

DOI: 10.13376/j.cbbs/2015158

文章编号: 1004-0374(2015)09-1146-09

miRNA-125家族与肿瘤关系的研究进展

尹航¹, 孙宇强², 王小峰², 李墨林³, 魏明海^{2*}

(1 大连市第二十四中学, 大连 116001; 2 大连医科大学附属二院神经外科, 大连 116023;
3 大连医科大学病理生理教研室, 大连 116044)

摘要: miRNA-125 家族是由在进化上高度保守的 miRNA-125a-3p、miRNA-125a-5p、miRNA125b-1、miRNA-125b-2 组成, 其表达紊乱与肿瘤的发生与发展密切相关。miRNA-125 家族的下游靶点包括转录因子如 STAT3、细胞因子 (如 IL-6、TGF- β)、相关蛋白 (如抑癌蛋白 p53、促凋亡蛋白 Bak1、RNA 结合蛋白 HuR) 等。miR-125 家族参与调控这些靶点进而影响肿瘤的发生发展。现主要总结了 miRNA-125 家族及其靶基因在抑制与促进肿瘤发生、发展方面的双重作用, 并从增殖、凋亡、侵袭与转移和免疫反应等 4 个方面详细阐述了其作用机制。

关键词: miR-125 家族; 肿瘤; 靶基因; 调控机制

中图分类号: Q522; R730.2 **文献标志码:** A

Progress on the relationship between miR-125 family and tumorigenesis

YIN Hang¹, SUN Yu-Qiang², WANG Xiao-Feng², LI Mo-Lin³, WEI Ming-Hai^{2*}

(1 Dalian 24 High School, Dalian 116001, China; 2 Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, China; 3 Department of Pathophysiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: miRNA-125 family, a highly conserved miRNA family throughout evolution, consists of miRNA-125a-3p, miRNA-125a-5p, miRNA-125b-1 and miRNA-125b-2. The aberrant expression of miRNA-125 family is tightly related to tumorigenesis and tumor development. The downstream targets of miRNA-125 include transcription factors like STAT3, cytokines like IL-6 and TGF- β , tumor suppressing protein p53, pro-apoptotic protein Bak1 and RNA binding protein HuR, etc. In this review, we mainly summarize the dual functions of miRNA-125 family in suppression and promotion of cancer cells and further elaborate its regulatory mechanisms from four facets: proliferation, apoptosis, invasion and metastasis, and immune response.

Key words: miR-125 family; tumor; target genes; regulatory mechanism

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度在 19~25 个核苷酸的内源性单链小分子非编码 RNA^[1]。miRNA 主要在转录后层面通过与目标信使 RNA 的 3' 端或 5' 端非编码区互补结合, 从而调节其丰度及相应蛋白质的表达水平^[2]。目前研究认为, miRNA 普遍存在于各种生物中, 其进化大多高度保守, 但仍具有一定种属特异性与组织特异性。miR-125 家族为 1993 年 Lee 等^[3] 在秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 发育过程中发现的首个 miRNA lin-4 的人

类同源物。miR-125 家族在正常细胞中参与包括细胞分化、免疫反应、疼痛维持、细胞代谢在内的多种生理过程, 其异常表达与癌细胞的增殖、凋亡、侵袭、转移以及免疫反应密切相关。因此, miR-125 家族亦被证实具有成为癌症治疗靶点与生物标记物的潜在可能性。

收稿日期: 2015-05-23; 修回日期: 2015-06-23

*通信作者: E-mail: weiminghai1765@163.com

1 microRNA概述

microRNA 为一种自然生成的非编码小 RNA, 其通过抑制靶 RNA 的翻译, 从而影响这些靶蛋白的表达水平, 并进一步参与了机体生理过程的调控。miRNA 的生物合成经历 3 个过程, 分别为 pri-miRNA 的核内加工、pre-miRNA 转运出核以及 pre-miRNA 在细胞质内的进一步剪切。通常由 RNA 聚合酶 II 参与 miRNA 的转录, 直接的转录产物为 pri-miRNA, 其为一条内部具有发夹结构的长双链 RNA。随后 pri-miRNA 在核内在核糖内切酶 Droscha 与剪切位点识别蛋白 DGCR8 的共同作用下, 被加工成 70~80 nt 的小分子双链 RNA, 称为 pre-miRNA。当 pre-miRNA 在核内完成加工后, 便开始从细胞核到细胞质的运输。在胞质中 pre-miRNA 首先与 RNA 酶 III Dicer 以及 Tar RNA 结合蛋白 (TRBP) 结合。随后该大分子复合物招募了 Ago 蛋白, 同时, Dicer 在靠近 pre-miRNA 末端环位置进行切割, 并最终形成了一条长约 22 nt 的成熟的 miRNA。该双链 miRNA 与 TRBP、Dicer 以及 Ago 共同形成了 RNA 诱导沉默复合体 (RISC)。以上便是 miRNA 生物合成的经典途径。有证据表明, 除以上途径外, miRNA 存在其他途径。Westholm 和 Lai^[4] 发现部分 miRNA 也可来源于 RNA 内含子。RNA 剪接过程中内含子被剔除, 其继而形成一个套索结构, 随后套索在脱支酶作用下形成一个线性长链, 该长链随后折叠成 pre-miRNA 的发夹结构, 随后与经典途径一致^[5]。这条途径被称为非经典途径或 Mirtron 途径。

而成熟的 miRNA 主要可通过 3 种方式抑制靶 mRNA 的翻译: 抑制翻译起始、抑制肽链延伸以及降解 mRNA。其中, 位于引导链 5' 端末端的 2~7 nt 位置的种子序列在决定 miRNA 的目标 mRNA 中起决定性作用, 而采取何种方式抑制目标 mRNA 则取决于除去种子序列后引导链的剩余部分与目标 mRNA 的互补程度。当 miRNA 与目标 mRNA 碱基序列完全互补时, mRNA 便直接被降解^[6]; 而当 miRNA 只有部分与 mRNA 碱基序列互补时便会引发翻译阻遏^[7]。其中, 降解 mRNA 首先需要使 mRNA 脱腺苷化, 随后脱腺苷的 mRNA 便会被细胞质加工小体 (P-body) 识别并降解^[8]。2010 年, Krol 等^[9] 研究发现, GW182 与 RCK/p54 为两种在 miRNA 介导的 mRNA 脱腺苷过程中扮演重要角色的蛋白。其中, GW182 蛋白通过与 Ago 蛋白结合

招募了 CCR4-NOT 脱腺苷复合体进而促使 mRNA 的脱腺苷酸化与降解; 而 RCK/p54 作为 DEAD-box RNA 解旋酶主要促进了 P-body 的形成, 进而为降解 mRNA 提供场所以及所需的酶类与蛋白质。相较于前者, miRNA 介导的 mRNA 的翻译阻遏, 占 miRNA 调控手段的 20% 左右^[10]。这种翻译阻遏又进一步分为抑制翻译起始和抑制肽链延伸。在起始阶段, miRNA, 如 *lin7* 可通过抑制真核起始因子 eIF4E 与 eIF4G 的相互作用, 从而抑制核糖体 40S 小亚基的组装过程^[11-12]。部分 miRNA 可通过 AGO2 与 eIF4E 竞争和 mRNA 5' 端 M7G 帽子结构结合, 从而抑制相应 mRNA 的翻译起始过程^[13]。在起始阶段, miRNA 对肽链延伸的调控手段尚不清楚; 但在脉冲标记实验以及免疫沉淀实验中均无法检测到新生肽, 提示 miRNA 或许可通过水解新生肽的手段参与翻译调控^[14]。另外, miRNA, 如 *let-7a* 可通过促进核糖体脱落阻遏肽链延伸^[15]。

2 micro125基因

2.1 miR-125家族的染色体定位及表达

miR-125 家族可进一步分为 hsa-miR-125a、hsa-miR-125b 亚家族。其中转录 miR-125a 的基因位于染色体 19q13 上, 根据 pre-miR-125a 剪切位点的不同, miR-125a 可进一步分为 miR-125a-3p 与 miR-125a-5p, 它们分别来自前体 pre-miR-125a 的 3' 端和 5' 端。miR-125b 由染色体 11q23 和 21q2 两个位点转录并分别形成 miR-125b-1 和 miR-125b-2^[16]。miR-125 家族基因的表达具有广泛性与高度保守性。miR-125 家族在多种组织中均有广泛表达, 如胃、肝、肺、直肠、乳腺、前列腺、卵巢等。而越来越多的证据表明, 当肿瘤在这些组织中发生时, miR-125 家族通常会存在异常表达。这种异常表达既可通过下调致癌基因的表达而充当肿瘤抑制因子, 又可通过抑制抑癌基因的表达而成为肿瘤促进因子^[17]。

2.2 miR-125家族的生物学作用

miRNA-125 家族靶点繁多, 其中大体包括了转录因子、酶类、生长因子等。通过对靶蛋白表达水平的调节, miR-125 起到了不同的生物学作用。首先, miR-125b 在诱导淋巴细胞分化中起到重要作用, 高浓度的 miR-125b 会诱导造血干细胞向淋巴干细胞方向分化, 却抑制 CD4⁺T 细胞的分化使其停留在初始阶段^[18]。但亦有研究证明, miR-125b 通过抑制造血干细胞中 Lin28A 的表达使其倾向于向共同髓系祖细胞并进一步向粒系祖细胞分化^[19]。除 miR-

125b 外, miR-125a 在造血细胞分化中也扮演了重要角色。Tatsumi 等^[20]证实, miR-125a 通过抑制 WT1 (Wilms' tumor gene 1) 的表达对维持髓系细胞的正常分化具有重要作用。小鼠敲除 miR-125a 会导致骨髓增生异常 (myeloproliferative disorder)。除淋巴细胞外, miR-125 家族对神经干细胞分化也有显著促进作用。MiR-125b 通过下调一系列对分化起负作用的蛋白, 最终导致了 SCNBA、EPHB2、KCNQ2、SYN2、NEFM 等促进神经元分化的基因表达水平的上调^[21]。同时, Park 等^[22]研究发现, miR-125b 可下调 Nestin 的表达, 从而抑制了神经干细胞的自我更新并促进其分化与转移。miR-125 还在免疫系统担任了重要角色。(1) miR-125b 调控了免疫系统中转录因子的表达。在淋巴细胞系 miR-125b 主要调节 T 细胞中 ETS1 与 STAT3 的表达^[23]。(2) miR-125b 对免疫系统中的细胞因子也有一定影响。miR-125b 可调节 IL-4 的表达进而促进巨噬细胞的增殖, 其也下调了巨噬细胞中肿瘤坏死因子 α (TNF α) 的表达^[24]。(3) miR-125b 可激活免疫细胞。巨噬细胞中过量表达的 miR-125b 抑制了干扰素调节因子 4 (interferon regulatory factor 4, IRF4) 的表达, 提高了其对 IFN- γ 的敏感性, 从而增强了巨噬细胞在免疫系统中的作用^[25]。(4) miR-125 家族与细菌感染。部分细菌也可通过对 miR-125b 的调节来抑制宿主免疫细胞 TNF 的合成, 进而降低机体免疫系统对细菌自身的杀伤力^[26]。miR-125 家族还具有许多其他生理作用, 如 Zhao 等^[27]认为, miRNA-125b 能够调控疼痛相关转录因子的表达, 提示其可能参与疼痛的发生与维持。Tili 等^[28]研究发现, 在慢性淋巴性白血病中过量表达的 miR-125b 可以改变细胞对葡萄糖、脂质以及谷胱甘肽的代谢途径, 表明 miR-125b 在使细胞代谢更适应恶化的癌细胞中具有重要作用。

2.3 miR-125家族表达的调控机制

目前研究发现, miR-125 家族的表达调控主要发生在染色体水平、基因水平和转录水平。

2.3.1 染色体水平

染色体易位为主要调控方式, 其主要由类型转换重组、同源重组与非同源末端连接等方式造成, 其可将增强子易位至致癌性 microRNA 的基因上游而导致癌基因的过量表达, 进而诱导肿瘤的发生。Bousquet 等^[29]通过对 19 例骨髓增生异常综合征与急性髓系白血病患者的病变细胞进行荧光原位杂交发现, 其普遍存在 t(2;11)(q21;q23) 染色体易位, 并

且具有这种易位的患者存在从 6 倍到 90 倍不等的 miR-125b-1 的异常高表达。Chapiro 等^[30]在急性淋巴细胞白血病中发现 t(11;14)(q24;q32) 的染色体易位, 这种易位也直接导致了 miR-125b-1 的表达上调。高表达的 miR-125b-1 进一步调控了 MCL-1 的表达, 从而为癌变提供了可能。与上述不同的是, McKinsey 等^[31]研究发现, 在尤文肉瘤 (Ewing's sarcoma) 中, 染色体易位可以造成 miRNA125b 的异常低表达, 这一发现丰富了 miR-125 家族在染色体水平的调控机制, 同时为尤文肉瘤靶向治疗奠定很好的理论基础。

2.3.2 基因水平

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与表观遗传学调控是基因水平的两种主要的调控方式。首先, miRNA 基因碱基序列的改变可对 pre/pri-miRNA 的加工过程产生潜在影响, 进而影响 miRNA 的表达水平。Duan 等^[32]发现在 miR-125a 5' 端起第八位核苷酸处存在 G-U 多态性, 这种突变造成了碱基对错配并进一步在 pri-miRNA 的二级结构上形成一个凸起。这种二级结构的改变使 DGCR8 无法识别 pri-miR-125a 的剪切位点, 进而导致 Drosha 无法进行 pri-miR-125a 的加工, 从而降低了 miR-125a 的表达水平。其次, 甲基化是一种普遍的 RNA 表达调控机制, Yuan 等^[33]发现 RNA 甲基转移酶 NSun2 (Misu) 可使 miR-125b-1/2、pre-miR-125b-1/2 甲基化, 进而抑制 miR-125b 的加工过程、RISC 的招募, 并可减弱其基因沉默作用。

2.3.3 转录水平

miRNA 的转录受到许多转录因子的调节。Luo 等^[34]发现过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 可与 miR-125b 基因上游启动子区域的应答元件结合激活 miR-125b 基因的转录, 从而上调 miR-125b 的表达。同样, 与上游启动子结合的转录因子还包括了 CDX2 (caudal type homeobox 2) 和 C/EBP α (CCAAT/enhancer binding protein α)。其中, CDX2 在恶性髓系细胞中激活 miR-125b 基因上游的启动子, 而 C/EBP α 在急性髓系白血病中与 miR-125b 上游启动子结合, 从而提高 miR-125b 的表达水平^[35-36]。除与启动子结合外, 转录因子还可与基因上游的增强子结合进而激活相应基因转录。Manfe 等^[37]发现, c-Myc 在皮肤 T 细胞淋巴瘤中可与 miR-125b-1/2 基因上游的增强子结合, 并通过降低增强子的活性抑制 miR-125b 基因的转录, 从而下调 miR-125b-1/2 的表达水平。除转录因子外, 雄激素也参与 miR-

125b 的转录调节。Sen 等^[38]在 miR-125b-2 上游启动子区域发现了 4 个雄激素应答元件,提示雄激素可刺激 miR-125b-2 转录。进一步研究发现,雄激素(双氢睾酮)参与的 MAPK3/1-EGFR 信号通路显著提高了 miR-125b-2 转录水平,其对卵泡闭锁有重要作用。

3 miR-125家族与恶性肿瘤的关系

3.1 miR-125家族在不同恶性肿瘤中的表达

miR-125 家族对各类肿瘤的发生都起到了一定作用,其或作为癌基因下调了部分抑癌蛋白的表达或通过抑制部分癌蛋白的表达发挥抑癌基因的作用。miR-125a-5p 被发现在乳腺癌、卵巢癌、肺癌、成神经管细胞瘤中均存在表达下调;miR-125a-3p 被证实存在滑膜肉瘤、成视网膜细胞瘤存在过量表达,而在非小细胞肺癌与神经胶质瘤中却存在异常低表达;miR-125b 与肿瘤的联系更为广泛,其作为抑癌基因在白血病、肝癌、黑色素瘤、皮肤鳞状细胞瘤中存在表达下调,作为癌基因在前列腺癌、胰腺癌、少突胶质细胞瘤中存在表达上调。miR-125 家族对肿瘤细胞存在多层次的调节。例如,So 等^[39]研究证实,miR-125b 在髓系以及 B 细胞白血病中均存在过量表达。进一步研究发现,miR-125b 分别通过在 mRNA 水平以及基因缺失水平抑制髓细胞以及 B 细胞中 IRF4 的表达,进而诱发癌变。Xia 等^[40]研究发现,在胶质瘤细胞中 miR-125b 水平升高,与胶质瘤细胞抗凋亡的存活能力呈正相关;Nishida 等^[41]研究发现,miR-125a 在胃癌中表达过低,并与胃癌细胞的快速增殖有直接关系;Nyholm 等^[42]研究发现,miR-125b-1 在黑色素瘤中存在过量表达,推测其诱导了 G₀/G₁ 细胞周期阻滞并加速了癌细胞衰老。此外,根据 Hoffman 等^[43]的研究,miR-125b 在乳腺癌中表达降低,其表达水平跟乳腺癌细胞的存活能力与增殖速度呈负相关,并与 RAF1 基因/c-Raf 蛋白的表达也呈负相关。但亦有实验证明,miR-125b 在 MCF-MB-231 乳腺癌细胞中表达上调,这种高表达可能通过激活 STARD13 蛋白的表达而增强乳腺癌细胞的转移能力。这进一步阐释了 miR-125 在恶性肿瘤中扮演着复杂的角色,甚至在同一种类型的不同种肿瘤细胞或发展的不同阶段都有可能起到不同作用。

3.2 miR-125家族在肿瘤发生发展中的作用

3.2.1 调控肿瘤细胞增殖

ErbB2 又称 Her2 (human epidermal growth factor

receptor 2),与 erbB3 同属于 erbB 受体酪氨酸激酶家族,其参与的 PI3K/Akt 信号途径对细胞的增殖有重要促进作用^[44]。目前研究发现,miR-125a 与 miR-125b 可协同靶向抑制 erbB2/erbB3,从而限制了肿瘤细胞的过度增殖。Wang 等^[45]研究发现,组蛋白脱乙酰酶抑制剂 (HDACi) 恩替诺特可诱导乳腺癌细胞下调 erbB2/erbB3 的表达水平,从而抑制肿瘤细胞增殖。进一步研究发现,恩替诺特通过抑制 HDAC 作用促进 DNA 甲基转移酶 1 降解,使 DNA 不能维持甲基化状态,激活了 miR-125a/b 的转录基因,上调了其表达水平^[46]。miR-125a/b 进一步抑制了 erbB2 与 erbB3 的翻译,限制了乳腺癌的发展。STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 是一种重要的转录因子^[47],其表达水平在恶性肿瘤细胞中普遍上调,主要作用是肿瘤细胞提供支持其发展的微环境并进一步促进肿瘤细胞增殖。Liu 等^[48]在对骨癌的研究中发现,在骨癌细胞中 miR-125b 的表达存在普遍下调,其表达水平与 STAT3 呈负相关。他们进一步研究发现,在正常细胞中 STAT3 可激活 miR-125b 的表达,表达上调的 miR-125b 反向抑制了 STAT3 的表达,这种负反馈作用有利于细胞维持生理状态下相对低水平的 STAT3,提示 miR-125b 可通过抑制 STAT3 的表达在骨癌中起到抑制癌细胞增殖的作用。另外,Bi 等^[49]研究发现,miR-125a 通过抑制 VEGF-A 的表达对肝癌细胞的增殖起抑制作用。将抑制 VEGF-A 表达的 siRNA 导入细胞中可弥补肝癌细胞中 miR-125a 的低表达,提示 miR-125a 可作为肝癌的治疗靶点。Morelli 等^[50]证实,利用慢病毒载体导入人工合成的 miR-125b-1 具有抑制多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 恶化的作用。其主要通过抑制 IRF4 的表达下调了促进 MM 细胞增殖的 c-Myc、caspases-10 以及 cFLIP (cellular FLICE-like inhibitory protein),证明 miR-125b-1 为潜在 MM 的治疗靶点。

miR-125b 主要可通过抑制细胞周期停滞,从而促进细胞持续增殖,这种作用主要依赖于 miR-125b 对 p53 蛋白表达的下调作用。p53 是一个重要的抑癌蛋白,其主要作用于细胞周期检测点,在检测到 DNA 损伤后首先启动细胞周期阻滞以及 DNA 损伤修复程序,当 DNA 损伤无法修复时 p53 引发细胞凋亡或细胞衰老^[51]。Le 等^[52]证实,miR-125b 与 p53 mRNA 3' 端非翻译区的结合可直接抑制 p53 的表达。通过抑制 p53 蛋白的表达,miR-125b 进一步影响了 p53 的下游蛋白 p21。p21Waf1/Cip1 是一

种周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 抑制因子, 其被 p53 蛋白激活后通过与 cyclin/CDK 复合物结合并抑制其激酶活性, 使细胞生长停滞在 G₁ 期检测点。miR-125b 通过在转录后水平下调 p53 蛋白的表达而抑制了 p21 的活性, 从而避免了 p21 介导的 G₁/S 期细胞周期停滞。除 p21 外, miR-125b 还可调控 p53 的下游靶点 cdc25c。Cdc25c 又称细胞分裂周期蛋白 25 同源蛋白 C (cell division cyclin 25 homolog C), 其实为一种在 G₂ 期检测点发挥重要作用的磷酸酶, 可催化 cdc2 (CDK1)/cyclinB 复合物的去磷酸化, 从而激活 cyclinB/CDK1, 并引导细胞进入 M 期。miR-125b 通过下调 p53 的表达而减弱了 p53 对 cdc25C 的转录抑制作用, 进而避免 p53 诱导细胞进入细胞周期阻滞^[53]。

3.2.2 调控肿瘤细胞凋亡

miR-125b 抑制细胞凋亡的作用也与 p53 及其调控网络密不可分。Pearson 等^[54] 研究发现, 在 p53 突变或缺失的癌细胞中促凋亡蛋白 Bax 也无法发挥作用, 因为 p53 可通过与 Bcl-XL 结合释放其抑制的 Bax 蛋白, 进而促进细胞凋亡。而当 p53 受 miR-125b 影响表达水平下调时, Bax 蛋白就持续受到 Bcl-XL 的抑制, 从而抑制了细胞凋亡。除间接影响 p53 的下游靶点外, miR-125 家族也可以直接调节部分 p53 调控网络蛋白的表达。Shi 等^[55] 通过对比表达雄激素受体与不表达雄激素受体的前列腺癌细胞内 miRNA 的丰度发现, miR-125b 的表达水平在表达雄激素受体的前列腺癌细胞中被上调, 其上调程度与癌细胞凋亡速率呈负相关。进一步研究发现, miR-125b 在受到雄激素的激活后与 BAK1 mRNA 结合并抑制了作为 p53 下游靶蛋白之一的 Bak1, 并进一步抑制了 Bak1 介导的细胞凋亡作用。

另一方面, miR-125 家族的促进细胞凋亡的作用通常是通过 miR-125b 抑制相应的抗凋亡蛋白的表达而完成的。Yin 等^[56] 通过对神经胶质瘤的研究指出, miR-125a-3p 具有促进胶质瘤细胞凋亡的作用, 这种作用与神经调节素 1 (neuregulin 1, Nrg1) 有关。Nrg1 是一种信号转导蛋白, 其作为 Erb 家族受体酪氨酸激酶的配体可通过激活 erbB2、erbB3 或 erbB4 促进细胞增殖并抑制细胞凋亡, 而 miR-125b 通过靶向下调 Nrg1 的表达抑制了其介导的抗凋亡作用。Yin 等^[56] 在 U251 与 U87 胶质瘤细胞系中恢复 miR-125a-3p 的表达发现, 胶质瘤细胞迁移率下降而凋亡率显著提高。最新研究揭示, Nrg1 的高表达与肺癌、胃癌、乳腺癌、黑色素瘤均有重要

的联系, 提示了 miR-125a-3p/Nrg1 调节途径具有成为新的肿瘤治疗靶点的可能性。Gong 等^[57] 研究发现, 被 miR-125b 抑制的抗凋亡蛋白主要包括 Bcl-2 家族中 BH4 亚家族中的 Mcl-1 与 Bcl-w。miR-125b 可通过直接与其相应的 mRNA 结合而降低其表达水平, 或可通过下调 IL-6 的表达进而减弱 IL-6 介导的 JAK-STAT3 途径对 Mcl-1 与 Bcl-w 转录的激活作用^[58]。另外, miR-125b 通过对 STAT3 信号转导途径的抑制也下调了 survivin 的表达, 这种下调作用可以有效抑制肿瘤细胞的生长。Survivin 是凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis, IAP) 家族的成员, 其具有抑制细胞凋亡与促进有丝分裂的双重作用^[59]。Survivin 在正常细胞中几乎不表达, 而在癌细胞中由于 STAT3 的持续激活, survivin 的表达水平大幅度提高。而 miR-125b 正是通过抑制 IL-6/JAK/STAT3 信号通路而下调了抑制凋亡的 survivin 蛋白, 从而扮演了促进癌细胞凋亡的角色。

3.2.3 调控肿瘤的侵袭与转移

虽然 miR-125 家族根据细胞环境的不同, 既可对癌发生发挥抑制, 也可发挥相反的促进作用, 但在转移层面 miR-125 家族主要起到促进的作用。肿瘤细胞的转移主要通过上皮间质转化 (EMT) 机制完成^[60]。间质细胞区别于上皮细胞在于其既没有极性也不存在细胞间的黏着, 所以使其获得了自由迁移的能力。上皮细胞转化为间质细胞需要细胞形态、细胞间黏着以及移动能力等一系列的改变, 这些改变通常受到各类蛋白质与信号转导通路的调控, 而 miR-125 家族便参与到蛋白质的表达与信号通路的调控中, 进而控制 EMT 的发生。Tang 等^[61] 通过对乳腺癌细胞的研究发现, miR-125b 对 MCF-7 乳腺癌细胞系有促转移的作用。转染 miR-125b 的乳腺癌细胞的波形蛋白 mRNA 水平与 α -SMA mRNA 水平分别增加了 5.2 倍与 6.34 倍, 同时, 波形蛋白与 α -SMA 表达水平分别上调了 2.7 倍与 1.92 倍, 说明 miR-125b 诱导上皮细胞向间质细胞转化, 进而增强了乳腺癌细胞的转移率与侵袭性。进一步研究发现, miR-125b 可能通过 STARD13-RhoA-ROCK 信号途径调控 α -SMA 的表达以及 EMT 过程。miR-125b 通过下调 STARD13 的表达后解除了 STARD13 对 RhoA 的 GTP 酶活性的抑制作用, 随后 RhoA 激活其下游丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 ROCK, 活化的 ROCK 又促进了 α -SMA 的表达, 并进一步促进 EMT 转化^[62]。此外, Wu 等^[63] 还证明了在胃癌细胞中, 高表达的 miR-125b 可下调蛋白磷酸酶 1- α

催化亚基水平 (protein phosphate PPP-1 α catalytic subunit, PPP1CA) 从而提高 Rb 蛋白的表达, 最终促进胃癌细胞侵袭与转移。

相反, Zhou 等^[64] 证实了 miR-125 在 TGF- β /Smad 通路介导的 EMT 中起到了抑制作用。他们发现, miR-125b 在肺癌细胞中可通过降低 SMAD2 与 SMAD4 的表达水平, 从而减弱 TGF- β 介导的信号通路, 提示了 miR-125b 在 EMT 过程中扮演着抑制与促进的双重角色。另外, Cortez 等^[65] 发现, 在胶质瘤细胞中 miR-125a 存在异常低表达, 而其表达水平与胶质瘤细胞的迁移率呈负相关。进一步研究发现, miR-125b 可以下调膜整合蛋白 podoplanin 的表达水平, 从而抑制胶质瘤细胞转移。而根据先前研究, podoplanin 可通过降低 Rho 家族 GTP 酶的活性而诱导细胞通过丝状伪足进行迁移, 进而形成了除去 EMT 途径外的另一条癌细胞侵袭途径^[66]。Cortez 等^[65] 的研究提示 miR-125b 可在 EMT 之外的癌细胞迁移途径中起到抑制作用, 并可作为预防胶质瘤细胞转移的靶点之一。

3.2.4 参与调控免疫反应

近年来, 随着肿瘤免疫治疗的快速发展, miRNA 在肿瘤免疫反应中的作用也逐渐变得清晰。而 miR-125 家族主要作为抑癌基因, 通过 HuR 及其下游蛋白影响着肿瘤免疫反应。HuR 是一种 RNA 结合蛋白, 其通过增强靶 mRNA 的稳定性或翻译效率来提高相应靶基因在细胞中的表达水平^[67]。Guo 等^[68] 研究证明, 乳腺癌细胞中高表达的 miR-125a 可直接抑制 HuR 的过量表达, 从而起到抑癌基因的作用。通过对 HuR 的下游通路的分析发现, HuR 可结合环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) mRNA 进而提升 COX-2 的表达。COX-2, 又称前列腺素合成酶, 是催化花生四烯酸生成多种前列腺素产物的关键酶。癌细胞表达的 COX-2 直接导致其产物前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 表达水平上调。在适应性免疫层面, PGE2 可选择性减少辅助性 T 细胞产生的 IFN- γ 与 IL-2, 同时也可抑制 DC (dendritic cell, DC) 产生趋化因子 CCL19, 进而降低其吸引初始 T 细胞的能力。而 miR-125a 通过 HuR/COX-2 途径降低了 PGE2 的表达, 进而解除了 PGE2 对机体免疫系统的抑制作用, 从而起到抑癌基因作用。然而, HuR 在免疫系统中的作用长期存在争议, miR-125b 也可发挥一定促进机体对肿瘤的免疫反应的作用。Rhee 等^[69] 发现, 在小鼠体内 HuR 可通过磷酸化转录因子 NF- κ B 影响炎症相关基

因 BMP-4、KLF2 与 eNOS, 以及黏着分子 ICAM-1 与 VCAM-1 的表达, 进而促进了机体免疫反应。因此, HuR 蛋白对机体免疫系统可能同时具有促进与抑制的作用, 其在特定条件下的功能可能与其表达的组织细胞类型以及受到的炎症刺激相关。

4 miR-125家族与肿瘤耐药性的关系

Xie 等^[70] 研究发现, 在阿霉素 (doxorubicin) 耐药性的 MCF-7 乳腺癌细胞中 miR-125b 表达水平显著降低, 而转染 miR-125b 可大幅度提升阿霉素对 MCF-7 细胞的细胞毒性。进一步研究发现, miR-125b 可通过抑制抗凋亡因子 Mcl-2 影响线粒体外膜电位, 从而激活 caspase-3 诱导的内源性凋亡途径。Liu 等^[71] 证实, 锌指转录因子 Snail 在紫杉醇 (taxol) 耐药性乳腺癌干细胞中存在表达上调。其进一步通过上调 miR-125b 抑制促凋亡蛋白 Bak1 的活性, 从而促进肿瘤干细胞增殖并抑制紫杉醇的细胞毒性。另外, Akcakaya 等^[72] 发现, 在酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼 (imatinib) 耐药性胃肠道间质瘤中, miR-125a-5p 存在表达上调, 高表达的 miR-125a-5p 通过抑制 STARD13 与 PTPN18 表达降低了伊马替尼的细胞毒性。越来越多的证据表明, miR-125 家族与各类肿瘤耐药性的建立均有密切联系。应用锁核酸、肽核酸、磷酸二胺吗啉代寡核苷酸 (phosphorodiamidate morpholino, PMO) 等 anti-miR 技术, 或使用慢病毒载体 (lentiviral vector) 导入合成 miR-125a/b, 均为以 miR-125 家族为靶点的肿瘤治疗提供了可靠的发展前景^[73]。

5 展望

越来越多的研究证明, miR-125 家族在肿瘤的发生发展中起到了重要的作用。miR-125 家族主要在增殖、凋亡、细胞周期、转移与免疫层次调控肿瘤细胞的发展, 而这种调控通常具有两面性。了解 miR-125 家族基因在恶性肿瘤细胞中的差异表达及其作用机制可能为肿瘤治疗提供新的靶点, 更有望为 miR-125 家族作为生物标记物应用于肿瘤的早期诊断提供可能性。

[参 考 文 献]

- [1] Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, 136(4): 642-55
- [2] Hammond SM. An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 87: 3-14
- [3] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans*

- heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75(5): 843-54
- [4] Westholm JO, Lai EC. Mirtrons: microRNA biogenesis via splicing. *Biochimie*, 2011, 93(11): 1897-904
- [5] Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*, 2007, 448(7149): 83-6
- [6] Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(11): 4034-9
- [7] Vimalraj S, Selvamurugan N. MicroRNAs: synthesis, gene regulation and osteoblast differentiation. *Curr Issues Mol Biol*, 2012, 15(1): 7-18
- [8] Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*, 2008, 9(2):102-14
- [9] Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet*, 2010, 11(9): 597-610
- [10] Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature*, 2010, 466(7308): 835-40
- [11] Pillai RS. Inhibition of translational initiation by *let-7* microRNA in human cells. *Science*, 2005, 309: 1573-6
- [12] Humphreys DT, Westman BJ, Preiss T, et al. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(47): 16961-6
- [13] Kiriakidou M. An mRNA M7G cap binding-like motif within human Ago2 represses translation. *Cell*, 2007, 129(6): 1141-51
- [14] Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, et al. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol Cell*, 2006, 21(4): 533-42
- [15] Nottrott S, Simard MJ, Richter JD. Human *let-7a* miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13(12):1108-14
- [16] Sun YM, Lin KY, Chen YQ, et al. Diverse functions of miR-125 family in different cell contexts. *J Hematol Oncol*, 2013, 6: 6
- [17] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4): 259-69
- [18] Ooi AG, Sahoo D, Adorno M, et al. MicroRNA-125b expands hematopoietic stem cells and enriches for the lymphoid-balanced and lymphoid-biased subsets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(50): 21505-10
- [19] Chaudhuri AA, So AY, Mehta A, et al. Oncomir miR-125b regulates hematopoiesis by targeting the gene *Lin28A*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(11): 4233-8
- [20] Tatsumi N, Hojo N, Oji Y, et al. Deficiency in WTI-targeting microRNA-125a leads to myeloid malignancies and urogenital abnormalities. *Oncogene*, 2015 [Epub ahead of print]
- [21] Le MT, Xie HM, Zhou BY, et al. MicroRNA-125b promotes neuronal differentiation in human cells by repressing multiple targets. *Mol Cell Biol*, 2009, 19(19): 5290-305
- [22] Park D, Xiang AP, Mao FF, et al. Nestin is required for the proper self-renewal of neural stem cells. *Stem Cells*, 2010, 28(12): 2162-71
- [23] Luo X, Zhang L, Li M, et al. The role of miR-125b in T lymphocytes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*, 2013, 31(2): 263-71
- [24] Chaudhuri AA, So AY, Sinha N, et al. MicroRNA-125b potentiates macrophage activation. *J Immunol*, 2011, 187(10): 5062-8
- [25] Ruckerl D, Jenkins SJ, Laqtom NN, et al. Induction of IL-4R α -dependent microRNAs identifies PI3K/Akt signaling as essential for IL-4-driven murine macrophage proliferation *in vivo*. *Blood*, 2012, 120(11): 2307-16
- [26] Rajaram MV, Ni B, Morris JD, et al. Mycobacterium tuberculosis lipomannan blocks TNF biosynthesis by regulating macrophage MAPK- activated protein kinase 2 (MK2) and microRNA miR-125b. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 108(42): 17408-13
- [27] Zhao J, Lee MC, Momin A, et al. Small RNAs control sodium channel expression, nociceptor excitability, and pain thresholds. *J Neurosci*, 2010, 30(32): 10860-71
- [28] Tili E, Michaille JJ, Luo Z, et al. The down-regulation of miR-125b in chronic lymphocytic leukemias leads to metabolic adaptation of cells to a transformed state. *Blood*, 2012, 120(11): 2631-8
- [29] Bousquet M, Quelen C, Rosati R, et al. Myeloid cell differentiation arrest by miR-125b-1 in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with the t(2;11)(p21;p23) translocation. *J Exp Med*, 2008, 205(11): 2499-506
- [30] Chapiro E, Russell LJ, Struski S, et al. A new recurrent translocation t(11;14)(q24;q32) involving *IGH@* and miR-125b-1 in B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 2010, 24(7):1362-4
- [31] McKinsey EL, Parrish JK, Irwin AE, et al. A novel oncogenic mechanism in Ewing sarcoma involving IGF pathway targeting by EWS/Fli1-regulated microRNAs. *Oncogene*, 2011, 30(49): 4910-20
- [32] Duan R, Pak C, Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA. *Human Mol Genet*, 2007, 19(9): 1124-31
- [33] Yuan SY, Tang T, Xing JY, et al. Methylation by NSun2 represses the levels and function of MicroRNA 125b. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(19): 3630-41
- [34] Luo SA, Wang JD, Ma Y, et al. PPAR γ inhibits ovarian cancer cells proliferation through upregulation of miR-125b. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 462(2): 85-90
- [35] Lin KY, Zhang XJ, Cheng YQ, et al. MiR-125b, a target of CDX2, regulates cell differentiation through repression of the core binding factor in hematopoietic malignancies. *J Biol Chem*, 2011, 286(44): 38253-63
- [36] Vargas Romero P, Cialfi S, Screpanti I, et al. The deregulated expression of miR-125b in acute myeloid

- leukemia is dependent on the transcription factor C/EBP α . *Leukemia*, 2015, [Epub ahead of print]
- [37] Manfè V, Biskup E, Willumsgaard A, et al. cMyc/miR-125b-5p Signalling determines sensitivity to bortezomib in preclinical model of cutaneous T-Cell lymphomas. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59390
- [38] Sen A, Prizant H, Hammes SR, et al. Androgens regulate ovarian follicular development by increasing follicle stimulating hormone receptor and microRNA-125b expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(8): 2009-13
- [39] So AY, Sookram R, Baltimore D, et al. Dual mechanism by which miR-125b represses IRF4 to induce myeloid and B-cell leukemias. *Blood*, 2014, 124(9): 1502-12
- [40] Xia HF, He TZ, Liu CM, et al. MiR-125b expression affects the proliferation and apoptosis of human glioma cells by targeting *Bmf*. *Cell Physiol Biochem*, 2009, 23(4-6): 347-58
- [41] Nishida N, Mimori K, Fabbri M, et al. MicroRNA-125a-5p is an independent prognostic factor in gastric cancer and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in combination with trastuzumab. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(9): 2725-33
- [42] Nyholm AM, Lerche CM, Manfè V, et al. miR-125B induces cellular senescence in malignant melanoma. *BMC Dermatol*, 2014, 14: 8
- [43] Hofmann MH, Heinrich J, Radziwill G, et al. A short hairpin DNA analogous to miR-125b inhibits C-Raf expression, proliferation, and survival of breast cancer cells. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(10): 1635-44
- [44] She QB, Chandralapaty S, Ye Q, et al. Breast tumor cells with PI3K mutation or HER2 amplification are selectively addicted to Akt signaling. *PLoS One*, 2008, 3(8): e3065
- [45] Wang S, Huang J, Lyu H, et al. Functional cooperation of miR-125a, miR-125b, miR-205 in entinostat-induced downregulation of erbB2/erbB3 and apoptosis in breast cancer cells. *Cell Death Dis*, 2013, 4(3): e556
- [46] Zhou Q, Agoston AT, Atadja P, et al. Inhibition of histone deacetylases promotes ubiquitin-dependent proteasomal degradation of DNA methyltransferase 1 in human breast cancer cells. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(5): 873-83
- [47] Bollrath J, Pheffe TJ, von Burstin VA, et al. gp130-mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2009, 15(2): 91-102
- [48] Liu LH, Li H, Li JP, et al. miR-125b suppresses the proliferation and migration of osteosarcoma cells through down-regulation of STAT3. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 416(1-2): 31-38
- [49] Bi Q, Tang S, Xia L, et al. Ectopic expression of miR-125a inhibits the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma by targeting MMP11 and VEGF. *PLoS One*, 2012, 7(6): e40169
- [50] Morelli E, Leone E, Cantafio ME, et al. Selective targeting of IRF4 by synthetic microRNA-125b-5p mimics induces anti-multiple myeloma activity *in vitro* and *in vivo*. *Leukemia*, 2015 [Epub ahead of print]
- [51] Levine AJ, Oren M. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(10): 749-58
- [52] Le MTN, Teh C, Shyh-Chang N, et al. MicroRNA-125b is a novel negative regulator of p53. *Genes Dev*, 2009, 23(7): 862-72
- [53] St Clair S, Manfredi JJ. The dual specificity phosphatase Cdc25C is a direct target for transcriptional repression by the tumor suppressor p53. *Cell Cycle*, 2006, 5(7): 709-13
- [54] Pearson AS, Spitz FR, Swisher SG, et al. Up-regulation of the proapoptotic mediators Bax and Bak after adenovirus-mediated p53 gene transfer in lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(3): 887-90
- [55] Shi XB, Xue L, Yang J, et al. An androgen-regulated miRNA suppresses Bak1 expression and induces androgen-independent growth of prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(50): 19983-8
- [56] Yin F, Zhang JN, Wang SW, et al. MiR-125a-3p Regulates glioma apoptosis and invasion by regulating Nrg1. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116759
- [57] Gong J, Zhang JP, Li B, et al. MicroRNA-125b promotes apoptosis by regulating the expression of Mcl-1, Bcl-2 and IL-6R. *Oncogene*, 2013, 32(25): 3071-9
- [58] Ara T, Song L, Shimada H, et al. Interleukin-6 in the bone marrow microenvironment promotes the growth and survival of neuroblastoma cells. *Cancer Res*, 2009, 69(1): 329-33
- [59] Stauber RH, Mann W, Knauer SK. Nuclear and cytoplasmic survivin: molecular mechanism, prognostic, and therapeutic potential. *Cancer Res*, 2007, 67(13): 5999-6002
- [60] Voulgari A, Pintzas A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2): 75-90
- [61] Tang F, Zhang R, He YM, et al. MicroRNA-125b induces metastasis by targeting STARD13 in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells. *PLoS One*, 2012, 7(5): e35435
- [62] Leung TH, Ching YP, Yam JW, et al. Deleted in liver cancer 2 (DLC2) suppresses cell transformation by means of inhibition of RhoA activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(42): 15207-12
- [63] Wu JG, Wang JJ, Jiang X, et al. MiR-125b promotes cell migration and invasion by targeting PPP1CA-Rb signal pathways in gastric cancer, resulting in poor prognosis. *Gastric Cancer*, 2014 [Epub ahead of print]
- [64] Zhou JN, Zeng Q, Wang HY, et al. miR-125b attenuates epithelial-mesenchymal transitions and targets stem-like liver cancer cells through small molecules against decapentaplegic 2 and 4. *Hepatology*, 2015 [Epub ahead of print]
- [65] Cortez MA, Nicoloso MS, Shimizu M, et al. miR-29b and miR-125a regulate podoplanin and suppress invasion in glioblastoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 49(11): 981-90
- [66] Wichi A, Lehembre F, Wick N, et al. Tumor invasion in

- the absence of epithelial-mesenchymal transition: podoplanin-mediated remodeling of the actin cytoskeleton. *Cancer Cell*, 2006, 9(4): 261-72
- [67] Rajasingh J. The many facets of RNA-binding protein HuR. *Trends Cardiovasc Med*, 2015 [Epub ahead of print]
- [68] Guo X, Wu YH, Hartley RS. MicroRNA-125a represses cell growth by targeting HuR in breast cancer. *RNA Biol*, 2009, 6(5): 275-83
- [69] Rhee WJ, Ni CW, Zhang Z, et al. HuR regulates the expression of stress-sensitive genes and mediates inflammatory response in human umbilical vein endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(15): 6858-63
- [70] Xie X, Hu Y, Xu L, et al. The role of miR-125b-mitochondria-caspase-3 pathway in doxorubicin resistance and therapy in human breast cancer. *Tumor Biol*, 2015 [Epub ahead of print]
- [71] Liu Z, Liu H, Desai S, et al. miR-125b functions as a key mediator for snail-induced stem cell propagation and chemoresistance. *J Biol Chem*, 2013, 288(6): 4334-45
- [72] Akcakaya P, Caramuta S, Ahlen J, et al. microRNA expression signatures of gastrointestinal stromal tumours: associations with imatinib resistance and patient outcome. *Br J Cancer*, 2014, 111(11): 2091-102
- [73] Cheng CJ, Saltzman WM, Slack FJ. Canonical and non-canonical barriers facing anti-miR cancer therapeutics. *Curr Med Chem*, 2013, 20(29): 3582-93