

DOI: 10.13376/j.cbls/20210128

文章编号: 1004-0374(2021)09-1161-08

# 微小RNA在肿瘤中调控细胞凋亡的研究进展

黄紫弦<sup>1,2</sup>, 王霖<sup>1,2</sup>, 黄益玲<sup>1,2\*</sup>

(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 443000; 2 三峡大学医学院病理学系, 宜昌 443002)

**摘要:** 微小RNA (microRNA, miRNA) 是一种非编码的小分子RNA, 广泛参与基因转录后调控, 其表达或功能异常在肿瘤的发生发展中起重要作用。细胞凋亡是程序性死亡的一种形式, 能有效地清除受损细胞。细胞凋亡的失调不仅与肿瘤的发生发展有关, 而且与肿瘤对治疗的抵抗有关。微小RNA可通过细胞凋亡经典通路(包括线粒体凋亡通路、死亡受体凋亡通路、内质网应激凋亡通路)发挥抗细胞凋亡或促细胞凋亡作用。该文主要对miRNA在肿瘤中调控细胞凋亡的相关研究进展作一综述。

**关键词:** 微小RNA; 凋亡; 死亡受体; 内质网应激; 肿瘤

**中图分类号:** Q522; R730.2 **文献标志码:** A

## Research progress in microRNA regulation of apoptosis in tumors

HUANG Zi-Xian<sup>1,2</sup>, WANG Lin<sup>1,2</sup>, HUANG Yi-Ling<sup>1,2\*</sup>

(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:** MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs, which are widely involved in the post-transcriptional regulation of genes. Both the expression level and function abnormalities of miRNAs play important roles in tumor development and progression. As a form of programmed cell death, apoptosis effectively eliminates abnormal or damaged cells that may be cancerous. Therefore, apoptosis disorders not only may lead to tumor development and progression, but also are associated with treatment resistance. MiRNAs may exhibit anti-apoptotic or pro-apoptotic effects through different influences on classical apoptosis pathways, including mitochondrial apoptotic pathway, death receptor apoptotic pathway, and endoplasmic reticulum stress apoptotic pathway. This article mainly reviewed the research progress of miRNA in regulating tumor apoptosis.

**Key words:** microRNA; apoptosis; death receptor; endoplasmic reticulum stress; tumor

微小RNA (microRNA, miRNA) 普遍存在于真核生物体内, 在真核细胞几乎所有的信号通路中起重要的调节作用, 通过阻碍靶基因翻译或者诱导靶mRNA降解实现对基因的负性调节<sup>[1]</sup>。miRNA参与许多生理病理过程, 包括免疫应答、衰老、细胞死亡等。细胞凋亡可由细胞内的信号或外源信号触发, 在基因水平上受到精细调控, 涉及多条信号通路。miRNA通过对凋亡信号通路的调控参与肿瘤细胞分化和增殖过程, 从而介导肿瘤的发生发展<sup>[2]</sup>。对miRNA调控细胞凋亡机制的深入研究可以为揭示肿瘤发病机制、寻找肿瘤的诊断标志物及治疗靶点提供支持, 具有重要意义。

## 1 miRNA概述

miRNA是一种约22 nt的非编码小RNA, 通常由长度为几千个核苷酸的初级miRNA (pri-miRNA) 通过两个连续的切割事件而产生。pri-miRNA最初

收稿日期: 2021-03-10; 修回日期: 2021-06-27

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); 2021年宜昌市医疗卫生研究项目(A21-2-048)

\*通信作者: E-mail: lotusy@126.com

在细胞核中经过核糖核酸酶 Droscha 复合物的剪切作用释放出茎环前体 (pre-miRNA), 然后通过输出蛋白 5 (exportin 5, XPO5) 转运到细胞质, 并被核糖核酸内切酶 Dicer 切割, 产生的 RNA 双链与 AGO 蛋白 (Argonaute protein) 结合, 将成熟的单链 miRNA 整合到 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), 进而与靶 mRNA 匹配位点以完全或不完全互补配对形式相互作用, 诱导信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 的降解和翻译抑制<sup>[1]</sup>。miRNA 广泛参与细胞发育、分化、增殖和凋亡等生物学过程, 其表达异常与多种疾病及肿瘤的发生密切相关<sup>[3-4]</sup>。

## 2 凋亡与肿瘤的关系

凋亡细胞表现为细胞质收缩、质膜出芽、染色质浓缩等特征性形态学变化以及胞外侧磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 的膜暴露、DNA 片段断裂。在凋亡后期, 细胞膜反折并包裹断裂的染色质片段或细胞器等, 随后分离并形成凋亡小体, 而后凋亡小体为邻近吞噬细胞所吞噬<sup>[5]</sup>。凋亡主要由被称为半胱天冬酶 (cysteiny aspartate-specific proteases, Caspase) 的蛋白酶家族执行<sup>[6]</sup>。Caspase 家族是细胞凋亡信号通路的核心成员, 它们既是细胞死亡的起始者 (Caspase-2、-8、-9 和 -10, 主要负责凋亡途径的开始), 又是细胞死亡的执行者 (Caspase -3、-6 和 -7, 负责细胞组分的裂解)<sup>[7]</sup>。

细胞凋亡机制高度保守并受严格调控, 凋亡过多、过少, 或在错误的时间、地点发生, 都可能导致各种疾病如癌症的发生。细胞程序性死亡或凋亡的失控使肿瘤细胞即使在氧化应激和缺氧的情况下也能存活, 因此, 细胞凋亡紊乱与肿瘤发病机制紧密相关<sup>[8]</sup>。一般说来, 逃避凋亡的机制大致可分为: (1) 促凋亡和抗凋亡蛋白平衡失调; (2) 死亡受体信号转导功能障碍; (3) Caspase 活性降低。

细胞凋亡通常分为内源和外源途径。内源途径是由线粒体介导的一系列复杂的信号相互作用控制的, 最终导致线粒体外膜通透化 (mitochondrial outer membrane permeabilisation, MOMP), 细胞色素 C 及其他蛋白质被释放到细胞质; 细胞色素 C 与凋亡蛋白酶激活因子 -1 (apoptotic protease-activating factor-1, APAF1) 结合, 导致 APAF-1 的构象改变和寡聚, 形成称为凋亡体 (apoptosome) 的七聚体结构; 凋亡体聚集并活化 Caspase-9, 激活下游 Caspase, 执行不可逆的凋亡过程<sup>[9]</sup>。该凋亡途径主要依赖于 B 细胞淋巴瘤 -2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族蛋

白的调节, Bcl-2 家族蛋白通过控制线粒体中细胞色素 C 等凋亡因子的释放起促凋亡或抗凋亡作用, 从而调控肿瘤的进展<sup>[10]</sup>。已有一些研究发现, Bcl-2 在上皮性卵巢癌、甲状腺癌、白血病等恶性肿瘤中均过量表达<sup>[11-13]</sup>。

外源途径依赖于死亡受体与配体的结合, 从而触发由蛋白质相互作用驱动的细胞内级联反应, 这类死亡受体属于肿瘤坏死因子受体超家族, 具有富含半胱氨酸的胞外结构域和胞内死亡结构域 (death domain, DD), 包括 TNFR1 (DR1)、CD95 (Fas/APO-1/DR2)、DR3 (APO-3)、DR4 (TRAIL-1/APO-2)、DR5 (TRAIL-2)、DR6、神经生长因子受体 (NGAP) 和外异蛋白 A 受体 (EDAR) 等<sup>[14]</sup>。死亡配体与死亡受体结合后导致死亡受体聚集, 通过死亡结构域募集衔接蛋白如 Fas 相关死亡域蛋白 (Fas-associated death domain protein, FADD) 或 TNFR1 相关死亡域蛋白 (TNF receptor 1 associated death domain protein, TRADD), 衔接蛋白中的死亡效应结构域 (death effector domain, DED) 募集起始 Caspase (pro-Caspase-8/10), 形成死亡诱导信号复合体 (death-inducing signaling complex, DISC), 促使 pro-Caspase-8/10 自我水解、活化, 激活 Caspase-8/10 释放到胞质中, 启动一系列的级联激活反应介导细胞凋亡<sup>[15]</sup>。已有研究表明, 死亡受体信号功能障碍与肿瘤的进展密切相关, 且是肿瘤获得性耐药机制之一<sup>[16]</sup>。Wang 等<sup>[17]</sup> 研究发现, Fas 的低表达与胃癌发展及淋巴结转移和远处转移相关, 并通过下调 Caspase-8、Caspase-3 的表达和上调聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 [poly(ADP-ribose) polymerase-1, PARP1] 的表达抑制胃癌细胞的凋亡。

上述两条通路最终都通过凋亡效应因子 Caspase 的活化诱导细胞凋亡, 发生形态学变化。Caspase 处于细胞凋亡的核心位置, 其功能障碍可能导致细胞凋亡受阻, 最终导致肿瘤的发生<sup>[18]</sup>。Pu 等<sup>[19]</sup> 研究发现, Caspase-3 高表达与乳腺癌患者的癌症特异性生存率显著相关, 并在不同的乳腺癌分型中提供预后评估价值。Yao 等<sup>[20]</sup> 首次发现 Caspase-8 和 Caspase-3 作为结直肠癌患者的有效预后指标具有协同作用, 它们可能在结直肠癌的发病中起重要作用。

## 3 miRNA 调控肿瘤细胞凋亡

理论上, miRNA 的功能是介导特异性靶基因沉默。因此, 特定的 miRNA 在癌症中的作用 (致

癌或抑癌)可能依赖于其靶基因。一个 miRNA 可以有多个靶基因, 多个 miRNA 也可以调节同一个靶基因, 从而构成复杂的调控网络, 直接或间接参与调节多个凋亡通路(表 1)。

### 3.1 miRNA对内源凋亡途径的调控

Bcl-2 家族包括两类蛋白质: (1) 抗凋亡蛋白, 包括 Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1 和 Bcl-w 等; (2) 促凋亡蛋白, 包括 Bim、Bik、Bid、Bad、Noxa、Puma、Bax、Bak 和 Bok 等。促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白的比例在细胞死亡程序、肿瘤发生和细胞对抗癌治疗的反应中起着重要作用<sup>[44]</sup>。Bcl-2 是 MOMP 关键调节因子, 可以抑制细胞色素 C 和其他可溶性因子的释放, 这些因子是激活 Caspase 从而诱导细胞死亡的重要因素<sup>[45]</sup>。一些研究已经发现 miRNA 可直接靶向 Bcl-2。例如, Lu 等<sup>[21]</sup> 研究发现 Bcl-2 是 miR-15 的作用靶点, 在甲状腺癌细胞中, miR-15 表达水平降低。当用 miR-15 模拟物转染甲状腺癌细胞系 MDA-T35 后, Bcl-2 的表达水平下降, 肿瘤细胞凋亡率明显升高, 表明 miR-15 的过表达可削弱 Bcl-2 在甲状腺癌中的抗凋亡活性。Ma 等<sup>[22]</sup> 研究发现, miR-143

通过抑制 Bcl-2 的表达诱导 Caspase-3 活化, 从而促进前列腺癌细胞凋亡, 提示 miR-143 可能是前列腺癌的潜在治疗靶标。Cai 等<sup>[23]</sup> 研究发现, 与正常子宫内膜上皮细胞相比, 子宫内膜癌 (EC) 细胞系 (HEC-1A, Ishikawa) 中 miR-326 的表达水平降低, Bcl-2 的表达水平升高。在 HEC-1A 中转染 miR-326 模拟物后能显著抑制细胞增殖, 凋亡细胞比例明显增加, 促凋亡蛋白 Bax 和 Caspase-3 的表达升高; 此外, miR-326 直接靶向 Bcl-2 来调控 EC 细胞的增殖和凋亡。Al-Harbi 等<sup>[24]</sup> 通过观察对 Bcl-2 选择抑制剂 ABT-199 (venetoclax) 耐药的弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 细胞株 (SU-DHL-6-199R 和 OCL-LY-19-199R) 发现, ABT-199 耐药细胞中 Bcl-xL 的表达增加, 且与 miR-377 的表达呈负相关。miR-377 通过识别 Bcl-xL 的 3' 端非编码区 (3' untranslated region, 3' UTR) 中的两个结合位点抑制 Bcl-xL 的表达, 显著增加了肿瘤细胞的凋亡。此外, Bcl-xL 的高表达与 76 例慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 患者的短期无治疗生存期相关, 表明 miR-377 通过靶向 Bcl-xL 抑制 B 细胞恶性淋巴

表1 一些调控肿瘤细胞凋亡的miRNA

凋亡相关途径	miRNA	靶基因	肿瘤类型	参考文献
内源性凋亡	miR-15	Bcl-2	甲状腺癌	[21]
	miR-143	Bcl-2	前列腺癌	[22]
	miR-326	Bcl-2	子宫内膜癌	[23]
	miR-377	Bcl-xL	淋巴瘤、肝癌	[24-25]
	miR-101	Mcl-1	非小细胞肺癌	[26]
	miR-193b	Mcl-1	黑色素瘤	[27]
	miR-144-3p	ZEB1	胃癌	[28]
	miR-221	Bim	乳腺癌	[29]
	miR-9	FOXO3	宫颈癌	[3]
	miR-142-5p	XIAP、BIRC3、Bcl-2、BCL2L2、Mcl-1	卵巢癌	[30]
外源性凋亡	miR-200a	A20	胃癌	[31]
	miR-128	SIRT1	结直肠癌	[4]
	miR-106b	DR4	肝癌	[32]
	miR-7	DR5	胶质母细胞瘤	[33]
	miR-429	PD-L1	胃癌	[34]
	miR-181c	Fas	尤文氏肉瘤	[35]
	miR-21-5p	FASLG	肝癌	[36]
	miR-451a	BAP31	结直肠癌	[37]
内质网应激诱导凋亡	miR-34c	HMGB1	非小细胞肺癌	[38]
	miR-1281	USP39	人骨肉瘤	[39]
	miR-637	CALR	胃癌	[40]
	miR-122-5p	p53	人骨肉瘤	[41]
其他凋亡因子	miR-3174	FOXO1	肝癌	[42]
	miR-214	LIVIN	肾细胞癌	[43]

瘤的化疗耐药性。Ge 等<sup>[25]</sup>的研究也证实,在肝癌中 miR-377 通过负调控 Bcl-xL 的表达促进细胞凋亡,抑制肿瘤细胞的生长和集落的形成。Shahverdi 等<sup>[26]</sup>研究发现,转染 miR-101 模拟物可显著抑制肺癌细胞系 A549 中 Mcl-1 的表达,且呈时间依赖性,从而抑制肿瘤细胞增殖,并且增加了 A549 细胞对化疗药物 ABT-737 的敏感性。因此,miR-101 可被视为非小细胞肺癌(NSCLC)患者的潜在治疗靶点。Sarif 等<sup>[27]</sup>研究了靶向 Mcl-1 的 miRNA 以及 Mcl-1 选择抑制剂 S63845 在黑色素瘤细胞中的作用,发现 miR-193b 和 S63845 通过靶向 Mcl-1 激活 Bax 和 Bak 从而诱导细胞凋亡,表明 miR-193b 参与了线粒体凋亡途径且显著增强 TRAIL 的抗肿瘤作用。Gao 等<sup>[28]</sup>检测到胃癌组织和细胞中 miR-144-3p 表达降低,E 盒锌指结合蛋白 1 (E-box zinc finger binding protein 1, ZEB1) 表达升高;过表达 miR-144-3p 或沉默 ZEB1 导致 Bax 和 Caspase-3 表达水平升高,增强了胃癌细胞对放射的敏感性。荧光素酶报告基因分析验证了 miR-144-3p 直接靶向 ZEB1 从而调控其表达,表明 miR-144-3p/ZEB1 轴在提高胃癌的放射敏感性中起关键作用。Ye 等<sup>[29]</sup>研究发现,在乳腺癌患者中,miR-221 的表达水平显著升高,而敲低 miR-221 后可增强顺铂对肿瘤细胞的杀伤作用;利用 TargetScan 数据库筛选推测 Bim 是 miR-221 的靶点,而进一步的研究证实,miR-211 通过直接靶向 Bim 来抑制 Bim 的表达;在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 转染 miR-221 抑制物后,Bim 表达上调,同时高表达的 Bim 与 Bax、Bak 相互作用能促进顺铂诱导的凋亡作用。Zhang 等<sup>[3]</sup>研究发现,miR-9 在宫颈癌组织中表达升高,且 miR-9 与浸润程度、淋巴结转移和患者生存率相关。miR-9 通过直接靶向 FOXO3 (forkhead box O3) 抑制其表达。此外,miR-9 可调节 FOXO3 下游蛋白 Bax、Bcl-2 和 p-Akt 的表达,从而参与宫颈癌细胞株 SiHa 的凋亡。Li 等<sup>[30]</sup>研究发现,在卵巢癌(EOC)患者的临床标本中,miR-142-5p 的表达水平与 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP) 的蛋白水平呈负相关,miR-142-5p 通过抑制 XIAP 的表达从而增加 EOC 细胞对顺铂的敏感性;此外,还鉴定了 miR-142-5p 关于其他抗凋亡基因的靶基因,包括 BIRC3、Bcl-2、BCL2L2 (Bcl-w) 和 Mcl-1。综上所述,越来越多的 miRNA 被鉴定出来,它们对 Bcl-2 家族的活性有着深远的影响,并可能为开发新的治疗方法提供靶点。

## 3.2 miRNA 对外源性凋亡途径的调控

### 3.2.1 TRAILR/TRAIL

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)属于肿瘤坏死因子受体超家族之一,是一种 II 型跨膜蛋白,在人类胎儿和成人的各种正常组织中表达,包括小肠、结肠、脾脏、胸腺、前列腺、胎盘以及免疫细胞。TRAIL 有 5 种受体:DR4、DR5、TRAIL-R3 (DcR1)、TRAIL-R4 (DcR2) 以及一种可溶性受体骨保护素(osteoprotegerin, OPG)。DR4 和 DR5 起死亡受体(DR)的作用,大多分布于肿瘤细胞表面,胞内有完整的死亡结构域。而其他称为诱饵受体(DcR)的受体大多分布于正常细胞表面,由于 DcR1 缺失死亡结构域,DcR2 的死亡结构域不完整,因此两者能与 TRAIL 结合却不能传递凋亡信号,从而逃逸 TRAIL 诱导的凋亡,抑制细胞凋亡<sup>[46]</sup>。TRAIL 能诱导肿瘤细胞凋亡,但不能诱导正常细胞凋亡,因此被认为是一个很有前景的肿瘤治疗靶点。尽管 TRAIL 具有较高的抗肿瘤活性,但 TRAIL 诱导的肿瘤细胞凋亡抵抗一直被认为是其临床应用的障碍。例如,纤维肉瘤和大肠腺癌细胞被发现对 TRAIL 耐药<sup>[47]</sup>。在不同类型的癌症中,miRNA 也在 TRAIL 耐药机制中发挥作用。Guo 等<sup>[31]</sup>研究发现,在胃癌中肿瘤坏死因子 $\alpha$  诱导蛋白 3 (TNF $\alpha$ -induced protein 3, TNFAIP3/A20) 是 miR-200a 的直接靶点。与耐药细胞相比,对 TRAIL 敏感的胃癌细胞中 A20 表达降低,miR-200a 表达升高。转染 miR-200a 模拟物抑制了 TRAIL 耐药胃癌细胞系(SGC7901 和 MGC803) 中 A20 的表达,且减弱了受体相互作用蛋白 1 (receptor-interacting protein 1, RIP1) 的多聚泛素化,从而促进了 TRAIL 诱导的细胞凋亡,揭示了 miR-200a 通过靶向 A20 增强 TRAIL 介导的胃癌细胞凋亡的机制。Lian 等<sup>[4]</sup>研究发现,在结直肠癌患者肿瘤组织和结直肠癌细胞系中,miR-128 的表达均下降;他们利用生物信息学和双荧光素酶报告分析验证了 miR-128 直接靶向沉默信息调控因子 1 (sirtuin1, SIRT1) 抑制其表达,从而促进 TRAIL 处理的结直肠癌细胞系 SW480 中活性氧(oxygen species, ROS) 的产生,进而诱导 DR5 的表达,促进细胞凋亡,表明 miR-128 通过靶向 SIRT1/ROS/DR5 通路增加结直肠癌对 TRAIL 的敏感性。一些 miRNA 还参与直接靶向 TRAIL 受体来调节肿瘤细胞对 TRAIL 受体诱导的凋亡的敏感性。例如,Xu 等<sup>[32]</sup>研究发现,miR-106b 直接负调控死亡受体(DR4) 的表达。在

肝癌患者肿瘤组织和肝癌细胞中, miR-106b 过表达, 且与肝癌细胞对 TRAIL 的化疗敏感性有关。体外实验发现, miR-106b 的低表达抑制肿瘤细胞增殖, 敲低 DR4 可消除这一效应; 体内实验发现, 在肝癌异种移植模型中, 抑制 miR-106b 显著增强了 TRAIL 的抗肿瘤作用。Bhere 等<sup>[33]</sup> 研究发现, 在胶质母细胞瘤 (GBM) 细胞中, miR-7 的过表达导致表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 和 p-Akt 的下调以及核因子 (nuclear factor, NF)- $\kappa$ B 信号通路的激活, 从而导致 DR5 表达上调, 最终增强耐药性 GBM 细胞对 TRAIL 的化疗敏感性。Lv 等<sup>[34]</sup> 研究发现, miR-429 与胃癌对 TRAIL 的抗性负相关, 且程序性死亡配体 1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 是 miR-429 的靶基因, 并且与 TRAIL 抗性呈正相关; 利用免疫共沉淀 (co-IP) 和邻位连接技术 (PLA) 研究发现, PD-L1 通过结合和激活 EGFR 促进细胞增殖, 表明 PD-L1 在 miR-429 的调控下通过结合并参与 EGFR 的激活, 从而拮抗 TRAIL 诱导的细胞凋亡。

### 3.2.2 CD95/CD95L

CD95 (Fas/APO-1/DR2) 是肿瘤坏死因子受体超家族的一种细胞表面蛋白, 在与配体 CD95L 结合或受激活性抗体刺激后, 可介导细胞凋亡。CD95 在体内普遍表达, 但在胸腺、肝脏、心脏和肾脏中尤为丰富。CD95L 主要表达在活化的 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞中, 也在“免疫豁免部位”表达, 例如睾丸和眼睛<sup>[48]</sup>。与所有死亡受体相似, CD95 分子的特征是其胞浆区有一段 80 个氨基酸组成的肽链, 构成死亡结构域 (DD)。CD95 的促凋亡活性是在 CD8<sup>+</sup> 细胞毒性淋巴细胞 (CTL) 作用下介导病毒感染细胞或癌细胞发生凋亡<sup>[49]</sup>。尽管 CD95L 具有凋亡潜力, 但大多数人类肿瘤细胞能抵抗其细胞毒作用。Kawano 等<sup>[35]</sup> 研究发现, 在尤文氏肉瘤 (ES) 中, miR-181c 表达显著升高, Fas 表达明显降低, 且两者的表达呈负相关。通过直接调控 Fas, miR-181c 的低表达能显著抑制 ES 细胞的增殖, 促进细胞凋亡, 而对细胞周期进程无明显影响, 并且对小鼠体内的肿瘤生长有明显的抑制作用。提示 miR-181c 是 Fas 介导的尤文氏肉瘤细胞凋亡的重要调节因子。Chen 等<sup>[36]</sup> 研究发现, miR-21-5p 在肝癌组织和细胞中的表达水平明显高于正常组织和细胞; 值得注意的是, 在耐顺铂 (DDP) 肝癌患者中, miR-21-5p 的表达水平相对较高, 且 miR21-5p 的高表达与肝癌患者的肿瘤大小、TNM 分期和淋巴结转移

显著相关; 通过体内外实验研究发现, miR-21-5p 可降低肝癌细胞对 DDP 的敏感性; 进一步的研究发现, miR-21-5p 通过靶向 Fas 配体 (FASLG) 抑制肝癌细胞对 DDP 的敏感性, 促进肝癌细胞的生长。

### 3.3 miRNA对内质网应激诱导细胞凋亡的调控

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是一种亚细胞器, 在维持细胞内稳态和蛋白质折叠方面起关键作用, 蛋白质在内质网腔形成空间结构有许多分子伴侣蛋白协助, 如钙黏蛋白 (cadherin)、钙网蛋白 (calreticulin, CALR)、葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated protein 78, GRP78/BiP) 和蛋白二硫键异构酶<sup>[50]</sup>。当细胞遭受不利的环境挑战 (如氧化损伤、缺氧、钙离子耗竭、病毒感染、pH 变化等) 时, ER 稳态失衡会影响蛋白质折叠并引起内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS), 一系列未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 启动。UPR 最初通过缓解不利条件来恢复内质网稳态。然而, 当不利条件无法逆转时, UPR 激活细胞凋亡途径<sup>[51]</sup>。UPR 主要由三个主要的信号通路介导, 这些信号通路由三个独特的内质网应激感受器激活: 蛋白激酶样内质网激酶 (protein kinase R-like ER kinase, PERK)、肌醇需求酶 1 (inositol requiring enzyme 1, IRE1) 和激活转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6)<sup>[52]</sup>。在肿瘤发生过程中, UPR 可能是一把双刃剑: 正常情况下, UPR 发挥细胞保护作用; 然而, 当内质网应激过重或持续时间过长时, UPR 起死亡激活作用<sup>[53]</sup>。值得注意的是, 一些 miRNA 已被证明通过严格调控 UPR 的下游因子影响内质网应激诱导的细胞凋亡<sup>[54]</sup>。Xu 等<sup>[37]</sup> 研究发现, 在结直肠癌中, B 细胞受体相关蛋白 31 (B cell receptor associated protein 31, BAP31) 高表达, 且与晚期临床分期、远处转移密切相关。miR-451a 通过直接靶向 BAP31 发挥对肿瘤细胞的抑制作用。在结直肠癌细胞系 HCT116 和 SW620 中过表达 miR-451a 或使 BAP31 沉默时, 内质网应激相关蛋白 GRP78/BiP 的表达增加, 并激活 PERK/eIF2 $\alpha$ /ATF4/CHOP 信号通路, 从而通过内质网应激促进结直肠癌细胞的凋亡; 同时, 动物实验发现, 过度表达 miR-451a 或沉默 BAP31 能抑制肿瘤生长。Tu 等<sup>[38]</sup> 研究发现, 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中, miR-34c 与高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein, HMGB1) 的表达水平呈负相关, HMGB1 是 miR-34c 的作用靶点。miR-34c 过表达或 HMGB1 基因敲除抑制 NSCLC 细胞增殖, 诱导内质网应激, 促进细胞凋亡; HMGB1 的过表

达可以逆转 miR-34c 对 NSCLC 细胞增殖、凋亡和内质网应激的影响。Jiang 等<sup>[39]</sup> 在使用内质网应激诱导剂的条件下发现, 抑癌基因 p53 直接与 miR-1281 的启动子结合来增强 miR-1281 的表达, 促进骨肉瘤细胞凋亡。进一步的机制研究表明, 泛素特异性蛋白酶 39 (ubiquitin specific peptidase 39, USP39) 是 miR-1281 的靶点, 并参与了内质网应激诱导的细胞凋亡。在内质网应激条件下, 骨肉瘤细胞系 U2OS 中的 USP39 表达下降, 转染 miR-1281 抑制剂能逆转内质网引起的 USP39 的下降; 相反, miR-1281 的过表达导致 USP39 的下降, 表明 p53/miR-1281/USP39 通路抑制人骨肉瘤细胞在内质网应激下的增殖。Kong 等<sup>[40]</sup> 研究发现, TM (ER 应激诱导剂) 处理胃癌细胞后, miR-637 表达下降, 细胞凋亡和内质网应激增加, 并呈剂量依赖性; miR-637 过表达促进 TM 诱导的细胞凋亡和 ER 应激相关蛋白 (GRP78 和 CHOP) 的表达, 但抑制 CALR 的表达; 荧光素酶报告分析表明, miR-637 与 CALR mRNA 的 3' UTR 结合负性调节 CALR 的表达; 在胃癌细胞系 AGS 中共转染 miR-637 模拟物和 CALR 质粒, 发现 CALR 可以逆转 miR-637 的促凋亡作用。

### 3.4 miRNA 对其他凋亡因子的调控

细胞凋亡通路还涉及许多基因, 包括一些与细胞增殖有关的原癌基因和抑癌基因, 其中研究较多的有 ICE (interlukin-1 $\beta$  converting enzyme)、c-myc、p53、IAPs (inhibitor of apoptosis proteins)、PTEN (gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten) 等。Li 等<sup>[41]</sup> 研究发现, TP53 (p53) 是 miR-122-5p 的靶基因, 在骨肉瘤细胞系 U2OS 中转染 miR-122-5p 模拟物后, TP53、PTEN、Bim 和 Bax 的表达显著增加, 而 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 和 Bcl-2 的表达显著降低, 伴随 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例增加, S 期细胞比例降低, 以及细胞凋亡率增加, 表明 miR-122-5p 上调可能通过抑制 PI3K-Akt-mTOR 信号通路的激活从而促进骨肉瘤细胞的凋亡, 这可能与靶向上调 TP53 的表达有关。Wang 等<sup>[42]</sup> 研究发现, miR-3174 在肝癌组织和细胞中表达上调, 其表达水平与肿瘤大小和 Edmondson 分级密切相关, 进一步的研究证实 miR-3174 通过直接靶向叉头框转录因子 O1 (Forkhead box O1, FOXO1) 来调节 Bim、P21、cyclinD1 (细胞周期蛋白 D1) 和 c-myc 的表达从而促进肝癌细胞增殖, 抑制细胞凋亡。LIVIN 是凋亡抑制家族蛋白 (inhibitor of apoptosis family proteins, IAPs) 的成员,

Xu 等<sup>[43]</sup> 采用生物信息学筛选以 LIVIN 为靶点的 miRNA, 通过体内外实验证实 miR-214 通过负调控 LIVIN 的表达抑制肾细胞癌 (RCC) 细胞的增殖和裸鼠中肿瘤的生长, 且 miR-214 的过表达增加了 RCC 细胞对化疗药物的敏感性; 进一步的实验证明, DNA 甲基化转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 通过促进 miR-214 的甲基化调控 miR-214/LIVIN 通路。

## 4 小结与展望

细胞凋亡作为维持机体自身稳定的负调节机制, 其紊乱会引起细胞分裂与死亡的失衡, 导致正常细胞的恶性转化和肿瘤的发生。凋亡受阻有助于癌细胞的生存和治疗抵抗, 而诱导凋亡能够恢复细胞死亡途径, 清除肿瘤细胞。本综述着重讨论了不同凋亡途径的关键基因以及这些基因可能受哪些 miRNA 调控, 为肿瘤的治疗提供了新方向。

虽然 miRNA 可靶向调节不同凋亡相关基因参与肿瘤的发生发展及治疗抵抗, 但其应用于肿瘤治疗仍存在一定局限性, 如何将 miRNA 有效地输送到靶组织是 miRNA 治疗向临床应用的关键。目前主要有两种 miRNA 载体: 病毒载体和非病毒载体 (聚合物载体、脂质载体和无机材料), 由于免疫原性、致病性等缺点限制了病毒载体的应用, 使得非病毒载体作为 miRNA 递送系统受到广泛的关注。然而, 此治疗方式应用于临床仍有待改进, miRNA 药物的有效性、安全性、长效性和准确性还需进一步的验证和优化。

综上所述, 凋亡失衡是肿瘤发生的重要机制之一, 深入探索 miRNA 与凋亡途径之间的具体调节机制以及在肿瘤中的作用有助于开发针对 miRNA 的抗癌药物。根据 miRNA 的调控特点, 通过干预凋亡途径中的促凋亡或抗凋亡小分子, 有望减少癌症的复发率及死亡率, 提高生存率和治愈率。另外, 基于 miRNA 的小分子核酸药物与传统化疗药物的联合治疗为恶性肿瘤的治疗提供了新的思路。

## [参 考 文 献]

- [1] Stavast CJ, Erkeland SJ. The non-canonical aspects of microRNAs: many roads to gene regulation. *Cells*, 2019, 8: 1465
- [2] Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 5451-65
- [3] Zhang H, Zhang Z, Wang S, et al. The mechanisms

- involved in miR-9 regulated apoptosis in cervical cancer by targeting FOXO3. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 626-32
- [4] Lian B, Yang D, Liu Y, et al. MiR-128 targets the SIRT1/ROS/DR5 pathway to sensitize colorectal cancer to TRAIL-induced apoptosis. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49: 2151-62
- [5] Xu X, Lai Y, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep*, 2019, 39: BSR20180992
- [6] Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease. *Immunity*, 2019, 50: 1352-64
- [7] Kopeina GS, Prokhorova EA, Lavrik IN, et al. Alterations in the nucleocytoplasmic transport in apoptosis: caspases lead the way. *Cell Prolif*, 2018, 51: e12467
- [8] Cao K, Tait SWG. Apoptosis and cancer: force awakens, phantom menace, or both? *Int Rev Cell Mol Biol*, 2018, 337: 135-52
- [9] Bock FJ, Tait SWG. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 85-100
- [10] Huang K, O'Neill KL, Li J, et al. BH3-only proteins target BCL-xL/MCL-1, not BAX/BAK, to initiate apoptosis. *Cell Res*, 2019, 29: 942-52
- [11] Liang M, Zhao J. Protein expressions of AIB1, p53 and Bcl-2 in epithelial ovarian cancer and their correlations with the clinical pathological features and prognosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22: 5134-9
- [12] Gupta A, Jain S, Khurana N, et al. Expression of p63 and Bcl-2 in malignant thyroid tumors and their correlation with other diagnostic immunocytochemical markers. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10: EC04-8
- [13] Moujalled DM, Pomilio G, Ghiurau C, et al. Combining BH3-mimetics to target both BCL-2 and MCL1 has potent activity in pre-clinical models of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2019, 33: 905-17
- [14] Obeng E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals - a review. *Braz J Biol*, 2021, 81: 1133-43
- [15] Jan R, Chaudhry GE. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Adv Pharm Bull*, 2019, 9: 205-18
- [16] Sciarrillo R, Wojtuszkiewicz A, Assaraf YG, et al. The role of alternative splicing in cancer: from oncogenesis to drug resistance. *Drug Resist Updat*, 2020, 53: 100728
- [17] Wang X, Fu Z, Chen Y, et al. Fas expression is downregulated in gastric cancer. *Mol Med Rep*, 2017, 15: 627-34
- [18] Mandal R, Barrón JC, Kostova I, et al. Caspase-8: the double-edged sword. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873: 188357
- [19] Pu X, Storr SJ, Zhang Y, et al. Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*, 2017, 22: 357-68
- [20] Yao Q, Wang W, Jin J, et al. Synergistic role of caspase-8 and caspase-3 expressions: prognostic and predictive biomarkers in colorectal cancer. *Cancer Biomark*, 2018, 21: 899-908
- [21] Lu Z, Wu Z, Hu J, et al. MicroRNA-15 regulates the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells by targeting Bcl-2. *J BUON*, 2019, 24: 2114-9
- [22] Ma Z, Luo Y, Qiu M. MiR-143 induces the apoptosis of prostate cancer LNCap cells by suppressing Bcl-2 expression. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 359-65
- [23] Cai L, Chen JJ, Deng FM, et al. MiR-326 regulates the proliferation and apoptosis of endometrial cancer by targeting Bcl-2. *J Obstet Gynaecol Res*, 2021, 47: 621-30
- [24] Al-Harbi S, Choudhary GS, Ebron JS, et al. MiR-377-dependent BCL-xL regulation drives chemotherapeutic resistance in B-cell lymphoid malignancies. *Mol Cancer*, 2015, 14: 185
- [25] Ge H, Zou D, Wang Y, et al. MicroRNA-377 downregulates Bcl-xL and increases apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Res*, 2017, 25: 29-34
- [26] Shahverdi M, Amini R, Amri J, et al. Gene therapy with miRNA-mediated targeting of Mcl-1 promotes the sensitivity of non-small cell lung cancer cells to treatment with ABT-737. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21: 675-81
- [27] Sarif Z, Tolksdorf B, Fechner H, et al. Mcl-1 targeting strategies unlock the proapoptotic potential of TRAIL in melanoma cells. *Mol Carcinog*, 2020, 59: 1256-68
- [28] Gao ZY, Liu H, Zhang Z. MiR-144-3p increases radiosensitivity of gastric cancer cells by targeting inhibition of ZEB1. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23: 491-500
- [29] Ye Z, Hao R, Cai Y, et al. Knockdown of miR-221 promotes the cisplatin-inducing apoptosis by targeting the BIM-Bax/Bak axis in breast cancer. *Tumour Biol*, 2016, 37: 4509-15
- [30] Li X, Chen W, Jin Y, et al. MiR-142-5p enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells by targeting multiple anti-apoptotic genes. *Biochem Pharmacol*, 2019, 161: 98-112
- [31] Guo T, Zhang Y, Qu X, et al. MiR-200a enhances TRAIL-induced apoptosis in gastric cancer cells by targeting A20. *Cell Biol Int*, 2018, 42: 506-14
- [32] Xu C, Shi L, Chen W, et al. MiR-106b inhibitors sensitize TRAIL-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma through increase of death receptor 4. *Oncotarget*, 2017, 8: 41921-31
- [33] Bhere D, Tamura K, Wakimoto H, et al. MicroRNA-7 upregulates death receptor 5 and primes resistant brain tumors to caspase-mediated apoptosis. *Neuro Oncol*, 2018, 20: 215-24
- [34] Lv J, Guo T, Qu X, et al. PD-L1 under regulation of miR-429 influences the sensitivity of gastric cancer cells to TRAIL by binding of EGFR. *Front Oncol*, 2020, 10: 1067
- [35] Kawano M, Tanaka K, Itonaga I, et al. MicroRNA-181c prevents apoptosis by targeting of FAS receptor in Ewing's sarcoma cells. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 37
- [36] Chen S, Yang C, Sun C, et al. MiR-21-5p suppressed the sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to cisplatin by targeting FASLG. *DNA Cell Biol*, 2019, 38: 865-73
- [37] Xu K, Han B, Bai Y, et al. MiR-451a suppressing BAP31 can inhibit proliferation and increase apoptosis through inducing ER stress in colorectal cancer. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 152

- [38] Tu L, Long X, Song W, et al. MiR-34c acts as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by inducing endoplasmic reticulum stress through targeting HMGB1. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 5729-39
- [39] Jiang J, Ma B, Li X, et al. MiR-1281, a p53-responsive microRNA, impairs the survival of human osteosarcoma cells upon ER stress via targeting USP39. *Am J Cancer Res*, 2018, 8: 1764-74
- [40] Kong Q, Zhang Z, Liang Z. Upregulating miR-637 aggravates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in gastric cancer cells by suppressing calreticulin. *Anim Cells Syst (Seoul)*, 2020, 24: 267-74
- [41] Li KW, Wang SH, Wei X, et al. Mechanism of miR-122-5p regulating the activation of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway on the cell proliferation and apoptosis of osteosarcoma cells through targeting TP53 gene. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24: 12655-66
- [42] Wang Q, Yang X, Zhou X, et al. MiR-3174 promotes proliferation and inhibits apoptosis by targeting FOXO1 in hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526: 889-97
- [43] Xu H, Wu S, Shen X, et al. Methylation-mediated miR-214 regulates proliferation and drug sensitivity of renal cell carcinoma cells through targeting LIVIN. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 6410-25
- [44] Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 175-93
- [45] Ma K, Chen G, Li W, et al. Mitophagy, mitochondrial homeostasis, and cell fate. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 467
- [46] Yuan X, Gajan A, Chu Q, et al. Developing TRAIL/TRAIL death receptor-based cancer therapies. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37: 733-48
- [47] Selvarajoo K. A systems biology approach to overcome TRAIL resistance in cancer treatment. *Prog Biophys Mol Biol*, 2017, 128: 142-54
- [48] Levoine N, Jean M, Legembre P. CD95 structure, aggregation and cell signaling. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 314
- [49] Guégan JP, Ginestier C, Charafe-Jauffret E, et al. CD95/Fas and metastatic disease: what does not kill you makes you stronger. *Semin Cancer Biol*, 2020, 60: 121-31
- [50] Oakes SA. Endoplasmic reticulum stress signaling in cancer cells. *Am J Pathol*, 2020, 190: 934-46
- [51] Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21: 71-88
- [52] Lebeaupin C, Yong J, Kaufman RJ. The Impact of the ER unfolded protein response on cancer initiation and progression: therapeutic implications. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1243: 113-31
- [53] Siwecka N, Rozpędek W, Pytel D, et al. Dual role of endoplasmic reticulum stress-mediated unfolded protein response signaling pathway in carcinogenesis. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 4354
- [54] Wang X, Han Y, Hu G, et al. Endoplasmic reticulum stress induces miR-706, a pro-cell death microRNA, in a protein kinase RNA-like ER kinase (PERK) and activating transcription factor 4 (ATF4) dependent manner. *Cell J*, 2020, 22: 394-400