

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.023

MicroRNA 对肿瘤基因的调控及其临床意义

Regulation effect of microRNA on tumor genes and its clinical significance

赵敏¹综述,苏长青²审阅(1. 合肥市第二人民医院 病理科,合肥 230011; 2. 第二军医大学 东方肝胆外科医院 分子肿瘤研究室,上海 200438)

[摘要] 微小 RNA (microRNA, miRNA) 通过调控基因的表达,参与细胞生命过程中一系列重要的进程,包括胚胎发育、细胞增殖和分化、细胞死亡与凋亡、体内生化代谢等。成熟 miRNA 通过 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 结合到靶 mRNA 上,依赖于序列的互补性机制、剪切或阻遏靶 mRNA、沉默基因的表达。miRNA 与肿瘤等疾病的发生、发展密切相关。miRNA 的表达谱在肿瘤细胞与正常细胞之间具有明显差异,起到类似于癌基因或抑癌基因的作用。miRNA 通过沉默肿瘤侵袭转移相关基因的表达,参与肿瘤侵袭转移过程。肿瘤细胞在 miRNA 表达谱上的特异性为肿瘤的诊断提供了一项生物标志物,同时也为调控 miRNA 表达以治疗肿瘤提供了新的靶点。以 miRNA 为基础的抗肿瘤治疗还可与传统的化疗结合起来,提高肿瘤的治疗效果,为肿瘤的生物治疗开拓新视野。

[关键词] 肿瘤;microRNA;基因调控;诊断;治疗

[中图分类号] R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)02-0235-04

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类非编码小分子 RNA, 长度为 21 ~ 23 个核苷酸, 普遍存在于动植物细胞内, 可以调节许多转录物组 (transcriptomes), 是基因表达和调控必需的转录后修饰途径。miRNA 参与细胞生命过程中一系列重要的进程, 包括胚胎发育、细胞增殖和分化、细胞死亡与凋亡、体内生化代谢^[1-4]。近年来有关 miRNA 调控的研究的报道很多, 2010 年第 1 期《Cell》杂志的封面即是 miRNA 对基因表达转录调控的研究^[5]。人类基因组中估计约有 30% 的基因受 miRNA 的调控。miRNA 与疾病关系密切, 现已确认了越来越多疾病的 miRNA 表达谱, 通过与正常表达谱的对比, 证实了 miRNA 与人类重大疾病 (如肿瘤、艾滋病、心血管系统疾病、神经系统疾病等) 的发生、发展密切相关。肿瘤是一种多基因、多因素相关的复杂疾病, 主要涉及细胞的增殖、分化及凋亡异常, 因此 miRNA 表达异常在肿瘤发生、发展中起着重要的作用^[6-8]。miRNA 广泛涉及到肿瘤细胞增殖、分化、转移、代谢、凋亡等病理生理过程^[9-13]。本文就近年来 miRNA 在基因表达调控的分子机制及其与肿瘤关系的研究现状做一综述。

1 miRNA 调控靶基因表达的机制

1.1 miRNA 的产生与成熟

编码 miRNA 的基因存在于基因组中, 可以是单拷贝、多拷贝甚至是基因簇等多种形式, 绝大多数位于基因间隔区。细胞核内 miRNA 基因通过 RNA 聚

合酶 II 转录成 miRNA 原始转录本 (pre-miRNA), pre-miRNA 与其他基因的转录本一样, 也有 5' 加帽和 3' 多聚腺苷酸尾结构, 多者数千个碱基。随后, 在 RNA 聚合酶 III Droscha 的作用下, pre-miRNA 被切割成为具有发夹环结构的 miRNA 前体 (pre-miRNA), 长度约为 70 个核苷酸, pre-miRNA 由转运蛋白 exportin-5 从细胞核转运至细胞质。最后, 在细胞质中由 RNA 酶 III (Dicer) 识别 pre-miRNA 双链的 5' 磷酸及 3' 突出, 在距茎环两个螺旋角处切断螺旋体的双链, 形成成熟的 miRNA^[14-15]。成熟 miRNA 结合到 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 上, 调控靶 mRNA 的表达^[16]。

1.2 miRNA 的作用机制

成熟 miRNA 通过 RISC 结合到目标靶 mRNA 上, 依赖于两者序列的互补性, 剪切或阻遏靶 mRNA, 负调控基因的表达。miRNA 与靶 mRNA 互补匹配的程度, 决定了 miRNA 采取何种机制调节基因的表达。若 miRNA 与靶 mRNA 两者完全互补或几乎完全互补时, miRNA 结合位点通常在 mRNA 编码区或开放阅读框中, miRNA 特异性切割靶基因,

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81071866)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81071866)

[作者简介] 赵敏 (1965 -), 女, 安徽省合肥市人, 副主任医师, 主要从事肿瘤病理诊断的研究。E-mail: zhao.min_hi@163.com

[通信作者] 苏长青 (SU Chang-qing, corresponding author), E-mail: suchangqing@gmail.com

导致靶 mRNA 降解;若两者不完全互补时,miRNA 结合位点在靶 mRNA 3'端的非编码区,引起靶基因的翻译抑制^[17-18]。新近研究^[19]发现了一类 RNA 结合蛋白 KSRP(KH-type splicing regulatory protein, KH-型剪接调控蛋白),它可以调控一个亚组 miRNA 的前体加工。KSRP 参与 mRNA 的周转和表达,而且一个 miRNA 具有多个 mRNA 靶点,对多种基因都具有调节作用^[20]。miRNA 在调控基因表达的时间和空间秩序上具有多样性,其中机制需深入的研究和探讨。

2 miRNA 与肿瘤的关系

2.1 miRNA 与肿瘤的发生

对 miRNA 的研究^[21]发现,miRNA 对人体正常生理过程具有重要的调控作用,单个 miRNA 能调节上百个靶基因,影响其蛋白表达,而一旦某些关键蛋白表达量降低即会导致细胞功能异常,甚至产生肿瘤。有研究^[6,8]表明,肿瘤细胞与正常组织细胞之间 miRNA 的表达谱具有明显差异。由于多数 miRNA 基因位于与肿瘤形成相关性脆性基因位点,如杂合性缺失区(loss of heterozygosity, LOH)、纯合性缺失区(homozygous deletion, HD)、扩增区、断裂区、或靠近癌基因或抑癌基因的部位,因此推测 miRNA 在肿瘤发生过程中起到类似于癌基因或抑癌基因的作用。肿瘤细胞中 miRNA 表达水平上调,则可视其为癌基因,反之则为抑癌基因。

通过高通量检测方法分析人类不同肿瘤的 miRNA 表达谱,在乳腺癌、肝癌、肺癌、大肠癌、脑瘤、白血病等多种肿瘤中均发现特异性 miRNA 的高表达,这些 miRNA 被视作一类新的癌基因。实验^[22]表明,miR-155 在小儿伯基特淋巴瘤、帕金森淋巴瘤、B 细胞淋巴瘤的特定亚型中的表达上调了 100 倍,miR-155 具有诱导淋巴瘤生成的能力,是一个癌基因。miR-155 在乳腺癌、肺癌、结肠癌和甲状腺癌中的表达也上调^[23]。miR-17-92 是一个 miRNA 簇,包含 7 种 miRNA(miR-17-5p、miR-17-3p、miR-18a、miR-19a、miR-20a、miR-19b-1、miR-92-1),从 miR-17-92 衍生出来的前体和成熟 miRNA,在癌细胞中高表达,调节肿瘤生成,其高表达可作为淋巴瘤和肺癌的生物标志物^[24]。

肿瘤细胞中某些 miRNA 表达下调甚至缺失,也可能导致肿瘤,这类 miRNA 可视作抑癌基因。let-7 可下调 Ras、Myc 等癌基因的表达,从而产生抑癌作用,其表达下调与肿瘤发生有关^[25]。此外,miR-15 和 miR-16 与慢性淋巴细胞白血病相关,有近 68%

患者的 miR-15 和 miR-16 表达缺失或下调^[26]。miR-143 和 miR-145 在乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌、淋巴系统肿瘤及大肠癌中低表达^[27]。研究^[28]显示,miR-122 可能介导原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发病过程,人和大鼠 HCC 组织 miR-122 的表达量显著降低;在致癌物诱发大鼠 HCC 实验模型中发现,miR-122 在正常肝细胞转化为癌细胞时显著下调。由此推断,miR-122 可能与 HCC 发生有关。某些蛋白在调控 miRNA 中起关键作用,如 DICER1 是一种核糖核酸酶,可促进细胞产生 miRNA,具有胸膜肺成细胞瘤(pleuropulmonary-blastoma, PPB)遗传倾向的患者由于存在 DICER1 基因变异,在肺脏发育过程中,调节细胞生长的 miRNA 表达异常,导致小儿肺癌的形成^[29]。

2.2 miRNA 与肿瘤的转移

侵袭和转移是恶性肿瘤的重要生物学特征,miRNA 广泛参与肿瘤侵袭转移过程中的基因表达调控。miRNA 互补结合到与肿瘤细胞侵袭转移相关的癌基因或抑癌基因上,沉默相应基因的表达,导致肿瘤细胞转移活性的改变。

在具有高转移能力的乳腺癌细胞株中,miR-335、miR-126 和 miR-206 的表达水平明显降低^[30]。通过逆转录病毒介导上调 miR-126 或 miR-335 的表达,可以使肿瘤细胞的转移活性降低 80%,其机制可能与细胞运动性减少有关。在体内外,miR-373 和 miR-520c 都可刺激乳腺癌细胞的侵袭、转移;乳腺癌组织中 miR-373 的表达与 CD44 的表达呈负相关,可能参与 miR-373 的调节机制^[31]。

此外,在复发转移的卵巢癌中,miR-223 表达上调,而 miR-9 表达下调,因此两者可能是卵巢癌复发转移的潜在生物标记物^[32]。通过比较侵袭性 HCC 和非侵袭性 HCC 的 miRNA 表达谱,寻找与 HCC 侵袭转移相关的特定 miRNA,发现 20 种 miRNA 与 HCC 转移、存活、术后复发相关^[33]。在肺癌、前列腺癌、鼻咽癌等肿瘤中,也相继发现了与肿瘤细胞转移相关的 miRNA。继续深入研究 miRNA 在肿瘤转移中的作用及其机制,将为肿瘤转移的预测和治疗带来新的思路。

3 miRNA 调控肿瘤基因的临床意义

3.1 miRNA 与肿瘤诊断

正常细胞和肿瘤细胞 miRNA 表达谱的差别,以及不同肿瘤细胞 miRNA 表达谱的特异性,为肿瘤的诊断和鉴定诊断提供了有用的参考指标。与正常细胞相比,肿瘤细胞内特异性 miRNA 高表达或低表

达,有可能成为新的肿瘤标记物和特征性肿瘤鉴定分子。由于细胞表达的 miRNA 种类较多,单一 miRNA 表达的变化对肿瘤的诊断价值不大,而多个 miRNA 组合在一起,构成肿瘤特异性的 miRNA 表达谱,在肿瘤的诊断中就非常有价值。通过对结肠癌、肝癌、胰腺癌和胃癌标本 miRNA 表达谱进行研究,发现这些肿瘤的 miRNA 表达谱能够很好地鉴别良恶性的细胞,或区分不同分化程度的肿瘤细胞,提示 miRNA 表达谱用于癌症诊断的可能性^[34]。此外,由于 miRNA 在血浆和血清中能够抵抗 RNase 的消化,非常稳定,这种稳定性使得利用血液标本检出特异性 miRNA,并将其作为癌症的生物学标志成为可能,对于癌症早期诊断具有重要意义。

3.2 miRNA 与肿瘤治疗

由于 miRNA 在肿瘤发生、发展过程中起到癌基因或抑癌基因的作用,因此可通过调控 miRNA 的表达来治疗肿瘤。对于在肿瘤细胞中低表达的 miRNA,可利用载体导入相应的外源 miRNA,抑制肿瘤的生长。例如用慢病毒载体将 let-7 导入乳腺癌干细胞,在体外可以明显降低乳腺癌干细胞自我更新和增殖能力,且成瘤作用和转移能力也明显下降^[35]。对于在肿瘤细胞中高表达的 miRNA,可以应用反义核苷酸技术抑制具有癌基因活性的 miRNA,抑制肿瘤生长。根据 miRNA 与其靶基因的互补性,可以人工合成 miRNA,导入肿瘤细胞下调癌基因的表达,抑制肿瘤细胞的生长^[36]。以 miRNA 为基础的抗肿瘤治疗还可与传统的化疗结合起来,提高肿瘤的治疗效果,为肿瘤的生物治疗开拓新视野。

利用 miRNA 调控靶基因表达的原理,可以发现或设计更优化的肿瘤治疗模式。研究^[37]发现,肝癌组织中低表达 miR-26,在乙型肝炎病毒感染相关的肝癌发生中起关键作用。miR-26 低表达的肝癌患者接受干扰素治疗后,其 5 年生存率由 30% 提高到 65% 左右;而 miR-26 高表达的患者无论是否接受干扰素治疗,其 5 年生存率均相似。因此,miR-26 的表达可成为肝癌患者是否接受干扰素治疗的筛选指标。

miRNA 在肿瘤发生、发展、侵袭、转移中起重要作用,相关领域的研究已取得很多成果,为 miRNA 在肿瘤诊断和治疗中的应用奠定了基础。但 miRNA 在肿瘤中表达失调的机制等问题仍需要进一步研究。随着研究的深入,miRNA 与肿瘤的关系必将得以阐明,miRNA 在肿瘤防治中的应用也必将会有更广阔的前景,成为肿瘤治疗的新策略。

[参考文献]

- [1] Olson P, Lu J, Zhang H, et al. MicroRNA dynamics in the stages of tumorigenesis correlate with hallmark capabilities of cancer [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(18): 2152-2165.
- [2] Tsai LM, Yu D. MicroRNAs in common diseases and potential therapeutic applications [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37(1): 102-107.
- [3] Lin CH, Jackson AL, Guo J, et al. Myc-regulated microRNAs attenuate embryonic stem cell differentiation [J]. *EMBO J*, 2009, 28(20): 3157-3170.
- [4] Nimmo RA, Slack FJ. An elegant mirror: MicroRNAs in stem cells, developmental timing and cancer [J]. *Chromosoma*, 2009, 118(4): 405-418.
- [5] Khraiweh B, Arif MA, Seumel GI, et al. Transcriptional control of gene expression by microRNAs [J]. *Cell*, 2010, 140(1): 111-122.
- [6] Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in Cancer [J]. *Annu Rev Med*, 2009, 60(1): 167-179.
- [7] Wang Y, Russell I, Chen C. MicroRNA and stem cell regulation [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2009, 11(3): 292-298.
- [8] Negrini M, Nicoloso MS, Calin GA. MicroRNAs and cancer: New paradigms in molecular oncology [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3): 470-479.
- [9] Schmittgen TD. MiR-31: A master regulator of metastasis [J]. *Future Oncol*, 2010, 6(1): 17-20.
- [10] Sotiropoulou G, Pampalakis G, Lianidou E, et al. Emerging roles of microRNAs as molecular switches in the integrated circuit of the cancer cell [J]. *RNA*, 2009, 15(8): 1443-1461.
- [11] Hiyoshi Y, Kamohara H, Karashima R, et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(6): 1915-1922.
- [12] Segura MF, Hanniford D, Menendez S, et al. Aberrant miR-182 expression promotes melanoma metastasis by repressing FOXO3 and microphthalmia-associated transcription factor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(6): 1814-1819.
- [13] Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer [J]. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4(1): 199-227.
- [14] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing [J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-419.
- [15] Lund E, Güttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors [J]. *Science*, 2004, 303(5654): 95-98.
- [16] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [17] Zeng Y, Wagner EJ, Cullen BR. Both natural and designed microRNAs can inhibit the expression of cognate mRNAs when expressed in human cells [J]. *Mol Cell*, 2002, 9(6): 1327-1333.
- [18] Zeng Y, Yi R, Cullen BR. MicroRNAs and small interfering RNAs can inhibit mRNA expression by similar mechanisms [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(17): 9779-9784.
- [19] Trabucchi M, Briata P, Garcia-Mayoral M, et al. The RNA-binding protein KSRP promotes the biogenesis of a subset of microRNAs

- [J]. Nature, 2009, 459(7249): 1010-1014.
- [20] Tay Y, Zhang J, Thomson AM, et al. MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation [J]. Nature, 2008, 455(7216): 1124-1128.
- [21] Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: Basic principles [J]. Cell, 2009, 136(1): 26-36.
- [22] Kluiver J, Poppema S, de Jong D, et al. BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas [J]. J Pathol, 2005, 207(2): 243-249.
- [23] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(7): 2257-2261.
- [24] He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene [J]. Nature, 2005, 435(7043): 828-833.
- [25] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family [J]. Cell, 2005, 120(5): 635-647.
- [26] Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(24): 15524-15529.
- [27] Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, et al. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia [J]. Mol Cancer Res, 2003, 1(12): 882-891.
- [28] Kutay H, Bai S, Datta J, et al. Downregulation of miR-122 in the rodent and human hepatocellular carcinomas [J]. J Cell Biochem, 2006, 99(3): 671-678.
- [29] Hill DA, Ivanovich J, Priest JR, et al. DICER1 mutations in familial pleuropulmonary blastoma [J]. Science, 2009, 325(5943): 965.
- [30] Negrini M, Calin GA. Breast cancer metastasis: A microRNA story [J]. Breast Cancer Res, 2008, 10(2): 203.
- [31] Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis [J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(2): 202-210.
- [32] Laios A, O' Toole S, Flavin R, et al. Potential role of miR-9 and miR-223 in recurrent ovarian cancer [J]. Mol Cancer, 2008, 7: 35.
- [33] Budhu A, Jia HL, Forgues M, et al. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2008, 47(3): 897-907.
- [34] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. Nature, 2005, 435(7043): 834-838.
- [35] Yu F, Yao H, Zhu P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells [J]. Cell, 2007, 131(6): 1109-1123.
- [36] Idogawa M, Sasaki Y, Suzuki H, et al. A single recombinant adenovirus expressing p53 and p21-targeting artificial microRNAs efficiently induces apoptosis in human cancer cells [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(11): 3725-3732.
- [37] Ji J, Shi J, Budhu A, Yu Z, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer [J]. N Engl J Med, 2009, 361(15): 1437-1447.
- [收稿日期] 2010 - 10 - 13 [修回日期] 2011 - 02 - 15
[本文编辑] 韩 丹

· 科技动态 ·

在慢性感染中静止的造血干细胞能够被 IFN γ 激活

在系统性慢性感染的情况下,淋巴细胞和中性粒细胞会迅速减少。此时,造血系统的前体细胞,如淋系共同祖细胞(common lymphoid progenitor, CLP)和髓系共同祖细胞(common myeloid progenitors, CMP)会加速分化,以增加这些免疫细胞的数量,使慢性感染情况下的生理稳态仍得以维持。但是造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)在这个过程中作用了解得不多。

美国贝勒医学院的 Baldrige 等利用鸟型分支杆菌(*Mycobacterium avium*)感染的小鼠模型模拟了系统性慢性感染的过程,研究发现,在 *M. avium* 感染时,长期存活的 HSCs (LT-HSCs)可以在 IFN γ 的作用下增殖,并且 IFN γ 体内和体外的单独作用都可引起这种增殖,但是 IFN α 不能刺激 LT-HSCs 增殖;另外,IFN γ 缺陷小鼠的 HSCs 增殖能力较非缺陷的大为减弱。实验结果证明了在慢性细菌感染时,造血系统中直接的造血前体细胞和 LT-HSCs 都参与了应答,并且 IFN γ 对 LT-HSCs 增殖能力的维持起到了重要的作用。

该研究不仅能更好地了解慢性感染时,如 HIV/AIDS 或结核病,患者造血系统各级前体细胞的反应,同时为 IFN γ 这一明星分子开拓了又一个新的研究领域。

[李冬 摘译,李楠 审阅. Baldrige MT, King KY, Boles NC, et al. Nature, 2010, 465(7299): 793-797.]