

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2005 )04-0241-03

## 微小 RNA( miR )和肿瘤

蒋 朕<sup>1,2</sup>, 朱景德<sup>1,3</sup>( 1. 上海交通大学医学院, 肿瘤研究所, 癌基因及相关基因国家重点实验室, 上海 200032; 2. 上海交通大学生命科学院, 上海 200240; 3. 浙江理工大学生命科学院, 杭州 310018 )

微小 RNA( miR )由长约 21 ~ 25 核苷酸的双链 RNA 分子构成, 是非编码小 RNA( noncoding small RNA )大家族中迄今研究最多的成员。除了作用于转录后及翻译水平上, miR 还影响染色质结构、DNA 和组蛋白的共价修饰, 继而在表观遗传学水平上施加监控基因表达。miR 在高等生物的正常发育中起着举足轻重作用, 其表达和功能异化会在包括肿瘤在内的重大疾病中起着重大的病理学作用。由此, miR 当仁不让地被作为目前最受关注的生物大分子。

### 1 miR

小 RNAs( small RNA, 均为长短约 21 ~ 25 个核苷酸的小分子 RNA ): 包括 microRNA( miRNAs, miR ), short interfering RNA( siRNAs, siR )和重复顺序相关的 siRNA( rasiRNAs ), 属非编码性 RNA 家族<sup>[1]</sup>。miR 是最早发现并研究得最为深入的小 RNAs 家族的成员。到 2005 年 10 月为止, miR Registry( <http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/> )已正式注册了源于 26 种动物、7 种植物和 4 种病毒总数为 3424 种 miR, 其中有人类的 miR326 种。miR 的前体 RNA 分子都可形成颈环结构的双链区。继而经过 Drosha、RNase III 和 Diser 的对其加工和细胞核-质的转运, 最终形成长约为 21 ~ 25 个核苷酸的(成熟的 miR)。成熟的 miR 与一些相关蛋白形成 RISC( RNA-induced Silencing Complex ), 通过与靶 mRNA 分子发生序列特异性结合, 使靶 mRNA 降解或翻译受阻<sup>[1-5]</sup>。此外, miR 还可参与基因组中的区域性的异染色质化、基因组的重排和 DNA 的切除。尤为令人瞩目的是, miR 可诱导启动子区的 DNA 甲基化<sup>[3]</sup>或组蛋白 H3 赖氨酸 9 的甲基化而致基因转录静息化<sup>[7-9]</sup>。生物信息学研究提示, 约 1/3 强的蛋白质编码基因的表达受着 miR 介导的机制的调控。miR 在高等生物的正常发育起着极为重要的作用<sup>[10-11]</sup>, 其表达和功能异化也广泛地见之于包括肿瘤在内的病理状态<sup>[12-13]</sup>。

从动物材料中直接克隆成熟的 miR 分子是一个极富挑战实验过程。所以, 以包括 miR 在进化上的保守性及其二级结构的规律性<sup>[14-16]</sup>为依据的生物信息学研

究是发现新的 miR 的常用途径。通过 Northern, RT-PCR, 引物延伸以及芯片( Array 等<sup>[17]</sup>)等分析来核定 miR 候选者在细胞中的实际存在和丰度。继而, 对有价值的 miR 开展从试管内, 细胞内以致整体水平上功能和机制性系统研究。另外一个研究人的 miR 的难点源于下一事实。与植物的 miR 与其靶 RNA 间的序列高度特异性的情形向左, 高等动物界的 miR 对靶分子 RNA 的识别序列特异性很低, 从而不仅大大地限制对人的新 miR 的发现, 还加大了进一步研究 miR 的功能的难度。加之, 以生物信息学手段为主的研究战略尚无法有效地发现仅见之于人的 miR。由此, 对特定的生物系统中的 miR 进行直接克隆是必不可少的研究战略之一。我组新近开展的对一株肝癌细胞系中小 RNA 的直接克隆的尝试正是出于这一考虑。

### 2 miR 和肿瘤

已有的研究表明 miR 的表达异化广泛地见之于肿瘤(表 1)。Calin 等<sup>[18]</sup>首次报告了慢性 B 淋巴细胞性白血病( B-CLL )中常见的 13q14 的缺失可导致 2 种 miRNA 基因( miR-15a 和 16a )的去表达, 有着肿瘤发病病理学机制上的深刻内涵。对结直肠癌中 28 个 miR 的表达异化谱式的研究也提示 miR-143 和-145 的表达明显下调有可能促进肿瘤发生。通过用生物信息学对 186 种已知的 miR 基因的基因组上定位分析, 确认其中 98 种( 52.5% ) miR 基因位于常见于肿瘤的脆点( fragile site )或杂合性缺失区。这高度提示这些 miR 的表达可在肿瘤中表达下调, 有着抑癌基因在肿瘤中失活相似的行为。对其中数种 miR 的 Northern 分析提供了对这一看法的支持性证据。第 8 号染色体短臂-17 号染色体间的转座所引起得 c-myc 原癌基因的表达上调, 是 B 细胞白血病发病的遗传机制之一。由此, 通过染色体转座而将 c-myc 基因的转录置于于 miR-122 和-142 基因的启动子的控制之下而导致其表达上扬很

[ 基金项目 ] 上海市科委( 04DZ14006 ); 国家基金委( 30450001 ); 973 项目( 2004CB518804 ); 863 项目( 2002AA223352 )

[ 通讯作者 ] zhujingde@ yahoo. com

可能是其机理之一。显然,确定这一假说的正确与否仍需要进一步研究。人 B 细胞淋巴瘤的形成常涉及簇集 miR 基因群( miR-17-92 )的 DNA 区段的扩增。对以该区段建立的转基因小鼠的研究表明, miR-17-92 区编码的 miR 表达上扬可导致小鼠的 B 细胞淋巴瘤的形成,提示这些 miR 可能属原癌基因的范畴,其表达上调可引起对肿瘤生长起抑制作用的基因表达受阻<sup>[19]</sup>。显而易见,确定受控于这几种的 miR 的靶基因的身份,继而开展深入的机制研究有理论价值。上述几个例子已充分地表明,肿瘤不仅呈现广泛的蛋白编码基因表达状态的异常,其 miR 的表达状态也高度紊乱。

表 1 人肿瘤中表达异常的 miR

miR	肿瘤类型	表达	参考文献
miR-143,145	结直肠癌	下调	[ 20 ]
miR-55/BIC	Burkitt 淋巴瘤	上调	[ 21-22 ]
miR-15a,16a	B 细胞慢淋白血病	下调	[ 23 ]
Let-7	肺腺癌	下调	[ 24 ]
miR-125b,145,21,155	乳腺癌	上或下调	[ 25 ]
miR-21	恶性胶质瘤	下调	[ 26 ]
miR-221,128,181a,181b,181c	恶性胶质瘤	上或下调	[ 27 ]

由于研究手段上的局限,直至最近对 miR 前体转录生成的调控机制近似乎一无所知。新近研究的结果表明,原癌基因 c-myc 的活化可在转录水平上引起其基因呈簇集分布的 6 种 miR 的表达上扬,提供了肿瘤中原癌基因正调 miR 表达的一个范例<sup>[28]</sup>。而受这些 miR 负调的基因在 c-myc 的致癌机制梯联反应中可能起着重要的作用。显然,这些 miR 是肿瘤特异性基因表达谱式建立的表达调控网络中的要员之一。

miR 在从生物基因型到表型的信息流动过程的众多环节中起着监控者的作用。从而,对呈肿瘤特异性表达谱式 miR 的确立,以及随后对受其所控基因的表达和与肿瘤病理行为相关的生物学效应的研究是当今研究主流思路。癌基因 Ras 基因表达受控于 let-7 的研究是其最为成功的范例。Ras 蛋白的表达在转录后的水平上受着 let-7(最早在线虫中发现的 miR)介导机制的负调,两者在表达水平上的平衡是线虫发育所必须<sup>[29]</sup>。新近发现,除了它种遗传机制以外,人肺癌细胞中 RAS 蛋白的功能亢进可因 let-7 表达水平下调而致 RAS 蛋白表达上扬所致<sup>[30]</sup>。另一个范例是对胶质瘤中过表达的 miR-21 的分子病理学机制阐明<sup>[26]</sup>。

miR-21 在胶质瘤细胞中过度表达直接导致凋亡通路中蛋白酶( caspase )活性降低,致使肿瘤细胞存活力高亢。随着人们对 miR 进行功能研究的能力的提高,更多的 miR 在肿瘤发病中的地位(抑癌类和原癌基因类)<sup>[19,31]</sup>将得以确立。

象其它分子生物学指标:遗传性( snp、突变等)、表达性和表观遗传性( DNA 甲基化)一样,miR 表达谱式也具有肿瘤类型和病理阶段的特异性。结合已有的临床和病理资料,通过芯片杂交分析对 334 个肿瘤样品的 217 种 miR 表达谱式研究提示,miR 的表达谱式是较以数千种 mRNA 表达谱式有更高的肿瘤分型和分期的价值<sup>[32]</sup>。这些研究虽尚初步,已能令人致信地展示了 miR 表达谱式在肿瘤临床分期分型中的应用前景。

### 3 结语和展望

毋庸置疑,miR 为代表的小 RNA。家族是基因表达调控网络中关键的一员。对 miR 研究重要内容之一是有 miR 如何参与,以及与其它作用分子(蛋白质等)的互作来动态地对单个或全局水平上基因表达施加调控。另外,作为转录过程的产物之一,研究 miR 前体 RNA 产生的转录过程的调控也将会是研究的新热点。阐明这些有关 miR 的重要问题,不仅需要我们有理念上的飞跃,技术上的革命亦势在必行之一。

肿瘤是危及人类健康的重大疾病。miR 的肿瘤性特异性表达谱式已将其放在现代肿瘤研究的主舞台之上。我们不仅要在 miR 在肿瘤发生的病理学机制上大下苦工,也要充分重视及时将从实验室获得的新知识和理念转化为肿瘤临床实践中有价值的新手段。可以确信,在今后几年中看到有关 miR 的信息和知识浪潮的到来,我们将见证到人们征服肿瘤能力的明显提高。

[ 关键词 ] miR; 肿瘤

[ 中图分类号 ] R730

[ 文献标识码 ] C

### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function[ J ]. Cell, 2004, 116( 2 ): 281-286.
- [ 2 ] Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors[ J ]. Science, 2004, 303( 5654 ): 95-98.
- [ 3 ] Ying SY, Lin SL. Intronic microRNAs[ J ]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 326( 3 ): 515-520.
- [ 4 ] Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA[ J ]. Nature, 2004, 431( 7006 ): 343-349.
- [ 5 ] Ambros V. The functions of animal microRNAs[ J ]. Nature, 2004, 431( 7006 ): 350-355.
- [ 6 ] Kawasaki H, Taira K. Transcriptional gene silencing by short inter-

- fering RNAs[ J ]. *Curr Opin Mol Ther*, 2005, 7( 2 ): 125-131.
- [ 7 ] Eshed Y, Bowman JL. MicroRNAs guide asymmetric DNA modifications guiding asymmetric organs[ J ]. *Dev Cell*, 2004, 7( 5 ): 629-630.
- [ 8 ] Morris KV, Chan SW, Jacobsen SE, *et al.* Small interfering RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells[ J ]. *Science*, 2004, 305( 5688 ): 1289-1292.
- [ 9 ] Bao N, Lye KW, Barton MK. MicroRNA binding sites in Arabidopsis class III HD-ZIP mRNAs are required for methylation of the template chromosome[ J ]. *Dev Cell*, 2004, 7( 5 ): 653-662.
- [ 10 ] Miska EA. How microRNAs control cell division, differentiation and death[ J ]. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15( 5 ): 563-568.
- [ 11 ] Mendell JT. MicroRNAs: Critical regulators of development, cellular physiology and malignancy[ J ]. *Cell Cycle*, 2005, 4( 9 ): 1179-1182.
- [ 12 ] Meltzer PS. Cancer genomics: Small RNAs with big impacts[ J ]. *Nature*, 2005, 435( 7043 ): 745-146.
- [ 13 ] Hede K. Studies define role of microRNA in cancer[ J ]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97( 15 ): 1114-1115.
- [ 14 ] Houbaviy HB, Dennis L, Jaenisch R, *et al.* Characterization of a highly variable eutherian microRNA gene[ J ]. *Rna*, 2005, 11( 8 ): 1245-1257.
- [ 15 ] Smalheiser NR, Torvik VI. Mammalian microRNAs derived from genomic repeats[ J ]. *Trends Genet*, 2005, 21( 6 ): 322-326.
- [ 16 ] Krek A, Grun D, Poy MN, *et al.* Combinatorial microRNA target predictions[ J ]. *Nat Genet*, 2005, 37( 5 ): 495-500.
- [ 17 ] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, *et al.* Identification of tissue-specific microRNAs from mouse[ J ]. *Curr Biol*, 2002, 12( 9 ): 735-739.
- [ 18 ] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, *et al.* Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101( 9 ): 2999-3004.
- [ 19 ] He L, Thomson JM, Hemann MT, *et al.* A microRNA polycistron as a potential human oncogene[ J ]. *Nature*, 2005, 435( 7043 ): 828-833.
- [ 20 ] Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, *et al.* Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia[ J ]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1( 12 ): 882-891.
- [ 21 ] Metzler M, Wilda M, Busch K, *et al.* High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma[ J ]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004, 39( 2 ): 167-169.
- [ 22 ] Eis PS, Tam W, Sun L, *et al.* Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas[ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005, 102( 10 ): 3627-3632.
- [ 23 ] Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, *et al.* Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia[ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99( 24 ): 15524-15529.
- [ 24 ] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, *et al.* Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival[ J ]. *Cancer Res*, 2004, 64( 11 ): 3753-3756.
- [ 25 ] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, *et al.* MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65( 16 ): 7065-7070.
- [ 26 ] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells[ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65( 14 ): 6029-6033.
- [ 27 ] 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( 4 ): 1351-1358.
- [ 28 ] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, *et al.* c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression[ J ]. *Nature*, 2005, 435( 7043 ): 839-843.
- [ 29 ] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, *et al.* The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[ J ]. *Nature*, 2000, 403( 6772 ): 901-906.
- [ 30 ] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, *et al.* RAS is regulated by the let-7 microRNA family[ J ]. *Cell*, 2005, 120( 5 ): 635-647.
- [ 31 ] Morris JP 4th, McManus MT. Slowing down the Ras lane: miRNAs as tumor suppressors? [ J ]. *Sci STKE*, 2005, 2005( 297 ): pe41.
- [ 32 ] Lu J, Getz G, Miska EA, *et al.* MicroRNA expression profiles classify human cancers[ J ]. *Nature*, 2005, 435( 7043 ): 834-838.

[ 收稿日期 ] 2005 - 10 - 09

[ 修回日期 ] 2005 - 11 - 04

[ 本文编辑 ] 韩 丹

## 欢迎浏览《中国肿瘤生物治疗杂志》网站

为了方便更多的读者浏览杂志,为肿瘤生物治疗工作者提供一个更宽广的信息交流平台,《中国肿瘤生物治疗杂志》开通了网站,网站设置了期刊概况、期刊内容、出版发行、投稿指南、科研动态、政策法规等栏目,同时有期刊检索功能,您可以轻松浏览每期杂志内容,了解相关的研究进展。

网站地址为: <http://www.biother.org>