

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.04.021

· 综述 ·

肿瘤干细胞中异常 miRNA 的研究进展

Research advance on abnormal miRNA in cancer stem cells

李曾¹, 孙铭娟², 王梁华², 焦炳华² (1. 第二军医大学 研究生管理大队, 上海 200433; 2. 第二军医大学 基础部生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433)

[摘要] 微核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类内源性非编码单链小RNA,可在转录后调节靶标mRNA的剪切或抑制mRNA翻译。研究发现,miRNA在多种病理生理过程中发挥重要作用,如细胞增殖、干细胞分化、肿瘤形成等。肿瘤干细胞常含有异常的miRNA,其中某些miRNA的异常结构或表达可影响肿瘤发展。根据miRNA表达异常对肿瘤发生、发展的不同影响,可把miRNA分为癌基因性miRNA与抑癌基因miRNA两类。随着对miRNA了解的深入,发现部分miRNA的表达还具有促进和抑制肿瘤的双向性作用。因此,通过区别miRNA对肿瘤干细胞的不同作用,可利用miRNA靶点治疗肿瘤,即利用抗miRNA疗法阻滞癌基因性miRNA;利用miRNA mimics或慢病毒恢复抑癌基因性miRNA的功能,从而抑制肿瘤发展。相信随着miRNA与肿瘤干细胞的特异性及其作用机制等方面研究的深入,miRNA将会作为一种新的肿瘤调控因子,加快肿瘤治疗的研究进展。

[关键词] microRNA; 肿瘤干细胞; 肿瘤治疗

[中图分类号] R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)04-0457-04

干细胞具有自我更新与多向分化的能力,其在组织形成、更替和修复中发挥重要作用。干细胞不仅存在于正常组织中,也存在于肿瘤中,后者被称为肿瘤干细胞。肿瘤干细胞假说认为,肿瘤是由一小部分可分化的肿瘤细胞衍生形成,并通过特殊自我更新能力增生。肿瘤干细胞最初在白血病中发现,目前为止,已在实体瘤,包括乳腺、脑、胰和结肠肿瘤等组织中发现肿瘤干细胞^[1]。肿瘤干细胞假说进一步解释了肿瘤复杂的发生机制,为肿瘤治疗开辟了新思路,即靶向针对静止和发生中的肿瘤干细胞的疗法。在肿瘤治疗中,使用分子疗法在抑制干细胞特异性调节信号的同时配合传统疗法,将会达到更好治疗效果。

miRNA在机体生理、病理过程中发挥重要调节作用,不仅可以影响细胞、分化、增殖、凋亡、抗病原体感染等方面^[2],而且可以精确控制细胞周期,调节干细胞增殖、分化与自我更新^[3-5]。Koturbasha等^[6]发现,miRNA可以维持干细胞数量、增强干细胞对环境信号的敏感性等。其中,miR-142-3p、miR-451、miR-106a、miR-142-5p、miR-20a和miR-106b等在细胞自我更新与多向分化中起重要作用^[7]。

肿瘤干细胞常含有异常的miRNA,例如在胰腺肿瘤干细胞中,就存在异常表达的miR-99a、miR-100、miR-125b、miR-192和miR-429^[8]。某些异常miRNA可引起肿瘤干细胞失调,改变其自我更新及分化能力,导致肿瘤发展,少数甚至可以促使正常干

细胞转化为肿瘤干细胞。已发现异常的miRNA可能导致支气管肺泡干细胞向肺癌干细胞转变^[7],提示了miRNA与肿瘤干细胞的关联性。

1 异常 miRNA 对肿瘤干细胞的调控

根据肿瘤干细胞中miRNA表达异常对肿瘤发生、发展的影响,把miRNA分为癌基因性与抑癌基因性,但随着对miRNA了解的深入,发现部分miRNA具有促进和抑制肿瘤的双向能力。此外,结构异常的miRNA也可能引起肿瘤干细胞的失调,从而影响肿瘤发展。下面从不同方面讨论异常miRNA对肿瘤干细胞的影响。

1.1 结构异常性 miRNA

许多肿瘤中miRNA结构出现异常,主要表现为miRNA易位。由于超过半数的miRNA基因位于脆性基因部位或其附近,故其易断裂和重排。例如,染色体13q13.4基因座的缺失或变异导致正常miRNA的结构异常,使约70%的慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)患者的miR-15a

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30901704)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30901704)

[作者简介] 李曾(1991-),男,辽宁省沈阳市人,本科, E-mail: lizeng-34@126.com

[通信作者] 孙铭娟(SUN Ming-juan, corresponding author), E-mail: sunmingjuan@163.com

和 miR-16-1 发生严重丢失, 导致 CLL 中 Bcl-2 过表达, 引起肿瘤^[6]。

miRNA 的结构异常不同于 miRNA 的表达异常, miRNA 易位甚至丢失可能引发肿瘤干细胞的异常与失调, 从而抑制或促进肿瘤的发生。

1.2 表达异常性 miRNA

由于启动区甲基化等原因引起的 miRNA 表达上调或下调可以引起肿瘤干细胞的异常, 从而影响肿瘤发生。现已发现多种 miRNA 可以影响肿瘤干细胞, 如 miR-21、miR-34 等^[1]。

1.2.1 癌基因性 miRNA

在肿瘤细胞中, 某些 miRNA 表达上调, 发挥癌基因作用, 通过对肿瘤干细胞的调节, 促进肿瘤生长, 抑制凋亡, 因此称其为“癌基因性 miRNA”。

癌基因性 miRNA 常通过调节蛋白质的表达发挥作用。在结肠直肠癌腺瘤中发现 miR-135a 与 miR-135b 表达明显上调。miR-135a 与 miR-135b 的增加导致 β -连环蛋白中 APC 的缺失, 使 β -连环蛋白累积, 导致自我更新基因的激活, 从而激活肿瘤干细胞^[1], 故 miR-135 属于癌基因性 miRNA。

近期研究^[9]发现, miR-495 在乳腺肿瘤细胞中高度上调, 可以促进集落形成和小鼠肿瘤形成。miR-495 通过抑制 E-cadherin 的表达促进细胞侵袭, 通过抑制发育及 DNA 损伤反应调节基因 1 (regulated in development and DNA damage responses 1, *REDD1*) 的表达, 增强细胞分化。这说明 miR-495 可以促进肿瘤生成, 并对肿瘤干细胞有重要意义。在成胶质细胞肿瘤干细胞与正常神经干细胞的对比研究^[10]中发现, miR-10a 与 miR-10b 表达上调, 且二者影响下游的肿瘤抑制基因 *CSMD1*, 提示 miR-10a 与 miR-10b 可能具有促进肿瘤发展的作用。

综上, 癌基因性 miRNA 的特点之一就是其在肿瘤组织中表达上调, 通过与蛋白质甚至直接与基因相互作用导致肿瘤干细胞异常, 从而促进肿瘤发生。

1.2.2 抑癌基因性 miRNA

一些 miRNA 可以防止肿瘤发生, 这些 miRNA 被称为抑癌基因性 miRNA, 其表达下调可导致肿瘤发生。下面列举几个有代表性的抑癌基因性 miRNA。

研究^[11]发现, let-7 在肺肿瘤细胞中表达下调, 且与 Ras 蛋白呈负相关。Ras 蛋白表达下调可减少克隆形成以及肿瘤发生, 因此 let-7 在细胞的自我更新中发挥重要作用。此外, let-7 可直接结合高迁移率蛋白 A2 (high mobility group AT-hook 2, *HMG A2*) 的 3' UTR, 抑制 *HMG A2* 的表达。3' UTR 的缺失可导致 let-7 结合位点的缺失, 使 *HMG A2* 过表达, 从而

导致肿瘤细胞增殖, 这也从另一个角度反映了 let-7 的肿瘤抑制作用^[12]。近期研究^[13]发现, LIN28 对肿瘤细胞的存活有重要意义, LIN28 与 let-7 呈负相关, 且 LIN28/let-7 之间可形成双向负反馈环, 影响乳腺肿瘤细胞功能, 调节乳腺上皮祖细胞的自我更新与分化。

miR-214 在多种肿瘤细胞中表达下调, miR-214 可以调节胚胎干细胞中的 *Zeste* 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, *Ezh2*), 而 *Ezh2* 与干细胞自我更新与分化关系密切^[14]。近期研究^[15]发现, miR-214 的等位基因在某些乳腺肿瘤细胞中消失, 在乳腺肿瘤细胞中 miR-214 的表达与 *Ezh2* mRNA 呈负相关, 即增加 miR-214 的表达可以降低 *Ezh2* mRNA 的水平, 抑制乳腺肿瘤干细胞的分化。同样也发现 let-7 的丢失可以使 *Ezh2* 过度表达^[16]。

人多能干细胞中的实验^[17]发现, miR-302 可以抑制细胞周期发生, miR-302 可同时抑制细胞周期蛋白 E-CDK2 和 D-CDK4/6, 阻断 G_1 -S 期发生, 并可以通过细胞周期 G_1 期阻滞, 来抑制多能干细胞的致瘤性。

此外, miR-9^[18]、miR-34c^[19]、miR-93^[20]、miR-150^[21]、miR-181^[22]、miR-193a^[23]、miR-200c^[24-25] 等都属于肿瘤抑制 miRNA。这些 miRNA 可以通过与基因、蛋白质等分子作用来抑制肿瘤细胞聚集、增殖、分化。这些肿瘤抑制 miRNA 对于抑制肿瘤发展非常重要, 值得深入研究。

1.2.3 双向作用性 miRNA

某些 miRNA 既可引发肿瘤, 表现癌基因性, 又可抑制肿瘤发生, 表现抑癌基因性。因其表现出的双向调节作用, 故这里称其为“双向作用性 miRNA”。

miR-451 可以通过对细胞周期蛋白 D1 和 P27 的调控, 抑制细胞周期发生, 通过 Bcl-2 通路影响肿瘤细胞的增殖^[26]。而且, 研究^[27]发现, 其表达下调可以促进过氧化酶 2 表达, 使 Wnt 活化, 增强肿瘤干细胞功能。故 miR-451 的表达可以抑制肿瘤细胞自我更新能力和致瘤性。但在转移性成胶质细胞瘤中^[26], miR-451 表达下调虽减少了细胞迁移, 但另一方面却增强了肿瘤干细胞的分化, 表现出其调节的双向性。

在胰腺癌中 miR-27a 表达上调, 其通过靶向作用于 *Sprouty2* (*sprouty* homolog 2), 呈现癌基因性作用。但在乳腺癌中, miR-27a 通过抑制 *ZBTB10* (zinc finger and BTB domain containing 10) 和 *Myt-1* (myelin transcription factor 1), 抑制细胞 G2-M 期发生, 并通过下调 *FOXO1* (*forkhead box O1*) 的表达引发细胞

凋亡。在胃腺癌中,miR-27a 通过靶向抑制素,抑制肿瘤干细胞的分化,这说明 miR-27a 也可表现抑癌基因性作用^[28]。

研究^[29-30]认为,miR-145 为肿瘤抑制因子,可以抑制肿瘤干细胞的多能性,例如 miR-145 可通过下调 *OCT4* 基因表达,抑制 A549 肺腺癌细胞株中干细胞的增殖。但在子宫内膜肿瘤细胞中^[31],miR-145 表达上调可抑制 *OCT4* 的表达,从而诱导子宫内膜肿瘤干细胞分化,起到促进肿瘤发生的作用。

近期^[32-33]还发现,miR-34a 可以作用于 CD44⁺ 前列腺肿瘤干细胞与胰腺肿瘤干细胞,抑制肿瘤发展,却可以促进 CD44⁻ 前列腺癌的发展和转移。

类似双向性作用在很多 miRNA 上都有体现。双向性作用常表现出肿瘤细胞特异性,但也可同时在一种肿瘤细胞中产生双重影响。随着研究的深入,这类 miRNA 将会越来越多,甚至在一些抑癌基因性 miRNA、癌基因性 miRNA 中也会出现,所以这种分类只是相对的,在 miRNA 研究中需要注意。

2 靶向 miRNA 的肿瘤治疗

miRNA 的表达与肿瘤干细胞的调节密切相关,miRNA 有望作为抗肿瘤治疗的靶位。

以 miR-34a 的研究^[32]为例,miRNA/RNAi 为基础的研究存在几个关键性的阶段:(1)正常组织细胞与肿瘤细胞的 miRNA 表达水平比较,例如在 CD44⁺ 前列腺肿瘤细胞中,miR-34a 表达下调;(2)miRNA 作用的功能性分析,例如 miRNA-34a 在前列腺肿瘤干细胞表达减少的同时,CD44 表达改变,使肿瘤干细胞更具侵袭性;(3)在体内,miRNA 为基础的治疗方法的可行性,例如 miRNA-34a 可以作为 CD44⁺ 前列腺肿瘤重要的抑癌基因性 miRNA。现阶段,国内外研究者已经开始了 miRNA 肿瘤特异性的归纳总结,寻找其分布和表达的特点,以期应用于临床,包括对肿瘤的检测与治疗^[34]。

癌基因性 miRNA 表达上调会引起肿瘤的发生,所以需要采取抗 miRNA 疗法(应用 miRNA 拮抗剂)去阻滞癌基因性的 miRNA,从而抑制肿瘤的发展。对于抑癌基因性 miRNA 来说,因其表达下调而促进肿瘤发生,所以可利用 miRNA mimics 恢复肿瘤抑制的能力,从而降低肿瘤发生^[1]。

近期^[35]发现,二甲双胍可在胰腺肿瘤细胞中表达下调的抑癌基因性 miRNA (let-7a、let-7b、miR-26a、miR-101、miR-200b、miR-200c)重新表达,说明二甲双胍可以通过 miRNA 的重新表达,使肿瘤干细胞的相关基因表达下调,从而抑制肿瘤。另外,姜黄

素类似物可通过 Ezh2-miRNA 调节环路,使胰腺癌细胞中的 Ezh2 表达下调,且可以加强抑癌基因性 miRNA(包括 let-7a、let-7b、let-7c、let-7d、miR-26a、miR-101、miR-146a、miR-200b、miR-200c)的表达^[36]。

总之,以 miRNA 分子为靶的肿瘤治疗应做到消除肿瘤干细胞的自我更新能力与肿瘤细胞的增殖能力、降低肿瘤复发率,甚至大幅减少其对当前肿瘤疗法的耐药性,增强肿瘤对药物的敏感性^[37-38]。

3 结语

miRNA 的异常表达、结构变异与肿瘤干细胞的失调相关,这种异常导致了癌症的起始与发展。miRNA 在肿瘤中发挥着重要的作用,其既有抑癌作用,也有致癌作用。以 miRNA 分子为靶的治疗的研究重点在于找出肿瘤发生与正常干细胞信号通路 miRNA 的异同,寻找更精确、更有效的特异靶点,针对 miRNA 研究肿瘤的发生、发展和耐药性。相信随着研究的深入,未来 miRNA 疗法将会应用于临床肿瘤治疗。

[参考文献]

- [1] DeSano JT, Xu L. MicroRNA regulation of cancer stem cells and therapeutic implications [J]. AAPS J, 2009, 11(4): 682-692.
- [2] Cai Y, Yu X, Hu S, et al. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2009, 7(4): 147-154.
- [3] Mallick B, Chakrabarti J, Ghosh Z. MicroRNA reins in embryonic and cancer stem cells [J]. RNA Biol, 2011, 8(3): 415-426.
- [4] Wang Y, Billeloch R. Cell cycle regulation by microRNAs in stem cells [J]. Results Probl Cell Differ, 2011, 53: 459-572.
- [5] Jain AK, Allton K, Iacovino M, et al. p53 regulates cell cycle and microRNAs to promote differentiation of human embryonic stem cells [J]. PLoS Biol, 2012, 10(2): e1001268.
- [6] Koturbasha I, Zemp FJ, Pogribny I, et al. Small molecules with big effects: The role of the microRNAome in cancer and carcinogenesis [J]. Mutat Res, 2011, 722(2): 94-105.
- [7] Qian S, Ding JY, Xie R, et al. MicroRNA expression profile of bronchioalveolar stem cells from mouse lung [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 377(2): 668-673.
- [8] Jung DE, Wen J, Oh T, et al. Differentially expressed microRNAs in pancreatic cancer stem cells [J]. Pancreas, 2011, 40(8): 1180-1187.
- [9] Hwang-Verslues WW, Chang PH, Wei PC, et al. miR-495 is up-regulated by E12/E47 in breast cancer stem cells, and promotes oncogenesis and hypoxia resistance via downregulation of E-cadherin and REDD1 [J]. Oncogene, 2011, 30(21): 2463-2474.
- [10] Lang MF, Yang S, Zhao C, et al. Genome-wide profiling identified a set of miRNAs that are differentially expressed in glioblasto-

- ma stem cells and normal neural stem cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e36248.
- [11] Büsling I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer [J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(9): 400-409.
- [12] King CE, Wang L, Winograd R, et al. LIN28B fosters colon cancer migration, invasion and transformation through let-7-dependent and -independent mechanisms [J]. *Oncogene*, 2011, 30(40): 4185-4193.
- [13] Yang X, Lin X, Zhong X, et al. Double-negative feedback loop between reprogramming factor LIN28 and microRNA let-7 regulates aldehyde dehydrogenase 1-positive cancer stem cells [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(22): 9463-9472.
- [14] Chou RH, Yu YL, Hung MC. The roles of EZH2 in cell lineage commitment [J]. *Am J Transl Res*, 2011, 3(3): 243-250.
- [15] 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.
- [16] Kong D, Heath E, Chen W, et al. Loss of let-7 up-regulates EZH2 in prostate cancer consistent with the acquisition of cancer stem cell signatures that are attenuated by BR-DIM [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33729.
- [17] Lin SL, Chang DC, Ying SY, et al. MicroRNA miR-302 inhibits the tumorigenicity of human pluripotent stem cells by coordinate suppression of the CDK2 and CDK4/6 cell cycle pathways [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(22): 9473-9482.
- [18] Schraivogel D, Weinmann L, Beier D, et al. CAMTA1 is a novel tumour suppressor regulated by miR-9/9* in glioblastoma stem cells [J]. *EMBO J*, 2011, 30(20): 4309-4322.
- [19] Yu F, Jiao Y, Zhu Y, et al. MicroRNA 34c gene down-regulation via DNA methylation promotes self-renewal and epithelial-mesenchymal transition in breast tumor-initiating cells [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(1): 465-473.
- [20] Yu XF, Zou J, Bao ZJ, et al. miR-93 suppresses proliferation and colony formation of human colon cancer stem cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(42): 4711-4717.
- [21] Zhang J, Luo N, Luo Y, et al. microRNA-150 inhibits human CD133-positive liver cancer stem cells through negative regulation of the transcription factor c-Myb [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(3): 747-756.
- [22] Meng F, Glaser SS, Francis H, et al. Functional analysis of microRNAs in human hepatocellular cancer stem cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(1): 160-173.
- [23] Iliopoulos D, Rotem A, Struhl K. Inhibition of miR-193a expression by Max and RXR α activates K-Ras and PLAU to mediate distinct aspects of cellular transformation [J]. *Cancer Res*. 2011, 71(15): 5144-5153.
- [24] Lo WL, Yu CC, Chiou GY, et al. MicroRNA-200c attenuates tumour growth and metastasis of presumptive head and neck squamous cell carcinoma stem cells [J]. *J Pathol*. 2011, 223(4): 482-495.
- [25] Radisky DC. miR-200c at the nexus of epithelial-mesenchymal transition, resistance to apoptosis, and the breast cancer stem cell phenotype [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(3): 110.
- [26] Nan Y, Han L, Zhang A, et al. MiRNA-451 plays a role as tumor suppressor in human glioma cells [J]. *Brain Res*, 2010, 1359: 14-21.
- [27] Bitarte N, Bandres E, Boni V, et al. MicroRNA-451 is involved in the Self-renewal, tumorigenicity and chemoresistance of colorectal cancer stem cells [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(11): 1661-1671.
- [28] Ma Y, Yu S, Zhao W, et al. miR-27a regulates the growth, colony formation and migration of pancreatic cancer cells by targeting Sprouty 2 [J]. *Cancer Lett*, 2010, 298: 150-158.
- [29] 张帅, 武雅琴, 冯冬杰, 等. miR-145 通过下调 OCT4 基因抑制肺腺癌干细胞增殖 [J]. *中国肺癌杂志*, 2011, 14(4): 317-322.
- [30] Xu Q, Liu LZ, Qian X, et al. MiR-145 directly targets p70S6K1 in cancer cells to inhibit tumor growth and angiogenesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(2): 761-74.
- [31] Wu Y, Liu S, Xin H, et al. Up-regulation of microRNA-145 promotes differentiation by repressing OCT4 in human endometrial adenocarcinoma cells [J]. *Cancer*, 2011, 117(17): 3989-3998.
- [32] Liu C, Kelnar K, Liu B, et al. The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44 [J]. *Nat Med*, 2011, 17(2): 211-215.
- [33] Nalls D, Tang SN, Rodova M, et al. Targeting epigenetic regulation of miR-34a for treatment of pancreatic cancer by inhibition of pancreatic cancer stem cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e24099.
- [34] de Planell-Saguer M, Rodicio MC. Analytical aspects of microRNA in diagnostics: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 699(2): 134-152.
- [35] Bao B, Wang Z, Ali S, et al. Metformin inhibits cell proliferation, migration and invasion by attenuating CSC function mediated by down-regulating miRNAs in pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2012, 5(3): 355-364.
- [36] Bao B, Ali S, Banerjee S, et al. Curcumin analogue CDF inhibits pancreatic tumor growth by switching on suppressor microRNAs and attenuating EZH2 expression [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(1): 335-345.
- [37] Zhang S, Wan Y, Pan T, et al. MicroRNA-21 inhibitor sensitizes human glioblastoma U251 stem cells to chemotherapeutic drug temozolomide [J]. *J Mol Neurosci*, 2012, 47(2): 346-356.
- [38] Shi L, Zhang S, Feng K, et al. MicroRNA-125b-2 confers human glioblastoma stem cells resistance to temozolomide through the mitochondrial pathway of apoptosis [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(1): 119-129.

[收稿日期] 2012-03-17

[修回日期] 2012-05-26

[本文编辑] 王莹