

miRNA 与恶性肿瘤关系研究进展

杨士勇 综述 江晓春 审校

(皖南医学院附属弋矶山医院, 安徽 芜湖 241000)

摘 要 miRNA(microRNA 或 miRNA), 是一类长度约 22nt 的内源性短链非编码小分子 RNA, 通常在转录后水平调控基因表达, 在 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)下靶向结合 mRNA, 进而降解 RNA 或阻遏转录后翻译功能。近年研究, miRNA 参与细胞的分化、发育、增殖、死亡等生命活动中的一系列重要进程, 在肿瘤发生中可能是潜在的抑癌或致癌基因。本文就 miRNA 在肿瘤中基因表达、肿瘤疾病的预防和治疗做一综述。

关键词 miRNA; 恶性肿瘤; 基因表达; 抑癌基因; 致癌基因

中图分类号: R651 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9760(2013)12-438-04

微 RNA(microRNA 或 miRNA), 作为新发现的基因表达调控因子, 由基因组 DNA 编码, 在 RNA 聚合酶 II 作用下被转录, 在 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)下靶向结合 mRNA, 进而降解 RNA 或阻遏转录后翻译功能。近年来众多研究表明 miRNA 与肿瘤的发生、发展密切相关。随着 miRNA 与肿瘤关系进一步深入研究, miRNA 在肿瘤的诊断与基因治疗方面的应用也成为当前研究的热点。

1 miRNA

1.1 miRNA 的发现和命名

继第 1 个阶段性调控胚胎后期发育的基因 lin-4 在秀丽隐杆线虫发育过程中被发现, 随后在线虫中找到了第 2 个调控时序性发育的基因 let-7。除 lin-4 和 let-7 外, 其他 miRNAs 统一用 miRNA-# 表示(# 为阿拉伯数字代表其被克隆的先后顺序)。2001 年在 Science 杂志的一篇文章中“microRNA”一词第一次出现。随着进一步深入研究将会有更多的 miRNA 逐渐被发现。

1.2 miRNA 的特征及生物学作用

miRNA 表达情况明显异常与其本身特征有关。miRNA 是一类约 22nt 长度的独立转录产物, 至少 80% 的 miRNA 长度在 21~23nt 之间, 其 3'-端有 1~2 个碱基; 不具有开放的阅读框架(ORF)和蛋白质编码基因的功能, 但有其内源性表达转录本与其靶位点配对; 由 Dicer 酶加工而成, 二级结构的前体 miRNA 5'端为磷酸基团, 3'端为羟基, 这使它有独特的降解功能; 有特定的作用位点, 定位

于能潜在编码其前体发夹结构的蛋白质非编码区域。

miRNA 的多样性与保守性决定了其在生理、生化功能上的重要性与普遍性。在生物发育过程中, miRNA 在调控基因表达方面尤为重要: 通过结合到靶 mRNA 3'端非编码翻译区与其不完全互补配对而阻断该基因翻译过程, 从而影响蛋白表达水平, 不影响 mRNA 的稳定性; 类似 siRNA 作用, 结合到靶上并降解靶 mRNA, 从而在多种生物学过程中发挥功能。由于 miRNA 调控作用至关重要, 其失调可能导致一系列疾病的发生, 特别是恶性肿瘤的形成。

2 miRNA 与恶性肿瘤

恶性肿瘤是多基因异常疾病, 通过激活原癌基因表达或抑癌基因突变缺失从而使细胞逃避正常生长调控机制, 自主进行无限增殖和侵袭, 出现恶性表型致生物体致病。随 miRNA 在肿瘤中作用机制研究的不断深入, 发现其与肿瘤一系列进展密切相关。某些 miRNA 在肿瘤中特异高表达, 其升高可以刺激肿瘤增殖、血管生成、侵袭转移等, 则这些 miRNA 扮演了癌基因角色。在 miRNA 的生成过程中通过抑制 Drosha 降低 miRNA 生成, 发现某些肿瘤的恶性程度降低。这些 miRNA 扮演了抑癌基因角色。随后研究发现 miRNA 与造血肿瘤、胰腺癌、乳腺癌、肺癌、前列腺、胃癌、宫颈癌、胶质瘤的蛋白质编码基因过程关系密切。某些 miRNA 可能改变了一些疾病发生、发展过程, 且与肿瘤细胞的来源无关。下面就列举一些 miRNA 作

用比较有代表性的例子。

2.1 造血肿瘤

首个被发现的肿瘤抑制基因 miRNA 是在慢性淋巴白血病的患者的 B 细胞中,约 40%慢性淋巴白血病患者染色体 13q14 有缺失,该缺失位点上 miRNA-15a 和 miRNA-16-1 的基因表达缺失或下调^[1]。随后的研究表明 miRNA-15a 和 miRNA-16-1 的缺失导致 Bcl-2 的过度表达,抑制细胞凋亡。由此推测有抑癌基因作用的 miRNA 转录、转运等一系列环节的缺失,都可导致不正常的基因调控而诱发肿瘤的发生。

2.2 胰腺癌

在胰腺癌鉴别出的 29 种 miRNA 的表达中,miRNA-148a、miRNA-34a 和 miRNA-34b/c 启动子甲基化导致表达异常,引起细胞癌变^[2]。应用荧光原位杂交技术对胰腺癌标本中 miRNA 检测,胰腺癌 miRNA-10b、miRNA-21 和 miRNA-155 较正常组织和慢性胰腺炎显著高表达,这些可作为胰腺癌的诊断指标^[3]。在 21 个胰腺癌细胞系 miRNA 表达谱研究中发现,miRNA-200 家族和 miRNA-17-92 簇、miRNA-27a、miRNA-10b、miRNA-21、miRNA-132、miRNA-212、miRNA-17-5a^[4]在胰腺癌中过表达,促进细胞增殖,参与肿瘤的侵袭转移。通过转染它们可增加细胞增殖,反之用拮抗剂降低其表达可有效阻断胰腺癌细胞侵袭转移。在胰腺癌中表达受到抑制的 miRNA 通常是作为抑癌基因发挥阻断细胞肿瘤生长的功能。增强 miRNA-96 或者过表达 miRNA-148a 可分别靶向抑制 K-Ras 基因表达^[5]和靶向通过 CDC25B^[6]发挥用来抑制胰腺癌细胞生长和增殖。这些表明在胰腺癌中不同的 miRNA 表达不同,其作用也不同,未来需进一步研究来解释这些作用机制。

2.3 肺癌

近年来的研究表明与肺组织相关的 miRNAs 约有 40 余种,而在肺癌中基因表达差异最显著的 6 种 miRNA 是 miRNA-99b、miRNA-102、miRNA-203、miRNA-202、miRNA-204 和 premiRNA-205,这些 miRNAs 通过对其相应的靶基因的影响来诱导细胞的凋亡抑制癌基因的表达或影响细胞周期来抑制肺癌细胞增殖。国内学者^[7]采用 RT-PCR 和免疫组化方法检测研究癌组织和癌旁组织肺癌患者,发现 miRNA-34a 对肺癌具有调节作用,可能通过与 C-myc 的结合而发挥调节作用。Xing L 等^[8]采用 RT-PCR 对 6 个 miRNA 检测并

联合 miRNA-205/210/708 诊断肺鳞癌的敏感度和特异度分别为 76%、96%。联合 miRNA-21/486/375/200b,在诊断肺腺癌时敏感度和特异度分别为 80.6%、91.7%^[9]。这些 miRNAs 为诊断恶性肿瘤开辟了崭新途径。

2.4 前列腺癌

Porkka KP^[10]等的研究发现在前列腺癌中 miRNA-23 的表达下调或缺失。另外 miRNA-15a/miRNA16 在 85%的前列腺癌肿组织中表达也下调或缺失,它们通常在转录后水平调控 BCL2、CCND1 和 WNT3A 的表达,激活 AKT、MAPK 信号通路可使细胞周期紊乱和过度增殖、促进癌症的发生。而 Walterin KK 等^[11]在前列腺癌和肿瘤移植模型中对雄激素应答的 55 个 miRNAs 的研究发现 miR-141 的表达上调。Brase JC 等^[12]亦验证了 miR-141 和 miR-375 在前列腺癌血液中增高。在前列腺癌中上调和沉默 miRNAs 表达中,miRNA-221/222、miRNA-21、miRNA-125b 以及 miRNA-296 在前列腺癌中高表达或上调,而 miRNA-101、miRNA-146a、miRNA-126A、miRNA-34 簇和 miRNA-200 家族在前列腺癌中低表达或缺失和沉默。

2.5 乳腺癌

采用基因芯片技术,Iorio MV 等^[13]在研究正常乳腺组织与乳腺癌的数种 miRNA 的表达谱中发现 miRNA-125b、miRNA-145、miRNA-21、miRNA-155 在乳腺癌中表达明显减少,这些 miRNA 的表达和特异的乳腺癌病理学特征密切相关,如血管浸润、分期、雌激素和孕激素受体表达水平以及增殖指数。Radojicic J 等^[14]应用 RT-PCR 方法,检测 9 种 miRNAs 在乳腺癌组织及其癌旁组织中的表达差异发现 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-221 表达上调,miRNA-10b、miRNA-145、miRNA-122a、miRNA-205 表达下调。这些 miRNAs 大部分目前研究尚未有明确的靶基因以及确切的特异的机制通路,其如何参与基因信号传导途径来影响肿瘤的进展尚需进一步研究。

2.6 胃癌

在癌旁组织和胃癌组织中,有些 miRNA 上调,有些则下调,Ueda T 等^[15]进一步对 353 个胃粘膜标本研究显示 miRNA-160 对胃癌组织与相应癌旁组织中,22 个 miRNAs 在癌组织表达明显升高,13 个 miRNAs 在癌旁组织中表达显著下降。同时还发现在不同病理类型的胃癌组织中 miR-

NA_s 表达也存在差异,miRNA-100 等在弥漫性胃癌中高表达,miRNA-373 等 miRNAs 在肠型胃癌中高表达。另一项研究^[16]发现胃癌中 miRNA-218 表达下调对 Robo1 蛋白的靶向抑制作用减弱,通过一系列通路作用,最终促进胃癌细胞的浸润和转移。

2.7 宫颈癌

一项宫颈癌 miRNA 芯片分析研究表明:miRNA-146a 等上调表达,miRNA-143、miRNA-145 等下调。功能分析表明,miRNA-143、miRNA-145 具有抑制细胞增殖作用,miRNA-146a 具有促进细胞增殖效应。在宫颈上皮细胞恶性转化过程中 miRNA-199a 明显上调,然而另有研究却发现 miRNA-199a 在宫颈癌组织表达下调,分析其原因:除了 miRNA-199a-Brm^[17] 的双负反馈调节外,不同内参也导致不同结果:选择 Let-7a 为内参表达上调,选择 U6 为内参表达下调。miRNA-199a 在宫颈癌组织中表达上调因素错综复杂,特异的机制尚未明确,但其在宫颈癌组织表达下调可能是 Drosha 或 miRNA-199a 前体转录本表达下降引起。miRNA 在肿瘤中的差异性表达不但是宫颈癌的重要标志,还可辅助指示肿瘤的分化程度。

2.8 胶质瘤

多个研究证实 miRNA-221/222 在胶质瘤细胞表达水平明显上调。Zhang C 等^[18]敲除胶质瘤细胞株 U251 中 miRNA-221/222 后,IFN- α 表达增加,STAT1 和 STAT2 蛋白的表达量和磷酸化程度均上升,从而抑制肿瘤细胞生长和促进细胞凋亡。魏厚禄等^[19]研究胶质瘤细胞被 X 线照射后,miRNA-221/222 表达量增加,胶质瘤 SF 与细胞中 miRNA-221/222 表达呈正相关,下调 miRNA-221/222 可能提高患者的治疗效果,延长生存期。Papagiannakopoulos 等^[20]研究发现 miRNA-21 作用 p53 通路的 p53、TP73L(TAp63)的激活辅助因子 JMY、TOPORS、HNRPK、TP53BP2 等;同时作用于 TGF- β 通路中的 TGFBR2、TGFBR3、DAXX 等,过表达的 miRNA-21 使这些信号转导通路无法发挥对肿瘤的抑制功能,从而促进胶质瘤发生。Zhi F 等^[21]在 84 例胶质瘤 miRNA 表达谱检测和分析时,也发现 miRNA-21 表达水平高低与生存期有很大关系。miRNA-21 可能通过下调 MMP 抑制剂如 PECK 和 TIMP3,激活 MMP 提高癌细胞的侵袭性,miRNA-21 的表达失调促进胶质瘤的恶性,用它可判断患者的预后。

3 前景与展望

随着 miRNA 研究的兴起和深入研究,以及在检测肿瘤特异性 miRNA 各种不同研究方法和新技术、新科技的应用,为人类肿瘤治疗提供了新的方向和崭新手段。某些 miRNA 在不同肿瘤表达的差异性,可作为某些肿瘤诊断性、特异性的标志物,从而提高肿瘤的诊断和治疗。某些 miRNA 表达的减少、缺失和增加可能与调节细胞增殖、分化和凋亡直接相关,与肿瘤的发展密切相关。我们可人为的调节或激活或剔除 miRNA 表达来阻止肿瘤形成过程达到预防肿瘤发生的目的。但是,由于每种肿瘤中的 miRNA 表达谱众多,如何寻找出某个肿瘤差异性明显的特异性 miRNA 有待进一步研究。针对某个肿瘤采取何种最绩效的检测方法和应用最简单、最有效的技术,有待进一步研究。以及利用最新的技术在疾病发生发展的哪些关键环节中加以干预和治疗,更期待我们深入研究。总之,随着这些问题的解决,miRNA 将成为肿瘤诊断、疾病预防、生物治疗的新亮点、突破口、新思路,有着无限的应用前景和不可低估的社会和经济效益。

参考文献:

- [1] Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic Lymphocytic Leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(24):15524-15529.
- [2] Vogt M, Munding J, Gruner M, et al. 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[J]. Virchows Arch, 2011, 458(3):313-322.
- [3] Preis M, Gardner TB, Gordon SR, et al. MicroRNA-10b expression correlates with response to neoadjuvant therapy and survival in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(17):5812-5821.
- [4] Yu J, Ohuchida K, Mizumoto K, et al. MicroRNA miR-17-5p is overexpressed in pancreatic cancer, associated with a poor prognosis, and involved in cancer cell proliferation and invasion[J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(8):748-757.
- [5] Yu S, Lu Z, Liu C, et al. MiRNA-96 suppresses KRAS and functions as a tumor suppressor gene in pancreatic cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(14):6015-6025.
- [6] Liffers ST, Munding JB, Vogt M, et al. MicroRNA-148a is down-regulated in human pancreatic ductal adenocarcinomas and regulates cell survival by targeting CDC25B[J]. Lab Invest, 2011, 91(10):1471-1479.

- [7] 曾婷,郝丽,谢逸欣,等. MicroRNA-34a 与肺小细胞肺癌的关系及其可能调节机制[J]. 中国医药导报,2012,9(23):5-7.
- [8] Xing L, Todd NW, Yu L, et al. Early detection of squamous cell lung cancer in sputum by a panel of microRNA marker[J]. Mod Pathol, 2010, 23(8):1157-1164.
- [9] Yu L, Todd NW, Xing L, et al. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA marker[J]. Int Cancer, 2010, 127(12):2870-2878.
- [10] Porkka KP, Pfeiffer MJ, Waltering KK, et al. MicroRNA expression profiling in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2007, 67(13):6130-6135.
- [11] Waltering KK, Porkka KP, Jalava SE, et al. Androgen regulation of micro-RNAs in prostate cancer[J]. Prostate, 2011, 71(6):604-614.
- [12] Brase JC, Wuttig D, Kuner R, et al. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 306-315.
- [13] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(16):7065-7070.
- [14] Radojicic J, Zarvinos A, Verkoussis T, et al. MicroRNA expression analysis in triple-negative (ER, PR and Her2/neu) breast cancer[J]. Cell Cycle, 2011, 10(3):507-517.
- [15] Ueda T, Volinia S, Okumura H, et al. Relation between microRNA and progression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(2): 136-146.
- [16] Tie J, Pan Y, Zhao L, et al. MiR-218 inhabits invasion and metastasis of gastric cancer by targeting the Robo1 receptor[J]. PLoS Genet, 2010, 6(3):e 1000879.
- [17] Sakurai K, Furukawa C, Harauchi T, et al. MicroRNAs miR-199a-5p and -3p target the Brm subunit of SWI/SNF to generate a double-negative feedback loop in a variety of human cancer[J]. Cancer Res, 2011, 71(5):1680-1689.
- [18] Zhang C, Han L, Zhang A, et al. Global changes of mRNA expression reveals an increased activity of the interferon-induced signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway by repression of miR-221/222 in glioblastoma U251 cells[J]. Int J Oncol, 2010, 36(6):1503-1512.
- [19] 魏厚禄,张春智,戚贵军,等. 人胶质瘤细胞及组织中 miRNA-221/222 表达变化及意义[J]. 山东医药, 2012, 52(26):3-6.
- [20] Papagiannakopoulos T, Shapiro A, Kosik KS, et al. MicroRNA-21 targets a network of key tumor-suppressive pathways in glioblastoma cells[J]. Cancer Res, 2008, 68:8164-8172.
- [21] Zhi F, Chen X, Wang S, et al. The use of hsa-miR-21, hsa-miR-181b and hsa-miR-106a as prognostic indicators of astrocytoma[J]. Eur J Cancer, 2010, 46(9):1640-1649.

(收稿日期 2013-09-21)

(上接第 437 页)慢性疾病,对大学生的身心和健康都产生较大影响。这也提示学校应该针对不同人群加强引导和健康宣教,以改善学生的膳食结构,同时提供场所多组织体育活动,加强体育锻炼,提高综合素质。

本文通过实验室检测显示女生的铁缺乏率高达 32.5%,这可能是由于女生特殊的生理周期铁的丢失以及膳食结构有着密切关系,尤其动物性食物是铁的主要来源,而许多女性为保持“良好”的体型,恰恰限制了该类食品的摄入。另外国内相关报道显示,在校学生贫血的发生也可能与维生素 C 摄入明显不足有关^[9],因为维生素 C 促进人体对铁的吸收。为此,建议在校学生应适当增加动物性食品的摄入,尤其增加动物血、肝脏、瘦肉等铁含量较高的食物摄入量,另外增加含维生素 C 丰富的新鲜蔬菜水果的摄入量,以促进铁的吸收,改善机体铁缺乏状况。另外分析显示医学生血清锌的平均含量为 $(84.12 \pm 8.52) \mu\text{g/dL}$,女生显著低于男生,整体锌缺乏率高达 79.0%。而锌主要存在于动物性食品中,贝壳类海产品、红色肉类及其内脏

均为锌的良好来源,这也提示学校应根据学生的生理需求、机体状况并结合集体膳食供给的特征,合理改善学生的膳食结构,提高学生整体锌的供给量。

综上所述,医学生对营养相关知识掌握情况总体较好,但合理膳食相关知识欠缺,营养不良发生率较高,血清铁和血清锌含量整体偏低。大学生是社会建设和发展的后备骨干力量,他们的身体健康水平直接影响其未来在社会中的地位,进而也会影响祖国的繁荣昌盛。因此,高校和相关部门应该采取措施,加强学生的营养知识教育,增强营养意识,消除不良的饮食习惯,合理膳食,使其健康的成长。

参考文献:

- [1] 潘子儒,黄万琪. 大学生营养状况与营养知识、饮食行为调查[J]. 武汉工业学院学报,2009,12(5):142-144.
- [2] 吕久余,义家运,周荣波,等. 某中等卫校学生膳食营养状况[J]. 中国学校卫生,2001,22(3):515-516.
- [3] 胡玉华,王秀琴,吴松林. 某医学专科学校学生营养状况调查[J]. 现代预防医学,2009,24(36):4620-4622.

(收稿日期 2013-10-15)