

Dicer 在肿瘤中的研究进展

Advances in Research of Dicer in Cancer

CAO Wen-ming, WANG Xiao-jia

曹文明, 王晓稼

(浙江省肿瘤医院, 浙江省胸部肿瘤诊治研究技术重点实验室, 浙江杭州 310022)

摘要: Dicer 是 miRNA 剪切成熟的关键酶, 在肿瘤中扮演单倍体不足抑癌基因的角色。Dicer 基因突变携带者易发生家族性肺胸膜母细胞瘤; Dicer 在各种肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用, 基因低表达肿瘤更常表现出恶性程度高和预后差的特点; 同时也能介导对药物治疗的敏感性; 另外 Dicer 与 miRNA 之间复杂的调控体系是其参与肿瘤发生发展的根本所在, 可为肿瘤的靶向治疗提供研究基础。

关键词: Dicer; 肿瘤; miRNA

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)04-0298-04

人类 Dicer 基因 (*Dicer1*) 于 2000 年被克隆, 定位于 14q32.13。全长 71 195bp, 有 28 个外显子, 其中第 1 外显子不编码氨基酸。Dicer 是 RNase III 家族成员, 在细胞质中能将 pre-miRNA 剪切为成熟的 miRNA, 是 miRNA 成熟的关键酶。Dicer 蛋白从 N 端到 C 端共有 5 个结构域, 分别是 1 个 RNA 解旋酶结构域 (DEXHc)、1 个 PAZ 结构域、2 个 RNase III 结构域和 1 个双链 RNA 结合结构域 (dsRBD)^[1]。其中每个 RNase III 结构域具有 2 个 RNA 切割活性中心, 两者相距约 65Ang, 相当于 25bp, 并可通过微调来改变产物的长度。虽然有学者报道, 部分 miRNA 如 miR-451 的剪切成熟是 Ago2 依赖性而非 Dicer^[2,3], 但是大部分的 miRNA 是 Dicer 依赖性的。

由于 miRNA 调控人类约 30% 基因的表达, 因此, Dicer 在个体的发生发展中发挥重要作用。Dicer 缺失的胚胎干细胞在发育的早期便失去干细胞的特性, 说明 Dicer 在生命的早期发育过程中是不可或缺的^[4]。大量的研究证实, 在肿瘤组织中 miRNA 的表达水平普遍下降, 因此研究者推测 Dicer 可能与肿瘤的发生发展相关, 近年已有不少这方面的研究报道, 现本文进行一综述。

基金项目: 浙江省医药卫生科学研究基金 (2007A023)

通讯作者: 王晓稼, 主任医师, 教授, 博士; 浙江省肿瘤医院肿瘤内科 (乳腺内科), 浙江省杭州市半山桥广济路 38 号 (310022); E-mail: wxj88851@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2011-10-14; **修回日期:** 2012-02-29

1 单倍体不足抑癌基因

Dicer1 是一种特殊的抑癌基因, 当单等位基因功能缺失后, 另一正常的等位基因功能就不足以维持细胞的正常生理功能, 从而导致肿瘤发生, 这种类型的抑癌基因被称为单倍体不足抑癌基因。Lambertz 等^[5]使用芯片分析人类癌症基因组, 发现 *Dicer1* 单等位基因缺失比双等位基因缺失更常见。Kumar 等^[6]在不同肿瘤类型的小鼠模型中发现, *Dicer1* 单等位基因缺失的小鼠生存期最短, 而双等位基因缺失的小鼠的肿瘤形成反而受到抑制; 在人类肿瘤基因库中, *Dicer1* 拷贝数减少常见报道, 但是纯合性缺失却未见报道, 说明 *Dicer1* 是一种单倍体不足抑癌基因。Nature Review Cancer 主编 McCarthy 对此发表评述, 认为 *Dicer1* 作为一个新发现的单倍体不足抑癌基因, 其在肿瘤的作用值得进一步研究^[7]。

2 Dicer 在肿瘤中的作用

2.1 肿瘤易感性

Hill 等^[5]通过家系连锁分析发现家族性肺胸膜母细胞瘤易感基因位于染色体 14q, 该区域共有 72 个肿瘤易感候选基因, 经过基因功能分析, 认为 *Dicer1* 是最有可能的易感基因。随后在 11 个家系中

进行基因突变检测,发现所有家系均存在 *Dicer1* 的胚系突变,其中 10 个家系为无义突变,使蛋白质翻译提前终止,导致蛋白功能的缺失;另外 1 个家系为错义突变(L1583R),导致蛋白从非极化变为极化。同时免疫组化方法检测这些肿瘤样本,发现在肿瘤细胞中 *Dicer* 表达缺失。该研究首次证实 *Dicer1* 为家族性肺胸膜母细胞瘤的易感基因。Sekine 等^[6]发现 *Dicer1* 条件性敲除的小鼠肝脏中促生长基因和胚胎期特异性基因表达增加,其中 2/3 的小鼠在 1 年后发生肝癌。另外在小鼠模型中发现,*Dicer1* 单等位基因缺失后易发生视网膜母细胞瘤^[7]。这些研究表明,*Dicer1* 胚系突变的携带者易发肺胸膜母细胞瘤,而特定器官发生基因突变后同样易发肿瘤。

2.2 肿瘤侵袭转移

Chiose 等^[8]使用人类全基因组表达芯片检测不同类型的肺癌和癌前病变,发现支气管肺泡癌和肺腺癌中 *Dicer* mRNA 表达上调;免疫组化检测发现 *Dicer* 在典型腺瘤样增生和支气管肺泡癌中高表达,进展期腺癌中低表达甚至不表达;另外 *Dicer* 蛋白表达在鳞癌中较腺癌中高。Grellet 等^[9]报道,在乳腺癌中,*Dicer* 蛋白低表达在激素受体阴性的乳腺癌中更常见,并且可用于区分出 Luminal A 型;在乳腺癌细胞系中,*Dicer* 低表达主要发生在包含间充质表型的细胞系和骨转移来源细胞系中,提示 *Dicer* 低表达可用于预测乳腺癌的骨转移。Dedes 等^[10]发现 *Dicer* mRNA 低表达的乳腺癌更常表现为 ER、PR 和 *Bcl-2* 阴性、Ki-67 高表达以及更高的肿瘤分期。同时有学者报道三阴性乳腺癌中 *Dicer* 的表达更低^[11]。Pampalakis 等^[12]对比卵巢癌、卵巢良性肿瘤以及正常组织标本中 *Dicer* mRNA 表达水平,发现大部分卵巢癌中该基因 mRNA 表达下调;并且表达越低,肿瘤的病理分级和临床分期越高。Han 等^[13]用腺病毒为载体的 shRNA 沉默肿瘤细胞中的 *Dicer* 表达,发现肿瘤细胞的增生和侵袭能力显著增强,与基因 *p-Akt* 活化、细胞蛋白 *CyclinA* 和 *PCNA* 以及侵袭相关蛋白 *MMP-2* 和 *MMP-9* 的表达增加有关,该研究从机制上阐明 *Dicer* 表达的下调能间接促进肿瘤的发展。但是,也有部分学者在其他肿瘤中得出相反的结论。如 III 期大肠癌中 *Dicer* mRNA 的表达水平高于 II 期患者^[14]。同样 Ma 等^[15]发现,在皮肤恶性黑色素瘤中,*Dicer* 蛋白表达增高与肿瘤分裂指数、浸润

深度、淋巴结转移以及临床分期相关。根据以上结果,在大部分肿瘤的进展期以及恶性程度高的亚型中 *Dicer* 低表达更常见,但是在部分肿瘤中却相反,提示 *Dicer* 在不同肿瘤的发展过程中扮演不同的角色,造成这种差异的根本原因目前尚未知。

2.3 肿瘤治疗

研究 *Dicer* 对肿瘤治疗作用的报告较少见。国内 Bu 等^[16]在乳腺癌细胞系 MCF-7 中用 siRNA 干扰 *Dicer* 蛋白表达后,发现细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p21 和 p27 上调,细胞生长阻止在 G₁ 期,并且对顺铂的敏感性增加。最近也有学者构建 *Dicer* 过表达的乳腺癌 MCF-7 细胞系,导致该细胞系对他莫昔芬的敏感性降低,发现乳腺癌耐药相关蛋白 (breast cancer resistance protein,BCRP) 表达被上调,*Dicer* 和 BCRP 高表达的细胞对他莫昔芬的排出能力增强,而 BCRP 表达被抑制后排出他莫昔芬的能力明显减弱,为逆转乳腺癌对他莫昔芬的耐药性提供了新靶点^[17]。

2.4 肿瘤预后

Karube 等^[18]检测非小细胞肺癌中 *Dicer* mRNA 表达情况,发现 mRNA 的低表达与肺癌的预后差相关。Merritt 等^[19]发现,在卵巢癌中 *Dicer* 的 mRNA 和蛋白的表达变化一致;*Dicer* 的低表达和肿瘤分期晚明显相关 ($P=0.007$);*Dicer* 和 *Drosha* 都低表达的患者预后最差,而两者均高表达者的中位生存时间明显延长 (>11 年 vs 低表达组 2.66 年);多因素分析发现导致疾病特异性生存期降低的 3 个独立预测因子分别为 *Dicer* 低表达 ($HR=2.10, P=0.02$)、肿瘤分化程度低 ($HR=2.46, P=0.03$) 和化疗敏感性低 ($HR=3.95, P<0.001$);功能分析提示在 *Dicer* 低表达的细胞系中,转染 shRNA 后所诱导的基因沉默效应被减弱,但 siRNA 的基因抑制作用不受影响,提示 *Dicer* 的低表达使 shRNA 被剪切为 miRNA 的产量减少。另外卵巢癌亚型研究发现,*Dicer* 低表达的卵巢浆细胞癌患者生存期明显缩短^[20]。同样 Lin 等^[21]发现在神经母细胞瘤中,*Dicer* mRNA 表达水平下降组更高危,并且预后更差 ($HR=9.6, P=0.045$)。而 Flavin 等^[22]报道,卵巢癌中 *Dicer* 高表达组的 Ki-67 指数更高,但是淋巴结转移率更低,并且与肿瘤预后无关。另外 Sugito 等^[23]也报道 *Dicer* mRNA 表达水平与食管癌的病理分期以及预后无关。甚至有研究报道 *Dicer*

高表达肿瘤反而预后更差。如 Chiosea 等^[24]发现 81% 的前列腺癌中 *Dicer* mRNA 为高表达, 高表达组的肿瘤病理分期更晚、Gleason 评分更高, 提示预后更差。同样, Faber 等^[25]通过免疫组化检测 237 例 Duke's 分期为 A 或 B 期的结肠癌标本中 *Dicer* 蛋白表达, 发现 *Dicer* 高表达者预后更差。可见, *Dicer* 的表达水平在不同肿瘤中其预后价值也不尽相同, 该现象进一步说明 *Dicer* 参与肿瘤的发展是肿瘤特异性的。

2.5 其他

Irvin-Wilson 等^[26]发现在乳腺癌细胞系中, *Dicer* 的 5' 端存在 2 种剪切方式, 产物分别是长体结构和短体结构, 后者较前者缺少外显子 2 和 3, 但是翻译能力却明显增强, 提示在研究时更应关注短体结构的表达水平。Ting 等^[27]比较去甲基化和未经处理的结肠癌细胞系 HCT116, 发现在 *Dicer* 功能缺失的细胞系中, 一组被表观遗传学沉默的基因活化, 原因是这些基因启动子的甲基化程度降低, 提示 *Dicer* 能维持基因启动子区的高甲基化状态, 从而抑制基因的表达。*Dicer* 能调节大部分 miRNA 的表达, 但是其本身亦被 miRNA 所调控, Martello 等^[28]首次阐明在乳腺癌细胞内 miRNA 整体的表达下降是由于 *Dicer* 被一些 miRNA, 如 miR-103/107 反馈调节所致, 说明 miRNA 的表达存在一个复杂的调控体系。

3 结语

以上研究表明, *Dicer1* 是一种独特的抑癌基因, 不符合经典的抑癌基因“二次敲除”假说, 提供了一种新的致癌模式。基因突变携带者易患家族性肺膜母细胞瘤以及基因敲除脏器的肿瘤。但是更为重要的是, 该基因的低表达能促进大部分肿瘤的进展, 相关肿瘤更常表现为恶性程度增高和预后差的特点; 然而在大肠癌、恶性黑色素瘤和前列腺癌中却得出相反的结论, 提示 *Dicer* 的致癌机制可能具有肿瘤特异性, 需要对不同的肿瘤进行单独研究。另外 *Dicer* 亦能通过调节其他基因的表达来间接影响肿瘤对治疗药物的敏感性。*Dicer* 能控制几乎所有 miRNA 的表达, 但其自身又受 miRNA 的反馈调节, 构成一个复杂的调控体系, 这是机体维持自身平衡的需要, 也可能是 *Dicer* 在不同肿瘤中致癌机制差

异的根本所在, 研究该调控体系有利于阐明部分肿瘤发生发展的分子机制, 为寻找潜在的肿瘤治疗靶点, 开发新药物提供分子基础。

参考文献:

- [1] Macrae IJ, Zhou K, Li F, et al. Structural basis for double-stranded RNA processing by Dicer [J]. *Science*, 2006, 311 (5758): 195-198.
- [2] Cifuentes D, Xue HL, Taylor DW, et al. A novel miRNA processing pathway independent of Dicer requires Argonaute2 catalytic activity [J]. *Science*, 2010, 328 (5986): 1694-1698.
- [3] Cheloufi S, Dos Santos CO, Chong MM, et al. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis [J]. *Nature*, 2010, 465 (7298): 584-589.
- [4] Murchison EP, Partridge JF, Tam OH, et al. Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102 (34): 12135-12140.
- [5] Lambertz I, Nittner D, Mestdagh P, et al. Monoallelic but not biallelic loss of Dicer1 promotes tumorigenesis in vivo [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17 (4): 633-641.
- [6] Kumar MS, Pester RE, Chen CY, et al. Dicer1 functions as a haploinsufficient tumor suppressor [J]. *Genes Dev*, 2009, 23 (23): 2700-2704.
- [7] McCarthy N. Cancer: Small losses, big gains with microRNAs [J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11 (1): 8.
- [8] Chiosea S, Jelezcova E, Chandran U, et al. Overexpression of Dicer in precursor lesions of lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (5): 2345-2350.
- [9] Grelier G, Voirin N, Ay AS, et al. Prognostic value of Dicer expression in human breast cancers and association with the mesenchymal phenotype [J]. *Br J Cancer*, 2009, 101 (4): 673-683.
- [10] Dedes KJ, Natrajan R, Lambros MB, et al. Down-regulation of the miRNA master regulators Droscha and Dicer is associated with specific subgroups of breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47 (1): 138-150.
- [11] Passon N, Gerometta A, Puppini C, et al. Expression of Dicer and Droscha in triple-negative breast cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65 (4): 320-326.
- [12] Pampalakis G, Diamandis EP, Katsaros D, et al. Down-regulation of dicer expression in ovarian cancer tissues [J]. *Clin Biochem*, 2010, 43 (3): 324-327.
- [13] Han L, Zhang A, Zhou X, et al. Downregulation of Dicer enhances tumor cell proliferation and invasion [J]. *Int J Oncol*, 2010, 37 (2): 299-305.

- [14] Papachristou DJ, Korpetinou A, Giannopoulou E, et al. Expression of the ribonucleases Droscha, Dicer, and Ago2 in colorectal carcinomas [J]. *Virchows Arch*, 2011, 459(4): 431–440.
- [15] Ma Z, Swede H, Cassarino D, et al. Up-regulated Dicer expression in patients with cutaneous melanoma [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20494.
- [16] Bu Y, Lu CH, Bian CJ, et al. Knockdown of Dicer in MCF-7 human breast carcinoma cells results in G1 arrest and increased sensitivity to cisplatin [J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(1): 13–17.
- [17] Selever J, Gu G, Lewis MT, et al. Dicer-mediated upregulation of BCRP confers tamoxifen resistance in human breast cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(20): 6510–6520.
- [18] Karube Y, Tanaka H, Osada H, et al. Reduced expression of Dicer associated with poor prognosis in lung cancer patients [J]. *Cancer Sci*, 2005, 96(2): 111–115.
- [19] Merritt WM, Lin YG, Han LY, et al. Dicer, Droscha, and outcomes in patients with ovarian cancer [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(25): 2641–2650.
- [20] Faggad A, Budczies J, Tchernitsa O, et al. Prognostic significance of Dicer expression in ovarian cancer—link to global microRNA changes and oestrogen receptor expression [J]. *J Pathol*, 2010, 220(3): 382–391.
- [21] Lin RJ, Lin YC, Chen J, et al. MicroRNA signature and expression of Dicer and Droscha can predict prognosis and delineate risk groups in neuroblastoma [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(20): 7841–7850.
- [22] Flavin RJ, Smyth PC, Finn SP, et al. Altered eIF6 and Dicer expression is associated with clinicopathological features in ovarian serous carcinoma patients [J]. *Mod Pathol*, 2008, 21(6): 676–684.
- [23] Sugito N, Ishiguro H, Kuwabara Y, et al. RNASEN regulates cell proliferation and affects survival in esophageal cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(24): 7322–7328.
- [24] Chiosea S, Jelezcova E, Chandran U, et al. Up-regulation of Dicer, a component of the microRNA machinery, in prostate adenocarcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169(5): 1812–1820.
- [25] Faber C, Horst D, Hlubek F, et al. Overexpression of Dicer predicts poor survival in colorectal cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(9): 1414–1419.
- [26] Irvin-Wilson CV, Chaudhuri G. Alternative initiation and splicing in dicer gene expression in human breast cells [J]. *Breast Cancer Res*, 2005, 7(4): R563–R569.
- [27] Ting AH, Suzuki H, Cope L, et al. A requirement for DICER to maintain full promoter CpG island hypermethylation in human cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 2570–2575.
- [28] Martello G, Rosato A, Ferrari F, et al. A MicroRNA targeting dicer for metastasis control [J]. *Cell*, 2010, 141(7): 1195–1207.