

miRNAs 基因与前列腺肿瘤关系的研究进展

熊波波 张劲松 王海峰 左毅刚 王剑松

摘要 前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性常见的癌症类型,也是癌症导致死亡的主要原因之一,早期诊断及治疗至关重要。miRNAs 是一种微小的内源性非编码 RNA,调控着 PCa 的发生、发展,可能成为 PCa 诊断、治疗和预后高敏感度及特异性的生物学标志物。但需要通过更多的 miRNAs 在 PCa 中的相关分子生物学研究,并运用临床,在 PCa 的早期诊断、治疗和预后方面有所帮助,朝着转化及精准医学的方向发展。

关键词 miRNAs 基因 泌尿系肿瘤 前列腺癌

中图分类号 R737.25

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.03.002

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性常见的癌症类型,也是癌症导致死亡的主要原因之一^[1]。据美国癌症协会统计,2018 年有 164690 例新发前列腺癌患者被诊断出来,29430 例男性最终死于该病,约占总男性癌症死亡人数的 5.3%,居于男性癌症死亡第 6 位。诊断前列腺癌的主要筛查检查包括直肠指检,前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)的血清水平和经直肠超声引导下的前列腺活检。由于直肠指检及 PSA 的敏感度及特异性并不高,良性前列腺增生,性腺炎症和一些药物可以影响高 PSA 水平。进行组织病理学分级的前列腺癌的重要预后指标是 Gleason 评分,它是一个功能强大的预后指标,但 Gleason 评分不能准确预测疾病的攻击性^[2]。基于这些原因,有必要确定替代性前列腺癌生物学标志物,如 miRNAs,以加快和改善癌症诊断、治疗和预后,这将为个性化治疗开辟道路战略。本综述分析了 PCa 发生中 miRNAs 的功能以及哪些 miRNAs 可能被认为是有用的血清生物学标志物。

一、miRNA 的生物学功能

微小的内源性非编码 RNA (18 ~ 25nt) 被称为 miRNA,它们可以通过切割特定靶 mRNA 或通过抑制其翻译来阻止蛋白质表达^[3]。毫无疑问,miRNA 已被证明参与几乎所有关键的细胞过程,如增殖、分化、迁移、细胞凋亡、干细胞维持和代谢,因为每个 miRNA 都可以调节多个 mRNA 的表达,因此每个

mRNA 可能被几种不同的 miRNA 靶向^[4]。恶性肿瘤中 miRNA 表达的失调是由于凋亡逃逸导致肿瘤发生和药物抗性,特别是在肿瘤起始和发展期间,其充当癌基因或肿瘤抑制因子并且与细胞凋亡有关^[5]。相关研究强调了 miRNA 在癌症中的重要性,通过鉴定 miRNA 靶结合位点和肿瘤细胞中的 miRNA 加工机制的改变将可能带来新的诊断和治疗机会^[6]。为了抑制 miRNA 癌基因,已经研究了基于 miRNA 治疗的各种策略,直接方法涉及寡核苷酸或基于病毒的构建体以抑制致癌 miRNA 表达并恢复肿瘤抑制 miRNA 的表达缺失,而间接方法包括通过其转录物调节 miRNA 表达的药物^[7]。一些研究表明,miRNA 可被认为是癌症诊断,预后和治疗的优秀生物学标志物,在癌细胞中,通过抑制肿瘤抑制基因促进癌发生的过表达的 miRNA 被认为是致癌 miRNA,而通常通过抑制原癌基因表达来避免癌症发展的下调表达的 miRNA 是肿瘤抑制 miRNA^[8]。

在人类癌症的疾病特异性 miRNA 表达谱已被检测^[9]。诊断、分期、进展、预后和治疗反应的效果使得人类癌症的 miRNA 表达谱更为重要。然而,miRNA 的研究正在不断变化,因为更好地理解其生物学功能的分子机制将使得能够开发基于 miRNA 的新治疗技术^[10]。

二、miRNAs 作为前列腺癌诊断和预后的生物学标志物

每个 miRNAs 都可以与各种细胞途径相互作用,因此 miRNAs 成为生物学标志物将是一个有前景的目标。miRNAs 也可以通过促进或抑制肿瘤的发展和进展来影响癌症的所有标志物^[11]。除了细胞内功能外,miRNAs 还被检测为许多生物有机液体(尿液、

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81660423,81660422);云南省科学技术厅-昆明医科大学联合基础研究面上项目(2017FE468-059)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院泌尿外科

通讯作者:张劲松,副教授,电子信箱:zhangjingsongkm@163.com

血液、唾液等)中的循环分子。目前的研究表明,miRNAs 不仅是被动循环的分子作为副产物,而且还可以通过外来体介导的运输以“激素样”的方式充当细胞间通讯的介质,从而模仿内分泌途径,依靠这些特征,miRNAs 可被认为是优秀的生物学标志物^[12]。

PCa 是男性肿瘤诊断次数最多的恶性肿瘤,也是男性癌症相关病死率的主要原因,PSA 长期以来一直用于检测 PCa,然而,PSA 水平在 PCa 和前列腺增生(benign prostatic hyperplasia, BPH)中均增加,并且多种因素可影响其变化。已经确定 miRNAs 在循环中高度稳定,并且可以用作 PCa 诊断和预后生物学标志物以改善疾病诊断和管理。对血清进行 miRNAs 分析高 PSA 水平患者,因为它可以以非侵入性方式进行,这可能会阻止高 PSA 水平患者的前列腺活检,其中一些人最后不会诊断为 PCa^[9]。Al - Kafaji 等^[13]评估了 4 种 PCa 相关 miRNAs 在鉴别 PCa 与 BPH 和 PCa 风险分层方面的有效性,该研究包括 100 例参与者,其中 35 例局部 PCa 患者,35 例 BPH 患者和 30 例健康受试者,结果在 PCa 患者中观察到 miR - 15a、miR - 126、miR - 192 和 miR - 377 的表达显著降低,此外,高风险 PCa 患者中 4 种 miRNA 的表达低于低风险 PCa 患者,其中 miR - 126 是最低下调的,4 种 miRNA 的表达也与 PCa 显著且独立相关。

Porzycki 等^[14]分析血清中的循环 miRNAs 区分 PCa 和健康个体的患者的非侵入性生物学标志物,研究包括 20 例患者和 8 例健康患者用作对照,在从血清中提取的总 RNA 级分中定量 miRNA,并通过 RT - qPCR 定量 5 种微小 RNA (miR - 106b、miR - 141、miR - 21、miR - 34a 和 miR - 375)的水平,结果与健康比较,PCa 组中 miR - 106b、miR - 141 - 3p、miR - 21 和 miR - 375 的相对表达比率显著增加。Qu 等^[15]研究了 miR - 210 在 PCa 诊断和治疗中的作用,收集 30 例 PCa 患者的静脉血,分 3 个治疗组,即 NC 组,未治疗;BL 组,空载体;抗 miR - 210 组,通过 RT - qPCR 检测 miR - 210 和分化调节因子 1 (ROD1)的表达水平,并通过蛋白质印迹检测每组中的 ROD1 蛋白表达,结果与 NC 组和 BL 组比较,抗 miR - 210 组细胞增殖率显著降低 ($P < 0.05$),然而,与 NC 组和 BL 组比较,抗 miR - 210 组的凋亡率显著增加 ($P < 0.05$),RT - qPCR 显示,与 NC 组和 BL 组比较,抗 miR - 210 组中 miR - 210 和 ROD1 的表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。通过以上研究,miRNAs 有望成为提高 PCa 的诊断的标志物,为 PCa 患者带

来了新的诊断方式,但是需要通过更多的临床研究加以证实,最后运用临床,充分体现了转化医学的思想。

PCa 是西方国家特别是 50 岁以上男性中最常被诊断出的恶性肿瘤,并且近 30% 的 PCa 患者最终发生临床复发。Suer 等^[16]研究 20 例复发和 20 例非复发 PCa 患者的 miRNAs 表达,结果发现 miRNAs 具有足够的能力来区分复发标本和非复发标本。Wei 等^[17]研究根治性前列腺切除术的临床局限性 PCa 患者,通过定量反转录聚合酶链反应检查复发和非复发肿瘤样品中的 miR - 1 表达水平,与非复发性肿瘤样本比较,复发性 PCa 组织中 miR - 1 显著下调 ($P = 0.000$),提出 PCa 组织中的 miR - 1 可作为 PCa 复发的重要独立预测因子。

三、miRNAs 促进前列腺癌发生

PCa 在男性恶性肿瘤的发生率较高,并且转移是 PCa 相关死亡的主要原因。PCa 的发生及 PCa 转移受各种细胞内在和外在因素的控制,这些因素通常受各种转移相关基因的调节控制。控制该过程的各种因子本身受 miRNAs 的调节^[18]。

miR - 191 通过下调 TIMP3 可促进前列腺癌细胞生长和侵袭能力。Wang 等^[19]研究提出了 miR - 191 在 PCa 组织样品中过表达,PC - 3 细胞中上调 miR - 191 显著促进,而 DU145 细胞中下调 miR - 191 延缓细胞增殖和侵袭,此外,TIMP3 被证明是 miR - 191 的直接靶基因,并且 TIMP3 的敲低反转了 miR - 191 下调的功能。Gao 等^[20]研究也提出了 miR - 323 抑制前列腺癌细胞中 p73 的表达,抑制 p73 增加细胞增殖和集落形成,促成前列腺癌细胞的侵袭性。miR - 32 是一种雄激素受体调节的 miRNA,可能促进前列腺中的肿瘤改变。Latonen 等^[21]开发了在前列腺中过表达 miR - 32 的转基因小鼠,观察发现 miR - 32 表达增加了前列腺前列腺上皮内瘤变病变的发生率和复制活性,结果表明 miR - 32 增加小鼠前列腺上皮的增殖并促进化生转化。miR - 483 - 5p 已被鉴定为某些癌症中的 miRNA 致癌基因。然而,其通过靶向 RBM5 助于 PCa 的发展。Yang 等^[22]研究通过定量实时 PCR 测定 miR - 483 - 5p 的表达水平,MTT 测定评估 miR - 483 - 5p 对增殖的影响,跨孔侵袭测定评估细胞侵袭,并且通过 LNCaP、DU - 145 和 PC - 3 细胞中的蛋白印迹测定靶蛋白表达,观察到 miR - 483 - 5p 在前列腺癌细胞系和组织中上调,miR - 483 - 5p 抑制剂抑制前列腺癌细胞在 DU - 145 和 PC - 3 细胞中的生长和侵袭,RBM5 过表达抑制 LNCaP 细胞中的

前列腺癌细胞生长和侵袭,强化的 RBM5 表达减轻了 LNCaP 细胞中前列腺癌细胞生长和侵袭的 miR - 483 - 5p 促进。miR - 543 通过靶向 Raf 激酶抑制蛋白(RKIP)促进前列腺癌的增殖和转移。Du 等^[23]研究 miR - 543 和 RKIP 在两种前列腺癌细胞系(LNCaP 和 C4 - 2B 中的表达),发现 miR - 543 与临床肿瘤样品中的 RKIP 表达呈负相关,并且与亲本 LNCaP 细胞比较在转移性前列腺癌细胞系 C4 - 2B 中显著上调,进一步研究发现 RKIP 是 miR - 543 的直接靶标,miR - 543 的过表达下调 RKIP 表达并促进癌细胞的增殖和转移。

四、miRNAs 抑制前列腺癌发生

PCa 是全世界男性中最常被诊断出的肿瘤之一。miRNAs 参与许多重要的细胞过程,包括增殖、分化和凋亡。已发现它们在许多类型的人类癌症中异常表达。它们可以作为肿瘤抑制因子,在肿瘤的发生、发展和转移过程中起到抑制作用,同时也成为开发治疗 PCa 的潜在靶点。

miR - 33a 是嵌入 SREBF2 内的一种内含子 miRNA, SREBF2 在前列腺癌中增加,会增加 miR - 33a 水平,从而可能导致肿瘤抑制。研究显示 miR - 33a 具有肿瘤抑制活性并且在 PCa 中减少,降低的 miR - 33a 增加 PIM1 致癌基因的 mRNA 和脂质 β - 氧化途径中的多个基因^[24]。miR - 564 在人类恶性肿瘤中异常表达,在 PCa 中具有抑制功能。Meng 等^[25]从 50 例 PCa 患者收集 PCa 组织及其相邻的正常组织,用 RT - qPCR 评估组织和细胞中 miR - 564 的表达,发现 miR - 564 在 PCa 细胞中失调,并在 PCa 细胞增殖、细胞周期进程、细胞侵袭和迁移中起到抑制剂的作用。Hua 等^[26]分析前列腺癌组织和细胞系中 miR - 126 的表达,结果显示 miR - 126 表达在 PCa 组织和细胞系中显著下调。miR - 126 过表达被证明可以减少 PCa 细胞的增殖和转移,并在体外反转上皮 - 间质转化过程。HER - 2 是一种表皮生长因子受体,在一些 PCa 中表达,与肿瘤的生长相关,一些 miRNAs 的失调涉及 PCa 发病机制的调节。Lin 等^[27]研究通过 RT - qPCR 测定 PCa 组织中 miR - 4319 的水平,通过 Kaplan - Meier 分析研究它们与患者存活率的关联,并通过 MTT 测定分析过表达或抑制 miR - 4319 或 HER - 2 的细胞的生长,结果为与相应的正常前列腺组织比较,PC 标本中 miR - 4319 水平降低。较低水平的 miR - 4319 与较差的总体患者存活率相关,在体外,HER - 2 介导的针对化疗的细胞存活受

到 miR - 4319 过表达的抑制,并且通过 miR - 4319 的消耗而增强。最近,发现 miR - 224 通过靶向称为 apelin 的 miR - 224 靶基因导致前列腺癌细胞的迁移和侵袭,其抑制的表达允许 miRNA 抑制细胞迁移和侵袭,此外,miR - 224 下调表达与晚期临床分期和转移显著相关^[28]。

五、miRNAs 与前列腺癌治疗

随着 PCa 患者数量及病死率的增加,特别是晚期和转移性 PCa,已成为全球许多研究的焦点。在过去的 70 年中,雄激素剥夺疗法一直是晚期 PCa 患者的主要治疗选择,然而,大多数患者的去势抵抗性前列腺癌(castration resistant prostate cancer, CRPC)预后不良,最终导致死亡。miRNAs 是一组小的非编码调节 RNA,在调节基因表达中具有重要作用,miRNAs 可能参与一系列疗法的治疗反应,包括放射治疗、化学疗法和雄激素抑制。治疗性 miRNA 原理包括:①使用 miRNA 模拟寡核苷酸或构建靶向由 PCa 下调的 miRNA 控制的癌基因的 3'UTR;②通过使用 antago - 寡核苷酸(antago - miR)或消耗特定 miRNA 细胞的合成构建体(称为 miRNA 海绵);③将基于 miRNA 的工具与现有抗癌药物组合,恢复正常细胞内水平的上调 miRNA^[29]。

Shi 等^[30]研究表明 miR - 124 是晚期前列腺癌中潜在的肿瘤抑制基因,miR - 124 表达的恢复可能是晚期前列腺癌治疗的一种新策略。最近研究表明 miR - 185 可能是雄激素受体(androgen receptor, AR)介导的信号转导的潜在负调节剂,并且可能在 PCa 细胞中充当肿瘤抑制剂,AR 是 miR - 185 的直接靶标,此外,miR - 185 对 AR 的下调损害了 AR 和雄激素反应元件之间的相互作用,并下调了 AR 靶基因前列腺特异性抗原的表达,数据还表明,miR - 185 介导的 AR 下调抑制了 LNCaP 细胞的增殖并诱导其凋亡。Shi 等研究提出 miR - 124 靶向雄激素受体转录物,充当肿瘤抑制剂以广泛限制前列腺癌的生长。Ottman 等研究结果提出在雄激素剥夺治疗和雄激素受体阻断期间早期发生 miRNA 表达的动态改变,这些改变的 miRNA 表达谱的累积效应是促进存活和获得抗性的多种信号转导途径。

放射治疗是局部早期或晚期前列腺癌最重要的治疗选择之一。新出现的证据表明,miRNAs 在调节介导辐射反应的关键细胞通路中发挥关键作用,通过与其他生物过程如细胞周期检查点、细胞凋亡、自噬、上皮 - 间充质转换和癌症干细胞相互作用来影响癌

细胞的放射敏感度。Gong 等研究提出 miR - 145 的异位表达显著地使 PCa 细胞对辐射敏感,并且使用 γ - H2AX 磷酸化作为放射疗法反应的替代标志物与 miR - 145 表达水平,观察到用 miR - 145 和辐射处理的组中每个细胞显著更多的焦点,此外,接受 miR - 145 和辐射的细胞中有丝分裂突变显著增加,结果表明,miR - 145 似乎降低了细胞中辐射诱导的 DNA 双链断裂修复的效率。

六、展 望

PCa 在男性恶性肿瘤中每年新发病例及病死率逐年升高,在这种情况下,早期诊断和治疗以降低癌症相关病死率变得极为重要。在 PCa 中,可能存在几种可以作为癌基因或肿瘤抑制因子的 miRNAs 的失调。miRNAs 分析研究表明,miRNAs 可以独立作用或与其他转录因子合作调节基因转录,最终导致 PCa 中的细胞过程受到干扰。近年来对 miRNAs 分子机制和功能的研究越来越多,证实了其参与癌症发展,特别是几种 miRNAs 参与细胞转化以发展癌细胞,转移和相关治疗。了解一些 miRNAs 的特定作用及其参与 PCa 的发展和进展可能会改善这种癌症的病程,并可能在 PCa 治疗中开辟新的治疗选择。许多发现已经证明 miRNAs 是 PCa 诊断和预后的有用工具,可以预测患者的临床结果。展望未来,将会通过更多的 miRNAs 在 PCa 中的相关分子生物学研究,并应用于临床,在 PCa 的早期诊断及治疗方面有所帮助,朝着转化及精准医学的方向发展。

参考文献

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): 359 - 386
- 2 De Cobelli O, Buonerba C, Terracciano D, *et al.* Urotesin II receptor on preoperative biopsy is associated with upstaging and upgrading in prostate cancer[J]. *Fut Oncol*, 2015, 11(22): 3091 - 3098
- 3 严张仁, 陈琦, 王万春. 前列腺疾病相关 miRNA 表达的研究进展[J]. *中华男科学杂志*, 2018, 24(9): 824 - 828
- 4 尤泊森, 柳清. 前列腺癌患者血清和病理组织中 miRNA - 375 的表达及意义[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2017, 24(4): 428 - 431
- 5 Hata A, Lieberman J. Dysregulation of microRNA biogenesis and gene silencing in cancer[J]. *Sci Signal*, 2015, 8(368): re3
- 6 Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460 - 469
- 7 Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(10): 775 - 789
- 8 Esquela - Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4): 259 - 269
- 9 Vanacore D, Boccellino M, Rossetti S, *et al.* Micrnas in prostate cancer: an overview[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 50240 - 50251
- 10 贾勇圣, 张文健, 娄晋宇. microRNA - 145 在肿瘤中的作用[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(5): 147 - 150
- 11 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(11): 857 - 866
- 12 Cortez MA, Bueso - Ramos C, Ferdin J, *et al.* MicroRNAs in body fluids - the mix of hormones and biomarkers[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(8): 467 - 477
- 13 Al - Kafaji G, Said HM, Alam MA, *et al.* Blood - based microRNAs as diagnostic biomarkers to discriminate localized prostate cancer from benign prostatic hyperplasia and allow cancer - risk stratification[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 1357 - 1365
- 14 Porzycki P, Ciszkowicz E, Semik M, *et al.* Combination of three miRNA (miR - 141, miR - 21, and miR - 375) as potential diagnostic tool for prostate cancer recognition[J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(9): 1619 - 1626
- 15 Qu Y, Huang W. Effects of microRNA - 210 on the diagnosis and treatment of prostate cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 1740 - 1744
- 16 Suer I, Guzel E, Karatas OF, *et al.* MicroRNAs as prognostic markers in prostate cancer[J]. *Prostate*, 2018, 18(6): 140 - 144
- 17 Wei W, Leng J, Shao H, *et al.* MiR - 1, a potential predictive biomarker for recurrence in prostate cancer after radical prostatectomy[J]. *Am J Med Sci*, 2017, 353(4): 315 - 319
- 18 Bhagirath D, Yang TL, Dahiya R, *et al.* MicroRNAs as regulators of prostate cancer metastasis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1095: 83 - 100
- 19 Wang X, Shi Z, Liu X, *et al.* Upregulation of miR - 191 promotes cell growth and invasion via targeting TIMP3 in prostate cancer[J]. *J Buon*, 2018, 23(2): 444 - 452
- 20 Gao Q, Zheng J. MicroRNA - 323 upregulation promotes prostate cancer growth and docetaxel resistance by repressing p73[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 528 - 534
- 21 Latonen L, Scaravilli M, Gillen A, *et al.* In vivo expression of miR - 32 induces proliferation in prostate epithelium[J]. *Am J pathol*, 2017, 187(11): 2546 - 2557
- 22 Yang ZG, Ma XD, He ZH, *et al.* MiR - 483 - 5p promotes prostate cancer cell proliferation and invasion by targeting RBM5[J]. *Int Braz J Urol*, 2017, 43(6): 1060 - 1067
- 23 Du Y, Liu XH, Zhu HC, *et al.* MiR - 543 promotes proliferation and epithelial - mesenchymal transition in prostate cancer via targeting RKIP[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(3): 1135 - 1146
- 24 Karatas OF, Wang J, Shao L, *et al.* MiR - 33a is a tumor suppressor microRNA that is decreased in prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(36): 60243 - 60256
- 25 Meng FJ, Meng FM, Wu HX, *et al.* MiR - 564 inhibited metastasis and proliferation of prostate cancer by targeting MLLT3[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(21): 4828 - 4834
- 26 Hua Y, Liang C, Miao C, *et al.* MicroRNA - 126 inhibits proliferation and metastasis in prostate cancer via regulation of ADAM9[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6): 9051 - 9060
- 27 Lin X, Wang Y. Re - expression of microRNA - 4319 inhibits growth of prostate cancer via Her - 2 suppression[J]. *Clin Transl Oncol*, 2018, 20(11): 1400 - 1407
- 28 Kim WT, Kim WJ. MicroRNAs in prostate cancer[J]. *Prostate Int*, 2013, 1(1): 3 - 9
- 29 Bertoli G, Cava C, Castiglioni I. MicroRNAs as biomarkers for diagnosis, prognosis and theranostics in prostate cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 421
- 30 Shi XB, Xue L, Ma AH, *et al.* Tumor suppressive miR - 124 targets androgen receptor and inhibits proliferation of prostate cancer cells[J]. *Oncogene*, 2013, 32(35): 4130 - 4238

(收稿日期:2019 - 07 - 10)

(修回日期:2019 - 07 - 15)