

微小RNA与原发性肝癌的研究进展

李子英, 卢再鸣, 赵相轩, 李慧, 郭启勇 (中国医科大学附属盛京医院 放射科, 沈阳 110004)

摘要: 微小RNA (microRNA, miRNA) 是非编码的内源性小分子RNA, 长度为21~25个核苷酸。微小RNA可与目标mRNA的3'-非翻译区进行互补结合, 使得mRNA被降解而表达受到抑制, 从而使相应调控基因沉默。miRNA在诸多生理和病理过程中发挥重要作用。近年来, 研究发现miRNA与肿瘤细胞增殖和凋亡相关, 其多在肿瘤组织中异常表达, 参与肿瘤的发生发展。主要分为“原癌性miRNA”和“抑癌性miRNA”。除表达水平外, miRNA碱基序列所发生的改变也可导致肿瘤的发生。本文主要就miRNA在原发性肝癌中的研究现状做相关综述, 以期对未来进一步研究miRNA在肝癌中的作用和应用提供有益线索。

关键词: miRNA; 原发性肝癌; 细胞增殖; 细胞凋亡

Progress on miRNA in hepatocellular carcinoma

LI Zi-ying, LU Zai-ming, ZHAO Xiang-xuan, LI Hui, GUO Qi-yong (Department of Radiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are a group of endogenous small noncoding RNAs, approximately 21~25 nucleotides in length. In mammals, their function is mainly repressing the mRNA transcripts via imperfect complementary sequences in the 3'-UTR of target mRNAs. miRNAs play important roles in many physiological and pathological processes. Over the past decades, overwhelming studies have reported that miRNAs are associated with the proliferation and apoptosis of tumor cells. miRNAs aberrantly expressed in tumor tissues have significant roles in tumor induction, progression and recurrence. Depending on miRNA function and status in cancer, miRNAs are generally classified as tumor suppressor or onco-miRNAs. In addition to the deregulated expression levels and potentially mutations that altering a miRNA seed sequence could ablate target repression by tumor-suppressive miRNAs or allow for altered target selection, which could contribute to oncogenesis. In this review, an overview on the miRNAs study in primary liver cancer were given so as to provide useful clues to understand the significance of miRNAs in the future.

Key words: miRNA; Hepatocellular carcinoma; Cell proliferation; Apoptosis

微小RNA (microRNA, miRNA) 是一种内源性的非编码单链RNA, 其在进化上非常保守。编码miRNA的基因, 在RNA聚合酶II的作用下转录为一个长的pri-RNA分子。这种分子在细胞核内由核糖核酸酶III Drosha处理, 并与DGCR8结合成为约70~90个碱基大小的发夹形pre-miRNA前体^[1]。pre-miRNA前体被输出蛋白-5 (exportin-5) 转运到细胞质, 最终由Dicer内切酶加工生成^[2]。miRNA不编码蛋白质, 通过与mRNA的3'-非翻译区结合调控翻译过程, 当其完全与mRNA结合时, mRNA被降解。当不完全与mRNA结合时, mRNA表达被抑制, 但mRNA本身不遭到破坏。miRNA在肝癌的发展过程中起着极其重要的作用, 可作为肝癌诊断的生物学标志物, 与肝癌的发生发展、肝癌的早期诊断、癌细胞的侵袭、转移和凋亡都有着重要联系^[3,4]。

1 miRNA的发现

1993年Lee等在线虫中发现了首个miRNA-lin-4^[5], 当时人们把这种具有时间表达特异性的小分子RNA命名为小分子时序RNA (stRNA)。由于这种小分子RNA在其他物种中并无发现, 所以人们认为stRNA只存在于线虫中。直到7年后Reinhart在果蝇中发现了第二个stRNA-let7^[6]。同年也在果蝇及其他动物中相继发现了let-7的同源基因, 随后运用分子克隆和生物信息学的方法从人类、线虫、果蝇和斑马鱼中鉴别出了大量的stRNA。同时发现有些stRNA并不具有时间表达特异性, 于是stRNA正式更名为miRNA。据推测, 在脊椎动物中大约含有1000个miRNA, 其中约三分之一调控着基因的表达。

2 miRNA与肝癌的发生

2.1 miRNA与细胞周期失调 细胞周期失调是肝癌发生的重要因素, miRNA可通过调节细胞周期关键因子从而调

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2015.04.004

基金项目: 辽宁省科学技术计划项目 (2012225014)

通讯作者: 李慧 Email: lih@sj-hospital.org

控肝癌细胞的增殖。miRNA通过调节细胞周期蛋白来促进或抑制细胞周期的运行。Cao等^[7]研究发现细胞周期蛋白D1可与转录因子E2F3结合成二聚体参与细胞周期和DNA复制的调控。E2F3是E2F家族成员,是多个miRNA下游的靶蛋白。发现多个miRNA的下游靶蛋白都为E2F3,在肝癌组织中miR-144可与E2F3进行结合,从而使E2F3的表达受到抑制影响肝癌细胞的生长。Kota等^[8]发现miR-126的作用靶标为D2和cyclin E2,miR-126的表达能诱导这两种细胞周期素相关的肝癌细胞周期的阻滞。Cornflour等^[9]研究发现miR-122下调引起的过表达转录因子HNF1A、HNF3A和HNF3B是细胞周期的核心调控分子。miR-122通过直接抑制细胞周期调控蛋白G1的表达而抑制肝癌细胞的生长。

调控细胞周期G₁/S转变的细胞周期蛋白也是miRNA调节的靶蛋白。在肝癌中miR-503与靶基因cyclin D3和E2F3结合并抑制靶基因的表达,进而导致Rb/E2F信号通路失活,抑制细胞周期G₁/S期转换和细胞增殖。同时miR-503可能在肝癌中也发挥抑癌基因的作用。Fornari等^[10]也发现miR-199作用的靶基因是mTOR和c-MET基因mTOR基因是使细胞进入细胞周期分裂期的关键基因,而c-MET基因有促进新生血管形成、内皮细胞运动、保护细胞免受各种细胞凋亡因子的影响的作用。miR-199可以抑制上述2种基因而使细胞停止于G₁期。

2.2 miRNA在肝癌组织中的差异化表达 miRNA在正常组织与肝癌组织之间的表达水平存在很大差异,这种差异是导致肝癌在内的一系列肿瘤形成的重要影响因素。同时,有一些特定差异的miRNA也可作为肝癌或其他肿瘤发生的标志物。Ura等^[11]研究发现在乙型肝炎和丙型肝炎最终发展到肝癌的途径中,几十种和肝癌发病相关的miRNA在肝癌组织的表达情况与正常肝组织相比,在肝癌组织中表达上调的miRNA有miR-105、miR-106b、miR-130b、miR-134、miR-151、miR-155、miR-18、miR-190、miR-191、miR-193、miR-20、miR-21、miR-210、miR-224、miR-301、miR-33、miR-34a、miR-340、miR-425、miR-519、miR-93、miR-96等。这些miRNA基本起着原癌基因的作用。与正常组织相比肝癌组织中miRNA表达下调的有miR-101、miR-122a、miR-126、miR-130a、miR-139、miR-150、miR-154、miR-17-3p、miR-187、miR-199*、miR-200b、miR-214、miR-219、miR-220a、miR-223、miR-26a、miR-29c、miR-30a-3p、miR-30e、miR-320、miR-325、miR-338、miR-92等。这些基因起着抑癌基因的作用。

肝癌主要是在肝硬化的基础上发生的,而miRNA一般在肝癌发生的过程中行使的是癌基因或抑癌基因的功能。差异化表达的miRNA表达谱可以作为肝癌诊断的重要依据。同时,也对靶向治疗、基因治疗起到提示作用。

3 miRNA与肝癌的侵袭、转移和凋亡

3.1 miRNA与肝癌的侵袭、转移 侵袭和转移是恶性肿瘤最重要的生物学特征,同时也是导致患者死亡的主要原因。肿

瘤的侵袭和转移是一个动态的复杂过程,多个步骤可同时发生。当中涉及癌基因、抑癌基因、信号转导基因、黏附相关分子、蛋白水解酶及众多细胞因子和凋亡因子等。

Budhu等^[12]从241例肝癌及癌旁样本中的miRNA的表达谱中发现有20个miRNA与肝癌的转移密切相关。其中miR-219-1、miR-207、miR-338表达极为显著,而在下调表达中miR-148a、miR-30c-1和miR-34a的表达水平下调最为显著。通过RT-PCR比对70例转移和非转移肝癌标本miRNA表达谱发现miR-338和miR-219表达量最高,而miR-148a、miR-30c表达量最低。表明多种miRNA在肝癌侵袭、转移的过程中起到了重要的作用。Xia等^[13]研究发现当miR-214的靶基因EZH2和β连环蛋白ct-nnbl被沉默可以直接抑制肝癌细胞的生长和侵袭。诱导E-钙黏蛋白的表达也可以抑制肝癌细胞的侵袭和转移。也有研究发现,肝癌组织中miR-143也存在过表达的现象,miR-143的表达可能也与肝癌的侵袭和转移相关^[14]。

3.2 miRNA与细胞的凋亡 细胞凋亡是抑制肿瘤增殖的重要因素,而凋亡蛋白家族在细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用。目前miRNA影响Bcl-2在肝癌细胞表达并促进肝癌细胞凋亡是miRNA与细胞凋亡研究的热点。Xiong等^[15]研究发现miR-29可以调节凋亡相关蛋白mcl-1和Bcl-2,当miR-29过表达时,Mcl-1和Bcl-2分别下调,线粒体发生膜电位耗散,细胞色素向细胞质内释放。miR-29通过线粒体途径促进细胞凋亡。李扩等^[16]研究发现miR-204在肝癌组织中的表达水平明显低于在相邻正常组织的表达水平,并且它与肿瘤大小、肿瘤数和TNM分期相关联。Bcl-2和sirt1在较低水平的miR-204组的表达均高于那些在较高水平的miR-204组。相关分析显示,miR-204表达与Bcl-2和Sirt1的蛋白表达水平呈负相关。过表达的miR-204抑制细胞增殖,促进细胞凋亡。

4 miRNA与肝癌的治疗

肝癌是全球第三大癌症的死亡原因^[17],可由环境的影响或感染慢性肝炎引起。在肝癌的发生发展过程中,miRNA起到了重要的调控作用,通过对体内特定的miRNA的沉默或恢复其丰度,可能是治疗癌症的新途径。Maria等^[18]研究发现在肝癌组织中miR-124的表达量比正常组织的表达量低,HNF4α作为反馈电路的控制因子,其活性也有所降低。HNF4α可以维持肝功能并促进肝细胞形成。当其活性下降,可以造成细胞的炎症,而当这种效应持续放大时,便造成慢性炎症应答。miR-124高表达时会使HNF4α活性恢复,修复细胞的炎症状态,使其炎症周期终止,肿瘤生长也停止。最终表明,给予miR-124的小鼠暴露在二乙基亚硝胺下,其阻止了肝癌的发展。Velagapudi等^[19]研究发现针对miRNA-96应用寡义反核昔酸技术进行设计,设计出源自核核苷酸序列的小分子作用在miRNA-96发夹前体并抑制其合成可使其沉默并诱导癌细胞凋亡。这为肝癌的治疗提供了新的思路和视野。当然,肝癌是一个多基因疾病,如何针对多个差异化表达的

miRNA进行设计以达到治疗肝癌的目的, 还需要进一步的研究。

5 展望

miRNA作为一类在原发性肝癌中具有重要调控作用的小分子RNA, 已经成为目前的一个研究热点, 提供了一个针对于肝癌治疗的崭新的思路。目前的研究已经发现了一系列能够调控肝癌细胞生长、侵袭、转移、凋亡的miRNA。但是, miRNA本身也受肝内组织的调控, miRNA与肝内组织的深层次的联系尚不清楚; miRNA本身的相互调控关系以及miRNA的个体差异化表达等因素都使得还需要更为深入的探究, 才能解开miRNA在肝癌发生、发展和治疗中的作用和机制。

参考文献

- [1] Han J, Lee Y, Yeom KH, et al. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing[J]. *Genes Dev*,2004,18:3016-3027.
- [2] Yi R, Qin Y, Macara IG, et al. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs[J]. *Genes Dev*,2003,17:3011-3016.
- [3] Becker N, Lockwood CM. Pre-analytical variables in miRNA analysis[J]. *Clin Biochem*,2013,46:861-868.
- [4] Takahashi RU, Miyazaki H, Ochiya T. The role of microRNAs in the regulation of cancer stem cells[J]. *Front Genet*,2014,4:295.
- [5] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C.elegans* hetero-chronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*,1993,75:843-854.
- [6] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*,2000,403:901-906.
- [7] Cao T, Li H, Hu Y, et al. miR-144 suppresses the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma by targeting E2F3[J]. *Tumor Biol*,2014,35:10759-10764.
- [8] Kota J, Chivalric RR, O'Donnell KA, et al. Therapeutic miRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model[J]. *Cell*,2009,137:1005-1017.
- [9] Cornflour C, Factor VM, Andersen JB, et al. Loss of miRNA-122 expression in liver cancer correlates with suppression of the hepatic phenotype and gain of metastatic properties[J]. *Oncogene*,2009,28:3526-3536.
- [10] Fornari F, Milazzo M, Calin G A, et al. MiR-199a-3p regulates mTOR and c-Met to influence the doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells[J]. *Cancer Res*,2010,70:5184-5193.
- [11] Ura S, Honda M, Yamashita T, et al. Differential microRNAs expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2009,49:1098-1112.
- [12] Budhu A, Jia HL, Forgues M, et al. Identification of metastasis-related microRNA8 in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2008,47:897-907.
- [13] Xia H, Ooi LL, Hui KM. MiR-214 targets β -catenin pathway to suppress invasion, stem-like traits and recurrence of human hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*,2012,7:e44206.
- [14] 丁隆, 杨宇, 曲义坤, 等. miR-143在HCC组织中的表达及其临床意义[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2014,6:21-23.
- [15] Xiong Y, Fang JH, Yun JP, et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2010,51:836-845.
- [16] 李扩, 许秋然, 刘欣, 等. miR-204通过下调Bcl-2和Sirt1表达抑制肝癌细胞生长[J]. *细胞与分子免疫学杂志*,2015,3:168-172.
- [17] Li X, Yang W, Lou L, et al. microRNA: a promising diagnostic biomarker and therapeutic target for hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*,2014,59:1099-1107.
- [18] Maria H, Christos P, Eleni A, et al. An HNF-4 α -miRNA Inflammatory Feedback Circuit regulates Hepatocellular Oncogenesis[J]. *Cell*,2011,147:1233-1247.
- [19] Velagapudi SP, Gallo SM, Disney MD. Sequence-based design of bioactive small molecules that target precursor microRNAs[J]. *Nat Chem Biol*,2014,10:291-297.

收稿日期: 2015-05-22