

◇ 综 述 ◇

microRNA 在卵巢和卵巢癌中的表达及功能

朱清,许波综述 刘雨生 审校

摘要 微小 RNA (miRNA) 是一种内源性的非编码小 RNA (18~25 个核苷酸), 通过降解靶 mRNA 或抑制其翻译, 对基因进行转录后水平的调控。miRNA 参与调控多个生物学过程, 有望成为治疗相关疾病的重要靶点。miRNA 在卵巢生理病理过程中发挥着重要的调控作用, 其表达的缺失或过表达会显著影响卵巢的生理功能, 部分 miRNA 还作为促癌或抑癌因子参与调控卵巢癌的发生发展过程。现对近年来 miRNA 在女性卵巢生理过程和卵巢癌中的表达情况及生物功能进行综述。

关键词 微 RNAs; 卵巢; 卵巢肿瘤

中图分类号 R 342.2; R 339.221; R 737.31

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)05-0694-04

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类内源性的非编码小 RNA, 长度为 18~25 个核苷酸。miRNA 能与靶 mRNA 3' 非翻译区部分互补或者完全互补结合, 引起靶 mRNA 降解或抑制其翻译, 从而对基因进行转录后水平的调控。据 miRBase 的最新数据显示, 人类有 1 527 种 miRNA 被鉴定出来, 至少 1/3 的人类基因受到 miRNA 的调控。miRNA 在调控细胞增殖、分化及凋亡, 参与胚胎发育、肿瘤发生及压力应答等过程中发挥着重要作用。

卵巢是一个十分独特的组织, 其内周而复始的上演着卵泡的募集、闭锁、排卵、黄体形成和退化等生物学过程。在卵巢组织内特异性的敲除或减效 Dicer 1 (miRNA 合成的关键酶) 会显著影响卵巢的生理功能。在小鼠卵母细胞内特异性的敲除 Dicer 1 会导致卵母细胞无法完成减数分裂, 纺锤体组装与染色体凝集异常^[1]。在颗粒细胞内特异性的敲除 Dicer 1 会导致原始卵泡形成增多、早期卵泡激活加速、闭锁卵泡增多、排卵率下降、卵母细胞与胚胎受损等^[2]。Dicer^{d/d} (Dicer1 mRNA 表达量下降

75%) 雌性小鼠出现黄体功能受损, 无法维持妊娠而流产^[3]。可见, miRNA 在促进卵母细胞成熟、排卵、维持黄体功能等方面发挥着不可替代的作用, 该课题将进一步阐述特定 miRNA 在卵巢生理过程和卵巢癌中的表达及功能。

1 miRNA 与卵巢的生理过程

1.1 miRNA 与卵泡闭锁 通过比较猪的正常排卵前卵泡、早期闭锁卵泡及进行性闭锁卵泡, 发现有 23 条 miRNA 的表达在卵泡闭锁过程中发生了显著变化。其中 miR-26b 的表达显著上调, 其通过抑制毛细血管扩张性共济失调突变基因 (ATM) 的表达, 减弱其对 DNA 的修复作用, 促进颗粒细胞凋亡进而促发卵泡闭锁^[4]。

1.2 miRNA 与黄体功能 体内外诱导母羊卵泡黄素化的研究^[5] 显示, miR-199a-3p、miR-125b、miR-145 和 miR-31 在卵泡-黄体过渡期表达下调, miR-503、miR-21 和 miR-142-3p 在黄体期显著上调。通过比较牛的黄体退化前后 miRNA 的表达差异, 发现 miR-147、miR-148b 和 miR-378 在退化的黄体组织中表达下调, miR-26a 和 miR-320 表达上调, 且 miR-378 通过抑制干扰素 γ 受体 1 基因 (IFNGP1) 的翻译进而抑制黄体细胞的凋亡^[6]。miR-17-5p 和 Let-7b 在 Dicer^{d/d} 雌性小鼠体内表达减少, 以致对基质金属蛋白酶组织抑制因子 1 (TIMP1) 蛋白表达的抑制作用减弱, 进而导致新生血管不足, 黄体功能受阻, 妊娠无法维持而流产^[3]。

1.3 miRNA 与激素生物合成过程 miR-378 通过抑制芳香化酶的转录和翻译, 抑制颗粒细胞合成雌激素^[7]。miR-224 和 miR-383 分别受转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 和类固醇生长因子 (SF-1) 的正性调节, 促进颗粒细胞分泌雌激素^[8-9]。miR-125a 和 miR-455 通过抑制 B 类 I 型清道夫受体 (SR-BI) 的转录及翻译, 减少高密度脂蛋白对胆固醇脂的摄取及相关类固醇激素的合成^[10]。

1.4 miRNA 与激素调控过程 在卵巢组织中, 黄体生成素 (LH) 和卵泡刺激素 (FSH) 参与几乎所有生殖相关的过程, 起着不可替代的调控作用。Fie-

2013-11-25 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金 (编号: 1308085Qh131)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院生殖中心, 合肥 230001

作者简介: 朱清, 女, 硕士研究生;

刘雨生, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-

mail: shengzhizhongxin@126.com

dlar et al^[11]检测了经 LH 诱导前 0 h 及后 4 h 的小鼠颗粒细胞中 miRNA 的表达水平,发现有 13 条 miRNA 的表达在处理前后发生了变化,其中 miR-132、miR-212 和 miR-21 的表达显著高于诱导前水平。进一步研究^[12]显示,miR-21 的表达在 LH 注射后 6 h 升至最高峰,且 miR-21 缺失的小鼠颗粒细胞凋亡增加,排卵率下降。经 FSH 处理后 12 h 的小鼠颗粒细胞 miR-29a 和 miR-30d 表达显著下调,并于 48 h 后回升;经生物信息分析预测的靶基因如 IV 型胶原蛋白基因 $\alpha 1$ (COL4A1)、骨形态发生蛋白 (BMF) 和环指蛋白 2 (RNF2) 等的蛋白表达也发生了相应的改变^[13]。

2 miRNA 与卵巢癌

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,其 5 年存活率不到 30%,病死率居妇科恶性肿瘤首位。卵巢癌复发率高、耐药性强以及缺乏个体化治疗的有效预测因子是其治疗的瓶颈。miRNA 性质稳定、功能广泛,与肿瘤关系密切,在协助诊断、分型、治疗、判断预后等方面都有着重要意义,有望成为解决耐药这一难题的突破点,为卵巢癌的研究带来新的前景。

2.1 卵巢癌干细胞相关 miRNA “肿瘤干细胞”

假说认为:肿瘤中存在含量极少、具有无限增殖潜能的肿瘤干细胞,这些高致瘤性的细胞亚群是肿瘤发生、复发、转移、耐药和治疗失败的根源。近年来,越来越多的卵巢癌干细胞亚群及表面标记分子被发现,如 CD133、ALDH1、CD44 和 CD117 分子。CD44⁺/CD117⁺ 干细胞亚群被认为是癌症起始细胞,具有高度增殖、低度分化和多重耐药的特性^[14],但其与 CD133⁺ 亚群或者 ALDH1⁺ 亚群是否是同一种细胞,尚无定论,需要进一步研究。

与卵巢上皮细胞 CD44⁻ 亚群比较,CD44⁺ 亚群低表达 miR-199a 和 miR-214,且其分别参与 IKK β /NF- κ B 和 PTEN/AKT 通路,调节卵巢干细胞分化。进一步研究^[14]显示,miR-199a 通过抑制 CD44 的转录和翻译,进而抑制 CD44⁺/CD117⁺ 亚群细胞的增殖和侵袭,提高其对顺铂、紫杉醇、阿霉素等化疗药物的敏感性,并降低多重耐药基因 ABCG2 的转录^[14]。在 p53-野生型 A2780 细胞系和 p53-突变型 OV8 细胞系内敲除 miR-214,发现 ALDH1⁺ 干细胞亚群在 A2780 细胞群内减少,而非 OV8 细胞群内;进一步研究^[15]显示,miR-214 通过抑制 p53 蛋白表达来促进 Nanog (一种干细胞自我更新维持因子) 的表达,进而促进卵巢癌干细胞群自我更新。故通过

抑制 miR-214 恢复 p53 的表达有望成为卵巢癌治疗的新方法。

2.2 促癌 miRNA 和抑癌 miRNA 与正常卵巢组织比较

miR-16、miR-21、miR-25 和 miR-148 作为促癌因子在卵巢癌中表达显著升高^[16-18],miR-9、miR-125a/b、miR-140、miR-145、miR-199a、miR-101、miR-22、miR-183 和 miR-31 作为抑癌因子在卵巢癌的表达显著下降^[19-23]。miR-21 通过抑制 PTEN 的蛋白表达调节癌症的发生发展^[16];miR-25 通过抑制 Bim 转录和翻译调节细胞凋亡和增殖^[17];miR-148b 可能参与癌症早期发生,有望成为早期诊断癌症的标志物^[18]。miR-9 通过抑制转录激活因子 NF- κ B 的转录和翻译调节细胞增殖^[19];miR-125b 通过抑制 BCL3 翻译诱导细胞周期停滞,抑制癌细胞增殖、克隆和肿瘤形成^[20];miR-101 通过抑制 EzH2 转录和翻译以及 EzH2 与 p21^{waf1/cip1} 启动子的互动作用诱导细胞凋亡,抑制细胞增殖、侵袭及肿瘤生长^[21];miR-22、miR-183 和 miR-31 通过抑制 Tiam1 的蛋白表达,进而抑制细胞迁移、侵袭和生长,但不影响细胞凋亡^[22]。miR-132、miR-26a、let-7b 和 miR-145 在卵巢癌患者的血浆中表达水平显著下降,被认为是预测黏液性卵巢癌的有效便利的标志物^[23]。

然而,miR-200 家族(miR-200a/b/c、miR-141 和 miR-429)在卵巢癌发生、发展过程中的作用是存在争议的,是促癌 miRNA 或是抑癌 miRNA,报道并非一致。Bendoraitė et al^[24]通过比较非永生性早期原代 HOSE 细胞与 70 例卵巢癌上皮组织及 15 种卵巢癌细胞系中 miR-200 家族的表达差异,发现 miR-200 家族在正常卵巢的上皮细胞内低表达,而在卵巢癌细胞内表达显著升高,这与 Nam et al^[25]的研究相符。核转录因子 ZEB1/2 能与上皮细胞中的基因启动子 E-Box 序列结合,抑制 E-钙黏蛋白在上皮细胞中的表达,促进上皮细胞向间质细胞转化。miR-200 家族与 ZEB1/2 构成了相互抑制的双向反馈环,使癌组织发生由间质型向上皮型(Meso-To-E)的转变,而启动 Meso-To-E 转变的起始信号尚不明确^[24]。miR-141 和 miR-200a 可通过抑制 p38 α 的表达调节氧化应激反应,促进肿瘤生长的同时又提高了对抗氧化类药物的反应性^[26]。

相反的是,Hu et al^[27]通过分析 55 例晚期(III 级和 IV 级)卵巢癌样本中 miRNA 的表达,发现 miR-200a/b 和 miR-429 能抑制卵巢肿瘤细胞迁移,低水平表达预示着生存率低。Cochrane et al^[28]研究发现 miR-200c 在卵巢癌细胞系和 III 级卵巢癌组织内

的表达水平显著下降,且低水平的 miR-200c 与预后差相关。紫杉醇作为治疗卵巢癌一线药物,通过促进微管蛋白聚合,抑制解聚,保持微管蛋白稳定,抑制细胞有丝分裂。人体内至少存在 8 种不同亚型的 β-微管。在卵巢癌组织中,Ⅰ和Ⅳ类 β-微管蛋白高度表达,Ⅲ类 β-微管蛋白中度表达,Ⅱ类 β-微管蛋白低度表达。非小细胞肺癌、乳腺癌、头颈癌和卵巢癌中高表达的Ⅲ类 β-微管蛋白与不良的生存结局和药物反应相关。miR-200c 可与Ⅲ类 β-微管 mRNA 的 3' 非翻译区直接结合,抑制其蛋白的表达,恢复癌细胞对紫杉醇药物的反应性^[29]。miR-200c 还可以通过抑制酪氨酸蛋白激酶 B(TrkB) 的表达恢复癌细胞失巢凋亡的敏感性,抑制肿瘤转移和浸润,且与紫杉醇联合应用能显著抑制肿瘤生长^[30]。若于化疗前,联合使用 miR-200c 有望增加化疗药物敏感性及减少药物用量。

3 结语

miRNA 在女性生殖系统中的研究正在迅速的展开,其性质稳定、功能重要,有望成为诊断和治疗生殖相关疾病的重要靶点。目前,通过研究 miRNA 及其下游调控网络,探索其在女性生殖系统生理病理状况下的调控作用,可为研究女性生殖提供新思路、新角度、新方法。不过,应当明确的是,对同种疾病同类组织细胞中 miRNA 表达水平的研究,其结果可能是不同甚至是相反的。即使是同一种疾病状态,研究样本、细胞系,甚至对照组及检测手段的不同,都有可能造成研究结果的不一致,这就要求以辩证的思维去看待研究结果。

参考文献

[1] Mattiske D M, Han L, Mann J R. Meiotic maturation failure induced by DICER 1 deficiency is derived from primary oocyte ooplasm [J]. *Reproduction*, 2009, 137(4):625-32.

[2] Lei L, Jin S, Gonzalez G, et al. The regulatory role of Dicer in folliculogenesis in mice [J]. *Mol Cell Endocrinol* 2010, 315(1-2):63-73.

[3] Otsuka M, Zheng M, Hayashi M, et al. Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(5):1944-54.

[4] Lin F, Li R, Pan Z X, et al. miR-26b promotes granulosa cell apoptosis by targeting ATM during follicular atresia in porcine ovary [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38640.

[5] McBride D, Carré W, Sontakke S D, et al. Identification of miRNAs associated with the follicular-luteal transition in the ruminant ovary [J]. *Reproduction*, 2012, 144(2):221-33.

[6] Ma T, Jiang H, Gao Y, et al. Microarray analysis of differentially expressed microRNAs in non-regressed and regressed bovine corpus luteum tissue; microRNA-378 may suppress luteal cell apoptosis by targeting the interferon gamma receptor 1 gene [J]. *J Appl Genet*, 2011, 52(4):481-6.

[7] Xu S, Linher-Melville K, Yang B B, et al. Micro-RNA378 (miR-378) regulates ovarian estradiol production by targeting aromatase [J]. *Endocrinology*, 2011, 152(10):3941-51.

[8] Yao G, Yin M, Lian J, et al. MicroRNA-224 is involved in transforming growth factor-beta-mediated mouse granulosa cell proliferation and granulosa cell function by targeting Smad4 [J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(3):540-51.

[9] Yin M, Lü M, Yao G, et al. Transactivation of microRNA-383 by steroidogenic factor-1 promotes estradiol release from mouse ovarian granulosa cells by targeting RBMS1 [J]. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(7):1129-43.

[10] Hu Z, Shen W J, Kraemer F B, et al. MicroRNAs 125a and 455 repress lipoprotein-supported steroidogenesis by targeting scavenger receptor class B type I in steroidogenic cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(24):5035-45.

[11] Fiedler S D, Carletti M Z, Hong X, et al. Hormonal regulation of MicroRNA expression in periovulatory mouse mural granulosa cells [J]. *Biol Reprod*, 2008, 79(6):1030-7.

[12] Carletti M Z, Fiedler S D, Christenson L K. MicroRNA 21 blocks apoptosis in mouse periovulatory granulosa cells [J]. *Biol Reprod*, 2010, 83(2):286-95.

[13] Yao N, Yang B Q, Liu Y, et al. Follicle-stimulating hormone regulation of microRNA expression on progesterone production in cultured rat granulosa cells [J]. *Endocrine*, 2010, 38(2):158-66.

[14] Cheng W, Liu T, Wan X, et al. MicroRNA-499a targets CD44 to suppress the tumorigenicity and multidrug resistance of ovarian cancer-initiating cells [J]. *FEBS J*, 2012, 279(11):2047-59.

[15] Xu C X, Xu M, Tan L, et al. MicroRNA miR-214 regulates ovarian cancer cell stemness by targeting p53/Nanog [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(42):34970-8.

[16] Lou Y, Yang X, Wang F, et al. MicroRNA-21 promotes the cell proliferation, invasion and migration abilities in ovarian epithelial carcinomas through inhibiting the expression of PTEN protein [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 26(6):819-27.

[17] Zhang H, Zuo Z, Lu X, et al. MiR-25 regulates apoptosis by targeting Bim in human ovarian cancer [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(2):594-8.

[18] Chang H, Zhou X, Wang Z N, et al. Increased expression of miR-448b in ovarian carcinoma and its clinical significance [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(5):1277-80.

[19] Guo L M, Pu Y, Han Z, et al. MicroRNA-9 inhibits ovarian cancer cell growth through regulation of NF-kappaB1 [J]. *FEBS J*, 2009, 276(19):5537-46.

[20] Guan Y, Yao H, Zheng Z, et al. MiR-125b targets BCL3 and suppresses ovarian cancer proliferation [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(10):2274-83.

- [21] Semaan A , Qazi A M , Seward S , et al. MicroRNA-101 inhibits growth of epithelial ovarian cancer by relieving chromatin-mediated transcriptional repression of p21^(waf1/cip1) [J]. *Pharm Res* , 2011 , 28 (12) :3079 - 90.
- [22] Li J , Liang S , Jin H , et al. Tiam1 , negatively regulated by miR-22 , miR-183 and miR-31 , is involved in migration , invasion and viability of ovarian cancer cells [J]. *Oncol Rep* , 2012 , 27 (6) : 1835 - 42.
- [23] Chung Y W , Bae H S , Song J Y , et al. Detection of MicroRNA as novel biomarkers of epithelial ovarian cancer from the serum of ovarian cancer patient [J]. *Int J Gynecol Cancer* , 2013 , 23 (4) : 673 - 9.
- [24] Bendoraitė A , Knouf E C , Garg K S , et al. Regulation of miR-200 family microRNAs and ZEB transcription factors in ovarian cancer: evidence supporting a mesothelial-to-epithelial transition [J]. *Gynecol Oncol* , 2010 , 116(1) :117 - 25.
- [25] Nam E J , Yoon H , Kim S W , et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma [J]. *Clin Cancer Res* , 2008 , 14(9) : 2690 - 5.
- [26] Mateescu B , Batista L , Cardon M , et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response [J]. *Nat Med* , 2011 , 17 (12) :1627 - 35.
- [27] Hu X , Macdonald D M , Huettner P C , et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol* , 2009 , 114(3) :457 - 64.
- [28] Cochrane D R , Spoelstra N S , Howe E N , et al. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents [J]. *Mol Cancer Ther* , 2009 , 8 (5) :1055 - 66.
- [29] Leskelä S , Leandro-García L J , Mendiola M , et al. The miR-200 family controls beta-tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free survival in ovarian cancer patients [J]. *Endocr Relat Cancer* , 2011 , 18 (1) : 85 - 95.
- [30] Cittelly D M , Dimitrova I , Howe E N , et al. Restoration of miR-200c to ovarian cancer reduces tumor burden and increases sensitivity to paclitaxel [J]. *Mol Cancer Ther* , 2012 , 11(12) :2556 - 65.

(上接第 693 页)

- [6] Jyonouchi H , Geng L , Streck D L , et al. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study [J]. *J Neuroinflammation* , 2012 , 9:4.
- [7] Kapitanović Vidak H , Catela Ivković T , Jokić M , et al. The association between proinflammatory cytokine polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants [J]. *Cytokine* , 2012 , 58 (1) : 57 - 64.
- [8] Welser J V , Li L , Milner R. Microglial activation state exerts a biphasic influence on brain endothelial cell proliferation by regulating the balance of TNF and TGF- β 1 [J]. *J Neuroinflammation* , 2010 , 7: 89.
- [9] 刘琳. 肿瘤坏死因子- α 对神经血管单元影响的研究进展 [J]. *卒中与神经疾病* , 2012 , 19 (5) :320 - 2.
- [10] Nishioku T , Matsumoto J , Dohgu S , et al. Tumor necrosis factor- α mediates the blood-brain barrier dysfunction induced by activated microglia in mouse brain microvascular endothelial cells [J]. *J Pharmacol Sci* , 2010 , 112(2) :251 - 4.
- [11] Falahati S , Breu M , Waackman A T , et al. Ischemia-induced neuroinflammation is associated with disrupted development of oligodendrocyte progenitors in a model of periventricular leukomalacia [J]. *Dev Neurosci* , 2013 , 35 (2 - 3) : 182 - 96.

The dysregulated expression of TNF- α for spastic cerebral palsy

Lin Xueming , Wu Jianxian

(Dept of Rehabilitation , The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230601)

Abstract 82 spastic cerebral palsy and normal children were selected , including 27 younger and 27 older spastic cerebral palsy (observation group) and 14 younger and older normal children (control group). The tumor necrosis factor α (TNF- α) levels were measured in the serum with ELISA. The TNF- α levels in the serum of the younger and older spastic CP groups were higher than those of the control groups ($P < 0.01$). In observation groups , the TNF- α levels of younger spastic cerebral palsy were higher than those of the older ($P < 0.01$). On the contrary , the normal children in the control group of different ages had no difference of TNF- α . TNF- α expression was significantly higher in the serum of the spastic CP group than that in the control group ($P < 0.01$). TNF- α expressed continuously *in vivo* of children with spastic cerebral palsy involve subsequent brain injury.

Key words cerebral palsy; immune factor; tumor necrosis factor- α