

miRNAs 在儿童中枢神经系统常见恶性肿瘤中的研究进展

马小军¹, 刘尚禹¹ 综述 张祎年^{2,3}, 潘亚文^{2,3} 审校

1. 兰州大学第二医院, 甘肃 兰州 730030

2. 兰州大学第二医院神经外科, 神经外科实验室, 甘肃 兰州 730030

3. 兰州大学神经病学研究所, 甘肃 兰州 730030

摘要: 中枢神经系统 (Central Nervous System, CNS) 肿瘤是儿童最为常见的肿瘤之一, 其发病率仅次于白血病, 常见包括星形细胞瘤、颅咽管瘤、髓母细胞瘤和生殖细胞瘤。微小 RNA (MicroRNAs, miRNAs) 是一类长度大约为 19 ~ 25 个核苷酸的內源性非编码小 RNA, 其在转录后基因表达的调控中起重要作用。研究表明, miRNAs 的异常表达和儿童 CNS 恶性肿瘤的发生发展有着密切的关系。因此, 本文就 miRNAs 与儿童 CNS 恶性肿瘤发生发展的机制, 及其作为新的肿瘤标志物及潜在治疗靶点的研究现状做一综述。

关键词: 中枢神经系统肿瘤; miRNAs; 儿童

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2019.02.027

CNS 肿瘤是儿童时期最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率占儿童恶性肿瘤的 20%, 仅次于白血病。15 岁以下儿童 CNS 肿瘤发生率为 2.4 ~ 3.5/10 万人, 儿童发病高峰多在 0 ~ 4 岁, 约为 5/10 万人^[1]。儿童 CNS 肿瘤的典型症状和体征主要是继发于脑积水或肿瘤组织引起的高颅压, 邻近脑组织受肿瘤压迫或侵犯, 此外还与患儿的年龄, 肿瘤生长部位和生长速度密切相关^[2]。在我国儿童及青少年中, 最常见的中枢神经系统肿瘤类型是星形细胞肿瘤 (29.9%)、颅咽管瘤 (19.8%)、髓母细胞瘤 (15.7%)、生殖细胞肿瘤 (7.5%) 和室管膜肿瘤 (5.9%)^[3]。儿童 CNS 肿瘤多为恶性肿瘤, 治疗上仍以手术切除为主、辅以放化疗的综合治疗方法, 但治疗效果及预后仍不理想, 且易复发, 因此, 寻找新的个体化高效的分子靶向治疗方案已成为当前研究的热点。miRNA 是一类长度大约为 19 ~ 25 个核苷酸的內源性非编码小 RNA。Lee 等人首次从秀丽隐杆线虫中发现了调节基因转录的 miRNA—let-7 被发现^[4,5]。后续研究发现, miRNAs 通过与其下游非编码或编码蛋白质的 mRNA 3' 端 UTR 区靶基因结合位点相互作用, 在转录后水平实现基因表达的调控。近年来的研究已经证实了 miRNAs 与肿瘤的发生发展有着密切的关系, 许多 miRNAs 在肿瘤的诊

断、治疗及评估预后中越来越有价值^[6]。随着研究的深入, miRNAs 在脑肿瘤中的研究也越来越多, 尤其是在儿童 CNS 恶性肿瘤中, 异常表达的 miRNAs 仍为研究的热点。因此, 本文就 miRNAs 在儿童 CNS 恶性肿瘤中的研究进展作一综述。

1 miRNAs 与神经胶质瘤

低级别胶质瘤 (low grade glioma, LGGs) 是儿童时期最常见的原发性 CNS 肿瘤, 占该年龄段 CNS 肿瘤的 30%, LGGs 包括 WHO I 级的毛细胞型星形细胞瘤、室管膜下巨细胞型星形细胞瘤, 以及 WHO II 级的多形性黄色星形细胞瘤、弥漫性星型细胞瘤等, 其中毛细胞型星形细胞瘤是儿童最常见的 LGG。Marwa 等人研究了 34 例 LGGs 患者的 miRNAs 表达情况, miR-26a 在 LGG 中呈低表达, miR-19a / b, miR-24, miR-27a, miR-584 和 miR-527 则呈现为过表达^[7]。Ames 等人收集了 9 种不同种类的 LGGs, 通过 NanoString 技术及 RT-PCR 和探针技术, 发现有 61 个 miRNAs 在肿瘤中明显的差异表达, 如在室管膜下巨细胞星形细胞瘤和毛细胞型星形细胞瘤中, miR-129-2-3p, miR-219-5p, miR-338-3p, miR-487b, miR-885-5p 和 miR-323a-3p 呈低表达, miR-21-5p 和 miR-34a-3p 呈过表达, 与正常脑组织和其他肿瘤相比, miR-4488 和 miR-1246 在胚胎发育不良神经上皮肿瘤中明显过表

基金项目: 国家自然科学基金 (81771297); 甘肃省自然科学基金 (18JR3RA309); 甘肃省自然科学基金 (18JR3RA365)。

收稿日期: 2019-01-16; **修回日期:** 2019-04-11

作者简介: 马小军 (1993-), 男, 硕士研究生在读, 主要从事颅内常见肿瘤的基础及临床研究。

通信作者: 潘亚文 (1966-), 男, 医学博士, 教授, 博士生导师, 长期从事颅底肿瘤的基础研究及显微外科治疗; E-mail: panyawen666@sohu.com。

达^[8]。Liu 等人利用 miRNAs 基因芯片,对 8 例星形细胞瘤的标本及癌旁组织进行分析,共发现了 40 个差异表达的 microRNAs,上调的 miRNAs 有 31 个,下调的 miRNAs 有 17 个,其中 miR-1321、miR-513b 及 miR-769-3p 首次发现与癌症发生有关,除此之外,上调的 miR-760、miR-513b 和 miR-361-5p 等 13 种 miRNAs 和下调的 miR-192、miR-331-3p 及 miR-484 等 7 种 miRNAs 首次发现与脑胶质瘤有关,为胶质瘤研究提供了新的线索^[9]。Cheng 等发现了 13 个在人类星形细胞瘤中相对低表达的 miRNAs 和 18 个过表达的 miRNAs,并使用 qRT-PCR 验证了一部分病例(9 例毛细胞型星形细胞瘤,5 例正常脑组织)中 hsa-miR-124、hsa-miR-129 和 hsa-miR-21 的表达情况,表达差异倍数分别是 miR-124 为 -17 倍,miR-129 为 -15 倍,而 miR-21 为 19.8 倍,其 p 值均 <0.01 ^[10]。其他研究也证实了毛细胞型星形细胞瘤中,miR-34a、miR-146a、miR-542-3p、miR-503 和 miR-155 的高表达以及 miR-124 及 miR-129 的低表达^[11]。高级别胶质瘤(high grade glioma, HGGs)占有儿科脑肿瘤的 15%,是癌症相关死亡率和发病率逐年增高的主要原因之一,主要包括 WHO III 级的间变型星形细胞瘤,WHO IV 级的胶质母细胞瘤,以及弥漫性中线胶质瘤等。Miele 等收集了 12 例儿童 HGGs 及 8 例正常脑组织的样本进行 miRNAs 的分析,儿童 HGGs 中的 miR-17-92 簇,miR-106b-25 上调表达,这表明它们在这些肿瘤的发病机制中具有潜在作用,miR-17-92 簇由 6 个 miRNA 组成,包括 miR-17 家族(miR-17, miR-20a),miR-18 家族(miR-18a),miR-19 家族(miR-19a, miR-19b)和 miR-92 家族(miR-92a),在儿童 HGGs 中,miR-17-92 簇的高表达抑制抑癌基因 PTEN 和 RB1 的表达,与肿瘤的发生有关^[12]。Prerana 等收集了 14 例儿童 HGGs 标本,包括间变型星形细胞瘤 3 例及 GBM11 例,通过 miRNA 基因芯片进行表达谱分析,总共有 266 个差异表达的 miRNA 具有统计学意义($P<0.05$),其中,明显上调表达的有 11 个 miRNA,明显下调表达的有 5 个 miRNA,另外,miR-3613、miR-3651、miR-4429、miR-455 个 21 和 miR-4668-5P 是首次在 GBM 中报道^[13]。弥漫性脑桥胶质瘤(Diffuse intrinsic pontine glioma, DIPG)是小儿脑肿瘤死亡的主要原因,现已将其归为弥漫性中线胶质瘤^[14]。最近的研究表明,TFAP2C 基因和 hsa-miR-26b-5p 可能在 DIPG 的发展和进展机制中起

着重要作用^[15]。

2 miRNAs 与髓母细胞瘤

髓母细胞瘤(Medulloblastoma, MB)是儿童中最常见的恶性脑肿瘤,也是儿童期癌症发病率及死亡率最高的的主要病因之一^[16],MB 根据分子分型可分为四个亚型:WNT 型,SHH 型,第 3 组和第 4 组。Pierson 等人于 2008 年首次报道了 MB 中下调表达的 miR-124,通过调控 CDK6 减慢肿瘤细胞的增殖后,对于 miRNA 与 MB 的关系的研究越来越多^[17]。Thor 等发现 MB 细胞系中,miR-34a 表达水平显著低于正常人小脑,miR-34a 在人 MB 细胞系中过表达,通过下调其靶基因 MYCN 和 SIRT1,降低肿瘤细胞活力和增殖能力,诱导细胞凋亡^[18]。Murphy 等通过小鼠 MB 肿瘤模型研究发现,miR-17~92 簇中的成员 miR-19a、miR-17 和 miR-20a 在小鼠 MB 中呈现明显的过表达^[19]。Yang 等人证实了在 MB 中 miR-192 的下调表达,并首次描述了 miR-192 的下调对体外和体内 MB 的软脑膜传播的表型效应,其中 miR-192 的过表达通过结合下游 DHFR 基因抑制肿瘤细胞增殖,并通过抑制靶基因 ITGAV,ITGB1,ITGB3 和 CD47 降低细胞黏附能力,减少肿瘤细胞的软脑膜转移^[20]。Gershanov 等在 MB 第 4 组亚型中发现,miR-20a-5p 和 miR-181a-2-3p 具有作为第 4 组 MB 特异性生物标志物的潜力^[21]。Kumar 等研究了 5 例正常脑组织和 5 例 MB 组织中的 miRNA 表达情况,发现了 8 个 miRNA 在 MB 样本中上调表达,64 个 miRNA 下调表达,其中差异较大的 miR-217 过表达 11.8 倍,并研究发现 miR-217 通过负调节 SIRT1, SMAD7, ROBO1 和 FOXO3 基因,从而调节 MB 细胞的生长,迁移,侵袭和诱导细胞凋亡^[22]。研究表明,miR-494 的上调通过负向调节 MYC 原癌基因,并使 p38-MAPK 途径失活,从而抑制 MB 细胞的增殖,迁移和侵袭及促进 MB 细胞的凋亡^[23]。Pal 等使用 miR-10b 抑制剂诱导 miR-10b 表达的显著下调,抑制增殖和诱导细胞凋亡,miR-10b 消除了 MB 的集落形成能力,并显著下调 BCL2 基因的表达^[24]。Li 等发现 miR-106b 在 MB 中上调表达,miR-106b 抑制剂在 MB 细胞系中的转染显著降低了细胞增殖,迁移和侵袭潜力以及肿瘤球形成,并用荧光素酶基因测定证实 miR-106b 直接与 PTEN 的 3'UTR 相互作用,调节 MB 细胞的功能^[25]。Xu 等在 MB 组织和细胞中发现下调的 miR-22 与 MB 中的细胞增殖相关,上调 miR-22 表达,其下游靶基因 PAPST1 基因表达量则

明显的下降,证明了 PAPST1 是 miR-22 的新靶标,在 MB 靶向治疗中存在很大的价值^[26]。

3 miRNAs 与室管膜瘤

室管膜瘤是儿童时期第二常见的恶性脑肿瘤,可发生于颅内、脑室和脊髓^[27]。其病理分级可分为 WHO II 级的室管膜瘤及 WHO III 级的间变性室管膜瘤。Fabricio 等利用包含人类 365 种 miRNAs 的基因芯片,对室管膜瘤和正常脑组织进行分析以得到 miRNAs 表达谱,在室管膜瘤中 28 种 miRNA 差异表达,包括 5 种下调的 miRNA,如 miR-383 和 miR-485-5p,23 种过表达 miRNAs,如 miR-135a、miR-17-5p、miR-34a、miR-17-92 簇等,其中 miR-34a 在幕上肿瘤中特异性过表达,miR-203 的下调表达可用作预测肿瘤复发的独立因子,let-7d、miR-596 和 miR-367 与肿瘤的总体存活率密切相关^[28]。Zakrzewska 等研究了 36 例 WHO II 级和 17 例 WHO III 级的室管膜瘤,发现在 84 个分析的 miRNA 中,II 级和 III 级后颅窝室管膜瘤之间有 32 个 miRNAs 的差异表达,其中 miR-17-5p、miR-19a 和 miR-106b 的表达在 II 级中显著低于 III 级幕下室管膜瘤,较高级别的室管膜瘤中 miRNA 表达明显增加,并经证明了 miR-17-5p 在低表达的患者中有更好的预后^[29]。Miller 等研究发现 miR-124-3p 的表达与患者的无进展生存期有关,表达水平高的 miR-124-3p 的患者复发风险增加 4.1 倍($P=0.005$),并证明了 TP53INP1 为 miR-124-3p 的靶基因,它的表达水平与不良预后相关,提出 miR-124-3p 和 TP53INP1 可作为室管膜瘤预后分析新的生物标志物,可能是室管膜瘤的潜在治疗靶点^[30]。

4 miRNAs 与生殖细胞肿瘤

颅内生殖细胞肿瘤(Germ cell tumor, GCT)是儿童罕见的 CNS 肿瘤,根据组织学分类可分为生殖细胞瘤和非生殖细胞瘤性生殖细胞瘤(NGGCTs),NGGCTs 包括卵黄囊瘤(YST)、绒毛膜上皮癌(CC)、胚胎癌(EC)、混合性 GCT 和畸胎瘤(成熟畸胎瘤,未成熟畸胎瘤或未成熟畸胎瘤伴恶性分化),GCT 和 NGGCT(除成熟畸胎瘤外)均为恶性肿瘤。Wang 等在研究中发现了第一个儿童 GCTmiRNAs 表达谱,大多数 miRNA 在 GCT 中下调表达,如 miR-181c 和 miR-218,但 miR-142-5p 和 miR-146a 上调表达,并确定了多个 miRNAs 及其调控的靶 mRNA^[31]。Murray 等则通过 qRT-PCR,检测血清中上述 miRNAs 的水平,用于 GCT 的诊断及临床疗效

的评估,且不会受到患者年龄、组织学类型及病变部位的影响,因此可应作为 GCT 诊断和治疗的生物标志物^[32]。随后的研究中,Murray 等分析了 miR-371-373 和 miR-302/367 簇的所有八个主要成员的分析中血清中的 miR-371a-3p、miR-372-3p、miR-373-3p 和 miR-367-3p,这 4 个 miRNAs 对诊断小儿颅外恶性 GCT 显示出高灵敏度/特异性,同时检测脑脊液中的这 4 个 miRNAs,对颅内恶性 GCT 的诊断具有重要的价值^[33]。

5 小结与展望

随着近年来对 miRNA 研究的深入,已经发现并证实了多种新的 miRNAs 与肿瘤的发生和发展密切相关。上述研究内容表明 miRNAs 在儿童 CNS 肿瘤的发生发展中也起着重要的作用,其在儿童 CNS 肿瘤中的发病机制也愈发受到人们的重视,寻找针对 miRNAs 的靶向治疗已成为研究的热点,此外,miRNA 可被用作非侵入性生物标志物,用于疾病监测和危险分层。因此,对儿童 CNS 肿瘤中异常表达的 miRNAs 进一步深入研究,将会为疾病的诊断、治疗及判断预后提供非常重要的分子病理学依据。

参 考 文 献

- [1] Duffner PK. Diagnosis of brain tumors in children [J]. Expert Rev Neurother, 2007, 7(7): 875-885.
- [2] Pollack IF, Jakacki RI. Childhood brain tumors: epidemiology, current management and future directions [J]. Nat Rev Neurol, 2011, 7(9): 495-506.
- [3] 周大彪, 罗世祺, 马振宇, 等. 1267 例儿童神经系统肿瘤的流行病学 [J]. 中华神经外科杂志, 2007. 23(1): 4-7.
- [4] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V, et al. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993. 75(5): 843-854.
- [5] 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.
- [6] Berindan-Neagoe I, Monroig Pdel C, Pasculli B et al. MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy [J]. CA Cancer J Clin, 2014. 64(5): 311-336.
- [7] Tantawy M, Elzayat MG, Yehia D et al. Identification of microRNA signature in different pediatric brain tumors [J]. Genet Mol Biol, 2018. 41(1): 27-34.
- [8] Ames HM, Yuan M, Vizcaino MA et al. MicroRNA profiling of low-grade glial and glioneuronal tumors shows an independent role for cluster 14q32.31 member miR-487b [J]. Mod Pathol, 2017. 30(2): 204-216.

- [9] Liu F, Xiong Y, Zhao Y, et al. Identification of aberrant microRNA expression pattern in pediatric gliomas by microarray [J]. *Diagn Pathol*, 2013, 8: 158.
- [10] Ho CY, Bar E, Giannini C et al. , MicroRNA profiling in pediatric pilocytic astrocytoma reveals biologically relevant targets, including PBX3, NFIB, and METAP2 [J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15(1): 69-82.
- [11] Jones TA, Jayapalan JN, Forshew T, et al. Molecular analysis of pediatric brain tumors identifies microRNAs in pilocytic astrocytomas that target the MAPK and NF-kappaB pathways [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2015, 3: 86.
- [12] Miele E, Buttarelli FR, Arcella A, et al. High-throughput microRNA profiling of pediatric high-grade gliomas [J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(2): 228-240.
- [13] Jha P, Agrawal R, Pathak P, et al. Genome-wide small non-coding RNA profiling of pediatric high-grade gliomas reveals deregulation of several miRNAs, identifies downregulation of snoRNA cluster HBII-52 and delineates H3F3A and TP53 mutant-specific miRNAs and snoRNAs [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(10): 2343-2353.
- [14] Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary [J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 131(6): 803-820.
- [15] Wei L, He F, Zhang W, et al. Bioinformatics analysis of microarray data to reveal the pathogenesis of diffuse intrinsic pontine glioma [J]. *Biol Res*, 2018, 51(1): 26.
- [16] Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009 [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14 Suppl 5: v1-49.
- [17] Pierson J, Hostager B, Fan R, et al. Regulation of cyclin dependent kinase 6 by microRNA 124 in medulloblastoma [J]. *J Neurooncol*, 2008, 90(1): 1-7.
- [18] Thor T, Kunkele A, Pajtler KW, et al. MiR-34a deficiency accelerates medulloblastoma formation in vivo [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(10): 2293-2303.
- [19] Murphy BL, Obad S, Bihannic L, et al. Silencing of the miR-17 ~ 92 cluster family inhibits medulloblastoma progression [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(23): 7068-7078.
- [20] Yang SY, Choi SA, Lee JY, et al. miR-192 suppresses leptomeningeal dissemination of medulloblastoma by modulating cell proliferation and anchoring through the regulation of DHFR, integrins, and CD47 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(41): 43712-43730.
- [21] Gershanov S, Toledano H, Michowiz S, et al. MicroRNA-mRNA expression profiles associated with medulloblastoma subgroup 4 [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 339-352.
- [22] Kumar V, Kumar V, Chaudhary AK, et al. Impact of miRNA-mRNA Profiling and Their Correlation on Medulloblastoma Tumorigenesis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12: 490-503.
- [23] Xu XH, Zhang SJ, Hu QB, et al. Effects of microRNA-494 on proliferation, migration, invasion, and apoptosis of medulloblastoma cells by mediating c-myc through the p38 MAPK signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2018, Oct 10. doi: 10.1002/jcb.27559. [Epub ahead of print]
- [24] Pal R and Greene S, microRNA-10b Is Overexpressed and Critical for Cell Survival and Proliferation in Medulloblastoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137845.
- [25] Li KK, Xia T, Ma FM et al. miR-106b is overexpressed in medulloblastomas and interacts directly with PTEN [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2015, 41(2): 145-164.
- [26] Xu QF, Pan YW, Li LC et al. MiR-22 is frequently down-regulated in medulloblastomas and inhibits cell proliferation via the novel target PAPST1 [J]. *Brain Pathol*, 2014, 24(6): 568-583.
- [27] McGuire CS, Sainani KL, Fisher PG. Incidence patterns for ependymoma: a surveillance, epidemiology, and end results study [J]. *J Neurosurg*, 2009, 110(4): 725-729.
- [28] Costa FF, Bischof JM, Vanin EF et al. Identification of microRNAs as potential prognostic markers in ependymoma [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25114.
- [29] Zakrzewska M, Fendler W, Zakrzewski K, et al. Altered MicroRNA Expression Is Associated with Tumor Grade, Molecular Background and Outcome in Childhood Infratentorial Ependymoma [J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0158464.
- [30] Margolin-Miller Y, Yanichkin N, Shichrur K, et al. Prognostic relevance of miR-124-3p and its target TP53INP1 in pediatric ependymoma [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2017, 56(8): 639-650.
- [31] Wang HW, Wu YH, Hsieh JY, et al. Pediatric primary central nervous system germ cell tumors of different prognosis groups show characteristic miRNome traits and chromosome copy number variations [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 132.
- [32] Murray MJ, Halsall DJ, Hook CE, et al. Identification of microRNAs From the miR-371 ~ 373 and miR-302 clusters as potential serum biomarkers of malignant germ cell tumors [J]. *Am J Clin Pathol*, 2011, 135(1): 119-125.
- [33] Murray MJ, Bell E, Raby KL, et al. A pipeline to quantify serum and cerebrospinal fluid microRNAs for diagnosis and detection of relapse in paediatric malignant germ-cell tumours [J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(2): 151-162.