

文章编号: 1004-0374(2010)02-0139-04

microRNA-155 研究进展

李江, 胡维新*

(中南大学生物科学与技术学院分子生物研究中心, 长沙 410078)

摘要: microRNAs(miRNAs)是一类进化上保守的非编码单链小RNA,长19~24个核苷酸,能在转录后降解靶基因mRNA或抑制基因的翻译。microRNA-155(miR-155)具有多种生物学功能,它能影响造血细胞的分化,并在炎症反应、免疫反应中发挥重要作用。大量研究表明,miR-155在多种肿瘤细胞中过表达,推测其与肿瘤的发生发展密切相关。随着研究的深入,miR-155可能成为新的肿瘤标志物及肿瘤基因治疗的新靶点。

关键词: miR-155; 造血细胞; 炎症反应; 免疫反应; 肿瘤

中图分类号: Q71; R730.231 **文献标识码:** A

The progress of microRNA-155 research

LI Jiang, HU Wei-xin*

(Institute of Molecular Biology, School of Biological Science and Technology,
Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: microRNAs (miRNAs) are a class of evolutionarily conserved, single-stranded, non-coding RNA molecules consisting of 19~24 nucleotides, which can degrade mRNA of target gene after transcription or suppress gene translation. Recently, miR-155 is proved as a typically multifunctional miRNA that influences the differentiation of hematopoietic cells, and plays an important biological role in inflammatory and immune response. A large number of studies have shown that miR-155 over-expresses in a lot kinds of tumor cells, suggesting it might be involved in the occurrence and development of tumors. We propose that miR-155 is likely to be a novel tumor marker and a potential application of tumor gene therapy.

Key words: miR-155; hematopoietic cells; inflammatory response; immune response; tumor

microRNAs(miRNAs)是一种类似于siRNA,长19~24个核苷酸,内源性非编码蛋白质的小RNA分子。由高等真核生物基因组编码,广泛存在染色体中,占基因总数2%,但却调控人类30%以上的基因表达。在细胞核中,miRNA基因由RNA聚合酶II(RNAPol II)转录生成初级转录物pri-miRNA。pri-miRNA被核酸酶Drosha及其辅助因子处理成miRNA前体(pre-miRNA)。随后,由Exportin 5转运出细胞核,核酸酶Dicer剪切为miRNA复合体。解开双链,一条链降解;另一条与RNA诱导的基因沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)结合。通过碱基配对与靶mRNA分子的3'非翻译区结合来

降解mRNA或抑制靶基因的翻译。1993年, Lee等^[1]在研究线虫*C. elegans*遗传发育筛选中首次发现miRNA(lin-4)。直到2000年,Reinhart等^[2]才发现第二个非编码miRNA let-7。目前,筛选miRNAs的方法主要是采用高通量测序。Sanger Database公布了9 000多个miRNAs,同时,人源miRNA基因也发现了近700个。miR-155是其中的一种,位于人类21号染色体上B-cell Integration Cluster(*bic*)基因的第三个外显子内^[3],此基因不含开放阅读框,过表达可促进细胞异常增殖。miR-155表达水平受

收稿日期: 2009-07-31; 修回日期: 2009-10-20

*通讯作者 E-mail: weixinhu@mail.csu.edu.cn

*bic*的转录水平和miRNA加工等调控。成熟miR-155单链序列为: 5'-UAAAUGC UAAUCGUGAUAGGGG-3'。研究表明, miR-155在造血细胞生成、炎症反应、免疫反应中发挥效应; miR-155在许多肿瘤病中过表达, 推测其与肿瘤的发生发展密切相关。

1 miR-155与造血细胞分化

不同类型的淋巴系、髓系细胞中miRNA-155表达水平不同。Masaki等^[4]体外实验发现, 用造血生长因子(CSF、IL-3、Epo)刺激纯化的红系祖细胞分化, 在未分化细胞中, miRNA-155高表达, 而当其分化为成熟红细胞时, miRNA-155表达下调。经过12 d分化, 成熟红细胞中miRNA-155的表达水平只有红系祖细胞的1/200, 而且miRNA-155高表达可抑制多能干细胞向淋巴干细胞分化。Georgantas等^[5]发现, CD34⁺造血干细胞中有33种miRNAs表达, 而miRNA-155在未分化的CD34⁺细胞中高表达。将miRNA-155基因转染到具有多向分化潜能的K562细胞中, 分化细胞数目显著减少, 而K562增殖能力不受影响。同样, 将FUGW-miR-155转染到CD34⁺正常的造血干细胞(HSCs)中, 集落形成实验表明, 髓系和红系集落克隆数目减少, 细胞明显偏小。上述研究结果表明, miRNA-155严密控制髓系细胞、红系细胞分化。

2 miR-155与炎症反应

miR-155基因的表达与炎性刺激因子密切相关。miR-155在不同炎症介质诱导的原发性巨噬细胞反应中发挥作用。O'Connell等^[6]研究发现, 在巨噬细胞中, 炎症介质[聚肌胞苷酸Poly(I:C)、干扰素- β (IFN- β)]诱导miR-155大量表达。miR-155是Poly(I:C)诱导信号的早期反应靶基因, miR-155对IFN- β 的诱导信号反应相对缓慢。IFN- β 、IFN- γ 、Poly(I:C)还可以诱导肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达。IFNs通过TNF- α 的自分泌/旁分泌激活JNK途径诱导miR-155表达上调。同时, Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)配体也可通过髓样分化因子88(MyD88)或TRIF信号途径上调miR-155表达。Tili等^[7]发现, 采用细菌脂多糖(LPS)刺激小鼠RAW 264.7细胞, TNF- α 表达水平显著升高, miR-155表达上调而miR-125b表达下调。以LPS对C57BL/6小鼠进行腹腔灌注, 结果一致。Ruqqiero等^[8]发现, 在骨髓巨噬细胞中, LPS诱导单一miR-155表达。单链RNA结合蛋白的KH型剪接调控蛋白(KSRP)作为Drosha、

Dicer复合物组成部分, 促进pre-miR-155成熟, 诱导miR-155生成。KSRP能与富含AU元件的单链mRNA相互作用, 促使mRNA降解。敲除KSRP和Dicer, 可抑制miR-155生成, LPS诱导炎症介质的能力比正常细胞显著增强。以上结果表明, LPS可诱导miR-155表达, 而miR-155同样可以负反馈调节LPS诱导的炎症介质的表达。

类风湿性关节炎(RA)是一种以关节滑膜炎为特征的慢性全身性自身免疫性疾病。Stanczyk等^[9]用TNF- α 处理RA患者滑液成纤维细胞, miR-155表达水平明显上调。用炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、poly I:C、LPS和细菌脂蛋白刺激RA患者后, miR-155在滑液中表达水平明显高于骨关节炎患者。miR-155表达增加能抑制由TOLL样受体配体和细胞因子诱导的MMPs 1、MMPs 3生成。MMPs1、MMPs3属于蛋白水解酶类, 是RA损伤程度的标志。miR-155可能作为一种保护性的miRNA下调特定MMPs的表达, 减少组织损伤引发的炎症反应。另外, RA滑液单核细胞中miR-155表达明显高于外周血单核细胞。

一些双链DNA病毒可以编码miRNAs, 如疱疹病毒、腺病毒、多瘤病毒属。病毒miRNAs通过干扰被感染细胞内mRNAs来调控基因表达。Gottwein等^[10]发现, 由卡波西肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)编码的miR-K12-11与miR-155同源。miR-K12-11和miR-155通过下调细胞生长和凋亡相关基因(PIK3CA、IKBKE、FOS、BIRC4BP/XAF1、BACH1、HIVEP2)的表达为KSHV提供复制的内环境。Zhao等^[11]发现miR-M4和miR-155具有同源性。miR-M4由鸡中的高致癌性马雷克氏病病毒(Marek's disease virus)编码, 在淋巴瘤的生成中起到一定作用, 具体机制仍不太清楚。

3 miR-155与免疫反应

活化的B细胞、T细胞、巨噬细胞、树突细胞中*bic*/miR-155表达显著增加。在骨髓CD14⁺单核细胞中, miR-155表达水平是外周血中的4.4倍。Thai等^[12]认为, miR-155在Th细胞分化、T细胞依赖性抗体反应、细胞因子生成的免疫过程中起着重要作用。Rodriguez等^[13]发现, *bic*缺陷小鼠随着年龄的增长, 肺脏发生病理学改变, 细支气管上皮下游胶原沉着增加, 细支气管下成肌纤维细胞群增多, 支气管肺泡洗出液中白细胞数目增多。这些改变表明全身免疫反应累及肺部形成肺纤维化。*bic*/

miR-155 维持体内免疫系统内环境稳定。用减毒株鼠伤寒沙门菌免疫 *bic* 缺陷小鼠, 受感染的缺陷小鼠 7 d 死亡, 而正常小鼠感染后 33 d 死亡, 实验证明, *bic* 缺陷小鼠免疫功能明显下降。用 T 细胞依赖抗原、破伤风毒素 C 蛋白 (Tet C) 片段免疫 *bic* 缺陷小鼠, 体内 IgM 抗体明显减少, 抗原特异性抗体显著增多。在体外, 再次用 Tet C 片段免疫 *bic* 缺陷小鼠的脾细胞, 白介素 (IL-2) 和干扰素 (IFN- γ) 生成减少。*bic* 缺陷的 CD4⁺ T 细胞趋于向 Th2 细胞分化, 介导体液免疫。原癌基因 *c-maf* 是 miR-155 的靶基因。*bic* 缺陷的 Th2 细胞中, *c-maf* mRNA 被大量诱导表达, c-Maf 蛋白表达增加。*c-maf* 是 IL-4 启动子的反式作用因子, 它的异常表达导致 Th2 细胞生成 IL-4、IL-5、IL-20 增多。

Vigorito 等^[14]发现, 在 miR-155 缺失的小鼠中, 生发中心和滤泡外 B 细胞的生成减少, 不产生高亲和性 IgG1 抗体。Ets 家族中转录因子 PU.1 3' UTR 存在高度保守的 miR-155 结合位点, 它的过表达导致 IgG1 类别转换细胞的数目减少。miR-155 对 PU.1 的表达起到抑制作用。

胞苷脱氨酶 (*AID*) 为 miR-155 的靶基因。活化的 *AID* 诱导体细胞高度突变和免疫球蛋白类别转换重组 (CSR)。Teng 等^[15]研究发现, miR-155 与 *AID* mRNA 的 3' UTR 靶向结合。转基因小鼠 *AID*/GFP 动物实验表明, *AID* 中保守的 miR-155 靶向位点突变导致 *AID* 表达局部失调。*AID* 3' UTR 中 miR-155 结合位点核苷酸置换能延长 *AID* 转录本半衰期, 同时增加 *AID* 蛋白数量。这些结果表明 miR-155 是 *AID* 的负性调控子。

4 miR-155 与肿瘤

miR-155 在许多肿瘤中过表达, 它在致癌过程中起着重要作用。在甲状腺癌、乳腺癌、结肠癌、宫颈癌、胰腺癌、肺癌等实体瘤中, miR-155 高表达, 预示预后不良。miR-155 在 B 细胞淋巴瘤, 急性髓性白血病 M4、M5 型中, 以及在慢性淋巴细胞白血病中表达增加。Kluiver 等^[16]发现, 不同伯基特淋巴瘤的细胞株经 BCR 诱导 *bic* 表达上调, 而 miR-155 表达缺失。miR-155 的成熟受到蛋白激酶 C (PKC) 和 NF- κ B 调节, 但转录后调节机制仍不清楚。Nikiforava 等^[17]检测甲状腺癌的乳头状型、滤泡状癌型、未分化癌型中, miR-155 表达分别上调 9.5、5.5 和 13.2 倍。

肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体 (TNF-related

apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 与死亡受体 4、5 结合, 形成一系列复合物, 诱导 caspase 蛋白酶解级联反应激活。Ovcharenko 等^[18]发现乳腺癌 MDA-MB-453 细胞株中, miR-155 通过抑制 TRAIL 诱导的 caspase-3 活性而抑制细胞凋亡, 导致肿瘤发生。

Lee 等^[19]和 Szafranska 等^[20]发现 miR-155 在胰腺癌中的表达水平比正常胰腺组织中高出 10~14 倍。Habbe 等^[21]在不同类型胰腺癌中, 总共发现 12 种 miRNAs 表达上调, miRNAs 的异常是个早期事件。在 64 例胰腺导管内乳头状黏液性肿瘤 (IPMNs) 中, 53 例标本中 miR-155 过表达, 比率为 83%, 而在 54 例正常对照中, miR-155 过表达的比率为 7%。Gironella 等^[22]发现, 肿瘤蛋白 P53 可诱导核蛋白 1 (TP53INP1) 与 P53、P73 相互作用, 诱导 caspase-3 级联反应来介导细胞凋亡。它通过抗增殖、促凋亡调节细胞稳定性。miR-155 在转录后水平调节 TP53INP1, 抑制内源性 TP53INP1 表达, 促进肿瘤发生。

5 展望

近年, 通过对 miR-155 的初步研究表明, 造血细胞分化与 miR-155 表达水平密切相关; miR-155 在免疫反应中发挥着重要的生物学作用, 炎症反应中, 各类炎症因子诱导 miR-155 表达上调。miR-155 可能作为癌基因, 与其他表达下调的 miRNAs 之间直接或间接作用, 引发肿瘤。miR-155 在不同肿瘤中高表达, 与靶基因相互作用, 影响特殊的信号转导通路。具体的作用机制, 有待实验进一步阐明。随着研究的深入, 推测 miR-155 可能成为新的肿瘤标志物及肿瘤基因治疗的靶点。miR-155 将在肿瘤诊断、治疗、预后等方面成为重要检测指标, 为临床提供更加简便、可靠的诊断标准。

[参 考 文 献]

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-4*. *Cell*, 1993, 75(5): 843-54
- [2] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403: 901-6
- [3] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*, 2002, 12(9): 735-9
- [4] Masaki S, Ohtsuka R, Abe Y, et al. Expression patterns of microRNAs 155 and 451 during normal human erythropoiesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 364(3): 509-14

- [5] Georgantas RW 3rd, Hildreth R, Morisot S, et al. CD34⁺ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2750-5
- [6] O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, et al. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(5): 1604-9
- [7] Tili E, Michaille JJ, Cimino A, et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF- α stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J Immunol*, 2007, 179(8): 5082-9
- [8] Ruggiero T, Trabucchi M, De Santa F, et al. LPS induces KH-type splicing regulatory protein-dependent processing of microRNA-155 precursors in macrophages. *FASEB J*, 2009, 23(9): 2898-908
- [9] Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4): 1001-9
- [10] Gottwein E, Mukherjee N, Sachse C, et al. A viral microRNA functions as an orthologue of cellular miR-155. *Nature*, 2007, 450(7172): 1096-9
- [11] Zhao Y, Yao Y, Xu H, et al. A functional MicroRNA-155 ortholog encoded by the oncogenic Marek's disease virus. *J Virol*, 2009, 83(1): 489-92
- [12] Thai TH, Calado DP, Casola S, et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science*, 2007, 316(5824): 604-8
- [13] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*, 2007, 316(5824): 608-11
- [14] Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, et al. MicroRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells. *Immunity*, 2007, 27(6): 847-59
- [15] Teng G, Hakimpour P, Landgraf P, et al. MicroRNA-155 is a negative regulator of activation-induced cytidine deaminase. *Immunity*, 2008, 28(5): 621-9
- [16] Kluiver J, van den Berg A, de Jong D, et al. Regulation of pri-microRNA BIC transcription and processing in Burkitt lymphoma. *Oncogene*, 2007, 26(26): 3769-76
- [17] Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, et al. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(5): 1600-8
- [18] Ovcharenko D, Kelnar K, Johnson C, et al. Genome-scale microRNA and small interfering RNA screens identify small RNA modulators of TRAIL-induced apoptosis pathway. *Cancer Res*, 2007, 67(22): 10782-8
- [19] Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, et al. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 2007, 120(5): 1046-54
- [20] Szafranska AE, Davison TS, John J, et al. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and nonneoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*, 2007, 26: 4442-52
- [21] Habbe N, Koorstra JB, Mendell JT, et al. MicroRNA miR-155 is a biomarker of early pancreatic neoplasia. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(4): 340-6
- [22] Gironella M, Seux M, Xie MJ, et al. Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(41): 16170-5