doi:10.16118/j.1008-0392.2020.02.011

·基础研究·

Hsa_circ_USP42 竞争性结合 miR-182-5p 抑制三阴性乳腺癌转移的机制研究

于金玲[1,2],高蓓敏[2],沈卫达[2],崔 静[2],王浩峰[2],朱江帆[1]
(1. 同济大学附属东方医院普外科,上海 200120;2.上海市长宁区妇幼保健院乳腺科,上海 200051)

【摘要】**目的** 探索 hsa_circ_USP42 作为 miR-182-5p 海绵在 TNBC 中的生物学功能及调控机制。**方法** RT-PCR 技术检测 hsa_circ_USP42 在 TNBC 癌组织及癌旁组织中表达;通过双荧光素酶报告基因分析等技术研究 hsa_circ_USP42 和 miR-182-5p 的相互作用;过表达 hsa_circ_USP42,qPCR 技术及 Western 印迹法检测靶 miRNA miR-182-5p 及靶基因 MTSS1 的表达水平;Transwell 及 CCK8 实验检测 hsa_circ_USP42 对细胞增殖、侵袭和迁移的影响。**结果** Hsa_circ_USP42 在 TNBC 中表达明显下调($P=0.000$),淋巴结阳性组表达低于淋巴结阴性组($P=0.003$)。双荧光素酶实验证实 hsa_circ_USP42 与靶 miR-182-5P 可有效结合;细胞功能实验表明,过表达 hsa_circ_USP42 可抑制 TNBC 细胞迁移、侵袭和增殖。体外实验表明,过表达 hsa_circ_USP42 后,靶 miRNA miR-182-5p 上调,而靶基因 MTSS1 在转录水平及蛋白水平均降低。**结论** Hsa_circ_USP42 在 TNBC 中低表达,与 miR-182-5p 有效结合,可发挥 miRNA 海绵上调 MTSS1 表达,抑制 TNBC 侵袭及转移,是参与 TNBC 生物学行为机制之一。

【关键词】三阴性乳腺癌;hsa_circ_USP42;miR-182-5p;转移
【中图分类号】R737.9 【文献标志码】A 【文章编号】1008-0392(2020)02-0205-06

Hsa_circ_USP42 inhibits metastasis in triple negative breast cancer through competitive binding miR-182-5p

YU Jin-ling[1,2], *GAO Bei-min*[2], *SHEN Wei-da*[2], *CUI Jing*[2], *WANG Hao-feng*[2], *ZHU Jiang-fan*[1]
(1. Dept. of General Surgery, East Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200120, China;
2. Dept. of Breast Surgery, Shanghai Changning Maternity & Infant Health Hospital, Shanghai 200051, China)

【**Abstract**】**Objective** To investigate the biological function of hsa_circ_USP42 as sponge of miR-182-5p in triple negative breast cancer(TNBC). **Methods** The expression of hsa_circ_USP42 was detected by qRT-PCR in cancer tissue samples from 30 TNBC patients. Cell migration assay was conducted using Transwell assay, and cell proliferation was evaluated with the Cell Counting Kit 8 (CCK8) in breast cancer MDA-MB-231 cells. Bioinformatics prediction was performed to find the candidate hsa_circ_USP42 that may target miR-182-5p. Luciferase assays using miR-182 5′-untranslated region(5′-UTR) reporters were conducted to confirm the binding of miR-182-5p to the hsa_circ_USP42. Real-time quantitative RT-PCR(qPCR) and Western blotting were used to detect the expression of miR-182-5p and MTSS1 in MDA-MB-231 cells affected by over expression of hsa_circ_USP42. **Results** RT-PCR showed that the expression of hsa_circ_USP42 in TNBC was significantly lower than that in adjacent tissues($P=0.000$). In vitro experiments showed that overexpression of hsa_circ_USP42 significantly enhanced the proliferation and migration of MDA-MB-231 cells. RT-PCR and

收稿日期:2019-12-02
基金项目:上海市长宁区科学技术委员会课题(CNKW20164Y13)
作者简介:于金玲(1976—),女,主治医师,博士研究生.E-mail:yjl152152@163.com
通信作者:朱江帆.E-mail:jfzjiangfanzhu@163.com

Western blotting analysis showed that overexpression of hsa_circ_USP42 enhanced MTSS1 expression at both mRNA and protein levels, and reduced the expression of miR-182-5p. **Conclusion** The overexpression of hsa_circ_USP42 in TNBC can inhibit cell proliferation and migration, which may be serve as an sponge of miR-182 to enhance expression of MTSS1 that inhibits metastasis of TNBC.

【**Key words**】triple-negative breast cancer; hsa_circ_USP42; microRNA-182; migration

目前,乳腺癌仍位居女性恶性癌肿发病首位[1]。三阴性乳腺癌(thriple-negative breast cancer, TNBC)是一种特殊类型的乳腺癌亚型,雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)及人表皮生长因子受体(human epi-dermal growth factor receptor 2, HER2)表达均阴性,缺乏治疗靶点,容易复发及内脏转移,5年生存率不足30%[2]。除化疗外,尚缺乏其他有效治疗措施。因此,迫切需要寻求新的靶标治疗分子[3]。环状RNAs(circRNAs)是一类特殊的非编码RNA,具有高度稳定性和组织特异性[4]。而微小RNA(miRNA)在真核细胞的基因表达、细胞发育分化等发挥重要的调控作用[5]。近期研究表明,circRNA具有miRNA应答元件(microRNA response elements, MREs),通过与靶miRNA结合,作为miRNAs海绵体,发挥竞争性抑制剂作用,调控相关RNA的表达[6]。研究发现,miR-182-5p在TNBC中高表达可下调MTSS1水平,促进TNBC转移,并通过高通量测序发现,hsa_circ_USP42在TNBC中差异下调表达;靶miRNA预测软件分析发现,环状RNA hsa_circ_USP42在371~377碱基具有miR-182-5p可能的结合位点[7]。本研究通过分析hsa_circ_USP42对TNBC细胞株体外增殖、凋亡的影响,初步探讨circ_USP42靶向结合miR-182-5p在TNBC中发挥的相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 一般资料

本研究获得上海长宁区妇幼保健院伦理委员会批准(批准号CNFBLLQKW-2016003)。收集完整的TNBC患者临床及病理资料,并收集石蜡包埋的癌及癌旁组织;纳入患者共30例,为2010年1月至2015年12月期间在上海市长宁区妇幼保健院接受乳腺癌改良根治的患者。所有患者均获得知情同意。患者基线资料:年龄30~70岁,平均(48.67±9.65)岁;绝经18例,未绝经者12例;淋巴结阴性患者9例,淋巴结阳性患者21例;肿瘤病理分期:Ⅰ期和Ⅱ期患者共24例,Ⅲ期患者6例。入选标准:术前未接受过放疗及化疗,全部标本经两位病理科副主任医师读片,组织病理学确诊浸润性导管癌。有同侧腋窝淋巴结转移1枚以上或者肿瘤直径>5 cm者,术后给予放疗。排除标准:术前接受过放疗及新辅助化疗者;有远处转移患者;特殊病理类型乳腺癌。

1.2 材料与试剂

MDA-MB-231细胞株购于中国上海中科院细胞库;DMEM培养基购于Gibco公司(货号16000-044);LipofectAMINE™ 3000购于Invitrogen公司(货号L3000015);CCK8试剂购于同仁化工研究所;RNA反转录试剂盒购于TaKaRa公司(货号9109)。

1.3 仪器与设备

CO_2培养箱购于Thermo公司(货号3111);荧光定量PCR仪购自ABI公司(货号ViiA7/7500);RT-PCR反应膜购自ABI(货号4311971);电热恒温水槽购自精宏科技(货号DK-8D);酶标仪购自TECAN公司(M100 PRO);倒置显微镜购于Olympus公司(货号IX73)。

1.4 载体构建和细胞转染

构建带有目的基因hsa_circ_0007823 circRNA至psiCHECK2载体和pLCDH-ciR载体中。将提取的质粒pUC57-hsa_circ_0007823与载体pLCDH-ciR分别通过EcoRI/BamHI进行双酶切;转化到大肠杆菌,小量提取质粒,进行酶切鉴定,选取酶切正确的质粒进行测序,将测序正确的质粒进行大量提取。

1.5 细胞增殖及迁移实验

1.5.1 CCK8实验 收集细胞,加入适量的新鲜完全培养液轻轻吹打细胞至均匀的细胞悬液,计数,按1×10^4/孔的细胞密度将细胞悬液铺于96孔板中,四周用100 μL PBS填充。将铺好的96孔板放于37 ℃、5% CO_2培养箱培养24 h。实验分为2组,空载转染组和circRNA过表达质粒转染组,每组6复孔。将96板在37 ℃、5%CO_2培养箱孵育48 h,孵育时间结束,每孔加入10 μL CCK8溶液,将培养板

在培养箱内孵育 2 h，用酶标仪测定 450 nm 吸光度（A_{450}），绘制细胞活力曲线。

1.5.2　细胞迁移实验　细胞转染质粒 24 h 后，弃去 6 孔板原有培养基，加胰酶消化细胞，收集细胞并计数，用 0.1% BSA 培养基重悬，细胞密度为 2×10^5/mL，取上述细胞悬液 200 μL 接种于 Transwell 小室中，下室放置含 2.5% FBS 的培养基，放置细胞培养箱，常规培养 24～48 h 后取出，弃掉上清液，加入无菌 PBS，洗 2 次，室温下用 4%多聚甲醛固定 10 min，然后弃除 4%多聚甲醛，无菌 PBS 洗 2 次，室温下再用结晶紫染色 20 min，用蒸馏水洗掉小室上多余的结晶紫，室温干燥，倒置显微镜观察细胞、计数并拍照。

1.5.3　细胞侵袭实验　将人工基质胶（20 μg）包被于 8 μm 孔径的 Transwell 侵袭小室聚碳酯微孔膜的上表面，置于 37 ℃细胞培养箱中静止 30 min，使其聚成凝胶。收集转染 24 h 后的细胞，计数，用 0.1% FBS 的培养液制备成 1×10^6/mL 细胞悬液，在 Transwell 上室中加入 200 μL 细胞悬液，下室中加入 600 μL 含 10% FBS 的培养液，37 ℃、5% CO_2 细胞培养箱中静止培养 48 h 后取出 Transwell 小室，PBS 润洗，用棉签去除上室中的基质胶和细胞，加入 4%多聚甲醛固定 30 min，PBS 润洗后，结晶紫室温染色 15 min，蒸馏水冲洗浸泡，显微镜下观察拍照。

1.6　双荧光素酶报告基因检测

将 circRNA hsa_circ_USP42 与 hsa-miR-182-5p 的结合位点前后 200 bp 序列克隆构建至报告基因载体 psicheck2，同时合成上述预测到的 miR-182-5p mimics。收集培养好的 293T 细胞，用无 PS 的完全培养液重悬细胞，按每孔 4×10^4 个细胞，接种至 24 孔板中，放置细胞培养箱中静置培养过夜。细胞换成无血清培养基 a（3 μL Lipofectamine™3000+25 μL 无血清 OMEM 培养液，室温静置 5min）和无血清 OMEM 培养基 b（100 nmol miRNA-182-5p mi-mics/mimic NC+500 ng psicheck2/psicheck2-ciicRN A+25 μL）室温静置 5 min。将上述中的 a 和 b 混合，室温静置 20 min。加入制备的转染混合液于细胞中。去细胞上清液，加入裂解液充分裂解细胞后，12 000×g 离心 5 min，取上清液。加入 100 μL 萤火虫萤光素酶检测试剂，混匀后测定 RLU（relative light unit）。以报告基因细胞裂解液为空白对照。

1.7　Q-PCR 检测 hsa_circ_USP42 过表达效果及靶 miR-182 基因的表达水平

（1）收集培养好的 TNBC 细胞 MDA-MB-231，过表达 hsa_circ_USP42。取处理好的细胞，用 TRIzol 试剂（大连宝生物工程有限公司）提取总 RNA。以 DEPC H_2O 为对照测定 RNA 纯度和定量，取 2 μL RNA 溶液，在酶标仪上测定样本的浓度和质量。

（2）用 PrimeScript™ RT Master 试剂盒（日本 TaKaRa 公司）按照说明书对总 RNA 进行提取并反转录为 cDNA。qRT-PCR 在 Bio-Rad CFX96 系统（Bio-Rad 公司）上使用 TB Green™ Premix Ex Taq™（TAKARA 公司）进行。GAPDH 用作定量 circRNA 和 mRNA 的内部参考，U6 作为 miRNA 的内部参考。结果与计算：各样品的目标 RNA 和内参分别进行 real-time PCR 反应。基因的相对表达数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析。引物及序列见表 1。

表 1　各基因的引物及引物序列

Tab.1　Primers sequences of each gene

引物名称	引物序列（5′-3）
hsa-miR-182-5p-RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG-TATTCGCACTGGATACGACAGTGTG
hsa-miR-182-5p-F	GCCTTTGGCAATGGTAGAACT
MTSS1-hF	CAGTCCCAGCTTCGGACAAC
MTSS1-hR	TGAGAGCAGATCCAATCTCCC
hsa-circ-USP42-hF	CTCCAGAATTTGGGCAATA
hsa-circ-USP42-hR	AACCTGCATCCATGTCTCC
U6-hF	CTCGCTTCGGCAGCACA
U6-hR	AACGCTTCACGAATTTGCGT
human-U6-RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG-TATTCGCACTGGATACGACAAAATATG
下游通用引物序列	GTGCAGGGTCCGAGGT
GAPDH-hF	TGACAACTTTGGTATCGTGGAAGG
GAPDH-hR	AGGCAGGGATGATGTTCTGGAGAG

1.8　Western 印迹法检测蛋白表达水平

RIPA 裂解液裂解细胞，置于冰上放置 30 min，4 ℃，12 000×g 离心 10 min，取上清液。使用 BCA 试剂盒（Thermo Fisher Scientific 公司）测定蛋白浓度。将蛋白液与 loading buffer 混匀，放入 100 ℃水浴 6 min。离心，放置冰上，配制 SDS-PAGE 分离胶。将等量的蛋白加载到凝胶上，电泳后使用转膜仪将蛋白转移到 PVDF 膜上，然后用 5%脱脂牛奶在 37 ℃封闭 2 h。P 孵育一抗，内参（1∶5 000），目的蛋白（均按 1∶1 000稀释），4 ℃，过夜。孵育二抗（1∶5 000），37 ℃，2 h。化学发光显影（Millipore ECL 发光液），

记录并拍照。

1.9　统计学处理

采用 GraphPad Prism 7.0 软件作图。采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。定量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示(符合正态分布)或者中位数与四分位数间距(不符合正态分布)的形式表示。组间均值比较使用 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　hsa_circ_USP42 在 TNBC 癌组织中低表达

qPCR 结果显示,TNBC 癌组织中 circRNA USP42 相对定量(5.969±3.076)低于癌旁组织(20.284±5.444),差异有统计学意义($t=-16.469$,$P=0.000$),见图 1。circRNA USP42 在淋巴结阳性组表达(3.575±1.612)低于淋巴结阴性组(6.995±2.999),差异有统计学意义($t=4.039$,$P=0.003$)。

2.2　hsa_circ_USP42 过表达抑制 TNBC 细胞迁移和侵袭

过表达质粒 circRNA hsa_circ_USP42 的细胞迁移数量减少($P=0.028$),过表达质粒 circRNA hsa_circ_USP42 的细胞侵袭数量减少($P<0.000\ 1$),见图 1。

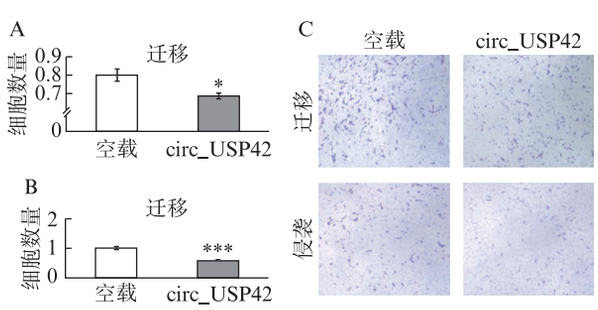

图 1　circ_USP42 过表达对 TNBC 细胞迁移及侵袭的影响

Fig.1　Effects of circ_USP42 expression on cell migration and invasion of TNBC cells

A:circ_USP42 过表达抑制 TNBC 细胞迁移;B:circ_USP42 过表达抑制 TNBC 细胞侵袭;C:过表达 circ_USP42 后 TNBC 细胞迁移(上)和细胞侵袭(下)(×200);与空载组比较,$^{*}P<0.05$,$^{***}P<0.001$

2.3　hsa_circ_USP42 过表达抑制 TNBC 细胞活力

CCK-8 检测结果显示,过表达质粒 circRNA hsa_circ_USP42 的细胞活力水平降低($P=0.000\ 8$),见图 2。

2.4　circRNA 结合的 miRNA 荧光素酶筛选验证

通过网络数据库,预测环状 RNA hsa_circ_USP42 在 371~377 片段有 hsa-miR-182-5p 靶结合点。荧光素酶报告基因实验发现,将质粒 circRNA hsa_circ_USP42 与 miR-182-5p mimics 共转染至 TNBC 细胞系 MDA-MB-231,荧光素酶活性降低,差异有统计学意义($P<0.000\ 1$)表明 circRNA circ_USP42 与 miR-182-5p 为有效结合,见图 3。

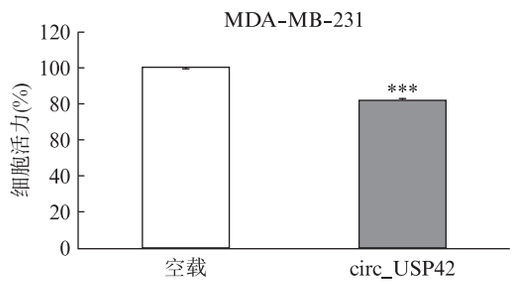

图 2　hsa_circ_USP42 过表达对 TNBC 细胞株增殖的影响

Fig.2　Effects of hsa_circ_USP42 expression on cell proliferation of TNBC cells

与空载组比较,$^{***}P<0.001$

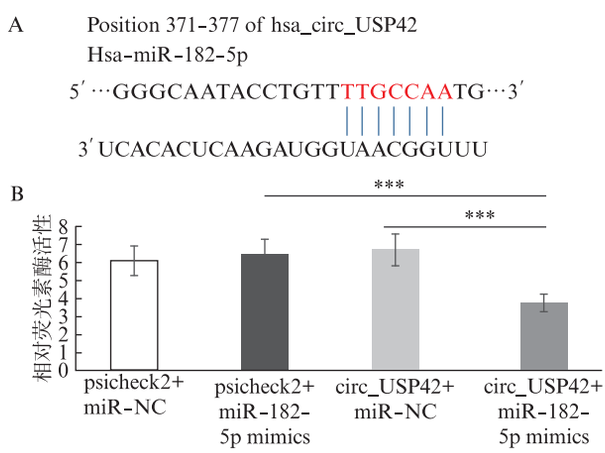

图 3　荧光素酶报告基因实验结果

Fig.3　The results of luciferase report assay

A:预测环状 RNA hsa_circ_USP42 与 hsa-miR-182-5p 靶结合位点;B:双荧光素酶验证 hsa_circ_USP42 与 miR-182 有效结合与对照组比较,$^{***}P<0.001$

2.5　circRNA-miRNA-靶基因验证

在 MDA-MB-231 中过表达环状 RNA hsa_circ_USP42,qPCR 验证 miR-182 及 MTSS1 靶基因表达水平,Western 印迹法检测 MTSS1 的蛋白表达水平。qPCR 结果表明,与对照组比较,过表达质粒 circRNA hsa_circ_USP42 转染细胞后,circRNA hsa_circ_USP42 的表达水平升高($P=0.002\ 2$);miR-182-5p 的表达水平降低($P=0.036$),MTSS1 的表达水平升高($P=0.001\ 7$),差异均有统计学意义,见图 4。

Western 印迹法检测结果显示,过表达质粒 circRNA hsa_circ_USP42 细胞的 MTSS1 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义($P=0.035\ 4$),见图 5。

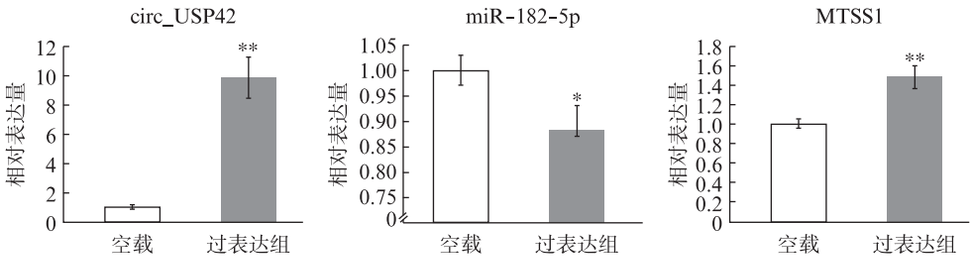

图 4　hsa_circ_USP42 过表达后 miR-182-5p 及 MTSS1mRNA 水平变化

Fig.4　The expression of miR-182-5p and MTSS1 mRNA in hsa_circ_USP42 overexpression cells

与对照组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$

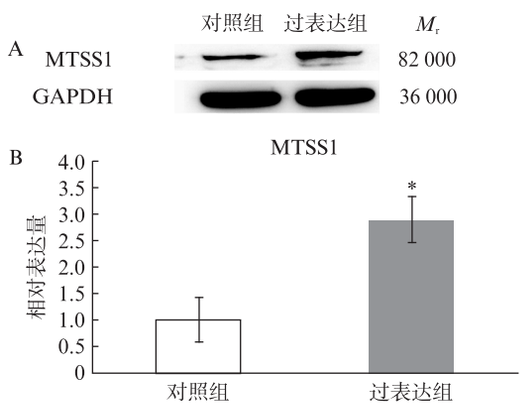

图 5　hsa_circ_USP42 过表达后 MTSS1 蛋白水平变化及灰度分析

Fig.5　The expression of MTSS1 protein and gray value in hsa_circ_USP42 overexpression cells

A：MTSS1 蛋白水平变化；B：灰度分析；与对照组比较，$^{*}P<0.05$

3　讨　　论

TNBC 是一类具有高度异质性的乳腺癌，严重危害女性健康。15%～20%的乳腺癌患者为 TNBC[8]。在过去的几十年中，乳腺癌治疗取得了显著进展，总体死亡率下降。然而，TNBC 病理组织学分级差，肿瘤侵袭性强，容易发生内脏转移。目前 TNBC 治疗仍以化疗为主，尚缺乏内分泌及抗 HER2 治疗靶点，3 年后复发率可达 40%～50%[9]，预后仍然很差。因此，鉴定更多用于治疗 TNBC 的抗癌分子靶标具有重要意义。

CircRNA 是一类以共价闭环为特征的非编码 RNA，广泛存在于真核生物中，来源于基因的外显子或内含子，具有物种保守性及组织特异性。随着高通量测序技术和计算分析的发展，越来越多的 circRNA 被发现，其在疾病发生中的调控作用也越来越被重视[10]。相比线性 RNA 分子，circRNA 具有封闭的环状结构，没有 5′-3′的极性和 polyA 尾巴，因此不容易被 RNA 核酸外切酶或者 RNaseR 降解，更稳定[11]。大多 circRNAs 来源于外显子，具有可以结合 miRNA 的 MREs。circRNAs 主要存在于细胞质中，其表达丰度较高，具有组织特异性，相对保守。circRNAs 的上述特性决定了它们在转录后的重要作用，可作为疾病诊断及治疗的潜在靶点。

CircRNA 可作为内源性竞争 RNA（ceRNA）分子，可能通过影响靶 miRNA 与下游靶 mRNA 结合而发挥作用[12]。有研究证明，在不同物种中，circRNA 可以发挥 miRNA 海绵体的作用，通过与 miRNA 竞争性结合，作为 ceRNA，调控靶 mRNA 的表达[13-14]，在疾病调控中发挥重要作用，作为潜在的疾病预后因子及治疗靶点[15]。约 30% 以上的 circRNA 发挥 miRNA 的 ceRNA 作用，形成 circRNA-miRNA-mRNA 多维调控网络，调控基因的表达。Piwecka 等[16]验证了环状 RNA Cdr1as 大约有 1 500 个核苷酸，可能发挥海绵作用吸附 miRNA 的作用。

microRNA 是较短的 RNA 分子，通常结合到 mRNA 的互补序列上，因而控制着细胞产生的特定蛋白数量，发挥抑癌或促癌作用[17-18]。研究探索了 miR-182 对 TNBC 细胞行为的作用，表明 miR-182 在 TNBC 组织和细胞中上调，可促进 TNBC 细胞的增殖和侵袭，并证明 miR-182 可能通过下调靶 mRNA 表达促进 TNBC 细胞增殖和迁移[19-20]。本课题组前期进行了 TNBC circRNA 测序，建立了 circRNA 差异表达谱，挑选出差异表达显著的 circ_USP42 作为进一步研究对象。靶 miRNA 预测结果表明，miR-182-5p 是与 hsa-circ-USP42 结合力最强的 5 个 miRNA 之一。进一步通过数据库预测 hsa_circ_USP42 在 371～377 及 412～419 两个碱基序列与 miR-182-5p 有潜在结合位点。荧光素酶报告基因质粒 circRNA hsa_circ_USP42 与 has-mir-182-5p 共转染至细胞后荧光素酶活性显著降低，说明 circRNA circ_USP42 与 miR-182 有效结合。在本研究中，hsa_circ_USP42 在 TNBC 癌组织中的表达明

显低于癌旁组织;在TNBC淋巴结阳性组表达更低。在TNBC细胞株MDA-MB-231中过表达hsa_circ_USP42,细胞的侵袭和迁移明显受到抑制,提示hsa_circ_USP42可能发挥miR-182-5p的海绵调控作用,影响TNBC的发生发展。荧光素酶报告基因实验证实hsa_circ_USP42与miR-182-5p有效结合;过表达hsa_circ_USP42后,靶miRNA miR-182-5p显著下调,而靶基因MTSS1在转录水平及蛋白水平均升高,提示hsa_circ_USP42可能发挥miR-182-5p海绵作用,上调MTSS1表达,抑制TNBC侵袭及转移,在TNBC发生发展过程中发挥抑癌作用;hsa_circ_USP42与miR-182-5p的靶结合位点可能是TNBC的潜在治疗靶点。

未来需要体内动物实验进一步阐明hsa_circ_USP42作为miR-182-5p海绵调控体内机制。hsa_circ_USP42/miR-182-5p/MTSS1轴对TNBC复发、转移的影响,有待进一步研究。

【参考文献】

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018,68(6): 394-424.

[2] DOEPKER M P, HOLT S D, DURKIN M W, et al. Triple-negative breast cancer: a comparison of race and survival[J]. Am Surg, 2018,84(6): 881-888.

[3] PARK J H, AHN J H, KIM S B. How shall we treat early triple-negative breast cancer(TNBC): from the current standard to upcoming immuno-molecular strategies[J]. ESMO Open, 2018,3(Suppl 1): e000357.

[4] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. Nature, 2013,495(7441): 333-338.

[5] NIGRO J M, CHO K R, FEARON E R, et al. Scrambled exons[J]. Cell, 1991,64(3): 607-613.

[6] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013,495(7441): 384-388.

[7] 于金玲,沈卫达,高蓓敏,等.miR-182下调MTSS1表达促进三阴性乳腺癌侵袭及转移.[J].医学研究生学报,2019,32(9): 963-967.

[8] BARECHE Y, VENET D, IGNATIADIS M, et al. Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis[J]. Ann Oncol, 2018,29(4): 895-902.

[9] BIANCHINI G, BALKO J M, MAYER I A, et al. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2016,13(11): 674-690.

[10] OJHA R, NANDANI R, CHATTERJEE N, et al. Emerging role of circular RNAs as potential biomarkers for the diagnosis of human diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2018,1087: 141-157.

[11] LI Y, ZHENG Q P, BAO C Y, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis[J]. Cell Res, 2015,25(8): 981-984.

[12] SALMENA L, POLISENO L, TAY Y, et al. A *Cerna* hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? [J]. Cell, 2011,146(3): 353-358.

[13] YANG R, XING L, ZHENG X Y, et al. The circRNA circAGFG1 acts as a sponge of miR-195-5p to promote triple-negative breast cancer progression through regulating CCNE1 expression[J]. Mol Cancer, 2019,18(1): 4.

[14] ZHENG Q P, BAO C Y, GUO W J, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs[J]. Nat Commun, 2016,7: 11215.

[15] WENG W H, WEI Q, TODEN S, et al. Circular RNA ciRS-7-A promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2017,23(14): 3918-3928.

[16] PIWECKA M, GLAŽAR P, HERNANDEZ-MIRANDA L R, et al. Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function[J]. Science, 2017,357(6357): eaam8526.

[17] BHARDWAJ A, SINGH H, RAJAPAKSHE K, et al. Regulation of miRNA-29c and its downstream pathways in preneoplastic progression of triple-negative breast cancer[J]. Oncotarget, 2017,8(12): 19645-19660.

[18] 周春,王光华,张帮柱.miR-367对人乳腺癌MCF-7细胞增殖、侵袭和迁移的影响及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2019,45(6): 1353-1360.

[19] 于金玲,沈卫达,高蓓敏,等.MiR-182/FOXF2信号通路在三阴性乳腺癌侵袭及血管生成中的意义[J].同济大学学报(医学版),2018,39(1): 54-58.

[20] YU J, SHEN W, GAO B, et al. MicroRNA-182 targets FOXF2 to promote the development of triple-negative breast cancer[J]. Neoplasma, 2017,64(2): 209-215.