



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.016  
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.016  
Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(11):1615-1621.

· 基础研究 ·

# miR-204 对 TFAM 的靶向调控作用及其对乳腺癌细胞生长与增殖的影响

肖顺崇, 罗汉传, 覃俊仕

(广西医科大学第八附属医院 / 贵港市人民医院 甲状腺乳腺外科, 广西 贵港 537100)

## 摘要

**目的:** 探讨乳腺癌细胞中 miR-204 对线粒体转录因子 A (TFAM) 的靶向调控作用及其与细胞生长、增殖的关系。

**方法:** 将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞分别转染 miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物, 用 real-time PCR 和 Western blot 分别检测 miR-204 与 TFAM 蛋白的表达; 构建荧光酶报告基因质粒 (mut-TFAM/wt-TFAM), 将其与 miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物共转染 MDA-MB-231 细胞后检测荧光酶活性变化; 构建 pcDNA3.1/TFAM 质粒, 将其单独或与 miR-204 模拟物共转染 MDA-MB-231 细胞后检测 TFAM 蛋白表达, 并用 MTT 法和 BrdU 法检测细胞生长与增殖情况。

**结果:** MDA-MB-231 细胞转染 miR-204 模拟物后 miR-204 的表达明显升高, 而 TFAM 蛋白表达明显降低, 转染 miR-204 抑制物后则呈反向变化 (均  $P < 0.05$ )。wt-TFAM 与 miR-204 模拟物共转染时荧光酶活性明显下降, 与 miR-204 抑制物共转染时荧光酶活性明显升高 (均  $P < 0.05$ )。转染 pcDNA3.1/TFAM 后, MDA-MB-231 细胞的 TFAM mRNA 及蛋白表达量明显上调, 细胞生长与增殖能力明显升高 (均  $P < 0.05$ ); miR-204 模拟物后, MDA-MB-231 细胞在 TFAM 表达降低的同时, 细胞生长与增殖能力明显降低, 而与 pcDNA3.1/TFAM 共转染后其上述作用均被部分抵消 (均  $P < 0.05$ )。

**结论:** miR-204 能靶向抑制乳腺癌细胞 TFAM 的表达, 从而抑制乳腺癌细胞的生长与增殖。

## 关键词

乳腺肿瘤; 微 RNAs; 高迁移率族蛋白质类; 细胞增殖  
中图分类号: R737.9

## Targeted regulation of miR-204 on TFAM and their influence on growth and proliferation in breast cancer cells

XIAO Shunchong, LUO Hanchuan, QIN Junshi

(Department of Thyroid and Breast Surgery, Guigang People's Hospital/the Eighth Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Guigang, Guangxi 537100, China)

## Abstract

**Objective:** To investigate the targeted regulation of miR-204 on mitochondrial transcription factor A (TFAM) in breast cancer cells and their relations with cell growth and proliferation.

**Methods:** Human breast cancer MDA-MB-231 cells were transfected with miR-204 mimics or inhibitors, and then, the miR-204 and TFAM protein expressions were determined by real-time PCR and Western blot,

收稿日期: 2016-08-26; 修订日期: 2016-10-17。

作者简介: 肖顺崇, 广西医科大学第八附属医院 / 贵港市人民医院主治医师, 主要从事甲状腺乳腺肿瘤基础与临床方面的研究。

通信作者: 罗汉传, Email: luohanchuan@126.com

respectively. The luciferase reporter plasmids (mut-TFAM/wt-TFAM) were constructed and co-transfected with miR-204 mimics or inhibitors into MDA-MB-231 cells, and then, changes in luciferase activities were detected. The pcDNA3.1/TFAM plasmids were constructed and transfected alone or co-transfected with miR-204 mimics into MDA-MB-231 cells, and then, the TFAM protein expressions were measured, and cell growth and proliferation were analyzed by TTC and BrdU assay.

**Results:** The miR-204 mRNA expression was significantly increased, and TFAM protein expression was significantly decreased in MDA-MB-231 cells after transfection with miR-204 mimics, while, opposite directional changes were found after transfection with miR-204 inhibitors (all  $P < 0.05$ ). The luciferase activity was significantly decreased after transfection with miR-204 mimics, but was significantly increased after transfection with miR-204 inhibitors (both  $P < 0.05$ ). In MDA-MB-231 cells, both expressions of TFAM mRNA and protein were significantly up-regulated, and the growth and proliferation were significantly enhanced after transfection of pcDNA3.1/TFAM (all  $P < 0.05$ ), and the growth and proliferation were significantly impaired along with significant down-regulation of TFAM protein expression after transfection of miR-204 mimics, which were all partially abolished by co-transfection with pcDNA3.1/TFAM (all  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** MiR-204 exerts targeted inhibition on TFAM expression in breast cancer cells, and thereby suppresses the growth and proliferation of breast cancer cells.

#### Key words

Breast Neoplasms; MicroRNAs; High Mobility Group Proteins; Cell Proliferation

CLC number: R737.9

乳腺癌是我国最常见的恶性肿瘤之一，其病因尚不明确，发病的分子机制多样<sup>[1-3]</sup>。近年来，癌基因或抑癌基因变异引起的相关功能因子的表达紊乱而导致乳腺癌发生发展的基因功能研究是乳腺癌病因和发病分子机制研究的重要方向<sup>[4-8]</sup>。

微小RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度约为22个核苷酸的单链非编码RNA分子，通过转录或转录后水平对基因的表达进行负调控，从而参与细胞增殖、分化、代谢和死亡等多种生物学过程<sup>[9-10]</sup>。近年来有研究<sup>[11-14]</sup>表明，miRNA亦可作为原癌基因或抑癌基因而参与肿瘤的侵袭转移过程，如miR-10b、miR-335、miR-373、miR-520c、miR-9、miR-150和miR-204等。Sun等<sup>[15]</sup>研究表明，miR-204可靶向抑制FOXO1表达，并由此抑制食道癌侵袭及其上皮间质转化过程，从而影响食道癌侵袭及转移过程。线粒体转录因子A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 是参与线粒体DNA转录激活和调节线粒体DNA拷贝数的重要因子。TFAM由核基因编码，并被转入线粒体内发挥调节作用。有研究<sup>[15-16]</sup>显示，TFAM扮演肿瘤促进基因的角色，参与肿瘤的发生、发展、侵袭和转移。TFAM在多种人类恶性肿瘤中高表达，并与肿瘤的生长、侵袭和转移密切相关。本研究从上调和下调角度，探讨miR-204对乳腺癌

细胞生长和增殖影响，及其抑制效应与直接靶点TFAM之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要试剂 人乳腺癌细胞系MDA-MB-231购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。鼠源抗TFAM多克隆抗体以及鼠源抗GAPDH多克隆抗体均购自美国Abcam公司。miR-204模拟物/模拟物对照及miR-204抑制物/抑制物对照购自美国BioSystems公司。细胞转染试剂Lipo-2000购自美国Life Technology公司。

1.1.2 主要仪器 实时荧光定量PCR (real-time PCR) 仪为美国Bio-Rad公司产品；电泳装置，标准湿式转膜装置均为美国Bio-Rad公司产品。其他常用试剂均为国产分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌细胞系MDA-MB-231在含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 mg/L链霉素的1640培养基中，置于37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱内常规传代培养。实验用细胞均为对数生长期细胞。

1.2.2 细胞转染 制备终浓度为80 nmol/L的模拟

物或抑制物脂质体复合物, 实验组加入 miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物混合物, 同时设置对照组 (模拟物对照或抑制物对照)。将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞以每孔  $2 \times 10^5$  个接种于 6 孔板, 待细胞增殖至 70%~80% 时, 更换无血清培养基, 采用 Lipo-2000 将 miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物转染细胞。

**1.2.3 real-time PCR 检测** 转染组细胞中, 取 1 个 6 孔板的细胞, 约  $1 \times 10^6$  个细胞。取 50  $\mu\text{g}$  总 RNA 进行反转录反应合成 cDNA, 然后以 cDNA 为模板、GAPDH 作为内参照, 进行 PCR 反应。PCR 扩增的反应条件为: 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s 预变性; 95  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 40 个循环。反应结束后, 使用 BIO-RAD real-time PCR 仪自带软件分析 PCR 过程中样本的循环阈值 (cycle threshold, CT), 采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算各目的基因相对反应起始拷贝数。

**1.2.4 Western blot 检测 TFAM 蛋白表达水平**

提取各组全细胞蛋白质, Bradford 法测定蛋白质含量。按每孔 10  $\mu\text{g}$  上样, 并向 2 个空白泳道中各加入 10  $\mu\text{L}$  Marker, 常规 SDS-聚丙烯酰胺凝胶 (polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 电泳。电泳完成后以半干式电泳转移法将蛋白条带转移到聚偏氟乙烯 (polyvinylidene Fluoride, PVDF) 膜上。电转完成后取出 PVDF 膜, 3%BSA 4  $^{\circ}\text{C}$  封闭过夜。倾去牛血清白蛋白 (albumin from bovine serum, BSA), 在其上加入相关蛋白的一抗,  $\beta$ -actin 作为内参与 PVDF 膜在室温共孵育 2 h。PBS 漂洗后再分别用结合辣根过氧化物酶的二抗孵育。电化学发光法 (electrochemiluminescence, ECL) 进行显色, X 光胶片上曝光, 随后显影、定影, 用图像分析系统测定蛋白条带的光密度, 进行定量分析。

**1.2.5 荧光酶报告基因质粒构建** 构建野生型全长 TFAM 3'UTR (wt-TFAM) 到 psi-CHECK2 载体上, 并通过定点突变技术构建结合位点突变的突变型载体 (mut-TFAM)。将 NC 或 miR-204 模拟物或 miR-204 抑制剂以及 wt-TFAM 或 mut-TFAM 载体共转到 MDA-MB-231 细胞中 ( $1 \times 10^5$  个/孔, 转染前 24 h 接种)。转染 24 h 后, 每孔加入 1  $\times$  PLB 裂解液 100  $\mu\text{L}$ , 摇床上裂解 15 min, 将裂解液转移到 1.5 mL 的 EP 管中, 4 $^{\circ}\text{C}$  下 10 000  $\times g$  离心 5 min。上清液转移到新的 EP 管中待测。上机检测时, 在试管中加入 LAR 底物 40  $\mu\text{L}$ , 加入 10  $\mu\text{L}$  稀释的上清, 立即置于荧光检测仪, 读取 Renilla 荧光素酶的

荧光值。在同一管中加入 Stop&Glo 试剂 40  $\mu\text{L}$ , 立即置于荧光检测仪, 读取 firefly 荧光素酶荧光值。将比值进行标准化, 表示每个样品的荧光强度。

**1.2.6 MTT 检测细胞生长曲线** 收集各组处于对数生长期的乳腺癌 MDA-MB-231 细胞, 把细胞悬液浓度调节为  $1 \times 10^5/\text{mL}$ 。将 100  $\mu\text{L}$  (含  $1 \times 10^4$  cell) 的细胞悬液种入每孔中, 每组设 5 个复孔, 种 5 块 96 孔板。置于 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养箱孵育, 把种板时间作为起始时间点 0 h, 在 0 h 取出一块 96 孔细胞培养板, 每孔加入 10  $\mu\text{L}$  0.5% MTT 溶液, 继续培养 4 h。1 000  $r/\text{min}$  离心 10 min, 小心吸掉孔内上清液, 每孔均加入 100  $\mu\text{L}$  二甲基亚砜, 将 96 孔板置摇床上, 低速振荡 10 min, 充分溶解结晶物。在酶联免疫检测仪上波长 490 nm 处分别测量各孔的吸光度 (A)。同时设置调零孔 (MTT、培养基、二甲基亚砜)。此后每隔 1 天取 1 块培养板检测 490 nm 的 OD 值, 一共检测 5 d。

**1.2.7 BrdU 检测细胞增殖能力** 细胞以  $2 \times 10^3/\text{mL}$  细胞数接种于 96 孔板中, 培养 1 d, 用含 0.4% FCS 培养液同步化 2 d, 使绝大多数细胞处于  $G_0$  期。终止细胞培养前, 加入 BrdU (终浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$ ), 37  $^{\circ}\text{C}$ , 孵育 24 h。去除培养基, 细胞被固定 30 min, 过氧化物酶孵育耦合抗 BrdU 抗体 (Sigma-Aldrich 公司) 孵育 60 min, 用 PBS 洗 3 次, 加过氧化物酶底物 (四甲基联苯胺) 染色 30 min, 在 490 nm 处测定各组的 OD 值。

## 1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两两比较采用两独立样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-204 对 TFAM 蛋白质表达的影响

miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物转染实现 miR-204 过表达或沉默, real-time PCR 检测转染后 miR-204 表达水平模拟物对照组、miR-204 模拟物组、抑制物对照组和 miR-204 抑制物组 miR-204 相对表达量分别为  $0.9087 \pm 0.0769$ 、 $12.4491 \pm 0.1654$ 、 $1.0024 \pm 0.0359$ 、 $0.4521 \pm 0.0135$ , 实验组与各自的对照组比较, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ) (图 1A)。用 Western blot 法检测 miR-204 过表达或沉默后人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 TFAM 蛋白质的表达水平, 在

MDA-MB-231细胞中,模拟物对照组、miR-204模拟物组、抑制物对照组、miR-204抑制物转染组TFAM蛋白相对表达量分别为 $0.9867 \pm 0.0754$ 、 $0.4133 \pm 0.0348$ 、 $1.0300 \pm 0.0208$ 、 $1.9333 \pm 0.0291$ 。miR-204沉默后TFAM蛋白质高表达,miR-204过

表达抑制TFAM蛋白质表达。灰度分析显示在人乳腺癌细胞系MDA-MB-231中,miR-204沉默后TFAM蛋白质高表达,miR-204过表达抑制TFAM蛋白质表达,与各自对照组比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$ ) (图1B)。

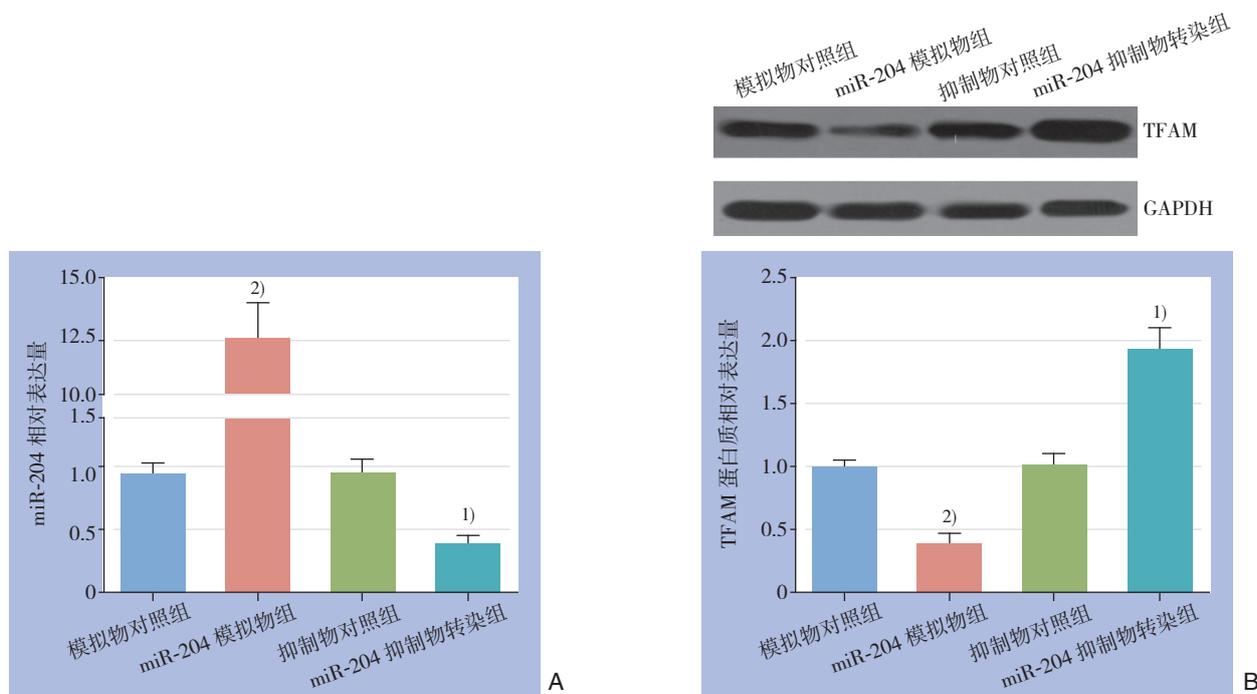


图1 miR-204对TFAM蛋白表达的影响 A: 转染效率检测; B: miR-204模拟物或miR-204抑制物转染对TFAM蛋白表达的影响 与各自对照组比较,1)  $P < 0.01$ ; 2)  $P < 0.005$

Figure 1 Influence of miR-204 on TFAM protein expression A: Determination of transfection efficiency; B: Influence of transfection of miR-204 mimics and inhibitors on TFAM protein expression Compared with corresponding control, 1)  $P < 0.01$ ; 2)  $P < 0.005$

## 2.2 miR-204对TFAM的靶向调控作用

为研究miR-204调控TFAM表达的机制,构建了在TFAM 3'端含有6个碱基突变的荧光酶报告基因质粒(图2A),将其与miR-204模拟物、miR-204抑制物及其对照分别共转染乳腺癌MDA-MB-231细胞,转染分组如下(8组):模拟物对照+wt-TFAM、miR-204模拟物+wt-TFAM、模拟物对照+mut-TFAM、miR-204模拟物+mut-TFAM、抑制物对照+wt-TFAM、miR-204抑制物+wt-TFAM、抑制物对照+mut-TFAM、miR-204抑制物+mut-TFAM。结果miR-204模拟物与wt-TFAM共转染时荧光酶活性明显下降( $P < 0.01$ );miR-204抑制物与wt-TFAM共转染时荧光酶活性明显上升( $P < 0.05$ );而无论miR-204模拟物或miR-204抑制物与mut-TFAM共转染时,与对照组模拟物对照

或抑制物对照相比荧光酶活性均无明显变化(均 $P > 0.05$ ) (图2B)。

## 2.3 TFAM过表达取消miR-204对TFAM的抑制作用

构建pcDNA3.1/TFAM质粒,并检测了质粒转染后TFAM mRNA和蛋白表达水平,结果与转染空质粒的MDA-MB-231细胞比较,转染pcDNA3.1/TFAM质粒的MDA-MB-231细胞的TFAM mRNA与蛋白的相对表达量均明显升高(均 $P < 0.05$ ) (图3A-B);用Western blot检测pcDNA3.1/TFAM和模拟物对照/miR-204模拟物共转染后TFAM蛋白质表达水平的变化,结果显示,miR-204抑制TFAM蛋白表达,pcDNA3.1/TFAM可实现TFAM过表达,并可恢复miR-204对TFAM的抑制作用,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$ ) (图3C)。

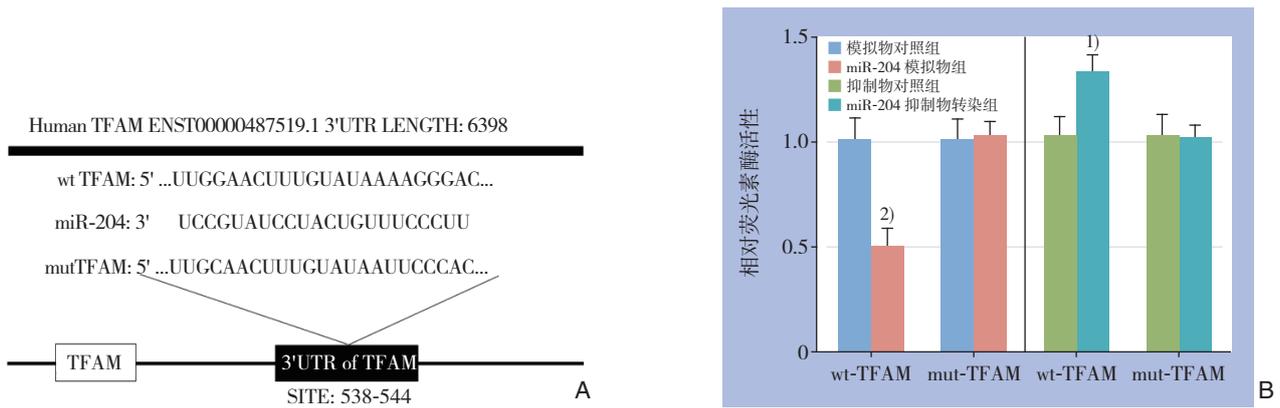


图 2 miR-204 对 TFAM 的靶向作用鉴定 A: 荧光酶报告基因质粒构建; B: miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物与 wt-TFAM/mut-TFAM 共转染后荧光酶活性比较 与各自对照组比较, 1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$

Figure 2 Identification of targeted action of miR-204 on TFAM A: Construction of luciferase reporter plasmids; B: Comparison of luciferase activities after co-transfection of miR-204 mimics or inhibitors with wt-TFAM/mut-TFAM Compared with corresponding control, 1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$

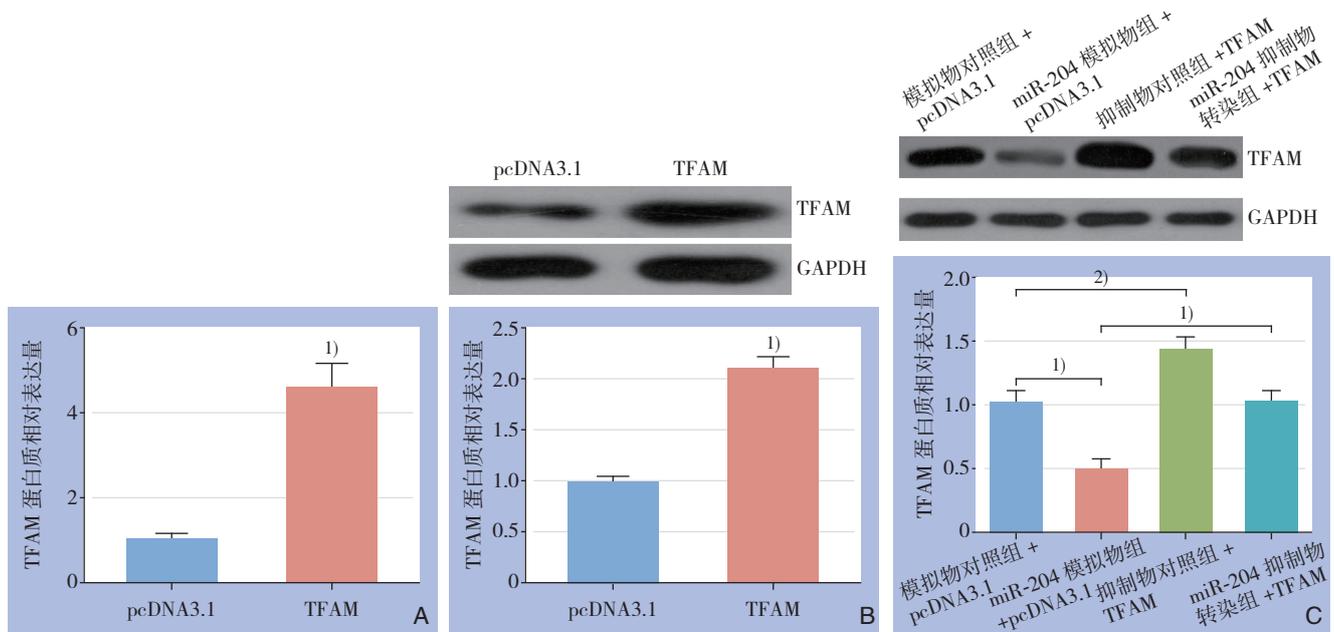


图 3 TFAM 过表达取消 miR-204 对 TFAM 的抑制作用 A: pcDNA3.1/TFAM 转染对 TFAM mRNA 表达的影响; B: pcDNA3.1/TFAM 转染对 TFAM 蛋白表达的影响; C: pcDNA3.1/TFAM 和 miR-204 模拟物共转染后 TFAM 蛋白表达水平变化 与各自对照组比较, 1)  $P < 0.005$ ; 2)  $P < 0.01$

Figure 3 Abolishment of inhibition of miR-204 on TFAM by TFAM overexpression A: Influence of pcDNA3.1/TFAM transfection on TFAM mRNA expression; B: Influence of pcDNA3.1/TFAM transfection on TFAM protein expression; C: Changes in TFAM protein expression level after co-transfection of pcDNA3.1/TFAM and miR-204 mimics Compared with corresponding control, 1)  $P < 0.005$ ; 2)  $P < 0.01$

### 2.4 miR-204 通过 TFAM 调控乳腺癌细胞生长和增殖

用 MTT 法和 BrdU 法测定 pcDNA3.1/TFAM 与模拟物对照/miR-204 模拟物共转染后乳腺癌细胞生长和增殖水平的变化。miR-204 可抑制乳腺癌

细胞的生长和增殖, TFAM 可促进乳腺癌细胞的生长和增殖, TFAM 可恢复 miR-204 对乳腺癌细胞生长和增殖的抑制作用, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ) (图 4)。

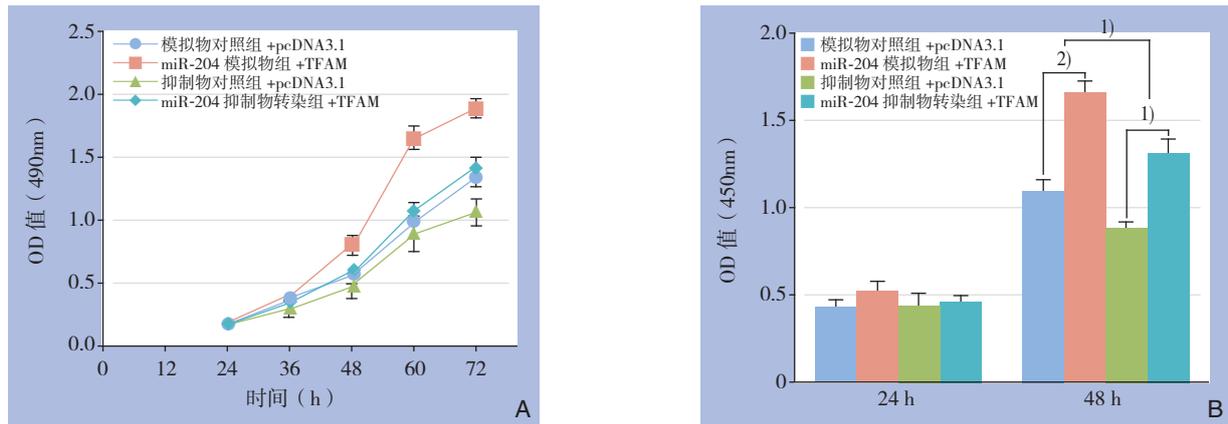


图 4 miR-204 通过 TFAM 调控乳腺癌细胞生长与增殖 A: MTT 法测定 pcDNA3.1/TFAM 和 miR-204 模拟物共转染后乳腺癌细胞生长情况; B: BrdU 法测定 pcDNA3.1/TFAM 和 miR-204 模拟物共转染后乳腺癌细胞增殖情况 与各自对照组比较, 1)  $P<0.05$ ; 2)  $P<0.01$

Figure 4 Inhibitory effect of miR-204 on growth and proliferation of breast cancer cells through regulation of TFAM A: Growth of breast cancer cells after co-transfection of pcDNA3.1/TFAM and miR-204 mimics detected by MTT assay; B: Proliferation of breast cancer cells after co-transfection of pcDNA3.1/TFAM and miR-204 mimics detected by BrdU assay Compared with corresponding control, 1)  $P<0.05$ ; 2)  $P<0.01$

### 3 讨论

据国际癌症研究机构 (<http://www.iarc.fr>) 记载, 在 2012 年, 170 万女性 (约世界女性总数的 11.7%) 被诊断患有乳腺癌, 在过去的 5 年中, 630 万被诊断患有乳腺癌的女性仍然存活。在 2012 年的 522 000 例死亡中, 乳腺癌仍然是最常见的女性癌症死亡原因<sup>[17]</sup>。乳腺癌的异质性很高, 根据基因表达谱的不同可以分为若干亚型<sup>[18]</sup>。为了寻找更加有效的治疗方法, 探寻乳腺癌发生、发展过程的分子机制成为了首要任务。

在各种正常和包括癌症在内的异常的生物过程中, miRNA 都是整体 mRNA 表达重要调节因子。miRNA 失调常见于多种癌症中, 同癌症的起始、耐药性和转移都有密切关系<sup>[19-21]</sup>。迟婷等<sup>[22]</sup>报道 miR-34a 在乳腺癌组织中表达降低, 削弱了对 VEGF 及其下游 Akt 磷酸化的抑制, 从而促进了乳腺癌的生长。于超等<sup>[23]</sup>报道 miR-21 在乳腺癌组织中高表达, 其水平可能与乳腺癌的恶性程度有关。因此, 基于 miRNA 表达水平调节和 miRNA 靶点定位的治疗方法将会是癌症治疗中最有潜力的治疗方法。

TFAM 是参与线粒体 DNA 转录激活和调节线粒体 DNA 拷贝数的重要因子。TFAM 由核基因编码, 并被转入线粒体内发挥调节作用。除了转录激活作用外, TFAM 还参与维持线粒体 DNA

(mitochondrial DNA, mtDNA) 的拷贝数, 改善线粒体功能以及调控肌浆网钙 ATP 酶表达等<sup>[24-25]</sup>。近年来, 越来越多的证据显示 TFAM 与肿瘤的发生、进展密切相关<sup>[15-16, 26]</sup>。

本研究着眼于 miR-204 在乳腺癌中的功能, 以 miR-204 模拟物或 miR-204 抑制物转染实现 miR-204 过表达和 miR-204 沉默, 并检测了 TFAM 在 miR-204 过表达及沉默后的表达量变化。本实验结果显示, miR-204 过表达抑制 TFAM 蛋白质表达, miR-204 沉默促进 TFAM 蛋白质表达; miR-204 可靶向结合 TFAM 调控其表达; pcDNA3.1/TFAM 可实现 TFAM 过表达, 并可恢复 miR-204 对 TFAM 的抑制作用; miR-204 可抑制乳腺癌细胞的生长和增殖, TFAM 可促进乳腺癌细胞的生长和增殖, TFAM 可恢复 miR-204 对乳腺癌细胞生长和增殖的抑制作用。

综上所述, 深入了解 miR-204 靶向 TFAM 基因抑制乳腺癌细胞的增殖及相关机制, 可能为乳腺癌的诊断、病情监测提供实验依据, 有可能将其作为乳腺癌治疗的新的作用靶点, 对于指导治疗、提高术后生存率有十分重要的意义。

### 参考文献

- [1] Yu C, Wang J. A Physical Mechanism and Global Quantification of Breast Cancer[J]. PLoS One, 2016, 11(7):e0157422. doi: 10.1371/

- journal.pone.0157422.
- [2] Noubissi FK, Harkness T, Alexander CM, et al. Apoptosis-induced cancer cell fusion: a mechanism of breast cancer metastasis[J]. *FASEB J*, 2015, 29(9):4036-4045.
- [3] Zarshenas MM, Mohammadi-Bardbori A. A medieval description of metastatic breast cancer; from Avicenna's view point[J]. *Breast*, 2016, 31:20-21. doi: 10.1016/j.breast.2016.10.019.
- [4] Hemmatzadeh M, Mohammadi H, Jadidi-Niaragh F, et al. The role of oncomirs in the pathogenesis and treatment of breast cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 78:129-39. doi: 10.1016/j.biopha.2016.01.026.
- [5] Zheng T, Zhang X, Wang Y, et al. Predicting associations between microRNAs and target genes in breast cancer by bioinformatics analyses[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2):1067-1073.
- [6] Zhao XB, Ren GS. LncRNA TUG1 promotes breast cancer cell proliferation via inhibiting miR-9[J]. *Cancer Biomark*, 2016, [Epub ahead of print]
- [7] Cao GH, Sun XL, Wu F, et al. Low expression of miR-409-3p is a prognostic marker for breast cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(18):3825-3829.
- [8] Cabello P, Pineda B, Tormo E, et al. The Antitumor Effect of Metformin Is Mediated by miR-26a in Breast Cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8). pii: E1298. doi: 10.3390/ijms17081298.
- [9] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(11):857-866.
- [10] 杨浚泓, 王龙强, 李海, 等. 乳腺癌循环miRNA生物标志物的筛选及验证[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(5):696-700.  
Yang JF, Wang LQ, Li H, et al. Screening and verification of circulating miRNA biomarkers of breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(5):696-700.
- [11] White NM, Fatoohi E, Metias M, et al. Metastamirs: a stepping stone towards improved cancer management[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(2):75-84.
- [12] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer[J]. *Nature*, 2007, 449(7163):682-688.
- [13] Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis[J]. *Nature*, 2008, 451(7175):147-152.
- [14] 梁治坤, 程凡天, 胡走肖, 等. miR-150-5p抑制肝癌细胞的迁移和侵袭及其机制[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(8):1175-1179.  
Liang ZK, Cheng FT, Hu ZX, et al. Inhibitory effect of miR-150-5p on migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells and its mechanism[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2016, 25(8):1175-1179.
- [15] Sun Y, Yu X, Bai Q. miR-204 inhibits invasion and epithelial-mesenchymal transition by targeting FOXM1 in esophageal cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10):12775-12783.
- [16] Xie D, Wu X, Lan L, et al. Downregulation of TFAM inhibits the tumorigenesis of non-small cell lung cancer by activating ROS-mediated JNK/p38MAPK signaling and reducing cellular bioenergetics[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(10):11609-11624.
- [17] Yi T, Zhai B, Yu Y, et al. Quantitative phosphoproteomic analysis reveals system-wide signaling pathways downstream of SDF-1/CXCR4 in breast cancer stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(21):E2182-2190.
- [18] Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours[J]. *Nature*, 2000, 406(6797):747-752.
- [19] Yonemori K, Kurahara H, Maemura K, et al. MicroRNA in pancreatic cancer[J]. *J Hum Genet*, 2016. doi: 10.1038/jhg.2016.59. [Epub ahead of print]
- [20] Stuoelyte K, Dani ū naitė K, Jankevičius F, et al. Detection of miRNAs in urine of prostate cancer patients[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2016, 52(2):116-124.
- [21] 李新华, 张桂英, 李乾, 等. 肠型胃癌组织异常表达miRNAs的鉴定[J]. *中国普通外科杂志*, 2011, 20(9):951-955.  
Li XH, Zhang GY, Li Q, et al. Identification of aberrantly expressed miRNAs in the intestinal type gastric cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2011, 20(9):951-955.
- [22] 迟婷, 姜晓燕. 乳腺癌组织中miR-34a与VEGF的关系及临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(5):680-685.  
Chi T, Jiang XY. Relationship between miR-34a and VEGF expressions in breast cancer tissue and the clinical significance[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2016, 25(5):680-685.
- [23] 于超, 吴诚义. 乳腺癌组织中miR-21的表达及意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2009, 18(11):1126-1129.  
Yu C, Wu CY. Expression of miR-21 in breast carcinoma and its significance[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2009, 18(11):1126-1129.
- [24] Kunkel GH, Chaturvedi P, Tyagi SC. Mitochondrial pathways to cardiac recovery: TFAM[J]. *Heart Fail Rev*, 2016, 21(5):499-517.
- [25] Novin MG, Allahveisi A, Noruzinia M, et al. The relationship between transcript expression levels of nuclear encoded (TFAM, NRF1) and mitochondrial encoded (MT-CO1) genes in single human oocytes during oocyte maturation[J]. *Balkan J Med Genet*, 2015, 18(1):39-46.
- [26] Guo J, Zheng L, Liu W, et al. Frequent truncating mutation of TFAM induces mitochondrial DNA depletion and apoptotic resistance in microsatellite-unstable colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(8):2978-2987.

( 本文编辑 姜晖 )

本文引用格式: 肖顺崇, 罗汉传, 覃俊仕. miR-204对TFAM的靶向调控作用及其对乳腺癌细胞生长与增殖的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(11):1615-1621. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.016  
Cite this article as: Xiao SC, Luo HC, Qin JS. Targeted regulation of miR-204 on TFAM and their influence on growth and proliferation in breast cancer cells[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(11):1615-1621. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.016