

文章编号 1006-8147(2020)04-0313-04

论 著

# RSRC2 影响三阴性乳腺癌细胞增殖迁移及侵袭的初步研究

李勇莉,赵秀兰,张宁,董学易,班新超,廖诗晗,刘铁菊  
(天津医科大学基础医学院病理学教研室,天津 300070)

**摘要** 目的:探究富含精氨酸/丝氨酸卷曲螺旋 2(RSRC2)对三阴性乳腺癌细胞生物学行为的影响。方法:将 RSRC2 过表达、降表达和空载体质粒通过慢病毒包装转染至三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中,通过 Western blot 检测转染效果,通过 Transwell 迁移实验、侵袭实验、划痕实验检测 RSRC2 对 MDA-MB-231 细胞迁移、侵袭能力的影响,通过平板克隆形成实验检测 RSRC2 对 MDA-MB-231 细胞增殖能力的影响。结果:Western blot 结果显示 RSRC2 过表达和降表达质粒成功转染至 MDA-MB-231 细胞中,Transwell 迁移实验、侵袭实验、划痕实验、平板克隆实验显示,RSRC2 过表达的 MDA-MB-231 细胞其迁移、侵袭及增殖能力减弱,RSRC2 降表达的 MDA-MB-231 细胞其迁移、侵袭及增殖能力增强(均  $P<0.05$ )。结论:RSRC2 在三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭过程中起着重要的负调控作用。

**关键词** 三阴性乳腺癌;RSRC2;增殖;迁移;侵袭

中图分类号 R737.9

文献标志码 A

## A preliminary study on the effect of RSRC2 on the proliferation, migration and invasion of triple negative breast cancer cells

LI Yong-li, ZHAO Xiu-lan, ZHANG Ning, DONG Xue-yi, BAN Xin-chao, LIAO Shi-han, LIU Tie-ju

(Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To explore the effect of arginine/serine-rich coiled-coil 2(RSRC2) on the biological behavior of triple-negative breast cancer cells. **Methods:** RSRC2 overexpression, interference and empty vector plasmids were transfected into triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-231 by the lentiviral packaging system. Western blot was used to detect the protein expression level of RSRC2. Transwell assay and wound-healing assay were used to examine the effect of RSRC2 on the migration and invasion of MDA-MB-231 cells. The effect of RSRC2 on the proliferation of MDA-MB-231 cells was tested by plate clone formation assay. **Results:** Cellular function experiments showed that with the overexpression of RSRC2, the proliferation, migration and invasion abilities of triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-231 were weakened compared with the control group. Compared with the control group, knockdown of RSRC2 enhanced proliferation, invasion, and migration of triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-231 (all  $P<0.05$ ). **Conclusion:** RSRC2 plays an important negative regulatory role in the proliferation, migration and invasion of triple-negative breast cancer cells.

**Key words** triple-negative breast cancer; RSRC2; proliferation; migration; invasion

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一。在我国,乳腺癌的发病率和死亡率分别高居女性恶性肿瘤的首位和第 5 位<sup>[1]</sup>。雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor-receptor 2, HER-2)均为阴性的三阴性乳腺癌是乳腺癌的一种特殊亚型,约 15%~20% 乳腺癌患者属于此类型<sup>[2]</sup>。三阴性乳腺癌较其他类型的乳腺癌发病年龄更早,更易复发和发生远处转移,预后最差<sup>[3]</sup>。富含精氨酸/丝氨酸卷曲螺旋 2(arginine/serine-rich coiled-coil 2, RSRC2),又称为食道癌抑制生长蛋白,是近年

来新发现的一种肿瘤抑制基因。它位于 12q24,基因表达产物由 434 个氨基酸组成<sup>[4]</sup>。RSRC2 在多种正常器官中广泛表达,而在肺中的表达水平明显高于胃、小肠、肾脏、肝脏等。研究表明,RSRC2 可影响细胞生长和增殖,但是它在肿瘤进展中如何发挥作用鲜有研究<sup>[5]</sup>。本研究旨在通过调控 RSRC2 在三阴性乳腺癌细胞系中的表达,探究 RSRC2 对三阴性乳腺癌生物学行为的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞株 人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、人肾上皮细胞系 293T 均购自(美国)ATCC 公司。

1.1.2 实验试剂 DMEM、Opti-MEM 培养基购自(美国)Neuronbe 公司,胎牛血清购自(美国)Gibco

基金项目 国家自然科学基金面上项目(81672870)

作者简介 李勇莉(1992-),女,硕士在读,研究方向:肿瘤病理学;通信作者:刘铁菊, E-mail:liutieju@tmu.edu.cn。

公司,质粒和慢病毒包装试剂盒均购自(美国)Genecopoeia公司;RSRC2过表达质粒(EX-H8692-Lv201),RSRC2过表达对照质粒(EX-NEG-Lv201),RSRC2降表达质粒(HSH017340-31-LvRU6GP),RSRC2降表达对照质粒(CSHCTR001-LvRU6GP),慢病毒包装试剂盒(HPK-LvTR-40)。Transwell小室购自(美国)FALCON公司,Matrigel胶购自(美国)Invitrogen公司。RSRC2抗体(R36896)购自(美国)NOVUS公司,GAPDH抗体(Sc25778)购自(美国)Santa Cruz公司,二抗购自(北京)中杉金桥公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 人乳腺癌细胞系MDA-MB-231、293T细胞培养于添加有10%胎牛血清(FBS)、1%双抗(100 U/mL青霉素,100 U/mL链霉素)的DMEM培养基中,37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

**1.2.2 细胞转染** 培养293T细胞,转染前2 d换成含10%热灭活血清的DMEM培养基,转染时按照慢病毒包装试剂盒说明书添加相关转染试剂及RSRC2过表达、降表达和空载体对照质粒,12~14 h后换成含5%热灭活血清和1%双抗的培养基,继续培养48 h后过滤细胞碎片,收集上清液。在6孔板中用含56℃热灭活血清的培养基培养MDA-MB-231细胞24 h,每孔中添加2 mL病毒液和12 μL Polybrene,12~14 h后替换成不含Polybrene的培养基培养,48 h后镜下观察转染效率,嘌呤霉素进行药筛,并建立稳定转染的MDA-MB-231细胞系。

**1.2.3 Western blot** 将培养皿中的细胞裂解后提取其蛋白并测其蛋白浓度,将等量的各蛋白上样于10%聚丙烯酰胺凝胶中电泳,于PVDF膜湿转90 min,pH值为7.0的5%脱脂牛奶中封闭1 h,加入适量的一抗,于摇床孵育1 h后,4℃孵育过夜。次日于摇床1 h恢复室温,TBST洗涤缓冲液洗膜3次,添加对应的二抗,37℃摇床孵育2 h,再次用TBST洗涤膜3次,加入发光液后避光显影,拍照保存。采用Image J进行蛋白条带灰度值分析。

**1.2.4 Transwell 迁移侵袭实验** 迁移实验不铺Matrigel胶,侵袭实验需提前在小室上层铺一层Matrigel胶。消化细胞,制备无血清的细胞悬液,调整细胞数至 $2 \times 10^5$ 个/mL,取200 μL无血清细胞悬液添加至上室,500 μL完全培养基添加至下室,迁移实验培养12 h后,侵袭实验培养36 h,之后预冷甲醇固定20 min,结晶紫染色1 h,清水冲洗后,用棉签擦拭未穿过的细胞,镜下观察,随机选5个视野拍照计数并分析。

**1.2.5 划痕实验** 适量的细胞接种至6孔板,当细胞融合度达95%,用100 μL枪头划一直线,PBS冲

洗划掉的细胞,添加含1%FBS和1%双抗的低浓度血清的培养基,拍照后继续在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。在0、12、24 h观察愈合情况,并拍照保存。用Image J软件测各组的划痕面积。

**1.2.6 平板克隆形成实验** 消化实验所用细胞,制备细胞悬液,调整细胞数至 $10^4$ 个/mL,吸取30 μL细胞悬液和2 mL DMEM培养基到6孔板中,培养箱中培养10 d。PBS冲洗3遍,冷甲醇固定25 min,结晶紫染色25 min,自来水冲洗后晾干,观察并拍照。

**1.3 统计学分析** 采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较分析采用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Western blot 法验证转染效果** Western blot法检测MDA-MB-231细胞过表达RSRC2及降表达RSRC2后,RSRC2在MDA-MB-231细胞中的蛋白表达量的变化。结果显示:过表达RSRC2的MDA-MB-231细胞中RSRC2的蛋白表达量明显高于对照组,降表达RSRC2的MDA-MB-231细胞中的RSRC2的蛋白表达量较对照组明显降低(均 $P < 0.05$ ),见图1。

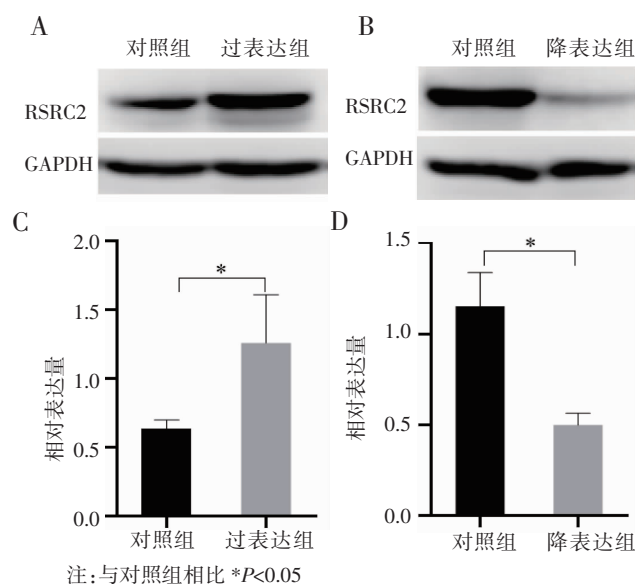
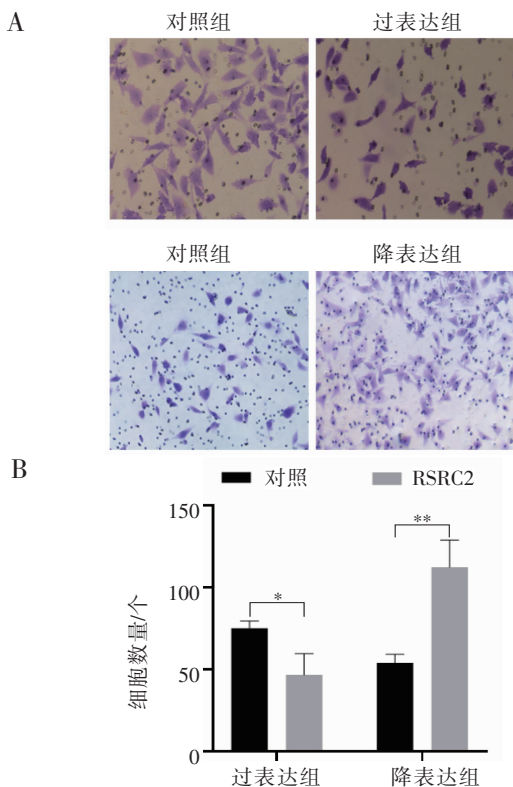


图1 Western blot 法检测 RSRC2 转染后的蛋白表达变化

Fig 1 Changes in the expression of RSRC2 protein

**2.2 RSRC2 对乳腺癌细胞迁移侵袭能力的影响** Transwell 迁移侵袭实验结果显示:迁移实验中,MDA-MB-231细胞过表达RSRC2后,与对照组相比,其细胞迁移数目减少,降表达RSRC2后,与对照组相比,其细胞迁移数目明显增强(均 $P < 0.05$ ),见图2。侵袭实验中,MDA-MB-231细胞过表达RSRC2后,其穿过的细胞数较对照组减少,降表

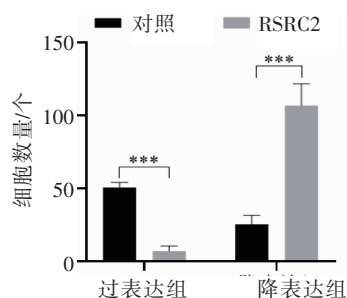
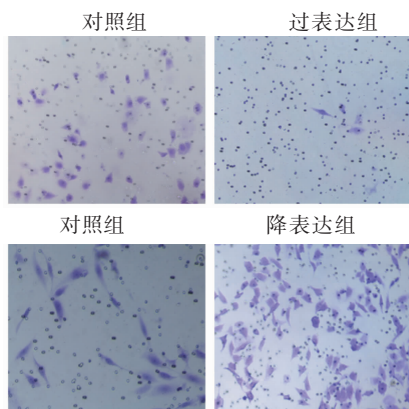
达RSRC2后,其穿过的细胞数较对照组增加(均 $P<0.001$ ),见图3。



注:与对照组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

图2 RSRC2对三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231迁移能力的影响(100x)

Fig 2 Effect of RSRC2 on the migration of MDA-MB-231 cells (100x)

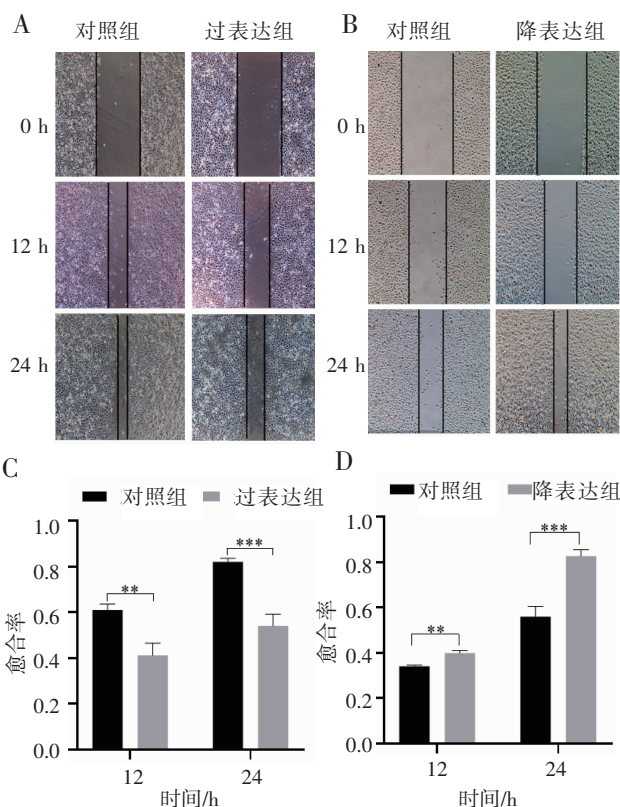


注:与对照组相比,\*\*\* $P<0.001$

图3 RSRC2对三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231侵袭能力的影响(100x)

Fig 3 Effect of RSRC2 on the invasion of MDA-MB-231 cells (100x)

划痕实验中,分别于0、12、24 h进行观察拍照,结果显示,过表达RSRC2后的MDA-MB-231细胞较对照组愈合能力减弱,而降表达RSRC2后,其结果相反(均 $P<0.01$ ),见图4。

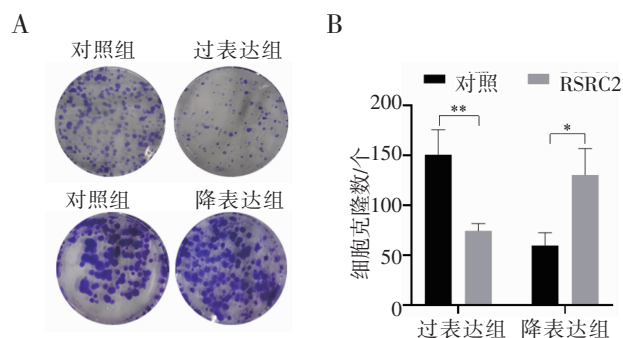


注:与对照组相比,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$

图4 RSRC2对三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231愈合能力的影响(40x)

Fig 4 Effect of RSRC2 on the healing ability of MDA-MB-231 cells (40x)

2.3 RSRC2对细胞增殖能力的影响 平板克隆形成实验中,在培养箱培养10 d后,终止培养,固定、染色、拍照,结果显示RSRC2过表达、降表达和对照组的细胞都能形成克隆,但是RSRC2降表达组形成的克隆数目明显多于对照组,而RSRC2过表达组的结果正好与之相反,差异具有统计学意义(均 $P<0.05$ ),见图5。



注:与对照组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

图5 RSRC2对三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖能力的影响

Fig 5 Effect of RSRC2 on the proliferation of MDA-MB-231 cells



### 3 讨论

乳腺癌具有异质性,其少见亚型三阴性乳腺癌具有独特的病理、遗传和临床特征<sup>[6]</sup>。由于缺乏内分泌治疗及抗 HER2 治疗的有效靶点,至今仍未有针对性的标准的治疗方案,在临床上,化疗仍是治疗三阴性乳腺癌的主要手段<sup>[7]</sup>。由于三阴性乳腺癌的高度异质性,使癌细胞对紫杉醇等化疗药物易产生耐药,部分三阴性乳腺癌患者预后不良,因此迫切需要寻找新的分子靶点,为三阴性乳腺癌治疗提供可能的新思路<sup>[8-9]</sup>。

RSRC2 属于富含精氨酸/丝氨酸家族中的成员,在多种肿瘤中呈低表达。研究显示,RSRC2 过表达后可以显著抑制食管癌细胞系 TE8 的增殖能力<sup>[5]</sup>。在结肠癌中的研究发现,细胞因子信号转导抑制因子 3(SOCS3)降表达细胞的增殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为增强,同时伴有 RSRC2 表达水平的降低<sup>[10]</sup>。SOCS3 属于细胞因子信号转导家族,它能抑制 Janus 激酶(JAK)活性和其下游信号转导及转录激活因子(STAT)蛋白的磷酸化,阻止 JAK/STAT 信号通路的激活,进而抑制肿瘤细胞生长、增殖、侵袭和迁移<sup>[11-13]</sup>。因此,RSRC2 可能是 SOCS3 下游效应因子。本研究通过平板克隆形成实验发现,过表达、降表达及对照组的细胞均能形成克隆,但是形成克隆的数量存在差异:过表达组明显少于对照组,而降表达组多于对照组。因此,本研究结果表明 RSRC2 在三阴性乳腺癌细胞中发挥了肿瘤抑制基因的作用,其表达能够抑制肿瘤细胞的增殖。

另有研究发现,RSRC2 是调控 CD40 的调节蛋白,人类 B 细胞系 BL2 中 RSRC2 降表达后,CD40 的蛋白表达量相应的增加<sup>[14]</sup>。CD40 是 I 型跨膜糖蛋白,在肿瘤侵袭、转移及血管生成中发挥重要作用<sup>[15-17]</sup>。此外,文献报道,RSRC2 在胰腺导管癌中的表达水平明显低于正常胰腺组织,且与胰腺导管癌的临床分期呈负相关<sup>[18]</sup>。RSRC2 表达量与食管癌浸润深度、淋巴结转移、血管浸润呈显著负相关,低表达 RSRC2 的患者预后差<sup>[5]</sup>。本课题组的前期研究通过免疫组化检测了 RSRC2 在三阴性乳腺癌中的表达情况,发现癌组织中 RSRC2 的表达量明显低于癌旁组织。RSRC2 蛋白水平的高低与生存率呈正相关,RSRC2 表达阳性患者生存时间长<sup>[19]</sup>。本研究通过迁移、侵袭实验及划痕实验发现降表达 RSRC2 后,三阴性乳腺癌细胞的侵袭、迁移能力增强,这些体外实验结果说明了 RSRC2 能够抑制三阴性乳腺癌细胞的迁移及侵袭等恶性生物学行为,从而在三阴性乳腺癌的进展中发挥重要作用。

DNA 甲基化是一种重要的表观遗传调控机制。大量研究已经证实,异常的 DNA 甲基化通过沉默抑癌基因的表达而增强肿瘤细胞的恶性行为,因此它与肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[20]</sup>。Kurehara 等<sup>[5]</sup>提出 RSRC2 潜在下调机制是 RSRC2 的高甲基化。Hernandez-Vargas 等<sup>[21]</sup>通过 KEGG 通路分析发现在乳腺癌细胞中参与 JAK/STAT 信号通路的基因表达降低与显著的高甲基化有关。Dong 等<sup>[10]</sup>研究表明,SOCS3 调节 RSRC2 的表达,且两者表达水平呈正相关,而 SOCS3 通过抑制 JAK/STAT 信号通路而在肿瘤进展中发挥抑制作用。由此,笔者猜测 RSRC2 的高甲基化引起其表达下调,下调的 RSRC2 通过激活 JAK/STAT 信号通路,从而在三阴性乳腺癌发生、发展中起作用。

综上所述,RSRC2 在三阴性乳腺癌组织中呈现低表达,降低 RSRC2 表达后,三阴性乳腺癌细胞的恶性生物学行为随之增强,表明 RSRC2 在三阴性乳腺癌的进展中可能起肿瘤抑制基因的作用,其抑制作用的发挥可能是通过抑制 JAK/STAT 信号通路的激活来实现的。接下来,笔者将进行大量的体内、外实验验证 RSRC2 通过抑制 JAK/STAT 信号通路激活而发挥抑制作用这一猜想的正确性,旨在为三阴性乳腺癌治疗提供一些新依据。

#### 参考文献:

- [1] Zheng R, Zeng H, Zhang S, et al. Estimates of cancer incidence and mortality in China, 2013[J]. *Chin J Cancer*, 2017,36(1):66
- [2] Marra A, Viale G, Curigliano G. Recent advances in triple negative breast cancer: the immunotherapy era[J]. *BMC Med*, 2019,17(1):90
- [3] Jiang Y Z, Ma D, Suo C, et al. Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: subtypes and treatment strategies[J]. *Cancer Cell*, 2019,35(3):428
- [4] Wolf M, Korja M, Karhu R, et al. Array-based gene expression, CGH and tissue data defines a 12q24 gain in neuroblastic tumors with prognostic implication[J]. *BMC Cancer*, 2010,10:181
- [5] Kurehara H, Ishiguro H, Kimura M, et al. A novel gene, RSRC2, inhibits cell proliferation and affects survival in esophageal cancer patients[J]. *Int J Oncol*, 2007,30(2):421
- [6] Camorani S, Granata I, Collina F, et al. Novel aptamers selected on living cells for specific recognition of triple-negative breast cancer[J]. *iScience*, 2020,23(4):100979
- [7] Damaskos C, Garmpi A, Nikolettos K, et al. Triple-negative breast cancer: the progress of targeted therapies and future tendencies[J]. *Anticancer Res*, 2019,39(10):5285
- [8] He J, McLaughlin R P, van der Noord V, et al. Multi-targeted kinase inhibition alleviates mTOR inhibitor resistance in triple-negative breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019,178(2):263

(下转第 323 页)

- late, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(38):34933
- [9] Aatsinki S M, Buler M, Salomäki H, et al. Metformin induces PGC - 1 $\alpha$  expression and selectively affects hepatic PGC - 1 $\alpha$  functions[J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(9):2351
- [10] Stanford K I, Goodyear L J. Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle[J]. *Adv Physiol Edu*, 2014, 38(4):308
- [11] Rizza R A. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: implications for therapy[J]. *Diabetes*, 2010, 59(11):2697
- [12] Zhang M, Lv X, Li J, et al. Sodium caprate augments the hypoglycemic effect of berberine via AMPK in inhibiting hepatic gluconeogenesis[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 363(1/2):122
- [13] Zanatta L, Rosso A, Folador P, et al. Insulinomimetic effect of kaempferol 3-neohesperidoside on the rat soleus muscle[J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(4):532
- [14] Quan H Y, Yuan H D, Jung M S, et al. Ginsenoside lowers blood glucose and lipid levels via activation of AMP-activated protein kinase in HepG2 cells and high-fat diet fed mice[J]. *Int J Mol Med*, 2011, 29(1):73
- [15] Long Y C, Zierath J R. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(7):1776
- [16] Wang Z, Cao Y, Yin Q, et al. Activation of AMPK alleviates cardiopulmonary bypass induced cardiac injury via ameliorating acute cardiac glucose metabolic disorder[J]. *Cardiovasc Ther*, 2018, 36(6): e12482
- [17] You H N, Park M H, Hwang S Y, et al. Nardostachys jatamansi DC extract alleviates insulin resistance and regulates glucose metabolism in C57BL/KsJ- db/db mice through the AMP-activated protein kinase signaling pathway[J]. *J Med Food*, 2018, 21(4):324
- [18] Deshpande A D, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications[J]. *Phys Ther*, 2008, 88(11):1254
- [19] Wang F, Yang X, Lu Y, et al. The natural product antroalbol H promotes phosphorylation of liver kinase B1 (LKB1) at threonine 189 and thereby enhances cellular glucose uptake[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(27): 10415.
- [20] Lochhead P A, Salt I P, Walker K S, et al. 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCK and glucose-6-phosphatase[J]. *Diabetes*, 2000, 49(6):896
- [21] Fabrizio A, Marc F, Claude K, et al. Liver adenosine monophosphate-activated kinase- $\alpha$ 2 catalytic subunit is a key target for the control of hepatic glucose production by adiponectin and leptin but not insulin[J]. *Endocrinology*, 2006, 147(5):2432
- [22] Shaw R J, Lamia K A, Vasquez D, et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin[J]. *Science*, 2005, 310(5754):1642
- [23] Rodgers J T, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 and SIRT1[J]. *Nature*, 2005, 434(7029):113
- [24] Rhee J, Inoue Y, Yoon J C, et al. Regulation of hepatic fasting response by PPAR coactivator-1 (PGC-1): requirement for hepatocyte nuclear factor 4 in gluconeogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(7):4012
- [25] Yoon J C, Pulgarserver P, Chen G, et al. Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1 [J]. *Nature*, 2001, 413(6852):131

(2019-11-12 收稿)

(上接第 316 页)

- [9] Lee K L, Kuo Y C, Ho Y S, et al. Triple-negative breast cancer: current understanding and future therapeutic breakthrough targeting cancer stemness[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(9):1334
- [10] Dong X, Wang J, Tang B, et al. The role and gene expression profile of SOCS3 in colorectal carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(22):15984
- [11] Lin X M, Chen H, Zhan X L. MiR-203 regulates JAK-STAT pathway in affecting pancreatic cancer cells proliferation and apoptosis by targeting SOCS3[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(16):6906
- [12] Li H, Zhang B, Ding M, et al. C1QTNF1-AS1 regulates the occurrence and development of hepatocellular carcinoma by regulating miR-221-3p/SOCS3[J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(3):277
- [13] Jin W. Role of JAK/STAT3 signaling in the regulation of metastasis, the transition of cancer stem cells, and chemoresistance of cancer by epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cells*, 2020, 9(1):217
- [14] Li G, Martinez-Bonet M, Wu D, et al. High-throughput identification of noncoding functional SNPs via type IIS enzyme restriction[J]. *Nat Genet*, 2018, 50(8):1180
- [15] Richards D M, Seftin J P, Gieffers C, et al. Concepts for agonistic targeting of CD40 in immuno-oncology[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2020, 16(2):377
- [16] Pang X, Zhang L, Wu J, et al. Expression of CD40/CD40L in colon cancer, and its effect on proliferation and apoptosis of SW48 colon cancer cells[J]. *J BUON*, 2017, 22(4):894
- [17] Georganaki M, Ramachandran M, Tuit S, et al. Tumor endothelial cell up-regulation of IDO1 is an immunosuppressive feed-back mechanism that reduces the response to CD40-stimulating immunotherapy[J]. *Oncoimmunology*, 2020, 9(1):1730538
- [18] Carrigan P E, Bingham J L, Srinivasan S, et al. Characterization of alternative spliceforms and the RNA splicing machinery in pancreatic cancer[J]. *Pancreas*, 2011, 40(2):281
- [19] Liu T, Sun H, Zhu D, et al. TRA2A promoted paclitaxel resistance and tumor progression in triple-negative breast cancers via regulating alternative splicing[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(7):1377
- [20] Yu J, Zayas J, Qin B, et al. Targeting DNA methylation for treating triple-negative breast cancer[J]. *Pharmacogenomics*, 2019, 20(16):1151
- [21] Hernandez-Vargas H, Ouzounova M, Le Calvez-Kelm F, et al. Methylome analysis reveals JAK-STAT pathway deregulation in putative breast cancer stem cells[J]. *Epigenetics*, 2011, 6(4):428

(2020-02-15 收稿)