

DOI: 10.13376/j.cbls/2015021

文章编号: 1004-0374(2015)02-0143-08

MiR-133与恶性肿瘤关系的研究进展

郭连英^{1#}, 高晓健^{2#}, 刘放², 张婷婷², 陆霞², 张彩华¹, 李墨林^{1*}, 李传刚^{3*}

(1 大连医科大学病理生理学教研室, 大连 116044; 2 大连医科大学临床医学七年制
2010级, 大连 116044; 3 大连医科大学附属二院泌尿外科, 大连 116023)

摘要: 微小 RNA-133 (microRNA-133, miR-133) 是一种在骨骼肌和心肌特异表达的非编码小 RNA, 其在心肌肥大等多种肌源性疾病中发挥重要作用。近年研究发现, 多种肿瘤组织存在 miR-133 的表达紊乱, 其通过转录后抑制靶基因, 如 EGFR、IGF-1R、MMPs 等的表达参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等多种病理过程, 并与肿瘤的发生发展密切相关。了解 miR-133 的表达、调控及其在肿瘤等疾病中的作用及机制, 可为其进一步的临床应用奠定基础。现就 miR-133 与恶性肿瘤关系的研究进展进行综述。

关键词: 微小 RNA-133; 靶基因; 恶性肿瘤; 调控

中图分类号: Q74; R730 **文献标志码:** A

Research progress on the relationship between miR-133 and malignant tumors

GUO Lian-Ying^{1#}, GAO Xiao-Jian^{2#}, LIU Fang², ZHANG Ting-Ting², LU Xia²,
ZHANG Cai-Hua¹, LI Mo-Lin^{1*}, LI Chuan-Gang^{3*}

(1 2010 Seven-year Program of Medicine, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 2 Department of Pathophysiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 3 Division of Urology, Department of Surgery, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, China)

Abstract: miR-133 is a group of muscle-specific non-coding small RNAs which is specifically expressed or highly enriched in skeletal muscle and/or myocardium. It plays a crucial role in muscle-related diseases such as cardiac hypertrophy. Recent studies showed that the disturbance of miR-133 expression could be detected in different kinds of tumors, and was involved in proliferation, apoptosis, invasion and metastasis of various tumor cells by directly suppressing target gene such as EGFR, IGF-1R and MMPs. It is thought that the dysregulated expression of miR-133 is closely correlated with tumorigenesis and metastasis. Understanding the expression, regulation, and the role and mechanism of miR-133 will lay a strong foundation for clinical application. The relationship between miR-133 and its target genes and malignant tumors will be summarized in this article.

Key words: miR-133; target genes; malignant tumors; regulation

微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一类细胞内源性表达的单链非编码小分子 RNA, 其主要通过与靶基因 3' 非编码区 (3'UTR) 结合, 从而在转录后水平负调控靶基因的表达。微小 RNA-133 (miR-133) 是一种肌肉特异性 miRNAs (MyomiRs), 其可通过转录后抑制 Ras 同源基因家族成员 A (ras homolog gene family, member A, RhoA)、细胞分裂周期蛋白 42h (cell division control protein 42 homolog, CDC42h)、结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF)、胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like

growth factor 1 receptor, IGF-1R) 等的表达, 下调胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF)/ 磷酸酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/

收稿日期: 2014-08-04; 修回日期: 2014-09-24

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2014023041);
辽宁省教育科学“十二五”规划2014年度立项课题
(JG14DB119)

*通信作者: 李墨林, E-mail: molin_li@hotmail.com;

李传刚, E-mail: li_chuangang@sina.com

#共同第一作者

蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/AKT)(IGF/PI3K/AKT) 通路进而调控成肌细胞的增殖和分化等, 在心肌肥大等多种肌源性疾病中发挥重要作用^[1-2]。miR-133 不但可直接靶向抑制 Kruppel 样转录因子 15 (Kruppel-like factors, KLF15), 通过转录调控葡萄糖转运蛋白 GLUT4 的表达在心肌细胞能量代谢中发挥作用^[3], 而且还可靶向抑制锌指蛋白 PR 结构域家族的第 16 个成员 (PR domain containing 16, Prdm16) 的表达, 在调节肌肉脂肪代谢方面起作用^[4]。此外, miR-133 亦可靶向抑制转录因子特殊蛋白 1 (specificity protein-1, SP-1) 的表达, 在体内外调控血管平滑肌细胞的表型转换和血管壁的重塑^[5]。

1 miR-133 基因

1.1 miR-133 基因的定位及表达

miR-133 基因家族包括 miR-133a-1、miR-133a-2、miR-133b。其中, miR-1-2 与 miR-133a-1 形成基因簇, 位于人类基因组 18q11.2E3 泛素蛋白连接酶 Mind bomb1 (MIB1) 基因的内含子中; miR-1-1 与 miR-133a-2 形成基因簇, 位于人类基因组 20q13.33 开放读码区 166 (chromosome 20 open reading frame166, C20orf166) 基因内含子中; 而 miR-133b 位于染色体 6p12.2, 在多囊肾致病基因 (polycystic kidney and hepatic disease 1, PKHD1) 和白介素 17f (Interleukin-17f, IL-17f) 基因之间, 与 miR-206 形成基因簇。

miR-133 的表达具有时间和空间特异性, 其在心肌和骨骼肌中特异性和 / 或集中表达。Liu 等^[6]研究发现, miR-133a-1 和 miR-133a-2 同时被敲除后, 一半小鼠在胚胎或新生期出现致死性的室间隔缺损, 而另一半小鼠则在成年期死于扩张型心肌病和心衰; 进一步研究证实, miR-133a 基因的缺失可导致平滑肌基因在心脏的异位表达和异常心肌细胞的增殖。死于心肌梗死患者的梗死区心肌和肥大心肌组织中 miR-133 表达下降^[7]。血清 miR-133 水平可用于急性心肌梗死的诊断及预后判断^[8]。Jia 等^[9]研究发现, miR-133a 在正常膀胱壁表层细胞 (又称伞状细胞) 中的表达显著高于膀胱壁中间层及基底细胞, 可作为正常膀胱壁表层细胞的一种标志物。此外, 亦有研究发现, 帕金森症患者脑组织中 miR-133b 的表达水平明显降低。

1.2 miR-133 基因表达的调控

1.2.1 单核苷酸多态性 (SNP)

Ohanian 等^[10] 研究发现, miR-133a-2 前体存在

79T>C 突变, 可导致 miR-133a-5p 表达的增加。目前研究认为, miR-133a-1 基因的 SNP 与原发性心肌肥厚 (HCM) 有关, 而 miR-133b 基因的 SNP 与继发性左心室肥大有关。Palacín 等^[11] 研究发现, miR-133a-1 基因 +85A/C 处存在 SNP, miR-133a-2 基因在 rs45547937/rs13040566/rs13040413 处存在 -191G/A -171G/A -88G/A 的 SNP, 而 miR-133b 基因前体 (pre-miR-133b)-90 处存在 SNP, A 的缺失或插入 (-90 ins/del A) 将影响 GATA 转录因子家族与其结合, 从而导致 miR-133b 的表达降低。

1.2.2 转录调控

Rao 等^[12] 通过染色体免疫沉淀法证实, 成肌分化抗原 (又称肌分化因子, myogenic differentiation antigen, MyoD) 和肌细胞生成素 (myogenin, MyoG) 可转录调节 miR-133 的表达。Liu 等^[13] 研究发现, 转录因子肌细胞增强因子 2 (myocyte enhancer factor 2, MEF2) 可诱导小鼠心室和 / 或心房 miR-1 和 miR-133a 的表达。进一步研究证实, MEF2 通过与 miR-1-2 和 miR-133a-1 基因间的一个肌肉特异性增强子结合, 从而直接激活 miR-1-2 和 miR-133a-1 的转录。MEF2 还可与 MyoD 一起调控 miR-1-2/-133a-1 基因内增强子的表达。此外, 类似的肌肉特异性增强子也可调控 miR-1-1/-133a-2 基因座的转录表达。

2 miR-133 与恶性肿瘤之间的关系

2.1 miR-133 在不同恶性肿瘤中的表达

Subramanian 等^[14] 等研究发现, 不同病理类型的肉瘤组织 miRNA 的表达谱亦不同。在平滑肌肉瘤组织中, miR-133a/b 的表达显著高于正常平滑肌组织。Zhao 等^[15] 利用 miRNA 芯片和实时 PCR 检测了高分化骨肉瘤肿瘤标本 (5 例新鲜组织、18 例石蜡包埋组织), 发现骨肉瘤肿瘤组织中 miR-133a 和 miR-133b 的表达显著低于正常对照组织。Ji 等^[16] 研究发现, miR-133a 在骨肉瘤细胞系及骨肉瘤原位癌组织中低表达, 并且其降低水平与肿瘤进展和预后密切相关。Fujiwara 等^[17] 临床研究发现, 骨肉瘤患者肿瘤组织 miR-133a 的表达与患者的预后呈负相关。外源性低表达 miR-133a 可降低骨肉瘤细胞的侵袭能力, 而与化疗联合应用则可明显抑制荷瘤小鼠肿瘤肺转移并延长其生存时间。

miR-133 在多种消化系统恶性肿瘤组织中的表达下降。Akanuma 等^[18] 通过实时定量 PCR (qPCR) 法检测了 84 例食管鳞状细胞癌肿瘤组织中 miR-133a 的表达情况, 发现 miR-133a 在肿瘤组织中的

表达显著低于其癌旁对照组织, 且 miR-133a 的低表达与患者预后生存率的降低呈显著正相关。Cheng 等^[19]研究发现, miR-133 在胃癌组织中的表达明显下降, 与肿瘤大小、浸润深度及其周围器官浸润等呈负相关, 且与其预后生存率亦相关。Li 等^[20]利用激光捕获显微切割技术 (LCM) 检测了 24 例小肠神经内分泌肿瘤 miR-133a 的表达情况, 结果发现 miR-133a 在原发性小肠神经内分泌肿瘤细胞中的表达明显低于正常肠嗜铬细胞, 并且在肠系膜或肝转移的肿瘤组织中 miR-133a 的表达进一步下降。Wang 等^[21]通过检测 169 例结直肠癌肿瘤组织中 miR-133a 的表达, 发现 miR-133a 在结直肠癌肿瘤组织中的表达显著低于癌旁对照组织, 且 miR-133a 的低表达与肿瘤细胞的分化、局部浸润及淋巴结转移等密切相关。同时, 肿瘤患者的总生存期亦明显低于 miR-133a 高表达的肿瘤患者。Wan 等^[22]发现, 83.2% 结直肠癌的肿瘤组织中 miR-133a 的表达明显低于正常黏膜对照组织, 但远处转移的结直肠癌肿瘤组织中 miR-133a 的表达水平高于原发肿瘤组织中的表达。Akçakaya 等^[23]报道, 结直肠癌患者肿瘤组织中 miR-133b 的低表达与患者生存期缩短及肿瘤转移密切相关。

项茹等^[24]利用原位杂交方法检测了 90 例乳腺癌石蜡标本中 miR-133a 的表达情况, 发现乳腺癌组织中 miR-133a 的阳性率明显低于乳腺良性病变和癌旁正常组织; 同时, miR-133a 低表达与乳腺癌淋巴结转移及 TNM 分期有关, 而与患者的年龄、肿瘤大小、组织学分级和雌、孕激素受体等无关。Chan 等^[25]应用 miRNA 芯片或锁核酸探针的实时 PCR 法研究发现, 乳腺癌患者血清中 miR-133a 和 miR-133b 的表达水平显著高于正常对照血清, 可用作乳腺癌诊断的重要标记物。Shen 等^[26]亦发现, miR-133a 在乳腺癌患者血清中的表达显著升高, 并证实乳腺癌细胞株可分泌 miR-133a。

miR-133a 在肾癌、前列腺癌、膀胱癌的肿瘤组织中呈低表达^[27-29], 而 Jia 等^[9]等发现, 膀胱原位癌组织中 miR-133a 的表达水平与正常膀胱壁表层细胞相似, 但明显高于膀胱壁中间层及基底层细胞, 同时膀胱壁表层细胞标志分子, 如 UPKII、CK20 等的表达亦增高, 提示膀胱原位癌起源于膀胱壁表层细胞。此外, miR-133a 在上皮性卵巢癌 (EOC) 及非小细胞肺癌等肿瘤组织中的表达均明显低于其对照组织, 其降低程度与肿瘤细胞的分级、肿瘤分期及患者预后等密切相关^[30-31]。

在造血系统恶性肿瘤中, 吕艳等^[32]检测了 47 例 AML 急性白血病患者骨髓有核细胞中 miR-133a 的表达情况, 结果发现 AML 白血病患者 miR-133a 的表达水平明显高于 ALL 白血病和非白血病患者, 且 M5 型 AML 患者 miR-133a 的表达明显高于 M3 型 AML 患者。同时, AML 化疗完全缓解后骨髓有核细胞中 miR-133a 的表达较化疗前明显下降, 提示 miR-133a 可能参与 AML 的发生发展过程, 并可作为化疗效果的评价指标。

2.2 miR-133的表达调控机制

2.2.1 表观遗传学水平

基因启动子区甲基化程度不同, 可直接导致相关基因的表观遗传学改变。Chen 等^[33]研究发现, 结直肠癌肿瘤组织 miR-1-133a 基因簇的表达显著低于癌旁对照组织, 同时 miR-1-133a 基因上游 CpG 岛存在高甲基化。进一步, 利用 DNA 甲基化酶抑制剂 5-aza-dc 抑制 miR-1-133a 基因簇上游的甲基化后, miR-133a-2 的表达水平显著增加。

2.2.2 转录水平

Mo 等^[34]研究发现, pre-miR-133b 的 5' 起始部位上游和下游各 10 kb 处存在 2 个雄激素受体 AR 特异性结合位点 (AR-binding sites, ARBSs), AR 可直接上调 miR-133b 的表达。

2.3 miR-133在肿瘤发生发展中的作用

2.3.1 对肿瘤细胞增殖的影响

c-MET 是一种由 c-met 原癌基因编码的蛋白产物, 又称肝细胞生长因子受体 (hepatocyte growth factor receptor, HGFR), 其与表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 和成纤维细胞生长因子受体 1 (fibroblast growth factor receptor 1, FGFR-1) 一样, 都具有酪氨酸激酶活性。它们与其相应配体结合后发生磷酸化, 进一步结合并激活 RAS 等信号蛋白, 引起蛋白激酶的磷酸化级联反应, 通过 RAS-Raf-MEK1/2-ERK1/2 或 PI3K/AKT 途径参与细胞信号转导。细胞骨架重排的调控是细胞增殖、分化和运动的重要因素, 与多种癌症的发生和转移密切相关。Hu 等^[35]研究证实, miR-133b 可直接靶向抑制 MET 的表达。转染 miR-133b 于结直肠癌细胞系 SW-620 和 HT-29 中, 可使细胞停留在 G1 期, 显著抑制直肠癌细胞的增殖, 同时细胞凋亡率亦有所增加; 高表达 miR-133b 于裸鼠中导致肿瘤大小显著降低。Tao 等^[36]研究发现, miR-133 可直接靶向抑制 EGFR 的表达。外源性高表达 miR-133a/b 可抑制 EGFR 的表达; 同时, AKT、pAKT、

基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 等的表达亦下降, 从而影响丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 通路和 PI3K-AKT 通路。MMP-2 可能作用于 AKT 通路下游调节子糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β), 通过 GSK3 β -snail-E-cadherin 通路影响上皮间质转化, 最终抑制前列腺癌, 尤其是激素非依赖性的前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。亦有研究证实, miR-133a 和 miR-133a/b 亦通过靶向抑制 EGFR, 抑制乳腺癌和膀胱癌细胞的生长; 外源性高表达 miR-133 可导致细胞周期在 G2/S 期停滞, 抑制 DNA 合成, 并且降低 EGFR 下游信号分子 p-Akt 表达, 最终抑制细胞增殖^[37-38]。此外, Wen 等^[39] 研究证实, miR-133b 可靶向抑制 FGFR1 的表达, 外源性高表达 miR-133b 可抑制胃癌细胞系 MKN-45 和 SGC-7901 的增殖, 降低细胞克隆形成能力。

Wang 等^[31] 研究发现, miR-133a 不但可靶向抑制膜受体 EGFR, 而且还可直接抑制 IGF-1R 和转化生长因子 β 受体 1 (TGF- β receptor type-1, TGFBR1) 的表达。外源性高表达 miR-133a 不但能有效降低永生化的正常支气管上皮细胞和肺癌细胞系细胞的转移能力, 而且还能抑制肿瘤细胞的生长和侵袭, 在高侵袭性细胞株中考虑与 AKT 信号通路的激活有关。Guo 等^[40] 研究亦证实发现, miR-133a 可直接靶向抑制 IGF-1R 的表达。外源性高表达 miR-133a 可显著抑制卵巢癌细胞的增殖和克隆形成, 并引起 G1 期细胞周期停滞, 同时还可显著抑制裸鼠肿瘤细胞的生长; 而外源性降低 miR-133a 的表达则促进卵巢癌细胞的增殖和克隆形成。

嘌呤核苷磷酸化酶 (purine nucleoside phosphorylase, PNP) 可以催化肌酐磷酸分解, 同时其作为合成脱氧肌酐和脱氧鸟苷酸等的酶, 在促进细胞增殖方面发挥重要作用; 抑制 PNP 表达可以削弱细胞的 DNA 合成, 导致细胞死亡。目前研究发现, miR-133a 可直接靶向抑制 PNP 的表达, 外源性高表达 miR-133 不但可抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[28], 而且还可抑制上颌窦鳞状细胞癌细胞的增殖并促进肿瘤细胞凋亡^[41]。

2.3.2 对肿瘤细胞凋亡的影响

Fas 凋亡抑制分子 (fas apoptosis inhibitory molecule, FAIM) 是一种凋亡负调控因子, 其主要通过抑制 FAS 介导的细胞凋亡途径从而抑制细胞的凋亡。谷胱甘肽硫转移酶 P1 (glutathione S-transferase pi 1,

GSTP1) 是一种重要的解毒酶, GSTP1 可与 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun NH2-terminal kinase, JNK) 结合形成复合物, 抑制 JNK 的活性, 而 JNK 通路的长期激活通过 TNF- α 依赖性的途径和 caspase-8 途径促进细胞凋亡反应, 最终使 GSTP1 通过负调控 JNK 及其下游细胞凋亡反应, 发挥抑制细胞凋亡的作用。此外, GSTP1 水平的提高还可下调 caspase-3 并上调 B 细胞淋巴瘤 / 白血病 -2 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 蛋白水平, 发挥凋亡抑制作用。Mutallip 等^[42] 研究发现, miR-133a 可直接靶向抑制 GSTP1 的表达; Patron 等^[43] 证实 miR-133b 亦可直接靶向抑制 FAIM 和 GSTP1 的表达, 外源性高表达 miR-133b 可以提高耐药宫颈癌 HeLa 细胞和前列腺癌细胞对 TNF- α 等凋亡刺激的敏感性。

髓样细胞白血病 -1 (myeloid cell leukemia 1, Mcl-1)、Bcl-2 样蛋白 2 (Bcl-2-like protein 2, Bcl2L2)、B 细胞淋巴瘤 / 白血病 -XL 蛋白 (B-cell lymphoma/leukemia-x long, Bcl-xL) 是 Bcl-2 家族的抗凋亡成员, 其可与 Bax 等促凋亡因子竞争性结合线粒体膜通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 或者直接阻止 Bax 与 mPTP 的结合, 从而抑制 mPTP 开放和细胞色素 C 的释放, 在线粒体介导的细胞凋亡途径中发挥作用。Ji 等^[16] 研究发现, miR-133a 可以靶向抑制 Bcl-xL 和 Mcl-1 的表达, 外源性转染 miR-133a 可明显抑制骨肉瘤细胞增殖, 并促进其凋亡。同时, Crawford 等^[44] 研究发现, miR-133b 可靶向抑制 Mcl-1 和 Bcl2L2 的表达, 外源性高表达 miR-133b 可诱导肺癌细胞凋亡, 还显著增强吉西他滨的促凋亡作用。

众所周知, p53 是生物体内的一种能抑制细胞恶性转变的基因。Rififylin 蛋白 (ring finger and FYVE-like domain containing E3-ubiquitin protein ligase, RFFL) 是一种含有环指状结构域的 E3 泛素连接酶。现已研究证实, 其可通过非 Mdm2 依赖途径使 p53 蛋白发生泛素化而降解, 从而影响 p53 的稳定性, 进而抑制 p53 及其下游基因 p21 等的表达, 在调节细胞周期中发挥重要作用^[45]。Dong 等^[46] 研究证实, miR-133a 可靶向抑制 RFFL 的表达。外源性高表达 miR-133a 可抑制结直肠癌细胞生长, 导致细胞周期 G0/G1 期停滞, 伴随 p53 和 p21 蛋白含量的增加。此外, 外源性高表达 miR-133a 还可通过促进肿瘤细胞凋亡并抑制其增殖, 从而增加结肠癌细胞对阿霉素和奥沙利铂治疗的敏感性。

人端粒酶催化亚基 (human telomerase reverse

transcriptase, hTERT) 编码具有逆转录酶活性的端粒酶催化亚单位, hTERT 高表达可激活端粒酶活性, 从而在染色体末端合成端粒重复片断, 维持端粒长度, 使细胞获得无限增殖能力。此外, 有研究认为, hTERT 表达产物亦可与染色体改构因子 BRG1 结合, 稳定 Wnt 通路的 TCF/ β -catenin 转录复合体, 进一步激活下游基因的转录与表达, 与肿瘤发生发展密切相关。Hrdličková 等^[47] 研究发现, 外源性转染 miR-133a 可明显抑制结肠癌或乳腺癌细胞的增殖。进一步研究证实, miR-133a 不但可直接靶向抑制 hTERT 的表达、下调细胞内源性端粒酶的活性, 而且还可以直接转录后抑制 Wnt 通路信号分子, 如转录因子 7 (transcription factor 7, TCF7)、RNA 结合蛋白 Musashi1 (musashi RNA-binding protein 1, MSI1) 和 B 细胞特异性激活蛋白 (BSAP/Pax-5) 的表达, 从而在 Wnt 通路中发挥多点调控, 最终抑制肿瘤细胞增殖。

2.3.3 对肿瘤细胞侵袭和转移的影响

MMPs 是一类活性依赖于锌离子和钙离子的蛋白水解酶, 在正常组织中表达量较少, 而在肿瘤组织中高表达, 其主要生物学作用是降解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 和黏膜上皮及表皮基底膜的各种蛋白成分, 通过破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障, 从而在肿瘤侵袭转移中起关键性作用。MMP-9 属于明胶酶, 其激活后可形成 IV 型胶原酶, 降解破坏基底膜屏障; 同时, 它可以作用于血管内皮生长因子 (VEGF), 增加新生毛细血管生成, 共同促进肿瘤生长和浸润。而 MMP-14 属于膜型 MMPs 类, 其主要通过激活明胶酶 MMP-2 酶原, 促进 MMP-2 催化降解 IV 型胶原, 亦可通过水解多种细胞外基质成分, 裂解细胞黏附分子等促进肿瘤的迁徙侵袭和转移。Xu 等^[48] 研究发现, 外源性高表达 miR-133a 能有效抑制 A549 和 NCI-H1299 肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, miR-133a 特异性抑制剂可逆转 miR-133a 所引起的对肿瘤细胞迁移和侵袭的抑制。荧光素酶实验证明, miR-133a 直接靶向抑制 MMP-14 的表达, 高表达 miR-133a 可使 MMP-14 的 mRNA 和蛋白表达水平均下降, 提示 miR-133a 通过靶向 MMP-14 的表达从而抑制肺癌细胞的转移。Qiu 等^[49] 研究发现, 外源性高表达 miR-133a/b 可导致胃癌细胞 G1 期停滞, 并且还可抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。进一步研究发现, miR-133a/b 可靶向抑制转录因子 SP-1 的表达, 而敲除 sp-1 基因可引起 MMP-9 和周期蛋白 D1 (Cyclin

D1) 基因表达的降低, 提示 miR-133a/b 通过抑制 sp-1 及其下游基因的表达, 从而抑制肿瘤细胞的增殖、转移和侵袭。

肌动蛋白 (actin) 是细胞内的一种具有收缩能力的微丝蛋白。纤维束蛋白同源物 1 (又称肌动蛋白集束蛋白, fascin homologue 1, FSCN1) 和转胶蛋白 2 (Tansglin2, TAGLN2) 均可与肌动蛋白的单体、多聚体 (或两者皆可) 结合, 属于肌动蛋白结合蛋白。其中, FSCN1 在细胞突起内形成平行束结构, TAGLN2 在平滑肌细胞骨架中大量表达, 进而参与细胞黏附、移动以及信号转导等。Akanuma 等^[18] 研究发现, miR-133a 不仅可靶向抑制 MMP-14 的表达, 而且还可直接抑制 FSCN1 的表达。外源性高表达 miR-133a 可使食管鳞状细胞癌细胞的侵袭能力降低。Chiyomaru 等^[50] 研究发现, miR-133a 可靶向抑制 FSCN1 的表达, 外源性高表达 miR-133a 可降低膀胱癌细胞生长及其侵袭能力。目前研究已证实, miR-133a 亦可在转录后水平靶向抑制 TAGLN2 的表达。外源性高表达 miR-133a 不但可抑制肾癌细胞的增殖和侵袭, 诱导周期停滞和凋亡^[27], 而且还可抑制膀胱癌等多种肿瘤细胞的增殖, 使肿瘤细胞的迁移和侵袭明显降低^[29]。LIM 和 SH3 蛋白 1 (LIM and SH3 protein, LASP1) 是一种肌动蛋白和斑联蛋白支架蛋白, 位于细胞膜内面, 在肌动蛋白组装的多个关键部位, 如黏着斑、片足、膜皱褶和伪足聚集, 在多种恶性肿瘤中高表达, 并与肿瘤发生、侵袭和转移密切相关。Wang 等^[51] 研究发现, miR-133a 可靶向抑制 LASP1 的表达, 外源性高表达 miR-133a 可使结肠癌细胞 LASP1 的表达降低, 同时抑制 MEK1/2 和细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 的磷酸化和激活, 进一步影响 MEK/ERK 通路。动物体内试验证明, 外源性高表达 miR-133a 有效抑制结肠癌肿瘤的生长及肝、肺转移。Chiyomaru 等^[52] 研究发现, miR-133a 还能直接抑制 LASP1 的表达, 外源性高表达 miR-133a 亦可降低膀胱癌细胞生长及其侵袭能力。

人 Ras 同源基因家族成员 (ras homolog gene family, Rho) 蛋白, 习惯被称为 Rho GTP 酶, 属于小 G 蛋白超家族的亚家族成员, 包括 Rho、Rac、CDC42、Rnd 和 Rho BTB 等 5 个亚家族成员。RhoA 和 CDC42 是目前研究最多的 Rho GTP 酶。其中, RhoA 主要参与张力纤维形成和黏着斑复合体 (focal adhesion complexes, FACs) 组装; CDC42 可促进丝状

伪足形成, 主要在细胞骨架重组和细胞迁移等调控方面起重要作用。墨青青等^[53]研究发现, 外源性低表达 miR-133 可使乳腺癌 MCF-7 细胞中 RHOA 蛋白的表达显著增高, 同时乳腺癌细胞迁移能力增强, 伴有肿瘤细胞骨架形态发生明显改变, 并出现伪足等具有迁徙特征的形态。Qin 等^[54]通过原位杂交实验发现, miR-133b 主要在增殖并且是高侵袭性的宫颈癌细胞中聚集; 外源性高表达 miR-133b 亦可促进宫颈癌细胞的增殖和克隆形成; 进一步研究证实, miR-133b 可靶向抑制 CDC42、RHOA 和哺乳动物 STE20 样激酶 2 (mammalian sterile 20- like kinase, MST2) 等的表达, 进而激活肿瘤 AKT 和 ERK 信号通路。动物体内研究证实, 宫颈癌细胞外源性高表达 miR-133b 可显著促进体内肿瘤形成及其肺转移。Cheng 等^[19]研究亦发现, miR-133 可靶向抑制 CDC42 的表达, 进而导致其下游效应子 p21 激活激酶 (p21-activated kinases, PAKs) 的活性降低, 外源性高表达 miR-133 可降低细胞 CDC42 的表达和 PAKs 的活性, 进而抑制胃癌肿瘤细胞的增殖和迁徙。

窖蛋白 1 (caveolin-1, CAV1) 是细胞质膜内陷形成的胞膜窖的标志性蛋白, 在内皮细胞、平滑肌细胞、骨骼肌肌母细胞、成纤维细胞和脂肪细胞中含量丰富。CAV1 作为甾体激素受体辅助激活因子 (steroid receptor coactivator, Src) 磷酸化的底物, 不仅参与多条信号转导通路, 还与细胞转化和肿瘤形成密切相关。Nohata 等^[55]通过荧光素酶实验证明, miR-133 可直接靶向抑制 CAV1 的表达, 而抑制 CAV1 表达可显著抑制头颈部鳞状细胞癌细胞的侵袭转移能力。

3 展望

作为一种骨骼肌和心肌特异表达的 miRNAs, miR-133 不但与多种肌源性疾病有关, 而且还在恶性肿瘤的发生、发展和转移中发挥重要作用。深入研究 miR-133 在肿瘤患者体内的异常表达, 并进行相应的肿瘤标志物研究, 可为肿瘤的早期诊断和预后评估提供方向。进一步探讨 miR-133 的生物学功能, 明确其作用的靶基因, 不但可为恶性肿瘤的生物靶向治疗提供新的靶点, 而且还可应用针对该靶点的药物进行恶性肿瘤的治疗。

[参 考 文 献]

- [1] Wang XH. MicroRNA in myogenesis and muscle atrophy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2013, 16(3): 258-66
- [2] Townley-Tilson WH, Callis TE, Wang D. MicroRNAs 1, 133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(8): 1252-5
- [3] Horie T, Ono K, Nishi H, et al. MicroRNA-133 regulates the expression of GLUT4 by targeting KLF15 and is involved in metabolic control in cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 389(2): 315-20
- [4] Liu W, Kuang S. miR-133 links to energy balance through targeting Prdm16. *J Mol Cell Biol*, 2013, 5(6): 432-4
- [5] Torella D, Iaconetti C, Catalucci D, et al. MicroRNA-133 controls vascular smooth muscle cell phenotypic switch in vitro and vascular remodeling *in vivo*. *Circ Res*, 2011, 109(8): 880-93
- [6] Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, et al. microRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes Dev*, 2008, 22(23): 3242-54
- [7] Bostjancic E, Zidar N, Stajer D, et al. MicroRNAs miR-1, miR-133a, miR-133b and miR-208 are dysregulated in human myocardial infarction. *Cardiology*, 2010, 115(3): 163-9
- [8] Sayed AS, Xia K, Yang TL, et al. Circulating microRNAs: a potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction. *Dis Markers*, 2013, 35(5): 561-6
- [9] Jia AY, Castillo-Martin M, Domingo-Domenech J, et al. A common MicroRNA signature consisting of miR-133a, miR-139-3p, and miR-142-3p clusters bladder carcinoma in situ with normal umbrella cells. *Am J Pathol*, 2013, 182(4): 1171-9
- [10] Ohanian M, Humphreys DT, Anderson E, et al. A heterozygous variant in the human cardiac miR-133 gene, MIR133A2, alters miRNA duplex processing and strand abundance. *BMC Genet*, 2013, 14: 8
- [11] Palacín M, Coto E, Reguero JR, et al. DNA variation in myoMIRs of the 1, 133, and 208 families in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiogenetics*, 2011, 1: e12
- [12] Rao PK, Kumar RM, Farkhondeh M, et al. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(23): 8721-6
- [13] Liu N, Williams AH, Kim Y, et al. An intragenic MEF2-dependent enhancer directs muscle-specific expression of microRNAs 1 and 133. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(52): 20844-9
- [14] Subramanian S, Lui WO, Lee CH, et al. MicroRNA expression signature of human sarcomas. *Oncogene*, 2008, 27(14): 2015-26
- [15] Zhao H, Li M, Li L, et al. MiR-133b is down-regulated in human osteosarcoma and inhibits osteosarcoma cells proliferation, migration and invasion, and promotes apoptosis. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83571
- [16] Ji F, Zhang H, Wang Y, et al. MicroRNA-133a, downregulated in osteosarcoma, suppresses proliferation and promotes apoptosis by targeting Bcl-xL and Mcl-1. *Bone*, 2013, 56(1): 220-6
- [17] Fujiwara T, Katsuda T, Hagiwara K, et al. Clinical

- relevance and therapeutic significance of microRNA-133a expression profiles and functions in malignant osteosarcoma-initiating cells. *Stem Cells*, 2014, 32(4): 959-73
- [18] Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, et al. MicroRNA-133a regulates the mRNAs of two invadopodia-related proteins, FSCN1 and MMP14, in esophageal cancer. *Br J Cancer*, 2014, 110(1): 189-98
- [19] Cheng Z, Liu F, Wang G, et al. miR-133 is a key negative regulator of CDC42-PAK pathway in gastric cancer. *Cell Signal*, 2014, 26(12): 2667-73
- [20] Li SC, Essaghir A, Martijn C, et al. Global microRNA profiling of well-differentiated small intestinal neuroendocrine tumors. *Mod Pathol*, 2013, 26 (5): 685-96
- [21] Wang LL, Du LT, Li J, et al. Decreased expression of miR-133a correlates with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(32): 11340-6
- [22] Wan TM, Lam CS, Ng L, et al. The clinicopathological significance of miR-133a in colorectal cancer. *Dis Markers*, 2014, 2014: 919283
- [23] Akçakaya P, Ekelund S, Kolosenko I, et al. miR-185 and miR-133b deregulation is associated with overall survival and metastasis in colorectal cancer. *Int J Oncol*, 2011, 39(2): 311-8
- [24] 项茹, 吴正升, 张晴, 等. Mir-133a在乳腺癌组织中的表达及其临床意义. *安徽医科大学学报*, 2011, 46(2): 109-12
- [25] Chan M, Liaw CS, Ji SM, et al. Identification of circulating microRNA signatures for breast cancer detection. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(16): 4477-87
- [26] Shen J, Hu Q, Schrauder M, et al. Circulating miR-148b and miR-133a as biomarkers for breast cancer detection. *Oncotarget*, 2014, 5(14): 5284-94
- [27] Kawakami K, Enokida H, Chiyomaru T, et al. The functional significance of miR-1 and miR-133a in renal cell carcinoma. *Eur J Cancer*, 2012, 48(6): 827-36
- [28] Kojima S, Chiyomaru T, Kawakami K, et al. Tumour suppressors miR-1 and miR-133a target the oncogenic function of purine nucleoside phosphorylase (PNP) in prostate cancer. *Br J Cancer*, 2012, 106(2): 405-13
- [29] Yoshino H, Chiyomaru T, Enokida H, et al. The tumour-suppressive function of miR-1 and miR-133a targeting TAGLN2 in bladder cancer. *Br J Cancer*, 2011, 104(5): 808-18
- [30] Luo J, Zhou J, Cheng Q, et al. Role of microRNA-133a in epithelial ovarian cancer pathogenesis and progression. *Oncol Lett*, 2014, 7(4): 1043-8
- [31] Wang LK, Hsiao TH, Hong TM, et al. MicroRNA-133a suppresses multiple oncogenic membrane receptors and cell invasion in non-small cell lung carcinoma. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96765
- [32] 吕艳, 薛向阳, 林茂, 等. Mir-133在急性髓系细胞白血病中的表达及意义. *温州医学院学报*, 2012, 42(6): 517-25
- [33] Chen WS, Leung CM, Pan HW, et al. Silencing of miR-1-1 and miR-133a-2 cluster expression by DNA hypermethylation in colorectal cancer. *Oncol Rep*, 2012, 28(3): 1069-76
- [34] Mo W, Zhang J, Li X, et al. Identification of novel AR-targeted microRNAs mediating androgen signalling through critical pathways to regulate cell viability in prostate cancer. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56592
- [35] Hu G, Chen D, Li X, et al. miR-133b regulates the MET proto-oncogene and inhibits the growth of colorectal cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(2): 190-7
- [36] Tao J, Wu D, Xu B, et al. microRNA-133 inhibits cell proliferation, migration and invasion in prostate cancer cells by targeting the epidermal growth factor receptor. *Oncol Rep*, 2012, 27(6): 1967-75
- [37] Cui W, Zhang S, Shan C, et al. microRNA-133a regulates the cell cycle and proliferation of breast cancer cells by targeting epidermal growth factor receptor through the EGFR/Akt signaling pathway. *FEBS J*, 2013, 280(16): 3962-74
- [38] Zhou Y, Wu D, Tao J, et al. MicroRNA-133 inhibits cell proliferation, migration and invasion by targeting epidermal growth factor receptor and its downstream effector proteins in bladder cancer. *Scand J Urol*, 2013, 47(5): 423-32
- [39] Wen D, Li S, Ji F, et al. miR-133b acts as a tumor suppressor and negatively regulates FGFR1 in gastric cancer. *Tumour Biol*, 2013, 34(2): 793-803
- [40] Guo J, Xia B, Meng F, et al. miR-133a suppresses ovarian cancer cell proliferation by directly targeting insulin-like growth factor 1 receptor. *Tumour Biol*, 2014, 35(2): 1557-64
- [41] Nohata N, Hanazawa T, Kikkawa N, et al. Identification of novel molecular targets regulated by tumor suppressive miR-1/miR-133a in maxillary sinus squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*, 2011, 39(5): 1099-107
- [42] Mutallip M, Nohata N, Hanazawa T, et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) suppresses cell apoptosis and its regulation by miR-133a in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *Int J Mol Med*, 2011, 27(3): 345-52
- [43] Patron JP, Fendler A, Bild M, et al. MiR-133b targets antiapoptotic genes and enhances death receptor-induced apoptosis. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35345
- [44] Crawford M, Batte K, Yu L, et al. MicroRNA 133B targets pro-survival molecules MCL-1 and BCL2L2 in lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388 (3): 483-9
- [45] Robinson PA, Ardley HC. Ubiquitin-protein ligases. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 22): 5191-4
- [46] Dong Y, Zhao J, Wu CW, et al. Tumor suppressor functions of miR-133a in colorectal cancer. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(9): 1051-60
- [47] Hrdličková R, Nehyba J, Bargmann W, et al. Multiple tumor suppressor microRNAs regulate telomerase and TCF7, an important transcriptional regulator of the Wnt pathway. *PLoS One*, 2014, 9(2): e86990
- [48] Xu M, Wang YZ. miR-133a suppresses cell proliferation,

- migration and invasion in human lung cancer by targeting MMP-14. *Oncol Rep*, 2013, 30(3): 1398-404
- [49] Qiu T, Zhou X, Wang J, et al. MiR-145, miR-133a and miR-133b inhibit proliferation, migration, invasion and cell cycle progression via targeting transcription factor Sp1 in gastric cancer. *FEBS Lett*, 2014, 588(7): 1168-77
- [50] Chiyomaru T, Enokida H, Tatarano S, et al. miR-145 and miR-133a function as Tumour suppressors and directly regulate FSCN1 expression in bladder cancer. *Br J Cancer*, 2010, 102(5): 883-91
- [51] Wang H, An H, Wang B, et al. miR-133a represses tumour growth and metastasis in colorectal cancer by targeting LIM and SH3 protein 1 and inhibiting the MAPK pathway. *Eur J Cancer*, 2013, 49(18): 3924-35
- [52] Chiyomaru T, Enokida H, Kawakami K, et al. Functional role of LASP1 in cell viability and its regulation by microRNAs in bladder cancer. *Urol Oncol*, 2012, 30(4): 434-43
- [53] 墨青青, 陈平波, 卢运萍, 等. MiR-133 通过 RHOA 蛋白调节乳腺癌细胞系MCF-7的侵袭转移. *实用医学杂志*, 2010, 26(4): 541-3
- [54] Qin W, Dong P, Ma C, et al. MicroRNA-133b is a key promoter of cervical carcinoma development through the activation of the ERK and AKT1 pathways. *Oncogene*, 2012, 31(36): 4067-75
- [55] Nohata N, Hanazawa T, Kikkawa N, et al. Caveolin-1 mediates tumor cell migration and invasion and its regulation by miR-133a in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*, 2011, 38(1): 209-17