

miR - 221 在肿瘤中的研究进展

邢慧慧 刘晓峰 刘长江 孙艾茜

摘 要 microRNA 是广泛存在于真核生物中的长度为 19 ~ 25nt 非编码小 RNA, 能够在转录后水平抑制靶基因的表达或蛋白质翻译。越来越多的证据表明, miRNA 在人类恶性肿瘤中异常表达, 本文就 miR - 221 在肿瘤发展及治疗中的作用做一综述。

关键词 mircoRNA miR - 221 肿瘤

[中图分类号] R393

[文献标识码] A

microRNA (miRNA) 为一种新型的基因调控因子, 它能在转录后水平抑制靶基因的表达或蛋白质翻译, 从而参与生物体内多种生理、病理过程的调节, 如细胞分化、增殖、凋亡、迁移和侵袭等^[1]。Calin 等^[2]最早报道了 miRNA 的异常表达与癌症相关, 研究表明, miR - 221 在多种肿瘤中异常表达, 如肝癌、胃癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤、前列腺癌等, 提示其与肿瘤发生密切相关, 这可能会为肿瘤的治疗提供新的靶点^[2~7]。

一、miR - 221 的生物学功能

1. miR - 221 的成熟过程及作用机制: 与其他 miRNA 的形成过程相同, 编码 miR - 221 的基因在核内 RNA 聚合酶 II 的作用下转录成初级转录本 (pri - miRNA), 由 RNA 酶 III 和接头蛋白 Dorsha 组成的核酸酶复合体剪切 pri - miRNA 加工成前体 miRNA (pre - miRNA)。pre - miRNAs 被 Exportin - 5 转运到细胞质, 细胞质中的 Dicer 酶将其剪切成 19 ~ 25 个核苷酸的双链 miRNA。解旋酶 (Helicase) 将双链解开后, 其中一条链与 miRNP (miRNA - containing ribonucleo-protein particles) 结合形成成熟的 miRNA, 成熟的 miRNA 被引导进入 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA - induced silencing complex, RISC) 中, 通过与其靶 mRNA 结合调控基因表达, 另一条互补链则被降解。miRNA 负向调控靶基因的表达是目前被普遍认可的作用机制。miRNA 可引导 miRNP 识别靶 mRNA 的 3' 端非翻译区 (3' - untranslated region, 3' - UTR), 若 miRNA 与靶 mRNA 完全或接近完全互补则可引起靶 mRNA 在互补区内的特异性断裂从引起基因序列的特异性“沉默”。如果是不完全互补, 通常结合在

mRNA 的 3' - UTR 抑制蛋白质的翻译, 近而对基因表达进行调控。miR - 221 亦是通过对碱基互补配对原则与靶 mRNA 结合, 从而在转录后水平引起靶 mRNA 的降解或者抑制其翻译成蛋白质。

2. miR - 221 的表达: miR - 221 是成簇分布的 miRNA, 它作为 miRNA 家族内的一员, 串联编码于人、小鼠及大鼠的 X 染色体上, 在脊椎动物中具有高度的保守性。目前, 许多研究已经确定了 miR - 221 的靶基因, 如细胞周期蛋白 G₁ (CyclinG₁)、细胞周期抑制因子 (p27Kip1)、Bcl - 2 家族中 BH3 - only 亚族的成员之一 Bmf 基因, 这些靶基因与 miR - 221 相互作用共同调控肿瘤的生长过程^[8~10]。Chou 等^[11]报道 miR - 146b、miR - 221、miR - 222 的表达水平与甲状腺癌的腺外侵袭、肿瘤分期等相关, 这些异常表达的 miRNAs 通过作用于其靶基因, 调节与肿瘤发生相关的生物学过程^[12]。

二、miR - 221 在肿瘤发生中的作用

恶性肿瘤是目前造成人类死亡的主要原因之一, 随着分子生物学和人类基因组学的发展, 人们对肿瘤的认识已经达到了一个新的高度, 大量研究表明肿瘤的发生发展中伴有 miRNA 的异常表达^[13]。miRNA 的表达具有组织特异性, 即特定的肿瘤组织具有各自独特的 miRNA 表达谱。目前研究报道 miR - 221 可以作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤的形成过程。

1. miR - 221 作为癌基因参与恶性肿瘤的进展过程: 肿瘤中某些 miRNA 的表达可诱发或促进肿瘤的发生, 具有癌基因的特性, 其表达通常表现为上调, 此类 miRNA 被称为癌性 miRNA。在许多肿瘤中, miR - 221 具有癌基因的作用, 促进了恶性肿瘤的发生、发展及转移。大量研究证实 miR - 221 在原发性肝细胞癌中过表达, 但它在肝癌中的功能及作用机制目前尚不清楚。应用 RT - PCR 技术, Rong 等^[14]检测

了肝癌与癌旁组织中 miR - 221 的表达,结果发现,miR - 221 在肝癌组织中表达明显增高,将 miR - 221 的抑制剂导入肝癌细胞,发现 miR - 221 抑制剂能够通过阻滞细胞 G₁/S 期进展而抑制细胞增殖、促进细胞凋亡;相反,导入 miR - 221 的类似物则可以促进肝癌细胞生长。另外,CDKN1C/p57 属于细胞周期依赖抑制因子(cyclin - dependent kinase inhibitors, CDKIs)家族,CDKN1C/p57 表达下降与肝癌的高侵袭性、低分化、门脉侵犯有关。Fornari 等^[15]报道 CDKN1C/p57 是 miR - 221 的靶基因,他们将 miR - 221 转染肝癌细胞 Hep3B,发现 CDKN1C/p57 较正常细胞表达降低 1.8 倍。相反,将 anti - miR - 221 转染 SNU449 细胞,则 CDKN1C/p57 蛋白水平较正常细胞增高 1.3 倍,提示 miR - 221 与肝癌的恶性程度及进展有关。PTEN 是一种抑癌基因,为人类第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因,Ye 等^[16]研究发现,miR - 221 通过抑制 PTEN 的表达,能够促进人表皮生长因子 - 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER - 2)阳性的乳腺癌细胞的转移并增加对曲妥珠单抗(trastuzumab)的耐药性。

2. miR - 221 抑制肿瘤形成:癌基因的活化和过表达是恶性肿瘤发生发展的主要因素。miR - 221 不仅能够促进肿瘤的发生,在某些情况下也可通过抑制相关癌基因的表达从而抑制肿瘤的形成。miR - 221 抑制肿瘤形成的机制多种多样,主要包括抑制相关癌基因的表达、抑制肿瘤细胞转录活性、阻滞肿瘤细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡。Gordanpour 等^[17]对 170 例前列腺癌切除术后放疗的患者进行随访,结果发现,在去除 17 例失访的患者中,有 54.2 % 的患者跨膜丝氨酸蛋白酶 2 基因(TMPRSS2):ETS 转录因子家族成员相关基因(ERG)融合基因表达阳性,RT - PCR 显示 miR - 221 在 TMPRSS2:ERG 阳性的患者中表达下调。对随访超过 5 年的患者,研究者应用 RT - PCR 对肿瘤的转移和复发情况进行了研究,发现 miR - 221 在 55 例转移或复发患者中的表达水平明显低于 44 例没有复发转移的患者,提示前列腺癌的复发转移与低表达的 miR - 221 相关。血小板源性生长因子(platelet - derived growth factor, PDGF)信号通路在肿瘤的发生、发展中起重要作用,可以调节细胞的增殖、凋亡、转移、侵袭及细胞上皮间质转化(epithelial - mesenchymal transition, EMT)。Su 等^[18]的研究表明,miR - 221 在胰腺癌的生长、侵袭及 PDGF 介导的 EMT 中起重要作用,下调 miR - 221 可以提高

其靶基因 TRPS1 的表达水平,从而抑制胰腺癌细胞的增殖。

三、miR - 221 与肿瘤治疗

越来越多的证据表明,耐药的肿瘤细胞与转移癌细胞的抗凋亡和侵袭能力具有相似性,肿瘤细胞的耐药性可能与某些 miRNA 功能失调有关。胆管癌细胞对包括吉西他滨在内的多种化疗药具有耐药性。Okamoto 等^[19]利用细胞活力分析实验证实胆管癌细胞 HuCCT1 对吉西他滨的敏感度明显优于 HuH28 细胞,比较这两种细胞治疗组与非治疗组的 miRNA 表达谱,发现在 HuH28 细胞中无差异表达的 miRNA,而在 HuCCT1 细胞中 miR - 1260 与 miR - 1280 表达下调,提示 miRNA 参与细胞对吉西他滨的耐药。应用微阵列(microarray)技术比较这两种细胞的 miRNA 表达谱,发现 miR - 221 在 HuH28 细胞中表达降低,过表达 miR - 221 可以恢复细胞对吉西他滨的敏感度,表明 miR - 221 与胆管癌细胞 HuH28 对吉西他滨的耐药有关。

Zhang 等^[20]利用脂质体将 miR - 221 的抑制剂导入人结直肠癌细胞 Caco2,检测 miR - 221、PTEN mRNA 和 PTEN 蛋白的表达水平,同时检测了射线照射后细胞的死亡数目。结果发现,与对照组相比,miR - 221 抑制剂组 miR - 221 的表达明显下降,PTEN 蛋白的表达增高,并且照射后的细胞死亡数目明显增加,表明 miR - 221 的抑制剂可以通过上调 PTEN 的表达增强结直肠癌对放射的敏感度。Zhao 等^[21]应用 RT - PCR 证实了 miR - 221 在骨肉瘤细胞系中的表达下调,因此,将 miR - 221 的类似物及抑制剂分别转染入骨肉瘤细胞 SOSP - 9607 和 MG63 中,结果发现,下调 miR - 221 的表达能够促进细胞增殖、减少细胞凋亡并增加对顺铂的耐药性,进一步他们用荧光酶素报告分析及 Western blot 法证实了 PTEN 是 miR - 221 的靶基因,与 miR - 221 表达呈负相关。缺乏 3' - UTR 的 PTEN cDNA 或者磷脂酰肌醇 3 - 激酶的抑制剂 LY294002 可以消除 miR - 221 诱导的顺铂耐药,因此,miR - 221 可以作为骨肉瘤治疗的一个新型靶标。

四、展 望

miRNA 作为内源性低分子 RNA,可以通过多种机制参与生物体内的生物学过程。目前,有关 miRNA 功能的研究已成为科学研究领域中的前沿问题,miRNA 与肿瘤发生发展的关系及其潜在的诊断及治疗价值越来越受到人们的重视,已有研究报道 miR -

NA 与 miRNA 靶位点的多态性可作为肿瘤诊断及预后指标。研究显示 miR - 221 已经作为异常表达的 miRNA 出现在许多恶性肿瘤中,然而,miR - 221 是否可以通过正负反馈机制调控自身的表达,是否可以通过调控其他各种类型的非编码 RNA(如长链非编码 RNA)从而间接调控某些基因的表达等方面还研究甚少。因此,通过深入研究肿瘤中 miR - 221 分子的调控机制及其功能靶点,有望为肿瘤的防治提供新的思路。

参考文献

- Bartel DP. MicroRNAs; genomics, biogenesis, mechanism and function [J]. Cell, 2004, 116(2):281 - 297
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, *et al.* Frequent deletions and down - regulation of micro - RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(24):15524 - 15529
- Kasinski AL, Slack FJ. Arresting the culprit: targeted antagomir delivery to sequester oncogenic miR - 221 in HCC [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2012, 1:e12
- Kim YK, Yu J, Han TS, *et al.* Functional links between clustered microRNAs: suppression of cell - cycle inhibitors by microRNA clusters in gastric cancer [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(5):1672 - 1681
- Di Leva G, Gasparini P, Piovan C, *et al.* MicroRNA cluster 221 - 222 and estrogen receptor alpha interactions in breast cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2010, 102(10):706 - 721
- Quintavalle C, Mangani D, Roscigno G, *et al.* MiR - 221/222 target the DNA methyltransferase MGMT in glioma cells [J]. PLoS One, 2013, 8(9):e74466
- He HC, Han ZD, Dai QS, *et al.* Global analysis of the differentially expressed miRNAs of prostate cancer in Chinese patients [J]. BMC Genomics, 2013, 14(1):757
- Gramantieri L, Ferracin M, Fornari F, *et al.* Cyclin G1 is a target of miR - 122a, a microRNA frequently down - regulated in human hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2007, 67(13):6092 - 6099
- Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, *et al.* MiR - 221 and miR - 222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1 [J]. J Biol Chem, 2007, 282

(32):23716 - 23724

- Gramantieri L, Fornari F, Ferracin M, *et al.* MicroRNA - 221 targets Bmf in hepatocellular carcinoma and correlates with tumor multifocality [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(16):5073 - 5081
- Chou CK, Chen RF, Chou FF, *et al.* miR - 146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAF(V600E) mutation [J]. Thyroid, 2010, 20(5):489 - 494
- Yip L, Kelly L, Shuai Y, *et al.* MicroRNA signature distinguishes the degree of aggressiveness of papillary thyroid carcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18(7):2035 - 2041
- Lovat F, Valeri N, Croce CM. MicroRNAs in the pathogenesis of cancer [J]. Semin Oncol, 2011, 38(6):724 - 733
- Rong M, Chen G, Dang Y. Increased miR - 221 expression in hepatocellular carcinoma tissues and its role in enhancing cell growth and inhibiting apoptosis in vitro [J]. BMC Cancer, 2013, 13:21
- Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, *et al.* MiR - 221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma [J]. Oncogene, 2008, 27(43):5651 - 5661
- Ye X, Bai W, Zhu H, *et al.* MiR - 221 promotes trastuzumab - resistance and metastasis in HER2 - positive breast cancers by targeting PTEN [J]. BMB Rep, 2013, pii: 2443
- Gordanpour A, Stanimirovic A, Nam RK, *et al.* miR - 221 is down - regulated in TMPRSS2; ERG fusion - positive prostate cancer [J]. Anticancer Res. 2011, 31(2):403 - 410
- Su A, He S, Tian B, *et al.* MicroRNA - 221 mediates the effects of PDGF - BB on migration, proliferation, and the epithelial - mesenchymal transition in pancreatic cancer cells [J]. PLoS One, 2013, 8(8):e71309
- Okamoto K, Miyoshi K, Murawaki Y. miR - 29b, miR - 205 and miR - 221 enhance chemosensitivity to gemcitabine in Huh28 human cholangiocarcinoma cells [J]. PLoS One, 2013, 8(10):e77623
- Zhang X, Sun K, Lei S, *et al.* Anti - microRNA - 221 enhances radiosensitivity of colorectal carcinoma cells by up - regulating PTEN [J]. Nanfang Yike Daxue Xuebao, 2013, 33(5):72832
- Zhao GY, Cai CK, Yang TT, *et al.* MicroRNA - 221 induces cell survival and cisplatin resistance through PI3K/Akt pathway in human osteosarcoma [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e53906

(收稿日期:2014 - 01 - 18)

(修回日期:2014 - 03 - 06)

(上接第 187 页)

- Shimoda T, Obase Y, Kishikawa R, *et al.* The fractional exhaled nitric oxide and serum high sensitivity C - reactive protein levels in cough variant asthma and typical bronchial asthma [J]. Allergol Int, 2013, 62(2):251 - 257
- Niimi A, Matsumoto H, Minakuchi M, *et al.* Airway remodelling in cough - variant asthma [J]. Lancet, 2000, 356(9229):564 - 565
- 钟雪莺, 黄炎明, 温玉婷. 生物标志物、CT 评价咳嗽变异性哮喘气道重塑的研究 [J]. 中国当代医药, 2013, 20(18):15 - 17
- Lee SY, Kim MK, Shin C, *et al.* Substance P - immunoreactive nerves in endobronchial biopsies in cough - variant asthma and classic asthma [J]. Respiration, 2003, 70(1):49 - 53
- Otsuka K, Niimi A, Matsumoto H, *et al.* Plasma substance P levels in

patients with persistent cough [J]. Respiration, 2011, 82(5):431 - 438

- Morice AH, Fontana GA, Sovijarvi AR, *et al.* The diagnosis and management of chronic cough [J]. Eur Respir J, 2004, 24(3):481 - 492
- Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, *et al.* Diagnosis and management of cough executive summary: ACCP evidence - based clinical practice guidelines [J]. Chest, 2006, 129(Suppl 1):1S - 23S
- 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南 (2009 版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2009, 32(6):407 - 413
- Takemura M, Niimi A, Matsumoto H, *et al.* Clinical, physiological and anti - inflammatory effect of montelukast in patients with cough variant asthma [J]. Respiration, 2012, 83(4):308 - 315

(收稿日期:2014 - 03 - 22)

(修回日期:2014 - 03 - 31)