

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00418

UbcH10 基因沉默联合多柔比星抑制耐药乳腺癌细胞体内成瘤实验

汪成¹, 余燕民¹, 陆永伟¹, 单鸣¹, 徐明², 包家林^{1*}

1. 上海市黄浦区中心医院乳腺外科, 上海 200002
2. 上海市黄浦区中心医院病理科, 上海 200002

[摘要] **目的** 观察 *UbcH10* 基因沉默对多柔比星抑制耐药乳腺癌细胞株 MCF-7/ADR 体内成瘤作用的影响。**方法** 采用慢病毒系统在 MCF-7/ADR 细胞中进行 *UbcH10* 基因沉默。将基因沉默后的肿瘤细胞及对照肿瘤细胞接种至裸鼠皮下, 通过裸鼠尾静脉连续给予多柔比星或生理盐水 2 周并停药 1 周, 测量肿瘤体积, 分析 *UbcH10* 沉默对多柔比星抑制 MCF-7/ADR 体内成瘤作用的影响。采用蛋白质印迹分析检测瘤体中的 *UbcH10* 及 BCL-2 蛋白含量, 分析 *UbcH10* 与肿瘤细胞化疗敏感性之间的调控关系。**结果** 通过慢病毒实验系统成功建立 *UbcH10* 基因沉默细胞株 MCF-7/ADR *UbcH10*-RNAi。经过 3 周给药处理, 多柔比星组肿瘤体积与对照组比较差异无统计学意义, 肿瘤抑制率为 4.16%; 基因沉默+多柔比星组肿瘤体积与对照组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 肿瘤抑制率为 41.8%。瘤体内蛋白含量检测结果显示, 对照组、多柔比星组、基因沉默+多柔比星组 *UbcH10* 蛋白表达量分别为 0.81 ± 0.16 、 0.78 ± 0.12 、 0.18 ± 0.04 , 基因沉默+多柔比星组其余两组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); BCL-2 蛋白表达量组间差异与 *UbcH10* 一致, 二者之间具有正相关性。**结论** *UbcH10* 基因沉默可以显著增强多柔比星抑制耐药乳腺癌细胞 MCF-7/ADR 的体内成瘤作用。

[关键词] 乳腺肿瘤; MCF-7/ADR; 基因沉默; *UbcH10*; 肿瘤抗药性; 体内成瘤

[中图分类号] R 737.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)04-0418-05

UbcH10 gene silencing combined with doxorubicin inhibits *in vivo* tumor formation of drug-resistant breast cancer cells

WANG Cheng¹, YU Yan-min¹, LU Yong-wei¹, SHAN Ming¹, XU Ming², BAO Jia-lin^{1*}

1. Department of Breast Surgery, Central Hospital of Huangpu District, Shanghai 200002, China
2. Department of Pathology, Central Hospital of Huangpu District, Shanghai 200002, China

[Abstract] **Objective** To observe the effect of the *UbcH10* gene silencing on inhibition effect of doxorubicin against *in vivo* tumor formation of drug-resistant breast cancer MCF-7/ADR cells. **Methods** An MCF-7/ADR-*UbcH10*-RNAi cell line with *UbcH10* gene silenced was established. Then MCF-7/ADR-*UbcH10*-RNAi cells and the control cells at logarithmic phase were inoculated into nude mice to establish the subcutaneous tumor model. Doxorubicin or normal saline was administered for a consecutive of two weeks, and then one week later the tumor volumes were determined to analyze the effects of *UbcH10* gene silencing on inhibition of tumor formation by doxorubicin. Meanwhile, Western blotting analysis was used to examine the protein expression of *UbcH10* and BCL-2; the relationship between *UbcH10* and chemosensitivity of tumor cells was analyzed. **Results** The MCF-7/ADR-*UbcH10*-RNAi cell line with *UbcH10* gene silenced was successfully established with the lentiviral experimental system. The nude mice tumor models were established three weeks after subcutaneous inoculation of tumor cells. The tumor inhibitory rate was 4.16% in the doxorubicin group, which was not significantly different from the control group ($P > 0.05$); while the tumor inhibitory rate was 41.8% in *UbcH10*-RNAi+doxorubicin group, which was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The results of Western blotting analysis showed that the expression levels of *UbcH10* in MCF-7/ADR group, MCF-7/ADR+doxorubicin group, and MCF-7/ADR-*UbcH10*-RNAi+doxorubicin group were 0.81 ± 0.16 , 0.78 ± 0.12 , and 0.18 ± 0.04 , respectively, with the latter being significantly lower than the former two ($P < 0.05$); BCL-2 protein levels in tumors were consistent with those of *UbcH10*. **Conclusion** *UbcH10* gene silencing can markedly enhance the *in vivo* sensitivity of drug resistant breast cancer cells to Doxorubicin.

[Key words] breast neoplasms; MCF-7/ADR; gene silencing; *UbcH10*; neoplasm drug resistance; tumorigenicity *in vivo*

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(4): 418-422]

[收稿日期] 2014-09-11 **[接受日期]** 2015-03-12

[基金项目] 上海市医学重点专科建设项目 (ZK2012A13)。Supported by Key Medical Program of Shanghai (ZK2012A13)。

[作者简介] 汪成, 硕士, 副主任医师。E-mail: wangcheng1212@hotmail.com

* 通信作者 (Corresponding author)。Tel: 021-63212487-2217, E-mail: huangpuruxian@163.com

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一^[1],化疗是乳腺癌重要的治疗手段,然而化疗过程乳腺癌容易对药物产生耐受,严重影响了乳腺癌化疗的效果。随着近年来对肿瘤分子生物学和基因功能学研究的深入,人们逐渐认识到某些肿瘤产生耐药的内在原因。因此,寻找调控乳腺癌耐药的关键基因,明确其在乳腺癌耐药机制产生过程中的病理机制,是乳腺癌治疗领域重要的研究方向。

近期有关 UbcH10 的研究表明,UbcH10 与多种恶性肿瘤的发生、发展有着明显的相关性^[2-4]。Perrotta 等^[5]通过免疫检测发现,UbcH10 在肺癌中高表达,其可以作为肿瘤恶性分级的标志物,UbcH10 还可以作为膀胱癌手术治疗的预后观测指标^[6],通过 RNAi 靶向沉默 UbcH10,在体内体外研究中都取得了良好的肠癌抑制效果^[7]。然而 UbcH10 与肿瘤耐药的相关研究报道较少,Zhao 等^[8]在肺癌相关研究中发现,UbcH10 在肺癌中表达异常,可以作为肺癌分级的标志基因,通过抑制 UbcH10 基因的表达可以增强肺癌细胞对化疗的敏感性,而在乳腺癌的耐药相关基因研究中,目前未见与 UbcH10 相关的报道。

本研究拟将 UbcH10 基因沉默后的乳腺癌耐药细胞株 MCF-7/ADR 接种裸于鼠皮下,制作体内肿瘤模型,同时,通过尾静脉注射给予多柔比星处理,最终通过肿瘤体积变化观察 UbcH10 基因干预对多柔比星抑制耐药乳腺癌细胞株成瘤作用的影响;同时,检测瘤体中耐药相关蛋白 BCL-2 的表达情况,寻找 UbcH10 与乳腺癌耐药之间可能存在的调控关系。

1 材料和方法

1.1 材料 MCF-7 细胞购于中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所,MCF-7/ADR 为第二军医大学长征医院中心实验室诱导建立;0.25%胰蛋白酶、胎牛血清、DMEM 培养基和 TRIzol 均购于 Invitrogen 公司。慢病毒实验系统为 Systembio 公司产品;反转录试剂盒及荧光定量试剂盒等购于大连宝生物工程有限公司。细胞培养箱为日本三洋公司产品,定量 PCR 仪均为 TaKaRa 公司产品;多柔比星购于 Sigma 公司。蛋白一抗及二抗购于 Santa Cruz 公司。蛋白提取、定量试剂盒及

ECL 发光试剂盒均为 Pierce 公司产品,垂直电泳及转膜设备购于 Bio-Rad 公司,实验动物购于上海斯莱克动物实验有限公司。

1.2 MCF-7/ADR-UbcH10-RNAi 稳定表达细胞株的建立 针对 UbcH10 的 siRNA 序列(5'-GACCTG AGG TAT AAG CTC T-3')为课题组前期筛选的有效序列,NC 序列(5'-GAA GCC AGA TCC AGC TTC C-3')也经过前期实验证实其对 UbcH10 基因表达不产生影响。根据 siRNA 序列,设计并合成互补的 shRNA 序列,shRNA 双链经退火后克隆至 pshRNA 表达载体,重组克隆经序列分析后,扩增转化细菌并使用无内毒素质粒抽提试剂盒进行不含内毒素质粒的提取。使用 Lipofectmaine 2000 转染试剂共转染病毒包装质粒混合物和表达载体至病毒包装细胞系 293T,进行慢病毒的包装和生产,收集病毒液并且使用梯度稀释法测定重组病毒滴度。使用重组病毒感染 MCF-7/ADR 细胞,单细胞悬液法筛选稳定表达细胞株,分别提取细胞总 RNA 和总蛋白,进行 UbcH10 mRNA 及蛋白含量检测。

1.3 UbcH10 mRNA 及蛋白含量检测 取对数生长期的每组细胞约 5×10^6 个,用 4℃ 预冷的 dPBS 洗细胞 2 次,每孔加入 0.5 mL TRIzol,使用 1 mL 移液器反复吹打细胞,直至液体变得黏稠而透明,酚氯仿法提取细胞总 RNA。使用 oligo dT18 作为反转录引物,取 1 μ g RNA 反转录制备 cDNA,然后取 1 μ L 反转录产物作为 PCR 检测模板,使用荧光染料法进行 PCR 检测,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。基因相对含量分析使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析,以 β -actin(NM_001101.3)作为基因参照。PCR 扩增引物如下: β -actin 正向引物序列为 5'-CCT GTA CGC CAA CAC AGT GC-3',反向引物序列为 5'-ATA CTC CTG CTT GCT GAT CC-3',PCR 产物长度为 211 bp; UbcH10 正向引物序列为 5'-ACC CTC ATG ATG TCT GGC GAT AAA-3',反向引物序列为 5'-GTG ATA GCA GGG CGT GAG GAA CTT-3',PCR 产物长度为 192 bp。PCR 的反应总体积为 20 μ L: TaKaRa SYBR Premix Ex Tag 10 μ L,正、反向引物(20 μ mol/L)各 0.2 μ L, cDNA 2 μ L, dH₂O 补足反应体系至 20 μ L。反应条件:95℃ 5 min,60℃ 20 min,72℃ 20 min,共 40 个循环。

分别收集各组稳定表达细胞株 1×10^7 个,加入细胞裂解液(50 mmol/L pH 8.0 Tris, 1 mg/mL 亮抑肽酶, 150 mmol/L NaCl, 0.5% Nonidet P-40, 5 mmol/L EDTA, 100 mmol/L 苯甲基磺酰氟, 1 mol/L 二硫苏糖醇, 1 mg/mL 抑肽酶)提取细胞总蛋白,BCA 法检测总蛋白浓度。每组样本取 10 μ L 进行 10% SDS-PAGE 垂直电泳,湿法转膜,转膜条件为 400 mA 横流 90 min,转膜完成后丽春红染色观察转膜效果。将膜用 5% 脱脂牛奶常温封闭 2 h,加入 TBST 稀释后的一抗(UbcH10, 1:300; β -actin, 1:500),4 $^{\circ}$ C 过夜;取出后 TBST 洗膜 3 次再加入二抗(羊抗鼠,1:3000),37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h,再洗膜 3 次,添加 ECL 发光液反应底物,进行 X 线曝片,采用相关图像分析软件进行条带光密度扫描分析。UbcH10 蛋白相对含量 = 目的条带光密度值/ β -actin 条带光密度值。

1.4 裸鼠皮下肿瘤模型制作及多柔比星干预 取对数生长期 MCF-7/ADR 及其稳定表达细胞株 MCF-7/ADR-UbcH10-RNAi 和 MCF-7/ADR-NC,胰酶消化法制备细胞悬液,1000 $\times g$ 离心 2 min 收集沉淀,使用 dPBS 重悬细胞两次,锥虫蓝染色后使用血小球计数板进行活细胞计数,并使用 dPBS 调整细胞密度至 1×10^8 个/mL。使用 1 mL 注射器吸取 0.1 mL 细胞悬液,接种细胞到 5 周龄裸鼠腋下。接种后第 14 天,皮下可见有瘤体形成,大小约 3 mm \times 3 mm。实验组通过尾静脉注射多柔比星,注射前使用生理盐水配制 2 mg/mL 溶液,每次注射量为 5 mg/kg 体质量,每 2 d 注射 1 次,连续注射 2 周,共 7 次;对照组用等体积生理盐水同法给药。每组动物数量为 10 只。停药后 1 周处死小鼠,剥离肿瘤,去掉瘤体上的脂肪、血管及淋巴管组织,测量肿瘤长径和短径,计算肿瘤体积 $V = 1/2 \times d_1 \times d_2^2$,其中 d_1 、 d_2 分别为瘤体长径和短径。每组肿瘤测量 3 次,计算体积并求平均值。

1.5 瘤体中 UbcH10 和 BCL-2 蛋白含量检测 取出一 80 $^{\circ}$ C 保存的瘤体组织,切取 100 mg 大小转移到 1.5 mL 无菌离心管,用 4 $^{\circ}$ C 预冷的 dPBS 1 mL 洗 1 次,去掉 dPBS;用组织蛋白提取试剂盒进行蛋白提取和定量,提取过程按照试剂盒说明书进行。采用蛋白质印迹法蛋白含量,检测和分析方法同前。UbcH10、BCL-2 和 β -actin 一抗稀释比分别为

1:200、1:300 和 1:500。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件分析数据,定量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用析因分析进行组间差异及组内差异的比较。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 MCF-7/ADR-UbcH10-RNAi 细胞株构建成功 通过慢病毒实验系统成功构建 MCF-7/ADR-UbcH10-RNAi 及其对照细胞株,实时定量 PCR 检测结果表明,MCF-7/ADR、MCF-7/ADR-UbcH10-RNAi 和 MCF-7/ADR-NC 中 UbcH10 基因含量分别为 1.00 ± 0.12 、 0.21 ± 0.03 和 1.02 ± 0.17 ,基因沉默组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);蛋白检测结果与之一致(图 1)。

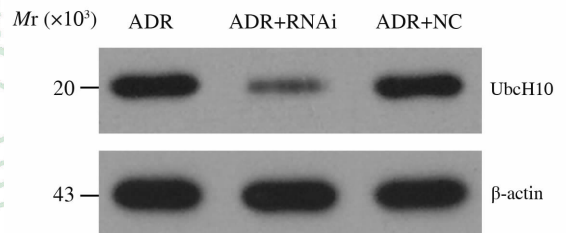


图 1 UbcH10 蛋白在三组 MCF-7 细胞中的表达
Fig 1 Detection of UbcH10 protein levels
MCF-7 cells in 3 groups

2.2 基因沉默对多柔比星抑制耐药肿瘤细胞体内成瘤作用的影响 动物经过 2 周给药并停药 1 周后,生理盐水对照组、多柔比星组、多柔比星+ADR-NC 对照组、多柔比星+基因沉默组肿瘤体积分别为(322.1 ± 45.2)、(308.7 ± 41.6)、(315.7 ± 45.62)、(187.6 ± 25.2) mm³,多柔比星+基因沉默组肿瘤体积小于生理盐水对照组($P < 0.01$),生理盐水对照组、多柔比星组、多柔比星+ADR-NC 对照组间差异无统计学意义。与生理盐水对照组相比,多柔比星组、多柔比星+ADR-NC 对照组、多柔比星+基因沉默组的肿瘤抑制率分别为 4.16%、1.99%、41.8%。说明多柔比星处理对于耐药肿瘤无抑制效果,UbcH10 基因沉默可以明显增强耐药肿瘤对于化疗药物的敏感性。

2.3 瘤体内 UbcH10 和 BCL-2 蛋白含量检测 瘤体内蛋白含量检测结果显示,生理盐水对照组、多柔比星组、多柔比星+ADR-NC 对照组、多柔比星+基因沉默组 UbcH10 蛋白表达量分别为 $0.81 \pm$

0.16、0.78±0.12、0.74±0.14、0.18±0.04, BCL-2 蛋白表达量分别为 0.62±0.09、0.70±0.12、0.67±0.13、0.21±0.02, 多柔比星+基因沉默组与其他组比较差异有统计学意义($P<0.05$), 蛋白分子量见图2。提示 UbcH10 蛋白低表达可以增强 MCF-7/ADR 对于多柔比星治疗的敏感性, 其作用与 UbcH10 基因沉默引起 BCL-2 基因的表达降低有关。

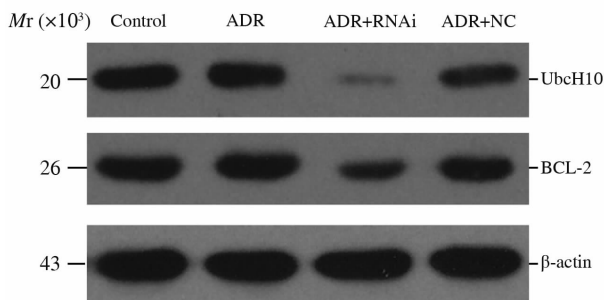


图2 肿瘤组织中 UbcH10 和 BCL-2 蛋白含量检测

Fig 2 UbcH10 and BCL-2 protein level in subcutaneous tumors

3 讨论

泛素调节的蛋白降解是体内一种重要的蛋白修饰和降解途径, 是泛素活化酶、泛素结合酶、泛素连接酶和蛋白酶体等共同参与的生物学进程, 与细胞生命过程密切相关, 对靶蛋白的特异性降解主要与泛素结合酶、泛素连接酶有关, UbcH10 即是一种泛素结合酶。泛素/蛋白酶体介导的蛋白质降解途径 (ubiquitin-proteasome proteolytic pathway, UPP 途径) 是真核细胞内蛋白质转录后降解的重要方式之一, 与细胞增殖、凋亡等生命现象密切相关。E2 蛋白酶家族成员之一的泛素结合酶 UbcH10 (UBE2C) 在泛素化途径中具有重要作用, 研究发现, 其与肿瘤的形成和发展具有密切的关系, 在多种组织来源的肿瘤组织出现过表达^[9]。本课题组在前期研究中发现, UbcH10 在乳腺癌组织与癌旁组织及乳腺良性肿瘤中的表达存在显著差异; 通过对肿瘤组织的免疫组化检测发现, UbcH10 的表达与 Ki-67 和 HER-2 蛋白表达有相关性; 而对手术切除后辅助化疗的乳腺癌患者的跟踪调查中发现, UbcH10 高表达患者具有预后差且生存期短的特点^[10]。

对耐药基因进行干预, 可增强耐药肿瘤细胞对化疗药物的治疗敏感性。Aomatsu 等^[11] 研究发现, 碳酸酐酶 9 (carbonic anhydrase 9, CA9) 与乳腺癌化

疗敏感性具有密切关系, CA9 可以作为预测临床乳腺癌化疗的敏感性的标志物, CA9 基因的表达可以用来判断乳腺癌患者手术切除肿瘤之前是否适合紫杉醇处理。Xing 等^[12] 对于肠癌中 FTY720 基因研究则表明, FTY720 基因可以抑制肠癌细胞 HCT-8 及其耐药细胞株 HCT-8/5-FU 对于化疗药物的敏感性, 这种影响可能是通过抑制 P-gp 和 MRP1 的表达来实现的, 认为 FTY720 可以作为一个潜在的协同辅助治疗方式。miR124 被证实与神经胶质瘤耐药有关, 可以通过其靶基因 R-Ras 和 N-Ras 来影响肿瘤的化疗敏感性^[13]。Shoji 等^[14] 通过实验证实, 成纤维细胞生长因子受体 2 (FGFR2) 可以抑制前列腺癌细胞的化疗敏感性。RLIP76 是已知的与细胞生长有关的基因, 与多种恶性肿瘤细胞的化疗敏感性相关。Yao 等^[15] 发现敲除白血病细胞中的 RLIP76, 可以增强 BAX 蛋白表达, 降低 cyclin D1 和 cyclin E 的表达, 并最终增强细胞对于柔红霉素的治疗敏感性。以上研究均说明, 基因干预联合化疗药物处理, 是增强肿瘤细胞对于化疗药物敏感性的一个有效手段。在乳腺癌耐药的相关研究中, 也有类似的发现和发现, 如 RABEX-5 与人乳腺癌细胞 MCF-7 对表柔比星产生耐药的过程密切相关^[16]。miR-181 可以通过抑制靶基因 BCL-2 的表达来增强乳腺癌细胞对多柔比星的药物敏感性^[17]。PDCD5 蛋白在 MDA-MB-231 的紫杉醇治疗过程中明显上调, PDCD5 虽然不直接对肿瘤细胞增殖产生作用, 却可以大大提高紫杉醇对乳腺癌的抗肿瘤作用, 这说明重组人 PDCD5 是一个提高乳腺癌细胞紫杉醇敏感性的潜在治疗剂^[18]。UbcH10 作为一种在多种来源肿瘤中异常表达的“枢纽基因 (hub gene)”, 可能与乳腺癌的发生发展过程密切相关。因此, 探讨 UbcH10 参与乳腺上皮细胞癌变的分子病理生理机制, 有助于更好地理解乳腺癌的恶性生物学行为及机制, 有可能为乳腺癌临床治疗提供新的分子靶标^[14]。

本研究通过慢病毒实验系统, 在耐药乳腺癌细胞 MCF-7/ADR 中高效沉默 UbcH10 基因并且建立基因稳定长期沉默的细胞株, 经体内成瘤实验证实 UbcH10 基因沉默可明显增强耐药肿瘤对化疗药物的敏感性。鉴于 BCL-2 与肿瘤耐药之间的密切关系^[20-21], 我们对各组瘤体中的 BCL-2 进行了检测,

结果发现 BCL-2 的变化与 UbcH10 一致,这说明 *UbcH10* 基因沉默引起耐药细胞中 *BCL-2* 基因会表达降低,这可能是耐药乳腺癌细胞对化疗变得敏感的分子调控途径之一。本研究为乳腺癌临床治疗中解决耐药问题和提高化疗的敏感性提供了新的理论依据。

[参考文献]

- [1] 邵志敏,沈镇宙,徐兵河. 乳腺肿瘤学[M]. 上海:复旦大学出版社,2013:1.
- [2] Li S Z, Song Y, Zhang H H, Jin B X, Liu Y, Liu W B, et al. UbcH10 overexpression increases carcinogenesis and blocks ALLN susceptibility in colorectal cancer [J]. *Sci Rep*,2014,4:6910.
- [3] Xie C, Powell C, Yao M, Wu J, Dong Q. Ubiquitin-conjugating enzyme E2C: a potential cancer biomarker [J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2014,47:113-117.
- [4] van Ree J H, Jeganathan K B, Malureanu L, van Deursen J M. Overexpression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme UbcH10 causes chromosome missegregation and tumor formation [J]. *J Cell Biol*, 2010, 188:83-100.
- [5] Perrotta I, Bruno L, Maltese L, Russo E, Donato A, Donato G. Immunohistochemical analysis of the ubiquitin-conjugating enzyme UbcH10 in lung cancer: a useful tool for diagnosis and therapy [J]. *J Histochem Cytochem*,2012,60:359-365.
- [6] Morikawa T, Kawai T, Abe H, Kume H, Homma Y, Fukayama M. UBE2C is a marker of unfavorable prognosis in bladder cancer after radical cystectomy [J]. *Int J Clin Exp Pathol*,2013,6:1367-1374.
- [7] Chen S M, Jiang C Y, Wu J Y, Liu B, Chen Y J, Hu C J, et al. RNA interference-mediated silencing of UBCH10 gene inhibits colorectal cancer cell growth in vitro and in vivo [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010,37(5-6):525-529.
- [8] Zhao L, Jiang L, Wang L, He J, Yu H, Sun G, et al. UbcH10 expression provides a useful tool for the prognosis and treatment of non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*,2012,138:1951-1961.
- [9] Okamoto Y, Ozaki T, Miyazaki K, Aoyama M, Miyazaki M, Nakagawara A. Ubch10 is the cancer-related E2 ubiquitin-conjugating enzyme [J]. *Cancer Res*, 2003,63:4167-4173.
- [10] 潘济昊,郭善禹,汪成,顾岩,包家林. UbcH10 在乳腺浸润性导管癌中的表达及预后分析 [J]. *外科理论与实践*,2014,19:47-52.
- [11] Aomatsu N, Yashiro M, Kashiwagi S, Kawajiri H, Takashima T, Ohsawa M, et al. Carbonic anhydrase 9 is associated with chemosensitivity and prognosis in breast cancer patients treated with taxane and anthracycline [J]. *BMC Cancer*,2014,14:400.
- [12] Xing Y, Wang Z H, Ma D H, Han Y. FTY720 enhances chemosensitivity of colon cancer cells to doxorubicin and etoposide via the modulation of P-glycoprotein and multidrug resistance protein 1 [J]. *J Dig Dis*,2014, 15:246-259.
- [13] Shi Z, Chen Q, Li C, Wang L, Qian X, Jiang C, et al. MiR-124 governs glioma growth and angiogenesis and enhances chemosensitivity by targeting R-Ras and N-Ras [J]. *Neuro Oncol*,2014,16:1341-1353.
- [14] Shoji K, Teishima J, Hayashi T, Ohara S, Mckeehan W L, Matsubara A. Restoration of fibroblast growth factor receptor 2 [III] b enhances the chemosensitivity of human prostate cancer cells [J]. *Oncol Rep*,2014,32: 65-70.
- [15] Yao K, Xing H, Yang W, Liao A, Wu B, Li Y, et al. Knockdown of RLIP76 expression by RNA interference inhibits proliferation, enhances apoptosis, and increases chemosensitivity to daunorubicin in U937 leukemia cells [J]. *Tumour Biol*,2014,35:8023-8031.
- [16] 张翔,厉红元,闵捷,李焰,刘强,梁欣洁. 乳腺癌细胞中下调 RABEX-5 对其化疗敏感性的影响 [J]. *四川大学学报:医学版*,2013,44:882-885.
- [17] Zhu Y, Wu J, Li S, Ma R, Cao H, Ji M, et al. The function role of miR-181a in chemosensitivity to adriamycin by targeting Bcl-2 in low-invasive breast cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*,2013,32:1225-1237.
- [18] Wang L, Wang C, Su B, Song Q, Zhang Y, Luo Y, et al. Recombinant human PDCD5 protein enhances chemosensitivity of breast cancer in vitro and in vivo [J]. *Biochem Cell Biol*,2013,91:526-531.
- [19] Berlingieri M T, Pallante P, Sboner A, Barbareschi M, Bianco M, Ferraro A, et al. UbcH10 is overexpressed in malignant breast carcinomas [J]. *Eur J Cancer*,2007,43:2729-2735.
- [20] Chen L, Bourguignon L Y. Hyaluronan-CD44 interaction promotes c-Jun signaling and miRNA21 expression leading to Bcl-2 expression and chemoresistance in breast cancer cells [J]. *Mol Cancer*,2014,13:52.
- [21] Hu J, Fang Y, Cao Y, Qin R, Chen Q. miR-449a Regulates proliferation and chemosensitivity to cisplatin by targeting cyclin D1 and BCL2 in SGC7901 cells [J]. *Dig Dis Sci*,2014,59:336-345.