

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.004

MicroRNA-203 在人食管鳞癌组织和细胞中的表达及其基因的甲基化状态

梁佳¹,董稚明¹,李宏²,韩立杰³,郭艳丽¹,沈素朋¹,郭炜¹(1. 河北医科大学第四医院 河北省肿瘤研究所 病理研究室,河北 石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院 检验科,河北 石家庄 050011; 3. 河北省沧州市中心医院 放疗科,河北 沧州 061001)

[摘要] **目的:**检测人食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织及细胞中 MicroRNA-203(miR-203)的表达及其基因的甲基化状态,探讨 miR-203 在 ESCC 发生及发展中的作用。**方法:**选取河北医科大学第四医院 2008—2011 年间手术切除的 83 例 ESCC 原发灶组织及癌旁组织标本,实时定量 PCR 与甲基化特异性 PCR(methylation specific PCR, MSP)分别检测其 miR-203 的表达及其编码基因的甲基化状态。用 DNA 甲基化转移酶抑制剂 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-dC)处理食管癌细胞系(TE1、TE13、YES-2、EC109、T. TN),实时定量 PCR 与 MSP 分别检测 5-Aza-dC 处理对食管癌细胞中 miR-203 的表达及其基因甲基化状态的影响。**结果:**五种食管癌细胞中 miR-203 的表达均相对较低,且呈高甲基化状态。5-Aza-dC 处理后,miR-203 的表达均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);YES-2 细胞中 miR-203 编码基因的甲基化程度显著降低,其余 4 种细胞均转变为非甲基化状态。miR-203 在 ESCC 组织中的表达显著低于癌旁组织(0.54 ± 0.11 vs 1.00 ± 0.01 , $P < 0.01$),启动子区甲基化率显著高于癌旁组织[62.65% ($52/83$) vs 7.23% ($6/83$), $P < 0.01$],并且两者均与 TNM 分期和组织分化程度有关($P < 0.05$)。发生 miR-203 编码基因甲基化的 ESCC 组织中 miR-203 的表达显著低于未发生甲基化的 ESCC 组织($P < 0.05$)。**结论:**miR-203 在 ESCC 组织与细胞中呈低表达,与食管鳞癌的发生、发展有关,且其启动子区甲基化可能是导致其表达沉默的机制之一。

[关键词] 食管鳞癌;微小 RNA-203;DNA 甲基化;表达

[中图分类号] R735.1; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)04-0376-07

Expression and methylation status of microRNA-203 gene in tissues and cells of esophageal squamous cell carcinoma

Liang Jia¹, Dong Zhiming¹, Li Hong², Han Lijie³, Guo Yanli¹, Shen Supeng¹, Guo Wei¹(1. Pathology Laboratory, Cancer Institute of Hebei Province, Hebei Medical University-Affiliated Fourth Hospital, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Clinical Laboratory, Hebei Medical University-Affiliated Fourth Hospital, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 3. Department of Radiation Oncology, Central Hospital of Cangzhou City, Cangzhou 061001, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression, methylation status and functional role of miR-203 in pathogenesis of ESCC. **Methods:** Eighty-three patients diagnosed with ESCC in Hebei Medical University-Affiliated Fourth Hospital between 2008 and 2011 were recruited. Biopsy specimens were collected from primary tumors and the corresponding adjacent tissues. Quantitative real-time RT-PCR (qRT-PCR) and methylation specific PCR (MSP) were used to respectively detect the mRNA abundance and methylation status of miR-203 gene in the collected specimens. Five esophageal cancer cell lines (TE1, TE13, T. TN, Yes-2, and EC109) were treated with DNA methyltransferase inhibitor 5-Aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC) Levels of CpG methylation of the miR-203 gene and miR-203 were assessed by qRT-PCR and MSP, respectively, 72 h after 5-Aza-dC treatment. **Results:** Relatively low levels of miR-203 mRNA and hypermethylation were detected in all the five untreated esophageal cancer cell lines. After 5-Aza-dC treatment, miR-203 mRNA was increased in

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81101854),河北省医学研究重大专项基金资助项目(No. [2012]2056)。Project supported by the National Natural Science Foundation(No. 81101854), and the Major Projects of Medical Research Foundation of Hebei Province(No. [2012]2056)

[作者简介] 梁佳(1987-),女,硕士生,河北省鹿泉市,主要从事肿瘤分子病因学的研究,E-mail:liangjia603@163.com

[通信作者] 郭炜(Guo Wei, corresponding author),E-mail:guowei7303@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.004.html>

all five cell lines studied and the methylation level of miR-203 was decreased in YES-2 cells and complete miR-203 un-methylation occurred in TE1, TE13, T. TN, and EC109 cells. The abundance of miR-203 mRNA was significantly lower (0.54 ± 0.11 vs 1.00 ± 0.01 , $P < 0.05$) and the methylation frequency of miR-203 promoter was significantly higher (62.65% vs 7.23% , $P < 0.05$) in ESCC tissues than in corresponding tissues. Both miR-203 mRNA abundance and methylation frequency were all correlated with TNM stage and pathological differentiation ($P < 0.05$). The expression of miR-203 in ESCC with miR-203 methylation was significantly lower than that in ESCC without miR-203 methylation ($P < 0.05$). **Conclusion:** Aberrantly low expression of miR-203 is closely related to the development and progression of ESCC and promoter DNA methylation is one of the possible mechanisms underlying miR-203 inactivation in ESCC.

[**Key words**] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); microRNA-203; DNA methylation; expression

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(4): 376-382]

MicroRNA-203(miR-203)的编码基因定位于人染色体 14q32,这个区域也是染色体上的不稳定区域,拥有约 12% 已发现 miRNA 的基因。研究^[1-2]发现,miR-203 是角质形成细胞源性的 miRNA,与复层上皮组织分化密切相关。miR-203 与肿瘤的发生及发展也密切相关,其在血液系统肿瘤^[3]、肝癌^[4]、膀胱癌^[5]、子宫内膜癌^[6]、宫颈癌^[7]和喉癌^[8]中均表达下调,并且其表达异常可能与其启动子区的异常甲基化相关。但 miR-203 在人食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中的表达及其基因的甲基化状态研究较少。本研究检测 miR-203 在 ESCC 组织和细胞中的表达及其基因的甲基化状态,并结合临床资料探讨其与肿瘤分化、淋巴结转移的关系,为确定 miR-203 在 ESCC 发生及发展中的作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

蛋白酶 K 购自 Merck 公司,亚硫酸氢钠、氢醌和 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-dC)均购自 Sigma 公司,TRIzol 购自 Invitrogen 公司,甲基化酶购自 NEB 公司,RPMI 1640 培养基购自美国 Gibco 公司。Wizard DNA 纯化试剂盒购自 Promega 公司,逆转录试剂盒购自 Invitrogen 公司。所有引物均由北京赛百盛公司合成。

1.2 食管癌细胞系的培养与 5-Aza-dC 处理

食管癌细胞系 TE1、TE13、Yes-2、EC109、T. TN 由本室保留并传代,用含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素、8% NaHCO₃ 的 RPMI 1640 培养液,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养。同时应用 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-Aza-dC(浓度 10 μ mol/L)作用于 TE1、TE13、Yes-2、EC109、T. TN 细胞系,每 24 h 更换液体一次,培养 2 d。第 3 天换成全血清培养基培养 24 h 后收集细胞。

1.3 研究对象和标本来源

研究对象均来自河北医科大学第四医院 2008—2011 年间收治的 ESCC 手术患者,共 83 例。其中男性 61 例,女性 22 例,年龄 37~74 岁,中位年龄 60 岁。均于术中取每例患者 ESCC 原发灶组织及癌旁组织(距癌灶边缘 3~5 cm)标本,全部患者术前均未经放、化疗。手术切除标本一部分在新鲜状态下放入液氮冷藏,后转到 -80 $^{\circ}$ C 低温冰箱保存,用以提取 RNA 进行实时定量 PCR 和甲基化特异性 PCR(methylmion specific PCR, MSP)检测;另一部分标本用 10% 中性甲醛溶液固定,常规制作蜡块保存。按照国际抗癌联盟(UICC)标准进行 TNM 分期:83 例肿瘤患者中 I 期 3 例(3.62%)、II 期 63 例(75.90%)、III 期 16 例(19.28%)、IV 期 1 例(1.20%)。按照 WHO 肿瘤的病理学分级:83 例患者中高分化 19 例(22.89%)、中等分化 20 例(24.10%)、低分化 44 例(53.01%)。

1.4 实时定量 PCR 方法检测 miR-203 的表达

首先用 TRIzol 提取 5-Aza-dC 处理前后的 ESCC 细胞及组织中的总 RNA,分光光度计测量 RNA 溶液的光密度(D)值,计算 RNA 浓度和纯度,选取 $D_{260}/D_{280} > 1.8$ 和 $D_{260}/D_{230} > 2.0$ 的 RNA 用于 miRNA 分析,同时观察各 RNA 样品的光谱,并确保所有用于 miRNA 表达谱分析的 RNA 具有正常的光谱分布(不同波长的波峰和波谷是正常的形状)。以 U6 作为内参照,依据 miRNA BASE 提供的 miR-203 序列(5'-GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG-3')和 U6 序列设计其特异性茎环反转录引物,按照反转录试剂盒说明书操作,将 RNA 反转录成 cDNA。以 cDNA 为模板,进行实时定量 PCR 扩增,引物及退火温度见表 1。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min,95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s 共 40 个循环后,72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。在反应达到阈值的循环数被记录为该组织中 miRNA 和 U6 的 CT 值,计

算差异表达的相对水平:

$\Delta CT = [CT(\text{miRNA}) - CT(U6)]$, ΔCT 越大表示表达量越低。 $\Delta\Delta CT = \Delta CT(\text{癌组织/处理前细胞 miRNA}) - \Delta CT(\text{癌旁组织/处理后细胞 miRNA})$,

$\Delta\Delta CT > 0$ 表示癌组织中基因表达量下调, $\Delta\Delta CT < 0$ 则表示表达量上调。以 $N = 2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示癌组织/处理前细胞 miRNA 与癌旁组织/处理后细胞 miRNA 表达水平的相对关系。

表 1 MSP 及 RT-PCR 检测 miR-203 的引物及反应条件
Tab. 1 Primer sequences and reaction conditions of MSP and qRT-PCR for miR-203

Type	Primer sequence	Annealing temperature (t/°C)	Product size (bp)
MSP			
Methylation	F: 5' - GGGTCGTGGAGGATTAGTC -3'	58	166
	R: 5' - AAACGACTAAACTCCGAACG -3'		
Unmethylation	F: 5' - GGGTTGTGGATTAGTT -3'	52	166
	R: 5' - AAACAACATAAACTCCAAACA -3'		
qRT-PCR			
miR-203	RT: 5' -GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACCTAGTGGT-3'	55	
	F: 5' -GTGCAGGGTCCGAGGTATT-3'		
	R: 5' -GCCGCGTGAAATGTTTAGGACCAC-3'		
U6	RT: 5' -AAGCCTTCACGAATTTGCGT-3'	55	
	F: 5' -CTCGCTTCGGCAGCACA-3'		
	R: 5' -AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'		

F: Forward primer; R: Reverse primer; RT: Reverse transcription primer

1.5 MSP 方法检测 miR-203 基因的甲基化状态

应用蛋白酶 K 常规消化、酚/氯仿抽提法提取 5-Aza-dC 处理前后的食管癌细胞系及组织中的 DNA。每个样本中均取 2 μg DNA, 用 2 mol/L NaOH 变性处理, 于 10 mmol/L 氢醌和 3 mol/L 亚硫酸氢钠中 50 °C 反应 12 ~ 16 h, 处理后的 DNA 用 Wizard DNA 纯化试剂进行纯化。运用在线软件 Meth Primer 预测 miR-203 基因启动子区的 CpG 岛情况: miR-203 基因有一个长 739 bp 的 CpG 岛存在, 进而选取其启动子区富含 CpG 岛的部位进行分析(图 1)。用甲基化特异性引物和非甲基化特异性引物进行 PCR 扩增, 其引物序列、退火温度及产物大小见表 1。反应条件为 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 变性 45 s, 72 °C 延伸 50 s, 共 35 个循环后, 72 °C 延伸 7 min。MSP 扩增产物行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 用 UV 凝胶电泳成像及图像分析系统进行图像分析。MSP 阳性对照采用经 Sss I 处理后的基因组 DNA, 阴性对照用灭菌双蒸水取代 DNA 模板。为进行 MSP 检测的质量控制, 随机选取 10% 的标本进行重

复试验。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 13.0 版统计软件分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料的组间比较采用 χ^2 检验, 计量资料采用 *t* 检验, 双侧检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管癌细胞系中 miR-203 的表达及其基因的甲基化状态

实时定量 PCR 检测结果(图 2)显示, 食管癌细胞系 miR-203 的表达相对较低, 应用 5-Aza-dC 处理后表达均显著增高, 其中 TE13 细胞系表达增加最明显[(22.07 ± 0.10) vs (1.00 ± 0.01), $P < 0.01$]。TE1、TE13、Ec109、T. TN 四种细胞系在 5-Aza-dC 处理前表现为 miR-203 基因呈高甲基化状态, 应用 5-Aza-dC 处理后, YES-2 细胞系 miR-203 基因甲基化程度明显降低, 其余四种细胞 miR-203 基因均表现为非甲基化状态(图 3)。

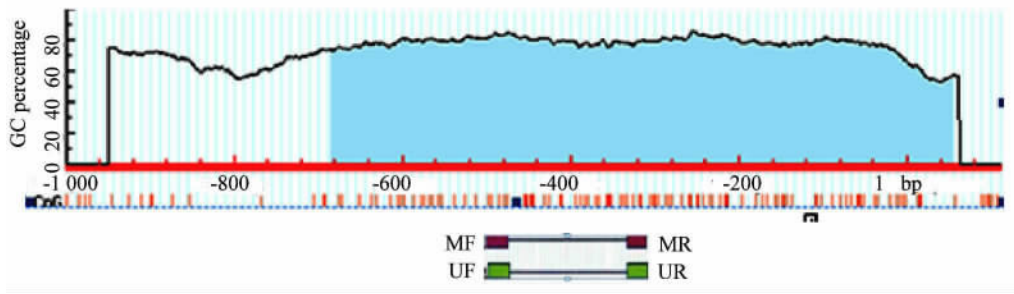


图 1 Meth primer 预测 miR-203 基因中 CpG 岛的分布

Fig. 1 Prediction of miR-203 gene CpG island distribution by Meth primer
Blue region: Position of CpG island (-685 to 53); Red long string: Locus of CpG;
MF: Methylation Primer; UF: Unmethylation Primer

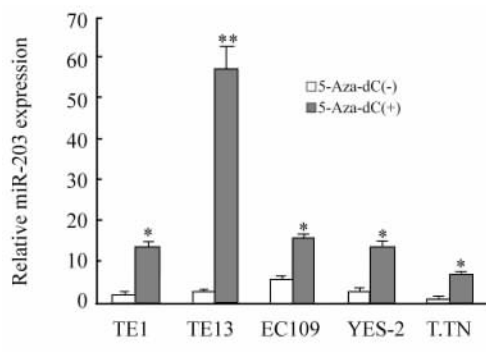


图 2 食管癌细胞系中 miR-203 的表达
Fig. 2 Expression of miR-203 in esophageal cancer cell lines

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 5-Aza-dC(-)

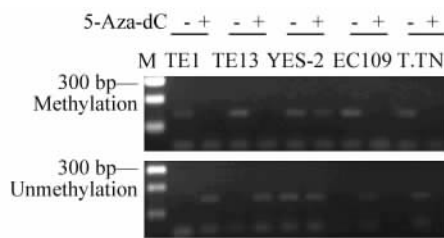


图 3 食管癌细胞系中 miR-203 基因的甲基化状态
Fig. 3 Methylation status of miR-203 gene in esophageal cancer cell lines

M: 100 bp DNA Maker

2.2 ESCC 组织中 miR-203 的表达

在 50 例 ESCC 组织及其癌旁组织中检测了 miR-203 的表达情况,实时定量 PCR 检测结果(图 4)显示,食管癌组织 miR-203 的表达显著低于其对应的癌旁组织(0.54 ± 0.11 vs 1.00 ± 0.01 , $P <$

0.01)。Ⅲ期和Ⅳ期 ESCC 患者癌组织中 miR-203 的表达显著低于 I 期和 II 期患者(0.51 ± 0.07 vs 0.60 ± 0.11 , $P < 0.05$),低分化组 ESCC 患者癌组织中 miR-203 的表达显著低于中高分化组(0.51 ± 0.11 vs 0.59 ± 0.09 , $P < 0.05$)。按照年龄、性别分组进行统计分析,组间 miR-203 的表达差异均不具有统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

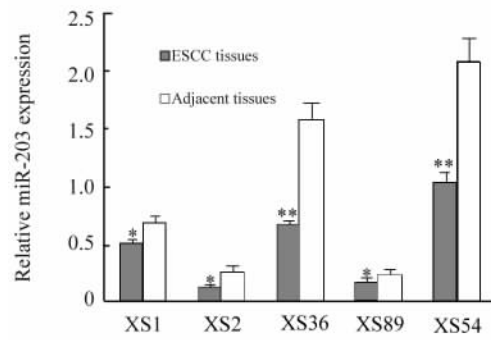


图 4 5 例典型标本 ESCC 组织中 miR-203 低表达
Fig. 4 Low expression of miR-203 in 5 typical ESCC tissue specimens

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Adjacent tissues

2.3 ESCC 组织中 miR-203 基因的甲基化状态

在 83 例 ESCC 组织及 83 例癌旁组织中检测了 miR-203 基因的甲基化状态(图 5)。ESCC 组织中 miR-203 基因启动子区甲基化率显著高于癌旁组织[62.65% ($52/83$) vs 7.23% ($6/83$), $P < 0.01$]。Ⅲ期和Ⅳ期 ESCC 患者癌组织中 miR-203 基因启动子区甲基化率显著高于 I 期和 II 期患者[94.12% ($16/17$) vs 54.55% ($36/66$), $P < 0.01$],低分化组 ESCC 患者癌组织中 miR-203 基因启动子区甲基化

率显著高于中高分化组[75.00% (33/44) vs 48.72% (19/39), $P < 0.05$]。按照年龄、性别分组进行

统计分析,各组 ESCC 中 miR-203 基因启动子区甲基化率均不具有统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

表 2 人 ESCC 组织中 miR-203 的表达和甲基化状态与临床病理特征的关系
Tab. 2 Expression and methylation status of miR-203 in human ESCC tissues and their relationship with clinicopathologic features of ESCC

Feature	Expression of miR-203				Methylation of miR-203 gene			
	<i>N</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>N</i>	<i>n</i> (%)	χ^2	<i>P</i>
Age(<i>t/a</i>)								
≤60	25	0.53 ± 0.12			45	29(64.44)		
> 60	25	0.55 ± 0.11	-0.59	0.56	38	23(60.53)	0.14	0.71
Gender								
Male	36	0.54 ± 0.12			61	39(63.93)		
Female	14	0.56 ± 0.09	-0.63	0.53	22	13(59.09)	0.16	0.68
Differentiation								
Well-moderately	20	0.59 ± 0.09			39	19(48.72)		
Poorly	30	0.51 ± 0.11	-2.87	0.01	44	33(75.00)	6.10	0.01
TNM								
I + II	42	0.60 ± 0.11			66	36(54.55)		
III + IV	8	0.51 ± 0.07	6.25	0.02	17	16(94.12)	9.05	0.003

miR-203 基因启动子区发生甲基化的 ESCC 组织中, miR-203 表达量显著低于未发生甲基化的 ESCC 组织(0.51 ± 0.11 vs 0.62 ± 0.08, $P < 0.05$)。

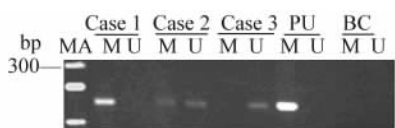


图 5 ESCC 组织中 miR-203 基因的甲基化状态

Fig. 5 Methylation status of miR-203 gene in ESCC tissues

Case1: Methylated; Case2: Hemi-Methylated;
 Case3: Unmethylated; PC: Positive control;
 BC: Blank control; M: Methylated; U: Unmethylated;
 MA: 100 bp DNA marker

3 讨论

食管癌是发生在食管黏膜上皮的恶性肿瘤,是世界第七大恶性肿瘤,在全球恶性肿瘤病死率中排名第六。超过 90% 的食管癌主要是 ESCC 和食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EA),在亚洲主要是

ESCC^[9]。我国亦是世界上食管癌发生率和病死率较高的国家之一,年平均发病率和死亡率分别为 20.14/10 万和 16.7/10 万^[10]。同时,由于食管癌预后极差,中、晚期患者 5 年生存率约为 10%。因此寻找早期食管癌的生物标志物成为现阶段研究食管癌的热点。研究^[11-14]表明,miRNA 可以作为癌基因或抑癌基因,可影响肿瘤的增殖、侵袭和转移、血管生成和细胞凋亡。同时,表观遗传学调控机制尤其是 CpG 岛的异常甲基化,有可能是导致 miRNA 表达改变的重要机制之一^[15]。

miR-203 在不同的恶性肿瘤中表达不同。在一些恶性肿瘤中表达下调,如血液系统肿瘤^[3]、肝细胞癌^[4]、子宫内膜癌^[6]、宫颈癌^[7]等;而在另外一些恶性肿瘤中却表达上调,如结直肠癌^[16]、卵巢癌^[17]和乳腺癌^[18]等。Feber 等^[19]发现, miR-203 在食管腺癌和 ESCC 组织中表达是正常组织的 10% ~ 50%,提示 miR-203 在食管癌中可能具有抑癌基因的功能。Yuan 等^[20]进一步发现,在 TE1、EC109 细胞系中 miR-203 表达很低,而转染 miR-203 模拟物后细胞倍增时间显著延长、凋亡比例显著升高、侵袭性显著下降,同时也发现 miR-203 是通过 ΔNp63

(P53 家族的一员)介导的信号通路显著抑制食管癌细胞的增殖,同样提示 miR-203 可能发挥着抑癌基因的作用。由于上述研究涉及的食管癌细胞系较少,样本量偏小,不能完全反映 miR-203 基因在 ESCC 中的表达情况。为明确 miR-203 在 ESCC 中的具体表达情况,本研究通过实时定量 PCR 的方法首次检测了五种食管癌细胞系中 miR-203 的表达情况,结果显示,在未经任何处理的 ESCC 细胞系中 miR-203 的表达均相对较低。同时在相对较大数量的 ESCC 组织样本中检测 miR-203 的表达,发现 miR-203 在 ESCC 组织中的表达显著低于癌旁组织,提示 miR-203 在 ESCC 中可能主要起抑癌基因的作用,这与 Feber 等^[19]和 Yuan 等^[20]的研究结果相一致。由于 miR-203 编码基因的启动子区富含 CpG 岛,推测 miR-203 表达下调可能与其编码基因启动子区的高甲基化密切相关。Furuta 等^[4]发现,在肝细胞癌中,由 miR-203 编码基因启动子区高甲基化介导 miR-203 的沉默,同时通过下调靶基因 ABCE1 表达使细胞生长受到抑制,导致细胞周期停滞在 G₁-S 检测点。Saini 等^[5]也证实,在膀胱癌细胞系中 miR-203 基因启动子 CpG 岛发生甲基化,从而导致 miR-203 低表达,并确定 Akt2 和 Src 是 miR-203 在膀胱癌中的新靶标;姜黄素可以降低 miR-203 基因启动子区甲基化的同时伴随着 Akt2 和 Src 表达的增加,miR-203 表达的恢复可以抑制膀胱癌细胞系增殖、迁移、侵袭,并诱导细胞周期阻滞和凋亡。但有关 miR-203 在食管癌中表达下调的表观遗传学机制尚不明确。本研究应用 MSP 方法检测了五种食管癌细胞系中 miR-203 基因的甲基化状态,发现 YES-2 细胞中 miR-203 基因因为不完全甲基化状态,其余四种细胞系中 miR-203 基因启动子区呈完全甲基化状态;经 5-Aza-dC 处理后,YES-2 细胞中 miR-203 基因甲基化程度降低,TE1、TE13、Ec109、T. TN 四种食管癌细胞系中 miR-203 基因转变为非甲基化状态。结果提示,DNA 甲基化可能是 ESCC 中 miR-203 基因表达下调的主要机制之一。本研究同时检测了 83 对 ESCC 组织和癌旁组织中 miR-203 基因启动子区的甲基化状态,发现 ESCC 组织中 miR-203 基因启动子区甲基化率显著高于癌旁组织,同样提示 miR-203 表达下调可能与其启动子区的异常甲基化密切相关。

本研究结果中,YES-2 细胞系中的甲基化没有被完全逆转,分析其原因可能为:(1) 由于在不同的细胞系中 miR-203 基因发生甲基化的 CpG 位点可能不同,同一 CpG 位点在不同的细胞系中甲基化率

可能不同;(2) 可能是由于药物剂量太低或药物作用时间较短,不足以完全逆转甲基化从而导致不完全甲基化状态;(3) 可能存在其他机制共同作用于 miR-203 基因使其表达下调,如组蛋白乙酰化等。

总之,本研究提示启动子区 CpG 岛的异常高甲基化可能是导致 miR-203 在 ESCC 中表达降低的重要机制之一,miR-203 有可能为食管癌的早期诊断提供有效的生物标志物,并且通过药物改变 miR-203 基因启动子甲基化状态可能为食管癌的治疗提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Sonkoly E, Wei T, Janson PC, et al. MicroRNAs: Novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? [J]. PLoS ONE, 2007, 2(7): e610.
- [2] Viticchie G, Lena AM, Cianfarani F, et al. microRNA-203 contributes to skin re-epithelialization [J]. Cell Death Dis, 2012, 3: e435.
- [3] Bueno MJ, Perez De Castro I, Gomez De Cedron M, et al. Genetic and epigenetic silencing of microRNA-203 enhances ABL1 and BCR-ABL1 oncogene expression [J]. Cancer Cell, 2008, 13(6): 496-506.
- [4] Furuta M, Kozaki KI, Tanaka S, et al. miR-124 and microRNA-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(5): 766-776.
- [5] Saini S, Arora S, Majid S, et al. Curcumin modulates microRNA-203-mediated regulation of the Src-Akt axis in bladder cancer [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2011, 4(10): 1698-1709.
- [6] Huang YW, Kuo CT, Chen JH, et al. Hypermethylation of microRNA-203 in endometrial carcinomas [J]. Gynecol Oncol, 2014, 133(2): 340-345.
- [7] Wiltng SM, Verlaat W, Jaspers A, et al. Methylation-mediated transcriptional repression of microRNAs during cervical carcinogenesis [J]. Epigenetics, 2013, 8(2): 220-228.
- [8] Bian K, Fan J, Zhang X, et al. microRNA-203 leads to G₁ phase cell cycle arrest in laryngeal carcinoma cells by directly targeting survivin [J]. FEBS Lett, 2012, 586(6): 804-809.
- [9] Wu X, Ajani JA, Gu J, et al. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2013, 6(3): 196-205.
- [10] 赫捷,赵平,陈万青. 2012 中国肿瘤登记年报 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2012: 48-49.
- [11] Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: Diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review [J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(3): 143-159.
- [12] Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer [J]. Oncogene, 2008, 27(15): 2128-2136.

[13] Costinean S, Zaneni N, Pekarsky Y, et al. Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(18): 7024-7029.

[14] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. Nature, 2007, 449(7163): 682-688.

[15] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(9): 2999-3004.

[16] Yantiss RK, Goodarzi M, Zhou XK, et al. Clinical, pathologic, and molecular features of early-onset colorectal carcinoma [J]. Am J Surg Pathol, 2009, 33(4): 572-582.

[17] Iorio MV, Visone R, Di Leva G, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8699-8707.

[18] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer [J]. Cancer Res, 2005, 65(16): 7065-7070.

[19] Feber A, Xi L, Luketich JD, et al. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135(2): 255-260.

[20] Yuan Y, Zeng ZY, Liu XH, et al. microRNA-203 inhibits cell proliferation by repressing DeltaNp63 expression in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. BMC Cancer, 2011, 11(1): 57.

[收稿日期] 2014-05-02 [修回日期] 2014-06-27

[本文编辑] 黄静怡

· 会 讯 ·

中国免疫学会第九届全国免疫学学术大会征文通知

中国免疫学会定于2014年10月18日至10月21日在山东省济南市召开“中国免疫学会第九届全国免疫学学术大会”。本次会议由中国免疫学会主办,是我国免疫学界的学术盛会,欢迎全国免疫学工作者踊跃投稿。会议将授予国家级一类继续教育学分(10分)。

一、征文内容

1. 免疫应答的分子机制与免疫细胞的分化发育;2. 天然免疫应答的识别与调控;3. 免疫调节与免疫耐受机制;4. 自身免疫病与免疫缺陷病;5. 新型疫苗与佐剂研究进展;6. 肿瘤的免疫逃逸;7. 移植免疫排斥研究进展;8. 血液免疫;9. 畜牧兽医领域的免疫学问题;10. 中医中药与免疫调节;11. 精神-神经-内分泌-免疫调节。

二、征文要求

1. 论著、综述、国内外研究进展和评论性文章均可。2. 来稿需提供摘要一份,请使用指定的论文摘要表。3. 摘要格式要求:摘要包括研究背景、目的、方法、结果(应提供主要数据)、结论及关键词(3~5个,以“;”隔开),要求观点明确、语言简练。使用MS Word编辑;所有中文字体为宋体,英文字体为Times New Roman;标题为四号字加粗,正文为五号字,请勿使用图表。4. 征文截止日期:2014年8月15日(注:不按照要求撰写的论文摘要将不予接受;公开杂志发表过的文章不予受理;来稿恕不退还)。

三、投稿方式

请将论文摘要表以附件形式发送至大会秘书处(论文摘要表及会议回执请在免疫学会网页 www.csi-cams.org.cn 中下载),E-mail:65296451@163.com(大会不接收传真发送的论文摘要)。

四、审稿及论文确认

1. 论文将由大会学术委员会审核决定是否接受及论文的交流方式。
2. 大会将对您所投递论文的接受情况通过电子邮件、传真或邮寄等方式及时确认。
3. 大会接受的所有论文摘要都将刊登在大会论文摘要汇编中,所有注册参会代表都会得到此汇编。
大会秘书处将于2014年9月20日前向论文入选并参加会议的代表发出正式会议通知。

五、大会秘书处联系方式

地址:北京东单三条5号 中国免疫学会秘书处(100005);大会网站:www.csi-cams.org.cn
联系人:魏薇;姚婕
电话:010-69156451(Fax)010-85113258;E-mail: 65296451@163.com csi_mail@163.com