

micro-RNA200s 在肿瘤转移中的研究进展

Research Progress in Micro-RNA200s in Cancer Metastasis

FAN Hong-bin, YE Ming

樊宏斌 综述,叶明 审校

(上海交通大学医学院附属仁济医院,上海 200127)

摘要: MicroRNAs 是单链、非编码 RNA 分子,在转录后水平调节基因表达,并且在肿瘤转移中具有重要作用。miR-200 家族包括 5 个成员:miR-200a,miR-200b,miR-200c,miR-141 和 miR-429。miR-200 家族参与了肿瘤转移,抑制了转移的起始步骤上皮-间质转化(EMT)过程。近年研究表明 miR-200 家族还增加了肿瘤转移的风险,促进了肿瘤在远处组织的转移性克隆病灶的形成,即转移的间质-上皮转化(MET)过程。全文就近年 miR-200 家族的研究进展作一综述。

关键词: miR-200;肿瘤转移;上皮-间质转化;间质-上皮转化

中图分类号: R730.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)11-0840-05

近年来,micro-RNA(miRNA)已经成为广大研究者关注的热点之一。miRNA 于 1993 年被 Victor Ambros 在研究 *C. elegans* 基因 *lin-14* 时发现^[1],是一类长度在 22nt 左右的内源性非编码小分子单链 RNA,在进化过程中高度保守。它们由基因组 DNA 编码,在 RNA 聚合酶 II 的作用下转录成为 pri-pre-microRNA,通过一系列酶切之后形成成熟的 miRNA,与 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex,RISC)结合于靶 mRNA 的 3'-UTR 区域,阻遏翻译甚至直接降解 mRNA,抑制基因表达。通过作用于抑癌基因或癌基因而发挥抑癌基因或抑癌基因的作用^[2]。目前,在人类中已经发现超过 1 000 种 miRNA,miRNAs 影响多种病理、生理过程,例如细胞发育、分化、干细胞功能等^[3]。而且 miRNA 在肿瘤发生和转移过程当中亦发挥重要作用。miR-200s 是一类 miRNA 的总称,高表达于上皮组织,在肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要的作用。miR-200s 包括 miR-200a,miR-200b,miR-200c,miR-141 和 miR-429。miR-200b,miR-200a 和 miR-429 定位于 1p36.33,miR-200c 和 miR-141 定位于 12p13.31。本文就 miR-200s 目前在肿瘤转移中的研究进展进行综述。

收稿日期:2012-07-25;修回日期:2012-08-20

通讯作者:叶明,E-mail:lvtengluo@126.com

1 miR-200s 组织分布

miR-200s 高表达于上皮组织,而在间质细胞中表达较低^[4]。大量研究表明,相对于正常组织,肿瘤细胞中 miR-200s 表达失调。miR-200s 在胰腺癌、胃癌、膀胱癌等多种肿瘤中表达下调,而在肝癌、卵巢癌、子宫内膜癌中则表达上调,发挥癌基因样作用。但也存在在同一种肿瘤中既存在表达上调也存在表达下调的情况,如胃癌、卵巢癌等。miR-200s 在人体组织中的表达情况见表 1。

现有研究表明 miR-200s 在人体组织分布广泛,并且以上皮组织分布为主,表明其在上皮源性肿瘤的发生、发展中的作用可能具有普遍意义。另外,虽然在大多数肿瘤中 miR-200s 表达下调,但在某些肿瘤中,同时存在 miR-200s 的表达上调。因此,针对 miR-200s 的治疗将对各种类型的上皮源性肿瘤都具有作用,并且针对 miR-200s 的治疗可能对肿瘤转移具有特异性,但临床应用前仍需进一步明确其表达差异的确切机制。

2 miR-200s 与肿瘤转移

肿瘤转移是指肿瘤从一个器官或部位到达另一

表 1 人体组织 miR-200 表达情况

组织	表达特征
胰腺	miR-200 在良性胰腺腺管内上皮瘤中较正常导管表达增加 ^[5] 。 miR-200 在胰腺神经内分泌瘤中表达减低 ^[6] 。 胰腺导管腺癌发生发展过程中 miR-200 表达缺失 ^[7] 。
肝	miR-200c 在良性肝肿瘤中表达减低 ^[8] 。 在肝癌组织和细胞系中;p53 上调 miR-200 和 192 通过 miR-200 抑制 ZEB1/2 从而抑制 EMT ^[9] 。
胃	胃癌组织与癌旁正常组织相比 miR-141 表达下调 ^[10] 。 miR-200b 高表达的胃癌,组织学分化差,肿瘤浸润深,淋巴结转移多 ^[11] 。 EB 病毒相关的胃癌中 miR-200 表达下调 ^[12] 。
乳腺	基底细胞型乳腺癌较其他类型乳腺癌 miR-200 表达减低 ^[13] 。 乳腺癌转移灶较原发灶 miR-200 表达水平高 ^[14] 。 miR-200c 和 miR-429 主要在 Luminal 型乳腺癌表达 ^[15] 。
卵巢	低表达 miR-200a/b/429 与卵巢癌不良预后相关 ^[16] 。 miR-200 在卵巢癌表达上调,高表达 miR200a/c 的卵巢癌患者 OS 短 ^[17] 。 高级别卵巢癌 miR-200a 表达增加。miR-200/141 高表达的卵巢癌患者 PFS、OS 长 ^[18] 。 卵巢癌中 miR-200 调控 β -tubulin III 表达,并且与紫杉醇治疗敏感性相关,高表达 miR429 患者 PFS、OS 长 ^[19] 。
子宫	子宫内膜异位症和子宫内膜癌中 miR-200c 在从正常到癌变过程中表达逐渐降低 ^[20] 。 miR-200 在子宫内膜癌中表达上调 ^[21] 。
中枢神经系统	miR-200 在脑转移癌患者的脑脊液内显著升高,而原发于颅内肿瘤没有升高 ^[22] 。 miR-200 在星形细胞瘤中表达显著下调 ^[23] 。
膀胱	膀胱癌患者 miR-200 低表达,miR-200 表达水平与 EMT 标记相关;术后 miR-141 和 miR-200c 表达水平恢复正常 ^[24] 。 膀胱癌 miR-200 表达减低,miR-200c 与 T1 膀胱癌进展相关 ^[25] 。
淋巴瘤	miR-200a, b, c 在 MALT 淋巴瘤表达下调 ^[26] 。
肾	miR-200a/141 在肾纤维化早期表达下降 ^[27] 。
食管	miR-141 和 miR-200c 在 Barrett's 食管低表达 ^[28] 。
间皮	miR-200 在恶性胸膜间皮瘤中表达下降 ^[29] 。
甲状腺	miR-200 在甲状腺乳头状癌中表达减低 ^[30] 。

个器官或部位。目前认为,在实体瘤细胞发生转移过程中,主要经历了从上皮—间质转化(epithelial mesenchymal transition,EMT) 到间质—上皮转化(mesenchymal epithelial transitions,MET)的转换过程^[31]。实体瘤细胞在从原发灶向远处转移时首先经历 EMT 过程,EMT 是具有极性的上皮细胞转化为具有移行能力的间质细胞并获得侵袭和迁移能力的过程,病理特征包括细胞间黏附蛋白 E-cadherin 表达下调和细胞与间质间的黏附分子 N-cadherin、FN 及间质成分波形蛋白 vimentin 上调等。EMT 是一个多步骤的动态变化过程,上皮细胞间相互作用消失,组织结构松散,立方上皮细胞转变为纺锤形纤维细胞形态,并表现出侵袭性。实体肿瘤中央的细胞为上皮细胞表型,周围的细胞常常会呈间质细胞表型,其较强的运动能力使肿瘤细胞在局部产生浸润,并侵入血和淋巴管而转移至靶器官;到达靶器官后,癌细胞可发生 MET 来重建细胞间连接及细胞骨架从而形

成转移灶;在此过程中的病理变化刚好与 EMT 相反。目前研究发现多种分子参与 EMT、MET 过程,而 miR-200s 也在其中扮演着重要角色。

2.1 miR-200s 与 EMT

目前大量研究表明 miR-200s 具有抑制 EMT 的作用。Brabletz 等^[32]在胰腺癌细胞系 Panc1 中过表达 miR-141 和 miR-200c,导致 Jag1 在 mRNA 水平表达下降;而在乳腺癌细胞系 MDA-MB231 中抑制 miR-200 表达,导致 Jag1 蛋白的表达增加;在 Jag1 3'UTR 端构建 miR-200 报告基因,则直接抑制了 Jag1 的表达;突变了 miR-200 结合位点,则 Jag1 表达增加。表明 miR-200 可以直接作用于 Jag1,而 Jag1 表达下降导致锌指 E-盒结合同源异形盒(zinc finger E-box-binding homeobox 1,ZEB1) 激活减少和 ZEB2(也叫 SIP1,SMAD-interacting protein 1)表达增加,进而增加 E-cadherin 的表达,最终抑制 EMT 过程。Wiklund 等^[25]在膀胱癌的研究中发现 TWIST1(twist-

related protein 1)也可以作用于miR-200s的启动子,抑制miR-200s的表达,而ZEB1反过来可以通过与miR-200c和miR-141的E、Z-box模序作用而发挥对两者的抑制作用,从而在miR-200s与ZEB1间形成一个负反馈机制,调节EMT过程。除了以上的负反馈环,Roybal等^[33]在低表达miR-200的鼠肺腺癌细胞系中过表达pre-miR-200,结果miR-200b/c导致Flt1 3'-UTR报告基因表达减低了50%~60%。当5'区miR-200结合位点突变后,过表达miR-200 b/c不能减低Flt1 3'-UTR报告基因的表达。表明miR-200 b/c可以直接作用于Flt1。进一步实验中发现过表达miR-200的鼠肺腺癌细胞的侵袭和转移能力减低,表明miR-200可以影响EMT过程。

2.2 miR-200s与MET

目前大多数研究认为miR-200s抑制了肿瘤转移过程中的EMT过程,但近期的研究表明miR-200s还有促进MET的作用,从而促进转移的肿瘤细胞形成克隆病灶的能力。Korpál等^[14]比较了乳腺癌原发部位和转移灶中miR-200的表达情况,结果发现,转移灶中miR-200表达高于原发病灶,并且高表达miR-200者的无远处转移生存时间短。高表达miR-200的鼠乳腺癌细胞系4T1容易自发转移并在远隔器官形成克隆病灶;在人乳腺癌细胞系MCF10A和TSU膀胱癌细胞中miR-200表达升高,E-cadherin表达增加,Vimentin表达下降,细胞获得了上皮细胞外形,在远处形成克隆病灶的能力增加;将过表达miR-200的鼠乳腺癌细胞4T07经尾静脉注入裸鼠体内,结果发现过表达miR-200的细胞形成肺转移病灶数量高于对照组,表明miR-200参与了MET过程的诱导。进一步分析表明,miR-200s通过作用于Sec23a而影响Igfbp4和Tinagl1等抑制转移的蛋白分泌,促进转移部位克隆病灶的形成。Chen等^[34]发现,具有间质细胞形态和分子表型的HEY卵巢癌细胞较具有上皮形态的OVCAR3卵巢癌细胞miR-141、429表达低,在HEY细胞中过表达miR-429,细胞由间质细胞形态转化为上皮细胞形态,MET相关基因表达上调,同时侵袭、迁移能力较对照组降低5倍,表明过表达miR-429诱导了卵巢癌细胞发生了MET。另外,Snowdon等^[21]分析了人正常、癌前期、子宫内膜癌共723例标本,结果发现,miR-200a/b/c,miR-141和miR-429表达在子宫内膜

癌标本中较正常组织高,并且癌前病变标本中也较正常组织高。最近,Davalos等^[35]在MDCK细胞中加入TGFβ诱导EMT时,miR-200 5'-CpG岛甲基化,miR-200表达下调;去除TGFβ后,miR-200 5'-CpG岛去甲基化,miR-200表达上调,伴随着MET的变化;用2'-去氧-5-氮胞苷处理TGFβ诱导过的MDCK细胞,观察到与去除TGFβ后相同的变化。表明miR-200还受甲基化调控,去甲基状态促进miR-200表达,诱导MET。

综上,现有研究表明miR-200s在肿瘤转移过程中具有双重作用。一方面具有抑制EMT的作用,另一方面具有促进MET的作用。未来靶向miR-200s的治疗将存在不可避免的困境。因此,明确其抑制EMT及促进MET的确切条件将为未来靶向miR-200的治疗提供重要的理论依据。

3 miR-200参与的信号途径

3.1 ZEB/miR-200负反馈环

锌指结合蛋白(Zinc-finger enhancer binding, ZEB)是一种转录抑制因子,包括两种亚型ZEB1和ZEB2,可以抑制众多EMT过程。ZEB1 3'UTR端包含8个miR-200s结合位点,ZEB2 3'UTR端包含9个miR-200结合位点。过表达miR-200s抑制了ZEB的表达,ZEB也可以直接抑制miR-200,敲除ZEB导致miR-200表达增加,这样在ZEB和miR-200间形成一个负反馈环,ZEB表达增加抑制miR-200s诱导MET过程,而miR-200表达增加抑制ZEB,进而使E-cadherin表达增加,抑制EMT^[32]。

3.2 Jag2-Gata3-miR-200s途径

Jag2是Notch家族成员。Yang等^[36]在从Kras^{LA1/+}p53^{R172HAG+/+}鼠(344SQ)来源的鼠腺癌细胞中分离出CD133高表达和CD133低表达细胞。CD133高表达细胞肺转移率是CD133低表达的4倍,并且高表达Jag1、Jag2、Dll4、Notch1和Notch2。在CD133高表达细胞中干扰Jag2后,Gata3 mRNA表达减少72%,miR-200表达增加6~7倍,分析表明Gata3启动子区存在Jag2结合位点,miR-200s启动子区存在Gata3结合位点,Gata3可以直接抑制miR-200s的表达。在人H322肺癌细胞中ChIP分析发现Gata3可以结合到miR-200b启动子邻近区,干扰Gata3后,

miR-200 表达显著升高; 共转染 Gata3 到 MCF-7 细胞中, 抑制了包含启动子邻近区的荧光素酶报告基因的活性, 表明 Gata3 可以直接作用于 miR-200b 启动子, 这样就形成 Jag2-Gata3-miR-200s 途径, 通过 Notch 途径调节 EMT 过程。

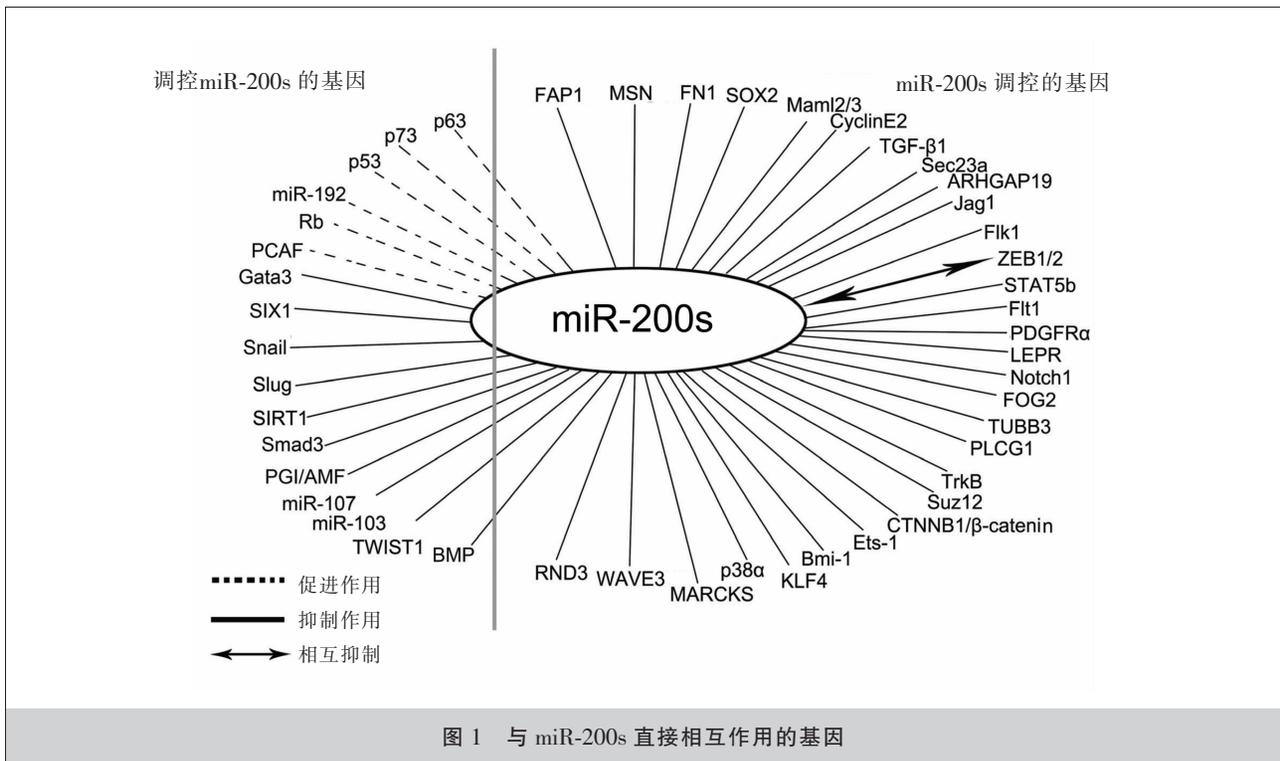
miR-200s 除了以上的调控途径外, 还有大量可以直接与 miR-200s 作用的分子。笔者分析了目前 PubMed 检索到的 149 篇有关 miR-200s 的文献, 总结了直接与 miR-200 相互作用的基因 (图 1), 其中与转移相关的基因有: MSN、FN1、ARHGAP19、Jag-1、Maml2/3、ZEB1/2、PDGFR α 、LEPR、Notch1、PLCG1、Suz12、CTNNB1/ β -catenin、Ets-1、MARCKS、RND3、Sec23a、Gata3、miR-103、miR-107、miR-192、SIX1、Snail、Slug、SIRT1、Smad3、PGI/AMF、Rb、PCAF 和 BMP, 每一基因均对应相应的调控通路。

综上所述, miR-200s 在上皮源性肿瘤中广泛存在, 在大多数肿瘤中表达下调, 但在某些肿瘤中, 同时存在表达上调, 并且上调与转移性克隆的形成有关。最近的研究提高了我们对 miR-200s 在肿瘤转移中作用的认识, 未来明确 miR-200s 在肿瘤转移的不同阶段表达变化的差异性机制, 将为靶向 miR-200s 的治疗提供可能, 并且可能靶向转移灶进行治疗, 开拓肿瘤治疗的新方向。

(致谢: 十分感谢中国医学科学院肿瘤医院陆士新院士对本文提出的宝贵意见!)

参考文献:

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 75(5):843-854.
- [2] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294(5543):853-858.
- [3] Bentwich I, Avniel A, Karov Y, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(7):766-770.
- [4] Park SM, Gaur AB, Lengyel E, et al. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2 [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(7):894-907.
- [5] du Rieu MC, Torrisani J, Selves J, et al. MicroRNA-21 is induced early in pancreatic ductal adenocarcinoma precursor lesions [J]. *Clin Chem*, 2010, 56(4): 603-612.
- [6] Olson P, Lu J, Zhang H, et al. MicroRNA dynamics in the stages of tumorigenesis correlate with hallmark capabilities of cancer [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(18): 2152-2165.
- [7] Wang Z, Banerjee S, Ahmad A, et al. Activated K-ras and INK4a/Arf deficiency cooperate during the development of pancreatic cancer by activation of Notch and NF- κ B signaling pathways [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6):e20537.
- [8] Ladeiro Y, Couchy G, Balabaud C, et al. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical



- features and onco gene/tumor suppressor gene mutations [J]. *Hepatology*, 2008, 47(6): 1955–1963.
- [9] Kim T, Veronese A, Pichiorri F, et al. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition through microRNAs targeting ZEB1 and ZEB2 [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(5):875–883.
- [10] Du Y, Xu Y, Ding L, et al. Down-regulation of miR-141 in gastric cancer and its involvement in cell growth [J]. *J Gastroenterol*, 2009, 44(6):556–561.
- [11] Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, et al. MicroRNA-200b regulates cell proliferation, invasion, and migration by directly targeting ZEB2 in gastric carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(Suppl 3):656–664.
- [12] Shinozaki A, Sakatani T, Ushiku T, et al. Downregulation of microRNA-200 in EBV associated gastric carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(11):4719–4727.
- [13] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP 1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(5): 593–601.
- [14] Korpál M, Ell BJ, Buffa FM, et al. Direct targeting of Sec23a by miR-200s influences cancer cell secretome and promotes metastatic colonization [J]. *Nat Med*, 2011, 17(9): 1101–1108.
- [15] Bockmeyer CL, Christgen M, Müller M, et al. MicroRNA profiles of healthy basal and luminal mammary epithelial cells are distinct and reflected in different breast cancer subtypes [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 130(3):735–745.
- [16] Hu X, Macdonald DM, Huettner PC, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114(3): 457–464.
- [17] Nam EJ, Yoon H, Kim SW, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(9): 2690–2695.
- [18] Mateescu B, Batista L, Cardon M, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response [J]. *Nat Med*, 2011, 17(12):1627–1635.
- [19] Leskelä S, Leandro-García LJ, Mendiola M, et al. The miR-200 family controls beta-tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free survival in ovarian cancer patients [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2010, 18(1):85–95.
- [20] Panda H, Pelakh L, Chuang TD, et al. Endometrial miR-200c is altered during transformation into cancerous states and targets the expression of ZEBs, VEGFA, FLT1, IKK β , KLF9, and FBLN5 [J]. *Reprod Sci*, 2012, 19(8):786–796.
- [21] Snowdon J, Zhang X, Childs T, et al. The microRNA-200 family is upregulated in endometrial carcinoma [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e22828.
- [22] Teplyuk NM, Mollenhauer B, Gabriely G, et al. MicroRNAs in cerebrospinal fluid identify glioblastoma and metastatic brain cancers and reflect disease activity [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(6):689–700.
- [23] Zidar N, Boštjančič E, Gale N, et al. Down-regulation of microRNAs of the miR-200 family and miR-205, and an altered expression of classic and desmosomal cadherins in spindle cell carcinoma of the head and neck—hallmark of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Hum Pathol*, 2011, 42(4): 482–488.
- [24] Wang G, Chan ES, Kwan BC, et al. Expression of microRNAs in the urine of patients with bladder cancer [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2012, 10(2):106–113.
- [25] 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.
- [26] Cai J, Liu X, Cheng J, et al. MicroRNA-200 is commonly repressed in conjunctival MALT lymphoma, and targets cyclin E2 [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 250(4):523–531.
- [27] Xiong M, Jiang L, Zhou Y, et al. The miR-200 family regulates TGF- β 1-induced renal tubular epithelial to mesenchymal transition through Smad pathway by targeting ZEB1 and ZEB2 expression [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(3):F369–F379.
- [28] Smith CM, Watson DI, Leong MP, et al. miR-200 family expression is downregulated upon neoplastic progression of Barrett's esophagus [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(8): 1036–1044.
- [29] Gee GV, Koestler DC, Christensen BC, et al. Downregulated microRNAs in the differential diagnosis of malignant pleural mesothelioma [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2859–2869.
- [30] Braun J, Hoang-Vu C, Dralle H, et al. Downregulation of microRNAs directs the EMT and invasive potential of anaplastic thyroid carcinomas [J]. *Oncogene*, 2010, 29(29): 4237–4244.
- [31] Valastyan S, Weinberg RA. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms [J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275–292.
- [32] Brabletz S, Bajdak K, Meidhof S, et al. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells [J]. *EMBO J*, 2011, 30(4):770–782.
- [33] Roybal JD, Zang Y, Ahn YH, et al. miR-200 Inhibits lung adenocarcinoma cell invasion and metastasis by targeting Flt1/VEGFR1 [J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(1):25–35.
- [34] Chen J, Wang L, Matyunina LV, et al. Overexpression of miR-429 induces mesenchymal-to-epithelial transition (MET) in metastatic ovarian cancer cells [J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(1):200–205.
- [35] Davalos V, Moutinho C, Villanueva A, et al. Dynamic epigenetic regulation of the microRNA-200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis [J]. *Oncogene*, 2012, 31(16):2062–2074.
- [36] Yang Y, Ahn YH, Gibbons DL, et al. The Notch ligand Jagged2 promotes lung adenocarcinoma metastasis through a miR-200-dependent pathway in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4):1373–1385.