

# 胶质瘤及肿瘤干细胞抑制剂—MicroRNA-34a

梁朝辉 郭成永 综述 焦保华 审校

河北医科大学第二医院神经外科,河北 石家庄 050000

**摘要:**微小 RNA (MicroRNA, miRNA) 是一类内源性、保守、稳定的非编码短单链 RNA, 在转录后水平调节靶基因表达。miR-34a 作为微小 RNA 家族一员, 具有抑制多种肿瘤生长的特性, 并在胶质瘤中表达下调。miR-34a 能够通过多种机制抑制脑胶质瘤细胞的生长, 包括抑制肿瘤细胞 c-Met、Bcl-2 原癌基因的表达、抑制 Notch 信号转导、与抑癌基因 p53 形成正反馈环路, 达到诱导肿瘤细胞凋亡的作用。另外, miR-34a 在诱导胶质瘤肿瘤干细胞分化为正常的神经细胞过程中起重要作用, 因此 miR-34a 有可能成为恶性胶质瘤基因治疗的潜在靶点。

**关键词:** miR-34a; 胶质瘤; 肿瘤干细胞; 基因治疗

目前, 对于胶质瘤患者的治疗, 虽然给予积极的手术、放、化疗等治疗措施, 但患者预后仍较差。文献报道<sup>[1]</sup>, WHO 分级 3 级的胶质瘤患者平均生存期约 3-5 年, 多形性胶质母细胞瘤患者平均生存期尚不足 1 年, 寻找胶质瘤治疗的新靶点及治疗策略的调整, 是我们当前亟待解决的难题。miRNA 是一类非编码小分子 RNA, 是真核生物基因表达中的一类负调控因子, 其与靶基因 mRNA 3' 非编码区完全或部分互补结合, 促进 RNA 降解、抑制 RNA 转录及翻译, 调节基因表达, 从而实现蛋白水平的调控<sup>[2]</sup>。越来越多的研究表明<sup>[3]</sup>, miRNA 涉及胶质瘤细胞的发生、增殖、分化、凋亡等功能, miRNA 异常表达与胶质瘤形成密切相关。miR-34 是由 Lau 等人<sup>[4]</sup>于 2001 年在线虫体内首先发现。近来, Guessous<sup>[5]</sup>发现 miR-34 的亚单位——miR-34a, 对脑胶质瘤细胞的生长产生抑制作用及诱导肿瘤干细胞分化, 从而达到抑制胶质瘤生长的目的。因此本文就 miR-34a 在肿瘤中的研究做一回顾, 以揭示它在胶质瘤生长调控中的作用。

## 1 miR-34 家族

目前在近 50 种物种中发现了 83 个 miR-34 家族成员, 由 3 种同源 miRNA 分子组成——miR-34a、miR-34b 和 miR-34c, 三者都具有抑制肿瘤生长的特性。其中 miR-34a 由位于 1 号染色体 p36.23 基因编码, 而 miR-34b/miR-34c 基因簇则由位于 11 号染色体 q23 基因编码。小鼠体内, miR-34a 主要在脑组织中表达<sup>[6]</sup>, 而 9miR-34b/c 主要

在肺组织中表达<sup>[7]</sup>, 这项研究还表明除肺组织以外的所有组织中 miR-34a 的表达均高于 miR-34b/c 表达, 因此 miR-34 具有组织特异性。但 miR-34 家族在进化上非常保守, 从低等生物到人类均存在保守的、单一同源识别序列<sup>[8]</sup>。

## 2 miR-34a 与肿瘤

起初, 研究者发现 miR-34a 具有抑制儿童神经母细胞瘤生长及诱导肿瘤细胞凋亡的功能<sup>[9]</sup>。仅在短短的时间内, 人们几乎同时发现 miR-34a 在胰腺癌<sup>[10]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[11]</sup>等多肿瘤中表达下调或缺失, 并且他们得出 miR-34a 表达下调或缺失与肿瘤的发生及肿瘤细胞增殖之间的关系密切, 而且 miR-34a 表达水平能够反映患者的预后。除此之外, 在结肠癌<sup>[12]</sup>、口腔鳞状细胞腺癌<sup>[13]</sup>及恶性黑色素瘤<sup>[14]</sup>中发现 miR-34b/c CpG 岛甲基化现象, 并且与肿瘤的转移密切相关。因此, 可以说 miR-34a、miR-34b/c 表达下调在肿瘤的发生、发展过程中是一种普遍现象。

## 3 miR-34a 与 p53

p53 作为最重要的抑癌基因, 通过其下游因子的激活调控细胞的生长与凋亡, 随着对 MicroRNA 认识的逐渐增多, miR-34 家族是否参与了 p53 网络调控的研究, 引起了研究者的极大兴趣。He 等<sup>[15]</sup>对 p53 野生型及缺失型鼠胚胎成纤维细胞中的 145 种 miRNA 进行 RT-PCR 检测, 发现 miR-34a、miR-34b、miR-34c 的表达与 p53 基因密切相关。Tarasov<sup>[16]</sup>通过建立肺癌 H1299 细胞系 p53 基

收稿日期: 2010-12-17; 修回日期: 2011-04-06

作者简介: 梁朝辉 (1979-), 男, 博士, 主治医师, 主要从事胶质瘤基础与临床研究。

通讯作者: 焦保华 (1954-), 男, 教授, E-mail: jiaobh2000@163.com

因激活模型,发现激活 p53 或诱导 p53 表达后, miR-34a 表达显著升高,探索其发生机理是由于 miR-34a 与 p53 经典结合区域存在相同的回文序列<sup>[12]</sup>。目前研究发现, miR-34a 接受 p53 基因调控的同时,通过一定途径也能够上调 p53 基因, p53 激活导致 miR-34a 过表达, miR-34a 的过表达能够抑制 E2F3 和 SIRT1 基因,从而上调 p53 表达,而 p53 基因则能够再度激活 miR-34a,形成 p53-miR-34a 正向调节环路<sup>[17]</sup>。miR-34a 被 p53 激活后,具有抑制肿瘤细胞生长,诱导肿瘤细胞凋亡的功能<sup>[13]</sup>。

Li<sup>[18]</sup>发现多形性胶质母细胞瘤中 miR-34a 的表达水平低于正常脑组织的表达。而 Guessous 等<sup>[6]</sup>人发现, p53-野生型多形性胶质母细胞瘤 miR-34a 的表达高于 p53 突变型,但是 p53-野生型多形性胶质母细胞瘤组织和正常脑组织中的 miR-34a 表达水平差别很小,推测多形性胶质母细胞瘤中 p53 的突变并不完全由于 miR-34a 表达下调所致,同样 miR-34a 的表达下调应当亦有其它因素的共同参与。

#### 4 miR-34a 在胶质瘤中表达下调

对胶质瘤中 microRNA 的研究始于 Ciafre 等<sup>[19]</sup>人于 2005 年应用 miRNA 芯片技术检测 245 个 miRNAs 在胶质瘤中的表达。目前,与胶质瘤密切相关且人们研究较多的 MicroRNA,主要分为两大类,第一类在胶质瘤中呈高表达或促进肿瘤细胞增殖的 MicroRNA 包括: miRcro-21、miRcro-123、miRcro-221;第二类在胶质瘤中呈低表达或具有抑制肿瘤细胞增殖的 MicroRNA 包括: miRcro-128、miRcro-181、miRcro-181b、miRcro-146b、miRcro-7、miRcro-124、miRcro-137。随着对 miR-34 家族成员研究的逐渐增多,近来, Guessous 等<sup>[6]</sup>人发现,与正常人脑组织相比, miR-34a 在人多形性胶质母细胞瘤中表达下调,对于 miR-34a 表达下调的原因,他认为这是由于下列三种机制共同作用的结果:①与 p53 突变有关;②多数胶质瘤,染色体 1p 的缺失与染色体臂缺失有关,70% ~ 85% 的少突胶质细胞瘤和 20% ~ 30% 的星形细胞瘤 1p 等位基因缺失,而 miR-34a 位于 1 号染色体 p36 区,因此 miR-34a 表达缺失部分是由于基因缺失所致<sup>[20]</sup>。③支持 Lodygin<sup>[21]</sup>报道的多种肿瘤 CpG 岛异常甲基化能够抑制 miR-34a 的激活,但他认为少突胶质细胞瘤中 1p 缺失发生频繁,推测 miR-34a 表达下降与染色

体缺失密切相关。然而非小细胞肺癌<sup>[7]</sup>中 miR-34a 表达缺失却与上述机制并无直接联系,它的表达可能还受到多种调控机制的共同参与。

#### 5 miR-34a 作用途径

miR-34a 可以作用于包含某些原癌基因在内的特定靶点, Guessous 等<sup>[6]</sup>首先发现 miR-34a 可以抑制人胶质瘤和髓母细胞瘤细胞株原癌基因 c-Met 的表达,也可以抑制胶质瘤细胞株中 Notch1, Notch2 和 CDK6 (cyclin-dependent kinases) 蛋白的表达,从而得出 c-Met、Notch1 和 Notch2 是 miR-34a 作用的直接靶点。但对于血小板源性生长因子受体 (platelet-derived growth factor receptor alpha, PDG-FRA) 蛋白却没有影响<sup>[18]</sup>。MiR-34a 能够抑制胶质瘤和髓母细胞瘤细胞株的生长、增殖,但对人星形细胞却没有此作用<sup>[22]</sup>,推测其机理是由于 MiR-34a 可以抑制肿瘤细胞中高表达的原癌基因,达到肿瘤生长抑制的目的,而正常星形细胞中的原癌基因表达水平非常低,所以向正常星形细胞内转染 miR-34a 后,不会引起正常星形细胞生长减慢或死亡,这就启示人们可以通过向肿瘤干细胞内转染 miR-34a,抑制肿瘤细胞的生长,从而应用于恶性肿瘤的临床治疗。

另外, miR-34a 除了上述靶点外, miR-34a 还可以作用于 Bcl-2 和 E2F3 基因。Bcl-2 蛋白作为一种原癌基因的产物在大多数肿瘤中都有过度表达,具有抗细胞凋亡功能,在肿瘤的发生、发展以及耐药性等方面具有重要作用<sup>[23]</sup>。Cole 等<sup>[24]</sup>通过对神经母细胞瘤细胞株中 miR-34a 表达调控的研究,发现诱导 MiR-34a 高表达能够导致 Bcl-2 mRNA 的减少,抑制 Bcl-2 蛋白的合成。有研究表明<sup>[7]</sup>向高表达 Bcl-2 蛋白的 SW480 细胞系转染 miR-34a 能够增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。E2F 是一组能够编码转录调节因子的基因,其家族成员在哺乳动物细胞周期的 G1/S 期转变过程中扮演着重要角色。Welch 和 Tazawa 等人<sup>[9,25]</sup>研究发现 miR-34a 能直接作用于 E2F 基因,通过下调其蛋白的表达影响细胞周期。Akao 等<sup>[26]</sup>向耐药的结肠癌 DLD-1 细胞株转染 miR-34a,发现它能提高 5-氟尿嘧啶的药物敏感性,其机理主要是通过 miR-34a 靶向 sirt1 和 E2F3 基因发挥作用。Zenz 等<sup>[27]</sup>研究发现慢性淋巴细胞白血病中 miR-34a 表达下降,这种现象与 p53 突变,肿瘤细胞耐药性、DNA 受损及细胞凋亡减少有关。提示人们可以通过检测 miR-34a 表达

水平来判断患者预后及其对化疗药物的敏感性,而且,也可以通过提高 miR-34a 表达水平,来预防化疗耐药性的发生。

## 6 miR-34a 对胶质瘤肿瘤干细胞恶性度及分化的影响

Guessous 等<sup>[6]</sup>研究表明,向 0308 和 1228 系肿瘤干细胞内转染 miR-34a,能够抑制肿瘤细胞增殖、迁移、诱导肿瘤细胞发生凋亡、使细胞停滞于 G1/S 期的功能,并且他们还发现转染 miR-34a 后的肿瘤干细胞,肿瘤干细胞特异性标记物 CD133 和 NESTIN 表达降低,同时伴有星形细胞特异性标记物 GFAP 表达的增高,这说明 miR-34a 具有诱导肿瘤干细胞分化成熟为星形细胞、神经元及少突胶质细胞的潜力。这也启示人们,通过提高 miR-34a 表达水平抑制分化成熟的恶性肿瘤细胞的生长及诱导肿瘤干细胞的分化,从而达到治疗胶质瘤的目的。

## 7 结语

miR-34a 作为一种肿瘤生长抑制因子,在胶质瘤中表达下调。miR-34a 能通过多种机制抑制脑胶质瘤的生长,包括抑制原癌基因的表达、阻断 Notch 信号通路的转导,并且在诱导胶质瘤肿瘤干细胞的分化、抑制恶性肿瘤细胞增殖等方面具有重要作用,因此 miR-34a 有可能成为恶性胶质瘤基因治疗的潜在靶点。然而,有关 miRNA 的研究还存在许多难点,如 miR-34a 作用途径的多态性、调控机制的复杂性使得同一种 miRNA 可以靶定不同的基因,由其带来的链锁反应仍还未知。另外,miRNA 稳定性差、半衰期短、作用机制、靶基因的选择及如何有效地将 miRNA 在体内成功导入靶细胞,都需要更进一步的深入研究。

### 参 考 文 献

[1] Quon H, Abdulkarim B. Adjuvant treatment of anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas. *Cochrane database syst Rev*, 2008, (2): CD007104.

[2] Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4: 199-277.

[3] Conti A, Aguenouz M, La Torre D, et al. miR-21 and 221 upregulation and miR-181b downregulation in human grade II-IV astrocytic tumors. *J Neurooncol*, 2009, 93(3): 325-32.

[4] Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, et al. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, 294(5543): 858-862.

[5] Guessous F, Zhang Y, Kofman A, et al. microRNA-34a is tumor suppressive in brain tumors and glioma stem cells. *Cell Cycle*, 2010, 9(6): 1031-1036.

[6] Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, et al. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle*, 2008, 7(16): 2591-2600.

[7] Bommer GT, Gerin I, Feng Y, et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol*, 2007, 17(15): 1298-1307.

[8] Kato M, Paranjape T, Müller RU, et al. The mir-34 microRNA is required for the DNA damage response in vivo in *C. elegans* and in vitro in human breast cancer cells. *Oncogene*, 2009, 28(25): 2419-2424.

[9] Welch C, Chen Y, Stallings RL. MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene*, 2007, 26(34): 5017-5022.

[10] Ji Q, Hao X, Zhang M, et al. MicroRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6816.

[11] Gallardo E, Navarro A, Vinolas N, et al. miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 2009, 30(11): 1903-1909.

[12] Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, et al. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4123-4132.

[13] Li N, Fu H, Tie Y, et al. miR-34a inhibits migration and invasion by down-regulation of c-Met expression in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett*, 2009, 275(1): 44-53.

[14] Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(36): 13556-13561.

[15] He L, He XY, Lim LP, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*, 2007, 447(7148): 1130-1134.

[16] Tarasov V, Jung P, Verdoodt B, et al. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. *Cell Cycle*, 2007, 6(13): 1586-1589.

[17] Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ. MiR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(36): 13421-13426.

[18] Li Y, Guessous F, Zhang Y, et al. MicroRNA-34a inhibits glioblastoma growth by targeting multiple oncogenes. *Cancer Res*, 2009, 69(19): 7569-7576.

[19] Ciaffè SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Bio-*

phys Res Commun, 2005, 334(4):1351-1358.

[20] Barbashina V, Salazar P, Holland EC, et al. Allelic losses at 1p36 and 19q13 in gliomas: correlation with histologic classification, definition of a 150-kb minimal deleted region on 1p36, and evaluation of CAMTA1 as a candidate tumor suppressor gene. Clin Cancer Res, 2005, 11(13):1119-11128.

[21] Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, et al. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. Cell Cycle, 2008, 7(16):2591-2600.

[22] Li Y, Guessous F, DiPierro C, et al. Interactions between PTEN and the c-Met pathway in glioblastoma and implications for therapy. Mol Cancer Ther, 2009, 8(2):376-385.

[23] Han Z, Hong L, Han Y, et al. Phospho Akt mediates multi drug resistance of gastric cancer cells through regulation of P-gp, Bcl-2 and Bax. J Exp Clin Cancer Res, 2007, 26(2):261-268.

[24] Cole KA, Attiyeh EF, Mosse YP, et al. A functional screen identifies miR-34a as a candidate neuroblastoma tumor suppressor gene. Mol Cancer Res, 2008, 6(5):735-742.

[25] Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, et al. Tumor suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(39):15472-15477.

[26] Akao Y, Noguchi S, Lio A, et al. Dysregulation of microRNA-34a expression causes drug-resistance to 5-FU in human colon cancer DLD-1 cells. Cancer Lett, 2011, 300(2):197-204.

[27] Zenz T, Mohr J, Eldering E, et al. MiR-34a as part of the chemotherapy resistance network in chronic lymphocytic leukemia. Blood, 2009, 113(16):3801-3808.

## 逆转肿瘤细胞对 TRAIL 耐药的研究进展

陈剑<sup>1</sup> 孙彦春<sup>1</sup> 综述 李新钢<sup>2</sup> 审校

1 山东省济宁市第一人民医院神经外二科, 山东 济宁 272111

2 山东大学齐鲁医院神经外科, 山东 济南 250012

**摘要:**肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)为近年来发现的 TNF 超家族新成员,因其特异性诱导肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞无毒性,近年来成为在诱导肿瘤细胞凋亡研究的热点。但随着研究的深入,发现 TRAIL 对肝细胞的损害及部分肿瘤细胞对 TRAIL 的耐药限制了其进一步的临床应用。本文将就近年来在逆转肿瘤细胞对 TRAIL 耐药的策略上做一综述。

**关键词:**肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体;抗药性;肿瘤耐药

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)的发现为人类治疗肿瘤开辟了一条新的途径,其选择性诱导肿瘤细胞凋亡,且对正常组织细胞没有明显毒副作用的特性越来越受到人们的关注。化疗是恶性肿瘤辅助治疗的一个主要手段,然而化疗药物的毒副作用往往使治疗陷入困境,而且不断出现的肿瘤耐药性也给继续有效化疗带来新的挑战。因此寻找一种可以有效杀伤肿瘤细胞,又不会产生严重毒副作用,且在治疗过程中很少产生耐药,或者

即使产生耐药也能够很好克服的治疗方案是肿瘤治疗努力的方向之一。

### 1 TRAIL 及其受体的分子特点

TRAIL 为近年来发现的 TNF 超家族新成员,1995 年 Wiley 等<sup>[1]</sup>从人心肌 cDNA 文库中克隆出与细胞凋亡配体 1(Apo1L)具有较高同源性的 TNF 超家族成员,命名为 Apo2L(Apoptosis-2 Ligand),即 TNF 相关的凋亡配体 TRAIL。广泛分布于人体多种组织,如胎肝、胎肺、胎肾以及成人脾、胸腺、前列腺、卵巢、小肠、结肠、外周血淋巴细胞、心脏、胎

收稿日期:2011-02-16;修回日期:2011-04-26

作者简介:陈剑,男,(1969-),山东人,医学博士,副主任医师,副教授,硕士生导师,主要从事胶质瘤的基础及临床研究。

李新钢,男,(1959-),医学博士,主任医师,教授,博士生导师,主要从事胶质瘤的基础及临床研究。