

microRNA 在胶质瘤研究中的进展

包庆泉 邵君飞

microRNA (miRNA) 是一类长度为 19~25 个核苷酸的非编码低分子 RNA。尽管直到 20 世纪 90 年代初 miRNA 才被发现并开始陆续报道,但是随着研究的深入,miRNA 已被认为在肿瘤的发生发展中扮演着重要的角色。目前已经知道,miRNA 主要通过靶 mRNA 降解或转录后翻译抑制,从而参与个体发育、细胞凋亡、增殖及分化等生理过程。miRNA 在表达水平发生变化后将直接影响其下游调控靶基因的表达进而参与肿瘤的发生机制。因此,研究胶质瘤中 miRNA 的表达情况可以为胶质瘤的诊治提供新的思路。本文主要对胶质瘤中 miRNA 的最新研究进展做一综述。

一、microRNA 与肿瘤

近年来随着分子生物学新技术的不断涌现,人们对 miRNA 与肿瘤关系的认识也逐渐得以深入。目前关于 miRNA 在各种肿瘤中的研究均有文献报道。在卵巢癌与 miRNA 的研究中,Guan 等^[1]发现 miR-125b 在卵巢癌细胞中表达下调,并且 miR-125b 能调控原癌基因 BCL3 的表达。实验中发现,转染了 miR-125b 的肿瘤细胞的增殖速率明显慢于对照组,肿瘤细胞普遍被抑制于 G₂ 期。Guan 等因此认为 miR-125b 在卵巢癌的发生过程中起了重要作用。在结直肠癌的研究中,Koga 等^[2]发现,相对于正常组织,结直肠癌组织中 miR-17-92,miR-21 以及 miR-135 的表达出现明显上调。另外,Liu 等^[3]在检测了 28 例食管鳞状细胞癌患者的肿瘤标本的 miR-17-92 表达特点后也发现,75% 的标本中的 miR-17-92 存在着过表达。上述研究中确定了 miR-17-92 簇在多个肿瘤组织和细胞系中表达上调,转基因动物实验证实 miR-17-92 簇具有增加淋巴系统肿瘤发生率的作用,因此 miR-17-92 簇被视为第一个哺乳动物中的癌 miRNA—OncomiR-1。所以 miR-

NA 与肿瘤发生的关系可以总结如下:miRNA 在表达水平发生变化后将直接影响其下游调控基因的表达进而参与肿瘤的发生机制^[4]。

二、microRNA 与胶质瘤

人脑胶质瘤是颅内最常见的原发肿瘤,其中恶性胶质瘤约占 60%,即使联合手术、放疗和化疗,恶性胶质瘤的中位生存期也只有诊断后 9~12 个月。随着分子生物学研究的深入及其在肿瘤研究中的应用,已经证实胶质瘤和其他肿瘤一样,也是由多基因、多步骤发展演变而来,各种致癌因素通过激活一种或多种原癌基因的表达及抑制抑癌基因的表达或导致其突变、缺失从而使肿瘤细胞逃避了正常生长调控机制,出现异常增殖、自主侵袭、血管增生等恶性生物学表型。到目前为止,已经发现很多基因(包括癌基因、抑癌基因等)与胶质瘤的发生和进展有关,但仍未阐明胶质瘤发生发展的机制^[5-7]。因此应用不断创新的生命科学的前沿技术研究胶质瘤发生发展的机制,并进一步探索新的有效治疗方法一直是当今神经外科领域前沿课题。近年来随着 miRNA 研究的兴起,无疑为胶质瘤的诊治提供了新的思路。成熟的 miRNA 是由较长的初级转录物经过一系列核酸酶的剪切加工而产生的,随后组装进 RNA 诱导的沉默复合体,通过碱基互补配对的方式识别靶 mRNA,并根据互补程度的不同指导沉默复合体降解靶 mRNA 或者阻遏靶 mRNA 的翻译。由于 miRNA 主要通过与靶基因 mRNA 3'-UTR 完全或不完全配对,导致靶标 mRNA 降解或转录后翻译抑制,因此一个 miRNA 可有多靶点,有研究指出多达 30% 的基因受到 miRNA 的调控^[8]。

1. microRNA 与胶质瘤的表达:如前所述,miRNA 与肿瘤关系密切,那么胶质瘤当然也不例外。Sliber 等^[9]应用定量 RT-PCR 的方法对多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤及无瘤的脑组织细胞的 miRNA 表达谱进行了研究,发现 miR-10b 在多形性胶质母细胞瘤及间变性星形细胞瘤中表达明显上调;而 miR-7、miR-124、miR-129、miR-137 等则在多

形性胶质母细胞瘤及间变性星形细胞瘤中表达下调。进一步的实验发现,向多形性胶质母细胞瘤内转染了 miR - 124 或 miR - 137 后将引起多形性胶质母细胞瘤 U251 和 SF6969 细胞停止增殖于 G₁ 期。Sliber 等的研究表明,可针对 miR - 124 或 miR - 137 对多形性胶质母细胞瘤进行靶向治疗。类似的,Liu 等^[10]运用高通量的微阵列技术对髓母细胞瘤和正常脑组织中的 miRNA 表达量进行对比研究发现,相对于正常脑组织,miR - 17、miR - 99a、miR - 100、miR - 106b 在髓母细胞瘤中表达明显上调,而 miR - 218、miR - 29a、miR - 29c、miR - 128a、miR - 127 - 3p 则明显下调。Liu 等因此指出,鉴于 miRNA 在髓母细胞瘤和正常脑组织中的表达差异,推测 miRNA 可能在髓母细胞瘤的肿瘤发生中起重要作用,并且在将来 miRNA 有望成为髓母细胞瘤治疗的潜在靶点。随着 miRNA 研究的兴起,目前已有很多种 miRNA 与胶质瘤研究的文献可供检索。下面笔者将对近年来胶质瘤中研究较热的一些 microRNA 进行介绍。

2. miR - 21:近年来在胶质瘤中研究最火的 miRNA 当属 miR - 21。目前已知,miR - 21 在各项肿瘤中存在过表达,当然胶质瘤也不例外。Shi 等人通过反义技术构建了 miR - 21 敲低的胶质瘤细胞模型,成功构建模型后对细胞进行增殖、侵袭和凋亡能力的检测。结果发现,miR - 21 敲低的 U87 细胞出现增殖速率减缓、侵袭能力降低和凋亡增加的现象。Shi 等人同时还检测了 caspase - 3、caspase - 8、caspase - 9 和 PTEN 的表达。检测结果发现 caspase - 3 和 caspase - 9 表达明显增加而 caspase - 8 和 PTEN 无明显变化。Shi 等人就此认为,miR - 21 在胶质瘤细胞中起着抗凋亡的作用,抑制 miR - 21 的表达能激活 caspase - 3 和 caspase - 9 从而诱导胶质瘤细胞凋亡^[11]。Shi 等人的观点也被 Zhou 等人的实验结果所证实,他们还大胆地提出 miR - 21 可作为胶质瘤基因治疗的一个靶点^[12]。在胶质瘤中,存在着 Spry2 介导的 Ras/MAPK 负反馈通路,该通路对肿瘤细胞侵袭能力的调控起重要作用。该通路一旦受干扰,那么势必将引起肿瘤细胞侵袭能力的增强。Kwak 等的实验则就发现了一个能干扰该通路的因素:高表达的 miR - 21。他们的实验发现:那些 WHO 分级在 II 到 IV 级的胶质瘤组织中 Spry2 的表达量下降了 79.7%,而正常脑组织和 WHO 分级在 I 级的胶质瘤组织中的 Spry2 的表达则无明显差异;胶质瘤中 Spry2 的表达和 miR - 21 的表达呈现负相关的趋势。因此,

Kwak 等人认为,在高度恶性胶质瘤中高表达的 miR - 21 通过转录后调控下调 Spry2 的表达这一机制对胶质瘤的恶性进展起着至关重要的作用。他们还认为,Spry2 可能有望成为恶性胶质瘤的又一治疗靶点^[13]。替莫唑胺 TMZ 由于其促凋亡作用而被用于胶质瘤的临床治疗。一项胶质瘤化疗药物替莫唑胺 TMZ 作用与 miR - 21 关系的实验研究表明,在那些 miR - 21 高表达的 U87MG 细胞中,TMZ 的促凋亡作用明显降低。同时那些 miR - 21 高表达的 U87MG 细胞中存在着 Bax 和 caspase - 3 的下调及 Bcl - 2 的上调。进一步的研究揭示,正是高表达的 miR - 21 引起了 Bax 和 caspase - 3 的下调及 Bcl - 2 的上调,从而部分抑制了 TMZ 的促凋亡作用。该研究也揭示了为什么临床上化疗药物 TMZ 治疗胶质瘤会引起抵抗^[14]。

3. miR - 7:已有文献报道表明,miR - 7 在多形性胶质母细胞瘤及间变性星形细胞瘤中表达下调^[9]。关于 miR - 7 在胶质瘤中参与的调节机制研究,下面两篇文献可供参考。目前已发现,在许多肿瘤中存在表皮生长因子(growth factor receptor, EGFR; human epidermal growth factor receptor 2, Her - 2)的异常表达,这些受体酪氨酸激酶在肿瘤发生发展过程中起着重要作用。而蛋白激酶 B 和蛋白激酶 Akt,做为上述这些受体酪氨酸激酶的下游调节因子,参与着肿瘤的细胞增殖、侵袭、血管形成、抗凋亡等信号通路。Giles 等^[15]的实验表明,在胶质母细胞瘤中,miR - 7 直接负调控 EGFR 和 Her - 2 的表达,同时发现,miR - 7 也下调了蛋白激酶 Akt 活性。因此,miR - 7 可通过降低蛋白激酶 Akt 活性最终参与调节胶质母细胞瘤的发生发展的信号通路。Lee 等^[16]做了类似的研究,他们通过构造过表达和抑制 miR - 7 的 U251 及 U87 恶性胶质瘤细胞模型,用 western blotting 技术检测了相应细胞中 EGFR、PI₃K、AKT 等的含量后发现,过表达 miR - 7 的恶性胶质瘤细胞 EGFR、PI₃K、AKT 的含量较正常表达 miR - 7 的恶性胶质瘤细胞明显下调,而下调 miR - 7 表达的恶性胶质瘤细胞 EGFR、PI₃K、AKT 的含量则正好相反。同时,在相同剂量辐射量下,过表达 miR - 7 的恶性胶质瘤细胞生存曲线明显较其他两者下降。因此, Lee 等提出,鉴于 miR - 7 能通过调节 EGFR - PI₃K - AKT 信号通路削弱胶质瘤细胞对辐射的耐受性,miR - 7 将有望成为胶质瘤的一个有效治疗靶点^[16]。

4. miR - 128:Zhang 等在组织和细胞水平检测了

胶质瘤及正常脑组织中 miR - 128 的表达后发现,相对于正常脑组织,胶质瘤组织及细胞中 miR - 128 的表达均出现下调。Zhang 等的研究表明,miR - 128 可通过靶向作用于 E2F3a(E2F3a 是一种调节细胞周期转录因子) - 3'UTR 来抑制胶质瘤细胞增殖。此外,他们还发现,E2F3a 敲低与 miR - 128 过表达的作用相似,而 E2F3a 高表达可部分解除 miR - 128 抑制细胞增殖的作用^[17]。类似的,Cui 等通过高密度 miR-NA 荧光报告分析及 Northern blotting 分析检测了多形性胶质母细胞瘤(GBM)和正常脑组织中 miR - 128 的表达发现,相对于正常脑组织,在 GBM 中 miR - 128 的表达明显下调,并且与 GBM 的 WHO 分级有关,分级越高的,miR - 128 的表达下调越明显。Cui 等人还对已被生物信息学证实的 miR - 128 的 3 个靶点 ARP5 (ANGPTL6)、Bmi - 1 和 E2F - 3a 在多形性胶质母细胞瘤(GBM)和正常脑组织中的表达差异进行了进一步研究。研究结果显示,相对于正常脑组织,ARP5、Bmi - 1 和 E2F - 3a 在多形性胶质母细胞瘤(GBM)中无论是 mRNA 水平还是蛋白质水平都出现了明显的上调。结合 ARP5、Bmi - 1 和 E2F - 3a 三者各自的生理功能和实验结果,Cui 等^[18]指出,miR - 128 能通过上调 ARP5、Bmi - 1 和 E2F - 3a 的表达来抑制多形性胶质母细胞瘤(GBM)的增殖。因此,miR - 128 的作用也相当于抑癌基因。笔者认为,miR - 128 也将来可能尝试用于胶质瘤的靶向治疗。

5. miR - 9:Chao 等^[19]用实时定量 PCR 的方法检测了正常脑组织和胶质瘤组织及胶质瘤细胞系中 miR - 9 的表达。结果发现,相对于正常脑组织,胶质瘤组织及胶质瘤细胞系中的 miR - 9 的表达明显增加。Kim 等则对胶质瘤中的 miR - 9 表达特点做了更为深入的研究,他们通过微阵列技术对胶质母细胞瘤和正常脑组织的 miRNA 表达谱进行研究,同样发现胶质母细胞瘤中的 miR - 9 表达相对于正常脑组织明显增加。于是通过 Kim 等通过构建过表达及敲低表达 miR - 9 的模型进行进一步的实验研究,研究发现 miR - 9 能通过下调 JAK 激酶的表达及抑制 STAT3 活性来抑制胶质母细胞瘤中间叶细胞的分化。因此,他们认为 miR - 9 是调节神经细胞生长发育及分化的重要分子^[20]。

6. miR - 451:Godlewski 等在一项胶质瘤中葡萄糖含量与 miR - 451 表达关系的研究中发现,在葡萄糖含量高的培养基生长的胶质瘤细胞 miR - 451 表达明显增高,而且肿瘤细胞生长加快;在葡萄糖含量

低的培养基生长的胶质瘤细胞 miR - 451 表达降低,同时肿瘤细胞增殖速率减缓,但是肿瘤细胞迁徙能力和生存能力增强。Godlewski 等进一步的实验研究发现,胶质瘤细胞中 miR - 451 在高糖培养基和低糖培养基中分别以不同方式调控 LKB1/AMPK。正常葡萄糖浓度培养基下,miR - 451 表达上调,抑制了其靶点 CAB39 的表达,CAB39 表达减少导致 LKB1 活性降低,进而导致 AMPK/MAPK 通路受抑制,从而导致胶质瘤细胞极性及迁徙能力下降。此外,AMPK/MAPK 通路抑制也导致 mTOR 活性抑制从而引起胶质瘤细胞增殖增加。相反的,低葡萄糖浓度培养基下,miR - 451 表达下调,进一步的调节机制也相反,最终导致肿瘤细胞增殖速率减缓,但是肿瘤细胞极性、迁徙能力和生存能力增强。另外,Nan 等也对胶质瘤中 miR - 451 的表达情况进行了研究,研究发现 miR - 451 在 A172、LN229 和 U251 胶质瘤细胞系中表达均下调。随后他们构建了 miR - 451 高表达的胶质瘤细胞系模型。侵袭实验发现细胞侵袭能力降低;此外,Akt1、CyclinD1、MMP - 2、MMP - 9 和 Bcl - 2 等蛋白表达随着 miR - 451 增加而降低,而 P27 则随着 miR - 451 增加而升高。基于上述实验,Nan 等人提出 miR - 451 可通过调节 PI₃K/AKT 信号通路影响胶质瘤细胞增殖、侵袭和凋亡。他们认为 miR - 451 在胶质瘤中充当着肿瘤抑制因子的角色。

三、展 望

以上各家的研究报道表明,miRNA 的表达水平与胶质瘤的发生发展有着密切的联系,了解胶质瘤组织中的 miRNA,有利于了解胶质瘤的发病机制,此外也为胶质瘤的治疗提供了新的研究方向。目前已经知道,miRNA 主要通过与其靶基因 mRNA3' - UTR 完全或不完全配对,导致靶标 mRNA 降解或转录后翻译抑制,因此一个 miRNA 可有多多个靶点。正因如此,miRNA 的靶点研究鉴定将是一项很艰巨的工程,miRNA 的研究仍任重道远。此外,鉴于 miRNA 存在许多靶点这一现象,能否或者如何通过特异性调控 miRNA 靶点来达到对 miRNA 最大限度利用,也将会是今后该研究领域的又一难题。总的来说,miRNA 在胶质瘤中乃至肿瘤的研究前景是广阔的,它将会为人类攻克肿瘤这一难题提供新的思路。

参考文献

- 1 Guan Y, Yao H, Zheng Z, *et al.* MiR - 125b targets BCL3 and suppresses ovarian cancer proliferation [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128 (10): 2274 - 2283
- 2 Koga Y, Yasunaga M, Takahashi A, *et al.* MicroRNA expression pro-

- filing of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2010, 3(11): 1435 – 1442
- 3 Liu M, Wang Z, Yang S, *et al.* TNF – alpha is a novel target of miR – 19a [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(4): 1013 – 1022
- 4 Mayr C, Hemann MT, Bartel DP. Disrupting the pairing between let – 7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation [J]. *Science*, 2007, 315(5818): 1576 – 1579
- 5 Burgess R, Jenkins R, Zhang Z. Epigenetic changes in gliomas [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(9): 1326 – 1334
- 6 Sevignani C, Calin GA, Siracusa LD, *et al.* Mammalian microRNAs: a small world for fine – tuning gene expression [J]. *Mamm Genome*, 2006, 17(3): 189 – 202
- 7 Papagiannakopoulos T, Shapiro A, Kosik KS. MicroRNA – 21 targets a network of key tumor – suppressive pathways in glioblastoma cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(19): 8164 – 8172
- 8 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets [J]. *Cell*, 2005, 120(1): 15 – 20
- 9 Silber J, Lim DA, Petritsch C, *et al.* miR – 124 and miR – 137 inhibit proliferation of glioblastoma multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells [J]. *BMC Med*, 2008, 6: 14
- 10 Liu W, Gong YH, Chao TF, *et al.* Identification of differentially expressed microRNAs by microarray: a possible role for microRNAs gene in medulloblastomas [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(20): 2405 – 2411
- 11 Shi L, Cheng Z, Zhang J, *et al.* The mechanism of apoptosis in human U87 glioma cells induced by miR – 21 antisense oligonucleotide [J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 2008, 25(5): 497 – 501
- 12 Zhou X, Zhang J, Jia Q, *et al.* Reduction of miR – 21 induces glioma cell apoptosis via activating caspase 9 and 3 [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(1): 195 – 201
- 13 Kwak HJ, Kim YJ, Chun KR, *et al.* Downregulation of Spry2 by miR – 21 triggers malignancy in human gliomas [J]. *Oncogene*, 2011, 30(21): 2433 – 2442
- 14 Shi L, Chen J, Yang J, *et al.* MiR – 21 protected human glioblastoma U87MG cells from chemotherapeutic drug temozolomide induced apoptosis by decreasing Bax/Bcl – 2 ratio and caspase – 3 activity [J]. *Brain Res*, 2010, 1352: 255 – 264
- 15 Giles KM, Barker A, Zhang PM, *et al.* MicroRNA regulation of growth factor receptor signaling in human cancer cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 676: 147 – 163
- 16 Lee KM, Choi EJ, Kim IA. MicroRNA – 7 increases radiosensitivity of human cancer cells with activated EGFR – associated signaling [J]. *Radiother Oncol*, 2011, 101(1): 171 – 176
- 17 Zhang Y, Chao T, Li R, *et al.* MicroRNA – 128 inhibits glioma cells proliferation by targeting transcription factor E2F3a [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2009, 87(1): 43 – 51
- 18 Cui JG, Zhao Y, Sethi P, *et al.* Micro – RNA – 128 (miRNA – 128) down – regulation in glioblastoma targets ARP5 (ANGPTL6), Bmi – 1 and E2F – 3a, key regulators of brain cell proliferation [J]. *J Neurooncol*, 2010, 98(3): 297 – 304
- 19 Chao TF, Zhang Y, Yan XQ, *et al.* MiR – 9 regulates the expression of CBX7 in human glioma [J]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 2008, 30(3): 268 – 274
- 20 Kim TM, Huang W, Park R, *et al.* A developmental taxonomy of glioblastoma defined and maintained by MicroRNAs [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(9): 3387 – 3399 (收稿:2011 – 09 – 10)
(修回:2011 – 09 – 14)

(上接第 3 页)

参考文献

- 1 Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000 [J]. *The global picture. European Journal of Cancer*, 2003, 39(6): 848
- 2 Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, *et al.* Randomised comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 996 Dutch patients [J]. *Lancet*, 1995, 345(8952): 745 – 748
- 3 Cuschieri A, Fayers P, Fielding J, *et al.* Postoperative morbidity and mortality after D1 and D2 resections for gastric cancer: preliminary results of the MRC randomised controlled surgical trial. The Surgical Cooperative Group [J]. *Lancet*, 1996, 347(9007): 995 – 999
- 4 Marrelli D, Pedrazzani C, Neri A, *et al.* Complications after extended (D2) and superextended (D3) lymphadenectomy for gastric cancer: analysis of potential risk factors [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(1): 25 – 33
- 5 Park DJ, Lee HJ, Kim HH, *et al.* Predictors of operative morbidity and mortality in gastric cancer surgery [J]. *Br J Surg*, 2005, 92(9): 1099 – 1102
- 6 Shechepotin IB, Evans SR, Chorny VA, *et al.* Postoperative complications requiring relaparotomies after 700 gastrectomies performed for gastric cancer [J]. *Am J Surg*, 1996, 171(2): 270 – 273
- 7 Birkmeyer JD, AE Siewers, EV Finlayson, *et al.* Hospital volume and surgical mortality in the United States [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(15): 1128 – 1137
- 8 Sah BK, Zhu ZG, Chen MM, *et al.* Effect of surgical work volume on postoperative complication: superiority of specialized center in gastric cancer treatment [J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2009, 394(1): 41 – 47
- 9 Smith DL, Elting LS, Learn PA, *et al.* Factors influencing the volume – outcome relationship in gastrectomies: a population – based study [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(6): 1846 – 1852
- 10 Smith JK, McPhee JT, Hill JS, *et al.* National outcomes after gastric resection for neoplasm [J]. *Arch Surg*, 2007, 142(4): 387 – 393
- 11 Matory YL, Burt M. Esophagogastrectomy: reoperation for complications [J]. *J Surg Oncol*, 1993, 54(1): 29 – 33
- 12 Kun L, Yun – Jie W, Qing – Shu C, *et al.* Emergency reoperation for postoperative hemorrhage following partial esophagectomy for carcinoma of the esophagus and cardia of the stomach [J]. *Dis Esophagus*, 2001, 14(3 – 4): 251 – 253
- 13 Chowbey PK, Panse R, Sharma A, *et al.* Elective laparoscopy in diagnosis and treatment of recurrent small bowel obstruction [J]. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2006, 16(6): 416 – 422
- 14 Al – Rashedy M, Issa ME, Ballester P, *et al.* Laparoscopic surgery for the management of obstruction of the gastric outlet and small bowel following previous laparotomy for major upper gastrointestinal resection or cancer palliation: A new concept [J]. *Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques – Part A*, 2005, 15(2): 153 – 159 (收稿:2012 – 02 – 24)