

# 干扰FBI-1表达对人乳腺癌细胞增殖的影响及其作用机制研究

王 丽, 覃庆洪, 谭启杏, 练 斌, 杨伟萍, 韦长元

广西医科大学附属肿瘤医院乳腺外科, 广西南宁 530021

[摘要] 背景与目的: 人类免疫缺陷病毒短转录诱导物连接因子1(factor that binds to the inducer of short transcripts of human immunodeficiency virus-1, FBI-1)在多种恶性肿瘤中都高表达,可能与肿瘤增殖分化、血管发生及转移等生物学行为密切相关,其与乳腺癌的关系尚未完全阐明。该研究旨在探讨FBI-1在乳腺癌细胞中的表达,并研究靶向干扰FBI-1基因表达对乳腺癌细胞增殖的影响及其可能的作用机制。方法:应用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)和蛋白[质]印迹法(Western blot)检测人正常乳腺上皮细胞株MCF-10A、人乳腺癌细胞株MCF-7中FBI-1的表达水平;采用shRNA干扰技术抑制MCF-7细胞中FBI-1基因的表达,采用CCK-8增殖实验及平板克隆形成实验检测细胞增殖能力,采用RTFQ-PCR和Western blot检测干扰FBI-1表达前后MCF-7细胞中FBI-1及NF- $\kappa$ Bp65的表达。结果:FBI-1 mRNA及蛋白在人乳腺癌细胞中高表达( $P<0.05$ )。采用shRNA干扰技术抑制MCF-7细胞的FBI-1表达后, MCF-7细胞的增殖能力明显减弱( $P<0.05$ );同时,抑制FBI-1表达后, NF- $\kappa$ Bp65的mRNA及蛋白表达水平均显著下降( $P<0.05$ )。结论:FBI-1在乳腺癌细胞中高表达,下调FBI-1的表达可以抑制乳腺癌细胞的增殖,其作用机制可能与抑制NF- $\kappa$ B信号通路有关。

[关键词] 人类免疫缺陷病毒短转录诱导物连接因子1; 乳腺癌; 细胞增殖; NF- $\kappa$ B

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2017.04.004

中图分类号: R737.9 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2017)04-0262-06

**Effect of downregulation of FBI-1 on proliferation of human breast carcinoma cell line and its mechanism** WANG Li, QIN Qinghong, TAN Qixing, LIAN Bin, YANG Weiping, WEI Changyuan (Department of Breast Surgery, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China)

Correspondence to: WEI Changyuan E-mail: weicy63@aliyun.com

[Abstract] **Background and purpose:** Factor that binds to the inducer of short transcripts of human immunodeficiency virus-1 (FBI-1) in a variety of malignant tumors showed high expression levels, which may be closely related to tumor proliferation and differentiation, angiogenesis, metastasis, but its relationship with breast cancer has not been fully elucidated. The purpose of this study was to investigate the expression of FBI-1 in breast cancer cells, and to study the effect of FBI-1 gene expression on the proliferation of breast cancer cells and its possible mechanism. **Methods:** Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR) and Western blot analysis were applied to detect FBI-1 expression in normal human mammary epithelial cell line MCF-10A and breast cancer cell MCF-7. RNA interference method was used to down-regulate FBI-1 expression in MCF-7 cells. The cell proliferation was measured by CCK-8 kit and colony formation assay. RTFQ-PCR and Western blot were used to detect the expression of FBI-1 and NF- $\kappa$ Bp65 in MCF-7 cells before and after the interference of FBI-1 expression. **Results:** The expression of FBI-1 was higher in breast cancer cells than that in normal human mammary epithelial cells ( $P<0.05$ ). The effects of FBI-1 down-regulation inhibited proliferation in MCF-7 cells ( $P<0.05$ ). At the same time, after inhibition of FBI-1, the NF- $\kappa$ Bp65 mRNA and protein expression levels were significantly decreased ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** FBI-1 is highly expressed in breast cancer cells. Down-regulated FBI-1 expression can inhibit the proliferation of breast cancer cells,

and its mechanism may be related to the inhibition of NF- $\kappa$ B signaling pathway.

[ **Key words** ] Factor that binds to the inducer of short transcripts of human immunodeficiency virus-1; Breast cancer; Cell proliferation; NF- $\kappa$ B

人类免疫缺陷病毒短转录诱导物连接因子1(factor that binds to the inducer of short transcripts of human immunodeficiency virus-1, FBI-1)是BTB-ZF蛋白家族的成员之一,由位于人类第19号染色体短臂1区3带中第3亚带(19p13.3)的*Zbtb7*基因编码<sup>[1]</sup>。有研究表明,其在肺癌、前列腺癌、肾癌、淋巴瘤、结肠癌、肝细胞癌、乳腺癌和胸腺瘤等多种肿瘤中都高表达,可能与肿瘤增殖分化、血管生成及转移等生物学行为密切相关<sup>[2-5]</sup>。已有研究显示,FBI-1在乳腺癌的癌组织中高表达,并且与肿瘤病理分级、临床分期等成正相关<sup>[6-7]</sup>,而FBI-1对乳腺癌细胞增殖的影响及其作用机制研究较少,有待进一步研究阐明。

本研究应用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)和蛋白[质]印迹法(Western blot)检测人正常乳腺上皮细胞株MCF-10A、人乳腺癌细胞株MCF-7中FBI-1的表达水平,进而采用shRNA干扰技术下调MCF-7细胞中FBI-1基因的表达,进一步研究FBI-1对细胞增殖能力的影响及其作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 细胞株

人正常乳腺上皮细胞株MCF-10A及人乳腺癌细胞株MCF-7均购自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细胞库。

#### 1.1.2 主要试剂

DMEM培养基、RPMI-1640培养基和胎牛血清购自以色列Bioind公司, RNA提取所用TRIzol Reagent购自美国Ambion公司,引物、RNA反转录试剂盒和PCR试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司, GAPDH抗体、FBI-1

抗体{Rb mAb to ZBTB7A [EPR13178(B)], ab175918, 40  $\mu$ L/支}购自美国Abcam公司, NF- $\kappa$ Bp65抗体购自美国CST公司, 二抗购自美国EarthOx公司。FBI-1沉默重组慢病毒颗粒(LV-shRNA-FBI-1)和阴性对照慢病毒颗粒(LV-shRNA-NC)由苏州吉玛基因股份有限公司构建, Polybrene由苏州吉玛基因股份有限公司提供。LV-shRNA-FBI-1序列为GCAGCTGGACCTTG TAGATCA, LV-shRNA-NC序列为TTCTCCGAACGTGTCACGT。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细胞培养

人正常乳腺上皮细胞株MCF-10A采用含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素的RPMI-1640液体培养体系,置于37  $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱内中培养,每天观察细胞生长情况。人乳腺癌细胞株MCF-7培养在含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素的DMEM培养基。培养条件同上。

#### 1.2.2 细胞转染

将对数生长期的MCF-7细胞按 $2 \times 10^3$ 个/孔接种于96孔板中,在37  $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的条件下,用含10%胎牛血清、不含抗生素的DMEM培养基培养。24 h后,待细胞融合度达到40%~60%时,根据细胞数目选择合适的感染细胞的病毒颗粒数与实际细胞数的比值梯度,并给予相应剂量的慢病毒液,感染24 h后换液,直至72 h,采用荧光显微镜观察各孔内的绿色荧光蛋白的表达情况,以确定最佳感染复数(multiplicity of infection, MOI)值;以最佳MOI值再次感染MCF-7细胞,72 h后,选取荧光率大于80%的孔,继续培养。转染成功的实验组MCF-7细胞命名为MCF-7/shRNA-FBI-1,空载组为MCF-7/shRNA-NC。

#### 1.2.3 采用RTFQ-PCR检测mRNA的表达

采用TRIzol提取细胞总RNA,并检测其纯

度, 反转录反应参照说明书, 以反转录所得cDNA为模板, 进行RTFQ-PCR检测。反应条件: 95 ℃预变性30 s, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 共40个循环。采用GAPDH作为内参。用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算mRNA相对表达量。FBI-1上游引物: 5'-TTGCCAAAGATACCTGCTGA-3', 下游引物: 5'-AAACCCCAAACAACC AAACA-3'。NF-κBp65上游引物: 5'-GGAGC ACAGATACCACCAAGA-3', 下游引物: 5'-CGGCAGTCCTTTCCTACAAG-3'。GAPDH上游引物: 5'-AGAAGGCTGGGGC TCATTTG-3', 下游引物: 5'-AGGGGCC ATCCACAGTCTTC-3'。

#### 1.2.4 采用Western blot检测蛋白的表达

收集各组细胞裂解蛋白加样, 当溴酚蓝电泳至凝胶底部时停止。100 mA电转膜100 min, 将膜放入5%脱脂奶粉的TBST中封闭1 h。加一抗, 摇床上4 ℃温育过夜。TBST漂洗3次, 每次10 min; 加二抗, 于室温置于摇床上温育1 h; TBST漂洗3次, 每次10 min。使用ECL显影液在凝胶成像系统中进行显影。以GAPDH为内参, 计算目的蛋白的灰度值。蛋白相对表达量(%) =  $\frac{\text{灰度值}_{\text{目的蛋白}}}{\text{灰度值}_{\text{内参蛋白}}} \times 100\%$ 。

#### 1.2.5 生长曲线的绘制

将对数期的空白对照组MCF-7细胞、阴性对照组MCF-7/shRNA-NC细胞及转染组MCF-7/shRNA-FBI-1细胞经0.25%的胰蛋白酶消化制备成单个细胞悬液, 进行细胞计数, 按 $2 \times 10^3$ 个/孔接种于96孔板, 置于37 ℃、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱内培养0、1、2、3、4和5 d后取出, 加入CCK-8试剂10 μL/孔继续温育1 h后, 将96孔板放置于酶标仪450 nm波长下检测吸光度(D)值。

#### 1.2.6 平板克隆形成实验

将空白对照组MCF-7细胞、阴性对照组MCF-7/shRNA-NC细胞及转染组MCF-7/shRNA-FBI-1细胞经0.25%的胰蛋白酶消化制备成单个细胞悬液, 接种于6孔板, 每孔500个细胞, 轻轻晃动6孔板使细胞分散均匀, 置于37 ℃、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱中, 静置培养10~14 d至

6孔板出现肉眼可见的克隆。PBS小心洗涤细胞2次, 100%的甲醇固定15 min, 0.1%结晶紫液染色15 min, 流水缓慢洗去染色液, 在空气中自然干燥。镜下计数大于50个细胞的克隆数, 然后计算克隆形成率。克隆形成率(%) = (克隆数/接种细胞数) × 100%。

#### 1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0及Excel软件分析数据, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两个样本均数间比较采用t检验, 多个样本均数间比较采用方差分析。P < 0.05为差异有统计学意义。Western blot灰度值分析采用Image Lab软件。

## 2 结 果

### 2.1 FBI-1 mRNA及蛋白在MCF-10A、MCF-7细胞中的表达

RTFQ-PCR分析结果显示, FBI-1 mRNA在人正常乳腺上皮细胞株MCF-10A中的相对表达量为 $1.010 \pm 0.132$ , 低于在人乳腺癌细胞株MCF-7中的相对表达量( $1.543 \pm 0.640$ ), 差异有统计学意义(P < 0.05, 图1)。Western blot检测结果显示, FBI-1蛋白在人乳腺癌细胞株MCF-7中相对表达量为 $1.043 \pm 0.043$ , 高于在人正常乳腺上皮细胞株MCF-10A中的相对表达量( $0.651 \pm 0.060$ ), 差异有统计学意义(P < 0.05, 图2)。

### 2.2 FBI-1对乳腺癌细胞增殖能力的影响

采用CCK-8法及平板克隆形成实验检测空白对照组MCF-7及阴性对照组MCF-7/shRNA-NC、转染组MCF-7/shRNA-FBI-1的细胞增殖能力。CCK-8法检测的细胞生长曲线显示, 抑制FBI-1基因的表达后, 转染组MCF-7/shRNA-FBI-1细胞的增殖能力较阴性对照组及空白对照组细胞均明显下降, 差异有统计学意义(P < 0.05, 图3)。平板克隆形成试验结果显示, 转染组的细胞克隆形成率 [ $(37.000 \pm 4.885)\%$ ] 低于空白对照细胞组 [ $(59.918 \pm 3.214)\%$ ] 和阴性对照组 [ $(54.753 \pm 4.057)\%$ ], 且与阴性对照组之间的差异有统计学意义(P < 0.05, 图4)。表明下调FBI-1的表达后MCF-7细胞增殖能力下降。

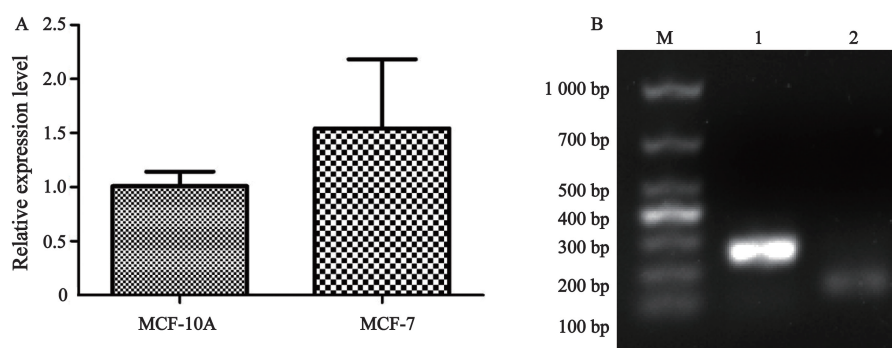


图 1 FBI-1 mRNA在MCF-10A、MCF-7细胞中的表达及PCR产物琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Expression of FBI-1 mRNA in MCF-10A, MCF-7 cells and agarose gel electrophoresis of PCR production

A: Expression of FBI-1 mRNA in MCF-10A and MCF-7 cells; B: Agarose gel electrophoresis of PCR production; M: 1 000 bp DNA marker ladder; 1: GAPDH 235 bp; 2: FBI-1 138 bp

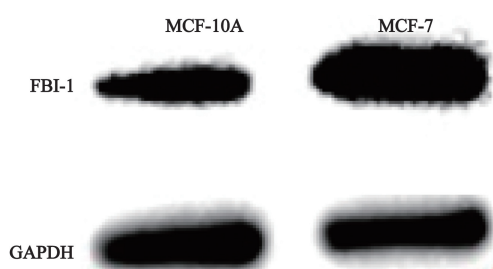


图 2 FBI-1蛋白在MCF-10A、MCF-7细胞中的表达

Fig. 2 Expression of FBI-1 protein in MCF-10A and MCF-7 cells

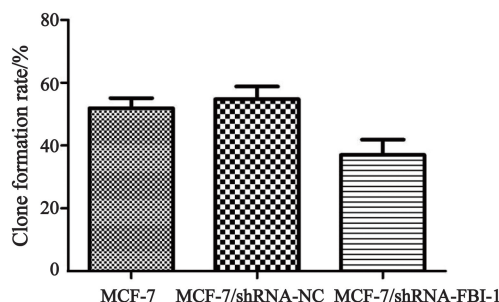


图 4 MCF-7细胞抑制FBI-1表达前后的细胞克隆形成率

Fig. 4 Cell clone formation rate in MCF-7, MCF-7/shRNA-NC and MCF-7/shRNA-FBI-1 cells

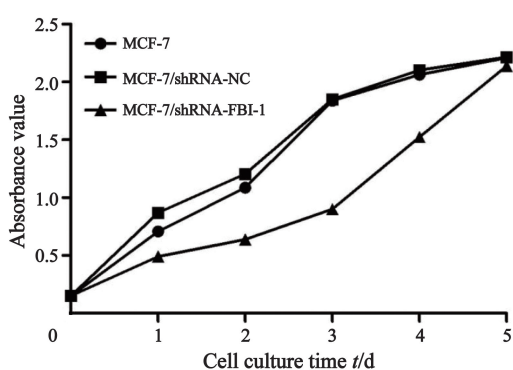


图 3 MCF-7细胞抑制FBI-1表达前后的生长曲线

Fig. 3 Growth curve in MCF-7, MCF-7/shRNA-NC and MCF-7/shRNA-FBI-1 cells

### 2.3 抑制FBI-1基因前后MCF-7细胞中NF-κBp65 mRNA及蛋白的表达

RTFQ-PCR分析结果显示, 转染组MCF-7/shRNA-FBI-1中FBI-1 mRNA、NF-κBp65 mRNA的相对表达量( $0.333 \pm 0.011$ 、 $0.210 \pm 0.042$ )低于空白对照组MCF-7中的相对表达量( $1.000 \pm 0.000$ 、 $1.000 \pm 0.000$ )与阴性对照组MCF-7/shRNA-NC中的相对表达量( $0.910 \pm 0.044$ 、 $1.037 \pm 0.186$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图5)。Western blot结果显示, 转染组MCF-7/shRNA-FBI-1中FBI-1、NF-κBp65蛋白的相对表达量( $0.895 \pm 0.054$ 、 $0.672 \pm 0.052$ )低于空白对照组MCF-7中的相对表达量( $1.537 \pm 0.031$ 、 $1.361 \pm 0.040$ )及阴性对照组MCF-7/shRNA-NC中的相对表达量( $1.509 \pm 0.054$ 、 $1.452 \pm 0.075$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图6)。

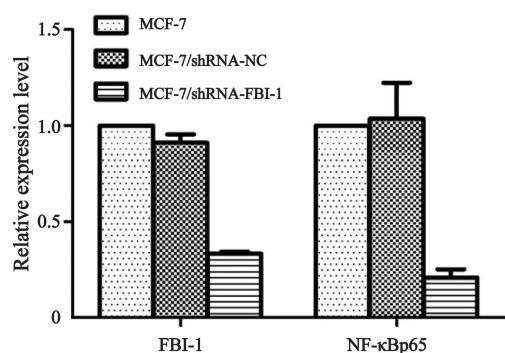


图5 抑制FBI-1基因前后MCF-7细胞中FBI-1 mRNA及NF-κBp65 mRNA的表达

Fig. 5 The expression of FBI-1 mRNA and NF-κBp65 mRNA in MCF-7, MCF-7/shRNA-NC and MCF-7/shRNA-FBI-1 cells

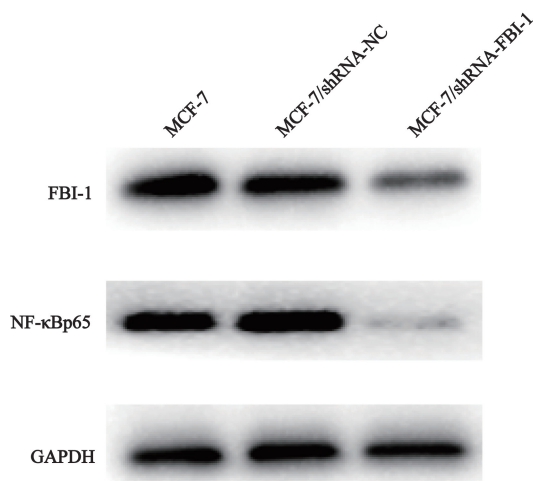


图6 抑制FBI-1基因前后MCF-7细胞中NF-κBp65蛋白的表达  
Fig. 6 The expression of protein of NF-κBp65 in MCF-7, MCF-7/shRNA-NC and MCF-7/shRNA-FBI-1 cells

### 3 讨 论

乳腺癌的发病率在全球范围内位居女性肿瘤的首位, 全球每年有140万例女性被确诊为乳腺癌<sup>[1]</sup>。乳腺癌的发生、发展及转移是一个较为复杂、由多基因参与的过程, 目前其机制尚不完全清楚。

原癌基因FBI-1可通过“FBI-1过表达下调ARF, 通过MDM2引起p53失活”等致癌模式促进肿瘤细胞生长。FBI-1作为一个环境相关的癌基因, 有研究显示, 其在肺癌、前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌和鼻咽癌等多种肿瘤中均高表达<sup>[2-5]</sup>。有研究显示, 与正常乳腺组织相

比, 乳腺癌细胞中的FBI-1存在过度表达, 且乳腺癌中FBI-1高表达与腋窝淋巴结转移有关<sup>[6-7]</sup>。本研究中的RTFQ-PCR与Western blot检测结果显示, FBI-1 mRNA及蛋白在人乳腺癌细胞株MCF-7中的相对表达量( $1.543 \pm 0.640$ ,  $1.043 \pm 0.043$ )明显高于人乳腺上皮细胞株MCF-10A中的相对表达量( $1.010 \pm 0.132$ 、 $0.651 \pm 0.060$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 表明FBI-1在乳腺癌细胞中高表达。与上述报道结果一致。

FBI-1特殊性在于其位于多种肿瘤抑制基因和原癌基因的上游, 调控多种原癌基因的转录过程, 被认为是肿瘤的总开关, 它的靶基因包括ARF、ADH5/FDH、BIRC5、肿瘤抑制因子Rb、原癌基因C-fos和C-myc等, 在细胞生长、分化、转移和癌变中发挥重要作用<sup>[8-9]</sup>。有研究显示, FBI-1可促进肿瘤细胞增殖<sup>[10]</sup>。本研究在抑制FBI-1基因的表达后, CCK-8及平板克隆形成实验结果显示, MCF-7细胞的增殖能力均明显下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 表明下调FBI-1的表达可以抑制乳腺癌细胞的增殖。提示FBI-1可能成为乳腺癌治疗的潜在靶点, 值得进一步研究。

对于FBI-1促进肿瘤增殖的机制国内外学者都做过一些研究。Zu等<sup>[7]</sup>的研究显示, FBI-1通过上调survivin的表达促进乳腺癌进程。He等<sup>[11]</sup>的研究显示, p-糖蛋白MDR1通过调节p53的表达调控人乳腺癌细胞中FBI-1基因的转录。此外, Zhao等<sup>[12]</sup>研究表明, FBI-1是NF-κBp65上游一个重要的调控因子, FBI-1可以通过调控细胞凋亡抑制因子调控NF-κBp65的表达, 促进肝癌的发展。还有研究表明, ANXA1通过NF-κB和C-myc抑制乳腺癌细胞的增殖<sup>[13]</sup>。因此我们推测, 下调FBI-1表达后乳腺癌细胞增殖受到抑制可能与NF-κBp65有关。

NF-κB是参与一系列基因表达调控的关键性核转录因子, 具有多向转录调节作用的核蛋白因子, 广泛存在于多种组织细胞中, 激活后参与许多基因的转录调控, 在免疫、炎症反应、氧化应激、细胞增殖和细胞凋亡等过程中

发挥作用。目前发现在哺乳动物中其家族共有5个成员,包括p65(RelA)、RelB、C-Rel、p50/p105(NF- $\kappa$ B1)和p52/p100(NF- $\kappa$ B2)。有研究表明,NF- $\kappa$ B是细胞增殖及生存等基本功能的一个关键调控因子<sup>[14-15]</sup>。Oida等<sup>[16]</sup>的研究也表明,NF- $\kappa$ B参与肿瘤细胞的增殖、迁移等过程,通过下调cyclin D阻断NF- $\kappa$ B信号通路可阻止雌激素受体阴性乳腺癌细胞的增殖。在本研究中,转染组MCF-7/shRNA-FBI-1中NF- $\kappa$ Bp65的mRNA及蛋白的相对表达量(0.210±0.042、0.672±0.052)分别低于阴性对照组MCF-7/shRNA-NC中的相对表达量(1.037±0.186、1.452±0.075)及空白对照组MCF-7中的相对表达量(1.000±0.000、1.361±0.040),差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明下调FBI-1 mRNA及蛋白的表达后,NF- $\kappa$ Bp65 mRNA及蛋白的表达也随之下调。由此可见,下调FBI-1表达后乳腺癌细胞增殖受到抑制可能是因为抑制NF- $\kappa$ B信号通路所致。

综上所述,在乳腺癌细胞MCF-7中FBI-1呈高表达,下调FBI-1的表达可抑制乳腺癌细胞的增殖可能是因为抑制NF- $\kappa$ B信号通路所致。这为乳腺癌的治疗提供了新的策略,FBI-1可能成为乳腺癌治疗新的靶点。

#### [参 考 文 献]

- [1] FORMENTI S C, ARSLAN A A, LOVE S M. Global breast cancer: the lessons to bring home [J]. *Int J Breast Cancer*, 2012, 2012: 249501.
- [2] MAEDA T, HOBBS R M, PANDOLFI P P. The transcription factor Pokemon: a new key player in cancer pathogenesis [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (19): 8575-8578.
- [3] AGGARWAL A, HUNTER W J 3<sup>rd</sup>, AGGARWAL H, et al. Expression of leukemia/lymphoma-related factor (LRF/POKEMON) in human breast carcinoma and other cancers [J]. *Exp Mol Pathol*, 2010, 89 (2): 140-148.
- [4] AGGARWAL H, AGGARWAL A, HUNTER WJ 3<sup>rd</sup>, et al. Expression of leukemia/lymphoma related factor (LRF/Pokemon) in human benign prostate hyperplasia and prostate cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2011, 90 (2): 226-230.
- [5] JIAO W, LIU F, TANG F Z, et al. Expression of the Pokemon proto-oncogene in nasopharyngeal carcinoma cell lines and tissues [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14 (11): 6315-6319.
- [6] QU H, QU D, CHEN F, et al. ZBTB7 overexpression contributes to malignancy in breast cancer [J]. *Cancer Invest*, 2010, 28 (6): 672-678.
- [7] ZU X, MA J, LIU H, et al. Pro-oncogene Pokemon promotes breast cancer progression by upregulating survivin expression [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13 (2): R26.
- [8] JEON B N, YOO J Y, CHOI W I, et al. Proto-oncogene FBI-1 (Pokemon/ZBTB7A) represses transcription of the tumor suppressor *Rb* gene via binding competition with Sp1 and recruitment of co-repressors [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (48): 33199-33210.
- [9] CHOI W I, JEON B N, YUN C O, et al. Proto-oncogene FBI-1 represses transcription of p21CIP1 by inhibition of transcription activation by p53 and Sp1 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (19): 12633-12644.
- [10] ZHU M, LI M, ZHANG F, et al. FBI-1 enhances ETS-1 signaling activity and promotes proliferation of human colorectal carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (5): e98041.
- [11] HE S, LIU F, XIE Z, et al. P-Glycoprotein/MDR1 regulates pokemon gene transcription through p53 expression in human breast cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2010, 11 (9): 3309-3051.
- [12] ZHAO X, NING Q, SUN X, et al. Pokemon reduces Bel-2 expression through NF- $\kappa$ Bp65: a possible mechanism of hepatocellular carcinoma [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2011, 4 (6): 492-497.
- [13] YUAN Y, ANBALAGAN D, LEE L H, et al. ANXA1 inhibits miRNA-196a in a negative feedback loop through NF- $\kappa$ B and C-myc to reduce breast cancer proliferation [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (19): 27007-27020.
- [14] OECKINGHAUS A, HAYDEN M S, GHOSH S. Crosstalk in NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12 (8): 695-708.
- [15] PASPARAKIS M, LUEDDE T, SCHMIDT-SUPPRIAN M. Dissection of the NF- $\kappa$ B signalling cascade in transgenic and knockout mice [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13 (5): 861-872.
- [16] OIDA K, MATSUDA A, JUNG K, et al. Nuclear factor- $\kappa$ B plays a critical role in both intrinsic and acquired resistance against endocrine therapy in human breast cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 4057.

(收稿日期: 2016-10-18 修回日期: 2017-02-08)