

MicroRNA 与胶质瘤的分子病理特征研究进展

宁宇 王健

(解放军第 251 医院肿瘤科 河北 张家口 075000)

摘要 MicroRNAs(miRNAs)是一类非编码的内源性小 RNA 分子,通过调节 mRNA 的稳定性及蛋白翻译过程控制基因表达,从而发挥促癌或抑癌作用。研究表明,在胶质瘤的发生、进展、侵袭过程中,伴随发生了许多分子病理特征的改变,这一过程中 miRNAs 发挥着重要作用,本文就此方面研究进展进行综述。

关键词 MicroRNA 胶质瘤 分子病理 基因

中图分类号 R739.4 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 05-989-03

Progresses in MicroRNA and Features of Molecular Pathology of Glioma

NING Yu, WANG Jian

(The 251st Hospital Tumor Department PLA, Zhangjiakou, 075000, China)

ABSTRACT: MicroRNAs(miRNAs) is a kind of non-coding endogenous small RNA molecules, which controls gene expression by modulating the stabilities of mRNA and the progression of protein translation, and plays a role in tumor promotion or inhibition; studies show that features of the molecular pathology of glioma change a lot in the progress of tumor genesis, progression and invasion, in which miRNAs play an important role, this article reviewed the progresses of the research that concerned.

Key Words: MicroRNA; glioma; Molecular Pathology; gene

Chinese Library Classification(CLC): R739.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)05-989-03

随着医疗技术水平的提高和生活水平的改善,颅内肿瘤的发病率出现不断上升趋势,其中胶质瘤是颅内原发性肿瘤中发病率、死亡率最高者,成人发病率达 6/10 万,5 年存活率为 20%~30%^[1,2],胶质瘤治疗首选手术治疗,因其呈浸润性生长,复发快、疗效差,临床上辅以化学治疗、介入治疗、放射治疗等仍难以达到良好效果;目前临床工作及研究发现胶质瘤的组织学及影像学分类不能完全反映胶质瘤的生物学特征,因此有必要从分子病理角度对胶质瘤这一类恶性肿瘤进行再认识,从而使得对此疾病的认识及治疗能更进一步。

此外,有关 microRNA 的研究已日益成为科学研究的热点。1993 年 Lee 等^[3]在秀丽隐杆线虫(Caenorhabditis elegans)中发现一个 22 个核苷酸的非编码小分子 RNA,lin-4;2000 年 Reinhart 等^[4]又发现了另一个类似的具有转录后调节功能的小分子 RNA,let7。随后的研究发现,此类小 RNA 在各种生物中普遍存在,遂将这一类非编码小分子 RNA 命名为 microRNA(miRNA)。越来越多证据显示,miRNA 在肿瘤的发生发展中起着重要作用。在胶质瘤的发生、进展、侵袭等生物学过程中涉及许多重要的分子病理改变,miRNA 在其中发挥了怎样的作用?本文将就此进行综述。

1 microRNA 的概念、生物学特性及作用机制

1.1 microRNA 的概念、生物学特性

miRNA 是真核生物中一类长度约为 22 个核苷酸的,参与基因转录后水平调控的,非编码小分子单链 RNA,能通过靶

mRNA 特异性的碱基配对引起靶 mRNA 的降解或翻译抑制,从而对基因进行转录后表达调控。miRNA 的前体 pri-miRNA 常形成分子内颈环结构,而且含有大量的 U/G 碱基对,pri-miRNA 经 Drosha、Dicer 等 RNA 酶切割加工后形成成熟的 miRNA。成熟的 miRNA 5' 端有一磷酸基团,3' 端为羟基,这一特点使其与大多数寡核苷酸和功能 RNA 的降解片段区别开来;miRNA 以单拷贝、多拷贝、基因簇等多种形式存在于基因组中,绝大部分落于基因间隔区,也有少数位于已知基因的内含子中;几乎所有的 miRNA 只从前体双链的一侧加工而来;多数 miRNA 还具有高度保守性、时序性和组织特异性。据预测人类 miRNA 基因数不低于 1000 个,参与调控超过 30% 的蛋白编码基因,研究表明^[5],超过 50% 的 miRNA 基因定位于肿瘤相关区域或脆性位点,提示 miRNAs 与人类肿瘤的发病机理密切相关。

1.2 microRNA 的作用机制

成熟的 miRNA 以一种 ATP 依赖的方式结合到 RNA 依赖的沉默复合物中(RISC),形成非对称的 RISC 复合物,进而发挥基因沉默的作用。研究表明 miRNA 能够下调靶基因的表达,目前还未发现上调靶基因表达的 miRNA。miRNA 发挥作用的方式有两种^[6]。1. 如果 miRNA 与其靶 mRNA 以完全互补的方式结合于开放阅读框时,靶 mRNA 将发生特异性降解;2. 如果 miRNA 以部分互补的方式与靶 mRNA 结合于 mRNA 的 3' 端非转译区,则靶 mRNA 的翻译受到抑制,而其稳定性不受影响。

2 胶质瘤发生、进展、侵袭过程中的分子病理特征

2.1 胶质瘤发生、进展、侵袭过程中相关信号转导通路的变化

作者简介 宁宇:(1980),女,硕士,医师,从事临床肿瘤治疗工作。

E-mail:Niningbb@163.com

(收稿日期 2010-11-22 接受日期 2010-12-18)

胶质瘤的发生是由多基因改变引起,大量文献报道胶质瘤活检组织和细胞系中均发现染色体改变,其中有 7、14、20 号染色体的增加,8、9、10、13、22 号染色体的丢失,9p、13q、17q、17p 等片段丢失和双微体形成。这些基因改变主要通过以下三种途径的破坏来诱导胶质瘤发生:(1) 酪氨酸激酶受体信号途径 (PI3K/AKT pathway);(2) p19 (p14) ARF/mdm2/p53 途径;(3) p16NK4A/CyclinD/CDK4/Rb/E2F 途径^[7],这三种途径相互联系,最终导致 G1/S 期监控点失活,引起细胞周期调控紊乱,结合其他相关基因突变引起的分子改变,最终使得细胞异常增殖,肿瘤发生。

2.1.1 PI3K/AKT pathway 丝氨酸 / 苏氨酸激酶 (protein serine/threonine kinase,AKT) 可调节众多生物学事件,如细胞生存和凋亡、基因表达、肿瘤侵袭和迁移、细胞周期调控等。受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase,RTK) 的磷酸化可激活磷酸肌醇-3- 激酶 (PI3K),导致第二信使产生,并最终激活 AKT,从而使细胞增殖^[8];AKT 的激活需要 PIP3,后者可被 PTEN 抑制,在大部分高级别星形细胞瘤中有 PTEN 基因缺失,将此基因转导至人类胶质瘤细胞可抑制 AKT 活化并诱导癌巢凋亡^[9]。

2.1.2 p19 (p14) ARF/mdm2/p53 途径 p53 肿瘤抑制基因在 30% 的胶质瘤中发生突变,在细胞周期及凋亡中 p53 起到枢纽作用。mdm2 调节 p53 的蛋白降解及细胞内定位,p53 负反馈调节 mdm2 的转录激活。癌基因诱导的 p19 (p14) ARF 可抑制 mdm2 功能并激活 p53,p19 (p14) ARF 结合于 mdm2 并将复合物隔离于核仁区^[10],p14ARF (小鼠 p19ARF 的人类同源物) 可由 E2F、myc 和 ras 诱导,癌基因的突变激活可由此抑制 p53 活化,导致肿瘤发生。

2.1.3 p16NK4A/CyclinD/CDK4/Rb/E2F 途径 p16NK4A 和 p19 (p14) ARF 在 9 号染色体共处相同位点,是由 NK4A 基因编码的两个不同基因产物,转录自不同的启动子。p16NK4A 抑制 CyclinD-CDK4 激酶,后者磷酸化 Rb-E2F 复合物。Rb 磷酸化后释放起到转录因子作用的 E2F,从而激活 DHFR、TK、TS、CDC2、E2F1 等基因转录^[11]。Rb 基因本身或其下游某个基因的突变失活可导致细胞进入无序的细胞周期。已有报道在高级别的星形胶质细胞瘤中 Rb 基因突变发生率为 25%,在散发的胶质瘤中常见 p16NK4A 的失活,在高级别的肿瘤中发生率达 50%-70%,在胶质母细胞瘤细胞系中达 90%左右,并常伴有纯合性缺失^[12],很可能低级别胶质瘤向高级别胶质瘤转化过程与 Rb 途径失衡有关。

2.2 胶质瘤发生、进展、侵袭过程中相关基因的变化

2.2.1 PTEN PTEN 是一个新的抑癌基因,其编码蛋白具有蛋白磷酸酶活性,PTEN 在正常组织中高表达,在胶质瘤中表达下降,其表达水平随胶质瘤分级增高而下降,表明其在肿瘤细胞迁移与侵袭过程中起重要作用。在 75%-90%的胶质母细胞瘤的 PTEN 位点出现杂合性缺失。PTEN 与下游的 AKT/ras 相互作用的活性关系密切,并能协同诱发形成胶质瘤,被诊断为间变性星形细胞瘤的患者,存在 PTEN 异常的,往往预后很差^[13]。

2.2.2 其他基因 在胶质瘤的发生及演进过程中可能还涉及多

个基因及其产物的改变;如选择性促血管生成因子 VEGF,它可以促进血管内皮增殖,诱导肿瘤血管生成;凋亡抑制蛋白 Survivin,在胶质瘤中高表达,且随肿瘤恶性程度的提高而表达增加,参与胶质瘤的凋亡抑制及恶性增殖; β -catenin 可与转录因子结合调节多种基因的转录,其突变激活可影响 VEGF、EGF、MMP、BMP 等多种基因表达,参与胶质瘤的发生发展。此外,有报道表明 14-3-3 蛋白、HIF-1 α 、ABCG2/Bcrp1、LRRC4、CyclinB1、MMP2 均与胶质瘤的发生、进展、侵袭过程相关。

3 microRNA 与胶质瘤

3.1 胶质瘤相关 miRNAs 表达水平的变化

Ciafre 等^[14]对人脑胶质母细胞瘤中 245 种 miRNAs 的表达水平进行测定,发现 miRNA-221 表达水平比瘤周脑组织显著上调;Chan 等^[15]发现,与胎儿及成人脑组织相比,在原发性胶质母细胞瘤中 miRNA-21 的表达水平上调了 5-100 倍 ($P<0.05$);Kefas 等^[16]研究表明,与瘤周脑组织相比 miRNA-7 的表达水平在胶质母细胞瘤中显著下调,Silber 等^[17]发现,间变性星形胶质细胞瘤及胶质母细胞瘤中 miRNA-124 的表达水平较瘤周脑组织下调 26 和 57 倍 ($P<0.01$),miRNA-137 的表达水平下调 66 和 63 倍 ($P<0.01$)。miRNAs 表达水平的变化提示 miRNAs 参与了胶质瘤的发生发展。

3.2 miRNAs 在胶质瘤演进中的作用

3.2.1 表达水平上调的 miRNAs 发挥促癌作用 目前研究显示,miRNA-21 的靶基因多数具有调节细胞增殖、分化、凋亡与迁移的功能,包括 PTEN、Bcl-2^[18]、Nanog、Sox2、Octamer-4、c-Myc^[19]等,Chan 等^[15]发现敲除 miRNA-21 后胶质瘤的生长受到抑制;研究发现 CDK 的抑制因子 p27kip1 为 miRNA-221-222 的一个直接靶标^[20-22],在肿瘤形成中,p27kip1 起着肿瘤抑制因子的作用,其在胶质瘤中的水平是下降的,且下降水平与患者生存时间呈负相关,研究发现,胶质母细胞瘤中 miRNA-221-222 的表达水平与 p27kip1 的表达水平呈负相关。Xia 等^[23]发现 miRNA-125b 过表达可以促进胶质瘤细胞增殖并且抑制全反式维甲酸 (ATRA) 诱导的细胞凋亡作用。

3.2.2 表达水平下调的 miRNAs 发挥抑癌作用 研究发现 miRNA-128 直接作用于 E2F3a,从而抑制胶质瘤细胞的增殖。Zhang 等^[24]在胶质母细胞瘤 T98G 细胞系中发现,miRNA-128 过表达后抑制了含有 E2F3a-3' UTR 荧光报告基因的活性,并且下调了 E2F3a 蛋白的水平,E2F3a 过表达后可以在一定程度抵消 miRNA-128 引起的肿瘤抑制作用。另有研究发现^[25],基质金属蛋白酶 MMP16 为 miRNA-146b 直接作用的下游靶基因,从而表明 miRNA-146b 通过抑制 MMPs 的作用影响胶质瘤的迁移与侵袭。

综上,胶质瘤的发生、进展、侵袭等生物学过程包含了多种信号转导途径及相关基因的改变,原癌基因突变、抑癌基因失活等多种因素导致胶质瘤细胞的恶性变,对此过程中的胶质瘤分子病理改变进行阐明有助于早日揭示肿瘤的发生及演进机制,在这一过程中,越来越多证据表明,microRNAs 发挥着重要调控作用,但更进一步的调控网络仍有待于不断完善,针对不同环节的关键靶基因的调控可能对胶质瘤的治疗起到积极作

用, 利用成熟的 microRNAs 设计的新型药物也将成为治疗胶质瘤的手段之一。

参考文献(References)

- [1] Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas [J]. Acta Neuropathol, 2005, 109(1): 93-108
- [2] Okamoto Y, Di Patre PL, Burkhard C, et al. Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade diffuse astrocytomas and oligodendrogliomas [J]. Acta neuropathol (Berl), 2004, 108: 49-56
- [3] RC Lee, RL Feinbaum, V Ambros. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854
- [4] BJ Reinhart, FJ Slack, M Basson, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 2000, 403(6672): 901-906
- [5] GA Calin, C Sevignani, C Dan Dumitru, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[J]. Proc. Natl. Acad. Sci, 2004, 101(9): 2999-3004
- [6] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs[J]. Science, 2001, 294: 853-858
- [7] 石剑锋, 马晓东. 脑胶质瘤的分子生物学研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2007, 13 (5) : 446
Shi Jian-feng, Ma Xiao-dong. Advances in Molecular Biology in Gliomas [J]. Chinese Journal Of Rehabilitation Theory And Practice, 2007, 13(5):446
- [8] Testa JR, Bellacosa A. AKT plays a central role in tumorigenesis[J]. Proc. Natl. Acad. Sci, 2001, 98(20): 10983-10985
- [9] Wang M Y, LU KV, Zhu S, et al. Mammalian target of rapamycin inhibition promotes response to epidermal growth factor receptor kinase inhibitors in PTEN-deficient and PTEN-intact glioblastoma cells[J]. Cancer Res, 2006, 66(16): 7864-7869
- [10] Kamrul HM, Wadhwa R, Kaul SC. CARF binds to three members (ARF, p53, and HDM2) of the p53 tumor-suppressor pathway.[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1100: 312-315
- [11] Vemell R, Helin K, Muler H. Identification of target genes of the p16NK4A-pRB-E2F pathway [J]. Biol Chem, 2003, 278 (46): 46124-46137
- [12] Olopade OI, Jenkins RB, Ransom DT, et al. Molecular analysis of deletions of the short arm of chromosome 9 in human gliomas [J]. Cancer Res, 1992, 52(9): 2523-2529
- [13] Smith JS, Tachibana I, Passe SM, et al. PTEN mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme [J]. Natl Cancer Inst, 2001, 93 (16): 1246-1256
- [14] Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 334: 1351-1358
- [15] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells [J]. Cancer Res, 2005, 65: 6029-6033
- [16] Kefas B, Godlewski J, Comeau L, et al. MicroRNA-7 inhibits the epidermal growth factor and the Akt pathway and is down-regulated in glioblastoma[J]. Cancer Res, 2008, 68: 3566-3572
- [17] Silber J, Lim DA, Petritsch C, et al. miR-124 and miR-137 inhibit proliferation of glioblastoma multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells [J]. BMC Med, 2008, 24: 6-14
- [18] Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation [J]. Circ Res, 2007, 100 (11): 1579-1588
- [19] Singh SK, Kagalwala MN, Parker-Thornburg J, et al. REST maintains self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells [J]. Nature, 2008, 453(7192): 223-227
- [20] 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: 3699-3708
- [21] Gillies JK, Lorimer IA. Regulation of p27Kip1 by miRNA221/222 in glioblastoma[J]. Cell Cycle, 2007, 6: 2005-2009
- [22] Visone R, Russo L, Pallante P, et al. MicroRNAs (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: 791-798
- [23] Xia HF, He TZ, Liu CM, et al. MiR-125b expression affects the proliferation and apoptosis of human glioma cells by targeting Bmf [J]. Cell Physiol Biochem, 2009, 23:347-358
- [24] Zhang Y, Chao T, Li R, et al. MicroRNA-128 inhibits glioma cells proliferation by targeting transcription factor E2F3a [J]. J Mol Med, 2009, 87: 43-51
- [25] Xia H, Qi Y, Ng SS, et al. microRNA-146b inhibits glioma cell migration and invasion by targeting MMPs[J]. Brain Res, 2009, 1269: 158-165