

MiR-200 家族在卵巢癌中的研究进展

黄 维, 夏百荣, 娄 阁

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:微小 RNA(miRNA) 是一种内源性的、长约 22 个核苷酸的非编码小 RNA。通过在转录后水平降解靶 mRNA 或者抑制靶基因的表达而参与调控细胞的生长、增殖和凋亡等。研究表明 miR-200 家族与卵巢癌发展、转移、耐药及预后密切相关, 有望为卵巢癌的诊治提供新的思路。全文就 miR-200 家族在卵巢癌中作用的研究进展进行综述。

关键词:miR-200 家族; 卵巢癌; 转移; 化疗; 诊断; 预后

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2017)09-0812-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2017.09.B015

Research Progress of MiR-200 Family in Ovarian Cancer

HUANG Wei, XIA Bai-rong, LOU Ge

(Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

Abstract: MicroRNA, a short non-coding sequence of an endogenous small RNA of 21~23 nucleotides in length, are participating in regulating cell growth, proliferation and apoptosis by post-transcriptional degrading mRNA or inhibiting target genes. Studies confirm that miR-200 family are significantly correlated with development, metastasis, chemotherapy resistance and prognosis of ovarian cancer, providing ovarian cancer with new detection and treatment method. In our article, we mainly reviews the function of miR-200 family in ovarian cancer.

Subject words: ovarian cancer; miR-200 family; metastasis; chemotherapy; diagnosis; prognosis

卵巢癌是妇科肿瘤中死亡率最高的恶性肿瘤^[1], 根据 2016 癌症统计报告^[2], 超过 238 700 例新诊断的卵巢癌病例, 死亡人数高达 151 900 例。因早期缺乏特异性症状, 大约 70% 患者就诊时已属晚期, 卵巢癌晚期具有远处转移、化疗耐药、复发概率高等特征, 患者预后较差。

Kozomara 等^[3]报道迄今为止至少发现了 2588 种成熟的人类 miRNAs, 并对其进行了测序。miRNAs 经 RNA 聚合酶转录后形成 pri-miRNA, 经过 Drosha 酶切处理后形成 pre-miRNA 并释放入细胞质。经过 Dicer 加工之后成为成熟的单链 miRNAs, miRNAs 通过和靶基因 mRNA 的 3'UTR 碱基配对引导沉默复合体(RISC)降解 mRNA, 而 miRNAs 靶基因的 5'UTR 结合则抑制其转录。目前, miR-200

家族在卵巢癌中研究广泛, 涉及卵巢癌发生、发展、转移、耐药等诸多方面, 全文就 miR-200 家族在卵巢癌中的研究进展作一综述。

1 miR-200 家族抑制卵巢癌转移

上皮-间质转换(EMT)^[4]使细胞脱离原发灶, 通过基底膜进入外周循环, 在转移灶处再逆转回上皮表型。钙黏素家族属于细胞表面糖蛋白, 在细胞间粘附中发挥重要作用。在多种癌症中均证实其肿瘤抑制因子作用。抑制 E 钙黏素表达, 会导致细胞间质化, 增强细胞转移和侵袭性^[5,6]。钙黏蛋白表达缺失被认为是癌症进展的原因之一。钙黏蛋白表达缺失可激活致癌信号通路, 包括促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、鼠肉瘤病毒癌基因(RAS)和小鼠相关的 C3 肉毒素底物(RAC1)^[6]。包括 SNAIL、SLUG/SNAIL2、ZEB1/DEF1、ZEB2/SIP1 和 E47 在内的小分

通讯作者: 娄阁, 主任医师, 博士; 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院妇科, 黑龙江哈尔滨市南岗区哈平路 150 号(150081); E-mail: lougehyd@163.com

收稿日期:2016-11-18; **修回日期:**2017-03-22

子能够直接与 E-钙黏蛋白启动子结合而抑制其转录。

miR-200 家族包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429。据研究发现,其原始基因定位在不同染色体上:miR-200b、miR-200a、miR-429 定位在染色体 1 上,miR-200c 和 miR-141 定位在染色体 12 上^[7,8]。miR-200 家族成员之间具有高度同源序列,由于它们的种子序列具有同源性,所以有共同的靶点。目前明确的 miR-200 靶点有两个:锌指转录因子 ZEB1 和 ZEB2,ZEB1 和 ZEB2 与 E 钙黏蛋白 E 盒上的启动子区域结合,抑制 E 钙黏蛋白表达^[9],由此引起细胞形态纺锤形改变,表现出更强的迁徙和侵袭能力,促进 EMT 发生^[5]。ZEB1/2 通过与 miR-200 家族基因启动子结合,抑制 miR-200 转录,反之,miR-200 靶向与 ZEB 的 3'非转录区结合,转录后抑制 ZEB 表达,表明 ZEB/miR-200 双重负反馈回路的存在^[10],刺激 TGF- β 信号通路,抑制 miR-200 表达,使 ZEB 水平升高,促进 EMT。Sugiyama 等^[11]也证实 TGF- β 介导的 miR-200 在卵巢癌间质细胞中的下调促进癌细胞附着和增殖。Lam 等^[12]研究显示,miR-200a/b 通过靶向抑制 ER α ,下调 Snail 表达,解除 Snail 对 E-钙黏蛋白的抑制,逆转 EMT。Sun 等^[13]指出 miR-200 家族很可能通过 ZEB1/pSMAD3,减少 MMP-3 表达,抑制卵巢癌的侵袭和转移。Chung 等^[14]发现 GRHL2 下调与卵巢上皮癌(EOC)肿瘤细胞较差的总体生存期相关。通过 ChIP 测序和基因表达微阵列,miR-200b/a 被鉴定为 GRHL2 的直接转录靶位点,并通过 ZEB1 和 E-钙黏蛋白调节 EOC 的上皮状态。再次印证了 miR-200 家族抑制卵巢癌的侵袭和转移。Pecot 等^[15]证实 miR-200 靶向作用于由肿瘤细胞和内皮细胞分泌的 IL-8 和趋化因子配体 CXCL1,抑制肿瘤血管生成和远处转移。Chen 等^[16]发现 miR-429 通过其直接靶点 KIAA0101,降低了卵巢癌细胞的侵袭和化学抗性。Mak 等^[17]认为抑制 miR-141 表达,可降低其直接靶点 Kruppel 相关锌指蛋白 AP-2rep(KLF12)水平,从而抑制卵巢癌细胞增殖和腹膜转移。虽然上述实验证明 miR-200 家族有抑制卵巢癌细胞转移扩散的作用,开发成功的 miRNA 投送系统仍然是一大挑战^[18,19],但是根据它们在卵巢癌转移中的作用,基于 miRNA-200 的治疗仍大有希望^[20]。

2 miR-200 家族增强卵巢癌细胞的化疗敏感性

卡铂+紫杉醇联合治疗已经成为晚期 EOC 的标准治疗方案。然而,许多一开始化疗效果显著的卵巢癌患者最终复发并产生耐药性^[21]。Leskela 等^[22]发现 miR-200 家族和紫杉醇+卡铂治疗方案之间存在很强的相关性。在紫杉醇+卡铂方案缺乏完全应答的卵巢癌中,miR-200c 的表达较完全应答者更少;miR-200c 水平高表达与更低的复发率及进展率相关,意味着 miR-200c 抑制卵巢癌进展。后续研究发现 miR-200 家族所有成员均能调节 TUBB3 水平。据报道,miR-200c 与 TUBB3 的 3'非转录区结合而抑制其表达,增强癌细胞对紫杉类和其他以微管为靶点的药物的敏感性^[23]。此外,miR-200 低表达还是卵巢癌不良预后和对紫杉类药物耐药的指标。然而,在 RNA 结合蛋白 HuR 参与的情况下,研究 miR-200c 与 TUBB3 之间的相互作用更加复杂。Prisley 等^[24]发现 miR-200c 增强 HuR 与 TUBB3 mRNA 之间的结合,促进 TUBB3 mRNA 翻译,增强 TUBB3 稳定性和表达,使患者产生不良预后。这就与之前的结论相矛盾,促使研究者们提出新的模式来解释卵巢癌中 miR-200c 调节 TUBB3 mRNA 的两种不同的机制。根据这一理论,当 HuR 定位于细胞核时,高水平的 miR-200c 是对人体有利的,能下调 TUBB3 表达。另一方面,细胞质中的 HuR 引起 miR-200c 介导的 TUBB3 水平增加,导致紫杉类化疗抵抗和不良预后。活性氧(ROS)在增进癌细胞对紫杉类药物敏感性方面发挥关键作用,产生氧化应激反应的细胞对紫杉类药物应答更好^[25]。Mateescu 等^[26]在小鼠模型中发现高表达的 miR-141 和 miR-200a 靶向抑制 p38 α ,模拟 p38 α 缺陷,产生氧化应激反应,在未处理的条件下促进恶性肿瘤生长,但在用紫杉醇(一种已知增加 ROS34,35,36 的化学治疗药物)治疗下增加肿瘤细胞死亡并减慢肿瘤生长。miR-200 家族通过氧化应激反应不但促进肿瘤生长,还可以增强癌细胞对化疗的敏感性。这一自相矛盾的情况使科学家们提出了一种模式来解释 miR-200 家族、p38 α 和 ROS 之间的关系:认为在正常细胞中,三者处于平衡状态,在癌细胞中,ROS 浓度增加刺激 miRNAs 上调,miRNAs 又抑制 p38 α ,从而产生氧化应激状态,

改善癌细胞对于紫杉类药物敏感性。随着肿瘤进一步发展,miRNAs的下调能恢复p38 α 的表达,导致细胞对紫杉类耐药。

3 miR-200 家族可作为诊断卵巢癌的有效标志物

因早期缺乏敏感和特异的生物标志物与症状,使得早期诊断EOC非常困难。不幸的是,mRNA并没能够识别准确的生物标志物。然而,miRNAs对于癌症显示出很强的诊断能力^[27]。Mitchell等^[28]发现从肿瘤中提取的miRNAs能够在人类血清中稳定存在,免受内源性核糖核酸酶的破坏。进一步说,血浆和血清miRNA水平密切相关,意味着这两种生物体液可以被用于miRNA的研究。

Kan等^[29]报道miR-200a、miR-200b和miR-200c的水平在浆液性EOC患者血清中比健康对照组高。Cao等^[30]通过原位杂交分析证实了Kan等人的观点,同时还指出高表达miR-200a和miR-200b的肿瘤分化程度可能更低,且多处于疾病晚期。Zuberi等^[31]发现miR-200a在EOC中的表达水平比正常对照组高6倍,miR-200b和miR-200c表达水平比正常对照组高3倍。miR-200a和miR-200c表达水平还与疾病的进展程度显著性相关,miR-200a过度表达与肿瘤病理和分期有关,而存在淋巴结转移的患者其miR-200c水平显著性上升。Gao等^[32]发现从卵巢癌早期到晚期,癌细胞内miR-200c表达水平呈递减趋势,而miR-141正好相反,这说明miR-200c和miR-141检测可以将卵巢癌患者和健康人员区分开来。而且,Chen等^[33]还证实miR-429作为卵巢癌中EMT的有效生物标志物的同时,在抑制卵巢癌转移方面还具有潜在价值。

4 miR-200 家族在卵巢癌中的预后意义

MiR-200家族与卵巢癌发生、发展及临床预后密切相关^[34]。Pecot等^[15]研究发现miRNA-200a高表达预示着卵巢癌更好的临床结局和生存期,其表达降低癌症分期。Gao等^[35]发现,miR-200水平增加抑制MMP-2蛋白表达和卵巢癌细胞增殖,促进癌细胞凋亡。Vilming等^[36]研究发现,高表达miR-200c-3p

与高级别浆液性卵巢癌患者较短的无进展生存期(PFS)和生存期(OS)显著性相关。Cao等^[30]则认为miR-200a、miR-200b和miR-200c在EOC中高表达与患者更短的总体生存期相关,经过变量统计分析进一步证实miR-200a、miR-200b和miR-200c还是EOC独立的预后因素。Gao等^[32]在临床试验中还发现,miR-200c高表达、miR-141低表达的患者2年生存率显著性高于对照组。这些数据方面的差异可能与分析平台的不同和诊断时分期信息不足有关。

5 小 结

miR-200家族抑制卵巢癌侵袭和转移,增进卵巢癌患者化疗敏感性,在提高患者生存率等方面具有重大的意义,在卵巢癌中的作用和影响是肯定的。要想将miR-200家族用于卵巢癌的临床治疗,还需要科研工作者付出更多心血和劳动,随着对miR-200家族研究的不断深入,基因芯片技术、RNA组织学和生物信息学的不断发展,将有更多的机制和作用被人们所认识,相信一定会为卵巢癌的诊治作出贡献。

参考文献:

- [1] Pal MK, Jaiswar SP, Dwivedi VN, et al. MicroRNA: a new and promising potential biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian cancer[J]. *Cancer Biology & Medicine*, 2015, 12(4): 328-341.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30.
- [3] Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue): D68-D73.
- [4] Amankwah EK, Lin HY, Tyrer JP, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) gene variants and epithelial ovarian cancer (EOC) risk[J]. *Genetic Epidemiology*, 2015, 39(8): 689-697.
- [5] Hu QP, Kuang JY, Yang QK, et al. Beyond a tumor suppressor: soluble E-cadherin promotes the progression of cancer[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(12): 2804-2812.
- [6] Rodriguez FJ, Lewis-Tuffin LJ, Anastasiadis PZ. E-cadherin's dark side: possible role in tumor progression[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1826(1): 23-31.
- [7] Humphries B, Yang C. The microRNA-200 family: small molecules with novel roles in cancer development, progression and therapy[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(9): 6472-6498.
- [8] Zhang HF, Xu LY, Li EM. A family of pleiotropically act-

- ing microRNAs in cancer progression, miR-200: potential cancer therapeutic targets[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2014, 20(11): 1896–1903.
- [9] Aigner K, Dampier B, Descovich L, et al. The transcription factor ZEB1 (deltaEF1) promotes tumour cell dedifferentiation by repressing master regulators of epithelial polarity [J]. *Oncogene*, 2007, 26(49): 6979–6988.
- [10] Brabletz S, Brabletz T. The ZEB/miR-200 feedback loop—a motor of cellular plasticity in development and cancer? [J]. *EMBO Reports*, 2010, 11(9): 670–677.
- [11] Sugiyama K, Kajiyama H, Shibata K, et al. Expression of the miR200 family of microRNAs in mesothelial cells suppresses the dissemination of ovarian cancer cells [J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2014, 13(8): 2081–2091.
- [12] Lam SS, Mak AS, Yam JW, et al. Targeting estrogen-related receptor alpha inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell properties of ovarian cancer cells [J]. *Molecular Therapy*, 2014, 22(4): 743–751.
- [13] Sun N, Zhang Q, Xu C, et al. Molecular regulation of ovarian cancer cell invasion [J]. *Tumor Biology*, 2014, 35(11): 11359–11366.
- [14] Chung VY, Tan TZ, Tan M, et al. GRHL2-miR-200-ZEB1 maintains the epithelial status of ovarian cancer through transcriptional regulation and histone modification [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19943.
- [15] Pecot CV, Rupaimoole R, Yang D, et al. Tumour angiogenesis regulation by the miR-200 family [J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 2427.
- [16] Chen H, Xia B, Liu T, et al. KIAA0101, a target gene of miR-429, enhances migration and chemoresistance of epithelial ovarian cancer cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16: 74.
- [17] Mak CS, Yung MM, Hui LM, et al. MicroRNA-141 enhances anoikis resistance in metastatic progression of ovarian cancer through targeting KLF12/Sp1/survivin axis [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 11.
- [18] Li Z, Rana TM. Therapeutic targeting of microRNAs: current status and future challenges [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2014, 13(8): 622–638.
- [19] Scomparin A, Polyak D, Krivitsky A, et al. Achieving successful delivery of oligonucleotides—from physico-chemical characterization to in vivo evaluation [J]. *Biotechnology Advances*, 2015, 33(6 Pt 3): 1294–1309.
- [20] Koutsaki M, Spandidos DA, Zaravinos A. Epithelial-mesenchymal transition-associated miRNAs in ovarian carcinoma, with highlight on the miR-200 family: prognostic value and prospective role in ovarian cancer therapeutics [J]. *Cancer Letters*, 2014, 351(2): 173–181.
- [21] Hassan MK, Watari H, Christenson L, et al. Intracellular clusterin negatively regulates ovarian chemoresistance: compromised expression sensitizes ovarian cancer cells to paclitaxel [J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(5): 1031–1047.
- [22] Leskela S, Leandro-Garcia 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]. *Endocrine Related Cancer*, 2011, 18(1): 85–95.
- [23] Cochrane DR, Spoelstra NS, Howe EN, et al. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents [J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2009, 8(5): 1055–1066.
- [24] Prislei S, Martinelli E, Mariani M, et al. MiR-200c and HuR in ovarian cancer [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 72.
- [25] Alexandre J, Hu Y, Lu W, et al. Novel action of paclitaxel against cancer cells: bystander effect mediated by reactive oxygen species [J]. *Cancer Research*, 2007, 67(8): 3512–3517.
- [26] Mateescu B, Batista L, Cardon M, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response [J]. *Nature Medicine*, 2011, 17(12): 1627–1635.
- [27] Banno K, Yanokura M, Iida M. Application of microRNA in diagnosis and treatment of ovarian cancer [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 232817.
- [28] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(30): 10513–10518.
- [29] Kan CW, Hahn MA, Gard GB, et al. Elevated levels of circulating microRNA-200 family members correlate with serous epithelial ovarian cancer [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 627.
- [30] Cao Q, Lu K, Dai S, et al. Clinicopathological and prognostic implications of the miR-200 family in patients with epithelial ovarian cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(5): 2392–2401.
- [31] Zuberi M, Mir R, Das J, et al. Expression of serum miR-200a, miR-200b, and miR-200c as candidate biomarkers in epithelial ovarian cancer and their association with clinicopathological features [J]. *Clinical Transl Oncol*, 2015, 17(10): 779–787.
- [32] Gao YC, Wu J. MicroRNA-200c and microRNA-141 as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(6): 4843–4850.
- [33] Chen J, Wang L, Matyunina LV, et al. Overexpression of miR-429 induces mesenchymal-to-epithelial transition (MET) in metastatic ovarian cancer cells [J]. *Gynecologic Oncology*, 2011, 121(1): 200–205.
- [34] Marchini S, Cavalieri D, Fruscio R, et al. Association between miR-200c and the survival of patients with stage I epithelial ovarian cancer: a retrospective study of two independent tumour tissue collections [J]. *Lancet Oncology*, 2011, 12(3): 273–285.
- [35] Gao N, Tian JX, Shang YH, et al. Catalpol suppresses proliferation and facilitates apoptosis of OVCAR-3 ovarian cancer cells through upregulating microRNA-200 and downregulating MMP-2 expression [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(11): 19394–19405.
- [36] Vilming Elgaaen B, Olstad OK, Haug KB, et al. Global miRNA expression analysis of serous and clear cell ovarian carcinomas identifies differentially expressed miRNAs including miR-200c-3p as a prognostic marker [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 80.