

antiepilepsy drug withdrawal in children with brain tumors. *Epilepsia*, 2006, 47 (2): 375-379.

- [21] Jeremic B, Bamberg M. Radiation therapy for incompletely resected supratentorial low-grade glioma in adults. *J Neurooncol*, 2001, 55 (2): 101-112.
- [22] Nicolato A, Gerosa MA, Fina P, et al. Prognostic factors in low-grade supratentorial astrocytomas: a uni-multivariate statistical analysis in 76 surgically treated adult patients. *Surg Neurol*, 1995, 44 (3): 208-221.
- [23] Shaw E, Arusell R, Scheithauer B, et al. Prospective randomized trial of low- versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *J*

*Clin Oncol*, 2002, 20 (9): 2267-2276.

- [24] Chalifoux R, Elisevich K. Effect of ionizing radiation on partial seizures attributable to malignant cerebral tumors. *Stereotact Funct Neurosurg*, 1996, 67 (3-4): 169-182.
- [25] Brada M, Viviers L, Abson C, et al. Phase II study of primary temozolomide chemotherapy in patients with WHO grade II gliomas. *Ann Oncol*, 2003, 14 (12): 1715-1721.
- [26] Yin LT, Fu YJ, Xu QL, et al. Potential biochemical therapy of glioma cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 362 (2): 225-229.
- [27] Debska G, Kicinska A, Dobrucki J, et al. Large-conductance  $K^+$  channel openers NS1619 and NS004 as inhibitors of mitochondrial function in glioma cells. *Biochemical Pharmacology*, 2003, 65 (11): 1827-1834.

## 微小分子 RNA 在胶质瘤中的研究进展

付胜伟<sup>1</sup> 综述 岳树源<sup>2</sup> 审校

1. 天津市滨海新区汉沽医院神经外科, 天津 300480

2. 天津医科大学总医院神经外科, 天津 300052

**摘要:**神经胶质瘤的治疗预后很差,胶质母细胞瘤中存在致肿瘤和抗细胞凋亡的特异性 miRNA 谱系。6 个相互独立的表达谱研究确认了胶质瘤中 28 个上调的 miR 和 33 个下调的 miR。其中 miR-10b、miR-21 和 miR-221/222 是胶质瘤中最主要的 miRNA 体系。miR-221 和 miR-222 的过可以导致蛋白碱性磷酸酶  $\mu$  (PTP $\mu$ ) 的下调,从而使得胶质瘤细胞的迁移率和生长率升高,并且 p27、p57 和 PTEN 都是 miR-221 和 miR-222 的作用靶点。同时 miRNA 的表达可能与 GBM 病人的生存期具有很强的关联。近年来研究表明 miRNA 可以在血液中稳定的存在,至于其存在的机制及对胶质瘤可能产生的影响,目前尚不确定。目前 miRNAs 作为肿瘤诊断分子标志物的作用已经在肿瘤研究领域逐渐显现出来。未来随着对 miRNA 研究的深入,有可能为胶质瘤的治疗提供新的思路。

**关键词:**miRNA; 胶质瘤; 研究进展

神经胶质瘤是来源于神经上皮的肿瘤,是颅内最常见的恶性肿瘤,约占全部颅内肿瘤后的 40%~50%,具有高发病率、高复发率、高病死率和低治愈率的特点<sup>[1]</sup>。其中胶质母细胞瘤的中位生存期不到一年时间。脑胶质瘤异质性高、病因尚未明确,临床研究进展缓慢,目前对于胶质瘤的检测,治疗和预后的效果都不太理想。近几年关于微小分子 RNA (miRNAs 或 microRNAs) 的研究日益深入,关于 miRNAs 在神经胶质瘤方面的研究也逐渐兴起。

微小分子 RNA 是一类长 20~25 个核苷酸的非编码内源性单链小 RNA 分子,其通过与靶标信使 RNA 的 3' 端非翻译区结合,抑制其翻译或直接使其降解,对基因的表达起转录后的调控作用,进而调节细胞的增殖、分化和凋亡等。此类小分子 RNA 的发现为胶质瘤的研究提供了新的思路。

### 1 MicroRNAs 和胶质瘤之间的关系

近年来发现 MicroRNAs 和胶质瘤包括胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 之间的关系密切。Benard 和 Douc-Rasy<sup>[2]</sup> 第一次发现了 microRNA 和 GBM 之

收稿日期:2012-04-24;修回日期:2012-07-13

作者简介:付胜伟 (1978-),男,在职研究生,主治医师,主要研究方向:颅脑损伤及胶质瘤的基础研究等。

间的关系,他们指出在胶质母细胞瘤中存在致肿瘤和抗细胞凋亡的特异性 miRNA 谱系。6 个相互独立的表达谱研究确认了胶质瘤中 28 个上调的 miR 和 33 个下调的 miR。其中 miR-10b、miR-21、miR-451、miR-486、miR-124、miR-128-1、miR-137、miR-139、miR-218、miR-323 的异常表达至少在两个独立的研究中被确认<sup>[3]</sup>。

其中 miR-10b、miR-21 和 miR-221/222 研究的较多。Gabriely 等<sup>[4]</sup>发现 miR-10b 在正常脑组织中没有表达,但在低级别和高级别的胶质瘤中却明显的高表达。他们发现通过抑制 miR-10b 能够降低胶质瘤细胞的生长,这种抑制反应是通过增强 miR-10b 的直接靶点包括 BCL2L11/Bim, TFAP2C/AP-2 $\gamma$ , CDKN1A/p21, and CDKN2A/p16 的表达实现的。Sun 等<sup>[5]</sup>发现 miR-10b 直接靶向 HOXD10 来调控肿瘤侵袭因子 MMP-14 and uPAR 的表达导致胶质瘤细胞的侵袭作用,用特异性的反义寡核苷酸类(miR-10b 抑制剂)治疗治疗能够是肿瘤细胞失去侵袭力。Gaur 等<sup>[6]</sup>发现 miR-21 在原发的胶质母细胞瘤和胶质母细胞瘤衍生的组织中明显高表达他们发现通过下调胶质母细胞瘤中的 miR-21 能促进它的靶点程序性细胞死亡因子 4 (Pdc4) 的表达。另外,他们还发现在胶质瘤细胞系中无论是下调 miR-21 还是上调 Pdc4 都会降低细胞增殖,促进细胞凋亡,减少细胞集落形成。Quintavalle 等<sup>[7]</sup>发现 miR-221 和 miR-222 的过表达导致了蛋白碱性磷酸酶  $\mu$  (PTP $\mu$ ) 的下调使得胶质瘤细胞的迁移率和生长率升高,而 PTP $\mu$  的复表达可以复原 miR-221 和 miR-222 的这种作用。Zhang<sup>[8]</sup>等发现 miR-221 和 miR-222 靶向 PUMA-3'UTR 导致 PUMA 基因的下调进而抑制细胞凋亡。当敲掉 miR-221 和 miR-222 时会导致 PUMA 的表达增加和细胞凋亡的增加,而且大大降低了肿瘤异种移植模型的生长。有文献表明 p27<sup>[9]</sup>、p57<sup>[10]</sup> 和 PTEN<sup>[11]</sup> 都是 miR-221 和 miR-222 的作用靶点。

Sujaya 等<sup>[12]</sup>研究了胶质母细胞瘤和正常人中十个显著差异的 MicroRNA,发现十个 microRNA 中有七个是高风险性的,三个是保护性的,并且发现高分值的 GBM 病人比低分值的病人具有更差的生存率。他们发现 miRNA 的表达能够预测 GBM 病人的生存期,因此他们认为 miRNA 可能对胶质瘤起源的研究,靶向治疗的发展和对高风险病人的选择性辅助治疗具有重要意义。这也是最近 miRNA 研

究的热点问题。

## 2 循环 microRNAs 和胶质瘤的关系

最近的文献表明人的体液(包括血液,尿液,唾液,脑脊液等)中也存在 miRNA,在病理状态下其表达谱与在组织中一样会发生特异性的变化。Lawrie 等<sup>[13]</sup>第一次发现了血清中含有 miR-21,其表达与弥漫性 B 淋巴细胞瘤患者的生存有关。之后人们陆续发现了血清中存在许多种 miRNAs,并且与多种疾病有关。

由于血液中存在 RNA 降解酶(RNase),许多研究者认为 miRNA 可能不能稳定的存在于血液中。但是最后研究者证明 miRNA 可以在血液中稳定的存在<sup>[14,15]</sup>。将人工合成的与人类无同源序列的新秀丽小杆线虫 miRNA (miR-39、miR-54 和 miR-238)加入到人血清或血浆中,在未对 RNase 灭活的情况下,这三种 miRNA 2 min 内即降解,而内源性的 miRNA,如 miR-15b、miR-16 和 miR-24 的量却没有明显的改变,说明内源性的 miRNA 以能抵抗血浆 RNA 酶<sup>[14]</sup>。随机选择几种 miRNA 经 RNase 消化 3 h 后仍有超过半数的分子保持完整的结构,qRT-PCR 也检测表明,DNase I 也不会影响血清 miRNA 的量<sup>[15]</sup>。这些试验均表明血清或血浆中的 miRNA 不易被 RNase 降解。其次,血清 miRNA 在经室温静置一周或反复冻融后,miRNA 基本上没有太大的改变<sup>[14]</sup>。另外,在煮沸、强酸或强碱等条件下 miRNA 含量也无明显改变<sup>[15]</sup>。这表明血清或血浆 miRNA 可以作为一种稳定的标志物存在,这对于其当作一种疾病的诊断的标志物提供了可靠前提。

至于 miRNA 在体液中稳定存在的机制尚不清楚,有研究认为 miRNA 能够抵抗 RNase 和 DNase 的降解可能与某些 DNA 有关<sup>[16]</sup>。然而,El-Hefnawy 等<sup>[17]</sup>研究表明,血清/血浆中的 miRNA 抵抗降解的能力可能与脂质和脂蛋白的复合物有关。血循环 miRNA 的来源及与患病组织细胞的关系目前也尚不清楚,Chen 等<sup>[18]</sup>的实验表明在正常状态下,血清 miRNA 主要来自于血细胞,而在病理状态下,部分血清中的 miRNA 可能来自于患病的组织细胞中。miRNA 从组织细胞进入血循环的机制也不明了。有研究表明 miRNA 可能是从破碎的组织细胞或凋亡细胞中被动漏出,也可能从患病组织细胞主动分泌进入血循环,后者被认为是主要方式<sup>[19]</sup>。

目前循环 miRNAs 和肿瘤的关系是研究的热点问题,由于其在外周的稳定性和易获取性使得

其可以作为一种很好的作为疾病诊断,治疗和预后的标志物。最早的研究血清/血浆 miRNAs 和肿瘤的关系的是 Lawrie 等<sup>[20]</sup>于 2008 年报道的血清 miRNA 是潜在的肿瘤标志物。他们用 qRT-PCR 方法检测到 60 例弥漫性大 B 细胞淋巴瘤患者血清中 miR-155、miR-210 和 miR-21 表达量明显高于 43 例年龄性别匹配的正常对照,并且 miR-21 的水平与存活率相关。Skog 等<sup>[21]</sup>报道可以从胶质母细胞瘤释放的微泡中找到相关的 miRNAs,并且可以从血液中检测出来。Baraniskin 等<sup>[20]</sup>通过 qRT-PCR 检测 10 例胶质瘤病人和 10 例患有其他神经系统疾患的对照组病人的脑脊液研究发现 MiR-15b 和 miR-21 在胶质瘤病人中高表达,并且 MiR-15b 和 miR-21 联合表达可以产生 90% 的诊断学灵敏度和 100% 的特异度。这表明脑脊液中的 miRNAs 可以最为潜在的诊断胶质瘤的神经系统标志物。

### 3 miRNAs 应用的问题和展望

目前关于 miRNAs 的研究如火如荼,但是对于 miRNAs 的应用仍然存在很多问题。首先,miRNAs 的产生、释放机制并不明确,其作用靶点也不是很明了,它的分子生物学特性并不清楚。其次,作为临床诊断指标目前还缺乏大规模的健康人群。包括不同性别、不同年龄段的 miRNAs 表达资料,对于不同的疾病变化状况的个体性相关研究也不充分。最后,许多疾病存在共表达的 miRNAs,这对于疾病的特异性诊断产生了很大的干扰,只有找出某疾病特异性的一种或几种 miRNA 才将其作为临床诊断的标志物。

但是 miRNAs 作为肿瘤诊断分子标志物的作用已经在肿瘤研究领域逐渐显现出来,关于 miRNAs 和胶质瘤的研究也日益深入。我们已经发现许多 miRNA 和胶质瘤包括 GBM 的发生发展是密切相关的。只是其调节途径等一系列生物作用机制仍不清楚,但是这仍不能阻止其日渐成为胶质瘤分子诊断研究的主流方向。目前对于胶质瘤组织和 miRNAs 关系的研究比较多,关于循环 miRNAs 和胶质瘤的研究依旧很少,由于循环 miRNAs 的非侵袭性使得其在临床诊断中显得更有优势,所以关于这方面的研究会越来越多。我们相信。随着研究的深入血清/血浆 miRNAs 必将为肿瘤的诊断及治疗提供新的思路。

### 参 考 文 献

- [1] Sathornsumetee S, Rich JN, Reardon DA. Diagnosis and treatment of high-grade astrocytoma. *Neurol Clin*, 2007, 25 (4):1111-1119.
- [2] Brnard J, Douc-Rasy S. Micro-RNA and oncogenesis. *Bull Cancer*, 2005, 92 (7):757-762.
- [3] 郝建伟, 浦佩玉, 张春智. 胶质瘤中微 RNA 研究进展国际肿瘤学杂志, 2010, 37 (3): 200-203.
- [4] Gabrieli G, Yi M, Narayan RS, et al. Human glioma growth is controlled by microRNA-10b. *Cancer Res*, 2011, 71 (10):3563-3572.
- [5] Sun L, Yan W, Wang Y, et al. MicroRNA-10b induces glioma cell invasion by modulating MMP-14 and uPAR expression via HOXD10. *Brain Res*, 2011, 10 (1389):9-18.
- [6] Gaur AB, Holbeck SL, Colburn NH, et al. Downregulation of Pcd4 by mir-21 facilitates glioblastoma proliferation in vivo. *Neuro Oncol*, 2011, 13 (6):580-590.
- [7] Quintavalle C, Garofalo M, Zanca C, et al. miR-221/222 overexpression in human glioblastoma increases invasiveness by targeting the protein phosphate PTP $\mu$ . *Oncogene*, 2011, 12 (19):280-281.
- [8] Zhang CZ, Zhang JX, Zhang AL, et al. MiR-221 and miR-222 target PUMA to induce cell survival in glioblastoma. *Mol Cancer*, 2010, 34 (9):229-234.
- [9] Gillies JK, Lorimer IA. Regulation of p27 kipl by miRNA 221/222 in glioblastoma. *Cell Cycle*, 2007, 6 (8):2005-2009.
- [10] Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, et al. MiR-221 controls CDKN1 C/p57 and CDKN1 B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2008, 27 (3):5651-5661.
- [11] Kong D, Yamori T. Advances in development of phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors. *Curt Med Chem*, 2009, 16 (10):2839-2854.
- [12] Srinivasan S, Patric IR, Somasundaram K. A ten-microRNA expression signature predicts survival in glioblastoma. *PLoS One*, 2011, 6 (3):1743-1748.
- [13] Lawrie CH, Gal S, Duniop HM, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in q4jA 'um of patients with diffuse large B · cell lymphoma. *Br j Hacmatol*, 2008, 141 (5):672-675.
- [14] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105 (30):10513-10518.
- [15] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*, 2008, 18 (10):997-

1006.

- [16] Sisco KL. Is RNA in saliva bound to nucleoprotein complexes? Clin Chem,2001,47(9):1744-1745.
- [17] El-Hefnawy T, Raja S, Kelly L, et al. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics. Clin Chem,2004,50(3):564-573.
- [18] Iguchi H, Kosaka N, Ochiya T. Secretory microRNAs as a versatile communication tool. Commun Integr Biol,2010,3(5):478-481.
- [19] Lawrie C H, Gal S, Dunlop HM, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br J Haematol,2008,141(5):672-675.
- [20] Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers. Nat Cell Biol,2008,10(12):1470-1476.
- [21] Baraniskin A, Kuhnhen J, Schlegel U, et al. Identification of microRNAs in the cerebrospinal fluid as biomarker for the diagnosis of glioma. Neuro Oncol,2011,77(21):2931-2940.

## Apollon 在人脑胶质瘤的研究进展

陈弘韬 综述 李巧玉 审校

江苏大学附属人民医院神经外科,江苏 镇江 212003

**摘要:** Apollon 是近年来新发现的凋亡抑制因子,具有广泛的生物学作用,有研究发现 Apollon 在多种肿瘤中表达明显升高,可能与肿瘤的发生与预后有关,但具体参与机制仍不明确。本文就 Apollon 在人脑胶质瘤中的生物学特性方面的研究进展做一综述。

**关键词:** Apollon; 凋亡; 胶质瘤

在生理状态下,机体通过自身的凋亡途径清除异常和衰老的细胞,保持机体的动态平衡,而对于肿瘤细胞,如凋亡过程受到抑制,将促使细胞进行恶性生长,导致肿瘤的发生。凋亡蛋白抑制剂(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)家族,是在病毒、真核生物、哺乳动物等多种物种中广泛存在的进化高度保守的一类抗细胞凋亡调节因子,Apollon 是其中分子量最大的成员,本文主要简介 Apollon 对凋亡的调控及其脑胶质瘤的关系,为深入研究胶质瘤的发病机制、治疗方案及预后评估提供帮助。

### 1 Apollon 的基本结构

IAPs 是迄今发现最强的内源性凋亡抑制因子,共有 XIAP, c-IAP1, c-IAP2, NAIP, Apollon, Livin, Survivin, ILP-2 八个成员。其中 Apollon 蛋白是 IAPs 中分子量最大的成员,基因定位于 2p22-p21,含有 1 个 BIR 结构域(杆状病毒 IAP 重复序列)及一个

泛素结合结构域(UBC)。其分子量为 530 kD,共含有 4830 个氨基酸,是高尔基体外膜蛋白,具有高度的保守性。Apollon 含有的 BIR 序列约有 40% 与其他 IAPs 家族成员相同<sup>[1]</sup>,是其抑制 caspase 活性、发挥抗凋亡的重要结构。UBC 结构域位于 Apollon 分子中的羧基端,是其特有的结构域,能够参与 caspase-9, Smac 的多泛素化,可以加强 Apollon 的抑制凋亡作用。

### 2 Apollon 的作用机制

Apollon 的抑制凋亡主要通过结合半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(Caspase)、丝氨酸蛋白酶 HtrA2 (high temperature requirement A2) 和线粒体促凋亡蛋白(Smac)三种主要机制发挥其抑制凋亡的作用<sup>[2]</sup>,而 Apollon 拮抗 caspase-9 前体和成熟体及 Smac 的功能是抑制凋亡的重要机制,基因分析发现 Apollon 上所持有的 cys327 结构是其结合 caspase-9、

收稿日期:2012-06-07;修回日期:2012-08-06

作者简介:陈弘韬(1983-),男,住院医师,硕士研究生,研究方向:人脑胶质瘤。

通讯作者:李巧玉(1962-),男,主任医师,博士,硕士研究生导师。