

MiR-132 抑制肿瘤转移*

管 娣^{1, 2)} 刘春颖³⁾ 陈 晨¹⁾ 殷勤伟^{1, 3)**}

(¹⁾中国科学院生物物理研究所, 北京 100101; ²⁾中国科学院大学, 北京 100049; ³⁾北京军区总医院, 北京 100700)

摘要 肿瘤转移是造成癌症难以根治的重要原因之一。近年来越来越多的研究发现, miRNA 在肿瘤转移过程中发挥了直接或间接的作用。本研究的目标是找到一种特异性的肿瘤转移相关 miRNA, 能够作为抑制肿瘤转移的潜在靶标。miR-132 是一类与炎症、血管生长、中枢神经系统相关的 miRNA, 至今还没有研究证明其与肿瘤转移相关。为了验证 miR-132 与肿瘤迁移的相关性, 本研究将 miR-132 转染入高迁移乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 细胞中, 检测细胞迁移率的变化。实验发现 miR-132 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移。为了进一步揭示 miR-132 抑制细胞迁移的可能机制, 本研究通过生物信息学手段寻找并鉴定了 3 种可能与肿瘤转移相关的 miR-132 的靶基因, 它们分别是 CHIP(STUB1)、G3BP1、G3BP2。分别比对 MCF7 与 MDA-MB-231 细胞, 及转染 miR-132 和对照组 MDA-MB-231 细胞中以上 3 种基因的表达差异, 我们发现 G3BP1、G3BP2 可能参与 miR-132 对肿瘤转移的调控。本研究首次报道 miR-132 与肿瘤转移的关系, 并揭示了 miR-132 调节肿瘤转移的可能机制, 说明了 miR-132 具有作为特异性抑制肿瘤转移靶标的潜力, 为抑制肿瘤转移提供一个新的靶点。

关键词 miRNA, miR-132, 肿瘤转移, G3BP1, G3BP2

学科分类号 Q2, Q5, Q7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00231

microRNA (miRNA) 是长度为 19~25 nt 的非编码 RNA (ncRNA, non-coding RNA)。成熟的 miRNAs 通常由具有颈环结构的前体 shRNA 加工而形成。miRNAs 被证明通过 5' 端 7~8 个碱基识别靶基因 mRNA 的 3' UTR 序列中的特殊序列, 与靶基因 mRNA 不完全结合, 从而使靶基因的表达被沉默或抑制, 达到转录后修饰靶基因的目的^[1-2]。

大量的研究发现, 多种 miRNA 与肿瘤转移及肿瘤发生的其他过程相关^[3-4]。因此, miRNA 成为治疗原发肿瘤并同时抑制肿瘤转移的有效靶向目标及治疗工具。miR-21 是研究最深入的 miRNA 之一, 现有的研究表明 miR-21 在多种肿瘤中不但发挥了促进肿瘤转移的作用, 同时也具有抗凋亡、促增殖及药物保护方面的作用, miR-21 与肿瘤恶性程度及激素受体状态相关^[5-6]。Let-7 家族由 13 种 miRNA 组成, 定位于 9 条不同的染色体上, 在多种人类肿瘤中异常表达。Let-7 家族除了能够抑制肿瘤转移, 同时被证明能够影响肿瘤化疗及放疗敏感度, 更普遍的是, Let-7 家族在发展低分化恶性肿瘤上发挥着作用^[6-7]。同样, miR-15/16 集群编码

的 miRNA 通过抑制肿瘤增殖、促进细胞凋亡而抑制肿瘤。miR-15/16 集群编码的 miRNA 在包括前列腺癌等多种肿瘤中发挥作用, 当肿瘤中 miRNA 水平下调, 其抑制肿瘤成瘤性的功能降低^[6, 8]。因此, miRNA-16 的体内合成与转运为肿瘤治疗提供了一种可能的方法^[9]。miR-151 是由 FAK 基因编码的非编码 RNA, miR-151 被证明能够靶向肿瘤转移抑制因子 RhoGDI, 与 FAK 协同作用, 促进肝癌细胞的生长与转移^[10]。在直肠癌中, miR-143 通过靶向 MACC1 抑制细胞迁移和侵袭^[11]。miR-34a 被发现在骨肉瘤细胞中抑制生长与转移^[12]。miR-203 的沉默被证明在乳腺癌等多种肿瘤细胞中引起凋亡, 抑制肿瘤侵袭和转移^[13]。越来越多的证据证明了 miRNA 在调节肿瘤转移过程中的重要作用。

* 国家自然科学基金资助项目(30871250), 国家“十二五”科技重大专项(2011ZX09401-012)。

** 通讯联系人。

Tel: 010-64057752, E-mail: jamesyin2010@126.com

收稿日期: 2012-05-15, 接受日期: 2012-05-30

miR-132 是 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB, cAMP response element-binding protein)的靶标. 成熟 miR-132 长度为 22 bp, 由长度为 66 bp 的前体 RNA 进行加工而生成. miR-132 在脊椎动物中高度保守, 在不同物种中的结构相似. miR-132 定位于大鼠第 10 号染色体, 小鼠的第 11 号染色体和人的第 17 号染色体. miR-132 被证明具有调节血管的生长、调节神经退化及多巴胺神经元的分化等功能, 并在控制炎症方面发挥作用^[4]. 迄今为止的研究中, 没有人发现 miR-132 与肿瘤转移的关系. 本研究首次将 miR-132 与肿瘤转移关联, 通过研究 miR-132 在高迁移细胞株 MDA-MB-231 和低迁移细胞株 MCF7 细胞中的表达差异, 以及转入 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞与对照组 MDA-MB-231 细胞转移功能的差异, 鉴定 miR-132 与肿瘤转移的关系. 随后通过生物信息学手段寻找并鉴定 miR-132 的靶基因, 希望了解 miR-132 调节肿瘤转移的机制.

1 材料与方法

1.1 材料

乳腺癌细胞系 MCF7 细胞由中国科学院生物物理研究所阎锡蕴研究员馈赠; 乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 细胞购自上海细胞库. 细胞培养基购自 Hyclone 公司; 胰酶、抗生素、DMSO、丙酮酸钠溶液、非必需氨基酸溶液均购自 Gibco 公司; 胎牛血清购自 PAA 公司; 胰岛素、Trizol Reagent 试剂、Lipofectamine 2000、Opti-MEM、SYBR green 染料均购自 Invitrogen 公司; M-MLV 逆转录酶购自 Promega 公司; Transwell 板购自 Corning 公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养. MCF7 细胞完全培养基成分为: MEM/EBSS 培养基+10 mg/L 胰岛素+1.0 mmol/L 丙酮酸钠+0.1 mmol/L 非必需氨基酸+10%胎牛血清; MDA-MB-231 细胞完全培养基成分为: L15 培养基+10%胎牛血清. 细胞置于 37℃, 含 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养. 0.25%胰酶用于细胞消化, 传代. 胎牛血清+10% DMSO 用于细胞冻存, 冻存顺序为 4℃/30 min, -20℃/2 h, -80℃/过夜于液氮.

1.2.2 质粒构建. 载体由上海吉玛生物制药有限公司构建. 表达载体为 pGPU6/GFP/Neo; miR-132 前体 miRNA 序列为: 5' CCGCCCCCGCGUCUCC-AGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUACUGU-

GGGAACUGGAGGUAACAGUCUACAGCCAUG-GUCGCCCCGCA-GCAGCCCCACGCGC 3'. miR-NC 前体 miRNA 序列为: 5' CCGCCCCCGCGUCUUU-CUCCGAACGUGUCACGUUUAAGAGAACGUG-ACACGUUCGGAGAAGCACGCCCCACGCGC 3'

1.2.3 细胞转染. 制备细胞悬液, 将细胞铺于 6 孔板中, 使得细胞覆盖率达到 80%~90%. 按照 Invitrogen 公司提供的 Lipofectamine 2000 说明书进行转染, 24~48 h 后检测转染效率.

1.2.4 Transwell 体外侵袭实验. 将转染后的细胞消化为单细胞悬液, 按照 Corning 公司 Transwell 24 孔板的说明书进行 Transwell 体外侵袭实验. 用 0.1%结晶紫溶液对迁移后的细胞进行染色. 显微镜下观察被染色的细胞, 每个 transwell 小孔随机取 8 个视野照相, 软件处理照片, 对照片中已染色的细胞计数, 以迁移细胞数除以加入 transwell 小室的总细胞数, 计算相对迁移率.

1.2.5 RNA 提取 - 逆转录实验. Trizol Reagent 试剂处理细胞, 提取总 RNA. M-MLV 逆转录酶将 RNA 逆转录为 cDNA.

1.2.6 PCR 反应. PCR 反应体系为: cDNA 1 μl, 2×PCRmix 10 μl, primer(10 μmol/L) 2 μl, 双蒸水补齐至 20 μl. 反应程序为: 94℃/5 min; 40 个循环(94℃/20 s, 60℃/20 s, 72℃/20 s); 72℃/7 min; 4℃/保存. PCR 引物序列如下: CHIP, F: 5' AAG CCA AGC ACG ACA AGT AC AT 3', R: 5' CTG ATC TTG CCA CAC AGG TAG T 3', 106 bp; G3BP1, F: 5' GAC TTG AGG ACA TTT TCT TGG GC 3', R: 5' TTC GGG CTT AGA CTC TGG ACG G 3', 135 bp; G3BP2, F: 5' GTC CGC TGC TTG TAG GGC 3', R: 5' CAT CAA GTT CAG GCT CAG AAT 3', 120 bp; MTA1, F: 5' TAC GCA AGC CGC TGG AAG CC 3', R: 5' GTC CTC GAT GAT GAT GGG CTC G 3', 157 bp; MTA3, F: 5' TCC CAA CCT ACA GCA AAC C 3', R: 5' GCA CAA CAT ATA AGG TTA G 3', 148 bp; XOR, F: 5' ATG GAC CCG ACG GTA TCT C 3', R: 5' CGC CAC AGA CTT GAC TTG C 3', 144 bp; β-actin, F: 5' TCA CCC ACA CTG TGC CCC ATC TAC GA 3', R: 5' CAG CGG AAC CGC TCA TTG CCA A 3', 297 bp. 1%琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 产物, 凝胶成像系统分析电泳胶中荧光条带. 基因的相对表达量计算公式为: 目的基因的荧光强度 / 内参(β-actin)条带荧光强度.

1.2.7 实时定量荧光 PCR 反应(Real-time PCR).

miR-132 靶基因用 SYBR Green 荧光试剂进行实时定量 PCR 反应. 反应程序为: 94℃ / 5 min; 40 个循环(94℃ / 10 s, 60℃ / 15 s, 72℃ / 20 s); 72℃ / 7 min; 4℃ / 保存. 引物序列同 PCR 反应. 利用基于 polyA 聚合酶加尾法(polyA tailing assay)的 real-time PCR 对 miR-132 进行定量检测. miR-132 PCR 引物为: F, 5' GCT CTC ATC GCT AGC GAT CGT AG 3', R, 5' TAA CAG TCT ACA GCC ATG GTC G 3'; 内参(U6)引物: F, 5' CTC GCA TCG GTA GTA GAT G 3', R, 5' ATC GCT ATC GCA ATT GTA AGC T 3'. 基因相对表达量差异计算采用 $\Delta\Delta Ct$ 法.

1.2.8 统计学分析. SPSS13.0 处理统计数据, 配对数据 t 检验用来分析差异显著性, $P < 0.05$ 代表差异显著.

2 结 果

2.1 miR-132 在高迁移细胞株和低迁移细胞株中的表达

miR-132 是一种在血管生长、神经退行性疾病及炎症等中发挥作用的小 RNA, 它在肿瘤及肿瘤转移中的作用从未被报道. 为了证明 miR-132 在肿瘤转移中的作用, 我们首先观察了 miR-132 在高迁移细胞系 MDA-MB-231 和低迁移细胞系 MCF7 中的表达情况. Real-time PCR 结果显示, 低迁移细胞系 MCF7 细胞中 miR-132 表达量明显高于高迁移细胞系中 miR-132 的表达量(图 1), 说明 miR-132 可能与肿瘤转移相关.

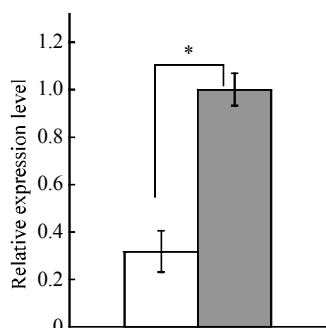


Fig. 1 Relative expression level of miR-132 in MDA-MB-231 and MCF7 cell by real-time PCR

Relative expression level of miR-132 in MDA-MB-231 has been set to 1.0. All the real-time PCR assays were carried out in triplicate. y axis level represents $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$. □: MDA-MB-231; ■: MCF7.

2.2 细胞体外迁移-Transwell 侵袭实验

Transwell 侵袭实验是体外检测细胞相对侵袭能力的常用手段. 为了验证 transwell 侵袭实验的可靠性, 我们分别对已知的高迁移细胞系 MDA-MB-231 细胞及低迁移细胞系 MCF7 细胞进行 transwell 侵袭实验. 结果如图 2a 所示, 图 2 中被染成紫色的细胞为迁移过膜的细胞. 从图 2 中明显可见, 经过 24 h 的迁移, MDA-MB-231 过膜的细胞明显多于 MCF7 细胞; 对经结晶紫染色的过膜细胞进行统计, MDA-MB-231 细胞相对迁移率约为 84%, MCF7 细胞的相对迁移率约为 39% (图 2c). 数据显示 MDA-MB-231 细胞迁移率高于 MCF7 细胞, 证明 transwell 侵袭实验可以用于测定细胞相对侵袭能力.

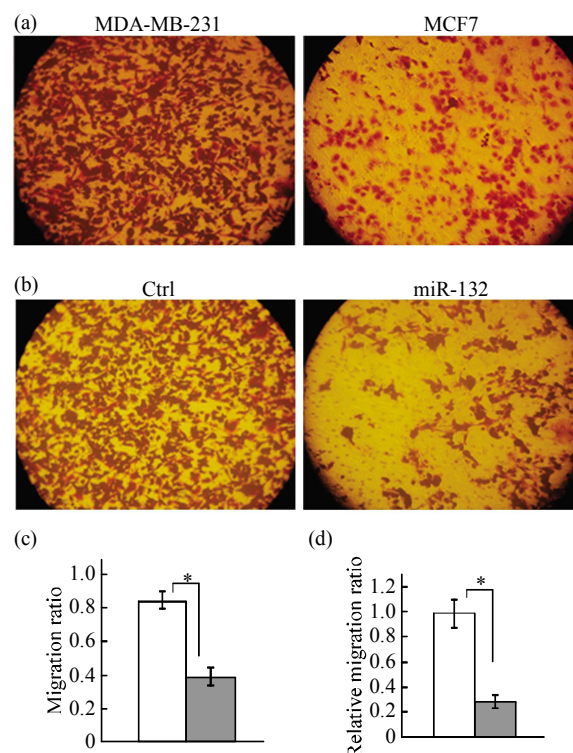


Fig. 2 MiR-132 could effectively inhibit tumor cells migration

Relative migration ability is analyzed by transwell assay in various cell types. (a) MDA-MB-231 and MCF7 cells are stained by crystal violet after migration. (b) MDA-MB-231 cells transfected with miR-132 or miR-NC are stained by crystal violet after migration. The original magnification was 10 $\times$. (c) Relative migration ratio of MDA-MB-231 and MCF7 cells. □: MDA-MB-231; ■: MCF7. (d) Relative migration ratio of MDA-MB-231 cells transfected with miR-132 or miR-NC. The relative migration ratio of MDA-MB-231 cells with miR-NC transduction has been set to 1.0. □: miR-NC; ■: miR-132. Triplicate assays were performed in each cell lines. y axis level represents $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$.

随后, 我们将转染 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞与转染无意义 miRNA 的 MDA-MB-231 细胞分别进行 transwell 体外侵袭实验, 以研究 miR-132 在体外对肿瘤细胞迁移能力的影响. 结果显示转染 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞迁移过膜的细胞数明显低于对照组转染入无意义 RNA(miR-NC)的 MDA-MB-231 细胞(图 2b). 对经结晶紫染色的过膜细胞进行统计, 数据显示转染入 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞相对迁移率为对照组的 29.4% (图 2d), 转染 miR-132 后细胞迁移率明显降低. 证明 miR-132 能够在体外高效抑制高迁移细胞系 MDA-MB-231 的迁移. 因此本研究新发现的 miR-132 与肿瘤转移具有相关性, 能够成为抑制肿瘤转移的潜在靶标.

2.3 miR-132 靶基因

以上结果显示, 本研究发现的 miR-132 能够在体外抑制肿瘤细胞转移, 并且这种能力是首次被发现. 为了进一步揭示 miR-132 抑制肿瘤的可能机制, 我们根据已有的研究, 选择出可能与迁移相关的 20 多种基因的 3' UTR 序列与 miR-132 的 5'端 8

个碱基进行比对, 比对结果显示有 5 个与 miR-132 高度结合的基因, 它们分别是 CHIP、G3BP1、G3BP2、MTA1、XOR(图 3a).

随后, Real-time PCR 检测以上 5 种基因在不同细胞中的表达情况. 在转染 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞中, miR-132 表达量远远高于在转染 miR-NC 的 MDA-MB-231 细胞中的表达量(图 3b), 证明 miR-132 过表达系统成功. 在以上预测的 miR-132 可能的靶基因中, 表达下调的基因有 CHIP、G3BP1、G3BP2, MTA1、XOR 表达差异不明显(图 3d). 说明 miR-132 在 MDA-MB-231 细胞中调节细胞迁移的可能靶基因为 CHIP、G3BP1、G3BP2. 在高迁移细胞系 MDA-MB-231 细胞中, CHIP 表达被下调, 而 G3BP1、G3BP2 的表达被上调(图 3c). 其中 CHIP 基因已经被报道与肿瘤迁移相关, CHIP 的低表达会引起肿瘤的高迁移能力^[9]. 因此我们推测, miR-132 可能通过下调 G3BP1 和 G3BP2 抑制肿瘤转移, 而且仅仅下调 CHIP 无法促进肿瘤转移, 肿瘤转移是由多种基因共同调节的, 至少由 CHIP、G3BP1、G3BP2 共同调节.

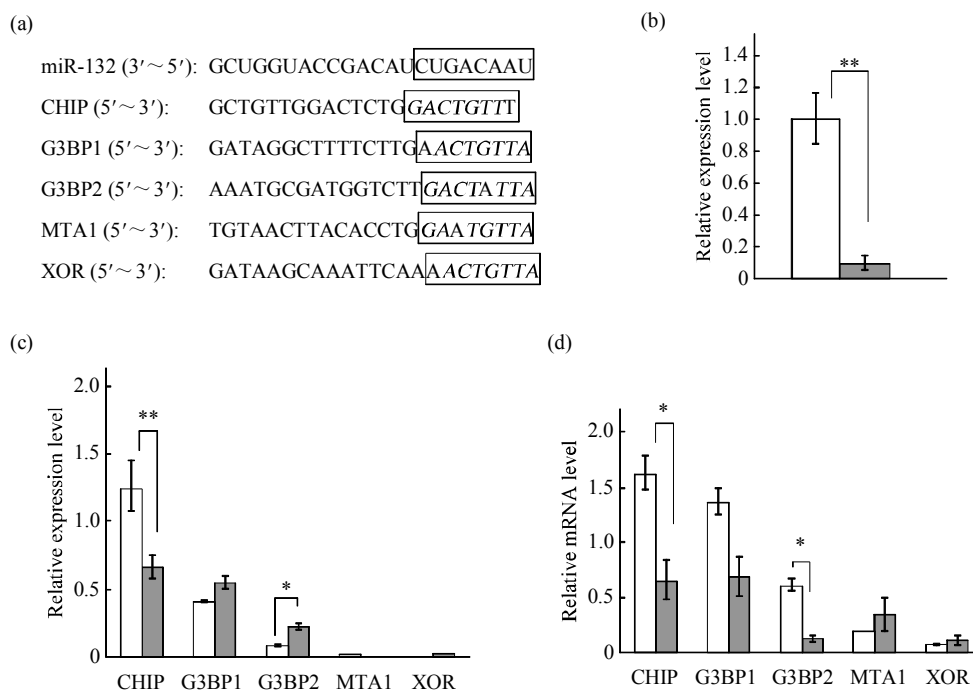


Fig. 3 Relative expression levels of miR-132 target genes

(a) Blast between miR-132 seed sequence (8 bp from 5' end, in the box) and 3' UTR sequence of putative target genes of miR-132. Bases of miR-132 target genes complementary to miR-132 seed sequence are in italic. (b) Relative expression level of miR-132 in MDA-MB-231 cells transfected with miR-132 or miR-NC. $\square$: miR-132; $\blacksquare$: miR-NC. Real-time PCR analysis of expression level of miR-132 target gene candidates in MDA-MB-231 cells and MCF7 cells (c), $\square$: MCF7; $\blacksquare$: MDA-MB-231. (d) MDA-MB-231 cells transfected with miR-132 or miR-NC. $\square$: miR-NC; $\blacksquare$: miR-132. Triplicate assays were performed on each cell lines. y axis level represents $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3 讨 论

本研究中发现一种新的内源小 RNA——miR-132, 并首次报道它能够抑制肿瘤迁移. miR-132 有 5 个可能与迁移相关的靶基因: CHIP (STUB1)、G3BP1、G3BP2、MTA1、XOR. 其中被下调的基因仅有 CHIP(STUB1)、G3BP1、G3BP2. 而以上 3 种基因在 MDA-MB-231 中上调的基因仅有 G3BP1/G3BP2. 因此, miR-132 可能通过下调 G3BP1/G3BP2 的表达, 抑制肿瘤的迁移.

G3BP1 和 G3BP2 为 Ras-GTP 酶激酶结合蛋白 (RasGAP SH3-domain-binding protein)^[16], G3BP1 具有核转移因子 2 相似结构域(NTF2 domain, nuclear transport factor 2-like domain)、RNA 识别元件结构域(RRM domain, RNA recognition motif domain)和精氨酸-甘氨酸富集区域(Arg- Gly rich region), 具有核酸内切酶及 DNA 解螺旋酶的活性^[17-18]. 已有的报道表明, G3BP 与病毒的复制^[19]、多种细胞信号途径^[20-22]、RNA 代谢^[17]、细胞生长、增殖和存活^[23]等多种细胞活动相关, 但是没有任何文章表明 G3BP 与肿瘤迁移的具体联系. 本文证明了 miR-132 可能通过 G3BP1/G3BP2 调节肿瘤迁移. 在转染了 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞中, CHIP、G3BP1、G3BP2 表达被下调, 而其中 CHIP 的下调能够引起肿瘤转移能力的增强^[15]. 因此, 我们推测有多种基因及多种信号途径能够调节肿瘤的转移能力, 肿瘤能否转移是多方综合力量的结果. 所以, CHIP 不能作为衡量肿瘤细胞转移能力的唯一标准. 本文提示了 miR-132 和 / 或 G3BP 有可能成为鉴定细胞转移能力的标志.

肿瘤干细胞与肿瘤转移的关系一直存在着争议. 已有的研究表明 GSK-3 β 与肿瘤干细胞的自我更新能力相关. GSK-3 β 的下调激活 WNT 信号通路, 促进肿瘤干细胞的自我更新. 本研究发现在转染入 miR-132 的 MDA-MB-231 细胞中 GSK-3 β 被下调伴随着细胞迁移能力减弱(数据在本文中未显示), 暗示肿瘤干细胞与肿瘤转移的关系是负相关. 而肿瘤转移的干细胞模型中认为干细胞是转移能力高的亚群. 肿瘤干细胞与肿瘤转移到底是正相关, 还是负相关, 仍有待证明.

miR-132 有望成为抑制肿瘤的潜力靶标, 但有些问题尚待解决. 如 miR-132 体内对肿瘤转移的影响, miR-132 通过 G3BP 影响肿瘤转移的相关信号通路, 以及肿瘤转移与肿瘤干细胞的相关性. 总

之, 本研究为抑制并研究肿瘤转移提供了一条新的线索.

参 考 文 献

- [1] Bartel D P. Micronas: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, **116**(2): 281-297
- [2] Carthew R W, Sontheimer E J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, **136**(4): 642-655
- [3] Cho W C S. MicroRNAs: Potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. *The Int J Biochem Cell Biol*, 2010, **42**(8): 1273-1281
- [4] Cho W C S. MicroRNAs in cancer - from research to therapy. *Biochimic Biophys Acta*, 2010, **1805**(2): 209-217
- [5] Selcuklu S D, Donoghue M T, Spillane C. MiR-21 as a key regulator of oncogenic processes. *Biochem Soc Trans*, 2009, **37**(4): 918-925
- [6] Hummel R, Hussey D J, Haier J. MicroRNAs: Predictors and modifiers of chemo- and radiotherapy in different tumour types. *Eur J Cancer*, 2010, **46**(2): 298-311
- [7] Boyerinas B, Park S-M, Hau A, *et al.* The role of let-7 in cell differentiation and cancer. *Endocr Relat Cancer*, 2010, **17**(1): 19-36
- [8] Aqeilan R I, Calin G A, Croce C M. MiR-15a and miR-16-1 in cancer: Discovery, function and future perspectives. *Cell Death Differ*, 2009, **17**(2): 215-220
- [9] Takeshita F, Patrawala L, Osaki M, *et al.* Systemic delivery of synthetic microRNA-16 inhibits the growth of metastatic prostate tumors *via* downregulation of multiple cell-cycle genes. *Mol Ther*, 2009, **18**(1): 181-187
- [10] Ding J, Huang S, Wu S, *et al.* Gain of miR-151 on chromosome 8q24.3 facilitates tumour cell migration and spreading through downregulating RhoGDI. *Nat Cell Biol*, 2010, **12**(4): 390-399
- [11] Zhang Y, Wang Z, Chen M, *et al.* MicroRNA-143 targets MACC1 to inhibit cell invasion and migration in colorectal cancer. *Molecular Cancer*, 2012, **11**(1): 23-29
- [12] Yan K, Gao J, Yang T, *et al.* MicroRNA-34a inhibits the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells both *in vitro* and *in vivo*. *PLoS ONE*, 2012, **7**(3): e33778
- [13] Zhang Z, Zhang B, Li W, *et al.* Epigenetic silencing of miR-203 upregulates SNAI2 and contributes to the invasiveness of malignant breast cancer cells. *Genes Cancer*, 2011, **2**(8): 782-791
- [14] Tognini P, Pizzorusso T. MicroRNA212/132 family: Molecular transducer of neuronal function and plasticity. *The J Biochem Cell Biol*, 2012, **44**(1): 6-10
- [15] Kajiro M, Hirota R, Nakajima Y, *et al.* The ubiquitin ligase CHIP acts as an upstream regulator of oncogenic pathways. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(3): 312-319
- [16] Parker F, Maurier F, Delumeau I, *et al.* A Ras-GTPase-activating protein SH3-domain-binding protein. *Mol Cell Biol*, 1996, **16**(6): 2561-2569
- [17] Gallouzi I E, Parker F, Chebli K, *et al.* A novel phosphorylation-dependent RNase activity of GAP-SH3 binding protein: A potential link between signal transduction and RNA stability. *Mol Cell Biol*,

- 1998, **18**(7): 3956–3965
- [18] Tourrière H, Chebli K, Zekri L, *et al.* The RasGAP-associated endoribonuclease G3BP assembles stress granules. *J Cell Biol*, 2003, **160**(6): 823–831
- [19] Cristea I M, Rozjabek H, Molloy K R, *et al.* Host factors associated with the Sindbis virus RNA-dependent RNA polymerase: Role for G3BP1 and G3BP2 in virus replication. *J Virol*, 2010, **84**(13): 6720–6732
- [20] Kim M M, Wiederschain D, Kennedy D, *et al.* Modulation of p53 and MDM2 activity by novel interaction with Ras-GAP binding proteins (G3BP). *Oncogene*, 2007, **26**(29): 4209–4215
- [21] Barnes C J, Li F, Mandal M, *et al.* Heregulin induces expression, ATPase activity, and nuclear localization of G3BP, a Ras signaling component, in human breast tumors. *Cancer Res*, 2002, **62**(5): 1251–1255
- [22] Prigent M, Barlat I, Langen H, *et al.* I κ B α and I κ B α /NF- κ B complexes are retained in the cytoplasm through interaction with a novel partner, RasGAP SH3-binding protein 2. *J Biol Chem*, 2000, **275**(46): 36441–36449
- [23] Zekri L, Chebli K, Tourrière H, *et al.* Control of fetal growth and neonatal survival by the RasGAP-associated endoribonuclease G3BP. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(19): 8703–8716

MiR-132 Inhibits Tumor Metastasis*

GUAN Di^{1,2}, LIU Chun-Ying³, CHEN Chen¹, YIN Qin-Wei^{1,3**}

⁽¹⁾ Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

⁽²⁾ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ⁽³⁾ Beijing Military General Hospital, Beijing 100700, China)

Abstract It has been shown that some miRNAs are related with tumor invasion and metastasis directly or indirectly. Our aim is to find a specific miRNA which plays an essential role in tumor metastasis. Although it has been shown that miR-132 was associated with blood vessel growth, neural development and differentiation, and inflammation, relationship between miR-132 and tumor metastasis was not studied in any research. In order to identify the effect of miR-132 on tumor metastasis, the migration ability *in vitro* was detected on breast cancer cell line MDA-MB-231 cells transduced with miR-132 (miR-132 group) and or mock miRNA (control group) by transwell assay. The results demonstrated significantly lower migration ratio in miR-132 case compared to that in control case, indicating inhibition effects on cancer migration of miR-132. To clarify the inhibition mechanism by which miR-132 inhibits cancer metastasis, target genes of miR-132 were screened and identified. They are CHIP (STUB1), G3BP1 and G3BP2. The expression levels of these 3 genes in MCF7 cells (metastasis cell line) and MDA-MB-231 cells with or without transduction of miR-132 or mock miRNA were detected by PCR and Real-time PCR. Two key genes, G3BP1/G3BP2, were founded to be involved in the regulation of miR-132 to tumor metastasis, demonstrating that miR-132 could silence G3BP1/G3BP2, which resulted in the suppression of tumor metastasis. Our research suggests that miR-132 may be an important potential target used for inhibition of cancer metastasis and clinical therapy of cancer, and shed light on the suppression mechanisms of miR-132.

Key words miRNA, miR-132, tumor metastasis, G3BP1, G3BP2

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00231

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30871250), and The National Major Science and Technology Project in The Twelfth Five- Year Plan Period (2011ZX09401-012).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-64057752, E-mail: jamesyin2010@126.com

Received: May 15, 2012 Accepted: May 30, 2012