

microRNA 参与调控成胶质细胞瘤发生发展的研究进展

李维卿¹, 李一明², 许蜜蝶¹, 卢亦成², 余宏宇^{1*}

1. 第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

2. 第二军医大学长征医院神经外科, 上海 200003

[摘要] 神经成胶质细胞瘤起源于神经胶质细胞, 是成人最常见的原发性颅内肿瘤, 患者预后极差。MicroRNAs (miRNAs) 是一类内源性约 18~26 nt 的非编码 RNA, 在多种生命过程中扮演重要的角色, 其表达失控与成胶质细胞瘤发生发展密切相关。因此, 本文就 miRNAs 在成胶质细胞瘤进展中的调控作用等方面作一综述。

[关键词] 微 RNAs; 成胶质细胞瘤; 复发; 肿瘤转移; 细胞增殖

[中图分类号] R 730.264 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0202-04

Role of microRNA in development and progression of glioblastoma

LI Wei-qing¹, LI Yi-ming², XU Mi-die¹, LU Yi-cheng², YU Hong-yu^{1*}

1. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] Glioblastoma, originating from glial cells, is the most commonly seen primary intracranial tumors in adults with extremely poor prognosis. miRNAs are a class of endogenous 18-26 nt non-coding RNAs playing important roles in a variety of biological processes. Recent studies have shown that miRNAs are closely associated with the development and progression of glioblastoma. In this paper, we summarize the regulatory roles of miRNAs in the progression of glioblastoma.

[Key words] microRNAs; glioblastoma; recurrence; neoplasm metastasis; cell proliferation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2):202-205]

胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 约占颅内原发肿瘤的 40%~50%。尽管多年来治疗(包括手术、放疗、化疗等方面)的水平得到了逐步提高, 但脑胶质瘤患者预后的改善仍然有限, 其中成胶质细胞瘤(GBM)患者的 5 年生存率仅为 3.3%, 平均生存期约 1 年^[1]。因此, 了解成胶质细胞瘤发生发展中的调控机制, 有利于寻找选择性杀伤成胶质细胞瘤细胞的新途径、降低成胶质细胞瘤复发率, 甚至根治成胶质细胞瘤。

MicroRNA(简称 miRNA)是细胞内存在的一类由基因组 DNA 编码、长度 18~26 nt 的小分子非编码 RNA, 其通过与靶基因 3' 非编码区的序列特异性结合的方式对基因进行转录后水平的负性调控, 进而影响多种生理和病理过程(如: 细胞增殖、分化、发育、死亡/凋亡、应激、代谢以及肿瘤发生和发展等)^[2]。已经有大量的研究表明: miRNA 在多种不同的恶性肿瘤中可起着癌基因或抑癌基因样的作用^[3-4], 而在对成胶质细胞瘤研究中也已经证明了大量的 microRNA 参与调控成胶质细胞瘤的发生发展^[5-6]。现就 miRNAs 在成胶质细胞瘤进展中的调控作用等方面作一综述。

1 成胶质细胞瘤中 microRNA 的表达

Ciafrè 等^[7]利用 microarray chip 技术, 在 9 对临床肿瘤组织标本(癌及癌旁组织)及 10 种 GBM 细胞系(以正常的成人及胚胎脑组织标本为对照)中检测, 发现: miR-221、miR-21 等 9 种 miRNAs 在恶性胶质瘤中的表达显著上调, 其中 miR-221 上调程度最高; 而 miR-128、miR-181a、miR-181b、miR-181c 等在脑组织中含量丰富的 miRNAs 则表达下调。随后的研究表明: 这些表达水平改变的 miRNAs 可能与 GBM 的发生发展密切相关^[5, 8-9], 甚至有报道表明: 部分 microRNAs 参与调控成胶质细胞瘤的恶性进展^[9]及血管发生^[10]、增殖^[11]、复发和转移^[12]等。

2 成胶质细胞瘤发生、发展中 microRNA 的可能作用

多个实验和临床分析已证明在成胶质细胞瘤发生、发展过程中, miRNAs 表达失控与成胶质细胞瘤发生的关系可能有两种模式: (1)若某些 miRNAs 表达上调, 且其对应靶基因为抑癌基因和(或)调控细胞分化及凋亡相关基因时表达下

[收稿日期] 2010-06-23

[接受日期] 2010-12-09

[基金项目] 上海市自然科学基金(10ZR1439000). Supported by National Natural Science Foundation of Shanghai (10ZR1439000).

[作者简介] 李维卿, 博士生. E-mail: bluehattie@sina.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81886122, E-mail: yuhongyu795@gmail.com

调,导致肿瘤发生,如 miR-21;(2)若某些 miRNAs 表达下调,且其对应靶基因为癌基因和(或)调控细胞分化及凋亡相关基因时表达上调,同样导致肿瘤发生,如 miR-181a。此外,部分 miRNAs 在成胶质细胞瘤的发生发展中发挥重要作用,如:通过负性调控特异性靶基因进而调控肿瘤细胞周期,促进或抑制肿瘤细胞增殖、分化和凋亡等。

2.1 miR-21 肿瘤细胞抗凋亡是导致肿瘤形成中的一个关键因素。Chan 等^[13]首先在成胶质细胞瘤中发现 miR-21 高表达;而封闭 miR-21 功能后,内源性 caspase-3 和 caspase-7 水平明显升高且胶质瘤细胞活性显著下降。此外,有研究发现在成胶质细胞瘤细胞系 T98G 抑制 miR-21 可以增加内源性 PDCD4(programmed cell death 4)的表达,过表达 miR-21 可以抑制由 PDCD4 介导的凋亡反应^[14]。这表明:miR-21 很可能通过抑制与凋亡相关重要基因的表达起到抗凋亡功能。因此,miR-21 被视为治疗成胶质细胞瘤的一个可调控靶点。Corsten 等^[15]的研究表明:miR-21 功能被封闭后,联合应用神经前体细胞(NPC)携带 S-TRAIL(S-TNF-related apoptosis inducing ligand)靶向治疗成胶质细胞瘤,具有协同作用,使成胶质细胞瘤细胞活性显著下降,而且在动物模型内,GBM 细胞完全消失,同时可以检测到 caspase-3 和 caspase-7 水平随着细胞活性下降反而上升,进一步证明了 miR-21 通过靶定调控与凋亡相关重要基因的表达而在成胶质细胞瘤中起到抗肿瘤细胞凋亡的功能;成胶质细胞瘤中,miR-21 还可通过靶定调节 p53/转化生长因子- β /线粒体凋亡肿瘤抑制通路上的许多重要基因进而抑制肿瘤细胞增殖,促进肿瘤细胞凋亡和细胞周期阻滞。这表明:在治疗成胶质细胞瘤的进程中,miR-21 可以作为一个干预靶点,且调控 miRNA 及细胞毒疗法可以作为治疗成胶质细胞瘤的一种联合疗法。除了抗凋亡作用以外,miR-21 还可通过负性调节 RECK 和 TIMP3 等金属蛋白酶(MMPs)抑制剂,导致金属蛋白酶(MMPs)活化后致成胶质细胞瘤侵袭能力增强^[16];其下调可阻抑 EGFR 通路且可能通过上调 PTEN 表达抑制人胶质瘤细胞增殖^[17]。

2.2 miR-221/222 在胶质瘤中除了 miR-21 高表达外,还包括 miR-221/222^[7,18-19],但 miR-221/222 只在高级别的星形细胞瘤(如 WHO IV 级的成胶质细胞瘤)中高表达^[19],且具有促进肿瘤生长的作用。miR-221 和 miR-222 在 X 染色体上位置相邻,可负性调节细胞周期相关基因 p27Kip1 的表达水平^[20],在肿瘤形成中,p27Kip1 起着肿瘤抑制因子的作用,其表达水平在成胶质细胞瘤中下降,且下降的水平与病例的生存时间负相关。有研究表明:在 GBM 细胞中,封闭 miR-221/222 表达水平后,周期蛋白依赖性激酶抑制因子 p27Kip1 高表达,则使 GBM 细胞停滞在 G₁ 期,进而抑制 GBM 细胞增殖^[21]。Zhang 等^[22]发现 miR-221/222 上调可靶作用于促凋亡基因 PUMA,下调 PUMA 蛋白水平从而抑制胶质瘤细胞凋亡。敲除 miR-221/222 后,PUMA 表达水平及细胞凋亡率都显著提高,且在荷瘤裸鼠模型中 GBM 细胞生长增殖能力都有所下降,这证明 miR-221/222 亦可通过靶作

用于凋亡调控关键基因进而在 GBM 中起到促肿瘤细胞生长增殖、抗肿瘤细胞凋亡的功能。此外也有研究表明 miR-221/222 通过 Akt 信号转导通路的活化影响成胶质细胞瘤的生物学性状(侵袭、增殖等)^[9]。

2.3 miR-181 家族 与 Ciafrè 等^[7]的研究结果一致,Shi 等^[23]用茎环(stem-loop) RT-PCR 分析 miR-181a 和 miR-181b 表达水平与神经胶质瘤病理分级的相关性时发现,miR-181 家族在胶质瘤的发生发展中起着抑癌基因的作用,其中 miR-181a 和 miR-181b 在 II、III、IV 级神经胶质瘤组织及 GBM 细胞株(U87、TJ905、U251)中均表达下调,且其表达与病理分级相关。进一步体外实验表明,在 GBM 细胞中过表达 miR-181a 和 miR-181b 可抑制胶质瘤细胞的增殖、诱导肿瘤细胞的凋亡及降低肿瘤细胞的侵袭性。

2.4 其他 miRNA 近年来对一些与高级别胶质瘤高度相关的 miRNAs(angiomirs)研究也逐渐成为热点^[10]。miR-296 可通过上调生长因子受体调控内皮细胞血管生成,体内外实验也证实其封闭后肿瘤血管生成受阻。此外,胶质瘤细胞和血管生长因子(VEGF、EGF)都可诱导人脑微血管内皮细胞及临床标本中分离的胶质瘤内皮细胞中 miR-296 表达,而 miR-296 敲除后血管生成和内皮细胞迁移明显受阻^[10]。这些研究结果表明,相对于正常脑组织,miR-296 在恶性胶质瘤血管中高表达,提示 miR-296 是胶质瘤血管形成的重要调节因素。PDPN 蛋白(黏蛋白型跨膜唾液糖蛋白)在 GBM 中表达上调且与星形细胞瘤的恶性程度及侵袭性相关^[24],研究证实 miR-29b 和 miR-125a 可与 PDPN mRNA 上 3'-UTR 非编码区结合,两者在 GBM 中表达都下调,且上调两者表达水平后 GBM 细胞增殖和侵袭能力受抑,凋亡率显著提高^[25]。这表明 miR-29b 和 miR-125a 可能在 PDPN 相关的 GBM 恶性行为中发挥重要作用。

3 MicroRNA 与成胶质细胞瘤治疗

miRNA 在成胶质细胞瘤发生发展的过程中除了扮演癌基因或抑癌基因样作用外,还与肿瘤对化疗药物的敏感性密切相关。我们的前期研究^[26]发现,在恶性成胶质细胞瘤细胞系 U373MG 中,miR-21 表达水平与 U373MG 细胞对 VM-26 的敏感性呈反比关系;而 Ujifuku 等^[27]运用 miRNA 芯片技术发现 miR-195、miR-455-3p、miR-10a(*)参与调节 GBM 细胞系对化疗药物替莫唑胺的敏感性。

抗凋亡因子 Bax/Bcl-2 低表达可影响 caspase-3 活性,调控多形性恶性胶质瘤细胞凋亡过程,是调节胶质瘤细胞凋亡的主要因素^[28],且与患者预后高度相关^[29-30];Bcl-2 的抗凋亡作用是多种肿瘤细胞化疗的一大障碍^[31]。U87MG 胶质瘤细胞经替莫唑胺干预后 Bax/Bcl-2 比值和 caspase-3 活性显著上升,而该效应在细胞内 miR-21 过表达时显著减弱^[32],提示临床上胶质瘤的替莫唑胺耐药与患者体内 miR-21 过表达所致 Bax/Bcl-2 和 caspase-3 活性降低相关。Ren 等^[33]也发现将 5 氟尿嘧啶(5-FU)干预 U251 人脑胶质瘤细胞同时对细胞予以反义 miR-21 寡核苷酸(as-miR-21)导入,

可大幅度提高 5-FU 的细胞毒性,促使肿瘤细胞大量凋亡,且肿瘤细胞的迁移能力明显受抑。

miRNAs 的表达异常可导致其靶基因表达水平异常,当靶基因与肿瘤细胞对放化疗的反应程度相关时则会通过细胞信号转导通路改变肿瘤细胞对放化疗的敏感性,如 O⁶-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶(MGMT)是一种 DNA 修复酶,该酶可修复亚硝胺类药物和替莫唑胺所致的烷基化或甲基化损伤。因此,下调 MGMT 基因水平可增强应用烷化剂所致细胞毒性效应,从而显著延长化疗患者的生存周期。Slaby 等^[34]发现 miR-181 家族通过 MGMT 基因的甲基化水平可预测成胶质细胞瘤患者联合运用化疗药物替莫唑胺和放疗的治疗效果。此外,有研究表明 miR-181a 通过负性调节凋亡相关基因 Bcl-2 后改变 GBM 细胞对放疗的敏感性^[35]。

综上所述,miRNA 在成胶质细胞瘤的发生、发展中起着重要作用,分离和检测与成胶质细胞瘤相关的 miRNA 分子,阐明其作用机制和临床意义,对于完善成胶质细胞瘤的病因学和分子病理学理论,提高成胶质细胞瘤早期诊断和治疗水平具有重要的意义。

[参考文献]

- [1] Wen P Y, Kesari S. Malignant gliomas in adults[J]. N Engl J Med, 2008, 359: 492-507.
- [2] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116: 281-297.
- [3] Heneghan H M, Miller N, Kerin M J. MiRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer[J]. Curr Opin Pharmacol, 2010, 10: 543-550.
- [4] Imbeaud S, Ladeiro Y, Zucman-Rossi J. Identification of novel oncogenes and tumor suppressors in hepatocellular carcinoma[J]. Semin Liver Dis, 2010, 30: 75-86.
- [5] Jiang L, Mao P, Song L, Wu J, Huang J, Lin C, et al. miR-182 as a prognostic marker for glioma progression and patient survival[J]. Am J Pathol, 2010, 177: 29-38.
- [6] Malzkorn B, Wolter M, Liesenberg F, Grzendowski M, Stühler K, Meyer H E, et al. Identification and functional characterization of microRNAs involved in the malignant progression of gliomas[J]. Brain Pathol, 2010, 20: 539-550.
- [7] Ciafrè S A, Galardi S, Mangiola A, Ferracin M, Liu C G, Sabatino G, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 334: 1351-1358.
- [8] Wong J W. MicroRNA-induced silencing of glioma progression[J]. J Neurosci, 2010, 30: 3868-3869.
- [9] Zhang J, Han L, Ge Y, Zhou X, Zhang A, Zhang C, et al. miR-221/222 promote malignant progression of glioma through activation of the Akt pathway[J]. Int J Oncol, 2010, 36: 913-920.
- [10] Würdinger T, Tannous B A, Saydam O, Skog J, Grau S, Soutschek J, et al. miR-296 regulates growth factor receptor overexpression in angiogenic endothelial cells[J]. Cancer Cell, 2008, 14: 382-393.
- [11] Cui J G, Zhao Y, Sethi P, Li Y Y, Mahta A, Culicchia F, et al. Micro-RNA-128 (miRNA-128) down-regulation in glioblastoma targets ARP5 (ANGPTL6), Bmi-1 and E2F-3a, key regulators of brain cell proliferation[J]. J Neurooncol, 2010, 98: 297-304.
- [12] Xia H, Qi Y, Ng S S, Chen X, Li D, Chen S, et al. microRNA-146b inhibits glioma cell migration and invasion by targeting MMPs[J]. Brain Res, 2009, 1269: 158-165.
- [13] Chan J A, Krichevsky A M, Kosik K S. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells[J]. Cancer Res, 2005, 65: 6029-6033.
- [14] Chen Y, Liu W, Chao T, Zhang Y, Yan X, Gong Y, et al. MicroRNA-21 down-regulates the expression of tumor suppressor PDCD4 in human glioblastoma cell T98G[J]. Cancer Lett, 2008, 272: 197-205.
- [15] Corsten M F, Miranda R, Kasmieh R, Krichevsky A M, Weissleder R, Shah K. MicroRNA-21 knockdown disrupts glioma growth *in vivo* and displays synergistic cytotoxicity with neural precursor cell delivered S-TRAIL in human gliomas[J]. Cancer Res, 2007, 67: 8994-9000.
- [16] Gabriely G, Würdinger T, Kesari S, Esau C C, Burchard J, Linsley P S, et al. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28: 5369-5380.
- [17] Zhou X, Ren Y, Moore L, Mei M, You Y, Xu P, et al. Downregulation of miR-21 inhibits EGFR pathway and suppresses the growth of human glioblastoma cells independent of PTEN status[J]. Lab Invest, 2010, 90: 144-155.
- [18] Lukiw W J, Cui J G, Li Y Y, Culicchia F. Up-regulation of micro-RNA-221 (miRNA-221; chr Xp11.3) and caspase-3 accompanies down-regulation of the survivin-1 homolog BIRC1 (NAIP) in glioblastoma multiforme (GBM)[J]. J Neurooncol, 2009, 91: 27-32.
- [19] Conti A, Aguenouz M, La Torre D, Tomasello C, Cardali S, Angileri F F, et al. miR-21 and 221 upregulation and miR-181b downregulation in human grade II-IV astrocytic tumors[J]. J Neurooncol, 2009, 93: 325-332.
- [20] Gillies J K, Lorimer I A. Regulation of p27Kip1 by miRNA 221/222 in glioblastoma[J]. Cell Cycle, 2007, 6: 2005-2009.
- [21] Zhang C, Kang C, You Y, Pu P, Yang W, Zhao P, et al. Co-suppression of miR-221/222 cluster suppresses human glioma cell growth by targeting p27kip1 *in vitro* and *in vivo*[J]. Int J Oncol, 2009, 34: 1653-1660.
- [22] Zhang C Z, Zhang J X, Zhang A L, Shi Z D, Han L, Jia Z F, et al. MiR-221 and miR-222 target PUMA to induce cell survival in glioblastoma[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 229.
- [23] Shi L, Cheng Z, Zhang J, Li R, Zhao P, Fu Z, et al. hsa-mir-181a and hsa-mir-181b function as tumor suppressors in human glioma cells[J]. Brain Res, 2008, 1236: 185-193.
- [24] Scrideli C A, Carlotti C G Jr, Okamoto O K, Andrade V S, Cortez M A, Motta F J, et al. Gene expression profile analysis of primary glioblastomas and non-neoplastic brain tissue: identification of potential target genes by oligonucleotide microarray and real-time quantitative PCR[J]. J Neurooncol, 2008, 88: 281-291.
- [25] Cortez M A, Nicoloso M S, Shimizu M, Rossi S, Gopisetty G,

- Molina J R, et al. miR-29b and miR-125a regulate podoplanin and suppress invasion in glioblastoma[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 49:981-990.
- [26] Li Y, Li W, Yang Y, Lu Y, He C, Hu G, et al. MicroRNA-21 targets LRRFIP1 and contributes to VM-26 resistance in glioblastoma multiforme[J]. *Brain Res*, 2009, 1286:13-18.
- [27] Ujifuku K, Mitsutake N, Takakura S, Matsuse M, Saenko V, Suzuki K, et al. miR-195, miR-455-3p and miR-10a(*) are implicated in acquired temozolomide resistance in glioblastoma multiforme cells[J]. *Cancer Lett*, 2010, 296:241-248.
- [28] Manero F, Gautier F, Gallenne T, Cauquil N, Grée D, Cartron P F, et al. The small organic compound HA14-1 prevents Bcl-2 interaction with Bax to sensitize malignant glioma cells to induction of cell death[J]. *Cancer Res*, 2006, 66:2757-2764.
- [29] Shinoura N, Yoshida Y, Nishimura M, Muramatsu Y, Asai A, Kirino T, et al. Expression level of Bcl-2 determines anti- or proapoptotic function[J]. *Cancer Res*, 1999, 59:4119-4128.
- [30] Cartron P F, Oliver L, Martin S, Moreau C, LeCabellec M T, Jezequel P, et al. The expression of a new variant of the pro-apoptotic molecule Bax, Baxpsi, is correlated with an increased survival of glioblastoma multiforme patients[J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11:675-687.
- [31] Wick W, Grimm C, Wild-Bode C, Platten M, Arpin M, Weller M. Ezrin-dependent promotion of glioma cell clonogenicity, motility, and invasion mediated by BCL-2 and transforming growth factor-beta2[J]. *J Neurosci*, 2001, 21:3360-3368.
- [32] Shi L, Chen J, Yang J, Pan T, Zhang S, Wang Z. MiR-21 protected human glioblastoma U87MG cells from chemotherapeutic drug temozolomide induced apoptosis by decreasing Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 activity[J]. *Brain Res*, 2010, 1352:255-264.
- [33] Ren Y, Kang C S, Yuan X B, Zhou X, Xu P, Han L, et al. Co-delivery of as-miR-21 and 5-FU by poly(amidoamine) dendrimer attenuates human glioma cell growth *in vitro*[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2010, 21:303-314.
- [34] Slaby O, Lakomy R, Fadrus P, Hrstka R, Kren L, Lzicarova E, et al. MicroRNA-181 family predicts response to concomitant chemoradiotherapy with temozolomide in glioblastoma patients[J]. *Neoplasma*, 2010, 57:264-269.
- [35] Chen G, Zhu W, Shi D, Lv L, Zhang C, Liu P, et al. MicroRNA-181a sensitizes human malignant glioma U87MG cells to radiation by targeting Bcl-2[J]. *Oncol Rep*, 2010, 23:997-1003.

[本文编辑] 贾泽军

· 书 讯 ·

《养生其实很简单》和《医话药考》已出版

《养生其实很简单》由凌昌全、朱德增主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0165-9, 32开彩印,定价15.00元。

该书对于中医的有关理论和实际运用做了深入浅出的描述,从多个角度对自我保健、健康养生进行了详细的解说,不仅可供相关的患者参考使用,还非常适合于对中医养生感兴趣的广大读者阅读与学习。

《医话药考》由潘纲主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0104-8,32开,定价:23.00元。

该书由一生专注于中医药临床工作的医生所作,融入了作者一生的经验,内容涉及中医临床最常见的56种病证的治疗,52种常用中药材的辨伪和应用。该书适合各级中医药从业人员和对中医药感兴趣的读者阅读学习。

以上两书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通信地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595, 65493093

<http://www.smmup.com>