

miRNA 在肾癌中的研究进展

刘 亮 徐万海 朱向伟

摘 要 microRNA (miRNA) 是一类大小为 19 ~ 25nt 的内源性非编码单链小分子 RNA, 在转录后水平调控基因的表达。miRNA 的表达与细胞增殖、分化和凋亡等生理或病理过程密切相关。研究证实, 在包括肾癌等多种人类肿瘤中均发现 miRNA 的表达异常。miRNA 在肾癌的发生、发展过程中发挥了重要的作用。本文就 miRNA 在肾癌中的研究进展做一综述。

关键词 miRNA 肾癌 诊断 治疗 预后

中图分类号 R737.11

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.05.004

肾癌又称肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC), 是起源于肾小管上皮细胞的一种常见的肾脏恶性肿瘤, 占成人全部恶性肿瘤的 3%, 占肾脏原发性恶性肿瘤的 90%, 其病死率高达 40%^[1-3]。目前肾癌的主要治疗方法是外科手术切除, 但即使早期患者手术治疗后, 仍有部分患者将发生转移。转移性肾癌的预后较差, 对放、化疗等治疗不敏感, 3 年平均存活率低于 5%^[4]。基于以上原因, 深入了解肾癌的发病机制, 并探索出早期诊断和治疗方法有着重要的意义。

microRNA (miRNA) 是一类由长度为 19 ~ 25nt 构成的非编码单链 RNA 分子, 它们广泛存在于真核生物细胞中, 在进化上高度保守, 是近些年来研究最为热门的生物小分子之一。miRNA 最早于 1993 年被发现, Lee 等在秀丽新小杆线虫研究中发现了一个小分子 RNA Lin-4。随后在许多生物中均发现了这种低分子 RNA。到目前为止, 大约有 1000 多种 miRNA 被陆续发现, 约占人类基因的 1% ~ 5%, 它们参与调控大约 1/3 的蛋白编码基因的表达。

miRNA 在转录后水平发挥负性调控基因表达的作用, 影响细胞的生长、增殖、分化及凋亡, 其表达水平的异常与许多肿瘤的发生、发展相关。机体内的 miRNA 和靶基因之间存在着复杂的调控网络, 具体表现为 1 个 miRNA 可以有多个靶基因, 而 1 个靶基因也可能受多个 miRNA 调控。多项研究表明, miRNA 与肾癌的发生、发展密切相关, 有望成为肾癌的早期诊断标志物和治疗的新靶点。本文就 miRNA 在肾癌中的发生、发展、诊断、治疗以及预后做一综述。

一、miRNA 简介

1. miRNA 的生物合成: 大多数 miRNA 基因主要位于蛋白编码基因间隔区, 也有一部分 miRNA 基因位于内含子或外显子区域。miRNA 在体内的合成是一个复杂的过程, 在细胞核内, 大多数编码 miRNA 的基因由 RNA 聚合酶 II 转录生成初级 miRNA (pri-miRNA), 也有很少一部分由 RNA 聚合酶 III 转录生成。然后, pri-miRNA 在核内 Drosha-DGCR8 酶复合体的作用下, 剪切成 60 ~ 70nt 长度的具有茎环结构的前体 miRNA (pre-miRNA)。pre-miRNA 在转运蛋白 exportin-5 的作用下转运至细胞质, 被 Dicer 酶切割成约 22nt 的双链 RNA。随后, 经解旋酶的作用解旋, 形成成熟的单链 miRNA, 成熟的单链 miRNA 在 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 引导下结合到靶基因 mRNA 的 3'端非编码区 (3'UTR), 从而调控靶基因的表达, 发挥下游生物学功能。与其互补的另一条单链则被降解。

2. miRNA 的作用机制: miRNA 主要通过与靶基因 mRNA 的 3'UTR 的碱基以完全或不完全互补方式配对, 在转录后水平对其进行降解或翻译抑制。Pasquinelli 等通过对线虫的研究中发现, miRNA 通过与 mRNA 的 3'UTR 不完全匹配结合, 来抑制 mRNA 的翻译。Yekta 等在研究中发现了与 Pasquinelli 等不同的现象, miRNA 与靶 mRNA 完全匹配结合, 并最终导致了靶 mRNA 的降解。这提示 miRNA 主要通过两种机制来调节基因的表达: 对靶 mRNA 的降解或对靶 mRNA 翻译的抑制。具体采用哪种机制取决于 miRNA 与靶 mRNA 的互补程度, 若 miRNA 与靶 mRNA 的 3'UTR 碱基两者完全互补配对, miRNA 就引导靶 mRNA 的特异性降解, 类似于 siRNAs 的作用方式, 这种 miRNA 介导的基因沉默机制在植物中比较普遍;

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (面上项目) (81270022)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第四医院泌尿外科

通讯作者: 徐万海, 教授, 博士生导师, 电子信箱: xuwanhai@163.com

若两者不完全互补配对则引起翻译阻遏,这在大多数哺乳动物中比较常见。由于许多 miRNA 与靶 mRNA 并非完全互补配对,所以主要的作用模式是转录后的翻译阻遏。

二、miRNA 与肿瘤的关系

传统的观点认为,肿瘤的发生是由编码蛋白的基因或者抑癌基因功能变化所致。而近年来,众多研究表明 miRNA 与肿瘤的发生、发展有密切的关系,它们参与了一些与肿瘤发生相关的重要的细胞生物学过程^[5,6]。最早 Calin 等在研究慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 中发现 miRNA 的表达异常,CLL 患者中常伴有 miR - 15 和 miR - 16 基因的缺失或表达下调。miRNA 在正常细胞与肿瘤细胞存在差异性表达,近年来发现 50% 以上的 miRNA 定位于肿瘤相关的染色体区域及脆性位点,这说明 miRNA 在肿瘤的发生过程中发挥重要作用^[7]。

目前认为 miRNA 通过作用于原癌基因或抑癌基因而参与肿瘤的发生^[8]。由于 miRNA 通过负性调控靶基因的表达而发挥作用,因此,若其 mRNA 为原癌基因,miRNA 表达水平的升高可抑制肿瘤的形成;反之,若其靶 mRNA 是抑癌基因,则 miRNA 表达水平的上调可促进肿瘤的发生。

三、miRNA 与肾癌

1. miRNA 与肾癌的发生、发展:大量的研究表明,在肾癌组织中 miRNA 存在差异性表达。和其他肿瘤一样,在肾癌中,一部分 miRNA 扮演着抑癌基因的角色,而另一部分 miRNA 扮演着癌基因的角色,当具有抑癌作用的 miRNA 表达下调、缺失或具有癌基因作用的 miRNA 表达上调时,肾癌就有可能发生。另外,相应 miRNA 的表达上调或下调还将会促进肿瘤的转移。

Chow 等^[9]通过微阵列基因芯片分析肾透明细胞癌组织与癌旁组织中 miRNA 差异表达的情况,发现了 33 种 miRNA 呈差异性表达,其中 21 种呈高表达,这些高表达的 miRNA 在其他恶性肿瘤中也有报道,且其大多与肿瘤相关的染色体异常的位点有关。Heinzelmann 等^[10]在研究 30 例转移性肾透明细胞癌的组织标本中发现,转移性肾透明细胞癌与非转移性肾透明细胞癌组织中,一些 miRNA 存在差异性表达,其中表达差异比较显著的有 miR - 221、miR - 451、miR - 10a、miR - 29a 和 miR - 30a;同时发现了 12 种 miRNA 在高度侵袭性的肿瘤中表达显著降低,包括 let - 7 家族、miR - 26a、miR - 30c 等。Nakada 等^[11]

研究发现,在肾透明细胞癌中,miR - 141、miR - 200c 的表达有明显下调,其共同的靶基因 ZFH1B 表达上调,进而抑制了 CDH1/E - cadherin 的转录,最终导致肾癌的发生。

2. miRNA 与肾癌的诊断和预后:miRNA 在肿瘤组织和正常组织中的差异表达,提示 miRNA 可以作为肿瘤诊断和预后的生物学标志物。Jung 等^[12]发现 miR - 141 在肾癌组织中明显下调,联合表达上调的 miR - 155,可以区分恶性肿瘤及非恶性肿瘤标本,分类准确率可以高达 97%。不同亚型的肾癌组织中 miRNA 的表达谱不同^[13,14]。高表达的 miR - 21 与低表达的 miR - 199a 与进展期肾癌相关^[15,16]。miR - 106b 的明显下调可作为肾癌患者肾切除术后发生早期转移的预测标志物^[17]。Mitchell 等^[18]发现 miRNA 尚存在于外周循环中,其种类和数量随生理状况、疾病的种类和病程不同而发生改变。相比较而言,体液特别是血液,较易获得和检测,稳定性好、敏感度高,血清 miRNA 可作为肿瘤早期诊断和预后标志物。

肾癌患者存在疾病特异性的血清 miRNA 表达谱。例如,研究发现,miR - 378 在肾癌患者的血清中表达上调,miR - 451 则表达下调,联合血清 miR - 378 与 miR - 451 的表达水平,诊断肾癌的敏感度和特异性分别为 81% 和 83%^[19]。肾癌患者的血清 miR - 221 相对于健康人群表达上调,高表达水平的 miR - 221 与较低的总生存期密切相关^[20]。von Brandenstein 等^[21]研究发现,肾癌患者的尿液中 miR - 15a 相对于健康人群表达上调,尿液 miR - 15a 可作为一种重要生物标志物用来辨别良性及恶性肾肿瘤。由上,miRNA 谱可望成为肾癌诊断和预后的分子标志物。

3. miRNA 与肾癌的治疗:miRNA 在肿瘤的发生、发展中起着癌基因或抑癌基因的作用,其生物学意义决定了它是有价值的治疗靶,因此,miRNA 的异常表达为肿瘤的治疗提供了新的途径,即可以通过调节 miRNA 的水平来抑制肿瘤的发生、发展,达到治疗肿瘤的目的。目前通过对 miRNA 的干预来治疗肿瘤主要有两种方式:①对于有癌基因作用的 miRNA,可以通过 miRNA 反义寡聚核苷酸 (AMOs) 或抑制剂来下调其表达水平,进而抑制肿瘤的生长;②对于有抑癌基因作用的 miRNA,可以通过恢复表达下调的 miRNA、转染其前体 miRNA 或 miRNA 类似物 (miRNA mimic) 来上调其水平,达到抑制肿瘤的作用。例如,染料木黄酮 (genistein) 在体外和体内实验中抑制

miR-21 的表达,将其处理过的肾癌 A498 细胞注入到已成瘤的裸鼠体内,可以控制肿瘤发展^[16]。Majid 等^[22]将抑癌性 miR-205 稳定转染的细胞注入到已形成的 A498 肾肿瘤中,肿瘤体积从 81mm³ 减小到 5 mm³。总之,随着科学研究的深入,miRNA 可能成为肾癌治疗的新手段。

综上所述,miRNA 与肾癌的发生、发展有关,有望成为肾癌新的肿瘤标志物,用于肾癌的诊断、预后判断。其对基因调控具有靶向性,有可能成为肾癌治疗的一种新的方法。然而,miRNA 与肾癌的研究仍处于起步阶段,miRNA 在肾癌的调控机制也未完全研究透彻,miRNA 与肾癌的密切关系需要进行更多更深入的研究,距离临床的广泛应用尚有很长的路要走。miRNA 表达失常是肿瘤发生发展的因还是果尚不清楚,miRNA 是受哪些因素调节和如何调节等理论性问题都尚需解决。相信随着科学研究的深入,肾癌发病的分子机制的进一步阐明,miRNA 将在肾癌的早期诊断、预后判断、基因治疗等方面发挥更重要的作用。

参考文献

- 1 Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, *et al.* The epidemiology of renal cell carcinoma[J]. *Eur Urol*, 2011, 60(4): 615-621
- 2 Ljungberg B, Cowan NC, Hanbury DC, *et al.* EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update[J]. *Eur Urol*, 2010, 58(3): 398-406
- 3 Fedorko M, Stanik M, Iliev R, *et al.* Combination of miR-378 and miR-210 serum levels enables sensitive detection of renal cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 23382-23389
- 4 Kuehn HS, Ouyang W, Lo B, *et al.* Immune dysregulation in human subjects with heterozygous germline mutations in CTLA4[J]. *Science*, 2014, 345(6204): 1623-1627
- 5 Shi S, Han L, Gong T, *et al.* Systemic delivery of microRNA-34a for cancer stem cell therapy[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, 52(14): 3901-3905
- 6 Leal JA, Feliciano A, Lleona ME. Stem cell MicroRNAs in senescence and immortalization: novel players in cancer therapy[J]. *Med Res Rev*, 2013, 33(1): 112-138
- 7 Huang JT, Wang J, Srivastava V, *et al.* MicroRNA machinery genes as novel biomarkers for cancer[J]. *Front Oncol*, 2014, 4:113
- 8 Tie J, Fan D. Big roles of microRNAs in tumorigenesis and tumor development[J]. *Histol Histopathol*, 2011, 26(10): 1353-1361
- 9 Chow TF, Youssef YM, Lianidou E, *et al.* Differential expression profiling of microRNAs and their potential involvement in renal cell carcinoma pathogenesis[J]. *Clin Biochem*, 2010, 43(1-2):

- 150-158
- 10 Heinzelmann J, Henning B, Sanjmyatav J, *et al.* Specific miRNA signatures are associated with metastasis and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma[J]. *World J Urol*, 2011, 29(3): 367-373
- 11 Nakada C, Matsuura K, Tsukamoto Y, *et al.* Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c[J]. *J Pathol*, 2008, 216(4): 418-427
- 12 Jung M, Mollenkopf HJ, Grimm C, *et al.* MicroRNA profiling of clear cell renal cell cancer identifies a robust signature to define renal malignancy[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(9B): 3918-3928
- 13 Youssef YM, White NM, Grison J, *et al.* Accurate molecular classification of kidney cancer subtypes using microRNA signature[J]. *Eur Urol*, 2011, 59(5): 721-730
- 14 Fridman E, Dotan Z, Barshaek I, *et al.* Accurate molecular classification of renal tumors using microRNA expression[J]. *J Mol Diagn*, 2010, 12(5): 687-696
- 15 Tsukigi M, Bilim V, Yuuki K, *et al.* Re-expression of miR-199a suppresses renal cancer cell proliferation and survival by targeting GSK-3 β [J]. *Cancer Lett*, 2012, 315(2): 189-197
- 16 Zaman MS, Shahryari V, Deng G, *et al.* Up-regulation of microRNA-21 correlates with lower kidney cancer survival[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31060
- 17 Slaby O, Jancovicova J, Lakomy R, *et al.* Expression of miRNA-106b in conventional renal cell carcinoma is a potential marker for prediction of early metastasis after nephrectomy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 90
- 18 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(30): 10513-10518
- 19 Redova M, Poprach A, Nekvindova J, *et al.* Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma[J]. *J Transl Med*, 2012, 10:55
- 20 Teixeira AL, Ferreira M, Silva J, *et al.* Higher circulating expression levels of miR-221 associated with poor overall survival in renal cell carcinoma patients[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(5): 4057-4066
- 21 von Brandenstein M, Pandarakalam JJ, Kroon L, *et al.* MicroRNA15a, inversely correlated to PKC α , is a potential marker to differentiate between benign and malignant renal tumors in biopsy and urine samples[J]. *Am J Pathol*, 2012, 180(5): 1787-1797
- 22 Majid S, Saini S, Dar AA, *et al.* MicroRNA-205 inhibits Src-mediated oncogenic pathways in renal cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2611-2621

(收稿日期:2015-10-26)

(修回日期:2015-11-10)