

· 综述 ·

微 RNA 221/222 在乳腺癌中的研究进展

韩晓翠¹ 左晓丽¹ 李敏² 宋波^{2,3}

【摘要】 微 RNA (miRNA) 是细胞内源性长度为 19~25 个核苷酸的单链非编码小 RNA 分子,广泛存在于真核生物中,通过碱基互补配对的方式对多个靶基因表达起负调控作用,激活下游信号通路,影响肿瘤的发生、发展、侵袭、转移和耐药等生物学过程。其中,微 RNA 221/222 (miR-221/222) 在乳腺癌细胞的增殖、侵袭、转移以及耐药等过程中发挥着重要作用。笔者就近年来 miR-221/222 在乳腺癌方面的研究进展做一综述。

【关键词】 微 RNAs; 乳腺肿瘤

【中图分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

世界范围内,乳腺癌已经超过宫颈癌居女性恶性肿瘤发病率之首,且发病率呈逐年上升趋势^[1]。微 RNA (microRNA, miRNA) 是由 Lee 等^[2]于 1993 年在线虫中发现。迄今为止,已有 1 300 多种 miRNA 被发现,且多种 miRNA 与乳腺癌的发生、发展关系密切^[3]。

一、miRNA 和 miR-221/222

miRNA 是细胞内源性长度为 125 个核苷酸的单链非编码小 RNA,广泛存在于真核生物中,miRNA 基因通常被 RNA 聚合酶 II 转录,经过加工,即 5'端加帽,3'端多聚腺苷化形成初级转录产物 pri-miRNA。然后在核内经过 RNase III 酶 Drosha 和 Pasha (DGCR8) 剪切,形成约 60 nt 的前体 (pre-miRNA),即未成熟的茎环结构。Pre-miRNA 在 GTP 依赖的 exportin-5 蛋白帮助下转运进入细胞质,随后在细胞质中被 Rnase III Dicer 剪切成为成熟 miRNA,约为 22 bp 的双螺旋结构。之后,经过 RNA 双链解旋酶解螺旋,双链中 1 条进入并与 RNA 介导沉默复合体结合 (RNA-induced silencing complex, RISC)。miRNA 通过与靶基因 3'非翻译端 (3'UTR) 互补配对,使结合后的 miRNA/RISC 复合体或通过翻译抑制下调特定基因产物,或直接导致 mRNA 降解^[3]。通常一个 miRNA 可能有数百个靶基因,一个 mRNA 也可能含有不同 miRNA 的多个潜在结合位点。目前预测至少有三分之一的人类基因受 miRNA 调控^[4]。miRNA 在包括胚胎发育、干细胞自我更新以及肿瘤的发生、发展、侵袭、转移和耐药等广泛的生理和病理过程中起作用^[5]。miR-221 和 miR-222 (miR-221/222) 位于同一染色体 Xp11.3 上,拥有共同的种子序列,两者具有高度同源性,由其中一个可以预知另一个的靶基因且发挥相同的生物学作用^[6-7]。Zhao 等^[8]研究发现,单独敲低 miR-221 或 miR-222 和共同敲低两者的表达在对基因的调控功能上没有明显的差异。miR-221/222 在包括乳腺癌在内的多种上皮来源的恶性肿瘤中过表达。

二、miR-221/222 在乳腺癌中的作用

1. 乳腺癌细胞增殖

细胞周期的调控紊乱是肿瘤发生发展的重要机制。细胞周期的调控因素主要包括细胞周期蛋白、细胞周期依赖性蛋白激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 和细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂 (cyclin-dependent kinase inhibitor, CDKI)。miR-221/222 可通过调控细胞周期信号因子表达,促进乳腺癌细胞增殖。P27^{Kip1} 是一种细胞 CDKI,作为细胞周期的调节因子,特异性结合于相应的 CDK,通过化学构象的变化来抑制 CDK 活性,从而使细胞周期停滞在 G₁ 期,阻滞细胞生长^[9]。研究发现,miR-221/222 在乳腺癌中可通过抑制 P27^{Kip1} 表达,激活 CDK,加速细胞由 G₁ 期向 S 期转变过程,从而促进乳腺癌细胞增殖能力^[10-12]。Li 等^[10]发现 miR-221/222 以 SOCS1 基因和 CDKN1B 基因为靶点,促进其 G₁ 期向 S 期进展,促进乳腺癌细胞增殖。miR-221/222 通过调控多个乳腺癌相关的抑癌基因及细胞增殖相关信号通路来发挥促癌作用。Lu 等^[13]用免疫荧光素酶报告结合 Western blot 和 qRT-PCR 等方法证实金属蛋白酶抑制剂因子 3 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP3) 是 miR-221/222 的直接靶点,miR-221/222 通过抑制 TIMP3 基因,促进金属蛋白酶 ADAM17 和 ADAM10 表达,不断激活生长因子信号,促进乳腺癌细胞增殖。乳腺癌中 PI3K/AKT 信号通路是调控细胞增殖的重要途径。Wang 等^[14]发现乳腺癌中 miR-221 通过抑制靶基因 PTEN 表达,激活 PI3K/Akt 信号转导通路,发挥促进乳腺癌细胞增殖的作用。PTEN 基因编码的蛋白能特异性地使磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸 (PIP3) 去磷酸化,拮抗 PI3K/AKT 信号传导通路。

2. 乳腺癌侵袭转移

肿瘤的侵袭与转移是乳腺癌患者治疗后复发与死亡的主要原因。肿瘤细胞有向正常组织侵袭转移的能力,上皮细胞向间质细胞的转变 (epithelial to mesenchymal transition, EMT) 在肿瘤的侵袭和转移中有重要的作用。Li 等^[10]在侵袭性基底型乳腺癌中发现 miR-221/222 表达水平较高,在非侵袭性管腔型乳腺癌中表达水平较低,侵袭实验和迁移试验证实 miR-221/222 抑制 SOCS1 基因表达,乳腺癌细胞侵袭能力增强,迁移距离增加。SOCS1 是细胞信号转导抑制因子家

族的成员之一,通过抑制酪氨酸激酶信号通路负调控信号转导。Stinson 等^[15]运用免疫荧光素酶报告证实 miR-221/222 以 TRPS1 基因为直接靶点,miR-221/222 通过靶向负调控 TRPS1,直接抑制 ZEB2 基因的转录。miR-221/222 表达增加,促进 ZEB2 表达,从而可抑制 E-钙粘蛋白和波形蛋白上调,促进 EMT 发生,乳腺癌细胞侵袭转移能力增强。Ye 等^[16]通过荧光素酶报告和 Western blot 在 HER-2 阳性细胞系中证实 PTEN 是 miR-221 的直接靶点,miR-221 不仅能够体外促进细胞迁移和侵袭,而且能够促进肿瘤在体内的转移。Wang 等^[14]在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系中同样发现 miR-221 负调控 PTEN 基因,促进 EMT 发生,乳腺癌细胞侵袭能力增强;沉默 miR-221,PTEN 表达上调,EMT 的过程可以被逆转,迁移和入侵的能力相应减弱。Dentelli 等^[17]研究还发现 miR-221/222 通过对信号转导和转录激活因子 (signal transduction and activating transcription factor 5A, STAT5A) 和去整合素 $\alpha 6 \beta 4$ 和金属蛋白酶-17 的转录后调控促进乳腺癌细胞增殖和侵袭转移。

3. 乳腺癌化疗耐药

化疗是肿瘤的有效治疗方法之一,通过化学药物作用杀灭肿瘤细胞,在已发生扩散转移的中晚期肿瘤化疗中常作为主要治疗手段。但仍有很多患者对初始治疗反应不佳,而肿瘤细胞对化疗药物的敏感性决定着化疗效果,耐药性仍然是临床成功治疗乳腺癌的主要障碍。Yao 等^[18]研究发现,氟尿嘧啶和埃坡霉素耐药的三阴性乳腺癌细胞与正常癌细胞相比,内源性 miR-221/222 表达较低,提示 miR-221/222 可能在乳腺癌耐药中发挥调控作用。ER 调节剂他莫昔芬是乳腺癌常用化疗药之一,miR-221/222 通过调控不同的耐药相关基因及其信号通路,降低乳腺癌细胞对他莫昔芬的敏感性。Wei 等^[19]发现在他莫昔芬耐药的 MCF-7 细胞中,内源性 miR-221/222 的表达水平较 MCF-7 细胞高,接着又将耐药 MCF-7 细胞产生分泌至核外的 miR-221/222,转染至感受态的 MCF-7 细胞,发现 MCF-7 细胞对他莫昔芬产生了耐药。Zhao 等^[8]研究发现 ER 阴性的耐药细胞中 miR-221/222 表达较高,其运用免疫荧光素酶报告实验验证了 ER 是 miR-221 直接靶点。转染 miR-221/222 的抑制剂后,ER 水平部分恢复正常,ER 阴性的细胞对他莫昔芬敏感性部分恢复。Gan 等^[20]报道乳腺癌细胞转染 miR-221/222 的抑制剂后,细胞中 TIMP3 基因的表达显著升高,并增加对他莫昔芬耐药的细胞治疗敏感性,小鼠体内实验证实了 miR-221/222 抑制剂对 TIMP3 的调控作用,与 TIMP3 体外调节他莫昔芬中的作用反应一致,通过升高 TIMP3 蛋白表达,增强体内对他莫昔芬治疗的敏感性。

4. 乳腺癌干细胞

肿瘤中存在一小部分具有自我更新和多向分化能力的细胞,在维持肿瘤生长、促进侵袭转移和放化疗抵抗的过程中起重要作用,被称为肿瘤干细胞^[21]。miR-221/222 对乳腺癌干细胞分化也有一定影响。有研究发现乳腺癌切除术后组织原代分离培养,用乙醛脱氢酶 (aldehyde dehydrogenase, ALDH) 作为干细胞标志物筛选,发现在 ALDH 阳性的细胞中 miR-221 表达增高,且体内实验结果均发现 miR-221 高表达组与对照组相比,干细胞比例上升,自我更新能力明显增强^[22-24]。在不同的乳腺癌类型中分析 miR-221 的表达差

异和临床恶性程度及生存率等因素,结果提示 miR-221 可为临床预后提供一个潜在的检测指标^[25]。Li 等^[26]在乳腺癌 MCF-7 细胞中转染 miR-221/222 模拟物,发现其能够负调控 PTEN 基因,在转录后水平激活 PTEN/PI3K/AKT 信号通路,以 CD44⁺/CD24⁻ 为干细胞标志物运用流式细胞仪检测乳腺癌干细胞,发现转染 miR-221/222 组干细胞比例明显增加,且乳腺微球体形成数量增多和体积明显增大;相反,转染 miR-221/222 抑制物之后,乳腺癌干细胞比例降低,乳腺微球体体积减小,数量减少。乳腺癌细胞中 DNMT3b 基因可调控多个乳腺癌干性基因如 Nanog 和 Oct3/4 等的表达,通过作用于启动子的甲基化来发挥调控作用。Roscigno 等^[27]研究发现 miR-221 以 DNMT3b 基因为直接靶点,促进乳腺癌干细胞干性基因表达。

三、结语

miR-221/222 作为促癌因子,通过负调控多个靶基因及其下游信号通路,对乳腺癌的发生、侵袭、转移、耐药和乳腺癌干细胞增殖等过程发挥重要作用。miR-221 在区分乳腺癌和乳腺纤维腺瘤患者时具有诊断意义^[5]。因此,随着对 miR-221/222 在乳腺癌中研究的深入,其有望成为乳腺癌诊断、治疗和判断预后的潜在指标。

参 考 文 献

- [1] Balmant NV, de Souza Reis R, Pinto Oliveira JF, et al. Cancer incidence among adolescents and young adults (15 to 29 years) in Brazil [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2016, 38(3):88-96.
- [2] Lee RC, Feinbaum RL. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993, 75(5):843-854.
- [3] Piva R, Spandidos DA. From microRNA functions to microRNA therapeutics: novel targets and novel drugs in breast cancer research and treatment (review) [J]. Int J Oncol, 2013, 43(4):985-994.
- [4] Li Y, Di C, Li W, et al. Erratum to: oncomirs miRNA-221/222 and tumor suppressors miRNA199a/-195 are crucial miRNAs in liver cancer: a systematic analysis [J]. Dig Dis Sci, 2016, 61(11):3373.
- [5] Cho WC. Exploiting the therapeutic potential of microRNAs in human cancer [J]. Expert Opin Ther Targets, 2012, 16(4):345-350.
- [6] 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):23 716-23 724.
- [7] Dentelli P, Traversa M, Rosso A, et al. miR-221/222 control luminal breast cancer tumor progression by regulating different targets [J]. Cell Cycle, 2014, 13(11):1811-1826.
- [8] Zhao JJ, Lin J, Yang H, et al. MicroRNA-221/222 negatively regulates estrogen receptor α and is associated with tamoxifen resistance in breast cancer [J]. J Biol Chem, 2016, 291:22 859.
- [9] Slattery ML, Lundgreen A, Kadlubar SA, et al. JAK/STAT/SOCS-signaling pathway and colon and rectal cancer [J]. Mol Carcinog, 2013, 52(2):155-166.
- [10] Li Y, Liang C, Ma H, et al. miR-221/222 promotes S-phase entry and cellular migration in control of basal-like breast cancer [J]. Molecules, 2014, 19:7122-7137.
- [11] le Sage C, Nagel R, Egan DA, et al. Regulation of the p27 (Kip1) tumor suppressor by miR-221 and miR-222 promotes cancer cell proliferation [J]. EMBO J, 2007, 26(15):3699-3708.

- [12] Visone R, Russo L, Pallante P, et al. MicroRNA -221 (miR-221) and miR-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27Kip1 protein levels and cell cycle [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2007, 14(3):791-798.
- [13] Lu Y, Roy S, Nuovo G, et al. Anti-microRNA-222 (anti-miR-222) and -181B suppress growth of tamoxifen-resistant xenografts in mouse by targeting TIMP3 protein and modulating mitogenic signal [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(49):42292-42302.
- [14] Wang H, Xu C, Kong X, et al. Trail resistance induces epithelial mesenchymal transition and enhances invasiveness by suppressing PTEN via miR-221 in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):99 067.
- [15] Stinson S, Lackner MR, Adai AT, et al. TRPS1 targeting by miR-221/222 promotes the epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer [J]. *Sci Signal*, 2011, 4(177):ra41.
- [16] 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*, 2014, 47(5):268-273.
- [17] Dentelli P, Traversa M, Rosso A, et al. miR-221/222 control luminal breast cancer tumor progression by regulating different targets [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(11):1811-1826.
- [18] Yao Y, Chen S, Zhou X, et al. 5-FU and ixabepilone modify the microRNA expression profiles in MDA-MB-453 triple-negative breast cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(2):541-547.
- [19] Wei Y, Lai X, Yu S, et al. Exosomal miR-221/222 enhances tamoxifen resistance in recipient ER-positive breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 147(2):423-431.
- [20] Gan R, Yang Y, Yang X, et al. Downregulation of miR-221/222 enhances sensitivity of breast cancer cells to tamoxifen through upregulation of TIMP3 [J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21(7):290-296.
- [21] Knutson TP, Truong TH, Ma S, et al. Posttranslationally modified progesterone receptors direct ligand-specific expression of breast cancer stem cell-associated gene programs [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):89.
- [22] Ke J, Zhao Z, Hong SH, et al. Role of microRNA221 in regulating normal mammary epithelial hierarchy and breast cancer stem-like cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(6):3709-3721.
- [23] Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(5):555-567.
- [24] Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Iovino F, et al. Aldehyde dehydrogenase 1-positive cancer stem cells mediate metastasis and poor clinical outcome in inflammatory breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(1):45-55.
- [25] 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.
- [26] Li B, Lu Y, Wang H, et al. miR-221/222 enhance the tumorigenicity of human breast cancer stem cells via modulation of PTEN/Akt pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 79:93-101.
- [27] Roscigno G, Quintavalle C, Donnarumma E, et al. MiR-221 promotes stemness of breast cancer cells by targeting DNMT3b [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1):580-592.

(收稿日期:2016-05-16)

(本文编辑:刘军兰)

韩晓翠, 左晓丽, 李敏, 等. 微 RNA 221/222 在乳腺癌中的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2017, 11(6): 369-371.