

microRNA 在甲状腺癌中的研究进展*

李安妮¹ 鲁明骞^{1△}

[关键词] 甲状腺肿瘤;microRNA;进展

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.05.021

[中图分类号] R739.6 [文献标志码] A

Research progress of microRNA in thyroid cancer

Summary microRNA (miRNA) is a kind of endogenous non-coding single-stranded molecule RNA. The generation process is associated with the production of small interfering RNAs. In recent years, it has been found that different miRNA express in different pathological types of thyroid cancer both at home and abroad, suggesting that many miRNAs may play important roles in occurrence, development, invasion and migration of thyroid cancer, which can be new opportunities in diagnosis, treatment and prognosis of thyroid cancer. In this paper, we will review the recent advances in the study of the relationship between microRNA and thyroid cancer.

Key words thyroidcarcinoma; microRNA; progress

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤,在全球范围内其发病率呈逐年上升趋势,已受到医务工作者的广泛关注。目前其病因仍不十分清楚,已有研究报道甲状腺癌的发病受性别、年龄、地域、种族差异等多种因素的影响,其病因主要包括:电离辐射、碘摄取过多或过少、遗传因素等。甲状腺癌来源于甲状腺滤泡细胞和滤泡旁 C 细胞 2 种,来源于滤泡细胞按其癌细胞分化程度分为分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinomas, DTC),低分化甲状腺癌和未分化癌(anaplastic thyroid carcinomas, ATC)。其中 DTC 又分为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)和甲状腺滤泡状癌(follicular thyroid carcinoma, FTC),PTC 约占整个甲状腺癌的 88%,FTC 约占甲状腺癌的 9%^[1]。来源于滤泡旁 C 细胞的又称为甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma, MTC),占甲状腺癌的 5%~10%。由于甲状腺癌起病较隐匿、病情进展缓慢,而且临床表现与甲状腺良性疾病无明显区别,主要以甲状腺包块为主,因此易误诊或漏诊,从而导致治疗不及时。

1 microRNA 概述

1.1 microRNA 的生物合成及其作用机制

microRNA(miRNA)广泛存在于真核细胞中,是近年新发现的长度为 20~25 个核苷酸的内源性非编码小分子 RNA,在同一个 miRNA 中有 2 条部分互补的双链,根据 miRNA 在前体 pre-miRNA 上的位置将 2 条双链命名为 5p 和 3p,分别与不同的 mRNA 结合从而发挥着不同的生物功能。Am-

bros^[2]在早期研究中发现异源基因 lin-4、lin-14、lin-28 和 lin-29 可以控制秀丽隐杆线虫中特定胚胎发育事件的时间,是 miRNA 研究的开端。目前已发现成熟 miRNA 达 1 300 余种^[3],参与细胞的增殖、分化、代谢、凋亡、细胞周期、免疫应答、造血、器官形成、肿瘤发生及发展等多个生物学过程。miRNA 编码基因首先在细胞核内由 RNA 聚合酶 II 转录为初级转录体(pri-miRNA),经 Drosha-DGCR8 复合体剪切成 80~100 个核苷酸组成的 miRNA 前体(pre-miRNA)^[4-5],后者通过受体 exportin-5 介导进入细胞质^[6],由核酸内切酶 Dicer 剪切,形成 21~23 个核苷酸组成的双链的成熟 miRNA^[7-8]。成熟 miRNA 经过链选择和分离,一条单链被降解,另一条单链与 Argonaute 家族蛋白在胞质中结合形成 miRNA 诱导的沉默复合物(miRISC)^[9],后者与靶基因 miRNA 的 3'非编码区(3' untranslated region, UTR)miRNA 识别元件(miRNA-recognition element, mREs)完全或部分互补结合。最近研究表明,miRNA 也与目标 miRNA 的 5'UTR 以及开放阅读框(ORF)结合^[10-11],介导转录后水平的基因沉默,抑制靶基因 miRNA 翻译以及促进 miRNA 的降解而抑制靶基因表达^[12],在基因表达负调控的过程中起着重要作用。miRNA 除了具有高度的保守性,在动物、植物、真菌中只在特定的组织和发育阶段表达。

1.2 miRNA 在甲状腺癌中的表达

miRNA 在多种恶性肿瘤的发生和发展中起着非常重要的作用^[13-17]。众多研究发现 miRNA 与甲状腺癌密切相关,但不同的 miRNA 其表达各有差异,如 miRNA-21/31/25/183/187/155/224/595/584/146-5p/221-3p/222-3p/let-7b 在甲状腺癌中呈高度表达,而 miRNA-200s/7/126/29a/137/206/101/613/539/205/9/195/199a/204/218/300 的表

* 基金项目:湖北省教育厅重点项目(No:D20141205)

¹ 三峡大学第一临床医学院肿瘤防治中心 宜昌市中心人民医院肿瘤科(湖北宜昌,443000)

[△] 审校者

通信作者:鲁明骞,E-mail:lumingqian001@163.com

达却下调。已有多项研究发现 PTC 癌组织中 miRNA-221、miRNA-222、miRNA-181、miRNA-187 及 miRNA-146b 的表达明显高于癌旁正常组织,且在已发生转移浸润的组织中表达更高^[18]。其中 miRNA-221、miRNA-222 和 miRNA-187 在 FTC 中也发生高表达,在 FTC 中高表达的还有 miRNA-197、miRNA-328 及 miRNA-346。甲状腺未分化癌(ATC)中 miRNA 以 miRNA-30d、miRNA-30a-5p、miRNA-26 和 miRNA-152 低表达为主,也存在 miRNA-302c 与 miRNA-187 等高表达,且 miRNA-302c 可较正常组织高 114.2 倍。Nikiforova 等^[19]研究发现 miRNA-10a、miRNA-129、miRNA-183 和 miRNA-375 等在甲状腺癌髓样癌与滤泡上皮组织来源的肿瘤中高表达。提示了 miRNA 表达谱可以应用于临床肿瘤的早期诊断、治疗、侵袭转移以及预后评估等方面。

2 miRNA-221/222 与甲状腺癌

miRNA-221/222 参与体内多种生理病理过程,如血细胞及血管的生成、乳腺的发育与泌乳、甲状腺癌、胃癌、宫颈癌、前列腺癌、乳腺癌和胰腺癌的发生和发展等。Tan 等^[20]通过使用选择性抑制 myomiRs,包括 miRNA-1、miRNA-133a 和 miRNA-206 的小分子探针揭示了 miRNA-221/222-myod-myomiRs 调节机制,过表达或敲低 miRNA-221/222 在肌肉细胞中分别导致抑制或增强 myoD 蛋白表达,从而导致表达的下调或上调,从而预测致癌性 miRNA-221/222 的作用靶点为 myoD 30 UTR 的位置为 383~389。Suresh 等^[21]研究发现 miRNA-221 和 miRNA-222 可能通过下调基质金属蛋白酶抑制剂从而促进癌细胞转移。生物信息学分析提出 p27(Kip1)蛋白是细胞周期的关键性调控因子,已经证实为 miRNA-221/222 靶基因,p27Kip1 是 Cip/Kip 系列的成员,后者还包括 p21Cip1 和 p57Kip2,Cip/Kip 家族与 INK4 蛋白(p16INK4a、p15INK4b、p18INK4c 和 p19INK4d)一起属于细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制剂。为了验证 miRNA-221/222 对 p27Kip1 的影响,Visone 等^[22]将 miRNA-221 和/或 miRNA-222 或其抑制剂转染为 20-O-Me-221 和/或 20-O-Me-222 转入 TPC-1 甲状腺乳头状癌细胞和 HeLa 细胞,通过蛋白质印迹分析检索 p27Kip1 蛋白水平的变化,发现 miRNA-221 和 miRNA-222 的过度表达能够降低甲状腺癌和 HeLa 细胞中的 p27(Kip1)蛋白水平。

3 miRNA-146 与甲状腺癌

miRNA-146 家族包括 miRNA-146a 和 miRNA-146b,其分别定位于人类第 5 和第 10 染色体,具有高度的保守性和同源性。外源性 miRNA-146a 可靶向抑制 ϵ 型蛋白激酶 C(protein kinase C

epsilon ϵ , PKC ϵ) 的表达,并且能够促进肿瘤细胞的增殖和凋亡^[23]。Sheu 等^[24]采用免疫组织化学方法研究表明 PTC 中 miRNA-146b 的表达水平明显高于结节性甲状腺肿或滤泡性腺瘤组织中的表达。miRNA-146b 抗肿瘤的作用机制可能是通过介导甲状腺癌 TPC-1 细胞进入 S 期,细胞被阻滞于 G0 期,从而促进癌细胞的增殖^[25]。miRNA-146b-5p 是 miRNA-146b 家族的成员之一,定位于人类染色体中 10q24-26,能够在血浆中稳定存在,其表达与组织中的表达结果一致^[26]。miRNA-146b 可与 ZNRF3 通过调节 Wnt/ β -蛋白信号通路,能诱导甲状腺癌细胞的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),也可以通过降低 SMAD4 水平来阻断 TGF- β 信号通路,从而导致肿瘤上皮-间质转化,促进 PTC 的侵袭和转移^[27]。EMT 是癌细胞侵袭转移的重要机制之一,高侵袭性贴壁肿瘤细胞呈现间质表型,能够更快地迁移,降解细胞外基质。通常情况下这些细胞为了迁移,在细胞前方极化并形成富含支化肌动蛋白丝并且缺少细胞器的大的膜突起。建立了对细胞外基质的新粘连,其中一些成熟的成为肌动蛋白细胞骨架的锚定结,能够破坏肌动蛋白骨架与 E-钙黏蛋白、 β 连环素组成的复合物连接形成的紧密稳定的细胞间黏附。Lv 等^[28]指出,miRNA-146b-5p 在 PTC 中的高表达与高风险中 PTC 的 BRAF 基因突变有关。在人乳头状甲状腺癌(PTCs)中,约 70% 的病例发现 RET/PTC3、NTRK、RAS 或 BRAF 的突变,组成了 RET-RAS-BRAF-MAPK 信号传导通路。约 90% 的 PTC 有胸腺嘧啶腺嘌呤(T1799A)点突变,导致编码的 B 型丝氨酸/苏氨酸激酶 Raf 激酶(BRAF)的缬氨酸(V)被谷氨酸(E)所替代(V600E),使 V600E 突变体可以不依赖于 RAS 而活化,从而激活了 MAPK 信号传导通路^[29]。研究表明 BRAF 基因单核苷酸多态性(SNP)与多种恶性肿瘤易感性有关,如尤文肉瘤、卵巢癌、结肠癌、恶性黑色素瘤等。Oler 等^[30]发现 BRAF 基因突变在甲状腺乳头状癌中突变率较高(30%~83%)。Huang 等^[31]对 69 例 PTC 及其周围正常甲状腺组织研究发现,BRAF(V600E)的突变率为 47.8%,在 12 种 miRNA 表达上调和 6 种 miRNA 表达下调中,BRAF 基因突变与 miRNA-21 和 miRNA-203 的表达失调关系密切,BRAF 突变和 miRNA-21 过表达与 PTC 高侵袭性和转移密切相关。Geraldo 等^[32]证明 RET/PTC3 和 BRAF 的激活上调 miRNA-146b-5p 表达,BRAF-miRNA 调控的发现为理解 PTC 生物学开辟了新的视角。SNP 是当前 PTC 研究的一个新方向。Yip 等^[33]研究发现,microRNA-146b(miRNA-146b)的失调与 BRAF 阳性临床 PTC 标本中的侵袭性肿瘤行

为显著相关。BRAF 突变患者的 miRNA-146b 表达水平高于 BRAF 野生型患者^[34]。miRNA-146b-5p 还可通过 SMAD4 与 TGF- β 信号通路导致 EMT,其机制可能是降低细胞对 TGF- β 的反应性,干扰 TGF- β 信号转导,从而影响甲状腺滤泡细胞的异常生长的负调节,引起癌变^[32]。也有人提出 BRAF V600E 可能是通过激活 NF κ B 途径,促进 miRNA-221 的表达从而增加细胞异常增殖的。

4 其他相关 miRNA

miRNA-10b 位于 2 号染色体短臂 3 区 1 带 HOXD4 与 HOXD8 基因之间,研究发现 miRNA-10b 可能对肿瘤的发生、侵袭有着非常重要的作用,在使用 miRNA 阻断剂对 miRNA-10b 进行阻断后,会抑制肿瘤侵袭转移^[35]。Jin 等^[36]用免疫组织化学方法测定 miRNA-10b 在甲状腺癌组织中的表达,发现 miRNA-10b 在甲状腺癌组织中呈高表达,因此被认为是甲状腺癌侵袭和转移的重要启动因子。

5 结论

总之,随着对 miRNA 研究的不断深入,其作用机制正在被人们所了解并逐渐阐明。近年在甲状腺癌研究领域,已有大量甲状腺癌相关的 miRNA 被研究和鉴定,miRNA 的差异表达有望成为肿瘤标记物,在甲状腺癌分型、分期以及有无侵袭或转移等方面具有巨大潜力,希望未来对于 miRNA 的了解能对更为个体化的治疗及开发新型治疗方法产生巨大突破。但是,miRNA 是通过哪条通路来实现对甲状腺癌的调控,其机制目前还未被充分认识^[37]。随着分子生物学的不断发展,人们将会对 miRNA 的认识更加深入,miRNA 将会在甲状腺癌的诊断、治疗和预后中发挥非常重要的作用。同时,miRNA 在甲状腺癌中发挥作用的具体结构如何^[38],其意义与甲状腺中 miRNA 的确切变化的关系怎样等问题还有待解决,因此限制了其在临床上的应用。

参考文献

[1] 陈爱民,骆献阳. 分化型甲状腺癌侵犯喉气管食管临床分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,31(10):802-803.

[2] AMBROS V. A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in *C. Elegans* [J]. Cell,1989,57:49-57.

[3] PALLANTE P, BATTISTA S, PIERANTONI G M, et al. Deregulation of microRNA expression in thyroid Neoplasias[J]. Nature Rev Endocrinol,2014,10:88-101.

[4] LEE Y, AHN C, HAN J, et al. The nuclear RNase III drosha initiates micro RNA processing [J]. Nature,2003,42:415-419.

[5] DENLI A M, TOPS B B, PLASTERK R H, et al.

Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex[J]. Nature,2004,432:231-235.

[6] BOHNSACK M T, CZAPLINSKI K, GORLICH D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs [J]. RAN,2004,10:185-191.

[7] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell,2004,116:281-297.

[8] BERNSTEIN E, CAUDY A A, HAMMOND S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step for RNA interference [J]. Nature,2001,409:363-366.

[9] KHVOROVA A, REYNOLDS A, JAYASENA S D, et al. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias [J]. Cell,2003,115:209-216.

[10] ØROM U A, NIELSEN F C, LUND A H. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation [J]. Molecular Cell,2008,30:460-471.

[11] QIN W, SHI Y, ZHAO B, et al. miR-24 regulates apoptosis by targeting the open reading frame (ORF) region of FAF1 in cancer cells [J]. PLoS One,2010,5:e9429.

[12] BARTEL D. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. Cell,2009,136:215-233.

[13] DILLHOFF M, LIU J, FRANKEL W, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in pancreatic cancer and a potential predictor of survival [J]. Gastrointest Surg,2008,12:2171-2176.

[14] 周亚丽,郭向华,邵莉,等. 内风湿性关节炎患者外周血单核细胞中 miR-146a 及 miR-155 的表达变化 [J]. 山东医药,2016,56(1):77-79.

[15] 曾长青,黄良祥,郑羽. miR-146a 在结肠癌中的表达及意义 [J]. 南方医科大学学报,2014,34(3):396-400.

[16] 迟庆霞,王彦刚,赵文娟,等. 甲状腺乳头状癌组织及外周血中 miR-146a 含量变化 [J]. 中华内分泌外科杂志,2013,7(1):56-59.

[17] 关善斌,黄新若,李加伟,等. miRNA-203 在甲状腺乳头状癌中的表达及其对 WRO 细胞增殖能力的影响 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2016,30(22):1769-1773.

[18] PALLANTE P, VISIONE R, CROCE C M, et al. Deregulation of microRNA expression in follicular-cell-derived human thyroid carcinomas [J]. Endocr Relat Cancer,2010,17:91-104.

[19] NIKIFOROVA M N, TSENG G C, STEWARD D, et al. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility [J]. Clin Endocrinol Metab,2008,93:1600-1608.

[20] TAN S B, LI J, CHEN X, et al. Small molecule inhibitor of myogenic microRNAs leads to a discovery of miR-221/222-myod-myomiRs regulatory pathway

- [J]. *Chemis Boil*, 2014, 21: 1265—1270.
- [21] SURESH R, SETHI S, ALI S, et al. Differential expression of microRNAs in papillary thyroid carcinoma and their role in racial disparity[J]. *Cancer Sci Ther*, 2015, 7: 145—154.
- [22] VISIONE R, RUSSO L, PALLANTE P, et al. MicroRNAs (miR)-221 and miR-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27Kip1 protein levels and cell cycle[J]. *Endocrinol Cancer*, 2007, 14: 791—798.
- [23] ZHANG X, LI D, LI M, et al. MicroRNA-146a targets PRKCE to modulate papillary thyroid tumor development[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134: 257—267.
- [24] SHEU S Y, GRABELLUS F, SCHWERTHEIM S, et al. Differential miRNA expression profiles in variants of papillary thyroid carcinoma and encapsulated follicular thyroid tumours[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102: 376—382.
- [25] XU J, ZHANG D, NIU Q, et al. Value of distinguishing differentiated thyroid carcinoma by miRNA[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12: 79—82.
- [26] 陈晓红. 甲状腺髓样癌的治疗策略[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30(21): 1667—1671.
- [27] DENG X, WU B, XIAO K, et al. MiR-146b-5p promotes metastasis and induces epithelial-mesenchymal transition in thyroid cancer by targeting ZNRF3[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35: 71—82.
- [28] LV M, ZHANG X, LI M, et al. miR-26a and its target CKS2 modulate cell growth and tumorigenesis of papillary thyroid carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e67591.
- [29] HILGER R A, SCHEULEN M E, STRUMBERG D. The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of Cancer[J]. *Onkologie*, 2002, 25: 511—518.
- [30] OLER G, EBINA KN, JR M P, et al. Investigation of BRAF mutation in a series of papillary thyroid carcinoma and matched-lymph node metastasis reveals a new mutation in metastasis [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2005, 62: 509—511.
- [31] HUANG Y, LIAO D, PAN L, et al. Expressions of miRNAs in papillary thyroid carcinoma and their associations with the BRAFV600E mutation[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 168: 675—681.
- [32] GERALDO M V, YAMASHITA A S, KIMURA E T. MicroRNA miR-146b-5p regulates signal transduction of TGF- β by repressing SMAD4 in thyroid cancer [J]. *Oncogene*, 2012, 31: 1910—1922.
- [33] YIP L, KELLY L, SHUAI Y, et al. MicroRNA signature distinguishes the degree of aggressiveness of papillary thyroid carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18: 2035—2041.
- [34] CHOU C K, CHEN R F, CHOU F F, et al. miR-146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAF(V600E) Mutation[J]. *Thyroid*, 2010, 20: 489—494.
- [35] MA L, REINHARDT F, PAN E, et al. Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 341—347.
- [36] JIN H, YU Y, CHRISLER W B, et al. Delivery of micro RNA-10b with polylysine nanoparticles for inhibition of breast cancer cell wound healing[J]. *Breast Cancer*, 2011, 6: 9—19.
- [37] 彭永华, 杨文飞, 卢绍伟, 等. miRNA 在喉癌中作用机制的研究进展[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31(14): 1134—1139.
- [38] 李寅辉, 樊勇. MicroRNA 与甲状腺癌的关系[J]. *医学综述*, 2014, 20(10): 1732—1734.

(收稿日期: 2017-06-15)