

MiR-182 研究进展

蒋金艳, 谢海龙*

(南华大学肿瘤研究所, 湖南 衡阳, 421001)

摘要: **目的** 微小 RNA 是一种长约 22 nt 的单链非编码 RNA 分子。自发现以来,一直是科学家们研究的热点。miRNA 对基因表达的调控具有重要作用,参与了细胞周期以及生物发育的调节,并且在肿瘤的形成和发展中,也演绎了不可或缺的角色。目前已发现约 2000 种人类 miRNAs,本文现以 miR-182 的研究为重点,将对 miR-182 目前的结构、功能,以及目前的研究现状方面作一综述。

关键词: miRNAs; miR-182; 肿瘤; 调控

中图分类号: R96 **文献标识码:** A

成熟的 miRNA 是一组约 18 ~ 25 nt 组成的单链非编码的内源性小 RNA 分子。它最初的形态是在细胞核内由基因编码出长约 1 000 nt 构成的初始 RNA 分子 pri-miRNA (primary microRNA),这种初始 RNA 经 Drosha 酶加工后形成长约 60 ~ 80 nt 的 pre-miRNA。Pre-miRNA 在 Ran-GTP 和 Exportin5 的辅助下从细胞核内穿出到细胞质;在细胞质中,经 Dicer 酶进一步加工,最终成为成熟的 miRNA 分子^[1]。第一个被人们发现的 miRNA 是 lin-4,是由 lee 等^[2]科学家于 1993 年在一种线虫里面发现的;lin-4 与 lin-14 的 3' 非编码区 (3' UTR) 结合并抑制 lin-14 mRNA 的翻译,调控线虫的发育。第二个发现的 miRNA: let-7,开启了 miRNA 研究大门的钥匙,很快带领科研人员进入研究 miRNA 的领域^[3]。miRNA 是一具有高度保守的序列,其表达具有时序性和组织特异性。最先发现的两个 miRNAs,即 lin-4 和 let-7,据报道对线虫的发育具有重要作用^[2-3]。miRNA 通过转录后水平调控基因的表达,从而调节正常生理功能,所以若其发生异常调控将引起生物体内环境的稳态的改变,从而导致一些疾病的发生,甚至是癌症的发生。被验证出来的人类 miRNAs 已有 2000 种,其中有一半左右编码 miRNAs 的基因位于肿瘤相关基因组区或染色体的脆性位点^[4-6]。这些 miRNA 调控着 21 000 个人类蛋白编码基因^[5]。

1 miR-182 概述

miR-182 定位于人 7 号染色体 (7q32.2),与 miR-96、miR-183 形成了一个基因簇,是 Lagos-Quintana 等^[6]于 2003 年在小鼠的眼中第一次发现的。miR-182 首先由基因编码出 pri-miRNA,分别经 Drosha 酶及 Dicer 酶等两次加工后,最终形成成熟的 miR-182¹。miR-182 序列为: 5'-uuuggcaaugguagaucacacac-3'。其成熟序列最初是与其互补链结合成 miR-182 : miR-182* 双螺旋结构的双链,螺旋打开后,两条链中随机的一条与 RNA 诱导的基因沉默复合物 (RISC) 结合,进而发挥生物学功能^[7]。编码 miR-182 的 DNA 启动子的 CpG 岛长度为 1 989 bp,位于上游 148bp-2138 bp^[8]。miR-182 调节靶 mRNA 的方式有两种。第一种:在大多数的植物中,miRNA 与 RNA 诱导的基因沉默复合物 (RISC) 结合后通过与靶 mRNA 完全互补配对,而使其 mRNA 降解;第二种:在大多数的动物中,miRNA 与 RISC 结合后通过与靶 mRNA 的不完全互补配对,而抑制其 mRNA 的翻译;一个靶基因可以受多种 miRNA 调控;同时,一种 miRNA,也可以调控多个不同的靶基因,从而发挥不同的功能^[7]。miR-182 同其他 miRNA 分子一样可通过调节不同的靶 mRNA 对生物体的生长、发育、分化发挥重要调控作用;另外,它在肿瘤形成中能发挥类似癌基因或抑癌基因的作用。

2 miR-182 与机体的发育及相关的疾病

研究发现,miR-182 与视力和听力的发育及疾

病有密切关系。miR-182-96-183 基因簇在眼部的表达中,miR-182 分布于除视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium,RPE) 层以外的视网膜各层,而 miR-183 则主要在外核层及外界膜中表达;并且这个家族的表达量在成年期达到高峰,提示其可能在维持成熟视网膜表型及功能中具有重要作用^[9]。miR-182 和 miR-96 通过调控小眼畸形相关转录因子(MITF)、腺苷酸环化酶(ACDY6)两个靶基因的表达,来调节视网膜昼夜节律的改变^[10]。邢蔚等^[11]研究发现 miR-182 可以促耳蜗前体细胞分化成毛细胞。张志远等^[12]通过构建噪声性聋小鼠模型,应用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)技术检测 miR-182/96/183 的表达变化,发现噪声刺激后毛细胞受损,miR-183 基因簇表达也下降,提示其参与了噪声性聋疾病形成的发生发展。miR-182 可以调节抑郁症失眠患者的睡眠周期^[13];在坐骨神经损伤的早期阶段,抑制施万细胞分化、转移,有利于抑制病情的恶化^[14];在骨骼肌萎缩的一些疾病中,miR-182 可以通过调节靶基因 FOXO3,控制骨骼肌萎缩的相关基因的表达^[15]。根据现有的文献资料,发现 miR-182 与人类的疾病相关,而与肿瘤的关系尤为紧密。见表 1。

表 1 miR-182 的生物学功能及相关的疾病

相关疾病	靶基因	生物学功能
致视力下降	MITF、ACDY6	调节视网膜昼夜节律的改变 ^[9-10]
噪声性聋	—	促耳蜗前体细胞分化成毛细胞 ^[11-12]
抑郁症	—	调整睡眠周期 ^[13]
骨骼肌萎缩	FOXO3	控制骨骼肌萎缩 ^[15]
乳腺癌	BRCA1、BRMS1L、MIM、PFN1	促进癌细胞增殖、侵袭、转移 ^[19-21]
结直肠癌	SATB2、FBXW7	促进癌细胞增殖、侵袭,使结肠腺瘤向腺癌进展,推动肿瘤的发生 ^[22-23]
肺癌	CTTN、PDCD4、RAS1	抑制肺癌的发生、发展 ^[27-29]
胃癌	CREB1	抑制胃癌细胞增殖 ^[16]
胶质瘤	LRRC4	抑制胶质瘤的生长 ^[30]
肾癌	—	抑制癌细胞增殖 ^[31]
骨肉瘤	TIAM1	抑制瘤细胞的生长与侵袭 ^[32]

3 miR-182 与肿瘤的关系

大量研究发现 miR-182 与肺癌、胃癌、结直肠

癌、胰腺癌等多种肿瘤的发生及发展有关。研究人员发现 miR-182 的作用复杂。它既可以抑制肿瘤的发生,也可以促进肿瘤的发生。有学者发现 miR-182 可以通过抑制 CREB1 基因抑制胃癌的增殖^[16]。而周恽等^[17]收集 50 例胃癌标本,利用 RT-PCR 技术检测发现胃癌组织中的 miR-182 表达明显上调,在淋巴结转移或远处转移肿瘤组织中表达水平亦增高,说明 miR-182 在胃癌中发挥癌基因的作用,可促进肿瘤的发生和转移。在乳腺癌、结直肠癌、肺癌和前列腺癌的研究中,miR-182 可以促进其发生、发展;在肺癌、肾癌的研究中,则可以抑制其发生、发展。miR-182 与肿瘤的关系复杂,其调节肿瘤的具体机制仍不十分明确,有人认为是通过抑制 DNA 修复产生的结果,也有人认为是其启动子的高甲基化的结果^[18,8]。

3.1 miR-182 的类似癌基因作用 采用实时定量聚合酶链反应(Realtime polymerase chain reaction,rt-PCR)、miRNA 基因芯片、Northern 印迹法(Northern blotting)技术及微阵列分析技术等多种实验方法对 miR-182 的研究结果显示,miR-182 在大多数肿瘤(肺癌、胰腺癌、胆管癌、结直肠癌、肝癌、乳腺癌、肾癌、前列腺癌和恶性胶质瘤等)细胞或组织中的表达上调,发挥着类似于癌基因的作用。

对于 miR-182 类似于癌基因作用的研究,最多的是乳腺癌的研究,其次是结直肠癌、肺癌和前列腺癌的研究。Patryk Moskwa 等通过研究发现,在乳腺癌的发生、发展中,miR-182 可以通过抑制 DNA 修复等机制来抑制 BRCA1 基因的表达,而最终导致癌细胞的增殖、侵袭和转移的发生^[18]。另有研究者利用 miRNA 芯片检测技术,发现 miR-182-96-183 是一条可调控自分泌/旁分泌人生长激素基因(hGH)的 miRNA 簇^[19]。他们利用实验证明 miR-96-182-183 可以通过抑制乳腺癌转移抑制 1 样基因(breast cancer metastasis suppressor 1-like, BRMS1L)的表达,进而促进乳腺癌上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和侵袭的发生。在 hGH-GHR 信号通路中 miR-96 和 miR-182 可以靶向调节 GHR 基因,而提供潜在的负性调节反馈环,并提出 hGH 可通过 STAT3 和 STAT5 信号刺激 miR-182-96-183 的表达及功能。其他科学人员在对乳腺癌的研究中,发现 miR-182 也可以抑制 MIM、PFN1 等基因的表达来促进乳腺癌细胞的增殖、侵袭或转移^[20-21]。在对结直肠癌的研究中,miR-182 可以通

过抑制 SATB2 基因来促进结直肠癌的增殖和转移^[22];并且有文献报道,它可以联合 miR-503 共同抑制 FBXW7 基因,使结肠腺瘤向腺癌进展,推动肿瘤的发生^[23]。此外,在一些其他种类的癌细胞的研究中,例如肺癌、肝癌、肉瘤等,均有报道 miR-182 发挥着类似癌基因的作用^[24-26]。

3.2 miR-182 的类似抑癌基因作用 大多数结果显示 miR-182 在肿瘤中是高表达的,科学家们用同样的方法,却得出了不一样的结论:即 miR-182 在肿瘤中是低表达的。目前已有研究发现在一些肺癌、胃癌、肾癌等肿瘤中,miR-182 表达下调,发挥着类似抑癌基因的作用。由此可见,miR-182 在肿瘤的发生发展中,作用复杂,既有高表达,又有低表达,而其具体作用机制尚不明确。

在肺癌的研究中,研究者通过转染 miR-182 至肺癌细胞中,检测发现皮层肌动蛋白和 CTTN mRNA 的表达均降低的;并利用体内外试验证明 miR-182 可以调控癌细胞的细胞周期,从而抑制肺癌细胞的增殖,并且,可以促进癌细胞的凋亡从而起到抑癌的作用^[27]。再者,研究者发现 miR-182 可以通过抑制 PDCD4、RASA1 等基因的表达,从而抑制肺癌的发生、发展^[28-29];也可以通过抑制 CREB1 基因抑制胃癌的增殖,通过抑制 LRRC4 基因抑制胶质瘤的生长^[16,30]。在肾细胞癌中,miR-182-5p 可通过 AKT/FOXO3a 通路抑制肾癌细胞的增殖^[31]。在骨肉瘤中,miR-182 可通过调控 TIAM1 的表达,抑制瘤细胞的生长与侵袭^[32]。有学者同样发现 miR-182 在胶质瘤中可以发挥抑瘤的作用^[33]。

3.3 miR-182 与肿瘤的诊断、治疗及预后 miR-182 在肿瘤的诊断与治疗中,也发挥着重要作用。Chen 等^[34]利用 RT-qPCR 检测 109 例胰腺癌、38 例慢性胰腺炎以及 50 例健康对照者的循环 miR-182 的表达水平,结果显示循环 miR-182 在癌症患者中的表达高于胰腺炎及正常对照者;并且,与临床分期及淋巴结转移具有一定的相关性。他们还进一步分析数据发现,对诊断胰腺癌的敏感性和特异性高于 CA19-9;而联合检测 CA19-9 后,其诊断的敏感性和特异性均高于单独检测循环 miR-182。此外,经 Kaplan-Meier 分析得出,miR-182 与胰腺癌患者的愈后密切相关。他们的这些实验结果均表明,循环 miR-182 可能成为诊断胰腺癌,及判断其愈后的肿瘤标记物。术前测定高分化前列腺癌患者体内 miR-182 的表达有利于评估术前风险^[35]。Qin^[36]在对肝癌

患者的化疗药物耐药性的研究中,发现 miR-182 上调可以调节 TP53INP1 从而增加顺铂的耐药性。在结肠癌中也有相似报道,通过研究显示 miR-182 若在结肠癌中高表达提示预后差^[37]。随着人们对 miR-182 的研究越来越多,疑惑也有越来越多,更多的问题待我们去解答。

4 进展与展望

现在的研究大多数是关于 miR-182 通过与其靶基因 3'UTR 的完全或不完全互补配对来发挥调控作用的方面,事实上也有科学家发现 miR-182 能与靶基因的启动子、5'UTR 结合并发挥一定的作用;因此还是需要更深入的研究。此外,随着研究人员对 miRNA 的深入研究,目前科学家已经探索到了一个新的领域:ceRNA 调控网络。ceRNA 假说认为所有类型的 RNA 转录物都是通过 miRNA 的间接语言来相互调控的^[38]。自 ceRNA 假说的出现之后,以单个 miRNA 为单位的研究已经不再有优势,更多的研究人员已经开始研究以围绕 miRNA 展开的 ceRNA 网络为单位开始新的研究。ceRNA 假说的提出,给研究人员带来了一种新的气象。miRNA 作为整个 ceRNA 调控网络的枢纽,其作用是不容忽视的。首先,miR-182 的作用复杂,其功能暂时难以研究透彻,现对 miR-182 基因簇的研究也有很多,结合 ceRNA 的研究,其基因簇在 ceRNA 网络中作用仍是未知的,需要更深入的研究,探索出 miR-182 的调控网络,才能发现其引起肿瘤的确切机制。其次,有研究发现 miR-182 在肺癌细胞中其启动子区出现 DNA 高甲基化,这有利于深入研究 miRNA 对肿瘤的调控机制^[8]。瘤性 miRNA 的检测可能有助于提高疾病的诊断率,抑瘤性 miRNA 可能有助于化疗药物耐药性的研究;将 miRNA 的研究结合于临床,将有利于提高人类疾病的诊断、治疗的有效率,并提高病人的预后,对克服癌症具有极其重要的意义。

参考文献:

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233.
- [2] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V, et al. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with anti-sense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854.
- [3] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide

- let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-906.
- [4] 叶峰, 张国新. miR-375 在胃癌研究中的新进展[J]. *江苏医药*, 2012, 38(12): 1449-1451.
- [5] Pennisi E. Genomics. ENCODE project writes enlogy for junk DNA [J]. *Science*, 2012, 337(6099): 1159-1161.
- [6] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Meyer J, et al. New microRNAs from mouse and human [J]. *RNA*, 2003, 9(2): 175-179.
- [7] Lai E C. MicroRNAs are complementary to 3'UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation [J]. *Nature Genet*, 2002, 30(256): 363-364.
- [8] 李永文, 孙永林, 任凡, 等. 肺癌细胞中 miR-182 启动子甲基化状态研究[J]. *中国肺癌杂志*, 2015, 18(5): 260-265.
- [9] 何宇, 范玮, 张军军. miR-183/96/182 在眼科学的研究进展[J]. *眼科新进展*, 2014, 34(6): 589-593.
- [10] 张群, 罗艳, 张士瑾. miR-183 基因簇对动物感觉器官功能和发育及肿瘤发生的调控[J]. *中国生物化学和分子生物学报*, 2012, 28(7): 593-602.
- [11] 邢蔚, 闰辉, 米文娟, 等. miR-182 可以促进耳蜗前体细胞分化为毛细胞[J]. *Chinese Journal of Otology*, 2014, 12(2): 312-315.
- [12] 张志远, 刘凯, 陈燕红, 等. miR-183 家族在噪声性聋发生发展中的表达及研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(7): 468-472.
- [13] Saus E, Soria V, Escaramis G, et al. Genetic variants and abnormal processing of pre-miR-182, a circadian clock modulator, in major depression patients with late insomnia [J]. *Human Molecular Genetics*, 2010, 19(20): 4017-4025.
- [14] Yu B, Qian TM, Wang YJ, et al. miR-182 inhibits Schwann cell proliferation and migration by targeting FGF9 and NTM, respectively at an early stage following sciatic nerve injury [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(2): 10356-10365.
- [15] Hudson MB, Rahnert JA, Zheng B, et al. miR-182 attenuates atrophy-related gene expression by targeting FoxO3 in skeletal muscle [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, 307(4): C314-319.
- [16] Sachdeva M, Mito JK, Lee CL, et al. MicroRNA-182 drives metastasis of primary sarcomas by targeting multiple genes [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(10): 4305-4319.
- [17] 周怿, 朱清, 黄重发, 等. MicroRNA-182 在胃癌中的表达及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(12): 1708-1710.
- [18] Moskwa P, Buffa FM, Pan YF, et al. miR-182-mediated down-regulation of BRCA1 impacts DNA repair and sensitivity to PARP inhibitors [J]. *Mol Cell*, 2011, 41(2): 210-220.
- [19] Zhang W, Qian P, Zhang X, et al. Autocrine/paracrine human growth hormone stimulated miRNA 96-182-183 cluster promotes epithelial-mesenchymal transition and invasion in breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(22): 13812-13829.
- [20] Lei R, Tang J, Zhuang X, et al. Suppression of MIM by microRNA-182 activates RhoA and promotes breast cancer metastasis [J]. *Oncogene*, 2014, 33(10): 1287-1296.
- [21] Liu H, Wang Y, Li X, et al. Expression and regulatory function of miRNA-182 in triple-negative breast cancer cells through its targeting of profilin 1 [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1713-1722.
- [22] Yang MH, Yu J, Jiang DM, et al. microRNA-182 targets special AT-rich sequence-binding protein 2 to promote colorectal cancer proliferation and metastasis [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2014, 12: 109.
- [23] Li L, Sarver AL, Khatri R, et al. Sequential expression of miR-182 and miR-503 cooperatively targets FBXW7, contributing to the malignant transformation of colon adenoma to adenocarcinoma [J]. *J Pathol*, 2014, 234(4): 488-501.
- [24] 丁海兵, 柯宏刚. 肺癌细胞中 miR-182 的功能及作用机制[J]. *Cancer Res Prev Treat*, 2014, 41(2): 142-147.
- [25] Chenggang Wang, Ren Ren, Haolin Hu, et al. MiR-182 is up-regulated and targeting Cebpa in hepatocellular carcinoma [J]. *ChinJ Cancer Res*, 2014, 26(1): 17-29.
- [26] Zhang L, Liu T, Huang Y, et al. microRNA-182 inhibits the proliferation and invasion of human lung adenocarcinoma cells through its effect on human cortical actin-associated protein [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 28(3): 381-388.
- [27] Wang M, Wang Y, Zang W, et al. Downregulation of microRNA-182 inhibits cell growth and invasion by targeting programmed cell death 4 in human lung adenocarcinoma cells [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1): 39-46.
- [28] Zhu YJ, Xu B, Xia W. Hsa-mir-182 downregulates RAS1 and suppresses lung squamous cell carcinoma cell proliferation [J]. *Clin Lab*, 2014, 60(1): 155-159.
- [29] Kong WQ, Bai R, Liu T, et al. MicroRNA-182 targets cAMP-responsive element-binding protein 1 and suppresses cell growth in human gastric adenocarcinoma

- [J]. FEBS J, 2012, 279(7):1252-1260.
- [30] Tang HL, Wang ZY, Liu Q, et al. Disturbing miR-182 and -381 Inhibits BRD7 Transcription and Glioma Growth by Directly Targeting LRRC4 [J]. Plos One, 2014, 9(1):e84146.
- [31] Xu X, Wu J, Li SQ, et al. Downregulation of microRNA-182-5p contributes to renal cell carcinoma proliferation via activating the AKT/FOXO3a signaling pathway [J]. Molecular Cancer, 2014, 13:109.
- [32] Hu J, Lv G, Zhou S, et al. The Downregulation of MiR-182 Is Associated with the Growth and Invasion of Osteosarcoma Cells through the Regulation of TIAM1 Expression [J]. PLoS One, 2015, 10(5):e0121175.
- [33] Kouri FM, Hurley LA, Daniel WL, et al. miR-182 integrates apoptosis, growth, and differentiation programs in glioblastoma [J]. Genes Dev, 2015, 29(7):732-745.
- [34] Chen QL, Yang LJ, Xiao YL, et al. Circulating microRNA-182 in plasma and its potential diagnostic and prognostic value for pancreatic cancer [J]. Medical Oncology, 2014, 31(11):225.
- [35] Tsuchiyama K, Ito H, Taga M, et al. Expression of microRNAs associated with Gleason grading system in prostate cancer: miR-182-5p is a useful marker for high grade prostate cancer [J]. Prostate, 2013, 73(8):827-834.
- [36] Qin J, Luo M, Qian H, et al. Upregulated miR-182 increases drug resistance in cisplatin-treated HCC cell by regulating TP53INP1 [J]. Gene, 2014, 538(2):342-327.
- [37] Rapti SM, Kontos CK, Papadopoulos IN, et al. Enhanced miR-182 transcription is a predictor of poor overall survival in colorectal adenocarcinoma patients [J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(8):1217-1227.
- [38] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language [J]. Cell, 2011, 146(3):353-358.

(此文编辑:蒋湘莲)