

MicroRNA 与肿瘤的相关研究进展

刘 浩 尹华斌 纪 方[△]

(第二军医大学长海医院 上海 200433)

摘要 微小 RNA (microRNAs, miRNA) 是一类 22 个核苷酸左右的非编码调控 RNA。可以通过切割 mRNA 或者是抑制翻译两种机制, 在转录后水平发挥调控生物生长发育的重要作用。目前的研究已经发现 microRNA 参与调控发育、细胞分化、细胞凋亡等多种生理过程。目前已证实 miRNA 参与肿瘤发生和进展, miRNA 表达谱是肿瘤诊断和预后的指标, miRNA 突变、缺失或表达水平的异常与人类肿瘤密切相关, 它发挥类似于癌基因或抑癌基因的作用, 参与肿瘤细胞的增殖、分化和细胞凋亡过程。本文就 miRNA 在肿瘤发生发展以及诊断治疗方面的研究进展作一综述。

关键词 MicroRNA(miRNA); 肿瘤; 进展; 综述

中图分类号: R730.231 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2012)07-1388-03

The Progression of microRNA and Tumor's Research

LIU Hao, YIN Hua-bin, JI Fang[△]

(Changhai Hospital of Second Military Medical University, 200433, Shanghai, China.)

ABSTRACT: MicroRNA (miRNA) is a kind of small non-protein-coding RNA about 22 nucleotides in length. MicroRNA can regulate organism growth and development by mediating the degradation of complementary mRNA or inhibiting translation. MicroRNA play important roles in homeostatic processes such as development, cell proliferation, cell apoptosis. It was certified that miRNA participate the processes of tumorigenesis and development and its expression profiles can be used as the indicator of tumor diagnosis and prognosis. Mutation, deletion or high expression of miRNA was found to correlate with various human cancer. miRNA is involved in tumor cell proliferation, differentiation and apoptosis processes as function as oncogenes or tumor suppressors. In this review, we have summarized the research of miRNA in tumorigenesis, development, diagnosis and therapy.

Key words: MicroRNA(miRNA); Tumor; Progression; Overview

Chinese Library Classification: R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)07-1388-03

MiRNA (microRNA) 是一类小单链 RNA, 与其他蛋白质编码基因的 mRNA 转录本反向互补, 长度为 18-25 个核苷酸 (nt)。它是由 DNA 转录产生, 但不翻译成蛋白质, 而是在蛋白质合成中调节其他基因的功能。因此 miRNA 是调控其他蛋白质编码基因的基因。目前统计, 在人类的基因组中几乎有 95% 是非编码 DNA, 这些非编码序列的改变通常与临床的以及偶然的机能障碍有关, 其中部分非编码序列负责通过类似 RNA 干扰机制的 RNA 介导的基因沉默, 在这其中一类具有潜在重要性的基因是 miRNA 基因, 它们缺乏典型的开放读码框, RNA 似乎是其编码的最终产物, 这些 miRNA 在发育、蛋白质分泌和基因调控上发挥着关键作用, 这些 miRNA 基因分布在除了 Y 染色体外的人类所有的染色体中。

1 历史回顾

MiRNA 最早于 20 世纪 90 年代早期被发现, 是在线虫中观察到的与靶转录物的 3'UTR 互补的长约 18-23 nt 的 RNA 分子, 包括 lin-4 和 let-7 基因^[1]。线虫的发育均由这些 RNA 基因所调控。随后 miRNA 被发现在包括从线虫到果蝇直至人类的

多种组织中存在, 提示这些分子可能代表一个从古老的 sRNA 祖先进化而来的基因家族。目前在人类基因组中共发现 700 多种 miRNA, 除了早期发现的 lin-4 和 let-7 等基因采用原来的名称, 后来发现的 miRNA 均以 miR- 后加数字命名, 如 miR-93、miR155。近年来的研究发现, miRNA 参与多种重要生命过程, 例如发育调节、细胞生长、分化和凋亡、维护细胞及组织的识别等等^[2]。由于 miRNA 在基因表达调控方面起重要作用, miRNA 的表达失调可以引起人类多种疾病, 目前已知的与 miRNA 表达失调有关的疾病系统包括: 肿瘤、心血管疾病、代谢性疾病; 风湿性疾病及神经系统疾病等等。其中在与肿瘤相关方面, miRNA 可能发挥着癌基因或抑癌基因的作用, 在肿瘤的发生发展过程中起一个调控作用。

2 MicroRNA 的形成及功能

2.1 MicroRNA 的形成

MiRNA 的初级转录物 (pri-miRNA) 其特征是前段含有一个 loop 结构, 类似发夹, 长度约 100nt。pri-miRNA 在细胞核内由微处理体协助的一种 RNase (RNA 内切酶) -Drosha 加工成约 60-90 nt 长的 miRNA 前体 (pre-miRNA), 通过核输出蛋白 5 (Exportin-5) 途径转运出细胞核至细胞质。在细胞质中, 由另一种 RNase -Dicer 将成熟的 miRNA 从 loop 结构中剪切出来, 加工剪切为长度 19-25 nt 的成熟 miRNA。

作者简介: 刘浩 (1976-), 男, 硕士, 主治医师, 主要研究方向: 骨创伤。电话: 021-81873397, E-mail: lh149gk@163.com

[△] 通讯作者: 纪方, E-mail: doctorjif@yahoo.com.cn

(收稿日期: 2011-10-26 接受日期: 2011-11-17)

2.2 MicroRNA 的功能

MiRNA 在细胞循环调节中发挥着重要作用,包括细胞分化、细胞凋亡以及细胞增殖。

迄今为止,miRNA 只在多细胞生物中被鉴定出,而在单细胞生物中却不存在。这表明,miRNA 是一种将机体分化成多种细胞或多种组织,并保持细胞处于特殊分化状态的特殊物质。最近的几个发现证明了 miRNA 是细胞分化作用的调节器。1、不分化的或分化差的细胞不需要 miRNA 依然能存活,例如小鼠的胚胎干细胞不生成 miRNA 却能保持活力,但失去了分化功能可以证明这一点^[3]。2、在斑马鱼生长初期,细胞未出现分化,大部分 miRNA 不表达。而到了生长后期,大多数细胞种类都出现时,miRNA 会出现组织特异性表达^[4]。

在细胞凋亡过程中,miRNA 同样发挥着重要作用。Shi 等^[5]通过实验发现,miR-181a 和 miR-181b 可以触发生长抑制和细胞凋亡,转染的 miR-181a 和 miR-181b 在体外抑制神经胶质瘤细胞的增殖,增加神经胶质瘤细胞的细胞凋亡率。Liu 等^[6]在对结直肠癌的研究中发现在体外恢复结直肠癌细胞系中 miR-195 的表达能促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤生长,可以将 miR-195 作为结直肠癌的肿瘤抑制基因。

在 miRNA 与细胞增殖的关系中, Lee 等^[7]发现 miR-373 在食管癌病理组织中过量表达促进食管癌细胞增殖。miR-373 表达的靶向蛋白为 LATS2,它们之间为负向调节关系。失调的 miR-373 表达导致 LATS2 蛋白的表达失调,进而出现细胞的生长失调,最终导致食管肿瘤的发生。

3 MicroRNA 与肿瘤的相关研究

3.1 MicroRNA 与肿瘤的发生发展

50%以上的人类 miRNA 基因位于肿瘤相关基因区域,例如脆性位点、杂合子丢失区、扩增区或是通常的断裂点区。它们控制着细胞增殖、细胞粘附、细胞凋亡、血管发生等重要过程。这些 miRNA 的调控异常在肿瘤的发生、发展、扩散等方面扮演者重要角色。某些 miRNA 在肿瘤组织中低表达,而这些 miRNA 起着抑制癌基因进而阻止肿瘤发生作用,这一类 miRNA 被称为肿瘤抑制基因。而有些 miRNA 在肿瘤组织中高表达,这些 miRNA 起着抑制抑癌基因进而促进肿瘤发生作用,这一类 miRNA 被称为癌基因。2010 年,第一次人类癌基因与抑癌基因的大规模分析已经被报告,这将有助于肿瘤标记物的识别以及更好的研究这些 miRNA 在肿瘤中发挥的作用。

某些 miRNA 在正常组织及肿瘤中表达存在着显著差异,这种 miRNA 表达的多态现象与肿瘤发生的风险存在着正相关或负相关联系。例如,miR-21, miR-182 以及 let7-5a 在胶质母细胞瘤、乳腺癌、前列腺癌及肺癌中表现出异常过度表达,而 miR-145 在以上几种肿瘤组织中却会出现低表达现象。这提示以上这几种 miRNA 可能会成为所对应的肿瘤的癌基因或抑癌基因。另据报道,miR-27 基因与日本人群中胃癌的发病风险存在着相关联系^[8],而对于中国人群而言,miR-196a-2 基因与胃癌的发病风险存在相关联系^[9]。第一个被证实的促进肿瘤发生的癌基因是 miR-155,在进行了 miR-155 转基因培育的小鼠中 miR-155 可以诱导 B 细胞淋巴瘤的发生^[10],而 miR-155 也在人类的几种肿瘤组织中存在过量表达现象,例如淋巴瘤、乳腺癌、

肺癌以及结肠癌。

3.2 MicroRNA 与肿瘤的侵袭转移

在肺癌细胞系中,let-7 miRNA 家族的过表达能够抑制肿瘤细胞的增殖、分化和肿瘤细胞的侵袭转移。Ras 家族、高迁移率组 A 蛋白 (HMGA2)、c-Myc、细胞周期调节因子 CDC25A、CDK6 和 Cyclin D2 均是 let-7 的靶基因。其最具代表性的两个例子是促进细胞增殖的 Ras 家族和参与细胞增殖分化的 HMGA2。经实验证实,miR-126 和 miR-335 表达缺失与乳腺癌细胞的高侵袭性有关,在乳腺癌细胞系(如 MDA, MB-231)中往往出现 miR-126 和 miR-335 的表达缺失,通过逆转录病毒转导的方法恢复 miR-126 或 miR-335 的表达,可以使乳腺癌细胞的转移活性减少 80%,而 miR-155、miR-21 在高侵袭性乳腺癌组织中的表达往往上调,提示可能与乳腺癌组织的侵袭转移能力正相关。Gee^[11]等证明 miR-10b 对乳腺癌的侵袭及转移有影响,而 miR-21 的过度表达与乳腺癌患者病情的严重程度及肿瘤的淋巴结早期转移相关。在鼻咽癌组织和正常鼻咽组织中, Sengupta^[12]等利用芯片技术鉴定了 8 种差异表达的 miRNA (miR-29c, miR-34b, miR-34c, miR-212, miR-216, miR-217, miR-151, miR-192),其中 miR-29c 在鼻咽癌组织中的表达量是正常鼻咽组织的 1/5。

3.3 MicroRNA 与肿瘤的预后

Yu^[13]等用 COX 回归和危险系数评分的方法确定了 5 种 miRNA 标志(miR-221, let-7a, miR-137, miR-372, miR-182)可以用来预测非小细胞型肺癌患者治疗预后。通过危险系数评分公式计算出患者在 miRNA 标志中的评分,发现评分高的患者的预后及无瘤生存率比评分低的患者要差,从而提示这些 miRNA 的过表达可能与肿瘤的预后密切相关。Laios 等^[14]通过 miRNA 的差异表达,推测 miR-9 和 miR-223 可能成为卵巢癌复发的潜在的标志物。

3.4 MicroRNA 与肿瘤的诊断

肿瘤病人的生存率及预后取决于确诊时肿瘤的分期,越是早期诊断肿瘤病人的预后越好,因此敏感的标记物对于肿瘤的诊断至关重要。例如在胰腺导管腺癌中,miR-205 以及 miR-21 会出现过多表达,因为这两种 miRNA 基因表达的向上调节会优先于胰腺导管的表型改变,因此它们的表达可以作为胰腺导管腺癌诊断的标记物^[15]。近来随着 miRNA 检测技术的发展,在血液、血浆、唾液样本中检测 miRNA 可以为多种癌症的检测提供无创检测方法。基因芯片技术的发展更是为肿瘤诊断技术的创新提供新的平台,人们通过对肿瘤发生发展过程中体内 miRNA 表达的变化,利用基因芯片技术对肿瘤细胞中 miRNA 表达情况进行检测,来进行对肿瘤的诊断。随着基因芯片技术的不断完善,通过提高检测的特异性及敏感性,以及检测成本的降低,将极大推动 miRNA 检测技术应用于临床。目前经试验证实与人类肿瘤组织相关性较高的可以考虑用于肿瘤诊断的潜在标志物的 miRNA 有胃癌组织中的 miR-106b、miR-17;乳腺癌组织中的 miR-155、miR-21;淋巴瘤组织中的 miR-21;前列腺癌组织中的 miR-141;胰腺癌组织中的 miR-155 等等。

3.5 MicroRNA 与肿瘤的基因治疗

由于 miRNA 在基因表达调控方面起重要作用,miRNA 的

表达失调可以引起多种疾病,人类改变 miRNA 的表达也可以作为一种疾病的治疗手段。到目前为止,以 miRNA 作为治疗方法来研究最前沿的是具有肝脏特异性靶向的 miR-122,其与丙型肝炎病毒的复制以及胆固醇代谢有关。在 2008 年 Santaris 生物药剂学公司已经将一种针对丙型肝炎的 miRNA 治疗方法应用于二期临床试验。在肿瘤的治疗方面, Kim^[16]等发现,在乳腺癌细胞系及乳腺癌病人的癌组织中, miR-145 与它的靶基因如 fascin-1、c-myc、SMAD2/3、IGF-1R 存在着负相关关系,他们将腺病毒构建的 miR-145 用于乳腺癌细胞系的体外试验以及进行乳腺癌小鼠的体内试验,发现在体内及体外试验中腺病毒构建的 miR-145 均能抑制肿瘤细胞的生长及活力,而且 miR-145 与 5-氟尿嘧啶联合应用显示出强烈的抑癌作用,因此他们相信 miR-145 具有针对乳腺癌的治疗价值。

4 展望

MiRNA 通过与靶 mRNA 的互补配对在转录后水平对基因表达进行调控,导致 miRNA 的降解或翻译抑制。MiRNA 与其靶 mRNA 分子组成一个复杂的调控网络,参与包括细胞增殖、凋亡、细胞分化、发育和逆境应答等多种生物学过程。从分子生物学的角度来看,肿瘤可视为基因的疾病,对 miRNA 表达谱的分析显示多种肿瘤都出现了 miRNA 表达失调。通过对 miRNA 的功能以及作用机制研究的不断深入,将有助于进一步揭示肿瘤的发生、发展、侵袭、转移机制,也为肿瘤的诊断及治疗提供新的方法。

参考文献(References)

- [1] Lee R.C., Feinbaum, R.L., and Ambros, V. The C. Elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell, 1993, 75: 843-854
- [2] N. Bushati, S.M. Cohen, Annu Rev Cell Dev Biol, 2007, 23: 175-205
- [3] Kanellopoulou, C., Muljo, S.A., Kung, A.L., Ganesan, S., Drapkin, R., Jenuwein, T., Livingston, D.M. and Rajewsky, K. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing[J]. Genes Dev, 2005(19): 489-501
- [4] Wienholds, E., Kloosterman, W.P., Miska, E., Alvarez-Saavedra, E., Berezikov, E., de Bruijn, E., Horvitz, H.R., Kauppinen, S. and Plasterk, R.H. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development[J]. Science, 2005, 309: 310-311

- [5] L. Shi, Z. Cheng, J. Zhang, R. Li, P. Zhao, Z. Fu, Y. You, hsa-mir-181a and hsa-mir-181b function as tumor suppressors in human glioma cells[J]. Brain Res, 2008, (1236): 185-193
- [6] Lin Liu, Lin Chen, Xu Ying-xin, Rong Li, Du Xiao-hui. MicroRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications 400, 2010: 236-240
- [7] Kuen-Haur Lee, Yih-Gang Goan, Michael Hsiao, et al. MicroRNA-373 (miR-373) post-transcriptionally regulates large tumor suppressor, homolog 2 (LATS2) and stimulates proliferation in human esophageal cancer[J]. Experimental cell research, 2009, (315): 2529-2538
- [8] Arisawa T, T. Tahara T, et al. A polymorphism of microRNA 27a genome region is associated with the development of gastric mucosal atrophy in Japanese male subjects [J]. Dig Dis Sci, 2007 (52): 1691-1697
- [9] Sheng Peng, Zhongshen Kuang, Chenyi Sheng, et al. Association of MicroRNA-196a-2 Gene Polymorphism with Gastric Cancer Risk in a Chinese Population[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55: 2288-2293
- [10] Costinean S, Zanesi N, Pekarsky Y, Tili E, Volinia S, Heerema N, et al. (2006). Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, (103): 7024-7029
- [11] Harriet E. Gee, Carme Camps, Francesca M. Buffa, et al. MicroRNA-A-10b and breast cancer metastasis[J]. Nature, 2008, (455): E8-E9
- [12] Sengupta S, Den Boon J A, Chen I H, et al. MicroRNA-29e is down regulated in nasopharyngeal carcinomas. Up regulating mRNAs encoding extracellular matrix proteins [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(15): 5874-5878
- [13] Yu SL, Chen HY, Chang GC, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer[J]. Cancer Cell, 2008, 13(1): 48-57
- [14] 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(1): 35
- [15] Magel Chalret du Rieu, Jérôme Torrisani, Janick Selves, Talal Al Saati, et al. MicroRNA-21 Is Induced Early in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Precursor Lesions[J]. Clinical Chemistry, 2010(56): 603-612
- [16] Kim Seok-Jun, Oh Ji-Sun, Shin Ji-Young, et al. Development of microRNA-145 for therapeutic application in breast cancer[J]. Journal of Controlled Release, 2011, (155): 427-434

(上接第 1397 页)

- [22] Everly DN Jr, Mainou BA, Raab-Traub N. Induction of Id1 and Id3 by latent membrane protein1 of Epstein-Barr virus and regulation of p27/Kip and cyclin-dependent kinase 2 in rodent fibroblast transformation [J]. J Virol, 2004, 78 (24): 13470-13478
- [23] Liu QY, Han AJ, You SY, et al. Correlation of Epstein-Barr Virus-encoded Latent Membrane protein-1 to Fascin and phosphorylated Stat3 in nasopharyngeal carcinoma [J]. Chinese

Journal of cancer, 2008, 27(10): 1070-1076

- [24] Faqing T, Zhi H, Liqun Y, et al. Epstein-Barr virus LMP1 initiates cell proliferation and apoptosis inhibition via regulating expression of Survivin in nasopharyngeal carcinoma [J]. Exp Oncol, 2005, 27(2): 96-101
- [25] Lee IS, Shin YK, Chung DH, et al. LMP1-induced downregulation of CD99 molecules in Hodgkin and Reed-Sternberg cells [J]. Leuk Lymphoma, 2001, 42(4): 587-594