

DOI: 10.13376/j.cblls/2021027

文章编号: 1004-0374(2021)02-0238-10

## miR-221/222及其靶基因与恶性肿瘤关系的研究进展

陆宇枫<sup>1#</sup>, 李永懿<sup>2#</sup>, 王兆焯<sup>1</sup>, 于永超<sup>1</sup>, 那嵩<sup>1</sup>, 牛兆睿<sup>1</sup>, 邢珈玮<sup>1</sup>, 李传刚<sup>3</sup>, 李墨林<sup>4\*</sup>

(1 大连医科大学, 大连 116044; 2 美国弗吉尼亚大学, 夏洛特维尔, 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:** miR-221和miR-222 (miR-221/222)是由同一祖先基因重复产生的旁系同源物, 它们在核酸序列上非常接近, 并具有相同的种子序列“AGCUACAU”。miR-221/222在正常内皮细胞中高表达, 在心血管系统的发育和生理功能的维持方面发挥重要作用, 其异常表达与心血管疾病、代谢性疾病、免疫性疾病、神经退行性疾病等的发生发展密切相关。近年研究发现, miR-221/222在多种恶性肿瘤中异常表达, 并与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡、侵袭和转移密切相关, 有望作为肿瘤标志物用于恶性肿瘤患者的诊断及预后判断, 也为恶性肿瘤的治疗提供了新的靶点。该文就miR-221/222及其靶基因与恶性肿瘤关系的研究进展进行综述。

**关键词:** miR-221/222; 表达调控; 靶基因; 恶性肿瘤;

**中图分类号:** R730.2; R730.4 **文献标志码:** A

## Progress of miR-221/222 and their target genes in the occurrence and development of malignant tumors

LU Yu-Feng<sup>1#</sup>, LI Yong-Yi<sup>2#</sup>, WANG Zhao-Xuan<sup>1</sup>, YU Yong-Chao<sup>1</sup>, NA Song<sup>1</sup>,  
NIU Zhao-Rui<sup>1</sup>, XING Jia-Wei<sup>1</sup>, LI Chuan-Gang<sup>3</sup>, LI Mo-Lin<sup>4\*</sup>

(1 Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 2 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:** miR-221 and miR-222 (miR-221/222) are paralogues arisen from the duplication of the ancestral gene. They are highly homologous miRNAs with identical seed sequence “AGCUACAU”. miR-221/222 are highly expressed in normal endothelial cells and play important roles in vascular biology. Their abnormal expression is closely related to the occurrence and development of cardiovascular, metabolic, immune or neurodegenerative diseases. Recent studies have shown that miR-221/222 were dysregulated in a variety of malignant tumors and were involved in the proliferation, differentiation, apoptosis, invasion and metastasis of tumor cells, indicating that they might be not only bio-markers for diagnosis and prognosis of cancers, but also promising targets for malignant tumor treatment. The progress of miR-221/222 and their target genes in malignant tumors were reviewed in this paper.

**Key words:** miR-221/222; expression regulation; target genes; malignant tumors

微小RNA (microRNA, miRNA)是一类长19~25 nt的内源性非编码单链RNA, 具有高度保守性、时序性和组织特异性, 其通过种子序列与靶基因mRNA 3'端非编码区域(3'UTR)的核苷酸互补配对, 降解靶基因mRNA或抑制其翻译, 进而在转录后水平调控基因表达。miR-221/222是一种内皮细胞高表达的微小RNA, 其通过靶向抑制c-Kit、p27等基

因的表达调节内皮细胞生成, 参与血管新生内膜增生及动脉粥样硬化性血管重构等病理过程, 与心血管疾病、代谢性疾病等的发生发展有关。目前研究

收稿日期: 2020-04-16; 修回日期: 2020-05-16

<sup>#</sup>共同第一作者

\*通信作者: E-mail: li-molin@dmu.edu.cn

发现, miR-221/222在多种肿瘤患者的肿瘤组织和外周血中表达紊乱, 在肿瘤诊断、预后等方面具有潜在价值, 并可作为肿瘤治疗的生物标记物<sup>[1]</sup>。随着研究日益深入, miR-221/222的下游靶基因不断被发现, 被证实与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡和侵袭转移等病理过程密切相关; 此外, miR-221/222的上游调控机制也受到越来越多的关注。本文就miR-221/222及其靶基因在肿瘤发生发展中的作用及其机制进行综述。

## 1 miR-221/222基因概述

miR-221和miR-222基因是同一祖先基因重复产生的旁系同源物, 在脊椎动物中高度保守, 两者在核酸序列上非常接近, 并具有相同种子序列“AGCU-ACAU”是由位于X染色体p11.3区的串联基因簇编码而成的。miR-221/222属于基因间微小RNA, 具有独立的启动子和转录调节元件, 在细胞核内被RNA多聚酶II转录生成含有两个发夹结构的初级转录产物, 即初级微小RNA-221/222 (primary miRNA-221/222, pri-miR-221/222)。然后, 其在DGCR8帮助下被III型核糖核酸酶Drosha切割成长度为110 nt, 并具发夹环结构的前体miRNA (miRNA precursor, pre-miRNA), 即pre-miR-221和pre-miR-222。Ran-GTP依赖性核浆转运子Exportin5将pre-miR-221或pre-miR-222转移至细胞质, 然后被Dicer核糖核酸酶切割成23 bp或21 bp的miRNA双链体miR-221-5p/miR-221-3p或miR-222-5p/miR-222-3p。其中, 成熟的miRNA, 即miR-221-3p和miR-222-3p与特定的Argonaute蛋白结合形成RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC), 进一步通过核酸序列互补结合于靶基因mRNA的3'非翻译区, 发挥抑制靶基因mRNA翻译或降解靶基因mRNA的作用, 而miR-221-5p和miR-222-5p被降解。

miR-221/222在人脐静脉内皮细胞(HUVEC)中高表达<sup>[2]</sup>。Liu等<sup>[3]</sup>应用寡核苷酸微芯片(基因芯片)法检测了在多种正常人组织和造血细胞中的成熟miRNA及其前体pre-miRNA的表达情况, 结果发现, 成人CD5<sup>+</sup>细胞, 以及T、B淋巴细胞和外周血白细胞, 以及成人胸腺、肝、肾、卵巢、睾丸、胎盘等组织, 还有胎儿肝、脑组织中的pre-miR-221/222和成熟的miR-221/222的表达均增加, 而在成人脑、肺、乳腺、脾脏组织中仅有miR-221的表达增加, 骨髓和骨骼肌中仅有miR-222的表达增加。

## 2 miR-221/222与肿瘤之间的关系

### 2.1 miR-221/222在不同恶性肿瘤中的表达

Rommer等<sup>[4]</sup>利用微阵列和qPCR检测了52例急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)患者外周血白血病细胞微小RNA及其前体的表达情况, 结果发现, 多数初诊AML患者的miR-221和pri-miR-221/222的表达显著增高, 但miR-221与pri-miR-221/222表达的比值却明显降低, 而miR-222的表达与正常对照无显著差异。此外, 有研究报道, 核心结合因子(core-binding factor, CBF)相关急性髓细胞白血病(CBF-AML)患者的骨髓单个核细胞miR-221/222的表达显著低于非CBF-AML患者<sup>[5]</sup>。

恶性实体瘤患者肿瘤组织中存在miR-221和(或)miR-222的表达紊乱。临床研究证实, 肝癌肿瘤组织中miR-221的表达显著高于癌旁正常或肝硬化组织, 且肿瘤组织中miR-221的表达水平与肿瘤大小、结节数量、血管侵犯和存活时间或术后复发时间有关<sup>[6-7]</sup>, 也与肝癌的临床分期有关<sup>[8]</sup>。胃癌肿瘤组织中miR-221/222的表达水平显著高于癌旁正常组织<sup>[9]</sup>, 且幽门螺杆菌阳性的胃癌肿瘤组织的miR-222的表达水平显著高于幽门螺杆菌阴性的肿瘤组织<sup>[10]</sup>, 但胃肠道间质瘤肿瘤组织的miR-221/222的表达水平却明显降低<sup>[11]</sup>。miR-221或miR-222在乳腺癌肿瘤组织中的表达明显高于癌旁正常组织<sup>[12]</sup>。Stinson等<sup>[13]</sup>通过miRNA微阵列检测发现, 雌激素受体/孕激素受体(ER/PR)和HER-2均阴性的乳腺癌细胞系(如MDA-MB-231等)的miR-221/222表达水平显著高于ER/PR阳性的乳腺癌细胞系(如MCF-7细胞等), 并且三阴性乳腺癌肿瘤组织中的miR-221/222表达也显著高于ER/PR阳性的肿瘤组织。Goto等<sup>[14]</sup>检测了54例前列腺癌、8例去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)及其癌旁正常前列腺组织中miR-221/222的表达, 发现前列腺癌和CRPC肿瘤组织的miR-221/222表达水平都显著低于非癌前列腺组织。此外, 骨肉瘤等多种实体肿瘤组织的miR-221/222表达水平明显增高, 肺癌和胶质瘤肿瘤组织中miR-221/222的表达水平与患者生存率及预后密切相关<sup>[15-17]</sup>。三阴性乳腺癌肿瘤组织中miR-222的高表达和宫颈癌肿瘤组织中miR-221的表达水平均与患者淋巴结转移呈正相关<sup>[18-19]</sup>。

miR-221/222在多种肿瘤患者外周血中的表达水平亦明显升高。其中, 甲状腺乳头状癌患者血浆

中miR-222的表达水平显著高于结节性甲状腺肿和健康对照患者,可用于甲状腺乳头状癌的鉴别诊断<sup>[20]</sup>。胃癌患者血浆miR-222的表达水平显著高于慢性萎缩性胃炎和健康对照( $P < 0.001$ ),其表达水平与胃癌的临床分期、淋巴结转移、无瘤生存率和总体生存率显著相关,提示血浆中的miR-222可用于胃癌的早期发现和预后判断<sup>[21]</sup>。Li等<sup>[22]</sup>研究发现,miR-222在多种胰腺癌细胞株中的表达水平升高,且肿瘤细胞及其外泌体中miR-222的表达水平与肿瘤细胞的侵袭能力密切相关。胰腺癌患者血浆外泌体中miR-222的表达亦增加,且其表达水平与肿瘤大小和TNM分期显著相关。Shaker等<sup>[23]</sup>研究发现,肝癌及丙肝患者血清中的miR-221水平均显著高于健康对照,并且肝癌患者血清miR-221水平亦显著高于丙肝患者( $P < 0.01$ )。此外,女性乳腺癌患者外周血中的miR-221表达水平显著增高,且与肿瘤患者无瘤生存时间密切相关<sup>[24]</sup>。

## 2.2 miR-221/222表达的调控机制

### 2.2.1 表观遗传学调控

Fornari等<sup>[25]</sup>研究发现,肝癌细胞及肿瘤组织中miR-221的表达水平与其启动子区CpG岛的甲基化水平密切相关,DNA甲基化转移酶(DNMT)抑制剂5-Aza-2-deoxycytidine (5-Aza-CdR)可诱导肝癌细胞pri-miR-221和miR-221表达的增加。Lewis等<sup>[26]</sup>研究发现,DNMT抑制剂与组蛋白脱乙酰基酶抑制剂联合应用可抑制三阴性乳腺癌细胞株中miR-221/222的表达。甲基转移酶样蛋白3 (methyltransferase-like 3, METTL3)可通过组成 $N^6$ -甲基腺嘌呤( $N^6$ -methyladenosine,  $m^6A$ )甲基转移酶复合体,介导 $m^6A$  mRNA的甲基化。Han等<sup>[27]</sup>研究发现,METTL3可促进pri-miR-221/222的 $m^6A$ -RNA甲基化,使之易被DGCR8识别,从而增加miR-221/222的表达。

### 2.2.2 DNA水平调控

研究发现,胃肠道间质瘤肿瘤组织存在pri-miR-222基因rs75246947 (T > A)位点单核苷酸多态性(SNP)<sup>[28]</sup>,其可能与胃肠道间质瘤肿瘤组织miR-221/222的低表达有关<sup>[11]</sup>。

### 2.2.3 转录水平调控

多种转录因子可调控miR-221/222的表达。转录因子激活子蛋白-1 (activator protein1, AP-1)是Jun家族成员形成的同源二聚体或与Fos家族成员嵌合形成的异源二聚体。Bae等<sup>[29]</sup>研究发现,在miR-221的上游存在转录因子NF- $\kappa$ B和AP-1的结合位点,启动子荧光素酶报告基因实验证实NF- $\kappa$ B的p65亚基

和c-jun可与其结合转录,促进肝癌细胞miR-221的表达。Stinson等<sup>[13]</sup>研究证实,Fos家族成员FOSL1可转录促进miR-221/222的表达。Lambertini等<sup>[30]</sup>研究发现,miR-221/222启动子区存在Slug的结合位点,通过染色质免疫共沉淀技术等方法证实转录因子Slug可促进miR-221的表达。转录因子Slug在MDA-MB-231乳腺癌细胞中的表达显著高于MCF-7乳腺癌细胞<sup>[12]</sup>,在MDA-MB-231细胞中敲除Slug的表达可引起肿瘤细胞miR-221水平显著降低;而在MCF-7细胞中外源性高表达Slug则可使其miR-221表达明显增加。TGF $\beta$ 亦可通过促进Slug表达进而上调miR-221的表达。此外,TWIST2可特异性转录促进miR-221的表达<sup>[31]</sup>,STAT3可转录促进miR-222的表达<sup>[32]</sup>。

核心结合因子(CBF)是髓系前体细胞分化的关键转录因子,包括1个 $\alpha$ 亚基,即急性髓系白血病蛋白1 (AML1),和1个 $\beta$ 亚基(CBF $\beta$ ),其中 $\alpha$ 亚基可与特定DNA结合, $\beta$ 亚基通过与 $\alpha$ 亚基结合影响其转录活性。t(8;21)是急性髓系白血病(AML)中最常见的染色体易位,其易位产生AML1-ETO (MTG8)融合蛋白,破坏了CBF复合物的 $\alpha$ 亚基。研究证实AML-1可特异性转录促进miR-221/222的表达,而融合蛋白AML1-MTG8可特异性抑制miR-221/222的转录表达<sup>[5]</sup>。

Gui等<sup>[33]</sup>利用微阵列检测发现,miR-221/222在雄激素依赖性和非依赖性前列腺癌细胞中存在差异表达。进一步研究发现,miR-221/222上游9.6 kb处有雄激素受体(androgen receptor, AR)结合区,双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)可抑制前列腺癌LNCaP和C4-2B细胞株miR-221/222的表达。他们将3'UTR区含有miR-221/222互补序列的荧光素酶报告基因转染LNCaP和C4-2B细胞并用DHT处理,结果发现,雄激素可通过下调miR-221/222的表达进而增加荧光素酶活性,提示雄激素与其受体结合,进而抑制miR-221/222的表达。Di Leva等<sup>[34]</sup>研究发现,雌二醇(estradiol, E2)可抑制乳腺癌MCF7细胞miR-221/222的表达,雌激素受体 $\alpha$  (estrogen receptor alpha, ER $\alpha$ )可负性调节miR-221/222的表达。进一步研究证实,ER $\alpha$ 可与核受体辅阻遏物NCoR/SMRT形成共抑制复合物,进而抑制miR-221/222的表达。

### 2.2.4 转录后调控

核仁蛋白(nucleolin, NCL)是核糖体RNA核仁加工复合物的主要成分,与BCL2等肿瘤进展基因的翻译及稳定性有关。NCL作为RNA聚合酶III-Drosha-

DGCR8复合体的组成部分,参与miRNA的加工。Pichiorri等<sup>[35]</sup>在HeLa细胞中通过RNA结合蛋白免疫沉淀实验发现,NCL免疫共沉淀复合物中存在内源性pri-miR-221/222的表达,外源性敲除NCL可促进pri-miR-221/222的表达,却抑制miR-221/222的表达,提示NCL可在转录后水平调控miR-221/222的表达。

### 2.2.5 其他

有研究报道X射线照射可使结肠癌细胞产生剂量依赖性的miR-221表达增加<sup>[36]</sup>,而抗肿瘤靶向药物genistein可抑制肿瘤细胞miR-221的表达<sup>[37]</sup>。

## 2.3 miR-221/222在肿瘤发生发展中的功能

### 2.3.1 调控肿瘤细胞增殖和存活

细胞周期紊乱是肿瘤发生的重要机制。Nemo样激酶(Nemo-like kinase, NLK)和周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)均属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶超家族成员,其中,NLK可负性调控Wnt/ $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路,而CDK与细胞周期蛋白(cyclin)协同调控细胞周期的时相转换。p27是CDK抑制因子CIP/KIP家族的成员,可抑制G<sub>1</sub>/S转换。He等<sup>[38]</sup>研究发现,N-myc高表达的神经母细胞瘤肿瘤组织和细胞株中miR-221的表达显著增加。miR-221可靶向抑制NLK的表达,外源性高表达miR-221可促进神经母细胞瘤增殖和克隆形成,并伴有NLK表达下降和N-myc表达增加;而低表达miR-221则可抑制神经母细胞瘤细胞增殖和克隆形成,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例增加,抑制G<sub>1</sub>/S期转换,并伴有NLK和N-myc蛋白表达下降。Li等<sup>[22]</sup>研究证实miR-222可靶向抑制p27的表达,高表达miR-222可使p27的表达水平降低,导致侵袭性低的Capan-1细胞增殖、迁移和侵袭能力增强,促进细胞周期G<sub>1</sub>/S期转换和荷瘤小鼠肿瘤生长;而低表达miR-222可使高侵袭性的Hs766T-L3细胞增殖、迁移和侵袭能力减弱,伴p27表达水平增加。真核翻译起始因子5A2(eukaryotic translation initiation factor 5A2, EIF5A2)是蛋白质翻译过程中的重要组成部分,调控细胞的生长、增殖和凋亡。研究证实,miR-221-3p转录后抑制EIF5A2的表达。过表达miR-221可抑制髓母细胞的增殖,促进细胞周期G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期阻滞和细胞凋亡,而miR-221抑制剂则促进MB细胞的增殖,促进G<sub>1</sub>/S期转换并抑制细胞凋亡<sup>[39]</sup>。

众所周知,PI3K/Akt/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是调节细胞周期的重要细胞内信号通路,与细胞的增殖密切相关。肝细胞生长因子(hepatocyte growth

factor, HGF)激活物抑制因子1型(HGF activator inhibitor type 1, HAI-1)通过抑制HGF激活物进而抑制HGF诱导的激活效应。细胞因子信号转导抑制蛋白3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)是一类由细胞产生并反馈性阻断细胞因子信号转导的负调节因子。Ning等<sup>[9]</sup>研究发现,miR-221/222靶向抑制HAI-1蛋白的表达,外源性高表达miR-221和(或)miR-222可降低HAI-1蛋白的表达,增加HGFA和HGF蛋白表达,促进胃癌细胞的增殖和迁移;而外源性低表达miR-221和(或)miR-222抑制胃癌细胞的增殖和迁移。在肝癌组织中miR-221高表达,而SOCS3低表达<sup>[8]</sup>。miR-221可靶向抑制SOCS3,外源性高表达miR-221可增加细胞活力,促进细胞侵袭和迁移并抑制细胞凋亡;miR-221抑制剂可抑制细胞增殖、侵袭和迁移,并抑制JAK-STAT3信号通路的表达。PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)和DNA损伤诱导转录因子4(DNA damage-inducible transcript 4, DDIT4)均可促进结节性脑硬化复合物1/2(tuberous sclerosis complex 1/2, TSC1/2)的形成,进而抑制mTOR通路的激活。磷脂酰肌醇-3激酶调节亚基1(phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1, PIK3R1)是I类PI3K的调节亚基,编码p85 $\alpha$ 蛋白,p85 $\alpha$ 可增强PTEN脂质磷酸酶活性从而抑制肿瘤发展。多项研究证实miR-221/222可直接抑制PTEN的表达。外源性高表达miR-221/222可使PTEN蛋白表达下降,pAkt表达增加,并促进膀胱癌和结肠癌细胞克隆形成及肿瘤细胞增殖,降低肿瘤细胞对X线的敏感性;外源性低表达miR-221则结果相反<sup>[27,36]</sup>。研究证实miR-221可靶向抑制PIK3R1表达<sup>[40]</sup>,外源性高表达miR-221可促进乳腺癌MCF7细胞增殖,伴有PI3K和AKT的磷酸化程度和蛋白表达增加;而miR-221抑制剂可抑制MCF-7细胞增殖,促进细胞凋亡,伴有PI3K和AKT的磷酸化程度和蛋白表达减少,增强化疗药阿霉素对荷瘤小鼠肿瘤形成的抑制作用。Pineau等<sup>[41]</sup>研究发现,miR-221可转录后抑制DDIT4的表达,外源性低表达miR-221可使高表达miR-221的肝癌Malhavu细胞活力受抑制,并伴DDIT4的表达增加。叉头框蛋白O3(forkhead box protein O3, FOXO3)是FOX转录因子家族的成员,可被Akt磷酸化,进而影响细胞的增殖、分化和凋亡。miR-221/222直接靶向抑制FOXO3的表达<sup>[34]</sup>,外源性高表达miR-221/222可使FOXO3和P27的表达下降,促进乳腺癌MCF7细胞G<sub>1</sub>/S期转变及细胞增

殖。PDLIM2 (PDZ and LIM domain 2)是一种核泛素E3连接酶,可促进转录因子NF- $\kappa$ B RelA亚基和STAT3的降解,含HECT域蛋白2 (HECT domain-containing protein 2, HECTD2)是一个含有泛素E3连接酶的HECT结构域;而RAS癌基因家族成员RAB1A是一种小三磷酸鸟苷(GTP)酶,也是mTOR复合体1的激活因子。miR-221/222靶向抑制PDLIM2的表达,外源性低表达miR-221/222可在体内抑制结肠癌细胞的增殖<sup>[32]</sup>。Sun等<sup>[42]</sup>研究证实,miR-221转录后抑制HECTD2和RAB1A的表达,外源性高表达miR-221可促进雄激素非依赖性前列腺癌细胞的生长和G<sub>1</sub>/S期转换,并伴有Cdk1、cyclin B1等多种蛋白表达的增加。

ARHI (aplasia ras homologue member I)是一种母系印记的肿瘤抑制基因。miR-221不但可靶向抑制长链非编码RNA生长阻滞特异性转录因子5 (growth arrest-special transcript 5, GAS5)的表达,而且还可转录后抑制ARHI的表达<sup>[43]</sup>。外源性高表达miR-221可抑制骨肉瘤细胞ARHI的表达,促进肿瘤细胞增殖,并伴有cyclin D1、Ki-67和PCNA的表达增加。

### 2.3.2 促进肿瘤细胞分化

干细胞因子受体c-kit属于III型酪氨酸激酶受体家族中的成员,参与造血干细胞增殖、分化的调控。Lee等<sup>[44]</sup>研究发现,干细胞因子(stem cell factor, SCF)可促进c-kit阳性的人多能造血干细胞向造血祖细胞(CD34<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>)和成熟的造血细胞(CD34<sup>-</sup>CD45<sup>+</sup>细胞)分化。外源性敲除miR-221和(或)miR-222可促进c-kit的表达,并促进人多能干细胞分化。AC133<sup>+</sup>骨髓造血干细胞在向粒细胞/巨噬细胞分化过程中伴有miR-221/222表达的升高<sup>[4]</sup>。Felli等<sup>[45]</sup>研究发现,脐带血CD34<sup>+</sup>造血前体细胞向成熟红细胞分化成熟过程中miR-221/222表达下降,进一步实验证实miR-221/222靶向抑制c-kit表达。外源性高表达miR-221/222可明显抑制TF-1红系白血病细胞的增殖,促进TF-1细胞向晚幼红细胞分化。

利用神经生长因子(nerve growth factor, NGF)促进大鼠嗜铬细胞瘤PC12细胞分化的研究发现,miR-221可直接抑制FOXO3蛋白的表达<sup>[46]</sup>。高表达miR-221可促进PC12细胞的分化,并伴有突触形成标记物突触蛋白I的表达增加,还可增强小剂量NGF诱导的PC12细胞分化,同时伴FOXO3和肿瘤细胞凋亡酶激活因子-1 (apoptotic protease activating factor-1, APAF-1)表达的降低,而低表达miR-221则

抑制PC12细胞的分化。

### 2.3.3 调控肿瘤细胞凋亡和自噬

细胞凋亡是由基因调控的细胞自主有序死亡,又称I型程序性细胞死亡。天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(cysteine-containing aspartate-specific proteases, caspase)是一组存在于细胞质中的具有半胱氨酸残基结构的蛋白酶,能够选择性地切割某些蛋白质,引起细胞凋亡。其中,caspase-1/8/9/10可切割蛋白质启动细胞凋亡,而caspase-3/6/7是细胞凋亡的执行人。Bcl-2家族蛋白是重要的细胞凋亡调节因子,Bcl-2等具有抑制细胞凋亡作用,而Bmf、BIM、PUMA/BBC3、Bax、Bak等具有促细胞凋亡作用。APAF-1可通过募集caspase-9形成凋亡体,激活caspase-3,启动caspase级联反应,从而在线粒体介导的细胞凋亡中发挥重要作用。高园园等<sup>[47]</sup>研究发现,外源性高表达miR-221可使吉非替尼对肺癌pc-9细胞的半数抑制浓度明显增加,肿瘤细胞凋亡率下降,APAF-1 mRNA和蛋白表达显著降低。其研究还发现miR-221可靶向抑制APAF-1的表达,外源性高表达miR-221可使吉非替尼处理后的pc-9细胞APAF-1和剪切的caspase-3蛋白水平下降,提示miR-221可能通过下调APAF-1的表达进而诱导pc-9细胞对吉非替尼的耐药。Fornari等<sup>[48]</sup>通过二乙基硝胺(DEN)诱导大鼠肝癌动物模型和荷人肝癌Huh7细胞瘤小鼠模型研究发现,肿瘤组织中miR-221的高表达与索拉非尼耐药密切相关。外源性高表达miR-221抑制索拉非尼诱导的肝癌细胞凋亡,使肿瘤细胞活力增强并伴有caspase-3/7活力及剪切的caspase-3水平下降;而外源性低表达miR-221则产生相反的作用。随后,其证实miR-221转录后抑制caspase-3表达。外源性高表达miR-221/222可促进前列腺癌LNCaP和PC3细胞增殖,并且可明显抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和放线菌酮(TNF- $\alpha$ /CHX)诱导的肿瘤细胞凋亡,并伴有caspase-3活力和剪切的caspase-3水平下降;而外源性低表达miR-221/222则产生相反的作用<sup>[49]</sup>。荧光素酶实验证实miR-221/222靶向抑制caspase-10,外源性高表达miR-221/222可降低前列腺癌细胞caspase-10的表达,反之亦然。Gramantieri等<sup>[7]</sup>研究证实miR-221靶向抑制Bmf的表达,miR-221抑制剂可促进肝癌SNU449细胞的死亡,伴有Bmf和剪切的caspase-3蛋白表达的增加。miR-221/222还可靶向抑制促凋亡性PUMA/BBC3蛋白的表达。低表达miR-221/222可抑制美法仑耐药的复发性骨髓瘤细胞的增殖,增加其细胞凋亡,伴

有剪切的caspase-8、caspase-9、caspase-3增加和caspase切割底物剪切的聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)的增加<sup>[50]</sup>。此外, miR-221还可靶向抑制BIM的表达。外源性低表达miR-221可上调BIM的表达, 促进DDP诱导乳腺癌MDA-MB-231细胞的凋亡并抑制其增殖<sup>[51]</sup>。

DNA修复蛋白O6-甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶(O6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)是一种DNA修复酶, 主要通过不可逆地将烷化基团从O6-mG转移到MGMT蛋白145位的半胱氨酸残基上从而保护细胞免受烷化剂的损伤。在神经胶质瘤肿瘤组织中, miR-221的表达水平与MGMT呈负相关, 且其表达水平与生存时间密切相关<sup>[52]</sup>。外源性高表达miR-221/222可转录后调控MGMT的表达, 并抑制肿瘤细胞增殖和克隆形成, 促进细胞凋亡, 伴有caspase-3的增加, 导致神经胶质瘤细胞对替莫唑胺的敏感性增加。鼠双微体基因2 (murine doubleminute-2, MDM2)编码核定位E3泛素连接酶, 其可与抑癌基因p53蛋白形成多泛素链使其多泛素化, 易被蛋白酶体识别而被降解, 是p53的负调控因子, 有阻遏野生型p53抑制细胞转化的作用。Fornari等<sup>[25]</sup>研究发现, 高表达miR-221可使肝癌细胞MDM2表达下降而p53表达增加, 诱导肿瘤细胞G<sub>1</sub>期阻滞, 增加肿瘤细胞对阿霉素的敏感性; 而低表达miR-221则可使肝癌细胞MDM2的表达增加而p53表达下降, 使肿瘤细胞对阿霉素的敏感性降低。

细胞自噬又称II型程序性细胞死亡。自噬的诱导受mTOR分子的调控, 自噬标记蛋白Beclin-1与自噬前体结合启动自噬体形成。其中, 自噬相关基因12 (autophagy related gene-12, Atg12)可与Atg10、Atg5结合形成自噬体前体LC3, 进一步与Atg3、Atg7结合使LC3-I被修饰形成LC3-II。LC3-II和Beclin-1是目前常用的自噬标志性蛋白。Xu等<sup>[53]</sup>研究发现, miR-221/222靶向抑制ATG12的表达, miR-221/222类似物可下调ATG12和p27的表达, 抑制肿瘤细胞自噬。地塞米松处理后的肿瘤细胞miR-221/222表达降低, ATG12和p27的表达增加, 并促进Dex敏感的MM细胞的死亡。体内外实验证实miR-221/222抑制剂可促进多发性骨髓瘤细胞自噬及其死亡, 伴ATG12和p27的表达增加。组蛋白去乙酰化酶6 (histone deacetylase 6, HDAC6)是IIB类组蛋白去乙酰化酶家族成员, 主要靶向非组蛋白的去乙酰化酶。Bae等<sup>[29]</sup>研究发现, miR-221靶向抑制

HDAC6的表达, miR-221抑制剂可使HDAC6的表达增加, 微管蛋白 $\alpha$ -Tubulin的乙酰化水平下降, 并可抑制多种肝癌细胞株的增殖, 促进肝癌细胞的凋亡并伴有自噬信号分子Beclin 1和LC3B-II的蛋白水平增加。

#### 2.3.4 调控肿瘤细胞侵袭和转移

上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程, 是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程, 其主要特征包括E-钙黏蛋白(E-cadherin)等上皮表型分子表达减少, 而波形蛋白(Vimentin)和N-钙黏蛋白等间质表型分子表达增加。转录因子SNAIL、TWIST、E盒锌指结合蛋白2 (zinc finger E-box-binding homeobox2, ZEB2)等可促进细胞EMT转化。缝隙连接蛋白Cx43 (connexin 43, Cx43)是一种跨膜蛋白, 是构成缝隙连接的基本结构单位。Hao等<sup>[54]</sup>研究发现, miR-221/222可靶向抑制Cx43蛋白的表达, 外源性低表达miR-221/222可抑制人胶质母细胞瘤U251细胞的增殖和细胞侵袭, 肿瘤细胞出现G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期停滞, 并促进肿瘤细胞凋亡, 伴有Cx43表达的增加。miR-221还可转录后抑制E-cadherin的表达<sup>[12]</sup>, 外源性高表达miR-221可促进乳腺癌MCF-7细胞迁移和侵袭能力; 而外源性低表达miR-221则显著抑制MDA-MB-231细胞迁移和侵袭能力并减少荷瘤小鼠肺转移结节数量, 伴E-cadherin蛋白表达增加。研究表明, GATA样转录因子毛发-鼻-趾综合征基因1 (tricho-rhino-phalangeal syndrome type 1, TRPS1)转录抑制ZEB2基因的表达, 在维持上皮细胞表型和抑制EMT中发挥关键作用。Stinson等<sup>[13]</sup>研究发现, 外源性高表达miR-221/222可促进正常乳腺上皮MCF10A细胞迁移, 伴有E-cadherin的减少和Vimentin的增加; 而外源性低表达miR-221/222则抑制乳腺癌MDA-MB-231细胞的迁移, 伴有E-cadherin的增加和Vimentin的减少。研究还证实TRPS1是miR-221/222的靶基因, 外源性高表达miR-221/222可使MCF10A细胞TRPS1表达下降、ZEB2表达增加, 调控细胞EMT转化使E-cadherin表达减少。

脂联素是脂肪细胞分泌的一种内分泌激素, 其可与脂联素受体1 (adiponectinreceptor 1, AdipoR1)结合, 通过AMP依赖的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK)通路在葡萄糖和脂类的代谢中起重要的作用。高表达

miR-221明显抑制HCC细胞凋亡，HCC细胞的侵袭和迁移能力增加，促进HCC细胞EMT转化<sup>[6]</sup>；而低表达miR-221则作用相反，证实miR-221通过靶向抑制AdipoR1进而影响肿瘤细胞pJAK和pSTAT3的表达，提示miR-221/AdipoR1介导的EMT转化与JAK2/STAT3信号通路有关。

经典Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路参与基因表达、细胞运动和黏附等生理活动。Dickkopf相关蛋白2 (Dickkopf-related protein 2, DKK2)是DKK蛋白家族的成员，属于分泌性糖蛋白，其C端可以通过与LRP6相互作用，抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路。Wnt抑制因子1 (Wnt inhibitory factor 1, WIF1)和分泌型卷曲相关蛋白2 (secreted Frizzled related protein 2, SFRP2)是Wnt拮抗剂，可抑制Wnt与FZD家族受体结合。轴抑制蛋白2 (axis inhibition protein 2, AXIN2)是 $\beta$ -连环蛋白降解复合体中的支架蛋白。Wang等<sup>[55]</sup>研究发现，Barrett食管上皮和食管癌组织经5-FU处理后 $\beta$ -catenin核内表达增加。通过制备5-FU耐药的食管癌细胞研究证实，5-FU耐药的肿瘤细胞中上皮表型标志物E-cadherin表达下降，间质表型标志物Vimentin表达升高，提示食管癌细胞的耐药与EMT转化有关。上调miR-221可明显促进5-FU敏感的食管癌细胞增殖及其体内肿瘤生长；而下调miR-221则可抑制5-FU耐药食管癌细胞增殖、促进其凋亡、抑制其EMT转化，并抑制体内肿瘤的生长。进一步研究发现，miR-221靶向抑制DKK2。外源性高表达miR-221抑制肿瘤细胞DKK2的表达，并伴有Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路分子MYC、CD44、ABCG2和CDH1基因表达的改变；外源性低表达miR-221可促进DKK2的表达，亦出现Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路分子的改变。Liu等<sup>[56]</sup>研究发现，三阴性乳腺癌肿瘤组织中miR-221/222的表达水平与患者的生存呈负相关，而WIF1、DKK2、SFRP2和AXIN2的表达则与患者的生存呈正相关。进一步研究证实miR-221/222可靶向抑制WIF1、SFRP2、DKK2和AXIN2的表达。外源性高表达miR-221/222可促进乳腺癌MCF7细胞的增殖、EMT转化和迁移；而外源性低表达则可抑制三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞的增殖、EMT转化和迁移，并抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长。此外，该研究还发现Wnt3a可对抗他莫昔芬诱导的MDA-MB-231细胞凋亡，但miR-221/222抑制剂可消除Wnt3a的作用，提示miR-221/222抑制剂在克服三阴性乳腺癌的他莫昔芬治疗耐药中发挥重要作用。

胶原蛋白受体盘状结构域受体1 (discoidin domain receptor 1, DDR1)是非整合型胶原受体家族的成员，参与细胞的黏附、增殖和细胞外基质重塑。Jiang等<sup>[57]</sup>研究发现，miR-221-5p靶向抑制DDR1，外源性高表达miR-221-5p抑制胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移；而外源性低表达miR-221-5p的作用相反。细胞外基质蛋白29 (extracellular matrix protein 29, Ecm29)是一种包含几乎全部HEAT重复序列的保守性蛋白，它将26S蛋白酶体与运动蛋白相连接，从而抑制蛋白酶体活性。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)是一类依赖 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 而起作用的酶，在体内主要降解细胞外基质 (ECM)，参与结缔组织的降解和重建、炎症反应和缺血缺氧损伤等。组织金属蛋白酶抑制因子 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMP)可通过抑制MMPs活性减少其对细胞外基质和基底膜的降解。Goto等<sup>[14]</sup>研究发现，miR-221/222可靶向抑制Ecm29的表达，外源性高表达miR-221/222可使Ecm29的表达下降，抑制前列腺癌PC3和DU145细胞的侵袭和迁移，而对肿瘤细胞的增殖无明显影响。Xu等<sup>[58]</sup>研究发现，miR-221/222靶向抑制TIMP-2的表达，外源性高表达miR-221/222可促进胰腺癌细胞增殖、G<sub>1</sub>/S期转换和侵袭，抑制细胞凋亡，并使MMP-2和MMP-9的表达增加，TIMP-2的表达减少。外源性低表达miR-221/222可抑制胰腺癌细胞增殖、G<sub>1</sub>/S期转换和侵袭，促进细胞凋亡，并使TIMP-2的表达减少。miR-222抑制剂可抑制MG-63和U-2OS骨肉瘤细胞增殖、克隆形成以及肿瘤细胞的迁移和侵袭，抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长，并伴有肿瘤组织和细胞TIMP-3表达的增加<sup>[15]</sup>；进一步研究证实miR-222靶向抑制TIMP-3的表达。Kazal基序逆向诱导富含半胱氨酸蛋白 (reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs, RECK)是一种抑癌基因，其作为一种MMPs抑制剂可在转录后水平抑制MMP-2、9、14等的活性，进而抑制肿瘤的侵袭和转移。在结直肠癌肿瘤组织中，miR-221和RECK的表达水平呈负相关，miR-221靶向抑制RECK<sup>[59]</sup>，外源性高表达miR-221可抑制肿瘤细胞RECK的表达，促进结直肠癌细胞迁移、侵袭和体内转移，外源性低表达miR-221则产生相反的作用。

血管生成抑制蛋白 (vasohibin-1, VASH1)是一种由VEGF诱导的内皮细胞分泌蛋白，以负反馈的方式抑制血管、淋巴管的生成以及淋巴结的转移。外

源性高表达miR-221的正常宫颈Ect1细胞外泌体可促进人淋巴管内皮细胞(human lymphatic endothelial cells, HLECs)细胞迁移和淋巴管生成, 促进荷瘤小鼠肿瘤生长及其转移<sup>[19]</sup>; 而外源性低表达miR-221的宫颈癌Siha细胞外泌体可抑制HLECs的迁移和淋巴管生成, 抑制荷瘤小鼠肿瘤生长及其转移。进一步研究证实miR-221靶向抑制VASH1的表达。众所周知, 血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可与血管内皮生长因子受体2(VEGFR-2)结合, 促进血管内皮细胞增殖, 调节毛细血管的通透性。Krebs等<sup>[60]</sup>证实VEGFR2是miR-221的靶基因, 提示miR-221可能通过VEGFR2与转移性前列腺癌的发生发展有关。

血小板反应蛋白2 (thrombospondin 2, THBS2)属于多功能细胞间质糖蛋白, 具有与凝血酶、纤维蛋白原、纤维连结素、肝磷脂等多种物质结合的位点, 目前研究认为其主要通过抑制内皮细胞的迁移、促进凋亡、激活转化生长因子-β (TGF-β)、抑制新生肿瘤血管的生成, 进而抑制肿瘤的生长。Wei等<sup>[31]</sup>研究发现, miR-221靶向抑制THBS2的表达, 外源性高表达miR-221可明显抑制宫颈癌细胞THBS2的表达, 并伴有波形蛋白和N-钙黏蛋白的表

达增加和E-钙黏蛋白的表达降低, 肿瘤细胞的侵袭和迁移能力增强。而外源性低表达miR-221-3p可明显促进THBS2的表达, 并伴有间叶表型标志物的表达降低和上皮表型标志物的表达增加, 肿瘤细胞的侵袭和迁移能力减弱。动物体内研究发现, 裸鼠爪垫接种外源性高表达miR-221的肿瘤细胞后, 腹股沟和腭窝淋巴结转移的发生比例明显多于对照小鼠, 提示肿瘤细胞内miR-221的高表达可促进宫颈癌细胞的淋巴结转移。

### 3 展望

miR-221/222作为癌基因, 被称为“oncomirs”, 但目前研究发现其亦有抑癌基因的作用<sup>[14]</sup>。它们通过影响靶基因在肿瘤细胞增殖、分化、凋亡和侵袭转移中起到了重要的作用(图1)。miR-221/222在体内的差异表达有望成为肿瘤标志物用于恶性肿瘤的诊断和预后评价。明确miR-221/222在肿瘤中的作用机制可能为肿瘤治疗提供新的靶点。目前已经制备出多种miR-221/222的抑制剂, 包括lncRNA GAS5<sup>[43]</sup>、miR-221反义锁核酸<sup>[50]</sup>等, 并将其通过不同的转染手段转染细胞或与靶向药物、化疗药物联合应用, 为恶性肿瘤的临床治疗提供了新方向。

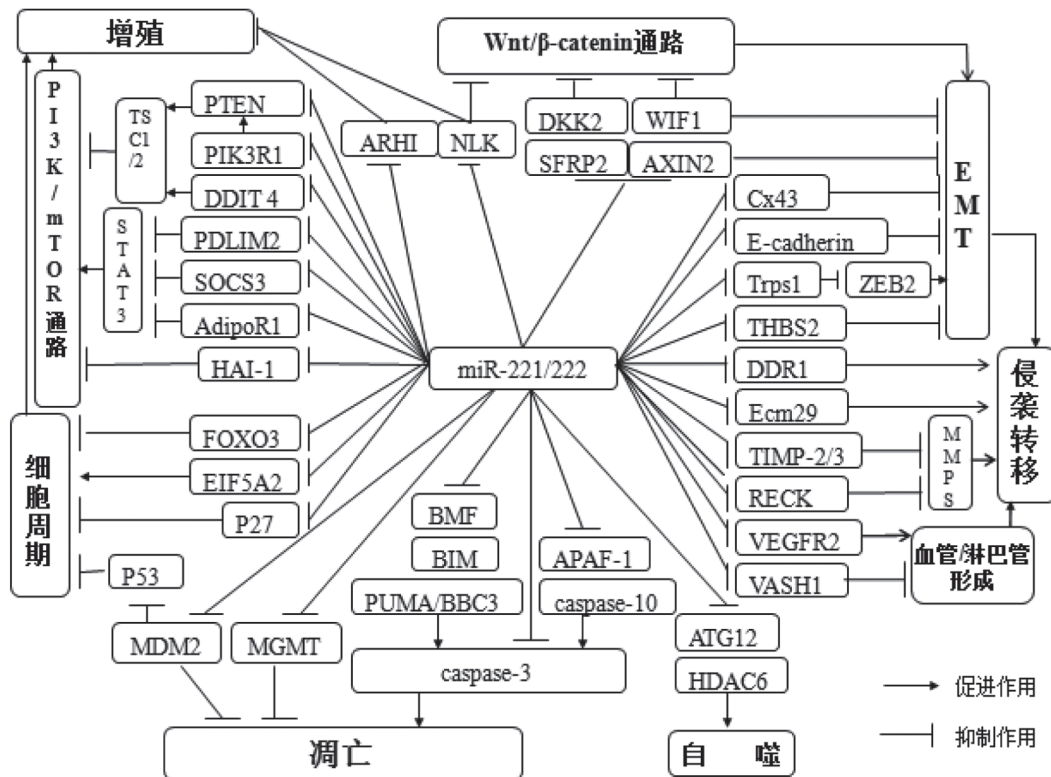


图1 miR-221/222及其靶基因在肿瘤治疗中的作用



## [参 考 文 献]

- [1] Song J, Ouyang Y, Che J, et al. Potential value of miR-221/222 as diagnostic, prognostic, and therapeutic biomarkers for diseases. *Front Immunol*, 2017, 8: 56
- [2] Kuehbacher A, Urbich C, Zeiher AM, et al. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res*, 2007, 101: 59-68
- [3] Liu CG, Calin GA, Meloon B, et al. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 9740-4
- [4] Rommer A, Steinleitner K, Hackl H, et al. Overexpression of primary microRNA 221/222 in acute myeloid leukemia. *BMC Cancer*, 2013, 13: 364
- [5] Brioschi M, Fischer J, Cairoli R, et al. Down-regulation of microRNAs 222/221 in acute myelogenous leukemia with deranged core-binding factor subunits. *Neoplasia*, 2010, 12: 866-76
- [6] Li T, Li M, Hu S, et al. MiR-221 mediates the epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma by targeting AdipoR1. *Int J Biol Macromol*, 2017, 103: 1054-61
- [7] Gramantieri L, Fornari F, Ferracin M, et al. MicroRNA-221 targets Bmf in hepatocellular carcinoma and correlates with tumor multifocality. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 5073-81
- [8] Huang S, Zhou D, Li YX, et al. *In vivo* and *in vitro* effects of microRNA-221 on hepatocellular carcinoma development and progression through the JAK-STAT3 signaling pathway by targeting SOCS3. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 3500-14
- [9] Ning T, Zhang H, Wang X, et al. miR-221 and miR-222 synergistically regulate hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1 to promote cell proliferation and migration in gastric cancer. *Tumour Biol*, 2017, 39: 10104283-17701636
- [10] Tan X, Tang H, Bi J, et al. MicroRNA-222-3p associated with *Helicobacter pylori* targets HIPK2 to promote cell proliferation, invasion, and inhibits apoptosis in gastric cancer. *J Cell Biochem*, 2018, 119: 5153-62
- [11] Ihle MA, Trautmann M, Kuenstlinger H, et al. miRNA-221 and miRNA-222 induce apoptosis via the KIT/AKT signalling pathway in gastrointestinal stromal tumours. *Mol Oncol*, 2015, 9: 1421-33
- [12] Pan Y, Li J, Zhang Y, et al. Slug-upregulate miR-221 promotes breast cancer progression through suppressing E-cadherin expression. *Sci Rep*, 2016, 6: 25798
- [13] Stinson S, Lackner MR, Adai AT, et al. TRPS1 targeting by miR-221/222 promotes the epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer. *Sci Signal*, 2011, 4: ra41
- [14] Goto Y, Kojima S, Nishikawa R, et al. MicroRNA expression signature of castration-resistant prostate cancer: the microRNA-221/222 cluster functions as a tumour suppressor and disease progression marker. *Br J Cancer*, 2015, 113: 1055-65
- [15] Guo J, Liu Q, Li Z, et al. miR-222-3p promotes osteosarcoma cell migration and invasion through targeting TIMP3. *Oncotargets Ther*, 2018, 11: 8643-53
- [16] Zhang Y, Zhao Y, Sun S, et al. Overexpression of MicroRNA-221 is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer patients. *Tumour Biol*, 2016, 37: 10155-60
- [17] Zhang R, Pang B, Xin T, et al. Plasma miR-221/222 family as novel descriptive and prognostic biomarkers for glioma. *Mol Neurobiol*, 2016, 53: 1452-60
- [18] Chernyy V, Pustyl'nyak V, Kozlov V, et al. Increased expression of miR-155 and miR-222 is associated with lymph node positive status. *J Cancer*, 2018, 9: 135-40
- [19] Zhou CF, Ma J, Huang L, et al. Cervical squamous cell carcinoma-secreted exosomal miR-221-3p promotes lymphangiogenesis and lymphatic metastasis by targeting VASH1. *Oncogene*, 2019, 38: 1256-68
- [20] Kondrotienė A, Daukša A, Pamedytė D, et al. Plasma-derived miRNA-222 as a candidate marker for papillary thyroid cancer. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 6445
- [21] Fu Z, Qian F, Yang X, et al. Circulating miR-222 in plasma and its potential diagnostic and prognostic value in gastric cancer. *Med Oncol*, 2014, 31: 164
- [22] Li Z, Tao Y, Wang X, et al. Tumor-secreted exosomal miR-222 promotes tumor progression via regulating P27 expression and re-localization in pancreatic cancer. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51: 610-29
- [23] Shaker O, Alhelf M, Morcos G, et al. miRNA-101-1 and miRNA-221 expressions and their polymorphisms as biomarkers for early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Infect Genet Evol*, 2017, 51: 173-81
- [24] Li F. Expression of miR-221 and miR-489 in breast cancer patients and their relationship with prognosis. *Oncol Lett*, 2020, 19: 1523-9
- [25] Fornari F, Milazzo M, Galassi M, et al. p53/mdm2 feedback loop sustains miR-221 expression and dictates the response to anticancer treatments in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Res*, 2014, 12: 203-16
- [26] Lewis KA, Jordan HR, Tollefsbol TO. Effects of SAHA and EGCG on growth potentiation of triple-negative breast cancer cells. *Cancers (Basel)*, 2018, 11: E23
- [27] Han J, Wang JZ, Yang X, et al. METTL3 promote tumor proliferation of bladder cancer by accelerating pri-miR221/222 maturation in m<sup>6</sup>A-dependent manner. *Mol Cancer*, 2019, 18: 110
- [28] Ravegnini G, Serrano C, Simeon V, et al. The rs17084733 variant in the KIT3' UTR disrupts a miR-221/222 binding site in gastrointestinal stromal tumour: a sponge-like mechanism conferring disease susceptibility. *Epigenetics*, 2019, 14: 545-57
- [29] Bae HJ, Jung KH, Eun JW, et al. MicroRNA-221 governs tumor suppressor HDAC6 to potentiate malignant progression of liver cancer. *J Hepatol*, 2015, 63: 408-19
- [30] Lambertini E, Lolli A, Vezzali F, et al. Correlation between Slug transcription factor and miR-221 in MDA-MB-231 breast cancer cells. *BMC Cancer*, 2012, 12: 445
- [31] Wei WF, Zhou CF, Wu XG, et al. MicroRNA-221-3p, a TWIST2 target, promotes cervical cancer metastasis by directly targeting THBS2. *Cell Death Dis*, 2017, 8: 3220

- [32] Liu S, Sun X, Wang M, et al. A microRNA221- and 222-mediated feedback loop maintains constitutive activation of NF $\kappa$ B and STAT3 in colorectal cancer cells. *Gastroenterology*, 2014, 147: 847-59
- [33] Gui B, Hsieh CL, Kantoff PW, et al. Androgen receptor-mediated downregulation of microRNA-221 and -222 in castration-resistant prostate cancer. *PLoS One*, 2017, 12: e0184166
- [34] Di Leva G, Gasparini P, Piovan C, et al. MicroRNA cluster 221-222 and estrogen receptor  $\alpha$  interactions in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102: 706-21
- [35] Pichiorri F, Palmieri D, De Luca L, et al. *In vivo* NCL targeting affects breast cancer aggressiveness through miRNA regulation. *J Exp Med*, 2013, 210: 951-68
- [36] Xue Q, Sun K, Deng HJ, et al. Anti-miRNA-221 sensitizes human colorectal carcinoma cells to radiation by upregulating PTEN. *World J Gastroenterol*, 2013, 19: 9307-17
- [37] Chen Y, Zaman MS, Deng G, et al. MicroRNAs221/222 and genistein-mediated regulation of ARHI tumor suppressor gene in prostate cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2011, 4: 76-86
- [38] He XY, Tan ZL, Mou Q, et al. microRNA-221 enhances MYCN via targeting nemo-like kinase and functions as an oncogene related to poor prognosis in neuroblastoma. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 2905-18
- [39] Yang Y, Cui H, Wang X. Downregulation of EIF5A2 by miR-221-3p inhibits cell proliferation, promotes cell cycle arrest and apoptosis in medulloblastoma cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2019, 83: 400-8
- [40] Pan X, Hong X, Lai J, et al. Exosomal microRNA-221-3p confers adriamycin resistance in breast cancer cells by targeting PIK3R1. *Front Oncol*, 2020, 10: 441
- [41] Pineau P, Volinia S, McJunkin K, et al. miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 264-9
- [42] Sun T, Wang X, He HH, et al. MiR-221 promotes the development of androgen independence in prostate cancer cells via downregulation of HECTD2 and RAB1A. *Oncogene*, 2014, 33: 2790-800
- [43] Ye K, Wang S, Zhang H, et al. Long noncoding RNAGAS5 suppresses cell growth and epithelial-mesenchymal transition in osteosarcoma by regulating the miR-221/ARHI pathway. *J Cell Biochem*, 2017, 118: 4772-81
- [44] Lee JY, Kim M, Heo HR, et al. Inhibition of microRNA-221 and 222 enhances hematopoietic differentiation from human pluripotent stem cells via KIT upregulation. *Mol Cells*, 2018, 41: 971-8
- [45] Felli N, Fontana L, Pelosi E, et al. MicroRNAs221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 18081-6
- [46] Hamada N, Fujita Y, Kojima T, et al. MicroRNA expression profiling of NGF-treated PC12 cells revealed a critical role for miR-221 in neuronal differentiation. *Neurochem Int*, 2012, 60: 743-50
- [47] 高园园, 康小红, 王颖, 等. 微RNA-221诱导PC-9肺癌细胞对吉非替尼的耐药机制. *中华医学杂志*, 2018, 98: 3447-52
- [48] Fornari F, Pollutri D, Patrizi C, et al. In hepatocellular carcinoma miR-221 modulates sorafenib resistance through inhibition of caspase-3-mediated apoptosis. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 3953-65
- [49] Wang L, Liu C, Li C, et al. Effects of microRNA-221/222 on cell proliferation and apoptosis in prostate cancer cells. *Gene*, 2015, 572: 252-8
- [50] Gullà A, Di Martino MT, Gallo Cantafo ME, et al. A 13 mer LNA-i-miR-221 inhibitor restores drug sensitivity in melphalan-refractory multiple myeloma cells. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 1222-33
- [51] Ye Z, Hao R, Cai Y, et al. Knockdown of miR-221 promotes the cisplatin- inducing apoptosis by targeting the BIM-Bax/Bak axis in breast cancer. *Tumour Biol*, 2016, 37: 4509-15
- [52] Quintavalle C, Mangani D, Roscigno G, et al. miR-221/222 target the DNA methyltransferase MGMT in glioma cells. *PLoS One*, 2013, 8: e74466
- [53] Xu J, Su Y, Xu A, et al. miR-221/222-mediated inhibition of autophagy promotes dexamethasone resistance in multiple myeloma. *Mol Ther*, 2019, 27: 559-70
- [54] Hao J, Zhang C, Zhang A, et al. miR-221/222 is the regulator of Cx43 expression in human glioblastoma cells. *Oncol Rep*, 2012, 27: 1504-10
- [55] Wang Y, Zhao Y, Herbst A, et al. miR-221 mediates chemoresistance of esophageal adenocarcinoma by direct targeting of DKK2 expression. *Ann Surg*, 2016, 264: 804-14
- [56] Liu S, Wang Z, Liu Z, et al. miR-221/222 activate the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling to promote triple-negative breast cancer. *J Mol Cell Biol*, 2018, 10: 302-15
- [57] Jiang X, Jiang M, Guo S, et al. Promotion of miR-221-5p on the sensitivity of gastric cancer cells to cisplatin and its effects on cell proliferation and apoptosis by regulating DDR1. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 2333-45
- [58] Xu Q, Li P, Chen X, et al. miR-221/222 induces pancreatic cancer progression through the regulation of matrix metalloproteinases. *Oncotarget*, 2015, 6: 14153-64
- [59] Qin J, Luo M. MicroRNA-221 promotes colorectal cancer cell invasion and metastasis by targeting RECK. *FEBS Lett*, 2014, 588: 99-104
- [60] Krebs M, Solimando AG, Kalogirou C, et al. miR-221-3p regulates VEGFR2 expression in high-risk prostate cancer and represents an escape mechanism from sunitinib *in vitro*. *J Clin Med*, 2020, 9: 670