

- [16] Harvey AG, Tang NK. Cognitive behaviour therapy for primary insomnia: can we rest yet? [J]. Sleep Med Rev, 2003, 7(3): 237-262.
- [17] Baumeister RF, Self-regulation KD, depletion E. And motivation[J]. Soc Personal Psychol Compass, 2007, 1(1): 115-128.
- [18] Muraven M, Gagné M, Rosman H. Helpful Self-Control:

autonomy support, vitality, and depletion[J]. J Exp Soc Psychol, 2008, 44(3): 573-585.

- [19] Wegner DM. Ironic processes of mental control[J]. Psychol Rev, 1994, 101(1): 34-52.

(收稿日期: 2012-09-08 修回日期: 2012-12-21)

微 RNA 参与中药抗肿瘤作用的研究进展

吴唐维¹, 宁 勇¹, 陈卫群²综述, 卢忠心^{2△} 审校

(1. 湖北中医药大学检验学院, 湖北武汉 430065; 2. 武汉市中心医院检验科, 湖北武汉 430014)

关键词: 微 RNAs; 肿瘤; 抗肿瘤药(中药); 抗肿瘤机制

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.13.035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)13-1536-03

微 RNA(microRNA, miRNA) 是一类长度约为 22 个核苷酸的非编码小分子 RNA。已有研究认为, miRNA 可作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭转移和血管生成等过程, 并可能为癌症治疗提供理想而有效的靶点。中草药及其提取物因毒副作用小, 药理作用独特, 已成为重要的抗肿瘤药物, 但其抗肿瘤机制仍不明确。近些年的研究报道提示, miRNA 广泛参与到中药抗肿瘤的作用过程中。中药作用后, 癌基因性 miRNA 表达降低, 抑癌基因性 miRNA 表达增加, 上调或下调的 miRNA 通过进一步促进其靶基因降解或抑制其靶基因的翻译来发挥中药抗肿瘤的实质性作用。

miRNA 存在于除 Y 染色体以外的所有人类染色体中, 根据 miRNA 基因在基因组中分布位置不同分为三类: 基因间隔区 miRNA、内含子 miRNA、外显子 miRNA^[1]。基因间隔区 miRNA 占 miRNA 大多数。迄今为止, 已被鉴定的人类 miRNA 超过 1 000 多种, 虽然这些 miRNA 仅占人类基因组的 1%~3%, 但它们却调控着超过 30% 的人类基因^[2-3]。它通过使靶 mRNA 降解或抑制其翻译来调节靶基因的表达, 在细胞增殖、分化、凋亡、肿瘤发生、心血管疾病等病程发展中起重要作用。

肿瘤是严重威胁人类健康的一类常见疾病, 是人类健康的三大杀手之一。中药作为祖国医学用来防治疾病的有力武器, 具有取材方便、毒副作用小、价格低廉、增强化疗敏感性, 减轻化疗不良反应等特点, 弥补了现代医学肿瘤治疗方法的不足, 所以研究中药抗癌的作用机制具有重要意义。本文就 miRNA 参与中药抗肿瘤作用机制的研究进展进行综述。

1 miRNA 的生成和作用

1.1 miRNA 的生成机制 基因组的特定序列经核苷酸聚合酶(主要是 Poly II)作用, 形成发卡式转录本 pri-miRNA。该产物在 RNA 酶 III Droscha-DGCR 复合体作用下, 形成含 60~70 个核苷酸的 5' 端具有磷酸基, 3' 端具有二核苷酸突出的茎环中间体, 即 pre-miRNA。pre-miRNA 在转运蛋白 Exportin 5/Ran-GTP 的协同作用下通过核孔复合体, 由细胞核转运到细胞质中。最后, 在 Dicer 酶的作用下形成一个双链 RNA 片段(miRNA: miRNA*), miRNA* 被称为“路过链”, 最终被降解, 另一条链生成成熟的 miRNA。近几年又发现一类内含子 miRNA, 这类 miRNA 从内含子被剪切下来以后, 不需要经过 Droscha 的加工而直接获得类似 pre-miRNA 的茎环结构, 然后

被加工成成熟的 miRNA^[4]。

1.2 miRNA 的作用机制 成熟的 miRNA 与相关蛋白(如 Argonaut 家族)结合形成诱导基因沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)。在 RISC 的引导下, miRNA 与靶 mRNA 的 3' UTR 结合, 抑制其翻译或促进其降解。如果 miRNA 与 mRNA 具有足够的互补性, miRNA 就指导靶 mRNA 降解。如果 miRNA 与 mRNA 不具有足够的互补性, miRNA 就会抑制靶 mRNA 的翻译^[5]。

2 miRNA 与肿瘤的发生、发展

肿瘤的发生、发展与细胞的失控性增殖、凋亡减少、侵袭转移和血管生成等过程密切相关。越来越多的研究表明, miRNA 在肿瘤发生、发展的上述过程中扮演着癌基因或抑癌基因的角色。同时, miRNA 表达谱的改变有望作为肿瘤发生的阶段性诊断指标。

2.1 miRNA 与肿瘤细胞的凋亡 细胞凋亡是受基因调控的程序性细胞死亡, 其发生机制相当复杂, 过程受多种基因及蛋白调控。随着 miRNA 研究的兴起, miRNA 与肿瘤细胞增殖、凋亡之间的紧密联系已逐渐被人们所认识。Zhang 等^[6]最近研究发现肾癌细胞中 miRNA-21 的表达增高, 而抑制 miRNA-21 的表达可以促进细胞凋亡。与此类似, miRNA-210 在肝癌细胞中表达的抑制同样能减低细胞的生存能力^[7]。有研究报道, miRNA-181a、miRNA-181b、miRNA-181d 在神经胶质瘤细胞中明显下调, 恢复上述 miRNA 的表达, 能抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡, 提示 miRNA-181a、miRNA-181b、miRNA-181d 在神经胶质瘤细胞中扮演抑癌基因的角色^[8-9]。

2.2 miRNA 与肿瘤细胞的侵袭转移 侵袭转移是指癌细胞从原发瘤体脱落, 通过血管或淋巴管到达另一部位, 最终在该处增殖生长, 形成与原发瘤类型相同的肿瘤^[10]。近几年国内外已有不少文献显示了 miRNA 与肿瘤侵袭转移的相互关系。miRNA-183 在多种肿瘤细胞中表达增加, 如滑膜肉瘤细胞 SYO-1、结肠癌细胞 DLD1、转移性肺癌细胞 A549 和 95D 等, 实验结果均表明 miRNA-183 在上述细胞的侵袭转移过程中扮演癌基因的角色^[11]。但是 Wang 等^[12]的研究结果与上述结果恰好相反, 发现肺癌细胞中过表达的 miRNA-183 能抑制肿瘤细胞的侵袭转移。

2.3 miRNA 与肿瘤细胞的血管生成 肿瘤血管生成是指肿瘤细胞诱发的毛细血管新生以及肿瘤中微循环网的形成, 为实

体瘤的后续生长及转移提供了必要的物质基础。为切断肿瘤生长转移所依赖的“命脉”,抗血管生成治疗已成为重要的抗癌策略。如今随着明星分子 miRNA 的不断研究,miRNA 与肿瘤细胞血管生成间关系的探讨也逐渐展开。Zhang 等^[13]研究发现,胃癌细胞中高表达的 miRNA-27 能促进肿瘤细胞发生上皮间质转化,有利于细胞转移。在非小细胞型肺癌中,上调的 miRNA-155 与成纤维细胞生长因子 2(FGF2)有关^[14]。miRNA-128 在人类神经胶质瘤细胞中表达减低,过表达的 miRNA-128 能抑制靶基因 p70S6K1 和它的下游信号分子低氧诱导因子-1(HIF-1)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)的表达,从而抑制肿瘤细胞的生长和血管生成^[15]。miRNA-128 在肿瘤中的作用机制的阐明为肿瘤的治疗提供了潜在的新方案。

3 miRNA 在中药抗肿瘤中的作用

现今临床采用的手术、化疗、放疗、生物治疗等综合措施,其疗效难以令人满意。中药抗肿瘤是在中医“扶正祛邪”用药理论指导下的临床用药,注重整体,攻补兼施,毒副作用小,能减轻病痛,且疗效稳定持久,具有现代医学治疗肿瘤方法所不可比拟的独特优势。但是,目前许多中药及其有效成分抗肿瘤机制尚不完全清楚,其抗肿瘤机制的研究正日益受到重视。已有报道证明中药对肿瘤中异常表达的基因具有调控作用,从而纠正其病理状态。最近研究也表明,miRNA 的异常表达参与了癌症的发生、发展,为治疗癌症理想而有效的靶点。所以,在 miRNA 水平上探究中医药的抗癌机制具有重要意义。

3.1 姜黄素 姜黄素是从姜黄的根茎中提取出来的一种脂溶性酚类色素,是姜黄发挥作用的主要活性成分。研究发现姜黄素具有多种药理活性,如抗炎、抗氧化、抗诱变、抗凝血、降血脂、抗动脉硬化等,尤其对肿瘤细胞有明确的抗肿瘤作用^[16]。Zhang 等^[17]首次发现姜黄素能通过下调 miRNA-186 * 来促进肺腺癌细胞凋亡。在用姜黄素诱导 A549 细胞的凋亡过程中,miRNA-186 * 的表达明显下调。miRNA-186 * 抑制剂的加入不仅能抑制细胞增殖,还能促进细胞凋亡,说明 miRNA-186 * 在肺癌细胞中扮演癌基因的角色。进一步研究表明 miRNA-186 * 通过靶向抑制 miRNA 在肿瘤组织相关的非小细胞肺癌血药生成家族中的细胞凋亡启动者 Caspase-10 的表达,从而抑制细胞凋亡。Notch 信号通路能调节细胞的增殖、分化、凋亡,在癌细胞发展进程中起重要作用。最近有研究报道,在食管癌细胞中,姜黄素能够影响 Notch 信号通路中的多种蛋白从而促进细胞凋亡,如配体 jagged-1 蛋白、分泌酶复合蛋白等,同时发现姜黄素作用后,与 Notch-1 信号通路有关的癌基因 miRNA-21 和 miRNA-34a 表达下调,抑癌基因性的 miRNA-let7a 上调。说明姜黄素通过调控多个作用靶点来促进细胞凋亡^[18]。Saini 等^[19]研究显示姜黄素能介导膀胱癌中 miRNA-203 的表观修饰作用。膀胱癌细胞中,由于 miRNA-203 启动子的 DNA 高甲基化,使得具有抑癌作用的 miRNA-203 往往低表达。姜黄素则能诱导 miRNA-203 启动子的低甲基化,从而上调 miRNA-203 的表达,上调的 miRNA-203 通过抑制靶基因 Akt2 和 Src,来抑制膀胱癌细胞增殖,促进细胞凋亡。还有研究发现姜黄素作用后的成视网膜细胞瘤 Y79 中,miRNA-22 明显上调。用脂质体 2000 转染 miRNA-22 至 Y79 细胞中,发现高表达的 miRNA-22 能抑制 Y79 细胞增殖,减少细胞转移。进一步研究证实血细胞白血病病毒致癌基因同源体 3(ErbB3)是 miRNA-22 的靶基因。这些发现表明姜黄素可以通过调节 miRNA 的表达而发挥其在成视网膜母细胞瘤中的抑癌作用^[20]。

3.2 白藜芦醇 白藜芦醇是一种提取自植物的天然非黄酮类的多酚化合物,是植物的次生代谢产物,广泛存在于多种植物

中^[21]。白藜芦醇通过调节信号传导通路影响肿瘤形成的 3 个阶段:启动期、促进期、进展期,从而控制肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡,抑制炎症因子作用、血管生成和侵袭转移等。这些信号通路包括 Fas(CD95)信号途径,PCD4 凋亡信号途径,转录因子蛋白家族 NF- κ B 信号途径,Wnt 信号通路等^[22]。但是关于 miRNA 介导白藜芦醇对肿瘤细胞的抑制作用的研究还很少。Bae 等^[23]利用基因芯片技术检测经白藜芦醇处理后,肺腺癌细胞 A549 中 miRNA 表达谱的变化,发现 71 种 miRNA 有明显的变化。利用 miRBase 靶基因数据库预测这些 miRNA 的靶基因,提示这些靶基因与细胞增殖、分化、细胞周期的调节和细胞凋亡有关。有报道指出经白藜芦醇作用的前列腺癌细胞中,miRNA-17-92,miRNA-106ab 等 23 种公认的癌基因型的 miRNA 明显下调,另有 28 种公认的肿瘤抑制性的 miRNA 明显上调^[24]。Tili 等^[25]研究白藜芦醇作用于结肠腺癌细胞 CW480 后,miRNAs 的表达变化,发现白藜芦醇能下调一些在肿瘤细胞中过表达的癌基因性 miRNAs,如 miRNA-17、miRNA-21、miRNA-25、miRNA-26a,miRNA-92a-2、miRNA-181a2、miRNA-103-1 和 miRNA-103-2,上述 miRNAs 的靶蛋白,如 PTEN、PCD4 等的增加水平与白藜芦醇作用后 miRNAs 的下调是一致的。研究中还发现白藜芦醇能上调 miRNA-663,而 miRNA-663 靶向 TGF β 1 基因。上调的 miRNA-663 通过抑制转化生长因子 β 1(TGF β 1)的表达,来抑制肿瘤的增殖,侵袭转移和血管生成。由此可见,miRNA 的研究为白藜芦醇作用于肿瘤细胞的分子机制提供了新的依据。

3.3 紫杉醇 紫杉醇是从短叶红豆杉的树皮中提取分离出来的一种二萜类生物碱成分,是一种有效的植物抗癌药。尽管紫杉醇作用的早期疗效很好,多数患者在用药一段时间后会产耐药性。到目前为止,耐药机制仍不明确。有研究发现在肺腺癌 A549 细胞中,miRNA-34c-5p 能够明显抑制紫杉醇诱导的细胞凋亡作用,证实是通过调节靶基因 Bcl-2 修饰因子 Bmf,最终负调控 p53 的表达进而产生耐药性^[26]。还有研究发现,具有突变型 p53 的人结肠癌 HT-29 和 HCT-15 对紫杉醇耐药,在上述细胞中过表达 miRNA-22,可以逆转其对紫杉醇的耐药性。进一步研究证实,miRNA-22 是通过上调磷酸酶基因(PTEN),从而增加凋亡诱导基因 Bax 和凋亡蛋白 caspase-3 的表达水平来增强紫杉醇的细胞毒性作用的^[27]。Zhou 等^[28]研究报道,在紫杉醇不敏感的肿瘤细胞中 miRNA-125b 表达上调,miRNA-125b 通过负调控人 Bcl-2 同源拮抗剂(bak1)的表达进而使细胞产生耐药性。在重新表达 bak1 或者用 miRNA-125b 抑制剂作用于细胞后,可以恢复肿瘤细胞对紫杉醇的敏感性。这一发现启示临床,在不同的肿瘤组织中,可以通过调节相应 miRNA 或靶蛋白等的靶向治疗方案来克服紫杉醇的耐药性。

3.4 羟喜树碱、延胡索总碱等抗肿瘤中药 喜树碱是从中国特有植物喜树中发现的一种具有抗癌活性的萜类吲哚生物碱,羟喜树碱是其衍生物。在耐羟喜树碱的结肠癌细胞 SW1116 中,miRNA-506 表达显著增高,提示过表达的 miRNA-506 与 SW1116 的耐药形成有关。进一步研究证实 miRNA-506 通过靶向抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)的表达,参与到细胞的耐药形成过程中^[29]。提取自中药延胡索的延胡索总碱在作用于肝癌 HepG2 细胞 24 h 和 48 h 后,能够明显改变 miRNA 表达谱。其中与肿瘤密切相关的 miRNAlet-7a 的上调以及 miRNA-221、miRNA-222 的下调可能是延胡索总碱抗肿瘤作用的重要机制^[30]。

4 结 语

随着 miRNA 研究的不断深入,探索 miRNA 在肿瘤发生、

发展过程中的作用已逐渐取得了新的突破。从 miRNA 水平探讨中药的抗癌机制为肿瘤临床治疗提供了新的依据和研究思路。但是目前关于 miRNA 参与中药抗肿瘤机制的研究尚处于起步阶段,而且大多数研究都仅集中在中药抑制肿瘤细胞增殖、促进细胞凋亡方面。关于 miRNA 参与中药抑制肿瘤血管生成、肿瘤侵袭转移和提高机体免疫力等方面的报道还甚少,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, et al. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units[J]. *Genome Res*, 2004, 14(10A):1902-1910.
- [2] Ghildiyal M, Zamore PD. Small silencing RNAs: an expanding universe[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(2):94-108.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2):281-297.
- [4] Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing[J]. *Nature*, 2007, 448(7149):83-86.
- [5] Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation [J]. *Science*, 2007, 318(5858):1931-1934.
- [6] Zhang A, Liu Y, Shen Y, et al. miR-21 modulates cell apoptosis by targeting multiple genes in renal cell carcinoma [J]. *Urology*, 2011, 78(2):474-479.
- [7] Yang W, Sun T, Cao J, et al. Downregulation of miR-210 expression inhibits proliferation induces apoptosis and enhances radiosensitivity in hypoxic human hepatoma cells in vitro[J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(8):944-954.
- [8] Shi L, Cheng Z, Zhang J, et al. hsa-mir-181a and hsa-mir-181b function as tumor suppressors in human glioma cells [J]. *Brain Res*, 2008(1236):185-193.
- [9] Wang XF, Shi ZM, Wang XR, et al. MiR-181d acts as a tumor suppressor in glioma by targeting K-ras and Bcl-2 [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(4):573-584.
- [10] Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization[J]. *Nature Rev Cancer*, 2009, 9(4):274-284.
- [11] Zhu W, Liu X, He J, et al. Overexpression of members of the microRNA-183 family is a risk factor for lung cancer: a case control study[J]. *BMC Cancer*, 2011(11):393-402.
- [12] Wang G, Mao W, Zheng S, et al. MicroRNA-183 regulates Ezrin expression in lung cancer cells[J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(25/26):3663-3668.
- [13] Zhang Z, Liu S, Shi R, et al. miR-27 promotes human gastric cancer cell metastasis by inducing epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Cancer Genet*, 2011, 204(9):486-491.
- [14] Donnem T, Fenton CG, Lonvik K, et al. MicroRNA signatures in tumor tissue related to angiogenesis in non-small cell lung cancer[J]. *PloS One*, 2012, 7(1):e29671.
- [15] Shi ZM, Wang J, Yan Z, et al. MiR-128 inhibits tumor growth and angiogenesis by targeting p70S6K1 [J]. *PloS One*, 2012, 7(3):e32709.
- [16] 冯为, 胡林峰. 姜黄素的研究进展及其抗肿瘤作用概况 [J]. *中国现代药物应用*, 2011, 5(13):117-118.
- [17] Zhang J, Du Y, Wu C. Curcumin promotes apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through miR-186 * signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(5):1217-1223.
- [18] Subramaniam D, Ponnuram S, Ramamoorthy P, et al. Curcumin induces cell death in esophageal cancer cells through modulating Notch signaling [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e30590.
- [19] Saini S, Arora S, Majid S, et al. Curcumin modulates miRNA-203-mediated regulation of the Src-Akt axis in bladder cancer [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2011, 4(10):1698-1709.
- [20] Sreenivasan S, Thirumalai K, Danda R, et al. Effect of Curcumin on miRNA Expression in Human Y79 Retinoblastoma Cells [J]. *Curr Eye Res*, 2012, 37(5):421-428.
- [21] 陈卫琼, 杨慧龄. 白藜芦醇抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2008, 28(5):403-407.
- [22] Shukla Y, Singh R. Resveratrol and cellular mechanisms of cancer prevention [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011(1215):1-8.
- [23] Bae S, Lee EM, Cha HJ, et al. Resveratrol alters microRNA expression profiles in A549 human non-small cell lung cancer cells [J]. *Mol Cells*, 2011, 32(3):243-249.
- [24] Dhar S, Hicks C, Levenson AS. Resveratrol and prostate cancer: promising role for microRNAs [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55(8):1219-1229.
- [25] Tili E, Michaille JJ, Alder H, et al. Resveratrol modulates the levels of microRNAs targeting genes encoding tumor-suppressors and effectors of TGF[beta] signaling pathway in SW480 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(12):2057-2065.
- [26] Catuogno S, Cerchia L, Romano G, et al. miR-34c may protect lung cancer cells from paclitaxel-induced apoptosis [J]. *Oncogene*, 2012, 32(3):341-351.
- [27] Li J, Zhang Y, Zhao J, et al. Overexpression of miR-22 reverses paclitaxel-induced chemoresistance through activation of PTEN signaling in p53-mutated colon cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 357(1/2):31-38.
- [28] Zhou M, Liu Z, Zhao Y, et al. MicroRNA-125b confers the resistance of breast cancer cells to paclitaxel through suppression of pro-apoptotic Bcl-2 antagonist killer 1 (Bak1) expression [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(28):21496-21507.
- [29] Tong JL, Zhang CP, Nie F, et al. MicroRNA 506 regulates expression of PPAR alpha in hydroxycamptothecin-resistant human colon cancer cells [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(22):3560-3568.
- [30] 张国铎, 谢丽, 胡文静, 等. 延胡索总碱对人肝癌细胞系 HepG2 抑制作用及其对 microRNA 表达谱的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2009, 25(3):181-183.