于在缺氧条件下利用 RNAi 沉默 ADAM17 基因对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响研究甚少,本研究旨在揭示缺氧和 ADAM17 与肿瘤细胞增殖的关系。初步探讨 RNAi 和缺氧微环境对肿瘤细胞增殖的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

MCF-7 细胞系购于中国医学科学院基础医学研究所细胞库, Trizol、M-MLV 逆转录试剂盒、Platinum SYBR PCR 试剂盒均由美国 Invitrogen 公司提供, ADAM17 shRNA 和 ADAM17 shNC 载体购买于上海吉玛制药技术有限公司,每个载体均包含绿色荧光蛋白 GFP 的表达框架,根据绿色荧光蛋白的表达情况来确定转染效率。靶序列如下: ADAM17 靶序列 pGPU6/GFP/Neo-homo-ADAM17 为 5'-GGAACCTTGATTAGCTTAT-3', 阴性对照无义序列 pGPU6/GFP/Neo-shNC: 5'-GTTCTCCGAACGTGCACGT-3'。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验分组** 依据细胞培养条件和细胞转染因素的不同,实验分为 6 组,见表 1。

**1.2.2 细胞培养** 将人乳腺癌 MCF-7 细胞用含有 10%胎牛血清、1%青霉素、链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基培养。常氧:即常氧下培养,37℃恒温、95%空气、5%二氧化碳 CO<sub>2</sub>、饱和湿度条件下于 CO<sub>2</sub> 培养箱内常规培养;缺氧:即缺氧下培养,37℃恒温,注入含 1%氧 O<sub>2</sub>、5%CO<sub>2</sub>、94%氮 N<sub>2</sub> 混合气体的赛默

Thermo 3131 水套式培养箱内,饱和湿度下缺氧培养。

表 1 实验分组

| 组别         | 细胞培养条件 | 细胞转染因素          |
|------------|--------|-----------------|
| 常氧对照组      | 常氧     | 非转染             |
| 常氧 shRNA 组 | 常氧     | 转染 ADAM17-shRNA |
| 常氧 shNC 组  | 常氧     | 转染 ADAM17-shNC  |
| 缺氧对照组      | 缺氧     | 非转染             |
| 缺氧 shRNA 组 | 缺氧     | 转染 ADAM17-shRNA |
| 缺氧 shNC 组  | 缺氧     | 转染 ADAM17-shNC  |

**1.2.3 电穿孔法转染** 收集细胞,每个电击杯中添加 1×10<sup>6</sup> 个细胞,每个电击杯中添加 5 μl 的 ADAM17-shRNA,加入质粒。充分混匀细胞,上机操作。设置 CUY21 EDIT II 细胞电转化仪的输出电压(125 V)、脉冲宽度(10 ms)和电转时间(1 min),电处理结束后,加入完全培养液。同样的方法转染 shNC 组 and 对照组,shNC 组加入转染试剂和无义序列 ADAM17-shNC,对照组加入与转染试剂和 ADAM17-shRNA 混合总量等量的 PBS。

**1.2.4 qRT-PCR 检测 MCF-7 细胞的 ADAM17 mRNA 的表达水平** 成功转染 12~24 h 后,根据细胞培养条件的不同,分别置入常氧下培养和缺氧下培养 24~48 h,按 Trizol 试剂说明书一步法提取总 RNA,测定总 RNA 的纯度和浓度符合实验要求后采用 M-MLV 试剂盒合成 cDNA,Platinum SYBR 试剂盒进行 PCR 扩增反应。ADAM17 引物序列:上游 5'-ATCAAACCCTTCTCCTGCG-3',下游 5'-CAAACCCATCCTCGTCCA-3',扩增片段长度 154 bp;β-actin 内参引物序列:上游 5'-GTCACCTTCACCGTTCCAGT TTT-3',下游 5'-TTCTTTCCACATTGCGTTGATTC-3',扩增片段长度 175 bp。对实验结果采用相对定量的方法进行分析。

**1.2.5 iCELLigence 系统检测 MCF-7 细胞的增殖** 使用 iCELLigence 系统进行检测,在 E-Plate L8 孔中加入 300 μl 混合均匀的细胞悬液。将 1 块 E-Plate L8 放到水套式培养箱中的 iCELLigence 上行缺氧培养。另 1 块放到 CO<sub>2</sub> 培养箱中的 iCELLigence 上行常氧培养。用 iCELLigence 系统检测,导出实验数据和结果图,传感器检测获得的细胞阻抗参数用细胞

指数(CI)来表示,应用 iCelligence DA Software 1.0 软件进行数据分析和图像处理。

**1.2.6 流式细胞仪分析细胞周期** 成功转染 12~24 h 后,根据细胞培养条件的不同,分别置入常氧和缺氧下培养 24 h,收集各组细胞,加入预冷的 70% 乙醇 2 ml 充分悬浮细胞,置于 4℃ 固定细胞 24 h 以上。细胞固定好后,加入预冷的 PBS 液重悬细胞,加入浓度为 50  $\mu$ g/ml 的 PI 染液 500  $\mu$ l,室温避光染色 30 min。用 300 网滤网过滤细胞悬液,选用标准程序经流式细胞仪检测。经细胞周期软件 ModFit 分析结果。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,用单因素方差分析,进行两个实验因素的各水平全面组合的实验时,用两因素析因设计的方差分析各实验因素的单独效应、主效应和因素的交互效应, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MCF-7 细胞成功转染 shRNA 表达载体

转染后连续常氧下培养 48 h 后置于荧光倒置相差显微镜下观察转染效率,本实验中电穿孔转染法的效率高达 90% 以上(见图 1),证实本实验应用的转染方法是成功的。

### 2.2 ADAM17 mRNA 相对表达水平

各组 ADAM17 mRNA 的相对表达量见表 2。根据析因方差分析得出,细胞培养条件对 MCF-7 细胞 ADAM17 mRNA 的表达情况有影响;细胞转染因素对 MCF-7 细胞 ADAM17 mRNA 的表达情况亦有影响。不同细胞培养条件间差异有统计学意义( $F = 17.914, P = 0.000$ )。缺氧条件下培养的 MCF-7 细胞的 ADAM17 mRNA 相对表达量低于常氧条件下培养

的。不同细胞转染因素之间差异有统计学意义( $F = 50.005, P = 0.000$ )。结合多重比较结果分析,无论常氧还是缺氧,转染 shRNA 的 MCF-7 细胞的 ADAM17 mRNA 的相对表达量低于对照组和 shNC 组( $P < 0.05$ ),对照组和 shNC 组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.3 细胞生长曲线和细胞增殖活性

经 iCelligence DA Software 1.0 软件处理分析后得到细胞生长曲线(见图 2A 和图 2B),并测得常氧对照组、常氧 shNC 组、常氧 shRNA 组、缺氧对照组、缺氧 shNC 组和缺氧 shRNA 组的 CI 分别为 6.22、6.19、3.12、2.86、2.73 和 1.27。对各组 MCF-7 细胞进行析因方差分析得出,细胞培养条件对 MCF-7 细胞的生长速度和增殖活性有影响;细胞转染因素对 MCF-7 细胞生长速度和增殖活性亦有影响。不同细胞培养条件比较差异有统计学意义( $F = 5.258, P = 0.000$ ),缺氧培养较常氧培养,各组的 MCF-7 细胞的生长速度在 24 h 内加快,24 h 后减慢,增殖活性降低;不同细胞转染因素差异有统计学意义( $F = 11.053, P = 0.000$ ),结合多重比较结果,无论常氧还是缺氧,转染 shRNA 的 MCF-7 细胞的生长速度和增殖活性

表 2 各组细胞的 ADAM17 mRNA 的表达情况

| 组别         | 例数 | $2^{-\Delta\Delta CT}$ |
|------------|----|------------------------|
| 常氧对照组      | 3  | 1.00                   |
| 常氧 shRNA 组 | 3  | $0.74 \pm 0.11^{1)}$   |
| 常氧 shNC 组  | 3  | $0.96 \pm 0.11$        |
| 缺氧对照组      | 3  | $0.95 \pm 0.57$        |
| 缺氧 shRNA 组 | 3  | $0.55 \pm 0.16^{2)3)}$ |
| 缺氧 shNC 组  | 3  | $0.84 \pm 0.11$        |

注:1)与常氧对照组和常氧 shNC 组比较, $P < 0.05$ ;2)与缺氧对照组和缺氧 shNC 组比较, $P < 0.05$ ;3)与常氧 shRNA 组比较, $P < 0.05$



A: 转染 shRNA 后的荧光图像; B: 转染 shRNA 后的明场图像; C: A 和 B 的叠加图像

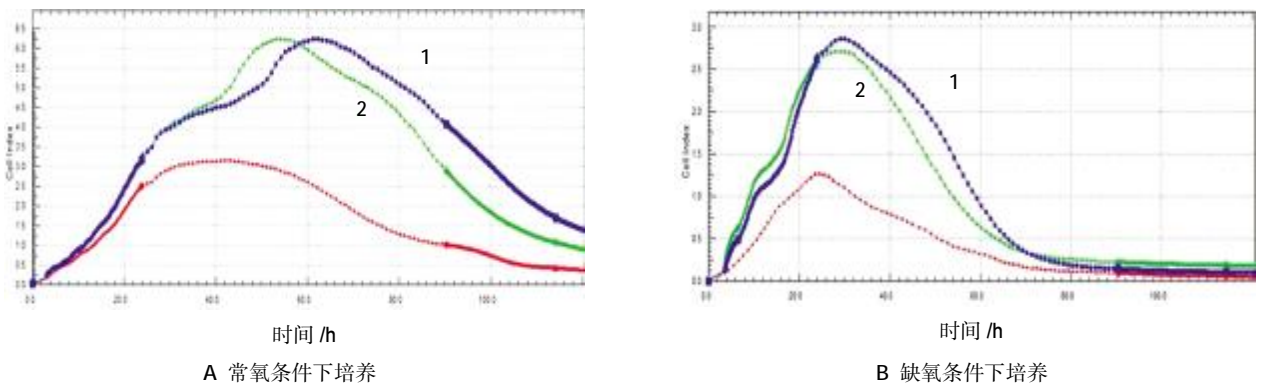
图 1 荧光倒置相差显微镜下观察转染效率 ( $\times 100$ )

相对于对照组和 shNC 组降低( $P < 0.05$ ),对照组和 shNC 组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

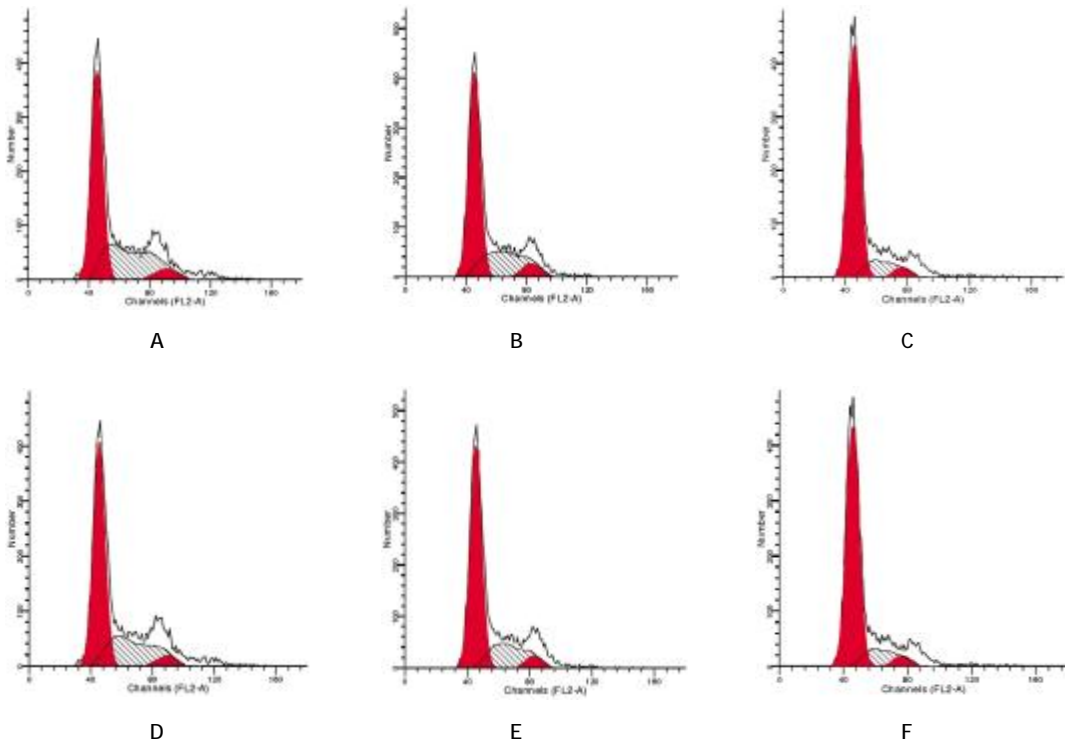
### 2.4 细胞周期的变化

各组的  $G_0/G_1$ 、S、 $G_2/M$  细胞周期见图 3 和表 3。各组的  $G_0/G_1$ 、S、 $G_2/M$  细胞周期的析因方差分析结果表明,细胞培养条件对 MCF-7 细胞周期中  $G_0/G_1$ 、S、 $G_2/M$  的情况均有影响;细胞转染因素对 MCF-7 细胞周期中的  $G_0/G_1$ 、S、 $G_2/M$  亦有影响。不同细胞培养条件比较差异有统计学意义( $G_0/G_1$  期: $F=60.211, P=0.000$ ; S 期: $F=37.061, P=0.000$ ;  $G_2/M$  期: $F=10.103, P=0.014$ ),

缺氧条件下培养的 MCF-7 细胞的  $G_0/G_1$  期细胞多于常氧条件下培养的,其 S、 $G_2/M$  期细胞均少于常氧下培养的;不同细胞转染因素比较差异有统计学意义( $G_0/G_1$  期: $F=95.853, P=0.000$ ; S 期: $F=31.974, P=0.000$ ;  $G_2/M$  期: $F=15.089, P=0.001$ )。结合多重比较结果发现,无论常氧还是缺氧,转染 ADAM17-shRNA 的 MCF-7 细胞的  $G_0/G_1$  期细胞多于对照组和 shNC 组( $P < 0.05$ ),S 期和  $G_2/M$  期细胞少于对照组和 shNC 组( $P < 0.05$ ),而对对照组和 shNC 组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。



1:对照组;2:shNC 组;3:shRNA 组  
图 2 各组细胞的生长曲线



A ~ C: 常氧状态;D ~ F: 缺氧状态;A、D: 对照组;B、E: shNC 组;C、F: shRNA 组

图 3 各组的流式细胞周期图

表 3 各组的 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub>/M 期细胞的百分比比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> | S                         | G <sub>2</sub> /M        |
|------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 常氧对照组      | 54.38 ± 1.95                   | 33.80 ± 4.09              | 11.82 ± 2.70             |
| 常氧 shNC 组  | 53.03 ± 2.52                   | 36.01 ± 1.55              | 10.97 ± 1.94             |
| 常氧 shRNA 组 | 70.10 ± 1.85 <sup>†</sup>      | 23.60 ± 1.09 <sup>†</sup> | 6.30 ± 0.82 <sup>†</sup> |
| 缺氧对照组      | 62.84 ± 2.09 <sup>†</sup>      | 26.15 ± 1.58 <sup>†</sup> | 11.02 ± 2.38             |
| 缺氧 shNC 组  | 62.57 ± 1.10 <sup>†</sup>      | 27.51 ± 1.98 <sup>†</sup> | 9.92 ± 1.95              |
| 缺氧 shRNA 组 | 74.35 ± 2.36 <sup>†</sup>      | 20.97 ± 1.35 <sup>†</sup> | 5.35 ± 0.38 <sup>†</sup> |

注:† 与常氧对照组比较,  $P < 0.05$

### 3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,据文献报道 2000~2006 年我国女性乳腺癌粗发病率为 6.96/10 万~71.46/10 万,且呈明显上升趋势<sup>[6]</sup>。目前多采用手术、放化疗和内分泌治疗等综合治疗手段,但效果并不理想。近年来,随着分子生物学技术的提高和对肿瘤发病机制的深入认识,开始针对细胞受体、关键基因和调控分子为靶点的治疗研究,即“靶向治疗”<sup>[7]</sup>。基因靶向治疗是当前乳腺癌治疗领域研究的热点。

ADAM17 是解聚素-金属蛋白酶家族的重要成员之一,具有解聚素和金属蛋白酶的活性,ADAM17 发挥蛋白剪切酶样的作用,使得蛋白细胞膜外功能区脱落,激活或释放许多结构和功能不同的分子,从而调节如增殖、运动能力等多种细胞生物学行为<sup>[8]</sup>。目前研究发现,ADAM17 在多种恶性肿瘤组织中呈现高表达,如乳腺癌<sup>[9]</sup>、脑胶质瘤<sup>[10]</sup>、头颈部鳞癌<sup>[11]</sup>、卵巢癌等<sup>[12]</sup>。RNAi 表现为双链 RNA,以序列特异性的方式来沉默内源性基因的表达。现大多数 siRNA 表达载体被设计成能表达短的发夹状 RNA (shRNA),使得 shRNA 在细胞内表达,随后被加工成 siRNA,从而发挥基因沉默作用。近来提出运用 RNAi 技术下调 ADAM17 表达水平,可以逆转乳腺癌细胞的恶性性状<sup>[13]</sup>,亦可抑制乳腺肿瘤的生长和侵袭能力,本实验研究证实,ADAM17-shRNA 可以有效沉默人乳腺癌 MCF-7 细胞 ADAM17 基因的表达,从而降低细胞生长速度,延缓细胞周期,抑制细胞增殖。马雷等<sup>[14]</sup>采用 shRNA 沉默 S100A4 基因对乳腺癌 MCF-7 细胞体外增殖和迁移力具有抑制作用。RNAi 抑制效果确切,为临床乳腺肿瘤的治疗提供一种有效的新方法。

相关研究已证实,缺氧是乳腺癌等实体肿瘤物理微环境的基本特征之一<sup>[3]</sup>。随着肿瘤细胞的快速生

长,体积增大,其内部血液供应不足,逐渐导致肿瘤内部氧的供应和消耗发生失衡,局部微环境的缺氧可以影响肿瘤细胞的增殖、浸润和转移、凋亡等恶性生物学行为的发生。赵婷婷等<sup>[15]</sup>发现,缺氧对乳腺癌细胞的生物学行为产生重要影响,尤其是增加乳腺癌细胞迁移、侵袭的能力。张博等<sup>[16]</sup>发现,缺氧能上调人乳腺癌 MCF-7 细胞 miRNA-21 表达,促进细胞凋亡,抑制细胞增殖。基于以上认识,本研究采用 RNAi 技术将针对 ADAM17 基因的 shRNA 表达载体转染入乳腺癌 MCF-7 细胞,通过体外模拟缺氧微环境,旨在观察缺氧条件下沉默 ADAM17 基因对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响。研究结果表明,ADAM17-shRNA 在缺氧条件下沉默 MCF-7 细胞的 ADAM17-mRNA 的表达,进而导致细胞生长速度减慢,细胞增殖能力降低,降低 MCF-7 细胞 S 期、G<sub>2</sub>/M 期的比例, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期出现明显阻滞,细胞周期延缓。证明细胞培养条件(缺氧条件)和细胞转染因素(转染 ADAM17 shRNA)对 MCF-7 细胞的 ADAM17-mRNA 的表达、细胞生长速度和增殖活性、细胞周期均有影响。因此得出,ADAM17-shRNA 和缺氧微环境存在协同作用,共同抑制肿瘤细胞的增殖。在缺氧条件下,ADAM17 与乳腺癌发生、发展的关系将为乳腺癌靶向治疗提供一个新的研究方向。有关缺氧与 RNA 干扰的相互作用机制有待进一步研究,相信对缺氧及 RNAi 技术的深入研究,将有助于人们解开肿瘤细胞和缺氧微环境之间的关系机制,为肿瘤的基础研究和临床靶向治疗提供新的思路和方法。

### 参 考 文 献:

- [1] RUAN K, SONG G, OUYANG G L. Role of hypoxia in the hallmarks of human cancer[J]. Cell Biochem, 2009, 107(6): 1053-1062.
- [2] BRISTOW R G, HILL R P. Hypoxia and metabolism: hypoxia, DNA repair and genetic instability[J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8(3): 180-192.
- [3] SEMENZA G L. Cancer-stromal cell interactions mediated by hypoxia-inducible factors promote angiogenesis, lymphangiogenesis, and metastasis[J]. Oncogene, 2013, 32(35): 4057-4063.
- [4] 杨雯靖, 张雪鹏, 焦桂梅, 等. ADAM17-siRNA 抑制人 MCF-7 乳腺癌细胞体外侵袭能力的研究[J]. 天津医药, 2011, 11(21): 1045-1047.
- [5] 路延芹, 赵光明, 张雪鹏, 等. ADAM17-siRNA 对 MCF-7 人乳腺癌细胞增殖的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(24): 3003-3005.
- [6] 唐志柳, 白洁, 顾丽娜, 等. 2000~2010 年我国前列腺癌和乳腺癌

- 流行状况的系统性综述[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(4): 260-265.
- [7] WESTEEL V, DEPIERRE A. Combined modality treatment of non-small-cell lung cancer [J]. *Am J Respir Med*, 2003, 2(6): 477-490.
- [8] BLACK R A. Tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34(1): 1-5.
- [9] GIRICZ O, CALVO V, PETERSON E A, et al. TACE-dependent TGF- $\alpha$  shedding drives triple negative breast cancer cell invasion[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(11): 2587-2595.
- [10] 呼铁民, 孙影. ADAM17 和 EGFR 在脑胶质瘤中的表达及意义[J]. 包头医学院学报, 2015, 31(8): 3-8.
- [11] GSCHWIND A, HART S, FISCHER O M, et al. TACE cleavage of proamphiregulin regulates GPCR-induced proliferation and motility of cancer cells[J]. *Embo J*, 2003, 22(10): 2411-2421.
- [12] SINNATHAMBY G, ZERFASS J, HAFNER J, et al. ADAM metallopeptidase domain 17 (ADAM17) is naturally processed through major histocompatibility complex (MHC) class I molecules and is a potential immunotherapeutic target in breast, ovarian and prostate cancers[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 163: 324-332.
- [13] 刘爽, 马荣. ADAM17 在恶性肿瘤中的研究及其进展[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(17): 3386-3389.
- [14] 马雷, 吴爱国, 纪术峰, 等. 短发夹 RNA 沉默 S100A4 基因对乳腺癌 MCF-7 细胞体外增殖和迁移力的抑制[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(4): 402-406.
- [15] 赵婷婷, 邢鹏, 金锋, 等. 缺氧对人乳腺癌细胞系 MCF-7 生物学行为的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(5): 1015-1019.
- [16] 张博, 张雪鹏, 胡宝山, 等. 缺氧对人乳腺癌 MCF-7 细胞 miRNA-21 表达的影响及与细胞增殖和凋亡的关系[J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(4): 265-269.

(申海菊 编辑)