

- stored by lamivudine treatment[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(2):228-235.
- [10] Olivier R, Huseyin S, Patrick S, et al. Inhibition of interferon-inducible MxA protein expression by hepatitis B virus capsid protein[J]. J Gen Virol, 1999, 80(5):1253-1262.
- [11] Fernandez M, Quiroga JA, Carreno V, et al. Hepatitis B virus downregulates the human interferon-inducible MxA promoter through direct interaction of precore/core proteins[J]. J Gen Virol, 2003, 84(Pt 8):2073-2082.
- [12] Xiong W, Wang X, Liu X, et al. Interferon-inducible MyD88 protein inhibits hepatitis B virus replication[J]. Virology, 2004, 319(2):306-314.
- [13] Wu M, Xu Y, Lin S, et al. Hepatitis B virus polymerase inhibits the interferon-inducible MyD88 promoter by blocking nuclear translocation of Stat1[J]. J Gen Virol, 2007, 88(Pt 12):3260-3269.
- [14] Foster GR, Ackril AM, Goldin RD, et al. Expression of the terminal protein region of hepatitis B virus inhibits cellular responses to interferons alpha and gamma and double-stranded RNA[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(7):2888-2892.
- [15] Foster GR, Goldin RD, Hay A, et al. Expression of the terminal protein of hepatitis B virus is associated with failure to respond to interferon therapy[J]. Liver Dise, 1993, 17(5):757-762.
- [16] 王卫峰, 周晓东. 干扰素作用下乙型肝炎病毒的变异机制[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(6):724-728.
- [17] Wang Y, Wei L, Jiang D, et al. In vitro resistance to interferon of hepatitis B virus with precore mutation[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(5):649-655.
- [18] Wang Y, Wei L, Jiang D, et al. In vitro resistance to interferon of hepatitis B virus with basic core promoter double mutation[J]. Antiviral Research, 2007, 75(2):139-145.
- [19] Marrone A, Zampino R, Luongo G, et al. Low HBeAg serum levels correlate with the presence of the double A1762T/ G1764A core promoter mutation and a positive response to interferon in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Intervirology, 2003, 46(6):222-226.
- [20] 庄辉. 加强乙型肝炎防治[J]. 北京大学学报:医学版, 2009, 41(3):259-262.
- [21] Günther S, Paulij W, Meisel H, et al. Analysis of hepatitis B virus populations in an interferon-alpha-treated patient reveals predominant mutations in the C-gene and changing e-antigenicity[J]. Virology, 1998, 244(1):146-160.
- [22] Ma JC, Wang LW, Li XJ, et al. Relationship between HBV genotypes and anti-viral therapeutic efficacy of interferon-alpha[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2007, 6(2):166-171.
- [23] 王国钺, 牛菊霞, 贾安奎. 乙型肝炎病毒 B 基因型和 C 基因型 B 细胞表位的差异及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(1):37-38.
- [24] Erhardt A, Blondin D, Hauck K, et al. Response to interferon alpha is hepatitis B virus genotype dependent; genotype A is more sensitive to interferon than genotype D[J]. Gut, 2005, 54(7):1009-1013.
- [25] Kao JH, Wu NH, Chen PJ, et al. Hepatitis B genotypes and the response to Interferon therapy[J]. Hepatol, 2000, 33(6):998-1002.
- [26] 汪明, 李雯, 李艳, 等. 慢性乙型肝炎患者细胞免疫功能探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3):234-236.

(收稿日期:2010-10-09)

• 综 述 •

MiRNAs 与肿瘤化疗耐药^{*}

李文静 综述, 赵建华[△] 审校

(南京医科大学附属江苏省肿瘤医院/省临床检验中心 210009)

关键词: 肿瘤; 抗肿瘤联合化疗方案; 抗药性, 多药; 微 RNAs

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 21. 023

文献标识码: A

文章编号:1673-4130(2011)21-2481-03

化学药物在肿瘤综合治疗中有着不可替代的作用,然而多药耐药(MDR)的产生常导致化疗失败,影响患者的生活和生存。肿瘤细胞耐药的产生涉及的过程十分复杂,如药物外排的增加、药物经代谢或解毒的失活、药物靶点的突变或过表达、DNA 修复增强和细胞凋亡减少等。以往研究的重点和治疗的靶点主要集中于靶基因或其表达上,因此,DNA 水平上的突变、拷贝数的变化、表观遗传修饰的改变及 mRNA 和蛋白表达的检测,常被用来探索药物反应的机制。然而,从基因转录到 mRNA 编码再到蛋白质发挥功效的整个过程中,许多调节因子也起着至关重要的作用,其中微 RNA 因其多基因调控作用而备受关注。

1 MiRNAs 及其作用方式

微 RNA(miRNAs、microRNAs)是一类约 22nt 的小分子

非编码 RNA,作用于基因转录后水平,对机体诸多生命现象起重要的调控作用。目前,人类基因组中确认的 miRNAs 约 600 个,可调节超过 1/3 的人类基因;其作用模式主要有 3 种:(1)作用时与靶基因不完全互补结合,抑制其翻译但不影响 mRNA 的稳定性;(2)与靶基因完全互补结合,作用方式及功能类似于小干扰 RNA,介导靶 mRNA 的切割或降解;(3)兼具上述两种作用模式如 let-7 等。另外,miRNAs 还能与翻译相关的蛋白因子结合或改变 mRNA 的二级结构抑制蛋白表达,其具体发生机制尚有待进一步研究。

2 MiRNAs 与肿瘤

肿瘤细胞与正常细胞间 miRNA 表达谱具有明显差异,且多数 miRNAs 基因位于肿瘤相关基因组区域或脆性位点,提示 miRNAs 与肿瘤关系密切。大量研究已证明,miRNAs 在肿

^{*} 基金项目:江苏省社会发展科技计划项目(BS2007077)。[△] 通讯作者,E-mail:jhzha02838@sina.com。

瘤的发生、发展中起到调控的枢纽作用,其在细胞中具有广泛的靶点,可通过多种途径调控靶基因(包括癌基因和抑癌基因)发挥促癌或抑癌作用;由于其中的一些生理、病理过程与肿瘤的化疗敏感性密切相关,说明 miRNAs 也参与肿瘤 MDR 的产生。

MiRNAs 在肿瘤形成过程中可发挥两种作用,一是通过抑制抑癌基因或控制细胞的分化和凋亡来促进肿瘤的发生,即致癌作用,其在肿瘤中通常上调,如 miR-21、miR-17-92 及 miR-155 等;或通过抑制原癌基因或促进细胞凋亡来抑制肿瘤的发生,即抑癌作用,其在肿瘤中通常下调,如 let-7、miR-29 及 miR-181 等^[1];大多情况下,两者共同作用调节肿瘤发展。新近报道一些致癌病毒编码的 miRNAs 具有增强病毒感染和参与肿瘤发生的能力,深入研究可能有助于对病毒诱导类肿瘤的治疗^[2]。

目前,已发现肿瘤患者癌组织和血液中均有较多异常表达的 miRNAs,并借助体内外模型确认了其中一些 miRNAs 的作用靶点及功能。如 Lu 等^[3]系统分析了 334 例淋巴瘤和实体瘤中 miRNA 表达谱,首次提出 miRNAs 可用于各类肿瘤的诊断和分期;Mitchell 等^[4]在前列腺癌患者血清中检测到 miR-141,证明 miRNAs 可作为肿瘤诊断的循环分子标志,增加了 miRNAs 表达分析作为临床诊断指标的可行性;Lorio 等^[5]发现在乳腺癌组织中 miR-205 表达下调,其以 HER3 受体为直接靶点,抑制下游 Akt 通路的激活;从而证实 miR-205 是一个新的抑癌基因,能够干扰 HER 受体家族介导的增殖通路,控制肿瘤生长,同时 miR-205 还能提高乳腺癌对特异性抗癌药物如 Gefitinib 和 Lapatinib 的敏感性。因此,研究、确认并应用特定肿瘤相关 miRNA 表达谱将为肿瘤诊断、精确分期和预后判断及个体化治疗带来新的希望。

3 MiRNAs 与肿瘤化疗耐药

3.1 MiRNAs 与肿瘤干细胞和上皮间质转化 近年来,肿瘤干细胞与耐药和复发关系的研究受到关注,许多学者陆续从实验中找到并分离出肿瘤干细胞,并提出肿瘤干细胞假说:肿瘤起源于少数的癌干细胞(CSCs),他们自发地通过静止、自我修复和 ABC 转运体的高表达产生耐药性,从而逃避治疗。研究证实,miRNAs 可参与 CSCs 的调控,如 miR-200c 强烈抑制正常乳腺干细胞形成乳腺导管的能力,体外研究显示其对人类乳腺 CSCs 诱发的肿瘤形成也同样具有抑制作用^[6]。Shi 等^[7]发现 miR-125b 对干细胞分裂越过正常 G₁/S 期是必要的,并导致干细胞对化疗不敏感;进一步研究证实,miR-125b 通过调节细胞周期蛋白 CDK6 和 CDC25A,进而影响 CSCs 增殖。Ji 等^[8]报道胰腺癌富含肿瘤起始细胞或 CSCs 并伴有 miR-34 表达的缺失,表明 miR-34 可能参与胰腺癌 CSCs 的自我更新及诱导耐药性的过程。其他具有调节 CSCs 作用的 miRNA 还有 miR-30、miR-17-19b、miR-181、miR-200 家族等^[9],这些 miRNAs 的靶向调控基因及功能还有待深入研究。

上皮间质转化(EMT)是指细胞发生分子转换、失去上皮特征而获得间质特性,继而具备运动性以挣脱细胞间黏附,并侵犯到其他部位的过程。大多情况下,EMT 细胞具有肿瘤干细胞样的特征,CSCs 也表现出间质表型,两者相互交织。Wang 等^[9]探讨了 miRNAs、CSCs、EMT 3 者间在耐药中的关系,指出由于 EMT 与干细胞状态和肿瘤转移过程均有关,miRNAs 可通过对 EMT 过程的调控作用将肿瘤细胞的干细

胞状态与其转移过程联系起来。进一步研究表明,miRNAs 是通过调节上皮细胞钙粘蛋白(E-cadherin)及其他相关分子(如 ZEB、弹性蛋白等)来实现对 EMT 的调控^[9-10];ZEB 转录因子家族可调节 EMT 相关蛋白的表达(如 E-cadherin、粘蛋白和紧密连接蛋白 ZO3 等),而 miR-200 和 miR-205 可直接以 ZEB 为靶点,下调其表达,影响这些蛋白的功能^[10]。Li 等^[11]也发现 miR-200a、miR-200b、miR-200c 及 let-7 家族成员在获得性 EMT 表型的耐吉西他滨胰腺癌细胞系中均下调;如增强 miR-200 家族的表达,可上调表皮标志物 E-cadherin 并下调间质标志物如 ZEB1 和弹性蛋白,逆转细胞对药物的抗性。因此,研究 miRNAs 对 CSCs 和 EMT 的调控作用,可增进对肿瘤耐药和复发转移的认识和控制。

3.2 MiRNAs 与药物反应相关基因 药物转运体通过将细胞内底物包括多种抗癌药物泵出胞外,使细胞内药物浓度下降,导致多药耐药;代谢是药物在体内失活或消除的主要途径,药物代谢酶通过将药物解毒或活化,也可影响细胞对药物的敏感性。目前,研究者已在多种细胞系中证实,miRNA 可通过调节药物反应相关基因影响 MDR 的产生。

3.2.1 药物转运相关基因 ABC 家族是主要的药物转运体。多药耐药基因 1(MDR1/ABCB1)被激活后,编码跨膜糖蛋白 P-gp,通过解毒、分泌外源性物质及转运激素等过程,介导 MDR 的产生。Zhao 等^[12]发现 miR-138 以 P-gp 为靶点,上调 miR-138 可阻断 MDR1 基因的转录、抑制 P-gp 和 Bcl-2 的表达并促使细胞凋亡,从而逆转白血病细胞 MDR 表型。Zhu 等^[13]报道与亲本细胞相比,卵巢癌阿霉素耐药株 A2780DX5 和宫颈癌长春碱耐药株 KB-V1 中,miR-27a 和 miR-451 的增加可上调 MDR1 因和 P-gp 的表达。最近,与 MDR 相关的其他转运体如多药耐药相关蛋白(MRP)和乳腺癌耐药蛋白(BCRP)等在耐药中的作用也受到关注。MRP1/ABCC1 基因编码的跨膜蛋白定位于细胞内膜,通过将药物转运至囊泡使之隔绝于核,可赋予细胞耐药表型。Liang 等^[14]发现,与亲本细胞相比,依托泊苷耐药株(MCF-7/VP)中 MRP-1 mRNA 及其蛋白均过表达而 miR-326 表达下调;如转染 miR-326 类似物于 MCF-7/VP 中,可下调 MRP-1 的表达,使细胞对 VP-16 和阿霉素的敏感性明显增加。另有报道,在乳腺癌或小细胞肺癌组织中 miR-326 或 miR-134 的表达能负向调节 MRP-1 的含量水平^[14-15]。这些发现证明,miRNAs 参与 MRP-1 介导的 MDR 的产生,且他们可能是阻止或逆转癌细胞产生 MDR 的有效因素。BCRP/ABCG2 也被报道参与肿瘤 MDR 的产生,但机制尚不明确。Pan 等^[16]发现 miR-328 能以 ABCG2 基因 3'-UTR 为靶点,在乳腺癌耐米托蒽醌细胞系 MCF-7/MX100 中下调 ABCG2 的表达,使细胞对药物的敏感性增加,表明 miR-328 表达的抑制可能是耐药细胞系中 ABCG2 过表达的潜在机制,ABCG2 介导的耐药可通过特定 miRNAs 的调控而改变。

3.2.2 药物代谢相关基因 细胞色素 P450(CYP)酶系统是肝脏代谢药物的主要酶。已证实 miRNAs 可调节 CYP 家族:与癌旁组织相比,乳腺癌组织中 miR-27b 表达降低,通过对 CYP1B1 的转录后调节可上调 CYP1B1 的表达^[17];miR-148a 以调节转录因子孕烷 X 受体为靶点,可影响一些 CYP 成员的表达,如对 CYP3A4 mRNA 和蛋白水平的正向调节作用^[18]。另外还有研究显示 miRNAs 也参与谷胱甘肽硫转移酶(GSTs)的体内药物解毒过程。GSTs 是体内最重要的Ⅱ相解毒酶,可

通过催化亲电底物与还原性谷胱甘肽结合,将多种药物转化为亲水性物质排出体外而导致耐药;同时也可通过调节 MAPK 信号通路,抑制凋亡而参与 MDR。如 Uchida 等^[19]报道在膀胱癌中,肿瘤抑制子 miR-133a 直接以致癌基因 *GSTP1* 为靶点,抑制 *GSTP1* 介导的抗凋亡作用。

3.2.3 信号通路相关基因 已有研究证明一些信号通路如雌激素、TGF- β 和 ErbB 等通路参与调节抗癌药物的敏感性。例如在 MAPK 凋亡信号通路中,增加 MAPK 抑制剂 U0126 的浓度可抑制耐阿霉素和维拉帕米细胞(MCF-7/AdrVp)在含阿霉素培养基中的生长,涉及此通路的 miRNA 包括:let-7g 和 7i、miR-199a-5p、miR-145、miR-155、miR-206、miR-214、miR-28-3p、miR-34b、miR-31、miR-373 和 miR-662,其中 miR-145 和 miR-155 与化疗敏感性密切相关^[20]。

4 以 miRNA 为靶点的治疗

以上述特定 miRNAs 为靶点,开发新的治疗手段如使致癌 miRNAs 沉默或抑癌 miRNAs 再表达以克服抗药性是一种很有希望的癌症治疗新策略。然而,有效使用合成寡核苷酸如转染特定 miRNA 的前体或阻遏物来进行治疗还需要克服很多问题,如他们极易被降解且体内缺乏合适的运载系统等。Sarkar 等^[21]研究发现,一些天然物质可改变特异 miRNAs 的表达,如异黄酮和 3,3-二吡啶基甲烷(DIM)可通过增强 miR-200 的表达而下调 ZEB1、slug 和弹性蛋白,从而逆转 EMT 表型,这与转染 miR-200 前体进行干扰治疗所获效果一致;增强 miR-200 表达或用异黄酮、DIM 治疗还可逆转胰腺癌对吉西他滨的抗药性。类似的药物还有吡啶-3-甲醇和姜黄素等,这些天然物质相对无毒性,如与常规化疗联合应用将很可能真正实现更好、更安全地治疗患者的目标。

5 展 望

总之,miRNAs 不仅可通过药物反应相关基因影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,还可通过调控 CSCs、EMT 及信号通路等引发机体对药物的抵抗性。这是人类揭示肿瘤耐药调控的一大进步,为耐药机制的研究及根治癌症的策略指出了新方向。不过,目前 miRNAs 在耐药中的作用才刚被认识到,还有诸多问题有待探索如 miRNAs 介导的药物效应机制及其胞内途径尚不清楚、CSCs 的特定耐药基因及其与 miRNA 调节的关系,以及循环 miRNAs 是否也可用于预测药物反应等;而且由于 miRNA 调控的复杂性,如何由点及面对 miRNA 网络进行总体调节也将是一个难点,但同时也极具吸引力,相信其前景光明。

参考文献

- [1] Croce CM. Causes and consequences of miRNA dysregulation in cancer[J]. Nat Rev Genet, 2009, 10: 704-714.
- [2] 刘春亮,唐立. 病毒 MiRNA 的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(1): 84-86.
- [3] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers[J]. Nature, 2005, 435(7043): 834-838.
- [4] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(30): 10513-10518.
- [5] Iorio MV, Casalini P, Piovani C, et al. miRNA-205 regulates HER3 in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(6): 2195-2200.
- [6] Shimono Y, Zabala M, Cho RW, et al. Downregulation of miRNA-

- 200c links breast cancer stem cells with normal stem cells[J]. Cell, 2009, 138(3): 592-603.
- [7] Shi L, Zhang J, Pan T, et al. MiR-125b is critical for the suppression of human U251 glioma stem cell proliferation[J]. Brain Res, 2010, 1312: 120-126.
- [8] Ji Q, Hao X, Zhang M, et al. MiRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells[J]. PLoS One, 2009, 4(8): e6816.
- [9] Wang Z, Li Y, Ahmad A, et al. Targeting miRNAs involved in cancer stem cell and EMT regulation; an emerging concept in overcoming drug resistance[J]. Drug Resist Updat, 2010, 13(4/5): 109-118.
- [10] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(5): 593-601.
- [11] Li Y, Vandenboom TG, Kong D, et al. Up-regulation of miR-200 and let-7 by natural agents leads to the reversal of epithelial-to-mesenchymal transition in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells[J]. Cancer Res, 2009, 69(16): 6704-6712.
- [12] Zhao X, Yang L, Hu J, et al. miR-138 might reverse multidrug resistance of leukemia cells[J]. Leukemia Research, 2010, 34(8): 1078-1082.
- [13] Zhu H, Wu H, Liu X, et al. Role of miRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(5): 582-588.
- [14] Liang Zh, Wu H, Xia J, et al. Involvement of miR-326 in chemotherapy resistance of breast cancer through modulating expression of multidrug resistance-associated protein 1[J]. Biochemical Pharmacology, 2010, 79(6): 817-824.
- [15] Guo LL, Liu YG, Bai YF. Gene expression profiling of drug-resistant small cell lung cancer cells by combining microRNA and cDNA expression analysis[J]. Eur J cancer, 2010, 46(9): 1692-1702.
- [16] Pan YZ, Morris ME, Yu AM. MiRNA-328 negatively regulates the expression of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in human cancer cells[J]. Mol Pharmacol, 2009, 75(6): 1374-1379.
- [17] Tsuchiya Y, Nakajima M, Takagi S, et al. MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1[J]. Cancer Res, 2006, 66(18): 9090-9098.
- [18] Takagi S, Nakajima M, Mohri T, et al. Post-transcriptional regulation of human pregnane X receptor by micro-RNA affects the expression of cytochrome P450 3A4[J]. J Biol Chem, 2008, 283(15): 9674-9680.
- [19] Uchida Y, Chiyomaru T, Enokida H, et al. MiR-133a induces apoptosis through direct regulation of GSTP1 in bladder cancer cell lines[J]. Urologic Oncology, 2011(9): 1-9.
- [20] Chen GQ, Zhao ZW, Zhou HY, et al. Systematic analysis of miRNA involved in resistance of the MCF-7 human breast cancer cell to doxorubicin[J]. Med Oncol, 2010, 27(2): 406-415.
- [21] Sarkar FH, Li YW, Wang ZW. Implication of microRNAs in drug resistance for designing novel cancer therapy[J]. Drug Resistance Updates, 2010, 13(3): 57-66.