

## miRNA在乳腺癌化疗耐药中的作用

顾 玺 综述 张文海 审校

**摘要** 总结近期国内外有关 miRNA 在乳腺癌化疗耐药中作用的研究进展。应用 Pubmed 和 CNKI 期刊全文数据库检索系统以“miRNA、乳腺癌和化疗耐药”为关键词,检索 2000 年 1 月至 2012 年 10 月有关在乳腺癌化疗耐药中作用的文献。从乳腺癌化疗耐药入手,阐述乳腺癌化疗耐药的特点、机制,并着重对 miRNA 在乳腺癌化疗耐药中的作用进行分析。miRNA 通过多种途径参与乳腺癌的化疗耐药。本文具体综述了一些以不同机制参与肿瘤耐药的 miRNA,及其具体参与耐药的途径。探讨了血清 miRNA 作为肿瘤标记物的潜在临床利用性。**结论:**深入研究血清 miRNA 在乳腺癌耐药中的作用和机制,必将为乳腺癌的靶向治疗掀起一个新的篇章。

**关键词** 乳腺癌 化疗耐药 miRNA

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20131269

### Function of MiRNA in the chemotherapy resistance of breast cancer

Xi GU, Wenhai ZHANG

Correspondence to: Wenhai ZHANG; E-mail: zhangwh@sj-hospital.org

Department of Breast Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China

This work was supported by the Scientific and Technological Planning project of Liaoning Province(No. 2012225026)

**Abstract** This study aimed to review the research progress on the contribution of microRNA (miRNA) to the chemotherapy resistance of breast cancer. With “miRNA,” “breast cancer,” and “chemotherapy resistance” as key words, the literature was searched in Pubmed and CNKI databases between 01-2000 and 10-10-2012. We described the characteristics and mechanisms of breast cancer chemotherapy resistance and focused on the contribution of miRNAs in the chemotherapy resistance of breast cancer. MiRNA participate in chemotherapy resistance of breast cancer through different ways. This article summarizes different miRNAs that participate in chemotherapy resistance and identifies their specific pathways in drug resistance. The potential clinical utilization of the serum miRNA as a tumor marker is also discussed. Further research on the effect and mechanism of serum microRNA in chemotherapy resistance will bring a new chapter in the targeted therapy of breast cancer.

**Keywords:** breast cancer, chemotherapy resistance, MiRNA

目前乳腺癌的主要治疗手段是以手术、化疗、内分泌治疗以及靶向治疗联合的综合治疗。据统计,约有 70% 的乳腺癌患者对化疗耐药或很快出现化疗耐药<sup>[1]</sup>。无论是初始的耐药还是获得性的耐药都会大大降低乳腺癌患者的无病生存时间(disease-free survival, DFS)和总生存时间(overall survival, OS)。本文将对乳腺癌化疗耐药的机理和 miRNAs 在耐药中起到的作用加以阐述。

### 1 乳腺癌化疗的耐药

#### 1.1 乳腺癌化疗耐药的概述

耐药是导致肿瘤化学药物治疗失败的主要原因。根据肿瘤细胞的耐药特点,耐药可分为原药耐药(primary drug resistance, PDR)和多药耐药(multiple drug resistance, MDR)两大类,PDR 是指对一种抗肿瘤药物产生抗药性后,对非同类型药物仍敏感;MDR 是指癌细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性的同

时对其他非同类药物也产生抗药性,是造成肿瘤化疗失败的主要原因。MDR 可进一步分为先天性多药耐药(intrinsic MDR)和获得性多药耐药(acquired MDR),先天性多药耐药是指在化疗开始时就存在的耐药性,而获得性多药耐药是指在化疗过程中由一种化疗药物诱导产生的耐药。乳腺癌对多种化疗药物有效,但很快出现耐药<sup>[2]</sup>。针对乳腺癌耐药的特点,目前乳腺癌耐药的研究主要集中在获得性多药耐药方面。

#### 1.2 乳腺癌化疗耐药的机制

化疗药物的耐药机制目前尚不十分清楚。目前有两个关于耐药的主要假说,基因性耐药和表观基因性耐药,这两种假说被认为是解释所有癌症耐药的基础理论。基因通常是指 DNA 序列的可遗传改变,基因性耐药是指由 DNA 序列发生了与耐药相关的可遗传突变。表观基因是指在未改变 DNA 序列的

作者单位:中国医科大学附属盛京医院乳腺外科(沈阳市 110004)

\*本文课题受辽宁省科学技术计划项目(编号:2012225016)资助

通信作者:张文海 zhangwh@sj-hospital.org

基础上通过DNA甲基化或者组蛋白修饰改变其基因表达使其表观基因组获得耐药性。

目前,关于乳腺癌基因性耐药的研究证据较少,但大量的实验证明乳腺癌细胞基因表观性耐药的存在。一些基因的异常表达使乳腺癌细胞内的抗肿瘤药物浓度下降从而影响药物的有效性,例如多药耐药基因(multidrug-resistance 1, MDR1)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)基因<sup>[3]</sup>。与乳腺癌细胞凋亡相关的基因的异常表达,可以使癌细胞抵抗药物介导的凋亡,产生耐药,如Bcl-2基因、p53基因<sup>[4]</sup>。此外,DNA甲基化和组蛋白修饰也是表观基因改变的重要方式,很多研究证明DNA甲基化和组蛋白修饰参与了乳腺癌细胞的耐药,这进一步证明表观基因改变对乳腺癌耐药的重要性<sup>[5-6]</sup>。有学者认为,对乳腺癌表观基因性耐药的研究可能成为是解决乳腺癌细胞对化疗药物耐药的重要方法<sup>[7]</sup>。

### 1.3 乳腺癌化疗耐药研究的热点问题

近年来的研究发现了MicroRNAs在表观基因组学中的重要作用,这个发现使学者们将MicroRNAs与乳腺癌耐药联系在一起。有人证明MicroRNAs的异常表达可能与乳腺癌的耐药有关<sup>[8]</sup>。随着这方面的实验证据的不断增多,使得miRNAs可能成为一个干预肿瘤耐药的新方法<sup>[9-10]</sup>。关于miRNAs调控肿瘤耐药的进一步研究将会成为乳腺癌耐药研究的新热点。

## 2 miRNA的构成和作用

MicroRNAs(miRNAs)是一类内源性的具有调控功能的非编码RNA,其大小长约16~29个核苷酸,在细胞内对基因的表达起到重要的调节作用。成熟的miRNAs通过碱基互补配对的方式识别靶mRNA,并根据互补程度的不同指导沉默复合体降解靶mRNA或者阻止靶mRNA的翻译。

近年来超过1200个哺乳动物的miRNAs已经被证明可以潜在调控大约三分之一的蛋白编码基因,这些基因与发育、细胞分化、代谢途径、细胞增殖和凋亡密切相关<sup>[11]</sup>。而这些生理过程的异常表达又是癌细胞的主要表现,所以有人猜想miRNA的异常表达可能在癌症的形成过程中起重要作用,并通过实验加以证明。学者们发现很多miRNA的异常表达都可能调控癌基因或抑癌基因的表达,并在肿瘤的发生、侵袭、转移以及对不同化疗药物的耐药中起重要作用<sup>[12]</sup>,例如miR-21和miR-373等能够促进乳腺癌转移,而miR-205、miR-340和miR-1258等能够抑制乳腺癌转移<sup>[13-17]</sup>。

### 3 miRNA参与乳腺癌化疗耐药的途径

目前有几种解释miRNA参与肿瘤化疗耐药机制的途径,而近来这些机制在乳腺癌耐药中被证明与

miRNAs密切相关<sup>[18]</sup>。

#### 3.1 miRNA参与药物转运和代谢

化疗药物转运和代谢的蛋白在癌细胞对药物的吸收、清除中起重要作用,提高清除化疗药物的转运蛋白的表达可以加速药物的代谢,导致癌细胞的广泛耐药。miRNA可能通过调控ATP结合盒蛋白家族(ATP-binding cassette, ABC)的P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP/ABCG2)的表达促使癌细胞产生耐药性。Chen等<sup>[19]</sup>通过对新辅助化疗(表阿霉素和多西他赛)有效和无效患者肿瘤标本的miRNA-200c的检测以及细胞株的验证,发现上调的miRNA-200c可以降低MDR1基因和P-糖蛋白的表达,增加阿霉素治疗的敏感性。也研究结果证明,miR-328、miR-519c和miR-520h可以通过对BCRP表达的调控使乳腺癌细胞发生耐药<sup>[20]</sup>。近来Zhu等<sup>[21]</sup>证明miR-128可以通过调控ABC家族的另一成员ABCC5使乳腺癌细胞产生对阿霉素等药物的耐药。这些研究表明miRNA可以通过药物转运和代谢的途径调控肿瘤耐药。

#### 3.2 miRNA参与细胞毒性作用

阿霉素、紫杉醇、顺铂等化疗药物的作用机制是抑制DNA、RNA的复制合成,阻碍癌细胞进行有丝分裂。细胞对这些毒性药物造成的损伤会作出分裂停止、DNA修复、凋亡等反应,癌细胞耐药与这些过程的改变密切相关<sup>[22]</sup>。PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)是一个抑癌基因,PTEN基因可以PTEN蛋白的合成,使细胞停止分裂并凋亡。Liang等<sup>[23]</sup>通过对紫杉醇、米托蒽醌和VP-16耐药的MCF-7细胞系及动物实验证明miR-19可能通过抑制PTEN的表达参与调控乳腺癌细胞对上述药物的耐药。BRCA1(breast cancer susceptibility gene 1)在DNA的损伤修复中其重要作用。Moskwa等<sup>[24]</sup>的研究证明miR-182可以下调BRCA1的表达从而减少的DNA修复,增加癌细胞对Olaparib的敏感性。Bcl-2基因具有抑制凋亡的作用。Kastl等<sup>[25]</sup>的研究发现在乳腺癌多西他赛耐药的细胞株中miRNA-34a下调,并通过上调Bcl-2基因表达的途径抑制癌细胞凋亡产生耐药。所以,miRNA可以参与调控修复和凋亡蛋白的表达使癌细胞出现耐药性。

#### 3.3 miRNA参与EMT

癌细胞发生上皮-间叶转换(EMT)被认为与耐药有关,发生EMT的肿瘤细胞表现出更强的耐药性<sup>[26]</sup>。miRNA可以调控诱导肿瘤细胞发生EMT的蛋白的表达,并使其产生耐药。E钙粘蛋白向N钙粘蛋白转换是肿瘤细胞发生EMT的重要标志,Cocharne等<sup>[27]</sup>发

现 miRNA-200c 的下调可以通过其靶基因 ZEB1 抑制 E 钙粘蛋白的表达,促进乳腺癌细胞 EMT 发生,使肿瘤细胞对顺铂和紫杉醇发生耐药。TGF- $\beta$ 、 $\beta$ 连环蛋白也是肿瘤细胞发生 EMT 过程中的重要成员,Rao 等<sup>[28]</sup>的研究显示 miRNA221/222 的上调可以通过对 TGF- $\beta$  和  $\beta$ 连环蛋白的调控实现癌细胞对氟维司群的耐药。从这些研究可以看出,EMT 也是 miRNA 参与耐药调控的途径之一。

### 3.4 miRNA 参与 DNA 甲基化和组蛋白修饰

DNA 甲基化和组蛋白修饰在基因表达和药物耐药中有极其的重要作用。DNA 甲基化是在不改变 DNA 一级结构的情况下,改变其表达活性的基因外调节途径。参与 DNA 甲基化的酶主要有 DNMT1, DNMT3a 和 DNMT3b。Pogribny 等<sup>[29]</sup>的研究发现,miR-29、miR-194 调节 DNMT3a 的表达,miR-132、miR-194 调控甲基化结合蛋白 MeCP2 基因表达,增加细胞系对 cisplatin 的耐药性。组蛋白去乙酰化酶抑制剂可以导致抗凋亡乳腺癌细胞系的侵袭转移能力降低,而很多 miRNA 其中差异表达<sup>[30]</sup>。这些发现说明 miRNA 可以通过 DNA 甲基化和组蛋白修饰两种方式参与肿瘤耐药。

### 3.5 miRNA 参与治疗靶点的改变

某些药物针对癌细胞的特异性靶点起作用,杀灭肿瘤细胞,如他莫昔芬、氟维司群对 ER 阳性的乳腺癌细胞。Zhao 等<sup>[31]</sup>的研究显示 ER- $\alpha$ 36 是 let-7 的靶基因,let-7 的敲除的他莫昔芬耐药细胞株可以表现出对他莫昔芬治疗敏感,这说明 let-7 可以通过改变他莫昔芬的治疗靶点(ER)促进耐药。另外还有研究证明 MicroRNA-101、MicroRNA-221/222 可能是通过调控 ER 来促进乳腺癌细胞对内分泌治疗药物的耐药<sup>[32]</sup>。所以,miRNA 可以通过改变这些治疗靶点的表达使肿瘤出现耐药。

## 4 血清中 miRNA 的特点和应用

既往对 miRNAs 的研究主要集中在细胞内的活动。第一个对血清 miRNA 的研究始自 2008 年,Lawrie 等<sup>[33]</sup>发现血清中含有 miR-21,且其高表达与弥漫性 B 细胞淋巴瘤患者的存活率呈负相关。血液中的循环 miRNA 可以免受血液核酸酶的破坏,这是血清 miRNA 的一个重要特点。血清中的 miRNA 主要存在于微小囊泡(microvesicles, MV, >1  $\mu$ m)和胞外小泡(exosome)中,正是由于 MV 和 exosome 的保护,使血清 miRNA 避免核酸酶的破坏。Zomer 等<sup>[34]</sup>的研究证明血液中的 microvesicles 和 exosome 可以作为 miRNA 的稳定载体,通过将某种细胞产生的 miRNA 转运至另一种细胞内,调控其靶 mRNA 的表达,实现体内的细胞间通讯。

目前很多研究证明患有疾病的患者血清内的 miRNA 表达谱与正常人不同,包括肿瘤、糖尿病、肝炎、妊娠等。Zhu 等<sup>[35]</sup>在乳腺癌患者血清中检测出 miR-155,并发现 PR 阳性的乳腺癌患者血清中的 miR-155 明显高于 PR 阴性的患者。Schrauder 等<sup>[36]</sup>通过基因芯片比对正常女性与早期乳腺癌患者的血液 miRNA,发现 miR-202, miR-718 可能成为早期乳腺癌的潜在标记物。这些研究提示我们血清 miRNA 是细胞间通讯的重要媒介,在肿瘤细胞的发生、侵袭和转移中起重要作用。而血清 miRNA 与乳腺癌化疗耐药的研究可能成为乳腺癌耐药领域的新热点。

## 5 化疗耐药研究展望

现有的研究证明 miRNA 与乳腺癌的化疗耐药密切相关,但其作用和机制尚不清楚,对其作用和机制的进一步研究可能成为逆转化疗耐药的关键,这将成为乳腺癌化疗耐药研究的热点。

血清 miRNA 的发现和稳定检测开辟了一条关于 miRNA 研究的新途径,血清 miRNA 在恶性肿瘤和其他疾病诊断中的作用已经证实了它的价值,但血清 miRNA 与乳腺癌化疗耐药关系的研究鲜见报道,深入研究血清 miRNA 在乳腺癌耐药中的作用和机制,必将为乳腺癌的靶向治疗掀起一个新的篇章。

### 参考文献

- Osako T, Horii R, Matsuura M, et al. Common and discriminative clinicopathological features between breast cancers with pathological complete response or progressive disease in response to neoadjuvant chemotherapy[J]. *Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(2): 233-241.
- Li X, Lewis MT, Huang J, et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy[J]. *Natl Cancer Inst*, 2008, 100(9):672-679.
- Natarajan K, Xie Y, Baer MR, et al. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(8):1084-1103.
- Crawford A, Nahta R. Targeting Bcl-2 in Herceptin-Resistant Breast Cancer Cell Lines[J]. *Curr Pharmacogenomics Person Med*, 2011, 9(3):184-190.
- Trimarchi MP, Mouangsavanh M, Huang TH. Cancer epigenetics: a perspective on the role of DNA methylation in acquired endocrine resistance[J]. *Chin J Cancer*, 2011, 30(11):749-756.
- De Luca A, Moroni N, Serafino A, et al. Treatment of doxorubicin-resistant MCF7/Dx cells with nitric oxide causes histone glutathionylation and reversal of drug resistance[J]. *Biochem J*, 2011, 440(2):175-183.
- Raha P, Thomas S, Munster PN. Epigenetic modulation: a novel therapeutic target for overcoming hormonal therapy resistance[J]. *Epigenomics*, 2011, 3(4):451-470.
- Salter KH, Acharya CR, Walters KS, et al. An integrated approach to the prediction of chemotherapeutic response in patients with breast cancer[J]. *PLoS One*, 2008, 3(4):1908.

- 9 Iorio MV, Casalini P, Tagliabue E, et al. MicroRNA profiling as a tool to understand prognosis, therapy response and resistance in breast cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(18):2753-2759.
- 10 Shen YL, Jiang YG, Greenlee AR, et al. MicroRNA expression profiles and miR-10a target in anti-benzo[a] pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide-transformed human 16HBE cells[J]. *Biomed Environ Sci*, 2009, 22(1):14-21.
- 11 Alonso CR. A complex 'mRNA degradation code' controls gene expression during animal development[J]. *Trends Genet*, 2012, 28(2):78-88.
- 12 Zhang X, Wang H, Zhang S, et al. MiR-134 functions as a regulator of cell proliferation, apoptosis, and migration involving lung septation[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2012, 73(1):31-37.
- 13 Yan LX, Wu QN, Zhang Y, et al. Knockdown of miR-21 in human breast cancer cell lines inhibits proliferation, in vitro migration and in vivo tumor growth[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(1):R2.
- 14 Yan GR, Xu SH, Tan ZL, et al. Global identification of miR-373-regulated genes in breast cancer by quantitative proteomics[J]. *Proteomics*, 2011, 11(5):912-920.
- 15 Wu H, Zhu S, Mo YY. Suppression of cell growth and invasion by miR-205 in breast cancer[J]. *Cell Res*, 2009, 19(4):439-448.
- 16 Wu ZS, Wu Q, Wang CQ, et al. miR-340 inhibition of breast cancer cell migration and invasion through targeting of oncoprotein c-Met[J]. *Cancer*, 2011, 117(13):2842-2852.
- 17 Zhang L, Sullivan PS, Goodman JC, et al. MicroRNA-1258 suppresses breast cancer brain metastasis by targeting heparanase[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3):645-654.
- 18 Kim JW, Mori S, Nevins JR. Myc-induced microRNAs integrate Myc-mediated cell proliferation and cell fate[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(12):4820-4828.
- 19 Chen J, Tian W, Cai H, et al. Down-regulation of microRNA-200c is associated with drug resistance in human breast cancer[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(4):2527-2534.
- 20 Li X, Pan YZ, Seigel GM, et al. Breast cancer resistance protein BCRP/ABCG2 regulatory microRNAs (hsa-miR-328, -519c and -520h) and their differential expression in stem-like ABCG2+ cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 81(6):783-792.
- 21 Zhu Y, Yu F, Jiao Y, et al. Reduced miR-128 in breast tumor-initiating cells induces chemotherapeutic resistance via Bmi-1 and ABCC5[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(22):7105-7115.
- 22 Ajabnoor GM, Crook T, Coley HM. Paclitaxel resistance is associated with switch from apoptotic to autophagic cell death in MCF-7 breast cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 26(3):e260.
- 23 Liang Z, Li Y, Huang K, et al. Regulation of miR-19 to breast cancer chemoresistance through targeting PTEN[J]. *Pharm Res*, 2011, 28(12):3091-3100.
- 24 Moskwa P, Buffa FM, Pan Y, et al. miR-182-mediated downregulation of BRCA1 impacts DNA repair and sensitivity to PARP inhibitors[J]. *Mol Cell*, 2011, 41(2):210-220.
- 25 Kastl L, Brown I, Schofield AC. miRNA-34a is associated with docetaxel resistance in human breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 131(2):445-454.
- 26 Marchini C, Montani M, Konstantinidou G, et al. Mesenchymal/stromal gene expression signature relates to basal-like breast cancers, identifies bone metastasis and predicts resistance to therapies[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11):e14131.
- 27 Cochrane DR, Spoelstra NS, Howe EN, et al. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(5):1055-1066.
- 28 Rao X, Di Leva G, Li M, et al. MicroRNA-221/222 confers breast cancer fulvestrant resistance by regulating multiple signaling pathways[J]. *Oncogene*, 2011, 30(9):1082-1097.
- 29 Pogribny IP, Filkowski JN, Tryndyak VP, et al. Alterations of microRNAs and their targets are associated with acquired resistance of MCF-7 breast cancer cells to cisplatin[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(8):1785-1794.
- 30 Rhodes LV, Nitschke AM, Segar HC, et al. The histone deacetylase inhibitor trichostatin A alters microRNA expression profiles in apoptosis-resistant breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(1):10-16.
- 31 Zhao Y, Deng C, Lu W, et al. Let-7 microRNAs Induce Tamoxifen Sensitivity by Down-Regulation of Estrogen Receptor Alpha Signaling in Breast Cancer[J]. *Mol Med*, 2011, 17(11-12):1233-1241.
- 32 Sachdeva M, Wu H, Ru P, et al. MicroRNA-101-mediated Akt activation and estrogen-independent growth[J]. *Oncogene*, 2011, 30(7):822-831.
- 33 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Br J Haematol*, 2008, 141(5):672-675.
- 34 Zomer A, Vendrig T, Hopmans ES, et al. Exosomes: Fit to deliver small RNA[J]. *Commun Integr Biol*, 2010, 3(5):447-450.
- 35 Zhu W, Qin W, Atasoy U, et al. Circulating microRNAs in breast cancer and healthy subjects[J]. *BMC Res Notes*, 2009, 19(2):89.
- 36 Schrauder MG, Strick R, Schulz-Wendtland R, et al. Circulating Micro-RNAs as Potential Blood-Based Markers for Early Stage Breast Cancer Detection[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e29770.

(2013-08-27 收稿)

(2013-10-24 修回)

(本文编辑:周晓颖)

### 作者简介



顾玺 讲师,主治医师。研究方向为乳腺恶性肿瘤的综合治疗及化疗耐药机制研究。

E-mail:gux1@sj-hospital.org