

UHRF1通过miR-206调控ER α 表达促进甲状腺乳头状癌细胞增殖、侵袭和迁移

许琳婉 刘革力 苟茜 邱伊波 刘智敏*

(重庆医科大学分子医学与肿瘤研究中心, 重庆 400016)

摘要 该研究探讨了泛素样含PDH和环指域1(UHRF1)对甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)细胞增殖、侵袭和迁移的影响。应用Real-time PCR检测正常甲状腺细胞Nthy-ori3-1、甲状腺乳头状癌细胞BCPAP和K1中UHRF1 mRNA、miR-206和ER α mRNA的表达水平; Real-time PCR检测UHRF1过表达或干扰对miR-206和ER α mRNA的表达影响; MTT、Transwell检测UHRF1过表达或干扰对Nthy-ori3-1、BCPAP、K1细胞增殖、侵袭和迁移影响; Western blot和双荧光素酶报告实验分析miR-206与ER α 的靶向关系。结果表明, 与Nthy-ori3-1细胞相比, BCPAP和K1细胞中UHRF1 mRNA和ER α mRNA表达水平显著增高($P < 0.05$), 而miR-206表达水平显著降低($P < 0.05$); UHRF1过表达或干扰处理细胞后, miR-206表达水平与之变化趋势相反, 而ER α 表达水平与之变化趋势相同; UHRF1促进Nthy-ori3-1、BCPAP和K1细胞增殖、侵袭和迁移; Western blot和双荧光素酶报告实验证实, miR-206靶向ER α 基因并抑制其表达。以上结果说明, UHRF1可通过miR-206调控ER α 表达, 促进甲状腺乳头状癌细胞增殖、侵袭和迁移。

关键词 UHRF1; miR-206; ER α ; 甲状腺乳头状癌; 增殖; 侵袭; 迁移

UHRF1 Promotes Proliferation, Invasion and Migration of Papillary Thyroid Carcinoma Cells by miR-206 Regulated ER α

XU Linwan, LIU Geli, GOU Xi, QIU Yibo, LIU Zhimin*

(Institute of Molecular Medicine and Cancer, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract The aim of this study was to investigate the effects of UHRF1 (ubiquitin-like with PDH and ring finger domains 1) on proliferation, invasion and migration of PTC (papillary thyroid carcinoma) cells. The expression of UHRF1 mRNA, miR-206 and ER α mRNA in normal thyroid cells Nthy-ori3-1, thyroid papillary carcinoma cells BCPAP and K1 were detected by Real-time PCR. Real-time PCR was adopted to detect the expression of miR-206 and ER α mRNA after UHRF1 overexpression or interference treatment. After treatment of cells with overexpressed or interfered UHRF1, proliferation was examined by MTT while invasion and migration were determined by Transwell. Western blot and dual-luciferase reporter assay were used to verify the relationship between miR-206 and ER α . The results showed that the expression of UHRF1 mRNA and ER α mRNA in BCPAP and K1 cells was significantly higher than that in Nthy-ori3-1 cells ($P < 0.05$), while the expression of miR-206

收稿日期: 2019-09-25 接受日期: 2019-12-13

国家自然科学基金(批准号: 81272937)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13167897830, E-mail: liuzm9999@aliyun.com

Received: September 25, 2019 Accepted: December 13, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81272937)

*Corresponding author. Tel: +86-13167897830, E-mail: liuzm9999@aliyun.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5177>

was significantly lower than that in Nthy-ori3-1 cells ($P < 0.05$). After the cells were overexpressed or interfered by UHRF1, the expression level of miR-206 showed the opposite trend, while the expression level of ER α showed the same trend. UHRF1 promoted the proliferation, invasion and migration of Nthy-ori3-1, BCPAP and K1 cells. Western blot and dual-luciferase reporter assay confirmed that miR-206 targets ER α gene and inhibits its expression. Taken together, UHRF1 may promote the proliferation, invasion and migration of thyroid papillary carcinoma cells through the regulation of ER α expression by miR-206.

Keywords UHRF1; miR-206; ER α ; papillary thyroid carcinoma; proliferation; invasion; migration

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)约占甲状腺癌总数的80%,是最常见的一种甲状腺癌^[1],近年来,PTC的增长速度位居女性肿瘤首位^[2],目前已知PTC的发展与癌基因的表达改变有关^[3]。因此,积极寻找影响PTC发展的相关癌基因有助于为临床治疗PTC提供理论基础。

泛素样含PDH和环指域1(ubiquitin-like with PDH and ring finger domains 1, UHRF1)是一种重要的表观遗传调节因子,它参与体内多种生理过程,如调控细胞生长、维持细胞DNA甲基化及组蛋白修饰编码状态等^[4]。研究发现,UHRF1不仅在多种肿瘤细胞中呈高表达状态,而且还可与表观遗传抑制修饰酶相互作用,下调或沉默抑癌基因表达,具有促进肿瘤细胞增殖、阻止细胞分化的作用^[5]。此外,越来越多研究表明,非编码RNA的表达也受到表观遗传的调控^[6]。MicroRNAs(miRNAs)是一类进化保守约22个核苷酸的非编码小RNA,在肿瘤组织和细胞中一些miRNAs异常表达,与肿瘤发生发展密切相关^[7]。miR-206是新近发现的具有抑癌基因功能的小分子RNA,在乳腺癌^[8]、卵巢癌^[9]、神经胶质瘤^[10]等肿瘤细胞中表达下调。但PTC中UHRF1与miR-206的相关性国内外尚未有报道。

研究发现,miR-206主要通过直接靶向下游靶基因,抑制靶mRNA翻译或导致其降解,进而参与肿瘤发展过程^[8-10]。miR-206可靶向作用于雌激素受体并在雌激素相关肿瘤如乳腺癌的发展中起重要作用^[11]。雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α)是一种经典的核雌激素受体,我们前期研究发现,ER α 异常表达与甲状腺乳头状癌细胞增殖、侵袭及转移有关^[12],但PTC中miR-206和ER α 的作用机制尚不明确。

因此,本研究拟通过在正常甲状腺Nthy-ori3-1细胞中对UHRF1进行过表达,在甲状腺乳头状癌BCPAP和K1细胞中对UHRF1进行干扰,来探讨

UHRF1、miR-206及ER α 之间的相关性及其对细胞增殖、侵袭和迁移的影响,为深入治疗甲状腺乳头状癌提供新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂

人类PTC细胞株BCPAP和K1以及正常甲状腺来源的Nthy-ori3-1细胞由香港中文大学George G.Chen教授惠赠;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、RPMI-1640培养基、胰蛋白酶购自美国Gibco公司;RNA提取试剂盒和Real-time PCR相关试剂购自日本TaKaRa公司;转染试剂Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司;PCR引物由上海生工生物工程有限公司合成;RIPA裂解液、SDS-PAGE凝胶试剂盒和免疫印迹化学发光剂ECL、100 \times 青/链霉素混合液和结晶紫染色液购自上海碧云天生物技术研究;UHRF1表达载体、Empty vector、UHRF1-shRNA、Scrambled-shRNA、ER α 3'-UTR野生型和突变型双荧光素酶报告基因载体、miR-206 mimics及其阴性对照购自上海吉玛制药技术有限公司;MTT试剂盒购自美国Sigma公司;Transwell小室和Matrigel基质胶购自美国BD公司;双荧光素酶活性检测试剂盒购自北京Promega公司;兔抗人ER α 抗体、羊抗兔二抗购自美国Bioworld公司。

1.2 细胞培养及转染

将人甲状腺乳头状癌BCPAP和K1细胞及正常甲状腺Nthy-ori3-1细胞贴壁培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素的RPMI-1640培养基,在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的细胞培养箱环境下培养细胞,根据细胞生长状态换液或传代,随后取对数生长期的3种细胞按照Lipofectamine 2000使用说明书对细胞进行转染,其中将正常甲状腺细胞Nthy-ori3-1分为空白对照组(Veh)、Empty vector组和UHRF1 expression vector组,甲状腺乳头状癌细胞BCPAP和

K1分为空白对照组(Veh)、Scrambled-shRNA组和UHRF1-shRNA组, 转染48 h后收取细胞。

1.3 Real-time PCR检测UHRF1、ER α 和miR-206表达

首先用RNA提取试剂盒提取细胞总RNA, 逆转录成cDNA后用Real-time PCR方法检测Nthy-ori3-1、BCPAP和K1细胞中UHRF1 mRNA、miR-206和ER α mRNA的表达水平。引物序列如下, UHRF1上游引物为5'-CCA GCA GAG CAG CCT CAT C-3', 下游引物为5'-TCC TTG AGT GAC GCC AGG A-3'; miR-206上游引物为5'-CCA AAG CGG AGT CTC GCA T-3', 下游引物为5'-GCC TAG CAT CTT GCT TAG CTC-3'; ER α 上游引物为5'-ACC CAA ACA GAC CAT TCA ACG AA-3', 下游引物为5'-CGC CAG ACT AAG CCA ATC ATC AG-3'; GAPDH上游引物为5'-GCC AAA AGG GTC ATC ATC TC-3', 下游引物为5'-GTA GAG GCA GGG ATG ATG TTC-3'; U6上游引物为5'-GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA AAA T-3', 下游引物为5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'。以GAPDH或U6作为内参, 反应条件为95 °C预变性5 min; 95 °C变性30 s, 60 °C退火30 s, 72 °C延伸15 s(40个循环); 实验重复3次, 用公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算相对表达量。

1.4 MTT检测细胞增殖

将对数生长期的Nthy-ori3-1、BCPAP和K1细胞, 经胰酶消化后, 制成单细胞悬液, 以 5×10^3 个/孔的细胞数接种于96孔板, 培养于37 °C、5% CO₂孵育箱中, 孵育24 h; 细胞贴壁后分组处理细胞, 继续培养48 h, 每孔加入20 μ L MTT(5 mg/mL)继续培养4 h。终止培养弃去培养液, 每孔加入150 μ L DMSO, 充分溶解, 振荡10 min, 显色, 570 nm处测定光密度(D)值, 导出结果。实验重复3次。

1.5 Transwell检测细胞侵袭和迁移

侵袭实验: 无血清RPMI-1640培养基按8:1稀释Matrigel胶后, 每孔均匀铺入60 μ L到Transwell小室上室中, 小室放于24孔培养板中, 37 °C孵育1 h。分别收集对照组和实验组转染24 h后的细胞。将 1×10^5 个/孔接种于上室, 并加入100 μ L RPMI-1640无血清培养基, 将600 μ L含10% FBS的RPMI-1640培养基加入下室。37 °C孵育培养24 h后甲醇固定30 min, 0.1%结晶紫染色10 min, 计数光镜下随机选取的5个视野, 实验重复3次。

迁移实验: 实验不铺Matrigel胶, 取出在37 °C、

5% CO₂环境下培养24 h后的小室, 其余步骤与侵袭实验一致。

1.6 双荧光素酶报告实验

通过TargetScan软件预测分析miR-206与ER α 的结合位点, 设计合成含有miR-206结合位点的ER α 3'-UTR片段及突变后的ER α 3'-UTR片段, 分别克隆到pmirGLO双荧光素酶报告基因载体, 构建ER α 3'-UTR双荧光素酶报告基因野生型载体(ER α 3'-UTR-Wt)及突变型载体(ER α 3'-UTR-Mut)。用转染试剂Lipofectamine 2000分别将这两种重组载体质粒与miR-206 mimics或阴性对照(miR-NC)共转染BCPAP细胞, 转染48 h后, 利用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测细胞荧光素酶活性。

1.7 Western blot检测蛋白表达

用RIPA裂解液提取细胞总蛋白, 同时测定蛋白浓度。配置分离胶和浓缩胶后, 每孔加入30 μ g蛋白进行电泳, 随后将分离的目的条带电转移到PVDF膜上, 5%的脱脂奶粉封闭PVDF膜2 h, PBST洗膜后放入一抗稀释液4 °C孵育过夜, PBST洗膜后再将膜放入二抗稀释液37 °C孵育2 h, PBST洗膜后发光显影, 分析实验数据, 实验重复3次。

1.8 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件进行分析, 数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 实验分别重复3次, 采用t检验、单因素方差分析统计学方法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UHRF1、miR-206和ER α 在Nthy-ori3-1、BCPAP和K1细胞中的表达

Real-time PCR结果显示, 与正常甲状腺细胞Nthy-ori3-1相比, 甲状腺乳头状癌细胞BCPAP和K1中UHRF1 mRNA、ER α mRNA表达水平显著增高($P < 0.05$, 图1A和图1C), 而miR-206表达水平显著降低($P < 0.05$, 图1B)。以上结果说明, 在甲状腺乳头状癌细胞中, UHRF1 mRNA与ER α mRNA高表达, 而miR-206低表达。

2.2 UHRF1过表达或干扰对细胞中miR-206和ER α 表达的影响

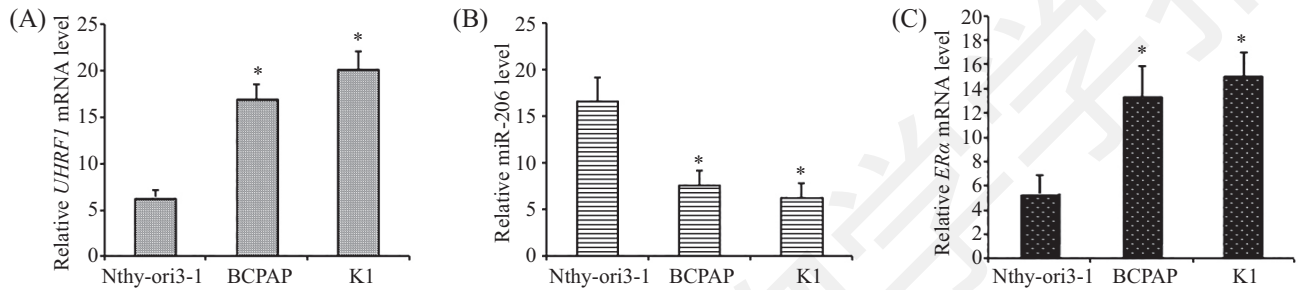
为了探究UHRF1对miR-206和ER α 表达水平的影响, 我们用UHRF1表达载体产生了过表达UHRF1的正常甲状腺细胞Nthy-ori3-1, 用UHRF1-shRNA

载体产生了干扰UHRF1的甲状腺乳头状癌细胞BCPAP和K1, Real-time PCR检测细胞中miR-206和ERα mRNA表达水平。结果显示,与Veh组和Empty vector组相比,获得UHRF1过表达的Nthy-ori3-1细胞miR-206表达水平显著降低($P < 0.05$, 图2),而ERα mRNA表达水平显著升高($P < 0.05$, 图3);反之,与Veh组和Scrambled-shRNA组相比,获得UHRF1干扰的BCPAP和K1细胞miR-206表达水平显著升高

($P < 0.05$, 图2),而ERα mRNA表达水平显著降低($P < 0.05$, 图3)。以上结果说明,在正常甲状腺细胞和甲状腺乳头状癌细胞中,UHRF1抑制miR-206表达的同时上调ERα mRNA表达。

2.3 UHRF1过表达或干扰对细胞增殖、侵袭和迁移的影响

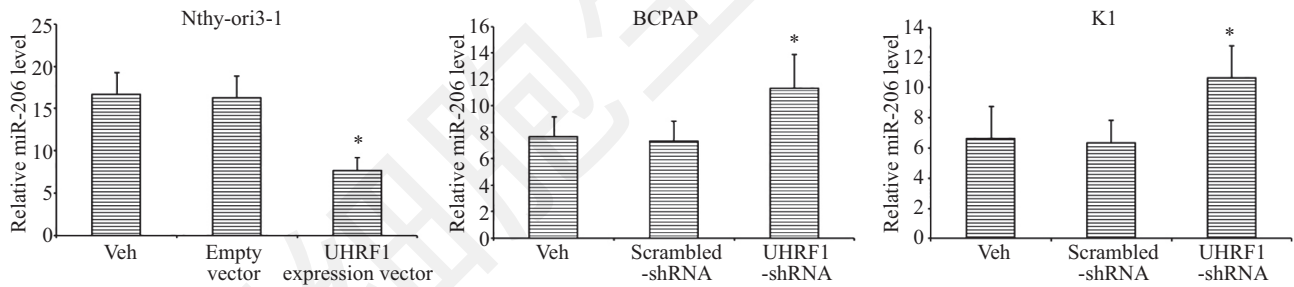
为了探讨UHRF1对细胞增殖、侵袭和迁移的影响,我们用UHRF1表达载体产生了过表达UHRF1



A: UHRF1 mRNA相对表达量; B: miR-206相对表达量; C: ERα mRNA相对表达量。* $P < 0.05$,与Nthy-ori3-1细胞比较。
A: relative UHRF1 mRNA level; B: relative miR-206 level; C: relative ERα mRNA level. * $P < 0.05$ compared with the Nthy-ori3-1 cells.

图1 Real-time PCR检测三种细胞中UHRF1、miR-206和ERα的表达

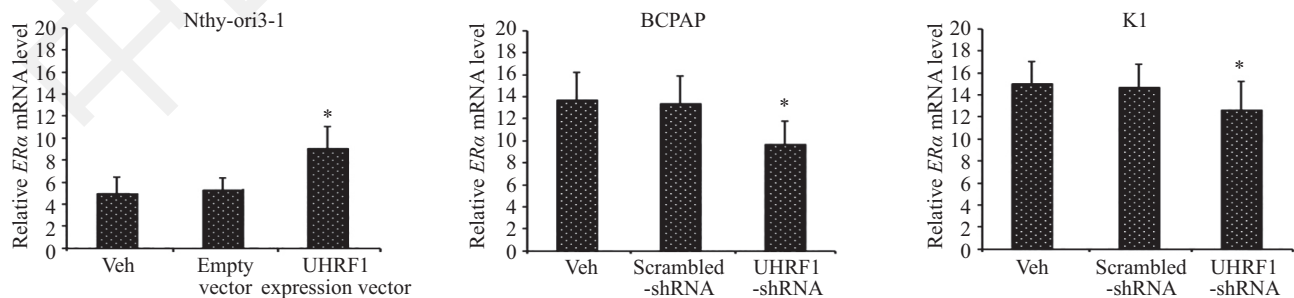
Fig.1 Detection of the expression of UHRF1, miR-206 and ERα in three cells by Real-time PCR



* $P < 0.05$,与Veh组和Empty vector组/Scrambled-shRNA组比较。
* $P < 0.05$ compared with the Veh group and Empty vector group/Scrambled-shRNA group.

图2 UHRF1对细胞中miR-206表达的影响

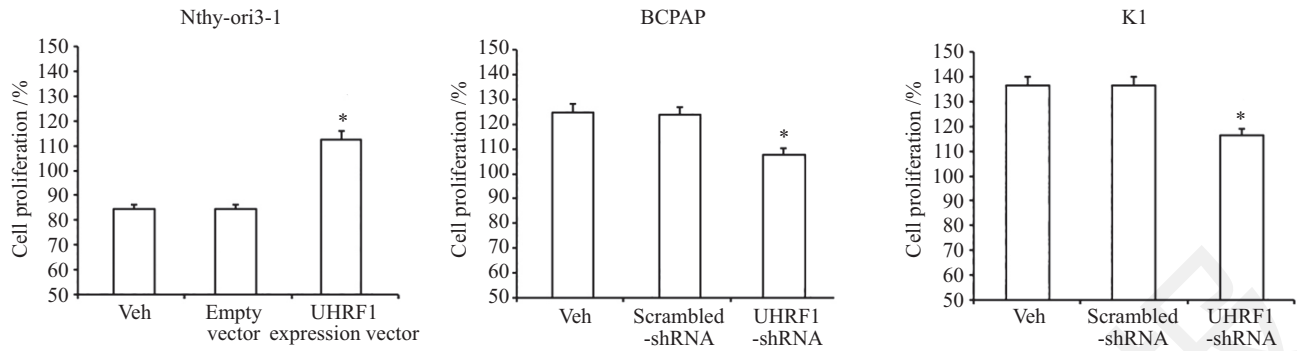
Fig.2 Effects of UHRF1 on the expression of miR-206 in cells



* $P < 0.05$,与Veh组和Empty vector组/Scrambled-shRNA组比较。
* $P < 0.05$ compared with the Veh group and Empty vector group/Scrambled-shRNA group.

图3 UHRF1对细胞中ERα表达的影响

Fig.3 Effects of UHRF1 on the expression of ERα in cells



* $P < 0.05$, 与Veh组和Empty vector组/Scrambled-shRNA组比较。

* $P < 0.05$ compared with the Veh group and Empty vector group/Scrambled-shRNA group.

图4 UHRF1过表达或干扰对Nthy-ori3-1、BCPAP、K1细胞增殖的影响

Fig.4 Effects of UHRF1 overexpression or interference on proliferation of Nthy-ori3-1, BCPAP and K1 cells

的正常甲状腺细胞Nthy-ori3-1, 而用UHRF1-shRNA载体产生了干扰UHRF1的甲状腺乳头状癌细胞BCPAP和K1, 利用MTT、Transwell检测细胞增殖、侵袭和迁移。结果显示, 与Veh组和Empty vector组相比, 获得UHRF1过表达的Nthy-ori3-1细胞增殖($P < 0.05$, 图4)、侵袭($P < 0.05$, 图5A和图5B)和迁移($P < 0.05$, 图5C和图5D)水平显著增高; 反之, 与Veh组和Scrambled-shRNA组相比, 获得UHRF1干扰的BCPAP和K1细胞增殖($P < 0.05$, 图4)、侵袭($P < 0.05$, 图5A和图5B)和迁移($P < 0.05$, 图5C和图5D)水平显著降低。以上结果说明, UHRF1促进正常甲状腺细胞和甲状腺乳头状癌细胞增殖、侵袭和迁移。

2.4 miR-206与ER α 的靶向关系

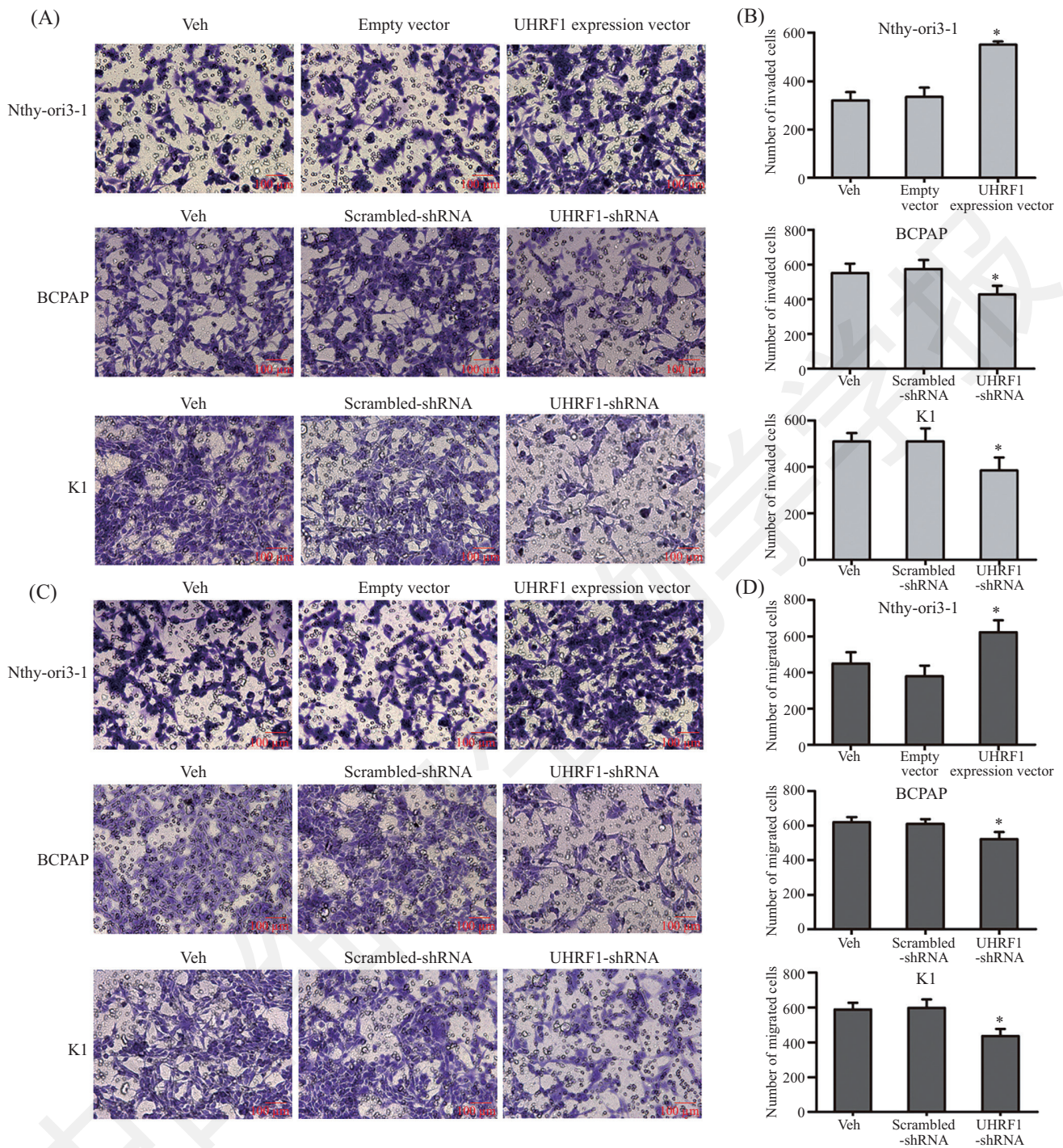
为了探究miR-206与ER α 的关系, 我们通过TargetScan(<http://www.targetscan.org/>)靶基因预测软件分析发现, miR-206与ER α 的3'-UTR区可互补结合(图6A)。进一步通过双荧光素酶报告实验, 将ER α 3'-UTR-Wt和ER α 3'-UTR-Mut与miR-206 mimics或miR-NC共转染BCPAP细胞。结果显示, miR-206 mimics组与miR-NC组相比, 转入ER α 3'-UTR-Wt后的BCPAP细胞荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$, 图6B), 而转入ER α 3'-UTR-Mut后的BCPAP细胞荧光素酶活性差异无统计学意义($P > 0.05$)。Western blot结果也显示, 与miR-NC组相比, miR-206 mimics组的ER α 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$, 图6C)。以上结果说明, 在甲状腺乳头状癌细胞中, miR-206靶向ER α 基因并抑制其表达。

3 讨论

PTC是近年来发病率增长较快的内分泌恶性肿瘤之一, 虽然多数预后较好, 但仍有部分PTC患者复

发率高, 其淋巴结转移是导致PTC复发以及预后不良的重要因素。因此, 深入研究PTC的发病机制, 寻找与PTC细胞侵袭转移相关的癌基因有助于为PTC的靶向治疗提供合理方案。

UHRF1又被称为ICBP90或Np95, 是UHRF家族成员之一, 其主要的功能结构域包括UBL(ubiquitin-like domain)结构域、TTD(tandem tudor domain)结构域、PDH(plant homeodomain)结构域、SRA(SET and RING-associated domain)结构域和RING(really interesting new gene)结构域^[13]。UHRF1已被证实与乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌的不良预后及侵袭转移相关。在乳腺癌中, 过表达UHRF1可增强其侵袭迁移^[14]; 在卵巢癌中, UHRF1的抑制可能导致细胞凋亡^[15]; 下调UHRF1表达可诱导宫颈癌细胞凋亡并抑制肿瘤发生^[16], 这提示, UHRF1可能参与多种肿瘤的发生和发展过程。但UHRF1在PTC中的具体作用机制尚不明确。本实验以正常甲状腺细胞Nthy-ori3-1、甲状腺乳头状癌细胞BCPAP和K1为研究对象, 发现UHRF1在甲状腺乳头状癌细胞中异常高表达, 且沉默UHRF1可抑制甲状腺乳头状癌细胞增殖、侵袭和迁移, 这说明UHRF1可作为癌基因参与甲状腺乳头状癌的发生以及发展。近年来多项研究表明^[5], UHRF1主要通过表观遗传学机制参与肿瘤的恶性进展过程, 有趣的是, UHRF1可利用其特有的功能结构域招募组蛋白脱乙酰化酶1(histone deacetylase 1, HDAC1)、DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)等表观遗传抑制因子结合到抑癌基因(tumor suppressor gene, TSG)的启动子上, 形成抑制性复合体以保证肿瘤细胞TSG表达下调或沉默, 使得TSG保持抑制状态, 进而参与肿瘤的发生发



A、B: Transwell检测UHRF1过表达或干扰对Nthy-ori3-1、BCPAP和K1细胞侵袭的影响; C、D: Transwell检测UHRF1过表达或干扰对Nthy-ori3-1、BCPAP和K1细胞迁移的影响。* $P < 0.05$, 与Veh组和Empty vector组/Scrambled-shRNA组比较。

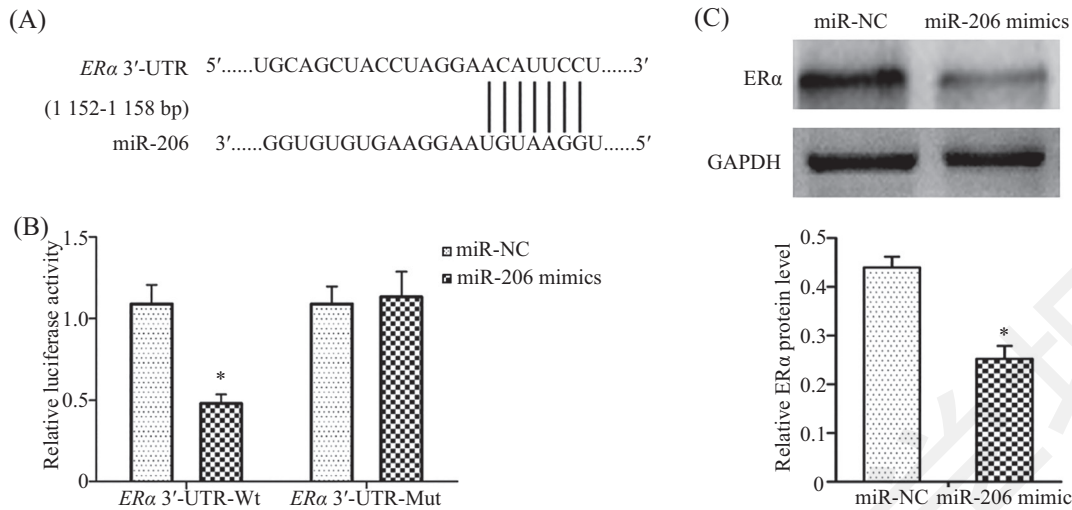
A,B: the effect of UHRF1 overexpression or interference on the invasion in Nthy-ori3-1, BCPAP and K1 cells detected by Transwell; C,D: the effect of UHRF1 overexpression or interference on the migration in Nthy-ori3-1, BCPAP and K1 cells detected by Transwell. * $P < 0.05$ compared with the Veh group and Empty vector group/Scrambled-shRNA group.

图5 UHRF1过表达或干扰对Nthy-ori3-1、BCPAP、K1细胞侵袭和迁移的影响

Fig.5 Effects of UHRF1 overexpression or interference on invasion and migration of Nthy-ori3-1, BCPAP and K1 cells

展过程。由于大多数miRNAs在细胞核由RNA聚合酶II催化以初级转录体(pri-miRNAs)的形式转录产生, 因此, 如同蛋白编码抑癌基因一样, 肿瘤中抑癌

性miRNAs表达下调与表观遗传抑制密切相关^[17]。例如, miR129-2是一种公认的肿瘤抑制性miRNAs, 在血液系统恶性肿瘤中由于启动子甲基化而表达



A: TargetScan预测miR-206靶向ERα; B: 双荧光素酶报告实验验证miR-206靶向ERα基因; C: Western blot检测miR-206对ERα蛋白表达的影响。*P<0.05, 与miR-NC组比较。

A: TargetScan predicts that miR-206 targets ERα; B: dual-luciferase reporter assays verified that miR-206 targets ERα; C: the effect of miR-206 on the expression of ERα protein detected by Western blot. *P<0.05 compared with the miR-NC group.

图6 miR-206与ERα的靶向关系

Fig.6 Targeting relationship between miR-206 and ERα

下调, 而其重新表达后能诱导细胞死亡^[18]。研究报道, miR-206位于人染色体6p12.2, 在乳腺癌中, 上调miR-206表达抑制乳腺癌细胞的侵袭转移^[8]; 在卵巢癌中, miR-206表达下调促进肿瘤细胞生长^[9], 提示miR-206具有抑癌基因的功能。为了探究PTC中UHRF1与miR-206间的关系, 我们对正常甲状腺细胞进行UHRF1过表达处理后, 发现miR-206表达下调; 对甲状腺乳头状癌细胞进行UHRF1干扰处理后, 发现miR-206表达上调, 这表明, 在甲状腺乳头状癌细胞中, UHRF1可抑制miR-206的表达水平, 此结果与上述文献报道一致。但其具体的分子调控机制仍需进一步调查研究。

据报道, miR-206以序列专一性方式互补结合到靶mRNA的3'端非翻译区, 抑制靶mRNA翻译或导致其降解, 使目的mRNA表达水平发生改变^[8-10]。有研究表明, miR-206在ERα阴性的乳腺癌组织中表达上调, 在ERα阳性的乳腺癌组织中表达降低, miR-206表达与ERα mRNA表达呈负相关^[9], 这说明, miR-206可能有调节ERα表达的作用。而本研究双荧光素酶报告分析miR-206能特异性结合到ERα 3'-UTR, 进一步Western blot结果证实, 过表达miR-206下调ERα蛋白表达水平。由此推测, 在PTC中miR-206直接靶向ERα并抑制其表达, 二者呈负向调控关系。ERα是一种雌激素受体, 与雌激素相关肿瘤细胞增生、凋亡、

恶性转化等有关。有数据显示, ERα在乳腺癌^[20]、卵巢癌^[21]、宫颈癌^[22]等恶性肿瘤中表达上调, 促进肿瘤细胞增殖和转移。本课题组前期研究也证实, ERα可促进甲状腺乳头状癌细胞增殖、侵袭和迁移^[12]。另外, 本研究Real-time RCR检测还发现, UHRF1抑制miR-206表达的同时上调ERα表达。因此我们认为, UHRF1可能通过表观遗传学修饰酶下调miR-206表达, 进而减弱了miR-206对ERα的靶向降解, 促进甲状腺乳头状癌的增殖、侵袭和迁移。

综上, 通过调节UHRF1表达调控miR-206和ERα表达水平, 改变PTC细胞增殖、侵袭迁移程度, 说明UHRF1有望成为PTC治疗和预后的一个潜在靶点。但UHRF1、miR-206和ERα之间的具体分子调控机制, 需要后续更为深入的研究, 这些研究将为PTC的诊断治疗提供更为广阔的前景。

参考文献 (References)

- [1] DALAL V, KAUR M, BANSAL A. Papillary carcinoma thyroid with anastomosing channels: An unusual morphology [J]. J Lab Physicians, 2017, 9(2): 140-42.
- [2] SIEGEL R, MA J, ZOU Z, et al. Cancer statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29.
- [3] ZHU P, LIAO L Y, ZHAO T T, et al. GPER/ERK&AKT/NF-κB pathway is involved in cadmium-induced proliferation, invasion and migration of GPER-positive thyroid cancer cells [J]. Mol Cell Endocrinol, 2017, 442: 68-80.
- [4] SIDHU H, CAPALASH N. UHRF1: The key regulator of epi-

- genetics and molecular target for cancer therapeutics [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(2): 1010428317692205.
- [5] ASHRAF W, IBRAHIM A, ALHOSINI M, et al. The epigenetic integrator UHRF1: on the road to become a universal biomarker for cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31): 51946-62.
- [6] 杨海彦, 陈杰. 长链非编码RNA、微小RNA与表观遗传学相互作用关系的研究进展[J]. *中华病理学杂志*(YANG H Y, CHEN J. Advances in the study of the relationship between lncRNA, microRNA and epigenetics [J]. *Chinese Journal of Pathology*), 2015, 44(12): 926-28.
- [7] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-22.
- [8] FAN C, LIU N, ZHENG D, et al. MicroRNA-206 inhibits metastasis of triple-negative breast cancer by targeting transmembrane 4 L6 family member 1 [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 6755-64.
- [9] 凌晨, 刘蜀, 王勇, 等. miR-206/CDK4信号在卵巢癌生长和化疗增敏中的作用[J]. *南方医科大学学报*(LING C, LIU S, WANG Y, et al. Role of miR-206/CDK4 in modulating the growth and chemotherapeutic sensitivity of ovarian cancer cells [J]. *Journal of Southern Medical University*), 2017, 37(3): 393-7.
- [10] ZHOU F, Cao W, Xu R, et al. MicroRNA-206 attenuates glioma cell proliferation, migration, and invasion by blocking the WNT/ β -catenin pathway via direct targeting of Frizzled 7 mRNA [J]. *Am J transl Res*, 2019, 11(7): 4584-601.
- [11] ADAMS B D, COWEE D M, WHITE B A. The role of miR-206 in the epidermal growth factor (EGF) induced repression of estrogen receptor-alpha (ERalpha) signaling and a luminal phenotype in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2009, 23(8): 1215-30.
- [12] QIU Y B, LIAO L Y, JIANG R, et al. PES1 promotes the occurrence and development of papillary thyroid cancer by upregulating the ERalpha/ERbeta protein ratio [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 1032.
- [13] BRONNER C, KRIFA M, MOUSLI M. Increasing role of UHRF1 in the reading and inheritance of the epigenetic code as well as in tumorigenesis [J]. *Biochem pharmacol*, 2013, 86(12): 1643-49.
- [14] GENG Y, GAO Y, JU H, et al. Diagnostic and prognostic value of plasma and tissue ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1 in breast cancer patients [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(2): 194-9.
- [15] YAN F, WANG X, SHAO L, et al. Analysis of UHRF1 expression in human ovarian cancer tissues and its regulation in cancer cell growth [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(11): 8887-93.
- [16] ZHANG Q, QIAO L, WANG X, et al. UHRF1 epigenetically down-regulates UbcH8 to inhibit apoptosis in cervical cancer cells [J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(3): 300-8.
- [17] 彭泉, 高文涛, 钱祝银. 肿瘤中miRNA表达与表观遗传学的关系[J]. *肿瘤防治研究*(PENG Q, GAO W T, QIAN Z Y. The relationship between miRNA expression and epigenetics in tumors [J]. *Cancer Research on Prevention and Treatment*), 2010, 37(12): 1449-52.
- [18] WONG K Y, YIM R L, KWONG Y L, et al. Epigenetic inactivation of the MIR129-2 in hematological malignancies [J]. *J Hematol Oncol*, 2013, 6: 16.
- [19] BENSEN J T, TSE C K, NYANTE S J, et al. Association of germline microRNA SNPs in pre-miRNA flanking region and breast cancer risk and survival: the Carolina Breast Cancer Study [J]. *Cancer Causes Control*, 2013, 24(6): 1099-109.
- [20] BLOOMFIELD M, LOUIE M C. Chronic cadmium exposure decreases the dependency of MCF7 breast cancer cells on ERalpha [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12135.
- [21] CZOGALLA B, KAHALY M, MAYR D, et al. Interaction of ERalpha and NRF2 impacts survival in ovarian cancer patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20: 1.
- [22] HOFSTJO A, BOHM-STARKE N, BERGMARK K, et al. Sex steroid hormone receptor expression in the vaginal wall in cervical cancer survivors after radiotherapy [J]. *Acta Oncol*, 2019, 58(8): 1107-15.