

微小 RNA 在乳腺癌中的研究进展*

朱顺飞 综述, 徐 林[△] 审校

(遵义医学院免疫学教研室/贵州省免疫学研究生教育创新基地, 贵州遵义 563000)

关键词: 微小 RNA; 乳腺肿瘤; 生长; 转移; 治疗

中图分类号: R730.54

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2015)02-0266-03

微小核糖核酸(miRNA)是一种长度为 21-23nt(nucleotide)的非编码 RNA,其通过与靶分子 mRNA 的 3'末端非翻译区(3'untranslated region)结合,从而抑制靶分子 mRNA 的翻译及蛋白质的合成,发挥负性调控作用^[1]。新近研究表明,miRNA 不仅在细胞功能和机体组织器官生长发育中发挥重要调控作用,而且与多种临床肿瘤的发病过程密切相关。近年来大量研究显示,miRNA 参与了乳腺癌的发生、生长、转移和侵袭过程,并且有望成为乳腺癌临床诊治的潜在新靶标。

1 miRNAs 对肿瘤干细胞的调控

在恶性肿瘤中,有一部分细胞具有很强的干细胞特性,自我更新能力强,并能产生异质性的肿瘤细胞,一直被认为是肿瘤发生、生长和转移的根源所在,称其为肿瘤干细胞。目前,对于 miRNA 调控肿瘤干细胞的机制主要有两种,一种是 miRNA 在肿瘤干细胞分裂时,由于细胞的不对称分裂,进而调控肿瘤干细胞的自我更新及分化;一种是在肿瘤干细胞分化过程中,由于某些 miRNAs 可能会随着表达基因的改变而发生适应性的转变,所以即便是在细胞分化后,仍然可能存在一些未降解的 miRNAs,使其继续发挥原有的自身转录和翻译等调控功能。

Al-Hajj 等^[2]首次研究发现并分离了乳腺癌干细胞(breast cancer stem cell,BCSC)。新近研究表明,miRNAs 显著参与了 BCSC 的发生和生长等调控过程。Greene 等^[3]先后通过实验对比,在 BCSC 中发现了近 37 种与其他非致癌细胞表达有区别的 miRNAs。其中 miR-200c-141 最具代表性。机制上的研究显示,miR-200c-141 主要是通过对 BCSC 中发挥自我更新调控作用的重要调控分子 BMI1 的靶向干预,进而抑制正常乳腺组织的外生性生长,并进一步减弱 BCSC 的致瘤性,从而达到对 BCSC 增殖调控作用。此外,最近也有研究显示 miR-34c 在 BCSC 中的低表达也可促进 BCSC 的自我更新过程。

新近研究还显示 miRNAs 同样也参与调控 BCSC 的分化过程。Yu 等^[4]通过研究 BCSC 细胞系中的分化细胞及其临床一期乳腺癌组织中 BCSC 和非 BCSC 细胞中 miRNA 的表达情况,结果发现 let-7 分子在 BCSC 中的表达水平是显著降低的。研究人员进一步推测 let-7 对 BCSC 的主要调控机制可能是由于其低表达,使其失去了对 Ras 癌基因的抑制作用,Ras 信号转导通路进而被激活,随之磷酸化的 p-Ras 和 p-EPK 表达显著升高,使得 BCSC 保持原有的细胞分化功能。近期 Ouzounova 等^[5]研究发现,在黏附性与非黏附性乳腺球样细胞中 miRNA 的表达水平是不同的,其中差异性表达最显著的是 miR-30a。miR-30a 可以显著抑制非黏附性乳腺球样细胞的增殖能力,这提示在非黏附条件下,miR-30a 对于维持 BCSC 生长的重要性。进一步研究其调控机制显示,miR-30a 是通过抑制抗凋亡蛋白 AVEN 的表达,从而抑制黏附性乳腺球样细胞

增殖的能力。然而,这些 miRNAs 分子在 BCSC 分化中表达的具体调控机制及其相关信号途径仍远未阐明,有待于进一步研究。

2 miRNAs 与乳腺癌的生长

2.1 乳腺癌中起原癌基因作用的 miRNAs

这类 miRNAs 主要是通过促进原癌基因的表达和(或)抑制相关抑癌基因的表达来直接或间接地促进乳腺癌的发生和生长。其中最具有代表性的是 miR-21。有学者研究发现,miR-21 的表达水平与乳腺癌细胞中的抗凋亡蛋白 Bcl-2 有着紧密联系,miR-21 通过上调 Bcl-2 蛋白的表达,从而抑制乳腺癌细胞的凋亡,进而减少乳腺癌细胞的外生性生长。Derfoul 等^[6]研究发现,下调 miR-214 的表达,能够使 Ezh2 甲基转移酶表达显著升高,且 miR-214 的下调水平和乳腺癌细胞的增殖、生长和转移趋势呈负相关,这种调节方式是以上调甲基转移酶表达促进了乳腺癌细胞的增殖。最近 Ye 等^[7]研究发现,miR-221 在乳腺癌中同样起到了原癌基因的作用,其调控机制与 PTEN 的靶向结合有关。Huang 等^[8]研究发现,细胞膜受体 P2X7 是 miR-150 调控乳腺癌的重要功能靶点之一。研究表明,P2X7 受体蛋白的 3'末端未翻译区存在与 miR-150 的特异性结合位点,miR-150 可通过下调 P2X7 蛋白的表达,导致癌细胞克隆增殖,同时发现 miR-150 可显著抑制乳腺癌细胞的凋亡。

2.2 乳腺癌中起抑癌基因作用的 miRNAs

这类 miRNAs 主要通过抑制乳腺癌相关原癌基因的表达和(或)促进抑癌基因的表达来直接或间接地抑制肿瘤的发生和生长。miR-206 是 Iorio 等^[9]最早发现的与乳腺癌发生相关的抑癌 miRNA。Iorio 等^[9]研究发现,miR-206 对乳腺癌的调控机制较为复杂,主要包括蛋白质的磷酸化和乙酰化等,并同时发现上调 miR-206 的表达可抑制雌激素受体(ER)的表达水平。miR-206 在 ER- α 阴性乳腺癌细胞中,其表达量有所上升,这提示 miR-206 的功能可能与 ER- α 基因的表达有着密切关系。随后 Adams 等^[10]研究发现,miR-206 可以与 ER- α 受体 mRNA3'末端未翻译区的 2 个序列发生特异性的结合,同时发现雌二醇(E2)或特异性 ER- α 激动剂 PPT 同样能下调 miR-206 的表达水平。在过表达 miR-206 的乳腺癌组织中,研究者发现癌细胞的增殖受到显著抑制。最近 Zhou 等^[11]研究发现,将 miR-206 转入高雌激素表达的乳腺癌 MCF-7 细胞株中,不仅癌细胞的增殖受到显著抑制,并且可以抑制细胞周期 G1/S 期和细胞周期蛋白 D2 的表达,这同样说明 miR-206 对乳腺癌细胞的增殖起到了负性调控作用。

此外,在乳腺癌细胞中起抑癌基因作用的 miRNAs 还有 miR-125b、miR-195、Let-7 等。有研究者发现,miR-125b 的表达量在过表达原癌基因表皮因子受体 2(HER2)的乳腺癌细胞中是显著下调的。已有文献报道,miR-195 对乳腺癌细胞的增

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260398);教育部新世纪优秀人才支撑计划资助项目(NCET-12-0661)。 作者简介:朱顺飞(1987-),硕士,主要从事肿瘤免疫方面研究。 [△] 通讯作者,Tel:15885660256;E-mail:xulinzhouya@163.com。

殖发挥了抑制作用^[12-13]。miR-195 可以阻断细胞周期的进程,且 miR-195 可通过靶向抑制抗凋亡因子 Bcl-2 的表达进而促进细胞凋亡,抑制肿瘤的形成。促分裂素原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶细胞增殖信号传导通路中的重要分子 RAF 致癌因子 1,近年来也被认为是 miR-195 的直接作用靶点。Let-7 家族是近期研究比较热门的一类 miRNA 分子。Ma 等^[14]先后通过原位杂交法和免疫组织化学法检测 Let-7 在良性乳腺疾病和乳腺癌组织中的表达,结果显示:与良性乳腺病组织相比,乳腺癌中 Let-7b 的表达显著升高,这提示 Let-7b 可以显著抑制肿瘤的生长和促进良性乳腺细胞的分化,并进一步研究发现 Let-7b 的表达与 BSG 基因呈正相关。也有研究显示 Let-7 能够抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞株的体外外生性生长,其调控机制可能与 let-7 负性调控乳腺癌细胞中 Ras 蛋白表达有关。此外,Zhao 等^[15]研究发现在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株中,Tudor-SN 蛋白可通过下调 miR-127 的表达,促进癌细胞的增殖,这也进一步说明 miR-127 起到了抑癌基因的作用。

3 miRNAs 与乳腺癌的侵袭和转移

研究表明,miRNAs 可通过调控乳腺癌细胞中与侵袭转移相关基因的表达,进而调控乳腺癌细胞的侵袭和转移能力。Ma 等^[16]研究发现,miR-10b 在转移性乳腺癌细胞株中的表达水平是显著升高的,并发现 miR-10 的表达水平与乳腺癌浸润性小叶癌相关的转录蛋白 Twist 有关, Twist 可直接靶向调控 miR-10b 的表达。有研究者推测,miR-10b 在乳腺癌细胞中的直接作用靶点为转录因子的同源异型盒 D10(HOXD10),miR-10b 可直接抑制 HOXD10 蛋白的翻译水平,最终导致癌细胞在相关转移因子的诱导下发生了一系列的异常变化。Jang 等^[17]研究发现,miR-200 在转移性乳腺癌细胞株中表达水平显著降低的。随后常规获取乳腺癌石蜡包埋组织切片,先后通过实验对比显示:与正常乳腺癌和乳腺原味导管癌相比,无淋巴转移组癌组织 miR-200 表达水平是显著升高的,而有淋巴转移组癌组织 miR-200 的表达水平是显著降低,此外同时发现 miR-200 的表达还与癌组织的病理分级有关,与患者的愈后无关联性。后续的研究还显示,miR-200 的表达与细胞周期蛋白 D1 的表达呈正相关。因此,随着对 miR-200 相关研究的进一步深入,miR-200 有望成为临床治疗乳腺癌的一个新的重要靶标。

Tavazoie 等^[18]研究发现,miR-126、miR-335 和 miR-206 仅在转移性乳腺癌细胞中表达量降低。当上调转移性乳腺癌 CN34 细胞株中 miR-126、miR-335 和 miR-206 表达后,癌细胞转移到邻近组织器官的能力则明显削弱。同时他们还发现,在乳腺癌患者中,miR-126 和 miR-335 的下调水平与患者的愈后有着密切联系,下调水平越高,患者的愈后情况越差。因此,有学者提出 miR-126、miR-335 和 miR-206 是具有抑制乳腺癌转移作用的 miRNAs。随后机制上的研究显示,miR-205 通过与 HER3 mRNA 3'末端未翻译区结合,并下调癌细胞中 HER3 蛋白的表达,从而抑制肿瘤细胞的转移和迁徙^[19]。最近有学者研究还发现,miR-310a 在乳腺癌的侵袭和转移中发挥着重要作用,其主要作用机制是通过 PTEN 靶向激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,进而对乳腺癌的侵袭和转移起正向调控作用^[20]。

4 miRNAs 与乳腺癌的治疗和耐药

新近研究显示,乳腺癌细胞的治疗与耐药性的形成与癌细胞内 miRNAs 的异常表达密切相关。因此,本研究可以推测通过靶向恢复异常 miRNAs 的调控功能,可为乳腺癌的临床生物治疗提供有力实验理论基础和依据。一方面,对于起抑癌

作用的 miRNAs,本研究可以人为地将其导入癌细胞中来抑制乳腺癌细胞的增殖和转移功能。例如,有学者研究发现将 miR-155 转染于乳腺癌 HS578T 细胞后,HS578T 细胞生存率明显低于空白实验对照组,这表明 miR-155 可显著抑制乳腺癌 HS578T 细胞的增殖,并提示 miR-155 有望成为乳腺癌生物治疗的有效靶基因。Tavazoie 等^[18]实验研究证实,miR-126 和 miR-335 是能够抑制乳腺癌远处转移的 miRNAs。后期有研究者重建 miR-126 和 miR-335 质粒载体,并将其转染于乳腺癌细胞后,发现可以有效抑制乳腺癌细胞的肺转移和骨转移。其次,对于起促癌基因作用的 miRNAs,可以用基因敲除或抑制其表达的办法抑制乳腺癌细胞的增殖和转移。

临床资料研究显示,乳腺癌细胞对化疗药物易产生耐药性,且耐药性的产生是导致临床乳腺癌患者化疗失败及其治愈率差的主要原因。Iorio 等^[21]研究发现,将 miR-205 转染于乳腺癌 SKBr 细胞后,SKBr 细胞增殖和抗凋亡能力均明显减弱,且细胞对化疗药物吉非替尼和拉帕替尼的敏感性显著增强。研究还发现 miR-205 对 HER3 受体的负性调控作用可以增强相关抗癌药物的疗效,尤其是可作为耐药乳腺癌治疗的新靶点。Pan 等^[22]研究发现,在乳腺癌 MCF-7 细胞株中,miR-328 表达水平明显降低,而 ABCG2 表达却显著增高,这种负相关的表达模式可导致乳腺癌细胞对米托蒽醌耐药性显著增加。Liang 等^[23]研究发现,在晚期乳腺癌患者中,耐多药蛋白 1(MRP1)可通过下调 miR-326 的表达,抑制肿瘤细胞对阿霉素和依托泊苷等化疗药物的敏感性。近期 Fang 等^[24]研究发现,miR-30c 同样可以抑制乳腺癌 MCF-7 细胞株对阿霉素的敏感性。Sakurai 等^[25]研究发现,乳腺癌 CYP3A4 阳性患者较阴性患者对多西紫杉醇的敏感性显著降低,并发现 CYP3A4 可能是乳腺癌细胞对多西紫杉醇产生耐药性的一个重要的靶标分子。最近 Gong 等^[26]研究显示,在 HER2 阳性乳腺癌患者中,可通过靶向上调 miR-21 的表达来增加对曲妥单抗药物的敏感性。进一步对 HER2 抗体研发显示,HER2 抗体有望成为乳腺癌生物治疗的新靶标。综合上述研究提示,miRNAs 有望作为乳腺癌临床耐药治疗的重要新靶标,然而其具体机制有待进一步深入研究阐明。

5 展 望

近年来,miRNAs 在乳腺癌发生、发展中作用的相关研究取得了重要进展。但是仍还有很多科学问题有待解决:如这些 miRNAs 表达的具体调控机制如何,其在乳腺癌发生、发展过程中的相互关系如何,如何开发基于 miRNAs 分子作为乳腺癌相关基因治疗的新策略等。总之,随着人们对 miRNA 与乳腺癌相互关系研究的进一步深入,miRNAs 将为探讨乳腺癌的发病机制及乳腺癌的临床生物治疗开辟一条崭新的途径。

参考文献:

- [1] Zeng Y, Cullen BR. Sequence requirements for micro RNA processing and function in human cells[J]. RNA, 2003, 9 (1):112-123.
- [2] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(7):3983-3988.
- [3] Greene SB, Herschkowitz JI, Rosen JM. Small players with big roles: microRNAs as targets to inhibit breast cancer progression[J]. Curr Drug Targets, 2010, 11(9):1059-1073.
- [4] Yu F, Yao H, Zhu P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells[J]. Cell, 2007, 131 (6):1109-1123.

- [5] Ouzounova M, Vuong T, Ancey PB, et al. MicroRNA miR-30 family regulates non-attachment growth of breast cancer cells[J]. BMC Genomics, 2013, 14:139.
- [6] Derfoul A, Juan AH, Difilippantonio MJ, et al. Decreased microRNA-214 levels in breast cancer cells coincides with increased cell proliferation, invasion and accumulation of the Polycomb Ezh2 methyltransferase[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(11):1607-1614.
- [7] Ye X, Bai W, Zhu H, et al. MiR-221 promotes trastuzumab-resistance and metastasis in HER2-positive breast cancers by targeting PTEN[J]. BMB Rep, 2014, 47(5):268-273.
- [8] Huang S, Chen Y, Wu W, et al. miR-150 promotes human breast cancer growth and malignant behavior by targeting the pro-apoptotic purinergic P2X7 receptor [J]. PLoS One, 2013, 8(12):e80707.
- [9] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(16):7065-7070.
- [10] Adams BD, Furneaux H, White BA. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines [J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(5):1132-1147.
- [11] Zhou J, Tian Y, Li J, et al. miR-206 is down-regulated in breast cancer and inhibits cell proliferation through the up-regulation of cyclinD2[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 433(2):207-212.
- [12] Li D, Zhao Y, Liu C, et al. Analysis of MiR-195 and MiR-497 expression, regulation and role in breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(7):1722-1730.
- [13] Liu L, Chen L, Xu Y, et al. microRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 400(2):236-240.
- [14] Ma L, Li GZ, Wu ZS, et al. Prognostic significance of let-7b expression in breast cancer and correlation to its target gene of BSG expression[J]. Med Oncol, 2014, 31(1):773.
- [15] Zhao X, Duan Z, Liu X, et al. MicroRNA-127 is downregulated by Tudor-SN protein and contributes to metastasis and proliferation in breast cancer cell line MDA-MB-231 [J]. Anat Rec (Hoboken), 2013, 296(12):1842-1849.
- [16] Ma L, Reinhardt F, Pan E, et al. Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model[J]. Nat Biotechnol, 2010, 28(4):341-347.
- [17] Jang K, Ahn H, Sim J, et al. Loss of microRNA-200a expression correlates with tumor progression in breast cancer[J]. Transl Res, 2014, 163(3):242-251.
- [18] Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis [J]. Nature, 2008, 451(7175):147-152.
- [19] Wang Z, Liao H, Deng Z, et al. miRNA-205 affects infiltration and metastasis of breast cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 441(1):139-143.
- [20] Ma F, Zhang J, Zhong L, et al. Upregulated microRNA-301a in breast cancer promotes tumor metastasis by targeting PTEN and activating Wnt/ β -catenin signaling[J]. Gene, 2014, 535(2):191-197.
- [21] Iorio MV, Casalini P, Piovan C, et al. microRNA-205 regulates HER3 in human breast cancer [J]. Cancer Res, 2009, 69(6):2195-2200.
- [22] Pan YZ, Morris ME, Yu AM. MicroRNA-328 negatively regulates the expression of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in human cancer cells [J]. Mol Pharmacol, 2009, 75(6):1374-1379.
- [23] Liang Z, Wu H, Xia J, et al. Involvement of miR-326 in chemotherapy resistance of breast cancer through modulating expression of multidrug resistance-associated protein 1[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79(6):817-824.
- [24] Fang Y, Shen H, Cao Y, et al. Involvement of miR-30c in resistance to doxorubicin by regulating YWHAZ in breast cancer cells[J]. Braz J Med Biol Res, 2014, 47(1):60-69.
- [25] Sakurai K, Enomoto K, Matsuo S, et al. CYP3A4 expression to predict treatment response to docetaxel for metastasis and recurrence of primary breast cancer [J]. Surg Today, 2011, 41(5):674-679.
- [26] Gong C, Yao Y, Wang Y, et al. Up-regulation of miR-21 mediates resistance to trastuzumab therapy for breast cancer[J]. J Biol Chem, 2011, 286(21):19127-19137.

(收稿日期:2014-09-21 修回日期:2014-10-22)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.02.046

p47phox 介导活性氧产生与疾病的关系*

张玲萍 综述,董文斌[△] 审校

(泸州医学院附属医院新生儿科,四川泸州 646000)

关键词:活性氧;NADPH 氧化酶;p47phox;抑制剂;疾病

中图分类号:R332

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2015)02-0268-04

活性氧(reactive oxygen species)是指氧自由基和氧化作用较强的非自由基含氧产物。主要包括超氧阴离子($\cdot O_2^-$)、

* 基金项目:中华儿科杂志第二届双鹤珂立苏科研基金(cjp2011-009);四川省教育厅科研基金资助项目(08ZA150);四川省卫生厅科研基金资助项目(90191)。作者简介:张玲萍(1989-),在读硕士,主要从事新生儿重症护理方向研究。 [△] 通讯作者, Tel:(0830)3165615; E-mail: DongWenbin2000@163.com。