

## MicroRNA 与 肿 瘤

徐 锋 综述, 高建平, 程 文 审校

(南京大学医学院临床学院 泌尿外科, 江苏南京 210002)  
南京军区南京总医院

[关键词] MicroRNA; 肿瘤发生; 诊断; 基因治疗

中图分类号: R 730.43 文献标识码: A 文章编号: 1672-271X (2008) 06-0436-03

MicroRNA 简称为 miRNA, 通常长度为 19~25 个核苷酸, 是一类重要高度保守的非编码的小分子单链 RNA。最新有关研究表明, miRNA 与肿瘤存在着紧密关联, 已在 miRNA 和肿瘤的发生、诊断及治疗等研究领域取得了一系列进展。本文从 miRNA 的概念与特征、miRNA 的产生、作用机制及与肿瘤的关系等方面作一阐述。

### 1 miRNA 的发现及其生物学特性

1993 年, Lee 等<sup>[1]</sup>在秀丽新小杆线虫 (*C. elegans*) 中发现了第一个定时调控胚胎后期发育的基因 *lin-4*, 随后在多种生物物种中鉴别出上千种 miRNAs<sup>[2-3]</sup>。

许多 miRNA 的表达水平具有较强的保守性、基因簇集现象、时空特异性及组织特异性。保守性: 在已克隆到的 miRNA 中, 几乎所有的 miRNAs 的基因存在于相近动物中, 例如, *C. elegans* 中多于 1/3 的 miRNAs 与人类同源<sup>[4]</sup>。基因簇集现象: 目前已知 miRNA 基因簇现象在果蝇中广泛存在, 有超过一半的 miRNAs 是簇集的<sup>[5]</sup>。时空特异性: 目前研究较清楚的 *lin-4* 与 *let-7* 呈时间特异性表达。在 *C. elegans* 中, *lin-4* 只在幼虫的第一期和第二期存在; *let-7* 却存在第三、第四期及成虫期, 在第一和第二期并不存在。组织特异性: 例如, *miR-290~miR-295* 只在鼠胚胎干细胞中表达<sup>[6]</sup>。

### 2 miRNA 的生物合成和作用机制

miRNA 体内的形成过程大致如下<sup>[7-9]</sup>: miRNA 最初是由 RNA 聚合酶 转录的, 其最初产物是被称为 *primRNA* (*primary miRNA*) 的前体分子。PrimRNA 在一种 *Drosha* RNase 的作用下, 剪切为具有茎环结构约 70 个核苷酸长度的 miRNA 前体 (*Pre-miRNA*)。Pre-miRNA 在 *Ran-GTP* 依赖的核质 细胞质转运蛋白 *Exportin-5* 的作用下, 从核内运输到胞质中。在 *Dicer* 酶 (双链 RNA 专一性 RNA 内切酶) 的作用下, miRNA 前体被剪切成 21~25 个核苷酸长度的双链 miRNA 形成具有特定结构特征 (双螺旋) 和一定长度 (约 22nt) 的小

RNA。随后, 双螺旋解旋, 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。该复合物会结合到目标靶 mRNA 上, 在大多数情况下, 复合物中的单链 miRNA 与靶 mRNA 的 3' UTR (3' 端非编码区) 不完全互补配对, 从而阻断该基因的翻译过程。成熟 miRNA 结合到与其序列互补的 mRNA 位点, 通过两种依赖于序列互补机制负性调控靶基因的表达。通过抑制翻译还是降解发挥作用是由 miRNA 和他的目的 mRNA 之间的错配程度决定的, 匹配程度高的目的 mRNA 将被降解<sup>[10]</sup>。

### 3 肿瘤细胞 miRNA 表达差异的机制

与正常细胞相比, 肿瘤细胞中许多 miRNA 都有表达差异, 目前至少已经发现至少 3 种不同的机制 (这些机制可能独立发挥作用, 也可能协同作用): 一是 miRNA 定位在肿瘤相关基因组区域中。Calin 等<sup>[11]</sup>对已知和预测的 186 个人类 miRNA 在染色体上的定位与肿瘤的关系进行了研究, 发现半数以上的 miRNAs 定位于与肿瘤发生相关的染色体区域和脆性位点, 如杂合性缺失区 (LOH)、纯合性缺失区 (HD)、扩增区、断裂点区、靠近癌基因或抑癌基因的部位。这些部位可能存在一个或多个对肿瘤产生抑制或促进作用的基因, miRNA 可能在其中发挥了类似于癌基因或抑癌基因的作用。二是 miRNA 表达的表现遗传调控。细胞恶性转化的表现遗传标志包括 DNA 整体甲基化水平低, CpG 岛过甲基化和组蛋白修饰失调等。研究发现, 表现遗传改变会影响 miRNA 的表达。在乳腺癌细胞中, 抑制组蛋白去乙酰化酶作用, 会引起 miRNA 水平广泛而迅速的改变<sup>[12]</sup>。用 5-氮杂脱氧胞苷 (5-AzaCdR) 和组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 抑制剂 4-苯丁酸 (PBA) 联合作用于膀胱癌细胞, 有 17 个 miRNA (同时检测了 313 个 miRNA) 表达上调超过 3 倍, 其中 miR-127 表达水平变化最大<sup>[13]</sup>。三是 miRNA 加工相关的基因及其蛋白的异常变化。miRNA 生物合成所涉及的蛋白机制非常复杂, 如果所涉及的蛋白发生改变, 对 miRNA 表达将有显著的影响。在原癌中, *Drosha* 的失效与 miRNA 表达下调相关<sup>[14]</sup>。对非小细胞肺癌病人的大规模研究发现, 在部分肺癌患者中, 是 *Dicer* 蛋白而不是 *Drosha* 蛋白的水平下调<sup>[15]</sup>。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30772278)

作者简介: 徐 锋 (1982-), 男, 安徽庐江人, 医学硕士, 医师, 从事泌尿外科肿瘤方向的研究。

#### 4 miRNA 与肿瘤

4.1 miRNA 与癌基因、抑癌基因 研究表明全面抑制 miRNA 的成熟可促进细胞的转化和肿瘤发生<sup>[16]</sup>, 在肿瘤细胞中, miRNA 成熟体或前体表达水平异常, 并通过影响靶 mRNA 翻译发挥作用, 在肿瘤形成中起重要作用。大量研究认为 miRNA 既可作为抑癌基因, 下调原癌基因的活性; 也可作为癌基因下调抑癌基因的活性。以下介绍几种原癌基因相关性 miRNA: c-myc 相关 miRNA: c-myc 基因调控细胞的增殖与凋亡, 调节 miRNA 表达是 c-myc 基因影响肿瘤形成的机制之一。miR-let-7a 抑制 myc 转录因子的表达<sup>[17]</sup>。O'Donnell 等<sup>[18]</sup>应用微阵列技术在 c-myc 基因高表达的肿瘤细胞中发现 miR-17-5p、miR-18、miR-19、miR-20、miR-92 和 miR-106 均有特异性高水平表达, 其可能机制是 c-myc 通过激活位于 7 号、13 号和 X 染色体上的 3 个 miRNA 基因簇内编码基因的转录, 上调上述 6 个 miRNA 分子表达; 其中 miR-17-5p 与 miR-20 能够抑制 E2F1 表达, 通过碱基互补方式调节 E2F1 的表达水平, 阻止细胞由 G<sub>1</sub> 期进入 S 期, 抑制肿瘤形成。Ras 癌基因相关 miRNA: Ras 在细胞内信号传递和细胞增殖过程中起核心作用。Johnson 等<sup>[19]</sup>报道肺癌组织 let-7 miRNA 减少, 在 Ras mRNA 的 3' 端非翻译区有多个 let-7 互补位点, 并 let-7 对 Ras 基因的调控与肿瘤发生有关, let-7 通过抑制 RAS 蛋白的表达进而抑制肿瘤细胞恶性生长, 可做为治疗肿瘤的靶点。Bcl-2 相关 miRNA: Bcl-2 是一种原癌基因, 它具有抑制细胞凋亡的作用。Cimmino 等<sup>[20]</sup>发现, miR-15a、miR-16-1 在慢性淋巴细胞性白血病中频繁发生缺失或下调, 它可负性调控抗凋亡基因 Bcl-2, Bcl-2 是 miR-15 和 miR-16 靶基因。

4.2 miRNA 在肿瘤中的表达 miRNA 与多种肿瘤的发生存在着密切关系, 早期的研究多集中于肿瘤与正常样本中 miRNA 的差异表达。多篇报道证实位于 13q14 的 miR-15 以及 miR-16 在 B 细胞慢性淋巴白血血病中表达水平下调<sup>[21]</sup>。Iorio 和 Michael 等<sup>[22-23]</sup>发现, miR-143、miR-145 在结肠癌、直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌和淋巴瘤中的表达下调。Lehmann 等<sup>[24]</sup>发现在早期乳腺癌的发展过程中 miR-9 在甲基化状态下表达水平下调。He 等<sup>[25]</sup>研究发现, miR-221、miR-222、miR-146 在乳头状甲状腺癌中显著上调; Metzler 等<sup>[26]</sup>在儿童的 Burkitt 淋巴瘤中发现 miR-155 BIC 的前体高表达; hsa-miR-196a 在胰腺癌中高表达<sup>[27]</sup>。

#### 5 miRNA 与肿瘤诊断

细胞组织特异性是 miRNA 表达的主要特点, miRNA 就可能成为新的肿瘤标记物和细胞、组织特征性鉴定分子, miRNA 可能成为疾病诊断及预后判断新的指标。与正常组织或细胞相比, 肿瘤细胞 miRNA 表达的变化可以是特异增高表达或降低表达, 这两方面的变化对于肿瘤的诊断都是有意义的。一方面增高表达的 miRNA 分子作为肿瘤特异表达分子, 可能直接成为新的肿瘤标记物, 如 Burkitt 淋巴瘤细胞

异常增高表达的 miR-155 分子。Eis 等<sup>[28]</sup>分析了 miR-155 在 B 细胞性淋巴瘤中的表达, 比正常 B 细胞高 10~30 倍, 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 患者中表达水平最高, miR-155 的定量检测有助于 DLBCL 的诊断。由于细胞表达的 miRNA 分子种类较多, 因此单一增高表达 miRNA 分子对肿瘤的诊断价值可能不大, 多个 miRNA 分子组成肿瘤特异表达谱在肿瘤的诊断中就可能是非常有意义的。另一方面, 肿瘤细胞许多 miRNA 表达的变化是降低表达, 如慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 细胞 miR-15a 和 miR-16a、结肠癌细胞 miR-143 和 miR-145 表达降低等。

#### 6 miRNA 与肿瘤的基因治疗

肿瘤的发生可能由两方面因素引起: 一方面, 可能由于某些特定的 miRNA 低表达或不表达, 因此可采用基因治疗的方法, 导入相应的外源 miRNA; 另一方面, 可能由于某些特定的 miRNA 高表达, 因此可采用多种方法下调或抑制相应 miRNA 的表达。在某些特定类型肿瘤中, 可应用 miRNA 过表达技术, 将针对抑癌基因性质的 miRNA (如 let-7) 经脂质体或病毒载体系统输送到肿瘤细胞内, 从而发挥治疗作用。在利用 miRNA 作为治疗靶点方面, 已有体外实验支持: 如用吉西他滨治疗的过程中, 出现 miRNA 表达谱的变化; 调控部分 miRNA 的表达水平 (如使 miR-21 过表达), 能增进胆管癌细胞对化疗药物的敏感性<sup>[29]</sup>。

针对特定 miRNA 功能的干预可特异性地控制肿瘤相关的过程如细胞增生、分化和凋亡。例如, Cheng 等<sup>[30]</sup>通过设计反义寡核苷酸抑制人类 miRNA, 干预 miRNA 在细胞生长和凋亡中的作用。引入与具有癌基因的 miRNA 互补的合成反义寡核苷酸—称为抗 miRNA 寡核苷酸 (AMOs), 可能有效地抑制致癌 miRNA 在肿瘤中的活化从而延缓肿瘤生长。在临床上, 抑制 miRNA 的活性可通过连续给予反义寡核苷酸, 这种特定设计靶向 miRNA 如 miR-155 的反义寡核苷酸比其它肿瘤治疗方法更稳定且毒性小。将 AMOs 与胆固醇偶联的抗 miRNA 寡核苷酸 (antagomirs) 注射小鼠后能在各种器官中有效地抑制 miRNA 的活性<sup>[31]</sup>。

#### 7 展望

近年来随着研究人员发现大量新的 miRNA, 并在 miRNA 的生物合成、作用机制、疾病相关性等研究领域有了初步了解, miRNA 与肿瘤发生研究领域亦取得了较大进展, 但只是冰山一角, 仍需要进一步深入与广泛的研究, 如: 除现有的 miRNA 外, 更多的 miRNA 有待发现; miRNA 是否存在的更多的作用机制; miRNA 基因转录和 miRNA 进行加工的信号; miRNA 是通过什么信号转导方式与靶 mRNA 3' 端结合, 并影响其翻译功能; miRNA 的基因簇集现象和特异性是如何调控的; 如何精确识别 miRNA 及其靶基因; miRNA 是否可以通过正负反馈调控自身的表达; miRNA 是否可以调控其他 miRNA; miRNA 是否可以调控其他各种类型的非编码 RNA; 同一肿瘤中所含 miRNA 之间有何关系等。

相信不久的将来,mRNA 研究一定会有突破性进展,从而推动mRNA 在肿瘤临床诊断与治疗领域中的广泛应用。

# 参考文献

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [2] Ruvkun G. Glimpses of a TinyRNA world[J]. *Science*, 2001, 294(5543): 797-799.
- [3] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-906.
- [4] Lin LP, Lau NC, Weinstein EG, et al. The microRNAs of *Caenorhabditis elegans*[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(8): 991-1008.
- [5] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [6] Houbaviy HB, Murray MF, Sharp PA. Embryonic stem cell specific microRNAs[J]. *Development Cell*, 2003, 5(2): 351-358.
- [7] Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors[J]. *Science*, 2004, 303(5654): 95-98.
- [8] Bernstein E, Caudy AA, Hammond S, et al. Role for a bidirectional ribonuclease in the initiation step of RNA interference[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-366.
- [9] Lee Y, Jeon K, Lee JT, et al. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization[J]. *EMBO J*, 2002, 21(17): 4663-4670.
- [10] Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, et al. Control of translation and mRNA degradation by miRNA and siRNAs[J]. *Genes Dev*, 2006, 20: 515-524.
- [11] 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.
- [12] Scott GK, Mattie MD, Berger CE, et al. Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(3): 1277-1281.
- [13] Saito Y, Liang G, Egger G, et al. Specific activation of microRNAs-127 with downregulation of the protooncogene BCL6 by chromatin modifying drugs in human cancer cells[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(6): 435-443.
- [14] Thomson JM, Newman M, Parker JS, et al. Extensive post-transcriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(16): 2202-2207.
- [15] Harris KS, Zhang Z, McManus MT, et al. Dicer function is essential for lung epithelium morphogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(7): 2208-2213.
- [16] Kumar MS, Lu J, Mercer KL, et al. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(5): 673-677.
- [17] Park SM, Shell S, Radjabi AR, et al. Let-7 prevents early cancer progression by suppressing expression of the embryonic gene HMGA2[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(21): 2585-2590.
- [18] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, et al. C-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression[J]. *Nature*, 2005, 435(7043): 839-843.
- [19] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family[J]. *Cell*, 2005, 120(5): 635-647.
- [20] 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.
- [21] Calin GA, Liu CG, Sevignani C, et al. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(32): 11755-11760.
- [22] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16): 7065-7070.
- [23] Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, et al. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(12): 882-891.
- [24] Lehmann U, Hasemeier B, Christgen M, et al. Epigenetic inactivation of microRNA gene hsa-miR-9-1 in human breast cancer[J]. *J Pathol*, 2008, 214(1): 17-24.
- [25] He H, Jazdzewski K, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(52): 19075-19080.
- [26] Metzler M, Wolda M, Busch K, et al. High expression of precursor microRNA-155 BIC RNA in children with Burkitt lymphoma[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004, 39(2): 167-169.
- [27] Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, et al. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis[J]. *JAMA*, 2007, 297(17): 1901-1908.
- [28] Eis PS, Tam W, Sun L, et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10): 3627-3632.
- [29] Meng F, Henson R, Lung M, et al. Involvement of human microRNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines[J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(7): 2113-2129.
- [30] Cheng AM, Byrom MW, Shelton J, et al. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(4): 1290-1297.
- [31] Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'[J]. *Nature*, 2005, 438(7068): 685-689.

(收稿日期: 2008-07-11; 修回日期: 2008-08-22)

(本文编辑: 潘雪飞)