

• 综述 •

微小 RNAs: 乳腺癌重要的调控因子

盛 媛 郑楷炼

微小 RNAs(MicroRNAs, 简称 miRNAs)是长度为 18~25 个核苷酸的内源性非编码小分子 RNA,通过剪切 mRNA、调节靶基因、抑制蛋白质翻译,进而调控多种生物学行为,如发育进程、干细胞分化、细胞凋亡、疾病以及肿瘤的发生。本文将介绍 miRNAs 作为原癌基因或抑癌基因参与人类乳腺癌发生、发展及扩散转移的研究进展,并对人类现有 miRNAs 作为肿瘤基因诊治的应用情况作一简述。

1 miRNAs 的调控与乳腺癌的发生、发展

miRNAs 表达水平异常与肿瘤有关。越来越多的证据显示,miRNAs 在肿瘤的发生、发展中起着重要的作用。Cherie 等^[1]对已发现的 309 个人类 miRNAs 进行分析,最后确定其中的 133 个 miRNAs 在正常乳腺组织和乳腺癌组织中表达。多数 miRNAs 位于与肿瘤相关的染色体区域,miRNAs 的异常表达与特定肿瘤有关。Calin 等^[2]研究发现,186 个 miRNAs 基因中有 52.5% 位于肿瘤相关基因区域或脆弱位点,如杂合性缺失区(LOH)、纯合性缺失区(HD)、扩增区、断裂点区、靠近癌基因或抑癌基因的部位,其中与人类乳腺癌相关的 15 个 miRNAs 位于 10 个缺失区。乳腺癌时染色体 11q23 上的 2 个 LOH 区域包括众多 miRNAs,如 miR-34-a1、miR-34-a2、miR-125-b1、let-7a-2 和 miR-100。

在不同恶性肿瘤中,miRNAs 表达差异普遍存在。值得关注的是恶性肿瘤中激活的或失活的 miRNAs 与蛋白编码基因(PCG)异常密切相关^[3]。miRNAs 可能发挥着类癌基因或抑癌基因的作用。miRNAs 可通过下调肿瘤抑制因子促使肿瘤发生,如肺癌中 let-7 家族对癌基因 RAS 的调节,慢性淋巴细胞白血病中 miR-15a 及 miR-16-1 对癌基因 bcl-2 的调节。此外,miRNAs 也可使癌基因过度表达而促使肿瘤发生,例如,淋巴瘤中 miR17-92 家族对癌基因 E2F1 的调节,肝癌中 miR-21 对肿瘤抑制基因 PTEN 的调节^[4]。癌细胞中对 miRNAs 的逆向调节比较少见,然而最新研究表明肿瘤抑制基因 TP53 能调节 miR-34 家族的转录^[5],从而间接诱导细胞凋亡、细胞周期停滞及细胞老化。

miRNAs 通过调控重要的肿瘤相关基因,参与肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭及血管形成等过程。Iorio 等^[6]运用 microarray 技术对 10 例正常乳腺组织和 76 例乳腺癌组织进行 miRNAs 分析,结果发现正常乳腺组织与乳腺癌组织中 miRNAs 的表达状态截然不同。其中 miR-125b、miR-145、miR-21 在乳腺癌中处于低表达状态,而 miR-155 在乳腺癌中却是高表达。ER 受体状况不同时 miRNAs 表达也不同^[7-8]。这些 miRNAs 的表达状态与乳腺癌的激素受体状况以及侵袭、转移、增生有直接关系。进一步研究发现 miR-125b 的低表达可削弱癌细胞的分裂能力。这些迹象表明,miRNAs 在人类乳腺癌发生、发展中发

挥着重要作用。

2 miRNAs 的调控与乳腺癌的侵袭转移

最新研究结果表明,miRNAs 在乳腺癌的侵袭转移中起着重要作用。位于 HOXD (homeobox) 基因家族中的 miR-10b,被认为是潜在的癌基因。Ma 等^[9]发现 miR-10b 通过抑制靶基因 HOXD10 的表达,间接地激活转移控制基因 RhoC,导致乳腺癌的侵袭和转移。乳腺癌中 miR-10b 上调表达,可加速癌细胞的侵袭和转移。在转移能力较强的 MDA-MB-231 细胞株中 miR-10b 表达水平是转移能力较弱细胞株 MCF-7 的 50 倍。与正常乳腺组织相比,多数无转移乳腺癌 miR-10b 处于低表达状态^[6]。大约 50% 乳腺癌转移患者中 miR-10b 是处于过度表达状态。工作人员进一步研究表明,miR-10b 的异位表达并不影响肿瘤增殖,却能加快癌细胞扩散与转移。将 miR-10b 导入非转移乳腺癌细胞培养基后,这些非转移癌细胞变得极富侵略性和转移能力。小鼠实验显示过度表达 miR-10b 的肿瘤细胞的增殖和促血管生成能力明显提高。

Huang 等^[10]报道 miR-373 和 miR-520c 能促进癌细胞扩散和转移,并提出细胞黏附分子 CD44 受抑制可能是其内在原因。CD44 影响细胞间的相互作用以及细胞与微环境的相互作用,研究已经证实 CD44 能抑制肿瘤转移。当 CD44 表达下调时,人类乳腺癌细胞系 MCF-7 非转移细胞变成有转移能力的细胞。而 miR-373 和 miR-520c 能够诱导 MCF-7 发生细胞转移,可能与 miR-373 和 miR-520c 能干扰 MCF-7 细胞中 CD44 的表达有关。

Tavazzoie 等^[11]发现 miR-335 通过与转录因子 SOX4 和肌钙蛋白 C 结合抑制转移灶形成及癌细胞扩散。miR-335、miR-126 和 miR-206 具有抑制恶性肿瘤侵袭扩散的功能。使人类乳腺癌培养细胞中 miR-335、miR-126 和 miR-206 正常表达,能极大降低细胞扩散到肺部和骨部的能力。在已经发生转移的乳腺癌患者中上述 3 种 miRNAs 处于低表达状态。miR-126 影响转移细胞的增殖速度,而 miR-335 和 miR-206 则影响细胞转移到肺部和骨部的能力。

Hossain 等^[12]研究发现,在乳腺癌扩增因子 1(amplified in breast cancer 1, AIB1)所编码的 mRNA 中有大量与 miR-17-5p 互补的区域,并且 miR-17-5p 可通过抑制 AIB1 mRNA 转录而调节乳腺癌细胞的增殖。体外细胞培养实验表明 MiR-17-5p 通过转录抑制而下调 AIB1 的表达,而在乳腺癌细胞系中 MiR-17-5p 处于低表达的状态。进一步研究揭示 MiR-17-5p 对乳腺癌细胞有锚定不依赖性生长的抑制作用。

这些研究表明 miRNAs 介导的基因调节异常很可能是一种普遍的肿瘤形成机制,因此在研究癌症时,应考虑 miRNAs 突变。

3 miRNAs 在乳腺癌诊断中的运用

肿瘤细胞中各种 miRNAs 的表达水平与正常细胞相比普遍下调,而肿瘤的 miRNAs 表达谱代表了这些细胞的分化程度。随着研究的深入,越来越多的证据表明利用 miRNAs 的特征可以成功地对组织学上难以诊断的样品进行确定。鉴于此,有研究者试图应用 miRNAs 作为新的肿瘤标记物进行乳腺癌临床诊断及病理分型。Iorio 等^[6]运用 microarray 及 Northern blot 等方法分离出 39 种 miRNAs,其中 5 种可准确鉴别正常组织和癌变组织。这 5 种 miRNAs 分别为 miR-10b、miR-125b、miR-145、miR-21 和 miR-155。Cherie 等^[1]使用磁

珠流式检测方法对 93 例乳腺癌标本中 309 个 miRNAs 的表达进行系统分析, miRNAs 表达谱成功地对乳腺肿瘤亚型的遗传分类及不同临床病理进行解释, 研究揭示 miRNAs 表达谱在癌症诊断中有着重要作用。而 Nitzan 等^[13]通过芯片技术平台对代表 22 种不同癌症类型的原发和转移性肿瘤中 336 个 miRNAs 的表达水平进行了检测, 并以此为依据构建了一个 miRNAs 分类器, 以便发现因其位点差异而发生的不同癌转移。这种分类器可以精确地预测 86% 的被检样品, 其中包括 77% 的转移性肿瘤样本。不仅如此, 对 10 个转移性肿瘤样本中的 6 个组织类型进行预测, 其准确率可达到 100%。

4 miRNAs 与乳腺癌靶点治疗及预后预测

4.1 miRNAs 与乳腺癌的靶点治疗

miRNAs 在癌症中的应用目前尚在研究中, 其理论依据是 miRNAs 是天然的反义作用因子, 主要通过降解特定靶 mRNA 和抑制翻译两种方式调控生物体内的基因表达, 在人类疾病的发生(如肿瘤)过程中发挥着重要的调控作用。通过补充外源性 miRNAs 或使用抑制物调节靶 mRNA 及其蛋白的表达, 以达到控制肿瘤恶性增殖和促进细胞凋亡的目的。Takamizawa 等^[14]将合成的 let-7 补充到 let-7 低表达的肺腺癌细胞株 A549 中, 抑制 RAS 蛋白的翻译, 肿瘤细胞的生长明显受到抑制。与正常乳腺组织相比, miR-21 在乳腺癌组织中过度表达, 用 anti-miR-21 寡核苷酸片段转染乳腺癌细胞株 MCF-7, 结果发现 anti-miR-21 能通过诱导细胞凋亡及阻碍细胞增殖等方式在体外抑制肿瘤细胞的生长以及在异植体小鼠模型中有效抑制肿瘤的生长。原癌基因 miR-21 能够通过调控 bcl-2 等基因从而调节肿瘤的发生, 因此, miR-21 可作为一个新的乳腺癌治疗性靶点。

然而, 一种肿瘤常有多种 miRNAs 表达水平异常, 乳腺癌组织中伴随着至少 5 种以上 miRNAs 表达异常。反之, 一种 miRNAs 表达异常往往与多种肿瘤有关, 如 miR-17-5p 不仅在肺癌中高表达, 在乳腺癌、前列腺癌、结肠癌和胰腺癌中同样高表达^[15]。寻找肿瘤特异的 miRNAs 表达谱对于乳腺癌的诊治有着非常重要的意义。

4.2 miRNAs 对乳腺癌的预后预测

检测乳腺癌相关 miRNAs 的表达量或可作为诊断和预后预测指标之一。let-7 家族的表达水平在肺癌、卵巢癌、乳腺癌等多种肿瘤中显著下调, 而且肺癌和乳腺癌中 let-7a 表达水平与患者的生存时间呈正相关^[14]。Roldo 等^[16]则发现, miR-21 在胰腺肿瘤中的过表达与高 Ki67 增殖指数及出现肝转移高度相关。miR-21 在乳腺癌、肝癌等多种恶性肿瘤中表达显著上调, 并与乳腺癌等肿瘤的恶性分级呈正相关^[17]。Yanaihara 等^[18]应用 miRNAs 微阵列区分肺癌组织和正常肺组织的 miRNAs 表达模式, 发现前体 miRNAs 中 hsa-miR-155 的高表达和 hsa-let-7a-2 的低表达与肺腺癌预后不良有关。

5 结语

综上所述, 这些研究成果对医学工作者理解乳腺癌的发生、发展及转移机制有着重要作用, 对乳腺癌的早期诊断, 早期治疗有着指导意义。但 miRNAs 基本特性还未完全了解, 是否存在组织特异性功能和靶点、表达的发展时间、调控和进化地位方面的问题还有待研究。miRNAs 作为新型的肿瘤标志物, 运用于临床诊断、治疗和预后预测仍须进一步深入研究。

【关键词】 MicroRNAs; 乳腺肿瘤; 调控因子

【中图法分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Cherie B, Leonard D G, Natalie P T, *et al.* MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype. *Genome Biology*, 2007, 8: R214.
- [2] Calin G A, Sevignani C, Dumitru C D, *et al.* Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 2999—3004.
- [3] Calin G A, Croce C M. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res*, 2006, 66: 7390—7394.
- [4] Meng F, Henson R, Wehbe Janek H, *et al.* MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology*, 2007, 133: 647—658.
- [5] He X, He L, Hannon G J. The guardian's little helper: microRNAs in the p53 tumor suppressor network. *Cancer Res*, 2007, 67: 11 099—11 101.
- [6] Iorio M V, Ferracin M, Liu C G, *et al.* MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res*, 2005, 65: 7065—7070.
- [7] Volinia S, Calin G A, Liu C G, *et al.* A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 2257—2261.
- [8] Lee Y S, Kim H K, Chung S, *et al.* Depletion of human microRNA: miR-125b reveals that it is critical for the proliferation of differentiated cells but not for the down-regulation of putative targets during differentiation. *J Biol Chem*, 2005, 280: 16 635—16 641.
- [9] Ma L, Teruya Feldstein J, Weinberg R A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature*, 2007, 449: 682—688.
- [10] Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, *et al.* The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 292—210.
- [11] Tavazoie S F, Alarcon C, Oskarsson T, *et al.* Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 2008, 451: 147—152.
- [12] Hossain A, Kuo M T, Saunders G F. MiR-17-5p regulates breast cancer cell proliferation by inhibiting translation of AIB1 mRNA. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 8191—8201.
- [13] Nitzan R, Ranit A, Eti M, *et al.* MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotech*, 2008, 26: 462—469.
- [14] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, *et al.* Reduce expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*, 2004, 64: 3753—3756.
- [15] Volina S, Calin G A, Liu C, *et al.* A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 2257—2261.
- [16] Roldo C, Missiaglia E, Hagan J P, *et al.* MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *J Clin Oncol*, 2006, 24: 4677—4684.
- [17] Lawrie C H, Soneji S, Marafioti T, *et al.* MicroRNA expression distinguishes between germinal center B cell-like and activated B cell-like subtypes of diffuse large B cell lymphoma. *Int J Cancer*, 2007, 121: 1156—1161.
- [18] Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, *et al.* Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*, 2006, 9: 189—198.

(收稿日期: 2008-10-30)

(本文编辑: 周艳)

盛爔, 郑楷炼. 微小 RNAs: 乳腺癌重要的调控因子[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2009, 3(4): 434—437.