

刺头复叶耳蕨总提取物与总黄酮体外抗肿瘤活性的比较研究

李辉敏^a, 姜登钊^b, 殷嫦嫦^a(九江学院, a.基础医学院; b.药学与生命科学学院, 江西 九江 332000)

摘要: 目的 比较刺头复叶耳蕨总提取物与总黄酮体外抗肿瘤活性。方法 以不同浓度的刺头复叶耳蕨总提取物与刺头复叶耳蕨总黄酮分别作用于人肝癌 HepG2 细胞、人肺癌 A549 细胞和人成骨肉瘤 Saos2 细胞, 400 nmol·L⁻¹ 槲皮素作阳性对照, 0.1% DMSO 的完全培养基为阴性对照, 倒置显微镜下连续观察 3 d 各组细胞形态及密度的变化; CCK-8 法检测药物的抑制率及半数抑制浓度(IC₅₀), 流式细胞仪检测 HepG2 细胞凋亡情况。**结果** 与阴性对照组比较, 人肝癌 HepG2 细胞和肺癌 A549 细胞加入不同浓度复叶耳蕨总提取物与总黄酮, 1 d 后发现细胞生长出现明显抑制, 细胞收缩变圆、裂解, 且呈浓度依赖, 而人骨肉瘤 Saos2 细胞形态无明显改变。CCK-8 法检测显示复叶耳蕨总提取物、总黄酮对人肝癌 HepG2 细胞和肺癌 A549 细胞的抑制呈时间及浓度依赖关系, 复叶耳蕨总提取物和复叶耳蕨总黄酮对 HepG2 作用的 IC₅₀ 分别为 76.62, 36.75 μg·mL⁻¹, 对 A549 作用的 IC₅₀ 分别是 170.13, 117.60 μg·mL⁻¹。一定浓度刺头复叶耳蕨总黄酮可引起 HepG2 细胞凋亡。**结论** 刺头复叶耳蕨总黄酮体外抗肿瘤活性优于总提取物。

关键词: 刺头复叶耳蕨; 总黄酮; 肿瘤细胞; 增殖

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)09-1037-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.002

Comparison of Anti-tumor Activities of Total Flavones and Extracts from *Arachniodes Exilis*(Hance) Ching *in Vitro*

LI Huimin^a, JIANG Dengzhao^b, YIN Changchang^a(Jiujiang University, a.Basic Medical College; b.College of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang 332000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the anti-tumor activities of total flavones and extracts from *Arachniodes Exilis*(Hance) Ching *in vitro*. **METHODS** Total extracts and flavones from *Arachniodes exilis*(Hance) Ching in different concentration were respectively used on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells, human lung cancer A549 cells and osteosarcoma Saos2 cells. Positive control was 400 nmol·L⁻¹ quercetin, and negative control was 0.1% DMSO complete medium. The changes of shape and density of cells were observed continuously in inverted phase contrast microscope for 3 d. CCK-8 detection was used to detect inhibition ratio and half maximal inhibitory concentration(IC₅₀). Apoptosis of HepG2 cells were detected by flow cytometry. **RESULTS** Compared with the negative control group, the growth of A549 cells and HepG2 cells in different concentration of total extracts and flavones were inhibited after 24 h. The cells shranked, turned round and cracked with concentration dependence. However, Saos-2 cells did not show obviously morphological changes. The result of CCK-8 detection suggested that the inhibition of total extracts and flavones on HepG2 cells and A549 cells had a concentration and time dependence. The IC₅₀ of total extracts and flavones on HepG2 cells were 76.62, 36.75 μg·mL⁻¹ and 170.13, 117.60 μg·mL⁻¹ on A549 cells. Certain concentration of flavones induced apoptosis of HepG2 cells. **CONCLUSION** The anti-tumor activity of total flavones from *Arachniodes exilis*(Hance) Ching is better than total extracts.

KEY WORDS: *Arachniodes exilis*(Hance) Ching; total flavones; tumor cells; proliferation

刺头复叶耳蕨 *Arachniodes exilis*(Hance) Ching 为鳞毛蕨科复叶耳蕨属植物, 广泛分布于世界热带和亚热带湿润区域, 我国主要分布于长江流域以南及山东、河南等地区, 具有清热利湿、抗菌消炎、镇静作用, 民间用于治疗急性黄疸型肝炎、关节炎、腰腿疼、痢疾等^[1]。有研究表明鳞毛蕨类植物有抗病毒、抗肿瘤等药理作用, 产生这些药理作用的成分是黄酮类化合物或总间苯三酚类化合物^[2]。鳞毛蕨科植物抗肿瘤机制与一般化疗药不

同, 在杀伤细胞的同时不损伤宿主的骨髓造血细胞。体外实验表明, 鳞毛蕨类植物醇提物作用于肿瘤细胞后, 导致 DNA 单链断裂, 阻碍了 DNA 的合成, 并能损伤肿瘤细胞的线粒体, 干扰瘤细胞的呼吸等作用^[3]。本研究选用人肝癌 HepG2 细胞、人肺癌 A549 细胞、人成骨肉瘤 Saos2 细胞, 采用药物体外评价抗肿瘤活性最常见的方法(倒置生物显微镜观察细胞生长、CCK-8 比色法), 比较刺头复叶耳蕨总提取物及刺头复叶耳蕨总黄酮对人

基金项目: 国家自然科学基金(81160536); 江西省教育厅资助项目(GJJ13737); 江西省卫生厅资助项目(2012A014)

作者简介: 李辉敏, 女, 博士, 副教授 Tel: (0792)8568166 E-mail: 13970280063@163.com

不同肿瘤细胞体外生长增殖的抑制作用,从而确认刺头复叶耳蕨总黄酮是否为该植物发挥抗肿瘤作用的活性部位之一或关键活性物质,并通过流式细胞仪双染法进行验证。

1 材料与仪器

1.1 材料

刺头复叶耳蕨根茎采自江西省星子县,由九江学院基础医学院高春华教授鉴定为鳞毛蕨科复叶耳蕨属刺头复叶耳蕨 *Arachniodes exilis*(Hance) Ching; 刺头复叶耳蕨总提取物:取刺头复叶耳蕨 75%乙醇提取液浓缩,冷冻干燥得到冻干粉,以芦丁对照品(购自中国生物制品检定所,批号:100080-200306)为对照测得其中总黄酮含量为 47.56%; 刺头复叶耳蕨总黄酮:取以上总提物冻干粉经聚酰胺纯化得到刺头复叶耳蕨洗脱液,浓缩、冷冻干燥而得,测定黄酮含量为 82.86%; 槲皮素(中国生物制品检定所,批号:100081-200406); 人肝癌 HepG2 细胞株、人肺癌 A549 细胞株、人成骨肉瘤 Saos2 细胞株均由九江学院基础医学院生化分析检测中心库存; 胎牛血清(FBS,北京全式金生物技术公司); CCK-8 细胞活力检测试剂盒(北京庄盟生物基因科技有限公司,批号:JK-021); DMEM/F-12 培养基(HyClone 公司); PBS 溶液($0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.2~7.4)、0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化液、青霉素、链霉素、DMSO 均来源于 Solarbio 公司,分析纯。

1.2 仪器

BT224S 型电子天平(德国赛多利斯); GALAXY170 型 CO_2 恒温细胞培养箱(德国 Eppendorf 公司); TDL-80-2B 型台式室温高速离心机(上海安亭科学仪器厂); TGL-18R 型冷冻高速离心机(珠海黑马医学仪器有限公司); SW-CJ-2D 型超净工作台(苏州净化设备有限公司); EON 型 Model680 酶标仪(美国伯腾仪器有限公司); 24 孔板、96 孔板(美国 Corning); DW-86L486 型超低温冰箱(Haier); TS100 型倒置相差显微镜(日本 NIKON); 可调式移液器(赛默飞世尔上海仪器有限公司)。

2 方法

2.1 样品的配制

分别精密称取刺头复叶耳蕨总提取物与纯化后的总黄酮各 5.0 mg,加入适量的 DMSO,超声溶解,加超纯水一定量配制得到浓度为

$100.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品母液,其中 DMSO 占总体积比 <10%。取 $0.22 \mu\text{m}$ 的无菌滤膜,过滤除菌,得滤液。精密吸取滤液适量,加入含胎牛血清的培养基,配制得到一定浓度的工作溶液(78.125, 156.25, 312.5, 625, $1250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),在 4°C 冰箱中保存备用。

2.2 细胞培养

从液氮中取出人肝癌 HepG2 细胞、人肺癌 A549 细胞及人成骨肉瘤 Saos2 细胞后迅速置于 37°C 水浴箱中解冻,分别移至已加入 10 mL 无血清培养基的 15 mL 无菌离心管中, $1000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,弃去上清液,加入 5 mL 含 10% FBS、 $10 \text{ kU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素及 $10 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素的完全培养基,重悬细胞并接种于培养瓶中,在 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养,第 2 天更换 1 次培养基,以后每隔 2~3 d 换液 1 次至细胞生长至铺满瓶底 90% 左右时传代。

2.3 药物干扰细胞生长及形态观察

取对数生长期的 HepG2 细胞、A549 细胞及 Saos2 细胞常规消化后分别取适量接种于 24 孔板中,置 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h,加入不同终浓度($15.625, 31.25, 62.5, 125, 250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的样品溶液,每个浓度设 3 个复孔,并设阴性对照组(含 0.1%DMSO 的完全培养基)、阳性对照组(含终浓度为 $400 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 槲皮素),连续作用 3 d,分别于 1, 2, 3 d 在倒置相差显微镜下观察细胞生长及形态学变化。

2.4 CCK-8 法检测药物对细胞的抑制率

通过“2.3”项下实验筛选出对复叶耳蕨总提取物与总黄酮敏感的细胞,分别取对数生长期细胞常规消化后稀释,以每孔 4000 个细胞的浓度接种于 96 孔板中,常规培养 24 h,分别加入终浓度为 $7.8125, 15.625, 31.25, 62.5, 125, 250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品溶液,每个浓度设 3 个复孔,同时设 1 个平行空白对照孔,阴性对照孔则加含 0.1%DMSO 的完全培养基,培养 24 h,每孔加入 $10 \mu\text{L}$ CCK-8 试剂,继续在 CO_2 培养箱中孵育 4 h 后取出用酶标仪在 450 nm 处测定其吸光度,并计算均值。细胞生长抑制率 = $[1 - (A_{\text{给药组}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{阴性对照组}} - A_{\text{空白孔}})] \times 100\%$,应用 SPSS 19.0 软件求其半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。

2.5 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡^[4]

根据 CCK-8 法试验结果,检测刺头复叶耳蕨

总黄酮对 HepG2 细胞凋亡影响。选对数期生长的细胞,以每孔 4×10^5 的浓度接种于 6 孔板中,在 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 的培养箱中培养 24 h,分别加入不同终浓度($15.0, 30.0, 60.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的刺头复叶耳蕨总黄酮,阴性对照孔则加含 $0.1\%\text{DMSO}$ 的完全培养基,培养 24 h,按凋亡试剂盒说明进行操作,弃去培养基,以 4°C 预冷的 PBS 缓冲溶液轻柔洗涤细胞 2 次,每孔加入浓度为 0.25% 的胰酶(含 EDTA) $200 \mu\text{L}$ 消化细胞,调节细胞浓度为每毫升 1×10^6 ; 将细胞悬浮于 5 mL 流式管中, $1\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 弃上清,取 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液于 5 mL 流式管中,每管分别加入 $5 \mu\text{L}$ Annexin V-FITC 和 $10 \mu\text{L}$ 碘化丙锭,混匀,室温下避光放置 15 min ,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.6 统计学处理

本研究采用 SPSS 16.0 统计软件处理数据,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 细胞生长及形态学观察

体外培养的人肝癌 HepG2 细胞和肺癌 A549 细胞在加入不同终浓度复叶耳蕨总提取物和总黄酮,1 d 后发现细胞生长出现明显抑制、细胞收缩变圆,还有一些细胞裂解,2 d 后多数细胞已看不见完整的结构,周围出现细胞碎片,细胞浓缩裂解数量与药物浓度成正比,而人骨肉瘤 Saos2 细胞形态无明显改变。细胞生长及形态学结果见图 1~3。

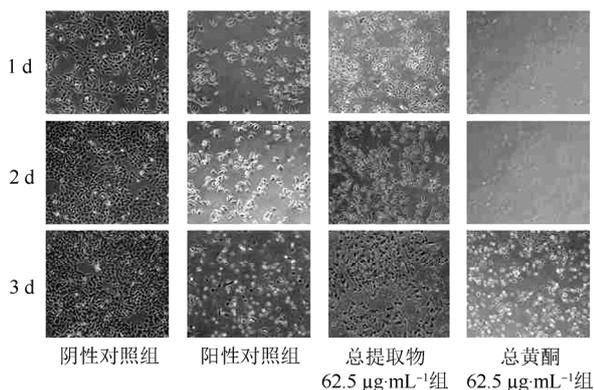


图 1 HepG2 细胞形态($100\times$)

Fig. 1 HepG2 cellular morphology($100\times$)

3.2 CCK-8 法细胞增殖活力检测

刺头复叶耳蕨总提取物与纯化后的总黄酮对肝癌 HepG2 和肺癌 A549 细胞增殖活力均有抑制作用。与药物最小浓度比较,同种药物的不同浓度

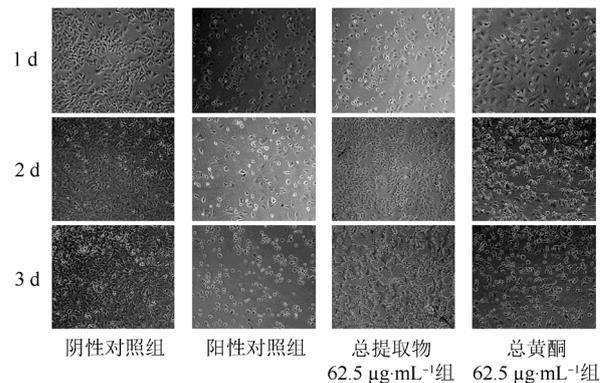


图 2 A549 细胞形态($100\times$)

Fig. 2 A549 cellular morphology($100\times$)

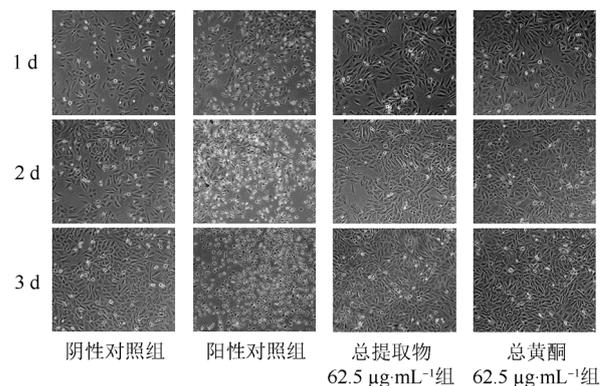


图 3 Saos-2 细胞形态($100\times$)

Fig. 3 Saos-2 cellular morphology($100\times$)

组的抑制率均有显著差异($P < 0.05$),抑制作用随浓度增加而增强,提示复叶耳蕨总提取物与总黄酮对 2 种肿瘤细胞的抑制作用在一定范围内呈剂量依赖关系,结果见表 1。复叶耳蕨总提取物对 HepG2 和 A549 的 IC_{50} 分别为 $76.62, 170.13 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 复叶耳蕨总黄酮对 HepG2 和 A549 的 IC_{50} 分别为 $36.75, 117.60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 1 24 h 后刺头复叶耳蕨总提取物与总黄酮对肝癌 HepG2 和肺癌 A549 细胞增殖的抑制作用

Tab. 1 Inhibitory effects of total flavones and extract from *Arachniodes exilis*(Hance) Ching on the growth of HepG2 cells and A549 cells after 24 h

浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	对 HepG2 细胞的 平均抑制率/%		对 A549 细胞的 平均抑制率/%	
	总提取物组	总黄酮组	总提取物组	总黄酮组
7.812 5	0.136	0.221	0.054	0.102
15.625	0.237 ¹⁾	0.343 ¹⁾	0.133 ¹⁾	0.162 ¹⁾
31.25	0.330 ¹⁾	0.513 ¹⁾	0.275 ¹⁾	0.338 ¹⁾
62.5	0.475 ¹⁾	0.690 ¹⁾	0.385 ¹⁾	0.427 ¹⁾
125	0.617 ¹⁾	0.826 ¹⁾	0.439 ¹⁾	0.478 ¹⁾
250	0.757 ¹⁾	0.932 ¹⁾	0.521 ¹⁾	0.616 ¹⁾

注:与 $7.812 5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with $7.812 5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, ¹⁾ $P < 0.05$.

3.3 刺头复叶耳蕨总黄酮对 HepG2 细胞凋亡的影响
刺头复叶耳蕨总黄酮给药浓度逐渐增加, HepG2 细胞均出现不同程度的凋亡。浓度为 15.0, 30.0, 60.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品溶液作用 HepG2 细胞 24 h 后, 早期凋亡细胞比例分别为 16.7%, 20.3%, 9.6%(位于散点图右下象限), 对应晚期凋亡细胞比例分别为 25.2%, 59.8%, 84.2%(位于散点图右上象限)。本试验进一步证明一定浓度刺头复叶耳蕨总黄酮可引起 HepG2 细胞凋亡。结果见图 4。

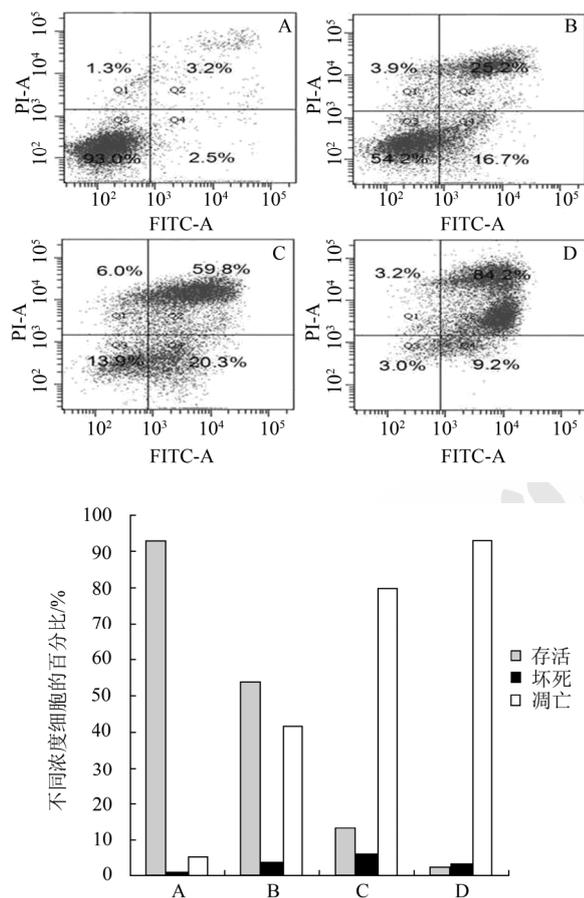


图 4 刺头复叶耳蕨总黄酮对 HepG2 细胞凋亡的影响
A-空白对照组; B-15.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组; C-30.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组;
D-60.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组。
Fig. 4 Apoptosis of HEPG2 cell by flow cytometry
A-blank control group; B-15.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group; C-30.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group;
D-60.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group.

4 讨论

近年来, 抗肿瘤药物发展迅速, 许多天然物质有效成分具有毒性低、成本低等特点, 在新药先导化合物和新药的开发中占有不可替代的地位^[5]。复叶耳蕨类植物的主要成分为黄酮类成分与酚类成分^[6]。许多研究表明, 总黄酮类化合物能够诱导肺癌、肝癌、卵巢癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞的

凋亡从而发挥抗肿瘤作用^[7-8]。本研究旨在通过细胞水平的研究, 了解刺头复叶耳蕨总黄酮是否具有抗肿瘤作用。

在预试中, 笔者曾采用 MTT 法测定刺头复叶耳蕨总提取物及总黄酮对细胞的抑制率, 但由于药物自身具有一定的颜色, 对测定影响较大, 结果不稳定, 与倒置相差显微镜下所见实验结果往往不符。在 MTT 法中, 操作说明要求反应显色后、测定前要完全弃去上清液, 以 DMSO 溶解紫蓝色的结晶物, 故不能通过增加药物空白对照孔, 扣除药物颜色的吸收对生长抑制率计算的影响, 而 CCK-8 法在检测之前不必弃去上清, 在试验中增加药物空白对照孔, 便可排除药物自身颜色对吸光度的影响, 从而获得真实的数据。因此最后采用 CCK-8 法来进行细胞活性检测。同时, 与传统的 MTT 检测法相比, CCK-8 法检测药物对细胞生长的抑制率具有操作简便、检测时间短、细胞毒性低、试剂稳定性高等优点, 是细胞增殖测定、肿瘤药敏试验的常用方法。

大量研究证实黄酮类化合物对肿瘤细胞具有一定的生长抑制及促凋亡作用^[7-8]。黄酮类化合物抗肿瘤的作用机制多种多样, 如槲皮素的抗肿瘤活性与其抗氧化性、抑制相关蛋白酶活性、降低肿瘤细胞的耐药性、抑制肿瘤细胞信号转导、抑制侵袭及转移作用等有关, 并具有时间和剂量依赖性; 水飞蓟素的抗肿瘤活性与其抗氧化性、诱导细胞周期阻滞等作用有关。

本研究取植物黄酮类单体化合物槲皮素为阳性对照, 证实了刺头复叶耳蕨总黄酮对肝癌 HepG2 和肺癌 A549 细胞的生长增殖均呈现一定的抑制作用, 其作用明显强于其总提取物, 在测定的浓度范围内, 该抑制作用与剂量之间呈现良好的依赖关系。在研究中还发现刺头复叶耳蕨总黄酮对人肝癌 HepG2 细胞的作用更为明显, 应用流式细胞仪 Annexin V-FITC/PI 双染法进行了药物促 HepG2 细胞凋亡的作用检测, 进一步证实其促人肝癌 HepG2 细胞凋亡的作用。

REFERENCES

- [1] ZHOU D N, RUAN J L, CAI Y L. Flavonoids from aerial parts of *Arachniodes exilis* [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2008, 43(16): 1218-1220.
- [2] 李辉敏, 阮金兰. 鳞毛蕨科药用蕨类植物研究进展[J]. 九江学院学报(自然科学版), 2004(3): 78-80.

- [3] 薛惟建, 杜小英, 李德华. 东北贯众素的抗肿瘤作用及对 DNA 的损伤效应[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1988, 2(2): 150-151.
- [4] SU Y T, CHANG H L, SHYUE S K, et al. Emodin induces apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through a reactive oxygen species-dependent mitochondrial signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70(2): 229-241.
- [5] 陈海霞, 刘明华, 李茂, 等. 皂角刺总黄酮粗提物与纯化物体外抗肿瘤活性研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 101-102.
- [6] ZHOU D N, RUAN J L, CAI Y L, et al. Three new polyphenols from the rhizomes of *Arachniodes exilis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(5/6): 559-563.
- [7] REN W Y, QIAO Z H, WANG H W, et al. Flavonoids: promising anticancer agents [J]. *Med Res Rev*, 2003, 23(4): 519-534.
- [8] ZHU P P, LI N N, LIANG J, et al. Progress in study on composition and bioactivities of flavonoids [J]. *Bev Ind(饮料工业)*, 2012, 15(3): 13-15.

收稿日期: 2014-11-05

miR-363 对顺铂耐药乳腺癌细胞的作用及机制

吕晓皓, 王蓓*, 陈建彬, 叶荆(浙江中医药大学附属第一医院乳腺病中心, 杭州 310006)

摘要: 目的 研究 miR-363 对顺铂耐药乳腺癌细胞的作用及机制。方法 采集以顺铂为主要化疗药物的中晚期乳腺癌患者血清, 用定量 PCR 法检测化疗前和化疗后血清标本 miR-363 的表达水平。构建顺铂抵抗 MCF-7 细胞系(MCF-7-R), MTT 法检测不同浓度顺铂对 MCF-7 及 MCF-7-R 细胞活力的影响。在 MCF-7-R 细胞中转染 miR-363, MTT 法检测 miR-363 是否能提高顺铂对 MCF-7-R 的杀伤活性。利用生物信息学、定量 PCR 及 Western blot 方法验证 miR-363 是否调节 MCF-7-R 细胞中 Mcl-1 的表达。构建 Mcl-1 真核表达载体, MTT 法检测 Mcl-1 表达载体转染对 miR-363 联合顺铂治疗 MCF-7-R 疗效的影响。结果 中晚期乳腺癌患者顺铂治疗后血清 miR-363 水平相较化疗前显著下降。MTT 结果表明相同浓度顺铂对 MCF-7-R 的杀伤活性显著低于 MCF-7 细胞, 且 miR-363 转染能显著提高顺铂对 MCF-7-R 的杀伤活性。生物信息学、定量 PCR 及 Western blot 结果表明 miR-363 转染可显著降低 MCF-7-R 细胞中 Mcl-1 的表达。miR-363 联合顺铂在 Mcl-1 表达载体转染后对 MCF-7-R 细胞的杀伤活性显著低于未转染 Mcl-1 表达载体的 miR-363 联合顺铂组。结论 MiR-363 能增强耐顺铂乳腺癌细胞对顺铂杀伤作用的敏感性。

关键词: miR-363; Mcl-1; MCF-7-R; 顺铂

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)09-1041-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.003

Effect and Mechanism of miR-363 on Cisplatin-treated Breast Cancer Cells

LYU Xiaohao, WANG Bei*, CHEN Jianbin, YE Jing(*Center of Breast Disease, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the role and mechanism of miR-363 on cisplatin-resistant breast cancer cells. **METHODS** Collected the serum from the advanced breast cancer patients who were treated with cisplatin-based chemotherapy. Then the expression of miR-363 in breast cancer patients' serum was detected before or after chemotherapy using qPCR analysis. Constructed the cisplatin-resistant MCF-7 cell line, the cytotoxicity of cisplatin to MCF-7 cell line and MCF-7-R cell line was measured by MTT assay. Transfected the MCF-7-R cells with miR-363 to determine whether the transfection of miR-363 enhanced cytotoxicity of cisplatin to MCF-7-R cells. Confirmed whether the expression of Mcl-1 was regulated by miR-363 using bioinformatics, qPCR and Western blot. Constructed the Mcl-1 expression vector, and detected the cytotoxicity of cisplatin combing with the cotransfection of miR-363 and Mcl-1 expression vector by MTT assay. **RESULTS** MiR-363 levels were significantly decreased in advanced breast cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy. MiR-363 levels were also lower in MCF-7-R cells than in MCF-7 cells. Exogenous miR-363 significantly overcame cisplatin resistance in MCF-7-R cells, whereas miR-363 knockdown increased the cell viability during cisplatin treatment. It was demonstrated that miR-363 directly

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2010KYA149)

作者简介: 吕晓皓, 女, 博士, 主治医师 Tel: (0571)87070921

E-mail: lxa616@126.com *通信作者: 王蓓, 女, 主任医师

Tel: (0571)87070921 E-mail: jhwbei@126.com