

• 综述 •

MicroRNA-181a 研究进展

延佳佳 朱晓明

MicroRNAs (miRNAs, miRs) 是一类长度较短的(大约 22 个碱基)非编码 RNA, 在细胞增殖、分化和凋亡等多种生物学进程中发挥了重要作用^[1-3]。miRs 及其靶基因序列之间的低互补性使得一个 miRs 可以与多个的靶基因存在相互作用, 因此 miRs 在诸多生物学通路和过程当中发挥了多种多样的复合效应。人类大概有 50% ~ 60% 的蛋白编码基因可能受 miRs 的调节。本综述主要阐述 miR-181a 在各种病理生理过程中的不同作用, miR-181a 的异常表达可引起恶性肿瘤, 同时还能引起自身免疫疾病。

以往国内外学者认为基因组包括编码区和其他一些被认为是无功能的 DNA 区域, 随着研究的深入, 科学家们发现这些被误认为无功能的区域实际在细胞功能和 miRs 位置调控方面发挥着重要作用。miRs 的表达具有时间特异性、空间特异性的特点, 因其长度相对较小, 迄今发现许多 miRs 的调控作用可延伸至多个细胞内信号调控^[4]。这些小的非编码 RNA 在表达水平上的敏感调控作用导致细胞进程中的各种不同结局, 使得 miRs 参与多种疾病的病理生理过程中。研究表明 miR-181 在细胞的生长和分化方面发挥重要作用, 其在肿瘤和自身免疫疾病方面的异常表达会引起细胞功能的异常^[5-6]。miR-181 家族有 4 个成员: miR-181a, miR-181b, miR-181c 和 miR-181d, 研究发现这四个成员与多个靶 mRNAs 互补, miR-181 家族可通过抑制结合的 mRNAs 或激活 RNA 介导的沉默复合体, 在降解靶 mRNA 中发挥着重要的调节作用。

一、miR-181a 在各组织中的表达

成熟 miR-181a 种子区与 C2H2 型锌指基因存在互补序列, 研究表明 miR-181a 可降调节锌指蛋白的表达^[7]。在已分化的鼠胚胎干细胞中, SIRT1 是转录、凋亡和肌肉分化过程中的通过脱去乙酰基发挥关键调节作用的蛋白, miR-181a 是目前为止发现的能降调节和维持 SIRT1 低蛋白水平表达的 miRs 之一^[8]。miR-181a 在组织中的表达以脑组织最为丰富, 其次是肝脏和眼部, 也有实验表明 miR-181a 在视网膜的早期发展过程中也呈现高表达水平^[9]。miR-181a 在肝脏发育过程中颇受关注, miR-181a 在胚胎肝脏肝细胞比成人肝细胞表达量相对较高, 能与肝细胞分化的不同转录调节因子相互作用并且参与 WNT 信号通路^[10]。miR-181a 在内耳的发育中也起到了一定的作用, miR-181a 可刺激基底乳突的增殖, 导致新的毛细胞的生成^[11]。miR-181a 通过靶向 Hox-A11 蛋白来调节心脏的骨骼成肌细胞的分化, Li 等^[12]从这一结论中得到启发, 尝试通过降低 miR-181a 水平来抑制鼠的心脏的骨骼成肌细胞移植后的心律失常。目前, 人们主要关注 miR-181a 在血管和淋巴生成方面的作用, 其靶基因 PROX1 同源框转录因子在胚胎早期的淋巴内皮细胞的特异

性方面发挥了重要作用。通过上调 miR-181a 使内皮细胞向血管表型改变, 导致 PROX1 的沉默。如果用 miRs 高效阻断剂使 miR-181a 降低则可得相反的结果^[13]。

二、miR-181a 在造血系统中的作用

miR-181a 在胸腺、一级淋巴器官和成熟的 T 淋巴细胞中呈高表达。miR-181a 在鼠的骨髓内的 B 淋巴细胞中有丰富表达; miR-181a 在成年小鼠的造血胚胎干细胞中的异常表达导致 B 细胞比例增加^[14]。miR-181a 可以在人的成熟的 T 细胞、单核细胞和粒细胞中检测到, 但是在 B 细胞中含量较低^[15]。miR-181a 是在 T 细胞中含量丰富的 miRs 之一^[16], 且 miR-181a 在胸腺中初始 T 细胞的选择的功能性和敏感性方面有重要作用^[17]。在胸腺细胞的分化过程中 miR-181a 的调节是非常活跃的, 其在早期 T 细胞分化中表达量丰富^[18]。抑制 miR-181a 后, DP 胸腺细胞的敏感性有很大程度的损伤, 且可检测到 T 细胞阳性选择和阴性选择, 这说明 miR-181a 可调节 T 细胞的敏感性和选择性。这可能和 miR-181a 能直接靶向并抑制 BCL2、CD69 和 TCR 基因有关, 这些基因在 T 细胞阳性选择中发挥关键作用。miR-181a 可调节 TCR 介导的并激活增强 TCR 信号的强度和敏感性来调节激动剂的强弱, 其过表达可使 T 细胞对 TCR 拮抗剂的应答为激活状态^[19]。这可能与 miR-181a 的配对区的丝氨酸磷酸酯酶、PTPN11、PTPN22、双重特异性磷酸酯酶 DUSP5 和 DUSP6 有关, 这些因子在 TCR 信号通路中起反向调节作用^[20-23]。另外, miR-181a 控制 T 细胞的克隆缺失和主要组织相容性复合体选择肽的亲和力以确保只有高亲和性的克隆可以发育成熟^[24]。

三、miR-181a 在肿瘤发生中的作用

目前关于 miR-181a 在肿瘤生成方面的研究得到人们的广泛关注。探索 miR-181a 在肿瘤的发病机制中的作用及其作为重要的生物学标记物在一些肿瘤的诊断和预后过程中的作用成为人们的研究热点。miR-181a 在初期的肺鳞癌中表达较正常组织低^[25]。在口腔鳞癌中 miR-181a 也表达下调, 在这一实验中发现了癌基因 KRAS 和 miR-181a 的靶向关系^[26]。miR-181a 在非小细胞肺癌中的下调表达与患者的低存活率直接相关, 提示 miR-181a 可能是非小细胞肺癌的一个诊断生物学标记物^[27]。这结果与 Cheng 等^[28]所发现的抑制 miR-181a 在 A549 细胞中的表达能增加该细胞的生长这一观点相一致。相反, 将特异的 miR-181a 反义寡核苷酸作用于 A549 细胞中, 可引起细胞凋亡且细胞周期在 S 期, 降低了 A549 细胞的生长^[29]。miR-181a 及其他 miR-181 家族成员在胶质母细胞瘤中表达量降低^[30], miR-181a 在胶质瘤细胞中表达下调可导致胶质瘤细胞侵袭、凋亡和分化降低^[31]。在 U87MG 细胞系中过表达 miR-181a 可以使其靶基因 BCL2 沉默且可增加该胶质瘤细胞对放疗的敏感性^[32]。miR-181a 在头颈部鳞状细胞癌细胞中的研究显示, miR-181a 在人的 HPV 阳性的头颈部鳞状细胞癌样本和正常口腔角质细胞中表达下调, 但是在 HPV 阴性的样本中表达正常^[33]。说明 miR-181a 并不是在所有的肿瘤中表达下调。有学者研究 miR-181a 在乳腺癌细胞系 MCF-7 中表达上调。在乳腺癌中上调

miR-181 家族可促进肿瘤干细胞生长,这一现象与其靶基因 ATM 有关^[34]。有人用 17- β -雌二醇对乳腺癌细胞系进行刺激发现 miR-181a 和 miR-26a 均降低,且可使雌激素受体阳性的细胞系的细胞分化程度降低。在肝癌细胞中,miR-181 家族表达上调,其靶基因是控制细胞分化的肝细胞转录调节因子^[35]。以上说明 miR-181a 不但在不同的肿瘤组织和细胞中表达不同,而且同一肿瘤的不同分期表达也不同。

四、miR-181a 在血液系统肿瘤中的作用

因为 miR-181a 是造血相关 miRs,在急性粒细胞白血病中,不同亚型 miR-181a 的表达水平不同^[36]。Pons 等^[37]检测了 miR-181a 在骨髓增生异常综合征及急性骨髓性白血病进程中的表达,发现 miR-181a 在这两种疾病的外周血和骨髓样本中均过表达,急性骨髓性白血病样本中的 miR-181a 表达量显著高于骨髓增生异常综合征的样本,说明 miR-181a 在急性骨髓性白血病中发挥重要作用。miR-181a 的表达水平和急性骨髓性白血病患者的存活率也有关。最近一项研究将 miR-181a 与 PCAF 在多发骨髓瘤中的表达相互关联,证实 miR-181a 在多发骨髓瘤样本及其细胞系中均过表达,在多发骨髓瘤中 miR-181a 作为致癌基因与 PCAF 相互关联,在增加了 miR-181a 的表达后,PCAF 在多发骨髓瘤细胞系中大多表达很低或缺失,P53 基因也表达降低且细胞凋亡率也降低^[38]。在耐药的非霍奇金淋巴瘤中 miR-181a 表达上调,且通过下调前凋亡因子 Bim 使 B 淋巴细胞抗凋亡增强。淋巴瘤中的滤泡状树突细胞之间的连接因为 miR-181a 的上调而有变化。在慢性淋巴细胞白血病中,miR-181 家族表达降低,这与预测疾病侵犯程度有一定的相关性,在慢性淋巴细胞性白血病患者中 miR-181a 的表达降低与 12 三体综合征有关且是疾病侵袭性的决定性因素^[39]。与此同时,在慢性淋巴细胞性白血病病例样本中 miR-181a 的表达下调导致 PLAG1 的表达显著增加。最近研究表明转染过 miR-181a 的 K562 细胞中的一些基因表达有不同程度的改变。

五、miR-181a 在自身免疫疾病中的作用

miR-181a 对 T 细胞的广泛的直接作用显示 miR-181a 表达水平的改变可能引起自身免疫疾病的发生。到目前为止,miR-181a 在自身免疫疾病中研究不是很广泛。自身免疫疾病的细胞凋亡速率加快,所以有学者认为 miR-181a 在自身免疫疾病中发挥与肿瘤不同的作用。系统性红斑狼疮是与多发骨髓瘤极其相似的自身免疫疾病,用生物学软件预测,发现大约 50% 的狼疮敏感基因可能被 miR-181、miR-186 和 miR-590-3p 共同调节^[40]。在其后的芯片分析中,miR-181a 在 EB 病毒转染的狼疮患者的 B 细胞中表达不同^[41]。有人在狼疮患者的外周血单核细胞中用 qRT-PCR 检测 miR-181a 的表达水平,发现其在小儿狼疮患者中表达下调,且引起其靶基因 PCAF 的表达量增多和凋亡率升高。

随着 miRs 研究技术的不断进步,人们对 miR-181a 研究的进一步加深,我们面临着很多问题:在各个肿瘤中 miR-181a 扮演的到底是肿瘤抑制剂还是肿瘤激活剂? miR-181a 及其靶基因 p53 在细胞内复杂的调节通路中的关系得到人们的重视,p53 可负性调节 miR-181a 的表达^[42]。大量的 p53 介导的 miRs 相关实验表明了 p53 和 miR-181a 的相互关系,有研究显示与 miR-181a 的发卡结构的臂互补的序列比成熟的 miR-181a 序列表达量要丰富,该结果表明成熟的 miR-181a 对 p53 的负性调节作用还有待证实^[43]。

目前,miRs 作为多种疾病的生物学标记物和靶向治疗因子得到学者广泛关注,但很少有人关注其靶向治疗方面。然而靶

向治疗的作用才是 miRs 的研究的最终目的。在靶向治疗学方面我们面临的主要挑战是:(1)miRs 能否有效地传递进细胞核中?(2)miRs 降解会不会发生抵抗作用?(3)miRs 及其靶基因复合物是否稳定;(4)miRs 在传递的过程中的组织特异性如何?因为 miRs 在不同的疾病中可以调节多种基因表达,所以基于 miRs 的基因靶向治疗被高度重视,但是 miRs 及其靶基因的相互关系网的研究,转录因子和 miRs 的处理方法都需要进一步的研究,在人们研究出安全的可以调节细胞且没有副作用的方法前,我们还有很长一段路要走。而 miR-181a 在不同疾病中表达水平不同应用于临床方面,我们要走的第一步就是研究出造血系统疾病和肿瘤的基因靶向治疗方案,miR-181a 的众多靶基因使得其在基因靶向治疗中会有广泛的应用。

参考文献

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281-297.
- [2] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, 431: 350-355.
- [3] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*, 2004, 5: 522-531.
- [4] Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, et al. Prediction of Mammalian MicroRNA Targets. *Cell*, 2003, 115: 787-798.
- [5] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Natures Reviews Cancer*, 2006, 6: 857-866.
- [6] Lashine YA, Seoudi AM, Salah S, et al. Expression signature of microRNA-181-a reveals its crucial role in the pathogenesis of paediatric systemic lupus erythematosus. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2011, 29: 351-357.
- [7] Huang S, Wu S, Ding J, et al. MicroRNA-181a modulates gene expression of zinc finger family members by directly targeting their coding regions. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38: 7211-7218.
- [8] Saunders LR, Sharma AD, Tawney J, et al. miRNAs regulate SIRT1 expression during mouse embryonic stem cell differentiation and in adult mouse tissues. *Aging (Albany NY)*, 2010, 2: 415-431.
- [9] Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue-specificity. *Molecular Vision*, 2006, 12: 1175-1184.
- [10] Ji J, Yamashita T, Budhu A, et al. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells. *Hepatology*, 2009, 50: 472-480.
- [11] Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, et al. The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression. *Molecular Human Reproduction*, 2007, 13: 797-806.
- [12] Li YG, Zhang PP, Jiao KL, et al. Knockdown of microRNA-181 by lentiviral-mediated siRNA expression vector decreases the arrhythmogenic effect of skeletal myoblast transplantation in rat with myocardial infarction. *Microvascular Research*, 2009, 78: 393-404.
- [13] Kazenwadel J, Michael MZ, Harvey NL. Prox1 expression is negatively regulated by miR-181 in endothelial cells. *Blood*, 2010, 116: 2395-2401.
- [14] Chen CZ, Li L, Lodish HF, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*, 2004, 303: 83-86.
- [15] Ramkissoon SH, Mainwaring LA, Ogasawara Y, et al. Hematopoietic-specific microRNA expression in human cells. *Leukemia Research*, 2006, 30: 643-647.
- [16] Okada H, Kohanbash G, Lotze MT. MicroRNAs in immune regulation-opportunities for cancer immunotherapy. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2010, 42: 1256-1261.
- [17] Ebert PJ, Jiang S, Xie J, et al. An endogenous positively selecting pep-

- tide enhances mature T cell responses and becomes an autoantigen in the absence of microRNA miR-181a. *Nature Immunology*, 2009, 10: 1162-1169.
- [18] Neilson JR, Zheng GX, Burge CB, et al. Dynamic regulation of miRNA expression in ordered stages of cellular development. *Genes and Development*, 2007, 21: 578-589.
- [19] Liu G, Min H, Yue S, et al. Pre-miRNA loop nucleotides control the distinct activities of mir-181a-1 and mir-181c in early T cell development. *PLoS One*, 2008, 3: e3592.
- [20] Li QJ, Chau J, Ebert PJ, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell*, 2007, 129: 147-161.
- [21] Dittel BN, Stefanova I, Germain RN, et al. Cross-antagonism of a T cell clone expressing two distinct T cell receptors. *Immunity*, 1999, 11: 289-298.
- [22] Stefanová I, Hemmer B, Vergelli M, et al. TCR ligand discrimination is enforced by competing ERK positive and SHP-1 negative feedback pathways. *Nature Immunology*, 2003, 4: 248-254.
- [23] Altan-Bonnet G, Germain RN. Modeling T cell antigen discrimination based on feedback control of digital ERK responses. *PLoS Biology*, 2005, 3: e356.
- [24] Choong ML, Yang HH, McNiece I. MicroRNA expression profiling during human cord blood-derived CD34 cell erythropoiesis. *Experimental Hematology*, 2007, 35: 551-564.
- [25] Gao W, Shen H, Liu L, et al. MiR-21 overexpression in human primary squamous cell lung carcinoma is associated with poor patient prognosis. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2011, 137: 557-566.
- [26] Shin KH, Bae SD, Hong HS, et al. miR-181a shows tumor suppressive effect against oral squamous cell carcinoma cells by downregulating K-ras. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 404: 896-902.
- [27] Gao W, Yu Y, Cao H, et al. Deregulated expression of miR-21, miR-143 and miR-181a in non small cell lung cancer is related to clinicopathologic characteristics or patient prognosis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2010, 64: 399-408.
- [28] Cheng AM, Byrom MW, Shelton J, et al. Antisense inhibition of human miRNA-s and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33: 1290-1297.
- [29] Fei J, Lan F, Guo M, et al. Inhibitory effects of anti-miRNA oligonucleotides (AMOs) on A549 cell growth. *Journal of Drug Targeting*, 2008, 16: 688-693.
- [30] Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005, 334: 1351-1358.
- [31] Shi L, Cheng Z, Zhang J, et al. hsa-mir-181a and hsa-mir-181b function as tumor suppressors in human glioma cells. *Brain Research*, 2008, 1236: 185-193.
- [32] Chen G, Zhu W, Shi D, et al. MicroRNA-181a sensitizes human malignant glioma U87MG cells to radiation by targeting Bcl-2. *Oncology Reports*, 2010, 23: 997-1003.
- [33] Wald AI, Hoskins EE, Wells SI, et al. Alteration of microRNA profiles in squamous cell carcinoma of the head and neck cell lines by human papillomavirus. *Head and Neck*, 2010, 33: 504-512.
- [34] Wang Y, Yu Y, Tsuyada A, et al. Transforming growth factor-beta regulates the sphere-initiating stem cell-like feature in breast cancer through miRNA-181 and ATM. *Oncogene*, 2010, 30: 1470-1480.
- [35] Debernardi S, Skoulakis S, Molloy G, et al. MicroRNA miR-181a correlates with morphological sub-class of acute myeloid leukaemia and the expression of its target genes in global genome-wide analysis. *Leukemia*, 2007, 21: 912-916.
- [36] Pons A, Nomdedeu B, Navarro A, et al. Hematopoiesis-related microRNA expression in myelodysplastic syndromes. *Leukemia and Lymphoma*, 2009, 50: 1854-1859.
- [37] Pichiorri F, Suh SS, Ladetto M, et al. MicroRNAs regulate critical genes associated with multiple myeloma pathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105: 12885-12890.
- [38] Visone R, Rassenti LZ, Veronese A, et al. Karyotype-specific microRNA signature in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2009, 114: 3872-3879.
- [39] Calin GA, Pekarsky Y, Croce CM. The role of microRNA and other non-coding RNA in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *Best Practice and Research. Clinical Haematology*, 2007, 20: 425-437.
- [40] Vinuesa CG, Rigby RJ, Yu D. Logic and extent of miRNA-mediated control of autoimmune gene expression. *International Review of Immunology*, 2009, 28: 112-138.
- [41] Te JL, Dozmorov IM, Guthridge JM, et al. Identification of unique microRNA signature associated with lupus nephritis. *PLoS One*, 2010, 5: e10344.
- [42] Boominathan L. The tumor suppressors p53, p63, and p73 are regulators of microRNA processing complex. *PLoS One*, 2010, 5: e10615.
- [43] Tarasov V, Jung P, Verdoodt B, et al. 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*, 2007, 6: 1586-1593.

(收稿日期: 2013-01-06)

(本文编辑: 戚红丹)