

miRNA 与鼻咽癌发病机制

赵璐晴^{①②③}, 陈雪^{①②③}, 曹亚^{①②③}

① 教育部癌变与侵袭原理重点实验室, 长沙 410078;

② 卫生部癌变原理重点实验室, 长沙 410078;

③ 中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 长沙 410078

E-mail: xiaoqing1213@sina.com

2010-10-12 收稿, 2010-12-15 接受

国家重点基础研究发展计划(2011CB504300)和国家自然科学基金重点项目(30930101)资助

摘要 miRNA (microRNA)是一族由 22~25 个核苷酸组成的非编码 RNA 小分子, 它通过与靶 mRNA 的 3'-非编码区以碱基互补配对的方式结合, 实现对靶基因转录后水平的降解或抑制. 最新研究表明, miRNA 与鼻咽癌中 EBV, LMP1, 信号转导通路, 肿瘤相关基因网络, 细胞有丝分裂, 肿瘤血管生成和侵袭转移密切相关. 因此, 探索 miRNA 与鼻咽癌发生发展之间的关系, 有助于加深对其发病机制的认识, 也将为临床诊断和治疗提供新的启示与依据.

关键词miRNA
鼻咽癌
EBV
LMP1
信号转导通路
有丝分裂
侵袭转移

miRNA (microRNA)是近年来研究最热门的一种生物小分子, 由 22~25 个核苷酸组成, 具有重要的生物学功能. 随着研究工作的不断深入, 人们发现, 在多种肿瘤组织中存在 miRNA 表达水平的异常, 这揭示了肿瘤的发生发展与 miRNA 之间存在一定相关性^[1].

鼻咽癌是一种头颈部上皮来源的恶性肿瘤, 具有高度的侵袭和转移特性, 好发于中国南部^[2], 它的发病与遗传易感性以及 EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV)感染有紧密联系^[3]. 最新研究^[4]显示, miRNA 与鼻咽癌亦存在紧密的关联. 本文主要对 miRNA 与鼻咽癌发病机制之间的关系予以评述.

1 miRNA 的生成、作用机制及生物学功能

1.1 miRNA 的生成及作用机制

miRNA 是一类长度为 22~25 个核苷酸的内源性非编码 RNA 小分子, 它的编码基因首先在 RNA 聚合酶 II 作用下被转录为长度约几百个核苷酸的初级转录物(pri-miRNAs), 然后在 RNA 聚合酶 III (Drosha 酶)

作用下被加工为具有茎环结构、长度为 60~70 个核苷酸的 miRNAs 前体(pre-miRNAs), 再由转运蛋白 (Exportin-5)识别并结合 pre-miRNAs 在 3'端的突出标志, 依靠 Ran-GTP 酶将 pre-miRNAs 转运至细胞质; miRNAs 前体在 RNA 酶 III (Dicer 酶)参与下被加工为双链 miRNA, 在解旋酶作用下形成成熟的单链 miRNA; 单链 miRNA 进入核蛋白复合体, 参与形成由 RNA 诱导的沉默复合体(miRNA-associated RNA-induced silencing complex, miRISC)^[5-7], 并通过此复合体发挥生物学作用.

miRNA 主要通过与其靶 mRNA 的 3'端非编码区 (untranslated regions, UTRs)的碱基以完全或不完全互补方式配对, 在转录后水平对靶 mRNA 进行降解或抑制, miRNA 也参与基因转录后水平调控及多种生物学功能发挥^[8,9]. 一般植物 miRNA 与靶基因完全互补, 可使靶 mRNA 降解; 而动物 miRNA 与靶序列的匹配程度较差, 不与靶基因完全互补, 只能抑制转录后翻译^[10]. 许多 miRNA 与靶 mRNA 不完全互补, 因此转录后抑制是 miRNA 的主要作用模式^[11]. 一个 miRNA 可作用于多个靶 mRNA, 而一个靶 mRNA 可

受多个 miRNA 调控, miRNA 与靶基因之间组成了复杂的调控网络, 为基因表达水平的调控增加了一个新的复杂的认识层面^[12].

1.2 miRNA 的生物学功能

miRNA 的靶基因参与细胞生长、分化、增殖、凋亡、应激应答及干细胞分化潜能的维持等多种生物学功能的发挥^[13]. miRNA 在肿瘤形成中也发挥重要作用, miRNA 参与了肿瘤细胞的增殖、凋亡、黏附、血管生成等生物学过程的调控, 大约 50% 的 miRNA 位于肿瘤相关的染色体区域, 在肿瘤发生的基因水平调控方面发挥了广泛而重要的作用^[14]. 许多 miRNA 充当肿瘤抑制因子或致癌因子^[15,16], 具有致癌基因功能的 miRNA 通常被称为 OncomiR (致癌性 miRNA)^[17-19], 它们包括 miR-155, miR-17-92 基因簇 (miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19a-1 和 miR-92-1) 和 miR-21 等; 而具有抑癌基因功能的 miRNA 包括 miR-15a, miR-16-1, let-7 家族、miR-143, miR-145 和 miR-34a 等^[20]. 最近, Douglas^[21] 将参与肿瘤转移的 miRNA 称为 metastamir (转移性 miRNA), 其中促进肿瘤转移的有 miR-10b, miR-21 等, 而抑制肿瘤转移的有 miR-141, miR-200a/b/c, miR-146 和 miR-335 等.

2 miRNA 与鼻咽癌发病的分子机制

2.1 miRNA 与 EBV

EBV 可编码多种 miRNA 基因^[22], 它是第一个被发现编码 miRNA 的病毒. 依据 miRBase^[23] 提供的数据, 由 EBV 编码的 miRNA 包括 ebv-miR-BHRF1-1~3 和 ebv-miR-BART1~22, 它们分别位于病毒基因组中 *BHRF1* 和 *BART* 两个区域^[24]. 其中 *BHRF1* 为病毒复制早期的基因, 在病毒裂解和复制水平升高时表达增加, 与病毒裂解和复制的调控相关^[25]; 而 *BART*^[26] 可编码病毒潜伏期的转录产物, 抑制病毒复制, 并使复制保持在较低的水平.

EBV 编码的 miRNA 参与调节病毒从裂解到潜伏的转化, 也参与抵抗宿主对病毒的免疫反应^[27]. 这些 miRNA 不仅作用于病毒本身的靶基因, 还作用于宿主的靶基因^[28]. Xia 等人^[29] 报道, miR-BHRF1-3 以宿主的 *CXCL11* 为靶基因, *CXCL11* 的表达抑制将保护被 EBV 感染的 B 细胞免受细胞毒性 T 细胞的破坏.

Choy 等人^[30] 报道, miR-BART5 以宿主的 *PUMA* (p53-upregulated modulator of apoptosis) 为靶基因, *PUMA* 的下调将抑制被病毒感染的宿主细胞凋亡.

Iizasa 等人^[31] 报道, ebv-miR-BART6 的初级转录产物 pri-miR-BART6 在被潜伏 EBV 感染的细胞中进行编码, 成熟的 miR-BART6 在细胞多种潜伏阶段发挥了重要作用. Iizasa 等人^[31] 发现, miR-BART6-5p RNAs 能抑制 EBNA2 病毒癌基因的表达, 而这种癌基因的表达在 I 型和 II 型潜伏状态 (免疫低反应) 向 III 型潜伏状态 (免疫高反应) 转化的过程中是不可或缺的. Zta 和 Rta 病毒蛋白在 EBV 的裂解复制过程中也发挥了重要作用^[32]. 这些结果揭示了 miR-BART6 在 EBV 的感染和潜伏中发挥了重要的调节作用.

上述研究表明, EBV 编码的 miRNA 在鼻咽癌的发生发展中发挥着重要作用, 它不仅作用于病毒本身的靶基因, 有利于病毒的感染和潜伏; 也作用于宿主的靶基因, 有利于病毒逃避宿主细胞的免疫反应及抑制宿主细胞的凋亡.

2.2 miRNA 与 LMP1

EBV 编码的潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein 1, LMP1) 是一种重要的病毒致瘤蛋白^[33]. LMP1 在 EBV 的 II 型和 III 型潜伏期产生, 可调控 NF- κ B 信号转导通路及宿主细胞的生长和凋亡. Natalie 等人^[34] 发现, LMP1 可通过 NF- κ B 途径激活 miR-146a 的启动子, 诱导宿主细胞中 miR-146a 的表达; miR-146a 对诱导或维持 EBV 的潜伏感染状态有重要作用, 可调节 EBV 对宿主细胞的固有免疫反应^[35]. Graziana 等人^[36] 也发现, LMP1 通过激活 NF- κ B 途径来反式激活 miR-155 的转录, 上调 miR-155 的表达; miR-155 在淋巴细胞的激活和 EBV 介导的 B 细胞转化中发挥关键作用. *PU.1* 是 miR-155 下游的靶基因, 在 miR-155 缺陷的 B 细胞中高度表达, 可导致产生 IgG1 的 B 细胞数量减少, 提示 miR-155 在 B 细胞成熟过程中发挥了关键作用^[36].

Lo 等人^[37] 报道, 有 3 种 EBV 编码的 miRNA (miR-BART1-5p, miR-BART16 和 miR-BART17-5p) 可下调 LMP1 的表达. Zheng 等人^[38] 发现, LMP1 引发了 NF- κ B, AP-1 和 STAT 信号通路, 它通过上调两面神激酶 3 (Janus kinase 3, JAK3) 的表达和增加信号传导及转录激活因子 (signal transducers and activators of transcription, STAT) 的磷酸化可激活 JAK/STAT 和

PI-PLC-PKC 通路; 由 LMP1 诱发的连续级联的信号转导瀑布的出现, 可产生一系列生物学效应, 最终导致细胞周期的紊乱, 出现 G1/S 期的加速及 G2/M 期的停滞; LMP1 还可诱导人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)的表达, 促使细胞永生。

以上有关 miRNA 与 LMP1 的研究说明, EBV 编码的 miRNA 可调控 LMP1 的表达, 同时 LMP1 可通过信号转导通路激活 miRNA 的表达, 进而 miRNA 作用于肿瘤相关的靶基因, 最终导致鼻咽癌的发生发展。

2.3 miRNA 与鼻咽癌中信号转导通路及鼻咽癌基因调控网络

最近的研究显示, 多种不同 miRNA 可共同调节同一条信号转导通路的相关靶基因表达^[39]。因此, 对信号转导通路而非个别靶基因的研究, 将为研究 miRNA 的生物学功能提供新思路。Chen 等人^[40]发现, 在鼻咽癌的组织标本中 35 种 miRNA 的表达水平有显著改变: 显著上调的有 11 种, 包括 miR-196b, miR-138, miR-155, miR-142-3p 和 miR-18a 等; 显著下调的有 24 种, 包括 miR-204, miR-449a, miR-34c-3p, miR-143 和 miR-145 等; 上调最明显的 4 种 miRNA 是 miR-142-3p, miR-196b, miR-138 和 miR-155; 下调最明显的 4 种 miRNA 是 miR-204, miR-195, miR-187 和 miR-143。表达下调的 miRNA 有 5 条重要的特异性靶向通路: (1) G1/S 期转变的调节通路; (2) 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与血管生成蛋白-1^[41,42]之间对话的信号通路; (3) G 蛋白(-)介导 MARK-ERK 信号通路的调节; (4) 转化生成因子(transforming growth factor, TGF), WNT 信号通路^[43]与细胞骨架的重构; (5) 膜依赖雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)与 G 蛋白相互作用的信号通路。其中 2 条最重要的靶向通路是 G1/S 期转变的调节通路和 VEGF 与血管生成蛋白-1 之间对话的信号通路。Chen 等人^[40]发现, 这 2 条通路中的 6 种靶基因(CCND2, CCND3, CDC25A, VEGFA, PLCG1 和 AKT)的表达水平在鼻咽癌组织中均上调, 即下调 miRNA 的靶基因在鼻咽癌中的表达上调。Chen 等人^[40]还发现, 下调 miRNA 的靶向信号通路参与了细胞周期的调节、细胞生存与凋亡的调控及细胞骨架的重构。上述研究表明, miRNA 的表达下调与相应靶基因的表达上调之间反相关。

在鼻咽癌的发病机制中, miRNA 与原癌基因、抑癌基因及相关靶基因共同组成了一个复杂的肿瘤形成网络系统。Zhang 等人^[44]发现, miR-141 在鼻咽癌中的表达上调, 且发挥原癌基因的作用; 通过敲除原癌基因 *c-MYC* 或再表达抑癌基因 *SPLUNC1*, 可使 miR-141 的表达下调; miR-141 的表达下调可影响鼻咽癌细胞的细胞周期, 细胞凋亡、生长、迁徙和转移。Zhang 等人^[44]通过荧光素酶报告基因及蛋白电泳发现, *BRD3*, *UBAP1* 及 *PTEN* 是 miR-141 的潜在作用靶点; *BRD3* 及 *UBAP1*^[45-47]参与鼻咽癌的发生发展, *BRD3* 也参与 Rb/E2F 通路的调节; *PTEN* 在多种肿瘤中充当重要的肿瘤抑制因子, 也参与 AKT 信号通路的调节^[48]。抑制 miR-141 的表达将影响 Rb/E2F, JNK2 及 AKT 通路中许多重要分子的功能^[44]。Zhang 等人^[44]认为, miR-141 和肿瘤相关基因 *c-MYC*, *SPLUNC1*, *BRD3*, *UBAP1* 及 *PTEN* 可能参与构建了一个“基因-miRNA”网络系统, 进而导致鼻咽癌的发生发展。

上述研究表明, 在鼻咽癌的发生发展过程中, 一系列遗传学及表观遗传学事件构成了复杂的网络系统^[49-53]。原癌基因和抑癌基因均可调控 miRNA 的表达, 同时相应的 miRNA 表达可进一步调控肿瘤相关靶基因的表达, 因此 miRNA 与原癌基因、抑癌基因和肿瘤相关靶基因共同构建了一个“基因-miRNA-基因”结构的复杂网络调控系统, 从而促进了鼻咽癌的发生发展过程。

3 miRNA 在鼻咽癌发生发展中的生物学功能

3.1 miRNA 与有丝分裂

Plk1 是有丝分裂各阶段的一个关键调节因子^[54], 在鼻咽癌的增殖和进展中也是一个重要的调节因子, Plk1 的表达异常与 miRNA 的表达下调相关^[55]。作为有丝分裂 G2/M 期转化的关键调节因子, Plk1 在细胞周期的调控中发挥重要作用^[56]。Wei 等人^[55]的研究发现, 在鼻咽癌中, miR-100 可调节 Plk1 的表达, siPlk1 (作用于 Plk1 的 siRNA, 此研究采用 miR-100)可改变细胞结构并诱导异常纺锤体的形成, Plk1 的低表达可促使癌细胞中多种碎裂的核碎片固缩^[57]及诱导异常微管的形成。Wei 等人^[55]还发现, siPlk 能抑制 Plk1 的 mRNA 和蛋白质表达, siPlk1 与放疗结合可有效降低 C666-1 细胞的存活能力、增加磷酸化组蛋白 γ H2AX

的表达水平. siPlk1 也可通过诱导 G2/M 期的停滞, 增强天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(cysteine-containing aspartate-specific protease, Caspase) 3/7 的活性来诱发细胞凋亡^[58]. 放疗可加速 G2/M 期停滞及细胞凋亡^[59], 因此 siPlk1^[60]与放疗结合可抑制肿瘤生长.

在鼻咽癌中, miR-100 的表达下调可导致 Plk1 过度表达, 从而导致鼻咽癌的发生发展. 因此, 以 Plk1 为靶点抑制 Plk1 的过度表达, 可促使有丝分裂崩解、细胞周期停滞; 如果与放疗结合^[61,62], 这种治疗策略将非常有效.

3.2 miRNA 与肿瘤的血管生成及侵袭转移

血管生成广泛存在于生理学及病理学过程中, 它在机体生长、伤口愈合、炎症及肿瘤形成中发挥重要作用^[63]. 许多小分子在血管生成过程中发挥正调节作用, VEGF 是最重要的调控因子之一^[64], 它的表达受多种因素调控. Hua 等人^[65]发现, miR-16, miR-20a, miR-20b, let-7b, miR-17-5p, miR-27a, miR-106a, miR-106b, miR-107, miR-193a, miR-210, miR-320, miR-361 和 miR-15b 等均可以 VEGF 为靶点, 调控 VEGF 的表达.

Olsson 等人^[66]发现, 在低氧刺激下, VEGF 与其他血管生成因子的表达上调, 共同导致血管生成; 在严格的时间、空间条件下, miRNA 和多种靶基因可共同调节多种功能相关的基因及血管生成因子. Hua 等人^[65]发现, miR-15b, miR-16, miR-20a 和 miR-20b 共同作用于鼻咽癌细胞中的血管生成因子, 同时有 7 种与血管生成相关的基因(*VEGF*, *c-MET*, *COX2*, *uPAR*, *PAIL*, *MAPK7* 和 *Ang*) 在鼻咽癌细胞中的表达上调.

Li 等人^[67]发现, LMP1 作为一种促使鼻咽癌转移的关键调节因子^[68], 可诱导转录因子 Twist 的表达, 上调相应的 miR-10b 表达, 从而促使鼻咽癌转移; LMP1 也可通过激活多种信号转导通路, 来调节多种转移相关基因(如 *E-cadherin*, *MMPs*, *c-Met*, *VEGF*, *EGFR*, *COX-2*)^[69]的表达.

Sikumar 等人^[70]发现, 在鼻咽癌细胞中, miR-29c 的表达下调可导致下游多种靶基因的表达上调, 而这些靶基因编码的多种细胞外基质蛋白(如胶原蛋白及层粘连蛋白 γ 1)参与鼻咽癌细胞的侵袭和转移. 因此, 可将鼻咽癌细胞中 miR-29c 的表达下调作为鼻咽癌侵袭转移的特征. Xia 等人^[71]发现, miR-200a 作为鼻咽癌发病机制中重要调节因子之一, 在鼻咽癌细胞中的表达下调, 并介导下游功能性的靶基因 *ZEB2*

及 *CTNBN1* 表达下调, 从而不同程度地抑制鼻咽癌细胞生长、迁徙和转移.

以上研究显示, 多种 miRNA 及其靶基因与鼻咽癌中的血管生成及侵袭转移密切相关^[72], 这些 miRNA 与靶基因的共同作用将导致鼻咽癌细胞的侵袭和转移. 如何调节这些与转移相关 miRNA 的表达? 如何阻断靶基因生物学功能的发挥? 这些都值得深入研究.

4 与鼻咽癌相关的 miRNA 和未来研究展望

综上所述, 表 1 中列举了已发现的各种 miRNA 与鼻咽癌之间的关系. 从表 1 可见, 近年来有关鼻咽癌的发病机制与 miRNA 关系的研究获得了越来越多的关注. 从 EBV 编码的 miRNA 对宿主产生的生物学效应, 到宿主细胞自身编码的 miRNA 在鼻咽癌发生发展中发挥的生物学功能, 这些都引起了科学家们的极大兴趣. 同时, 在对 miRNA 的研究中也出现了许多值得深思的问题. 例如: (1) 在鼻咽癌的发病机制中, 是否存在具有入核功能的 miRNA, 它能否发挥转录因子的作用? (2) 在 miRNA 与靶基因作用的邻近区域是否存在类似 Dead end 1 (Dnd1) 的 RNA 结合蛋白, 它能否间接抑制 miRNA 与靶点的相互作用? (3) 在鼻咽癌的诊断治疗中, 是否可在血清或体液中检测到鼻咽癌高度特异性的 miRNA 表达, 它能否作为一种生物标志物对鼻咽癌进行早期诊断? (4) 多种 miRNA 的表达是否可协同增加机体对放化疗的敏感性? 这些都是今后需要重点研究的问题.

目前, 在有关鼻咽癌发病机制的研究中已发现 LMP1 与 miRNA 存在密切的联系, 因此今后可研究 LMP1 信号转导通路中 miRNA 与激酶、转录因子及靶基因的相互作用等. LMP1 可通过调节信号转导通路中 miRNA 的表达来实现对转移相关基因的调控, 因此对转移相关基因的特殊关注将有助于深入了解 miRNA 在鼻咽癌侵袭转移中发挥的作用, 为减少鼻咽癌的转移和复发提供新的靶点.

此外, Plk1 也是一个值得重点关注的靶分子. Plk1 在调节鼻咽癌细胞的有丝分裂及细胞周期中发挥着非常关键的作用, 而且与放疗具有协同作用, 因此深入研究 Plk1 相关的 miRNA 与放疗相结合的抑癌机制, 将为鼻咽癌的治疗带来新的希望. 总之, 对 miRNA 与鼻咽癌发病机制之间关系的深入研究将为我们认识鼻咽癌的发生发展提供更新的视角, 也将为鼻咽癌的诊断和治疗带来新的思路与启示.

表 1 与鼻咽癌相关的 miRNA

miRNA	靶点	生物学功能	在鼻咽癌中的表达情况 ^{a)}	参考文献
ebv-miR-BART cluster 1	LMP1	浸润、转移、永生化、凋亡、增殖	↑	[37]
ebv-miR-BART 6	Dicer	EBV 的感染及潜伏状态	↑	[31]
ebv-miR-BART 5	PUMA	抑制细胞凋亡	↑	[30]
ebv-miR-BHRF1-3	CXCL11	免疫保护	↑	[29]
miR-141	BRD3, UBAP1, PTEN	影响细胞周期、凋亡、生长、迁徙、侵袭	↑	[44]
miR-29c	细胞外基质蛋白	侵袭、转移	↓	[70]
miR-200a	ZEB2, CTNNB1	细胞生长、迁徙、转移	↓	[71]
miR-15b, miR-16, miR-20a, miR-20b	VEGF	影响血管生成	↓	[65]
miR-204, miR-195, miR-143, miR-187	CCND2, CCNE2, CDC25A, VEGFA, PLCG1, AKT	参与信号通路的调节及细胞周期、凋亡、 细胞骨架的重构	↓	[40]
miR-100	PIK1	影响有丝分裂及细胞周期	↓	[55]
miR-155	PU.1	促进细胞生长、分化、凋亡, 参与淋巴 细胞的激活	↑	[36]
miR-10b	未定	侵袭、转移	↑	[67]

a) ↑, 高于正常鼻咽上皮组织中 miRNA 的水平; ↓, 低于正常鼻咽上皮组织中 miRNA 的水平

参考文献

- George A C, Carlo M C. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 857–866
- Chin D, Boyle G M, Porceddu S, et al. Head and neck cancer: Past, present and future. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2006, 6: 1111–1118
- Deyrup A T. Epstein-Barr virus-associated epithelial and mesenchymal neoplasms. *Hum Pathol*, 2008, 39: 473–483
- Zhu J Y, Pfuhl T, Motsch N, et al. Identification of novel Epstein-Barr virus microRNA genes from nasopharyngeal carcinomas. *J Virol*, 2009, 83: 3333–3341
- Georgia S. Emerging roles of microRNAs as molecular switches in the integrated circuit of the cancer cell. *RNA*, 2009, 15: 1443–1461
- Filipowicz W, Bhattacharyya S N, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: Are the answers in sight? *Nat Rev Genet*, 2008, 9: 102–114
- Israel A, Sharan R, Ruppin E, et al. Increased microRNA activity in human cancers. *PLoS One*, 2009, 4: e6045
- Olson P, Lu J, Zhang H, et al. MicroRNA dynamics in the stages of tumorigenesis correlate with hallmark capabilities of cancer. *Genes Dev*, 2009, 23: 2152–2165
- Zhang B, Pan X, Cobb G P, et al. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol*, 2007, 302: 1–12
- Wu M, Jolicoeur N, Li Z, et al. Genetic variations of microRNAs in human cancer and their effects on the expression of miRNAs. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 1710–1716
- Kumar M S, Lu J, Mercer K L, et al. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. *Nature Genet*, 2007, 39: 673–677
- Liu C G, Calin G A, Volinia S, et al. MicroRNA expression profiling using microarrays. *Nat Protoc*, 2008, 3: 563–578
- Hatfield S, Ruohola-Baker H. microRNA and stem cell function. *Cell Tissue Res*, 2008, 331: 57–66
- Bushati N, Cohen S M. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23: 175–205
- Finoux A L, Chartrand P. Oncogenic and tumour suppressor microRNAs. *Med Sci (Paris)*, 2008, 24: 1049–1054
- Wang X, Tang S, Le S Y, et al. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth. *PLoS One*, 2008, 3: e2557
- Aurora E K, Frank J S. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 259–269
- Rai D, Karanti S, Jung I, et al. Coordinated expression of microRNA-155 and predicted target genes in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Genet Cytogenet*, 2008, 181: 8–15
- Takakura S, Mitsutake N, Nakashima M, et al. Oncogenic role of miR-17-92 cluster in anaplastic thyroid cancer cells. *Cancer Sci*, 2008, 99: 1147–1154
- Welch C, Chen Y, Stallings R L. MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene*, 2007, 26: 5017–5022
- Douglas R H. Metastamir: The field of metastasis-regulatory microRNA is spreading. *Cancer Res*, 2009, 69: 7495–7498

- 22 Cosmopoulos K, Pegtel M, Hawkins J, et al. Comprehensive profiling of Epstein-Barr virus microRNAs in nasopharyngeal carcinoma. *J Virol*, 2009, 83: 2357–2367
- 23 Griffiths-Jones S, Saini H K, van Dongen S, et al. miRBase: Tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: D154–D158
- 24 Gourzones C, Gelin A, Bombik I, et al. Extra-cellular release and blood diffusion of BART viral micro-RNAs produced by EBV-infected nasopharyngeal carcinoma cells. *Virology*, 2010, 7: 271
- 25 Jing Y Z, Wang Y, Jia Y P, et al. Polymorphisms of Epstein-Barr virus *BHRF1* gene, a homologue of bcl-2. *Chin J Cancer*, 2010, 29: 1000–1005
- 26 Edwards R H, Marquitz A R, Raab-Traub N. Epstein-Barr virus BART microRNAs are produced from a large intron prior to splicing. *J Virol*, 2008, 82: 9094–9106
- 27 Ghosh Z, Mallick B, Chakrabarti J. Cellular versus viral microRNAs in host-virus interaction. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 1035–1048
- 28 Cullen B R. Viral and cellular messenger RNA targets of viral microRNAs. *Nature*, 2009, 457: 421–425
- 29 Xia T, O'Hara A, Araujo I, et al. EBV microRNAs in primary lymphomas and targeting of CXCL-11 by ebv-mir-BHRF1-3. *Cancer Res*, 2008, 68: 1436–1442
- 30 Choy E Y, Siu K L, Kok K H, et al. An Epstein-Barr virus-encoded microRNA targets PUMA to promote host cell survival. *J Exp Med*, 2008, 205: 2551–2560
- 31 Iizasa H, Wulff B E, Alla N R, et al. Editing of Epstein-Barr virus-encoded BART6 microRNAs controls their dicer targeting and consequently affects viral latency. *J Biol Chem*, 2010, 285: 33358–33370
- 32 Chang L K, Chuang J Y, Nakao M, et al. MCAF1 and synergistic activation of the transcription of Epstein-Barr virus lytic genes by Rta and Zta. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 4687–4700
- 33 Hariwiyanto B, Sastrowiyoto S, Mubarika S, et al. LMP1 and LMP2 may be prognostic factors for outcome of therapy in nasopharyngeal cancers in Indonesia. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11: 763–766
- 34 Natalie M, Thorsten P, Jan M, et al. Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 (LMP1) induces the expression of the cellular microRNA miR-146a. *RNA Biol*, 2007, 4: 131–137
- 35 Middeldorp J M, Pegtel D M. Multiple roles of LMP1 in Epstein-Barr virus induced immune escape. *Semin Cancer Biol*, 2008, 18: 388–396
- 36 Graziana G, Annalisa R, Daniela R, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 trans-activates miR-155 transcription through the NF- κ B pathway. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 6608–6619
- 37 Lo A K, To K F, Lo K W, et al. Modulation of LMP1 protein expression by EBV-encoded microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16164–16169
- 38 Zheng H, Li L L, Hu D S, et al. Role of Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 in the carcinogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4: 185–196
- 39 Liu Q, Fu H, Sun F, et al. miR-16 family induces cell cycle arrest by regulating multiple cell cycle genes. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 5391–5404
- 40 Chen H C, Chen G H, Chen Y H, et al. MicroRNA deregulation and pathway alterations in nasopharyngeal carcinoma. *Br J Cancer*, 2009, 100: 1002–1011
- 41 Li Y H, Hu C F, Shao Q, et al. Elevated expressions of survivin and VEGF protein are strong independent predictors of survival in advanced nasopharyngeal carcinoma. *J Transl Med*, 2008, 6: 1
- 42 Pan J, Kong L, Lin S, et al. The clinical significance of coexpression of cyclooxygenases-2, vascular endothelial growth factors, and epidermal growth factor receptor in nasopharyngeal carcinoma. *Laryngoscope*, 2008, 118: 1970–1975
- 43 Zeng Z Y, Zhou Y H, Zhang W L, et al. Gene expression profiling of nasopharyngeal carcinoma reveals the abnormally regulated Wnt signaling pathway. *Hum Pathol*, 2007, 38: 120–133
- 44 Zhang L M, Deng T, Li X Y, et al. MicroRNA-141 is involved in a nasopharyngeal carcinoma-related genes network. *Carcinogenesis*, 2010, 31: 559–566
- 45 Zhou H D, Li X L, Li G Y, et al. Effect of SPLUNC1 protein on the *Pseudomonas aeruginosa* and Epstein-Barr virus. *Mol Cell Biochem*, 2008, 309: 191–197
- 46 Nakada C, Matsuura K, Tsukamoto Y, et al. Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: Significant down-regulation of miR-141 and miR-200c. *J Pathol*, 2008, 216: 418–427
- 47 Xiao B, Fan S, Zeng Z, et al. Purification of novel UBAP1 protein and its decreased expression on nasopharyngeal carcinoma tissue microarray. *Protein Expr Purif*, 2006, 47: 60–67
- 48 Chalhoub N, Baker S J. PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4: 127–150
- 49 Shen G P, Pan Q H, Hong M H, et al. Human genetic variants of homologous recombination repair genes first found to be associated with Epstein-Barr virus antibody titers in healthy cantonese. *Int J Cancer*, 2010, doi: 10.1002/ijc.25759

- 50 Ran Y, Wu S, You Y. Demethylation of E-cadherin gene in nasopharyngeal carcinoma could serve as a potential therapeutic strategy. *J Biochem*, 2010, doi: 10.1093/jb/mvq128
- 51 Guo Y, Chen J X, Yang S, et al. Selection of reliable reference genes for gene expression study in nasopharyngeal carcinoma. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31: 1487–1494
- 52 Xu Y F, Liu W L, Dong J Q, et al. Sequencing of DC-SIGN promoter indicates an association between promoter variation and risk of nasopharyngeal carcinoma in Cantonese. *BMC Med Genet*, 2010, doi: 10.1186/1471-2350-11-161
- 53 Wang S, Xiao X, Zhou X, et al. TFPI-2 is a putative tumor suppressor gene frequently inactivated by promoter hypermethylation in nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*, 2010, doi: 10.1186/1471-2407-10-617
- 54 Strebhardt K, Ullrich A. Targeting Polo-like kinase 1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 321–330
- 55 Wei S, Nehad M A, Carlo B, et al. Significance of Plk1 regulation by miR-100 in human nasopharyngeal cancer. *Int J Cancer*, 2010, 126: 2036–2048
- 56 Liu X, Lei M, Erikson R L. Normal cells, but not cancer cells, survive severe Plk1 depletion. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 2093–2108
- 57 Jang Y J, Ji J H, Choi Y C, et al. Regulation of Polo-like kinase 1 by DNA damage in mitosis: Inhibition of mitotic PLK-1 by protein phosphatase 2A. *J Biol Chem*, 2007, 282: 2473–2482
- 58 Sun F, Mikuni S, Kinjo M. Monitoring the caspase cascade in single apoptotic cells using a three-color fluorescent protein substrate. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, doi: 10.1016/j.bbrc.2010.12.047
- 59 Syljuasen R G, Jensen S, Bartek J, et al. Adaptation to the ionizing radiation-induced G2 checkpoint occurs in human cells and depends on checkpoint kinase 1 and Polo-like kinase 1 kinases. *Cancer Res*, 2006, 66: 10253–10257
- 60 Spankuch B, Kurunci-Csacsko E, Kaufmann M, et al. Rational combinations of siRNAs targeting Plk1 with breast cancer drugs. *Oncogene*, 2007, 26: 5793–5807
- 61 Su S F, Han F, Zhao C, et al. Long-term outcomes of early-stage nasopharyngeal carcinoma patients treated with intensity-modulated radiotherapy alone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.09.011
- 62 Zhao L, Wan Q, Zhou Y, et al. The role of replanning in fractionated intensity modulated radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. *Radiother Oncol*, 2010, doi: 10.1016/j.radonc.2010.10.009
- 63 Shai E, Varon D. Development, cell differentiation, angiogenesis—Microparticles and their roles in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31: 10–14
- 64 Lv X, Xiang Y Q, Cao S M, et al. Prospective validation of the prognostic value of elevated serum vascular endothelial growth factor in patients with nasopharyngeal carcinoma: More distant metastases and shorter overall survival after treatment. *Head Neck*, 2010, doi: 10.1002/hed.21541
- 65 Hua Z, Lv Q, Ye W B, et al. MiRNA-directed regulation of VEGF and other angiogenic factors under hypoxia. *PLoS One*, 2006, 1: e116
- 66 Olsson A K, Dimberg A, Kreuger J, et al. VEGF receptor signalling—in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 359–371
- 67 Li G, Wu Z R, Peng Y, et al. MicroRNA-10b induced by Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein-1 promotes the metastasis of human nasopharyngeal carcinoma cells. *Cancer Lett*, 2010, 299: 29–36
- 68 Chew M M, Gan S Y, Khoo A S, et al. Interleukins, laminin and Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (EBV LMP1) promote metastatic phenotype in nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*, 2010, 10: 574
- 69 Kim T J, Lee Y S, Kang J H, et al. Prognostic significance of expression of vegf and cox-2 in nasopharyngeal carcinoma and its association with expression of C-erbB2 and EGFR. *J Surg Oncol*, 2010, doi: 10.1002/jso.21767
- 70 Sikumar S, Johan A B, Chen I H, et al. MicroRNA 29c is down-regulated in nasopharyngeal carcinomas, up-regulating mRNAs encoding extracellular matrix proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 5874–5878
- 71 Xia H, Ng S S, Jiang S, et al. MiR-200a-mediated downregulation of ZEB2 and CTNNB1 differentially inhibits nasopharyngeal carcinoma cell growth, migration and invasion. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391: 535–541
- 72 Chen L C, Chen C C, Liang Y, et al. A novel role for TNFAIP2: Its correlation with invasion and metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Mod Pathol*, 2010, doi: 10.1038/modpathol.2010.193