

МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ микроРНК И ОНКОГЕНЕЗ

Обзор

© 2015 В.И. Логинов^{1,2}, С.В. Рыков³,
М.В. Фридман⁴, Э.А. Брага^{1,2*}

¹ Институт общей патологии и патфизиологии
125315 Москва; факс: +7(495)601-2366,
электронная почта: eleonora10_45@mail.ru

² Медико-генетический научный центр РАМН, 115478 Москва;
факс: +7(499)324-0702, электронная почта: karpukhin@med-gen.ru

³ Государственный научно-исследовательский институт генетики
и селекции промышленных микроорганизмов, 117545 Москва;
факс: +7(495)315-0501, электронная почта: genetika@genetika.ru

⁴ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 117971 Москва;
факс: +7(499)135-6213, электронная почта: iogen@vigg.ru

Поступила в редакцию 11.09.14

После доработки 29.09.14

Взаимодействие микроРНК с матричными РНК целевых генов на посттранскрипционном уровне обеспечивает тонкую и динамичную регуляцию сигнальных путей клетки. Каждая микроРНК может участвовать в регуляции сотни белок-кодирующих генов, и наоборот, структурный ген обычно представляет мишень для целого ряда микроРНК. Эпигенетическая инактивация генов, ассоциированная с метилированием промоторных CpG-островков, характерна как для белок-кодирующих генов, так и для генов микроРНК. В обзоре представлены сведения о функциях микроРНК в формировании фенотипа опухолевой клетки. Рассмотрены накопленные данные о геномной организации промоторных CpG-островков генов микроРНК, локализованных в межгенных и внутригенных областях. Суммированы литературные и собственные результаты по частоте метилирования CpG-островков генов микроРНК в опухолях; приведены сведения о связи этой модификации с изменением активности самих генов микроРНК и, как следствие, белок-кодирующих генов-мишеней. Кроме того, обсуждается влияние метилирования генов микроРНК на ключевые процессы онкогенеза и затронутые сигнальные пути.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микроРНК, CpG-островки, метилирование, гены-мишени, эпигенетические механизмы, онкогенез.

МикроРНК (миРНК) относятся к классу малых некодирующих РНК длиной 19–24 нуклеотида, выполняющих функцию посттранскрипционного регулятора экспрессии целевых генов [1, 2]. Некодирующие РНК ранее рассматривались как транскрипционный шум. Однако, согласно результатам недавних исследований, более трех четвертей генома человека транскрибируются, составляя сеть перекрывающихся транскриптов, не кодирующих белки [2, 3]. В рамках

проекта ENCODE была построена объединенная регуляторная мета-сеть, в которой учтено участие и взаимодействие всех известных регуляторных элементов генома человека, причем в первую очередь, транскрипционных факторов и микроРНК [4]. МикроРНК играют особую роль в регуляторных сетях клетки. Установлено, что регуляция посредством микроРНК преимущественно связана с регуляторными факторами, расположенными «ближе к вершине» регуляторной сети, и которые отличает значительное число регуляторных взаимодействий [4]. Интересная особенность микроРНК – ее широкая мультитаргетность. Каждая микроРНК может участвовать в регуляции сотни белок-кодирующих генов, и наоборот, структурный ген обычно представляет мишень для целого ряда микроРНК (miRWalk [5]).

Принятые сокращения: микроРНК – микроРНК; НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого; РМЖ – рак молочной железы; РТК – рак толстой кишки; ХЛЛ – хроническая лимфоцитарная лейкемия; ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход.

* Адресат для корреспонденции.

миРНК потенциально вовлечены в регуляцию до 60% белок-кодирующих генов [2, 6].

За распознавание целевой мРНК ответственны 6–8 нуклеотидов на 5'-конце миРНК [6, 7]. Степень комплементарности между этим участком и мишенью определяет дальнейший механизм инактивации целевой мРНК: полная комплементарность приводит к быстрому расщеплению матричной РНК (путь малых интерферирующих РНК), несовершенная комплементарность блокирует трансляцию по тому или иному механизму без быстрой деградации матрицы [7]. Основным механизмом действия миРНК связан с подавлением экспрессии генов при связывании с 3'-нетранслируемым участком мРНК, однако в некоторых случаях выявлена обратная тенденция: активация экспрессии целевых генов. В частности, *miR-10a* активирует синтез белка, присоединяясь к 5'-области мРНК-мишени [8]. Для *miR-320* показано связывание и с 3'-, и с 5'-областями целевых мРНК, а *miR-107*, предположительно, взаимодействует с кодирующими регионами [9].

Исследования последних лет показывают, что эпигенетические изменения, в совокупности с генетическими нарушениями (мутациями генов, хромосомными aberrациями), составляют комплекс механизмов, ответственных за формирование фенотипа трансформированной клетки [10, 11]. Эпигенетическими называют структурные модификации, которые не затрагивают нуклеотидную последовательность гена, но вовлечены в регулирование его экспрессии. Они могут наследоваться, если происходят в герминальных клетках. К ним относят метилирование/деметилование ДНК, модификации гистонов и ремоделирование хроматина. Эпигенетические механизмы способны к тонкой и динамичной регуляции экспрессии генов млекопитающих в процессе эмбрионального развития, дифференцировки клеток, геномного импринтинга и транскрипционной инактивации мобильных элементов генома. Изменение степени метилирования ДНК наблюдается также при различных патологиях и характерно для онкологических заболеваний, при которых происходит глобальное деметилование генома, особенно мобильных элементов, и избирательное гиперметилование промоторных участков генов, проявляющих опухоль-супрессорные свойства [10].

Экспрессия генов миРНК также подвержена регуляции посредством эпигенетических механизмов, одним из которых является метилирование CpG-островков [2]. Расчет на основе анализа серии публикаций показал, что метилирование вовлечено в регулирование более 11% генов миРНК [12].

В представленном обзоре суммированы и обобщены литературные и собственные данные по метилированию CpG-островков генов миРНК в опухолях, показана связь этой модификации с изменением активности генов миРНК и белок-кодирующих генов-мишеней и влияние метилирования генов миРНК на основные процессы канцерогенеза и сигнальные пути опухолевой клетки.

РОЛЬ миРНК В ОНКОГЕНЕЗЕ

МиРНК выполняют важную функцию в сложном механизме регуляции активности генов, поскольку определяют качественный и количественный состав транскриптов и белков, необходимых для развития отдельных тканей, органов и всего организма у животных и растений [7]. Показана важная роль дифференциальной экспрессии генов миРНК в процессах злокачественной трансформации. Для опухолей разной локализации и гистологии характерны специфичные профили экспрессии генов миРНК, ассоциированные с клиническими и патологическими свойствами опухоли [13]. Например, набор из пяти миРНК (*miR-25*, *miR-34c-5p*, *miR-191*, *let-7e*, *miR-34a*) позволяет различить основные гистологические типы немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и может быть использован как маркер неблагоприятного прогноза для пациентов с плоскоклеточным раком легкого [14].

Исследование экспрессии большого числа генов миРНК в клеточных линиях рака молочной железы (РМЖ) позволило выявить гены, заметно снижающие свою экспрессию при метастатическом РМЖ: *miR-335*, *miR-206* и *miR-126* [15]. Активация экспрессии этой группы генов миРНК подавляет способность клеточных культур РМЖ к метастазированию. Анализ архивных образцов РМЖ показал, что пациенты со сниженной экспрессией *miR-335*, *miR-206* и *miR-126* характеризуются частыми рецидивами РМЖ. Низкий уровень этих миРНК ассоциирован с общим плохим прогнозом. Дальнейшие исследования гена *miR-126* в опухолях при НМРЛ и РМЖ, а также в других солидных опухолях выявили гены-мишени *miR-126* – *CRK*, *KRAS*, *VEGF*, которые задействованы в клеточной адгезии, ангиогенезе и инвазии, и показали, что *miR-126* участвует в подавлении этих процессов [16].

В норме миРНК выполняют регуляторную функцию в процессах развития, пролиферации, дифференцировки и апоптоза [17]. В опухолях миРНК может выполнять как онкогенные

функции (miR-17–92-кластер или онкомиР-1, miR-21), так и супрессорные (miR-34, miR-137, miR-129), которые реализуются посредством ингибирования экспрессии белок-кодирующих генов-супрессоров опухолевого роста или соответственно онкогенов (рис. 1). Так, *miR-21* проявляет свойства онкогена и гиперэкспрессируется при глиобластомах и других онкопатологиях, выключение *miR-21* приводит к активации каспаз и апоптозу *in vitro* [18]. Ингибирование *miR-21* синтетическими олигонуклеотидами в клеточных линиях РМЖ приводит к активации апоптоза, что связано с влиянием *miR-21* на экспрессию *Bcl-2* [19]. Гены семейства *miR-34*, напротив, снижают свою экспрессию в опухолях различных локализаций, проявляют свойства опухолевых супрессоров и вовлечены в апоптоз [20]. Индукция экспрессии *miR-34* в клеточных линиях рака легкого и остеосаркомы приводит к аресту клеточного цикла на стадии G1 и апоптозу [21, 22]. Показана прямая корреляция уровня экспрессии *miR-34a*, *miR-34b*, *miR-34c* с уровнем экспрессии транскрипционного фактора p53, что указывает на вовлеченность семейства *miR-34* в p53-опосредованную сигнальную сеть [20].

В зависимости от клеточного и тканевого окружения, некоторые миРНК могут подавлять или способствовать прогрессии опухолевого процесса. Например, *let-7* подавляет экспрессию медиаторов клеточного цикла RAS и цик-

линов и выступает как супрессор при РТК, НМРЛ и в опухолях головы и шеи [23]. Однако в опухолях шейки матки *let-7* гиперэкспрессируется и снижает экспрессию *Fas*, вовлеченного в лиганд-активируемый апоптоз, тем самым проявляя свойства онкогена [24].

Аномальное функционирование и измененный профиль экспрессии генов системы контроля клеточного цикла, апоптоза и дифференцировки являются ключевым свойством злокачественного процесса [25]. МиРНК вносят свой вклад в формирование всех основных признаков фенотипа опухолевой клетки (рис. 2).

Поскольку для взаимодействия с миРНК не требуется полная комплементарность с матричной РНК, миРНК имеют более одной мРНК-мишени. Например, *miR-21* регулирует *PTEN* и проапоптотический ген *PDCD4*, снижение экспрессии которого связано с неблагоприятным прогнозом для пациентов с НМРЛ и РТК [26]. Эта же миРНК участвует в регуляции транскрипционного фактора AP-1, влияющего на экспрессию членов семейств *c-Fos*, *c-Jun*, *ATF* и *JDP*, регулирующих процессы дифференцировки, пролиферации и апоптоза [27].

МиРНК могут выступать медиаторами межклеточной коммуникации в микроокружении опухолевого очага с помощью экзосом, внеклеточных миРНК-белковых комплексов, обнаруживаемых в плазме и межклеточных порах. Продукцию экзосом во внеклеточную среду мо-

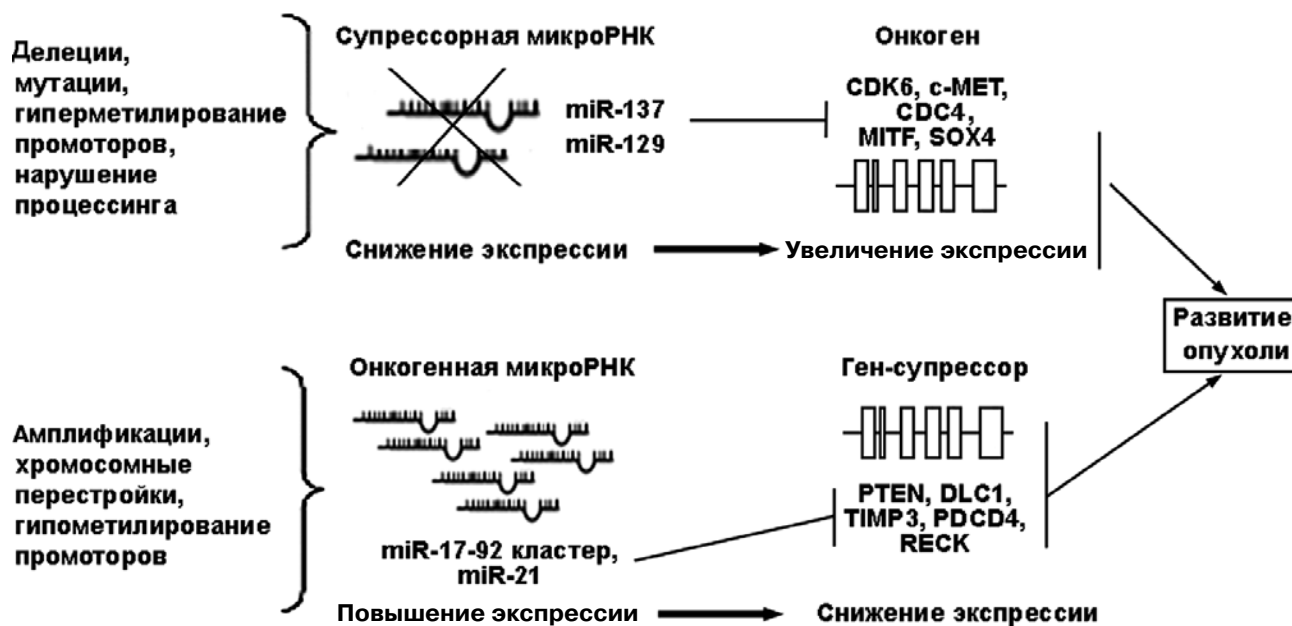


Рис. 1. Механизм развития опухоли, связанный с повышением экспрессии онкогенных и инактивацией супрессорных миРНК и дерегуляцией их генов-мишеней, кодирующих белки

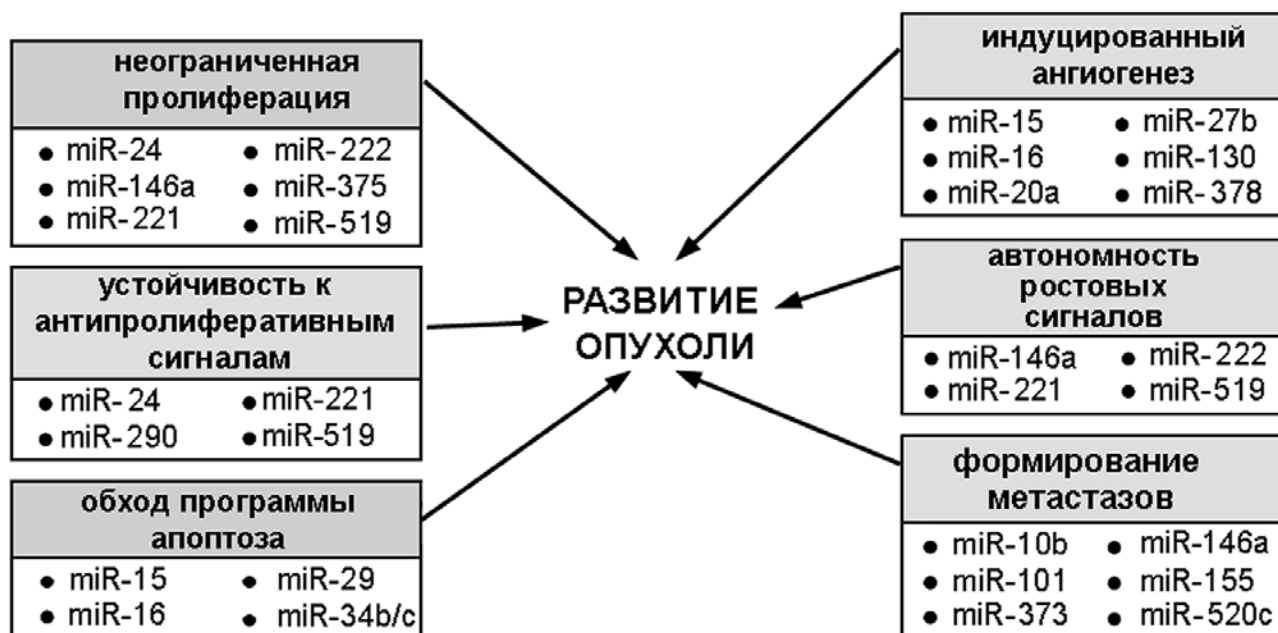


Рис. 2. Вклад миРНК в формирование основных признаков фенотипа опухолевой клетки

гут производить не только клетки, связанные с иммунной системой, но и клетки опухолевого очага, в частности, клетки меланомы [28]. Экзосомы, выделяемые тучными клетками, содержат в своем составе до 120 различных миРНК. Большинство циркулирующих миРНК плазмы крови находятся в комплексе с белками, в том числе Ago2, отвечающим за функциональную активность комплекса RISC (RNA-induced silencing component). МиРНК в составе этого комплекса проникают и могут моделировать экспрессию генов в клетках-реципиентах [29]. МиРНК может также проходить через межклеточные контакты и вызывать функциональный ответ в реципиентной клетке, как, например, это происходит между клетками метастатического РМЖ и клетками красного костного мозга, где подобным образом показана модуляция экспрессии CXCL12 – хемокина, вовлеченного в процессы межклеточной коммуникации и передачи сигнала [30].

Механизмы, вовлеченные в изменение паттерна экспрессии генов миРНК при канцерогенезе, включают активацию транскрипционными факторами, эпигенетические изменения, мутации, изменение числа копий и дефекты системы процессинга миРНК [31]. Например, экспрессия кластера *miR-17–92* активируется транскрипционным фактором с-Мус [32]. Показана амплификация и гиперэкспрессия гена *c-Myc* во многих видах онкопатологий, и активация экс-

прессии кластера *miR-17–92* может быть важным механизмом онкогенного действия с-Мус. Ингибирование ферментов комплекса процессинга миРНК формирует клеточные культуры с измененной кинетикой роста, а долговременная инактивация РНКазы III Dicer вызывает процесс развития K-Ras-индуцированной модели рака легкого на мышах [33]. Мутации в генах *miR-15a* и *miR-16-1* ответственны за снижение экспрессии при хронической лимфоцитарной лейкемии (ХЛЛ) [34]. Группы генов миРНК, проявляющих опухоль-супрессорные свойства, часто расположены в районах хромосомных перестроек, наблюдаемых в опухолях. В конечном счете, уровень экспрессии гена миРНК определяется интеграцией влияния набора факторов в конкретном окружении.

ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТИЛИРОВАНИЕ CpG-ОСТРОВКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ миРНК

Важным механизмом инактивации генов миРНК при злокачественных новообразованиях является метилирование промоторных CpG-островков [2, 35]. По результатам исследования экспрессии генов миРНК в клеточных линиях РТК – НСТ 116 и ДКО, до и после обработки 5-азациитидином было показано, что посред-

ством метилирования промоторных участков регулируются ~10% генов миРНК (например, *miR-130a*, *miR-10a*, *miR-200a*, *miR-125b*, *miR-200b*, *miR-221*, *miR-23b*, *miR-222*, *miR-9*, *miR-129*, *miR-137* и др.) [36]. Инактивация посредством метилирования CpG-островков генов семейства *miR-34* показана для клеточных линий и первичных опухолей легкого, толстой кишки и других тканей [37–40].

В работе Кунью Т. и соавт. [12] было проанализировано 45 экспериментальных статей и показано, что 14,5% генов миРНК, исследованных в этих статьях, локализованы непосредственно в CpG-островках и 11,6% подвержены эпигенетической инактивации в 23 видах онкопатологий. Из них 45% генов миРНК эпигенетически регулируются более чем в одном виде рака [12]. Гены *miR-124a-1/2/3*, *miR-127* и *miR-199-1/2* эпигенетически регулируются в семи и более видах новообразований, а гены семейства *miR-34* – в 12 различных типах новообразований [37, 41]. В недавнем экспериментальном исследовании клеточных линий и первичных опухолей РМЖ с применением миРНК-чипов и 5-метил-цитозин-иммунопреципитации метилирование было выявлено в 30% (55/167) промоторов генов миРНК [42]. Авторы предполагают, что процент aberrантно метилируемых промоторов миРНК в несколько раз выше, чем генов, кодирующих белки; эти данные показывают важную роль ДНК-метилирования в дерегуляции генов миРНК в злокачественных новообразованиях [42].

Анализ распределения эпигенетически регулируемых генов миРНК по геному показывает, что определенные хромосомные регионы наиболее обогащены такими генами. Так, многие метилируемые гены миРНК расположены на длинном плече хромосом 1, 7, 11, 14 и 19 [12].

Распределение генов миРНК относительно CpG-островка и хозяйского гена, исследованное в работе Казаки и соавт. [43], показано на рис. 3. Более половины генов миРНК локализовано в межгенном пространстве и транскрибируется с собственного старта транскрипции, и в их регуляции участвует только собственный CpG-островок (рис. 3, слева). Эти гены миРНК обладают всеми свойствами белок-кодирующих генов. Первичные транскрипты большинства межгенных миРНК имеют размер 3–4 т.п.н., содержат полиА-хвост и кэп. Транскрипт представляет собой РНК с вторичной структурой типа «шпилька» и протяженные одноцепочечные концы. Транскрипты кластеров (*miR-17–92*, *miR-15–16*) имеют полицистронную структуру [44]. В геноме человека кластеры генов миРНК составляют 36% от общего количества миРНК и характеризуются единой функциональной направленностью.

До 40% генов миРНК приходится на транскрипционные единицы других генов (рис. 3, справа). Среди интронных генов миРНК менее 30% транскрибируются со своих собственных промоторов, и в их регуляции может участвовать как собственный CpG-островок (рис. 3, справа, а), так и CpG-островок гена-хозяина (рис. 3, справа, б). Основная часть интронных генов миРНК коэкспрессируются с белок-кодирующим хозяйским геном под его промотором и CpG-островком (рис. 3, справа, в). В пределах 500 пар нуклеотидов (п.н.) от 3'-конца CpG-островка локализовано 15% меж- и 13% внутригенных миРНК, причем половина из этих интронных генов миРНК (6,4%) локализованы вблизи (в пределах 500 п.н.) CpG-островка гена хозяина [43]. У остальных генов миРНК это расстояние может превышать тысячи п.н. Работы последних лет позволили установить функциональную роль CpG-островков, отстоящих от аннотированных сайтов старта транскрипции, и выявить их промоторную функцию [43].

Так, ген *miR-126* расположен в интроне *EGTL7*, коэкспрессия которых подавляется посредством модификаций гистонов и метилирования ДНК в опухолях мочевого пузыря и простаты [45]. Причем, инактивация *miR-126* ассоциирована с метилированием промотора хозяйского гена *EGFL7* [39]. Транскрипция *miR-335* регулируется посредством гиперметилирования совместно с хозяйским геном *MEST*, что показано на клеточных линиях РМЖ [46]. Ген *miR-342*, локализованный в интроне гена *EVL*, инактивируется метилированием CpG-островка хозяйского гена на ранних стадиях развития РТК. При этом также инактивируется и хозяйский ген *EVL* [47].

Комплексная регуляция показана для генов миРНК семейства *miR-34*, которое представлено в геноме в виде трех локусов: *miR-34a* (1p36.23), *miR-34b* и *miR-34c* (11q23.1), причем *miR-34a* является моноцистронным локусом, а *miR-34b* и *miR-34c* экспрессируются совместно. Хозяйскими генами *miR-34a* и *miR-34b/c* являются *EF570048* и *BC021736*, соответственно. Хозяйский ген *miR-34b/c* *BC021736* имеет CpG-островок не только в области начала транскрипции, но и на границе первого интрона и второго экзона. Экспрессия *miR-34b/c* может регулироваться как с участием промотора гена-хозяина, так и промотора противоположно ориентированного гена *BTG4* [48].

Примечательно, что хозяйские гены миРНК редко исследуются на предмет участия в канцерогенезе и их функция часто остается неясной. Ген *miR-26a-1* расположен в интроне гена *CTD-SPL/SCP3/HYA22/RBSP3*, и проявляет, как и хо-

зыйский ген, опухоль-супрессорные свойства; метилирование промоторного CpG-островка гена-хозяина инактивирует оба гена [49, 50]. Другой пример – *miR-218-1* и *miR-218-2*, которые инактивируются в опухолях гортани вследствие метилирования CpG-острков в 5'-областях хозяйских генов *SLIT2* и *SLIT3*, действующих как супрессоры опухолевого роста через SLIT-Robo сигнальный путь в клеточных линиях РМЖ [51].

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ микроРНК В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Инактивация супрессорных микроРНК посредством метилирования промоторных CpG-острков как следствие приводит к активации подавляемых ими целевых генов и возникновению и развитию опухоли, как, например, показано на рис. 4. Важно, что aberrантное метилирова-

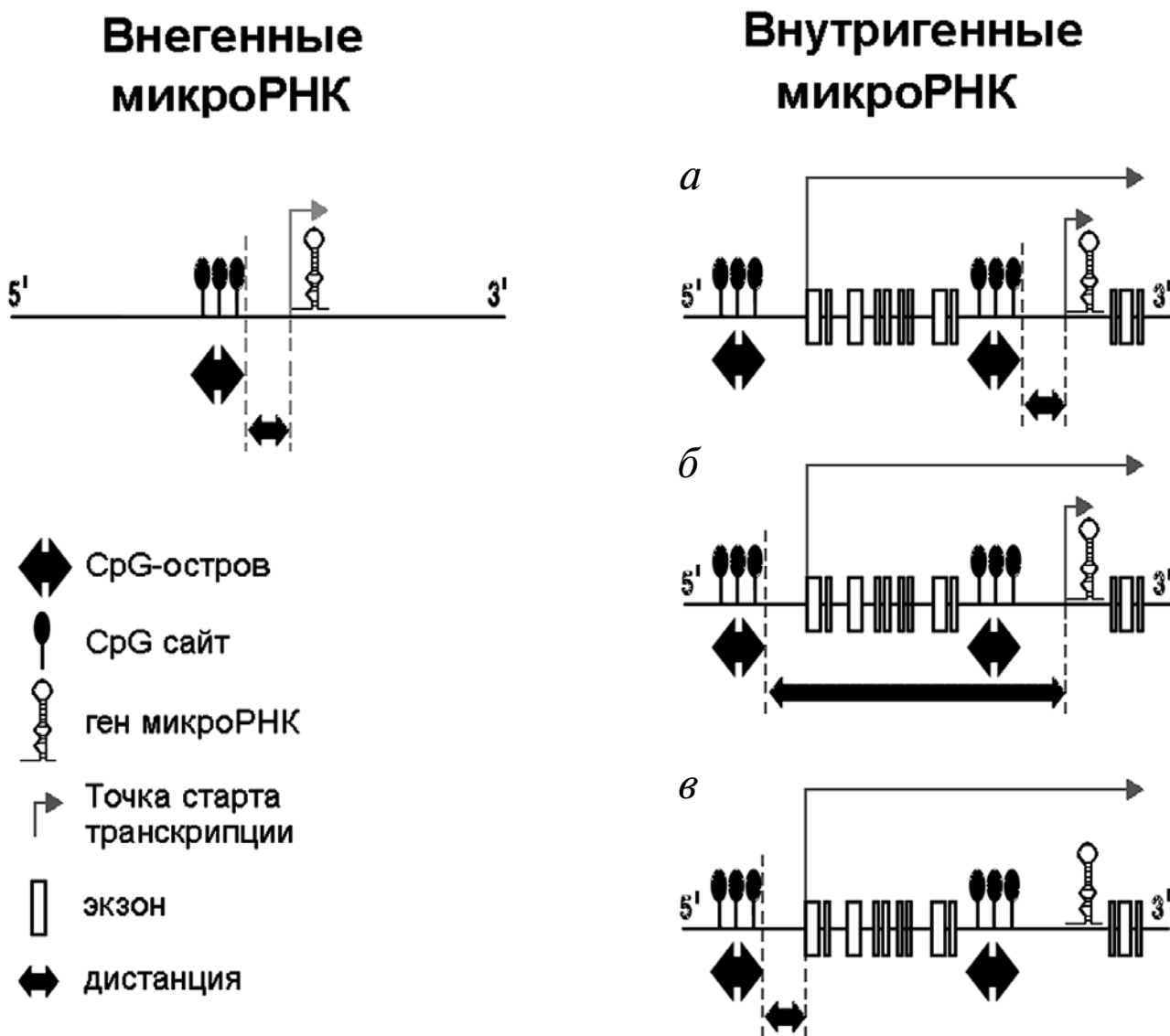


Рис. 3. Геномная организация CpG-острков и генов микроРНК вне хозяйского гена (слева) и в составе его интрона (справа). *а* – Транскрипция микроРНК с собственного старта при участии собственного CpG-островка; *б* – транскрипция микроРНК с собственного старта, но в регуляцию вовлечен CpG-островок хозяйского гена; *в* – микроРНК транскрибируется в составе единой транскрипционной единицы с хозяйским геном



Рис. 4. Роль метилирования CpG-островков супрессорных генов миРНК в их инактивации, в стимуляции экспрессии онкогенных и других проопухолевых генов-мишеней и в опухолевой трансформации

ние промоторных районов генов как супрессорных, так и онкогенных миРНК вовлечено во все основные процессы, связанные с развитием опухолевого фенотипа: бесконтрольная пролиферация, обход программы апоптоза, неоангиогенез, способность к инвазии и метастазированию и др. [25].

Так, подавление апоптоза в опухолях связано с гиперметилированием и инактивацией ряда генов миРНК, например, *miR-34b/c*, *miR-137* и *miR-129-2*. Метилирование локусов *miR-34b/c* и *miR-34a* наблюдали в опухолях желудка, яичников, толстой кишки, поджелудочной железы, гортани, легкого, почки и других тканей [38–40, 52–56]. Наиболее высокая частота метилирования гена *miR-34b/c* (85–90%) отмечена при РТК [48, 55]. В опухолях желудка и толстой кишки выявлена связь метилирования CpG-островка *miR-34b/c* со снижением экспрессии этого гена [48, 52]. Введение предшественников зрелой миРНК *miR-34b/c* в культуры клеточных линий опухолей приводит к аресту клеточного цикла и апоптозу [48]. К мишеням *miR-34b/c* относятся известные онкогены – *MYC*, *CDK4*, *E2F3*, *CREB* и *MET* [57, 58]. МиРНК *miR-34b/c* регулирует также экспрессию транскрипционного фактора *Snail1*, участвующего в реализации программы эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и формировании инвазивного фенотипа опухолей толстой кишки, легкого и молочной железы. Показана связь гиперметилирования локуса *miR-34b/c* с метастатическим потенциалом опухолей легкого, рецидивом болезни и плохой выживаемостью [39, 40]. Нами получены данные, позволяющие предположить роль целевых генов *miR-34b/c* при НМРЛ для протоонкогена *NKI-RAS1* и гена *RAR-beta2* [54].

Метилирование промоторного района *miR-137* ассоциировано с подавлением экспрессии этого гена при новообразованиях головы и шеи, гортани, мочевого пузыря, увеальной меланомы, молочной железы и толстой кишки [59–63]. Метилирование промотора гена *miR-137* ассоциировано с плохим прогнозом заболевания в опухолях головы и шеи [59]. Нами также показано, что метилирование гена *miR-137* связано с прогрессией НМРЛ: с клинической стадией и размером опухоли [55].

Восстановление экспрессии гена *miR-137* в клеточных линиях НМРЛ, РТК и нейробластомы индуцирует арест клеточного цикла в фазе G1, что приводит к значительному снижению роста клеток [59, 60, 64]. К мишеням *miR-137* относятся: *CDC42* и *CDK6* (при НМРЛ), *LSD-1*, *CDC42*, *PXN* и *FMNL2* (при РТК); *COX-2* (при глиобластомах), *MITF* и *CDK6* (при увеальной меланоме), *KDM1A* (при нейробластоме) [60, 62, 64–66]. Ген *miR-137* участвует также в регуляции экспрессии гена *LSD-1* (лизин-специфичной деметилазы 1), вовлеченного в ремоделирование хроматина [60].

Метилирование и подавление экспрессии *miR-129-2* показано в различных видах рака, включая РТК, НМРЛ, рак желудка, шейки матки, печени и почки [36, 54–56, 67–72]. При ретинобластоме *miR-129-2*, напротив, повышает свою экспрессию [73]. К мишеням *miR-129-2* в эпителиальных опухолях разной локализации относятся *CDK6*, *GALNT1* и *SOX4* [36, 67–70, 74, 75]. Индуцированная гиперэкспрессия гена *miR-129-2* в культуре клеток аденокарциномы легкого приводит к аресту митоза в фазе G(1)/S и последующей гибели клеток [67]. В опухолях шейки матки и печени метилирование промото-

ра *miR-129-2* ассоциировано с плохой выживаемостью пациентов [68, 69].

Ряд генов микроРНК, подверженных метилированию, ассоциированы с метастазированием и задействованы в процессах клеточной миграции, адгезии и ЭМП. Так, метилирование генов микроРНК *miR-148a*, *miR-9-1/3* и *miR-34b/c* вовлечено в формирование агрессивного фенотипа опухолей и развитие метастазов [76]. Сравнение профилей экспрессии микроРНК до и после обработки 5-азациитидином клеточных линий из лимфатических метастазов различных типов человеческих опухолей позволило выявить специфическое гиперметилирование CpG-островков этих генов микроРНК. Эпигенетическая инактивация данных микроРНК ответственна за гиперэкспрессию целевых генов, связанных с метастазированием, — *c-MYC*, *CDK6* и *E2F3* (мишени *miR-34b/c*), *TGIF2* (*miR-148a*) [57, 76].

Гены семейства *miR-200* отвечают за регулирование процесса ЭМП, вовлеченного в развитие метастазов. Для генов этого семейства также показана инактивация в опухолевых клетках, ассоциированная с гиперметилированием [77]. К мишеням микроРНК семейства *miR-200* и *miR-205* относятся *ZEB1* и *ZEB2*, транскрипционные репрессоры кадгерина E, рецепторного мембранного белка, ответственного за адгезию клеток и поддержание структуры эпителиальной ткани [78]. Транфекция гена *miR-200c* в культуры высокоагрессивных клеточных линий приводила к восстановлению экспрессии кадгерина E, супрессии кадгерина N и ингибированию инвазивного фенотипа *in vitro* и подавлению метастазирования *in vivo* [77]. Явление ЭМП, характеризующее данный процесс, эпигенетически опосредовано с участием метилирования CpG-островков генов *miR-200b*, *miR-200c* и *miR-205* [77, 79]. Метилирование и снижение экспрессии этих генов — маркеры плохого прогноза рака яичников, легкого, глиомы и других злокачественных опухолей [77–81]. В то время как их нормальная экспрессия — критерии эпителиального фенотипа клеток опухолей.

Другим примером служит микроРНК *miR-335*, вовлеченная в подавление метастатического фенотипа РМЖ и рака яичников [15, 46]. Показано, что мишенями *miR-335* являются гены, кодирующие фактор транскрипции *SOX4* и белок внеклеточного матрикса тенасцин-С (*TNC*), которые связаны с процессами клеточной миграции. Локус *miR-335* в метастатических клетках РМЖ и рака яичников часто делетируется и метилируется, что придает им селективное преимущество в распространении и колонизации новых тканей [46]. При остеосаркоме и в метастазах в костях при мелкоклеточном раке легко-

го мишенями *miR-335* являются *ROCK1*, *IGFIR* и *RANKL/TNFSF11* [82, 83]. МикроРНК *miR-335* подавляет инвазию при остеосаркоме через мишень *ROCK1* и ингибирует образование метастазов в костях при мелкоклеточном раке легкого, воздействуя на *IGFIR* и *RANKL/TNFSF11* [82, 83].

Ген *miR-196a*, напротив, относится к онкогенам и прометастатическим генам. Этот ген в опухолях легкого проявляет гиперэкспрессию и деметилирование. Повышенная экспрессия *miR-196a* ассоциирована с поздними клиническими стадиями и метастазированием в региональные лимфоузлы. Показано, что к мишеням гена *miR-196a* относится ген *HOXA5*, причем подавление *HOXA5* показано, как на уровне мРНК, так и на уровне белка [84]. При раке поджелудочной железы прямой мишенью *miR-196a* является ингибитор альфа NF-карпаВ (*NFKBIA*), связанный с метастазированием [85]. МикроРНК *miR-196a* промотирует G1/S-переход и повышает пролиферацию клеток рака шейки матки. Прямыми мишенями при этом являются *FOXO1* и *p27(KIP1)* — ключевые эффекторы PI3K/Akt-пути [86].

Как уже упоминалось, микроРНК *let-7* в зависимости от вида рака может проявлять свойства и онкогена, и опухолевого супрессора [23, 24]. Ген *let-7a-3* будучи метилированным в тканях здорового легкого, при аденокарциноме легкого деметилирован и активно экспрессируется. Восстановление экспрессии *Let-7a-3* в клеточной линии A549 приводит к активному злокачественному росту и формированию опухолеподобного промотирующего транскрипта, в частности, к повышению экспрессии генов *CDK6*, *PCNA*, *PRDX1* и *CXCL5*, ассоциированных с прогрессирующей опухолевой болезнью [87].

Ген *miR-193a* имеет свойства типичного онкосупрессора и как ключевой регулятор экспрессии *c-KIT* способен подавлять неконтролируемую пролиферацию. Показано, что в клеточных линиях острой миелоидной лейкемии ген *miR-193a* гиперметилирован и не может участвовать в контроле *c-Kit* и предотвращать неконтролируемую пролиферацию [88]. Опухоль супрессорная активность *miR-193a* показана также при раке яичников *in vitro* и при НМРЛ *in vitro* и *in vivo* [89, 90]. При этом в клеточных линиях рака яичников *miR-193a* подавляет пролиферацию, клеточный цикл и вызывает апоптоз, в клеточных линиях НМРЛ — ингибирует миграцию, ЭМП и инвазию, а в опухолях НМРЛ снижает образование метастазов [89, 90]. При НМРЛ к прямым мишеням *miR-193a-3p* относятся *PIK3R3* и *mTOR*, а *miR-193a-5p* — *ERBB4* и *S6K2* [90].

МиРНК *miR-125b* может регулировать процессы дифференцировки, апоптоза и клеточного цикла и в зависимости от вида опухоли проявлять свойства как онкогена, так и супрессора опухолевого роста. Ген *miR-125b-1* расположен в районе делеции, локализованной в локусе 11q23 при ХЛЛ. С делецией ассоциировано снижение экспрессии *miR-125b-1*, что характерно для опухолевых супрессоров. Активированная экспрессия *miR-125b* в клеточных линиях ХЛЛ приводит к репрессии мРНК генов, кодирующих системы метаболизма глюкозы, глутатиона, липидов и глицеролипидов [91]. Однако при острой В-клеточной лимфобластной лейкемии с транслокацией t(11;14)(q24;q32) ген *miR-125b-1* гиперэкспрессируется, проявляя свойства онкогена, и подавляет экспрессию гена *ARID3a* (активатора транскрипции тяжелой цепи иммуноглобулина), вызывая тем самым блокаду дифференцировки, ингибирование апоптоза и активацию пролиферации [92]. При глиобластоме также наблюдали повышенную экспрессию *miR-125b* и ингибирование апоптоза [93]. К генам-мишеням *miR-125b* относятся как апоптоз-ассоциированные гены р53-сети (*BAK1*, *PUMA*, *ZAC1*), так и гены-регуляторы клеточного цикла (*CDC25C*, *CDKN2* и др.) [94].

В эпителиальных опухолях ген *miR-125b-1* обычно проявляет свойства онкосупрессоров. Гиперметилирование CpG-островка *miR-125b-1* обнаружено в клеточных линиях и первичных опухолях РМЖ, яичников, шейки матки, предстательной железы и печени [95–100]. При этом показано участие важного эпигенетического регулятора генов клеточного цикла – CTCF (CCCTC-binding factor) в регуляции экспрессии и метилирования *miR-125b-1*. Эти сведения согласуются с данными о снижении экспрессии кластера *miR-100/let-7a-2/miR-125b-1* при новообразованиях печени и плохим прогнозом при низкой экспрессии *miR-125b-1* в гепатоцеллюлярной карциноме [97]. К мишеням *miR-125b* при этих видах рака относятся онкогены и гены прогрессии опухолей (*ETS1*, *ERBB2*, *ERBB3*, *BAK1*, *ENPEP*, *CK2A*), что характеризует *miR-125b-1* как ген-супрессор опухолевого роста в эпителиальных опухолях [98–101]. Нами впервые выявлено метилирование CpG-островка гена *miR-125b-1* при НМРЛ и корреляция частоты метилирования с клинической стадией НМРЛ и наличием метастазов в региональных лимфоузлах [72].

Метилирование гена *miR-345* при РТК ассоциировано с метастазами в лимфоузлах, опосредованно с подавлением апоптоза и плохим прогнозом течения заболевания [102]. Обработка клеточной культуры РТК 5-азациитидином восстанавливает экспрессию *miR-345* и подавляет

пролиферацию клеточной культуры РТК. Показано, что к мишеням *miR-345* относится мРНК генов антиапоптотических белков *BAG3* (при РТК) и *p21(Waf1/Cip1)* – в клетках гепатомы [102, 103].

Эпигенетическая модификация гена *miR-212* связана с процессами пролиферации, миграции и инвазии. Данные литературы о функциональной роли гена *miR-212* в опухолях неоднозначны и даже противоречивы. В одних работах обнаружена повышенная экспрессия *miR-212* в опухолях легкого, поджелудочной железы и гортани [104–106]. В других работах показано снижение экспрессии в опухолях легкого и желудка [107, 108]. При этом в клеточных линиях желудка обработка деметилирующими агентами культуры клеток приводит к восстановлению экспрессии гена *miR-212*, что указывает на эпигенетический механизм репрессии. Восстановление экспрессии *miR-212* в клеточных линиях НМРЛ активирует пролиферацию, процессы миграции и инвазии [109]. К генам-мишеням миРНК *miR-212* относятся как типичные онкогены *MYC* и *PED* [107, 108], так и ген-супрессор *Rb1* [110]. К мишеням *miR-212* также относятся проопухолевые гены *RBP2* (при гепатоцеллюлярной карциноме) и *MnSOD* (при РТК) [111, 112]. Метилирование подавляет экспрессию гена *miR-212*, что вызывает повышение содержания мРНК *MnSOD* и в итоге прогрессию опухолей при РТК (ЭМП и метастазы) [112]. Нами впервые изучено метилирование гена *miR-212* в первичных опухолях НМРЛ и показана роль метилирования *miR-212* в патогенезе НМРЛ [54], что согласуется с данными о снижении экспрессии *miR-212* при НМРЛ [107] и с онкосупрессорной функцией этого гена в опухолях легкого.

Ген миРНК *miR-375* также может изменять экспрессию и статус метилирования в обе стороны, и подавлять или стимулировать пролиферацию. Так, гиперметилирование этого гена показано в опухолях разных локализаций, например, при новообразованиях печени и пищевода [113–117]. Для меланомы, опухолей пищевода и шейки матки выявлена связь гиперметилирования *miR-375* со снижением экспрессии этого гена и активацией мишеней *PDK1* и *IGF1R* (в опухолях пищевода) [114–117]. Напротив, экспрессия *miR-375* повышается при аденокарциноме, нейроэндокринном и мелкоклеточном раке легкого [118–120]. Авторами обзора впервые обнаружено гиперметилирование CpG-островка гена *miR-375* при НМРЛ [72], которое может быть причиной сниженной экспрессии в опухолях легкого, отмеченной в работах [121, 122].

В формировании агрессивного фенотипа опухоли вовлечен также ген *miR-1258*. Эта

миРНК выполняет функцию негативного регулятора экспрессии гена гепараназы (*HPSE*) в опухолях РМЖ и НМРЛ [123–125]. Роль гепараназы состоит в высвобождении и регулировании уровня ростовых и ангиогенных факторов, которые запасены в межклеточном матриксе. Сниженная экспрессия *miR-1258* и повышенная *HPSE* ассоциированы с метастазами в лимфоузлах, поздними стадиями и низкой выживаемостью при РМЖ [124, 126]. Нами получены первые данные о гиперметилировании гена *miR-1258* при онкогенезе на примере НМРЛ, что с учетом данных о снижении экспрессии *miR-1258* при НМРЛ [72] указывает на эпигенетическую регуляцию гена этой миРНК. Кроме того, эти сведения в контексте роли *miR-1258* в подавлении целевого гена гепараназы с широким спектром активности позволяют предполагать роль метилирования гена *miR-1258* в формировании метастатического фенотипа у эпителиальных опухолей.

Гены семейства *miR-29* (*miR-29a*, *miR-29b* и *miR-29c*) и ген *miR-152* опосредованно влияют на паттерн метилирования геномной ДНК клетки и процессы ремоделирования хроматина. Так, при гепатоцеллюлярной карциноме, сопровождаемой инфекцией вирусом гепатита В, уровень экспрессии *miR-152* снижается, вызывая гиперэкспрессию гена метилтрансферазы-1 (*DNMT1*). Это приводит к aberrантному гиперметилированию генома опухолевой клетки, а также генома вируса гепатита В и выживанию вируса в клетке [126]. Гены семейства *miR-29* снижают свою экспрессию при раке легкого и обладают высокой комплементарностью к 3'-нетранслируемым участкам мРНК генов *DNMT3A* и *DNMT3B* (*de novo* метилтрансфераз), часто активно экспрессирующихся при новообразованиях легкого и связанных с плохим прогнозом [127]. Показано, что восстановление экспрессии генов семейства *miR-29* обратно коррелирует с уровнем экспрессии *DNMT3A* и *DNMT3B* в новообразованиях легкого. Активированная экспрессия генов семейства *miR-29* в клеточных линиях рака легкого восстанавливает нормальный паттерн метилирования геномной ДНК и индуцирует экспрессию генов, подверженных опухоли-специфическому метилированию, таких как *FHIT* и *WWOX*, и ингибирует опухолевой фенотип *in vitro* и *in vivo* [128].

Данные по генам-мишеням и функциям для ряда генов миРНК, регуляция которых связана с метилированием CpG-островков, сведены в таблице. Как следует из нее, метилированием чаще регулируются (инактивируются) гены-супрессоры опухолевого роста (семейство *miR-200*, *miR-34*, *miR-137*). Однако и типичные онкоге-

ны, например, *miR-21* и *miR-17–92*, могут изменять уровень экспрессии, а именно, активироваться за счет потери метилирования CpG-динуклеотидов промоторного района. Ряду генов миРНК (*let-7*, *miR-125b*, *miR-212*) свойственна двуликость – способность проявлять свойства и онкосупрессора, и онкогена – в зависимости от вида опухоли. Некоторые гены миРНК проявляют онкосупрессорные свойства во многих эпителиальных опухолях и онкогенные – в гематологических и бластомах (при глиобластоме, нейробластоме или ретинобластоме). Например, *miR-125b* онкогенные черты приобретает при острой В-клеточной лимфобластной лейкемии и глиобластоме.

ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ГЕНОВ миРНК, РЕГУЛИРУЕМЫХ МЕТИЛИРОВАНИЕМ, И ИХ ЦЕЛЕВЫХ ГЕНОВ В СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТКИ

Как известно, нарушение нормального функционирования сигнальных путей клетки характерно для онкологических заболеваний. В качестве примера можно привести Ras/Raf/MEK/ERK сигнальный путь (нарушение приводит к неконтролируемому росту опухоли), PI3K/AKT/mTOR сигнальный путь (нарушение приводит к дерегуляции процессов апоптоза). Эти сигнальные пути в свою очередь могут быть достаточно сложным образом взаимосвязаны друг с другом [141].

Вызывают интерес исследования, комбинирующие биоинформационные методы с экспериментальными подходами, которые позволяют проводить многоступенчатый скрининг и функциональный анализ значимых пар миРНК и мишеней с выявлением сигнальных путей, в которых задействованы эти миРНК. Так, TGF- β путь определен как основной для восьми генов миРНК, снижающих экспрессию и метилированных при РТК [12]. Вовлеченность этих восьми миРНК в регуляцию сигнальных и метаболических путей оценена с помощью программы DIANA miRPath [142]. Выявлено 162 молекулярных пути, в регуляции которых участвуют эти восемь генов. Наиболее важным из них является сигнальный путь TGF- β с числом взаимодействующих генов (37). Действительно, этот сигнальный путь был ранее описан как ассоциированный с РТК [143].

В другом аналогичном исследовании роли миРНК в развитии РТК проведен экспериментальный анализ экспрессионных микропанелей РТК, затем с помощью анализа корреляций по Пирсону и использованием базы данных по

Мишени и функции ряда генов миРНК, регулируемых метилированием

миРНК	Функции	Гены-мишени	Виды рака	Ссылки
1	2	3	4	5
<i>let-7#</i>	регуляция клеточного цикла, онкосупрессор	<i>RAS, NANOG, OCT4</i>	НМРЛ, РТК, РГШ ¹	[23]
<i>let-7#</i>	подавление апоптоза, проонкоген	<i>FAS, CDK6, PCNA, PRDX1, CXCL5</i>	РШМ ² , АКЛ ³	[24, 87]
<i>miR-1258</i>	подавление ангиогенеза, метастазирования	<i>HPSE</i>	РМЖ, НМРЛ	[72, 98, 124, 125]
<i>miR-125b#</i>	подавление апоптоза и дифференцировки, онкоген	<i>ARID3a, p53, p38MAPK</i>	В-КЛЛ ⁴ , ГБ ⁵	[92, 93]
<i>miR-125b#</i>	арест клеточного цикла в G2/M, подавление пролиферации и метастазирования, супрессор	<i>BAK1, ETS1, ERBB2/3, CK2-a, ENPEP</i>	ХЛЛ, РМЖ, РШМ, РЯ ⁶ , РПЖ ⁷	[91, 94–101]
<i>miR-126</i>	подавление пролиферации, образования микротрубочек, миграции, инвазии, метастазирования	<i>KRAS, CRK, VEGF, SOX2, CAMSAP1, IRS1</i>	РГ ⁸ , РШМ, РТК, РМЖ, НМРЛ	[16, 129–131]
<i>miR-129-2</i>	подавление пролиферации, миграции, арест клеточного цикла в G1/S, клеточная смерть	<i>CDK6, SOX4, GALNT</i>	РЖ ⁹ , РПВ ¹⁰ , АКЛ	[67–72, 74, 75]
<i>miR-137</i>	арест клеточного цикла в G1/S, подавление пролиферации, ремоделирование хроматина	<i>CDC42, CDK6, c-MET, LSD-1, MITF, COX-2, KDM1A</i>	РГШ, РМЖ, НБ ¹¹ , ГБ, РГ, РМП ¹² , РТК, УМ ¹³ , НМРЛ	[59–66]
<i>miR-17-92</i>	устойчивость к апоптозу, пролиферация, протоонкоген	<i>PTEN</i>	НМРЛ	[132]
<i>miR-193a</i>	подавление ЭМП, инвазии, метастазирования, активация апоптоза	<i>c-KIT, MCL1, PIK3R3, mTOR, S6K2, ERBB4</i>	ОМЛ ¹⁴ , РЯ, НМРЛ	[88–90]
<i>miR-196a</i>	пролиферация, миграция, метастазирование, G1/S переход, протоонкоген	<i>HOXA5, NFKB1A, FOXO1, p27(KIP1)</i>	РПЖЖ ¹⁵ , РШМ, НМРЛ	[84–86]
<i>семейство miR-200</i>	подавление ЭМП и метастазирования	<i>ZEB1, ZEB2, VIM, CREB1</i>	НМРЛ, глиома, РЯ	[77–81]
<i>miR-21</i>	ингибирование апоптоза, пролиферация, онкоген	<i>Bcl-2, PDCD4, PTEN, FasL, AP-1</i>	РМЖ, РТК, ГБ	[26, 27, 133, 134]
<i>miR-212#</i>	подавление ЭМП, инвазии, метастазирования, апоптоз, супрессор	<i>MYC, PED, RBP2, MnSOD</i>	НМРЛ, РЖ, ГЦК ¹⁶ , РТК, РПЖЖ	[107, 108, 111, 112]
<i>miR-212#</i>	пролиферация, миграция, инвазия, протоонкоген	<i>RB1, PTCH1</i>	РГ, НМРЛ, ПАК ¹⁷	[104–106, 109, 110]
<i>miR-335</i>	подавление пролиферации, миграции, инвазии, метастазирования	<i>ROCK1, RANKL, IGF-IR, SOX4</i>	ОС ¹⁸ , МРЛ ¹⁹ , РМЖ	[15, 46, 82, 83]
<i>miR-34a</i>	подавление пролиферации, подвижности, ЭМП, инвазии, метастазирования	<i>MET, AXL, IL-6R, YY1</i>	РЯ, НМРЛ, РТК, ПКР ²⁰	[37–39, 135, 136]
<i>miR-345</i>	подавление пролиферации, метастазирования, апоптоз	<i>BAG3, p21(Waf1/Cip1)</i>	РТК, гепатома	[102, 103]

Окончание таблицы

1	2	3	4	5
<i>miR-9</i>	подавление пролиферации, миграции и инвазии	<i>TLN1, CTNNA1, CXCR4, FOXP1</i>	РЯ, РГ, ГБ, ПКР, НМРЛ, РТК	[137–140]

Примечание: # – ген микроРНК с двойной функцией (проонкогенной и онкосупрессорной); ¹РГШ – рак головы и шеи; ²РШМ – рак шейки матки; ³АКЛ – аденокарцинома легкого; ⁴В-КЛЛ – острая В-клеточная лимфобластная лейкемия; ⁵ГБ – глиобластома; ⁶РЯ – рак яичников; ⁷РПЖ – рак предстательной железы; ⁸РГ – рак гортани; ⁹РЖ – рак желудка; ¹⁰РПВ – рак пищевода; ¹¹НБ – нейробластома; ¹²РМП – рак мочевого пузыря; ¹³УМ – увеальная меланома; ¹⁴ОМЛ – острая миелоидная лейкемия; ¹⁵РПЖЖ – рак поджелудочной железы; ¹⁶ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома; ¹⁷ПАК – панкреатическая аденокарцинома; ¹⁸ОС – остеосаркома; ¹⁹МРЛ – мелкоклеточный рак легкого; ²⁰ПКР – почечноклеточный рак.

предсказанию мишеней miRWalk [5] отобраны 72 пары микроРНК–ген-мишень [144]. Далее с помощью функционального анализа с применением баз данных DAVID и KEGG [145, 146] авторам этой работы удалось выявить вовлеченность пяти пар в Wnt-сигнальный путь. Взаимодействие двух пар (*miR-224* – *SFRP2* и *miR-29a* – *KLF4*) в дальнейшем было подтверждено с помощью экспериментального анализа экспрессии на уровне транскриптов методом ПЦР в реальном времени в первичных опухолях РТК, причем показано, что регуляция этих микроРНК происходит посредством метилирования [147]. Кроме того, еще для некоторых микроРНК, выявленных Фу и др. [144], была подтверждена их роль в развитии РТК и участие в Wnt-пути, например, для *miR-145* [148].

Для *miR-193a*, вовлеченной в подавление метастазирования при НМРЛ, анализ базы данных miRWalk [5] и функциональных баз DIANA-miRPath и KEGG [142, 146] показал, что потенциальными генами-мишенями этой микроРНК являются *ERBB2*, *ERBB3*, *ERBB4*, *PIK3R1*, *PIK3R3*, *SOS2*, *KRAS*, *MAPK1*, *MPM*, *Akt2* и *S6K2*, участвующие в сигнальном пути ERBB [90]. *ERBB* – это семейство тирозинкиназных рецепторов эпидермального фактора роста (*EGF*). В норме рецепторы *ERBB1-4* участвуют в процессах роста, дифференцировки, миграции и апоптоза эпидермальных клеток. Нарушение регуляции ERBB-рецепторов приводит к неконтролируемому росту клеток и характерно для целого ряда эпидермальных опухолей. Димеризация рецепторов после связывания лиганда приводит к фосфорилированию компонентов сигнальных путей Ras/Raf/MEK и PI3K/АКТ, а также других белков, регулирующих апоптоз и пролиферацию [149]. Следует указать, что *miR-193a* входит в число генов микроРНК, экспрессия которых регулируется метилированием, в том числе при НМРЛ [150]. На рис. 5 приведены основные

предсказанные гены-мишени *miR-193a* и схематически показано их возможное участие в сигнальном пути ERBB.

В исследовании микроРНК и целевых генов в стволовых и опухолевых клетках молочной железы с применением набора биоинформатических ресурсов и экспериментальных методов авторы выявили несколько сигнальных путей для кластеров микроРНК, из которых путь E2F был наиболее представлен и связан с РМЖ [151]. Непосредственно ген *E2F7* являлся мишенью для *miR-148a* и *miR-26a*. Гены этих микроРНК в свою очередь мишени метилирования, в том числе при РМЖ [152]. Другими авторами показано также влияние эстрогенового рецептора на клеточную пролиферацию через p21/PCNA/E2F1-путь, опосредованное продуктом гена *miR-17* [153].

При анализе основной части публикаций, найденных нами в PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), было выявлено до 90 микроРНК, для которых были получены экспериментальные данные по влиянию метилирования или деметилирования ДНК на их экспрессию в той или иной опухоли. Экспериментально подтвержденные мишени этих 90 микроРНК могут затрагивать практически все значимые сигнальные пути в клетке. Наш анализ показал, что на сигнальный путь АКТ воздействуют 67 микроРНК (уровень метилирования и экспрессия генов этих микроРНК согласованно изменяются при разных видах рака), на путь MAPK – 66 таких микроРНК, на путь p53 – 63 микроРНК [5]. Многие из них связаны со всеми тремя путями, например, *miR-34a* [154–156]. Как показано на рис. 6, в опухолях больных НМРЛ *miR-34a* задействована в регуляции клеточного цикла и сигнальных путях PI3K-Акт и p53.

Таким образом, эти сведения позволяют заключить, что гены микроРНК, регулируемые метилированием, вовлечены во многие значимые

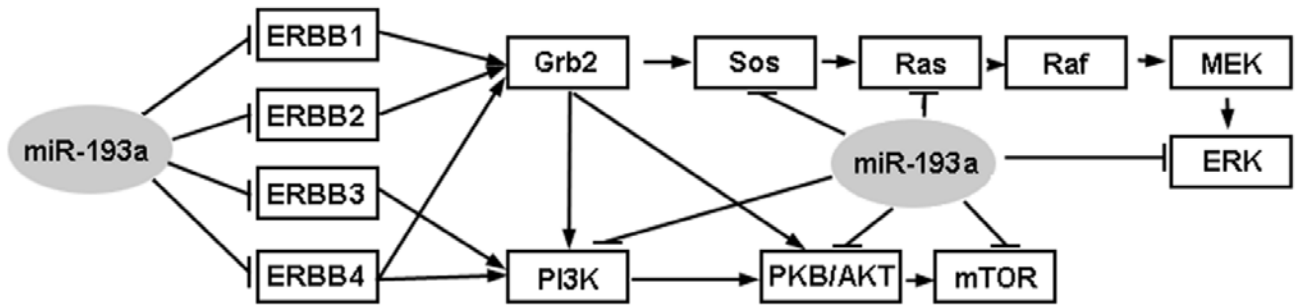


Рис. 5. Вовлеченность миРНК *miR-193a* и ее генов-мишеней в сигнальные пути ERBB и АКТ/мTOR

НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО

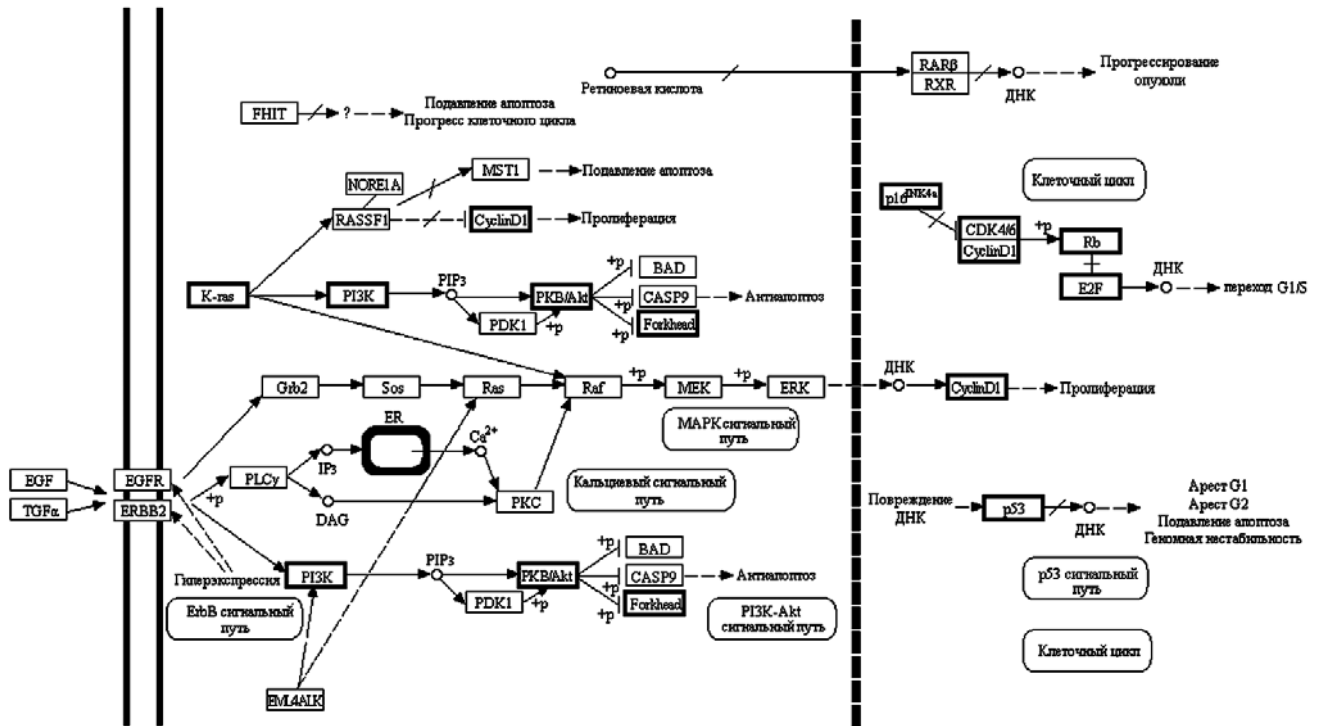


Рис. 6. Схема сигнальных путей НМРЛ, в которых задействованы *miR-34a* и ее гены-мишени. Схема взята из базы данных KEGG [146] и дана с модификацией, а именно, экспериментально-подтвержденные гены-мишени *miR-34a* (по miRWalk [5]) даны в жирно обведенных рамочках. Двойная черта (слева) обозначает наружную мембрану, одинарная черта (справа) – ядерную мембрану

сигнальные пути в опухолевых клетках. Например, при трех наиболее социально значимых видах рака (РТК, НМРЛ и РМЖ) гены миРНК, регулируемые метилированием, вовлечены в сигнальные пути TGF- β и Wnt (при РТК), ERBB, АКТ и p53 (при НМРЛ), E2F и другие пути (при РМЖ).

Количество механизмов, за счет которых изменение уровня метилирования миРНК потенциально может влиять на тот или иной сигнальный путь, весьма велико, хотя для конкретного вида и стадии рака задействована, разумеется, только их часть. Поэтому изменение уровня метилирования миРНК следует учитывать как сис-

темный механизм, изменяющий самые разные процессы в ходе канцерогенеза.

Эксперименты по восстановлению активности генов миРНК под действием 5-азациитидина на клеточных линиях опухолей и выявление обратной корреляции между уровнем экспрессии миРНК и статусом метилирования регуляторных CpG-островков генов миРНК на первичных опухолях позволили установить роль метилирования в эпигенетической инактивации значительной части (11–30%, по данным разных авторов) генов миРНК при онкогенезе. С учетом геномной организации CpG-островков, генов миРНК и хозяйских генов определены возможные механизмы инактивации генов миРНК посредством метилирования с участием хозяйского или собственного промотора. Работы последних лет позволили установить функциональную роль CpG-островков генов миРНК, локализованных в межгенных и внутригенных районах и удаленных от аннотированных сайтов старта транскрипции, и подтвердить их промоторную функцию.

Накопленные данные для большой группы генов миРНК указывают на роль метилирования в патогенезе злокачественных опухолей и регуляции экспрессии как самих генов миРНК, так и опосредованно их целевых генов (онкогенов, онкосупрессоров, генов метастазирования и др.). Изменение уровня метилирования генов миРНК – системный механизм, влияющий на

самые разные процессы в ходе канцерогенеза. Гены миРНК, подверженные метилированию, вовлечены в такие процессы опухолевой клетки как апоптоз, пролиферацию, адгезию, клеточную миграцию, ангиогенез, инвазию, ремоделирование хроматина, ЭМП и метастазирование. МиРНК и эпигенетическая модификация CpG-островков генов миРНК – важные факторы тонкой и динамичной регуляции сигнальных путей и регуляторных сетей опухолевой клетки. Как отмечено в недавнем обзоре Тама и Вайнберга [157], эпигенетические механизмы наряду с транскрипционными факторами играют важную роль в обеспечении динамичных и обратимых переходов между многими фенотипическими состояниями неопластической клетки и в итоге в обеспечении пластичного перехода между эпителиальным и мезенхимальным фенотипами. Накопленные сведения о роли миРНК и метилирования генов миРНК расширяют представления о фундаментальных механизмах прогрессии рака и перспективны для отбора новых диагностических и терапевтических мишеней злокачественных новообразований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-15-00654).

Авторы выражают глубокую благодарность проф. П.А. Сломинскому (Институт молекулярной генетики РАН) за полезные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Макарова Ю.А., Крамеров Д.А. (2007) Некодирующие РНК, *Биохимия*, **72**, 1427–1448.
2. Lopez-Serra, P., and Esteller, M. (2012) DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer, *Oncogene*, **31**, 1609–1622.
3. Djebali, S., Davis, C.A., Merkel, A., Dobin, A., Lassmann, T., Mortazavi, A., Tanzer, A., Lagarde, J., Lin, W., Schlesinger, F., Xue, C., Marinov, G.K., Khatun, J., Williams, B.A., Zaleski, C., Rozowsky, J., Roder, M., Kokocinski, F., Abdelhamid, R.F., Alioto, T., Antoshechkin, I., Baer, M.T., Bar, N.S., Batut, P., Bell, K., Bell, I., Chakraborty, S., Chen, X., Chrast, J., Curado, J., Derrien, T., Drenkow, J., Dumais, E., Dumais, J., Duttagupta, R., Falconnet, E., Fastuca, M., Fejes-Toth, K., Ferreira, P., Foissac, S., Fullwood, M.J., Gao, H., Gonzalez, D., Gordon, A., Gunawardena, H., Howald, C., Jha, S., Johnson, R., Kapranov, P., King, B., Kingswood, C., Luo, O.J., Park, E., Persaud, K., Preall, J.B., Ribeca, P., Risk, B., Robyr, D., Sammeth, M., Schaffer, L., See, L.H., Shahab, A., Skancke, J., Suzuki, A.M., Takahashi, H., Tilgner, H., Trout, D., Walters, N., Wang, H., Wrobel, J., Yu, Y., Ruan, X., Hayashizaki, Y., Harrow, J., Gerstein, M., Hubbard, T., Reymond, A., Antonarakis, S.E., Hannon, G., Giddings, M.C., Ruan, Y., Wold, B., Carninci, P., Guigo, R., and Gingeras, T.R. (2012) Landscape of transcription in human cells, *Nature*, **489**, 101–108.
4. Gerstein, M.B., Kundaje, A., Hariharan, M., Landt, S.G., Yan, K.K., Cheng, C., Mu, X.J., Khurana, E., Rozowsky, J., Alexander, R., Min, R., Alves, P., Abyzov, A., Addleman, N., Bhardwaj, N., Boyle, A.P., Cayting, P., Charos, A., Chen, D.Z., Cheng, Y., Clarke, D., Eastman, C., Euskirchen, G., Frieze, S., Fu, Y., Gertz, J., Grubert, F., Harmanci, A., Jain, P., Kasowski, M., Lacroute, P., Leng, J., Lian, J., Monahan, H., O'Geen, H., Ouyang, Z., Partridge, E.C., Patacsil, D., Pauli, F., Raha, D., Ramirez, L., Reddy, T.E., Reed, B., Shi, M., Slifer, T., Wang, J., Wu, L., Yang, X., Yip, K.Y., Zilberman-Schapiro, G., Batzoglou, S., Sidow, A., Farnham, P.J., Myers, R.M., Weissman, S.M., and Snyder, M. (2012) Architecture of the human regulatory network derived from ENCODE data, *Nature*, **489**, 91–100.
5. Dweep, H., Sticht, C., Pandey, P., and Gretz, N. (2011) miRWalk-database: prediction of possible miRNA binding sites by «walking» the genes of three genomes, *J. Biomed. Inform.*, **44**, 839–847.
6. Friedman, R.C., Farh, K.K., Burge, C.B., and Bartel, D.P. (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs, *Genome Res.*, **19**, 92–105.

7. Graves, P., and Zeng, Y. (2012) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs, *Genomics Proteomics Bioinformatics*, **10**, 239–245.
8. Orom, U.A., Nielsen, F.C., and Lund, A.H. (2008) MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation, *Mol. Cell*, **30**, 460–471.
9. Wang, W.X., Wilfred, B.R., Xie, K., Jennings, M.H., Hu, Y.H., Stromberg, A.J., and Nelson, P.T. (2010) Individual microRNAs (miRNAs) display distinct mRNA targeting «rules», *RNA Biol.*, **7**, 373–380.
10. Jones, P.A., and Baylin, S.B. (2007) The epigenomics of cancer, *Cell*, **128**, 683–692.
11. Кушлинский Н.Е., Немцова М.В. (2014) Молекулярные механизмы опухолевого роста, *Патогенез*, **12**, 4–14.
12. Kunej, T., Godnic, I., Ferdin, J., Horvat, S., Dovc, P., and Calin, G.A. (2011) Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: an integrated review of literature, *Mutat. Res.*, **717**, 77–84.
13. Melo, S.A., and Esteller, M. (2011) Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire, *FEBS Lett.*, **585**, 2087–2099.
14. Landi, M.T., Zhao, Y., Rotunno, M., Koshiol, J., Liu, H., Bergen, A.W., Rubagotti, M., Goldstein, A.M., Linnoila, I., Marincola, F.M., Tucker, M.A., Bertazzi, P.A., Pesatori, A.C., Caporaso, N.E., McShane, L.M., and Wang, E. (2010) MicroRNA expression differentiates histology and predicts survival of lung cancer, *Clin. Cancer Res.*, **16**, 430–441.
15. Tavazoie, S.F., Alarcon, C., Oskarsson, T., Padua, D., Wang, Q., Bos, P.D., Gerald, W.L., and Massague, J. (2008) Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis, *Nature*, **451**, 147–152.
16. Ebrahimi, F., Gopalan, V., Smith R.A., and Lam, A.K. (2014) miR-126 in human cancers: clinical roles and current perspectives, *Exp. Mol. Pathol.*, **96**, 98–107.
17. Bartel, D.P. (2009) MicroRNAs: target recognition and regulatory functions, *Cell*, **136**, 215–233.
18. Chan, J.A., Krichevsky, A.M., and Kosik, K.S. (2005) MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells, *Cancer Res.*, **65**, 6029–6033.
19. Si, M.L., Zhu, S., Wu, H., Lu, Z., Wu, F., and Mo, Y.Y. (2007) miR-21-mediated tumor growth, *Oncogene*, **26**, 2799–2803.
20. He, L., He, X., Lim, L.P., de Stanchina, E., Xuan, Z., Liang, Y., Xue, W., Zender, L., Magnus, J., and Ridzon, D. (2007) A microRNA component of the p53 tumour suppressor network, *Nature*, **447**, 1130–1134.
21. Tarasov, V., Jung, P., Verdoodt, B., Lodygin, D., Epanchintsev, A., Venssen, A., Meister, G., and Hermeking, H. (2007) Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest, *Cell Cycle*, **6**, 1586–1593.
22. Hermeking, H. (2010) The miR-34 family in cancer and apoptosis, *Cell Death Differ.*, **17**, 193–199.
23. Yu, C.C., Chen, Y.W., Chiou, G.Y., Tsai, L.L., Huang, P.I., and Chang, C.Y. (2011) MicroRNA let-7a represses chemoresistance and tumorigenicity in head and neck cancer via stem-like properties ablation, *Oral Oncol.*, **47**, 202–210.
24. Wang, S., Tang, Y., Cui, H., Zhao, X., Luo, X., and Pan, W. (2011) Let-7/miR-98 regulate Fas and Fas-mediated apoptosis, *Genes Immun.*, **12**, 149–154.
25. Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, **144**, 646–674.
26. Liu, Z.L., Wang, H., Liu, J., and Wang, Z.X. (2013) MicroRNA-21 (miR-21) expression promotes growth, metastasis, and chemo- or radioresistance in non-small cell lung cancer cells by targeting PTEN, *Mol. Cell Biochem.*, **372**, 35–45.
27. Talotta, F., Cimmino, A., Matarazzo, M.R., Casalino, L., De Vita, G., D'Esposito, M., Di Lauro, R., and Verde, P. (2009) An autoregulatory loop mediated by miR-21 and PDCD4 controls the AP-1 activity in RAS transformation, *Oncogene*, **28**, 73–84.
28. Xiao, D., Ohlendorf, J., Chen, Y., Taylor, D.D., Rai, S.N., Waigel, S., Zacharias, W., Hao, H., and McMasters, K.M. (2012) Identifying mRNA, microRNA and protein profiles of melanoma exosomes, *PLoS One*, **7**, e46874.
29. Arroyo, J.D., Chevillet, J.R., Kroh, E.M., Ruf, I.K., Pritchard, C.C., and Gibson, D.F. (2011) Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 5003–5008.
30. Lim, P.K., Bliss, S.A., Patel, S.A., Taborga, M., Dave, M.A., and Gregory, L.A. (2011) Gap junction-mediated import of microRNA from bone marrow stromal cells can elicit cell cycle quiescence in breast cancer cells, *Cancer Res.*, **71**, 1550–1560.
31. Deng, S., Calin, G.A., Croce, C.M., Coukos, G., and Zhang, L. (2008) Mechanisms of microRNA deregulation in human cancer, *Cell Cycle*, **7**, 2643–2646.
32. Chang, T.C., Yu, D., Lee, Y.S., Wentzel, E.A., Arking, D.E., and West, K.M. (2008) Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis, *Nature Genet.*, **40**, 43–50.
33. Kumar, M.S., Lu, J., Mercer, K.L., Golub, T.R., and Jacks, T. (2007) Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis, *Nature Genet.*, **39**, 673–677.
34. Calin, G.A., Ferracin, M., Cimmino, A., Di Leva, G., Shimizu, M., Wojcik, S.E., Iorio, M.V., Visone, R., Sever, N.I., Fabbri, M., Iuliano, R., Palumbo, T., Pichiorri, F., Roldo, C., Garzon, R., Sevignani, C., Rassenti, L., Alder, H., Volinia, S., Liu, C.G., Kipps, T.J., Negrini, M., and Croce, C.M. (2005) A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia, *N. Engl. J. Med.*, **353**, 1793–1801.
35. Jones, P.A. (2012) Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond, *Nature Rev. Genet.*, **13**, 484–492.
36. Bandres, E., Agirre, X., Bitarte, N., RamiRez, N., Zarate, R., Roman-Gomez, J., Prosper, F., and Garcia-Foncillas, J. (2009) Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer, *Int. J. Cancer*, **125**, 2737–2743.
37. Lodygin, D., Tarasov, V., Epanchintsev, A., Berking, C., Knyazeva, T., Korner, H., Knyazev, P., Diebold, J., and Hermeking, H. (2008) Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer, *Cell Cycle*, **7**, 2591–2600.
38. Mudduluru, G., Ceppi, P., Kumarswamy, R., Scagliotti, G.V., Papotti, M., and Allgayer, H. (2011) Regulation of Axl receptor tyrosine kinase expression by miR-34a and miR-199a/b in solid cancer, *Oncogene*, **30**, 2888–2899.
39. Tanaka, N., Toyooka, S., Soh, J., Kubo, T., Yamamoto, H., Maki, Y., Muraoka, T., Shien, K., Furukawa, M., Ueno, T., Asano, H., Tsukuda, K., Aoe, K., and Miyoshi, S. (2012) Frequent methylation and oncogenic role of microRNA-34b/c in small-cell lung cancer, *Lung Cancer*, **76**, 32–38.
40. Watanabe, K., Emoto, N., Hamano, E., Sunohara, M., Kawakami, M., Kage, H., Kitano, K., Nakajima, J., Goto, A., Fukayama, M., Nagase, T., Yatomi, Y., Ohishi, N., and Takai, D. (2012) Genome structure-based screening identified epigenetically silenced microRNA associated with invasiveness in non-small-cell lung cancer, *Int. J. Cancer*, **130**, 2580–2590.

41. Chim, C.S., Wong, K.Y., Qi, Y., Loong, F., Lam, W.L., Wong, L.G., Jin, D.Y., Costello, J.F., and Liang, R. (2010) Epigenetic inactivation of the miR-34a in hematological malignancies, *Carcinogenesis*, **31**, 745–750.
42. Vrba, L., Munoz-Rodriguez, J.L., Stampfer, M.R., and Futscher, B.W. (2013) miRNA gene promoters are frequent targets of aberrant DNA methylation in human breast cancer, *PLoS One*, **8**, e54398.
43. Kozaki, K., and Inazawa, J. (2012) Tumor-suppressive microRNA silenced by tumor-specific DNA hypermethylation in cancer cells, *Cancer Sci.*, **103**, 837–845.
44. Marco, A., Ninova, M., Ronshaugen, M., and Griffiths-Jones, S. (2013) Clusters of microRNAs emerge by new hairpins in existing transcripts, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 7745–7752.
45. Saito, Y., Friedman, J.M., Chihara, Y., Egger, G., Chuang, J.C., and Liang, G. (2009) Epigenetic therapy upregulates the tumor suppressor microRNA-126 and its host gene EGFL7 in human cancer cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **379**, 726–731.
46. Png, K.J., Yoshida, M., Zhang, X.H., Shu, W., Lee, H., Rimmer, A., Chan, T.A., Comen, E., Andrade, V.P., Kim, S.W., King, T.A., Hudis, C.A., Norton, L., Hicks, J., Massague, J., and Tavazoie, S.F. (2011) MicroRNA-335 inhibits tumor reinitiation and is silenced through genetic and epigenetic mechanisms in human breast cancer, *Genes Dev.*, **25**, 226–231.
47. Grady, W.M., Parkin, R.K., Mitchell, P.S., Lee, J.H., Kim, Y.H., Tsuchiya, K.D., Washington, M.K., Paraskeva, C., Willson, J.K., Kaz, A.M., Kroh, E.M., Allen, A., Fritz, B.R., Markowitz, S.D., and Tewari, M. (2008) Epigenetic silencing of the intronic microRNA hsa-miR-342 and its host gene EVL in colorectal cancer, *Oncogene*, **27**, 3880–3888.
48. Toyota, M., Suzuki, H., Sasaki Y., Maruyama, R., Imai, K., Shinomura, Y., and Tokino, T. (2008) Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer, *Cancer Res.*, **68**, 4123–4132.
49. Kashuba, V.I., Li, J., Wang, F., Senchenko, V.N., Protopopov, A., Malyukova, A., Kutsenko, A.S., Kadyrova, E., Zabarovska, V.I., Muravenko, O.V., Zelenin, A.V., Kisselev, L.L., Kuzmin, I., Minna, J.D., Winberg, G., Ernberg, I., Braga, E., Lerman, M.I., Klein, G., and Zabarovsky, E.R. (2004) RBSP3 (HYA22) is a tumor suppressor gene implicated in major epithelial malignancies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 4906–4911.
50. Zhu, Y., Lu, Y., Zhang, Q., Liu, J.J., Li, T.J., Yang, J.R., Zeng, C., and Zhuang, S.M. (2012) MicroRNA-26a/b and their host genes cooperate to inhibit the G1/S transition by activating the pRb protein, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 4615–4625.
51. Alajez, N.M., Lenarduzzi, M., and Ito, E. (2011) MiR-218 suppresses nasopharyngeal cancer progression through downregulation of survivin and the SLIT2-ROBO1 pathway, *Cancer Res.*, **71**, 2381–2391.
52. Suzuki, H., Yamamoto, E., and Nojima, M. (2010) Methylation-associated silencing of microRNA-34b/c in gastric cancer and its involvement in an epigenetic field defect, *Carcinogenesis*, **31**, 2066–2073.
53. Vogt, M., Munding, J., Gruner, M., Liffers, S.T., Verdoordt, B., Hauk, J., Steinstraesser, L., Tannapfel, A., and Hermeking, H. (2011) Frequent concomitant inactivation of miR-34a and miR-34b/c by CpG methylation in colorectal, pancreatic, mammary, ovarian, urothelial, and renal cell carcinomas and soft tissue sarcomas, *Virchows Arch.*, **458**, 313–322.
54. Ходырев Д.С., Пронина И.В., Рыков С.В., Береснева Е.В., Фридман М.В., Казубская Т.П., Логинов В.И., Брага Э.А. (2012) Метилирование группы генов микроРНК вовлечено в регуляцию экспрессии генов-мишени RAR-beta2 и NKIRAS1 при раке легкого, *Молекулярная биология*, **46**, 773–785.
55. Рыков С.В., Ходырев Д.С., Береснева Е.В., Пронина И.В., Корчагина Е.Л., Казубская Т.П., Логинов В.И., Брага Э.А. (2012) Профили метилирования группы генов микроРНК в опухолях легкого, почки и толстой кишки, *Медицинская генетика*, **11**, 26–31.
56. Береснева Е.В., Рыков С.В., Ходырев Д.С., Пронина И.В., Ермилова В.Д., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И. (2013) Профиль метилирования группы генов микроРНК при светлоклеточном почечноклеточном раке; связь с прогрессией рака, *Генетика*, **49**, 366–375.
57. Lujambio, A., Calin, G.A., Villanueva, A., Ropero, S., Sanchez-Cespedes, M., Blanco, D., Montuenga, L.M., Rossi, S., Nicoloso, M.S., Faller, W.J., Gallagher, W.M., Eccles, S.A., Croce, C.M., and Esteller, M.A. (2008) A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 13556–13561.
58. Cannell, I.G., and Bushell, M. (2010) Regulation of Myc by miR-34c: A mechanism to prevent genomic instability? *Cell Cycle*, **9**, 2726–2730.
59. Langevin, S.M., Stone, R.A., Bunker, C.H., Lyons-Weiler, M.A., LaFramboise, W.A., Kelly, L., Seethala, R.R., Grandis, J.R., Sobol, R.W., and Taioli, E. (2011) MicroRNA-137 promoter methylation is associated with poorer overall survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck, *Cancer*, **117**, 1454–1462.
60. Balaguer, F., Link, A., Lozano, J.J., Cuatrecasas, M., Nagasaka, T., Boland, C.R., and Goel, A. (2010) Epigenetic silencing of miR-137 is an early event in colorectal carcinogenesis, *Cancer Res.*, **70**, 6609–6618.
61. Wiklund, E.D., Gao, S., Hulf, T., Sibbritt, T., Nair, S., Costea, D.E., Villadsen, S.B., Bakholdt, V., Bramsen, J.B., Srensen, J.A., Krogdahl, A., Clark, S.J., and Kjems, J. (2011) MicroRNA alterations and associated aberrant DNA methylation patterns across multiple sample types in oral squamous cell carcinoma, *PLoS One*, **6**, e27840.
62. Chen, X., Wang, J., Shen, H., Lu, J., Li, C., Hu, D.N., Dong, X.D., Yan, D., and Tu, L. (2011) Epigenetics, microRNAs, and carcinogenesis: functional role of microRNA-137 in uveal melanoma, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **52**, 1193–1199.
63. Shimizu, T., Suzuki, H., Nojima, M., Kitamura, H., Yamamoto, E., Maruyama, R., Ashida, M., Hatahira, T., Kai, M., Masumori, N., Tokino, T., Imai, K., Tsukamoto, T., and Toyota, M. (2013) Methylation of a panel of microRNA genes is a novel biomarker for detection of bladder cancer, *Eur. Urol.*, **63**, 1091–1100.
64. Zhu, X., Li, Y., Shen, H., Li, H., Long, L., Hui, L., and Xu, W. (2013) miR-137 inhibits the proliferation of lung cancer cells by targeting Cdc42 and Cdk6, *FEBS Lett.*, **587**, 73–81.
65. Althoff, K., Beckers, A., Odersky, A., Mestdagh, P., Koster, J., Bray, I.M., Bryan, K., Vandesompele, J., Speleman, F., Stallings, R.L., Schramm, A., Eggert, A., Sprussel, A., and Schulte, J.H. (2013) MiR-137 functions as a tumor suppressor in neuroblastoma by downregulating KDM1A, *Int. J. Cancer*, **135**, 1064–1073.
66. Chen, L., Wang, X., Wang, H., Li, Y., Yan, W., Han, L., Zhang, K., Zhang, J., Wang, Y., Feng, Y., Pu, P., Jiang, T., Kang, C., and Jiang, C. (2012) miR-137 is frequently down-regulated in glioblastoma and is a negative regulator of Cox-2, *Eur. J. Cancer*, **48**, 3104–3111.
67. Wu, J., Qian, J., Li, C., Kwok, L., Cheng, F., Liu, P., Perdomo, C., Kotton, D., Vaziri, C., Anderlind, C., Spira, A., Cardoso, W.V., and Lu, J. (2010) miR-129 regulates cell

- proliferation by downregulating Cdk6 expression, *Cell Cycle*, **9**, 1809–1818.
68. Huang, Y.W., Liu, J.C., Deatherage, D.E., Luo, J., Mutch, D.G., Goodfellow, P.J., Miller, D.S., and Huang, T.H. (2009) Epigenetic repression of microRNA-129-2 leads to overexpression of SOX4 oncogene in endometrial cancer, *Cancer Res.*, **69**, 9038–9046.
 69. Anwar, S.L., Albat, C., Krech, T., Hasemeier, B., Schipper, E., Schweitzer, N., Vogel, A., Kreipe, H., and Lehmann, U. (2013) Concordant hypermethylation of intergenic microRNA genes in human hepatocellular carcinoma as new diagnostic and prognostic marker, *Int. J. Cancer*, **133**, 660–670.
 70. Chen, X., Zhang, L., Zhang, T., Hao, M., Zhang, X., Zhang, J., Xie, Q., Wang, Y., Guo, M., Zhuang, H., and Lu, F. (2013) Methylation-mediated repression of microRNA 129-2 enhances oncogenic SOX4 expression in HCC, *Liver Int.*, **33**, 476–486.
 71. Пронина И.В., Рыков С.В., Береснева Е.В., Ходырев Д.С., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И. (2012) Изменения уровней экспрессии группы генов микроРНК и белок-кодирующих генов *RAR-beta2* и *NKI-RAS1* в опухолях легкого, почки и молочной железы, *Медицинская генетика*, **11**, 20–25.
 72. Рыков С.В., Ходырев Д.С., Пронина И.В., Казубская Т.П., Логинов В.И., Брага Э.А. (2013) Новые гены микроРНК, подверженные метилированию в опухолях легкого, *Генетика*, **49**, 896–901.
 73. Zhao, J.J., Yang, J., Lin, J., Yao, N., Zhu, Y., Zheng, J., Xu, J., Cheng, J.Q., Lin, J.Y., and Ma, X. (2009) Identification of miRNAs associated with tumorigenesis of retinoblastoma by miRNA microarray analysis, *Childs Nerv. Syst.*, **25**, 13–20.
 74. Yu, X., Song, H., Xia, T., Han, S., Xiao, B., Luo, L., Xi, Y., and Guo, J. (2013) Growth inhibitory effects of three miR-129 family members on gastric cancer, *Gene*, **532**, 87–93.
 75. Kang, M., Li, Y., Liu, W., Wang, R., Tang, A., Hao, H., Liu, Z., and Ou, H. (2013) miR-129-2 suppresses proliferation and migration of esophageal carcinoma cells through downregulation of SOX4 expression, *Int. J. Mol. Med.*, **32**, 51–58.
 76. Lujambio, A., and Esteller, M. (2009) How epigenetics can explain human metastasis: a new role for microRNAs, *Cell Cycle*, **8**, 377–382.
 77. Ceppi, P., Mudduluru, G., Kumarswamy, R., Rapa, I., Scagliotti, G.V., Papotti, M., and Allgayer, H. (2010) Loss of miR-200c expression induces an aggressive, invasive, and chemoresistant phenotype in non-small cell lung cancer, *Mol. Cancer Res.*, **8**, 1207–1216.
 78. Park, S.M., Gaur, A.B., Lengyel, E., and Peter, M.E. (2008) The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2, *Genes Dev.*, **22**, 894–907.
 79. Tellez, C.S., Juri, D.E., Do, K., Bernauer, A.M., Thomas, C.L., Damiani, L.A., Tessema, M., Leng, S., and Belinsky, S.A. (2011) EMT and stem cell-like properties associated with miR-205 and miR-200 epigenetic silencing are early manifestations during carcinogen-induced transformation of human lung epithelial cells, *Cancer Res.*, **71**, 3087–3097.
 80. Men, D., Liang, Y., and Chen, L. (2014) Decreased expression of microRNA-200b is an independent unfavorable prognostic factor for glioma patients, *Cancer Epidemiol.*, **38**, 152–156.
 81. Vilming Elgaaen, B., Olstad, O.K., Haug, K.B., Brusletto, B., Sandvik, L., Staff, A.C., Gautvik, K.M., and Davidson, B. (2014) Global miRNA expression analysis of serous and clear cell ovarian carcinomas identifies differentially expressed miRNAs including miR-200c-3p as a prognostic marker, *BMC Cancer*, **14**, 80.
 82. Wang, Y., Zhao, W., and Fu, Q. (2013) miR-335 suppresses migration and invasion by targeting ROCK1 in osteosarcoma cells, *Mol. Cell Biochem.*, **384**, 1–2, 105–111.
 83. Gong, M., Ma, J., Guillemette, R., Zhou, M., Yang, Y., Hock, J.M., and Yu, X. (2014) miR-335 inhibits small cell lung cancer bone metastases via IGF-IR and RANKL pathways, *Mol. Cancer Res.*, **12**, 101–110.
 84. Liu, X.H., Lu, K.H., Wang, K.M., Sun, M., Zhang, E.B., Yang, J.S., Yin, D.D., Liu, Z.L., Zhou, J., Liu, Z.J., De, W., and Wang, Z.X. (2012) MicroRNA-196a promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion through targeting HOXA5, *BMC Cancer*, **12**, 348.
 85. Huang, F., Tang, J., Zhuang, X., Zhuang, Y., Cheng, W., Chen, W., Yao, H., and Zhang, S. (2014) MiR-196a promotes pancreatic cancer progression by targeting nuclear factor kappa-B-inhibitor alpha, *PLoS One*, **9**, e87897.
 86. Hou, T., Ou, J., Zhao, X., Huang, X., Huang, Y., and Zhang, Y. (2014) MicroRNA-196a promotes cervical cancer proliferation through the regulation of FOXO1 and p27Kip1, *Br. J. Cancer*, **110**, 1260–1268.
 87. Brueckner, B., Stresemann, C., Kuner, R., Mund, C., Musch, T., Meister, M., Sultmann, H., and Lyko, F. (2007) The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function, *Cancer Res.*, **67**, 1419–1423.
 88. Gao, X.N., Lin, J., Li, Y.H., Gao, L., Wang, X.R., Wang, W., Kang, H.Y., Yan, G.T., Wang, L.L., and Yu, L. (2011) MicroRNA-193a represses c-kit expression and functions as a methylation-silenced tumor suppressor in acute myeloid leukemia, *Oncogene*, **30**, 3416–3428.
 89. Nakano, H., Yamada, Y., Miyazawa, T., and Yoshida, T. (2013) Gain-of-function microRNA screens identify miR-193a regulating proliferation and apoptosis in epithelial ovarian cancer cells, *Int. J. Oncol.*, **42**, 1875–1882.
 90. Yu, T., Li, J., Yan, M., Liu, L., Lin, H., Zhao, F., Sun, L., Zhang, Y., Cui, Y., Zhang, F., Li, J., He, X., and Yao, M. (2014) MicroRNA-193a-3p and -5p suppress the metastasis of human non-small-cell lung cancer by downregulating the ERBB4/PIK3R3/mTOR/S6K2 signaling pathway, *Oncogene*, in press, DOI. 10.1038/onc.2013.574.
 91. Tili, E., Michaille, J.J., Luo, Z., Volinia, S., Rassenti, L.Z., Kipps, T.J., and Croce, C.M. (2012) The down-regulation of miR-125b in chronic lymphocytic leukemias leads to metabolic adaptation of cells to a transformed state, *Blood*, **120**, 2631–2638.
 92. Puissegur, M.P., Eichner, R., Quelen, C., Coyaud, E., Mari, B., Lebrigand, K., Broccardo, C., Nguyen-Khac, F., Bousquet, M., and Brousset, P. (2012) B-cell regulator of immunoglobulin heavy-chain transcription (Bright)/ARID3a is a direct target of the oncomir microRNA-125b in progenitor B-cells, *Leukemia*, **26**, 2224–2232.
 93. Wu, N., Lin, X., Zhao, X., Zheng, L., Xiao, L., Liu, J., Ge, L., and Cao, S. (2013) MiR-125b acts as an oncogene in glioblastoma cells and inhibits cell apoptosis through p53 and p38MAPK-independent pathways, *Br. J. Cancer*, **109**, 2853–2863.
 94. Le, M.T., Shyh-Chang, N., Khaw, S.L., Chin, L., Teh, C., Tay, J., O'Day, E., Korzh, V., Yang, H., Lal, A., Lieberman, J., Lodish, H.F., and Lim, B. (2011) Conserved regulation of p53 network dosage by microRNA-125b occurs through evolving miRNA-target gene pairs, *PLoS Genet.*, **7**, e1002242.
 95. Soto-Reyes, E., Gonzalez-Barrios, R., Cisneros-Soberanis, F., Herrera-Goepfert, R., Perez, V., Cantu, D., Prada, D., Castro, C., Recillas-Targa, F., and Herrera, L.A. (2012) Disruption of CTCF at the miR-125b1 locus in gynecological cancers, *BMC Cancer*, **12**, 40.
 96. Saito, Y., and Saito, H. (2012) Role of CTCF in the regulation of microRNA expression, *Front. Genet.*, **3**, 186.

97. Cairo, S., Wang, Y., de Reynies, A., Duroure, K., Dahan, J., Redon, M.J., Fabre, M., McClelland, M., Wang, X.W., Croce, C.M., and Buendia, M.A. (2010) Stem cell-like micro-RNA signature driven by Myc in aggressive liver cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 20471–20476.
98. Zhang, Y., Yan, L.X., Wu, Q.N., Du, Z.M., Chen, J., Liao, D.Z., Huang, M.Y., Hou, J.H., Wu, Q.L., Zeng, M.S., Huang, W.L., Zeng, Y.X., and Shao, J.Y. (2011) miR-125b is methylated and functions as a tumor suppressor by regulating the ETS1 proto-oncogene in human invasive breast cancer, *Cancer Res.*, **71**, 3552–3562.
99. Singh, P.K., Preus, L., Hu, Q., Yan, L., Long, M.D., Morrison, C.D., Nesline, M., Johnson, C.S., Koochekpour, S., Kohli, M., Liu, S., Trump, D.L., Sucheston-Campbell, L.E., and Campbell, M.J. (2014) Serum microRNA expression patterns that predict early treatment failure in prostate cancer patients, *Oncotarget*, **5**, 824–840.
100. Ferracin, M., Bassi, C., Pedriali, M., Pagotto, S., D'Abundo, L., Zagatti, B., Corra, F., Musa, G., Callegari, E., Lupini, L., Volpato, S., Querzoli, P., and Negrini, M. (2013) miR-125b targets erythropoietin and its receptor and their expression correlates with metastatic potential and ERBB2/HER2 expression, *Mol. Cancer*, **12**, 130.
101. Feliciano, A., Castellvi, J., Artero-Castro, A., Leal, J.A., Romagosa, C., Hernandez-Losa, J., Peg, V., Fabra, A., Vidal, F., Kondoh, H., Ramon, Y., Cajal, S., and Leonart, M.E. (2013) miR-125b acts as a tumor suppressor in breast tumorigenesis via its novel direct targets ENPEP, CK2- α , CCNJ, and MEGF9, *PLoS One*, **8**, e76247.
102. Tang, J.T., Wang, J.L., Du, W., Hong, J., Zhao, S.L., Wang, Y.C., Xiong, H., Chen, H.M., and Fang, J.Y. (2011) MicroRNA 345, a methylation-sensitive microRNA is involved in cell proliferation and invasion in human colorectal cancer, *Carcinogenesis*, **32**, 1207–1215.
103. Shiu, T.Y., Huang, S.M., Shih, Y.L., Chu, H.C., Chang, W.K., and Hsieh, T.Y. (2013) Hepatitis C virus core protein down-regulates p21(Waf1/Cip1) and inhibits curcumin-induced apoptosis through microRNA-345 targeting in human hepatoma cells, *PLoS One*, **8**, e61089.
104. Incoronato, M., Urso, L., Portela, A., Laukkanen, M.O., Soini, Y., Quintavalle, C., Keller, S., Esteller, M., and Condorelli, G. (2011) Epigenetic regulation of miR-212 expression in lung cancer, *PLoS One*, **6**, e27722.
105. Schultz, N.A., Andersen, K.K., Roslind, A., Willenbrock, H., Wojdemann, M., and Johansen, J.S. (2012) Prognostic microRNAs in cancer tissue from patients operated for pancreatic cancer – five microRNAs in a prognostic index, *World J. Surg.*, **36**, 2699–2707.
106. Scapoli, L., Palmieri, A., Lo Muzio, L., Pezzetti, F., Rubini, C., Girardi, A., Farinella, F., Mazzotta, M., and Carinci, F. (2010) MicroRNA expression profiling of oral carcinoma identifies new markers of tumor progression, *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **23**, 1229–1234.
107. Incoronato, M., Garofalo, M., Urso, L., Romano, G., Quintavalle, C., Zanca, C., Iaboni, M., Nuovo, G., Croce, C.M., and Condorelli, G. (2010) miR-212 increases tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand sensitivity in non-small cell lung cancer by targeting the antiapoptotic protein PED, *Cancer Res.*, **70**, 3638–3646.
108. Xu, L., Wang, F., Xu, X.F., Mo, W.H., Xia, Y.J., Wan, R., Wang, X.P., and Guo, C.Y. (2011) Down-regulation of miR-212 expression by DNA hypermethylation in human gastric cancer cells, *Med. Oncol.*, **28**, 189–196.
109. Li, Y., Zhang, D., Chen, C., Ruan, Z., Li, Y., and Huang, Y. (2012) MicroRNA-212 displays tumor-promoting properties in non-small cell lung cancer cells and targets the hedgehog pathway receptor PTCH1, *Mol. Biol. Cell*, **23**, 1423–1434.
110. Liang, X., Zeng, J., Wang, L., Fang, M., Wang, Q., Zhao, M., Xu, X., Liu, Z., Li, W., Liu, S., Yu, H., Jia, J., and Chen, C. (2013) Histone demethylase retinoblastoma binding protein 2 is overexpressed in hepatocellular carcinoma and negatively regulated by hsa-miR-212, *PLoS One*, **8**, e69784.
111. Meng, X., Wu, J., Pan, C., Wang, H., Ying, X., Zhou, Y., Yu, H., Zuo, Y., Pan, Z., Liu, R.Y., and Huang, W. (2013) Genetic and epigenetic down-regulation of microRNA-212 promotes colorectal tumor metastasis via dysregulation of MnSOD, *Gastroenterology*, **145**, 426–436.
112. Park, J.K., Henry, J.C., Jiang, J., Esau, C., Gusev, Y., Lerner, M.R., Postier, R.G., Brackett, D.J., and Schmittgen, T.D. (2011) miR-132 and miR-212 are increased in pancreatic cancer and target the retinoblastoma tumor suppressor, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **406**, 518–523.
113. Furuta, M., Kozaki, K.I., Tanaka, S., Arai, S., Imoto, I., and Inazawa, J. (2010) miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma, *Carcinogenesis*, **31**, 766–776.
114. Mazar, J., DeBlasio, D., Govindarajan, S.S., Zhang, S., and Perera, R.J. (2011) Epigenetic regulation of microRNA-375 and its role in melanoma development in humans, *FEBS Lett.*, **585**, 2467–2476.
115. Li, X., Lin, R., and Li, J. (2011) Epigenetic silencing of microRNA-375 regulates PDK1 expression in esophageal cancer, *Dig. Dis. Sci.*, **56**, 2849–2856.
116. Kong, K.L., Kwong, D.L., Chan, T.H., Law, S.Y., Chen, L., Li, Y., Qin, Y.R., and Guan, X.Y. (2012) MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like growth factor 1 receptor, *Gut*, **61**, 33–42.
117. Wilting, S.M., Verlaet, W., Jaspers, A., Makazaji, N.A., Agami, R., Meijer, C.J., Snijders, P.J., and Steenberg, R.D. (2013) Methylation-mediated transcriptional repression of microRNAs during cervical carcinogenesis, *Epigenetics*, **8**, 220–228.
118. Yu, L., Todd, N.W., Xing, L., Xie, Y., Zhang, H., Liu, Z., Fang, H., Zhang, J., Katz, R.L., and Jiang, F. (2010) Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers, *Int. J. Cancer*, **127**, 2870–2878.
119. Nishikawa, E., Osada, H., Okazaki, Y., Arima, C., Tomida, S., Tatematsu, Y., Taguchi, A., Shimada, Y., Yanagisawa, K., Yatabe, Y., Toyokuni, S., Sekido, Y., and Takahashi, T. (2011) miR-375 is activated by ASH1 and inhibits YAP1 in a lineage-dependent manner in lung cancer, *Cancer Res.*, **71**, 6165–6173.
120. Zhao, H., Zhu, L., Jin, Y., Ji, H., Yan, X., and Zhu, X. (2012) miR-375 is highly expressed and possibly transactivated by achaete-scute complex homolog 1 in small-cell lung cancer cells, *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, **44**, 177–182.
121. Friboulet, L., Barrios-Gonzales, D., Commo, F., Olausson, K.A., Vagner, S., Adam, J., Goubar, A., Dorvault, N., Lazar, V., Job, B., Besse, B., Validire, P., Girard, P., Lacroix, L., Hasmat, J., Dufour, F., Andre, F., and Soria, J.C. (2011) Molecular Characteristics of ERCC1-Negative versus ERCC1-Positive Tumors in Resected NSCLC, *Clin. Cancer Res.*, **17**, 5562–5572.
122. Li, Y., Jiang, Q., Xia, N., Yang, H., and Hu, C. (2012) Decreased expression of microRNA-375 in nonsmall cell lung cancer and its clinical significance, *J. Int. Med. Res.*, **40**, 1662–1669.
123. Zhang, L., Sullivan, P.S., Goodman, J.C., Gunaratne, P.H., and Marchetti, D. (2011) MicroRNA-1258 suppresses breast cancer brain metastasis by targeting heparanase, *Cancer Res.*, **71**, 645–654.

124. Liu, H., Chen, X., Gao, W., and Jiang, G. (2012) The expression of heparanase and microRNA-1258 in human non-small cell lung cancer, *Tumour Biol.*, **33**, 1327–1334.
125. Tang, D., Zhang, Q., Zhao, S., Wang, J., Lu, K., Song, Y., Zhao, L., Kang, X., Wang, J., Xu, S., and Tian, L. (2013) The expression and clinical significance of microRNA-1258 and heparanase in human breast cancer, *Clin. Biochem.*, **46**, 926–932.
126. Huang, J., Wang, Y., Guo, Y., and Sun, S. (2010) Down-regulated microRNA-152 induces aberrant DNA methylation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma by targeting DNA methyltransferase 1, *Hepatology*, **52**, 60–70.
127. Ruo-Kai, L., Han-Shui, H., Jer-Wei, C., Chih-Yi, C., and Jung-Ta, C. (2007) Alteration of DNA methyltransferases contributes to 5' CpG methylation and poor prognosis in lung cancer, *Lung Cancer*, **55**, 205–213.
128. Fabbri, M., Garzon, R., Cimmino, A., Liu, Z., Zanesi, N., and Callegari, E. (2007) MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 15805–15810.
129. Sun, X., Wang, Z.M., Song, Y., Tai, X.H., Ji, W.Y., Gu, H. (2014) MicroRNA-126 modulates the tumor microenvironment by targeting calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1 (Camsap1), *Int. J. Oncol.*, **44**, 1678–1684.
130. Yu, Q., Liu, S.L., Wang, H., Shi, G., Yang, P., and Chen, X.L. (2013) miR-126 suppresses the proliferation of cervical cancer cells and alters cell sensitivity to the chemotherapeutic drug bleomycin, *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **14**, 6569–6572.
131. Zhou, Y., Feng, X., Liu, Y.L., Ye, S.C., Wang, H., Tan, W.K., Tian, T., Qiu, Y.M., and Luo, H.S. (2013) Down-regulation of miR-126 is associated with colorectal cancer cells proliferation, migration and invasion by targeting IRS-1 via the AKT and ERK1/2 signaling pathways, *PLoS One*, **8**, e81203.
132. Krysan, K., Kusko, R., Grogan, T., O'Hearn, J., Reckamp, K.L., Walser, T.C., Garon, E.B., Lenburg, M.E., Sharma, S., Spira, A.E., Elashoff, D., and Dubinett, S.M. (2014) PGE2-driven expression of c-Myc and oncomiR-17-92 contributes to apoptosis resistance in NSCLC, *Mol. Cancer Res.*, **12**, 765–774.
133. Wu, M.F., Yang, J., Xiang, T., Shi Y.Y., and Liu, L.J. (2014) miR-21 targets Fas ligand-mediated apoptosis in breast cancer cell line MCF-7, *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.*, **34**, 190–194.
134. Ren, W., Wang, X., Gao, L., Li, S., Yan, X., Zhang, J., Huang, C., Zhang, Y., and Zhi, K. (2014) MiR-21 modulates chemosensitivity of tongue squamous cell carcinoma cells to cisplatin by targeting PDCD4, *Mol. Cell Biochem.*, **390**, 253–262.
135. Rokavec, M., Oner, M.G., Li, H., Jackstadt, R., Jiang, L., Lodygin, D., Kaller, M., Horst, D., Ziegler, P.K., Schwitalla, S., Slotta-Huspenina, J., Bader, F.G., Gretten, F.R., and Hermeking, H. (2014) IL-6R/STAT3/miR-34a feedback loop promotes EMT-mediated colorectal cancer invasion and metastasis, *J. Clin. Invest.*, **124**, 1853–1867.
136. Weng, W., Wang, M., Xie, S., Long, Y., Li, F., Sun, F., Yu, Y., and Li, Z. (2014) YY1-C/EBP α -miR34a regulatory circuitry is involved in renal cell carcinoma progression, *Oncol. Rep.*, **31**, 1921–1927.
137. Tang, H., Yao, L., Tao, X., Yu, Y., Chen, M., Zhang, R., and Xu, C. (2013) miR-9 functions as a tumor suppressor in ovarian serous carcinoma by targeting TLN1, *Int. J. Mol. Med.*, **32**, 381–388.
138. White, R.A., Neiman, J.M., Reddi, A., Han, G., Birlea, S., Mitra, D., Dionne, L., Fernandez, P., Murao, K., Bian, L., Keysar, S.B., Goldstein, N.B., Song, N., Bornstein, S., Han, Z., Lu, X., Wisell, J., Li, F., Song, J., Lu, S.L., Jimeno, A., Roop, D.R., and Wang, X.J. (2013) Epithelial stem cell mutations that promote squamous cell carcinoma metastasis, *J. Clin. Invest.*, **123**, 4390–4404.
139. Yu, T., Liu, K., Wu, Y., Fan, J., Chen, J., Li, C., Yang, Q., and Wang, Z. (2013) MicroRNA-9 inhibits the proliferation of oral squamous cell carcinoma cells by suppressing expression of CXCR4 via the Wnt/ β -catenin signaling pathway, *Oncogene*, **33**, 5017–5027.
140. Gomez, G.G., Volinia, S., Croce, C.M., Zanca, C., Li, M., Emmett, R., Gutmann, D.H., Brennan, C.W., Furnari, F.B., and Cavenee, W.K. (2014) Suppression of microRNA-9 by mutant EGFR signaling upregulates FOXPI to enhance glioblastoma tumorigenicity, *Cancer Res.*, **74**, 1429–1439.
141. Aksamitiene, E., Kigatkin, A., and Kholodenko, B. (2012) Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance, *Biochem. Soc. Trans.*, **40**, 139–146.
142. Vlachos, I.S., Kostoulas, N., Vergoulis, T., Georgakilas, G., Reczko, M., Maragkakis, M., Paraskevopoulou, M.D., Prionidis, K., Dalamagas, T., and Hatzigeorgiou, A.G. (2012) DIANA miRPath v2.0: investigating the combinatorial effect of microRNAs in pathways, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 498–504.
143. Xu, Y., and Pasche, B. (2007) TGF-beta signaling alterations and susceptibility to colorectal cancer, *Hum. Mol. Genet.*, **16**, 14–20.
144. Fu, J., Tang, W., Du, P., Wang, G., Chen, W., Li, J., Zhu, Y., Gao, J., and Cui, L. (2012) Identifying microRNA-mRNA regulatory network in colorectal cancer by a combination of expression profile and bioinformatics analysis, *BMC Syst. Biol.*, **6**, 68.
145. Huang, D.W., Sherman, B.T., and Lempicki, R.A. (2009) Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists, *Nucleic Acids Res.*, **37**, 1–13.
146. Kanehisa, M., Goto, S., Sato, Y., Furumichi, M., and Tanabe, M. (2012) KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 109–114.
147. Kristensen, H., Haldrup, C., Strand, S., Mundbjerg, K., Mortensen, M.M., Thorsen, K., Ostenfeld, M.S., Wild, P.J., Arsov, C., Goering, W., Visakorpi, T., Egevad, L., Lindberg, J., Gronberg, H., Hoyer, S., Borre, M., Orntoft, T.F., and Sorensen, K.D. (2014) Hypermethylation of the GABRE~miR-452~miR-224 promoter in prostate cancer predicts biochemical recurrence after radical prostatectomy, *Clin. Cancer Res.*, **20**, 2169–2181.
148. Yamada, N., Noguchi, S., Mori, T., Naoe, T., Maruo, K., and Akao, Y. (2013) Tumor-suppressive microRNA-145 targets catenin δ -1 to regulate Wnt/ β -catenin signaling in human colon cancer cells, *Cancer Lett.*, **335**, 332–342.
149. Поляновский О.Л., Лебеденко Е.Н., Деев С.М. (2012) ERBB-онкогены — мишени моноклональных антител, *Биохимия*, **77**, 289–311.
150. Wang, J., Yang, B., Han, L., Li, X., Tao, H., Zhang, S., and Hu, Y. (2013) Demethylation of miR-9-3 and miR-193a genes suppresses proliferation and promotes apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines, *Cell Physiol. Biochem.*, **32**, 1707–1719.
151. Aydogdu, E., Katchy, A., Tsouko, E., Lin, C.-Y., Haldosen, L.-A., Helguero, L., and Williams, C. (2012) MicroRNA-regulated gene networks during mammary cell differentiation are associated with breast cancer, *Carcinogenesis*, **33**, 1502–1511.
152. Sandhu, R., Rivenbark, A.G., Mackler, R.M., Livasy, C.A., and Coleman, W.B. (2014) Dysregulation of microRNA

- expression drives aberrant DNA hypermethylation in basal-like breast cancer, *Int. J. Oncol.*, **44**, 563–572.
153. Zhou, Y., Hu, Y., Yang, M., Jat, P., Li, K., Lombardo, Y., Xiong, D., Coombes, R.C., Raguz, S., and Yague, E. (2014) The miR-106b~25 cluster promotes bypass of doxorubicin-induced senescence and increase in motility and invasion by targeting the E-cadherin transcriptional activator EP300, *Cell Death Differ.*, **21**, 462–474.
154. Chen, D., Li, Y., Mei, Y., Geng, W., Yang, J., Hong, Q., Feng, Z., Cai, G., Zhu, H., Shi, S., Bai, X.Y., and Chen, X. (2014) miR-34a regulates mesangial cell proliferation via the PDGFR- β /Ras-MAPK signaling pathway, *Cell Mol. Life Sci.*, **71**, 4027–4042.
155. Ma, Y., Qin, H., and Cui, Y. (2013) MiR-34a targets GAS1 to promote cell proliferation and inhibit apoptosis in papillary thyroid carcinoma via PI3K/Akt/Bad pathway, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **441**, 958–963.
156. Okada, N., Lin, C.P., Ribeiro, M.C., Biton, A., Lai, G., He, X., Bu, P., Vogel, H., Jablons, D.M., Keller, A.C., Wilkinson, J.E., He, B., Speed, T.P., and He, L. (2014) A positive feedback between p53 and miR-34 miRNAs mediates tumor suppression, *Genes Dev.*, **28**, 438–450.
157. Tam, W.L., and Weinberg, R.A. (2013) The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer, *Nature Med.*, **19**, 1438–1449.

METHYLATION OF microRNA GENES AND ONCOGENESIS

V. I. Loginov^{1,2}, S. V. Rykov³, M. V. Fridman⁴,
E. A. Braga^{1,2*}

¹ *Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow 125315, Russia; fax: +7(495)601-2366, E-mail: eleonora10_45@mail.ru*

² *Research Center of Medical Genetics, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow 115478, Russia; fax: +7(499)324-0702, E-mail: karpukhin@med-gen.ru*

³ *Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Moscow 117545, Russia; fax: +7(495)315-0501, E-mail: genetika@genetika.ru*

⁴ *N. I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow 117971, Russia; fax: +7(499)135-6213, E-mail: iogen@vigg.ru*

Received September 11, 2014

Revision received September 29, 2014

The interaction of miRNA with messenger RNA of target genes at posttranscriptional level realizes fine and dynamic regulation of cell signaling pathways. Each miRNA can participate in regulation of hundreds of genes coding proteins; and vice versa, a structural gene usually presents a target for a set of miRNAs. Epigenetic inactivation associated with methylation of promoter CpG-islands is typical both of protein-coding genes and that of miRNA genes. In the present review, data concerning miRNA functions in tumor cell phenotype development are given. Information is presented on genome the organization of promoter CpG-islands of miRNA genes located in intergenic and intragenic regions. The literature as well as our own data on miRNA gene methylation frequency in tumors is summarized. Data on relationship of this modification with alteration of miRNA gene activity and, as a consequence, with that of target protein-coding genes are reported. In addition, data on the influence of miRNA gene methylation on key processes of carcinogenesis and the cell signaling pathways involved are discussed.

Key words: miRNA, CpG-islands, methylation, target genes, epigenomics, oncogenesis