

网络出版时间: 2016-1-20 10:32:27 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160120.1032.076.html>

DNA 损伤修复途径与微小 RNA

刘 威 综述 顾康生 审校

摘要 化疗和放疗是目前肿瘤治疗的常用手段,其主要通过诱导细胞 DNA 损伤而发挥作用。DNA 损伤修复(DDR)途径与肿瘤放化疗敏感性密切相关。微小 RNA(miRNA)是一类广泛存在于生物体内能够在转录后水平靶向调控基因表达的单链小分子 RNA,研究表明 miRNA 参与调控 DDR 途径。

关键词 微小 RNA; DNA 损伤修复; 肿瘤; 治疗

中图分类号 Q 522; Q 754

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)02-0311-04

DNA 分子中储存着生物体赖以生存和繁衍的重要遗传学信息,其遗传保守性是维持物种相对稳定的基础,然而生物体细胞经常受到各种不利因素影响,为保护基因组完整性,细胞需要复杂的 DNA 损伤修复(DNA damage repair,DDR)信号通路修复受损 DNA。目前,化疗和放疗是肿瘤治疗的常用手段,其正是通过诱导 DNA 损伤而发挥作用,DDR 途径与放化疗敏感性密切相关。微小 RNA(microRNA,miRNA)是一类广泛存在于生物体内的小分子 RNA,其参与调控 DDR 途径,并与肿瘤发生发展、肿瘤放化疗疗效密切相关,现就 miRNA 在 DDR、肿瘤发生发展以及肿瘤放化疗治疗方面的进展作一综述。

1 DDR 途径的生物学机制

DDR 途径是一种由 DNA 损伤激活的复杂的修复信号传导通路。当细胞受到各种内源外源因素影响时,可激活 DNA 损伤反应信号网络,其依据 DNA 损伤类型的不同而介导不同的 DDR 机制。概况来说,细胞内的感受器分子,如 ATM、H2AX、ATR、MRN 复合物等,能迅速识别 DNA 损伤,再由 BRCA-

1、CHEK-1、CHEK-2、RNF-8 等信号分子介导级联反应,进一步启动下游多种效应分子,如 p53、CDK2、p21、CDC25C 等,从而激活 DDR 通路,经由碱基切除修复(base excision repair,BER)、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair,NER)、错配修复(mismatch repair,MMR)、同源重组修复(homologous recombination repair,HRR)和非同源末端连接重组修复(non-homologous end-joining repair,NHEJR)等方式修复受损的 DNA;激活细胞周期检测点,引发细胞周期阻滞;如果 DNA 损伤严重而不能被有效修复,细胞则启动凋亡程序,诱导细胞死亡,从而清除有损伤或恶变倾向的细胞^[1-2]。在这个损伤修复过程中,miRNA 参与多个重要环节的调控。

2 miRNA 的生物合成过程及作用机制

miRNA 是一类单链小分子 RNA,广泛存在于生物体内,长度约为 22 个核苷酸,进化上高度保守,由茎环结构的转录前体加工而成^[3]。研究^[4]显示,编码 miRNA 的基因多数位于基因间区域或已知基因的内含子上。内含子中的 miRNA 无启动子和转录调节元件,以与其所在的基因共转录的方式形成 miRNA 的初级转录产物(pri-miRNA);而基因间的 miRNA 有启动子和转录调节元件,在 RNA 聚合酶 II/III 的作用下产生 pri-miRNA。然后,pri-miRNA 经由 RNase III 家族酶 Drosha 的作用加工生成约 70 个核苷酸的具有特征性茎环结构的前体 miRNA(pre-miRNA),随后由依赖 RanGTP 的转运蛋白 Exportin-5 从细胞核转运至细胞质。最后,pre-miRNA 在细胞质中 Dicer 酶以及双链 RNA 结合因子 TRBP 的作用下生成成熟的双链 miRNA。成熟的 miRNA 参与构成 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex,RISC)进而识别靶标基因发挥生物调控功能^[5-6]。

miRNA 不编码蛋白质,其通过与靶 mRNA 分子的 3'端非编码区域(3'-untranslated region,3'UTR)互补匹配,从而在转录后水平对目的基因的表达实

2015-11-23 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1408085MH203)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科,合肥 230022

作者简介:刘 威,男,硕士研究生;

顾康生,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-

mail:13805692145@163.com

现负调控,导致靶 mRNA 分子降解或翻译受到抑制^[7-8]。

3 miRNA 参与 DNA 损伤修复途径

3.1 miRNA 对 DDR 基因的调控作用 随着研究的不断深入,人们认识到 miRNA 对 DDR 基因发挥极其重要的调控作用。研究^[9-10]表明 miR-24 靶向作用于标记 DNA 双链断裂(double-strand breaks, DSBs)及帮助募集 DNA 修复因子的 H2AX,在 miR-24 高表达的终末分化造血细胞中,H2AX 基因 mRNA 和蛋白表达均受到明显抑制,细胞 DNA 损伤修复能力明显下降,致使造血细胞对放射线及细胞毒药物高度敏感。此外,p53 基因接受诸如 miR-504、miR-125b 等 miRNA 的调控。miR-504 能够抑制 p53 蛋白的表达,进而抑制 p53 介导的细胞凋亡、细胞周期阻滞以及促进肿瘤的产生^[11]。miR-125b 也靶向作用于 p53 及 p53 调控基因的转录,抑制 miR-125b 能够通过增加 p53 进而诱导细胞凋亡来促进辐射后 DNA 的损伤修复^[12]。同样,miR-630、miR-421 可调控 ATM 基因的表达,促使其表达水平明显下降,从而抑制 DDR,增加细胞对辐射损伤的敏感性,致使细胞发生恶变的可能性增加^[13-14]。

3.2 DDR 基因对 miRNA 的调控作用 基因组的不稳定性以及对 DNA 损伤抵抗性的增加可促成肿瘤的形成。细胞有多条 DDR 通路以保护基因组免受双链 DNA 的损伤,p53 调控 DDR 基因的表达,并且能够活化一组 miRNA 的转录^[15],其中研究最多是 miR-34 家族,其发挥着抑制肿瘤的作用。当细胞 DNA 受到损伤时,p53 可诱导 miR-34 的产生。在一些 p53 突变的肿瘤中,miR-34 表达下调会增加 Myc、KRAS、MET 等癌蛋白的表达。miR-34a 靶向作用于细胞周期素和细胞周期素依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)这一调控网络,抑制细胞周期 G1 向 S 期转换,同时也能抑制一系列参与细胞信号转导和细胞增殖反应的基因网络^[16]。另外,对于 p53 突变的卵巢癌细胞,miR-34 家族的表达明显受到抑制,最终促使肿瘤细胞增殖能力、迁移能力以及侵袭性增强^[17]。研究^[18]表明,在伴有 KRAS 和 p53 信号通路突变的肺癌细胞中,外源的 miR-34a 能够通过抑制 KRAS 通路来抑制肿瘤的形成和进展。

4 DDR-miRNA 在肿瘤发生发展过程中的作用

DDR 和 miRNA 参与肿瘤形成、进展以及转移等不同阶段。在恶性肿瘤发生发展过程中常伴有 DDR 途径的紊乱与 miRNA 的表达异常。DDR 途径和 miRNA 信号转导通路的异常影响 DNA 的损伤修复、细胞的凋亡以及细胞周期阻滞,进而可能会改变肿瘤的生物特性。在 Lynch 综合征和部分散发的结直肠癌中,MMR 通路的缺陷可导致微卫星长度的改变(微卫星不稳定性),部分散发的和家族性的乳腺癌、卵巢癌以及胰腺癌均与 HRR 基因(如 BRCA1、BRCA2、PALB2、ATM 和 RAD51)的缺陷密切相关^[19]。人类肿瘤易感综合征及家族性肿瘤中 DNA 修复基因改变的发现,进一步表明 DDR、基因不稳定性以及肿瘤发生发展之间具有明确因果关系。基因稳定性的缺失加上保护基因突变的累积改变了细胞的行为,选择性地赋予肿瘤细胞独特的生长优势,促进肿瘤的异质性及侵袭性,加速肿瘤的发生发展^[20]。同时,因为 miRNA 基因位于染色体的脆性位点,且该区域常发生扩增、缺失、重排等现象,所以基因组的不稳定性可能影响 miRNA 的表达和加工过程。反过来,miRNA 的失调可直接促进基因组的不稳定性,进而导致一些控制肿瘤形成的重要通路的异常。举例来说,miRNA-155 和 miRNA-21 依赖 MSH2-MSH6 和 MLH1-PMS2 的下调导致结肠癌突变体自发突变频率和微卫星不稳定性显著上升^[21]。miR-372 靶向作用 CDK2 和 cyclin A1 基因的表达,调控细胞周期进展并抑制肿瘤的形成,miR-372 表达下调不仅促进肿瘤细胞增殖而且可加速肿瘤细胞 S/G2 转化^[22]。

肿瘤细胞尤其是转移灶细胞具有基因组异质性,基因突变的累积及染色体不稳定性增加肿瘤细胞异质性,并加速肿瘤细胞转移。研究^[23]表明只有 DNA 修复基因异常的肿瘤原发灶才有器官特异性转移能力。Woditschka et al^[24]对乳腺癌及脑转移病灶进行基因芯片分析,发现 BARD1 和 RAD51 基因直接参与了乳腺癌脑转移的过程。在 DDR 通路中,具有已知功能的 miRNA 同样在调控肿瘤转移方面发挥重要作用。例如,miRNA-34 能够抑制 DDR 基因(包括 Bcl-2、CDK4 及 CDK6 等)从而发挥肿瘤抑制基因的作用^[25]。在乳腺癌中,miRNA-155 既能够抑制肿瘤侵袭又能够促进肿瘤上皮间质转变及转

移,这表明其在调控肿瘤的进展和 DDR 通路中具有双向调控作用^[26-27]。然而,目前对 DDR-miRNA 在肿瘤形成和进展中的作用知之甚少,尚需要进一步的深入研究。

5 DDR-miRNA 在肿瘤放化疗中发挥的作用

肿瘤生物学行为的复杂性和异质性可能会导致患者对化疗药物的敏感性存在个体差异,miRNA 靶向调控 DDR 途径进而改变肿瘤细胞对化疗的反应性。例如,miRNA-138 靶向作用于核苷酸切除修复交叉互补基因 1 (excision repair cross complementation1, ERCC1),其表达的上调可增加肿瘤细胞对顺铂的敏感性,进而诱导细胞凋亡^[28]。miRNA-107 和 miRNA-222 抑制 RAD51 蛋白表达,进而靶向调控 DDR 途径并增加肿瘤细胞对 PARP 抑制剂的敏感性^[29]。REV3L 是 DNA 聚合酶 zeta 的重要组分,其与 REV1 结合可促进 DNA 的合成以及 DSB 的修复。研究^[30]表明,miRNA-25/32 调控 REV3L,使其表达下调,从而使 REV3L 功能缺陷的肿瘤细胞对拓扑异构酶抑制剂、PARP 抑制剂及顺铂高度敏感。miRNA-125b 在紫杉醇耐药乳腺癌细胞中表达上调,其过表达能够显著抑制紫杉醇诱导的细胞凋亡,从而增加细胞对紫杉醇的耐药性^[31]。此外,miRNA-34a 过表达能够减弱紫杉醇耐药前列腺癌细胞对紫杉醇的抵抗性,进一步表明 miRNA-34a 及其下游靶点 SIRT1 和 Bcl-2 在改变紫杉醇耐药中发挥重要调控作用。高表达 miRNA-34a 可导致多西紫杉醇耐药,miRNA-34a 表达的变化同样能够调控乳腺癌细胞的化疗敏感性。

放射治疗同样是当前肿瘤治疗的重要手段之一,其也面临肿瘤细胞放射抵抗等相关问题。研究^[32]表明,miRNA 可靶向调控 DNA 损伤修复、细胞周期检测、细胞凋亡、信号转导通路以及肿瘤细胞微环境等,进而改变肿瘤细胞放射敏感性。Chen et al^[33] 研究显示,miR-181a 与放射治疗敏感性密切相关,miR-181a 可下调 Bcl-2 蛋白表达,从而增加恶性胶质瘤细胞放疗敏感性。研究^[34]表明,miR-101 与 DNA-PKC 或 ATM mRNA 3' UTR 互补匹配,靶向调控 DNA-PKCS 及 ATM 基因表达,上调 miR-101 可降低细胞 DNA-PKCS 和 ATM 蛋白水平,进而促使肿瘤细胞对放射治疗高度敏感。此外,高表达 miR-449a 可有效增加放射诱导 DNA 损伤、细胞凋亡及细胞周

期阻滞,进而增加乳腺癌细胞对放疗的反应性^[35]。低表达 miR-381 促进食管鳞癌细胞生长并增加肿瘤放射抵抗性^[36],miR-100 表达上调与结直肠癌放射反应性增加相关^[37]。miRNA 的表达水平与肿瘤放射治疗反应性密切相关,相关 miRNA 靶向调控机制迫切需要深入的研究,以用于指导个体化放射治疗。

6 结语与展望

目前,miRNA 研究得到越来越多的关注,其与多种肿瘤的发生发展及诊断治疗密切相关。相关研究已表明 miRNA 靶向调控 DDR 途径进而介导肿瘤形成、进展及对放化疗的敏感性。因此,需要深入研究与 DDR 途径相关的 miRNA,为肿瘤治疗寻找新的突破点;同时,相关研究成果尚需要进一步临床试验加以验证,以期待早日应用于肿瘤患者的个体化治疗。

参考文献

- [1] Bottai G, Pasculli B, Calin GA, et al. Targeting the microRNA-regulating DNA damage/repair pathways in cancer [J]. *Expert Opin Biol Ther* 2014, 14(11): 1667-83.
- [2] Tessitore A, Ciccirelli G, Del Vecchio F, et al. MicroRNAs in the DNA Damage/repair Network and Cancer [J]. *Int J Genomics*, 2014, 2014: 820248.
- [3] Stefani G, Slack F J. Small non-coding RNAs in animal development [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008, 9(3): 219-30.
- [4] Baskerville S, Bartel D P. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes [J]. *RNA* 2005, 11(3): 241-7.
- [5] Yang J S, Lai E C. Alternative miRNA biogenesis pathways and the interpretation of core miRNA pathway mutants [J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 892-903.
- [6] Meister G. Argonaute proteins: Functional insights and emerging roles [J]. *Nat Rev Genet* 2013, 14(7): 447-59.
- [7] Siomi H, Siomi M C. Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals [J]. *Mol Cell* 2010, 38(3): 323-32.
- [8] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell* 2009, 136(2): 215-33.
- [9] Hu H, Gatti R A. MicroRNAs: New players in the DNA damage response [J]. *J Mol Cell Biol* 2011, 3(3): 151-8.
- [10] Lal A, Pan Y, Navarro F, et al. miR-24 mediated downregulation of H2AX suppresses DNA repair in terminally differentiated blood cells [J]. *Nat Struct Mol Biol* 2009, 16(5): 492-8.
- [11] Hu W, Chan C S, Wu R, et al. Negative regulation of tumor suppressor p53 by microRNA miR-504 [J]. *Mol Cell* 2010, 38(5): 689-99.
- [12] Le M T, Teh C, Shyh-Chang N, et al. MicroRNA-125b is a novel

- negative regulator of p53 [J]. *Genes Dev* 2009 23(7): 862 – 76.
- [13] Hu H L , Du L T , Nagabayashi G , et al. ATM is down-regulated by N-Myc-regulated microRNA-421 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2010 ,107(4) : 1506 – 11.
- [14] Galluzzi L , Morselli E , Vitale I , et al. miR-481a and miR-630 regulate cisplatin induced cancer cell death [J]. *Cancer Res* , 2010 ,70(5) : 1793 – 803.
- [15] He L , He X , Lim L P , et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network [J]. *Nature* ,2007 ,447(7148) : 1130 – 4.
- [16] Lal A , Thomas M P , Altschuler G , et al. Capture of microRNA-bound mRNAs identifies the tumor suppressor miR-34a as a regulator of growth factor signaling [J]. *PLoS Genet* ,2011 ,7(11) : e1002363.
- [17] Corney D C , Hwang C I , Matoso A , et al. Frequent downregulation of miR-34 family in human ovarian cancers [J]. *Clin Cancer Res* 2010 ,16(4) : 1119 – 28.
- [18] Kasinski A L , Slack F J. miRNA-34 prevents cancer initiation and progression in a therapeutically resistant Kras and p53-induced mouse model of lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res* ,2012 ,72(21) : 5576 – 87.
- [19] Ciccia A , Elledge S J. The DNA damage response: making it safe to play with knives [J]. *Mol Cell* 2010 ,40(2) : 179 – 204.
- [20] Zhang Z L , Bai Z H , Wang X B , et al. miR-186 and 326 predict the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and affect the proliferation and migration of cancer cells [J]. *PLoS One* 2015 ,10(3) : e0118814.
- [21] Valeri N , Gasparini P , Braconi C , et al. MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* ,2010 ,107(49) : 21098 – 103.
- [22] Tian R Q , Wang X H , Hou L J , et al. MicroRNA-372 is down-regulated and targets cyclin-dependent kinase 2(CDK2) and cyclin A1 in human cervical cancer , which may contribute to tumorigenesis [J]. *J Biol Chem* 2011 286(29) : 25556 – 63.
- [23] Broustas C G , Lieberman H B. DNA damage response genes and the development of cancer metastasis [J]. *Radiat Res* ,2014 ,181(2) : 111 – 30.
- [24] Woditschka S , Evans L , Duchnowska R , et al. DNA double-strand break repair genes and oxidative damage in brain metastasis of breast cancer [J]. *J Natl Cancer Inst* 2014 ,106(7) : dju145.
- [25] Ceppi P , Peter M E. MicroRNAs regulate both epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells [J]. *Oncogene* 2014 ,33(3) : 269 – 78.
- [26] Bouyssou J M , Manier S , Huynh D , et al. Regulation of microRNAs in cancer metastasis [J]. *Biochim Biophys Acta* ,2014 ,1845(2) : 255 – 65.
- [27] Johansson J , Berg T , Kurzejamska E , et al. MiR-155-mediated loss of C/EBP β shifts the TGF- β response from growth inhibition to epithelial-mesenchymal transition , invasion and metastasis in breast cancer [J]. *Oncogene* 2013 ,32(50) : 5614 – 24.
- [28] Wang Q , Zhong M , Liu W , et al. Alterations of microRNAs in cisplatin resistant human non-small cell lung cancer cells(A549/DDP) [J]. *Exp Lung Res* 2011 ,37(7) : 427 – 34.
- [29] Neijenhuis S , Bajrami I , Miller R , et al. Identification of miRNA modulators to PARP inhibitor response [J]. *DNA Repair(Amst)* , 2013 ,12(6) : 394 – 402.
- [30] Doles J , Oliver T G , Cameron E R , et al. Suppression of Rev3 , the catalytic subunit of Pol{zeta} , sensitizes drug-resistant lung tumors to chemotherapy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* ,2010 ,107(48) : 20786 – 91.
- [31] Zhou M , Liu Z , Zhao Y , et al. MicroRNA-125b confers the resistance of breast cancer cells to paclitaxel through suppression of pro-apoptotic Bcl-2 antagonist killer 1(Bak1) expression [J]. *J Biol Chem* 2010 ,285(28) : 21496 – 507.
- [32] Hatano K , Kumar B , Zhang Y , et al. A functional screen identifies miRNAs that inhibit DNA repair and sensitize prostate cancer cells to ionizing radiation [J]. *Nucleic Acids Res* ,2015 ,43(8) : 4075 – 86.
- [33] Chen G , Zhu W , Shi D , et al. MicroRNA-181a sensitizes human malignant glioma U87MG cells to radiation by targeting Bcl-2 [J]. *Oncol Rep* 2010 ,23(4) : 997 – 1003.
- [34] Yan D , Ng W L , Zhang X , et al. Targeting DNA-PKcs and ATM with miR-101 sensitizes tumors to radiation [J]. *PLoS One* 2010 ,5(7) : e11397.
- [35] Liu Y J , Lin Y F , Chen Y F , et al. MicroRNA-449a enhances radiosensitivity in CL1-0 lung adenocarcinoma cells [J]. *PLoS One* , 2013 ,8(4) : e62383.
- [36] Zhou S , Ye W , Ren J , et al. MicroRNA-381 increases radiosensitivity in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Am J Cancer Res* 2014 ,5(1) : 267 – 77.
- [37] Yang X D , Xu X H , Zhang S Y , et al. Role of miR-100 in the radioresistance of colorectal cancer cells [J]. *Am J Cancer Res* , 2015 ,5(2) : 545 – 59.