

DOI: 10.13376/j.cblls/2018099

文章编号: 1004-0374(2018)08-0840-08

miR-29家族及其靶基因与恶性肿瘤关系的研究进展

李永懿^{1,2}, 王鲁业¹, 李平¹, 庄子豪¹, 王兆焯¹,
陆宇枫¹, 于永超¹, 那嵩¹, 李传刚³, 李墨林^{4*}

(1 大连医科大学临床医学七年制学生, 大连 116044; 2 美国弗吉尼亚大学学生, 夏洛茨维尔VA 22903;
3 大连医科大学第二临床学院外科, 大连 116023; 4 大连医科大学病理生理学教研室, 大连 116044)

摘要: 微小 RNA-29 (microRNA-29, miR-29) 家族成员包括 miR-29a、miR-29b 和 miR-29c, 是一类与器官纤维化密切相关的小分子 RNA。近年研究发现, 多种肿瘤组织中存在 miR-29s 的表达紊乱。miR-29 家族不但具有抑癌作用, 还有促癌作用, 其有望成为肿瘤早期诊断、疗效检测或复发监测的重要新靶标。现就 miR-29s 及其靶基因在肿瘤细胞增殖、分化、凋亡、侵袭和转移中的作用及其研究进展进行综述。

关键词: miR-29 家族; 靶基因; 肿瘤; 调控

中图分类号: Q74; R730.4 **文献标志码:** A

Progress of miR-29 family and its target genes in tumorigenesis

LI Yong-Yi^{1,2}, WANG Lu-Ye¹, LI Ping¹, ZHUANG Zi-Hao¹, WANG Zhao-Xuan¹,
LU Yu-Feng¹, YU Yong-Chao¹, NA Song¹, LI Chuan-Gang³, LI Mo-Lin^{4*}

(1 Seven-year Program Medical Students, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 2 Student of University of Virginia, Charlottesville, VA 22903, USA; 3 Department of Surgery, The Second Affiliated Hospital, Dalian Medical University, Dalian 116023, China; 4 Department of Pathophysiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: microRNA-29 (miR-29) family, including miR-29a, miR-29b and miR-29c, is a group of small molecule RNA that is closely related to organ fibrosis. Accumulating studies have demonstrated that aberrant expression of miR-29s could be detected in various tumor tissues. It is thought that miR-29 serves not only as a tumor suppressor but also as a tumor promoter. It was also expected to be served as a potentially valuable tumor marker and a new target for tumor early diagnosis, progression or recurrence surveillance. The progress of miR-29 family and its target genes in tumor proliferation, differentiation, apoptosis, invasion and metastasis will be reviewed in this paper.

Key words: miR-29 family; target genes; tumors; regulation

人微小 RNA-29 (miRNA-29, miR-29) 家族是一组具有相同的种子序列“AGCACCA”的小分子 RNA, 与器官纤维化密切相关。目前研究证实, miR-29 家族成员可靶向抑制胶原等细胞外基质的表达, 在器官纤维化、系统性硬化症、糖尿病等多种疾病的发生、发展过程中发挥重要作用^[1], 并有望成为具有潜在应用价值的疾病标志物或治疗新靶点。2016年, 研究发现多种肿瘤组织亦存在 miR-29 表达紊乱, 其通过转录后调控参与肿瘤细胞代谢、增殖、分化、凋亡等相关基因的表达, 具有促癌基因或抑癌基因双重作用^[2], 有望成为肿瘤早期诊断、疗效检测或

复发监测的重要新靶标。本文就 miR-29 家族及其靶基因与恶性肿瘤关系的研究进展进行综述。

1 miR-29家族概述

人 miR-29 家族包括 miR-29a、miR-29b 和 miR-29c。其中, miR-29b-1 和 miR-29b-2 均可生成成熟

收稿日期: 2017-11-29; 修回日期: 2018-04-18

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2014023041);
辽宁省教育科学“十二五”规划2014年度立项课题
(JG14DB119)

*通信作者: E-mail: molin_li@hotmail.com

的 miR-29b。miR-29a 和 miR-29b-1 定位于人染色体 7q32.3 上, 位于人类染色体长非编码转录本 LOC646329 的内含子内; miR-29b-2 和 miR-29c 定位于人染色体 1q32.2 上, 在基因组上与细胞表面抗原 CD46 和 CD34 等蛋白质编码基因毗邻。与多数 miRNAs 不同, miR-29 主要从 hsa-mir-29 前体 3' 端臂加工而来。其中, miR-29a 是哺乳动物细胞中的主要存在形式, 而 miR-29b 由于其 3' 末端具有核定位序列 "AGUGUU", 因此其成熟序列主要位于细胞核。miR-29 主要通过其种子序列与靶基因 mRNA 的 3' 非编码区 (3'-UTR) 和 (或) 其编码序列特异性结合, 负性调控靶基因的表达。

一般认为, miR-29 基因在胚胎期组织不表达或低表达。伴随早期成骨细胞分化和成熟, miR-29 的表达增加; 成熟组织特别是易于发生纤维化的肝、肺、肾、心脏等组织, miR-29 广泛表达或高表达; 而在肝纤维化及星形细胞活化或心肌梗死后的纤维疤痕组织局部, miR-29 表达减少; 但机体衰老或 DNA 损伤过程中, miR-29 的表达却显著增加。在造血系统中, miR-29a 在造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 中高表达, 而在造血祖细胞 (hematopoietic progenitors) 中表达下降。

2 miR-29 基因家族与恶性肿瘤的关系

2.1 miR-29 基因在恶性肿瘤中的表达

miR-29 家族在急性髓系白血病 (AML) 的发生发展中发挥重要作用。AML 患者外周血单核细胞和骨髓 CD34⁺ 细胞中, miR-29a/b/c 的表达明显低于正常对照^[3-4], 其中, 小儿急性巨核细胞白血病 (AMKL) 患者骨髓单核细胞 miR-29a 的表达又明显低于其他类型小儿 AML 患者, miR-29a 低表达与患者无复发生存期和总生存期的缩短密切相关^[4]。Butrym 等^[5] 研究发现: miR-29c 表达升高的 AML 患者化疗完全缓解后复发风险增加, 而 miR-29c 低表达的老年 AML 患者对阿扎胞苷治疗有反应。Burkitt 淋巴瘤患者常伴有 MYC 基因易位和 miR-29a/b 的低表达^[6], 无 MYC 基因易位的 Burkitt 淋巴瘤组织中亦有 miR-29a/b 低表达的报道^[7]。

多种胃癌细胞系和胃癌肿瘤组织存在 miR-29 家族成员表达的降低。顺铂和多西他赛化疗后, 胃癌组织 miR-29 表达增加, 而化疗后复发的肿瘤组织 miR-29 表达降低, 其表达水平与患者的无瘤生存期呈正相关。miR-29 的降低与肿瘤的进展和肿瘤的侵袭有关^[8-10]。Yang 等^[11] 对 107 例 II、III 期结

直肠癌患者术后 1 年随诊观察发现, 复发患者肿瘤组织中 miR-29c 的表达明显低于未复发的患者, 但血清 miR-29c 的表达却显著高于未复发的患者, 提示 miR-29c 可作为结直肠癌术后早期复发的监测指标。Dai 等^[12] 研究发现, miR-29b 在浆液性、黏液性及透明细胞性卵巢癌组织中的表达明显低于正常卵巢组织, 且 III 期和 VI 期卵巢癌患者 miR-29b 低表达率明显高于 II 期卵巢癌患者。miR-29b 的低表达与肿瘤复发明显相关, 并与肿瘤总生存期和无进展生存期呈正相关, miR-29b 的低表达可作为卵巢癌预后不良的指标, 并可能与卵巢癌的化疗敏感性有关。

Sun 等^[13] 研究发现, 胰腺癌组织及多种胰腺癌细胞株中 miR-29a 的表达明显增高, 与肿瘤的转移呈正相关。Zhu 等^[14] 应用 miRNA 芯片和 qRT-PCR 法证实, 非小细胞肺癌肿瘤组织 miR-29c 的表达明显高于癌旁对照组织, 且肿瘤患者血清 miR-29c 的含量亦显著高于健康对照者, 提示 miR-29c 可作为检测早期非小细胞肺癌的一种新的无创性标志物。miR-29a/b/c 在骨肉瘤肿瘤组织和血清中的表达均较对照组明显增高, 血清 miR-29a/b 的水平与肿瘤分级、转移和复发密切相关, 可作为评估骨肉瘤患者预后的指标, 但 miR-29c 的表达水平却与骨肉瘤的临床病理特性和患者预后无关^[15]。

2.2 miR-29 基因表达的调控

对 miR-29 表达的调控可发生在以下多个水平。(1) 染色体水平。脆性位点是基因组的不稳定区域, miR-29a/b1 基因簇位于人 7q32.3 普通型脆性位点 FRA7H 内。Garzon 等^[16] 证实伴有 7q32 染色体缺失 (单体 7 综合征) 的 AML 患者 miR-29a 和 miR-29b 的表达水平明显低于其他核型 AML 患者。Feldman 等^[17] 发现, 间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 基因缺失的间变性大细胞性淋巴瘤患者存在 t(6;7)(p25.3; q32.3) 平衡异位, 6p25.3 部位的双特异性磷酸酶 22 (DUSP22) 基因断裂后平衡易位到 7q32.3 脆性位点 FRA7H 部位, 从而导致 DUSP22 表达下降, miR-29a 表达增加。(2) 表观遗传学调控。Cui 等^[10] 应用亚硫酸氢钠测序法发现, 在 DNMT3A 基因敲除的胃癌细胞中, miR-29b/c 启动子区 CpG 岛甲基化为 34.2%, 明显低于对照细胞 (58.6%), 同时, 细胞 miR-29b/c 的表达亦增加, 提示胃癌细胞 miR-29b/c 的转录抑制与其启动子区高甲基化有关。(3) 转录水平。miR-29a/b-1 和 miR-29c 启动子区含有转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 a (CCAAT/

enhancer-binding protein- α , C/EBP α) 的结合位点, 因此 C/EBP α 可在转录水平促进 miR-29a/b-1 的表达^[18]。而环氧合酶 (COX-2) 特异性抑制剂塞来昔布可通过促进 C/EBP α 与 miR-29c 启动子区相应位点的结合, 从而增加 miR-29c 的表达^[9]。miR-29a/b1 和 miR-29b2/c 启动子区还含有 c-Myc 和固醇调节元件结合蛋白-1 (sterol regulatory element binding protein 1, SREBP-1) 的结合位点, 且 c-Myc 可转录抑制 miR-29a/b 的转录^[19], 而调节脂代谢的转录因子 SREBP-1 可激活 miR-29 的转录^[20]。此外, miR-29a/b-1 基因座含有 RUNX 结合位点, RUNX3 和 Smad3 结合后可上调 miR-29b 的表达^[21], 而 AML1-ETO 却可下调 miR-29a/b-1 的表达^[22]。(4) 其他。雌激素受体拮抗剂他莫昔芬可抑制激素敏感乳腺癌细胞 miR-29a/b 的表达, 但却促进其在激素耐受乳腺癌细胞中的表达^[23]。此外, 雄激素等亦可影响肿瘤细胞 miR-29 家族成员的表达^[24]。

2.3 miR-29基因在肿瘤发生发展中的作用及其机制

2.3.1 调控肿瘤细胞增殖

肿瘤的发生与癌基因的激活、抑癌基因的失活密切相关, DNA 和组蛋白的甲基化修饰可影响基因的表达。DNA 甲基化主要是通过 DNA 甲基化转移酶 (DNA methyltransferases, DNMT) 家族来催化完成的。SET 结构域分支型 1 (SET domain, bifurcated 1, SETDB1) 是一种组蛋白甲基转移酶, 主要负责组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸的甲基化。DNA 和 H3K9 的甲基化都与相关基因的沉默有关。Li 等^[25]发现, 射线可诱导非小细胞肺癌细胞凋亡, 同时也可引起 PTEN 启动子区低甲基化, PTEN 和 miR-29 表达上调, DNMT3a/3b 表达下降; 而动物体内外实验证实, miR-29 抑制剂可阻断射线所致的这些作用。提示, miR-29b 可能通过下调 DNMTs 的表达, 从而使 PTEN 启动子区低甲基化, 促进 PTEN 的表达, 进而抑制肿瘤生长。Xu 等^[26]证实, miR-29s 可直接靶向 DNMT3A 和 3B, 外源性高表达的 miR-29s 抑制 U87MG 胶质瘤细胞的增殖、侵袭和转移, 促进细胞凋亡。Wong 等^[27]研究发现, SETDB1 在肝癌组织中的表达显著增高, 并与肿瘤细胞侵袭、疾病进展和患者的预后密切相关, SETDB1 基因敲除或失活可抑制肝癌细胞的增殖、迁移及体内移植瘤的生长、转移。进一步研究证实, miR-29 可在转录后水平抑制 SETDB1 的表达。Ten-eleven 转运基因 (ten-eleven translocation, TET) 蛋白是一种重要的 DNA 去甲基化酶, 而组蛋白赖氨酸去甲基化酶

2A (KDM2A) 具有催化组蛋白上的亮氨酸残基发生去甲基化修饰的功能, DNA 和组蛋白的去甲基化则可诱导某些基因的重新活化和表达。Takayama 等^[24]研究发现, 雄激素不但影响 miR-29 的表达, 而且还可抑制前列腺癌细胞 TET2 的表达。进一步研究证实, miR-29a/b 可靶向抑制 TET2 的表达。外源性高表达 miR-29a/b 可抑制前列腺癌细胞 TET2 的表达, 同时伴有 5-hmC 的低表达; 而外源性抑制 miR-29b 的表达可增强 TET2 的表达进而抑制激素抵抗性前列腺癌小鼠肿瘤的生长。Lin 等^[28]研究发现, 外源性高表达 TET1 通过诱导肝癌细胞 G₁ 期阻滞从而抑制其增殖, 同时还可抑制肝细胞生长因子诱导的肝癌细胞的迁移和侵袭。miR-29 可靶向抑制 TET1 的表达。外源性高表达 miR-29 可抑制 TET1 的表达, 同时降低 5-hmC 的表达。此外, Kong 等^[21]研究发现, miR-29b 通过靶向抑制 KDM2A 的表达进而抑制胃癌细胞的增殖和迁移。

细胞周期紊乱是肿瘤最主要的发生机制, 其中, 细胞周期蛋白 (cyclin) 和周期蛋白依赖性蛋白激酶 (cyclin-dependent kinases, CDK) 协同作用可影响细胞周期的运行, 而转录因子 E2F 家族成员是调节细胞周期的重要分子。Gong 等^[3]研究发现, miR-29 家族可直接靶向抑制 cyclin D2 的表达, 外源性高表达 miR-29 可导致细胞周期 G₁ 期阻滞, 抑制白血病骨髓幼稚细胞的增殖; miR-29a/b/c 静脉注射可缓解急性髓系白血病小鼠的症状。Garzon 等^[16]发现, 外源性高表达 miR-29b 可抑制 AML 细胞生长并促进其凋亡, miR-29b 模拟物肿瘤内局部注射亦可显著抑制荷白血病小鼠肿瘤的生长。进一步研究证实, miR-29b 可直接靶向抑制 CDK6 和髓样细胞白血病-1 (myeloid cell leukemia 1, Mcl-1) 等, 进而影响肿瘤细胞的增殖和凋亡。Gong 等^[29]证实, miR-29a/b/c 可靶向抑制 cyclin D2 和基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 的表达。外源性高表达 miR-29a/b/c 不但可抑制胃癌细胞的增殖和 G₁/S 转换, 而且还可抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长。miR-29a/b/c 可直接靶向抑制 E2F7 的表达。外源性高表达 miR-29 可抑制横纹肌肉瘤细胞 E2F7 和 cyclin D2 的表达, 诱导 G₁ 期阻滞, 从而抑制肿瘤细胞增殖^[30]。miR-29 亦可靶向抑制细胞分裂周期蛋白 42 (cell division cycle 42, CDC42); 外源性高表达 miR-29a 可抑制乳腺癌细胞生长, 并使其停滞在 G₀/G₁ 期^[31]。此外, miR-29a 可靶向抑制核因子 1 α (nuclear factor 1 α , Nfia); 外源性高表达 miR-29a 可

下调 *Nfia* 的表达同时激活 Notch 信号通路, 从而抑制食管癌细胞增殖, 导致 G_0/G_1 期细胞聚集增加^[32]。miR-29 还可靶向抑制与脂质代谢密切相关的核转录因子固醇调节元件结合蛋白-1 (sterol regulatory element-binding protein-1, SREBP-1) 及其裂解激活蛋白 (SREBP cleavage-activating protein, SCAP)。体内外研究发现, miR-29 通过抑制 SCAP/SREBP-1 的表达进而抑制胶质母细胞瘤的生长。外源性高表达 miR-29 可抑制胶质母细胞瘤细胞的脂类合成和细胞增殖, 荷瘤小鼠肿瘤生长受抑、生存期延长^[20]。

2.3.2 对肿瘤细胞分化的影响

Wang 等^[33]发现, PMA 和 ATRA 诱导 THP-1、NB4 及 HL-60 白血病细胞向单核和 (或) 中性粒细胞分化过程中 miR-29a 表达增加。进一步研究证实, miR-29a 靶向抑制周期素 T2 (cyclin T2, CCNT2) 和 CDK6 的表达, 外源性高表达 miR-29a 可抑制骨髓干细胞中 CCNT2 和 CDK6 的表达, 促进白血病细胞向髓系分化, 而外源性低表达 miR-29a 则可抑制白血病细胞分化。Zaidi 等^[22]研究发现, miR-29b-1 可靶向抑制 M2 型急性髓性白血病融合基因 AML1-ETO 的表达。外源性高表达 miR-29b-1 可抑制白血病细胞增殖, 促进其凋亡, 还可部分逆转 AML1-ETO 依赖的白血病细胞的分化阻滞和转录。

miR-29 亦参与乳腺癌细胞去分化为癌干细胞。Cittelly 等^[34]研究发现, 孕激素可下调乳腺癌细胞特别是乳腺癌起始或祖细胞标志物 CD44⁺ 乳腺癌细胞 miR-29 家族成员的表达, 而 miR-29 家族成员的低表达又可促进孕激素所致的 CD44 和 (或) 细胞角蛋白 5 (cytokeratin 5, CK5) 表达阳性的乳腺癌细胞增殖, 进而在体内外都可导致乳腺癌干性特征增强。进一步研究证实, miR-29 通过靶向抑制转录因子 Krüppel 样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF4) 进而影响乳腺癌中干细胞样细胞的数量。

2.3.3 促进肿瘤细胞凋亡

蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB; 又称 Akt) 是一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 在细胞存活和凋亡中发挥重要作用。PKB/Akt 可以通过对靶蛋白的磷酸化发挥抗凋亡作用, 也可通过直接磷酸化抑制糖原合成激酶 (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β) 的激酶活性, 从而阻止泛素介导的 cyclin D1 的降解, 进而影响细胞周期 G_1/S 转换。Gong 等^[3]研究发现, miR-29 家族可直接靶向抑制 Akt2/PKB2 的表达, 外源性高表达 miR-29 可降低细胞 Akt 和 GSK3 β 的磷酸化水平, 促进肿瘤细胞的凋亡。Yu 等^[35]发现,

miR-29a 可直接靶向抑制 I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链 (collagen type I alpha 1, COL1A1); 外源性敲除 miR-29a/b/c 基因可导致 COL1A1 表达增加, 同时促进细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 的活化和 GSK-3 β 的失活, 并使卵巢癌抵抗顺铂所致的细胞凋亡能力增强。顺铂治疗时, 外源性低表达 miR-29 可使活化形式的 caspase-9 和 caspase-3 的数量减少; 而外源性高表达 miR-29 却能抑制荷瘤小鼠肿瘤的形成, 并增强其对顺铂治疗的敏感性, 提示 miR-29 低表达有助于卵巢癌细胞对顺铂耐药。

线粒体是真核生物能量和代谢的中心, 在细胞凋亡信号转导中起关键作用。线粒体外膜电压依赖阴离子通道 (voltage-dependent anion channel, VDAC) 闭合可以抑制线粒体功能, 导致线粒体膜通透性发生改变, 释放细胞色素 C、细胞凋亡因子等, 最终导致细胞凋亡。Bargaje 等^[36]通过荧光素酶实验证实 miR-29a 可直接靶向 VDAC1 和 VDAC2 mRNA 3'-UTR, 从而在线粒体介导的细胞凋亡中发挥作用。Muluhngwi 等^[37]研究发现, miR-29b-1/a 可显著抑制他莫西芬耐药乳腺癌细胞的增殖。外源性高表达或低表达 miR-29a 主要影响他莫西芬耐药乳腺癌细胞线粒体生物学功能。实时定量 PCR、荧光素酶报告基因等研究证实, miR-29b-1/a 是通过靶向抑制 ATP 合成酶亚单位基因 ATP 合成酶含脂蛋白 P1 (ATP5G1) 和 ATP 酶抑制因子 1 (ATPIF1) 实现上述功能的。

2.3.4 miR-29对肿瘤细胞侵袭和转移的影响

肿瘤的侵袭转移是肿瘤细胞与宿主细胞相互作用的连续、复杂、多步骤的过程。血管内皮生长因子 (VEGF)、胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF1) 等均具有促进肿瘤血管形成的作用, 而肿瘤血管形成却是恶性肿瘤持续生长的先决条件。Zhang 等^[38]研究发现, 外源性低表达 miR-29a/c 可增加胃癌细胞 VEGF 的表达和释放, 同时可促进血管内皮细胞的生长; 反之则抑制胃癌细胞 VEGF 的表达和血管内皮细胞的增殖、移动和管腔形成, 并抑制小鼠体内肿瘤生长。Melo 等^[39]发现, miR-29b 可靶向抑制与血管形成和胞外基质有关的信号分子, 如 VEGF、MMP9、ANGPTL4 和赖氨酰氧化酶 (1-lysoxidase, LOX) 等, 进而抑制肿瘤的转移。

众所周知, CDH1、连环蛋白 (Catenin) 等黏附分子介导细胞与细胞间、细胞与基质间产生黏附,

参与细胞的识别、活化和信号转导等,与肿瘤的浸润与转移密切相关。Wang 等^[8]研究发现,miR-29c 可靶向抑制 Catenin- δ 的表达。体内外实验证明,外源性高表达 miR-29s 可使 catenin- δ 蛋白表达减少,抑制胃癌细胞的迁移及其侵袭转移。 β -链蛋白(β -catenin)也是促进人卵巢癌细胞侵袭的关键因子, β -catenin 基因敲除可抑制荷瘤小鼠肿瘤的转移。To 等^[40]研究发现, β -catenin 通过下调 Dicer 抑制 miR-29s 等多种微小 RNA 的表达,敲除 β -catenin 基因或外源性高表达 Dicer 或 miR-29 均可降低高转移卵巢癌细胞株的迁移能力。解整合素-金属蛋白酶 12 (a disintegrin and metalloprotease 12, ADAM-12) 又称融合素- α (metrin- α),是一种含锌蛋白酶,具有长链(L)和短链(S)两种表达形式,其中,ADAM12-L 与乳腺癌细胞上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)和干细胞特性以及乳腺癌患者的生存时间及化疗敏感性预测等密切相关。Duhachek-Muggy 和 Zolkiewska^[41]研究发现,外源性高表达 miR-29b/c 可显著降低乳腺癌细胞 ADAM12-L 的表达;荧光色素酶实验表明,miR-29 家族成员可靶向抑制 ADAM12-L 的表达。

EMT 是指上皮表型细胞通过特定程序转化为间质表型细胞,并获得迁移或远处转移播散的能力。Chou 等^[42]通过荧光素酶报告基因实验证明,miR-29b 不但可靶向抑制多种调控肿瘤血管生成、胶原重塑和蛋白水解有关的基因,如 VEGFA、ANGPTL4、PDGF、LOX 和 MMP9 等,还可以在转录后水平抑制影响分化和上皮间质转化的基因,如整合素 $\alpha 6/\beta 1$ (ITGA6/ITGB1) 和转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 等;外源性高表达 miR-29b 不但可促进乳腺癌细胞上皮样表型分化,而且还可抑制荷乳腺癌小鼠的肺转移。而 Wang 等^[43]发现,敲除 miR-29 基因可在体内外显著抑制骨肉瘤细胞的生长并促进其凋亡,其作用是通过降低肿瘤细胞 TGF- $\beta 1$ 表达,促进 p53 上调凋亡调制物 (p53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA) 表达实现的。类赖氨酰氧化酶 2 (LOXL2) 是 LOX 家族的成员,其在细胞外主要参与基质胶原蛋白和弹性蛋白的交联产物的形成,在细胞内主要通过 Snail 途径调节 EMT 过程。Nishikawa 等^[44]研究发现,与肾癌癌旁对照组织比较,肾癌肿瘤组织存在 miR-29a/b/c 表达的下降和 LOXL2 表达的增加。进一步研究证实,miR-29s 可靶向抑制 LOXL2 的表达。外源性高表达可显著抑制肾癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

ATP1B1 (ATPase, Na⁺/K⁺ transporting, beta 1) 蛋白可参与细胞间黏附和上皮细胞极化过程,并抑制乳腺癌细胞的侵袭和转移。Cochrane 等^[45]通过 PCR 证实,在乳腺癌治疗中,孕酮可抑制 miR-29 家族的表达,进而减轻其对靶基因 ATP1B1 的抑制,改变乳腺癌细胞的间质表型,并恢复对乳腺癌细胞的抑制。

癌基因的活化及过度表达和抑癌基因的失活在肿瘤侵袭转移中亦发挥重要作用,而基因启动子区的甲基化状态可影响基因的表达。Cui 等^[10]研究证实,miR-29b/c 可靶向抑制 DNMT3A 的表达。外源性高表达 miR-29b/c 可有效抑制多种胃癌细胞的运动能力,并伴有 DNMT3A 表达减少,上皮-钙黏连素 (E-cadherin, CDH1) 表达增加,以及 CDH1 启动子区甲基化水平的下降;应用 miR-29b/c 抑制剂则可显著增加 DNMT3A 的表达,而外源性敲除 DNMT3A 亦可引起 CDH1 表达的增加。因此,miR-29b/c 表达下降及 DNMT3A 的异常表达可促进胃癌细胞的迁移和侵袭。分化抑制蛋白-1 (inhibitor of DNA binding/differentiation 1, Id-1) 属于螺旋-环-螺旋蛋白转录因子家族,可抑制一些重要的分化基因转录,调控肿瘤细胞的侵袭。其中,TGF- $\beta 1$ 和肿瘤坏死因子 α 等可诱导 Id-1 表达,而 c-Src 激酶可抑制其表达。Rothschild 等^[19]研究发现,miR-29b 可靶向抑制 Id-1 的 3'-UTR 区。外源性高表达 miR-29b 可显著抑制 Id-1 的表达,同时抑制肺癌细胞的迁移和侵袭;而外源性抑制 miR-29b 的表达可使 Id-1 的表达显著增加,肺癌细胞的迁移和侵袭能力亦显著增加。外源性高表达 Id-1 可使 miR-29b 高表达细胞恢复迁移能力,而外源性抑制 miR-29b 并增加 Id-1 表达则可取消 Src 抑制剂对肿瘤细胞迁移和侵袭的影响。Teng 等^[46]发现,在 TGF- $\beta 1$ 诱导卵巢癌细胞 EMT 过程中,miR-29b 的表达下降而 Id-1 的表达显著增加,敲除 Id-1 可降低肿瘤细胞的迁移和侵袭能力,并可部分阻断 TGF- $\beta 1$ 诱导的 EMT 过程。进一步研究证实,miR-29b 可直接靶向抑制 Id-1 的表达。

N-Myc 交互子 (n-myc interactor, NMI) 是一种由 IL-2、IFN γ 等细胞因子诱导的蛋白,可与 N-Myc、STATs、c-Myc、BRCA1、TIP60 和 SOX10 等转录因子结合,从而影响靶基因的表达。Rostas 等^[47]发现,乳腺癌肿瘤组织中 NMI 的表达与 miR-29 呈负相关,证实 miR-29 可直接靶向抑制 NMI 的表达。外源性增加 miR-29 的表达可降低 NMI 的表达水平,促进乳腺癌细胞的侵袭和转移;而在 miR-29 高表

达、NMI 低表达的乳腺癌细胞中使用 miR-29 拮抗剂则可增加 NMI 的表达水平, 进而抑制肿瘤细胞的侵袭。补体 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 6 (complement C1q tumor necrosis factor-related protein 6, C1QTNF6)、酸性富含胱氨酸分泌蛋白 (secreted protein, acidic, cysteine-rich, SPARC) 和 COL4A2 是乳腺癌中与细胞侵袭有关的 3 个基因。Wang 等^[48] 通过荧光色素酶实验证实, miR-29b 可通过直接靶向 C1QTNF6、SPARC 和 COL4A2 下调其 mRNA 表达, 进而促进人乳腺癌细胞的转移。

锌指蛋白 36 (tristetraprolin, TTP) 是串联锌指蛋白家族的成员, 可与 mRNA 3'-UTR 富含腺嘌呤和尿嘧啶的序列 (AU 富集元件, AU-rich elements, AREs) 结合控制 ARE 元件活性, 从而影响 VEGF、c-Myc、cyclin D1、TNF- α 、COX-2、IL-3、IL-8 等的 mRNA 的稳定性及其蛋白质的表达, 参与恶性肿瘤的形成和转移过程。Sun 等^[13] 研究发现, 胰腺癌组织存在 miR-29a 的高表达及 TTP 的低表达。进一步研究证实, miR-29a 可直接靶向抑制 TTP 的表达。外源性高表达 miR-29a 可增加胰腺癌细胞的活力和运动能力, 伴有前炎性因子如 TNF- α 、COX-2、IL-6 及 IL-8 和上皮间质转化标志物如波形蛋白

(Vimentin)、N-cadherin 表达的增加; 外源性增加 TTP 表达则可降低体外肿瘤细胞的活力和运动能力, 抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长和 EMT 表型的变化; 而外源性低表达 miR-29a 则可降低胰腺癌细胞的活力和运动能力。提示 miR-29a 在胰腺癌裸鼠移植模型中的 EMT 过程和促炎作用是通过下调 TTP 实现的。

3 结语

miRNA 的发现开创了微小 RNA 及其相关信号通路与肿瘤关系研究的新纪元。尽管目前对于 miR-29 家族基因表达的组织特异性、靶基因的广泛性 (表 1) 及 miR-29 在调控肿瘤发生发展中作用的研究逐渐深入, 以 miR-29 为靶点的恶性肿瘤治疗研究将变得更加广阔。2016 年和 2107 年相继研究发现, 具有 miR-29s 结合位点的其他 RNA 分子, 如 IGF1 的 3'-UTR、circRNA_100290、lncRNA H19 等, 亦可与 miR-29 内源竞争结合, 从而解除 miR-29 对其靶基因的抑制, 进而在肿瘤发生发展中发挥作用^[49-51], 但 miR-29s 能否作为肿瘤早期诊断、检测疗效、监测复发等潜在的肿瘤标志物或肿瘤治疗靶点尚有待于进一步研究。

表1 已发现的miR-29靶基因

miRNA类别	靶基因	肿瘤类型
miR-29s	DNMT3A/3B	胃癌 ^[10] 、非小细胞肺癌 ^[25] 、胶质瘤 ^[26]
	SETDB1	肝癌 ^[27]
	cyclin D2/T2	胃癌 ^[29] 、白血病 ^[3]
	CDK6	白血病 ^[16, 33] 、淋巴瘤 ^[6]
	E2F7	横纹肌肉瘤 ^[30]
	PKB2	白血病 ^[3]
	CDC42	乳腺癌 ^[31]
	COL1A1/3A1/4A1	卵巢癌 ^[35]
	MMP-2	胃癌 ^[29]
	Bcl-2、Mcl-1	白血病 ^[16]
	ADAM12-L	乳腺癌 ^[41]
	NMI	乳腺癌 ^[47]
	LOXL2	肾癌 ^[44]
	TET1/2	肝癌 ^[28] 、前列腺癌 ^[24]
	SREBP-1/SCAP	胶质母细胞瘤 ^[20]
	ATP5G1/ATP1F1	乳腺癌 ^[37]
miR-29a	TTP	胰腺癌 ^[13]
	Nfia	食管癌 ^[32]
miR-29b	Id-1	卵巢癌 ^[46]
	KDM2A	胃癌 ^[21]
miR-29c	Catenin- δ	胃癌 ^[8]

[参 考 文 献]

- [1] Iusarz A, Pulakat L. The two faces of miR-29. *J Cardiovasc Med: Hagerstown*, 2015, 16: 480-90
- [2] 任雪维, 张吉才. miR-29在肿瘤中的研究进展. *中国肿瘤临床*, 2016, 43: 775-9
- [3] Gong JN, Yu J, Lin HS, et al. The role, mechanism and potentially therapeutic application of microRNA-29 family in acute myeloid leukemia. *Cell Death Differ*, 2014, 21:100-12
- [4] Zhu C, Wang Y, Kuai W, et al. Prognostic value of miR-29a expression in pediatric acute myeloid leukemia. *Clin Biochem*, 2013, 46: 49-53
- [5] Butrym A, Rybka J, Baczyńska D, et al. Clinical response to azacitidine therapy depends on microRNA-29c (miR-29c) expression in older acute myeloid leukemia (AML) patients. *Oncotarget*, 2016, 7: 30250-7
- [6] Mazzoccoli L, Robaina MC, Apa AG, et al. MiR-29 silencing modulates the expression of target genes related to proliferation, apoptosis and methylation in Burkitt lymphoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144: 483-97
- [7] De Falco G, Ambrosio MR, Fuligni F, et al. Burkitt lymphoma beyond MYC translocation: N-MYC and DNA methyltransferases dysregulation. *BMC Cancer*, 2015, 15: 668
- [8] Wang Y, Liu C, Luo M, et al. Chemotherapy-induced miRNA-29c/catenin- δ signaling suppresses metastasis in gastric cancer. *Cancer Res*, 2015, 75: 1332-44
- [9] Saito Y, Suzuki H, Imaeda H, et al. The tumor suppressor microRNA-29c is downregulated and restored by celecoxib in human gastric cancer cells. *Int J Cancer*, 2013, 132: 1751-60
- [10] Cui H, Wang L, Gong P, et al. Dereglulation between miR-29b/c and DNMT3A is associated with epigenetic silencing of the CDH1 gene, affecting cell migration and invasion in gastric cancer. *PLoS One*, 2015, 10: e0123926
- [11] Yang IP, Tsai HL, Huang CW, et al. The functional significance of microRNA-29c in patients with colorectal cancer: a potential circulating biomarker for predicting early relapse. *PLoS One*, 2013, 8: e66842
- [12] Dai F, Zhang Y, Chen Y. Involvement of miR-29b signaling in the sensitivity to chemotherapy in patients with ovarian carcinoma. *Hum Pathol*, 2014, 45: 1285-93
- [13] Sun XJ, Liu BY, Yan S, et al. MicroRNA-29a promotes pancreatic cancer growth by inhibiting tristetraprolin. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37: 707-18
- [14] Zhu W, He J, Chen D, et al. Expression of miR-29c, miR-93, and miR-429 as potential biomarkers for detection of early stage non-small lung cancer. *PLoS One*, 2014, 9: e87780
- [15] Hong Q, Fang J, Pang Y, et al. Prognostic value of the microRNA-29 family in patients with primary osteosarcomas. *Med Oncol*, 2014, 31: 37
- [16] Garzon R, Heaphy CE, Havelange V, et al. MicroRNA 29b functions in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2009, 114: 5331-41
- [17] Feldman AL, Dogan A, Smith DI et al. Discovery of recurrent t(6;7)(p25.3;q32.3) translocations in ALK-negative anaplastic large cell lymphomas by massively parallel genomic sequencing. *Blood*, 2011, 117: 915-9
- [18] Eyholzer M, Schmid S, Wilkens L, et al. The tumour-suppressive miR-29a/b1 cluster is regulated by CEBPA and blocked in human AML. *Br J Cancer*, 2010, 103: 275-84
- [19] Rothschild SI, Tschan MP, Federzoni EA, et al. MicroRNA-29b is involved in the Src-ID1 signaling pathway and is dysregulated in human lung adenocarcinoma. *Oncogene*, 2012, 31: 4221-32
- [20] Ru P, Hu P, Geng F, et al. Feedback loop regulation of SCAP/SREBP-1 by miR-29 modulates EGFR signaling-driven glioblastoma growth. *Cell Rep*, 2016, 16: 1527-35
- [21] Kong Y, Zou S, Yang F, et al. RUNX3-mediated up-regulation of miR-29b suppresses the proliferation and migration of gastric cancer cells by targeting KDM2A. *Cancer Lett*, 2016, 381: 138-48
- [22] Zaidi SK, Perez AW, White ES, et al. An AML1-ETO/miR-29b-1 regulatory circuit modulates phenotypic properties of acute myeloid leukemia cells. *Oncotarget*, 2017, 8: 39994-40005
- [23] Muluhngwi P, Krishna A, Vittitow SL, et al. Tamoxifen differentially regulates miR-29b-1 and miR-29a expression depending on endocrine-sensitivity in breast cancer cells. *Cancer Lett*, 2017, 388: 230-8
- [24] Takayama K, Misawa A, Suzuki T, et al. TET2 repression by androgen hormone regulates global hydroxymethylation status and prostate cancer progression. *Nat Commun*, 2015, 6: 8219
- [25] Li G, Zhao J, Peng X, et al. The mechanism involved in the loss of PTEN expression in NSCLC tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 418: 547-52
- [26] Xu H, Sun J, Shi C, et al. miR-29s inhibit the malignant behavior of U87MG glioblastoma cell line by targeting DNMT3A and 3B. *Neurosci Lett*, 2015, 590: 40-6
- [27] Wong CM, Wei L, Law CT, et al. Up-regulation of histone methyltransferase SETDB1 by multiple mechanisms in hepatocellular carcinoma promotes cancer metastasis. *Hepatology*, 2016, 63: 474-87
- [28] Lin LL, Wang W, Hu Z, et al. Negative feedback of miR-29 family TET1 involves in hepatocellular cancer. *Med Oncol*, 2014, 31: 291
- [29] Gong J, Li J, Wang Y, et al. Characterization of microRNA-29 family expression and investigation of their mechanistic roles in gastric cancer. *Carcinogenesis*, 2014, 35: 497-506
- [30] Li L, Sarver AL, Alamgir S, et al. Downregulation of microRNAs miR-1, -206 and -29 stabilizes PAX3 and CCND2 expression in rhabdomyosarcoma. *Lab Invest*, 2012, 92: 571-83
- [31] Zhang M, Guo W, Qian J, et al. Negative regulation of CDC42 expression and cell cycle progression by miR-29a in breast cancer. *Open Med (Wars)*, 2016, 11: 78-82
- [32] Liu C, Duan P, Li B, et al. miR-29a activates Hes1 by targeting Nfia in esophageal carcinoma cell line TE-1. *Oncol Lett*, 2015, 9: 96-102

- [33] Wang XS, Gong JN, Yu J, et al. MicroRNA-29a and microRNA-142-3p are regulators of myeloid differentiation and acute myeloid leukemia. *Blood*, 2012, 119: 4992-5004
- [34] Cittelly DM, Finlay-Schultz J, Howe EN, et al. Progesterin suppression of miR-29 potentiates dedifferentiation of breast cancer cells via KLF4. *Oncogene*, 2013, 32: 2555-64
- [35] Yu PN, Yan MD, Lai HC, et al. Downregulation of miR-29 contributes to cisplatin resistance of ovarian cancer cells. *Int J Cancer*, 2014, 134: 542-51
- [36] Bargaje R, Gupta S, Sarkeshik A, et al. Identification of novel targets for miR-29a using miRNA proteomics. *PLoS One*, 2012, 7: e43243
- [37] Muluhngwi P, Alizadeh-Rad N, Vittitow SL, et al. The miR-29 transcriptome in endocrine-sensitive and resistant breast cancer cells. *Sci Rep*, 2017, 7: 5205
- [38] Zhang H, Bai M, Deng T, et al. Cell-derived microvesicles mediate the delivery of miR-29a/c to suppress angiogenesis in gastric carcinoma. *Cancer Lett*, 2016, 375: 331-9
- [39] Melo SA, Kalluri R. miR-29b moulds the tumour microenvironment to repress metastasis. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 139-40
- [40] To SKY, Mak ASC, Eva Fung YM, et al. β -catenin downregulates Dicer to promote ovarian cancer metastasis. *Oncogene*, 2017, 36: 5927-38
- [41] Duhachek-Muggy S, Zolkiewska A. ADAM12-L is a direct target of the miR-29 and miR-200 families in breast cancer. *BMC Cancer*, 2015, 15: 93
- [42] Chou J, Lin JH, Brenot A, et al. GATA3 suppresses metastasis and modulates the tumour microenvironment by regulating microRNA-29b expression. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 201-13
- [43] Wang CY, Ren JB, Liu M, et al. Targeting miR-29 induces apoptosis of osteosarcoma MG-63 cells via regulation of TGF- β 1/PUMA signal. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20: 3552-60
- [44] Nishikawa R, Chiyomaru T, Enokida H, et al. Tumour-suppressive microRNA-29s directly regulate LOXL2 expression and inhibit cancer cell migration and invasion in renal cell carcinoma. *FEBS Lett*, 2015, 589: 2136-45
- [45] Cochrane DR, Jacobsen BM, Connaghan KD, et al. Progesterin regulated miRNAs that mediate progesterone receptor action in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 355: 15-24
- [46] Teng Y, Zhao L, Zhang Y, et al. Id-1, a protein repressed by miR-29b, facilitates the TGF β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in human ovarian cancer cells. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33: 717-30
- [47] Rostas JW 3rd, Pruitt HC, Metge BJ, et al. microRNA-29 negatively regulates EMT regulator N-myc interactor in breast cancer. *Mol Cancer*, 2014, 13: 200
- [48] Wang C, Gao C, Zhuang JL, et al. A combined approach identifies three mRNAs that are down-regulated by microRNA-29b and promote invasion ability in the breast cancer cell line MCF-7. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138: 2127-36
- [49] Lv M, Zhong Z, Huang M, et al. lncRNA H19 regulates epithelial-mesenchymal transition and metastasis of bladder cancer by miR-29b-3p as competing endogenous RNA. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1864: 1887-99
- [50] Chen L, Zhang S, Wu J, et al. circRNA_100290 plays a role in oral cancer by functioning as a sponge of the miR-29 family. *Oncogene*, 2017, 36: 4551-61
- [51] Gao S, Cheng C, Chen H, et al. IGF1 3'UTR functions as a ceRNA in promoting angiogenesis by sponging miR-29 family in osteosarcoma. *J Mol Histol*, 2016, 47: 135-43