

DOI: 10.13376/j.cbls/2020071

文章编号: 1004-0374(2020)06-0574-07

小激活RNA上调抑癌基因p21表达及其应用前景

严 静^{1,2}, 黄益玲^{1,2*}, 黄利鸣^{1*}

(1 三峡大学医学院肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 宜昌 443002; 2 三峡大学医学院病理学系, 宜昌 443002)

摘 要: 小激活 RNA (small activating RNA, saRNA) 是新近发现的能够靶向作用于基因启动子区域, 并在转录水平诱导基因表达的小分子双链 RNA。RNA 激活通过重新开启内源性基因的表达、恢复蛋白质的天然功能来发挥治疗作用, 在医学上具有巨大的应用前景。抑癌基因 p21 的主要作用是使细胞周期停滞于 G₁/S 和 G₂/M 期, 从而抑制细胞增殖。该文就 saRNA 上调抑癌基因 p21 表达的生物学意义及 saRNA 药物应用的可行性作一综述。

关键词: 小激活 RNA; RNA 激活; 抑癌基因 p21; 核酸药物

中图分类号: Q291; R349.6 **文献标志码:** A

Research progress of saRNA activated tumor suppressor gene p21 and applications of saRNA

YAN Jing^{1,2}, HUANG Yi-Ling^{1,2*}, HUANG Li-Ming^{1*}

(1 Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

2 Department of Pathology, Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: Small activating RNA (saRNA) is a newly discovered small double-stranded RNA molecule, targeting gene promoter regions to induce gene expression at transcriptional level. RNA activation (RNAa) plays a therapeutic role by turning on the expression of endogenous genes and restoring the natural function of proteins. The main function of tumor suppressor gene p21 is to arrest cell cycle at G₁/S and G₂/M phase, thus inhibiting cell proliferation. This paper reviews the biological significance of saRNA in upregulating the expression of p21 and applications of saRNA drug.

Key words: small activating RNA; RNA activation technology; tumor suppressor gene p21; nucleic acid drug

小激活 RNA (small activating RNA, saRNA) 是新近发现的, 能够靶向作用于基因启动子区域并在转录水平诱导基因表达的小分子双链 RNA。与 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 相比, RNA 激活 (RNA activation, RNAa) 技术在细胞内作用更稳定, 对靶基因的作用更持久, 将在肿瘤精准治疗、药物研发及基因操控等多个领域带来重大改变。p21 基因也称为 p21 WAF1/Cip1 (wildtype activating factor-1/cyclin-dependent kinase inhibitory protein-1), 编码蛋白含有 165 个氨基酸, 在正常组织中可调节细胞周期, 使细胞周期停滞于 G₁/S 和 G₂/M 期, 并参与细胞凋亡和细胞分化, 抑制细胞增殖。saRNA

上调抑癌基因 p21 表达在多种不同肿瘤模型中可发挥抑癌作用, 因此, 使用化学修饰提高 saRNA 稳定性, 合理利用药物载体和药物递送方式, 提高核酸药物利用率, 为恶性肿瘤治疗提供了新思路。

收稿日期: 2019-11-20; 修回日期: 2020-02-17

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81374024); 湖北省教育厅重点课题项目(D20181201); 2018年度三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室开放基金课题项目(2018KZL07)

*通信作者: E-mail: lotusyj@126.com (黄益玲); hlmyj8265@sina.com (黄利鸣)

1 saRNA概述

早在1969年, Britten和Davidson^[1]发现, 基因组非编码区转录出的RNA能够激活一大类基因的表达, 并提出过RNA激活的概念, 但未获进一步证实。直到2006年, saRNA才被Li等^[2]正式发现并命名: 他们在利用靶向E-cadherin (E-钙黏素基因) 启动子区的小干扰RNA (dsEcad-302、dsEcad-215) 转染前列腺癌PC-3和DU-145细胞时意外发现, 目的基因没有发生预期的表达沉默, 反而分别上调了14倍和3.8倍。此后, 多个研究小组报道了saRNA应用于肿瘤治疗研究。Yang等^[3]发现, 前列腺癌细胞系DU145和PC3转染saRNA (dsPAWR-433)后, 前列腺癌细胞中PAWR (PRKC apoptosis WT1 regulator) 基因表达上调, 细胞增殖受阻; Cho等^[4]使用saRNA上调sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1), 可抑制新生血管生成; Reebye等^[5]在研究肝癌时发现, HepG2细胞转染CEBPA-saRNA (CCAAT/enhancer-binding protein- α saRNA) 能使CEBPA mRNA和蛋白表达上调, 细胞增殖受到抑制。在后续临床前研究中, 研究者分别在肝硬化、肝衰竭、肝癌、脂肪肝小鼠模型中注射CEBPA-saRNA脂质复合物, 观察动物模型肝功能相关指标及生存期, 结果发现谷丙转氨酶、谷草转氨酶、血氨水平在治疗后1周出现明显下降, 并可逐渐恢复至正常水平; 与对照组相比, 治疗组的9周观察期存活率增加50%; 在脂肪肝模型中使用CEBPA-saRNA脂质复合物, 可以有效改善肝脏组织中脂质沉积和炎症细胞聚集, 逆转肝脏组织结构紊乱。动物实验成功为saRNA进入临床应用奠定了基础, 有望为晚期肝癌患者争取手术机会。

saRNA是体外人工设计的, 针对目标抑癌基因启动子区的长约19~21 bp的双链小RNA, 与抑癌基因启动子区结合后促进mRNA转录, 抑癌基因表达增加。saRNA序列具有作用位点特异性, 针对启动子不同区域的saRNA, 上调目标基因mRNA和蛋白表达具有明显差异^[6]。启动子区高甲基化状态不利于saRNA对抑癌基因激活: HeLa细胞中E-cadherin启动子高甲基化, 单独使用dsEcad-302和dsEcad-215并不能诱导其表达, 而saRNA联合低剂量去甲基化试剂(Aza-C)处理细胞后E-cadherin表达显著上升^[2]。saRNA序列具有方向特异性, 分别突变dsEcad-215反义链5'、3'和中间5 bp碱基, 结果只有5'端突变的dsEcad-215没有诱导E-cadherin

mRNA和蛋白表达上调^[2]。saRNA序列具有作用长效性, 在前列腺癌细胞系PC-3中转染dsEcad-215, 48 h后检测到E-cadherin mRNA及蛋白水平表达上调, 并且14 d后该上调现象仍存在^[2]。

saRNA激活发生在细胞核内, 作用机制可概括为: 外源性saRNA经脂质体、质粒、病毒等方式转染入细胞内, 双链结构打开, 反义链被AGO2蛋白识别结合, 并募集其他蛋白形成RNA激活复合物, 经核孔或核膜碎裂区进入细胞核内, 在RNA聚合酶II协同作用下与目的基因启动子区互补结合, 从而激活特定基因表达^[7]。在此过程中, 伴随着组蛋白甲基化修饰的变化, 但具体作用机制有待进一步探讨。

2 抑癌基因p21概述

1993年, El-Deiry等^[8]首次在大脑、肺、结肠肿瘤细胞中发现与抑制肿瘤增殖有关的抑癌基因p21, 其位于染色体6p21.2上, 编码的蛋白质由165个氨基酸组成, 属于CDK (cyclin-dependent kinase) 抑制剂, 也可称为p21 WAF1/Cip1或CDKN1A (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A)^[9]。Bertoli等^[10]发现, p21可提高与细胞周期蛋白D (cyclin D) 相结合的CDK4 (cyclin-dependent kinase 4, 周期依赖性蛋白激酶4) 或CDK6的活性, 从而促进细胞周期G₁期进程; p21可抑制CDK2-cyclin E的活性使细胞周期不能进入和通过S期, 抑制CDK2-cyclin A和CDK1-cyclin A的活性可阻止细胞进入G₂期, 而抑制CDK1-cyclin B1的活性可使细胞周期停滞在G₂和G₂/M期。Wang等^[11]发现在细胞G₁/S和G₂/M期, p21 LH亚结构域构象改变后D1和D2亚结构域与CDK-cyclin结合, 下游信号Rb基因磷酸化, 从而导致细胞周期停滞。

p21调节细胞周期途径分为p53依赖途径和非依赖途径。在p53依赖途径中, 当机体受到DNA损伤、氧化应激等多种因素影响导致p53活性增高, p53蛋白与p21启动子区特异性应答原件结合, 激活p21表达, 细胞周期抑制, 受损的DNA得以修复^[12]。若损伤DNA修复成功, 细胞进入S期; 损伤DNA修复失败, 则会激活Bax基因使细胞进入凋亡, 间接参与细胞凋亡途径。在p53非依赖途径中, p21可能受到TGF β 、C-myc、逆转录病毒结合位点-1等多种上游调控因子影响^[13-15]。Neri等^[16]在研究急性淋巴瘤时发现, p21调控细胞周期与PI3K/Akt/p21信号通路密切相关。p21也是细胞分化负反馈

调节环中的重要组成部分,在细胞分化终末阶段 p21 构象改变导致失活,保证了细胞分化正常进行。

欧艺虹等^[17]在人前列腺癌细胞系(LNCaP和C4-2)中使用质粒转染方法上调和下调 p21 表达,结果发现上调 p21 表达不仅可抑制肿瘤细胞增殖能力,而且可提高多西他赛的化疗疗效。在动物模型体内实验中,使用腺病毒包装 p21 过表达质粒同样可以得到基因上调效果^[18]。近年来,随着对非编码 RNA 的探究越来越多,有研究者发现 microRNA(miR-519d)可以间接调控 p21^[19]; miR-499-5p 可直接靶向 p21 减轻线粒体裂变和 DOX 心脏毒性^[20]; lncRNA 也可直接或间接调节 p21 在胃癌和黑色素瘤肿瘤细胞中表达,并显著抑制肿瘤细胞增殖^[21-22]。

3 saRNA上调P21表达在肿瘤治疗中的意义

随着 saRNA 设计方案和应用思路不断完善, p21 抑癌作用及机制明确,使用 saRNA 上调 p21 mRNA 及蛋白水平尤为重要,并且在肿瘤治疗临床前实验阶段取得一定进展(表 1)。

3.1 p21 saRNA与肺癌

肺癌是发病率位居第一的恶性肿瘤,五年生存率低于 15%。Li 等^[23]应用免疫组织化学方法分析发现,非小细胞肺癌患者组织病理切片中 p21 表达明显下降。Wei 等^[24]在肺癌细胞系 A549 中转染 p21 saRNA(dsP21-322),检测到 p21 mRNA 和蛋白表达水平上调,并且能明显抑制 A549 细胞增殖。李占亭等^[25]研究发现,转染 dsP21-322 不仅可以有效抑制非小细胞肺癌 A549 细胞增殖,而且增加了癌细胞对顺铂的化疗敏感性,表明 dsP21-322 上调 p21 表达后具有化疗增敏作用。因此,将 saRNA 上调 P21 表达应用于肺癌治疗研究具有重要意义。

3.2 p21 saRNA与前列腺癌

前列腺癌是男性发病率第二位的恶性肿瘤,在发达国家发病率更高。Missaoui 等^[26]临床研究发现, p21 在前列腺癌中低表达或不表达。Roy 等^[27]研究发现,在前列腺癌细胞系 DU145 中敲低 p21 基因,

p21 蛋白表达减少,细胞增殖能力增加,并且与 p27 具有协同作用;小鼠体内实验发现, p21 与 p27 表达减少会增加肿瘤增殖及侵袭能力。因此,激活 p21 表达对前列腺癌治疗具有重要意义。Zhang 等^[28]研究发现,前列腺癌细胞系 PANC-1 转染小激活 RNA dsp21-322 后, p21 mRNA 及蛋白水平明显上调,细胞增殖明显抑制;同时,动物实验发现, dsp21-322 可促进细胞凋亡,抑制肿瘤增殖。王勇等^[29]研究发现,在前列腺癌细胞株 PC-3 和 DU-145 中转染 dsp21-625 后, p21 mRNA 及蛋白表达明显上调,肿瘤细胞增殖受到抑制,并且 saRNA 与雄激素联用能有效抑制激素依赖性前列腺癌 LNCaP 细胞的生长,其抑癌作用较单用 saRNA 或激素效果更好,表明 saRNA 与雄激素具有协同作用。Place 等^[30]在动物实验中进一步证实了 dsp21-322 对前列腺癌的抑制作用。

3.3 p21 saRNA与结肠癌

结肠癌是发病率第三位的恶性肿瘤,术后复发率高,生存期短。Was 等^[31]研究化疗药物对结肠癌疗效时发现,使用化疗药物后肿瘤细胞内 p21 表达增多,肿瘤细胞死亡。因此,直接上调肿瘤细胞中 p21 表达对结肠癌具有治疗意义。Wang 等^[32]在结肠癌细胞系 HCT-116、HCT-116(p53⁻)和 HT-2RNA 中分别转染 saRNA(p21-saRNA-322),发现 p21-saRNA-322 在 mRNA 和蛋白水平均能上调 p21 表达,并使细胞周期停滞于 G₀/G₁ 期,从而抑制细胞增殖。因此,在结肠癌中 saRNA 上调 p21 具有潜在的治疗价值。

3.4 p21 saRNA与肝癌

肝癌是消化系统的常见恶性肿瘤,因肝组织血供丰富,其复发率及死亡率高。Marhenke 等^[33]研究发现,在慢性肝炎和肝癌中 p21 低表达,早期快速恢复 p21 表达水平对肝细胞再生和降低癌症风险有重要意义。Wu 等^[34]在肝癌细胞系 BEL-7402 转染 saRNA(dsp21-322)后发现, p21 mRNA 及蛋白水平明显升高,抗凋亡蛋白 Bcl-xL 表达降低,而 caspase-3、caspase-9 和 PARP 表达增加,促进细胞

表1 p21 saRNA在肿瘤治疗中主要功能

肿瘤类型	saRNA	主要功能
肺癌	dsp21-322	抑制增殖 ^[24] 、化疗增敏 ^[25]
前列腺癌	dsp21-322、dsp21-625	抑制增殖、促进凋亡 ^[28-29] 、激素增敏 ^[29]
结肠癌	dsp21-322	促进细胞周期停滞 ^[32]
肝癌	dsp21-322	抑制增殖和侵袭,促进凋亡 ^[34]
膀胱癌	dsp21-243、dsp21-484	抑制增殖、促进凋亡、促进细胞周期停滞 ^[6,38]

凋亡, 抑制细胞增殖, 并且与对照组相比, dsp21-322 转染组在第 5 天细胞增殖抑制率提高 65.84%。杨哲等^[35]分别在肝癌细胞系 HepG2、Hep3b 和 SMMC-7721 中转染 dsp21-322, 发现 dsp21-322 上调 p21 表达后可抑制肝癌细胞增殖, 并降低肝癌细胞的侵袭能力。

3.5 p21 saRNA与膀胱癌

膀胱癌是发病率较高的泌尿生殖系统肿瘤, 目前膀胱癌的主要治疗手段是根治性膀胱切除术和盆腔淋巴结清扫, 术后联合化疗或免疫治疗。Tang 等^[36]经 Meta 分析发现, p21 蛋白低表达是膀胱癌患者预后的独立危险因素。Yang 等^[37]在膀胱癌细胞系 T24 中转染 saRNA dsp21-322, 发现 dsp21-322 可诱导细胞周期停滞, 并且促进肿瘤细胞凋亡。盖强强等^[6]设计合成 4 条 saRNA (dsp21-242、dsp21-243、dsp21-244 和 dsp21-245), 在膀胱癌细胞系 T24 和 EJ 中转染, 结果发现 dsp21-243 序列与 p21 启动子区配对程度最高, 转染后能显著促进 p21 表达并抑制肿瘤细胞生长。龚化等^[38]设计合成 4 条 dsRNA 分子 (dsp21-382、dsp21-436、dsp21-484、dsp21-625), 分别转染膀胱肿瘤细胞株 5637 细胞及 T24 细胞, 发现它们均可不同程度上调 p21 mRNA 的表达水平, 抑制膀胱癌细胞生长。

4 saRNA临床应用前景

saRNA 能上调多种抑癌基因表达 (表 2), 抑制肿瘤生长, 潜在作用靶点多, 易于设计合成, 但如何利用 saRNA 用于临床治疗需要进一步研究。和以往的核酸药物开发应用的问题类似, saRNA 临床应用面临的问题包括在循环系统中自身降解和核酸酶降解、与预期作用靶点配对失败造成脱靶效应, 以及天然免疫系统激活和免疫细胞吞噬等, 最终导致肿瘤细胞摄取效率低。核酸药物研制经历了许多尝试, 包括化学修饰、药物载体及物理手段, 借鉴 siRNA 较成熟的研究方法及应用思路, 可提高 saRNA 自身稳定性并找到合适的应用途径。

4.1 化学修饰

化学修饰对小分子核酸序列在生理环境中保持稳定性具有重要意义。人体内核酸酶不仅会降解核酸序列, 使其作用活性大大降低, 并且降解产生的短片段可能会带来不必要的非特异性结合, 产生治疗目的以外的副作用。Kang 等^[39]研究发现, 将 dsp21-322-2 进行氟化修饰 (dsp21-322-2'F) 不仅大大降低了天然免疫反应, 而且不影响激活效能; 未修

饰的 saRNA 在人类尿液中 3 h 后几乎全部降解, 修饰后的 saRNA 稳定性更好, 在人类尿液中可以保存 24 h。化学修饰选择的基团和位点均基于安全首位原则, 并保证 saRNA 激活作用不变。虽然化学基团修饰不能解决核酸序列精准递送问题, 但这一体外实验验证了在人体生理环境中使用化学修饰可以提高 saRNA 序列稳定性。

4.2 脂质纳米载体

saRNA 是亲水性, 包裹在脂质纳米材料内有助于入胞, 提高利用率。Wang 等^[32]通过体内外实验证实了 p21-saRNA-322 对结肠癌细胞生长抑制有效, 并且发现通过药物载体 (透明质酸脂质调节复合物) 递药系统, 以直肠给药的方式, 提高了 RNA 利用率。早在 1969 年, 美国国家食品和药品监督局 (FDA) 批准首款临床用脂质纳米材料聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGAs), 后被广泛应用于制药行业。将脂质纳米材料与肿瘤表面特异性过表达受体结合, 可进一步提高核酸药物靶向特异性。Khan 等^[40]研究发现, 肝细胞和肝癌细胞表面特异性去唾液酸糖蛋白受体 (asialoglycoprotein receptor, ASGPR) 在体内其他部位极少表达, 使用其高亲和性特异性配体 N-寡糖乙酰半乳糖胺 (N-acetylgalactosamine, GalNAc) 修饰纳米粒子, 利用配体与受体特异性结合原理将 siRNA 协同运输至肝脏组织中, 可减少 siRNA 在肝脏以外组织中沉积, 达到靶向运输纳米粒子的目的, 提高 survivin 基因 siRNA 转染效率, 抑制 survivin 基因表达, 从而明显抑制肿瘤增殖。

4.3 穿膜肽载体

穿膜肽 (cell penetrating peptides, CPPs) 是一种具有较强跨膜转运功能的小分子肽。1997 年, Morris 等^[41]证明了 27 个残基的 CPPs 载体经单链或双链脱氧寡核苷酸预混合后, 可以有效地将其传递到培养的哺乳动物细胞中。Chinak 等^[42]研究发现, 重组内酯酶 RL2 是一种穿膜肽, 其入胞方式一部分通过脂质筏介导的不依赖于肌动蛋白的胞饮作用, 另一部分可直接穿透质膜。在非小细胞肺癌 A549 细胞系中转染 EGFP (增强型绿色荧光蛋白) 质粒, 通过检测 EGFP 荧光强度, 评估 RL2-siRNA-EGFP 穿膜效率, 结果发现, 随着 RL2 和 siRNA 比例增加, 荧光强度减弱, 说明经 RL2 修饰后 EGFP siRNA 直接进入胞内, 提高了转染效率。

4.4 超声微泡载体

超声辐照超声微泡 (microbubble destruction with ultrasound) 是利用超声波辐照, 使超声微泡破裂,

对细胞产生空化效应,可逆性增加细胞膜通透性,促进基因向细胞内转移,是相对安全、高效的基因转染方法。Ran等^[43]研究发现,在银屑病角质形成细胞(KCs)中通过siRNA下调信号转导子和转录激活子3(STAT3)表达,细胞生长显著被抑制,并且呈明显的时间依赖性,在转染后72h抑制率最高。随后,使用超声微泡装载siRNA脂质复合物,利用超声波辐照观察转染效率,结果发现与对照组相比,超声微泡携带的siRNA脂质复合物比单独使用脂质转染试剂效率更高。基于不断优化化学基团修饰和载体修饰等方法,结合物理方式提高核酸药物利用效率无疑是一大突破。

4.5 免疫细胞载体

免疫细胞在血液和淋巴液中循环能力强,能渗透血脑屏障及纤维化组织,并且易在病变部位大量聚集,因此,免疫细胞可作为优秀的药物载体用于肿瘤治疗。巨噬细胞已被证实可用于水平传递蛋白质、DNA至神经元、肌肉组织,甚至是远端器官,同时具有聚集和分泌功能,可调节细胞间微信息和局部微环境。Wayne等^[44]研究发现,使用siRNA下调钙整合素结合蛋白1(calcium-and integrin-binding protein 1, CIB1)基因表达抑制肿瘤增殖时,先将CIB1-siRNA转染至巨噬细胞内,随后将CIB1-siRNA巨噬细胞与乳腺癌细胞系MDA-MB-231共培养,结果发现与对照组相比,巨噬细胞共培养组可明显下调CIB1基因表达;构建裸鼠种植瘤模型,注射CIB1-siRNA巨噬细胞进行治疗,结果发现巨噬细胞在肿瘤细胞内高度聚集,显著缩小种植瘤体积,并且未发现明显毒副作用。

5 小结与展望

临床治疗中存在肿瘤基因位点突变、化疗药物耐药、放疗敏感性降低等问题,肿瘤靶向药物多靶点联合治疗、放化疗联合治疗等方法使越来越多肿瘤患者生存期提高。癌基因是目前肿瘤靶向药物或者基因治疗研究的优先选择靶点,但因其突变率高、个体差异大,使肿瘤治愈困难;相比而言,RNA激活作为一种新兴药物研发思路,是目前少有的能够开启抑癌基因表达的基因调控技术,具有特异性激活、不改变基因组、作用高效长效等优势。针对目标基因启动子的saRNA筛选简便,而且其结构、长度、入胞方式、合成方式与siRNA基本相同,因此,如何应用saRNA药物可借鉴siRNA药物研发相关经验。当然,saRNA和siRNA应用产生的作用完全相反,siRNA在胞质中与mRNA结合发挥作用,而saRNA需要入核与启动子区结合;saRNA比siRNA作用延迟,使用48~72h后发挥激活效应,但激活作用更长效。在借鉴应用siRNA药物载体同时,应发挥saRNA药物优势,找到更合适的途径。

抑癌基因p21是发现较早的一种可用于肿瘤治疗的基因,其在正常生理环境下参与众多调节机制,并且在不同肿瘤类型中均可发挥抑癌基因作用。因此,基于安全、广谱原则选择抑癌基因p21的可行性高,但需更多临床前和临床试验验证。2016年,MiNA Therapeutics公司开发的世界上第一个saRNA药已用于肝癌治疗(NIH clinical trial number: NCT02716012)^[51],这标志着RNA激活技术首次进入临床验证。随着saRNA作用机制的进一步明晰及新的saRNA药物的不断发现,saRNA

表2 上调抑癌基因表达的saRNA

基因名称	saRNA名称	肿瘤类型
E-cadherin	dsEcad-215 dsEcad-302	前列腺癌 ^[2] 、宫颈癌 ^[2] 、乳腺癌 ^[45] 、膀胱癌 ^[46]
p21	dsp21-322 dsp21-625	肝癌 ^[35] 、结肠癌 ^[32] 、膀胱癌 ^[37] 、胰腺癌 ^[27]
CEBPA	MTL-CEBPA	肝癌 ^[5] 、胰腺导管癌 ^[47]
PARW	dsPAWR-433	前列腺癌 ^[3]
VHL	dsVHL-821	肾细胞癌 ^[48]
NIS	saRNA-482	肝癌 ^[49]
HIC-1	dsHIC1-2998	乳腺癌 ^[50]
KLF4	dsKLF4-496	前列腺癌 ^[51]
PTEN	dsPTEN-1067	肺癌 ^[52]

VHL: Von Hippel-Lindau, 希佩尔林道基因; NIS: odium iodide symporter, 钠碘同向转运体; HIC-1: hypermethylated in cancer 1, 肿瘤高甲基化基因1; KLF4: Kruppel like factor 4, Kruppel4样因子; PTEN: phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, 10号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物。

将为肿瘤、代谢性疾病及遗传性疾病治疗带来新的希望。

[参 考 文 献]

- [1] Britten RJ, Davidson EH. Gene regulation for higher cells: a theory. *Science*, 1969, 165: 349-57
- [2] Li LC, Okino ST, Zhao H, et al. Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 17337-42
- [3] Yang K, Shen J, Chen SW, et al. Upregulation of PAWR by small activating RNAs induces cell apoptosis in human prostate cancer cells. *Oncol Rep*, 2016, 35: 2487-93
- [4] Cho YK, Uehara H, Young JR, et al. Vascular endothelial growth factor receptor 1 morpholino decreases angiogenesis in a murine corneal suture model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53: 685-92
- [5] Reebye V, Huang KW, Lin V, et al. Gene activation of CEBPA using saRNA: preclinical studies of the first in human saRNA drug candidate for liver cancer. *Oncogene*, 2018, 37: 3216-28
- [6] 盖强强, 汪成合, 陈忠, 等. 微小RNA-1236和外源性小分子双链RNA激活膀胱癌细胞p21表达作用的比较. *中华实验外科杂志*, 2016, 12: 2662-5
- [7] Portnoy V, Lin SH, Li KH, et al. saRNA-guided Ago2 targets the RITA complex to promoters to stimulate transcription. *Cell Res*, 2016, 26: 320-35
- [8] El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*, 1993, 75: 817-25
- [9] Abbas T, Dutta A, p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 400-14
- [10] Bertoli C, Skotheim JM, de Bruin RA. Control of cell cycle transcription during G1 and S phases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 518-28
- [11] Wang Y, Fisher JC, Mathew R, et al. Intrinsic disorder mediates the diverse regulatory functions of the Cdk inhibitor p21. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 214-21
- [12] Jung YS, Qian Y, Chen X, Examination of the expanding pathways for the regulation of p21 expression and activity. *Cell Signal*, 2010, 22: 1003-12
- [13] Palazzo E, Kellett M, Cataisson C, et al. The homeoprotein DLX3 and tumor suppressor p53 co-regulate cell cycle progression and squamous tumor growth. *Oncogene*, 2016, 35: 3114-24
- [14] Pavlides SC, Lecanda J, Daubriac J, et al. TGF- β activates APC through Cdh1 binding for Cks1 and Skp2 proteasomal destruction stabilizing p27kip1 for normal endometrial growth. *Cell Cycle*, 2016, 15: 931-47
- [15] Wu S, Cetinkaya C, Munoz-Alonso MJ, et al. Myc represses differentiation-induced p21CIP1 expression via Miz-1-dependent interaction with the p21 core promoter. *Oncogene*, 2003, 22: 351-60
- [16] Neri LM, Cani A, Martelli AM, et al. Targeting the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in B-precursor acute lymphoblastic leukemia and its therapeutic potential. *Leukemia*, 2014, 28: 739-48
- [17] 欧艺虹, 姜耀东, 李琦, 等. 肥大细胞通过上调p21促进前列腺癌神经内分泌分化及增加对多西他赛化疗的抵抗性. *南方医科大学学报*, 2018, 38: 723-30
- [18] Han J, Li N. Adenoviral vector-mediated delivery of p21(WAF1/CIP1) prevents retinal neovascularization in an oxygen-induced retinopathy model. *Curr Eye Res*, 2016, 41: 1113-7
- [19] Fornari F, Milazzo M, Chieco P, et al. Is hepatocellular carcinoma miR-519d is up-regulated by p53 and DNA hypomethylation and targets CDKN1A/p21, PTEN, AKT3 and TIMP2. *J Pathol*, 2012, 227: 275-85
- [20] Wan Q, Xu T, Ding W, et al. miR-499-5p attenuates mitochondrial fission and cell apoptosis via p21 in doxorubicin cardiotoxicity. *Front Genet*, 2018, 9: 734
- [21] 张笑添, 黄赛亚, 王倩, 等. 长链非编码RNA PVT1促进胃癌细胞增殖和迁移. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40: 1184-92
- [22] 闫璐, 邱贤文, 王穗海, 等. lncRNA UCA1靶向调控p21对黑色素瘤细胞增殖、侵袭的影响. *华中科技大学学报(医学版)*, 2019, 48: 162-7, 82
- [23] Li X, Liu N, Ren P, et al. Prognostic value of combined expression of Aurora A, p53 and p21 WAF1 in patients after curative resection of non-small cell lung cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2015, 37: 512-6
- [24] Wei J, Zhao J, Long M, et al. p21WAF1/CIP1 gene transcriptional activation exerts cell growth inhibition and enhances chemosensitivity to cisplatin in lung carcinoma cell. *BMC Cancer*, 2010, 10: 632
- [25] 李占亭, 师建国, 卫军霞, 等. 运用saRNA激活p21基因表达上调对肺癌细胞生长及化疗敏感性的影响. *现代肿瘤医学*, 2012, 20: 14-8
- [26] Missaoui N, Abdelkarim SB, Mokni M, et al. Prognostic factors of prostate cancer in Tunisian men: immunohistochemical study. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17: 2655
- [27] Roy S, Singh RP, Agarwal C, et al. Downregulation of both p21/Cip1 and p27/Kip1 produces a more aggressive prostate cancer phenotype. *Cell Cycle*, 2008, 7: 1828-35
- [28] Zhang Z, Wang Z, Liu X, et al. Up-regulation of p21WAF1/CIP1 by small activating RNA inhibits the *in vitro* and *in vivo* growth of pancreatic cancer cells. *Tumori*, 2012, 98: 804-11
- [29] 王勇, 郭永连, 陈琳, 等. dsP21-625通过激活P21基因表达抑制前列腺癌细胞的增殖. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25: 35-39
- [30] Place RF, Wang J, Noonan EJ, et al. Formulation of small activating RNA into lipidoid nanoparticles inhibits xenograft prostate tumor growth by inducing p21 expression. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2012, 1: e15
- [31] Was H, Czarnecka J, Kominek A, et al. Some chemotherapeutics-treated colon cancer cells display a specific phenotype being a combination of stem-like and senescent cell features. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19: 63-75
- [32] Wang LL, Guo HH, Zhan Y, et al. Specific up-regulation of p21 by a small active RNA sequence suppresses human colorectal cancer growth. *Oncotarget*, 2017, 8: 25055-65
- [33] Marhenke S, Buitrago-Molina LE, Endig J, et al. p21

- promotes sustained liver regeneration and hepatocarcinogenesis in chronic cholestatic liver injury. *Gut*, 2014, 63: 1501-12
- [34] Wu Z, Huang H, Liu Z, et al. Activation of p21 (WAF1/CIP1) by small activating RNA inhibits cell proliferation and induces apoptosis in BEL-7402 hepatoma cell. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2014, 94: 1534-8
- [35] 杨哲, 朱勇, 赵瑞. 靶向p21基因saRNA抑制肝癌细胞生长实验研究. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29: 132-5
- [36] Tang K, Wang C, Chen Z, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of p21 (Cip1/Waf1) expression in bladder cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 4999-5007
- [37] Yang K, Zheng XY, Qin J, et al. Up-regulation of p21WAF1/Cip1 by saRNA induces G1-phase arrest and apoptosis in T24 human bladder cancer cells. *Cancer Lett*, 2008, 265: 206-14
- [38] 龚化, 陈忠, 盖强强, 等. 不同启动子相关双链小分子RNA介导激活p21 Waf1/Cip1基因研究. *中华实验外科杂志*, 2015, 32: 2990-2
- [39] Kang MR, Yang G, Place RF, et al. Intravesical delivery of small activating RNA formulated into lipid nanoparticles inhibits orthotopic bladder tumor growth. *Cancer Res*, 2012, 72: 5069-79
- [40] Khan AA, Alanazi AM, Jabeen M, et al. Therapeutic potential of functionalized siRNA nanoparticles on regression of liver cancer in experimental mice. *Sci Rep*, 2019, 9: 15825
- [41] Morris MC, Vidal P, Chaloin L, et al. A new peptide vector for efficient delivery of oligonucleotides into mammalian cells. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 2730-6
- [42] Chinak O, Golubitskaya E, Pyshnaya I, et al. Nucleic acids delivery into the cells using pro-apoptotic protein lactaptin. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1043
- [43] Ran LW, Wang H, Lan D, et al. Effects of RNA interference combined with ultrasonic irradiation and SonoVue microbubbles on expression of STAT3 gene in keratinocytes of psoriatic lesions. *J Huazhong Uni Sci Technol Med Sci*, 2017, 37: 279-85
- [44] Wayne EC, Long C, Haney MJ, et al. Targeted delivery of siRNA lipoplexes to cancer cells using macrophage transient horizontal gene transfer. *Adv Sci (Weinheim)*, 2019, 6: 1900582
- [45] Wei J, Gao P, Han Y, et al. Double strand RNA-guided endogenous E-cadherin up-regulation induces the apoptosis and inhibits proliferation of breast carcinoma cells *in vitro and in vivo*. *Cancer Sci*, 2010, 101: 1790-6
- [46] Shin J, Song IS, Pak JH, et al. Upregulation of annexin A1 expression by butyrate in human melanoma cells induces invasion by inhibiting E-cadherin expression. *Tumour Biol*, 2016, 37: 14577-84
- [47] Yoon S, Huang KW, Reebye V, et al. Targeted delivery of C/EBP α -saRNA by pancreatic ductal adenocarcinoma-specific RNA aptamers inhibits tumor growth *in vivo*. *Mol Ther*, 2016, 24: 1106-16
- [48] Kang MR, Park KH, Lee CW, et al. Small activating RNA induced expression of VHL gene in renal cell carcinoma. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 97: 36-42
- [49] Xia W, Li D, Wang G, et al. Small activating RNA upregulates NIS expression: promising potential for hepatocellular carcinoma endoradiotherapy. *Cancer Gene Ther*, 2016, 23: 333-340
- [50] Zhao F, Pan SL, Gu Y, et al. Small Activating RNA restores the activity of the tumor suppressor HIC-1 on breast cancer. *PLoS One*, 2014, 9: e86486
- [51] Wang J, Place RF, Huang V, et al. Prognostic value and function of KLF4 in prostate cancer: RNAa and vector-mediated overexpression identify KLF4 as an inhibitor of tumor cell growth and migration. *Cancer Res*, 2010, 70: 10182-91
- [52] Li M, Peng Z, Ren W, et al. Small activating ribonucleic acid reverses tyrosine kinase inhibitor resistance in epidermal growth factor receptor-mutant lung cancer by increasing the expression of phosphatase and tensin homolog. *Thorac Cancer*, 2016, 7: 481-5