

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00925

miRNA 与 siRNA 胃癌相关研究的现状及进展

何苗, 王子卫

重庆医科大学附属第一医院普通外科, 重庆 400016

摘要: RNA 干扰是表观遗传学的研究热点, 它参与基因复制后表达调控, 并与肿瘤发生密切相关。近年对 RNA 干扰研究较多的是微小 RNA 和小干扰 RNA。文章概述了微小 RNA 和小干扰 RNA 的基本理论, 并综述它们在胃癌研究中的现状及进展。认为 RNA 干扰分析和应用是研究胃癌相关基因功能及作用机制的有效方法, 并将对胃癌的诊治产生巨大影响。

关键词: 微小 RNA; 小干扰 RNA; RNA 干扰; 胃癌

Current status and development of miRNA and siRNA research on gastric cancer

HE Miao, WANG Zi-Wei

Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: RNA interference (RNAi) is an important topic of epigenetics research in post-genome period. RNAi works as a post-DNA replication regulator for gene expression, and it is related to the occurrence and development of malignant tumors. The most usual participators of RNAi are MicroRNA (miRNA) and small interference RNA (siRNA). This review summarizes the basic theory of miRNA and siRNA, and provides recent progresses of RNAi research on gastric cancer. RNAi analysis and technique not only act as powerful tools for studying gene function and action mechanism, but also have diagnostic and therapeutic potential in gastric cancer, even in all kinds of tumors.

Keywords: microRNA; siRNA; RNAi; gastric cancer

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)指部分特殊 RNA 诱导同源基因 mRNA 降解或抑制其翻译, 甚至改变 DNA 甲基化谱, 从而调节基因表达的现象。RNAi 属表观遗传学范畴, 是转录后或转录水平的遗传信息调控, 也是生物体内重要的基因表达调节机制。因 RNAi 具有普遍、高效、特异、简单等优点, 已被广泛用于基因功能及其作用机制研究、肿瘤诊断及治疗研究等领域。目前认为参与 RNAi

的特殊 RNA 包括微小 RNA(MicroRNA, miRNA)和小干扰 RNA(small interference RNA, siRNA)等。

1 miRNA 及 siRNA 基本理论及区别

1.1 miRNA 基本理论

miRNA 是基因转录后表达调控的研究热点, 它是一类长 18~26nt 的非编码单链小分子核苷酸, 源

收稿日期: 2010-11-16; 修回日期: 2011-01-27

作者简介: 何苗, 博士研究生, 医师, 研究方向: 胃癌的基础研究。Tel: 13996123692; E-mail: hemiao777777@163.com

通讯作者: 王子卫, 教授, 博士生导师, 研究方向: 胃肠道肿瘤的基础与临床研究。E-mail: wangziwei571@sina.com

网络出版时间: 2011-5-30 11:35:30

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110530.1135.006.html>

于生物自身基因组。细胞核内 miRNA 基因在 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, Pol II) 作用下先产生初级 miRNA (pri-miRNA), pri-miRNA 在胞核内被 Drosha 酶复合体切割为发夹状 miRNA 前体 (pre-miRNA), pre-miRNA 再被 exportin-5 转运至胞质, 由 Dicer 酶复合体进一步切割为 miRNA: miRNA 双链^[1], 然后其中一条链降解, 遂形成成熟 miRNA。miRNA 可与 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 选择性结合, 成熟单链 miRNA 在 RISC 中通过碱基互补结合于同源基因 mRNA, 并降解或抑制该 mRNA 翻译, 从而调控基因表达^[2](图 1)。另有研究发现, miRNA 还可通过抑制 DNA 甲基转移酶而改变基因组甲基化谱, 从而在转录水平调控基因表达^[3]。人类基因组中约 1/3 的基因受 miRNA 调控^[4], 涉及生长、发育、凋亡、增殖、肿瘤等方面。由于 miRNA 源于

生物自身基因组, 故基于 miRNA 的 RNAi 是生物自身参与基因表达调控的方式。

1.2 siRNA 基本理论

siRNA 伴随 RNAi 现象被发现, 它源于双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA); dsRNA 分子在胞质中经 Dicer 酶复合体切割为 21~23 nt 的小片段, 即形成 siRNA^[5]。siRNA 在解旋酶作用下分解为两条单链, 由反义链与核酸内切酶、外切酶、解旋酶等结合形成 RNA 诱导沉默复合体 (RISC)。单链 siRNA 在 RISC 中与同源基因 mRNA 通过碱基配对结合, 并降解此 mRNA 或抑制其翻译, 从而实现基因转录后表达调控^[6](图 1)。也有研究发现, siRNA 可从胞质进入胞核, 靶向作用于目标基因启动子, 并促进其甲基化; 且靶向 DNA 甲基转移酶的特异 siRNA 还可促进基因

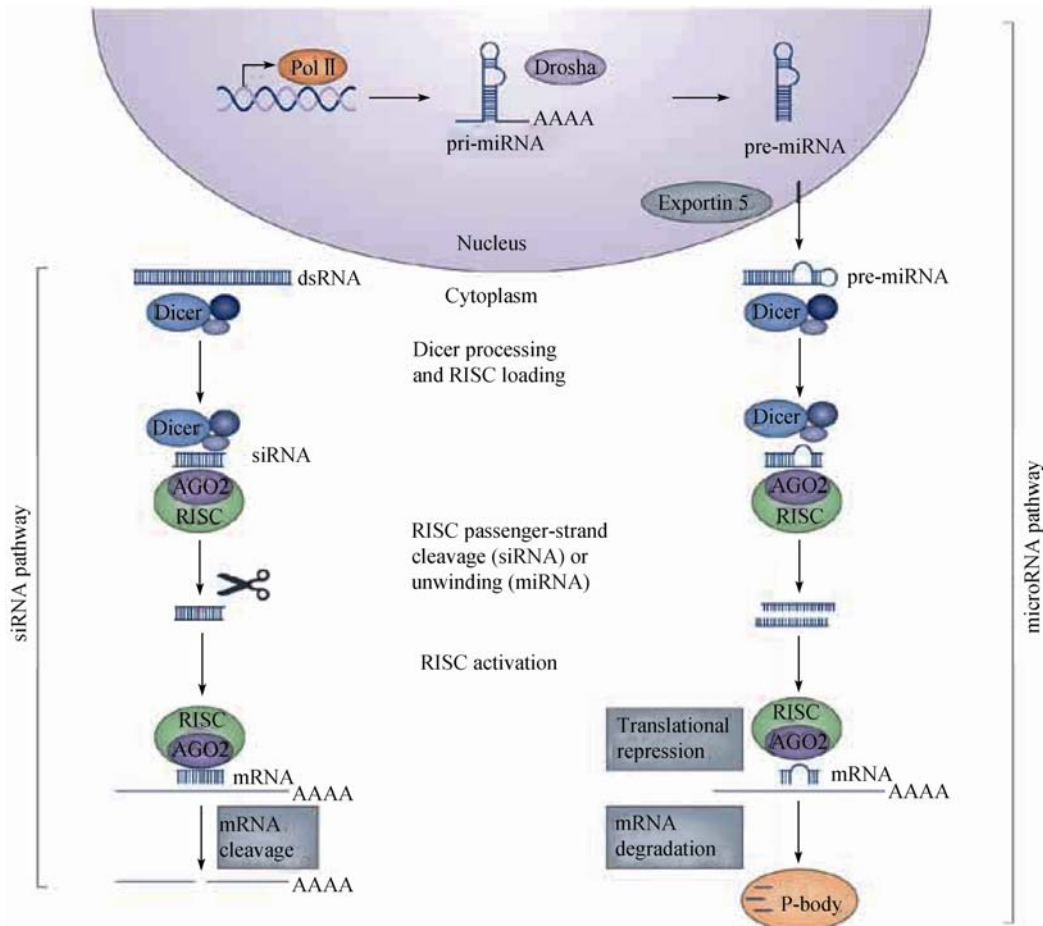


图 1 siRNA 及 miRNA 作用机制图示^[5]

dsRNA: 双链 RNA; Dicer: 核糖核酸酶 III 家族中的一员, 主要切割 dsRNA 或茎环结构的 RNA 前体成小 RNA 分子; Argonaute2 (AGO2): 组成 RISCs 复合物的主要功能成员, 发挥“切割”作用; RISC: RNA 诱导沉默复合体, 与目标 mRNA 完全或部分互补来实现切割或抑制 mRNA 翻译功能; Pol II: RNA 聚合酶 II; Drosha: 核糖核酸酶 III 家族中的一员, 加工 miRNA 初级转录产物 pri-miRNA 成茎环结构的 pre-miRNA; exportin-5: 输出蛋白 5; pri-miRNA: 初级 miRNA; pre-miRNA: miRNA 前体。

需要指出,在 RNAi 过程中,目标 mRNA 被抑制翻译还是降解取决于 miRNA、siRNA 与 mRNA 的互去甲基化,进而调控基因转录;提示 siRNA 亦可在转录水平调节基因表达^[7]。因 dsRNA 源自外来病毒、转座子或自身基因组,故基于 siRNA 的 RNAi 是生物自身及外来遗传物质参与基因表达调控的共同途径。补程度。若完全互补则 miRNA、siRNA 常结合于 mRNA 的编码区或开放阅读框,导致 mRNA 降解;若部分互补则通常结合于 mRNA 的 3'端非编码区(3'-untranslated region),并抑制 mRNA 翻译^[8]。故 RNAi 过程并非绝对特异,存在多种 miRNA、siRNA 抑制同种 mRNA,或同种 miRNA、siRNA 抑制不同 mRNA 的可能。

1.3 miRNA 与 siRNA 的区别

miRNA 与 siRNA 的区别包括:(1) miRNA 是内源性的;siRNA 是外源性或内源性的,但肿瘤研究中,siRNA 以人工合成后转入细胞为主(外源性)。(2) miRNA 合成起始于胞核,再被转运至胞质;siRNA 一般不在胞核合成。(3) 成熟 miRNA 为单链;成熟 siRNA 为双链。(4) miRNA 参与正常机体生长发育调节;而 siRNA 通常不参与之。(5) miRNA 广泛存在于真核细胞中;而脊椎动物中较少存在内源性 siRNA。(6) miRNA 常为研究对象;siRNA 常为科研工具。

2 RNAi 与胃癌

近年 RNAi 在肿瘤领域的研究突飞猛进,大量资料已表明 RNAi 与人类肿瘤关系紧密。现以胃癌为例综述 RNAi 的研究现状及进展。

2.1 miRNA 与胃癌的研究

2.1.1 癌基因样 miRNAs(onco-miRs)

Song 等^[9]应用 RT-PCR 研究胃癌组织,发现 *miR-199a* 在胃癌中显著升高,并与胃癌增殖、浸润、转移呈正相关。进一步采用生物信息学方法、Western blotting 及荧光素酶报告分析发现,*miR-199a* 在转录后水平抑制促分裂原活化蛋白激酶激酶 11(mitogen-activated protein kinase kinase 11)表达。提示 *miR-199a* 可能通过抑制此蛋白促进胃癌发生,并可望用于胃癌基因诊断。

Zhang 等^[10]应用实时定量 RT-PCR 研究胃癌,发现 *miR-21* 在胃癌组织及胃癌细胞 AGS 中均升高,且在 Hp 感染的胃癌组织中尤为显著。体外实验证实,

转染 *miR-21* 可促进 AGS 增殖、浸润;而敲除 *miR-21* 可诱导其凋亡。还发现 *miR-21* 可靶向抑制抑癌基因 *RECK* 表达。提示 *miR-21* 通过抑制 *RECK* 发挥癌基因样作用,促进胃癌发生,并可能用于胃癌基因诊治。也提示胃癌中 miRNA 异常可能与 Hp 感染相关。

Tsujiura 等^[11]同时研究胃癌患者外周血及癌组织中 miRNA 变化,并分析了其手术前后的差异。发现所有血浆中均检测到 miRNA 存在,且血浆 miRNA 变化能较好反映肿瘤组织 miRNA 变化。例如 *miR-17-5p*、*miR-21*、*miR-106a*、*miR-106b* 在胃癌根治术前的血浆及癌组织中均升高,而手术后它们就在外周血中显著降低。提示上述 miRNA 与胃癌进展正相关,且外周血 miRNA 检测可望成为胃癌临床早期诊断、疗效观察、预后判断的新方法。

Sun 等^[12]研究 *hsa-mir-27a* 基因的单核苷酸多态性(rs895819)在胃癌发生中的作用,并分析 rs895819 在影响 *miR-27a* 及其靶标 *ZBTB10* 表达中的作用。发现 *hsa-mir-27a* 基因变异型(AG+GG)相对于 AA 型有增加胃癌发生的风险($P=0.019$),并与淋巴结转移有关。进一步试验发现 *hsa-mir-27a* 基因变异型促使 *miR-27a* 表达增加,并抑制 *ZBTB10* 表达,进而促进胃癌发生。提示 *miR-27a* 具有促癌作用,且 miRNA 基因的单核苷酸多态性是 miRNA 异常的原因之一。

Tsai 等^[13]发现原发胃癌组织的 *miR-196b* 显著升高,又在胃癌细胞中证实 *miR-196b* 启动子异常低甲基化。进一步实验发现,*miR-196b* 高表达与其基因低甲基化相关,并可显著促进胃癌增殖;而在 *miR-196b* 沉默的细胞中加入甲基转移酶抑制剂 5-Aza-dC,可重新激活 *miR-196b*,这也是 *miR-196b* 受基因甲基化调节的佐证。提示 *miR-196b* 促进胃癌发生;且肿瘤中 miRNA 异常可能与基因甲基化异常相关。

2.1.2 抑癌基因样 miRNAs(tumour-suppressor-miRs)

Feng 等^[14]研究胃癌发现,*miR-126* 在胃癌组织中显著降低,并与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期等临床病理特征呈负相关。进一步在胃癌细胞株 SGC-7901 中转染 *pri-miR-126*,发现可抑制癌细胞增殖、浸润、转移,并使癌细胞停留在 G₀/G₁ 期。还发现衔接蛋白 *Crk* 受 *miR-126* 靶向抑制。提示 *miR-126* 通过抑制 *Crk* 发挥抑制胃癌作用,并可望用于胃癌基因诊治。

Shinozaki 等^[15]采用 RT-PCR 研究 36 例 EB 病毒相关胃癌, 发现 *miR-200* 在癌组织中显著降低。进一步在重组 EBV 基因的胃癌细胞(MKN74-EBV, MKN7-EBV, NUGC3-EBV)中证实 *miR-200* 降低, 且抑癌基因 *E-cadherin* 表达也随之受抑。转染 *pri-miR-200* 至 EBV 感染的胃癌细胞后, 虽发现 *pri-miR-200* 被部分抑制, 但 *E-cadherin* 表达可部分恢复, 进而抑制胃癌增殖。提示 *miR-200* 抑制胃癌与 *E-cadherin* 相关; 也提示 EBV 通过抑制 *miR-200* 而促进胃癌, 这是 EBV 相关胃癌发生的机制之一。

Tsukamoto 等^[16]应用 miRNA 芯片分析胃癌细胞, 发现 39 种 miRNA 异常改变, 其中 *miR-375* 降低最显著; 并发现 *miR-375* 降低可促进 *PDK-1* 表达增加, 故推测 *PDK-1* 是 *miR-375* 作用靶点。进一步试验又发现抗凋亡基因 *14-3-3zeta* 也在转染 *miR-375* 的胃癌细胞中受抑制, 进而引起胃癌凋亡。提示 *miR-375* 可能通过抑制 *PDK-1* 及 *14-3-3zeta* 发挥促细胞凋亡功能, 并可望用于胃癌基因诊治。Ding 等^[17]也证实 *miR-375* 与胃癌增殖、浸润呈负相关, 但他发现 *miR-375* 的靶点是 *JAK2*, 并认为 *JAK2*mRNA 的 3 端非编码区是 *miR-375* 结合位点。且通过 RNAi 技术抑制 *JAK2* 蛋白也可抑制胃癌增殖。提示 miRNA 参与基因表达调控存在复杂性, 可能一种 miRNA 参与多种 mRNA 调节, 而非既往认为的绝对特异。

Wada 等^[18]研究 8 种胃癌细胞株及 11 例原发胃癌组织, 发现 *miR-212* 显著降低; 构建 *pri-miR-212* 转染胃癌细胞, 癌细胞增殖受抑制。还发现甲基化 CpG 序列结合蛋白(methyl-CpG-binding protein, MeCP2)是 *miR-212* 作用靶点, 提出 *miR-212* 可通过改变 MeCP2 活性而影响相关基因甲基化调控转录的能力, 进而在胃癌中发挥抑癌基因样作用。揭示了 miRNA 间接作用于基因转录, 甚至在转录水平调节基因表达的可能。

Suzuki 等^[19]研究 13 种胃癌细胞株及 118 例胃癌组织, 发现胃癌中 *miR-34b/c* 表达显著降低; 且在胃癌细胞中转染 *pri-miR-34b/c* 可抑制肿瘤生长。进一步试验发现, 胃癌中 *miR-34b/c* 基因异常高甲基化, 且甲基化程度与临床病理特征相关; 用甲基转移酶抑制剂处理胃癌细胞, 可恢复 *miR-34b/c* 表达, 进而抑制胃癌。提示 *miR-34b/c* 具有抑癌作用, 且其表达

受基因 CpG 岛甲基化调控。也提示 *miR-34b/c* 异常甲基化与低表达可用于胃癌诊治。

Bandres 等^[20]采用 RT-PCR 及原位杂交研究 21 例胃癌组织的 250 种 miRNA, 发现 *miR-451* 在胃癌中显著下降, 并与患者预后相关。进一步实验证实, 转染 *miR-451* 可抑制胃癌增殖, 并增加其对放疗的敏感性。还发现 *miR-451* 可抑制巨噬细胞游走抑制因子(*MIF*)mRNA 及蛋白表达水平, 故推测 *MIF* 是 *miR-451* 作用靶点。提示 *miR-451* 通过 *MIF* 抑制胃癌。但又有研究发现, *miR-451* 可激活多耐药基因 *MDR1* 及其表达产物 P 糖蛋白, 进而促使癌细胞对化疗耐药。在癌细胞中敲除 *miR-451* 可抑制 *MDR1*, 进而增加癌细胞对化疗的敏感性^[21]。提示 *miR-451* 与肿瘤治疗的关系存在复杂性, 需继续加强研究。

综上所述, 胃癌存在复杂的 miRNA 变化(甚至涉及 Dicer、Drosha^[22]), 且 miRNA 的基因调节机制和靶向性也较复杂; 但胃癌相对特异的 miRNA 表达谱是利用 miRNA 在基因水平对胃癌行早期诊断、预后及疗效判断的理论基础^[23]; 特别是外周血中 miRNA 检测, 更具临床应用价值和前景。至于 miRNA 在肿瘤中异常变化的原因可能与 miRNA 基因异常甲基化或 miRNA 基因突变有关, 也可能与病毒或细菌感染相关。此外, 由于 miRNA 常发挥癌基因或抑癌基因样作用, 故又可望用于胃癌基因治疗^[24]。

2.2 siRNA 与胃癌的研究

目前, siRNA 常作为肿瘤研究中靶向抑制目标基因的工具, 对肿瘤基因功能及作用机制研究作用巨大。表 1 列举了基于 siRNA 的 RNAi 技术在胃癌中的部分研究资料。从表可看出, siRNA 除用于研究胃癌相关基因功能外, 还可望成为胃癌, 乃至所有肿瘤基因治疗的武器。另一方面, 在拟南芥中发现部分 miRNA 基因可编码内源性 siRNA, 这些“MIR-derived siRNA”可直接诱导目标基因甲基化, 从而调节基因转录^[25]; 但在胃癌乃至其他肿瘤中类似研究尚少, 需进一步探索。

3 展望

RNAi 是后基因组时代代表观遗传学的研究热点, 其深入研究对解释各种生命现象的发生机制有帮助,

表 1 利用 siRNA 研究胃癌的部分资料

研究目标	目标背景	研究方式	研究结果	研究结论	作者、文献
CAR	在胃癌中低表达; 与胃癌分化、浸润、转移、预后相关。	构建 CAR-siRNA 转染胃癌细胞。	CAR 表达下降; 胃癌细胞增殖、侵袭、转移能力增强。	CAR 为胃癌抑制基因; 基于 siRNA 的 RNAi 技术可实现基因敲除。	Anders 等 ^[26]
KITENIN	通过激活 AP-1 促进胃癌进展; 过表达与胃癌 TNM 分级正相关。	构建 KITENIN-siRNA 转染胃癌细胞。	KITENIN 被敲除; AP-1 活性减弱; 胃癌细胞受抑制。	siRNA 成功敲除靶基因, 可能用于肿瘤基因治疗	Ryu 等 ^[27]
DNMT1	为 DNA 甲基转移酶, 异常激活导致抑癌基因甲基化而失活, 进而引起肿瘤。	构建 DNMT1-siRNA 转染胃癌细胞。	DNMT1 被抑制; 多种抑癌基因重新去甲基化而激活; 胃癌受抑。	DNMT1-siRNA 重新激活抑癌基因; 可望用于胃癌基因治疗。	Jung 等 ^[28]
Kv4.1	在胃癌细胞株 MKN-45 及 SNU-638 中高表达, 并与其增殖相关。	构建 Kv4.1-siRNA 转染两胃癌细胞株。	Kv4.1 表达下降; 胃癌细胞增殖受抑制。	Kv4.1 可能促进胃癌增殖; 可望成为胃癌基因治疗靶点。	Kim 等 ^[29]
Stathmin1	为微管调节蛋白, 作用于有丝分裂纺锤体, 促进胃癌增殖及转移。	构建 Stathmin1-siRNA 转染胃癌细胞。	Stathmin1 被敲除; 胃癌细胞增殖、浸润转移均受抑制。	Stathmin1 可望成为胃癌基因治疗靶点。	Jeon 等 ^[30]
NF-kappaB	通过抑制 beta-catenin 发挥抗细胞凋亡作用。	NF-kappaB-siRNA 被构建并转染胃癌细胞。	NF-kappaB 被敲除; EB 病毒阳性的胃癌细胞生长停滞。	NF-kappaB 可能成为 EB 病毒阳性胃癌治疗靶点	Jeong 等 ^[31]
EZH2	作用于细胞周期调控, 在胃癌中高表达并促进其增殖和转移。	构建 EZH2-siRNA 转染胃癌细胞。	EZH2 被抑制; p53 及 HDAC1 表达增强; cyclin D1 与 cyclin E 表达下降。	EZH2 促进胃癌增殖、转移可能与 Ki-67 及 p53 相关。	Choi 等 ^[32]

合理应用 RNAi 技术也可实现各种基因表达的人工调节。就肿瘤研究方面, 以下几点是未来 RNAi 探索方向: (1) 建立各类肿瘤特异性 miRNA 表达谱, 为肿瘤早期诊断及预后判断提供方法; (2) 开发高速、高通量、高灵敏且经济的 miRNA 检测方法, 为临床服务做好准备; (3) 建立 siRNA 稳定转染并持续作用的方法, 为肿瘤基因治疗提供途径; (4) 研究 siRNA 及 miRNA 与肿瘤基因甲基化的相互联系, 完善复制后遗传信息调控理论; (5) 因 RNAi 机制复杂, 且其靶向性并非绝对特异, 故人工 RNAi 技术对细胞的毒副作用尚待探索。

参考文献(References):

- [1] Lee Y, Ahn C, Han JJ, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-419.
- [2] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [3] Garzon R, Liu SJ, Fabbri M, Liu ZF, Heaphy CEA, Callegari E, Schwind S, Pang JX, Yu JH, Muthusamy N, Havelange V, Volinia S, Blum W, Rush LJ, Perrotti D, Andreeff M, Bloomfield CD, Byrd JC, Chan K, Wu LC, Croce CM, Marcucci G. MicroRNA-29b induces global DNA hypomethylation and tumor suppressor gene reexpression in acute myeloid leukemia by targeting directly DNMT3A and 3B and indirectly DNMT1. *Blood*, 2009, 113(25): 6411-6418.
- [4] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20.
- [5] de Fougères A, Vornlocher HP, Maraganore J, Lieberman J. Interfering with disease: a progress report on siRNA-based therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(6): 443-453.
- [6] Stevenson M. Therapeutic potential of RNA interference. *N Engl J Med*, 2004, 351(17): 1772-1777.
- [7] Kawasaki H, Taira K. Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature*, 2004, 431(7005): 211-217.
- [8] Yekta S, Shih IH, Bartel DP. MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA. *Science*, 2004, 304(5670): 594-596.
- [9] Song G, Zeng HZ, Li J, Xiao LF, He YZ, Tang YH, Li YR.

- miR-199a regulates the tumor suppressor mitogen-activated protein kinase kinase 11 in gastric cancer. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(11): 1822–1827.
- [10] Zhang ZY, Li ZJ, Gao CP, Chen P, Chen JJ, Liu WZ, Xiao SD, Lu H. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. *Lab Invest*, 2008, 88(12): 1358–1366.
- [11] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, Konishi H, Morimura R, Deguchi K, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer*, 2010, 102(7): 1174–1179.
- [12] Sun QM, Gu HJ, Zeng Y, Xia Y, Wang Y, Jing Y, Yang L, Wang B. Hsa-mir-27a genetic variant contributes to gastric cancer susceptibility through affecting miR-27a and target gene expression. *Cancer Sci*, 2010, 101(10): 2241–2247.
- [13] Tsai KW, Hu LY, Wu CW, Li SC, Lai CH, Kao HW, Fang WL, Lin WC. Epigenetic regulation of miR-196b expression in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 49(11): 969–980.
- [14] Feng RH, Chen XH, Yu YY, Su LP, Yu BQ, Li JF, Cai Q, Yan M, Liu BY, Zhu ZG. miR-126 functions as a tumour suppressor in human gastric cancer. *Cancer Lett*, 2010, 298(1): 50–63.
- [15] Shinozaki A, Sakatani T, Ushiku T, Hino R, Isogai M, Ishikawa S, Uozaki H, Takada K, Fukayama M. Downregulation of microRNA-200 in EBV-associated gastric carcinoma. *Cancer Res*, 2010, 70(11): 4719–4727.
- [16] Tsukamoto Y, Nakada C, Noguchi T, Tanigawa M, Nguyen LT, Uchida T, Hijiya N, Matsuura K, Fujioka T, Seto M, Moriyama M. MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3 ζ . *Cancer Res*, 2010, 70(6): 2339–2349.
- [17] Ding L, Xu YJ, Zhang W, Deng YJ, Si MS, Du Y, Yao HM, Liu XY, Ke YH, Si JM, Zhou TH. MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. *Cell Res*, 2010, 20(7): 784–793.
- [18] Wada R, Akiyama Y, Hashimoto Y, Fukamachi H, Yuasa Y. miR-212 is downregulated and suppresses methyl-CpG-binding protein MeCP2 in human gastric cancer. *Int J Cancer*, 2010, 127(5): 1106–1114.
- [19] Suzuki H, Yamamoto E, Nojima M, Kai M, Yamano HO, Yoshikawa K, Kimura T, Kudo T, Harada E, Sugai T, Takamaru H, Ninuma T, Maruyama R, Yamamoto H, Tokino T, Imai K, Toyota M, Shinomura Y. Methylation-associated silencing of microRNA-34b/c in gastric cancer and its involvement in an epigenetic field defect. *Carcinogenesis*, 2010, 31(12): 2066–2073.
- [20] Bandres E, Bitarte N, Arias F, Agorreta J, Fortes P, Agirre X, Zarate R, Diaz-Gonzalez JA, Ramirez N, Sola JJ, Jimenez P, Rodriguez J, Garcia-Foncillas J. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(7): 2281–2290.
- [21] Zhu H, Wu H, Liu XP, Evans BR, Medina DJ, Liu CG, Yang JM. Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76(5): 582–588.
- [22] Tchernitsa O, Kasajima A, Schäfer R, Kuban RJ, Ungethüm U, Györfy B, Neumann U, Simon E, Weichert W, Ebert MP, Röcken C. Systematic evaluation of the miRNA-ome and its downstream effects on mRNA expression identifies gastric cancer progression. *J Pathol*, 2010, 222(3): 310–319.
- [23] Bhatti I, Lee A, Lund J, Larvin M. Small RNA: a large contributor to carcinogenesis? *J Gastrointest Surg*, 2009, 13(7): 1379–1388.
- [24] Hummel R, Hussey DJ, Hairer J. MicroRNAs: predictors and modifiers of chemo- and radiotherapy in different tumour types. *Eur J Cancer*, 2010, 46(2): 298–311.
- [25] Chellappan P, Xia J, Zhou XF, Gao S, Zhang XM, Coutino G, Vazquez F, Zhang WX, Jin HL. siRNAs from miRNA sites mediate DNA methylation of target genes. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(20): 6883–6894.
- [26] Anders M, Vieth M, Röcken C, Ebert M, Pross M, Gretschel S, Schläpfl PM, Wiedenmann B, Kemmner W, Höcker M. Loss of the coxsackie and adenovirus receptor contributes to gastric cancer progression. *Br J Cancer*, 2009, 100(2): 352–359.
- [27] Ryu HS, Park YL, Park SJ, Lee JH, Cho SB, Lee WS, Chung IJ, Kim KK, Lee KH, Kweon SS, Joo YE. KITENIN is associated with tumor progression in human gastric cancer. *Anticancer Res*, 2010, 30(9): 3479–3486.
- [28] Jung Y, Park J, Kim TY, Park JH, Jong HS, Im SA, Robertson KD, Bang YJ, Kim TY. Potential advantages of DNA methyltransferase 1 (DNMT1)-targeted inhibition for cancer therapy. *J Mol Med*, 2007, 85(10): 1137–1148.
- [29] Kim HJ, Jang SH, Jeong YA, Ryu PD, Kim DY, Lee SY. Involvement of Kv4.1 K(+) channels in gastric cancer cell proliferation. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(10): 1754–1757.
- [30] Jeon TY, Han ME, Lee YW, Lee YS, Kim GH, Song GA, Hur GY, Kim JY, Kim HJ, Yoon S, Baek SY, Kim BS, Kim JB, Oh SO. Overexpression of stathmin1 in the diffuse type of gastric cancer and its roles in proliferation and migration of gastric cancer cells. *Br J Cancer*, 2010, 102(4): 710–718.
- [31] Jeong JY, Woo JH, Kim YS, Choi S, Lee SO, Kil SR, Kim CW, Lee BL, Kim WH, Nam BH, Chang MS. Nuclear factor-kappa B inhibition reduces markedly cell proliferation in Epstein-Barr virus-infected stomach cancer, but affects variably in Epstein-Barr virus-negative stomach cancer. *Cancer Invest*, 2010, 28(2): 113–119.
- [32] Choi JH, Song YS, Yoon JS, Song KW, Lee YY. Enhancer of zeste homolog 2 expression is associated with tumor cell proliferation and metastasis in gastric cancer. *APMIS*, 2010, 118(3): 196–202.