

·论著·

miR-660-5p 靶向 TET2 促进乳腺癌的增殖、迁移和侵袭

张秀娟¹, 何莉莉², 田 蜜³, 李 新²

(1. 复旦大学附属华东医院普外科, 上海 200040;

2. 荆门市人民医院甲乳外科, 湖北 荆门 448000;

3. 荆门市公安局法医鉴定中心, 湖北 荆门 448000)

摘要:目的 研究 miR-660-5p/TET2 通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调节乳腺癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的机制。方法 收集 2021 年 1 月-2022 年 6 月荆门市人民医院 65 例乳腺癌患者的乳腺癌组织和邻近正常组织样品, qPCR 实验检测 miR-660-5p 在乳腺癌组织和细胞系中的表达水平, Kaplan-Meier 生存分析和 Log-rank 检验分析 miR-660-5p 与患者临床病理特征的相关性; CCK8、流式细胞术和 Transwell 方法检测 miR-660-5p 对乳腺癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭情况; 双荧光素酶报告基因和蛋白质印迹实验明确 miR-660-5p 与 TET2 的关系; Western blot、CCK8 和 Transwell 实验明确 miR-660-5p 通过靶向 TET2 调节乳腺癌的进程; Western blot 实验检测 miR-660-5p/TET2 是否激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路; 动物成瘤实验证明敲低 miR-660-5p 在乳腺癌中的作用。结果 miR-660-5p 在乳腺癌组织中表达上调, 且 miR-660-5p 的高表达与乳腺癌的淋巴结转移 ($P=0.003$), 晚期 TNM 分期 ($P=0.009$) 和血管浸润 ($P=0.018$) 密切相关; 敲低 miR-660-5p 可抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭, 诱导乳腺癌细胞凋亡; TET2 是 miR-660-5p 的直接靶标, 干扰 TET2 可以部分逆转敲低 miR-660-5p 对乳腺癌细胞恶性潜能的抑制作用; miR-660-5p 下调 TET2 并激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路; 敲低 miR-660-5p 可抑制体内肿瘤生长。结论 miR-660-5p 通过靶向 TET2 和 PI3K/AKT/mTOR 信号通路来促进乳腺癌的进程, 可能是治疗乳腺癌的潜在靶标。

关键词: 乳腺癌; miR-660-5p; TET2; PI3K/AKT/mTOR 信号通路

中图分类号: R736.3

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.01.016

文章编号: 1006-1959(2024)01-0095-09

miR-660-5p Targets TET2 to Promote Breast Cancer Proliferation, Migration and Invasion

ZHANG Xiu-juan¹, HE Li-li², TIAN Mi³, LI Xin²

(1. Department of General Surgery, East China Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China;

2. Department of Thoracic and Breast Surgery, Jingmen People's Hospital, Jingmen 448000, Hubei, China;

3. Forensic Appraisal Center of Jingmen Public Security Bureau, Jingmen 448000, Hubei, China)

Abstract: Objective To study the mechanism of miR-660-5p/TET2 regulating the proliferation, apoptosis, migration and invasion of breast cancer cells through PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. **Methods** The samples of breast cancer tissues and adjacent normal tissues of 65 patients with breast cancer in Jingmen People's Hospital from January 2021 to June 2022 were collected. The expression level of miR-660-5p in breast cancer tissues and cell lines was detected by qPCR. Kaplan-Meier survival analysis and log-rank test were used to analyze the correlation between miR-660-5p and clinicopathological features of patients. The effects of miR-660-5p on the proliferation, apoptosis, migration and invasion of breast cancer cells were detected by CCK8, flow cytometry and Transwell methods. The relationship between miR-660-5p and TET2 was determined by dual luciferase reporter gene and Western blotting. Western blot, CCK8 and Transwell experiments were used to confirm that miR-660-5p regulated breast cancer progression by targeting TET2. Whether miR-660-5p/TET2 activated PI3K/AKT/mTOR signal pathway was detected by Western blot experiment. The effect of knockdown of miR-660-5p in breast cancer was further proved through animal tumor formation experiment. **Results** The expression of miR-660-5p was up-regulated in breast cancer tissues, and the high expression of miR-660-5p was closely related to the lymph node metastasis ($P=0.003$), advanced TNM staging ($P=0.009$) and vascular invasion ($P=0.018$) of breast cancer. Knockdown of miR-660-5p inhibited breast cancer cell proliferation, migration and invasion, and induced breast cancer cell apoptosis. TET2 was the direct target of miR-660-5p, interference with TET2 could partially reverse the inhibitory effect of knockdown miR-660-5p on the malignant potential of breast cancer cells. miR-660-5p down-regulated TET2 and activated PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Knockdown of miR-660-5p inhibited tumor growth *in vivo*. **Conclusions** miR-660-5p promotes breast cancer progression by targeting TET2 and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways, and may be a potential target for breast cancer treatment.

Key words: Breast cancer; miR-660-5p; TET2; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway

基金项目: 湖北省荆门市科技计划基金项目(编号: 2020YFYB012)

作者简介: 张秀娟(1987.3-), 女, 上海人, 本科, 护师, 主要从事甲乳肿瘤基础研究

通讯作者: 李新(1980.6-), 男, 湖北荆门人, 硕士, 副主任医师, 主要从事甲乳肿瘤基础研究

乳腺癌(breast cancer, BC)是女性中常见的高危恶性肿瘤,转移是乳腺癌患者死亡的常见原因。microRNA 是一类非编码 RNA,长度为 18~25 个核苷酸,参与许多癌症的发生和发展^[1],通过在转录后水平上调节基因的表达来发挥功能^[2,3]。miRNA 的异常表达可以作为多种癌症的诊断指标和预后生物标志物^[4],miR-660-5p 与乳腺癌细胞的增殖,迁移和侵袭密切相关^[5]。TET(ten-eleven translocation)蛋白家族是一类双加氧酶,包括 3 个成员(TET1, TET2 和 TET3)^[6,7]。TET2 在癌症中起抑制作用^[8],可促进乳腺癌的进展。PI3K/AKT/PKB/mTOR 信号通路与细胞分化,增殖和凋亡密切相关^[9-11],TET2 调节 PI3K/AKT 通路促进冠心病进展^[12],TET1 通过 PI3K/AKT 通路参与生殖衰老过程^[13]。最近的研究表明^[14-16],抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号传导是治疗乳腺癌的有效方法,但目前尚未阐明 TET 与 PI3K/AKT/mTOR 信号通路在乳腺癌中的作用机制。为此,本研究拟探索 miR-660-5p/TET2 通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调节乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的调控机制,为乳腺癌的治疗提供新的靶点和依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取 2021 年 1 月-2022 年 6 月荆门市人民医院 65 例从未在接受过化学、放疗或其他治疗的乳腺癌患者,获取 65 组乳腺癌组织和邻近的正常组织样品。获取组织后立即保存在-80℃冰箱中。本研究得到荆门市人民医院伦理委员会的批准,所有患者在进行根治性切除术之前均签署知情同意书。

1.2 细胞培养 人乳腺癌上皮细胞系 MCF-10A 和人乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDA-MB-231 均获自美国典型培养物保藏中心(ATCC, USA)。MCF-10A 细胞系用专用培养基培养(CM-0525)。10%胎牛血清的 DMEM(Gibco)用于培养乳腺癌细胞系。所有细胞系均在 37℃的 5%CO₂ 培养箱中培养。

1.3 细胞转染 TET2 特异性小分子干扰 RNA (si-TET2), 阴性对照(negative control, si-NC), TET2 过表达质粒(NCBI 参考序列: NM_001127208.3)和空载体(vector)是从上海 GenePharma 公司购买。miR-660-5p mimic, mimic NC, miR-660-5p inhibitor 和 inhibitor NC 购自广州 Ribobio 公司。转染时使用 Lipofectamine 3000 (Invitrogen)进行转染。

1.4 qRT-PCR 使用 TRIzol 溶液(Invitrogen)提取细胞总 RNA 样品。逆转录使用 M-MLV 逆转录酶试剂盒(Invitrogen)和 All-in-One™ miRNA First Stand cDNA 合成试剂盒(GeneCopoeia)进行。下面列出了从 GeneCopoeia 购买的特殊引物。SYBR Premix Taq™ II 试剂盒(Takara)用于 PCR 反应。通过 2^{-ΔΔCt} 方法分析了 miR-660-5p (以 U6 为内参)和 TET2 (以 GAPDH 为内参)的表达量^[17]。miR-660-5p (正向, 5'-TACCCATTGCATATCGGAGTTG-3'; 反向, 通用引物), TET2 (正向, 5'-GGACTGAGCTGCTGAATTCAACT-3'; 反向, 5'-CCTCAACATGGTTG-GTTCTATCC-3'), U6 (正向, 5'-CTCGCTTCG-GCAGCACA-3'; 反向, 5'-AAGCCTTCACGAATTTGCGT-3')和 GAPDH (正向, 5'-CTGGGC-TACACTGAGCACC-3'; 反向, 5'-AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG-3')。

1.5 Cell counting kit-8(CCK8) CCK8 试剂盒(Sigma)用于分析乳腺癌细胞的增殖能力。将乳腺癌细胞(5000 个细胞/孔)接种到 96 孔板中过夜。转染 24 h 后,将 10 μl CCK8 溶液与乳腺癌细胞在室温下孵育 2 h。使用酶标仪测量在 450 nm 下吸光度值。

1.6 流式细胞术 将乳腺癌细胞(3×10⁵ 细胞/孔)铺板到 6 孔板中过夜。转染 72 h 后,使用冷磷酸盐缓冲液(PBS)清洗乳腺癌细胞两次。乳腺癌细胞同时用 5 μl Annexin V 组合的 FITC 和 PI(Solarbio)染色,以标记磷脂酰丝氨酸(PS)和 DNA 含量。流式细胞仪用于区分早期(FITC+/PI-)和晚期凋亡细胞(FITC+/PI+)与正常和坏死细胞。

1.7 细胞迁移和侵袭 8 μmol/L 的 Transwell 小室(Corning)用于 Transwell 迁移和侵袭实验。在 Transwell 迁移实验中,转染 24 h 后,将乳腺癌细胞(1×10⁴ 细胞/100 μl 无血清培养基)接种到上室中,下室加入 500 μl 完全培养基。24 h 后,用 4%多聚甲醛(Sangon Biotech)固定 20 min,并用结晶紫(Sangon Biotech)染色 10 min。对 5 个随机视野中迁移的乳腺癌细胞的数量进行计数并取平均值。在侵袭试验中,将 40 μl BD Matrigel 基质在 1:8 的比例稀释,再接种乳腺癌细胞,其余步骤与迁移相同。

1.8 双荧光素酶报告基因实验 TET2 的 3'UTR 中的部分序列(基因 ID:54790;3'UTR 1502 位点至 1914 位; 413bp),克隆到 pmirGLO 载体(Promega)中以构建 TET2 WT 或 TET2 MUT。在 24 孔板中的乳

腺癌细胞中转染 10 nmol/L miR-660-5p mimic 或 mimic NC 和 40 ng TET2 WT 或 TET2 MUT。转染 48 h 后,用双荧光素酶报告基因试剂盒(Promega)和酶标仪(Plate Chameleon V)测量荧光素酶活性。海肾荧光素酶活性作为对照。

1.9 Western blot 乳腺癌细胞用 RIPA 裂解液(Beyotime)裂解。通过 SDS-PAGE 凝胶分离蛋白质样品。将蛋白质转移到 PVDF 膜(millipore)上。封闭 1 h 后,用以下抗体 TET2(ab94580,Abcam), GAPDH(ab37168,Abcam),p-AKT(T308,ab38449,Abcam),AKT(ab8805,Abcam),p-mTOR(ab109268,Abcam)或 mTOR(ab2732,Abcam)孵育过夜,HRP 结合的二抗(ab6721,Abcam)孵育 1 h。用增强的化学发光(ECL)系统分析蛋白质条带的强度。

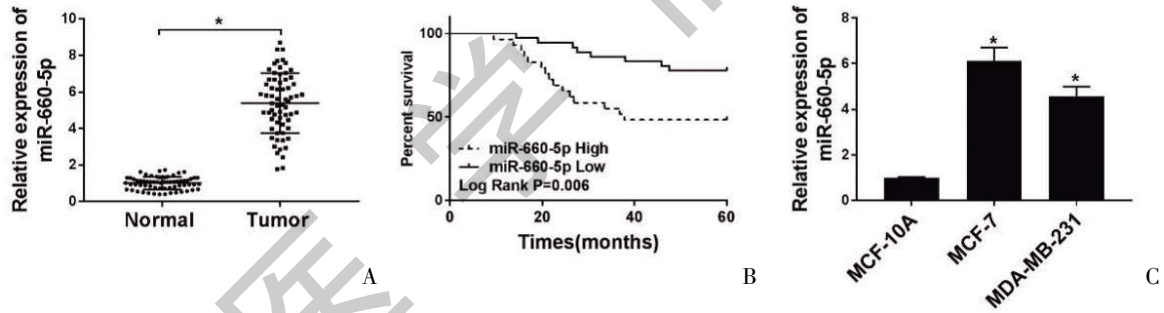
1.10 小鼠异种移植实验 裸鼠异种移植实验得到荆门市人民医院动物研究委员会的批准。使用 miR-660-5p inhibitor 或 inhibitor NC 转染 MCF-7 细胞或未转染的 MCF-7 细胞建立肿瘤异种移植模型。将上述 MCF-7 细胞(2×10^6 细胞/200 μ l PBS)皮下注射

到裸鼠($n=5$)背部的右侧,每周测量一次肿瘤体积。4 周后,处死裸鼠,记录肿瘤的重量。取肿瘤用于检测 miR-660-5p,TET2 的表达水平以及 PI3K/AKT / mTOR 信号通路蛋白的表达水平。

1.11 统计学方法 每个实验至少重复 3 次以上。所有统计数据以($\bar{x}\pm s$)表示,使用 t 检验和单向方差分析(ANOVA)。Kaplan-Meier 生存分析采用 Log-rank 检验方法,主要检测乳腺癌患者长期生存率。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-660-5p 在乳腺癌组织中的表达情况 qPCR 实验发现,miR-660-5p 在乳腺癌组织中表达高于癌旁组织(图 1A);miR-660-5p 高表达的患者存活率降低(图 1B)。正常人乳腺上皮细胞和乳腺癌细胞中 miR-660-5p 也上调(图 1C)。单因素分析显示,miR-660-5p 的表达与年龄、肿瘤大小和分化没有明显的相关性,而与淋巴结转移、临床 TNM 分期和血管浸润有关,见表 1。



注:A:qRT-PCR 检测 miR-660-5p 的基因表达水平;B:Kaplan-Meier 分析和 log-rank 检验方法分析乳腺癌患者的存活率;C:qRT-PCR 检测 miR-660-5p 的基因表达水平;* $P<0.05$

图 1 miR-660-5p 在乳腺癌组织中的表达情况

表 1 乳腺癌患者中 miR-660-5p 的表达水平[n(%)]

项目	n	miR-660-5p 表达		项目	n	miR-660-5p 表达	
		高(n=32)	低(n=33)			高(n=32)	低(n=33)
年龄(岁)				TNM 分期			
≥50	40(61.54)	22(55.00)	18(45.00)	I~II 期	35(53.85)	12(34.29)	23(65.71)
<50	25(38.46)	10(40.00)	15(60.00)	III~IV 期	30(46.15)	20(66.67)	10(33.33)
肿瘤大小(cm)				分化			
≥3	42(64.62)	23(54.77)	19(45.23)	高/中	28(43.08)	10(35.71)	18(64.28)
<3	23(35.38)	9(39.13)	14(60.87)	低	37(56.92)	22(59.46)	15(40.54)
淋巴结转移				血管侵入			
是	39(60.00)	25(64.10)	14(35.90)	是	29(44.62)	19(65.52)	10(34.48)
否	26(40.00)	7(26.92)	19(73.08)	否	36(55.38)	13(36.11)	23(63.89)

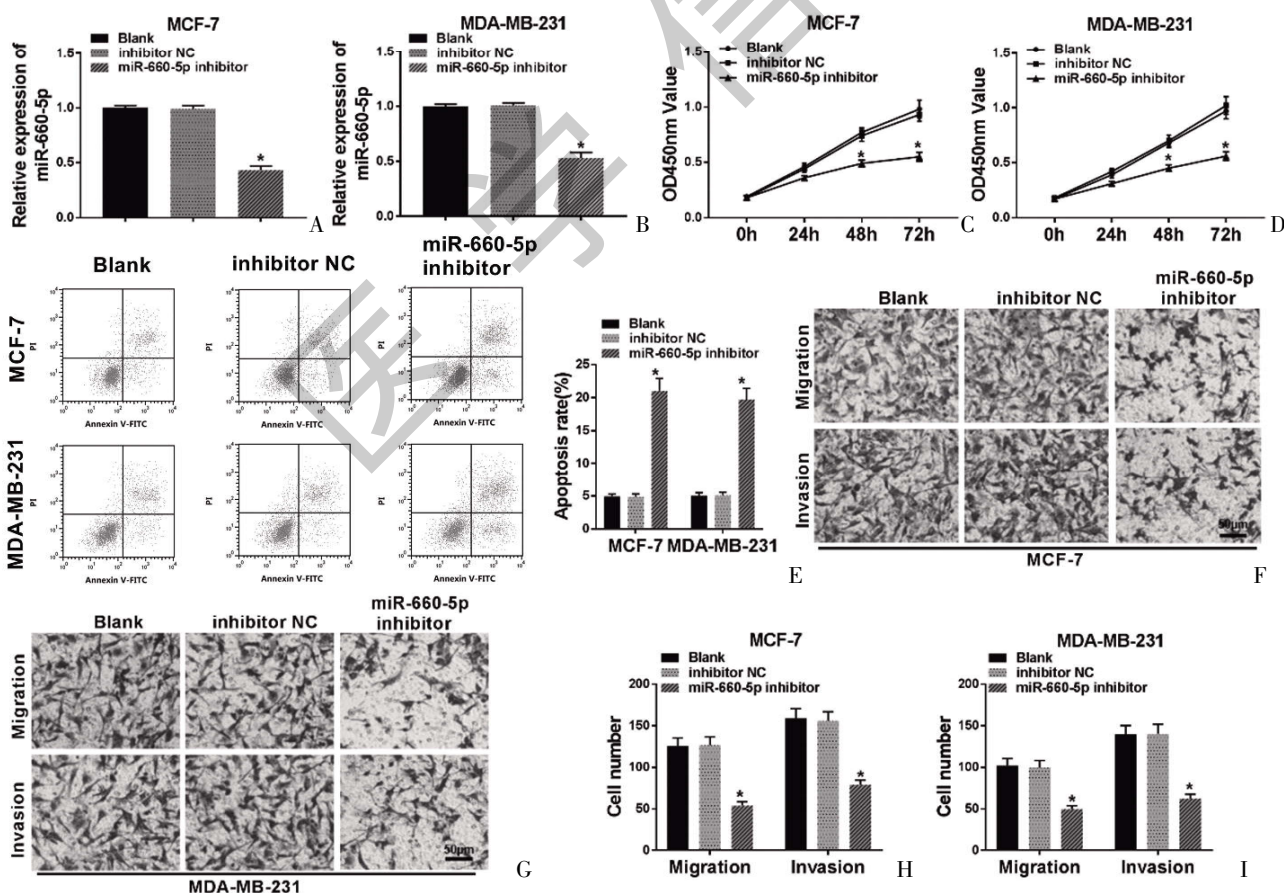
2.2 miR-660-5p inhibitor 对乳腺癌细胞的影响
miR-660-5p inhibitor 可以显著抑制 miR-660-5p 的表达(图 2A、图 2B)。CCK8 实验显示,乳腺癌细胞中 inhibitor 可以抑制乳腺癌细胞的增殖(图 2C、图 2D)。miR-660-5p inhibitor 还可以加速细胞的凋亡(图 2E)。miR-660-5p inhibitor 可以明显抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭(图 2F~图 2I)。

2.3 TET2 是 miR-660-5p 的直接靶标 TargetScan 软件预测下游靶基因,根据其序列构建双荧光素酶质粒(图 3A),双荧光素酶报告基因实验发现 miR-660-5p mimic 可明显降低荧光素酶活性(图 3B、图 3C)。蛋白质印迹发现 miR-660-5p mimic 可以降低 TET2 蛋白的表达水平, inhibitor 可以增加 TET2 蛋白的表达(图 3D、图 3E)。乳腺癌细胞和组织中 TET2 的表达水平都较正常乳腺上皮细胞低(图 3F、图 3G);TET2 的表达与 miR-660-5p 的表达呈负相关(图 3H)。

2.4 过表达 TET2 抑制乳腺癌细胞的生长、迁移和侵袭
实验构建成功表达 oeTET2 的质粒(图 4A、图 4B)。过表达 TET2 可以降低乳腺癌细胞的增殖能力(图 4C、图 4D),细胞凋亡显著增加(图 4E),抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭(图 4F、图 4G)。

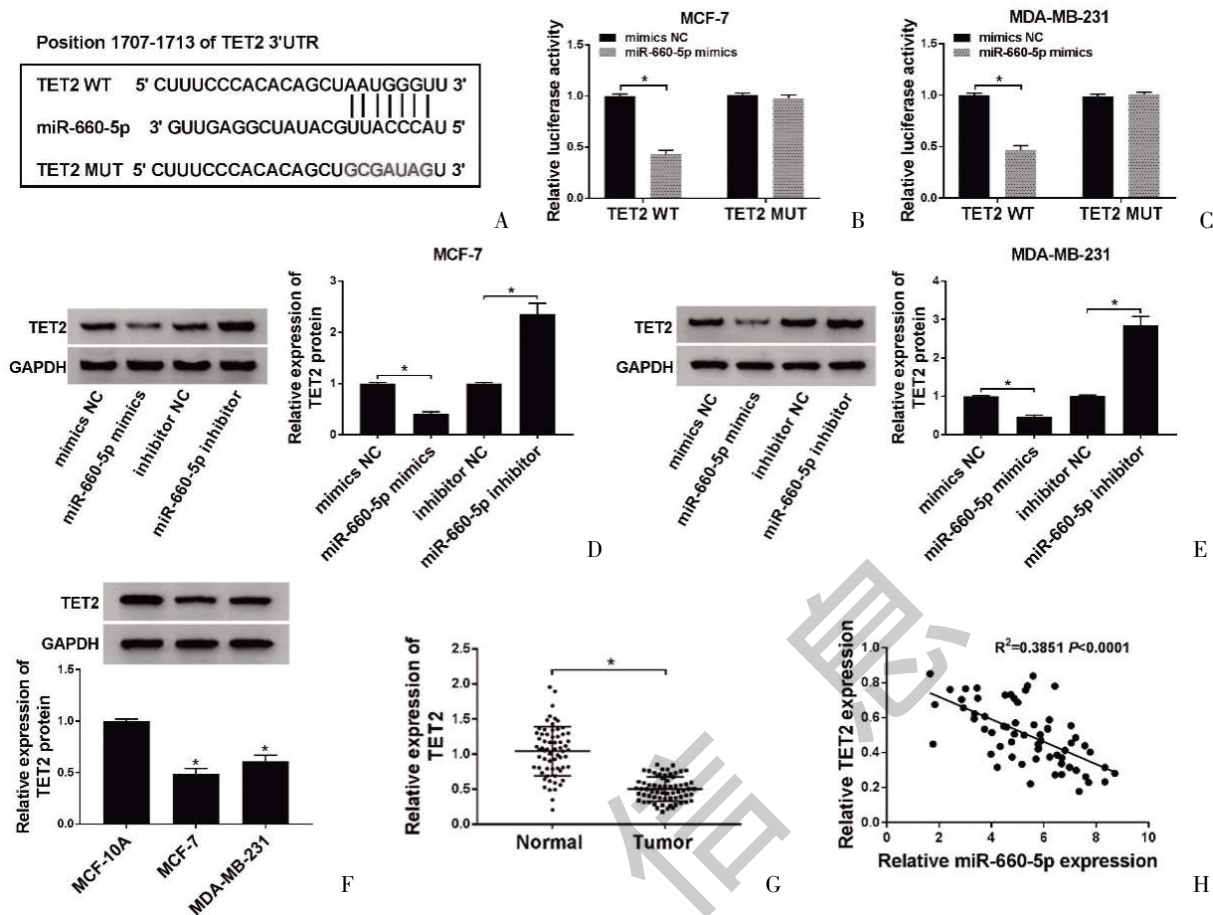
2.5 干扰 TET2 抑制 miR-660-5p inhibitor 介导乳腺癌的增殖、迁移和侵袭
si-TET2 抑制 miR-660-5p inhibitor 引起上调的 TET2 蛋白(图 5A)、细胞增殖(图 5B、图 5C)和细胞凋亡(图 5D);si-TET2 部分挽救被 miR-660-5p inhibitor 所抑制的细胞迁移和侵袭(图 5E、图 5F)。

2.6 miR-660-5p 靶向 TET2 参与乳腺癌细胞的分化
miR-660-5p inhibitor 抑制 N-cadherin 的表达, si-TET2 部分恢复 N-cadherin 的蛋白质表达;而 E-cadherin 的表达与 N-cadherin 呈相反的趋势(图 6A、图 6B)。



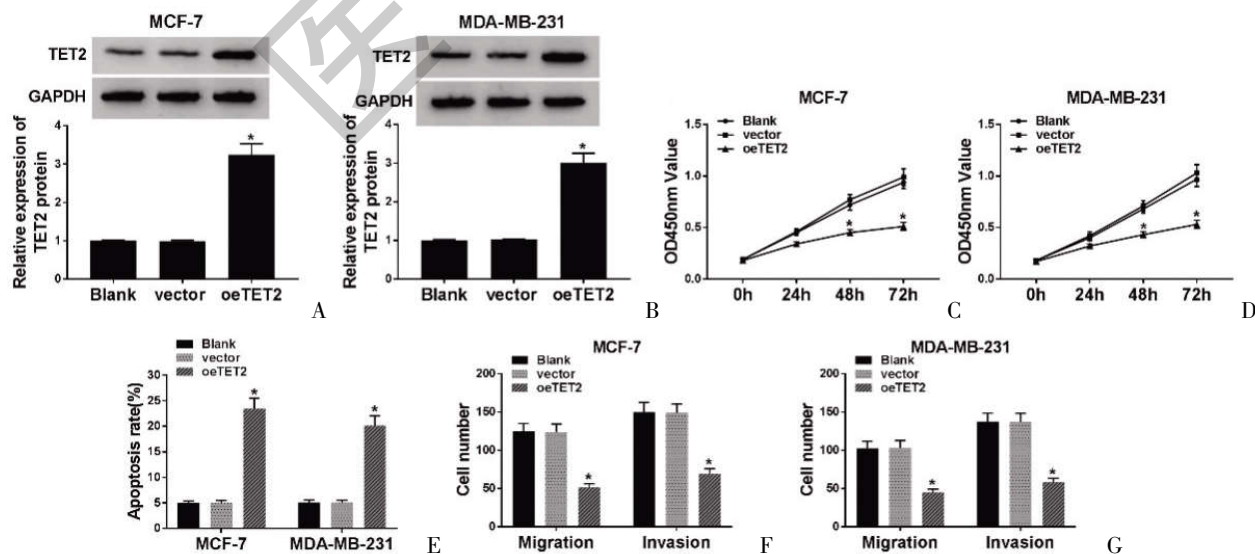
注: A、B: qRT-PCR 检测 miR-660-5p 的表达水平; C、D: CCK8 实验在 24 h、48 h 和 72 h 分别检测 450 nm 的吸光度值; E: 流式细胞术评估转染 72 h 后的细胞凋亡情况; F~I: Transwell 实验评估乳腺癌细胞的迁移和侵袭; * $P < 0.05$

图 2 miR-660-5p inhibitor 对乳腺癌细胞的影响



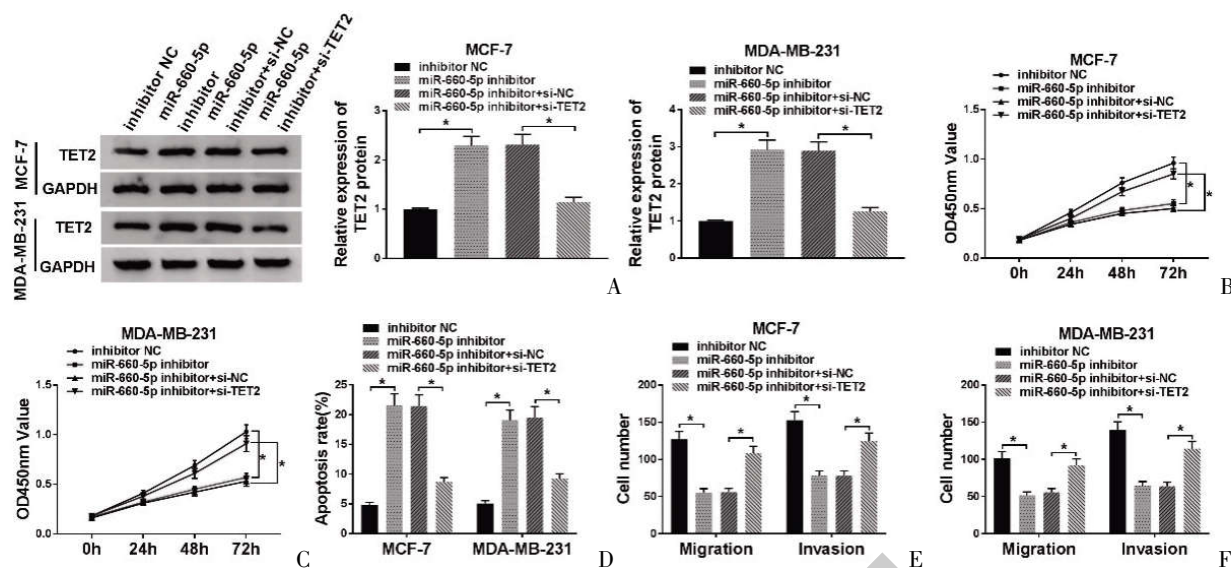
注:A:预测 miR-660-5p 和 TET2 WT 之间的结合位点;B、C:报告基因实验检测荧光素酶活性;D、E:Western 免疫印迹检测 TET2 的表达水平;G:qRT-PCR 检测 TET2 的表达;H:分析 miR-660-5p 与 TET2 之间的关系; * $P<0.05$

图 3 TET2 是 miR-660-5p 的直接靶标



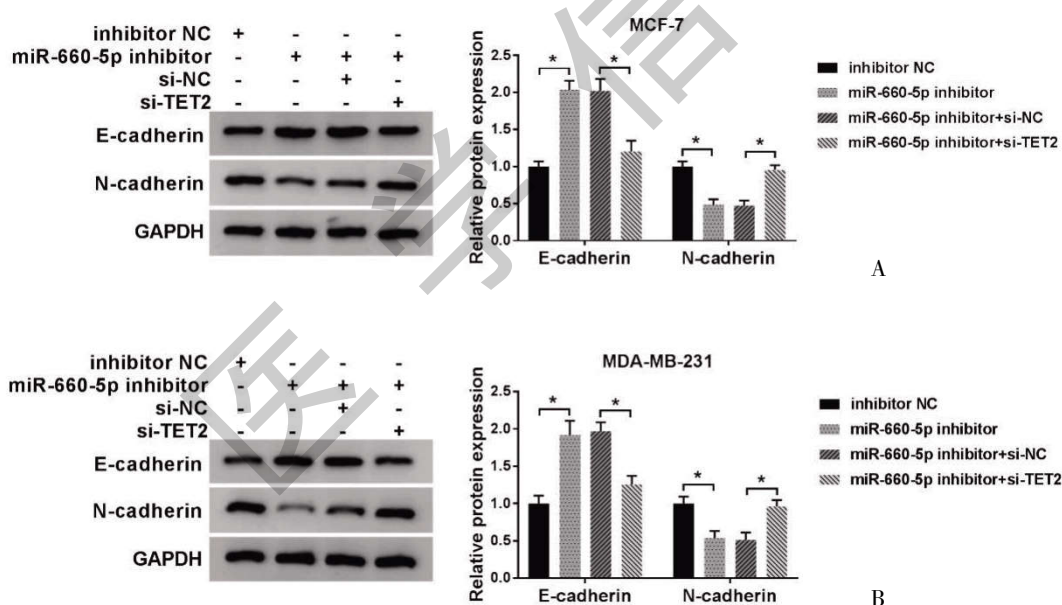
注:A、B:免疫印迹实验检测 TET2 的表达;C、D:CCK8 实验检测吸光度值;E:流式细胞术评估的细胞凋亡;F、G:transwell 方法评估细胞迁移和侵袭; * $P<0.05$

图 4 过表达 TET2 抑制乳腺癌细胞的生长、迁移和侵袭



注:A:Western blot 检测 TET2 的表达水平;B,C:CCK8 实验检测吸光度值;D:流式细胞术评估细胞凋亡;E,F:transwell 分析迁移和侵袭能力; *P<0.05

图 5 干扰 TET2 抑制 miR-660-5p inhibitor 介导乳腺癌的增殖、迁移和侵袭



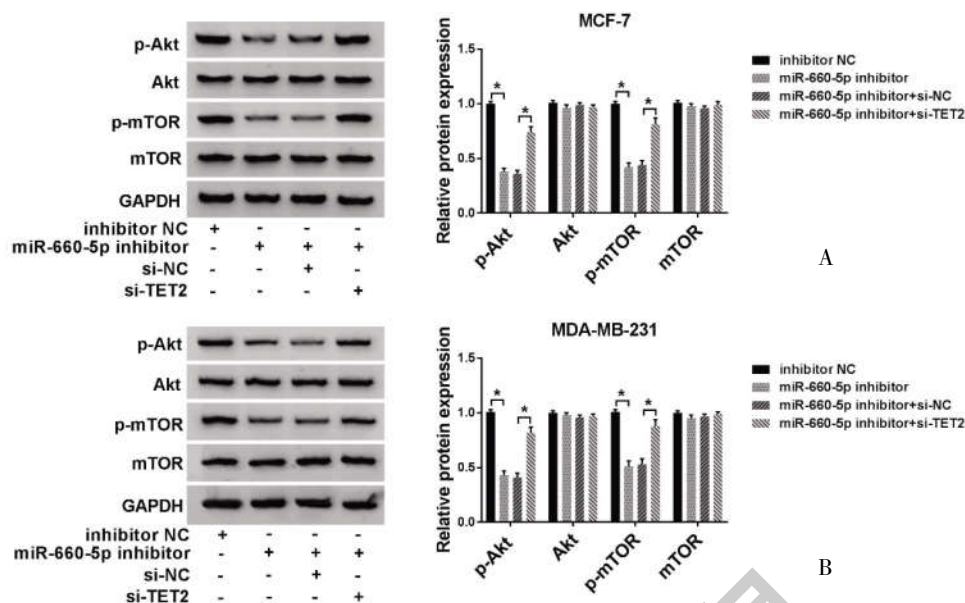
注:A,B:Western blot 检测 E-cadherin 和 N-cadherin 的蛋白表达; *P<0.05

图 6 miR-660-5p 靶向 TET2 参与乳腺癌细胞的分化

2.7 miR-660-5p 下调 TET2 并激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路 miR-660-5p inhibitor 下调 AKT 和 mTOR 的磷酸化水平,总的 AKT 和 mTOR 蛋白表达没有变化,而 si-TET2 部分挽救 AKT 和 mTOR 的磷酸化(图 7A、图 7B)。

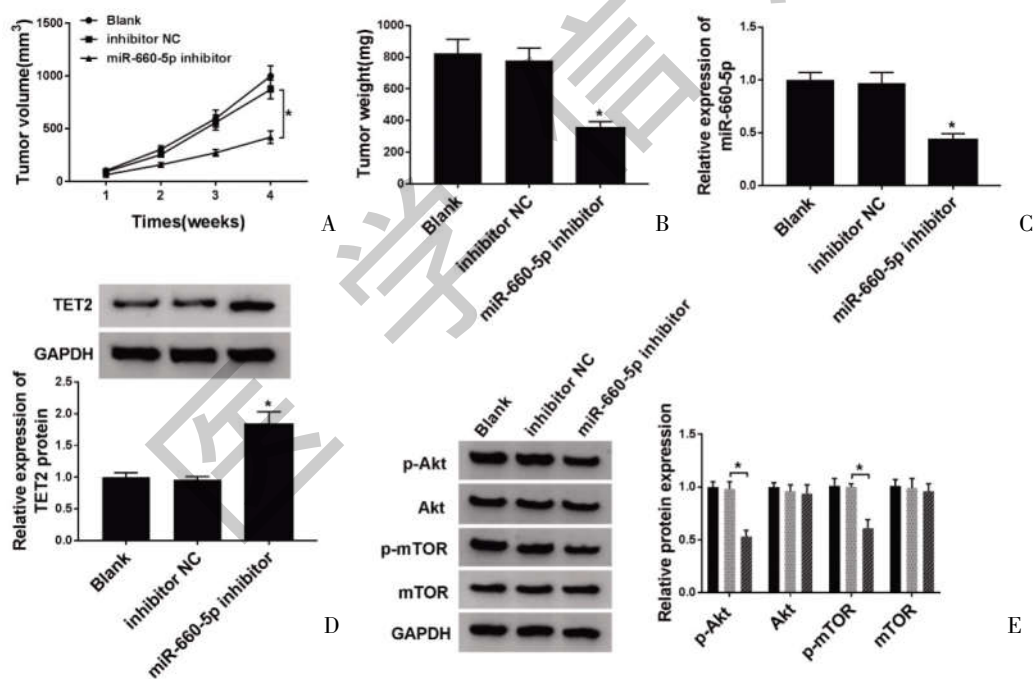
2.8 miR-660-5p inhibitor 抑制体内肿瘤生长 miR-

660-5p inhibitor 的肿瘤体积和重量均低于 inhibitor NC 和对照组(图 8A、图 8B)。miR-660-5p 表达也明显下降(图 8C),而 TET2 蛋白的表达明显上调(图 8D)。miR-660-5p inhibitor 中 AKT 和 mTOR 的磷酸化水平也显著降低(图 8E)。



注:A、B:蛋白质印迹检测 AKT 及其磷酸化、mTOR 及其磷酸化蛋白质表达水平; * $P < 0.05$

图 7 干扰 TET2 抑制 miR-660-5p inhibitor 介导 PI3K/AKT/mTOR 信号传导



注:A:每周记录一次肿瘤的体积大小;B:称量小鼠异种移植肿瘤;C:qRT-PCR 检测 miR-660-5p 的表达水平;D:Western blot 测定 TET2 的蛋白表达水平;E:Western blot 检测 p-AKT、AKT、p-mTOR 和 mTOR 的蛋白表达水平; * $P < 0.05$

图 8 miR-660-5p inhibitor 抑制体内乳腺癌肿瘤生长

3 讨论

乳腺癌是女性中常见的高危恶性肿瘤,转移是乳腺癌患者死亡的常见原因。因此,研究乳腺癌的发病机制对于乳腺癌的治疗至关重要。miR-660-5p 和 TET2 在乳腺癌中有重要的作用,但具体调节机制不清。本研究发现,miR-660-5p 可以靶向结合

TET2, 激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路传导介导乳腺癌细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭,可能是治疗乳腺癌新的潜在靶标。

miRNA 失调与癌症的发生和发展有关^[18,19]。miRNA 作为癌基因或抑癌基因,可抑制与增殖、凋亡、迁移、侵袭和分化有关的下游基因的表达,从而

调节细胞的生物学过程^[20]。在许多类型的癌症中, miR-660-5p 的表达均升高。miR-660-5p 在乳腺癌细胞中上调, 并通过靶向转录因子 CP2(TFCP2)促进乳腺癌细胞的增殖和转移^[21]。miR-660-5p 在骨肉瘤中过表达, 并且通过下调 FOXO1 促进骨肉瘤细胞的增殖和侵袭^[22]。非小细胞肺癌(NSCLC)患者的血浆和外泌体中 miR-660-5p 的表达增加, 而 miR-660-5p 可能通过降低 KLF9 的表达来促进 NSCLC 细胞的增殖和转移^[23]。抑制 miR-660-5p 的表达可抑制乳腺癌细胞的进展^[21]。本研究中, 乳腺癌组织中 miR-660-5p 的富集程度更高, 且 miR-660-5p 表达的增加与淋巴结转移, 晚期 TNM 分期和血管浸润以及预后不良密切相关。在乳腺癌细胞中干扰 miR-660-5p 可以抑制细胞的生长和转移并促进了细胞凋亡, 而 miR-660-5p 在乳腺癌中的致癌作用与先前的研究报道一致^[21]。但是, miR-660-5p 介导乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的机制仍不清楚。转录因子 CP2(TFCP2)是 miR-660-5p 的靶标, 而 miR-660-5p 通过靶向 TFCP2 促进了乳腺癌的发展^[21]。在本研究中, 通过 TargetScan 软件预测了 miR-660-5p 的另一个靶标 TET2, 双荧光素酶报告基因检测验证了 miR-660-5p 与 TET2 之间的靶向关系, 在 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中, miR-660-5p 对 TET2 的表达有负调节作用。

TET2 是 TET 双加氧酶家族的成员, 也称为 DNA 脱甲基酶。TET2 的突变或抑制通过增强肿瘤抑制基因的甲基化水平并下调其表达水平来促进肿瘤发生。TET2 的突变与血液系统恶性肿瘤的发生密切相关^[24]。干扰 TET2 促进了前列腺癌细胞的增殖和迁移^[25]。抑制 TET2 促进了乳腺癌的发展^[26,27]。本研究表明, TET2 的上调抑制了乳腺癌细胞的生长、迁移和侵袭, 但诱导了细胞凋亡。敲低 TET2 可部分抵消 miR-660-5p inhibitor 对乳腺癌细胞恶性行为的抑制作用。

在乳腺癌中经常发现 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的异常激活或突变^[28]。有许多研究报道了乳腺癌中使用 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的抑制剂, 可以改善患者的预后^[29-32]。而干扰 TET2 可以减轻由抑制 miR-660-5p 引起的 p-AKT 和 p-mTOR 下调的磷酸化水平。

综上所述, miR-660-5p 在乳腺癌中有致癌作用。miR-660-5p 通过下调 TET2 激活 PI3K/AKT/mTOR 信号传导, 从而促进乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 并抑制其凋亡。因此, miR-660-5p/TET2 轴

可能是乳腺癌治疗的潜在靶标。

参考文献:

- [1]Hill M,Tran N.miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer[J].Dis Model Mech,2021,14(4):dmm047662.
- [2]Stavast CJ,Erkeland SJ.The Non-Canonical Aspects of MicroRNAs:Many Roads to Gene Regulation [J].Cells,2019,8(11):1465.
- [3]Jordan-Alejandro E,Campos-Parra AD,Castro-López DL,et al.Potential miRNA Use as a Biomarker: From Breast Cancer Diagnosis to Metastasis[J].Cells,2023,12(4):525.
- [4]He B,Zhao Z,Cai Q,et al.miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer[J].International Journal of Biological Sciences,2020,16(14):2628-2647.
- [5]Shen Y,Ye YF,Ruan LW,et al.Inhibition of miR-660-5p expression suppresses tumor development and metastasis in human breast cancer[J].Genet Mol Res,2017,16(1):gmr16019479.
- [6]Ma C,Seong H,Liu Y,et al.Ten-eleven translocation proteins (TETs): tumor suppressors or tumor enhancers? [J].Front Biosci (Landmark Ed),2021,26(10):895-915.
- [7]Joshi K,Liu S,Breslin SJP,et al.Mechanisms that regulate the activities of TET proteins[J].Cell Mol Life Sci,2022,79(7):363.
- [8]Jiang S.Tet2 at the interface between cancer and immunity[J].Commun Biol,2020,3(1):667.
- [9]Peng Y,Wang Y,Zhou C,et al.PI3K/Akt/mTOR Pathway and Its Role in Cancer Therapeutics:Are We Making Headway? [J].Front Oncol,2022,12:819128.
- [10]Ediriweera MK,Tennekoon KH,Samarakoon SR.Role of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in ovarian cancer:Biological and therapeutic significance [J].Semin Cancer Biol,2019,59:147-160.
- [11]Akbarzadeh M,Mihanfar A,Akbarzadeh S,et al.Crosstalk between miRNA and PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in cancer[J].Life Sci,2021,285:119984.
- [12]Xu Y.TET2 expedites coronary heart disease by promoting microRNA-126 expression and inhibiting the E2F3-PI3K-AKT axis[J].Biochemistry and Cell Biology,2020,98(6):698-708.
- [13]Huang G,Liu L,Wang H,et al.Tet1 Deficiency Leads to Premature Reproductive Aging by Reducing Spermatogonia Stem Cells and Germ Cell Differentiation[J].iScience,2020,23(3):100908.
- [14]Zhu K,Wu Y,He P,et al.PI3K/AKT/mTOR-Targeted Therapy for Breast Cancer[J].Cells,2022,11(16):2508.
- [15]Miricescu D,Totan A,Stanescu-Spinu II,et al.PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Breast Cancer: From Molecular Landscape to Clinical Aspects[J].Int J Mol Sci,2020,22(1):173.
- [16]Costa RLB,Han HS,Gradishar WJ.Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in triple-negative breast cancer: a review[J].Breast Cancer Research and Treatment,2018,169(3):397-406.

(下转第 114 页)

(上接第 102 页)

- [17]Kumar A,Lorand D.Robust Δct estimate [J].Genomics, 2021,113(1 Pt 1):420–427.
- [18]Behl T,Kumar C,Makkar R,et al.Intercalating the Role of MicroRNAs in Cancer: As Enemy or Protector [J].Asian Pac J Cancer Prev,2020,21(3):593–598.
- [19]Ali Syeda Z,Langden SSS,Munkhzul C,et al.Regulatory Mechanism of MicroRNA Expression in Cancer [J].Int J Mol Sci,2020,21(5):1723.
- [20]Woo SU,Sangai T,Akcanat A,et al.Vertical inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway is synergistic in breast cancer[J]. Oncogenesis,2017,6(10):e385.
- [21]Shen Y,Ye YF, Ruan LW,et al.Inhibition of miR-660-5p expression suppresses tumor development and metastasis in human breast cancer [J].Genetics and Molecular Research,2017,16(1):11.
- [22]Loh HY,Norman BP,Lai KS,et al.The Regulatory Role of MicroRNAs in Breast Cancer[J].International Journal of Molecular Sciences,2019,20(19):27.
- [23]Zhang P,Gao H,Li Q,et al.Downregulation of microRNA-660 inhibits cell proliferation and invasion in osteosarcoma by directly targeting forkhead box O1[J].Mol Med Rep,2018,18(2): 2433–2440.
- [24]Lazarenkov A,Sardina JL.Dissecting TET2 Regulatory Networks in Blood Differentiation and Cancer [J].Cancers (Basel), 2022,14(3):830.
- [25]Chiba S.Dysregulation of TET2 in hematologic malignancies [J].International Journal of Hematology,2017,105(1):17–22.
- [26]Chen JY,Luo CW,Lai YS,et al.Lysine demethylase KDM2A inhibits TET2 to promote DNA methylation and silencing of tumor suppressor genes in breast cancer [J].Oncogenesis,2017,6(8):e369.
- [27]Zhu X,Li S.TET2 inhibits tumorigenesis of breast cancer cells by regulating caspase-4[J].Sci Rep,2018,8(1):16167.
- [28]Nickerson ML,Das S,Im KM,et al.TET2 binds the androgen receptor and loss is associated with prostate cancer[J].Oncogene, 2017,36(15):2172–2183.
- [29]Dey N,De P,Leyland-Jones B.PI3K-AKT-mTOR inhibitors in breast cancers: From tumor cell signaling to clinical trials[J].Pharmacol Ther,2017,175:91–106.
- [30]Gil EMC.Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in estrogen receptor-positive breast cancer[J].Cancer Treatment Reviews,2014,40(7):862–871.
- [31]Guerrero-Zotano A,Mayer IA,Arteaga CL.PI3K/AKT/mTOR:role in breast cancer progression, drug resistance,and treatment[J].Cancer and Metastasis Reviews,2016,35(4):515–524.
- [32]Massihnia D,Galvano A,Fanale D,et al.Triple negative breast cancer: shedding light onto the role of pi3k/akt/mtor pathway [J].Oncotarget,2016,7(37):60712–60722.

收稿日期:2023-02-06;修回日期:2023-03-07

编辑/成森