

MicroRNA-34家族在恶性肿瘤中的作用：从基础到临床

井文君¹, 张雪², 于晓鹏², 杨帅², 魏红梅²

¹潍坊医学院临床医学院, 山东 潍坊

²青岛大学附属青岛市中心医院肿瘤综合二科, 山东 青岛

收稿日期: 2023年5月16日; 录用日期: 2023年6月9日; 发布日期: 2023年6月20日

摘要

随着分子生物学技术及临床研究的进展, 发现恶性肿瘤的发生与发展与许多分子通路相关。MicroRNAs (miRNAs) 是一种高度保守的单链内源性非编码RNA, 它是多种恶性肿瘤中一类重要的调节因子, 可以在翻译水平抑制癌基因的表达, 从而抑制恶性肿瘤的产生与发展。miRNAs种类繁多, 其中, microRNA-34家族(miRNA-34s)在多种恶性肿瘤的增殖、侵袭、迁移中发挥重要作用。本文将结合最新基础及临床研究, 探讨miRNA-34s在乳腺癌、肝细胞癌、非小细胞肺癌、胃癌等多种肿瘤中的表达与作用, 以及miRNA-34s对癌症转移相关机制——上皮间质转化(EMT)、癌症干细胞(CSCs)、程序性死亡蛋白-1(PD-L1)的调节方式, 并评估microRNA-34家族作为肿瘤治疗新靶点的潜力。

关键词

恶性肿瘤, MicroRNAs, MiRNA-34, EMT, 癌症干细胞

Role of MicroRNA-34 Family in Malignant Tumors: From Bench to Bedside

Wenjun Jing¹, Xue Zhang², Xiaopeng Yu², Shuai Yang², Hongmei Wei²

¹School of Clinical Medicine, Weifang Medical University, Weifang Shandong

²Second Department of General Oncology, Affiliated Qingdao Central Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: May 16th, 2023; accepted: Jun. 9th, 2023; published: Jun. 20th, 2023

Abstract

With the progress of molecular biology technology and clinical research, it is found that the oc-

urrence and development of malignant tumors are related to many molecular pathways. MicroRNAs (miRNAs) is a highly conserved single-stranded endogenous non-coding RNA, which is an important regulator in a variety of malignancies, and can inhibit the expression of oncogenes at the translational level, thus inhibiting the occurrence and development of malignancies. There are many kinds of miRNAs, among which, the microRNA-34 family (miRNA-34s) plays an important role in the proliferation, invasion, and migration of a variety of malignant tumors. This paper will combine the latest basic and clinical research to explore the expression and role of miRNA-34s in breast cancer, hepatocellular carcinoma, non-small-cell lung cancer, gastric cancer and other cancer, and miRNA-34s to cancer metastasis related mechanism—epithelial-mesenchymal transition (EMT), cancer stem cells (CSCs), programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1) regulation, and evaluate the potential of microRNA-34 family as a new target in tumor treatment.

Keywords

Malignant Tumors, MicroRNAs, MiRNA-34, EMT, Cancer Stem Cells

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

2020年肿瘤在全球新发约1930万例，死亡约995万例；在东亚地区，2020年肿瘤新发约600万，死亡约300万[1][2]，肿瘤发生率、死亡率高，疾病负荷严重。以胃癌(gastric cancer, GC)为例，早期胃癌检出率低[3]，进展期胃癌生存率低且复发率高，胃癌诊疗仍面临巨大挑战。随着分子生物学的进展及临床研究的发展，探索新的生物标志物和治疗靶点对于包括胃癌在内的恶性肿瘤至关重要。恶性肿瘤的发生与发展与许多分子通路相关，其中microRNAs(miRNAs)在拮抗恶性肿瘤的发生、发展、侵袭中发挥重要作用，可以通过抑制致癌基因的过表达，或者增加抑癌基因的表达实现恶性肿瘤的负调控[4]。多个研究证实[5][6]，miRNA-34家族过表达可明显抑制恶性肿瘤的增殖、侵袭和转移等生物学行为。MiRNA-34s有望成为恶性肿瘤治疗的新靶点。本文集中阐述其miRNA-34s在多种恶性肿瘤中作用的相关分子机制，为实现其用于恶性肿瘤精准治疗提供理论依据。

2. MiRNAs的定义与作用

MicroRNAs(miRNAs)是一种高度保守的单链内源性非编码RNA，长度约为22个核苷酸，是调节基因转录后表达的关键因子[7][8]。一般来说，miRNAs与其靶信使RNA(mRNAs)上的3'-非翻译区(UTR)结合，通过引导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)降解mRNA或者阻碍mRNA翻译来调控基因表达；miRNA与其靶mRNA上3'-UTR的互补程度不同，产生的结果也不同；如果miRNA与靶mRNA的3'-UTR完全匹配，则降解mRNA，如果两者序列部分匹配，则抑制靶mRNA的翻译[9][10][11]。既往研究[12][13][14][15]证实，miRNAs通过对癌症相关基因转录后的调控，抑制恶性肿瘤细胞增殖、侵袭及肿瘤血管生成，发挥恶性肿瘤抑制作用。其中，miRNA-34家族作为一类被广泛研究的miRNAs，已有研究[16]显示其在肺腺癌中可以抑制肿瘤的增殖。

2.1. MiRNA-34家族的分类及特点

MiRNA-34家族(miRNA-34s)包括miRNA-34a、miRNA-34b和miRNA-34c三个成员，它们是由两个

不同的基因组位点产生的。MiRNA-34a 位于 1p36 染色体内, miRNA-34b 和 miRNA-34c 位于 11q23 染色体内[17]。MiRNA-34a 在大脑中表达水平最高, 而 miRNA-34b/c 在肺脏中表达水平最高, 在大脑和睾丸中表达水平较低[18]。MiRNA-34a、miRNA-34c 具有相同的种子序列(与靶基因结合的关键序列, 即 miRNA 的 5'端的 2~7 个核苷酸), miRNA-34b 与它们种子序列相似, 但不完全相同; 这也提示 miRNA-34a 和 miRNA-34c 具有相似的 mRNAs 靶点, 而 miRNA-34b 靶点可能与这些靶点略有不同[19]。例如在胃癌中, miRNA-34a 通过负调控存活素(survivin)和 B 细胞淋巴瘤因子 2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)来促进胃癌细胞凋亡; miRNA-34b 靶向 Notch2 和 Notch4; miRNA-34c 靶向 Notch1-4 [18]。

2.2. MiRNA-34 家族在恶性肿瘤中失活

MiRNA-34 是一种重要的肿瘤抑制性 miRNA, 在 DNA 损伤时它被 p53 转录上调。Salzman 等人[20]首次提出细胞中有一池成熟的 miRNA-34, 因 5'端缺乏磷酸基而无活性。在暴露于 DNA 损伤刺激后, 无活性的 miRNA-34 通过 5'端磷酸化迅速被激活, 以抑制其靶基因周期蛋白依赖性激酶 4 (Cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、Bcl-2 的表达来抑制肿瘤的发生发展。Sun 等人[21]研究表明, miRNA-34a 在膀胱癌 (Bladder cancer, BC)细胞尤其肌肉侵袭性膀胱癌细胞中的表达明显下降, miRNA-34a 的表达可以抑制膀胱癌细胞的生存能力和侵袭能力。在结直肠癌 (Colorectal cancer, CRC)和其他一些肿瘤实体中, miRNA-34a 和 miRNA-34b/c 表达的下调以及 CpG 岛(主要位于基因的启动子和外显子区域)的高频率甲基化与肿瘤远处转移和患者低生存率密切相关[22]。MiRNA-34 已被检测到在各种恶性肿瘤中表达异常或者调控异常, 例如 miRNA-34 还在肺腺癌(lung adenocarcinoma, LAC)、肝癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)、骨肉瘤 (osteosarcoma, OSA)、喉鳞状细胞癌(larynx squamous carcinoma, LSCC)及口腔鳞癌(Oral squamous cell carcinoma, OCSS)等肿瘤中被检测到表达减低[14] [23]。值得注意的是, miRNA-34a 和 miRNA-34b/c 的沉默与多种实体瘤的远处转移和患者生存率低相关。

2.2.1. 乳腺癌

几项独立研究[24] [25]证实, miRNA-34a 在乳腺癌(breast cancer, BC)细胞系(如 MDA-MB-231 和 SK-BR-3)和乳腺癌组织中的表达较正常组织显著降低, 临床标本的免疫组化分析显示 miRNA-34a 表达量与临床分期呈负相关, 且在侵袭性乳腺癌细胞系和有淋巴结转移的原发肿瘤中, miRNA-34a 水平明显低于非侵袭性乳腺癌细胞系和无淋巴结转移的原发肿瘤。Zeng 等人[26]的一项关于 173 例三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC)患者的研究表示, TNBC 中 miRNA-34a/34b/34c 的表达显著降低; 其中, miRNA-34a 和 miRNA-34c 低表达提示 OS 更短, 而 miRNA-34c 低表达是预后不良的独立因素。Yang 等人[27]实验表明, 过表达 miRNA-34a 或 miRNA-34c 可抑制乳腺癌细胞体外迁移侵袭和体内远端肺转移, 并进一步证实其通过靶向 Fos-related antigen 1 (Fra-1 or Fos1)癌基因调控乳腺癌的迁移和侵袭。Park 等人[28]实验显示, miRNA-34a 通过直接靶向 Notch1 降低了癌症干细胞的特性, 增加了对阿霉素治疗的敏感性; 裸鼠实验中, 与对照组慢病毒治疗的小鼠相比, 使用 miR34a 治疗的裸小鼠的肿瘤明显较小。

2.2.2. 肝细胞癌

有研究[25]表示, 在 HCC 细胞系(如: Huh7, HepG2 和 SNU475)中 miRNA-34a 较正常肝细胞显著降低。此外, 与相邻的健康组织相比[14], 在 30 个 HCC 肿瘤组织中 miRNA-34a 和 miRNA-34b 含量较低, 同时, 肿瘤组织中 miRNA-34 家族成员的甲基化水平高于相应的非癌组织, 说明 HCC 中 miRNA-34 沉默的原因可能是启动子甲基化。然而, 并不是所有实验结果都完全一致, 一项荟萃分析[23]显示, 5 项关于肝细胞癌中 miRNA-34a 表达的研究, 三个结果均上调, 两项结果为下调。因此, miRNA-34a 在 HCC 中的表达水平和预后价值需要进一步的临床样本分析。

2.2.3. 非小细胞肺癌

Li YL 等人[29]研究表明, miRNA-34a 在非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)细胞系(如 A549, HCC1299, HCC827)和 NSCLC 组织中的表达与正常支气管上皮细胞系 BEAS-2B 及成对正常组织相比显著降低。Kasinski AL 等人[16]研究小鼠肺癌模型显示, 在肺腺癌组织中, miRNA-34a 表达下降, 同时, miRNA-34b/c 的表达量过低, 无法检测到。Zhao K 等人[30]通过研究 196 例 NSCLC 患者血浆和肿瘤组织中 miRNA-34 成员的表达, 发现与低表达的相比, 血浆和肿瘤组织中 miRNA-34a 和 miRNA-34c 的高表达与总生存期和无病生存期的延长相关。上述研究[16] [30] [31]表明, miRNA-34a 和 miRNA-34c 有可能作为 NSCLC 预后潜在的标志物。

2.2.4. 胃癌

Shi 等人[32]研究发现, 与正常胃壁成纤维细胞相比, 胃癌组织和 4 个胃癌细胞株(AGS, AZ521, MKN1 和 NUGC3)中 miRNA-34s 表达明显下降; 4 个胃癌细胞株分别与转染 miRNA-34 模拟物的胃癌组织共培养, 结果显示, 4 个胃癌细胞株的增殖、侵袭能力均受到抑制; 进一步的动物实验表明, miRNA-34 模拟物对胃癌的抑制作用在体内外均存在。Zhou 等人[33]研究证实, 在胃癌中 IGF2BP3 是被 miRNA-34a 调控的一个关键靶点, miRNA-34a 体内外均可通过下调 IGF2BP3 的表达, 达到抑制胃癌作用。这些研究均提示 miRNA-34s 表达与胃癌有较强相关性, 有可能成为胃癌的生物标志物。Zhang 等人[34]研究表明, miRNA-34a 在顺铂耐药的胃癌患者和顺铂耐药的胃癌细胞(SGC7901/DDP)中下调, 上调 miRNA-34a 可以增强 SGC7901/DDP 细胞对顺铂的敏感性, 提示 miRNA-34a 可以调节人胃癌细胞对顺铂的敏感性。由此, miRNAs 不仅可以作为胃癌检测的生物标志物, 还具有化疗增敏作用。

2.3. MiRNA-34 可能促进恶性肿瘤发展

一篇荟萃分析[23]中指出, 16 种癌症中 miRNA-34 成员表达下调, 其中 miRNA-34 表达一致的癌症类型包括胶质瘤、NSCLC 和鼻咽癌; 但是, miRNA-34 在结肠直肠癌、胃癌、HCC 和前列腺癌中表达不一致。以胃癌为例, 在日本进行的 3 项研究和中国的 2 项进行的研究中, miRNA-34a 和 miRNA-34b/c 在胃癌组织中均提示表达上调。miRNA-34 表达在恶性肿瘤中研究结果不一致, 可能与肿瘤微环境有关, 例如是否接受过抗肿瘤治疗、生活环境、习惯等, 与不同的测试方法以及样本量较少也有一定关系[14] [18]。此外, Pu 等人[35]的研究指出, 转染 miRNA-34a 模拟物使骨肉瘤 G-292 细胞产生多种药物耐药性, 对顺铂耐药性增加 1.66 倍, 这主要是通过下调 Delta 样配体 1 (DLL1)基因, 其中 DLL1 是 Notch 通路的配体。Krause 等人[36]证实了 miRNA-34a 的致癌作用, 因为它通过调节卡波西肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)编码的趋化因子受体(vGPCR)来促进基因组不稳定性。根据上述的这些研究, 也提示我们 miRNA-34 除了具有抑制肿瘤的作用外, 还可能促进肿瘤的发生。

2.4. MiRNA-34 家族相关调控基因

MiRNA-34 是通过调控其下游靶基因来调控肿瘤细胞的增殖、侵袭、分化等行为, 目前已明确的 miRNA-34a 的靶点包括 Bcl-2、SIRT1、n-myc、cyclin D1、cyclin E2、CDK4、CDK6、E2F3、Met、Notch1、DLL1、CD44、AXIN2、LEF-1 和 Pdgfr β 。miRNA-34b 或 miRNA-34c 直接抑制 CDK6、CREB、E2F3、Met、c-myc、CAV1、MYB 和 SFRS2 [37]。在这些靶基因中, Bcl2 及其家族成员被认为是细胞凋亡的中心调控因子, Notch 属于一种凋亡抑制基因。研究[24] [38]表明, Notch1 信号通路的激活可以通过环氧酶-2 (COX-2)的作用促进胃癌的进展, miRNA-34 可以减少 Notch 的表达, 进而达到肿瘤抑制作用。除此以外, miRNA-34 的异位表达也被证明通过抑制细胞周期蛋白 D1 和 E2、细胞周期蛋白依赖激酶 4 (CDK4) 和 CDK6 诱导多种癌细胞系的细胞周期停滞(G1 期累积)。并且 miRNA-34a 通过调节 PI3K/AKT 来抑制表

皮生长因子(EGF)诱导的胃癌细胞中表皮生长因子受体(EGFR)磷酸化激活基质金属蛋白酶 7 (MMP7), 从而抑制肿瘤的侵袭和转移[7] [18]。基于上述的内容, miRNA-34 被证明可以抑制恶性肿瘤发生的过程, 并通过细胞周期停滞、抑制增殖、侵袭和转移来抑制恶性肿瘤进展。

2.4.1. MiRNA-34 家族与 p53 的关系

MiRNA-34 家族被确定为抑癌基因 p53 的直接转录靶点; 其表达水平受到 DNA 损伤和致癌应激的显著影响[14]。例如, Bommer 等人[39]用阿霉素处理 Wi38 细胞后, miRNA34b 水平显著升高, 然而, 当用短发夹 RNA (shRNA)抑制 p53 功能后, 使阿霉素无法诱导 miRNA34b 表达升高。此外, 更多实验[18]进一步证明 miRNA-34 为 p53 的下游基因, 受 p53 基因调控。MiRNA-34 家族基因的上游区域包含一个或多个预测的 p53 结合位点, p53 直接结合这些反应元件, 激活 miRNA-34 的表达。miRNA-34 的靶基因, 沉默信息调节因子 a1 (SIRT1)在 p53/miRNA-34 诱导的代谢中也起着关键作用。SIRT1 是一种多方面的 NAD⁺依赖性蛋白质脱乙酰酶, 可将 p53 去乙酰化, 从而抑制其活性。MiRNA-34 抑制 SIRT1 表达, 导致 p53 去乙酰化减少, 因此, SIRT1、p53 和 miRNA-34 形成正反馈回路可以抑制恶性肿瘤的发生发展[40]。一些研究[18] [41] [42]表明可以用小分子 SIRT1 抑制剂用于治疗癌症的, 并且认为单独激活 SIRT1 足以在 p53 突变的人类癌症中诱导肿瘤抑制, 这也为伴 p53 突变恶性肿瘤的治疗提供了新的可能性。

2.4.2. MiRNA-34c 与 IL6/STAT3 通路的关系

白细胞介素 6 (IL-6)是一种参与免疫调节或炎症反应的多功能分子, 且可以触发多种致癌通路, 如肌醇磷脂-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B (AKT)通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)或信号传导及转录激活因子 3 (STAT3) [22]。IL-6 通过其受体激活 IL-6R 传递信号激活 Janus 激酶, Janus 激酶可以激活 STAT3 [43]。STAT3 激活导致 FOSL1/FRA-1 的转录诱导; FOSL1 在结直肠癌(CRC)细胞系中的表达诱导了 EMT 的表达[22]。同时, 激活的 STAT3 可以通过于 miRNA-34a 的第一个内含子结合来抑制 miRNA-34a 的表达, 促进细胞发生 EMT。Shi L 等人[44]研究发现 miRNA-34c 可以直接靶向胃癌细胞中的 IL-6R, 抑制 IL-6R 的表达, 从而减少 IL6/STAT3 通路的激活。由此可知, miRNA-34c 可以抑制胃癌细胞 EMT 的发生。人巨细胞病毒蛋白 UL136 在部分胃癌细胞中就是通过下调 miRNA-34c 来调控 IL6/STAT3 通路的[45]。

2.5. MiRNA-34 家族对 CSCs 的影响

癌症干细胞(CSCs)被认为是驱动恶性肿瘤持续进展的典型细胞, 具有分化能力和较高的自我更新能力, 也被认为是一个慢循环或静止的亚群[46]。细胞表面分子 CD44 被认为是多种恶性肿瘤 CSC 标记物, 包括结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、肝胆管型肝癌、卵巢癌、小肠及头颈部肿瘤[3]。既往有一些研究[19] [47] [48]把上皮细胞粘附分子(EpCAM)和 CD44 作为表面标记物用于 GCSCs 的分离, 证明与其他亚群细胞相比, 分离出的这类细胞具有自我再生能力、多重分化的潜力和更大的耐药性。因此 CSCs 的抑制和杀灭应当是肿瘤治疗的重点, CSCs 标志物的检测也是肿瘤分期分级以及预后判断的依据。

Ji Q 等人[7]发现胃癌细胞系 KatoIII 中前体 miRNA-34a 和成熟 miRNA-34a 的表达水平均明显降低, 他们通过观察恢复 miRNA-34 胃癌细胞在非粘附培养条件下肿瘤球的形成和生长等一系列研究, 得出 miRNA-34 能够抑制 p53 突变的胃癌细胞的肿瘤球的形成和生长, 这意味 miRNA-34 可能在 GCSCs 的自我更新中发挥作用。抑制或杀灭 GCSCs 对肿瘤的治疗至关重要, 但是目前 miRNA-34 对 GCSCs 的作用机制及通路我们尚未明确, 因此, miRNA-34 与 GCSCs 相关性的进一步研究是很有必要的。

2.6. MiRNA-34 与 EMT 的关系

2.6.1. EMT 的定义与特点

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞失去其形态和黏附能力, 获得

间充质表型, 获得细胞迁移和入侵能力。大多数肿瘤细胞可通过 EMT 获得转移和侵袭能力, 导致预后不良, 甚至死亡[14]。发生 EMT 时一些上皮标记物的表达减少, 如 E-钙粘蛋白(E-cadherin)、角蛋白和 α -连环素等, 相反, 一些间充质标记物的表达增多, 如 N-钙粘蛋白、波形蛋白(Vimentin)、纤维连接蛋白和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)等[49]。EMT 过程可被多种细胞外环境变化以及细胞内信号通路激活, 例如缺氧、炎症刺激、Wnt、TGF- β 等; 这些通路激活或者细胞外环境变换会产生相应的效应因子, 如 β -连环素/T 细胞因子(TCF)/淋巴增强因子(LEF) (Wnt 通路)、Smads (TGF- β)、低氧诱导因子 1 α (HIF1 α) (缺氧), 和 NF- κ B、STAT3 (炎症)等; 这些效应因子直接激活 EMT 诱导转录因子(EMT-TFs), 使细胞发生 EMT [9] [22]。

2.6.2. MiRNA-34 与 EMT 的关系

EMT-tfs 对于 EMT 的激活是必需的, miRNA-34s 可以与部分 EMT-tfs 的 3'-UTR 结合, 调控 EMT。例如: Snail 可以与 e-钙粘蛋白启动子的 E-box 序列结合, 抑制 e-钙粘蛋白的表达, 并且促进间充质基因的表达, 如波形蛋白和基质金属蛋白酶 9 (MMP9), 除了调节上皮细胞和间充质相关基因的表达外, 对其他 EMT-TFs 还有积极的作用[14]; miRNA-34 可以通过调节 Snail 的活性, 实现对 EMT 的抑制作用。Helge Siemens 等人[33]的研究表明, 在人结肠癌细胞 SW480 中表达异位 pri-miRNA-34a 导致 E-钙粘蛋白表达升高和波形蛋白表达的降低, 表明 miRNA-34a 可能会抑制肿瘤细胞 EMT 的发生, 从而抑制肿瘤细胞的转移。MiRNA-34 还可以通过抑制 Wnt、肝细胞生长因子(HGF)、肝细胞生长因子酪氨酸激酶受体(c-MET) 等抑制肿瘤细胞的 EMT [18] [22]。

2.7. MiRNA-34 家族与 PD-L1 的联系

MiRNA-34 家族可能通过抑制程序性死亡蛋白-1 (PD-L1)来促进机体对肿瘤的免疫反应[22]。郭雅文等人[50]在对乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 的实验表明 miRNA-34a 的高表达明显抑制 PD-L1 的 mRNA 的表达, 而抑制 miRNA-34a 的表达可导致 PD-L1 的 mRNA 的高表达。证明在 mRNA 水平, miRNA-34a 与 PD-L1 的表达呈负相关, 并证实了 miRNA-34a 可通过靶向 PD-L1 基因的 mRNA 及蛋白的表达来调控细胞的增殖, 迁移和侵袭, 并且该实验结果进一步在大鼠实验中得到验证。Maria 等人[51]实验证明, 在非小细胞肺癌中(NSCLC) miRNA-34a、miRNA-34b 和 miRNA-34c 直接与 PD-L1 的 3'UTR 相互作用来抑制 PD-L1 蛋白的表达; 他们在皮下生长的小鼠模型中进一步实验表明, 常规给药 MRX34 (一种载有 miRNA-34a 模拟物的脂质体纳米粒)后, 肿瘤中 miRNA-34a 水平增高, 同时通过实时定量检测的方法, 发现肿瘤 PD-L1 mRNA 和蛋白水平下调。上述研究得出一致结论, miRNA-34a 在乳腺癌和非小细胞肺癌中可以抑制 PD-L1 基因的 mRNA 及蛋白的表达来调控细胞的增殖, 迁移和侵袭。PD-L1 检查点抑制剂在包括胃癌在内的很多肿瘤的治疗中扮演着重要角色, 目前在胃癌上面尚没有搜索到相关研究, 但 miRNA-34a 作为一种极具潜力的抗肿瘤药物, 值得我们进行深入研究。

2.8. MiRNA-34 家族用于恶性肿瘤的治疗

基于既往 miRNA-34 在基因调控中的靶点研究, miRNA-34 被证明可以作为肿瘤标志物、预后判断指标以及一种潜在的治疗手段。MiRNA-34 在多种肿瘤中表达下调, 如非小细胞肺癌(NSCLC)、神经胶质瘤等[23]。有 miRNA-34 慢病毒转染肺部肿瘤的研究表示: 虽然 miRNA-34 不能在这些动物中减少预先形成的肿瘤的大小, 但它确实阻止了肿瘤的进一步生长。这些数据支持使用 miRNA-34 作为一种肿瘤预防机制, 并提示 miRNA-34 可能有助于使肿瘤对其他常规治疗药物敏感[13]。2008 年的一项体外研究显示: MiRNA-34 的恢复可以使低 miRNA-34 水平、高水平 Bcl-2 的胃癌细胞对阿霉素、顺铂(CDDP)、吉西他滨和多西紫杉醇这四种化疗药物的敏感性高出 2~3 倍; 然而对于高 miRNA-34 水平或者低 Bcl-2 的

胃癌细胞没有化学增敏作用[7]。

MiRNA-34 通过多个靶点、多种通路抑制肿瘤细胞 EMT 的发生以及 CSCs 的自我更新和分化, 并且诱导肿瘤细胞周期停滞; 从而抑制肿瘤的增殖、侵袭、转移[18] [19] [37] [45], 因此 miRNA-34 是肿瘤治疗中绝对的候选药物。MiRNA 治疗是一种精准医疗, 它可以精确到特定位点来控制基因表达。Maria 等人将 MRX34 注射到 NSCLC 的小鼠模型中, 结果显示体内脂质体传递仅有约 30% 的 miRNA-34a 可发挥作用抑制 PD-L1; 此外, 他们进一步证实了 MRX34 联合放疗有效的延迟了 NSCLC 的生长, 其对肿瘤生长的抑制作用大于单用 MRX34 或者放疗[51]。除了动物实验以外, MRX34 也曾作为抗肿瘤药物用于人体。NCT01829971 作为第一个 microRNA 相关药物治疗的临床试验测试, 招募了 85 名肿瘤患者, 包括多种类型实体瘤和血系统恶性肿瘤的患者。由于严重免疫介导毒性作用, miRNA 的首次人体临床试验提前结束, 在 66 名可评估疗效的患者中, 16 名患者的临床 SD (stable disease, SD) \geq 4 个周期, DOR (duration of response, DOR): 19 周。没有 CR (complete remission, CR), 但有 3 名患者被证实为 PR (partial remission, PR), ORR (objective response rate, ORR): 4%。其余 31 例患者以 PD 为最佳反应[52]。这次研究也揭示了预测这类药物的毒性作用的必要性, 特别是免疫介导的事件, 这可能在临床前毒理学模型中和非人灵长类(NHPs)动物模型中看不到的。

3. 结语

尽管随着靶向、免疫等精准治疗时代的到来, 在肿瘤治疗方面迎来突破, 但是我国晚期肿瘤患者生存差, 亟需新的治疗策略改善现状。阐释肿瘤微环境中调控癌细胞增殖、侵袭的信号分子通路及其作用机制, 揭示恶性肿瘤发生、发展过程中调节因子间相互作用有助于为其精准诊疗提供理论基础和分子靶标。恶性肿瘤预后不良主要归因与侵袭和转移, 肿瘤干细胞及 EMT 相关蛋白如: snail 蛋白、E-cadherin 等均参与恶性肿瘤侵袭和转移的发生。MiRNA-34s 作为肿瘤相关 EMT 的负调控因子, 在抑制肿瘤发生和延缓肿瘤进展中发挥着相当大的作用, 其中, miRNA-34a 作为一种良好的肿瘤抑制因子, 在恶性肿瘤治疗方面有巨大潜力。NCT01829971 临床试验第一次将 miRNA34a 用于多种人体恶性肿瘤治疗, 证实 miRNA34a 在恶性肿瘤治疗中的疗效, 但由于严重的免疫反应, 该试验提前终止。MiRNA-34s 的上下游机制仍不清楚, 为了确保以 miRNA-34s 为基础的抗恶性肿瘤药物的安全性、有效性和不良反应可控性, 更深一步了解 miRNA-34s 在恶性肿瘤中的作用分子与通路非常必要, 有利于更精确地预测或控制其在诊疗时可能出现的毒副作用。最后, miRNA-34s 重要的调节特质, 使其成为抗肿瘤治疗的理想靶点, 未来具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] WHO. China Globocan, 2020. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/160-china-fact-sheets.pdf>
- [2] WHO. Globocan, 2020. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>
- [3] Liu, R., Zhang, C., Hu, Z., et al. (2011) A Five-microRNA Signature Identified from Genome-Wide Serum microRNA Expression Profiling Serves as a Fingerprint for Gastric Cancer Diagnosis. *European Journal of Cancer*, **47**, 784-791. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.10.025>
- [4] Liu, G., Jiang, C., Li, D., et al. (2014) MiRNA-34a Inhibits EGFR-Signaling-Dependent MMP7 Activation in Gastric Cancer. *Tumor Biology*, **35**, 9801-9806. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2273-6>
- [5] Bonetti, P., Climent, M., Panebianco, F., et al. (2019) Dual Role for miR-34a in the Control of Early Progenitor Proliferation and Commitment in the Mammary Gland and in Breast Cancer. *Oncogene*, **38**, 360-374. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0445-3>
- [6] Shen, Z., Zhan, G., Ye, D., et al. (2012) MicroRNA-34a Affects the Occurrence of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma by Targeting the Antiapoptotic Gene Survivin. *Medical Oncology*, **29**, 2473-2480. <https://doi.org/10.1007/s12032-011-0156-x>

- [7] Ji, Q., Hao, X., Meng, Y., *et al.* (2008) Restoration of Tumor Suppressor miRNA-34 Inhibits Human p53-Mutant Gastric Cancer Tumorspheres. *BMC Cancer*, **8**, Article No. 266. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-266>
- [8] Kim, C.H., Kim, H.K., Rettig, R.L., *et al.* (2011) miRNA Signature Associated with Outcome of Gastric Cancer Patients Following Chemotherapy. *BMC Medical Genomics*, **4**, Article No. 79. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-4-79>
- [9] Bartel, D.P. (2004) MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, **116**, 281-297. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)
- [10] He, L. and Hannon, G.J. (2004) MicroRNAs: Small RNAs with a Big Role in Gene Regulation. *Nature Reviews Genetics*, **5**, 522-531. <https://doi.org/10.1038/nrg1379>
- [11] Miska, E.A. (2005) How microRNAs Control Cell Division, Differentiation and Death. *Current Opinion in Genetics & Development*, **15**, 563-568. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2005.08.005>
- [12] Bartel, D.P. (2009) MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*, **136**, 215-233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>
- [13] Pasquinelli, A.E. (2012) MicroRNAs and Their Targets: Recognition, Regulation and an Emerging Reciprocal Relationship. *Nature Reviews Genetics*, **13**, 271-282. <https://doi.org/10.1038/nrg3162>
- [14] Zhang, L., Liao, Y. and Tang, L. (2019) MicroRNA-34 Family: A Potential Tumor Suppressor and Therapeutic Candidate in Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **38**, Article No. 53. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1059-5>
- [15] Hayes, J., Peruzzi, P.P. and Lawler, S. (2014) MicroRNAs in Cancer: Biomarkers, Functions and Therapy. *Trends in Molecular Medicine*, **20**, 460-469. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.06.005>
- [16] Kasinski, A.L. and Slack, F.J. (2012) miRNA-34 Prevents Cancer Initiation and Progression in a Therapeutically Resistant K-ras and p53-Induced Mouse Model of Lung Adenocarcinoma. *Cancer Research*, **72**, 5576-5587. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2001>
- [17] Jafari, N. and Abediankenari, S. (2017) MicroRNA-34 Dysregulation in Gastric Cancer and Gastric Cancer Stem Cell. *Tumor Biology*, **39**. <https://doi.org/10.1177/1010428317701652>
- [18] Xiong, S., Hu, M., Li, C., Zhou, X. and Chen, H. (2019) Role of miR-34 in Gastric Cancer: From Bench to Bedside (Review). *Oncology Reports*, **42**, 1635-1646. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7280>
- [19] Rokavec, M., Li, H., Jiang, L. and Hermeking, H. (2014) The p53/miRNA-34 Axis in Development and Disease. *Journal of Molecular Cell Biology*, **6**, 214-230. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mju003>
- [20] Salzman, D.W., Nakamura, K., Nallur, S., *et al.* (2016) miRNA-34 Activity Is Modulated through 5'-End Phosphorylation in Response to DNA Damage. *Nature Communications*, **7**, Article No. 10954. <https://doi.org/10.1038/ncomms10954>
- [21] Sun, H., Tian, J., Xian, W., Xie, T. and Yang, X. (2015) miRNA-34a Inhibits Proliferation and Invasion of Bladder Cancer Cells by Targeting Orphan Nuclear Receptor HNF4G. *Disease Markers*, **2015**, Article ID: 879254. <https://doi.org/10.1155/2015/879254>
- [22] Kaller, M. and Hermeking, H. (2016) Interplay between Transcription Factors and MicroRNAs Regulating Epithelial-Mesenchymal Transitions in Colorectal Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **937**, 71-92. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42059-2_4
- [23] Wang, L., Yu, J., Xu, J., Zheng, C., Li, X. and Du, J. (2015) The Analysis of microRNA-34 Family Expression in Human Cancer Studies Comparing Cancer Tissues with Corresponding Pericarcinoma Tissues. *Gene*, **554**, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.10.032>
- [24] Brzozowa, M., Mielańczyk, L., Michalski, M., *et al.* (2013) Role of Notch Signaling Pathway in Gastric Cancer Pathogenesis. *Contemporary Oncology (Pozn)*, **17**, 1-5. <https://doi.org/10.5114/wo.2013.33765>
- [25] Li, S., Wei, X., He, J., *et al.* (2021) The Comprehensive Landscape of miR-34a in Cancer Research. *Cancer and Metastasis Reviews*, **40**, 925-948. <https://doi.org/10.1007/s10555-021-09973-3>
- [26] Zeng, Z., Chen, X., Zhu, D., Luo, Z. and Yang, M. (2017) Low Expression of Circulating MicroRNA-34c Is Associated with Poor Prognosis in Triple-Negative Breast Cancer. *Yonsei Medical Journal*, **58**, 697-702. <https://doi.org/10.3349/ymj.2017.58.4.697>
- [27] Yang, S., Li, Y., Gao, J., *et al.* (2013) MicroRNA-34 Suppresses Breast Cancer Invasion and Metastasis by Directly Targeting Fra-1. *Oncogene*, **32**, 4294-4303. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.432>
- [28] Park, E.Y., Chang, E., Lee, E.J., *et al.* (2014) Targeting of miR34a-NOTCH1 Axis Reduced Breast Cancer Stemness and Chemoresistance. *Cancer Research*, **74**, 7573-7582. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-1140>
- [29] Li, Y.L., Liu, X.M., Zhang, C.Y., *et al.* (2017) MicroRNA-34a/EGFR Axis Plays Pivotal Roles in Lung Tumorigenesis. *Oncogenesis*, **6**, e372. <https://doi.org/10.1038/oncsis.2017.50>

- [30] Zhao, K., Cheng, J., Chen, B., Liu, Q., Xu, D. and Zhang, Y. (2017) Circulating microRNA-34 Family Low Expression Correlates with Poor Prognosis in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Disease*, **9**, 3735-3746. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.09.01>
- [31] Takaishi, S., Okumura, T., Tu, S., et al. (2009) Identification of Gastric Cancer Stem Cells Using the Cell Surface Marker CD44. *Stem Cells*, **27**, 1006-1020. <https://doi.org/10.1002/stem.30>
- [32] Shi, L., Wang, Z., Geng, X., Zhang, Y. and Xue, Z. (2020) Exosomal miRNA-34 from Cancer-Associated Fibroblasts Inhibits Growth and Invasion of Gastric Cancer Cells *in Vitro* and *in Vivo*. *Aging (Albany NY)*, **12**, 8549-8564. <https://doi.org/10.18632/aging.103157>
- [33] Zhou, Y., Huang, T., Siu, H.L., et al. (2017) IGF2BP3 Functions as a Potential Oncogene and Is a Crucial Target of miR-34a in Gastric Carcinogenesis. *Molecular Cancer*, **16**, Article No. 77. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0647-2>
- [34] Zhang, Z., Kong, Y., Yang, W., et al. (2016) Upregulation of microRNA-34a Enhances the DDP Sensitivity of Gastric Cancer Cells by Modulating Proliferation and Apoptosis via Targeting MET. *Oncology Reports*, **36**, 2391-2397. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5016>
- [35] Pu, Y., Zhao, F., Wang, H. and Cai, S. (2017) miRNA-34a-5p Promotes Multi-Chemoresistance of Osteosarcoma through Down-Regulation of the DLL1 Gene. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 44218. <https://doi.org/10.1038/srep44218>
- [36] Krause, C.J., Popp, O., Thirunarayanan, N., Dittmar, G., Lipp, M. and Müller, G. (2016) MicroRNA-34a Promotes Genomic Instability by a Broad Suppression of Genome Maintenance Mechanisms Downstream of the Oncogene KSHV-vGPCR. *Oncotarget*, **7**, 10414-10432. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7248>
- [37] Wang, A.M., Huang, T.T., Hsu, K.W., et al. (2014) Yin Yang 1 Is a Target of microRNA-34 Family and Contributes to Gastric Carcinogenesis. *Oncotarget*, **5**, 5002-5016. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2073>
- [38] Murata, H., Kawano, S., Tsuji, S., et al. (1999) Cyclooxygenase-2 Overexpression Enhances Lymphatic Invasion and Metastasis in Human Gastric Carcinoma. *The American Journal of Gastroenterology*, **94**, 451-455. https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.876_e.x
- [39] Bommer, G.T., Gerin, I., Feng, Y., et al. (2007) p53-Mediated Activation of miRNA34 Candidate Tumor-Suppressor Genes. *Current Biology*, **17**, 1298-1307. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.068>
- [40] Zhang, D.G., Zheng, J.N. and Pei, D.S. (2014) P53/microRNA-34-Induced Metabolic Regulation: New Opportunities in Anticancer Therapy. *Molecular Cancer*, **13**, Article No. 115. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-115>
- [41] Yamakuchi, M. and Lowenstein, C.J. (2009) miRNA-34, SIRT1 and p53: The Feedback Loop. *Cell Cycle*, **8**, 712-715. <https://doi.org/10.4161/cc.8.5.7753>
- [42] Yamakuchi, M., Ferlito, M. and Lowenstein, C.J. (2008) miRNA-34a Repression of SIRT1 Regulates Apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 13421-13426. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801613105>
- [43] Soutto, M., Chen, Z., Bhat, A.A., et al. (2019) Activation of STAT3 Signaling Is Mediated by TFF1 Silencing in Gastric Neoplasia. *Nature Communications*, **10**, Article No. 3039. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11011-4>
- [44] Rokavec, M., Öner, M.G., Li, H., et al. (2014) IL-6R/STAT3/miR-34a Feedback Loop Promotes EMT-Mediated Colorectal Cancer Invasion and Metastasis. *Journal of Clinical Investigation*, **124**, 1853-1867. <https://doi.org/10.1172/JCI73531>
- [45] Shi, L., Fan, B., Chen, D., et al. (2020) Human Cytomegalovirus Protein UL136 Activates the IL-6/STAT3 Signal through miRNA-138 and miRNA-34c in Gastric Cancer Cells. *International Journal of Clinical Oncology*, **25**, 1936-1944. <https://doi.org/10.1007/s10147-020-01749-z>
- [46] Chen, Q.Y., Des Marais, T. and Costa, M. (2019) Deregulation of SATB2 in Carcinogenesis with Emphasis on miRNA-Mediated Control. *Carcinogenesis*, **40**, 393-402. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgz020>
- [47] Lau, W.M., Teng, E., Chong, H.S., et al. (2014) CD44v8-10 Is a Cancer-Specific Marker for Gastric Cancer Stem Cells. *Cancer Research*, **74**, 2630-2641. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2309>
- [48] Wu, Q., Yang, Z., Wang, F., et al. (2013) miRNA-19b/20a/92a Regulates the Self-Renewal and Proliferation of Gastric Cancer Stem Cells. *Journal of Cell Science*, **126**, 4220-4229. <https://doi.org/10.1242/jcs.127944>
- [49] 赵丽丽, 赵文文, 冯青青, 赵文飞, 张雪, 井文君, 魏红梅. 沉默 PD-L1 表达对胃癌细胞生物学行为的影响[J]. 国际肿瘤学杂志, 2021, 48(12): 705-710. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn371439-20210813-00140>
- [50] 郭雅文. PD-L1 在乳腺癌患者预后中的诊断价值及 miRNA-34a 对其调控机制的研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2017.
- [51] Cortez, M.A., Ivan, C., Valdecanas, D., et al. (2015) PDL1 Regulation by p53 via miRNA-34. *Journal of the National Cancer Institute*, **108**, djv303. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv303>

-
- [52] Hong, D.S., Kang, Y.K., Borad, M., *et al.* (2020) Phase 1 Study of MRX34, a Liposomal miRNA-34a Mimic, in Patients with Advanced Solid Tumours. *British Journal of Cancer*, **122**, 1630-1637.
<https://doi.org/10.1038/s41416-020-0802-1>