

## microRNAs 调控自噬研究进展\*

江龙洋 白雪峰 魏敏杰

**摘要** microRNAs是真核生物中内源性表达的非编码RNA,长约18~25个核苷酸。成熟的microRNAs通过碱基互补配对与靶基因3'UTR区域结合降解目标mRNA或抑制其翻译来调控基因的表达水平,是一种对基因表达的转录后调控方式。研究表明,microRNAs在细胞的增殖、分化及死亡等生理病理过程中均具有调控作用,本文将对其在II型程序性细胞死亡即自噬过程中的作用进行综述。

**关键词** 微小核糖核酸 自噬 转录后调控

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20130912

### Research advances in the miRNA regulation of autophagy

Longyang JIANG, Xuefeng BAI, Minjie WEI

Correspondence to: Minjie WEI; E-mail: mjwei@mail.cmu.edu.cn

Section of Pharmacology, China Medical University School of Pharmaceutical Science, Shenyang 110001, China.

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 81102472 and 81173092).

**Abstract** MicroRNAs are endogenously expressed non-coding RNAs, which are composed of approximately 18 nucleotides to 25 nucleotides. Mature microRNAs regulate gene expression by base pairing with the 3'-untranslated region of target mRNAs. These mature microRNAs can degrade target mRNAs or inhibit translation. This process is a type of post-transcriptional regulation of gene expression. Studies have shown that microRNAs are important in physiological and pathological processes, such as cell proliferation, cell differentiation, and cell death. This article provides an overview of the function of microRNAs in the regulation of macrophages.

**Keywords:** microRNA, autophagy, post-transcriptional regulation

自噬(Autophagy)即自体吞噬,是真核细胞中广泛存在的生命现象。研究表明,多种因素诸如氧化应激、饥饿、高温、细胞内受损细胞器及异常蛋白的堆积均会诱发细胞自噬。自噬过程中通过形成双层膜结构的自噬溶酶体,降解其吞入的受损细胞器和异常大分子物质,以此维持细胞内环境稳定。但过度自我消化会导致细胞自噬性死亡<sup>[1]</sup>。自噬在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用,因此,自噬的研究受到越来越多的重视。

自噬的调控机制非常复杂,参与的信号通路众多,microRNAs通过调控自噬相关基因的表达,从而发挥对自噬的调节作用。已有研究证实,microRNAs在调控自噬的发生过程中,大多为抑制自噬发生,也有少部分microRNAs能激活自噬。以下分别从这两个方面进行叙述。

#### 1 抑制自噬发生的相关microRNAs

##### 1.1 miR-502

Ras家族成员Rab1B已被证实能够通过调节囊

泡运输直接影响自噬。Zhai等<sup>[2]</sup>研究发现,结肠癌患者样本中miR-502表达下调,在结肠癌中转染miR-502,可通过下调Rab1B的表达,抑制结肠癌细胞自噬的发生,并能抑制细胞生长和阻滞细胞周期。小鼠结肠癌种植瘤模型中证实,miR-502能够抑制结肠肿瘤生长,也可能是其干扰自噬的结果。同时发现miR-502抑制自噬与5-氟尿嘧啶在治疗结肠癌中有协同作用,因此基于miR-502的治疗方案可能会为结肠癌的治疗提供新的选择。

##### 1.2 miR-181a

已有研究证实,miR-181a可减弱饥饿和雷帕霉素在乳腺癌MCF-7、人类肝癌Huh-7及慢性髓原白血病K562细胞中诱导的自噬。Tekirdag等<sup>[3]</sup>研究发现miR-181a可通过与自噬相关基因ATG5 3'UTR区域结合从而下调ATG5信使RNA和蛋白的表达,当ATG5蛋白水平低于某一阈值时,ATG12-ATG5-ATG16L1复合物形成受阻,直接影响了随后的LC3脂化过程,从而抑制自噬。在神经胶质瘤、白血病、胃癌和肺癌

作者单位:中国医科大学药学院药理学教研室(沈阳市110001)

\*本文课题受国家自然科学基金项目(编号:81102472,81173092)资助

通信作者:魏敏杰 mjwei@mail.cmu.edu.cn

细胞系中过表达 miR-181a,能够增强放射治疗或化疗药物阿糖胞苷、长春新碱、顺铂的治疗效果。

### 1.3 miRNA-130a

Kovaleva 等<sup>[4]</sup>报道在慢性淋巴细胞白血病患者中,miR-130a 的表达大幅下调。其使慢性淋巴细胞白血病细胞中 miR-130a 高表达后,发现细胞自噬的发生明显减少,进一步研究发现 ATG2B 和 DICER1 均是 miR-130a 的靶基因,而 ATG2B 能与 ATG2A 和 WDR45 相互作用,参与自噬小体形成的起始阶段,同时 DICER1 被证明参与了自噬发生,因此 miR-130a 可能是通过 ATG2B 和 DICER1 抑制细胞自噬的发生。此外,由于 DICER1 是 microRNAs 合成的关键因子,故该处可能存在对 microRNAs 的反馈调节作用。可见 miR-130a 的调节网络错综复杂,在慢性淋巴细胞白血病细胞自噬发生过程中扮演重要角色,为肿瘤多靶点治疗提供参考。

### 1.4 miR-376b

Korkmaz 等<sup>[5]</sup>在乳腺癌 MCF-7、人类肝癌 Huh-7 细胞中转染 miR-376b 后抑制了饥饿诱导的自噬。检测发现 LC3 蛋白的表达虽未降低,但减弱了它的脂化水平,ATG4C 和 BECN1 信使 RNA 及蛋白水平均下调,BECN1 调控着自噬体形成的早期阶段,ATG4C 通过影响 LC3 的成熟而参与了自噬体膜的延伸过程。同时,雷帕霉素处理导致的 miR-376b 上调能够抵消它诱导的自噬,并能影响其治疗效果。检测 miR-376b 的表达水平及自噬发生的情况,可为疾病的诊断提供依据。

### 1.5 miR-101

Frankel 等<sup>[6]</sup>利用 qPCR 技术检测发现,不同途径(饥饿、雷帕霉素和依托泊苷治疗)诱导的乳腺癌 MCF-7 细胞自噬,内源性 miR-101 的水平均增加,提示 miR-101 参与了乳腺癌 MCF-7 细胞的自噬过程。其发现在过表达 miR-101 的乳腺癌 MCF-7 细胞中,自噬被抑制,抑制内源性的 miR-101 表达可诱导自噬的发生。STMN1 编码的 Stathmin 已被证实参与了自噬的调节;RAB5A 为一种小 GTP 酶,在自噬小体形成的早期阶段发挥着重要作用;ATG4D 是半胱氨酸蛋白酶家族的一员,经 LC3 加工之后,调节自噬小体的形成。STMN1、RAB5A 和 ATG4D 参与自噬调控的基因在转染 miR-101 后表达均下调,揭示了 miR-101 调控自噬的机制。同时,miR-101 能够增强乳腺癌 MCF-7 细胞对 4-羟他莫昔芬的敏感性,提示 miR-101 可能在乳腺癌的治疗中具有重要价值。

### 1.6 miR-375

在人类肝癌细胞中表达下调,转染 miR-375 后能下调自噬相关基因 Atg7 信使 RNA 及蛋白表达水平,

Atg7 参与 LC3 I 向 LC3 II 的转变所必需的 Atg10 和 Atg12、Atg3 和 LC3 复合物形成过程,当 Atg7 下调时自噬溶酶体的形成受阻,阻断了自噬的发生,从而避免肿瘤治疗中自噬引起的耐药。因此提高 miR-375 的表达与能够诱导自噬的化疗药物如索拉菲尼联合运用,可增强化疗药物的抗肿瘤作用,开发一种更为有效且安全的恶性肿瘤治疗方法还有待研究<sup>[7-8]</sup>。

### 1.7 miR-204

Mikhaylova 等<sup>[9]</sup>通过检测观察,与正常肾组织标本相比,肾透明细胞癌患者肾组织标本中 miR-204 的水平显著下降。进一步研究发现,miR-204 能够抑制肾癌细胞的生长,而应用自噬上游抑制剂 3-甲基鸟嘌呤后,miR-204 引起细胞的死亡过程被阻断,该结果表明 miR-204 可能是通过抑制自噬影响肿瘤细胞的增殖和生长。免疫荧光染色和免疫印迹结果均显示,miR-204 是通过下调肿瘤细胞 LC3B 的表达,抑制了自噬的发生,而对正常肾细胞影响较小,为今后将 miR-204 运用于肾肿瘤的治疗提供了可能性。Jian 等<sup>[10]</sup>在心肌细胞缺氧复氧诱导的自噬中,同样证实 miR-204 通过下调 LC3B 抑制自噬的进程,保护心肌细胞免于缺氧复氧造成的损伤。

### 1.8 miR-30family

miR-30 家族广泛参与正常生理过程,包括细胞生长、增殖、分化、衰老和凋亡,也参与肿瘤转移等病理过程<sup>[11]</sup>。其中 miR-30a 和 miR-30d 在自噬的调控中作用重大,Yang 等<sup>[11]</sup>在 5 株不同来源的肿瘤细胞中转染 miR-30d 后,自噬相关基因 ATG5、ATG12、BECN1 和 BNIP3L 的 mRNA 及蛋白表达水平均下调,从而抑制自噬的进程。miR-30a 在自噬方面的研究较多,Xu 等<sup>[12]</sup>研究提示风湿性关节炎滑液组织中自噬活性的增加,可能是 miR-30a 下调的结果。Zou 等<sup>[13]</sup>同样证实,miR-30a 通过抑制 BECN1 介导的自噬能够增强肿瘤细胞对顺氯氨铂的敏感性,从而增强该类 DNA 损伤药物的治疗效果。Yu 等<sup>[14]</sup>在慢性粒细胞白血病的研究中,发现 miR-30a 通过下调 BECN1 和 ATG5 的表达抑制自噬,从而增加伊马替尼的细胞毒性作用并促进线粒体依赖内在细胞凋亡。

microRNAs 除了调节肿瘤细胞的自噬,在缺血-再灌注诱导的心肌细胞自噬过程中也起着重要的调节作用。Xiao 等<sup>[15]</sup>研究提示,在缺血-再灌注中 miR-204 下调与 LC3-II 表达上调同时发生,而 LC3-I 的表达无明显变化,提示 miR-204 可能通过调节 LC3-II 的表达介导了心肌缺血-再灌注损伤中自噬的发生。因此,调控心肌细胞中 miR-204 的表达水平,或许能避免缺血-再灌注过程中对心肌细胞的损伤。Wu 等<sup>[16]</sup>也在研究中证实,miR-20a 和 miR-106b

可下调ULK1的表达,抑制成肌细胞C2C12亮氨酸缺乏诱导的自噬。

除了上述microRNAs, miRNA hsa-let-7g、miR-199a-5p、miR-212/132家族在抑制自噬的发生发展中也发挥着重要作用<sup>[17-19]</sup>。由于每一种microRNA均具有多个靶基因,因此其作用靶点的多样性,决定了其在自噬调控过程中的复杂性,现已观察到的自噬现象很可能是调控多个靶基因后的共同结果。

现有研究表明,microRNAs抑制自噬的发生,多是通过下调自噬小体形成过程的关键分子,如自噬相关基因、LC3、BECN1等,进而抑制自噬小体的形成和自噬体膜的延生等过程,主要抑制自噬的早期阶段。因此,可利用microRNAs抑制自噬,从而逆转肿瘤化疗过程中自噬引起的耐药,为肿瘤临床治疗提供新的途径。

## 2 促进自噬发生的相关microRNAs

### 2.1 miR-199a-5p

Xu等<sup>[18]</sup>在肝细胞癌细胞中已经证实miR-199a-5p低表达,并且转染miR-199a-5p后能够抑制顺铂诱导自噬的激活。而Yi等<sup>[20]</sup>则认为在辐射诱导乳腺癌细胞自噬中,miR-199a-5p扮演着不同的角色。DRAM1已被证实有促进自噬的作用,BECN1也被普遍认为是自噬启动所需的关键基因,对乳腺癌MCF-7细胞,过表达miR-199a-5p导致DRAM1和BECN1表达下调,进而抑制自噬;而在乳腺癌MDA-MB-231细胞中,结果恰好相反,过表达miR-199a-5p后,DRAM1和BECN1表达水平增加,荧光素酶报告基因表达分析实验结果显示,miR-199a-5p能够与DRAM1和BECN1的3'UTR结合,有趣的是,与常见microRNA的作用结果相反,该结合上调了DRAM1和BECN1的表达。同时,LC3-II/LC3-I的值也增加,均提示miR-199a-5p促进了乳腺癌MDA-MB-231细胞的自噬。

### 2.2 miR-7

通过在肺癌细胞H1299和A549中高表达miR-7,能抑制细胞的增殖,这种抑制作用与凋亡无关,而是通过下调EGFR和p62的表达水平,解除了EGF对自噬的抑制,从而激活自噬介导的程序性细胞死亡。而已有报道证实,在人类神经胶质瘤细胞中miR-7是通过凋亡途径诱导细胞死亡,因此miR-7诱导的程序性细胞死亡的类型与肿瘤细胞的来源和类型相关<sup>[21]</sup>。

### 2.3 miR-519

Abdelmohsen等<sup>[22]</sup>在研究中发现,向Hela细胞中转染miR-519后胞浆出现大量空泡结构,通过电镜观察形态、免疫印迹分析LC3 I及LC3 II表达水平和荧

光显微镜观察GFP-LC3的表达和形态,均提示自噬的激活。进一步研究证实,p21在miR-519触发的自噬过程中起着核心作用。

### 2.4 miR-375

前文已提及miR-375在人类肝癌细胞中能够抑制自噬的发生<sup>[7-8]</sup>,而Yang等<sup>[23]</sup>利用TaqMan微小RNA芯片检测多柔比星处理的慢性髓原白血病K562细胞,发现miR-375表达上调幅度最大,在多柔比星处理的慢性髓原白血病K562细胞中过表达miR-375能够上调自噬相关基因ATG9B和ATG18的表达,即miR-375能够激活多柔比星诱导的细胞衰老过程中自噬的发生。

由此可见,microRNAs促进自噬的发生主要通过两种途径:一方面可通过下调抑制自噬信号通路中相关蛋白的表达,解除该通路对自噬的抑制作用,进而激活自噬;另一方面可通过上调自噬相关基因、LC3、BECN1等,直接影响自噬小体的形成,从而激活自噬。

自噬的激活,多与肿瘤细胞对放疗化疗产生抵抗相关,降低治疗效果。在放化疗治疗过程中,肿瘤细胞通过自噬,清除肿瘤细胞内放化疗损伤的细胞器、蛋白质,并为残存的肿瘤细胞提供能量,参与了肿瘤细胞的耐药过程。

综上所述,microRNAs对自噬的的调节因作用的靶点和方式的差异,对自噬起到抑制和激活两个方面的作用。当microRNAs下调自噬相关蛋白,并最终影响自噬小体形成时,就会抑制自噬;当microRNAs上调自噬相关蛋白,或解除抑制自噬的信号通路作用时,就会激活自噬。其中microRNAs上调目的基因表达的作用机制还有待于研究。适当的利用自噬在肿瘤中的双刃剑作用,抑制有害的自噬,诱导有益的自噬,均可提高放化疗对肿瘤细胞的杀伤作用。

## 3 展望

microRNAs通过转录后调节方式,调节体内各种蛋白的表达水平,广泛参与生物体的生命过程。自噬为真核生物中普遍的生命现象,在维持细胞内环境稳定中发挥着重要的作用。自噬的发生和调控机制正越来越多的被人们认识,microRNAs对自噬的研究现处于起步阶段,还有许多机制尚未阐明,另外,更多能够调控自噬的microRNAs还有待于发现。正确的利用自噬对肿瘤细胞的作用,对今后更好的治疗和预防癌症有着重要的指导意义。microRNAs在肿瘤中的作用还处于研究阶段,要将其运用于临床还需要更多的研究来支持。同时microRNAs本身作为一种核酸,在其运用于临床时,还需要考虑生物污染和伦理道德等问题。通过microRNAs调控自噬在



控制癌症、延缓衰老、提高生存质量等方面的作用还有待于进一步研究,调控自噬发生发展或为临床治疗提供新策略。

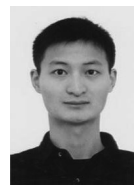
#### 参考文献

- Levine B, Ranganathan R. Autophagy: Snapshot of the network[J]. *Nature*, 2010, 466(7302):38–40.
- Zhai H, Song B, Xu X, et al. Inhibition of autophagy and tumor growth in colon cancer by mir-502[J]. *Oncogene*, 2013, 32(12):1570–1579.
- Tekirdag KA, Korkmaz G, Ozturk DG, et al. Mir181a regulates starvation- and rapamycin-induced autophagy through targeting of atg5[J]. *Autophagy*, 2013, 9(3):374–385.
- Kovaleva V, Mora R, Park YJ, et al. Mirna-130a targets atg2b and dicer1 to inhibit autophagy and trigger killing of chronic lymphocytic leukemia cells[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(7):1763–1772.
- Korkmaz G, le Sage C, Tekirdag KA, et al. Mir-376b controls starvation and mtor inhibition-related autophagy by targeting atg4c and becn [J]. *Autophagy*, 2012, 8(2):165–176.
- Frankel LB, Wen J, Lees M, et al. MicroRNA-101 is a potent inhibitor of autophagy[J]. *EMBO J*, 2011, 30(22):4628–4641.
- Chang Y, Yan W, He X, et al. Mir-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(1):177–187.
- Chang Y, Lin J, Tsung A. Manipulation of autophagy by mir375 generates antitumor effects in liver cancer [J]. *Autophagy*, 2012, 8(12):1833–1834.
- Mikhaylova O, Stratton Y, Hall D, et al. Vhl-regulated mir-204 suppresses tumor growth through inhibition of lc3b-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(4):532–546.
- Jian X, Xiao-yan Z, Bin H, et al. Mir-204 regulate cardiomyocyte autophagy induced by hypoxia-reoxygenation through lc3-ii[J]. *Int J Cardiol*, 2011, 148(1):110–112.
- Yang X, Zhong X, Tanyi JL, et al. Mir-30d regulates multiple genes in the autophagy pathway and impairs autophagy process in human cancer cells[J]. *Bioc Biop Res Comm*, 2013, 431(3):617–622.
- Xu K, Xu P, Yao JF, et al. Reduced apoptosis correlates with enhanced autophagy in synovial tissues of rheumatoid arthritis[J]. *Inflamm Res : official journal of the European Histamine Research Society*, 2013, 62(2):229–237.
- Zou Z, Wu L, Ding H, et al. MicroRNA-30a sensitizes tumor cells to cis-platinum via suppressing beclin 1-mediated autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(6):4148–4156.
- Yu Y, Yang L, Zhao M, et al. Targeting microRNA-30a-mediated autophagy enhances imatinib activity against human chronic myeloid leukemia cells[J]. *Leukemia*, 2012, 26(8):1752–1760.
- Xiao J, Zhu X, He B, et al. Mir-204 regulates cardiomyocyte autophagy induced by ischemia-reperfusion through lc3-ii[J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18(35):1–8.
- Wu H, Wang F, Hu S, et al. Mir-20a and mir-106b negatively regulate autophagy induced by leucine deprivation via suppression of ulk1 expression in c2c12 myoblasts[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(11):2179–2186.
- Ding Z, Wang X, Schnackenberg L, et al. Regulation of autophagy and apoptosis in response to ox-ldl in vascular smooth muscle cells, and the modulatory effects of the microRNA hsa-let-7g[J]. *Int J cardiol*, 2013, 168(2):1375–1385.
- Xu N, Zhang J, Shen C, et al. Cisplatin-induced downregulation of mir-199a-5p increases drug resistance by activating autophagy in hcc cell[J]. *Bioc Biop Res Comm*, 2012, 423(4):826–831.
- Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, et al. The mirna-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy[J]. *Nat Commun*, 2012, 3(1078):1–11.
- Yi H, Liang B, Jia J, et al. Differential roles of mir-199a-5p in radiation-induced autophagy in breast cancer cells[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(5):436–443.
- Tazawa H, Yano S, Yoshida R, et al. Genetically engineered oncolytic adenovirus induces autophagic cell death through an e2f1-microRNA-7-epidermal growth factor receptor axis[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(12):2939–2950.
- Abdelmohsen K, Srikantan S, Tominaga K, et al. Growth inhibition by mir-519 via multiple p21-inducing pathways[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(13):2530–2548.
- Yang MY, Lin PM, Liu YC, et al. Induction of cellular senescence by doxorubicin is associated with upregulated mir-375 and induction of autophagy in k562 cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):e37205.

(2013-06-08收稿)

(2013-09-10修回)

(本文编辑:贾树明)



#### 作者简介

江龙洋 在读博士研究生。研究方向为乳腺癌相关基础研究。

E-mail:jianglongyang1987@126.com