

# 非蛋白编码小 RNA 分子在癌症中的作用

张首国, 王 林编译

( 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850 )

**摘要:** microRNA( miRNA )是一类含量丰富的非蛋白编码( non-protein-coding )小 RNA ,可作为负性基因调节器,能调节多种生物进程。生物信息数据显示,每个 miRNA 能控制数百种基因靶标,miRNA 可能对每一条遗传通路都有影响。miRNA 突变或误表达与多种人体癌症有关,同时也表明 miRNA 可以作为肿瘤抑制基因和致癌基因。已证明 miRNA 能抑制重要癌症相关基因的表达,因此 miRNA 可能有助于癌症的诊断和治疗。

**关键词:** miRNA ; 癌症 ; 肿瘤抑制基因 ; 致癌基因

**中图分类号:** R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971( 2006 )06-0416-03

癌症是由受损细胞增殖失控或不适当存活引起的,它们导致了肿瘤的形成。处于发育期或已成熟的个体中细胞均已形成保护功能,以确保细胞的分裂、分化和死亡过程正确且协调地进行。许多调节因子可以开启或关闭指导细胞增殖和分化的基因,在癌症中,此类基因作为肿瘤抑制基因和致癌基因受到损伤。肿瘤抑制基因和致癌基因先由 DNA 转录至 RNA,然后翻译成蛋白从而产生效应。近来有证据表明,非蛋白编码小 RNA 分子( miRNA )也可能作为肿瘤抑制基因和致癌基因。miRNA 是一类新型基因调节剂,与人类癌症相关进程有关联,人们对此方面的认识尚处于起始阶段。已鉴定出的数百种 miRNA 中,仅少数来自虫、蝇和人染色体的 miRNA 特征得到明确,它们可控制细胞生长、分化和凋亡,因此 miRNA 表达受损与肿瘤生长相关。对 miRNA 的功能进行持续研究有助于加深对肿瘤发生机制的理解。本文对癌症相关 miRNA( oncomir )研究领域的出现,以及如何将此类 miRNA 用于癌症的诊断和治疗进行了讨论。

## 1 miRNA 及其对多基因靶标的调节

miRNA 是由约 22 个核苷酸组成的非编码单链 RNA,作为一类新的基因调节剂在动植物体内均有发现。它们可对靶标产生负性调节作用,作用方式取决于 miRNA 与靶标的互补程度。据估计,人类基

因组中至少有 300( 可能达到 1 000 )种 miRNA,其 1% ~ 4% 由全表达人类基因组组成,因此 miRNA 构成了最大一类基因调节剂。按序列同源性可将 miRNA 进行分类,此同源性主要发现于成熟 miRNA 的 5' 端,但同一类的 miRNA 是否能控制类似的生物学活动尚有待观察。从虫类到人类,许多 miRNA 都是保守的,暗示这些 miRNA 对发育期和成熟期个体的重要过程均有指导作用。研究表明,一个单一 miRNA 可能与多达 200 个功能各不相同的靶标结合,包括转录因子、隐秘因子、受体和载体。因此,miRNA 可能控制了人类约三分之一的 mRNA 表达。另外,miRNA 对几种不同的遗传途径有较广泛的影响,故其缺失或误表达可能与癌症等疾病发病有关。

## 2 与癌症相关的 miRNA

miRNA 的表达与多种癌症有关,据认为,miRNA 既可充当肿瘤抑制基因,又可作为致癌基因。近来一项研究显示,约有 50% 已阐明的人类 miRNA 位于与癌症相关的染色体组脆性位点( fragile sites )。这表明 miRNA 可能对癌症发展有重要作用,例如,线虫 lin-4 的同系物 mir-125b-1 位于染色体 11q24 的脆性位点,在乳腺癌、肺癌、卵巢癌和子宫颈癌的细胞亚群中出现缺失。另据报道,miR-125b-1 与白血病也有关联,已证明它是一个 oncomir。

Calin 等的报道首次显示 miRNA 可充当肿瘤抑制基因,患有成人白血病和 B 细胞慢性淋巴细胞白血病( CLL )的患者,常出现两簇 miRNA 基因 mir-15a 和 mir-16-1 的缺失或下调。65% 以上的 CLL 患者、50% 的外套细胞淋巴瘤患者、16% ~ 40% 的多发性

收稿日期: 2006-08-14

作者简介: 张首国,男,在读博士研究生,研究方向:药物化学, E-mail: jacky\_7968@tom.com

骨髓瘤和60%的前列腺癌患者均出现13q14部位的缺失。因此可推测肿瘤抑制基因必定位于次30 kb区域。有趣的是,miR-15a和miR-16-1位于功能未知的非蛋白编码RNA基因LEU2内含子中。临床医师先前已注意到,出现13q14缺失的CLL患者与异常核型或出现其他部位如11q23和17p13缺失的CLL患者相比,预后较为良好。这可能是聚集于3号染色体上的miR-15a和miR-16-1同系物(分别为miR-15b和miR-16-2)在CLL患者体内持续低水平表达的结果。因此,13q14缺失不会导致此类miRNA的完全消除。近来Cimmino等的报道显示,miR-15a和miR-16-1对BCL-2有负性调节作用,BCL-2是在包括白血病和淋巴瘤在内的多种人类癌症中经常过度表达的抗凋亡基因。因此研究者认为,miR-15a和miR-16-1的缺失或下调能促进BCL-2的表达,从而促进造血细胞中白血病和淋巴瘤的形成。虽然miR-15a和miR-16-1的生物学功能还未完全确认,但已有证据显示,miR-16-1表达水平的下调多出现于各种白血病中,而在其他组织来源的癌中并不多见。这进一步支持了此miRNA在免疫系统和B细胞分化中的作用。

其他的研究也显示,miRNA表达下调与肿瘤生成关系密切。例如结肠肿瘤中miR-143和miR-145的成熟miRNA水平显著降低。然而,miR-143和miR-145作为肿瘤抑制基因的作用,并非专属于结肠组织,在乳腺癌、前列腺癌、子宫癌、淋巴瘤等细胞系中其表达量也明显下调。要证明此类miRNA是直接对肿瘤生成产生作用还是仅仅在肿瘤中受到特定的调节,尚需更深入的研究。

### 3 与MYC致癌基因相关的miRNA

MYC致癌基因能够编码一个基本的螺旋-环-螺旋转录因子,在人类癌症中常常出现突变或者表达增加,而且已证明此基因是一个细胞生长的重要调节因子,因为它能够诱导细胞增殖和凋亡。有趣的是,miRNA和MYC表达增加有着密切联系,从而导致B细胞的恶性增殖。例如,MYC易位至miR-142位点会导致一种侵入性B细胞白血病,该易位使MYC位于miRNA的发夹结构下游,并受miRNA启动子控制。当MYC易位至此位点后,使miR-142前体分子下游含有20个核苷酸的保守区域丢失,并破坏miRNA的加工,从而导致MYC表达增加并引起B细胞的转化。另一个miRNA,即miR-155,也与MYC的过度表达和B细胞癌有关,它可作为致癌基因与

MYC协同作用,而其正常功能是在B细胞选择中和能对抗MYC途径的可能的靶基因中起作用。也有报道称,乳腺癌中也出现miR-155上调,这预示着该基因在造血系统外也有功能。

近来,He等对miRNA、MYC和癌症之间的关系进行了更直接的描述。在弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤等肿瘤中优先出现13q31位点的扩增。而在此扩增区域中发生上调的唯一基因是一个非蛋白编码的RNA,即C13orf25。此转录物编码了miR-17-92基因簇,其中包含7个miRNA:miR-17-5p,miR-17-3p,miR-18a,miR-19a,miR-20a,miR-19b-1和miR-92-1。He等分析了具有13q31扩增的细胞系的191个miRNA,发现有6个miRNA表达增加,与13q31的拷贝增加相符,其中5个属于miR-17-92基因簇。该研究组还发现,65%的被测B细胞淋巴瘤细胞样本中,miR-17-92的前体表达增加。由此推断,此基因簇的表达增加与肿瘤形成有关。相关实验显示,截断的miR-17-19-b1基因簇中的miRNA可以协同地行使致癌作用,它可能靶向作用于凋亡因子,而凋亡因子为响应MYC的过度表达被激活。

研究还发现MYC可诱导miR-17-92基因簇的表达,染色体免疫沉淀实验表明,MYC结合于C13orf25第一内含子区域,这说明MYC直接调节了miR-17-92前体的转录。下一步需要鉴定此基因簇受MYC调节的靶基因。先前的生物信息学研究表明,转录因子E2F1是此miRNA基因簇中两个miRNA(miR-17-5p和miR-20a)的靶基因。有趣的是,已知E2F1与MYC之间存在交互正反馈调节作用。研究表明MYC可以诱导E2F1和miR-17-92的转录,而miR-17-92可以负调控E2F1的翻译,MYC介导的细胞生长则受miR-17-92基因簇严格控制。当MYC存在时,miR-17-92基因簇的miRNA限制了E2F1的活性,并通过阻断MYC和E2F1的正反馈回路削弱MYC对细胞增殖的影响。然而,尽管E2F1可以促进细胞增殖,但其表达水平超过特定阈值时也可诱发凋亡。本文所讲miR-17-92基因簇的miRNA对E2F1的负调控,可能是通过阻断E2F1诱导凋亡的活性并促进MYC介导的细胞增殖实现的。

miR-17-92基因簇的肿瘤抑制和致癌多重特性,表明了肿瘤生成和miRNA介导基因调控的复杂性。这些结果也反映出单个miRNA可以控制许多不相关的靶基因,从而控制细胞增殖和分化之类相反的

细胞活动。mir-17-92 基因簇充当肿瘤抑制基因还是致癌基因,取决于表达此类基因的细胞类型,以及此类基因调控的组织特异性靶标类型。综上所述,miRNA能调控多个癌症相关基因,因此有可能作为治疗多种癌症的药物靶点。

#### 4 miRNA 表达谱可能有助于癌症诊断

Northern 印迹分析法和 miRNA 微点阵法可用来确定人类 miRNA 基因的组织特异性。在特定器官中观察到的独特的 miRNA 表达谱,证明了发育过程中 miRNA 对干细胞维持和指导细胞分化的重要作用。研究人员现在开始使用 miRNA 表达特征来对癌症进行分类,并且确定那些可预测良好预后的 miRNA 标记。Lu 等近来研究发现,只需 200 个左右的 miRNA 表达谱就可以对人类癌症进行准确的分类。他们设计了一种新方法,以基于微球的流式细胞计量术为基础来研究正常和癌变组织中 miRNA 的表达。对来源于多种组织的肿瘤依据其 miRNA 表达谱进行分类,导致肿瘤按胚细胞系聚合成群。研究人员对正常组织和肿瘤样本中的 miRNA 表达谱进行了比较,发现 217 个 miRNA 中有 129 个在肿瘤中的表达水平下降,且与组织来源无关。因此,整体来讲,miRNA 可能使细胞的分化程度升高,与正常组织相比,肿瘤的 miRNA 表达谱代表了这些细胞的分化程度。这些研究确定了 miRNA 为“oncomir”,并暗示 miRNA 表达异常可能直接导致细胞去分化,从而引起肿瘤形成。

已建立的针对多种肿瘤的 miRNA 表达谱特征库,有助于癌症的诊断和治疗。miRNA 可以从甲醛固定的石蜡包埋的样品中分离出来,这使得 miRNA 表达谱特征库易于建立。已经证明,可利用特定的

miRNA 表达差异对病人的预后做出精确的预测。从治疗的角度来说,miRNA 表达谱可能为临床治疗方案的确定提供一个强有力的工具。例如,miRNA 特征可以成功地对组织学上难以诊断的癌症样品进行恰当的分类。

#### 5 未来的 miRNA 疗法

miRNA 具有重要的肿瘤抑制基因功能,很可能不会对为阻断肿瘤发展而设计的基因疗法产生很大影响。通过对肿瘤与正常组织的 miRNA 水平进行比较,进行大规模的 miRNA 表达扫描,有助于鉴定新的肿瘤相关 miRNA。采用与 Cheng 等类似的实验方法对 miRNA 进行功能扫描,以确定那些能特异性控制细胞增殖和凋亡等癌症相关过程的 miRNA 基因。不久的将来,能与与致癌性 miRNA 互补的序列进行编码的合成型反义寡聚核苷酸,即抗 miRNA 寡聚核苷酸(AMO)有望用于临床,从而有效地灭活肿瘤中的 miRNA,并延缓其生长。临床上,可以通过经常或者持续地给予 2'-O-甲基化或者闭锁性核苷酸等修饰的反义寡聚核苷酸使 miRNA 失活。这些修饰使得寡核苷酸更稳定,比其他以转化的 miRNA 如 mir-155 为靶标的癌症疗法毒性更低。

Antagomirs 即胆固醇偶联的 AMO,注射于小鼠体内后可以有效抑制不同器官中的 miRNA 活性,因而可能成为一种有希望的治疗药物。相反,过度表达那些作为肿瘤抑制基因的 miRNA,如由 let-7 家族编码的 miRNA,可用于治疗某些特定类型的肿瘤。miRNA 疗法要从实验室过渡到临床应用,还需进一步的发展和完善。miRNA 能否成为未来治疗癌症的“神奇子弹”仍需时间的考验,但毫无疑问的是,此领域的研究将会加深人们对肿瘤发生机制的认识。

(上接第 415 页)

方法。用化学和基因工具有效地搅乱体细胞中基因的功能,将可识别造成协同致死的特异基因型或表型的条件,因而可系统优化靶标药的组合。一般来说,为了合理评价组合疗法的活性,应当考虑两个单药的所有信息,包括作用机制、组合用药的非临床评价、临床药理学与抗肿瘤活性及毒性特点。为使临床前研究的成果得到最大转化,临床前试验的组合疗法应在多种肿瘤模型上检验,而且采用临床可能

达到的剂量和给药次数,如果可能,应确定靶状态和相应于要治疗的肿瘤模型中的分子组成。其后,确认用于测定靶标药单用和组合效应的生物标记,以使选择的病人获得更多的益处。进一步的研究应继续集中在以下几个主要任务上:靶标药及其组合的非临床系统研究,临床前和临床试验的相关研究,开发可靠的临床测定法,用于病人的选择和确定药效。这些努力使正在涌现的分子靶标药得到优化应用,进一步充实治疗成功的希望。