

MicroRNA 与肿瘤的研究进展

贺慧鹏 廖爱军[△]

(南华大学附属第一医院消化内科 湖南 衡阳 421001)

摘要 microRNA 是近年来发现的与基因表达调控相关的一类非编码小分子单链 RNA, 长度约 21-22 个碱基对构成, 通过与靶 mRNA 碱基对特异结合, 引起靶 mRNA 降解或翻译抑制, 调控基因转录后的表达。microRNA 通过干预基因表达, 从而对细胞的分化、增殖、凋亡、新陈代谢等多项生命活动进行调控。microRNA 的表达异常可以引起细胞的分化、增殖、凋亡的异常, 这与肿瘤的发生、发展关系密切。其作为一个新的分子生物学标志, 在肿瘤的诊断、治疗中有着重要的潜在价值。

关键词 microRNA 肿瘤 基因表达

中图分类号 R730.231 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)04-757-03

Progress of Research on MicroRNA and tumor

HE Hui-peng, LIAO Ai-jun[△]

(Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, University of south China, Hengyang 421001, China)

ABSTRACT: MicroRNA discovered recently is a class of non-coding single-stranded RNA molecules associated with the regulation of gene expression. It is length of about 21-22 base pairs, and can cause inhibition of target mRNA degradation or translation by specific binding of the target mRNA base pairs, furtherly regulated gene expression of post-transcription. MicroRNA can regulate cell's differentiated, proliferation, apoptosis, metabolism by interfering with gene expression. Abnormal expression of microRNA can cause disorder of cell's differentiated, proliferation, apoptosis, metabolism, which is closely related to the occurrence and development of tumor. MicroRNA is biological markers of new molecular, which is important potential value in diagnosis and treatment of tumor.

Key words: microRNA; Tumor; Gene-expression

Chinese Library Classification(CLC): R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)04-757-03

1 microRNA 概述

microRNA 是近年来发现的与基因表达调控相关的一类非编码小分子单链 RNA, 长度约 21-22 个碱基对构成, 通过与靶 mRNA 碱基对特异结合, 引起靶 mRNA 降解或翻译抑制, 调控基因转录后的表达^[1]。microRNA 基因, 以单拷贝、多拷贝、基因簇的形式存在于非编码的基因间隔区, 通过调节 microRNA 的转录, 从而调控其它基因的表达水平。目前人类 microRNA 数据库中已有 721 个之多, 大约占人类基因总数的 2-3%, 约调控 30% 的编码蛋白基因, 每个 microRNA 约调控 100 个靶 mRNA^[2]。microRNA 参与许多生物学过程, 包括生长发育, 新陈代谢, 细胞分化、增殖、凋亡等, 其表达的异常与肿瘤的发生、发展, 转移密切相关, 其表达水平的改变是肿瘤共有的特征。

2 microRNA 的生成和作用

microRNA 的合成是一个复杂的, 多步骤精细调控的生物学过程。microRNA 基因以单个基因或基因簇的形式分布于基

因组中, 其大部分位于基因间隔区, 但也有部分 microRNA 基因位于内含子或外显子区域。microRNA 生物合成主要在细胞核与细胞质内完成, 编码 microRNA 的基因在细胞核内由 RNA 聚合酶 II 生成初级 microRNA(pri-microRNA), 其具有茎-环结构, 含数量相对较多的碱基序列^[3]。Pri-microRNA 在 Drosha-DGCR8 酶复合体作用下切割为前体 microRNA(pre-microRNA)^[4], pre-microRNA 是长为 60-70nt 的 RNA, 其 5' 末端有磷酸基结构, 3' 末端有两个核苷酸的突出结构, 能被核内的转运蛋白 exportin-5 识别, 将其转运至细胞质。在胞质中有酶 Dicer, 将 pre-microRNA 双链 microRNA, 最终一条链会降解, 一条链切割成含 21-22 个碱基的成熟 microRNA^[5]。成熟 microRNA 能与 RISC (RNA 诱导沉默复合体, RNA-induced silencing complex) 形成非对称的 RISC 复合体(asymmetric RISC assembly)^[6,7]。该 RISC 复合体能与靶基因的 mRNA 相结合, 而发挥调控作用。RISC 复合体调控靶基因 mRNA 的方式主要通过与其互补配对, 当互补配对程度高时, 通过 RISC 切割酶 Ago-2 引起目标靶 mRNA 降解, 而使基因沉默, 当互补配对程度低时, 引起目标靶 mRNA 翻译抑制, 蛋白表达水平下降, 而 mRNA 的水平并无变化^[8,9]。通过这种对 mRNA 的调控, 从而对多种生命活动过程进行调节。

3 microRNA 与肿瘤的发生

近几年的许多研究表明 microRNA 与肿瘤的发生密切相关, 其通过调节癌基因及抑癌基因的表达, 调控细胞的分化、增殖、凋亡, 从而促进或抑制肿瘤的发生, 期间有着复杂的调节机

作者简介 贺慧鹏(1981,2-),男,职称:主治医师,主要研究方向:消化道肿瘤发病机制的研究,Tel:18711412627,18307356288,
E-mail:hrhhl@126.com

△通讯作者 廖爱军(1964,8-),女,职称:教授/硕士生导师,主要研究方向:消化道肿瘤发病机制的研究,
E-mail:aijun.liao@163.com

(收稿日期:2011-06-27 接受日期:2011-07-23)

制,形成调控网络,共同促进或抑制肿瘤的发生。在此过程中,表达减少的 microRNA 可视为“抑癌基因”,而表达升高的 microRNA 可视为“癌基因”。

最早有关 microRNA 与肿瘤发生关系的发现,源于对慢性淋巴细胞白血病(CLL)的分子生物学研究,在染色体 13q14 区域存在着 miR-15a、miR-16a 基因,其表达水平只有正常细胞的一半,最新的研究表明 B 细胞 CLL 瘤基因正是 miR-15a、miR-16a 的靶基因^[10]。现发现 microRNA 基因的 50%位于与肿瘤有关的染色体座位及脆性位点上,肿瘤的发生直接及间接与这些基因相关,现已证实 60%的肿瘤的发生与抑癌基因 P53 的异常表达,及突变有关,He 等人发现 microRNA 能够干预 P53 的表达过程来抑制肿瘤细胞的生长。Guil 等人发现,RNA 链接蛋白能促进特定 microRNA 的表达,从而影响肿瘤的发生发展,如连接蛋白 hnRNPA1 能与 miR-18a 特异结合,促进 miR-18a 大量表达,从而促进肿瘤的发生发展。现在很多证据证明 microRNA 的表达改变是肿瘤发生的共同特征。

4 microRNA 与肿瘤的转移

microRNA 与肿瘤的转移亦有密切的关系,Kong^[11]等人发现,miR-155 表达水平升高可以促进肿瘤细胞间紧密连接的破坏,导致肿瘤转移。敲除 miR-155 基因的乳腺癌细胞侵袭能力大大降低。microRNA 能通过促进上皮细胞间质转型(EMT),从而促进肿瘤细胞的侵袭性和转移能力。抑制 miR-200, miR-205,可以促进 ZEB1 及 ZEB2 的表达上调,ZEB1 和 ZEB2 是常见的与肿瘤转移相关的转录因子,其通过影响 E-钙粘素,而影响 EMT 的过程,从而影响肿瘤细胞的粘附力及转移能力^[12,13]。E-钙粘素是与细胞粘附力有关的蛋白质。Gebeshuber^[14]等人发现,miR-29a 表达上调可抑制 TTP 蛋白 (tristetraprolin),促进 EMT 过程发生,导致肿瘤转移。

miR-335 表达下调,可以激活 SOX4、TNC 基因,促进肿瘤转移^[15]。miR-10b 能抑制 HOXD10,而激活 RHOC 基因,促进肿瘤转移^[15,16]。miR-34a 能影响 c-Met 信号途径,而影响肿瘤细胞转移^[17]。目前发现 miR-21 能促进多种肿瘤的转移,包括结肠癌^[18]、肝癌^[19]、胆管癌^[20]、食管癌^[21]等。Let-7 通过调控 HMGA2 基因,影响肺癌的侵袭及转移能力^[22]。miR-106a 与胃癌的分期、淋巴结转移及远处转移呈正相关,可以作为判断预后的一个指标^[23]。目前发现有将近 40 余种 microRNA 与调控肿瘤的转移有关。由此证明 microRNA 在肿瘤中的差异表达能通过调控基因表达,蛋白质翻译,及相关信号通路,形成调控网络,进而干预肿瘤的转移能力,影响肿瘤细胞的侵袭性。

5 microRNA 与肿瘤的诊断

大量的研究显示,microRNA 在肿瘤细胞、癌组织、癌旁组织、正常组织中都有特征性的表达谱改变,在肿瘤患者的尿液中也有特征性的表达水平改变,这就为肿瘤的诊断提供了新的思路,也提示 microRNA 可能可以成为肿瘤诊断的重要的分子生物学标志。

Lu^[24]等人通过流式细胞术及生物芯片技术检测了将近 20 种肿瘤的 microRNA 表达,发现每种肿瘤都有特征性的 microRNA 表达谱,且表达谱还能反映肿瘤的发展、分化、分期,及

肿瘤的组织细胞来源。Volinia^[25]等人应用生物芯片技术分析 540 例人类组织样本,其中 363 种实体肿瘤,177 例正常对照组,发现肿瘤组织与正常组织 microRNA 表达谱完全不同,其中 36 种 microRNA 上调,而 21 种 microRNA 表达下调。Golub 小组运用 real-timePCR 及 microRNA 芯片技术,对 334 种不同肿瘤的 microRNA 表达谱进行分析,发现表达谱与肿瘤组织来源及分化程度相关,进而提出建立各种肿瘤的 microRNA 表达谱基因库,可能对肿瘤的诊断有重要作用^[26]。

Lawrie^[27]等人对 60 例 B 细胞淋巴瘤及 43 例健康对照者的血清中的 miR-155、miR-210、miR-21 分析发现,三者明显高于对照组,提示血清中的 miR-155、miR-210、miR-21 可以作为诊断 B 淋巴细胞瘤分子标记。Zhou^[28]等人运用 real-time PCR 技术检测 90 例胃癌患者血液中 miR-106a 及 miR-17 的表达明显高于正常人血液,这提示 miR-106a、miR-17 可以作为胃癌的分子标记用于诊断。研究者发现,膀胱癌患者尿液中的 miR-126、miR-152 表达水明显升高,作为诊断标记物的特异性 82%,敏感性 72%^[29]。

6 microRNA 与肿瘤的治疗

因 microRNA 的表达对肿瘤的发生、发展、转移、分期、预后及肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡有着密切关系,其本身起着癌基因及抑癌基因的作用,因此对肿瘤中 microRNA 表达进行干预,为肿瘤的治疗开辟了一个新的途径,成为一个亮点。

目前对 microRNA 进行干预来治疗肿瘤主要有两条思路:1.通过转染或直接导入人工合成的 microRNA,使有抑癌基因特性的 microRNA 表达上调,从而抑制肿瘤的生长;2.应用与特异 microRNA 互补的反义小分子核苷酸与相应的 microRNA 相结合,来沉默或竞争其与 mRNA 的结合,使有癌基因特性的 microRNA 功能得以阻断,从而抑制肿瘤的生长。在小鼠不同器官注入 AMOs(抗 microRNA 寡核苷酸),抑制癌基因特性的 microRNA,可以明显抑制肿瘤的生长^[30]。用病毒或脂质法瞬时导入大量抑癌基因作用的 microRNA,可用于某些肿瘤的治疗^[31,32]。

近年的研究还发现,microRNA 还与肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性有关,Bertino^[33]等人提出了“microRNA 的药物基因组学”(miRNA pharmacogenomics)概念,通过研究 microRNA 的表达及突变,对病人的个体化用药有帮助。抑制胆管细胞癌中的高表达的 miR-21、miR-200b,胆管癌对吉西他滨的敏感性明显提高,而抑制 miR-141 后该药物抑制肿瘤生长的作用明显下降^[34]。To^[35]等人发现 SIM180 细胞的 ABCG2 基因 3'UTR 区发生突变,使 miR-519c 作用位点缺失,导致与药物外排的有关的 ABCG2 蛋白表达上调,而使肿瘤细胞耐药。由此可见 microRNA 与抗肿瘤药物有协同或拮抗作用,这将为抗肿瘤药物的开发及有效使用提供新的思路。

7 展望

肿瘤,一类严重影响现代人类健康的疾病,肿瘤的发生,涉及多种基因的激活和/或抑制,其又与各种生物大分子形成复杂的调控网络。近几年发现的 microRNA 与肿瘤的发生、发展、分期、治疗、预后及肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等有着密切关

系,使 microRNA 成为现代生物医学研究的热点和亮点。虽然 microRNA 在肿瘤的研究中还处于起步阶段,还有很多复杂的机制未完全清楚,但现有的研究显示,其无论是在肿瘤的基础理论研究,还是在肿瘤的临床诊断、治疗、判断预后及药物开发中,都有着巨大的潜在价值,为肿瘤的防治开辟了一条新的途径。随着生物信息学、生物芯片技术、real-timePCR 等现代生物学技术应用于 microRNA 的研究,定将解开其复杂的生物学功能,使其成为人类防治疾病特别是肿瘤的一把利剑。

参考文献(References)

- [1] O. Donnell KA, Wen tzel EA, Zel lerK I, et al c2M yc2regulated microRNA s modulate E2F1 expression[J]. Nature,2005, 435 (7043): 839- 843
- [2] Sage C, A gam iR. Immense promises for tiny molecules uncovering miRNA function s[J]. Cell Cycle, 2006, 5(13): 127
- [3] Cummin s JM, Velcu le scu V E. Implication s of micro-RNA profiling for cancer diagnosis[J]. Oncogene, 2006, 25 (64): 220-227
- [4] Han J, Lee Y, Yeom KH, et al. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha3 /DGCR8 complex [J]. Cell, 2006, 125 (5): 887-901
- [5] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, et al. Role for a bidentate ri-bonuclease in the initiation step of RNA interference [J]. Nature, 2001,409 (6818):363-366
- [6] Schwarz DS, Hutvá gner G, Du T, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex[J]. Cell,2003,115(2):199-208
- [7] Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD, et al. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias[J]. Cell,2003,115(2):209-216
- [8] Liu J, Carmell MA, Rivas FV, et al. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi[J]. Science, 2004,305(5689):1437-1441
- [9] Song JJ, Smith SK, Hannon GJ, et al. Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity [J]. Science,2004,305 (5689):1434-1437
- [10] Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005 , 102(39): 13944-13949
- [11] Kong W, Yang H, He L, et al. MicroRNA-155 is regulated by the transforming growth factor beta/Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28 (22): 6773-6784
- [12] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(5):593-601
- [13] Burk U, Schubert J, Wellner U, et al. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells[J]. EMBO Rep, 2008,9(6): 521-522
- [14] Gebeshuber CA, Zatloukal K, Martinez J. miR-29a suppresses tristetraprolin, which is a regulator of epithelial polarity and metastasis[J]. EMBO Rep, 2009, 10(4):400-405
- [15] Negrini M, Calin GA. Breast cancer metastasis: a microRNA story[J]. Breast Cancer Res, 2008, 10(2): 203
- [16] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. Nature, 2007, 449(7163): 682-688
- [17] Li N, Fu H, Tie Y, et al. miR-34a inhibits migration and invasion by down-regulation of c-Met expression in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Cancer Lett, 2009,275(1): 44-53
- [18] Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer [J]. Oncogene, 2008, 27(15):2128-2136
- [19] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer[J]. Gastroenterology, 2007,133(2):647-658
- [20] Selaru FM, Olaru AV, Kan T, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in human cholangiocarcinoma and regulates programmed cell death 4 and tissue inhibitor of metalloproteinase 3 [J]. Hepatology,2009, 49 (5):1595-1601
- [21] 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
- [22] LeeYS, Dutta A. The tumor suppress or microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene [J]. Genes Dev,2007,21(9):1025-1030
- [23] Xiao B, Guo J, Miao Y, et al. Detection of miR -106a in gastric carcinoma and its clinical significance [J]. Clin Chim Acta, 2009, 400 (1/2): 97 2102
- [24] Lu J, Getz G, Eric A, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancer[J]. Nature, 2005, 435(7043): 834-838
- [25] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors define cancer gene targets [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006 , 103 (7): 2257-2261
- [26] Lu J, Getz G, Eric A, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancer[J]. Nature, 2005, 435 (7043):834
- [27] Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, et al Detection of elevated levels of tumor associated microRNA s in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. Br J Haematol 2008, 141(5): 672 -675
- [28] Zhou H, Guo JM, Lou YR, et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker [J]. Mol Med 2010, 88 (7): 709-717
- [29] Merle H, Kai H, Hartmut M, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer [J]. Urol Oncol, 1, 2009
- [30] Mattes J, Yang M, Foster PS. Regulation of microRNA by antagonists: a new class of pharmacological antagonists for the specific regulation of gene function?[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 36 (1): 8-12
- [31] Sampson VB, Rong NH, Han J, et al. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(20): 9762-9770
- [32] Johnson CD, Esquela-Kerscher A, Stefani G, et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(16): 7713-7722
- [33] Bertino J R, Banerjee D, Mishra P J. Pharmacogenomics of microRNA: a miRSNP towards individualized therapy [J]. Pharmacogenomics,2007, 8: 1625-1627
- [34] Matskevich A A , Moelling K. Dicer is involved protection against influenza virus infection[J]. J Gen Virol, 2007, 88: 2627-2635
- [35] To K K, Zhan Z, Litman T, et al. Regulation of ABCG2 expression at the 3' untranslated region of its mRNA through modulation of transcript stability and protein translation by a putative microRNA in the S1 colon cancer cell line[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28: 5147-5161