

· 综述 ·

表观遗传学与乳腺癌转移

王小艳 冯玉梅

转移是乳腺癌患者致死的主要原因。乳腺癌的发生、发展是多基因协同作用的复杂过程。传统的遗传学是从基因突变的角度探索乳腺癌的发病机制,是基于 DNA 序列改变的基因异常影响肿瘤的发生、发展。表观遗传学(epigenetics)是指无序列改变的 DNA 或染色体因修饰作用引起的基因表达改变,它发生在 DNA 复制后的转录或 mRNA 的翻译过程,并且能在细胞增殖过程中稳定传递^[1]。表观遗传主要涉及 DNA 甲基化、染色质重塑、基因组印记和非编码 RNA 的基因表达调控等。近年来,研究证实表观遗传学的改变在乳腺癌的发生、发展和转移过程中起重要作用。

1 DNA 甲基化

DNA 甲基化(DNA methylation)是以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体,在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)的催化下, DNA 序列的 5' 端胞嘧啶结合上一组甲基的反应。有功能的 DNMTs 包括维持甲基化的 DNMT1 和重建甲基化的 DNMT3A/3B,而 DNMT2 无甲基转移功能^[2]。DNA 甲基化发生在 CG 富集区,50% 的人类基因启动子或外显子区含有 100 ~ 1000 bp 左右的一个或多个 CpG 岛。肿瘤相关基因(包括转移相关基因)的超甲基化(hypermethylation)和低甲基化(hypomethylation)状态是乳腺癌发生的经常事件。

1.1 DNA 超甲基化

发生在 DNA 启动子区 CpG 岛的超甲基化是最主要的表观遗传学改变, DNA 超甲基化使抑癌基因表达沉寂,失去抑制细胞异常增殖和转移的功能,多种抑癌基因启动子区的超甲基化与乳腺癌的进展和转移相关。

Paola 等^[3]采用甲基化特异性定量 PCR 方法检测了 10 个基因在 54 例侵袭性乳腺原发癌中的表达,其中包括乳腺癌易感基因-1 (Breast cancer 1,

基金项目:国家自然科学基金(30471671)

作者单位:300060 天津医科大学附属肿瘤生化及分子生物学室,乳腺癌防治教育部重点实验室

通信作者:冯玉梅, E-mail: fengymeimei@hotmail.com

BRCA1)、上皮 E-钙黏蛋白(pitheliael E-cadherin, CDH1)、肿瘤高甲基化基因-1(hypermethylated in cancer 1, HIC1)、结肠腺瘤性息肉病基因(adenomatous polyposis coli, APC)、雌激素受体 α (estrogen receptor α gene, ESR1)、甲状腺激素受体 1(thyroid hormone receptor β 1, TR β 1)、视黄醛酸 β 受体(nuclear retinoic acid receptor β , RAR- β)、细胞周期蛋白依赖型激酶抑制剂 2A(cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, p16)、细胞周期蛋白 D2(cyclin D2, CCND2)、谷胱甘肽-S-转移酶(π -class glutathione S-transferase gene, GSTP), 发现 85% 的患者至少有 1 个基因的启动子甲基化, 54% 至少有 3 个基因甲基化, 且患者的无瘤生存率与甲基化水平呈负相关。Jyoiti 等^[4]用同样方法检测了 5 种基因在 55 例转移性乳腺癌患者原发癌与转移癌的超甲基化状态。CCND2、RAR- β 、Twist、Ras 相关区域家族 1A(ras association domain family 1A, RASSF1A)、分泌素 3A1(secretoglobulin family 3A, member 1, SCGB 3A1; high in normal-1, HIN-1) 在正常乳腺上皮组织中无甲基化, 在骨、脑、肺、淋巴结转移灶中启动子区甲基化率高达 67% ~ 100%。其中 RAR- β 和 HIN-1 在肺、脑、骨髓转移癌, CCND2 在脑转移癌, RASSF1A 在肺转移癌中的超甲基化最显著; 5 种基因在淋巴结转移癌组织较原发癌组织的超甲基化都有明显增高趋势, 其中 HIN-1 的超甲基化差异具有统计学意义。以上结果证实多基因的超甲基化在乳腺癌发展进程中普遍存在并发挥重要作用。

1.2 DNA 低甲基化

低甲基化是基因组整体甲基化水平降低, 导致遗传不稳定性增加。原癌基因在正常组织中因甲基化表达受抑制, 在肿瘤中呈低甲基化而活化为癌基因。

尿激酶(urokinase, uPA)是丝氨酸蛋白酶家族成员, 催化纤溶酶原转变成活性纤溶酶从而降解细胞外基质、改变细胞黏附特性, 促进癌细胞迁移。尿激酶的过度表达是乳腺癌有价值的预后指标^[5]。体外实验证实在雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性的低侵袭性乳腺癌细胞中 uPA 启动子区呈甲基化状态而不表达, 在 ER 阴性高侵袭性的乳腺癌细胞系中则低甲基化而高表达。Pouya 等发现: 53 名乳腺癌患者中, 随着恶性度的增加, uPA 启动子甲基化的水平逐渐降低; I 期有 93.2% 患者的 uPA CpG 启动子甲基化, 至 III 期则完全无甲基化^[6]。核突触蛋白- γ (synuclein γ , SNCG)也被称作为乳腺癌特异性基因-1(breast cancer specific gene1, BCSG1), 是神经元蛋白家族的成员, 正常情况下只在外周神经系统表达, 具有高度的组织特异性。SNCG 在正常和良性

乳腺组织中不表达,低度恶性导管原位癌中呈较低水平表达,晚期浸润性导管癌中高表达^[7],提示其具有促乳腺癌增殖和转移的潜在功能。Anu 等^[8]利用重亚硫酸盐测序法检测了 10 个乳腺癌细胞系 SNCG 的表达,发现 5 个 SNCG 阳性的细胞系无甲基化,而另 5 个 SNCG 阴性的细胞系中的 4 个存在外显子 1 区域不同程度的甲基化;转染外源性 SNCG 基因表达载体使乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖能力和 MDA-MB 435 细胞的侵袭力和迁移力显著增高,并可提高癌细胞在裸鼠体内的转移能力。启动子或外显子区的 CpG 岛的低甲基化是某些癌基因异常表达主要机制,并在乳腺癌转移中起重要作用。

1.3 DNA 去甲基化

DNA 甲基化可被去甲基过程所逆转,但具体机制却尚未明了。Guillermo 等^[9]最近发现一个 DNA 去甲基化的关键调控因子-DNA 损伤诱导蛋白 45 α (growth arrest and DNA-damage-inducible protein 45 alpha, Gadd45 α),通过促进 DNA 修复去除甲基化标记,从而减少修饰基因的沉默。而 Gadd45 α 曾被证实是 p53 和 BRCA1 等抑癌基因的作用靶标,提示它的去甲基化作用也可能会影响乳腺癌的演进。

2 染色质重塑

核小体是染色质的基本单位,它由基因组 DNA 紧密包绕组蛋白八聚体构成。这种紧密的结构可以阻碍基因转录和染色质的重塑(chromatin remodeling),改变核小体与 DNA 的相对位置和空间结构,为转录因子与基因启动子的结合提供条件。染色质重塑主要通过两种方式完成,一种是物理修饰:依赖 ATP 的染色质重塑复合物水解 ATP,释放能量使组蛋白和 DNA 的构象发生局部改变;另外是共价化学修饰:发生在核小体的 N 端尾,如赖氨酸(lysine, Lys)或(和)丝氨酸(serine, Ser)结合甲基、乙酰基等基团被共价修饰,形成组蛋白密码,调控基因转录。染色质重塑复合物和组蛋白修饰酶功能的异常都能导致特定基因的转录失调甚至肿瘤的发生。

2.1 染色质重塑复合物

染色质重塑复合物包括 SWI/SNF、ISWI 和 Mi-2 三类。其中 SWI/SNF 的两个同源蛋白 Brahma(Brm)和 Brm 相关基因 1(Brahma-related gene 1, Brg1)通过阻遏 DNMTs 活性达到 DNA 去甲基化作用,改变染色质结构。Fatima 等^[10]向乳腺癌细胞 MCF-7 转染 Brg1 和 Brm 基因,使 CD44 和 E 钙黏蛋白(E-cadherin)的启动子在 48 h 内去甲基化,并显著增强细胞的增殖和转移能力。

2.2 组蛋白修饰

组蛋白修饰包括组蛋白乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等过程,研究最多的是乙酰化、甲基化,它们是由组蛋白乙酰/甲基转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和组蛋白去乙酰/甲基化酶(histone deacetylases, HDACs)动态可逆地将乙酰基移进或移出核心组蛋白的 Lys 残基末端的过程。乙酰化使组蛋白能选择性地使某些染色质区域的结构从紧密变得松散,从而开放某些基因的转录,提高其表达水平。组蛋白乙酰化多发生在 H3 的第 9 位赖氨酸(K-9)、K-14、K-18、K-23 和 H4 的 K-5、K-8、K-12、K-16 等位点^[11]。目前已被鉴定的乙酰转移酶有腺病毒 E1A 结合蛋白 p300(E1A binding protein p300, EP300)、CREB 结合蛋白(CREB binding protein, CBP)、p160 家族、P300/CBP 相关因子(P/CAF)、锌指蛋白 220(zinc finger 220, ZNF220)等二十多种。EP300 可抑制肿瘤的形成,在多种上皮性癌(乳腺癌、结肠癌、胰癌)细胞中有突变^[12]。去乙酰化的作用与乙酰化相反,抑制基因转录。HDAC4 过表达能增强 MCF-7 癌细胞的增殖能力^[13]。HAT 和 HDAC 还可与一些癌基因或抑癌基因产物相结合,共同修饰或介导它们对与细胞分化和细胞增殖相关基因转录的调节。HDAC1 募集乳腺癌转移促基因(metastasis associated-2, MAT2)产物共同对 ER- α 进行脱乙酰作用,使其转录活性下降。HDAC1 还可与乳腺癌转移抑制基因-1(breast cancer metastasis suppressor 1, BRMS1)启动子区结合并阻遏其转录,促进乳腺癌转移^[14]。然而 HDAC6 对 ER 和孕激素受体(progesterone receptor, PR)基因表达却有转录激活作用,是乳腺癌预后良好的指标^[15]。

组蛋白甲基化既可抑制也可增强基因表达。H3、H4 的精氨酸甲基化与转录激活有关,而赖氨酸则根据其在组蛋白的不同位点被甲基化而发挥对转录的正或负调节效应:H3-K9 和 H3-K27 的甲基化与转录阻遏相关,而 H3-K4、-K36、-K79 则与转录激活相关。组蛋白甲基化既往被认为是稳定的修饰,最先发现的一种赖氨酸特异性去甲基化酶核胺氧化酶(lysine specific demethylase 1, LSD1),能催化单(me1)或二甲基(me2)的赖氨酸去甲基;Jmjc 结构域最近被证明具有组蛋白赖氨酸去甲基化酶活性。目前已发现近 30 种含有该域的蛋白家族,其中 jmjc 结构域去甲基化酶-1(Jmjc-domain-containing histone demethylase 1, JHDM1)和 JHDM2 只能去除 me1 与 me2, JHDM3A 则可使 H3K9me3 和 H3K36me3 去甲基化^[16];另一编码 Jmjc 域蛋白的乳腺癌相关基因 PLU-1, 又称 AT 丰富结合域 1B(AT-rich interactive domain 1B, JARID1B),它通过 H3K4me3 去甲基化作用阻遏 BRCA1 等抑癌基因的转录,促进乳腺癌

细胞增殖^[17]。

磷酸化是松弛染色质的又一修饰作用,它调控蛋白质复合体在细胞有丝分裂和凋亡过程中向染色质的集结,激活基因的转录。人上皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)是目前已被公认的乳腺癌发生及转移相关基因, H3Ser10 的磷酸化对 HER2 的转录活化起重要作用^[18]。

3 基因组印记

基因组印记是一种在胚胎发育早期形成的基因组 DNA 水平对双亲等位基因特异性的修饰作用,即控制某一表型的一对等位基因由于各自亲源的不同而差异性表达。其中父(母)系等位基因不表达者就称父(母)系印记。

DNA 甲基化是基因印记发生和维持的主要机制,包括在启动子区 CpG 岛上等位基因的差异甲基化如 H19, 和非启动子区的甲基化如胰岛素生长因子-2(insulin-like growth factor-2, IGF-2)。基因组印迹的异常有印记丢失(lost of imprinting, LOI)和杂合性丢失(lost of heterozygous, LOH)两种情况。印记丢失是父系或母系的印迹等位基因被重新活化表达,杂合性丢失是非印记的等位基因失活。印记基因对胚胎和胎儿出生后的生长发育有调节作用,其异常表达不仅可以影响胚胎发育,还可有出生后的发育异常和导致包括乳腺癌在内的多种肿瘤发生。

7 号染色体上的基因被认为与肿瘤的侵袭相关,定位于 7q32 的父系表达基因(paternaly expressed gene1, Peg1),同样在乳腺癌中有印记丢失。Inge 等^[19]采用 RT-PCR 法检测出 53 例乳腺癌患者中发生 PEG1 印记丢失的 7 例全部为转移性癌。母系印记基因 ARHI(aplysia ras homolog I)是 ras/rap 超家族成员之一,位于人染色体 1p31,属于小 GTP 结合蛋白,是该家族第一个被报道的肿瘤抑制基因。正常成人细胞中 ARHI 仅在父系等位基因中表达而母系等位基因静止^[20]。Dao 等^[21]利用实时定量 PCR 研究 ARHI 在不同细胞株中的表达,发现:在仅提供人 1 号染色体母系等位基因的鼠 A9 细胞, ARHI 基因的 CpG 岛均完全甲基化,不表达;仅提供父系等位基因的细胞全部表达;6 株正常乳腺上皮细胞全为部分甲基化(母系等位基因),9 株乳腺癌细胞中的 7 株杂合性丢失。ARHI 基因参与了乳腺癌的发生和发展,40% 的乳腺癌细胞和 70% 的侵袭性乳腺癌细胞因甲基化而转录表达沉默^[22],它的失表达可能与乳腺癌的转移机制有关。

IGF-2 和 H19 是最常见的印记基因,二者在染色体上的位置相邻,经常在

卵巢癌、大肠癌、膀胱癌等肿瘤中同时发生 LOI。IGF-2 具有促生长作用,如果发生 LOI 变成双等位基因表达势必造成表达产物量的增加,促进癌细胞异常生长。Roosendaal 等^[23]发现 IGF-2 的 LOI 不仅存在于乳腺癌组织,也存在于相邻的正常组织,因此它可能是乳腺癌发生的早期事件,但是 H19 在乳腺癌中却尚未发现有 LOI 现象。

4 非编码 RNA

非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)指不具有蛋白编码功能的 RNA 分子,但 ncRNA 在基因剪接、RNA 核苷酸修饰、基因表达、蛋白质合成和蛋白质转运等生物学过程起重要作用。微小 RNA(MicroRNA, miRNA)是一类与肿瘤关系密切的调控基因表达的非编码 RNA,因为其特有的 RNA 干扰(RNA interfering, RNAi)作用而备受关注,近年来研究进展最快。

miRNA 是长约 21 ~ 25 nt 的单链 RNA。目前发现人体中的 miRNA 有 200 多种,其中 50% 定位于易发生结构改变的染色体区域,如脆性位点、缺失区或扩增区^[24]。miRNA 通过与靶 mRNA 的 3' 非翻译区(3'-untranslated region, 3'-UTR)互补或部分互补,使其降解,阻止靶基因的翻译。一个 miRNA 往往对应多个靶 mRNA。根据靶基因(癌基因或抑癌基因)的不同,miRNA 发挥促癌或抑癌作用。例如肉瘤病毒 Yamaguchi 致癌基因同源体(Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog, YES)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)、细胞周期启动子 cyclin D2 和 cyclin L1、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)、MAP3K3/MAP3K4 都是 mir-145 的潜在靶点;FMS 相关酪氨酸激酶-1(fms-related tyrosine kinase 1, FLT1)、含 SH2 域的转化蛋白-1(src homology 2 domain containing transforming protein 1, SHC1)、肉瘤病毒 CT10 致癌基因同源体(sarcoma virus CT10 oncogene homolog, v-Crk)等癌基因是 mir10 的潜在靶点;细胞因子信号传导抑制蛋白-1(suppressor of cytokine signaling-1, SOCS1)、结肠腺瘤性息肉病基因(adenomatous polyposis coli, APC)、细胞周期调节蛋白 WEE1 等抑癌基因是 mir155 的潜在靶点等。mir-10b、mir-125b、mir-145 在乳腺癌中表达下调, mir-21、mir-155 表达上调, mir-9-3 在高度侵犯血管和淋巴结的转移性乳腺癌中表达下调。mir-145 和 mir-21 从正常组织到增殖指数较高和晚期的乳腺癌组织中分别有显著而渐进的表达下调和上调^[25],表明 miRNA 的表达失调可能是影响乳腺癌进展的重要因素。

5 表观遗传与乳腺癌的治疗

如上所述,表观遗传本质上是动态可逆的生物学改变,因此逆转异常的表观遗传修饰为肿瘤的治疗提供了新思路。目前抗乳腺癌的表观遗传学研究主要集中在抑制 DNMTs 与 HDACs 活性和 RNA 干扰三方面。

特异性抑制 DNMTs 活性如竞争性底物(发夹式半甲基化寡核苷酸)、核苷酸类似物 5-氮杂胞苷(5-Azacytidine, 5-aza)和 5-氮脱氧胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-CdR)小分子抑制物、反义寡核苷酸等,可去除基因 CpG 岛的甲基化,使抑癌基因恢复肿瘤抑制功能。5-aza 可以有效抑制 DNMTs 的活性,减少 RAR- β 的启动子超甲基,使 RAR- β 在乳腺癌中表达上调,癌细胞侵袭力下降^[4]。对有 ARHI 杂和性丢失的乳腺癌细胞给予 5-Aza-CdR 治疗,还能恢复 ARHI 的印记^[3]。

组蛋白脱乙酰化酶抑制剂能抑制体内外瘤细胞的增殖,或诱发分化和凋亡。曲古抑菌素 A 和丁酸盐是目前应用最广泛的 HDACs 抑制剂。曲古抑菌素 A 可抑制 HDACs 对 ER 的去乙酰化作用,致敏 ER- α 阴性雌激素治疗应答的两株乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 Hs578T,上调 ER- β 的表达^[26]。有研究证明将 DNMTs 和 HDACs 抑制剂联合使用可以更有效地重新激活 ARHI、TIMP3 等抑癌基因^[27],促进肿瘤细胞的凋亡。

利用 RNA 干扰技术以特定的载体转运人工合成的小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 进入癌细胞,高效、特异、迅速地沉默靶基因,为肿瘤的基因治疗开辟了新的途径。Runx2 是骨发育的重要调节因子,在正常乳腺癌组织中也有较低水平的表达。有报道发现它在发生骨转移的乳腺癌和前列腺癌组织中有过表达^[28]。siRNA 干扰 Runx2 的 MDA-MB-231 细胞侵袭力下降 46%,同时与转移密切相关的 MMP9 基因也表达下调^[29]。Pan 等^[30]采用人工合成的靶向蛋白激酶 C- ϵ (protein kinase C epsilon, PKC- ϵ) 的 siRNA 转染 MDA-MB-231 细胞系,细胞增长率和迁移率均有显著下降,体内实验发现 siRNA 干扰 PKC- ϵ 的裸鼠,肿瘤的生长速度降低 87%,肺转移发生率下降 83%。这说明 RNA 干扰特定的靶基因能明显抑制乳腺癌细胞的增殖和转移,在乳腺癌治疗中也有广阔的应用前景。

6 结语

表观遗传学从与传统遗传学不同的角度阐明基因表达调控的机制。它的

异常对乳腺癌转移这一生物学行为的影响虽已受到重视,但还有许多作用机制待更进一步探索。另外,基于表观遗传学改变对乳腺癌的治疗及转移的控制尚处于实验阶段,如何有效地应用到临床,也需要更深入的研究。

参考文献

- [1] Wolff A P, Maltzke M A. Epigenetics: regulation through repression. *Science*, 1999, 286: 481 – 486.
- [2] Frühwald M C, Plass C. Global and gene-specific methylation patterns in cancer: aspects of tumor biology and clinical potential. *Mol Genet Metab*, 2002, 75: 1 – 16.
- [3] Paola P, Maria L P, Antonietta P G, *et al.* Nonrandom distribution of aberrant promoter methylation of cancer-related genes in sporadic breast tumors. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 5349 – 5354.
- [4] Jyoti M, Mustafa V, Megan M V, *et al.* Very high frequency of hypermethylated genes in breast cancer metastasis to the bone, brain, and lung. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 3104 – 3109.
- [5] Look M P, van Putten W L, Duffy M J, *et al.* Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94: 116 – 128.
- [6] Pouya P, Bernard T, Shafaat A R. Demethylation of urokinase promoter as a prognostic marker in patients with breast carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 3035 – 3041.
- [7] Ji H, Liu Y, Jia T. Identification of a breast cancer-specific gene. BCSG1, by direct differential cDNA sequencing. *Cancer Res*, 1997, 57: 759 – 764.
- [8] Anu G, Andrew K G, Lisa V. Hypomethylation of the synuclein γ gene CpG Island promotes its aberrant expression in breast carcinoma and ovarian carcinoma. *Cancer Res*, 2003, 63: 664 – 673.
- [9] Guillermo B, Andrea S, Joachim M, *et al.* Gadd45a promotes epigenetic gene activation by repair-mediated DNA demethylation. *Nature*, 2007, 445: 671 – 675.
- [10] Fatima B, Christopher B, Ranjaka G, *et al.* SWI/SNF chromatin-remodeling factors induce changes in DNA methylation to promote transcriptional activation. *Cancer Res*, 2005, 65: 3542 – 3547.
- [11] David S M, Li J W, Jiemin W. Relationship between histone H3 lysine 9 methylation, transcription repression, and heterochromatin protein 1 recruitment. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 2525 – 2538.
- [12] Gayther S A, Battey S J, Linger L, *et al.* Mutations truncating the EP300 acetylase in human cancer. *Nat Genet*, 2000, 24: 300 – 303.
- [13] Kawai H, Li H, Avraham S, *et al.* Overexpression of histone deacetylase HDAC1 modulates breast cancer progression by negative regulation of estrogen receptor α . *Int J Cancer*, 2003, 107: 353 – 358.
- [14] Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, *et al.* HDAC6 expression is correlated with better survival in breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 6962 – 6968.
- [15] William J M, Rajeev S S, James E H, *et al.* Breast cancer metastasis suppressor 1 (BRMS1) forms complexes with retinoblastoma-binding protein 1 (RBP1) and the mSin3 histone deacetylase complex and represses transcription. *J Biol Chem*, 2004, 279: 1562 – 1569.
- [16] Robert J K, Kenichi Y, Yangjin B, *et al.* The transcriptional repressor JHDM3A demethylates trimethyl histone H3 lysine 9 and lysine 36. *Nature*, 2006, 442: 312 – 316.
- [17] Kenichi Y, Keisuke T, Robert J K, *et al.* PLU-1 is an H3K4 demethylase involved in transcriptional repression and breast cancer cell proliferation. *Mol Cell*, 2007, 25: 801 – 812.
- [18] Sandip K M, Mahitosh M, Abhijit M, *et al.* Dynamic chromatin remodeling on the HER-2 promoter in human breast

- cancer cells. FEBS Letters, 2001, 507: 88 – 94.
- [19] Inge S P, Peter A D, Dennise B, *et al.* Frequent loss of imprinting of PEG1/MEST in invasive breast cancer. Cancer Res, 1999, 59: 5449 – 5451.
- [20] Luo R Z, Fang X, Marquez R, *et al.* ARHI is a Ras-related small G-protein with a novel N-terminal extension that inhibits growth of ovarian and breast cancers. Oncogene, 2003, 22: 2897 – 2909.
- [21] Bao J J, Le X F, Wang R Y, *et al.* Re-expression of the tumor suppressor gene ARHI induces apoptosis in ovarian and breast cancer cells through a caspase-independent calpain-dependent pathway. Cancer Res, 2002, 62: 7264 – 7272.
- [22] Jihong Y, Robert Z L, Satoshi F, *et al.* Aberrant methylation and silencing of ARHI, an imprinted tumor suppressor gene in which the function is lost in breast cancers. Cancer Res, 2003, 63: 4174 – 4180.
- [23] Roozendaal C E P, Gillis A J M, Klijn J G M, *et al.* Loss of imprinting of IGF2 and not H19 in breast cancer, adjacent normal tissue and derived fibroblast cultures. FEBS Letters, 1998, 437: 107 – 111.
- [24] Calin G A, Sevignani C, Dumitru C D, *et al.* Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 2999 – 3004.
- [25] Marilena V I, Manuela F, Chang Gong L, *et al.* MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. Cancer Res, 2005, 65: 7065 – 7070.
- [26] Jang E R, Lim S J, Lee E S, *et al.* The histone deacetylase inhibitor trichostatin A sensitizes estrogen receptor alpha-negative breast cancer cells to tamoxifen. Oncogene, 2004, 23: 1724 – 1736.
- [27] Zhu W G, Lakshmanan R R, Beal M D, *et al.* DNA methyltransferase inhibition enhances apoptosis induced by histone deacetylase inhibitors. Cancer Res, 2001, 61: 1327 – 1333.
- [28] Yeung F, Law W K, Yeh C H, *et al.* Regulation of human osteocalcin promoter in hormone-independent human prostate cancer cells. J Biol Chem, 2002, 277: 2468 – 2476.
- [29] Pratap J, Javed A, Languino L R, *et al.* The Runx2 osteogenic transcription factor regulates Matrix Metalloproteinase 9 in bone metastatic cancer cells and controls cell invasion. Mol Cell Biol, 2005, 25: 8581 – 8591.
- [30] Pan Q, Bao L W, Kleer C G, *et al.* Protein kinase C epsilon is a predictive biomarker of aggressive breast cancer and a validated target for RNA interference anticancer therapy. Cancer Res, 2005, 65: 8366 – 8371.

(收稿日期: 2007-11-19)

(本文编辑: 张毅)