

and -independent mechanisms[J]. Nat Commun, 2013, 4 (3):1635.

[25] Gladwyn-Ng I, Huang L, Ngo L, et al. Bacurd1/Kctd13 and bacurd2/tnfaip1 are interacting partners to Rnd proteins which influence the long-term positioning and dendritic maturation of cerebral cortical neurons[J]. Neural Dev, 2016, 11(1):7.

[26] Tsiotra PC, Boutati E, Dimitriadis G, et al. High insulin and leptin increase resistin and inflammatory cytokine

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.12.040

production from human mononuclear cells[J]. Biomed Res Int, 2013(2):919-928.

[27] Ghanim H, Aljada A, Daoud N, et al. Role of inflammatory mediators in the suppression of insulin receptor phosphorylation in circulating mononuclear cells of obese subjects[J]. Diabetologia, 2007, 50(2):278-285.

(收稿日期:2017-01-18 修回日期:2017-02-20)

miRNA-21 对 PI3K/AKT 通路影响的研究进展*

王洪亮¹综述, 刘国跃¹, 徐乐², 陈森^{1△}审校

(遵义医学院:1. 重症医学科二病区;2. 麻醉科, 贵州遵义 563000)

[关键词] miRNA-21; PI3K/AKT 通路; 潜在靶基因

[中图分类号] Q522+.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)12-1701-03

MicroRNAs(miRNAs)最早是由 Victor Ambros 和 Gary Ruvkun 在 1993 年研究线虫(nematode *C. elegans*)时发现的类似于 siRNA 的分子。它由 lin-4 基因转录生成,但不翻译生成蛋白质,在线虫的发育过程中起着短暂调节作用。目前研究发现,miRNAs 负性调控人体约 1/3 的基因表达^[1],其中 microRNA-21(miRNA-21)是最受关注的 miRNAs 分子之一。miRNA-21 可作用于不同的靶基因,如人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(PTEN)、程序性细胞死亡因子 4(PDCD4)等,通过调控不同的信号通路发挥作用。磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(protein kinase B, PKB, 又称 Akt)是细胞内重要的信号通路,参与细胞增殖、分化和凋亡等过程的信号转导。

1 miRNA-21 和 PI3K/Akt 信号通路

1.1 miRNA-21 miRNAs 是最新发现的一组小的、非蛋白编码的核苷酸 RNAs(大约 19~20 核苷酸)^[2]。目前研究证实,约有 1 000 种 miRNA 在机体的多个病理、生理过程中起着重要作用。miRNAs 发挥生物学功能的机制主要有两种:(1)与靶基因 3'端非编码区(3'UTRs)结合,抑制靶基因翻译和表达;(2)与 3'UTRs 结合并降解靶基因。其中,miRNA-21 是研究最广的 miRNA。大量研究显示,miRNA-21 是致癌基因,几乎在所有的人类肿瘤中过表达,并参与细胞的增殖、侵袭、凋亡、坏死和血管生成等过程^[3-6]。

1.2 PI3K/Akt 信号通路 PI3K 是异二聚体蛋白,由催化亚基 p110 和调节亚基 p85 构成,具有丝/苏(Ser/Thr)蛋白激酶活性和磷脂酰肌醇活性。催化亚基 p110 的结构特点和 PI3K 作用的底物将 PI3K 分为 3 个亚型,即 I、II、III 亚型,目前研究最多的是 I 型。Akt 是一种 Ser/Thr 氨基酸蛋白激酶,其有 3 个亚型: Akt1(PKB α)、Akt2(PKB β)和 Akt3(PKB γ),分别位于染色体 14q32、19q13、1q44。Akt 的 3 个亚型均包括一个氨基末端 PH 结构域、激酶催化结构域和一个羧基末端调节结构域。PI3K/Akt 信号通路作为导致癌症发生的关键信号通路

而逐渐被人们熟知,PI3K 通过与细胞表面的各类受体相互作用,导致自身构象发生改变而被激活。激活的 PI3K 磷酸化 4,5-二磷酸脂酰肌醇[PI(4,5)P₂],使其转化为 3,4,5-三磷酸脂酰肌醇[PI(3,4,5)P₃];同时活化的 PI3K 可以聚集 Akt 和磷酸肌醇依赖性蛋白激酶(PDK)并使 Akt 活化以及 PDK 磷酸化。活化的 Akt 作为一个至关重要的信号节点,通过磷酸化下游细胞质和细胞核中的靶蛋白,与多个相关信号通路连接,从而调节细胞存活、细胞周期、DNA 修复、蛋白合成、糖代谢、细胞分化、血管生成和细胞迁移。

2 miRNA-21 对 PI3K/Akt 信号通路的调节

2.1 miRNA-21 通过 PTEN 调控 PI3K/Akt 信号通路

PTEN 是全长约 200 kb 的具有磷酸酶活性的抑癌基因,定位于染色体 10q23.3。其表达产物 PTEN 蛋白具有双特异性磷酸酶,能使 PIP3 脱磷酸形成 PIP2,导致 PI3P 丧失信号功能,对 PI3K/Akt 信号通路起着负性调节作用。作为 PI3K 信号的调节者,PTEN 的丢失可导致 Akt 过度活化,从而使细胞增殖不受抑制、细胞凋亡减少以及肿瘤血管生成增加。伊马替尼在治疗费城染色体阳性的急性淋巴细胞白血病时往往会产生耐药性,在 Sup-b15 细胞的研究中发现,伊马替尼耐药性产生的分子机制为 miRNA-21 的上调使 PTEN 表达降低,从而阻断 PI3K/AKT 信号通路,进而抑制伊马替尼诱导的细胞凋亡;当在 Sup-b15 细胞中联合使用 miRNA-21 抑制剂和伊马替尼时发现,PTEN 表达的增加可阻断 PI3K/AKT 信号通路从而加速细胞的凋亡^[7]。Yang 等^[8]在研究膀胱癌 T24 细胞有氧糖酵解的过程中发现,miRNA-21 也可以通过此通路导致 T24 细胞中葡萄糖摄取量和乳酸产量增加。在研究吉西他滨对乳腺癌的治疗中发现,PTEN 作为 miRNA-21 的直接靶基因,当吉西他滨治疗乳腺癌出现耐受时,其在癌细胞中表达显著降低;当 PTEN 表达恢复后,其抑制 miRNA-21 对信号通路 PTEN/Akt 的调控,从而阻断上皮细胞化生为间叶细胞和降低吉西他滨耐药性的产生^[9]。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(8156010205)。 作者简介:王洪亮(1989-),硕士,主要从事肺保护方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: chenmiao64@163.com。

2.2 miRNA-21 通过 PDCD4 调控 PI3K/Akt 信号通路 PD-CD4 是一种抑癌基因,其表达的蛋白产物在细胞凋亡和肿瘤抑制中过表达而被发现。miRNA-21 与 PDCD4 的 3'端非编码区结合可以抑制 PDCD4 的转录。PDCD4 蛋白 67 位和 457 位丝氨酸残基的磷酸化受 Akt 调控,磷酸化的 PDCD4 发生泛素化,最终被蛋白酶体降解。PDCD4 表达的丢失与多种肿瘤的发展和预后紧密联系。研究发现,PDCD4 的过表达可通过抑制 Jun 氨基末端激酶阻止 AP-1 激活。Zhang 等^[10]在对乳头状甲状腺癌细胞系 TPC-1 细胞的研究中发现,上调 miRNA-21 的表达后可抑制 PDCD4 蛋白的生成,激活 PI3K/AKT 信号通路,从而提高 TPC-1 细胞的增殖和侵袭,并抑制 TPC-1 细胞的凋亡。Bera 等^[11]在研究胃癌细胞系 ACHN 细胞和 786-O 细胞时发现,miRNA-21 通过抑制 PDCD4 的表达,促进 Akt 磷酸化或 IKK β 的活化,进而增加癌细胞的迁移和侵袭。

2.3 miRNA-21 通过 hSulf-1 调控 PI3K/Akt 信号通路 硫酸乙酰肝素(HS)是一种由重复无支链带负电二糖组成的葡萄糖胺聚糖,在体内硫酸乙酰肝素链与核心蛋白共价结合组成硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(HSPG)^[12]。人芳香基硫酸酯酶-1(hSulf-1)可以去除 HS 链上的硫酸基团,降低 HSPG 的硫酸程度,使 HSPG 参与的信号通路转导效率降低,从而实现对接有肝素的生长因子受体类信号通路负调控^[13]。Bao 等^[14]提出肝细胞癌中 miRNA-21 表达的上调,可使其靶位点 hSulf-1 的表达增加,导致下游的 AKT 和 ERK 信号分子的磷酸化水平降低,从而使 AKT 和 ERK 所在的信号通路活性降低,最终通过诱导上皮细胞化生为间质细胞来调控肿瘤的发展、癌细胞的浸润和转移。

2.4 miRNA-21 通过 TGF β 1 调控 PI3K/Akt 信号通路 转录生长因子 β 1(transforming growth factor beta, TGF β 1)是在对人肺癌细胞系研究时发现。作为 TGF- β 超家族的成员之一,TGF- β 1 与胚胎发育、机体稳态和发病机制有关。TGF- β 1 的 FAS1 结构域可抑制肿瘤新血管的生成和生长。TGF- β 超家族信号分子被细胞质中的信号分子 Smad2 和 Smad3 磷酸化后而激活,激活后的 TGF- β 信号分子可影响 Smad 依赖的信号通路,包括 Erk、p38 MAPK 和 PI3K 信号通路^[15]。在对通城猪(一种著名的本土猪)的骨骼肌的发育过程的研究中发现,miRNA-21 通过与 TGF β 1 3'端非编码区结合来抑制其表达,导致 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活,进而促进骨骼肌细胞的生长^[16]。

2.5 miRNA-21 通过 PIK3R1 调控 PI3K/Akt 信号通路 PIK3R1 基因编码 PI3K 的调节亚基 p85 α ,该调节亚基参与 PI3K 的构成^[17]。当缺乏上游信号分子时,p85 α 稳定并抑制催化亚基 p110 α 。PIK3R1 基因突变后可使 p85 α 减少对 p110 α 的抑制、失去对 PTEN 的调节或增加对不可预知信号通路的激活^[18]。PIK3R1 基因既可以表现为致癌基因也可以表现为抑癌基因。Yan 等^[19]在对乳腺癌细胞进行研究时证实,PIK3R1 是 miRNA-21 的直接靶基因;PIK3R1 可促使 p85 α 水平的增加,从而降低 Akt 的活化;miRNA-21 靶控 PIK3R1 基因来抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活,从而促进乳腺癌细胞的生长、迁移和侵袭。

2.6 miRNA-21 通过 EGFR 调控 PI3K/Akt 信号通路 表皮生长因子受体(EGFR)属于酪氨酸激酶受体家族,其家族成员主要包括 EGFR(HER1)、HER2、HER3、HER4。研究发现,EGFR 广泛分布于上皮细胞的细胞膜上,分为膜外区、跨膜区、膜内区 3 个部分。配体与 EGFR 细胞膜外结构域的结合诱导

EGFR 激酶的活化,活化的 EGFR 激活细胞内的通路,例如 RAS/RAF/MEK/ERK、PI3K/AKT/TOR 等,引起细胞内信号通路级联放大效应^[20]。在对人脑胶质瘤细胞系 U251 细胞进行研究时发现,反义 miRNA-21 可使 miRNA-21 得表达明显下降,导致靶基因 EGFR 表达的降低以及活化的 Akt 的减少,从而降低 EGFR/AKT 信号通路的活性,抑制胶质瘤细胞的增殖和促进它的凋亡^[21]。随着对 EGFR 研究的深入,Zhang 等^[22]证实,反义 miRNA-21 对 EGFR/AKT 信号通路的抑制作用,是通过靶控希佩尔-林道(VHL)和过氧化物酶体增殖物激活受体 a(PPARa)实现的。

2.7 miRNA-21 通过 VEGF 调控 PI3K/Akt 信号通路 血管内皮生长因子(VEGF)是血管生长因子家族成员之一,作为一种细胞有丝分裂原,能特异性结合并激活血管内皮生长因子受体(VEGFR)-1 和 VEGFR-2,调节血管生成、血管再生以及影响血管通透性,其中 VEGFR-1 对血管生成主要起着抑制作用,而 VEGFR-2 对促血管生成主要起着促进作用^[23]。在对 EA-hy926 细进行研究时发现,miRNA-21 mimic 转染细胞后导致细胞中的 miRNA-21 表达上升,引起 VEGF 表达升高,磷酸化的 Akt 的含量上升,导致 VEGF/Akt 信号通路的激活,从而介导黄芪甲苷的促内皮细胞增殖、迁移和血管新生作用^[24]。

3 miRNA-21 对 PI3K/Akt 信号通路调控的潜在作用靶点

miRNA-21 主要是通过作用于其靶基因来实现对 PI3K/Akt 信号通路间接调控。miRNA-21 靶基因的确定工作量大,确定过程复杂,虽然近几年对 miRNA-21 的研究不断增加,但已经证实的 miRNA-21 的直接靶基因并不多,对其靶基因的筛选和验证仍是今后研究的重点和难点。目前,常用的 miRNA-21 靶基因预测软件中数据较全面且更新较快的有 miRBase、TargetScan 及 Pictar 等。对这些数据库检索发现,ACVR2A、NTF3、MAP3K1、SMAD7、TGFB1 等为 miRNA-21 的潜在作用靶点。刘国跃等^[25]发现,在功能学和形态学方面 miRNA-21 的过表达对高氧性急性肺损伤(HALI)大鼠肺组织具有重要的保护作用,抑制肺泡 II 型上皮细胞(AEC II)凋亡可减轻 HALI。进一步研究发现 miRNA-21 的过表达导致 Bax、caspase-3 表达明显降低以及 Bcl-2 表达明显增加,AEC II 凋亡的抑制可能是 miRNA-21 通过靶控 Bax、caspase-3 和 Bcl-2 的表达实现^[26]。通过对 Human Protein Atlas 数据库的查询,新发现 23 种基因表达的蛋白通过激活 PI3K/Akt 信号通路在多种肿瘤中发挥作用。这些蛋白是 AKTIP、ARP1、BAD、BCL2、CCND1、CREBBP、caspase-9、CDKN1A、FAS、FOX1、GSK3A、GSK3B、MERTK-1、PIK3CA、PRR5、PSTPIP2、PTK2、RHEB、RPS6KB1、TSC1、TP53、WFIKKN2 and XIAP。其中的六种蛋白在肿瘤细胞中高表达,它们是 CCND1、MERTK、PIK3CA、RPS6KB1、RHEB、TSC1 and TP53。剩余的 16 种蛋白在肿瘤细胞中低表达或不表达^[27]。对这些潜在靶位点的研究,将会为疾病在分子层面的治疗提供新的参考。

4 展 望

综上所述,miRNA-21 通过作用于不同的靶基因,对 PI3K/Akt 信号通路进行调控,最终在细胞凋亡、能量代谢、肿瘤发生发展、以及骨骼肌的生长等过程起着调节作用,由此可见,miRNA-21 可作为新的靶点来调节细胞增殖和凋亡。miRNA-21 在调控 PI3K/Akt 信号通路中所发挥的作用,可为临床诊断和疾病治疗提供新线索。虽然对 miRNA-21 的研究已取得一定进展,但目前仍然存在许多不足的地方。例如,尽管关于 miRNA-21 靶基因的研究不断增加,但是现在的研究大多数

与肿瘤方面有关,针对重要脏器保护方面的研究并不多,应用于临床治疗并取得一定疗效成果更少。随着对 miRNA-21 靶基因研究的不断深入,上述问题的答案将不断揭晓。

参考文献

- [1] Chen J, Xu T, Chen C. The critical roles of miR-21 in anti-cancer effects of curcumin[J]. *Ann Transl Med*, 2015, 3(21):330-336.
- [2] Ouyang YB, Xu LJ, Yue S, et al. Neuroprotection by astrocytes in brain ischemia: Importance of microRNAs[J]. *Neurosci Lett*, 2014, 565(SI):53-58.
- [3] Wang LJ, He CC, Sui X, et al. MiR-21 promotes intrahepatic cholangiocarcinoma proliferation and growth in vitro and in vivo by targeting PTPN14 and PTEN[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8):5932-5946.
- [4] Li ZB, Li ZZ, Li L, et al. MiR-21 and miR-183 can simultaneously target SOCS6 and modulate growth and invasion of hepatocellular carcinoma (HCC) cells[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(17):3208-3217.
- [5] Lan F, Pan Q, Yu H, et al. Sulforaphane enhances temozolomide-induced apoptosis because of down-regulation of miR-21 via Wnt/ β -catenin signaling in glioblastoma[J]. *J Neurochem*, 2015, 134(5):811-818.
- [6] Zhao YE, Xu Y, Luo F, et al. Angiogenesis, mediated by miR-21, is involved arsenite-induced carcinogenesis[J]. *Toxicol Lett*, 2013, 223(1):35-41.
- [7] Wang WZ, Lin XH, Pu QH, et al. Targeting miR-21 sensitizes Ph⁺ ALL Sup-b15 cells to imatinib-induced apoptosis through upregulation of PTEN[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 454(3):423-428.
- [8] Yang X, Cheng Y, Li P, et al. A lentiviral sponge for miRNA-21 diminishes aerobic glycolysis in bladder cancer T24 cells via the PTEN/PI3K/AKT/mTOR axis[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(1):383-391.
- [9] Wu ZH, Tao ZH, Zhang J, et al. MiRNA-21 induces epithelial to mesenchymal transition and gemcitabine resistance via the PTEN/AKT pathway in breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6):7245-7254.
- [10] Zhang J, Yang Y, Liu Y, et al. MicroRNA-21 regulates biological behaviors in papillary thyroid carcinoma by targeting programmed cell death 4[J]. *J Surg Res*, 2014, 189(1):68-74.
- [11] Bera A, Das F, Ghosh-Choudhury N, et al. microRNA-21-induced dissociation of PDCD4 from rictor contributes to Akt-IKK β -mTORC1 axis to regulate renal cancer cell invasion[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 328(1):99-117.
- [12] Goldberg R, Meirovitz A, Hirshoren N, et al. Versatile role of heparanase in inflammation[J]. *Matrix Biol*, 2013, 32(5):234-240.
- [13] Liu H, Fu XH, Ji WD, et al. Human sulfatase-1 inhibits the migration and proliferation of SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells by downregulating the growth factor signaling[J]. *Hepatol Res*, 2013, 43(5):516-525.
- [14] Bao L, Yan Y, Xu C, et al. MicroRNA-21 suppresses PTEN and hSulf-1 expression and promotes hepatocellular carcinoma progression through AKT/ERK pathways[J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2):226-236.
- [15] Burks TN, Cohn RD. Role of TGF- β signaling in inherited and acquired myopathies[J]. *Skelet Muscle*, 2011, 1(1):19-31.
- [16] Bai L, Liang R, Yang Y, et al. MicroRNA-21 regulates PI3K/Akt/mTOR signaling by targeting TGF β I during skeletal muscle development in Pigs[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e0119396.
- [17] Juric D, Castel P, Griffith M, et al. Convergent loss of PTEN leads to clinical resistance to a PI(3)K α inhibitor[J]. *Nature*, 2015, 518(7538):240-244.
- [18] Cheung LW, Mills GB. Targeting therapeutic liabilities engendered by PIK3R1 mutations for cancer treatment[J]. *Pharmacogenomics*, 2016, 17(3):297-307.
- [19] Yan LX, Liu YH, Xiang JW, et al. PIK3R1 targeting by miR-21 suppresses tumor cell migration and invasion by reducing PI3K/AKT signaling and reversing EMT, and predicts clinical outcome of breast cancer[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(2):471-484.
- [20] Yarden Y, Pines G. The ERBB network; at last, cancer therapy meets systems biology[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(8):553-563.
- [21] Zhou X, Ren Y, Moore L, et al. Downregulation of miR-21 inhibits EGFR pathway and suppresses the growth of human glioblastoma cells Independent of PTEN status[J]. *Lab Invest*, 2010, 90(2):144-155.
- [22] Zhang KL, Han L, Chen LY, et al. Blockage of a miR-21/EGFR regulatory feedback loop augments anti-EGFR therapy in glioblastomas[J]. *Cancer Lett*, 2014, 342(1):139-149.
- [23] Duric V, Duman RS. Depression and treatment response: dynamic interplay of signaling pathways and altered neural processes[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(1):39-53.
- [24] 陈建东, 黄芩甲苷地缺血心肌促血管新生作用及其与 miRNA-21 关系研究[D]. 南京:南京医科大学, 2015.
- [25] 刘国跃, 陈森, 戢慧, 等. 微小 RNA-21-5p 对大鼠高氧性急性肺损伤的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2015, 22(1):23-27.
- [26] 覃松, 陈森, 戢慧, 等. 微小 RNA-21-5p 拮抗 II 型肺泡上皮细胞凋亡的分子机制[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27(7):574-578.
- [27] Daragmeh J, Barriah W, Saad B, et al. Analysis of PI3K pathway components in human cancers[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(4):2913-2918.