·论　著·

地西他滨诱导 miR-200c/141 表达抑制肾癌细胞侵袭迁移

陈梦娇[1]，王华[2]，陈锦超[2]，赵安[2]，胡海红[1*]，曾苏[1](1.浙江大学药学院，浙江省抗肿瘤药物临床前研究重点实验室，杭州 310058；2.浙江省肿瘤医院，杭州 310022)

摘要：目的　探讨 DNA 甲基转移酶抑制剂地西他滨对人肾细胞癌 786-O 和 769-P 细胞侵袭迁移能力的影响，并进行相关机制的研究。**方法**　实时荧光定量 PCR 法检测肾癌及其癌旁组织中 miR-200c/141 的表达量及 2.5 μmol·L^{-1} 地西他滨对肾癌细胞系 miR-200c/141 的诱导作用；Transwell 试验、划痕试验分别检测地西他滨、miR-200c/141 对细胞侵袭迁移的影响；实时荧光定量 PCR 法、蛋白印迹法检测 786-O 和 769-P 细胞系钙黏蛋白表达量。**结果**　与正常肾癌旁组织相比，miR-200c/141 在肾癌组织中的表达量显著下调。2.5 μmol·L^{-1} 地西他滨能诱导 786-O 和 769-P 细胞系中 miR-200c/141 的表达增加。地西他滨、miR-200c/141 均能抑制细胞的侵袭迁移能力。786-O 和 769-P 细胞经地西他滨处理后，与上皮间充质转化相关的钙黏蛋白表达水平显著上调。**结论**　地西他滨可以通过上调 miR-200c/141 的表达水平减弱肾癌细胞系的侵袭迁移能力。

关键词：地西他滨；miR-200c；miR-141；肾细胞癌；侵袭迁移
中图分类号：R965.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2019)13-1601-07
DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.001
引用本文：陈梦娇，王华，陈锦超，等. 地西他滨诱导 miR-200c/141 表达抑制肾癌细胞侵袭迁移[J]. 中国现代应用药学，2019, 36(13): 1601-1607.

Decitabine Inhibit Invasion and Migration Ability of Renal Cell Carcinoma Cells by Up-regulating MiR-200c/141

CHEN Mengjiao[1], WANG Hua[2], CHEN Jinchao[2], ZHAO An[2], HU Haihong[1*], ZENG Su[1](*1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Province Key Laboratory of Anti-Cancer Drug Research, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Cancer Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310022, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE　To investigate the effect and mechanism of DNA methyltransferase inhibitor decitabine on the invasion and migration ability of renal cancer cells 786-O and 769-P. **METHODS**　The miR-200c/141 expression levels in renal cell carcinoma and its adjacent tissues were detected by RT-qPCR. MiR-200c/141 were induced by 2.5 μmol·L^{-1} decitabine and detected by RT-qPCR. Transwell assay and scratch assay were used to detect the effect of decitabine, miR-200c/141 on cell invasion and migration respectively. The mRNA and protein levels of E-cadherin were detected by RT-qPCR and Western blot. **RESULTS**　Compared with adjacent tissues, miR-200c/141 were significantly down regulated in renal cell carcinoma. The expression of miR-200c/141 could be induced in the 786-O and 769-P cells after treated with 2.5 μmol·L^{-1} decitabine. Scratch assay and Transwell assay results showed that decitabine, miR-200c/141 could inhibit cell migration and invasion. The expression of E-cadherin was upregulated in 786-O and 769-P cells after treated with decitabine, which associated with epithelial mesenchymal transition. **CONCLUSION**　Decitabine can weaken the migration and invasion ability of 786-O and 769-P cells by up-regulating the expression of miR-200c/141.
KEYWORDS: decitabine; miR-200c; miR-141; renal cell carcinoma; invasion and migration

肾细胞癌简称肾癌，是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一，全球每年有超过 30 万例新增患者[1]。肾癌分别占男性和女性所有恶性肿瘤的 5%和 3%，发病率在男性癌症患者中排第 7 位，女性癌症患者中排第 10 位[2]。目前，肾癌治疗的最有效方式是手术切除。肾癌分多种病理亚型，透明性肾细胞癌是最常见的一种亚型，约占肾癌的 70%~85%，其他还有乳头状肾细胞癌，约占肾癌 7%~15%；嫌色细胞癌占 5%~10%，还有少数具有罕见组织形态学的肾细胞癌<1%。早期肾癌往往不易被察觉，有

基金项目：国家重点研发计划(2017YFC0908600)；国家自然科学基金项目(81773817)
作者简介：陈梦娇，女，硕士生　Tel: 18258882802　E-mail: 21619028@zju.edu.cn　*通信作者：胡海红，女，硕士，实验师　Tel: (0571)88208431　E-mail: haihongh2006@163.com

20%~30%的肾癌患者在检出时已发生转移，转移性肾癌患者预后差，5 年生存率低[3]。一旦肾癌发生远处转移，则失去了手术切除进行根治的机会，因此，在肿瘤患者出现远处转移之前对患者进行抑制肿瘤转移性治疗至关重要。

microRNA 是真核生物中发现的内源性非编码单链小 RNA，长度为 20~22 个碱基，可以在转录后调控基因的表达水平。miR-200 家族分为 2 个亚族，miR-200a/b/429 位于 1 号染色体，miR-200c/141 位于 12 号染色体[4]。miR-200c/141 在多种肿瘤中异常表达，子宫内膜癌、结肠癌、膀胱癌中 miR-200c 高表达；在食管腺癌、肝细胞癌、鼻咽癌、肾癌中 miR-200c 低表达；食管腺癌、胃癌、肾癌中 miR-141 低表达。miR-200c/141 的异常表达影响肿瘤的侵袭迁移以及对药物的敏感性[4-13]。miR-200c/141 通过抑制靶基因锌指 E 盒结合蛋白 1(Zinc finger E-box binding homeobox 1，ZEB1)的表达进而上调上皮间充质转化(epithelial mesenchymal transition，EMT)标志蛋白钙黏蛋白的表达抑制细胞侵袭迁移已有大量文献报道[14-15]。启动子区域高甲基化是 miR-200c/141 表达下调的机制之一[16]。地西他滨是 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase，DNMT)抑制剂，是常用的去甲基化药物。本研究旨在探究地西他滨对 786-O 和 769-P 细胞 miR-200c/141 的诱导作用以及对细胞侵袭迁移能力的影响，为地西他滨和相关化疗方案治疗肾细胞癌提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人肾细胞癌 786-O 和 769-P 细胞系购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库；7 对配对肾癌及癌旁组织来自浙江省肿瘤医院(伦理批件：IRB-2017-2)；RPMI 1640 培养基(GIBCO™，批号：31800-022)；丙酮酸钠溶液(Sigma，批号：S8636)；青链霉素溶液 100×(杭州科易，批号：CP011)；胰酶粉末(GIBCO™，批号：27250-018)；地西他滨(Sigma，批号：A3656)；二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide，DMSO，Sigma，批号：D5879)；Lipofectamine 3000 Transfection Kit(Thermo Fisher，批号：1946890)；总 RNA 提取试剂盒(Axygen，批号：APMN-MS-RNA-250)；RNAsimple 总 RNA 提取试剂盒(天根，批号：DP419)；PrimeScript™ RT Master Mix 逆转录试剂盒(Takara，批号：DRR036A)；PrimeScript™ RT reagent Kit 逆转录试剂盒 (Takara，批号：RR037A)；SYBR™ Premix Ex Taq™ 实时荧光定量 PCR 试剂盒(Takara，DRR420A)；BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天，批号：P0010)；RIPA 强裂解液(碧云天，批号：P0013B)；一抗稀释液(碧云天，批号：P0023A)；钙黏蛋白抗体(Abcam，批号：ab133597)；甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(联科，批号：Mab5465)；miR-200c 和 miR-141 类似物由上海吉玛公司合成；所有引物均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 仪器

二氧化碳培养箱(Thermo)；生物安全柜(Heal Force)；HVE-50 灭菌锅(HIRAYAMA)；显微镜(Nikon)；电热恒温水槽(上海精宏)；高速离心机(Eppendorff)；StepOnePlu 实时荧光定量 PCR 系统(Applied Biosystems)；电泳仪(Bio-Rad)；制冰机(SCOTSMAN)；超低温冰箱(Thermo Forma)。

1.3 细胞培养

786-O 和 769-P 细胞分别用 0.05%胰酶消化 2 min，培养于含 10%胎牛血清、1×青链霉素和 1×丙酮酸钠溶液的 1640 培养基，置于 37 ℃，5% CO_2 细胞培养箱中培养，每 2~3 d 传代 1 次。细胞给药：地西他滨溶于 DMSO 配制成 25 mmol·L^{-1} 的母液，786-O 和 769-P 细胞种于 6 孔板，对照组每孔加入 2 μL DMSO，给药组每孔加入 2 μL 2.5 mmol·L^{-1} 地西他滨，使终浓度为 2.5 μmol·L^{-1}，连续给药诱导 3 d。细胞转染：基于 1640 培养基体积计算浓度，细胞转染 miR-NC、miR-200c 以及 miR-141 的终浓度为 30 nmol·L^{-1}，转染试剂 Lipofectamine 3000 的浓度为 2‰。

1.4 基因在转录水平的检测

用 RNAsimple 总 RNA 提取试剂盒提取组织 RNA，用 Axygen 总 RNA 提取试剂盒提取细胞 RNA。Takara RR036A 逆转录试剂盒用于 mRNA 的逆转录，Takara RR037A 逆转录试剂盒用于 miRNA 的逆转录。miRNA 逆转录特异性引物序列：miR-200a：5’-GTCGTATCCAGTGCGTGTCGTGGAGTCGGCAATTGCACTGGATACGACACATCG-3’；miR-200b：5’-GTCGTATCCAGTGCGTGTCGTGGAGTCGGCAATTGCACTGGATACGACTCATCA-3’；miR-200c：5’-GTCGTATCCAGTGCGTGTCGTGGAGTCGGCAATTGCACTGGATACGACTCC

ATC-3’；miR-141：5’-GTCGTATCCAGTGCGTG TCGTGGAGTCGGCAATTGCACTGGATACGACC CATCT-3’。

实时荧光定量 PCR 法检测基因在转录水平的表达，数据用 Microsoft Excel 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行基因表达的相对定量分析。荧光定量 PCR 引物序列：miRNA 通用引物：5’-GTGCAGGGTCCGAGGT-3’；miR-200a：5’-GGGTAACACTGTCTGGTAA-3’；miR-200b：5’-GGGTAATACTGCCTGGTAA-3’；miR-200c：5’-GGGTAATACTGCCGGGTAAT-3’；miR-141：5’-GGGTAACACTGTCTGGTAA-3’；E-cadherin：F-5’-TGGAGGAATTCTTGCTTTGC-3’，R-5’-CGCTCTCCTCCGAAGAAAC-3’。

1.5 肾癌细胞迁移能力检测

786-O 和 769-P 细胞接种于 6 孔板中，基于 1640 培养基体积计算浓度，加入终浓度为 2.5 μmol·L^{-1} 地西他滨诱导 3 d 或转染 30 nmol·L^{-1} 的 miR-200c/141 2 d 后，用 200 μL 枪头划线，PBS 清洗黏附的细胞碎片，培养基换为无血清培养基。分别于划线 0，24 h 后用配置有尼康数码照相机的尼康倒置镜像显微镜进行拍照。

1.6 肾癌细胞侵袭能力检测

前一晚用空白 1640 培养基稀释基质胶，将稀释好的基质胶溶液加到 Transwell 小室中，第 2 天吸去 Transwell 小室中液体，可见底部有一层白色薄膜，即凝固的基质胶，Transwell 小室下加入 600 μL 1640 完全培养基。

786-O 和 769-P 细胞接种于 6 孔板中，基于 1640 培养基体积计算浓度，加入终浓度为 2.5 μmol·L^{-1} 地西他滨诱导 3 d 或转染 miR-200c/141 2 d 后，0.05%胰蛋白酶消化计数，10 000 个细胞每孔种于铺好胶的 Transwell 小室中。置于 37 ℃，5% CO_2 的细胞培养箱中培养 24 h，吸走培养基，PBS 洗 2 次，4%多聚甲醛固定 1 h，棉签拭去小室上层细胞，结晶紫染色 1 h，PBS 洗 2 次，用配有尼康数码照相机的尼康倒置镜像显微镜进行拍照。

1.7 钙黏蛋白水平检测

786-O 和 769-P 细胞接种于 6 孔板中，基于 1640 培养基体积计算浓度，加入终浓度为 2.5 μmol·L^{-1} 地西他滨诱导 3 d 后，吸走培养基，PBS 洗 2 次，100 μL RIPA 裂解液提取细胞蛋白，4 ℃旋转 30 min 充分裂解细胞，12 000 r·min^{-1}，4 ℃离心 10 min，BCA 试剂盒测定蛋白浓度，蛋白质印迹法进行检测。分离胶浓度 10%，浓缩胶浓度 5%，上样量 10 μL，电压 90 V 电泳约 30 min，电压 120 V 电泳约 90 min。电泳结束后取出蛋白胶，按胶面大小裁剪合适大小的聚偏二氟乙烯膜，在背面做好标记后浸泡在甲醇中活化，电转夹层从负极(黑色)至正极(红色)依次铺置海绵、滤纸、蛋白胶、PVDF 膜、滤纸、海绵，将电转夹层按正确方向组装于电转槽，加入电转缓冲液至标示指示线，在冰浴条件下以 200 mA 电转 2 h。电转结束后聚偏二氟乙烯膜用 5%奶粉室温封闭 2 h，一抗 4 ℃孵育过夜，二抗室温孵育 2 h，G-BOX 化学发光成像仪显色曝光。

1.8 统计学方法

用 Image J 进行细胞计数及划痕面积计算。用 GraphPad Prism 6.0 进行统计分析。

2 结果

2.1 miR-200c/141 在肾癌组织中显著下调

实时荧光定量 PCR 检测 7 对配对肾癌及癌旁组织中 miR-200c/141 表达水平，结果肾癌组织与其配对癌旁组织相比，miR-200c/141 表达水平均显著下调，见图 1。患者组织信息见表 1。

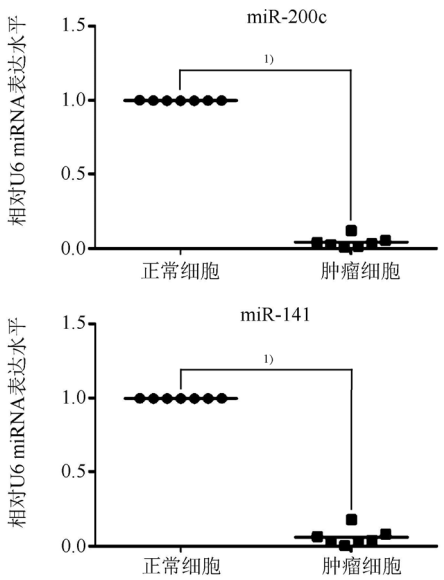

图 1 miR-200c/141 在肾癌及其癌旁组织的表达水平(以 U6 为内参)

与正常细胞相比，[1]$P<0.005$。

Fig. 1 miR-200c/141 expression in renal cell carcinoma tissues with paired adjacent tissues(miRNA expression relative to U6)

Compared with normal cells, [1]$P<0.005$.

表 1 肾细胞癌患者信息表

Tab. 1 Renal cell carcinoma patients information

年龄/岁	性别	TNM stage	亚型
60	男	T1N0M0	肾透明细胞癌
41	男	T1N0M0	肾透明细胞癌
50	女	T1N0M0	肾透明细胞癌
51	男	T1N0M0	未分类
42	男	T4N0M0	肾透明细胞 1
45	女	T4N2M0	肾透明细胞癌
72	男	T1aN0M0	未分类

2.2 miR-200c/141 抑制肾癌细胞侵袭迁移

在 786-O 和 769-P 细胞中转染 miR-200c/141，2 d 后用 200 μL 枪头划线，吸走完全培养基，替换成无血清培养基，分别在 0，24 h 拍照。转染了 miR-200c/141 后，细胞迁移能力显著减弱，见图 2。在 786-O 和 769-P 细胞中转染 miR-200c/141 后，进行 Transwell 实验。结果表明，细胞侵袭能力显著下降，见图 3。因此，miR-200c/141 可以抑制肾癌细胞系 786-O 和 769-P 的侵袭迁移能力。

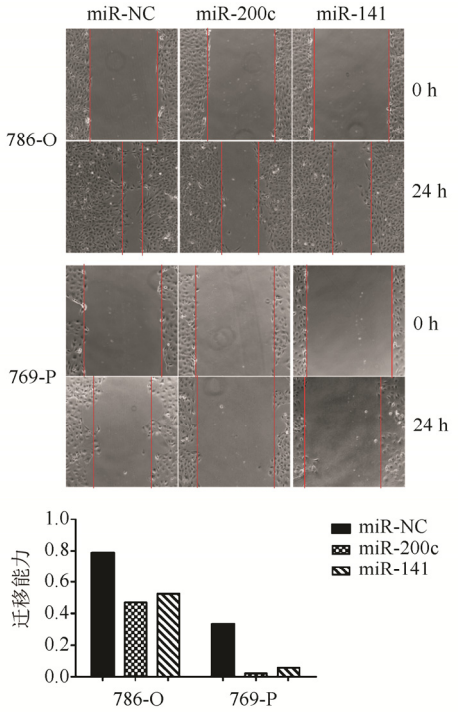

图 2 786-O 和 769-P 转染 miR-200c/141 后细胞迁移能力的变化

Fig. 2 Effect of miR-200c/141 on 786-O and 769-P cells migration ability

2.3 地西他滨诱导 miR-200c/141 的表达

地西他滨用 DMSO 溶解，终浓度为 2.5 mmol·L^{-1}。786-O 和 769-P 细胞种于 6 孔板，对照组每孔加入 2 μL DMSO，给药组每孔加入 2 μL 2.5 mmol·L^{-1} 地西他滨，使终浓度为 2.5 μmol·L^{-1}，连续给药诱导 3 d，提取 RNA 并进行逆转录，实时荧光定量 PCR 检测 miR-200c/141/200a/200b 表达水平。给药诱导 3 d 后，786-O 和 769-P 细胞中 miR-200c 表达水平分别显著升高 25 倍和 17 倍，miR-141 表达水平分别显著升高 6 倍和 4 倍，miR-200a 和 miR-200b 诱导不明显或仅有微弱的诱导作用，见图 4。

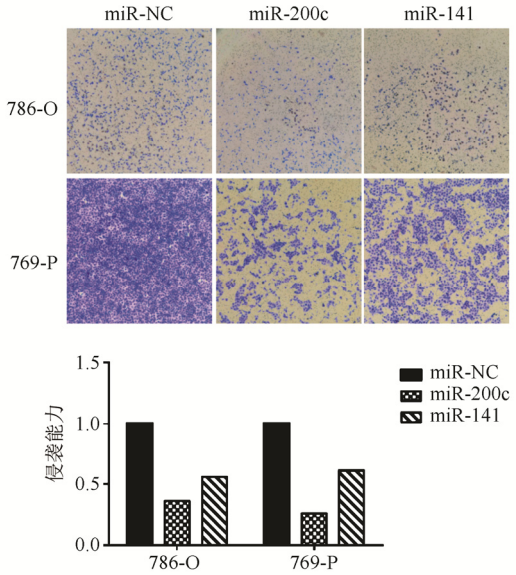

图 3 786-O 和 769-P 转染 miR-200c/141 后细胞侵袭能力的变化

Fig. 3 Effect of miR-200c/141 on 786-O and 769-P cells invasion ability

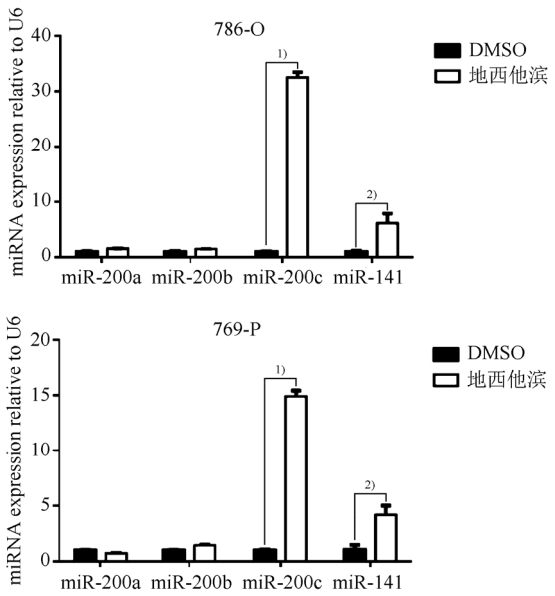

图 4 786-O 和 769-P 细胞 miR-200s 表达水平(以 U6 为内参)与 DMSO 组相比，$^{1)}P<0.005$，$^{2)}P<0.05$。

Fig. 4 Expression of miR-200s in 786-O and 769-P(miRNA expression relative to U6)

Compared with DMSO group, $^{1)}P<0.005$, $^{2)}P<0.05$.

2.4 地西他滨抑制肾癌细胞侵袭迁移

上述试验结果表明，miR-200c/141 可以抑制 786-O 和 769-P 细胞侵袭迁移能力，且地西他滨可以诱导 miR-200c/141 表达，因此，进一步探究地西他滨是否可以通过诱导 miR-200c/141 的表达影响细胞的侵袭迁移能力。先将 786-O 和 769-P 细胞接种于 6 孔板，对照组每孔加入 2 μL DMSO，给药组每孔加入 2 μL 2.5 mmol·L^{-1} 地西他滨，使终浓度为 2.5 μmol·L^{-1}，连续给药诱导 3 d，再用 200 μL 枪头划线，将完全培养基替换成无血清培养基，分别在 0，24 h 拍照。786-O 和 769-P 细胞经地西他滨诱导后，其迁移能力显著减弱，见图 5。对 786-O 和 769-P 细胞给予地西他滨后，再把处理过的细胞接种至铺好胶的 Transwell 板，检测细胞侵袭能力，结果表明，地西他滨能显著抑制细胞侵袭能力，见图 6。

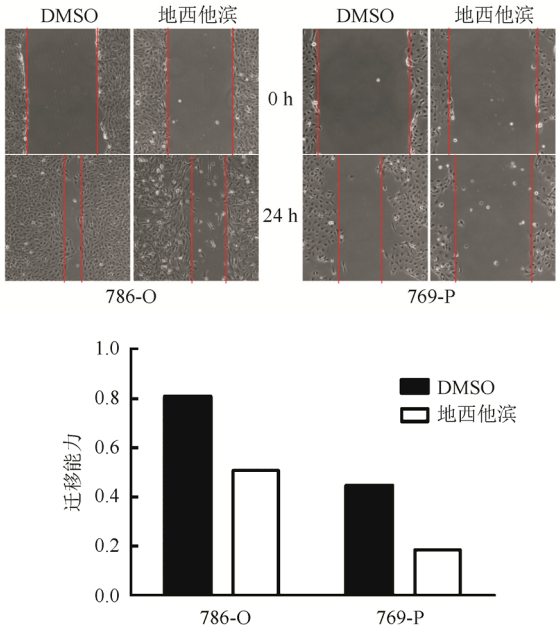

图 5 地西他滨对细胞迁移能力的影响

Fig. 5 Effect of decitabine on cell migration

2.5 地西他滨对钙黏蛋白表达的影响

钙黏蛋白是 EMT 进程的标志蛋白，又是 miR200c/141 的下游基因，影响细胞黏附力进而影响细胞侵袭迁移能力。地西他滨可以诱导 miR-200c/141 表达，因此，进一步探究地西他滨处理细胞是否会影响钙黏蛋白表达。786-O 和 769-P 细胞分别种于 6 孔板，对照组每孔加入 2 μL DMSO，给药组每孔加入 2 μL 2.5 mmol·L^{-1} 地西他滨，使终浓度为 2.5 μmol·L^{-1}，连续给药诱导 3 d，提取 RNA 并进行逆转录，实时荧光定量 PCR 检测钙黏蛋白转录水平，提取蛋白进行电泳检测钙黏蛋白水平。给药诱导 3 d 后，786-O 和 769-P 细胞中钙黏蛋白的转录水平和蛋白水平均显著升高，表明细胞的侵袭迁移能力减弱，结果见图 7。

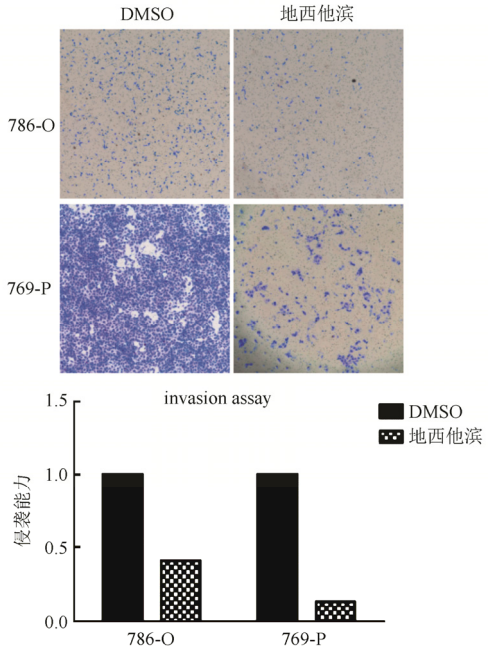

图 6 地西他滨对细胞侵袭能力的影响

Fig. 6 Effect of decitabine on cell invasion

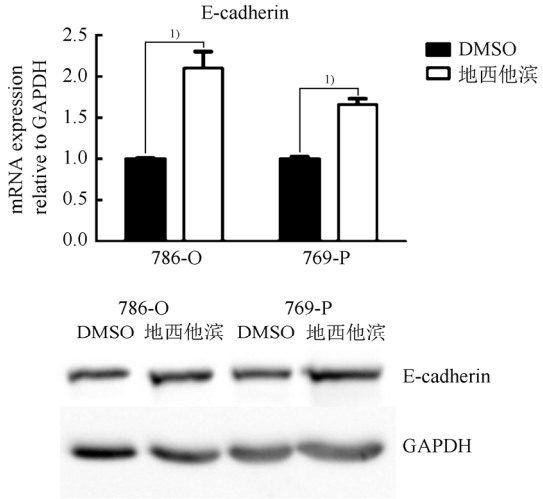

图 7 786-O 和 769-P 细胞中钙黏蛋白表达水平

与 DMSO 组相比，$^{1)}P<0.05$。

Fig. 7 Expression of E-cadherin in 786-O and 769-P

Compared with DMSO group, $^{1)}P<0.05$.

3 讨论

DNA 甲基化是研究最广泛的表观遗传机制，在胚胎发育、细胞增殖以及肿瘤的发生发展中都起着重要作用，主要由 DNA 甲基转移酶催化完成。基因启动子区域甲基化水平调控基因的表达，在

癌症中，一些抑癌基因的启动子区域高甲基化抑制抑癌基因的表达，原癌基因启动子区域低甲基化促进原癌基因的表达，最终促进癌症进程[17-20]。有研究者认为，DNA 甲基化是药物治疗癌症的理想靶点，目前有大量 DNA 甲基转移酶抑制剂正在研发。地西他滨作为 DNA 甲基转移酶抑制剂已被美国 FDA 批准用于临床，通过抑制 DNA 甲基转移酶活性影响基因甲基化水平进而调控基因的表达[21]。

miR-200c/141 位于 12 号染色体，其启动子高甲基化是其在多种癌症中表达下调的主要因素之一，DNA 甲基转移酶抑制剂可以诱导 miR-200c/141 的表达，如前列腺癌、结直肠癌、胰腺导管癌和肺癌等[16,22-24]。但地西他滨对肾癌细胞 miR-200c 及 miR-141 的诱导极少有报道，尤其是 miR-141。且已有文献报道[25-26]，miR-200c/141 在肾癌组织中均显著下调，miR-200c/141 下调促进肿瘤进程，荷瘤小鼠实验表明 miR-200c 能抑制肿瘤生长，miR-141 能抑制肿瘤生长和转移。若地西他滨能够诱导肾癌细胞表达 miR-200c/141，将对肾癌患者临床治疗有重大意义。因此，本研究探究地西他滨对肾癌细胞系 miR-200c/141 的诱导作用以及对细胞侵袭迁移能力的影响。结果表明，miR-200c/141 确实在肾癌组织中显著下调，且可以抑制细胞侵袭迁移能力，其在肾癌组织中表达下调可能跟肾癌的高转移性相关。本研究还发现，DNA 甲基转移酶抑制剂地西他滨可以诱导肾癌细胞系表达 miR-200c/141，且可以抑制细胞侵袭迁移能力。由于 miR-200c/141 可通过调控 ZEB1 进而调控 EMT 相关蛋白钙黏蛋白的表达，因此，本实验还检测了地西他滨处理后钙黏蛋白表达变化，786-O 和 769-P 细胞经地西他滨处理后，上皮间质转化的标志蛋白钙黏蛋白表达上调，其表达上调可以增加细胞黏附力，抑制侵袭迁移能力。因此，地西他滨作为 DNA 甲基转移酶抑制剂，能诱导 miR-200c/141 的表达来抑制肾细胞癌的癌转移，但地西他滨诱导肾癌细胞 miR-200c/141 表达的机制以及在体内能否抑制肾细胞癌转移还需要进一步探究。

笔者所在实验室之前的研究结果表明，地西他滨可以通过抑制 DNA 甲基转移酶活性降低有机阳离子转运体 2(organic cation/carnitine transporter 2，OCT2)转运体启动子区域甲基化水平诱导 OCT2 的表达，增加对抗肿瘤药物奥沙利铂的摄取，且地西他滨不影响肾脏中介导奥沙利铂外排的转运体多药及毒素外排转运体 2 的表达，因此对抗癌药物奥沙利铂的摄取增加且外排不变，从而达到杀伤肿瘤的效果，逆转肾癌患者对奥沙利铂耐药，为肾癌患者的治疗打开了一扇大门[21,27]。而 miR-200c 与化疗药物敏感性相关已有文献报道，如在黑色素瘤中，miR-200c 可以通过下调药物外排转运体乳腺癌耐药蛋白和 P-糖蛋白等来增加黑色素瘤对顺铂的敏感性；在肾透明细胞癌中，miR-200c 可以通过靶向血红素氧合酶增加耐药肾癌细胞对索拉非尼、伊马替尼的敏感性；非小细胞肺癌化疗耐药也与 miR-200c 表达下调相关[12,28-30]。miR-200c 可以作为肿瘤耐药治疗的一个重要靶点。因此，本研究发现地西他滨诱导 miR-200c 的表达既可以抑制肿瘤转移又可以为地西他滨与相关化疗方案联合治疗肾细胞癌提供理论基础，对肾癌治疗具有积极意义。

REFERENCES

[1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. Int J Cancer, 2015, 136(5): E359-E386.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016 [J]. Ca: Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30

[3] HANG F, GUO G, LI X T, et al. Current status and progress of molecular targeted drug therapy in metastatic renal cell carcinoma [J]. J Mim Inv Urol(微创泌尿外科杂志), 2017(2): 113-118.

[4] MUTLU M, RAZA U, SAATCI Ö, et al. MiR-200c: a versatile watchdog in cancer progression, EMT, and drug resistance [J]. J Mol Med, 2016, 94(6): 629-644.

[5] SNOWDON J, ZHANG X, CHILDS T, et al. The microRNA-200 family is upregulated in endometrial carcinoma [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22828. Doi: 10. 1371/journal. pone. 0022828.

[6] HAN Y H, CHEN J H, ZHAO X K, et al. MicroRNA expression signatures of bladder cancer revealed by deep sequencing [J]. Plos One, 2011, 6(3): e18286. Doi: 10. 1371/journal. pone. 0018286.

[7] SMITH C M, WATSON D I, LEONG M P, et al. MiR-200 family expression is downregulated upon neoplastic progression of Barrett's esophagus [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(8): 1036-1044.

[8] 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.

[9] XIA H P, NG S S, JIANG S S, et al. MiR-200a-mediated downregulation of ZEB2 and CTNNB1 differentially inhibits nasopharyngeal carcinoma cell growth, migration and invasion [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1): 535-541.

[10] SLABY O, JANCOVICOVA J, LAKOMY R, et al. Expression of miRNA-106b in conventional renal cell

carcinoma is a potential marker for prediction of early metastasis after nephrectomy [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010(29): 90. Doi: 10.1186/1756-9966-29-90

[11] DU Y, XU Y J, 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.

[12] SENFTER D, MADLENER S, KRUPITZA G, et al. The microRNA-200 family: still much to discover [J]. Biomol Concepts, 2016, 7(5/6): 311-319.

[13] MA Q, YANG L, WANG C, et al. Differential expression of colon cancer MicroRNA in microarry study [J]. J Sichuan Univ Med Sci Ed(四川大学学报：医学版), 2011, 42(3): 344-348.

[14] ZHENG L B, XU M, XU J J, et al. ELF3 promotes epithelial-mesenchymal transition by protecting ZEB1 from miR-141-3p-mediated silencing in hepatocellular carcinoma [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(3): 387. Doi: 10.1038/s41419-018-0399-y.

[15] ZHOU X L, WANG Y D, SHAN B E, et al. The downregulation of miR-200c/141 promotes ZEB1/2 expression and gastric cancer progression [J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 428. Doi: 10.1007/s12032-014-0428-3.

[16] XU S, WU J Z, CAO H X, et al. Hypermethylation of miR-200c promoter correlated with EGFR-TKI resistance in lung cancer cells [J]. Acta Univ Med Nanjing Nat Sci (南京医科大学学报：自然科学版), 2013, 33(1): 1-5.

[17] HÖBAUS J, HUMMEL D M, THIEM U, et al. Increased copy-number and not DNA hypomethylation causes overexpression of the candidate proto-oncogene CYP24A1 in colorectal cancer [J]. Int J Cancer, 2013, 133(6): 1380-1388.

[18] YANG L, ZHAO Z Y, ZHAO S S, et al. The clinicopathological significance of epigenetic silencing of VHL promoter and renal cell carcinoma: A meta-analysis [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(6): 1465-1472.

[19] GE P, YU X, WANG Z C, et al. Aberrant methylation of the 1p36 tumor suppressor gene RIZ1 in renal cell carcinoma [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(9): 4071-4075.

[20] LUO L Y, WU J T, XIE J, et al. Downregulated ECRG4 is associated with poor prognosis in renal cell cancer and is regulated by promoter DNA methylation [J]. Tumour Biol, 2016, 37(1): 1121-1129.

[21] LIU Y Q, ZHENG X L, YU Q Q, et al. Epigenetic activation of the drug transporter OCT2 sensitizes renal cell carcinoma to oxaliplatin [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(348): 348ra97.

[22] LYNCH S M, O'NEILL K M, MCKENNA M M, et al. Regulation of miR-200c and miR-141 by methylation in prostate cancer [J]. Prostate, 2016, 76(13): 1146-1159.

[23] HUR K, TOIYAMA Y, TAKAHASHI M, et al. MicroRNA-200c modulates epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in human colorectal cancer metastasis [J]. Gut, 2013, 62(9): 1315-1326.

[24] PAN Y, LU F C, XIONG P, et al. WIPF1 antagonizes the tumor suppressive effect of miR-141/200c and is associated with poor survival in patients with PDAC [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 167. Doi: 10.1186/s13046-018-0848-6.

[25] WANG X G, CHEN X, HAN W W, et al. Mir-200c targets CDK2 and suppresses tumorigenesis in renal cell carcinoma [J]. Mol Cancer Res, 2015, 13(12): 1567-1577.

[26] CHEN X, WANG X G, RUAN A M, et al. MiR-141 is a key regulator of renal cell carcinoma proliferation and metastasis by controlling EphA2 expression [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(10): 2617-2630.

[27] YU Q Q, LIU Y Q, ZHENG X L, et al. Histone H3 lysine 4 trimethylation, lysine 27 trimethylation, and lysine 27 acetylation contribute to the transcriptional repression of solute carrier family 47 member 2 in renal cell carcinoma [J]. Drug Metab Dispos, 2017, 45(1): 109-117.

[28] LIU S J, TETZLAFF M T, CUI R T, et al. MiR-200c inhibits melanoma progression and drug resistance through down-regulation of BMI-1 [J]. Am J Pathol, 2012, 181(5): 1823-1835.

[29] GAO C, PENG F H, PENG L K. MiR-200c sensitizes clear-cell renal cell carcinoma cells to sorafenib and imatinib by targeting heme oxygenase-1 [J]. Neoplasma, 2014, 61(6): 680-689.

[30] CEPPI P, MUDDULURU G, KUMARSWAMY R, et al. Loss of miR-200c expression induces an aggressive, invasive, and chemoresistant phenotype in non-small cell lung cancer [J]. Mol Cancer Res, 2010, 8(9): 1207-1216.

收稿日期：2018-11-08

(本文责编：曹粤锋)

http://www.chinjmap.com