

nase pathway[J]. *Seminars Cell Develop Biol*, 2004, 15 (2):171-176.

[14] Vickers SM, Jhala NC, Ahn EY, et al. Tamoxifen (TMX)/Fas induced growth inhibition of human cholangiocarcinoma (HCC) by gamma interferon (IFN-gamma)[J]. *Ann Surg*, 2002, 235(6):872-878.

[15] Ahn EY, Pan G, Vickers SM, et al. IFN-gamma upregulates apoptosis-related molecules and enhances Fas-mediated apoptosis in human cholangiocarcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(4):445-451.

[16] Zalcenstein A, Stambolsky P, Weisz L, et al. Mutant p53 gain of function: repression of CD95 (Fas/APO-1) gene expression by tumor-associated p53 mutants[J]. *Oncogene*, 2003, 36(22):5667-5676.

[17] Kokkonen TS, Augustin MT, Makinen JM, et al. High endothelial venules of the lymph nodes express Fas ligand[J]. *J Histochem Cytochem*, 2004, 52(5):693-699.

[18] Nakazawa K, Dobashi Y, Suzuki S, et al. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor

receptor, and c-met in biliary tract cancers[J]. *J Pathol*, 2005, 206(3):356-365.

[19] Ueki T, Hsing AW, Gao YT, et al. Alterations of p16 and prognosis in biliary tract cancers from a population-based study in China[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10:1717-1725.

[20] Liu XF, Zhu SG, Zhang H, et al. The methylation status of the I' MS1/ASC gene in cholangiocarcinoma and its clinical significance[K]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2006, 5:449-453.

[21] Koga Y, Kitajima Y, Miyoshi A, et al. Tumor progression through epigenetic gene silencing of O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase in human biliary tract cancers[J]. *Ann Surg Oncol*, 2005, 12:354-363.

[22] Olivier M, Eeles R, Hollstein M, et al. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users[J]. *Hum Mutat*, 2002, 19:607-14.

(收稿日期:2010-04-18)

microRNA 和白血病

孙长江 综述, 王建新 审校(江苏省南通大学附属医院检验科 226001)

【关键词】 白血病; 基因调控; microRNA; 特异性表达; 诊断; 治疗
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.061
中图分类号:R733.71 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)18-2023-04

microRNA, 是一类具有 21~25 nt(少数小于 20 nt)的长度很短的非编码单链小分子 RNA。其前体(pre-miRNA)是一段具有茎环结构的长度为 70~90 nt 的单链小分子 RNA。成熟的单链 miRNA 与某些蛋白质结合形成 miRNA 诱导的基因沉默复合物(miRISC), 能够调控某些 mRNA 的稳定性或翻译效率, 抑制靶基因的转录后表达水平^[1]。miRNA 广泛地在动物、植物和人体组织细胞内特异性表达, 具有多种生物学功能。如调节组织细胞的生长、分化、衰老和细胞凋亡^[2-4]。近年发现其在多种肿瘤如肺癌、甲状腺癌和白血病的发生过程中发挥了重要的作用^[4-6]。深入研究其分子生物学特性, 对于探索人体组织细胞内基因调控和生长信号传递方式的特性具有重要意义, 有利于多种相关肿瘤的早期诊断、病情监测、预后判断和临床治疗方法的改进。本文通过对 miRNA 在人体组织细胞内的定位特点、基因表达特性和调控机制方面的介绍, 对 microRNA 在白血病发生发展过程中的作用作一个简要的回顾。

1 microRNAs 基因的定位特点

1.1 microRNAs 基因在染色体上的定位特点 人组织中的 miRNAs 基因在染色体上并不是随机分布的。它们或 2 个 3 个形成一个 miRNA 簇, 或分散存在形成单个 miRNA。这些 miRNA 基因常定位于癌基因区(OGRs)、基因的断裂脆点区(FRAs)、杂合性缺失区(LOH)及最小扩增区部位或其附近区域(见图 1)。FRAs 是姊妹染色体交换、易位、删除、扩增和质粒 DNA 整合作用及肿瘤相关病毒(如 HPV)的优先选择位点, 由于该区本身 DNA 倾向不稳定易于断裂, 因而常常导致某些关键基因与 miRNAs 基因相互作用, 这可能是导致肿瘤发生的一个重要原因。如 miR-142s 基因存在于 t(8,17)易位

的断裂脆点附近, t(8,17)易位导致该 miRNA 启动子与 MYC 基因互相靠近, 引起 MYC 过表达进而易于引起恶性 B 细胞白血病的发生^[7]。再如 miR-15 和 miR-16 定位于 13q14, 这是一个公认的 OGRs, 在有一半多的 B 细胞慢性淋巴细胞白血病中这个区基因表达有删除或表达下调现象。这两种 miRNAs 在白血病细胞中不表达或低表达, 导致无法有效抑制抗凋亡因子 BCL2 的表达, 进而使白血病细胞不易通过凋亡机制实现肿瘤消亡^[4,8]。miRNAs 的这些定位特点显示了 miRNAs 基因可能与肿瘤发生有关。再者, 人 miRNAs 基因常常定位于与癌症相关的脆点区, 也显示了 miRNAs 可能具有癌基因或抑癌基因的功能。

Chromosome	Location (defining markers)	Size, Mb	miR	Hystotype	Known OG/TS
3p21.1-21.2-D	ARP-DRR1	7	let-7g/miR-135-1	Lung, breast cancer	—
3p21.3(A209-D)	GOLGA4-VILL	0.75	miR-26a	Epithelial cancer	—
3p23-21.31(MDR2-D)	D3S1768-D3S1767	12.32	miR-138-1	Nasopharyngeal cancer	—
5q32-D	ADR82-ATX1	2.92	miR-145/miR-143	Myelodysplastic syndrome	—
9q22.3-D	D9S280-D9S1809	1.46	miR-24-1/miR-23b; let-7a-1/let-7f-1/let-7d	Urothelial cancer	PTC, FAMCC
9q33-D	D9S1825-D9S158	0.4	miR-123	NSCLC	—
11q23-q24-D	D11S927-D11S1347	1.994	miR-34a-1/miR-34a-2	Breast, lung cancer	PPP2R1B
11q23-q24-D	D11S1345-D11S1328	1.725	miR-125b-1/let-7a-2/miR-100	Breast, lung, ovary, cervix cancer	—
13q14.3-D	D13S272-D13S25	0.54	miR-15a/miR-16a	B-CLL	—
13q32-33-A	s5G15303-s5G31624	7.15	miR-17/miR-18/miR-19a/miR-20/miR-19b-1/miR-92-1	Follicular lymphoma	—
17p13.3-D	D17S1866-D17S1574	1.809	miR-22; miR-132; miR-212	HCC	—
17p13.3-D	ENOS-TP53	2.275	miR-195	Lung cancer	TP53
17q22-q28(17)	miR-142s/c-MYC	0.55	miR-142s; miR-142as	Prothymocytic leukemia	c-MYC
17q23-A	CLTC-PPM1D	0.97	miR-21	Neuroblastoma	—
20q13-A	FLJ33887-ZNF217	0.55	miR-297-3	Colon cancer	—
21q11.1-D	D21S1911-ANA	2.84	miR-99a/let-7c/miR-125b	Lung cancer	—

图 1 在最小删除区, 最小扩增区和断点区内与癌症相关的一些 miRs 事例

1.2 miRNAs 基因在基因组上的定位特点 以前研究显示 miRNAs 大约占人体全部基因的 1%~5%, 每个 miRNA 能够

调控大量的靶基因,根据目前计算机预测,一个 miRNA 可能调节 200 多个靶基因。这显示人体内大约有 1/3 的编码蛋白质的基因表达水平被 miRNA 调节^[9],说明 miRNA 在生物体基因调控网络中可能有重要的作用。Paul 等^[10]利用 miRNAmap 资源分析了当时通过计算机程序预测的所有 miRNAs 基因(762),发现大约 52%(396)miRNAs 基因定位于基因间,40%(308)miRNAs 基因定位于内含子中,只有少部分(58)miRNAs 基因定位于外显子中。显示了 miRNA 本身具有独立的表达调控元件。目前已有 131 个 miRNAs 获得了实验确证,结果基本上与预测结果相附。

1.3 在癌症中 miRNAs 存在高频率的基因组改变 Zhang 等^[11]对 227 例卵巢癌、乳腺癌和黑色素瘤标本进行基因组分析,发现包含 miRNA 的基因区有高频率的拷贝数异常,并且这种拷贝数改变与 miRNA 转录表达水平是一致的。这些事实显示 miRNA 的基因组改变可能是 miRNA 表达失调的一个原因,是癌症发生过程中的特殊事件。

2 miRNAs 在组织细胞内的基因表达特性

2.1 miRNAs 的表达特性 miRNAs 在人和动物(如大鼠、小鼠)种系间高度保守,其表达具有组织特异性和发育时间选择性。已有研究表明,在鼠造血组织中选择表达的 miRNAs 在不同的造血组织中有不同的表达,特别是在世系标志物不同的细胞中最为明显。如鼠骨髓中 miR-181 在未分化 B 细胞(B220⁻)和分化 B 细胞(B220⁺)中的表达有明显不同;miR-223 几乎只在骨髓和初级造血组织中表达,且仅限于粒细胞(Gr-1⁺ and Mac-1⁺)世系中表达,在 T 和 B 淋巴细胞世系中几乎不表达;miR-142S 在红细胞类型(Ter-119⁺)和 T 淋巴细胞类型(CD3e⁺)中表达极低而在分化的 B 淋巴细胞(B220⁺)和粒细胞(Gr-1⁺ and Mac-1⁺)中高表达;miR-142S 可在所有的造血组织中高表达,在非造血组织中很少或不表达^[12]。miRNAs 在造血组织细胞中的不同表达特性显示了其在调节组织细胞分化过程中可能发挥了重要的作用。

某些 miRNAs 的表达失调已经显示与造血组织肿瘤的发生有关。Calin 等^[13]在研究正常组织和肿瘤组织 miRNAs 表达特性时发现,在不同的人组织类型中有不同的 miRNA 表达图谱,在不正常的组织/细胞中表达特性亦不相同。如在 CD5⁺B 细胞和慢性白血病细胞中,有些 miRNAs 表达失调(miR-123、miR-132 或 miR-136),有些 miRNA 基因簇中所有的成员都被异常上调(如 miR-96、miR182、miR183)而其在其他细胞中仅有部分成员被上调。这显示了既使在同一 miRNA 基因簇中,每个 miRNA 亦存在各自的调控方式。利用 miRNAs 的这种表达特性目前已能有效的区分慢性淋巴细胞性白血病(CLL)中的良恶性 B 细胞,显示了其具有重要的临床应用价值。目前的研究显示,miRNAs 在细胞中的过表达可以诱导细胞的增殖、分化和凋亡^[4,14],如 miR-15 和 miR-16 在 CLL、套细胞淋巴瘤(mantle-cell lymphoma)、多发性骨髓瘤(multiple myeloma)和前列腺癌中常常表达缺失。细胞培养和表达载体实验显示,过表达的 miR-15 和 miR-16 可以抑制 Bcl-2 的表达水平进而导致细胞凋亡。因而白血病细胞之所以能够逃避凋亡很有可能是由于这两种 miRNA 在细胞中表达缺失或低表达而造成 BCL2 过表达的主要原因^[4]。miRNAs 在造血组织和肿瘤细胞中的特异性表达,不仅显示 miRNAs 在人体组织生长和肿瘤发生过程中具有特殊的作用,而且还为早期诊断和治疗各种类型的白血病提供了一种新思路和新方法。目前虽已发现二百多个 miRNAs 在人体组织中表达,但其中尚有大

量的 miRNAs 在正常和疾病细胞中的表达水平和功能还有待进一步的研究。

2.2 miRNAs 表达的调控 有研究者推测组织细胞内的主要转录因子可以调控 miRNAs 在人体内的表达^[15]。c-myc 是一种螺旋-环-螺旋亮氨酸锌指转录因子,在某些白血病细胞中常常过表达,在白血病发生过程中有重要的作用。Donnell 等利用测定人 miRNA 表达的点寡核酸芯片去分析人 B 细胞系 P493-6 的 miRNA 表达图谱,发现 c-myc 蛋白的过表达可以上调 13 号染色体(miR-17 簇)、X 染色体(miR-106 簇)和 7 号染色体(miR-106 簇)上的几个 miRNA 的表达水平。用染色体免疫沉淀实验分析发现 c-myc 蛋白可以直接地结合到 miR-17 簇上游,进而调控其表达水平,从而发挥其生物学效应。

另一个能在反式维甲酸(RA)诱导条件下调控 miRNAs 表达水平改变的转录因子是 CEBP α (CCAAT enhancer protein)^[3]。Francesco 等研究发现,在早幼粒细胞白血病细胞系(NB4)中,CEBP α 在 RA 诱导的条件下可以聚积在 miR-223 基因的启动子区上调其表达水平,进而引起 miR-223 抑制其靶核转录因子 1/A(NFI-A)的表达水平。NFI-A 是调控细胞增殖和分化的重要转录因子,其异常表达在早幼粒细胞白血病发生过程中具有重要的作用。

2.3 miRNA 抑制靶基因的表达机制 哺乳动物 miRISC 中的 miRNAs 结合到靶 mRNA 的 3'UTR 上可能引发两种结果,一种是靶 mRNA 的降解,一种是抑制靶 mRNA 的翻译过程。miRNA 与其靶基因的互补程度决定了它以何种机制沉默靶基因。决大多数 miRNAs 不能降解靶 mRNA 是因为细胞核内的 mRNA 剪切不仅需要 miRNAs 和靶要接近完全互补,而且还要 miRISC 中的催化成分 Argonaute 核心亚基的存在。如在植物细胞中 miRNA/靶基因双链形成常发生在 mRNA 的编码区且几乎是完全互补的,因而可以通过剪切 mRNA 而导致靶基因的降解;而在动物细胞中 miRNA/靶基因双链形成受到 mRNA 链上沟(gap)和 3'UTR 错配的影响,不能形成完整的双链,往往不能通过剪切而降解靶基因^[16]。

目前的研究表明,对于 miRNAs 介导的靶翻译阻抑作用,靶 mRNA 单纯有帽(cap)结构和 poly(A)尾是不够的,还需要有帽结合蛋白即真核细胞翻译起始因子 eIF4E 和 poly(A)结合蛋白 PABP 的参与。已前的研究已表明,帽结构和 poly(A)共同刺激 eIF4G 使之募集到 mRNA 上是引发早期翻译起始的关键一步。在这个过程中,帽结构与 eIF4E 相互作用,poly(A)尾与 PABP 结合,从而使 eIF4E 和 PABP 同时与 eIF4G 结合并将它募集到 mRNA 上,引发 mRNA 的翻译过程。David 等^[17]研究发现,miRNAs 能够干扰 eIF4E 和 poly(A)尾的功能,从而达到对靶表达水平的抑制,具体机制尚不清楚。不过有研究表明在 xenopus 卵母细胞中,细胞胞质内的脱腺苷化作用控制元件结合蛋白(CPEB)把 eIF4E 结合蛋白 Maskin 募集到模板 mRNA 上,通过阻抑 3'UTR 结合抑制复合物和帽结构-eIF4E 复合物之间的相互作用能够抑制 mRNA 的翻译。这种机制在高等动物中是否存在尚不确定。Wu 等^[18-19]在研究 miR-125b 和 let-7 抑制靶表达机制过程中发现,这两种 miRNA 通过与 mRNA 的不完全互补的碱基配对,可能指导 mRNA Poly(A)的快速脱腺苷化作用,导致 mRNA 的稳定性下降,从而减少细胞内靶 mRNA 的浓度,达到调控靶蛋白表达的作用。

值得注意的是,目前研究 miRNA 抑制靶 mRNA 的调控机制大多是与 mRNA 的 3'UTR 的相互作用,实际上 mRNA 在编码区和 5'UTR 处亦有与 miRNA 配对的区域。这些配对

区域对 mRNA 的生物学行为影响如何尚不清楚。

3 miRNAs 的检测方法

到目前为止, Northern blotting 仍是定量测定 miRNAs 的最普遍的方法。其优点是能够同时检测 miRNAs 的前体和成熟的 miRNAs, 缺点是对低通量的样本不敏感; 后来的 miRNA 芯片(miRNA microchip)方法能在同一样品中同时检测和鉴别数百个成熟的 miRNA 和前体 miRNA, 且所用的总 RNA 量较少。缺点是不能扩增检测到 miRNAs, 不利于随后的 miRNA 功能分析的开展。不过利用 miRNA 芯片的这个特性, 近年来已广泛应用于研究人体正常和疾病组织细胞中 miRNA 的表达特性, 有利于进一步了解 miRNA 在人类肿瘤发生过程中其表达方式改变对肿瘤致病通路的影响^[20]。近年应用的 Real-time PCR 有非常高的特异性和敏感性, 但是该方法仅能定量测定 miRNAs 的前体和无活性的成熟的 miRNAs^[21]。最近徐卫等^[22]对液相杂交方法检测 miRNA 表达水平进行了改良, 减少了样本使用量, 且克服了 RNA 纯化过程中小分子 RNA 不易提取的缺点。该方法不失为一种较好的 miRNA 检测方法。

4 miRNAs 在临床中的作用

目前已发现 miRNAs 在几种白血病中具有特异性表达, 可以调控细胞内多种转录因子的表达水平, 参与了癌症的发生、发展过程, 有可能是肿瘤癌基因或抑癌基因^[23]。许多研究表明, 分析 miRNAs 在细胞内的表达特性可以用于癌症分型和诊断, 且能有效的分类癌症和预测癌症发生。Calin 等^[25]发现在 CLL 中, miRNAs 基因突变率非常高, 许多突变发生在 pre-miRNAs 的调控区(flanking sequence)内, 细胞培养分析显示 miR-16-1 前体的点突变终止了成熟的 miR-16 的表达。这充分的显示了 miRNAs 的表达缺失有利于 CLL 发生。进一步对 94 个 CLL 细胞样本进行 miRNAs 表达特性分析, 发现 miRNAs 表达特性与 ZAP-70 表达水平和免疫球蛋白重链(IgVH)的突变状态有关, 表明利用 miRNAs 表达特性可以判断 CLL 的预后^[25]。这些事实显示由 miRNA 介导的细胞内基因调控机制在癌症发生过程中具有重要作用, 研究 miRNAs 在癌症发生过程中的具体机制将有利于白血病的诊断和治疗。

5 展 望

随着在不同生物和疾病细胞中 miRNAs 特异表达的大量发现, 对 miRNA 功能的研究也越来越引起人们的重视。大量的研究表明, miRNA 在细胞生长发育和疾病发生中起着重要作用。研究其在造血组织和白血病细胞中如何发挥作用具有重要的理论和实践意义。目前尚有许多方面不清楚, 如 miRNA 在白血病发生过程中是如何被调控的, miRNA 与相关蛋白是如何相互作用的, miRNA 本身之间又有什么样的关系, 它们对白血病的发生、发展有什么样的影响, 在白血病诊断和治疗过程中的临床意义等等。相信随着 miRNA 功能研究的不断深入, 人们对白血病发生机制的认识将更加具体、更加深入, 也必将为白血病的诊断和治疗提供一种有效的方法。

参考文献

- [1] 余佳, 王芳, 张俊武. 基因调控中的新星——microRNA [J]. 医学分子生物学杂志, 2006, 3(2): 108-112.
- [2] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116: 281-297.
- [3] Francescisco F, Alessandro R, Alessandro F, et al. A microcircuitry comprised of microRNA-223 and transcription

- factors NFI-A and C/EBP α regulates human granulopoiesis[J]. Cell, 2005, 123: 819-831.
- [4] Amelia C, George AC, Muller F, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2[J]. PNAS, 2005, 102(39): 13944-13949.
- [5] Matthias E, Michaela S. MicroRNA and lung Cancer[J]. J New Engl Med, 2005, 352, 23: 2446-2448.
- [6] He H, Krystian J, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma[J]. PNAS, 2005, 102(52): 19075-19080.
- [7] George AC, Cinzia S, Calin DD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. PNAS, 2004, 101(9): 2999-3004.
- [8] George AC, Calin DD, Masayoshi S, et al. Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia [J]. PNAS, 2002, 99(24): 15524-15529.
- [9] Calin GA, Liu CG, Sevignani C, et al. microRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias[J]. PNAS, 2004, 101(32): 11755-11760.
- [10] Paul W, Hsu C, Huang HD, et al. miRNAmap: genomic maps of microRNA genes and their target genes in mammalian genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34 : D135-D139.
- [11] Zhang L, Huang J, Yang N, et al. microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer[J]. Proceedings National Academy Sci, 2006, 103: 9136-9141.
- [12] Chen CZ, Li L, Harvey FL, et al. MicroRNAs Modulate Hematopoietic Lineage Differentiation[J]. Sci, 2004, 303(2): 83-86.
- [13] Calin GA, Liu CG, Sevignani C, et al. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias[J]. PNAS, 2004, 101(32): 11755-11760.
- [14] Cheng AM, Byrom MW, Shelton F, et al. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis[J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33(4): 1290-1297.
- [15] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, et al. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression[J]. Nature, 2005, 435(7043): 839-843.
- [16] Bartel DP. Micro-RNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116: 281-297.
- [17] David T, Humphrey S, Belinda J. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A)tail function[J]. PNAS, 2005, 102(47): 16961-16966.
- [18] Wu L, Belasco JG. MicroRNA Regulation of the Mammalian lin-28 Gene during Neuronal Differentiation of Embryonal Carcinoma Cells[J]. Mol Cellular Biol, 2005, 25: 9198-9208.
- [19] Wu L, Fan J, Belasco JG. From the cover: MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA[J]. Pro National Academy Sci, 2006, 103: 4034-4039.

[20] Liu CG, George AC, Brian M, et al. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues[J]. PNAS, 2004, 101(26): 9740-9744.

[21] Jiang J, Lee EJ, Gusev Y, et al. Real-time expression profiling of microRNA precursors in human cancer cell lines [J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33: 5394-5403.

[22] 徐卫, 李建勇, 陆凤. 液相杂交检测 B 细胞淋巴瘤细胞系 miR-28 的表达[J]. 中华实验血液学杂志, 2006, 14(2): 289-292.

[23] Chen ZC. Micro-RNAs as oncogenes and tumor suppressors[J]. J New England Med, 2005, 353(17): 1768-1771.

[24] Calin GA, Ferracin M, Masayoshi S, et al. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia [J]. J new England med, 2005, 353(17): 1793-1801.

[25] Cheng AM, Byrom MW, Shelton J, et al. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis [J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33(4): 1290-1297.

(收稿日期: 2010-05-26)

miRNA 与乳腺癌的关系及其研究进展

赵苏瑛 综述, 李 岷 审校(江苏省中医院, 南京 210029)

【关键词】 miRNA; 乳腺癌; 相关性研究
DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.062
中图分类号: R737.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2010)18-2026-02

miRNA 是真核生物中一类长度约为 22 个核苷酸的参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链 RNA, 能通过与靶 miRNA 特异性的碱基配对引起靶 miRNA 的降解或抑制其翻译, 从而对基因进行转录后的表达调控^[1]。目前, 人类已发现 326 个 miRNA 基因, 计算机预测可能会超过 1 000 个, 约 1/3 的蛋白编码基因受 miRNA 调控。miRNA 的主要功能是调节生物体生长、发育和疾病发生过程中有关基因的表达^[2]。大量研究表明, miRNA 在肿瘤细胞中表达水平的异常, 是肿瘤发生、发展的重要影响因素^[3]。

1 miRNA 与肿瘤的关系

miRNA 基因以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在。研究显示, 超过一半的 miRNA 位于肿瘤相关基因组的区域和脆性位点、杂合型丢失区(minimal regions of loss of heterozygosity)、扩增区(minimal region of amplification, minimal amplifications)或断裂点区(common breakpoint region)。提示 miRNA 实际上可作为致癌基因或抑癌基因而发挥作用^[4]。目前, miRNA 已知的功能是在转录后水平调控基因的表达, 主要作为基因表达的负调控因子。大量研究证明, miRNA 与多种肿瘤的存在密切相关, 它的作用靶点可为抑癌基因, 定位于扩增区, 使其表达上调, 则发挥抑癌基因样作用; 其靶点也可为癌基因, 当癌基因 miRNA 表达水平升高时, miRNA 则发挥阻止细胞的恶性转化作用^[5]。

miRNA 与肿瘤相关的证据最早源于染色体 13q14 在慢性淋巴细胞白血病(CLL)中缺失的研究^[6]。Calin 等研究发现, 超过半数的 CLL 病例会发生 13q14 的缺失, 缺失分析表明 miR-15a 和 miR-16-1 是最小共同缺失区域内仅有的两个基因。miR-15a、miR-16-1 的表达模式与 CLL 的生物学特性和临床表现密切相关, 与编码基因的表达谱相比较, miRNA 表达谱可能成为划分肿瘤亚型的更为精确的方法^[7]。

到目前为止, 已经确认与人类肿瘤相关的 miRNA 已有几十余种^[8], 但这种关系的研究一直局限于肿瘤组织与正常组织中, 即 miRNA 被称作基于组织的肿瘤标记物。因为过去的研究显示, miRNA 分子在血液中并不稳定, 因此在血液中进行 miRNA 检测一直无相关报道。直到美国弗雷德哈钦森癌症研

究中心在 2008 年的 Proceedings of the National Academy of Sciences 上发表了一篇名为“Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection”的文章, 文章中提出作为一个细胞不同部分的“刹车”, miRNA 可以调控靶基因的表达, 从而使基因处于控制之中, 这类分子比以蛋白为基础的早期癌症检测系统有明显的优势, 这主要表现在它们更易于检测(用量低), 并且现有的技术更能快速地建立起 miRNA 为基础的早期检测系统^[1]。为了这项研究, Tewari 和他的合作者检测了患有前列腺癌的小鼠及人的血液, 并与正常组作为对照。他们检测了试验组和对照组由肿瘤所产生的 miRNA 分子, 基于对 miRNA 的检测结果, 他们可以区分哪个个体患有癌症。这项研究显示, 此前认为在血液中并不认为可以作为癌症标记分子的 miRNA 分子, 对于早期癌症的诊断可以有重要意义。

人类自身存在的 miRNA 分子也是最近才发现的。Tewari 的研究小组最初研究了这类分子在癌症发生和保持过程中的作用。在这个研究过程中, 他们发现 miRNA 分子在细胞外的循环并且能明显保持稳定。研究人员惊奇地发现在血浆和血清中存在有 miRNA 分子^[8], 并且这种分子独立于细胞之外, 也不能被血液而降解其他 RNA 分子的酶降解。对于这类 miRNA 分子如何抵御 RNA 酶的降解以及它们怎么进入血液, 到目前为止完全是一个谜。

这也导致研究人员进入另外一个新的研究方向, 那就是证明与癌症相关的 miRNA 分子是否能被发现。早期对蠕虫和果蝇等模拟动物的研究显示, 某些 miRNA 分子在某些特异的细胞中有特异的表达而在其他地方则没有^[9]。新研究结果提供了一种理论和实验基础, 将激励全世界的科学家研究利用 miRNA 分子作为分子标记研究各种癌症的发生^[10]。

2 miRNA 与乳腺癌的关系

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 据资料统计, 发病率占全身各种恶性肿瘤的 7%~10%, 在妇女仅次于子宫癌。在女性中, 乳腺癌发病率随着年龄的增长而上升, 在月经初潮前罕见, 20 岁前亦少见, 但 20 岁以后发病率迅速上升, 45~50 岁较高^[11]。乳腺癌很早期时, 临床上毫无症状, 也无肿块, 是