

宫颈癌与 microRNA 关系研究进展

Research Progress in Relationship Between MicroRNA and Cervical Cancer

TANG Fei, WANG Sheng-li

唐 飞¹ 综述, 汪胜利² 审校

(1. 铜陵市第四人民医院, 安徽 铜陵 244000;

2. 温州医学院第一临床学院, 浙江 温州 325075)

摘 要: 目前证实 microRNA 与肿瘤发生发展密切相关, microRNA 有可能成为一类新的肿瘤标志物和抗肿瘤治疗靶点。全文对近年来 microRNA 在宫颈癌中的最新研究进展, 特别是在宫颈癌发生、发展中的作用及与人乳头瘤病毒的相互关系作一综述。

关键词: microRNA; 宫颈肿瘤; 人乳头瘤病毒

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170(2012)02-0142-04

microRNA 简称 miRNA, 是一类由 18~23 个核苷酸构成的单链非编码 RNA 分子, 具有调节基因表达活性的功能。基因表达的紊乱可以引起肿瘤的发生与发展。最近对宫颈癌的研究发现, 在宫颈癌中表达失调的 microRNA 与宫颈癌的生物学特性密切相关。本文就 microRNA 在宫颈癌中的研究进展以及与人乳头瘤病毒的相互关系作一综述。

1 microRNA 结构和功能

microRNA (简称 miRNA 或 miR) 不编码蛋白质, 通过与靶 mRNA 的 3' 端非编码区 (3'-untranslational region, UTR) 结合, 降解或抑制 mRNA 的翻译导致靶基因的转录后沉默, 从而参与靶基因功能的调节。在已知编码 miRNA 的基因中, 约 60% 位于基因间隔区, 少数位于蛋白编码区或其它转录元件的内含子上。初级 miRNA (pri-miRNA) 是由 RNA 多聚酶 II 转录形成的发夹环状结构, 在核酸酶 Drosha 等的作用下被剪切成前体 miRNA (pre-miRNA), 并通过转运蛋白 Exportin5 转运到细胞浆中。前体 miRNA 在另一种核酸酶 Dicer 的作用下形成成熟的 miRNA, 成熟的 miRNA 可形成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silenced complex, RISC), RISC 中的 miRNA 与靶 mRNA 的 3' 端非编码区不完全互补配对时, 则阻断该基因的翻译过程, 当完全互补配对时则能降

解 mRNA^[1]。

2 宫颈癌 microRNA 表达谱

大量的基础研究业已证实特定的 microRNA 在不同组织类型肿瘤中的表达具有差异性, 同时, 特定组织类型肿瘤的 microRNA 表达谱亦有着特异性和一定的稳定性。因此, 准确掌握某种肿瘤的特定 microRNA 表达谱无疑是研究肿瘤与 microRNA 关系最好的切入点和出发点。迄今为止, 已有多篇文献^[2-6]报道了宫颈癌 microRNA 表达谱。Lee 等^[5]应用 TaqMan 实时定量 PCR 技术分析 10 例 I b~II a 期宫颈癌和 10 例正常宫颈组织 miRNA 表达谱, 发现 70 个 miRNA 的表达有显著差异, 其中 68 个表达上调, 2 个表达下调。与正常宫颈组织相比, 有 10 个 miRNA (miR-199-s, miR-9, miR-199a*, miR-199a, miR-199b, miR-145, miR-133a, miR-133b, miR-214 和 miR-127) 的表达显著上调 (上升 > 100 倍, $P < 0.0001$); 而 miR-149 和 miR-203 则表达下调。Wang 等^[6]应用基因芯片技术并结合 RNA 印迹技术分析 5 对宫颈癌组织和与之年龄相匹配的正常宫颈组织中 microRNA 表达, 并最终证实 miR-126, miR-143 和 miR-145 表达下调, 而 miR-15b, miR-16, miR-146a 和 miR-155 表达上调。从以上报道可知, 同一 miRNA (如 miR-145) 在不同研究中的表达情况可能出现不一致的结果, 提示不同研究结果间存在较大的异质性。产生这种

收稿日期: 2011-11-21

现象的原因可能是由于检测方法和研究对象不同,因此,有必要进行大样本、高通量、标准化的宫颈癌 microRNA 表达谱研究,以明确宫颈癌中 microRNA 的特定表达情况。

3 microRNA 与 HPV

众所周知,人乳头瘤病毒(HPV)与宫颈癌发生密切相关,尤其高危型 HPV(如 HPV-16 和 HPV-18)感染常见于宫颈癌中,并已经明确为宫颈癌发生的直接病因^[7]。尽管如此,但 HPV 的确切致癌机制仍然未能完全阐明,microRNA 无疑为进一步揭示发病机制提供了新的视角和思路。正是基于此,研究者近年来积极探索 HPV 感染和致癌过程中 microRNA 的表达特征和调节机制,并已取得一定的研究成果。Martinez 等^[8]应用 Real-time qPCR 和 RNA 印迹技术发现,相比较于 HPV 阴性的宫颈癌细胞株 C-33A 和正常宫颈组织中,miR-218 在 HPV 阳性细胞株及宫颈病变和宫颈癌组织中特异性低表达,提示 miR-218 低表达与体内 HPV 相关肿瘤的发生密切相关。Gao 等^[9]在此基础上进一步研究探讨了在宫颈癌发病过程中 miR-218 表达下调与 HPV 感染的相关性,他们利用基因芯片技术分析 78 例宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)的妇女 miR-218 的表达情况,并同时检测 HPV 感染情况及 HPV 基因类型。结果显示,高危型 HPV 感染患者 miR-218 的表达水平明显低于低危、中危型 HPV 感染患者及 HPV 阴性患者,而且高级别宫颈上皮内瘤变(CIN2, CIN3)患者 miR-218 的表达水平明显低于低级别宫颈上皮内瘤变(CIN1)患者。因此推断,高危型 HPV 感染可以下调 miR-218 的表达水平,并且 miR-218 低表达可能与宫颈癌发病机制密切相关。另一项研究^[10]则揭示了 microRNA-34a 在 HR-HPV 病毒癌基因 E6 诱导 p53 蛋白下调致癌机制中所起的重要作用。研究结果显示,microRNA-34a 在宫颈癌及癌前病变中的表达明显低于正常宫颈上皮组织,且在 E6 转染细胞株或者导入 E6siRNA 的细胞株中 microRNA-34a 与 p53 蛋白表达水平同步下调。而 Wang 等^[11]研究证实 E6 本身能够调控(下调)microRNA-34a 的表达。由此可知,由 HR-HPV 病毒癌

基因 E6 介导的 microRNA-34a 表达抑制可能是抑癌基因 p53 蛋白通路导致宫颈癌的始动因素。

4 microRNA 与宫颈癌发生发展

microRNA 在宫颈癌致癌机制中的作用研究取得了积极的进展。研究发现特定 microRNA 在不同的肿瘤细胞中可能发挥截然不同的生物学功能。如 Zhang 等^[12]用 TaqMan 实时定量 PCR 证实 miR-21 在人胃癌组织及细胞株中过表达,在人胃癌细胞株 AGS 中,miR-21 高表达能增强细胞增殖和侵袭能力,而敲除 miR-21 导致细胞凋亡增加,增殖、侵袭和迁移能力明显下降,而 Cheng 等^[13]在 HeLa 细胞株中敲除 miR-21 却促进细胞生长的现象。但是,Yao 等^[14]进一步研究 miR-21 在宫颈癌中的表达及功能时,结果与 Cheng 的研究不一致。他们将抗 miR-21 转染 HeLa 细胞来验证内源性 miR-21 是否影响 PDCD4 蛋白(programmed cell death 4,一种已知的抑癌因子)的表达,结果显示 PDCD4 蛋白水平上调,进一步证实 miR-21 能直接作用于 HeLa 细胞的 PDCD4-3'UTR。PDCD4-3'UTR 中 18bp 的靶位点是 miR-21 惟一的调控位点,从而验证 HeLa 细胞中的内源性 miR-21 通过下调 PDCD4 来促进细胞增殖。由此可以推断,miR-21 可能扮演宫颈癌分子发病机制中致癌基因的角色,并可能成为有效的治疗靶点。尽管对特定 microRNA 的研究产生难以解释的有差异的结果,但可以肯定的是 microRNA 参与了宫颈癌的发病机制,并且起着重要的作用,因此更加值得我们进一步深入探索。

4.1 miR-34a 和 miR-519

Pang 等^[15]报道 miR-34a 能够抑制宫颈癌及绒膜癌细胞株的侵袭能力。他们发现在宫颈癌细胞株 HeLa 和绒膜癌细胞株 JAR 中过表达 miR-34a 并不影响细胞的增殖,但却能够抑制细胞的侵袭能力。并且,通过功能试验,验证了 Notch1 和 Jagged1 蛋白为 miR-34a 的功能靶点,即 miR-34a 能够减少 Notch1 和 Jagged1 蛋白的表达。进一步通过 RNA 干扰敲除 Notch1 实验表明 Notch1 下调能够减少细胞的侵袭,而恢复 Notch1 表达则可以使得 miR-34a 抑制细胞侵袭的能力消失。这一系列实验充分说明 miR-34a

能够通过调节 Notch 及其下游基质降解酶通路抑制宫颈癌细胞的侵袭能力。另外一项体内实验研究则证实 microRNA 能够抑制肿瘤生长。Abdelmohsen 等^[16]进行裸鼠种植实验发现过表达 miR-519 细胞株种植生长的肿瘤较对照组明显减小,并且进一步实验证实 miR-519 通过减少 HuR 的表达而发挥抑癌基因的作用。

4.2 miR-218

Martinez 等^[8]研究发现,miR-218 低表达与体内 HPV 相关肿瘤的发生密切相关。生物信息学方法结合 PCR 寻找到 miR-218 可能靶基因 LAMB3, Western blot 证明 miR-218 减少了 SiHa 细胞的 LAMB3, 这些结果表明 LAMB3 是 miR-218 的一个靶基因, miR-218 可在翻译水平抑制 LAMB3 的表达。国内研究者 Zhou 等^[17,18]最近研究表明 pre-microRNAs 常见遗传多态现象可能导致宫颈鳞状细胞癌发生。结果证实, pri-miR-218 rs11134527 和 LAMB3 rs2566 直接参与了宫颈癌发病机制。同时, Yue 等^[19]在对 pre-miR-146a 的研究中得出同样的结论。

4.3 miR-214

Yang 等^[20]用 qRT-PCR 检测 HeLa 细胞中 miR-214 的含量, 7 对癌组织样本中, miR-214 均明显低表达, 与正常宫颈组织相比减少 25.6% ~ 63.2%。而在人宫颈癌细胞株 HeLa 细胞中 miR-214 过表达能抑制细胞增殖, 表明 miR-214 有抗肿瘤细胞增殖的作用。MEK3 和 JNK1 属 MAPK 信号传导通路中重要的细胞因子, 与细胞的生长、增殖、分化等过程的调节以及肿瘤的发生密切关系, 是 miR-214 的可能靶基因。进一步研究发现, miR-214 能通过与 MEK3 和 JNK1 的 3U'TR 特异性结合, 在 mRNA 和蛋白水平均明显下调 MEK3 和 JNK1 表达。因此可以推断, miR-214 在 HeLa 细胞中通过与靶基因 MEK3 和 JNK1 的 mRNA 特异性结合, 下调靶基因表达, 从而抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡。最近, Qiang 等^[21]研究发现 miR-214 的另一个靶基因 Plexin-B1 与宫颈癌发生发展关系密切, 可能作为宫颈癌的致癌基因之一。通过免疫组化、Western Blot 和 qRT-PCR 等实验发现, 与正常宫颈组织比较, Plexin-B1 在宫颈组织中明显过表达, 临床病理数据分析发现 Plexin-B1 与宫颈癌侵袭浸润及转移相关。同时, 在

宫颈癌 HeLa 细胞实验中同样也表明 Plexin-B1 与细胞增殖、侵袭及转移相关。因此 miR-214 与宫颈癌的发病机制有着密切的关联, 值得进一步探索。

microRNA 是 RNA 研究领域的重要突破, 为人们认识生物基因和基因表达调节的机制提供一种新的视角, 也为人们更好地认识肿瘤的发生、发展提供一个重要的途径。尽管宫颈癌与 microRNA 关系的研究仍然处于基础及起步阶段, 尚缺乏活体动物实验及临床试验的深入论证, 但研究者们一些有益的积极的探索已表明 microRNA 用于宫颈癌的诊疗有着广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2):281-297.
- [2] Rao Q, Zhou H, Peng Y, et al. Aberrant microRNA expression in human cervical carcinomas [J]. Med Oncol, 2011, Jan 25.[Epub ahead of Print].
- [3] Pereira PM, Marques JP, Soares AR, et al. MicroRNA expression variability in human cervical tissues [J]. PLoS One, 2010, 5(7):e11780.
- [4] Hu X, Schwarz JK, Lewis JS, et al. A microRNA expression signature for cervical cancer prognosis [J]. Cancer Res, 2010, 70(4):1441-1448.
- [5] Lee JW, Choi CH, Choi JJ, et al. Altered microRNA expression in cervical carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(9):2535-2542.
- [6] Wang X, Tang S, Le SY, et al. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth [J]. PLoS One, 2008, 3(7):e2557.
- [7] Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues [J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(1):11-22.
- [8] Martinez I, Gardiner AS, Board KF, et al. Human papillomavirus type 16 reduces the expression of microRNA-218 in cervical carcinoma cells [J]. Oncogene, 2008, 27(18):2575-2582.
- [9] Gao C, Zhang Z, Liu W, et al. Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer [J]. Cancer, 2009, 116(1):41-49.
- [10] Li B, Hu Y, Ye F, et al. Reduced miR-34a expression in normal cervical tissues and cervical lesions with high-risk

- human papillomavirus infection[J]. Int J Gynecol Cancer, 2010,20(4):597-604.
- [11] Wang X,Wang HK,McCoy JP,et al. Onco genic HPV infection interrupts the expression of tumor-suppressive miR-34a through viral oncoprotein E6 [J]. RNA,2009,15(4):637-647.
- [12] Zhang Z,Li Z,Gao C,et al. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression [J]. Lab Invest,2008,88(12):1358-1366.
- [13] Cheng AM,Byrom MW,Shelton J,et al. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis[J]. Nucleic Acids Res,2005,33(4):1290-1297.
- [14] Yao Q,Xu H,Zhang QQ,et al. MicroRNA-21 promotes cell proliferation and down-regulates the expression of programmed cell death 4 (PDCD4) in HeLa cervical carcinoma cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009,388(3):539-542.
- [15] Pang RT,Leung CO,Ye TM,et al. MicroRNA-34a suppresses invasion through downregulation of Notch1 and Jagged1 in cervical carcinoma and choriocarcinoma cells [J]. Carcinogenesis,2010,31(6):1037-1044.
- [16] Abdelmohsen K,Kim MM,Srikantan S,et al. miR-519 suppresses tumor growth by reducing HuR levels [J]. Cell Cycle,2010,9(7):1354-1359.
- [17] Zhou B,Wang K,Wang Y,et al. Common genetic polymorphisms in pre-microRNAs and risk of cervical squamous cell carcinoma [J]. Mol Carcinog,2011,50(7): 499-505.
- [18] Zhou X,Chen X,Hu L,et al. Polymorphisms involved in the miR-218-LAMB3 pathway and susceptibility of cervical cancer,a case-control study in Chinese women[J]. Gynecol Oncol,2010,117(2):287-290.
- [19] Yue C,Wang M,Ding B,et al. Polymorphism of the pre-miR-146a is associated with risk of cervical cancer in a Chinese population[J]. Gynecol Oncol,2011,122(1):33-37.
- [20] Yang Z,Chen S,Luan X,et al. MicroRNA-214 is aberrantly expressed in cervical cancers and inhibits the growth of HeLa cells[J]. IUBMB Life,2009,61(11):1075-1082.
- [21] Qiang R,Wang F,Shi LY,et al. Plexin-B1 is a target of miR-214 in cervical cancer and promotes the growth and invasion of HeLa cells [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2011,43(4):632-641.

更正

《肿瘤学杂志》2011年第17卷第8期“喉气管狭窄的手术治疗”一文更正声明：
①该论文的第一作者邱杰,单位:第二军医大学附属长征医院耳鼻咽喉—头颈外科博士研究生,现工作单位为青岛市市立医院东院区耳鼻咽喉科。②该论文的通讯作者:赵舒薇,教授,主任医师,博士研究生导师;第二军医大学附属长征医院耳鼻咽喉—头颈外科,上海市凤阳路415号(200003);E-mail:zhaoshw1@yahoo.com.cn。③该论文的所有病例来源于第二军医大学附属长征医院耳鼻咽喉—头颈外科。

《肿瘤学杂志》2011年第17卷第12期贺文兴等撰写的“结肠癌组织 ERCC1 基因多态性与奥沙利铂药敏关系”一文,900~901 页的“5-Fu:5.1mg/ml”更正为“奥沙利铂:5.1μg/ml”。对引起的不便,向作者致歉!

《肿瘤学杂志》编辑部