

miRNA 与肿瘤的研究进展

唐仪 综述 苏琦 审校
(南华大学肿瘤研究所, 湖南 衡阳 421001)

[摘要] 微小 RNA(microRNA, miRNA)是一种长度约为 22 nt 的非编码 RNA,它们通过 miRNA 介导的特异性的基因沉默导致靶 mRNA 降解及抑制蛋白质的合成调控转录后基因表达水平。miRNA 对细胞的增殖、分化和凋亡有重要的调节作用,在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同,参与了肿瘤的发生、发展。本文主要讨论 miRNA 在肿瘤方面的研究进展。

[关键词] 微小 RNA; 癌; 表达调控

doi:10.3969/j.issn.1673-2588.2010.01.010

Advance in the research on miRNA and tumor

TANG Yi, SU Qi

(Cancer Research Institute, University of South China, Hengyang Hunan 421001, China)

[Abstract] MicroRNAs (miRNA) are a class of ~22-nucleotides noncoding RNAs, which participate in regulating gene expression at the post-transcriptional level. Post-transcriptional silencing of target genes by miRNA occurs either by targeting specific cleavage of mRNA or by targeting specific protein synthesis. There are significantly differential expressions of miRNAs between normal tissues and cancers, suggesting that miRNAs may participate in cancer development and progression. In this review, we will discuss the progress in the study on microRNA in cancer.

[Key words] microRNA; cancer; expression regulation

[Int J Pathol Clin Med, 2010,30(1):0053-04]

microRNAs(miRNA)是近年来新发现的一类非编码小分子 RNA,长度为 22~28 个核苷酸,广泛存在于真核生物中。miRNA 通过与靶 mRNA 3'UTR 完全或不完全的互补结合,导致靶 mRNA 降解或翻译抑制,从而调控靶基因的表达,影响细胞增殖、分化和凋亡。目前研究认为,miRNAs 可通过类似癌基因、抑癌基因或其他方式调控肿瘤的发生、发展和转归过程^[1]。

1 miRNA 的一般特点

1.1 miRNA 基因的结构和基因组定位

Kong 等^[2]利用最新的基因组序列和转录单位数据库,注释了人类和鼠的 miRNA 基因的基因组位置。在已知的 232 个哺乳动物的 miRNA 中,70% 以上定位于已定义的转录单位,一类位于非编码转录本中的外显子,如 miR-21, miR-155 和 miR-23a-27a-24-2 簇;另一类定位于内含子,如 miR-15a-16-1 簇;此外,还有

收稿日期:2009-12-03 修回日期:2010-01-20

作者简介:唐仪,硕士研究生,主要从事胃癌发生与防治的分子机制研究。

通讯作者:苏琦,E-mail:suqi1945@yahoo.com.cn

基金项目:湖南省自然科学基金重点项目(07JJ3033)。This work was supported by Natural Science Foundation of Hunan Province, P. R. China (07JJ3033).

miRNA与内含子或者外显子重叠,这取决于交替拼接的方式,这一种被命名为混合型^[2]。研究显示,人类少量的miRNA出现在编码mRNA的3'端非翻译区(如miR-198),其编码的是人类卵泡抑素相关蛋白^[3]。miRNA的另外一个特点是大约50%已知的miRNA成簇出现^[4]。miRNA的这些结构特点在其调控和生物发生两方面具有重要的意义^[5]。

1.2 miRNA的生物合成

miRNA由不同的染色体位点转录而成,定位于独立的非编码RNA或者蛋白编码基因的内显子。miRNA生物合成和成熟过程如下:首先由miRNA基因由RNA聚合酶II介导,转录成初期microRNA(pri-miRNA),其含有帽子结构和poly A尾。pri-miRNAs在核内由Rnase III家族成员Drosha对其加工成前体microRNA(pre-miRNA),其长70 nt,有茎环结构,与双链RNA结合蛋白DGCR8结合。Pre-miRNA由exportin-5转运到胞质,再由另一种RNAase III, Dicer对其加工^[4]。随后,miRNA双体经过解旋酶的作用解旋,产生成熟miRNA单体。成熟miRNA的大小差异与pre-miRNA结构上的凸起或不匹配程度有关。其中一条结合到RNA诱导的基因沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)中,形成非对称RISC复合物(asymmetric RISC assembly)。在这个复合物中,一条链保留作为成熟的miRNA,而另一条链降解。此时,这个复合物可以调控其靶基因^[4]。

1.3 miRNA的作用方式

RISC中的miRNA可通过互补配对结合到靶信使RNA 3'端的UTR上,从而抑制该基因翻译。非对称性是miRNA和其靶点结合的特点,因为,miRNA 5'末端较3'末端有更多的碱基可以与靶点互补。miRNA对其功能靶点的最低要求是,至少7个碱基与5'端互补结合,就可调控其靶基因^[7]。miRNA与靶mRNA的作用方式有两种。当两者完全互补时,miRNA的作用方式与RNA干扰相似,即与完全互补的同源mRNA配对结合,导致靶mRNA降解。而当miRNA与靶mRNA不完全互补时,miRNA则通过与靶mRNA的3'端非翻译区结合,阻遏转录后翻译。由于许多miRNA与靶mRNA并不完全互补,所以主要的作用模式是转录后的翻译阻遏^[8]。

2 miRNA表达与肿瘤发生

近年来,miRNA介导的转录后基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS)与肿瘤形成的相关性已成为关注的热点。肿瘤细胞与正常组织细胞miRNA表达谱具有明显差异,且多数miRNA基因都位于肿瘤形成相关的脆弱基因位点,miRNA基因高频率地出现在这些与肿瘤密切相关的易变基因组中,提示miRNA在肿瘤形成过程中可能扮演着重要的角色^[9]。

2.1 miRNA与肺癌

Markou等^[10]采用miRNA微阵列分析鉴定表达谱,定量检测了48对非小细胞肺癌与周围非癌组织成熟miR-21的含量。结果显示,miR-21在肺癌组织中表达显著上调,抑制凋亡基因产物表达,与肺癌形成、预后和总存活数有关。miR-21通过下调肿瘤抑制因子原肌球蛋白1(tropomyosin I, TPM1),行使癌基因功能^[11]。

研究显示,let-7在肺癌中表达降低^[12-13]。其表达水平较低,是肿瘤预后较差的生物标记^[12]。最典型的let-7的靶点是Ras家族和HMGA2(high-mobility group protein A2)^[14-15]。HMGA蛋白是非组蛋白染色体蛋白质,参与转录调控,对细胞增殖分化起作用。HMGA2与肿瘤形成有关,其机制主要是染色体易位和转录上调,但转录上调功能还不是很清楚^[16]。HMGA2在其3'端UTR包含了7个let-7的结合位点,这些位点的改变,促使肿瘤形成^[17]。在体外let-7g可以削弱细胞增殖,促进肿瘤细胞死亡。在免疫缺陷小鼠体内,let-7g可以抑制肿瘤形成^[18]。let-7家族能调控N-Ras和K-Ras mRNA表达。实验鉴定了KRAS基因3'端UTR与let-7互补位点处的一个可变的等位基因,该基因可以改变let-7对KRAS基因的表达调控方式,并且该等位基因改变后,使抽烟者患NSCLC风险增加^[12,14,19]。

2.2 miRNA与乳腺癌

Lu等^[20]通过对乳腺癌和正常乳腺组织进行鉴定,得到29个差异表达的miRNA,这29个miRNA可以准确地区分肿瘤和正常组织。其中,miR-10b, miR-125b, miR-145下调,miR-21和miR-155上调,提示,这些miRNA可以作为肿瘤抑制基因或者癌基因。运用miRNA表达谱可以对乳腺肿瘤亚型进行

分类,并且,许多 miRNA 与乳腺癌分子亚型有关^[21]。有报道称,miR-7,miR-128a,miR-210 和 miR-51-3p 这 4 个 miRNA 与雌激素受体阳性、淋巴结阴性的乳腺癌演进有关。

在乳腺癌中,miR-21 的靶点基因包括 TPM1, Bcl-2,PTEN(phosphatase and tensin homolog)和 PD-CD4(programmed cell death 4)^[22-23]。抑制 miR-21 可以诱导凋亡,并且下调抗凋亡基因 Bcl-2。TPM1 通过结合微细纤维,调节细胞骨架,发挥其抗癌功能^[22]。在 RNA 水平和蛋白水平,PDCD4 都受到 miR-21 的调控,用 siRNA 技术抑制 PDCD4 蛋白表达,然后检测 miR-21 抑制效应。结果发现,尽管 PDCD4 缺失本身对细胞增殖不会有影响,但它可以使抑制 miR-21 后所引起的抗增殖活性减低。这表明,PDCD4 是 miR-21 的生物学效应的调控因子^[23]。用 real time PCR 检测到在 113 例乳腺癌中,miR-21 表达上调。miR-21 在乳腺癌中频繁高表达,并且这些患者预后较差。这种对预后的影响独立于疾病阶段^[24]。

Negrini 等^[25]发现 miR-10b 表达上调可以促使乳腺癌侵袭转移,但是,在大部分乳腺癌组织中,miR-10b 表达下调。只有在转移的乳腺癌中,半数高表达 miR-10b。经证实 miR-10b 异位表达对肿瘤增殖没有影响,但对乳腺癌细胞进行侵袭实验时,发现细胞侵袭性增强。活体内,异位表达 miR-10b 使无侵袭性的乳腺癌细胞获得侵袭能力。转录因子 HOXD10 是 miR-10b 的靶点,它在转移性肿瘤中表达水平较低。如果 HOXD10 对 miR-10b 无反应,就会减弱 miR-10b 所诱导的细胞运动和侵袭活性。这说明 HOXD10 是其效应因子。

2.3 miRNA 与肝癌

自从研究者从肝组织中克隆到 miR-122 以来,对其的研究成为热点。miR-122 是肝组织中特异的 miRNA,miR-122 缺失与原发肝癌(HCC)预后不良、转移有关。miR-122 在肝脏中表达较丰富,而在肝细胞癌中,表达明显降低,这表明 miRNA 可能对维持肝脏功能起着重要作用。miR-122 可以抑制癌细胞的某些特性,例如克隆存活、不依赖支持物生长、转移、侵袭、上皮-间质转化、裸鼠成瘤。这些结果表明,在肝脏中 miR-122 作为肿瘤抑制因子行

使其功能。在体外 miR-122 可以直接抑制内皮细胞生成血管^[26]。在鼠肝细胞癌模型中,证实了 miR-122 以 ADAM17 为靶点发挥其抑瘤活性^[27]。ADAMs 是 EGFR 和 G 蛋白偶联受体诱导的转移侵袭的关键调控因子,在 HCC 中表达下调,因此,与 HCC 肿瘤特性有关。将 ADAM17 沉默后,体外可以减弱转移侵袭,裸鼠体内可以削弱肿瘤形成、血管形成和局部侵袭,这与 miR-122 表达后的改变一致。在迁移的 HCC 细胞中将 ADAM17 敲除后,可以抑制体外细胞增殖、转移、侵袭和不依赖支持物生长的活性。在体内,敲除后可以抑制肿瘤生长、血管生成和局部侵袭。

miR-101 在肝癌细胞系和人肝癌组织中下调。miR-101 可在体外抑制集落形成,在体内抑制肿瘤生长,促使由化疗药物引起的肝癌细胞凋亡。此外,miR-101 表达下降与 HCC 患者存活率降低有关^[28]。

3 miRNA 的问题与展望

miRNA 可以使靶点信使 RNA 翻译抑制或者将其分解,从而调控基因表达。miRNA 可以作为肿瘤抑制因子或者癌基因,在癌症中发挥其功能^[29]。目前虽然对 miRNA 的研究已取得了很大的进展,但还存在一些问题有待解决。例如如何分离 miRNA 分子,miRNA 与靶 mRNA 之间的关系,miRNA 是否可以调节其它 miRNA,如何寻找肿瘤特异的 miRNA 表达谱等。研究发现,miR-143 和 miR-145 在结肠腺瘤形成早期,表达下调,促使腺瘤形成。对其 3'端突起处进行化学修饰,使其活性增强、抵抗核酸酶。这种经化学修饰后的 miR-143 复合物可以抑制人 DLD-1 结肠癌细胞移植瘤形成,有可能成为治疗结肠癌的 RNA 药物^[30]。这些问题的解决将有利于进一步理解 miRNA 在生物发展中的作用,并为利用 miRNA 进行临床诊断和治疗提供新的依据。特异性肿瘤相关 miRNA 编码基因的发现为肿瘤的基因治疗提供了新的靶点,miRNA 分子药物亦处于研制当中。

参 考 文 献

- [1] Cummins JM, He Y, Leary RJ, et al. The colorectal microRNA [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(10): 3687-3692.
- [2] Kong Y, Han JH. MicroRNA: biological and computational perspective [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2005, 3(2):

- 62-72.
- [3] Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors [J]. *Mol Cell*, 2004, 16(6): 861-865.
- [4] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858.
- [5] Brown JW, Marshall DF, Echeverria M, et al. Intronic noncoding RNAs and splicing [J]. *Trends Plant Sci*, 2008, 13(7): 335-342.
- [6] Manikandan J, Aarthi JJ, Kumar SD, et al. Oncomirs: The potential role of non-coding microRNAs in understanding cancer [J]. *Bioinformatics*, 2008, 2(8): 330-334.
- [7] Chen K, Song F, Calin GA, et al. Polymorphisms in microRNA targets: a gold mine for molecular epidemiology [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(7): 1306-1311.
- [8] Finnegan EJ, Matzke MA. The small RNA world [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 23): 4689-4693.
- [9] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9): 2999-3004.
- [10] Markou A, Tsaroucha EG, Kaklamanis L, et al. Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(10): 1696-1704.
- [11] Zhu S, Si ML, Wu H, et al. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin (TPM1) [J]. *Biol Chem*, 2007, 282(19): 14328-14336.
- [12] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 3753-3756.
- [13] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family [J]. *Cell*, 2005, 120(5): 635-647.
- [14] Rosell R, Wei J, Taron M, et al. Circulating microRNA signatures of tumor-derived exosomes for early diagnosis of non-small-cell lung cancer [J]. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10(1): 8-9.
- [15] Meyer B, Loeschke S, Schultze A, et al. HMGA2 overexpression in non-small cell lung cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2007, 46(7): 503-511.
- [16] Sarhadi VK, Wikman H, Salmenkivi K, et al. Increased expression of high mobility group A proteins in lung cancer [J]. *J Pathol*, 2006, 209(2): 206-212.
- [17] Mayr C, Hemann MT, Bartel DP. Disrupting the pairing between let-7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation [J]. *Science*, 2007, 315(5818): 1576-1579.
- [18] Kumar MS, Erkeland SJ, Pester RE, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(10): 3903-3908.
- [19] Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis [J]. *Cancer Cell*, 2006(3): 189-198.
- [20] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. *Nature*, 2005, 435(7043): 834-838.
- [21] Blenkinson C, Goldstein LD, Thorne NP, et al. MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype [J]. *Genome Biol*, 2007, 8(10): R214.
- [22] Zhu S, Si ML, Wu H, et al. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1) [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(19): 14328-14336.
- [23] Frankel LB, Christoffersen NR, Jacobsen A, et al. Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(2): 1026-1033.
- [24] Yan LX, Huang XF, Shao Q, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis [J]. *RNA*, 2008, 14(11): 2348-2360.
- [25] Negrini M, Calin GA. Breast cancer metastasis: a microRNA story [J]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(2): 203.
- [26] 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.
- [27] Chang J, Nicolas E, Marks D, et al. miR-122, a mammalian liver-specific microRNA, is processed from her mRNA and may down-regulate the high affinity cationic amino acid transporter CAT-1 [J]. *RNA Biol*, 2004, 1(2): 106-113.
- [28] Budhu A, Jia HL, Forgues M, et al. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2008, 47(3): 897-907.
- [29] Chen JQ, Russo J. ERalpha-negative and triple negative breast cancer: molecular features and potential therapeutic approaches [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2): 162-175.
- [30] Akao Y, Nakagawa Y, Hirata I, et al. Role of anti-oncomirs miR-143 and -145 in human colorectal tumors [J]. *Cancer Gene Ther*, 2010. [Epub ahead of print].