

PTEN 的 ceRNA 网络调控研究进展

张李迪 姜 斌

摘 要 抑癌基因 PTEN 的表达水平与多系统肿瘤的发生、发展密切相关。研究发现,多种 microRNA 可以在转录后水平调控 PTEN 的表达,竞争性内源性 RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)则能够屏蔽 microRNA 对 PTEN mRNA 的抑制或降解作用,二者共同作用形成一个精细的 ceRNA 调控网络,参与 PTEN 基因表达的转录后调控。本文主要列举目前已经被鉴定的具有功能性的 PTEN 相关 ceRNA,并探讨 ceRNA 调控网络对 PTEN 蛋白表达水平及抑癌功能的影响。

关键词 PTEN 调控 ceRNA miRNA

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.07.004

10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTEN)是一种具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因,在肺癌、前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、胶质母细胞瘤等多系统肿瘤中表达普遍下降^[1]。研究显示,肿瘤抑制基因 PTEN 的抑癌功能与其表达水平强烈偶联,呈现明显的剂量依赖性,其表达水平的微量变化即可对肿瘤的发生、发展产生深远的影响^[2-4]。因此,PTEN 表达的精细调节对其抑癌功能的发挥至关重要。

近年来,在 PTEN 基因表达调控的众多机制中,基于 ceRNA-miRNA-RNA 的转录后调控机制研究得尤为广泛。microRNA(miRNA)是一种高度保守的非编码小分子单链 RNA,可以通过碱基互补配对的方式与靶 mRNA 的 3'端非翻译区(3'-untranslated region, 3'-UTR)结合,并依据互补程度的不同在转录后水平诱导靶 mRNA 降解或者阻断靶 mRNA 的翻译^[5,6]。ceRNA 作为最新发现的基因表达调控因子,可以通过 miRNA 应答元件(microRNA response element, MRE)与靶 mRNA 竞争性结合同种 miRNA 分子,导致 miRNA 的水平和活性相对下降,抑制 miRNA 对靶 mRNA 的沉默效应,进而上调靶基因的表达水平,发挥转录后基因表达的调控作用^[7]。在 PTEN 的转录后调控网络中,包括假基因转录本、长链非编码 RNA 以及 mRNA 在内的多种类型的 RNA 分子均可

以 ceRNA 的角色屏蔽 oncomiRNA(oncogenic microRNA)对 PTEN 的抑制或降解作用。本文回顾近年来国内外相关文献,主要梳理目前已经证实具有功能性的 PTEN 相关 ceRNA,并简要讨论 ceRNA 调控网络对 PTEN 表达水平及抑癌功能产生的影响。

一、假基因:PTENP1

假基因(pseudogene)是指与已知功能基因组 DNA 序列高度相似,但由于某些遗传缺陷导致不能正常表达的基因序列。目前认为假基因的产生主要通过以下两种方式:一是在 DNA 复制过程中,由于碱基突变产生移码突变或形成提前终止子进而形成假基因,即未加工方式,这种假基因具有内含子-外显子结构和调控元件;另外一种假基因则通过反转录转座作用形成,即 DNA 转录为 mRNA 后,再由 mRNA 反转录成 cDNA, cDNA 随机插入到基因组位点而形成的加工后假基因,又被称为逆转座型假基因,这种类型的假基因不具有内含子结构和 5'端调控序列,但保留了 3'端聚腺苷酸化信号序列^[8]。由于假基因转录本通常保留了 3'和(或)5'-UTR,因而与其同源的功能基因转录本几乎拥有完全一致的 MREs,能够特异性地拮抗 miRNA 与功能基因 3'-UTR 的结合,从而与同源功能基因竞争共同的 miRNA 池,导致 miRNA 水平和活性相对下降,进而上调靶 mRNA 的表达,是最理想的一类 ceRNA。

PTENP1 是一个具有转录功能的加工后假基因,但由于编码区点突变,导致启动子丢失从而丧失了翻译能力^[9]。PTENP1 的 3'UTR R1 区与 PTEN 高度同源(95% 的序列相同),并与 PTEN 享有许多共同的 miRNA 结合位点^[8]。通过这些共享的 MRE 结构,PTENP1 可以与抑癌基因 PTEN 竞争性结合多种

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81302006)

作者单位:201999 上海交通大学医学院附属第三人民医院肿瘤科

通讯作者:姜斌,电子信箱:jiangbinwer@sjtu.edu.cn

miRNA 分子,屏蔽 miRNAs 对 PTEN mRNA 的转录后抑制作用,从而确保 PTEN 的正常表达。

Poliseno 等在前列腺癌的研究中发现,PTENP1 可以通过竞争性结合 miR - 19b、miR - 20a、miR - 21、miR - 26a 和 miR - 214 等多种靶向 PTEN 的 miRNA,导致这些 miRNA 相对水平下降,从而抑制 oncomiRNA 与抑癌基因 PTEN 3'UTR 结合,上调细胞内 PTEN 的表达水平,抑制肿瘤细胞的增殖。采用 siRNA 干扰技术降低前列腺癌细胞 PTENP1 的表达后,PTEN mRNA 和蛋白表达水平明显降低,细胞增殖加快^[8]。Yu 等^[10]研究发现,原发性肾透明细胞癌临床样本中普遍存在由于甲基化作用而导致的 PTENP1 低表达或不表达,并且 PTENP1 的表达水平与抑癌基因 PTEN 的表达呈正相关。过表达 PTENP1 可以解除 miR21 对 PTEN 的转录后抑制作用,抑制肾透明细胞癌细胞的增殖、侵袭和转移,并增强肾透明细胞癌细胞对顺铂和吉西他滨等化疗药物的敏感度;敲除 miRNA 发挥功能所必需的 DICER 基因后,PTENP1 的抑癌功能丧失。这些研究提示,假基因 PTENP1 可以通过 miRNA 依赖的 ceRNA 机制在转录后水平上调抑癌基因 PTEN 的表达,从而发挥其抑癌功能。

二、lncRNA: lncRNA - BGL3、lncRNA - FER1L4

长链非编码 RNA (long non - coding RNA, lncRNA) 是一大类长度 > 200nt 的不能编码蛋白质的 RNA 分子的统称。近年来研究发现,lncRNA 除了直接参与调控 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重构等发挥基因表达调控的功能外,还可以作为 ceRNA 与其他 RNA 转录本竞争性结合 miRNA,减少 miRNA 对靶 mRNA 的沉默作用,从而拮抗 miRNA 的功能^[11]。

Guo 等研究发现,在慢性粒细胞白血病 (CML) 中,Bcr - Abl 激酶通过 c - Myc 依赖的 DNA 甲基化作用抑制 lncRNA - BGL3 的表达,使得 lncRNA - BGL3 与 PTEN 竞争性结合 miRNAs (miR - 17、miR - 93、miR - 20a、miR - 20b、miR - 106a 和 miR - 106b) 的能力减弱,导致抑癌基因 PTEN 表达降低,促进 Bcr - Abl 激酶介导的慢性粒细胞白血病的发生。过表达 lncRNA - BGL3 可以有效促进伊马替尼诱导的 K562 细胞凋亡,并显著抑制裸鼠皮下移植瘤的生长。此外,用 Bcr - Abl 反转录病毒感染小鼠骨髓造血干细胞后发现,lncRNA - BGL3 转基因小鼠可以明显抑制 Bcr - Abl 介导的骨髓造血干细胞恶性转化^[12]。

Xia 等^[13,14]通过 lncRNA 微阵列分析发现 lncRNA - FER1L4 在人胃癌组织样本和胃癌细胞系中

表达显著下调,且与 PTEN 表达水平呈正相关。双荧光素酶报告基因实验验证在胃癌组织中表达明显升高的 miR - 106a - 5p 是靶向 lncRNA - FER1L4 和 PTEN mRNA 共同的 miRNA,siRNA 干扰技术降低 lncRNA - FER1L4 的表达后,miR - 106a - 5p 释放增加,导致胃癌细胞 PTEN mRNA 和蛋白表达水平降低,细胞 G₀/G₁ 期到 S 期转变增加,细胞增殖加快。

三、mRNA: Versican、VAPA、CNOT6L、ZEB2

在 RNA 分子参与的 PTEN 转录后调控过程中,不仅非编码 RNA 发挥了重要作用,许多编码蛋白质的 mRNA 也可以作为 ceRNA 在转录后水平调控 PTEN 的表达。Yang 课题组研究发现,在乳腺癌中透明质酸结合蛋白 Versican 的 mRNA 能够竞争性结合 miR - 136、miR - 144 和 miR - 199a - 3p,解除这些 miRNAs 对 PTEN 和 RB1 基因的转录后抑制作用,从而抑制乳腺癌细胞的生长^[15]。Pandolfi 研究组使用 miRNA 的靶标预测软件进行生物信息学分析,然后通过细胞学实验验证在直肠癌细胞中囊泡相关膜蛋白相关蛋白 A 基因 (vesicle - associated membrane protein - associated protein A, VAPA) 和 CCR4 - NOT 转录物复合体亚基 6 样基因 (CCR4 - NOT transcription complex subunit 6 - like, CNOT6L) 的 mRNA 与 PTEN 之间可以通过 ceRNA 机制进行相互调控,并通过影响 PI₃K/Akt 通路发挥抑癌作用^[16]。VAPA mRNA 通过竞争性结合 miR - 17、miR - 19a、miR - 20a、miR - 20b、miR - 26b、miR - 106a 和 miR - 106b 等 7 种 miRNA 调控 PTEN 的表达水平,而 CNOT6L mRNA 通过竞争性结合 miR - 17、miR - 19a、miR - 19b、miR - 20a、miR - 20b 和 miR - 106b 等 6 种 miRNA 调控 PTEN 的表达水平。当 VAPA 或 CNOT6L 表达上调时,可以屏蔽这些 miRNAs 对 PTEN mRNA 的转录后抑制作用,上调 PTEN 蛋白的表达水平并提高其抑癌活性;而当 VAPA 或 CNOT6L 表达降低时,则可以释放大量的靶向 PTEN 的 miRNAs,导致 PTEN 蛋白表达减少,抑癌活性下降。与此同时,Pandolfi 研究组还通过荧光素酶报告基因和 DICER 基因敲除两种方法,在黑色素瘤中证实了上皮 - 间质转化 (epithelial mesenchymal transitions, EMT) 相关转录抑制因子 ZEB2 也可以通过 ceRNA 机制调控 PTEN 蛋白的表达水平,并采用 RNA 免疫共沉淀技术确定了两者共享的 miR - 25、miR - 92a、miR - 181 和 miR - 200b 结合位点。ZEB2 基因敲除后 PTEN 蛋白表达明显减

少,PI₃K/AKT 信号通路过度激活,导致黑色素瘤细胞恶性转化,促进黑色素瘤细胞的增殖和贴壁不依赖性生长,并在体内水平显著促进黑色素瘤细胞裸鼠移植瘤的增长^[17]。

四、ceRNA 网络的调节

目前,众多研究表明包括假基因转录产物、lncRNA 和蛋白编码 mRNA 在内的多种类型的 RNA 分子均可以通过 ceRNA 机制与抑癌基因 PTEN 竞争有限的 miRNA 池,从而在转录后水平调控抑癌基因 PTEN 的表达。需要注意的是,在不同的肿瘤背景中,构成 PTEN ceRNA 调控网络的有效 ceRNA pairs 并不相同。例如,在乳腺癌中与 PTEN 构成 ceRNA pairs 的 Versican,在肝细胞癌中则通过竞争性结合 miR-133a、miR-199a、miR-144 和 miR-431 上调 CD34 和纤连蛋白的表达,促进肝癌细胞的增殖、浸润和转移^[18]。

ceRNA 调控网络的效能取决于 ceRNA pairs 和 miRNA 的相对表达水平、亚细胞定位、MRE 序列以及其与 RNA 结合蛋白(RNA-binding proteins, RBPs)的相互作用等多种因素。

在不同组织、不同的发育阶段或病理状态下,ceRNA 的表达水平及亚细胞定位并不相同,这些都将影响 ceRNA pairs 的整体效能。此外,尽管不同的 MRE 可以与某一共同的 miRNA 分子相结合,但是由于其核苷酸序列的不同,每个 MRE 结合 miRNA 的效能并不一样。ceRNA 拥有的 MRE 数目的多少及与 miRNA 的亲力的强弱也将影响 ceRNA pairs 作用的发生。RBP 通过与 RNA 相结合参与 RNA 的转运和细胞内定位、维持 RNA 的稳定和降解等过程^[19]。由于 RNA 分子与 RBP 的结合部位也主要位于 RNA 的调节序列,例如,75% 的 RNA 结合蛋白 HuR 的识别序列——ARE 元件(AU-rich element)与 MRE 邻近或重叠,RBP 的结合可能导致 RNA 二级结构改变,从而影响 miRNA 与 RNA 的互补结合,进而影响 ceRNA 网络的调控效应^[20,21]。

通过 ceRNA 调控机制,各种类型的 RNA 分子之间可以通过竞争性结合 miRNA 而实现相互调控,从而形成一个高度复杂而有序的调控网络,以维持基因表达的有序性和稳定性。尽管 ceRNA 领域的研究刚刚起步,但 ceRNA 在肿瘤治疗领域中已经显示出广阔的应用前景,例如 Tang 等开发的名为短串联靶标类似物(short tandem target mimic, STTM)的人工 ceRNA,可有效抑制多种 oncomiRNA 的功能^[22]。因

此,深入研究 ceRNA 网络调控机制不仅有助于更加全面地了解基因的功能,还为阐明肿瘤的发病机制和新型抗肿瘤药物的研发提供新的思路和靶点。

参考文献

- Chalhoub N, Baker SJ. PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer [J]. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4:127-150
- Alimonti A, Carracedo A, Clohessy JG, *et al.* Subtle variations in Pten dose determine cancer susceptibility [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(5):454-458
- Carracedo A, Alimonti A, Pandolfi PP. PTEN level in tumor suppression: how much is too little? [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3):629-633
- Berger AH, Knudson AG, Pandolfi PP. A continuum model for tumour suppression [J]. *Nature*, 2011, 476(7359):163-169
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2):281-297
- Van Den Berg A, Mols J, Han J. RISC-target interaction: cleavage and translational suppression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1779(11):668-677
- Salmena L, Poliseno L, Tay Y, *et al.* A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? [J]. *Cell*, 2011, 146(3):353-358
- Poliseno L, Salmena L, Zhang J, *et al.* A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology [J]. *Nature*, 2010, 465(7301):1033-1038
- Dahia PL, Fitzgerald MG, Zhang X, *et al.* A highly conserved processed PTEN pseudogene is located on chromosome band 9p21 [J]. *Oncogene*, 1998, 16(18):2403-2406
- Yu G, Yao W, Gumireddy K, *et al.* Pseudogene PTENP1 functions as a competing endogenous RNA to suppress clear-cell renal cell carcinoma progression [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12):3086-3097
- Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions [J]. *Nat Rev. Genet*, 2009, 10(3):155-159
- Guo G, Kang Q, Zhu X, *et al.* A long noncoding RNA critically regulates Bcr-Abl-mediated cellular transformation by acting as a competitive endogenous RNA [J]. *Oncogene*, 2015, 34(14):1768-1779
- Xia T, Liao Q, Jiang X, *et al.* Long noncoding RNA associated-competing endogenous RNAs in gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2014, 4:6088
- Xia T, Chen S, Jiang Z, *et al.* Long noncoding RNA FER1L4 suppresses cancer cell growth by acting as a competing endogenous RNA and regulating PTEN expression [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:13445
- Lee DY, Jeyapalan Z, Fang L, *et al.* Expression of versican 3'-untranslated region modulates endogenous microRNA functions [J]. *PLoS one*, 2010, 5(10):e13599
- Tay Y, Kats L, Salmena L, *et al.* Coding-independent regulation of the tumor suppressor PTEN by competing endogenous mRNAs [J]. *Cell*, 2011, 147(2):344-357

(下转第 17 页)

分 HSV-1 感染疾病的发生率受到有效的控制,但是疱疹疫苗的批准及广泛使用,仍需要深入的研究及推广过程^[17]。目前单纯疱疹病毒感染治疗主要依靠阿昔洛韦 (acyclovir, ACV) 和喷昔洛韦 (penciclovir, PCV),以及它们各自的前体药物伐昔洛韦和泛昔洛韦^[18]。使用 ACV 会导致 HSV 的耐药毒,HSV 的耐药株 1982 年就被发现,以往认为在免疫系统正常的 HSV 患者中感染 ACV 耐药毒株比例为 0.6% 以下,而近期报道耐 ACV 的病毒检出率已经高达 8%,而在免疫功能缺陷的患者中耐药率更高^[19]。目前通过研究 US11 蛋白与抗病毒蛋白的相互作用可能对研究 HSV-1 的发病原理有一定的贡献,而且随着生命科学相关领域的快速发展,研究者对新型抗病毒药物及作用靶点都有了更加深刻了解,有效地预防及治疗 HSV 相关疾病将为时不远^[8]。

参考文献

- 1 Ren Z, Zhang CH, Wang LJ, *et al.* In vitro anti-viral activity of the total alkaloids from Tripterygium hypoglaucum against herpes simplex virus type 1[J]. Virol Sin, 2010, 25(2): 107-114
- 2 Tohme S, Cukier CD, Severini A. RNA binding properties of the US11 protein from four primate simplexviruses[J]. Virol J, 2011, 8: 504
- 3 李深,任哲,王巧利,等.单纯疱疹病毒 1 型 US12 基因 siRNA 筛选及其对病毒增殖的影响[J].中国病理生理杂志,2011,27(3):528-532
- 4 胡佳,司洋,李娟,等.单纯疱疹病毒性脑炎治疗措施的临床证据评价[J].中国现代神经疾病杂志,2011,11(5):518-521
- 5 周瑜,郭远瑾,梅元武.糖皮质激素治疗对单纯疱疹病毒性脑炎预后的影响[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2009,16(1):30-34
- 6 Lin A, Xu H, Yan W. Modulation of HLA expression in human cytomegalovirus immune evasion[J]. Cell Mole Immunol, 2007, 4(2): 91-98
- 7 Sanchez R, Mohr I. Inhibition of cellular 2'-5' oligoadenylate synthetase by the herpes simplex virus type 1 Us11 protein[J]. J Virol,

2007, 81(7): 3455-3464

- 8 Xing J, Wang S, Lin R, *et al.* Herpes simplex virus 1 tegument protein US11 downmodulates the RLR signaling pathway via direct interaction with RIG-I and MDA-5[J]. J Virol, 2012, 86(7): 3528-3540
- 9 Javouhey E, Gibert B, Arrigo AP, *et al.* Protection against heat and staurosporine mediated apoptosis by the HSV-1 US11 protein[J]. Virology, 2008, 376(1): 31-41
- 10 Benboudjema L, Mulvey M, Gao Y, *et al.* Association of the herpes simplex virus type 1 Us11 gene product with the cellular kinesin light-chain-related protein PAT1 results in the redistribution of both polypeptides[J]. J Virol, 2003, 77(17): 9192-9203
- 11 Bigley NJ. Complexity of Interferon-gamma Interactions with HSV-1[J]. Front Immunol, 2014, 5: 15
- 12 朱斐,王微.细胞自噬与病毒复制[J].中国细胞生物学学报,2014,36(5):691-697
- 13 Lussignol M, Queval C, Bernet-Camard MF, *et al.* The herpes simplex virus 1 Us11 protein inhibits autophagy through its interaction with the protein kinase PKR[J]. Virol, 2013, 87(2): 859-871
- 14 Sharma K, Tripathi S, Ranjan P, *et al.* Influenza A virus nucleoprotein exploits Hsp40 to inhibit PKR activation[J]. PLoS One, 2011, 6(6): e20215
- 15 王国庆,朱紫祥,曹伟军,等.RNA 病毒阻断 RIG-I 样受体识别 dsRNA 机制研究进展[J].病毒学报,2014,29(6):704-712
- 16 肖小强,陈新华.细胞凋亡信号途径与免疫系统之间的串流[J].生命的化学,2008,28(6):715-718
- 17 Belshe RB, Leone PA, Bernstein DI, *et al.* Efficacy results of a trial of a herpes simplex vaccine[J]. New Engl J Med, 2012, 366(1): 34-43
- 18 Piret J, Boivin G. Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management[J]. Antimicrob Agent Chemoth, 2011, 55(2): 459-472
- 19 刘军连,徐志凯,喻启桂.单纯疱疹病毒 2 型药物敏感性测定及其阿昔洛韦耐药株的建立[J].中国皮肤性病学杂志,2010,24(3):219-220

(收稿日期:2015-11-17)

(修回日期:2015-12-18)

(上接第 14 页)

- 17 Karreth FA, Tay Y, Perna D, *et al.* In vivo identification of tumor-suppressive PTEN ceRNAs in an oncogenic BRAF-induced mouse model of melanoma[J]. Cell, 2011, 147(2):382-395
- 18 Fang L, Du WW, Yang X, *et al.* Versican 3'-untranslated region (3'-UTR) functions as a ceRNA in inducing the development of hepatocellular carcinoma by regulating miRNA activity[J]. F J, 2013, 27(3):907-919
- 19 Sanchez-Diaz P, Penalva LO. Post-transcription meets post-genomic: the saga of RNA binding proteins in a new era[J]. RNA Biol, 2006, 3(3):101-109
- 20 Kundu P, Fabian MR, Sonenberg N, *et al.* HuR protein attenuates

miRNA-mediated repression by promoting miRISC dissociation from the target RNA[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(11):5088-5100

- 21 Srikantan S, Tominaga K, Gorospe M. Functional interplay between RNA-binding protein HuR and microRNAs[J]. Curr Protein Pept Sci, 2012, 13(4):372-379
- 22 Tang G, Yan J, Gu Y, *et al.* Construction of short tandem target mimic (STTM) to block the functions of plant and animal microRNAs[J]. Methods, 2012, 58(2):118-125

(收稿日期:2015-11-10)

(修回日期:2015-12-18)