

- duced epigenetic transgenerational inheritance of phenotype and disease[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 354(1-2): 3-8.
- [10] Joseph P, Muchnok TK, Klishis ML. Cadmium-induced cell transformation and tumorigenesis are associated with transcriptional activation of c-fos, c-jun, and c-myc proto-oncogenes: role of cellular calcium and active oxygen species[J]. *Toxicol Sci*, 2001, 61(2): 295-303.
- [11] 葛才林, 杨小勇, 刘向农. 重金属对水稻和小麦 DNA 甲基化水平的影响[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2002, 28(5): 363-368.
- [12] 周新文, 朱国念, MwaUlin, 等. Cu、Zn、Pb、Cd 及其混合重金属离子对鲫鱼 DNA 甲基化水平的影响[J]. *中国环境科学*, 2001, 21(6): 549-552.
- [13] 王丙莲, 张迎梅, 谭玉凤, 等. 福铅对泥鳅 DNA 甲基化水平的影响[J]. *毒理学杂志*, 2006, 20(2): 78-80.
- [14] Lamia Benbrahim-Tallaa, Waterland RA, Dill AL, et al. Tumor suppressor Gene Inactivation during Cadmium-Induced Malignant Transformation of Human Prostate Cells Correlates with Overexpression of de Novo DNAMethyltransferase [J]. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(10): 1454-1459.
- [15] Vandegehuchte MB, Kyndt T, Vanholme B, et al. Occurrence of DNA methylation in *Daphnia magna* and influence of multigeneration Cd exposure[J]. *Environ Int*, 2009, 35(4): 700-706.
- [16] Poirier LA, Vlasova TI. The prospective role of abnormal methyl metabolism in cadmium toxicity[J]. *Environ Health Prospect*, 2002, 110(suppl 5): 793-795.
- [17] Zama AM, Uzumcu M. Fetal and neonatal exposure to the endocrine disruptor methoxychlor causes epigenetic alterations in adult ovarian genes[J]. *Endocrinology*, 2009, 150(10): 4681-4691.
- [18] Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, et al. Epigenetic trans-generational actions of endocrine disruptors and male fertility[J]. *Science*, 2005, 308(5727): 1466-1469.
- [19] TAO L, YANG S, XIE M. Effect of trichloroethylene and its metabolites, dichloroacetic acid and expression of c-jun and c-myc proto-oncogenes in mouse liver prevention by methionine[J]. *Toxicol Sci*, 2005, 84(2): 399-407.
- [20] Bollat V, Baccarelli A, Hou L, et al. Changes in DNA methylation patterns in subjects exposed to low-dose benzene [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 876-880.
- [21] Ji Z, Zhang L, Peng V, et al. A comparison of the cytogenetic alterations and global DNA hypomethylation induced by the benzene metabolite, hydroquinone, with those induced by melphalan and etoposide[J]. *Leukemia*, 2010, 24(5): 986-991.
- [22] 刘益民, 朱志良, 袁建辉, 等. 三氯乙烯对人血细胞 TNF- α 基因启动区甲基化影响及其表达水平研究[J]. *中国职业医学*, 2013, 6(40): 501-504.
- [23] 邓雯文, 杨沫, 张遵真, 等. 苯并[a]芘诱导的细胞恶性转化对 DNA 甲基化转移酶的影响[J]. *卫生研究*, 2013, 6(24): 915-919.
- [24] 王淑娟. 硫酸铍对小鼠肝组织 DNA 甲基化及 p53、c-Fos、c-Jun 蛋白表达的影响[D]. 衡阳: 南华大学, 2013.
- [25] 白倩, 谢琦, 彭晓莉, 等. 二氢杨梅素通过抑制甲基转移酶诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞 PTEN 基因去甲基化[J/OL]. *第三军医大学学报*, 2013. <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131121.1717.003.html>.
- [26] Sato K, Fukata H, Kogo Y, et al. Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters the expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the epididymis of mice[J]. *Endocr J*, 2006, 53(3): 331-337.

收稿日期: 2013-12-10; 修回日期: 2014-01-10

miR-200c 在肿瘤发生发展中的研究进展^①

朱名毅, 姚金光, 刘津

(右江民族医学院, 广西 百色 533000 E-mail: zhumingyi2009@163.com)

关键词: miR-200c; 肿瘤

中图分类号: R730.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2014)01-0080-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2014.01.050

MicroRNA(缩写为 miRNA 或 miR)是一类新发现的非编码单链 RNA, 由约 22 个核苷酸组成。它们广泛存在于动植物的真核细胞中, 主要通过降解靶 mRNA 或者抑制其翻译, 从而调节细胞分化、增殖和凋亡, 参与胚胎发育、机体代谢和肿瘤发生发展等过程。越来越多的证据证明 miRNA 在不同肿瘤组织间存在异常表达, 而且 miRNA 的表达与肿瘤的发生、发展、转移和预后等有关。miR-200c 作为 miR-200 家族中重要成员之一, 主要调控上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)过程, 在多数肿瘤的发生及转移过程中发挥重要的作用。现将 miR-200c 在肿瘤发生发展中的研究进展做一综

述。

1 miR-200c 的生物学特性

miR-200 家族有 5 个成员, 包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-429 和 miR-141, 其中 miR-200a、miR-200b 和 miR-429 位于人类 1 号染色体的 1p36.33, 而 miR-200c 和 miR-141 位于人类 12 号染色体的 12p13.31。miR-200 家族的 5 个 miRNA 有相似的核心序列, miR-200a/200b/429 的核心序列 AAUACU 和 miR-200c/141 的 AACACU 仅相差一个碱基, 所以又可以从功能方面分为两个子家族。尽管基因靶点预测方法预测两个群的靶基因谱不同, 但芯片检测结

① 基金项目: 右江民族医学院科研项目(编号: 右医科字[2011]1号)

果发现两者有很高的重叠,预示着 miR-200 家族各个成员都可能参与相同或相关的生理过程^[1]。miR-200c 的表达异常与肿瘤的发生发展有密切的联系,但其具体机制目前尚不明确。有研究证实 miR-200c 低表达与 DNA 的异常甲基化相关。有学者研究发现在正常成纤维细胞和 miR-200c 低表达的肿瘤细胞中发现 miR-200c 转录起始位点上游区 CpG 岛存在高度 DNA 甲基化,而 miR-200c 高表达的肿瘤细胞和正常上皮细胞中 CpG 岛不存在 DNA 甲基化;肿瘤细胞受到 DNA 甲基转移酶抑制剂刺激后,可以恢复 miR-200c 的表达,表明 DNA 甲基化可以诱导 miR-200c 基因的沉默^[2]。还有学者^[3]发现,p53 可以通过直接结合 miR-200c 的启动子区从而激活 miR-200c;而 miR-200c 在 p53 缺失的上皮细胞癌中的表达是下调的,p53 通过调控 miR-200c 的表达来调节 EMT 过程。Zhang 等^[4]将 PPARalpha/LRH-1siRNAs 转染到子宫内癌 MHC97H 细胞内可以下调 miR-200c 的表达,而转染 SHP-siRNAs 则可以上调 miR-200c 的表达;同时氧化应激也可以上调 miR-200c 在肿瘤细胞中的表达从而诱导细胞凋亡^[5]。此外,Burk 等^[6]在乳腺癌、胰腺癌和结直肠癌中的研究发现,ZEB1 也可以直接抑制 miR-200c 的转录,ZEB1 与 miR-200c 之间存在双重负反馈回路,共同参与调节肿瘤的侵袭转移和 EMT。

2 miR-200c 在肿瘤中的表达

近年来国内外大量研究表明,miR-200c 在胰腺癌、黑色素瘤、肾透明细胞癌、肝癌和膀胱癌等多种肿瘤中的表达显著低于相应的正常组织。Yu 等^[7]检测 99 例胰腺癌组织标本中 miR-200c 的表达,结果显示 miR-200c 高表达的患者术后生存率明显高于低表达患者。齐天伟等^[8]应用实时荧光定量 PCR 方法检测 miR-200c 在 76 例食管鳞癌和配对癌旁组织中的表达情况,发现与癌旁组织相比,食管鳞癌组织中 miR-200c 的表达显著减少;而且在中晚期食管癌组织中 miR-200c 的表达较早期食管鳞癌组织降低更为显著。然而在少数肿瘤中 miR-200c 的表达高于其相应的正常组织,如卵巢癌、子宫内癌和结肠癌。Xi 等^[9]研究发现 miR-200c 高表达的患者术后存活率较低。张鹏等^[10]也发现相对于正常黏膜组织,miR-200c 在直肠癌组织中表达上调,而且 miR-200c 的表达与患者血清癌胚抗原(CEA)水平有关。此外,Cochrane 等^[11]研究发现相对于低分化肿瘤,高分化的子宫内癌、乳腺癌和卵巢癌中 miR-200c 的表达水平显著增高,提示 miR-200c 与肿瘤的恶性程度有关。李林霞等^[12]采用 Real-timeRT-PCR 技术比较正常卵巢、交界性卵巢肿瘤及上皮性卵巢癌组织 miR-200c 的表达,在正常卵巢组织、交界性卵巢肿瘤、上皮性卵巢癌中 miR-200c 表达依次上升,而在低分化卵巢癌、透明细胞卵巢癌及转移性卵巢癌中 miR-200c 表达下降;患者组织中 miR-200c 表达越高,其预后越好。miR-200c 在肿瘤中表达有下调或上升,在恶性程度高和侵袭性强的肿瘤中,其发挥肿瘤抑癌基因的作用,因此 miR-200c 可以作为判断肿瘤预后的重要标志物之一。

3 miR-200c 在肿瘤发生发展中的作用

3.1 miR-200c 与肿瘤侵袭转移 EMT 是指上皮细胞在形态学上发生向间质细胞转化,同时间质细胞的标志物表达增强,细胞的侵袭迁移能力也增加。EMT 多发生在胚胎发育过程,而成熟细胞的 EMT 可以促进肿瘤细胞的侵袭转移。EMT 的过程中出现上皮钙黏蛋白(E-cadherin)表达下降,从而降低细胞间连接的稳定性,上皮钙黏蛋白的表达水平与 EMT 的发生和肿瘤的侵袭能力呈负相关。转录因子(Snail,ZEB1 和 ZEB2)可下调上皮钙黏蛋白的表达,促进 EMT 的发生,促进肿瘤细胞的侵袭和转移。目前的研究发现 miR-200c 能够直接靶向抑制转录因子 ZEB1/2,使上皮钙黏蛋白的表达上调,抑制 EMT 的发生,从而达到抑制肿瘤侵袭和转移的目的^[13]。周洋等^[14]利用基因转染技术将 miR-200c 转染至外阴鳞癌 A-431 细胞,检测发现 A-431 细胞转染 miR-200c 后 E-钙黏蛋白的

表达上调,而 miR-200c 高表达能够显著抑制 A-431 细胞侵袭和迁移能力。Burk 等^[6]发现 TGF- β 和 TNF- α 可以通过上调 ZEB1,诱导结直肠癌细胞、胰腺癌细胞和乳癌细胞 EMT 的形成;而 miR-200c 的过表达,或者沉默 ZEB1 可以部分抑制 EMT 过程,降低肿瘤细胞的转移能力。actin 调节蛋白(FHOD1 和 PPM1F)也是 miR-200c 的调控靶点,miR-200c 能够抑制 actin 调节蛋白的表达,从而抑制乳癌细胞的侵袭和转移^[15]。有学者发现在胰导管癌中,miR-200c 在转移癌中的表达高于原位癌,抑制基因 EP300 也可以抑制 miR-200c 的表达^[16]。以上研究结果说明 miR-200c 能同时作用于多个靶基因以调节肿瘤细胞的侵袭迁移能力。

3.2 miR-200c 与肿瘤耐药 临床治疗过程中肿瘤细胞很容易对化疗药物产生耐药性,研究发现耐药机制非常复杂,药物靶点的改变、药物的给药方式、细胞死亡通路和细胞修复等均与之密切相关^[17]。miRNA 对某些关键基因的转录后调控是肿瘤细胞产生耐药性的主要机制之一。崔秀英等^[18]使用 microRNA 芯片和 RT-PCR 方法比较 MCF-7 乳腺癌细胞株及其阿霉素耐药细胞株 MCF-7/ADR 的 microRNA 表达谱,发现耐药株与亲本细胞系相比有 16 个 microRNA 表达增高,20 个 microRNA 表达降低;RT-PCR 方法也证实 miR-200c 在耐药株中表达显著下降。Cochrane 等^[11]还发现 miR-200c 可以直接靶向抑制 3 型 β -微管蛋白基因(TUBB3,它被认为是以微管为靶点的化疗药物产生耐药的主要机制)的表达。在对子宫内癌 Hec50 细胞给予紫杉醇治疗前,上调 miR-200c 的表达可以增加肿瘤细胞对紫杉醇的敏感性。而在对非小细胞肺癌(NCI-H1299 细胞)的研究中发现 miR-200c 过表达可以增加其对顺氯铂和西妥昔单抗的敏感性^[19]。同时也可以通过对上调乳腺癌细胞的 miR-200c 的表达以增加其对化疗药物阿霉素的敏感性^[20]。但是在少数肿瘤中,miR-200c 过表达反而容易引起肿瘤细胞的耐药性。还有学者^[21]发现对顺氯铂耐受的食管癌细胞其 miR-200c 表达是增加的,抑制 miR-200c 的表达则可以增加其对顺氯铂的药物敏感性,其调控机制可能是通过上调蛋白质磷酸酶 2 调节亚基 1B(PPP2R1B)蛋白,减少磷酸化 AKT 的表达。所以,miR-200c 主要通过靶向抑制不同基因的表达来调节肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,也可能增加肿瘤细胞的耐药性。

3.3 miR-200c 与肿瘤标志物 肿瘤标志物对临床诊疗过程有很大的帮助和应用价值,其可用于肿瘤筛选普查、诊断、预后判断、疗效评价和随访观察等方面。miRNA 在人血清中是稳定存在的,某些 miRNA 的表达在肿瘤患者血清中呈现显著增高或者降低,所以可以把 miRNA 作为一种特异性较高的肿瘤标志物。林国友等^[22]采用实时荧光定量 PCR 方法检测 miR-200c 在 50 例胃癌患者和 50 例健康人的血清中的表达情况,结果显示胃癌患者血清中 miR-200c 水平显著高于健康人,通过 ROC 曲线分析发现 miR-200c 诊断胃癌的特异度和敏感度分别为 78.5% 和 67.5%。但是张学营等^[23]在检测 31 例乳腺癌患者血清中 miR-200c 的表达水平时,发现 miR-200c 在乳腺癌患者血清中的表达是下降的,miR-200c 的表达情况与乳腺癌的大小、临床病理分期、淋巴结转移和 ER 表达状态等都有一定的关系。Liu 等^[24]也对 6 例非小细胞肺癌组织标本进行检测,miR-200c 表达低于相应的正常组织,而 77 例肺癌患者血清中的 miR-200c 表达也显著低于正常人水平,统计学分析发现 miR-200c 的高表达与肺癌低存活率有关。此外 miR-200c 也可用于判断膀胱癌、胰腺癌、肾癌、肝癌和卵巢癌等患者的预后和转归^[2]。这些研究结果说明,miR-200c 可以作为肿瘤标志物在肿瘤诊断、预后判断与转归、治疗效果评价等方面发挥重要的作用。

4 展望

miR-200c 作为 miR-200 家族重要成员之一,在肿瘤发生发展、转移、耐药和转归等方面起重要的作用。在大多数肿瘤中 miR-200c 表达下调,可以通过直接靶向抑制 BMI1、

ZEB1/2 和 FAP-1 等基因,从而抑制肿瘤细胞增殖,促进细胞凋亡。目前的研究侧重于 miR-200c 在肿瘤中表达水平的改变以及其靶点的发现。环境和遗传等因素对 miR-200c 表达的影响及其调控机制,miR-200c 对肿瘤生物特性变化的影响,以及 miR-200c 如何参与肿瘤转移、药物耐受的机制等方面还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] Uhlmann S, Zhang JD, Schwager A, et al. miR-200bc/429 cluster targets PLCgamma1 and differentially regulates proliferation and EGF-driven invasion than miR-200a/141 in breast cancer[J]. *Oncogene*, 2010, 29(30): 4297-4306.
- [2] Wiklund ED, Bramsen JB, Hulf T, et al. Coordinated epigenetic repression of the miR-200 family and miR-205 in invasive bladder cancer[J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(6): 1327-1334.
- [3] Chang CJ, Chao CH, Xia W, et al. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties through modulating miRNAs[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(3): 317-323.
- [4] Zhang Y, Yang Z, Whitby R, et al. Regulation of miR-200c by nuclear receptors PPARalpha, LRH-1 and SHP[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 416(1-2): 135-139.
- [5] Magenta A, Cencioni C, Fasanaro P, et al. miR-200c is upregulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(10): 1628-1639.
- [6] Burk U, Schubert J, Wellner U, et al. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells[J]. *EMBO Rep*, 2008, 9(6): 582-589.
- [7] Yu J, Ohuchida K, Mizumoto K, et al. MicroRNA, hsa-miR-200c, is an independent prognostic factor in pancreatic cancer and its upregulation inhibits pancreatic cancer invasion but increases cell proliferation[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 169.
- [8] 齐天伟,王罗,王光锁,等.食管鳞癌中微小 RNA miR-200c 的表达及其意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2012, 22(19): 42-45.
- [9] Xi Y, Formentini A, Chien M, et al. Prognostic Values of microRNAs in Colorectal Cancer[J]. *Biomark Insights*, 2006, 2: 113-121.
- [10] 张鹏,周总光,王玲,等.直肠癌组织中 miR-155 和 miR-200c 的表达差异及意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2010, 27(1): 59-61.
- [11] Cochrane DR, Spoelstra NS, Howe EN, et al. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(5): 1055-1066.
- [12] 李林霞,李双弟,杨懿霞,等. miRNA-200c 在上皮性卵巢癌细胞株及肿瘤组织中的表达变化及意义[J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32(6): 612-616.
- [13] Ceppi P, Mudduluru G, Kumarswamy R, et al. Loss of miR-200c expression induces an aggressive, invasive, and chemoresistant phenotype in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(9): 1207-1216.
- [14] 周洋,欧阳玲,李博,等.微小 RNA-200c 上调 E-钙黏蛋白表达对外阴鳞癌 A-431 细胞侵袭及迁移能力的影响[J]. *中华妇产科杂志*, 2012, 47(11): 864-865.
- [15] Jurmeister S, Baumann M, Balwierz A, et al. MicroRNA-200c represses migration and invasion of breast cancer cells by targeting actin-regulatory proteins FHOD1 and PPM1F[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(3): 633-651.
- [16] Mees ST, Mardin WA, Wendel C, et al. EP300—a miRNA-regulated metastasis suppressor gene in ductal adenocarcinomas of the pancreas[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(1): 114-124.
- [17] 刘津,覃继新,冯云,等. P-gp 与 GST-π 在鼻咽癌多药耐药细胞中的表达及其意义[J]. *右江民族医学院学报*, 2012, 34(5): 601-603.
- [18] 崔秀英,郭运杰,姚和瑞,等.耐药乳腺癌细胞株 MCF-7/ADR 中 microRNA 的分析[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(10): 1813-1815.
- [19] Ceppi P, Mudduluru G, Kumarswamy R, et al. Loss of miR-200c expression induces an aggressive, invasive, and chemoresistant phenotype in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(9): 1207-1216.
- [20] Tryndyak VP, Beland FA, Pogribny IP. E-cadherin transcriptional down-regulation by epigenetic and microRNA-200 family alterations is related to mesenchymal and drug-resistant phenotypes in human breast cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(11): 2575-2583.
- [21] Hamano R, Miyata H, Yamasaki M, et al. Overexpression of miR-200c induces chemoresistance in esophageal cancers mediated through activation of the Akt signaling pathway[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(9): 3029-3038.
- [22] 林国友,钟海兵,张雪燕,等.血清 miR-200c 水平对胃癌的诊断价值[J]. *浙江医学*, 2013, (10): 909-910.
- [23] 张学营,甄林林,韩学东,等.乳腺癌患者血浆中三种 microRNA 的表达水平分析[J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(3): 136-140.
- [24] Liu XG, Zhu WY, Huang YY, et al. High expression of serum miR-21 and tumor miR-200c associated with poor prognosis in patients with lung cancer[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2): 618-626.

收稿日期:2013-09-04;修回日期:2013-11-05