

MicroRNA 在肺癌耐药中的作用

姜安祺, 张明辉, 张锐, 王艳

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要: 微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类短链、非编码小分子 RNA, 不同癌症治疗中特异性 miRNAs 失调参与了肿瘤细胞耐药的过程, 进而调节肿瘤细胞对治疗的敏感性。研究表明 miRNAs 参与肺癌化疗及靶向的耐药过程。miRNAs 具有克服肺癌耐药的潜能, 同时能够增加肺癌细胞对化疗及靶向治疗的敏感性。全文综述了现阶段肺癌治疗中 miRNAs 在化疗药物及靶向药物耐药机制中的作用。

关键词: 微小 RNA; 耐药; 肺癌; 化疗; 靶向药物

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)05-0444-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.05.B015

The Role of MicroRNAs in Drug Resistance to Lung Cancer

JIANG An-qi, ZHANG Ming-hui, ZHANG Rui, WANG Yan

(Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

Abstract: MicroRNAs are a group of short-chain, non-coding small RNAs. Evidence suggests that dysregulation of specific miRNAs may be involved in the acquisition of drug resistance of cancer cells, thereby modulating the sensitivity to cancer treatment. Studies have shown that the miRNAs are associated with the resistance to chemotherapy and target therapy of lung cancer. Meanwhile, miRNAs have the potential to overcome resistance to lung cancer and increase the sensitivity of lung cancer cells to chemotherapy and targeted therapy. In this review, we provide an overview on the role of miRNAs in resistance to current lung cancer therapies and novel biological agents

Subject words: microRNAs; resistance; lung cancer; chemotherapy; targeted therapies

肺癌是发病率及死亡率最高的恶性肿瘤^[1-2]。肺癌根据组织学类型分类, 主要分为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 和小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC)。NSCLC 约占全部肺癌的 85%, 小细胞肺癌 SCLC 约占全部肺癌的 15%。随着肺癌诊疗技术的进展, 尤其分子驱动基因及免疫靶点的发现及相应靶向药物的研发, 明显延长了肺癌患者的生存时间, 但 5 年生存率仍然很低^[3]。其主要原因为化疗及靶向药物的耐药。因此充分理解肺癌耐药机制, 对延长肺癌的生存期起着重要的作用。

肺癌耐药主要分成两类: 原发性耐药和获得性耐药。原发性耐药是指在接受药物治疗之前即耐药, 从而使药物治疗无效。获得性耐药是在治疗过

程中形成的, 在肿瘤治疗的初始阶段肿瘤细胞对药物具有反应性^[4]。肿瘤耐药问题成为了目前肿瘤研究的热点问题, 但至今对耐药具体机制的了解仍然十分有限。随着对 miRNAs 深入研究, 研究者发现 miRNAs 失调是导致肺癌耐药的重要机制。

1 MicroRNA 生物合成与基因表达

MicroRNA 是一类小的非编码 RNA, 由长度大约 19~25 个核苷酸组成, 在进化上高度保守, 主要位于 mRNA 编码基因内含子区。miRNA 成熟主要分为两步, miRNA 基因首先在 RNA 聚合酶 II 作用下生成初级转录本 (primary-miRNA, pri-miRNA), 含有 5' 帽结构和 3' 多聚 A 尾多个发夹结构。Drosha 酶 (RNase III 类的核酸内切酶) 作用下剪切成具有双链茎环结构的原始 miRNA (precursor-miRNA, pre-miR-

通信作者: 王艳, 主任医师, 博士; 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院呼吸肿瘤内科, 黑龙江省哈尔滨市南岗区哈平路 150 号 (150081); E-mail: wangyan86298263@163.com

收稿日期: 2019-07-11; **修回日期:** 2019-12-17

NA,)。输出蛋白 5 (exportin-5) 通过双链茎环结构和 3' 端单链识别 pre-miRNAs, pre-miRNAs 在 Exportin5 作用下从细胞核转运到细胞质。细胞质中的 Dicer (RNase III 类的核酸内切酶) 将其酶切成成熟 miRNA。成熟 miRNA 主要通过下游靶基因的使 RNA (messenger RNA, mRNA) 的 3'-非翻译区通过不完全匹配方式结合, 在转录后水平对 mRNA 进行负性调控。越来越多的证据表明, miRNA 表达不仅对肿瘤的诊断及预后具有重要的意义, 而且在肺癌耐药中具有重要意义。

2 MicroRNA 在肺癌中的表达及意义

MicroRNA 参与肿瘤启动和进展过程, miRNA 既有抑制肿瘤作用, 又有促进肿瘤作用, 其本身可作为肿瘤潜在生物标志物。Zhang 等^[5]通过分析 149 例早期 NSCLC 和 83 例健康人群中 10 种 miRNA (miR-30d, miR-383, miR-20a, miR-145, miR-221, miR-25, miR-223, miR-21, miR-126 和 miR-210) 表达差异, 从而找出具有诊断意义的 miRNA。结果显示, miR-145, miR-20a, miR-21 和 miR-223 可作为诊断早期 NSCLC 的指标。其他研究还发现 miR-21, miR-638, miR148 miR-152 可作为肺癌诊断的标志物^[6]。miRNAs 不仅可作为肺癌的诊断指标, 越来越多研究发现 miRNAs 表达与 NSCLC 侵袭、转移及预后密切相关^[7-9]。

3 MicroRNA 与肺癌耐药相关性

3.1 MicroRNA 与化疗耐药

肺癌靶向治疗给晚期肺癌治疗带来了革命性的改变, 但对于肺癌术后辅助化疗, 驱动基因阴性及靶向治疗失败的患者, 化疗仍为治疗的基石。目前肺癌主要治疗方案为铂类为基础的双药联合方案, 主要联合药物包括吉西他滨、紫杉醇、多西他赛、长春瑞滨或培美曲塞。尽管早期具有较高的疾病控制率, 但治疗过程中或治疗后容易产生耐药。更精确了解化疗药耐药机制, 对于避免或逆转肿瘤耐药具有重要的意义。

铂类药物于 20 世纪 70 年代应用于临床, 在众多实体瘤治疗中起到至关重要的作用。如何规避顺

铂耐药是肺癌治疗中的重要目标。既往研究显示, 在顺铂耐药的人类肺癌 A549 细胞株中, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 XIAP 高表达。相比对顺铂敏感性的细胞, 顺铂耐药细胞中 miR-200bc/-429 簇表达减少^[10]。诱导 miR-200bc/-429 过表达能够增强耐药细胞对顺铂的敏感性并下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 XIAP 表达, 这表明 miR-200bc/-429 的靶基因 Bcl-2 和 XIAP 在顺铂耐药中发挥重要作用。同样在 A549 肺腺癌细胞中, 耐药细胞株中 miR-1244 表达下调, miR-1244 表达下调与 A549 细胞侵袭转移增加, 凋亡降低有关^[11]。其他与顺铂耐药有关的 miRNAs 包括: miR-138-5p^[12], miR-19a^[13], miR-29a^[14], miR-204^[15]等。miRNAs 与铂类耐药关系的发现为肺癌患者接受铂类治疗耐药后提供新的治疗靶点。

紫杉醇是一类药物, 包括紫杉醇和多西紫杉醇。这类药物的主要作用机制是对微管功能进行破坏。在治疗肺癌时, 紫杉类药物常与其他化疗药物联合应用发挥其细胞毒作用, 通过微管蛋白亚基间的相互作用导致有丝分裂纺锤体的形成中断。紫杉醇改善了化疗的有效率, 但耐药问题成为治疗失败的最重要原因。与对多西他赛敏感的亲本细胞相比, 多西他赛耐药的肺腺癌细胞的 miRNA-26a 明显下调; 然而 miRNA-26a 异位表达能够诱导多西他赛耐药细胞的敏感性。miRNA-26a 上调抑制细胞增殖, 增加多西他赛诱导细胞凋亡, 通过调控其靶点 EZH2 减少对多西他赛治疗有反应性的肿瘤生长^[16]。此外研究发现, 上调 miR-141 通过抑制真核起始因子-4E (eukaryotic initiation factor 4E, EIF4E)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、c-Myc 基因表达, 从而促进多西他赛耐药细胞的凋亡^[17]。MiRNA-100 在 SPC-A1 的肺腺癌多西他赛耐药细胞株中明显下调。转染后 miRNA-100 上调, 导致对多西他赛敏感性增加, 细胞凋亡增加, 通过其靶点 Plk1 使细胞周期阻滞于 G2/M 期, 这在早期 G2/M 转变中起到了关键的作用^[18]。NSCLC 患者中紫杉醇耐药也十分常见。紫杉醇耐药 NSCLC 细胞系中, 敲减 miR-935 能够增加紫杉醇的敏感性, 主要机制为通过调控 SOX7^[19]。

吉西他滨是核苷类似物, 该药物的细胞毒性作用是通过基因组 DNA 调节的, 最终导致 DNA 合成和细胞分裂受到抑制。吉西他滨联合顺铂/卡铂是肺

癌治疗另一个重要方案。Morigaga 等^[20]研究发现, miR-21 表达具有更差的无疾病生存时间 (disease free survival, DFS), 核酸原位杂交分析发现, miR-21 过表达与术后辅助应用吉西他滨耐药相关。此外研究发现, miR-363-3p 表达水平与吉西他滨敏感性密切相关, miR-363-3p 低表达能够通过调控 Cullin 4A 基因 (cullin 4A, CUL4A) 表达增加吉西他滨的耐药性^[21]。

3.2 MicoRNA 与靶向药物耐药

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是一种酪氨酸激酶受体, 属于 ErbB/HER 家族成员。EGFR 通路的激活是导致肺癌发生的重要原因。多项大型临床试验已经证明, EGFR 突变患者应用 EGFR 抑制剂 (吉非替尼, 厄洛替尼, 阿法替尼) 具有较好疗效。目前已经成为 EGFR 突变晚期 NSCLC 标准一线治疗方案。尽管患者对 EGFR 抑制剂最初有较高客观缓解率, 但最终还是因获得性耐药而导致疾病进展。

MiR-200 家族是上皮细胞的重要标志物, 是参与上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 主要的调节分子, 在调节细胞的增殖及凋亡中起着重要的作用^[22]。miR-200 家族主要包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 及 miR-429。研究发现 miR-200c 在吉非替尼耐药的细胞系中下调 (PC-9-ZD), 通过转染 miR-200c 能够恢复 PC-9-ZD 对吉非替尼的敏感性。MiR-200c 转染后可诱导 PI3K, p-Akt, Bax, Bcl-2, Caspase-3 表达。miR-200c 可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路及通过靶向调节靶向结合锌指蛋白 1 (zinc finger E-box-binding protein 1, ZEB1) 逆转吉非替尼的耐药^[23]。Meng 等^[24]研究发现, miR-30a-5p 也可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路, 逆转吉非替尼耐药。在 NSCLC 治疗中, MET 蛋白表达及其磷酸化与 EGFR 抑制剂耐药相关, 提示 MET 有望成为克服耐药的治疗靶点。许多 miRNAs 都受 EGF 和 MET 受体调节, 其中包括 miR-30b, miR-30c, miR-221 和 miR-222。吉非替尼用于对酪氨酸酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKI) 敏感细胞的治疗, 导致 miRNAs 下调、凋亡蛋白 BIM 与 Apaf-1 增加。吉非替尼耐药细胞中敲除 miR-30b、miR-30c、miR-221 和 miR-222 会诱导细胞对 EGFR 抑制剂敏感性增加。MET 过表达与 miR-103 和 miR-203 的下

调及导致的其靶点肉瘤病毒癌基因同源物和蛋白激酶 C-e 过表达相关。肉瘤病毒癌基因同源物和蛋白激酶 C-e 通过激活细胞外调节蛋白激酶信号转导通路促进细胞增殖, 诱导肿瘤细胞耐药的发生。miR-103 和 miR-203 上调导致肉瘤病毒癌基因同源物和蛋白激酶 C-e 表达减少, 增加肺腺癌 A549 耐药细胞株对吉非替尼的敏感性。另一方面 miR-103 和 miR-203 过表达减少细胞迁移、促进间质向上皮转化^[25]。

肺癌相关的融合基因棘皮动物微管相关蛋白 4-间变性淋巴瘤激酶 (chondromic microtubule-associated protein-like 4/anaplastic lymphoma kinase, EML4-ALK, EML4-ALK) 即 ALK 阳性, 融合基因的发生率约 4%。克唑替尼作为 EML-ALK 抑制剂, 可显著性改善 ALK 融合基因阳性的晚期 NSCLC 患者的生存期。与其他肺癌靶向药物相似, 患者在服药后 1 年左右往往出现耐药, 故克服耐药尤为重要。MiR-200c 不仅在克服 EGFR-抑制剂中具有重要作用, 并且在克服克唑替尼耐药中也扮演着重要的角色。MiR-200c 通过 ZEB1 而逆转 EMT, 从而调节克唑替尼对 ALK 阳性肺癌细胞的敏感性^[26]。

肿瘤血管生成被认为是肿瘤生长、进展、侵袭和转移的重要因素。抗血管生成药物与化疗联合可以提高肿瘤的反应性。对于晚期非鳞状细胞肺癌, 目前应用的方案主要为贝伐单抗联合紫杉醇/卡铂。miR-200b 在 3'UTR 与靶基因 VEGF, VEGFR-1 和 VEGFR-2 结合, 降低 VEGF 及其受体的表达水平。MicroRNA-200b 通过负性调控 VEGF 信号通路能够阻止血管生成, 这为贝伐单抗耐药的患者提供了另一种潜在的血管生成抑制剂。

肿瘤耐药问题一直是困扰临床医生的最大问题, 同时也是肺癌患者疾病复发的主要因素。通过以上研究可以发现 miRNAs 与肺癌耐药的的发生具有很大的相关性, 这一发现强调了 miRNAs 具有克服肺癌耐药的潜能, 同时能够增加肺癌细胞对化疗及靶向治疗的敏感性, 为肺癌耐药研究提供了新的方向。

参考文献:

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, et al. Cancer treat-

- ment and survivorship statistics,2019 [J]. CA Cancer J Clin,2019,69(5):363–385.
- [3] Ettinger DS,Akerley W,Borghaei H,et al. Non-small cell lung cancer,version 2.2013 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2013,11(6):645–653.
 - [4] Rotow Julia,Bivona Trever G. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC[J]. Nature Reviews Cancer, 17(11):637–658.
 - [5] Zhang H,Mao F,Shen TY,et al. Plasma miR-145,miR-20a,miR-21 and miR-223 as novel biomarkers for screening early stage non-small cell lung cancer[J]. Oncology Letters, 2016,13(2):669–676.
 - [6] Abdollahi A,Rahmati S,Ghaderi B,et al. A combined panel of circulating microRNA as a diagnostic tool for detection of the non-small cell lung cancer[J]. QJM,2019,112(10):779–785.
 - [7] Yoo JK, Lee JM,Kang SH,et al. The novel microRNA hsa-miR-CHA1 regulates cell proliferation and apoptosis in human lung cancer by targeting XIAP[J]. Lung Cancer, 2019,132:99–106.
 - [8] Zhang M, Shi H,Zhang C. MiRNA-621 inhibits the malignant progression of non-small cell lung cancer via targeting SIX4[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019,23(11):4807–4814.
 - [9] An X,Ge J,Guo H,et al.Overexpression of miR-4286 is an unfavorable prognostic marker in individual with non-small cell lung cancer[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019,120(10):17573–17583.
 - [10] Chunmei Li,Jianxin Lyu,Qing H,et al. MiR-93 promotes tumorigenesis and metastasis of non-small cell lung cancer cells by activating the PI3K/Akt pathway via inhibition of LKB1 / PTEN / CDKN1A[J]. Journal of Cancer,2017,8(5):870–879.
 - [11] Xu G,Shao G,Pan Q,et al.MicroRNA-9 regulates non-small cell lung cancer cell invasion and migration by targeting eukaryotic translation initiation factor 5A2[J].American Journal of Translational Research,2017,9(2):478–488.
 - [12] Pan X,Chen Y,Shen Y.Knockdown of TRIM65 inhibits autophagy and cisplatin resistance in A549/DDP cells by regulating miR-138-5p/ATG7 [J]. Cell Death & Disease, 2019,10(6):429.
 - [13] Peng B,Li C,Cai P,et al.Knockdown of miR-935 increases paclitaxel sensitivity via regulation of SOX7 in non-small-cell lung cancer[J]. Molecular Medicine Reports, 2018,18(3):3397–3402.
 - [14] Chen X,Zhu H,Ye W,et al. MicroRNA29a enhances cisplatin sensitivity in nonsmall cell lung cancer through the regulation of REV3L [J]. Molecular Medicine Reports, 2019,19(2):831–840.
 - [15] Huang G,Lou T,Pan J,et al. MiR-204 reduces cisplatin resistance in non-small cell lung cancer through suppression of the caveolin-1/AKT/Bad pathway [J]. Aging, 2019, 11(7):2138–2150.
 - [16] Pei K,Zhu JJ,Wang CE,et al. MicroRNA-185-5p modulates chemosensitivity of human non-small cell lung cancer to cisplatin via targeting ABCC1 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016,20(22):4697–4704.
 - [17] Li JP,Li SF,Chen Z,et al.miR-326 reverses chemoresistance in human lung adenocarcinoma cells by targeting specificity protein 1[J]. Tumor Biology,37(10):13287–13294.
 - [18] Su TJ,Ku WH,Chen HY,et al. Oncogenic miR-137 contributes to cisplatin resistance via repressing CASP3 in lung adenocarcinoma[J]. American Journal of Cancer Research, 2016,6(6):1317–1330.
 - [19] Peng B,Li C,Cai P,et al. Knockdown of miR935 increases paclitaxel sensitivity via regulation of SOX7 in non-small cell lung cancer [J]. Molecular Medicine Reports, 2018,18(3):3397–3402.
 - [20] Morinaga S,Nakamura Y,Atsumi Y,et al. Locked nucleic acid in situ hybridization analysis of microRNA-21 predicts clinical outcome in patients after resection for pancreatic cancer treated with adjuvant gemcitabine monotherapy[J]. Anticancer Research, 2016,36(3):1083–1088.
 - [21] Bian WG,Zhou XN,Song S,et al. Reduced miR-363-3p expression in non-small cell lung cancer is associated with gemcitabine resistance via targeting of CUL4A[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019,23(2):649–659.
 - [22] Senfter D,Madlener S,Krupitza G,et al. The microRNA-200 family:still much to discover [J]. Biomol Concepts 2016,7(5–6):311–319.
 - [23] Zhou G,Zhang F,Guo,Y,et al. miR-200c enhances sensitivity of drug-resistant non-small cell lung cancer to gefitinib by suppression of PI3K/Akt signaling pathway and inhibites cell migration via targeting ZEB1 [J]. Biomed Pharmacother, 2017,85:113–119.
 - [24] Meng F,Wang FF,Wang LL,et al. MiR-30a-5p overexpression may overcome EGFR-inhibitor resistance through regulating PI3K/AKT signaling pathway in non-small cell lung cancer cell lines[J]. Front Genet, 2016,7:197.
 - [25] Garofalo M,Romano G,Di Leva G,et al. EGFR and MET receptor tyrosine kinase-altered microRNA expression induces tumorigenesis and gefitinib resistance in lung cancers[J]. Nat Med, 2011,18(1):74–82.
 - [26] Gao HX,Yan L,Li C,et al. miR-200c regulates crizotinib-resistant ALK-positive lung cancer cells by reversing epithelial-mesenchymal transition via targeting ZEB1 [J]. Molecular Medicine Reports, 2016,14(5):4135–4143.