

## ·放射生物学·

## 微小 RNA 在电离辐射和肿瘤中的作用

游洋 郭海卓 金顺子

【摘要】 MicroRNA (miRNA) 是一类含 21~25 个核苷酸长度的单链小分子 RNA, 其在细胞生长和发育过程的调节中起到了多重作用, miRNA 的突变或异位表达与多种肿瘤相关。电离辐射可以诱导 miRNA 的改变, 从而产生致癌或抑癌效果, 而且辐射诱导的 miRNA 表达变化还显示出细胞特异性和性别特异性。

【关键词】 微 RNAs; 肿瘤; 辐射效应

## The role of microRNA in tumor and ionizing radiation

YOU Yang<sup>1</sup>, GUO Hai-zhuo<sup>2</sup>, JING Shun-zi<sup>2</sup>

(1. Clinical Medicine, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Key Laboratory of Radiobiology, Ministry of Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

【Abstract】 MicroRNA (miRNA) are noncoding RNA of 21~25 nucleotides that act as post-transcriptional regulators of gene expression, it plays a multiple role in the regulation of cell growth and development. miRNA mutation or ectopia expression is associated with a variety of tumor. Ionizing radiation which has a carcinogenic or tumor suppressive effect induces changes in miRNA, miRNA expression changes induced by radiation are also cell-specific and gender-specific.

【Key words】 MicroRNAs; Neoplasms; Radiation effects

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类具有 21~25 个核苷酸长度的单链小分子 RNA, 其通常来源于长链 RNA (约 1000 个碱基对) 的初始转录产物, 即初始 miRNA, 后者在 Drosha 酶、Dicer 酶、解螺旋酶的先后作用下形成成熟的 miRNA。成熟的 miRNA 5' 端有一个磷酸基团, 3' 端有一个羟基, 这是它与相同长度的功能 RNA 降解片段的区分标志<sup>[1]</sup>。迄今已发现有数千种 miRNA 亚型。

miRNA 在物种进化中相当保守, 在植物、动物和真菌中发现的 miRNA 只在特定的组织和发育阶段表达, 而且这种特异性和时序性决定了组织和细胞的功能特异性, 表明 miRNA 在细胞分化、增殖和凋亡过程的调控中起到多重作用。

## 1 miRNA 与电离辐射

## 1.1 辐射诱导 miRNA 调控改变

Chaudhry 等<sup>[2]</sup> 使用实时 PCR 技术检测  $\gamma$  射线

照射 Jurkat 细胞和 TK6 细胞后 let-7 家族 miRNA 的表达水平发现, let-7 家族 miRNA 水平在 Jurkat 细胞中上调而在 TK6 细胞中下调; 与 myc 基因易位相关的 miRNA 在两种细胞中的表达均上调。他们同时研究了 miRNA 涉及多种肿瘤的调控机制, 实验结果证明, miRNA 参与辐射诱导的应激反应是显而易见的。

Josson 等<sup>[3]</sup> 使用定量实时 PCR 技术进行前列腺癌细胞在放疗后的 miRNA 筛查, 结果表明: 多种 miRNA 在受照射后显著改变, 其中 miR-521 和 miR-34c 发生了显著变化; 为确定 miR-521 调控辐射敏感性的机制, 测量了它的一个可能靶蛋白——科凯恩综合征 (Cockayne syndrome) 蛋白 A (一种 DNA 修复蛋白, 其表达水平与 miR-521 水平呈负相关) 的表达水平, 结果显示辐射下调 miR-521 水平, 而上调科凯恩蛋白 A 水平。可见 miR-521 可能是细胞中一个潜在的加强放疗疗效的作用点。

## 1.2 miRNA 的差异表达与辐射敏感性

Ginsberg<sup>[4]</sup> 报道, miR-572 可通过调控其靶基因 Bcl-2 相关死亡启动子, 参与细胞凋亡的诱导; miR-205 可通过调控其靶基因 E2F1, 参与细胞周期和凋亡等的调控, 影响它们对放疗或化疗的敏

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2009.04.016

基金项目: 国家自然科学基金 (30870584)

作者单位: 1.130021 长春, 吉林大学临床医学专业 (游洋); 2.130021 长春, 吉林大学公共卫生学院 卫生部放射生物学重点实验室 (郭海卓, 金顺子)

通信作者: 金顺子 (E-mail: shunzj@yahoo.com.cn)

感性<sup>[9]</sup>。

王旭丹等<sup>[9]</sup>在验证鼻咽癌细胞株 CNE-1(高分化鳞癌细胞)和 CNE-2(低分化鳞癌细胞)不同辐射抗性的基础上探索 miRNA 在这两种细胞中的表达差异,发现在检测的 326 个 miRNA 中,与 CNE-2 细胞对比,CNE-1 细胞中有 20 个 miRNA 表达上调,13 个 miRNA 表达下调,且上调和下调量相差 3 倍以上的 miRNA 有 miR-152、miR-7、miR-205 和 miR-572,提示不同辐射抗性的鼻咽癌细胞株 CNE-1 和 CNE-2 细胞的 miRNA 表达有差异,并且这些 miRNA 表达的差异程度与细胞对放疗敏感性密切相关。

### 1.3 辐射诱导的 miRNA 表达变化具有性别特异性

Ilnytskyy 等<sup>[9]</sup>研究发现,受照射的造血组织中 miRNA 变异的表达暗示了潜在的性别差异机制;在辐射诱导的胸腺组织中,miRNA 表达显著下调,并且显示出性别差异性;分析小鼠照射后脾脏 miRNA 组学发现,在雄性样本中有 15 个 miRNA 被显著调节(7 个上调,8 个下调),雌性样本中 9 个 miRNA 被显著调节(6 个上调,3 个下调),有趣的是:只有两种 miRNA 在雄性和雌性样本中受到同样的调节——miR-346 和 miR-34a,通过定时定量 PCR 技术证实了 miR-34a 是独立上调的。由此可见,辐射诱导的 miRNA 表达变化具有性别特异性。

### 1.4 辐射诱导 miRNA 组学改变有细胞特异性

Ilnytskyy 等<sup>[9]</sup>发现的另一个有趣的成果是,在小鼠脾脏中辐射诱导的 miRNA 组学改变,在胸腺中的变化却很小。胸腺和脾脏都是辐射靶器官,而且是淋巴造血组织的重要组成部分,然而它们的生理功能是不同的,脾脏参与销毁多余的红细胞并能储存大量红血细胞和 B 淋巴细胞,而胸腺参与 T 淋巴细胞的产生和突变,因此这种高度特异性的照射后 miRNA 组学差异是符合逻辑的。

Amin 等<sup>[7]</sup>对一组人类癌细胞多种 miRNA 在辐射中的反应做了研究:在人宫颈腺癌传代细胞系中,miR-21 和 miR-17-5p 随着照射时间的延长而表达增加,相反 let-7g 却减少;在人结肠癌 HCT116 细胞中,照射后 miR-21 和 miR-17-5p 都表达增强,但在人乳腺癌 SKBR3 细胞和人前列腺癌 PC3 细胞中却没有发生;在 HCT116 细胞、SKBR3 细胞和 PC3 细胞中,照射后 Let-7g 没有减少。这

项研究显示,特异的 miRNA 表达水平在照射后发生的变化具有细胞特异性。

## 2 miRNA 与肿瘤的关系

### 2.1 miRNA 与肿瘤相关信号转导通路

信号转导通路在细胞活动中扮演着关键角色,在肿瘤的发生、发展中,一些调控细胞生长和分化的正常信号转导通路往往发生异常,而 miRNA 与肿瘤相关的信号转导通路具有密切的联系。

p53 是迄今发现的与人类肿瘤联系最为紧密的基因,几乎所有癌细胞中均存在 p53 信号通路的突变。He 等<sup>[9]</sup>通过比较野生型细胞和 p53 欠缺细胞的 miRNA 表达情况发现,miRNA 的一个家族——miR-34a-c 的表达直接反映 p53 的状态;miR-34 家族是 p53 的直接转录靶点,无论在体内还是体外,miR-34 受 DNA 损伤和致癌压力的诱导均依赖于 p53;在原代细胞和肿瘤衍生的细胞系中,miR-34 的异位表达将导致细胞周期停滞,这与 miR-34 能够下调细胞周期进展相关基因的表达的观察结果相一致;p53 网络通过协调激活众多转录靶点来抑制肿瘤形成,因此 miR-34 可能通过与其他效应基因的协调作用来抑制异常的细胞增殖。

另外,miR-125a-5p 和(或)miR-224 可通过抑制相关蛋白 p38 不同亚型的表达,激活或抑制 Ras 而增加或减少应激引起的细胞凋亡<sup>[9]</sup>,进而调控肿瘤的辐射抗拒。

### 2.2 miRNA 调控 E2F1 蛋白对肿瘤的意义

c-myc 属于 myc 癌基因家族,在细胞增殖、生长和凋亡过程中具有重要作用,O'Donnell 等<sup>[10]</sup>发现,c-myc 直接激活人染色体 6 个 miRNA 的表达,转录因子 E2F1(一个 c-myc 启动细胞周期序列的靶点)便受其中的 miR-17-5p 和 miR-20a 的负调节。这拓展了有关 myc 靶基因网络的转录调控,揭示了 myc 基因一方面激活 E2F1 的转录,另一方面又抑制其翻译的机制,这种交互的正负反馈调节作用可以实现对细胞增殖信号的严格控制。miR-17-92 在多种恶性肿瘤细胞中存在过度表达,He 等<sup>[11]</sup>利用一种小鼠 B 细胞淋巴瘤模型证明,miR-17-92 表达的增强可以与 c-myc 协同作用,从而加速肿瘤的进展。

miR-19b 可通过抑制表皮生长因子受体介导的信号转导通路的活化,增加 DNA 辐射损伤时细胞

的凋亡,同时也增加转录因子 E2F1 的表达<sup>[12]</sup>,进而降低肿瘤辐射抗拒。

### 2.3 let-7 与肺癌的关系

let-7 在正常成人肺组织中有表达,而在肺癌组织中表达水平下降。抑制 let-7 在正常 NIH3T3 细胞表达,可以诱导细胞恶性转化<sup>[13]</sup>。研究发现,let-7 负调控原癌基因 Ras/let-60 的表达,并在非小细胞肺癌中,let-7 表达水平越低,其预后越差,术后生存期越短<sup>[14]</sup>。c-myc 表达和功能失调是人类恶性肿瘤中最为常见的异常。Kumar 等<sup>[15]</sup>发现,myc 基因的 3'端非翻译区含有多个 let-7 家族 miRNAs 的互补结合位点,let-7 可直接调控 myc 的表达。高速泳动族蛋白 A2 在肺癌中高表达,它的 3'端非翻译区也含有多个 let-7 结合位点,高速泳动族蛋白 A2 可以通过染色体易位删除其 3'端非翻译区,从而失去 let-7 的负相调控,导致肺癌细胞增殖加速<sup>[16]</sup>。let-7 还可以直接或间接调控与细胞周期、细胞分裂有关的基因,抑制肿瘤细胞的生长和分裂<sup>[17]</sup>。

### 3 问题与展望

目前对于 miRNA 的研究尚处于起步阶段,虽然人们发现了诸多类型的 miRNA 和它们的致癌以及抑癌机制,但是还没有建立完整的辐射诱导 miRNA 调控改变的数据网络,没有具体地、系统地针对某一肿瘤研究放疗前后细胞内各类 miRNA 的调控改变,以及它们所调节的多种蛋白质的变化,需要更多的研究来论证电离辐射可以通过对 miRNA 的影响来致癌或抑癌。同时,现在的研究大多集中于 miRNA 调控蛋白质翻译上,而关于转录后的修饰乃至翻译后的修饰过程,鲜有研究报道。事实上,人们已了解 miRNA 参与了各种细胞生长、发育、分化的各个阶段,但在辐射致癌及辐射抑癌过程中 miRNA 的信号通路和分子机制仍需要进一步发现和探讨。

### 参 考 文 献

- [1] Ross JS, Carlson JA, Brock G. miRNA: the new gene silencer. *Am J Clin Pathol*, 2007, 128(5): 830-836.
- [2] Chaudhry MA. Real-time PCR analysis of micro-RNA expression in ionizing radiation-treated cells. *Cancer Biother Radiopharm*, 2009, 24(1): 49-56.
- [3] Jossion S, Sung SY, Lao K, et al. Radiation modulation of microRNA in prostate cancer cell lines. *Prostate*, 2008, 68(15): 1599-1606.
- [4] Ginsberg D. E2F1 pathways to apoptosis. *FEBS Lett*, 2002, 529(1): 122-125.
- [5] 王旭丹, 杨惠玲, 郭禹标, 等. 不同辐射抗拒鼻咽癌细胞微小 RNA 差异表达的研究. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(6): 1045-1048.
- [6] Illytskyy Y, Zemp FJ, Koturbash I, et al. Altered microRNA expression patterns in irradiated hematopoietic tissues suggest a sex-specific protective mechanism. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377(1): 41-45.
- [7] Amin NP, Liu F, Dutta P, et al. MicroRNA detection and response to ionizing radiation in human cancer cells[J/OL]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 66(3 suppl): S561[2009-03-18]. [http://www.redjournal.org/article/S0360-3016\(06\)02283-8/abstract](http://www.redjournal.org/article/S0360-3016(06)02283-8/abstract).
- [8] He L, He X, Lim LP, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*, 2007, 447(7148): 1130-1134.
- [9] Qi X, Pohl NM, Loesch M, et al. p38alpha antagonizes p38gamma activity through c-Jun-dependent ubiquitin-proteasome pathways in regulating Ras transformation and stress response. *J Biol Chem*, 2007, 282(43): 31398-31408.
- [10] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, et al. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 2005, 435(7043): 839-843.
- [11] He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature*, 2005, 435(7043): 828-833.
- [12] Zalmas LP, Zhao X, Graham AL, et al. DNA-damage response control of E2F7 and E2F8. *EMBO Rep*, 2008, 9(3): 252-259.
- [13] Mayr C, Hemann MT, Bartel DP. Disrupting the pairing between let-7 and Hmga 2 enhances oncogenic transformation. *Science*, 2007, 315(5818): 1576-1579.
- [14] Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(5): 903-906.
- [15] Kumar MS, Lu J, Mercer KL, et al. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. *Nat Genet*, 2007, 39(5): 673-677.
- [16] Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev*, 2007, 21(9): 1025-1030.
- [17] Johnson CD, Esquela-Kerscher A, Stefani G, et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Res*, 2007, 67(16): 7713-7722.

(收稿日期: 2009-01-11)