

微核糖核酸在肿瘤血管生成中的调节作用*

于潇华 郭小芳 田 智 粟 敏 周 锋 刘立鹏[△]

(长沙医学院 湖南 长沙 410219)

摘要 微核糖核酸(microRNAs, miRNAs)是广泛存在于真核生物中的一类短小的、不编码蛋白质的RNA家族,由18-25个核苷酸组成的单链RNA。研究表明microRNAs对肿瘤的发生发展具有重要的调节作用。肿瘤血管生成是实体瘤侵袭转移的关键步骤,抗肿瘤血管生成的治疗已成为当前研究的焦点,已有研究表明,microRNAs参与肿瘤血管生成的调节作用,通过对肿瘤血管生成相关因子的调控,影响肿瘤生成。

关键词 :microRNAs 肿瘤血管生成 调节作用

中图分类号 R730.231 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)06-1175-03

The regulation of microRNAs in tumor angiogenesis*

YU Xiao-hua, GUO Xiao-fang, TIAN Zhi, SU Min, ZHOU Feng, LIU Li-peng[△]

(Department of Basic Medical, Changsha Medical College, Changsha, Hunan 410219, China)

ABSTRACT: MicroRNAs (miRNAs) are an abundant class of small non-coding RNAs, which are single-stranded RNA of 18-25 nt. Researches have showed that microRNAs has play an important role in regulating the tumorigenesis. Tumor angiogenesis is a key step in invasion and metastasis of solid tumors, the current researches are going to focus on the anti-angiogenesis therapy. Studies have shown that microRNAs involved in the regulation of tumor angiogenesis, which affect tumorigenesis by adjusting tumor angiogenesis factors.

Key words: microRNAs; tumor angiogenesis; regulation

Chinese Library Classification: R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)06-1175-03

前言

肿瘤的血管生成是一个非常复杂的病理生理过程,是指肿瘤细胞通过分泌促血管生成因子激活静息状态的内皮细胞,使之增殖、迁移至肿瘤附近,并形成毛细血管网包裹。肿瘤血管的生成,一方面是由于肿瘤细胞释放血管生成因子激活血管内皮细胞,促进内皮细胞的增殖和迁移,另外一方面也是因为内皮细胞旁分泌某些血管生长因子刺激肿瘤细胞的生长。近年来,研究肿瘤血管生成中起重要作用的关键分子,寻找抗肿瘤血管生成的特异性靶点成为医学研究的热点。

microRNAs(miRNAs)是一类进化保守的内源性非编码单链小分子RNA,目前大量的研究发现microRNAs在肝癌^[1]、结肠癌^[2]、肺癌^[3]、鼻咽癌^[4]、宫颈癌^[5]等肿瘤中具有重要的调节作用。近期研究发现,microRNAs可通过调控肿瘤血管生成中的相关因子,如HIF-1,VEGF,p53等,从而影响肿瘤的生成。

1 microRNA的生物合成及作用机制

1993年, Lee^[6]等在秀丽新小杆线虫(Caenorhabditis elegans)进行突变体的遗传分析中意外发现第一个microRNA,命名为lin-4 RNA,并首次发现microRNAs可在转录后水平上调控基因的表达。绝大多数microRNAs由RNA聚合酶II(Pol II)来进行转录,但某些microRNAs也可以通过RNA聚合酶III(Pol III)

进行转录。在哺乳动物细胞里面,原始转录物(pri-microRNA)被细胞核内双链RNA内切酶(被称为Drosha)剪切成60~70nt的前体microRNAs(pre-microRNA),然后通过Exportin-5与它的辅助因子Ran-GTP转运到细胞浆。最后,由Dicer酶剪切生成长度约为21nt的成熟体microRNAs。成熟microRNA结合到RNA诱导的基因沉默复合物(RNA induced silencing complex, RISC)中发挥作用^[7]。

目前,越来越多的研究资料表明microRNAs参与了基因表达的调控,对其机制的探讨也越来越备受关注,迄今为止,已经明确的调控分子机制主要有三个方面,一是通过小片段干扰RNA(siRNA)机制对mRNA进行特异性降解;其特异性表现为,被降解的mRNA要具有与microRNAs精确互补的核苷酸序列,这在植物中较为常见^[8];另一方面是,microRNAs通过目前不明原理的途径控制蛋白的翻译,这一功能只需要靶mRNA与microRNAs序列不精确的互补^[9];第三方面,最近有发现提示,一些内含子源性microRNAs可能在转录水平对基因的表达进行调控^[10]。然而,对基因调控的关键性环节及分子机制不明。

2 miR-17-92簇与肿瘤血管生成

miR-17-92簇由7种microRNAs(miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18a, miR-19a, miR-20, miR-19b-1和miR-92-1)组成,在多

* 基金项目 湖南省自然科学基金资助项目(7JJ3058)

作者简介:于潇华(1984),女,硕士研究生,主要从事分子药理学研究

[△]通讯作者:刘立鹏(1968),男,教授,博士,主要从事医学生物化学教学与研究, E-mail:llp686@126.com

(收稿日期 2010-10-20 接受日期 2010-11-16)

种肿瘤中表达上调^[11],而且 miR-17-92 在肿瘤细胞中促进细胞增殖,抑制细胞分化,增加血管生成^[12]。

Dews 等人^[13]发现 miR-17-92 基因簇会被原癌基因 c-Myc 激活,而且在 k-RAS 转化的肠道细胞中过表达 miR-17-92 后,小鼠皮下或是结肠的原位成瘤实验都表明 miR-17-92 能够促进肿瘤血管的生长。进一步研究表明,miR-18 和 miR-19 能分别抑制肿瘤细胞中抑血管生成基因结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF) 及凝血酶敏感蛋白 1(thrombospondin-1, TSP1)的表达。

在体外过表达的 miR-17, -18a, -19a, 和 -20a 显著抑制三围球体发芽,抑制 miR-17, -18a, -19a 和 -20a 的表达,血管内皮细胞形成的萌芽的能力增强。在体内抑制 miR-17 和 miR-20a 的表达,显著增加基底膜中新血管的数量,然而,系统性的抑制 miR-17/20 不能影响肿瘤血管生成,进一步的研究表明 miR-17/20 打靶一些促进血管形成的基因^[14]。

而先前 He 等人^[15]发现,在 c-Myc 转基因鼠中过表达 miR-17-92 基因簇,其促进肿瘤发生发展的作用明显强于单一家族成员的过表达,提示了该家族各成员可能是通过对不同靶标的调控,继而对肿瘤发生中的肿瘤细胞增殖、血管生成等不同环节进行调节。

3 miR-107 与肿瘤血管生成

Yamakuchi 等^[16]发现 p53 在转录水平通过调节 miR-107 进而调控缺氧信号。miR-107 在人类结肠癌中表达,并且受 p53 调节。miR-107 通过抑制缺氧诱导因子-1 β (HIF-1 β)降低缺氧信号。在人类结肠癌细胞系中敲除内源性的 miR-107 导致 HIF-1 β 和缺氧信号的增加。相反地,过表达的 miR-107 抑制 HIF-1 β 和缺氧信号。miR-107 高表达的结肠癌细胞注入鼠体内后,肿瘤血管生成,肿瘤生长和肿瘤血管内皮生长因子的表达受到抑制。进一步实验提示 miR-107 通过 p53 调节缺氧信号和肿瘤血管生成。

4 miR-519c 与肿瘤血管生成

Cha 等^[17]认为 miR-519c 是 HIF-1 α 的一种与缺氧无关的调节因子,其作用方式是绑定在 HIF-1 α 3' 端的非翻译区,并且减少肿瘤血管生成。过表达的 miR-519c 导致人脐静脉内皮细胞中 HIF-1 α 蛋白表达量下降,且管结构形成减少,同样,抑制 miR-519c 的表达,HIF-1 α 蛋白表达量增加,血管生成活性增强。miR-519c 高表达的癌症患者具有良好的预后,小鼠注入 miR-519c 高表达的细胞后,HIF-1 α 的水平显著降低,并且抑制肿瘤血管生成,生长和转移。另外,肝细胞生长因子(HGF),一种已知的 HIF-1 α 的诱导因子,可以通过一种 Akt 依赖的途径降低 miR-519c 的水平,这种调节是一种转录后调节,并且可能抑制 miR-519c 的成熟。

5 miR-378 与肿瘤血管生成

Lee 等^[18]通过实验发现,miR-378 的表达提高细胞生存,降低 caspase-3 的活性,并且提高肿瘤生长和肿瘤血管新生。miR-378 通过抑制融合抑制因子 Sufu 和 Fus-1,促进血管生成。Sufu 和 Fus-1 在肿瘤转移中具有抑制功能,miR-378 可靶向抑

制 Sufu 和 Fus-1 的表达,促进肿瘤细胞生长与肿瘤血管生成,加速肿瘤转移。

6 miR-296 与肿瘤血管生成

神经胶质瘤细胞中,生长因子诱导的 miR-296 极大地促进血管生成,通过打靶肝细胞生长因子调节的酪氨酸激酶底物(HGS),导致 HGS 水平的降低,从而减少 HGS 介导的生长因子受体 VEGFR2 和 PDGFR β 的降低。此外,抑制 miR-296,体内移植瘤血管生成减少^[19]。

7 miR-132 与肿瘤血管生成

Anand 等^[20]发现 miR-132 在人类肿瘤及血管瘤内皮细胞中高表达,但在正常内皮细胞未检测到。在体外血管内皮细胞中,异位表达的 miR-132 增加细胞的增殖和管形成的能力。p120RasGAP 是 miR-132 的预测靶位点,在正常内皮细胞中表达,但在肿瘤血管内皮细胞中不表达。利用血管定位纳米粒子运送 anti-miR-132 能够恢复 p120RasGAP 在肿瘤内皮中的表达,抑制血管生成。实验结果提示 miR-132 通过抑制 p120RasGAP 的表达充当内皮细胞中血管生成的开关,导致 Ras 活化和诱导血管新生,而 anti-miR-132 抑制血管生成,维持血管在休眠状态。

8 其他 microRNAs 与肿瘤血管生成

Chen 以及 Rhoads 等^[21,22]通过反义寡核苷酸技术降低 miR-130a 表达后,HOXA5 蛋白过表达,进而下调 VEGFR、HIF-1 等促血管生成因子的表达,抑制肿瘤转移。另外,Ma 等^[23]认为 miR-9 介导上皮细胞钙粘蛋白下调,引起 β -连环蛋白信号的活化,进而引起 VEGF 表达上调,最终导致肿瘤血管生成增加。

9 结语

理论上,肿瘤的抗血管生成治疗比传统的抗肿瘤治疗具有许多优越性。首先,抗肿瘤血管生成治疗的靶细胞是肿瘤血管内皮细胞或促血管生成因子及其相关受体,它们在遗传学上是稳定的,不容易产生抗药性。其次,抗肿瘤血管生成治疗药物的靶细胞可以是肿瘤血管内皮细胞本身,不受血管内皮屏障的影响。再者,大多数正常血管内皮细胞是分化成熟具有低增殖率的细胞,而肿瘤血管内皮细胞是低分化并具有高增殖率的细胞,它们与正常血管内皮细胞在基因、表型和功能上都有明显差别^[24-26],因此,抗肿瘤血管生成治疗更容易做到对肿瘤的高选择性。

目前,抗肿瘤血管形成的药物已经有大量药物进入临床。但在临床应用,诸多血管形成抑制剂并未出现人们期待的奇迹般的效果,而筛选与肿瘤血管生成相关的 microRNAs,作为肿瘤血管生成抑制的靶点,可以阻断肿瘤发生发展的多个环节,克服当今肿瘤治疗中单一靶标药物易产生耐药性的缺陷,为治愈肿瘤提供新的策略。

参考文献(References)

- [1] Su H, Yang JR, Xu T, et al. MicroRNA-101, down-regulated in hepatocellular carcinoma, promotes apoptosis and suppresses tumorigenic-

- ity[J]. Cancer Res, 2009, 69(3): 1135-1142
- [2] Bandré s E, Cubedo E, Agirre X, et al. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues[J]. Mol Cancer, 2006, 5: 29
- [3] Liu X, Sempere LF, Galimberti F, et al. Uncovering growth-suppressive MicroRNAs in lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(4): 1177-1183
- [4] Sengupta S, den Boon JA, Chen IH, et al. MicroRNA 29c is down-regulated in nasopharyngeal carcinomas, up-regulating mRNAs encoding extracellular matrix proteins [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2008, 105(15): 5874-5878
- [5] 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
- [6] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854
- [7] Novina CD, Sharp PA. The RNAi revolution [J]. Nature, 2004, 430(6996): 161-164
- [8] Hutvágner G, Zamore PD. A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex[J]. Science. 2002, 297(5589): 2056-2060
- [9] Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. SiRNA can function as miRNAs [J]. Gene Dev, 2003, 17: 438-442
- [10] Ou H, Shen YH, UtamaB, WangX, Coselli J, Wang XL. Effect of nuclear actin on endothelial nitric oxide synthase expression[J]. Arterioscler Thromb Vas Biol, 2005, 25(12): 2509-2514
- [11] Mendell J T. miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease[J]. Cell, 2008, 133(2): 217-222
- [12] Olive V, Jiang I, He L. mir-17-92, a cluster of miRNAs in the midst of the cancer network [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(8): 1348-1354
- [13] Dews M, Homayouni A, Yu D N, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster[J]. Nat Genet, 2006, 38(9): 1060-1065
- [14] Doebele C, Bonauer A, Fischer A, et al. Members of the microRNA-17-92 cluster exhibit a cell-intrinsic antiangiogenic function in endothelial cells[J]. Blood, 2010, 115(23): 4944-4950
- [15] He L, Thomson J M, Hemann M T, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene[J]. Nature, 2005, 435(7043): 828-833
- [16] Yamakuchi M, Lotterman CD, Bao C, et al. P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(14): 6334-6339
- [17] Cha ST, Chen PS, Johansson G, et al. MicroRNA-519c suppresses hypoxia-inducible factor-1alpha expression and tumor angiogenesis [J]. Cancer Res, 2010, 70(7): 2675-2685
- [18] Lee DY, Deng Z, Wang CH, et al. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(51): 20350-20355
- [19] Würdinger T, Tannous BA, Saydam O, et al. miR-296 regulates growth factor receptor overexpression in angiogenic endothelial cells [J]. Cancer Cell, 2008, 14(5): 382-393
- [20] Anand S, Majeti BK, Acevedo LM, et al. MicroRNA-132-mediated loss of p120RasGAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis[J]. Nat Med, 2010, 16(8): 909-914
- [21] Chen Y, Gorski DH. Regulation of angiogenesis through a microRNA (miR-130a) that down-regulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5[J]. Blood, 2008, 111(3): 1217-1226
- [22] Rhoads K, Arderiu G, Charboneau A, et al. A role for Hox A5 in regulating angiogenesis and vascular patterning [J]. Lymphat Res Biol, 2005, 3(4): 240-252
- [23] Ma L, Young J, Prabhala H, et al. miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis [J]. Nat Cell Biol, 2010, 12(3): 247-256
- [24] Bussolati B, Deambrosis I, Russo S, et al. Altered angiogenesis and survival in human tumor-derived endothelial cells [J]. FASEB J, 2003, 17(9): 1159-1161
- [25] Carson-Walter EB, Watkins DN, Nanda A, et al. Cell surface tumor endothelial markers are conserved in mice and humans [J]. Cancer Res, 2001, 61(18): 6649-6655
- [26] St Croix B, Rago C, Velculescu V, et al. Genes expressed in human tumor endothelium[J]. Science, 2000, 289(5482): 1197-1202