

DOI: 10.1360/yc-007-1419

MicroRNA 与肿瘤相关的信号转导通路

吴易阳, 李岭

中国医科大学基础医学院医学遗传学教研室, 沈阳 110001

摘要: 信号转导通路在细胞代谢、生长、增殖、应激、发育和凋亡等生命活动中具有极为重要的作用。干扰这些通路将可能影响细胞的正常发育, 甚至导致肿瘤。MicroRNA(miRNA)是近年来在真核生物中发现的、在转录后水平负调节基因表达的一类长度约 22 个核苷酸的非编码小 RNA, 其靶基因数目众多, 生物学功能广泛。在多种肿瘤中发现了 miRNA 的异常表达, 提示后者与肿瘤发生有关, 可能机制为调控癌基因或肿瘤抑制基因的表达。此外亦发现 miRNA 的靶基因有许多作用于肿瘤相关的信号转导通路。miRNA 在肿瘤发生过程中的重要调控功能预示其将成为人类癌症诊断和治疗方面的新星。

关键词: miRNA; 肿瘤; 肿瘤发生; 信号转导通路

MicroRNAs and cancer-associated signal transduction pathways

WU Yi-Yang, LI LING Jesse

Department of Medical Genetics, China Medical University, Shenyang 110001, China

Abstract: Signal transduction pathways play extremely important roles in various processes of cell life including metabolism, growth, proliferation, stress, development and apoptosis. Disruption of these pathways may affect normal cell growth and development, and even gives rise to tumors. MicroRNAs (miRNAs) are a newly discovered class of non-coding small RNAs (~22 nucleotides in length) in eukaryotes that negatively regulate gene expression at the post-transcriptional level. With a wide range of target genes, they play essential and pervasive roles in diverse biological processes. Aberrant miRNA expression has recently been discovered in tumor development, indicating that miRNAs may be connected with tumorigenesis, possibly through regulating the expression of oncogenes and tumor-suppressing genes. It has also been noticed that many target genes of miRNA can influence tumor associated signal transduction pathways. The significant roles of miRNAs in tumorigenesis indicate that they may become a powerful tool for diagnosis and treatment of human cancers in the future.

Keywords: miRNA; tumor; tumorigenesis; signal transduction pathway

肿瘤发生(tumorigenesis)是一个多因素、多步骤的过程。细胞信号转导通路的异常和紊乱在其中扮演至关重要的角色。人体内细胞信号转导通路众多, 涉及到配体、受体、细胞内信号蛋白和核内信号蛋白等多个环节, 构成了一套极为复杂的网络, 并且具有非常精细的调控机制。最新证据表明, mi-

croRNA(miRNA)可能在上述网络的调控中发挥广泛而重要的作用^[1]。

miRNA是近年来发现于真核细胞中的一类长 21~22 个核苷酸的内源性非编码小分子RNA, 可通过与靶mRNA的 3'UTRs(untranslated regions)近乎完全互补结合在转录后水平使其降解, 或者与之不完

收稿日期: 2007-05-15; 修回日期: 2007-06-28

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 60574040)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.60574040)]

作者简介: 吴易阳(1985-), 女, 辽宁大连人, 七年制临床医学专业学生。E-mail: yvonne2007@gmail.com

通讯作者: 李岭(1969-), 男, 四川成都人, 博士, 教授, 博士生导师。研究方向: 出生缺陷发育遗传学。E-mail: li-ling@mail.cmu.edu.cn

全互补结合在翻译水平抑制蛋白合成,从而在基因表达中发挥重要的调节作用^[2]。1993年,首个miRNA——*lin-4*在线虫(*C. elegans*)中被发现,其作用为调节细胞发育的时序^[3]。7年后,研究者在线虫中发现了第二个miRNA——*let-7*,其作用与*lin-4*类似^[4]。迄今已有数百种miRNA被发现,其中绝大多数呈高度进化保守的特点^[5]。据计算机预测,人类的miRNA可能会超过1000种^[6]。随着更多的miRNA被鉴定和深入研究,越来越多的证据表明,miRNA在细胞生长、增殖、发育和凋亡过程中扮演重要角色,并与许多疾病的发生有关^[7,8],肿瘤亦不例外^[9]。研究者认为,尽管大多数miRNA的功能尚属未知,但它们很可能代表了一类新发现的基因表达调控方式^[10]。

1 miRNA 的产生及基本调控机制

miRNA的产生机制已于近期被阐明^[11]。如图1所示,核基因组中的miRNA基因首先在RNA聚合酶的作用下转录出具有茎-环结构(stem-loop struc-

ture)的初级miRNA(pri-miRNA),后者被RNA聚合酶-Drosha-DGCR8复合体切割,形成仍保留茎-环结构的前体miRNA(pre-miRNA)^[12]。之后,转运蛋白Exportin-5将识别其突出于3'端的标志并与其结合,并依赖Ran-GTP将其转运至细胞质^[13-15]。在胞质中,一种叫Dicer的核酶将在TRBP和AGO2的协助下识别前体miRNA双链的5'末端磷酸及3'末端突出,在RNA聚合酶III的参与下,于茎干的两个螺旋转弯处切割复式结构的两条链,形成miRNA:miRNA*复式结构^[16-18]。后者在解旋酶(helicase)的作用下,最终形成成熟的单链miRNA(多数为miRNA, miRNA*通常被降解),进入核蛋白复合体并参与形成RNA诱导的沉默复合体(miRNA-associated RNA-induced silencing complex, miRISC),从而发挥生物学作用^[14]。

miRNA对靶基因的调控主要通过与其mRNA的3'UTRs碱基互补配对来实现,具体的方式将取决于匹配的程度:近乎完全互补配对时则进行切割,反之则仅为翻译表达的抑制。目前尚未在真核细胞

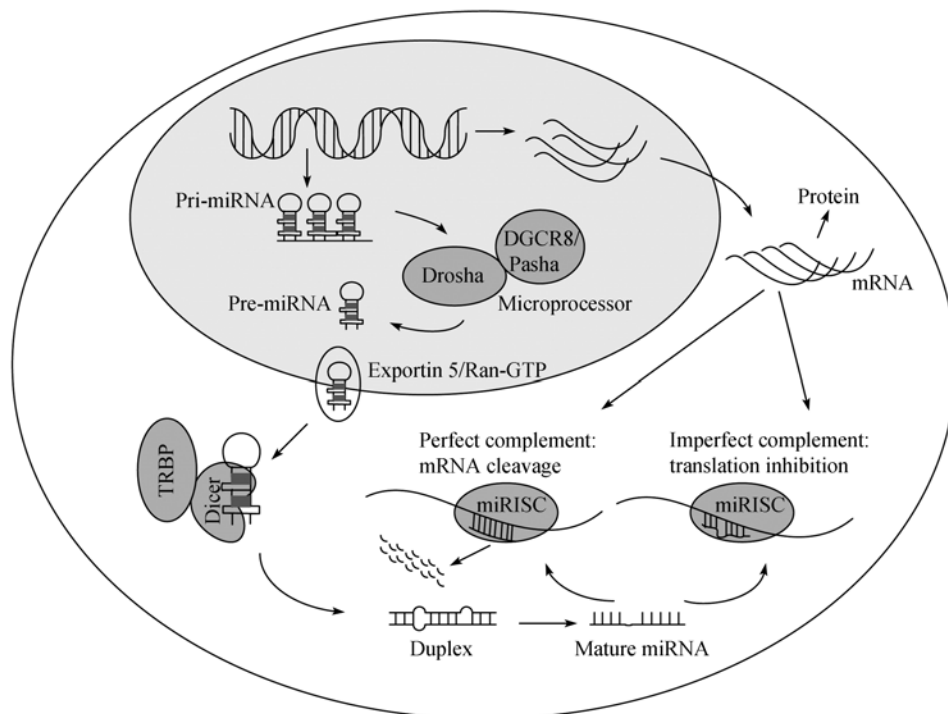


图1 miRNA的生物学发生机制

根据参考文献^[11]重绘。

Fig.1 Mechanism for microRNAs' biogenesis

Redrawn from reference ^[11].

中发现具有表达上调能力的miRNA。植物miRNA与靶基因匹配程度较高,因此多数为切割方式,而动物miRNA与靶序列的匹配程度较差,因此多数属于翻译抑制^[5]。Lewis等^[19]开发了一种用计算机来预测哺乳动物miRNA靶基因的方法,即TargetScan法。所预测的靶基因多数涉及转录、信号转导和肿瘤发生。在生物体内,miRNA的特异性并不是很强,往往是一个miRNA作用于多个靶基因^[20],John等^[21]分析了218条miRNA与2000条人类基因后认为,仅占人类基因1%的miRNA基因可能调控30%以上其他基因的表达。亦有研究者认为,也可能存在多个miRNA调控一个靶基因的情况^[10]。总之,miRNA的调控作用可能属于一种复杂网络,并且其本身也受到其他因素的调控。

2 miRNA 与肿瘤发生

随着研究的不断深入,越来越多的证据表明,在多种癌症中存在miRNA的突变或表达异常,其在肿瘤发生中的角色正日益受到关注。迄今为止,研究者已发现在慢性淋巴细胞性白血病中存在*miR-15*和*miR-16*的缺失^[22],在直肠癌中存在*miR-143*和*miR-145*的表达下调^[23];在非小细胞肺癌中则存在*let-7*的表达下调(预后差于未出现下调者)等^[24,25]。根据miRNA表达在癌症中的变化及其基因组位置常常涉及癌症相关区域或基因脆性位点^[26],有研究者认为,miRNA实际上可作为癌基因或者肿瘤抑制基因而发挥作用^[27]。例如,定位于染色体13q31区的*miR-17-5p*(或称*miR-91*),在儿童期淋巴瘤中存在过度表达^[28,29]。此外,在包括乳腺癌在内的多种癌症中亦存在*miR-17-5p*基因所在区域的杂合性丢失^[30-33]。miRNA还可能通过调控肿瘤抑制基因及/或癌基因参与肿瘤发生:其过度表达时,将抑制肿瘤抑制基因的表达;表达不足或缺失时,则不能有效抑制癌基因的活动。

Kumar等^[34]最近发现,全面抑制miRNA成熟可促使细胞转化和肿瘤发生。表达以miRNA加工装置的3种组分为靶的短发夹RNA(short hairpin RNAs, shRNAs)的癌细胞表现为稳定状态miRNA水平的显著降低和更为明显的转化表型。在动物中,miRNA加工受损的细胞会加速形成肿瘤,并且比对照更具侵袭性,提示miRNA的整体丢失将促进肿瘤发生。

此外,在一个*K-Ras*诱导的小鼠肺癌模型中,条件性删除*Dicer1*将促进肿瘤发生。miRNA成熟的异常亦可表现为miRNA前体水平的变化。例如,在儿童Burkitt淋巴瘤中存在*miR-155*前体表达的增强^[35],Guimaraes-Sternberg等^[36]则证实,毒胡萝卜素(thapsigargin)诱导的细胞内Ca²⁺释放可抑制Meg-01幼巨核细胞(promegakaryotic Meg-01 cells)中*miR-181a*前体的水平,激活分化相关的核内复制和*caspase-3*的活化,使乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)3'剪切变异体AChE-S被AChE-R取代。AChE、PKC和PKA抑制子均可减少造血细胞中*miR-181a*前体水平的下降并且诱导分化,提示可以用miRNA模拟物通过诱导分化和(或)凋亡转变肿瘤细胞的命运。

现已发现在不同组织来源的肿瘤细胞系中miRNA的含量及调节作用各不相同^[37]。Lu等^[27]对334例肿瘤及正常标本的miRNA表达谱进行了分析,发现不同类型的肿瘤、乃至分化水平相同的细胞具有各异的miRNA表达谱。所有正常的细胞分化过程均伴随miRNA表达谱的改变,这种改变的失常则是各种肿瘤所共有的特征。miRNA因此可能成为新的癌症分类、分型乃至分期的标记。已知与肿瘤发生相关的miRNA见表1。

3 miRNA 与肿瘤相关的信号转导通路

3.1 miRNA 与信号网络概述

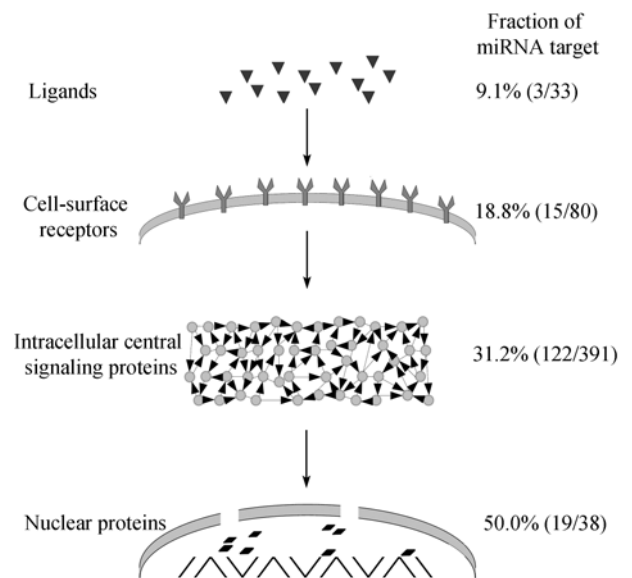
因其靶基因种类繁多且数目巨大,miRNA广泛地参与到许多细胞信号转导系统中,并与其共同构成复杂的调控网络,从而发挥多种生物学作用。通过对斑马鱼miRNA靶基因的研究,Flynt等^[38]发现,*miR-214*表达于体节形成的早期,其强度则影响受Hedgehog信号通路调控的基因的表达。抑制*miR-214*的表达将导致慢肌(slow-muscle)细胞的减少或丢失。研究者发现,编码Hedgehog信号通路负调节蛋白的su(fu) mRNA(suppressor of fused)是*miR-214*的靶标之一。*miR-214*可通过对su(fu)的调节加快细胞对Hedgehog信号的反应,从而精确地规范肌肉细胞的类型。Cui等^[1]发现,近30%的网络蛋白(总共159个)为miRNA的靶。而在人类基因组中,miRNA靶仅占总基因数的17%左右,这似乎提示与其它蛋白相比,miRNA更倾向于选择信号转导通路

表 1 已知与肿瘤发生相关的 miRNA

Table 1 miRNAs known to be associated with tumorigenesis

| 染色体区域 Chromosomal region | miRNAs | 相关肿瘤 Related tumors |
|-----------------------------|---|--|
| 3p21.1~21.2-D | let-7g/miR-135-1 | 乳腺癌、肺癌 Breast cancer, lung cancer |
| 3p21.3(AP20)-D | miR-26 | 上皮细胞肿瘤 Epithelial tumor |
| 3p23~21.31(MDR2)-D | miR-26a/miR-138-1 | 鼻咽癌 Nasopharyngeal cancer |
| 5q32-D | miR-145/miR-143 | 骨髓异常增生综合征 Myelodysplastic syndrome |
| 9q22.3-D | miR-24-1/miR-27b/miR-23b; let-7a-1/let-7f-1/let-7d | 泌尿系统肿瘤 Urological tumors |
| 9q33-D | miR-123 | 非小细胞肺癌 Non-small cell lung cancer |
| 11q23~q24-D | miR-34a-1/miR-34a-2 | 乳腺癌、肺癌 Breast cancer, lung cancer |
| 11q23~q24-D | miR-125b-1/let-7a-2/ miR-100 | 乳腺癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌 Breast cancer, lung cancer, ovarian cancer, cervical cancer |
| 13q14.3-D | miR-15a/miR-16a | 慢性 B 淋巴细胞性白血病 Chronic B-cell lymphatic leukemia |
| 13q32~33-A | miR-17/miR-18/miR-19a/ miR-20/miR-19b-1/miR-92-1 | 滤泡性淋巴瘤 Follicular lymphoma |
| 17p13.3-D | miR-22/miR-132/miR-212 | 原发性肝癌 Primary hepatocarcinoma |
| 17p13.3-D | miR-195 | 肺癌 Lung cancer |
| 17q22~t(8;17) | miR-142s/miR-142as | 幼淋巴细胞性白血病 Promyelocytic leukemia |
| 17q23-A | miR-21 | 神经母细胞瘤 Neuroblastoma |
| 20q13-A | miR-297-3 | 结肠癌 Colon cancer |
| 21q11.1-D | miR-99a/let-7c/miR-125b | 肺癌 Lung cancer |

上的蛋白为靶,因而在信号调控方面扮演更为重要的角色。此外,miRNA靶蛋白的比例(在同类信号蛋白中)似乎随信号传递的流向而递增(图 2)。换句话说,同配体、细胞表面受体之类的上游信号元件相比,miRNA似乎更多地以下游信号转导元件如转录因子,尤其是那些有潜能招募更多下游元件的多连接效应器(high-link adaptor)为靶(图 3)。与此同时,miRNA似乎避免去干扰基本的细胞程序,几乎从来不以细胞信号网络中的普通基本元件为靶,因为后者被多种细胞程序所高度共享,在各种条件下被频繁利用。此外,miRNA还高度靶向那些具有正反馈连接的网络基序(最基本的网络元件),这些正反馈通路往往与超敏反应、生物稳定性以及转换行为等突发的网络特征有关^[39-42]。这些似乎说明,miRNA可能提供一种机制,使之前在通路中已播散的信号得以终止,进而使细胞对新信号作出快速而强烈的反应,这些似乎恰好与miRNA时序性表达的特点相符合。

图 2 信号转导网络不同阶段 miRNA 靶蛋白的分布根据参考文献^[1]重绘。Fig.2 Distribution of miRNA targets in the signal network at different signaling stages Redrawn from reference ^[1].

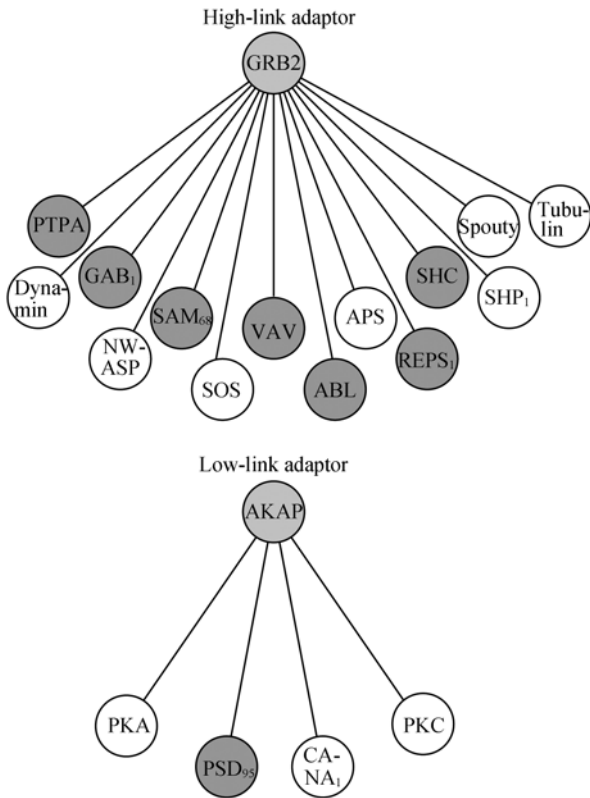


图 3 miRNA 优先以多连接效应器的下游信号转导元件为靶
 Fig.3 miRNAs preferentially target the downstream components of high-link adaptors
 miRNAs' targets are in gray. Redrawn from reference [1].

3.2 miRNA 与肿瘤相关信号转导通路

信号转导通路如 Wnt、Notch、Hedgehog、PI3K/AKT、RAS 等在细胞活动中扮演着关键的角色。在肿瘤的发生及发展中, 这些正常情况下调控细胞生长、分化的信号通路往往会发生紊乱和异常。许多证据提示, miRNA 与肿瘤相关的信号转导通路具有密切的联系 [11] (图 4)。

如前所述, miRNA 可抑制(负调节)多种信号转导通路蛋白的表达, 其中即包括一些肿瘤相关蛋白。

RAS 家族属于小 G 蛋白介导的胞内信号转导途径之一, 激活后可介导促进细胞增殖分化的信号转导, 在多种信号通路中扮演重要角色, 过度表达通常导致细胞向恶性转化。Johnson 等 [24] 发现, RAS 基因的 3'UTRs 包含多个 *let-7* 的互补结合位点, 提示 *let-7* 可调控 RAS 的表达。在人类癌细胞系中, *let-7* 的过度表达可导致 RAS 表达的下降。另一方面, 敲

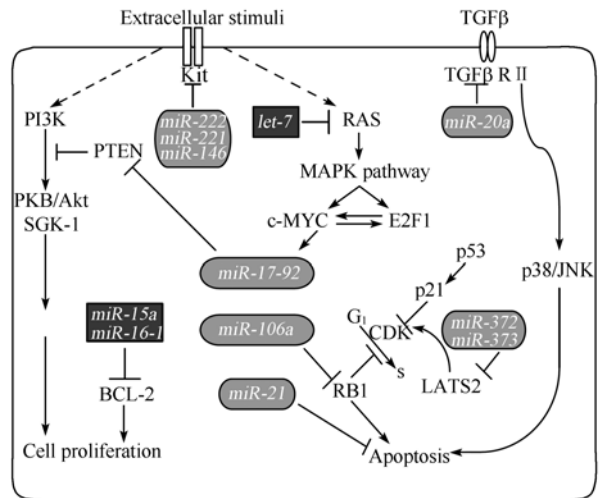


图 4 miRNA 介导的信号转导通路
 miRNA 既可以充当肿瘤抑制基因(黑色), 又可以充当癌基因(灰色)。根据参考文献 [11] 重绘。
 Fig.4 Schematic representation of miRNA-mediated signaling pathways
 miRNAs may function as either tumor suppressors (black) or oncogenes (gray). Redrawn from reference [11].

除高表达 *let-7* 的癌细胞系中的 *let-7* 则造成 RAS 表达的显著增加, 提示 *let-7* 以某种机制负调节 RAS。与体外实验结果一致的是, 在肺部肿瘤组织中, *let-7* 的表达较正常偏低, 而 RAS 蛋白水平则明显偏高 [43]。将 *let-7* 亚型 (*let-7a* 和 *let-7f*) 注射进肺癌细胞系 A549 可导致集落数目减少 78.6%, 证实 *let-7* 可负调节 RAS 信号转导通路而抑制生长 [25]。

miRNA 涉及 G 蛋白介导的信号转导通路的另一个例子是见于结直肠癌癌前病变腺瘤以及结直肠癌中的 *miR-143* 和 *miR-145* 表达下降。研究者推测, 二者的作用靶点可能正是与信号转导和基因表达有关的 RAF1 激酶、G-蛋白 $\gamma 7$ 等 [23]。

BCL-2 家族是细胞内调控细胞凋亡的重要因子。这类抗凋亡基因的过度表达常见于包括白血病和淋巴瘤在内的多种人类癌症中。Cimmino 等 [44] 最近发现, *miR-15a* 和 *miR-16-1* 的缺失或下调能增强 *BCL-2* 的表达, 从而促进白血病和淋巴瘤的发生。Chan 等 [37] 发现, *miR-21* 在成胶质细胞瘤组织和细胞系中显著过度表达, 敲除 *miR-21* 基因则可引起 caspases 的活化, 导致细胞凋亡增加。这提示 *miR-21* 的异常表达可通过遏止关键凋亡相关基因的表达而导致恶性疾病的发生。

PI3K/AKT 信号通路及其下游反应为一条公认的重要信号转导通路。在大多数恶性肿瘤中,

PI3K/AKT信号通路处于激活状态,造成细胞的大量增殖。*PTEN*(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)被视为继*TP53*之后发现的最重要的肿瘤抑制基因。研究者发现,在肿瘤中*PTEN*对PI3K/AKT途径有负调节作用,*PTEN*的突变或缺失与细胞的恶性转化和肿瘤的进展密切相关。体外实验证实,*MiR-19a,b*可与*PTEN*基因mRNA的3'UTRs结合^[49]。在淋巴瘤中,*miR-19*的过度表达与*PTEN*蛋白的表达下调密切相关^[45],提示前者可能为激活PI3K/Akt信号通路提供了一种转化机制。

NF- κ B途径是膜受体介导的信号转导途径之一。肿瘤坏死因子(*TNF*)等作用于相应受体后,可通过第二信使Cer等使其激活。越来越多的证据表明,NF- κ B途径在细胞凋亡、肿瘤发生等方面具有重要作用,是一把既能促进肿瘤发生发展又能发挥抑癌作用的双刃剑^[46]。研究者发现,*miR-146a*是一种NF- κ B依赖性基因^[47]。*miR-146*通过一种负反馈调节环,包括下调IL-1受体依赖性激酶1和*TNF*受体相关因子6的蛋白水平来控制Toll样受体和细胞因子的信号转导。

Janus激酶细胞信号转导及转录活化因子(Janus kinase signal transducer and activator of transcription, JAKs-STATs)通路与蛋白激酶(protein kinase, PK)通路同属于膜受体介导的信号转导途径。JAKs-STATs广泛地参与各种细胞因子的信号转导过程, JAKs、STATs的异常活化与肿瘤、白血病、心血管疾病等多种病理生理过程存在密切联系。炎症相关的白细胞介素6(IL-6)对肿瘤生长具有促进作用,并通过生存机制(survival mechanisms)抵抗治疗。在一些人类癌症中,IL-6激活的生存信号涉及STATs或蛋白激酶A级联(protein kinase cascades, PKA)。Meng等^[48]最近发现,miRNA的表达无论是在体内还是体外都可能因为IL-6的过度表达而改变;特定的miRNA包括*let-7a*表达上调并且影响强迫的IL-6活性的生存作用;*let-7a*通过涉及神经纤维瘤2(neurofibromatosis-2, NF-2)基因的某种机制造成Stat-3磷酸化的全面增加。这些发现揭示了IL-6介导肿瘤细胞的生存可能被治疗性地靶标的一种新的机制,强调了在人类癌症中miRNA与转录因子表达下调的复杂的相互关系。

*Erb B*属于蛋白激酶类癌基因。Scott等^[49]发现,用表达*miR-125a*或*miR-125b*的逆转录病毒构造物感染人乳腺癌细胞系SKBR3可造成*Erb B2*和*Erb B3*的转录

和蛋白表达的抑制。此外,在过度表达*miR-125a*或*miR-125b*的SKBR3细胞中,ERK1/2和AKT的磷酸化受到抑制。与抑制*Erb B2*和*Erb B3*信号通路相似,过度表达*miR-125a*或*miR-125b*的SKBR3细胞锚定依赖的生长受损,表现为迁徙和侵袭力的下降,提示将miRNA用于抑制癌基因表达及行使功能的可行性。

综上所述,miRNA可以通过与信号蛋白直接或间接作用而参与到肿瘤发生相关的信号转导过程中,从而影响肿瘤发生。亦有研究显示,一些肿瘤相关的信号转导通路直接调节某些特别的miRNA的表达。

*c-myc*属于*myc*癌基因家族,编码核内DNA结合蛋白,可直接调节其他基因的转录,在细胞增殖、生长和凋亡过程中具有重要作用。*c-myc*表达和功能失调是人类恶性肿瘤中最为常见的异常。近来,O'Donnell等^[50]发现*c-myc*直接与*miR-17-92*基因簇结合,激活6个miRNA基因簇的表达。作为*c-myc*转录靶点之一的*E2F1*便受其中两个簇,即*miR-17-5p*和*miR-20a*的负调节。这拓展了有关*myc*靶基因网络的转录调控的知识,揭示出*myc*一方面激活*E2F1*的转录,又同时抑制其翻译的机制。这种交互的正-负反馈调节可实现对细胞增殖信号的严格控制。*miR-17-92*基因簇在多种恶性肿瘤中存在过度表达。He等^[51]利用一种小鼠B细胞淋巴瘤模型证明了*miR-17-92*基因簇的表达增强可以与*c-myc*表达共同作用,从而加速肿瘤发展。造血干细胞起源性肿瘤表达一种*miR-17-92*基因簇的亚型,同拥有广泛*c-myc*凋亡的*c-myc*诱导的淋巴瘤相比,这类肿瘤中的*c-myc*拥有更少的凋亡。根据*miR-17-92*的致癌作用,研究者将这一miRNA命名为首个非编码癌基因'oncomiR-1'。Kumar等^[34]利用一种miRNA靶基因预测程序发现,*myc*基因的3'UTRs端含有多个*let-7*家族miRNAs的互补结合位点。随后的实验证明,*let-7*可直接调控*myc*的表达。

Notch跨膜受体家族由一组高度保守的蛋白质组成,负责介导细胞间相互作用的信号转导级联反应,对多细胞生物的发育及身体模式形成等细胞命运决定过程具有至关重要的作用^[52]。在过去10年中,研究者已积累了大量关于Notch信号通路在血液及实质性肿瘤发病中作用的证据。该信号通路调节为数众多与肿瘤发生有关的细胞功能和微环境信号,

涉及细胞增殖、凋亡、粘附、上皮 - 间质转化以及血管发生等。越来越多的证据显示, Notch信号通路既具有致癌作用^[53], 也具有抑癌作用^[54]。近期研究表明, miRNA在果蝇Notch信号通路中亦占据重要的位置^[55]。Yoo等^[56]发现, LIN-12/Notch信号通路直接涉及一个miRNA基因——*miR-61*, 在线虫的发育中可促进*miR-61* 在外阴前体细胞(vulval precursor cells, VPCs)中的表达, 进而抑制*vav*癌基因同源物*Vav-1*的翻译, 而*Vav-1* 又能负调节*lin-12* 基因的活性。这个环形的调控机制构成了一个正反馈环, 有助于最大化*lin-12* 的活性并持续激活Notch信号通路(图 5)。可以推测, 如果类似的机制存在于癌细胞中, 上述正反馈环便可能触发并加速肿瘤发生。此外, 最近发现果蝇的两个Notch靶基因大家族包括碱性螺旋 - 环 - 螺旋(basic helix-loop-helix, *bHLH*)阻遏物和羽毛蛋白家族的 3'UTR-box、GY-box、Brd-box基序亦由miRNA调节, 其中*K-box*由*miR-2*、*miR-11* 调节、GY-box由*miR-7* 调节、Brd-box由*miR-4*、*miR-79* 调节, 可影响翅脉血管空间分布、薄厚等表型^[57]。

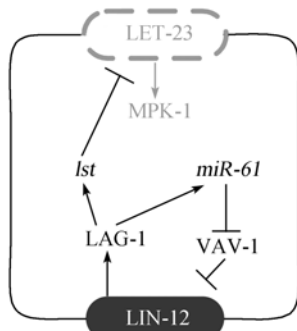


图 5 *LIN-12*, *miR-61* 和 *VAV-1* 构成了一个反馈环, 有助于最大化外阴前体细胞(VPCs)*LIN-12* 的活性根据参考文献^[56]重绘。

Fig. 5 *LIN-12*, *miR-61* and *VAV-1* form a feedback loop that helps to maximize *LIN-12* activity in the vulval precursor cells (VPCs)

Redrawn from reference^[56].

Hippo肿瘤抑制通路是果蝇体内的重要信号转导通路, 可通过促进凋亡和阻遏细胞周期来调控组织的大小。携带有突变的Hippo细胞克隆的动物显示出成体结构的过度发育。目前已知Hippo通路通过磷酸化转录共激活剂Yorkie来调节其靶基因的表达, 但Yorkie具体如何工作尚不清楚。最近, Nolo等^[58]通过实验证实bantam miRNA是Hippo信号转导通路的一个下游靶基因, 含有Hippo突变的细胞bantam活性增高。此外, 由Yorkie驱动过度发育需要bantam的

参与, 后者的过度表达足以挽救缘于Yorkie突变的细胞生长不足, 并抑制Hippo过度激活诱导的细胞死亡。Thompson等^[59]亦作出了类似的发现。

p53 肿瘤抑制基因是迄今发现的与人类肿瘤联系最为紧密的基因, 几乎在所有的癌症中均存在*p53* 信号通路的突变。野生型*p53* 蛋白具有维持细胞正常生长、抑制恶性增生的作用。近日, He等^[60]通过比较野生型细胞和*p53* 含量不足者的miRNA表达情况, 发现miRNA的一个家族——*miR-34a-c*的表达直接反映*p53* 的状态。*miR-34* 家族编码的miRNA是*p53* 的直接转录靶点, 无论在体内还是体外, *miR-34* 受DNA损伤和致癌压力的诱导均依赖于*p53*。在原代细胞系和肿瘤衍生的细胞系中, *miR-34* 的异位表达将导致细胞周期停滞, 这与*miR-34* 能够下调细胞周期进展相关基因的表达的观察相一致。*p53* 网络通过协调激活众多转录靶点来抑制肿瘤形成, *miR-34* 因此可能通过与其它效应基因协调作用来抑制异常的细胞增殖。

4 问题及展望

人类基因组计划的完成标志着后基因组时代的到来, 生命的天书正在被破译。在基因组中占绝大比例的非编码序列已经引起研究者的广泛重视, 其中miRNA就是一颗耀眼的明星。从本文的回顾来看, miRNA可通过多种途径参与肿瘤相关信号转导网络的调控, 在肿瘤发生过程中起到独特而重要的作用。目前对于miRNA的研究仍处于起步阶段, 已经揭示的仅仅是冰山的一角^[61]。在诸多的谜团中, 较为重要的有: miRNA本身的表达由什么调控?

miRNA在肿瘤发生的过程中所起的调控作用是特异性的, 还是普遍存在于正常细胞发育乃至其他疾病的发生过程中? miRNA的调控机制似乎也为我们展现了自然法则简单而美的规律——转录后的调控和靶序列的选择看起来都是非常经济的方式。

miRNA与靶mRNA近乎完全配对时会使其降解, 不完全配对时则抑制其翻译——但其中的机制又是怎样的呢? miRNA与靶mRNA的3'UTRs的特异性结合而发挥作用是否也提示该区域本身即存在丰富的调控功能, 包括指导miRNA选择其靶基因的调控方式(降解或抑制)? 对这类问题的探索有可能为研究带来新的思路。总之, 既然miRNA在生物中广泛存在且高度保守, 就必然有其重要的原因。正如Phillip

Zamore^[62]所言:“如果miRNA在进化的进程中如此高度保守而没有任何实际功能,那真是大自然拿研究者开涮,而且是一个残酷的玩笑”。

参考文献(References):

- [1] Cui Q, Yu Z, Purisima EO, Wang E. Principles of microRNA regulation of a human cellular signaling network. *Mol Syst Biol*, 2006, 2: 46.
- [2] Llave C, Xie Z, Kasschau KD, Carrington JC. Cleavage of Scarecrow-like mRNA targets directed by a class of Arabidopsis miRNA. *Science*, 2002, 297(5589): 2053–2056. [\[DOI\]](#)
- [3] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75(5): 843–854. [\[DOI\]](#)
- [4] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403(6772): 901–906. [\[DOI\]](#)
- [5] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 2001, 294(5543): 853–858. [\[DOI\]](#)
- [6] Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, Barzilai A, Einat P, Einav U, Meiri E, Sharon E, Spector Y, Bentwich Z. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet*, 2005, 37(7): 766–770. [\[DOI\]](#)
- [7] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(7): 522–531. [\[DOI\]](#)
- [8] Meltzer PS. Cancer genomics: small RNAs with big impacts. *Nature*, 2005, 435(7043): 745–746.
- [9] Calin GA, Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res*, 2006, 66(15): 7390–7394. [\[DOI\]](#)
- [10] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, 431(7006): 350–355. [\[DOI\]](#)
- [11] Wu W, Sun M, Zou GM, Chen J. MicroRNA and cancer: Current status and prospective. *Int J Cancer*, 2007, 120(5): 953–960. [\[DOI\]](#)
- [12] Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW, Heo I, Rhee JK, Sohn SY, Cho Y, Zhang BT, Kim VN. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*, 2006, 125(5): 887–901.
- [13] Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 2004, 303(5654): 95–98. [\[DOI\]](#)
- [14] Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev*, 2003, 17(24): 3011–3016. [\[DOI\]](#)
- [15] Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*, 2004, 10(2): 185–191. [\[DOI\]](#)
- [16] Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, Shiekhattar R. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*, 2005, 436(7051): 740–744. [\[DOI\]](#)
- [17] Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*, 2005, 123(4): 631–640. [\[DOI\]](#)
- [18] Meister G, Landthaler M, Patkaniowska A, Dorsett Y, Teng G, Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. *Mol Cell*, 2004, 15(2): 185–197. [\[DOI\]](#)
- [19] Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell*, 2003, 115(7): 787–798. [\[DOI\]](#)
- [20] Abrahante JE, Daul AL, Li M, Volk ML, Tennessen JM, Miller EA, Rougvie AE. The *Caenorhabditis elegans* hunchback-like gene *lin-57/hbl-1* controls developmental time and is regulated by microRNAs. *Dev Cell*, 2003, 4(5): 625–637. [\[DOI\]](#)
- [21] John B, Enright AJ, Aravin A, Tuschl T, Sander C, Marks DS. Human microRNA targets. *PLoS Biol*, 2004, 2(11): e363. [\[DOI\]](#)
- [22] Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro RNA genes *miR15* and *miR16* at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(24): 15524–15529. [\[DOI\]](#)
- [23] Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(12): 882–891.
- [24] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, Labourier E, Reinert KL, Brown D, Slack FJ. RAS is regulated by the *let-7* microRNA family. *Cell*, 2005, 120(5): 635–647. [\[DOI\]](#)
- [25] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced expression of the *let-7* microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 3753–3756. [\[DOI\]](#)
- [26] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9): 2999–3004. [\[DOI\]](#)

- [27] Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 2005, 435(7043): 834–838. [\[DOI\]](#)
- [28] Ota A, Tagawa H, Karnan S, Tsuzuki S, Karpas A, Kira S, Yoshida Y, Seto M. Identification and characterization of a novel gene, *C13orf25*, as a target for 13q31–q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res*, 2004, 64(9): 3087–3095. [\[DOI\]](#)
- [29] Sioud M, Rosok O. Profiling microRNA expression using sensitive cDNA probes and filter arrays. *Biotechniques*, 2004, 37(4): 574–576, 578–580.
- [30] Eiriksdottir G, Johannesdottir G, Ingvarsson S, Bjornsdottir IB, Jonasson JG, Agnarsson BA, Hallgrímsson J, Gudmundsson J, Egilsson V, Sigurdsson H, Barkardottir RB. Mapping loss of heterozygosity at chromosome 13q: loss at 13q12–q13 is associated with breast tumour progression and poor prognosis. *Eur J Cancer*, 1998, 34(13): 2076–2081. [\[DOI\]](#)
- [31] Lin YW, Sheu JC, Liu LY, Chen CH, Lee HS, Huang GT, Wang JT, Lee PH, Lu FJ. Loss of heterozygosity at chromosome 13q in hepatocellular carcinoma: identification of three independent regions. *Eur J Cancer*, 1999, 35(12): 1730–1734. [\[DOI\]](#)
- [32] Shao J, Li Y, Wu Q, Liang X, Yu X, Huang L, Hou J, Huang X, Ernberg I, Hu LF, Zeng Y. High frequency loss of heterozygosity on the long arms of chromosomes 13 and 14 in nasopharyngeal carcinoma in Southern China. *Chin Med J (Engl)*, 2002, 115(4): 571–575.
- [33] Tsang YS, Lo KW, Leung SF, Choi PH, Fong Y, Lee JC, Huang DP. Two distinct regions of deletion on chromosome 13q in primary nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 1999, 83(3): 305–308. [\[DOI\]](#)
- [34] Kumar MS, Lu J, Mercer KL, Golub TR, Jacks T. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. *Nat Genet*, 2007, 39(5): 673–677. [\[DOI\]](#)
- [35] Eis PS, Tam W, Sun L, Chadburn A, Li Z, Gomez MF, Lund E, Dahlberg JE. Accumulation of *miR-155* and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10): 3627–3632. [\[DOI\]](#)
- [36] Guimaraes-Sternberg C, Meerson A, Shaked I, Soreq H. MicroRNA modulation of megakaryoblast fate involves cholinergic signaling. *Leuk Res*, 2006, 30(5): 583–595. [\[DOI\]](#)
- [37] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res*, 2005, 65(14): 6029–6033. [\[DOI\]](#)
- [38] Flynt AS, Li N, Thatcher EJ, Solnica-Krezel L, Patton JG. Zebrafish *miR-214* modulates Hedgehog signaling to specify muscle cell fate. *Nat Genet*, 2007, 39(2): 259–263. [\[DOI\]](#)
- [39] Balazsi G, Barabasi AL, Oltvai ZN. Topological units of environmental signal processing in the transcriptional regulatory network of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(22): 7841–7846. [\[DOI\]](#)
- [40] Dekel E, Mangan S, Alon U. Environmental selection of the feed-forward loop circuit in gene-regulation networks. *Phys Biol*, 2005, 2(2): 81–88. [\[DOI\]](#)
- [41] Ferrell JE Jr. Self-perpetuating states in signal transduction: positive feedback, double-negative feedback and bistability. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, 14(2): 140–148. [\[DOI\]](#)
- [42] Luscombe NM, Babu MM, Yu H, Snyder M, Teichmann SA, Gerstein M. Genomic analysis of regulatory network dynamics reveals large topological changes. *Nature*, 2004, 431(7006): 308–312. [\[DOI\]](#)
- [43] Eder M, Scherr M. MicroRNA and lung cancer. *N Engl J Med*, 2005, 352(23): 2446–2448. [\[DOI\]](#)
- [44] Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. *miR-15* and *miR-16* induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(39): 13944–13949. [\[DOI\]](#)
- [45] Calin GA, Liu CG, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru CD, Shimizu M, Cimmino A, Zupo S, Dono M, Dell'Aquila ML, Alder H, Rassenti L, Kipps TJ, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(32): 11755–11760. [\[DOI\]](#)
- [46] Gapuzan ME, Yufit PV, Gilmore TD. Immortalized embryonic mouse fibroblasts lacking the RelA subunit of transcription factor NF-kappaB have a malignantly transformed phenotype. *Oncogene*, 2002, 21(16): 2484–2492. [\[DOI\]](#)
- [47] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA *miR-146*, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(33): 12481–12486. [\[DOI\]](#)
- [48] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Smith H, Ueno Y, Patel T. The MicroRNA *let-7a* modulates interleukin-6-dependent STAT-3 survival signaling in malignant human cholangiocytes. *J Biol Chem*, 2007, 282(11): 8256–8264. [\[DOI\]](#)
- [49] Scott GK, Goga A, Bhaumik D, Berger CE, Sullivan CS, Benz CC. Coordinate suppression of ERBB2 and ERBB3 by enforced expression of microRNA *miR-125a* or *miR-125b*. *J Biol Chem*, 2007, 282(2): 1479–1486. [\[DOI\]](#)
- [50] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 2005, 435(7043): 839–843. [\[DOI\]](#)
- [51] He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a

- potential human oncogene. *Nature*, 2005, 435(7043): 828–833. [\[DOI\]](#)
- [52] Lai EC. Notch signaling: control of cell communication and cell fate. *Development*, 2004, 131(5): 965–973. [\[DOI\]](#)
- [53] Tonon G, Modi S, Wu L, Kubo A, Coxon AB, Komiya T, O'Neil K, Stover K, El-Naggar A, Griffin JD, Kirsch IR, Kaye FJ. t(11; 19)(q21; p13) translocation in mucoepidermoid carcinoma creates a novel fusion product that disrupts a Notch signaling pathway. *Nat Genet*, 2003, 33(2): 208–213. [\[DOI\]](#)
- [54] Nicolas M, Wolfer A, Raj K, Kummer JA, Mill P, van Noort M, Hui CC, Clevers H, Dotto GP, Radtke F. Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin. *Nat Genet*, 2003, 33(3): 416–421. [\[DOI\]](#)
- [55] Kwon C, Han Z, Olson EN, Srivastava D. MicroRNA1 influences cardiac differentiation in *Drosophila* and regulates Notch signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(52): 18986–18991. [\[DOI\]](#)
- [56] Yoo AS, Greenwald I. LIN-12/Notch activation leads to microRNA-mediated down-regulation of Vav in *C. elegans*. *Science*, 2005, 310(5752): 1330–1333. [\[DOI\]](#)
- [57] Lai EC, Tam B, Rubin GM. Pervasive regulation of *Drosophila* Notch target genes by GY-box-, Brd-box-, and K-box-class microRNAs. *Genes Dev*, 2005, 19(9): 1067–1080. [\[DOI\]](#)
- [58] Nolo R, Morrison CM, Tao C, Zhang X, Halder G. The bantam microRNA is a target of the hippo tumor-suppressor pathway. *Curr Biol*, 2006, 16(19): 1895–1904. [\[DOI\]](#)
- [59] Thompson BJ, Cohen SM. The Hippo pathway regulates the bantam microRNA to control cell proliferation and apoptosis in *Drosophila*. *Cell*, 2006, 126(4): 767–774. [\[DOI\]](#)
- [60] He L, He X, Lim LP, de Stanchina E, Xuan Z, Liang Y, Xue W, Zender L, Magnus J, Ridzon D, Jackson AL, Linsley PS, Chen C, Lowe SW, Cleary MA, Hannon GJ. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*, 2007 Jun 6 [Epub ahead of print].
- [61] SHENG Xi-Hui, DU Li-Xin. Progress on the research of microRNAs and its function in humans and animals. *Hereditas (Beijing)*, 2007, 29(6): 651–658. 盛熙晖, 杜立新. MicroRNA 及其在人和动物上的研究进展. *遗传*, 2007, 29(6): 651–658.
- [62] Hutvagner G, Simard MJ, Mello CC, Zamore PD. Sequence-specific inhibition of small RNA function. *PLoS Biol*, 2004, 2(4): E98. [\[DOI\]](#)

• 遗传咨询 •

唇腭裂患者的后代患病概率多大？

问：我的父亲是单侧唇腭裂，我为女性，请问如果我生孩子，患这种疾病的概率大吗？

答：唇腭裂属于多基因遗传病，群体发病率约为 0.17%。其遗传度为 76%，患者一级亲属发病率约为 4%，二级亲属发病率约 0.7%，三级亲属发病率约 0.3%。所以你子女患唇腭裂的概率（0.7%）比普通人群（0.17%）略高。

X-连锁隐性遗传鱼鳞病的基因检测

问：我是一名女孩，我家系中有一个舅舅和我亲弟弟患病，已初步诊断为 X-连锁隐性遗传鱼鳞病，在某医院做了大片断缺失型基因检测，但未检测到缺失。请问如何判断我是否也携带了致病基因？

答：鱼鳞病是一种以皮肤干燥、鳞屑堆积为特征的遗传性疾病，至少有 24 种不同临床类型。主要遗传方式有常染色体显性、常染色体隐性、X-连锁隐性 3 种。X-连锁隐性遗传鱼鳞病是由于类固醇硫酸酯酶基因突变所引起，该基因定位于 X 染色体上。一般于出生时即发病，累及头皮、耳朵、颈部、一个或多个弯曲部，腹部较背部鳞屑更明显，多从腿前部蔓延至足背。与寻常型鱼鳞病（常染色体显性，多由于 *FLG* 基因突变所致）不同，X-连锁隐性遗传鱼鳞病患者表皮出现增生而非萎缩。85% 以上的 X-连锁隐性遗传鱼鳞病患者表现为 *ARSCI* 基因的缺失，目前还报道多个该基因的点突变。值得注意的是，有报道 X-连锁隐性遗传鱼鳞病家系并不表现为类固醇硫酸酯酶缺陷。所以在排除缺失型突变外，还要对该基因全长范围内的点突变进行检测。如果结果仍为阴性，不能排除其他基因导致该病的可能。

（李巍）