

· 综 述 ·

# mir-21 的转录调控及在肿瘤中的作用研究进展

张经波 综述, 汪荣泉 审校

(第三军医大学西南医院消化内科, 重庆 400038)

关键词: mir-21; 微 RNAs; 肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.31.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)31-3336-02

微 RNAs(miRNAs)是一类在转录后水平调控基因表达的小的内源性非编码 RNA 分子, 约长 17~27 nt, 在细胞与组织中特异表达。miRNAs 在各种不同的生物学进程中都发挥关键作用, 通过靶向结合基因中与成熟 miRNA 互补的序列, 调控发育、细胞分化、增殖和凋亡。miRNAs-靶基因间调控的异常与一系列癌症的进程密切相关。超过 50% 的人类 miRNAs 基因位于脆性位点或与癌症相关的区域, 意味着 miRNAs 在癌症的发生发展中可能扮演重要角色。一些 miRNAs 在癌细胞与组织中异常表达, 并与肿瘤的类型及进程相关。miRNAs 的靶基因通常为癌基因或肿瘤抑制基因, 通过异常调控 miRNAs-靶基因间关系及 miRNAs 自身表达可直接或间接影响着癌症的命运<sup>[1]</sup>。mir-21 符合了上面所叙述 miRNA 的所有特点, 并作为较早研究的 miRNAs 之一得到越来越多的关注。本文就已经研究比较详尽的 mir-21 有关基因定位、生成、表达调控及与肿瘤的关系作一综述。

## 1 mir-21 的基因定位

mir-21 在包括哺乳动物、鸟类和鱼类在内的一系列脊椎动物中都表现出较强的进化保守性。人类中 mir-21 的基因定位首次被发现定位于 17q23.2, 位于 TMEM49 基因的第 10 个内含子内。虽然转录 mir-21 的启动子位点与蛋白编码基因 TMEM49 内含子有重叠序列, 但是 pri-mir-21 (mir-21 的初始转录体) 却是被一个保守的启动子独立转录的<sup>[2]</sup>。

## 2 mir-21 的转录

成熟的 mir-21 来源于 3 433 nt 长的 pri-mir-21, 在 pri-mir-21 转录体的 +3 394 与 +3 399 间有一个保守的 AAU AAA 多聚腺苷酸化信号, pre-mir-21 (mir-21 的颈环前体) 则位于 +2 445 与 +2 516 间。

Fujita 等<sup>[2]</sup>采用生物信息学方法首先预测了 mir-21 的 miRNA 的可能启动区域(miRNA putative promoter regions, miPPRs), 位于的转录起始位点(transcription start site, TSS) 上游 900 bp 位置。随后, 通过实验在 HeLa 和 HL-60 细胞系中利用引物延伸法, 证实 mir-21 转录体起始于 miPPR-21 中保守的 TATA 框下游 30 bp。与大多数 miRNAs 的成熟过程一样, 成熟 mir-21 的加工过程可以概括如下: 首先 Pri-miR-21 由 DNA 聚合酶 II (Pol II) 转录, 然后, 由核内的 RNase III 酶, Drosha 和 DGCR8 加工形成长 72 nt 的颈环前体 pre-mir-21, 在转运酶 5 (exportin5) 的协助下被转运至胞质<sup>[3]</sup>。到达胞质后, 被另外一个 RNase III 酶 Dicer, 识别并被切割产生一个 22 nt 的 miRNA-miRNA 复合物。其中的一条链 hsa-mir-21 可能被降解, 而另一条链则会被参入 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC) 形成 RNA 蛋白复合物 miRNP, 通过靶向结合具有完全或非完全互补序列的 imRNAs 3' UTR 发挥调控作用。

## 3 mir-21 的调控

目前认为 mir-21 的调控主要发生在转录及转录后水平两

个方面。Fujita 等<sup>[2]</sup>首先对 mir-21 启动调控区的共有序列进行生物信息学分析, 得到几个保守的增强子元件, 即激活蛋白-1(AP-1)、Ets/PU. 1、C/EBP- $\alpha$ 、核因子-1(NF-1)、SRF、p53、STAT3。随后, 通过构建包含有不同增强子元件的异源荧光报告质粒, 发现 AP-1 和两个 Ets/PU. 1 元件均可以促进 pri-mir-21 的转录, 后者可以增强由前者介导的转录激活; NFIB 和 C/EBP- $\alpha$  结合到 mir-21 的启动子则导致 mir-21 基础转录水平的抑制。Talotta 等<sup>[4]</sup>提出 RAS 可以介导 AP-1 激活, 并存在由 mir-21 抑制程序性细胞死亡 4 (programmed cell death 4, PDCD4) 表达, PDCD4 抑制 AP-1 表达, AP-1 促进 pri-mir-21 表达而构成的负负为正的调控环。Loffler 等<sup>[5]</sup>证实在 IL-6 刺激的 XG-1、INA-6 骨髓瘤和 HepG<sub>2</sub> 肝癌细胞中, mir-21 的转录依赖 STAT3。IFN 诱导的凋亡会诱发 mir-21 形成负向反馈效应, 也是通过 STAT3<sup>[6]</sup>。

然而, 癌症中主要 miRNAs 的异常表达, 大多发生在成熟 miRNAs 水平上, 而不与 pri-miRNA 的表达相关, 暗示 mir-21 的表达调控可能大多发生在转录后水平上<sup>[7]</sup>。Davis 等<sup>[8]</sup>基于对血管平滑肌细胞(VSMCs)的研究表明, TGF- $\beta$  和 BMP 可以诱导 mir-21 表达, 提示存在调控 mir-21 加工的其他机制。这一过程主要为, TGF- $\beta$  和 BMP 信号系统促使特异 SMAD 信号转导蛋白受体(SMAD1/5 和 SMAD2/3)被招募到 pri-mir-21 并与 RNA 解螺旋酶 p68 形成复合物, 从而促使由 pri-mir-21 到 pre-mir-21 的快速(30 min 内)加工, 再加上随后的成熟环节, 调控了 mir-21 分子的活化。这一调控模型在 MDA-MB-468 乳腺癌细胞中得到验证。通过致癌性的 RAS 可以在体内或者体外使 mir-21 表达上调<sup>[9]</sup>。Foxo3a 可以从转录水平抑制 mir-21 的表达从而上调 FasL 的转录, 导致凋亡的发生<sup>[10]</sup>。STAT3 通过染色体 10 上删失的磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10, PTEN) 和 CYLD 途径激活 mir-21 和 mir-181b-1, 从而使炎症过度到癌症<sup>[11]</sup>。另外, mir-21 通过直接靶向作用于 3' 非翻译区域来抑制 RHOB 的表达。而 RHOB 具有肿瘤抑制作用<sup>[12]</sup>。另有研究表明, Mir-21 可以由 NF-kappaB 直接调节, 而细胞增殖是由 EP2/4 receptors 介导的<sup>[13]</sup>。NF-kappaB 结合位点位于 mir-21 基因转录原件上, 而且尼古丁对这种结合有增强作用。

两种调控方式也可能发生在同一个系统中。如, 在乳腺癌及结肠癌中, 应答缺氧时 mir-21 被诱导高表达, 同时在 pri-mir-21 的启动调控区中发现存在缺氧诱导因子 1(HIF-1) 结合位点; 此外, 在不依赖 HIF-1 的情况下, 通过 AP-1 转录或被 TGF- $\beta$  信号途径刺激也可诱导 mir-21 成熟<sup>[14]</sup>。

## 4 mir-21 与肿瘤

在星形细胞瘤<sup>[15]</sup>、胶质母细胞瘤、前列腺癌<sup>[16]</sup>、结直肠癌<sup>[17]</sup>、肝癌<sup>[18]</sup>、乳腺癌<sup>[19]</sup>、肺癌<sup>[20]</sup>、慢性淋巴细胞白血病<sup>[21]</sup>等癌症中 mir-21 都特异性高表达。在人类单核细胞分化为树突

状细胞的过程中, mir-21 表达也增高<sup>[22]</sup>。从功能方面看, 甄别癌症早期起始与演进的分型是困难的(特别是单个细胞或少许细胞阶段)。但是, 基于 miRNA 表达谱的分析给上述问题的解决带来了希望。

此外, 对于 miR-21 与致瘤性转化间的因果关系的功能研究报道较少。到目前为止, 已发现 miR-21 通过调控不同的抑癌基因介导了多种肿瘤的发生, 暗示 miR-21 的致瘤活性。

Gabriely 等<sup>[23]</sup>证实 miR-21 可以调控与神经胶质瘤细胞侵袭、迁移和凋亡相关的多个基因, 包括 RECK、TIMP3 和肿瘤抑制子及阻碍基质金属蛋白酶(MMPs)的因子。miR-21 通过下调 MMPs 的抑制子从而活化 MMPs 促使细胞侵袭增加肿瘤的恶性程度。乳腺癌细胞 MCF-7 中 miR-21 可能通过调控 Bcl-2 等相关基因而调节肿瘤生成, 因为抑制 miR-21 可以导致体外细胞生长减缓和体内裸鼠模型中肿瘤生长的抑制<sup>[24]</sup>。转移性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 miR-21 可以通过抑制肿瘤抑制基因原肌球蛋白 1 (tropomyosin 1, TPM1)、PDCD4、maspin 而介导肿瘤的侵袭与转移<sup>[1]</sup>。肝细胞中抑制 miR-21, 会提高 PTEN 的表达, 并降低肿瘤细胞增殖, 迁移与侵袭。反之, 提高 miR-21 的表达则效果相反<sup>[25]</sup>。有实验表明, 脂多糖刺激后, miR-21 增高而 PDCD4 降低。结直肠癌细胞系中, miR-21 与肿瘤抑制蛋白 PDCD4 呈负相关。抑制 miR-21 可以导致 PDCD4 蛋白水平的提高并降低侵袭力, 过表达 miR-21 则可以提高侵袭力及迁移性。在雌激素受体阳性的乳腺癌细胞, miR-21 可以由维生素 A 诱导。该研究还找到了 3 个新的 miR-21 靶点: 炎症前细胞因子 IL1B、黏附分子 ICAM-1 和 PLAT、组织型纤溶酶原激活物。miR-21 在对化疗药物抵抗的白血病细胞系 K562 中表达上调, 其机制可能包括 PI<sub>3</sub>K/Akt 通路及 PREN 蛋白表达的改变。miR-21 会下调肿瘤抑制基因 P12(CDK2AP1), 从而促进增殖和浸润。在非小细胞肺癌中, miR-21 抑制肿瘤抑制基因 PREN, 并促进肿瘤的生长和浸润。然而, 在一篇对前列腺癌的研究中发现, miR-21 不足以影响细胞的增殖和侵袭能力, 对 PTEN 和 PDCD4 的影响也有限。

在其他多种肿瘤模型中, miR-21 的靶基因已经或正在陆续被鉴定。miR-21 的异常表达调控了相应的肿瘤抑制基因, 从而影响着肿瘤的起始与演进, 因此, miR-21 在某种意义上可以被称之为癌相关 miRNA。

很多研究通过抑制 miR-21, 以尝试对肿瘤的治疗作用。有研究显示, 抑制 miR-21 对抑制胶质瘤细胞的增殖和凋亡效果明显, 且会激活 caspase 9 和 caspase 3。miR-21 在喉鳞状细胞癌高表达, 用反义寡核苷酸抑制 miR-21 后 RAS 表达下降, 其增殖和侵袭都受到抑制。然而, 也有研究发现, 抑制 miR-21 不能阻止神经母细胞瘤细胞的分化。下调 miR-21 会抑制 EGFR 通路并抑制胶质母细胞瘤的增殖, 虽然 PTEN 存在不同的状态, 但该过程与 PTEN 的状态无关。小的互补 miRNA 序列可以抑制 miRNA 的功能, 可能成为一个潜在的治疗手段, 但是 miR-21 的遗传缺失却不具有这样的作用。miR-21 敲除也可能作为一种新的白血病治疗手段。也有研究者试图将其作为一个新的神经胶质瘤靶向治疗的靶标。

## 5 展 望

在癌症中对于 miRNAs 重要角色的界定已经打开了癌症探索的新领域, 此外许多 miRNAs 也已被鉴定为致瘤性转化、侵袭与迁移的关键调节子, 而 miR-21 作为其中之一在众多癌症中发生异常表达也已通过不同实验室验证。虽然其中的原因已经有了很多解释, 包括转录及转录后的调控, 但是相关佐证仍需进一步完善。探索 miRNA 的功能非常复杂, 例如: mir-

21 通过作用于 PDCD4 抗凋亡, 从而保护心肌缺血。对于 miRNAs 表达的组织特异性以及不同 miRNAs 在一个特殊靶标上的联合作用应同时予以考虑。因此, 在正常细胞、组织和个体中 miR-21 是如何被调控的以及 miR-21 又如何调控下游靶基因等问题, 将成为下一步通过人为干预 miR-21 表达而达到癌症治疗等相关设计时所需要重点考虑的重点。

尽管如此, 针对 miR-21 等 miRNAs 的研究, 已经更加证明了“RNA 信号通路”的重要性, 并且其与更为保守的蛋白信号通路之间存在相关性。这种对于正常与致瘤性细胞侵袭的系统性基因网络理解的深入探索, 定将带给癌症诊断与治疗提供新途径。

## 参考文献:

- [1] Zhu S, Wu H, Wu F, et al. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis[J]. *Cell Res*, 2008, 18(3):350-359.
- [2] Fujita S, Ito T, Mizutani T, et al. miR-21 Gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism[J]. *J Mol Biol*, 2008, 378(3):492-504.
- [3] Lee Y, Han J, Yeom KH, et al. Droscha in primary microRNA processing[J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2006, 71(8):51-57.
- [4] Talotta F, Cimmino A, Matarazzo MR, et al. An autoregulatory loop mediated by miR-21 and PDCD4 controls the AP-1 activity in RAS transformation[J]. *Oncogene*, 2009, 28(1):73-84.
- [5] Loffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, et al. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer[J]. *Blood*, 2007, 110(4):1330-1333.
- [6] Yang CH, Yue J, Fan M, et al. IFN induces miR-21 through a signal transducer and activator of transcription 3-dependent pathway as a suppressive negative feedback on IFN-induced apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(20):8108-8116.
- [7] Thomson JM, Newman M, Parker JS, et al. Extensive post-transcriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(16):2202-2207.
- [8] Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, et al. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation[J]. *Nature*, 2008, 454(7200):56-61.
- [9] Frezzetti D, De Menna M, Zoppoli P, et al. Upregulation of miR-21 by Ras in vivo and its role in tumor growth[J]. *Oncogene*, 2011, 30(3):275-286.
- [10] Wang K, Li PF. Foxo3a regulates apoptosis by negatively targeting miR-21[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(22):16958-16966.
- [11] Iliopoulos D, Jaeger SA, Hirsch HA, et al. STAT3 activation of miR-21 and miR-181b-1 via PTEN and CYLD are part of the epigenetic switch linking inflammation to cancer[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(4):493-506.
- [12] Connolly EC, Van Doorslaer K, Rogler LE, et al. Overexpression of miR-21 promotes an in vitro(下转第 3346 页)

知识在后期临床课程中的重要性<sup>[1-6]</sup>。

#### 4 引入“转化医学”新概念的理念,追求课程的高境界,加强临床思维能力的提高

转化医学的核心思想是要打破基础医学与临床医学、药物研发之间的固有格局,将基础医学研究所获得的知识、成果快速转化为新的临床治疗理论、方法、新的治疗技术和开发出新的有效药物<sup>[5]</sup>。转化医学的理念,非常明确地表明它从基础到临床,两者紧密关联。将基础研究所获得信息转变成可应用于临床的有效手段,发挥其沟通基础医学与临床医学的桥梁作用,是病理生理学的性质与任务,培养临床思维能力为目标的病理生理学教学模式与转化医学的理念相一致,为此,将病理生理学的研究、发展与临床结合的重要性和适用性关系阐明清楚,提高对课程的认知,如对心力衰竭的认识,20 世纪 80 年代前,认为是由于心肌氧供需平衡障碍,使心排出量减少,肾代偿性钠水潴留而致水肿,治疗决策为强心、利尿;80 年代认为心脏前后负荷加重是致心力衰竭的重要原因,血管扩张剂被广泛用于临床;随后,研究证实代偿过程中出现的交感神经系统兴奋的持续会产生损伤作用,于是采用了  $\beta$ -受体阻滞剂(美托洛尔)和血管紧张素转换酶抑制剂(卡托普利)针对性治疗;90 年代证实心脏重塑才是心力衰竭发生的重要原因,其过去的治疗目标和模式转变为当前的改善神经激素异常,阻止心肌重塑为主的生物学模式,新的药物和治疗方法也应运而生,如采用促进生物合成代谢的药物-生长激素、促红细胞生长素等,治疗方法如心脏再同步治疗、干细胞治疗、基因治疗、心脏移植术等。由此可见,引入“转化医学”新概念的理念对学生进行临床能力培养无疑是优选的做法。取得了好的教学效果。

将培养临床思维为目标的的教学模式渗透到教学中去,重视综合分析及运用知识的训练,即能力的培养<sup>[7]</sup>。有助于培养基

础扎实、知识面宽、适应性强的实用人才,开展多种形式培养、提高学生临床思维能力的途径方法,有利于提高以临床能力为目标的课程教学,给学生提供一个学以致用、学用结合的思维空间和模拟实践机会。病理生理学的教学应与医学课程的总体目标相契合。强调教学观念的转变、更新教学内容和教学手段,注重临床思维能力为目标的的教学方法探讨,培养学生自学、创新能力。能使病理生理学更好地指导临床实践<sup>[4,6]</sup>。在新世纪创新医学人才培养中发挥更积极的作用。

#### 参考文献:

- [1] 颜华. 浅谈如何提高医学生临床思维能力[J]. 中国高等医学教育, 2011(8): 86-87.
  - [2] 邓娟, 沈城, 王延江, 等. 浅谈实习医生临床思维的培养[J]. 重庆医学, 2010, 39(18): 2450-2451.
  - [3] 甘卉. 基础病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
  - [4] 周汉建, 田虹, 温景芸, 等. 诊断学教学中医学生临床思维能力培养的探索[J]. 中华医学教育杂志, 2010, 30(4): 600-602.
  - [5] 李桂源. 病理生理学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 2-5.
  - [6] 徐忠, 艾清龙. 运用案例教学法提高神经内科硕士研究生的临床思维能力[J]. 西北医学教育, 2011, 19(3): 524-526.
  - [7] 陆俊羽, 常城, 高加蓉. 浅谈如何提高医学生临床课教学质量[J]. 医学教育研究, 2012, 15(4): 44-45.
- (收稿日期: 2012-04-09 修回日期: 2012-09-10)
- 
- (上接第 3337 页)
- metastatic phenotype by targeting the tumor suppressor RHOB[J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(5): 691-700.
- [13] Shin VY, Jin H, Ng EK, et al. NF-kappaB targets miR-16 and miR-21 in gastric cancer: involvement of prostaglandin E receptors[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(2): 240-245.
  - [14] Kulshreshtha R, Ferracin M, Wojcik SE, et al. A microRNA signature of hypoxia[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(5): 1859-1867.
  - [15] Zhi F, Chen X, Wang S, et al. The use of hsa-miR-21, hsa-miR-181b and hsa-miR-106a as prognostic indicators of astrocytoma[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(9): 1640-1649.
  - [16] Ribas J, Lupold SE. The transcriptional regulation of miR-21, its multiple transcripts, and their implication in prostate cancer[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(5): 923-929.
  - [17] Kulda V, Pesta M, Topolcan O, et al. Relevance of miR-21 and miR-143 expression in tissue samples of colorectal carcinoma and its liver metastases[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 200(2): 154-160.
  - [18] Xu J, Wu C, Che X, et al. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis[J]. *Mol Carcinog*, 2011, 50(2): 136-142.
  - [19] Mei M, Ren Y, Zhou X, et al. Downregulation of miR-21 enhances chemotherapeutic effect of taxol in breast carcinoma cells[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2010, 9(1): 77-86.
  - [20] Gao W, Shen H, Liu L, et al. MiR-21 overexpression in human primary squamous cell lung carcinoma is associated with poor patient prognosis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(4): 557-566.
  - [21] Rossi S, Shimizu M, Barbarotto E, et al. microRNA fingerprinting of CLL patients with chromosome 17p deletion identify a miR-21 score that stratifies early survival[J]. *Blood*, 2010, 116(6): 945-952.
  - [22] Cekaite L, Clancy T, Sioud M. Increased miR-21 expression during human monocyte differentiation into DCs[J]. *Front Biosci*, 2010, 2(5): 818-828.
  - [23] Gabriely G, Wurdinger T, Kesari S, et al. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(17): 5369-5380.
  - [24] Si ML, Zhu S, Wu H, et al. miR-21-mediated tumor growth[J]. *Oncogene*, 2007, 26(19): 2799-2803.
  - [25] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(2): 647-658.
- (收稿日期: 2012-04-20 修回日期: 2012-08-11)