

本刊评论

This Editorial

解析 MicroRNA 参与疾病的机理

Analysis on the Mechanism of MicroRNA Involved in Disease

MicroRNAs (miRNAs) 是普遍存在的、调控基因表达的短非编码(≈ 22 nt)小分子调节 RNAs, 是由具有发夹结构的约 70~90 个碱基大小的单链 RNA 前体经过 Dicer 酶加工后生成。1993 年, miRNAs 在秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 中首次被发现(Lee et al., 1993), 人类基因组中编码超过 1 000 个 miRNAs。其功能是调节特异性 mRNA 靶标活性, 每一个 miRNA 可以抑制数百个 mRNAs, 在生理和病理过程中大范围内发挥重要作用(Kloosterman and Plasterk, 2006; Stefani and Slack, 2008)。大部分 miRNAs 在相关物种中的进化是保守的, 且在真核生物中高度保守, 有些甚至在无脊椎动物和脊椎动物中也表现出保守性(Pasquinelli et al., 2000)。

由于 MicroRNAs 在动物、植物的生理生化过程中具有重要作用, 有关其各方面的研究相对较多, 尤其在医学方面。近些年陆续在国际著名杂志上报道很多关于 MicroRNA 与癌症等疾病的研究成果, 本文主要解析 MicroRNA 参与各种疾病的机理, 以期为 MicroRNA 研究提供参考资料。

2007 年美国约翰·霍普金斯大学的研究者发现一种短链核酸序列“跑”到细胞中原本不该出现的位置, 而这些指令是来自核酸序列内部, 该项研究于 1 月 5 日发表在《Science》杂志上。已知人类 miR-29 主要有 3 种: miR-29a、miR-29b 和 miR-29c, 研究发现人类 miR-29b 与其它动物 miRNAs 报道相反, 主要定位在细胞核中。miR-29b 与众不同的六核苷酸末端使其可以作为一个可转移的核定位元素。接着, 研究者将同样的六核苷酸接合到小干扰 RNA 或称 siRNA——一种可以抑制基因表达的 RNA 分子, 结果发现六核苷酸序列同样能将 siRNA 分子“领”入细胞核中。miR-29b 的六核苷酸序列就像是邮政编码, 引导着 miR-29b 在细胞中的定位。该研究有望成为一种有效的实验手段, 即通过将一些 microRNA 和 siRNA 分子引入细胞核中以降低目标基因的表达(Hwang et al., 2007)。

同年研究人员通过对 26 种不同组织和细胞类型的 250 个 microRNA 文库进行序列测定, 以鉴定 miRNA 并分析其表达形式, 最终于 2007 年 6 月 29 日在国际著名杂志《Cell》上发布了一张哺乳动物 microRNA 表达图谱。结果显示 microRNA 表达图谱含有许多关于 microRNA 结构、序列、表达方式和进化的有用信息, 且他们发现测序的 microRNA 克隆中, 97% 来自不到 300 个 microRNA, 哺乳动物为数众多的 microRNA 只是起源于少数几个 microRNA 基因, 且具有组织或细胞特异性的 microRNA 很少。该表达图谱为今后研究发育和疾病有关的 microRNA 世界提供了重要线索(Landgraf et al., 2007)。

美国弗雷德哈钦森癌症研究中心(Fred Hutchinson Cancer Research Center)发现 microRNA 分子——一种有效调控基因表达的重要分子——为癌细胞所释放并且进入血液循环中, 这使得这类小分子可以被开发为一种新的生物标记用于检测早期癌症。有关结果发表于 2008 年 7 月 28 日美国科学院院刊《Proceedings of the National Academy of Sciences》(PNAS)。研究表明, miRNAs 以一种非常稳定的形式存在于人体血浆, 以保护其免受内源性 Rnase 活性的降解。来自人体前列腺癌移植物的 miRNAs 进入血液循环, 在血浆中很容易被检测到, 也可以使我们能快速地区分前列腺癌移植小鼠与对照小鼠。前列腺癌 miRNA 的表达物 miR-141 的血清浓度水平可以区分前列腺癌和健康对照的病人, 基于对 microRNA 的检测结果, 他们可以区分哪个个体患有癌症, 这对早期癌症诊断研究产生重大意义(Mitchell et al., 2008)。

作为一个细胞不同部位的“刹车”, 使基因处于控制之中, MicroRNA 这类分子与以蛋白为基础的早期癌症检测系统有明显优势, 这主要表现在它们可用于微量检测, 并且现有的技术应快速建立起基于 MicroRNA 的早期检测系统, 弗雷德哈钦森癌症研究中心人类生物学及临床研究部助理研究员 Tewari 解释道。他的主要工作是致力于了解这种刹车在前列腺癌和乳腺癌中为何失灵? 在这类癌症中受 MicroRNA 调控的基因失控使癌细胞生长(<http://www.sciencedaily.com/releases/2008/07/080728192651.htm>)。

已有研究证明 MicroRNAs 能够调控基因表达且通常在恶性肿瘤消失。研究人员在小鼠中利用一个 MicroRNA 替换肝癌极为活跃的细胞就足以制止疾病,表明 MicroRNA 替代疗法可能会阻止癌症细胞帮助制止疾病的蔓延。该项研究成果于 2009 年 6 月 12 日发表在《细胞》(Cell)杂志上(http://www.eurekalert.org/pub_releases/2009-06/cp-mrt060809.php)。

最近研究还发现人类自身也存在 MicroRNA 分子。由于 MicroRNAs 在癌症中失调,Tewari 研究小组最初研究的是这类分子在癌症发生和维持过程中的作用。在实验过程中,研究人员发现 MicroRNA 分子在细胞外循环并能相当稳定。他们惊奇地发现在血浆和血清中存在有 MicroRNA 分子,并且这种分子独立于细胞之外,且不被血液中降解常规 RNA 分子的酶降解。对于这类 MicroRNA 分子如何抵御 RNA 酶的降解以及它们如何进入血液完全是一个谜。这使得研究人员转入一个新的研究方向,即证明与癌症相关的 MicroRNA 分子能否被发现。模式生物如蠕虫和果蝇的早期研究表明,某些 MicroRNA 分子在某些特异的细胞中能特异表达,而在任何其它地方则没有(<http://www.sciencedaily.com/releases/2008/07/080728192651.htm>)。这项研究结果将激励全世界的科学家利用 MicroRNA 分子作为生物标记研究各种癌症。

2009 年 10 月 8 日复旦大学附属中山医院发表在《新英格兰医学杂志》(NEJM)杂志上的肝癌研究成果发现人体内 MicroRNA miR-26 在乙型肝炎病毒感染相关的肝癌发生中起较为关键的作用。肝癌是一种常见且具有攻击性的癌症,是影响我国人口的主要癌症之一,大部分发生在男性。手术切除是肝癌患者获得长期生存的主要手段。但肝癌术后的复发率高,是影响患者生存的最主要原因。该项研究分析了 3 个小组共 455 个患有肝癌并在 1999~2003 年间进行切除手术病人。MicroRNA 表达图谱显示的 241 个肝癌患者被鉴定出有与 MicroRNAs 相关的肿瘤。研究发现,在肝癌患者中,miR-26a 和 miR-26b 的表达在非肿瘤肝脏中的表达女性比男性高,肿瘤患者的 miR-26 表达水平降低,这表明 MicroRNA miR-26 表达与肝癌有关,而且肝癌组织中 miR-26 表达水平较低与 IL-6、NF-kB 的表达异常增高有关。已有医学证实,IL-6 和 NF-kB 的异常增高在慢性炎症促癌中占有重要地位,因此 miR-26 很可能在乙型肝炎病毒感染相关的肝癌发生中起较为关键的作用。由于干扰素具有调节免疫功能,miR-26 的表达可成为肝癌患者是否接受干扰素治疗的筛选指标(Ji et al., 2009)。

经过研究人员多年实验,发现支配细胞过程的基因相互作用复杂网络与人际关系社会网络很相似,因此他们正探索生物网络是如何改变,在癌症中又是如何恢复的。科学家们通过分析了肿瘤中 MicroRNAs 的遗传网络,把目光投向疾病中它们的相互作用是如何出差错上,其成果发表在 2010 年 5 月《基因组研究》杂志上(<http://www.physorg.com/news192014171.html>)。

另外,最近的证据也支持了 miRNA 在精神和神经混乱疾病中失调,包括精神分裂症,双相情感障碍和自闭症。在 miRNA 表达中的微小变化可以微调生物网络中多个基因的表达,这表明在精神疾病中能观察到 miRNA 的失调可能会引起许多分子水平的改变,而且 miRNA 治疗水平的调控可能呈现出一种新的治疗选择(Miller and Wahlestedt, 2010)。

2010 年 7 月 28 日在美国《科学》(Science)杂志上独立发表的两篇论文指出,适当调节以及消耗胆固醇含量对人体健康是必需的。MicroRNA-33 (miR-33)位于基因编码区固醇调节因子结合蛋白——SREBF,后者是一类参与胆固醇生物合成和摄取的重要转录因子。在这两项研究中,研究人员分别采用两种不同的路径对 MicroRNA-33 进行研究,美国纽约大学医学院的 Rayner 和同事使用了一种在基因组范围内筛查 MicroRNA,即通过细胞胆固醇损耗和富集来进行差分调整;而美国查尔斯顿市马萨诸塞综合医院癌症中心的 Najafi-Shoushtari 和同事则对通过 SREBF 的基因调节进行了研究。研究表明,microRNAs (miR-33a/b)嵌入 SREBP 基因并靶结合到编码三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运子 ABCA1,而 ABCA1 是高密度脂蛋白合成和反转运胆固醇的一个重要调节子,主要用于转录后阻遏。反义抑制子 miR-33 在小鼠和人类细胞中能引起 ABCA1 表达上调,胆固醇流出物载脂蛋白 A1 增加;miR-33 也能结合到靶标 ABCG1 上,减少胆固醇流出物形成高密度脂蛋白。MicroRNA-33 有助于调节高密度脂蛋白胆固醇的动态平衡,这意味着它或许能够成为心血管疾病和新陈代谢疾病的潜在靶点(Najafi-Shoushtari et al., 2010; Rayner et al., 2010)。

美国加州大学圣迭戈分校医学院和密歇根大学癌症中心的研究人员发现了一种可调节血管生长的“开关”——微型核糖核酸分子 miR-132,并且找到了控制该“开关”的方法。这一研究成果 2010 年 8 月 4 日刊登在英国《自然·医学》(Nature Medicine)杂志网络版,且有望对癌症和心脑血管疾病的治疗产生积极影响

(Anand et al., 2010)。

目前 MicroRNA (miRNA) 已成为广大研究者关注的重要基因表达调控因子, 在人类疾病的发生发展中表现出重要作用, 其研究前景十分广阔。相信随着研究的深入, 以及科学家们的不断探索, MicroRNA 所涉及的更多功能将被人们所认识, 也会为 MicroRNA 世界揭开崭新的一页。

参考文献

- Anand S., Majeti B.K., Acevedo L.M., Murphy E.A., Mukthavaram R., Scheppke L., Huang M., Shields D.J., Lindquist J.N., Lapinski P.E., King P.D., Weis S.M., and Cheres D.A., 2010, MicroRNA-132-mediated loss of p120RasGAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis, *Nature Medicine*, 16: 909-914
- Hwang H.W., Wentzel E.A., and Mendell J.T., 2007, A Hexanucleotide element directs MicroRNA nuclear import, *Science*, 35: 97-99
- Kloosterman W.P., and Plasterk R.H., 2006, The diverse functions of microRNAs in animal development and disease, *Dev. Cell*, 11: 441-450
- Lee R.C., Feinbaum, R.L., and Ambros V., 1993, The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*, *Cell*, 75(5): 843-854
- Landgraf P., Rusu M., Sheridan R., Sewer A., Iovino N., Aravin A., Pfeffer S., Rice A., Kamphorst A.O., Landthaler M., Lin C., Succi N.D., Hermida L., Fulci V., Chiaretti S., Foá R., Schliwka J., Fuchs U., Novosel A., Müller R.U., Schermer B., Bissels U., Inman J., Phan Q., Chien M., Weir D.B., Choksi R., de Vita G., Frezzetti D., Trompeter H.I., Hornung V., Teng G., Hartmann G., Palkovits M., Lauro R.D., Wernet P., Macino G., Rogler C.E., Nagle J.W., Ju J.Y., Papavasiliou F.N., Benzing T., Lichter P., Tam W., Brownstein M.J., Bosio A., Borkhardt A., Russo J.J., Sander C., Zavolan M., and Tuschl T., 2007, A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing, *Cell*, 129: 1401-1414
- Miller B.H., and Wahlestedt C., 2010, MicroRNA dysregulation in psychiatric disease, *Brain Research*, 1339: 89-99
- Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh M.E., Fritz B.R., Wyman S.K., Pogosova-Agadjanyan E.L., Peterson A., Noteboom J., O'Briant K.C., Allen A., Lin D.W., Urban N., Drescher C.W., Knudsen B.S., Stirewalt D.L., Gentleman R., Vessella R.L., Nelson P.S., Martin D.B., and Tewari M., 2008, Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection, *PNAS*, 105(30): 10513-10518
- Najafi-Shoushtari S.H., Kristo F., Li Y.X., Shioda T., Cohen D.E., Gerszten R.E., and Naar A.M., MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis, *Science*, 328(5985): 1566-1569
- Pasquinelli A.E., Reinhart B.J., Slack F., Martindale M.Q., Kuroda M.I., Maller B., Hayward D.C., Ball E.D., Degnan B., and Müller P., 2000, Conservation of the sequence of let-7 heterochronic regulatory RNA, *Nature*, 408: 86-89
- Rayner K.J., Suárez Y., Dávalos A., Parathath S., Fitzgerald M.L., Tamehiro N., Fisher E.A., Moore K.J., and Fernández-Hernando C., 2010, miR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis, *Science*, 328(5985): 1570-1573
- Stefani G., and Slack F.J., 2008, Small noncoding RNAs in animal development, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 9: 219-230