II microRNA 与 癌症

白血病及淋巴瘤研究

白血病是一种恶性的血液疾病（血液肿瘤）。体细胞DNA发生突变会引起原癌基因的活化及抑癌基因的失活，从而使细胞的凋亡、分化或分裂等过程发生紊乱，最终导致白血病的发生。1960年，研究人员首次发现人类22号染色体在与9号染色体（也称为“费城染色体”）发生易位之后会异常缩短，这是世界上第一次发现在任何恶性肿瘤中都能够发生的染色体突变情况。近年来，随着对影响细胞增殖的细胞因子及调控因子研究的不断深入，人们发现那些编码各种转录因子的基因很可能参与了对白血病的分子调控。由于miRNA能介导mRNA的剪切或抑制其所携带遗传信息的转录，白血病研究领域的研究人员也开始关注miRNA与其靶信使RNA的这种相互作用，特别是那些与白血病病理过程相关的基因。以往通常采用Northern-blot和RT-PCR等低通量的技术手段来研究miRNA的表达，现在新开发的芯片技术几乎能够在任何类型样品中高通量获得所有miRNA及其前体的表达谱。

miRNA研究回顾

1） Jia Yu等人在分析了Sanger miRNA registry（7.1版）中所有人类326个miRNA的成簇性后发现有148个可以归属到9组51个簇中。根据实验模型得出的结果，该小组成员随后在多种不同的造血细胞系中进行了Northern-blot实验，他们的目的是想证明在造血过程及白血病发病过程中也存在所发现的那些miRNA簇。这项突破性的研究首次系统报道了人类造血细胞miRNA簇表达谱，让人们首次认识到这些miRNA基因簇在不同生物过程中的生理功能和作用机制。

更多阅读：http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=1078

2） George Calin和一个国际研究小组合作，他们利用miRNA表达谱研究了B细胞慢性淋巴性白血病（chronic lymphocytic leukemia, CLL）中miRNA的表达特点。George等人采用了分别对应245种人类及小鼠miRNA的特征性寡核苷酸探针来进行芯片实验，进而发现了miRNA组表达模式在CLL与正常的CD5阳性B淋巴细胞中存在显著的差异。实验人员同时也用Northern-blot及实时定量逆转录PCR验证了这些芯片结果。研究人员在对人类CLL进行miRNA微列阵分析后，发现有近200个miRNA表现出与CLL生物病理特征相关的表达特点，其中就包括一些与CLL预后相关的miRNA。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=241

3） 为明确miRNA是否参与CLL的基因调控，Yuri Pekarsky与来自俄亥俄州立大学（Ohio State University）及加州大学圣地亚哥分校（University of California, San Diego）的研究人员共同研究了原癌基因TCL1（T-cell leukemia/lymphoma 1）在B细胞性慢性淋巴细胞白血病中的表达（B-CLL）。3个小组的研究人员采用miRNA芯片技术检测了326个人类及249个小鼠的miRNA基因后发现，miRNA在B-CLL中具有显著的特征性表达模式。之后他们又继续进行了Western-blot实验以证明之前的预测，即Tcl1蛋白的过表达与恶性B-CLL的表型及染色体上11q区域的缺失相关。接下来研究人员使用一种miRNA靶标预测软件RNAhybrid预测出TCL1最有可能是两个miRNA的靶标，这两个miRNA分别是miR-29b和miR-181b。Yuri Pekarsky等人最后用实时定量逆转录PCR及荧光素酶报告实验证实，表达这两个miRNA能抑制mRNA及蛋白水平Tcl1的表达。这些实验结果提示Tcl1蛋白的表达至少在一定程度上受到miR-29b和miR-181b的调控。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNACancer_leukemia.aspx

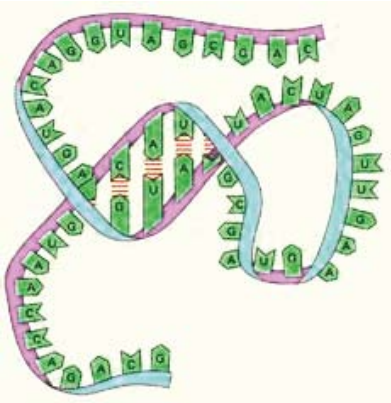
肺癌研究

肺癌通常指肺部组织的恶性转化及增殖。肺癌是世界范围内死亡率最高的一种肿瘤，估计每年有多达300万人死于该病。根据肿瘤的大小以及显微镜下观察到的癌细胞的组织形态，肺癌可以分为两类：非小细胞肺癌（80%）和小细胞肺癌（约20%）。吸烟是人们罹患肺癌的原因之一，此外，有研究发现基因调控也是导致肺癌发生的一个重要因素。近期有研究表明至少有60种DNA突变（低外显率等位基因）会略微提高罹患肺癌的几率。由于肺癌的死亡率高于其它任何一种肿瘤，因此更需要对其发病机制作更深入的研究。尽管目前的分子生物学研究成果有助于我们了解肺癌的发生与发展，但那些暂时未发现的分子标记对于我们全面地了解肺癌的生物学特征仍旧起着至关重要的作用。miRNA就是众多有待发现的生物标记之一，因为它通过表观遗传学机制进行基因表达调控，而以往都是利用Northern-blot和RT- PCR等低通量的技术手段研究miRNA的表达。得益于技术的进步，今天我们已经可以用芯片技术全面研究任何类型样本中miRNA及其前体的表达谱。

miRNA研究回顾

1） Nozomu Yanaihara等人在肺癌的诊断与预后中研究了microRNA分子表达谱，结果显示miRNA表达谱实际上是一项肺癌诊断与预后标记。该研究小组结合传统的RT-PCR技术与先进的芯片技术发现并证实了miRNA表达特征，同时将miRNA的表达改变与肿瘤相关基因的下调相关联。肺腺癌的miRNA分子标记还与病人的生存相关，这其中包括那些与肿瘤迁移并不相关的miRNA。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=826



2） 来自日本的Yoji Hayashita等人研究了21种miRNA在多种肺癌细胞系中的表达改变。之所以选择这21个miRNA是因为经过miRNA靶标预测软件TargetScan的预测，它们的靶基因都与肿瘤发展密切相关。该研究小组将Northern-blot及Southern-blot技术与RT- PCR技术相结合，在19种肺癌细胞系及2种永生化的肺表皮细胞系中得到了全面的miRNA表达谱。这项研究首次提供证据证明了肺癌患者染色体13q31.3区域C13orf25基因第三个内含子中的miRNA簇（miR-17-92）会经常发生过表达，这一现象在具有小细胞肺癌病史的病人样本中尤为明显。研究人员进一步表明该miRNA簇对肺癌细胞的生长具有刺激活性，并且认为C13orf25基因很可能是miRNA簇miR-17-92的一个表达载体。

更多阅读：http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=645

3） 来自耶鲁大学（Yale University）的Steven Johnson等人与来自Ambion公司的科研人员一道，共同探究了lethal-7（let-7）microRNA家族究竟如何调控RAS这一与信号传递G蛋白相关基因。研究人员使用了芯片技术并结合Northern-blot实验，发现let-7 miRNA家族在秀丽隐杆线虫（*C. elegans*）的两个不同组织及两个不同人类细胞系中都负调控RAS。他们在肺癌组织中发现miRNA let-7的表达与RAS蛋白的表达呈负相关，并且还在体外实验中证明了let-7的过表达会抑制肺癌细胞系的生长，这暗示二者之间很可能存在一个因果关系。该研究小组对于let-7在肺癌中的研究结果可以总结如下：let-7在肺癌中表达下调，肺癌患者的染色体经常会缺失许多包涵了let-7基因的区域，过表达let-7可以抑制肺癌细胞系的生长，原癌基因RAS的表达受到let-7的调控，最后是RAS在肺癌样本中显著过表达。以上这些结果显著表明let-7是肺组织中的一个肿瘤抑制因子。

更多阅读：http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=205

脑瘤和神经系统肿瘤研究

脑瘤是由异常和失控的细胞分裂所致产生的一种颅内肿瘤。脑组织本身、颅神经、脑膜、头骨、垂体和松果体等都是脑瘤经常发生的地方，当然，脑瘤还可能是由身体其它器官的肿瘤转移而来。尽管脑瘤能够影响脑部任何部分的功能，但原发性脑瘤在儿童中位于后颅窝沟，而在成人中则位于脑半球的前三分之二。最常见的原发性恶性脑瘤是多形性胶质母细胞瘤（glioblastoma multiforme, GBM），该肿瘤具有很强的侵袭性和转移能力。尽管治疗GBM的手术及化疗方法都在不断改进，但病人的预后还是非常差，所以国际上有许多研究团体都致力于该肿瘤的研究，以期有所斩获。尽管已经有一些遗传和分子损伤被证实与GBM的发生相关，但我们仍然需要获取更多关于GBM发生与治疗的重要信息。

miRNA研究回顾

1） S.A. Ciafre等人分别采用基因芯片技术和Northern-blot技术在发病率最高的原发性脑瘤——多形性胶质母细胞瘤中鉴定和证实了245种miRNA的表达情况。在对胶质母细胞瘤组织及胶质母细胞瘤细胞系进行分析比较后，该研究小组鉴定出了一批在肿瘤中表达水平发生显著改变的miRNA。

更多阅读：http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=513

2） 虽然目前已证实的哺乳动物miRNA特异性靶标还很有限，但研究人员发现miRNA在多种器官的正常发育过程中都能够影响细胞的增殖与分化。Chan等人研究了miR-21在多形性胶质母细胞瘤中的表达，结果发现miR-21对体外培养的多形性胶质母细胞瘤细胞的凋亡具有抑制作用。该研究小组不仅使用了芯片技术获得miR-21的表达信息并用Northern-blot技术加以证实，他们还在细胞发生凋亡之后开展了细胞转化实验，以确证miR-21的抗凋亡效果。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=509

3） 直至目前我们还无法通过原位杂交技术得到miRNA表达谱，原位杂交实验仅局限于在新鲜组织中进行。Peter Nelson等人利用新开发的RAKE（RNA-primed、array-based、Klenow Enzyme）miRNA芯片技术平台以及锁定核酸原位杂交（Locked Nucleic Acid（LNA）-based in situ hybridization, LNA-ISH）技术对先前已制备好的石蜡包被的人类大脑及少突神经胶质瘤组织样本进行了miRNA原位表达研究。他们将miRNA的表达研究从组织水平提升到亚细胞水平，从而，以前在miRNA原位表达研究中不能使用的大量石蜡包被组织样本现在成为重要的实验材料。该项研究显示了在正常人大脑及少突神经胶质瘤组织中所表达的特异miRNA。不仅如此，原位杂交技术成功被应用于筛选RAKE获得数据以及进行特异miRNA的定位，这充分说明miRNA在人类组织标本中具有很好的稳定性。所以不难想象，在组织样本中对miRNA进行原位研究将是未来miRNA研究的一个重要组成部分。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=713

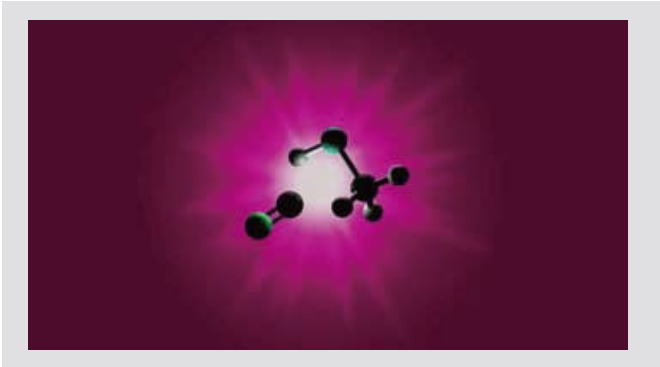
乳腺癌研究

除了非黑素瘤皮肤癌之外，乳腺癌是女性最常患的一种肿瘤，每8名女性中就有1名存在罹患侵袭性乳腺癌的风险。除了侵袭性乳腺癌外，另外一种非侵袭性乳腺癌也能使大量女性同胞遭受病痛。估计2007年新增加的罹患该病的人数将超过62000。乳腺癌不仅是女性最常患的肿瘤，同时也是女性仅次于肺癌的第二大肿瘤杀手。男性由于缺乏对于乳腺癌的免疫能力，故同样很容易罹患此病。研究人员已经对乳腺癌相关基因作了深入研究，发现了几个与该病密切相关的基因。研究结果表明，携带异常BRCA1或BRCA2基因的女性在70岁前患乳腺癌的几率高达85%，此外，她们同时还是卵巢癌的高发人群。除这两个基因之外，科研人员还发现了一些与乳腺癌相关的基因，例如肿瘤抑制基因p53、隐性基因ATM以及不久前证实的基因p65。除了鉴定与乳腺癌肿瘤发生相关的基因之外，科研人员还发现了一批能作为肿瘤抑制子或原癌基因的乳腺癌特异性miRNA。

miRNA研究回顾

1） 来自美国南伊利诺伊大学医学院（Southern Illinois University School of Medicine）的M-L Si等人利用TagMan real-time PCR技术在乳腺癌组织及与之相匹配的正常乳腺组织中进行了miRNA表达谱研究。与先前的报道一致，该小组发现与正常乳腺组织相比，miR-21在乳腺癌组织中大量过表达。研究人员随后用anti-miR-21寡核苷酸片段转染乳腺癌细胞MCF-7，结果发现anti-miR-21能通过诱导细胞凋亡及阻碍细胞增殖等方式在体外抑制肿瘤细胞的生长及在异植体小鼠模型中有效抑制肿瘤的生长。综合所有结果得知，原癌基因miR-21能够通过调控bcl-2等基因从而调节肿瘤的发生，因此，miR-21可能可以作为一个新的乳腺癌治疗性靶点。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=1212



2） 美国德克萨斯大学（University of Texas）的Anwar Hossain等人研究发现在乳腺癌扩增因子1（amplified in breast cancer 1, AIB1）所编码的mRNA中有大量与miRNA Mir-17-5p互补的区域，并且Mir-17-5p能够通过抑制AIB1 mRNA的转录来调节乳腺癌细胞的增殖。体外细胞培养实验表明Mir-17-5p通过转录抑制而下调AIB1的表达，而在乳腺癌细胞系中Mir-17-5p是低表达的，所以就不难理解为何乳腺癌细胞会表达大量AIB1。该研究小组采用传统的Northern-blot及Western-blot，再辅以报告基因实验、细胞增殖实验和软琼脂集落实验来证明Mir-17-5p在乳腺癌中所扮演的重要角色，同时他们也运用基因过表达和基因敲除的方法证明了Mir-17-5p对乳腺癌细胞锚定不依赖性生长的抑制作用。这些结果开始逐步揭示Mir-17-5p在乳腺癌细胞中发挥肿瘤抑制作用的机制。

更多阅读：http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=1082

3） 美国和意大利的学者开展了一项合作计划旨在研究那些在人类乳腺癌中表达异常的miRNA。他们使用Northern-blot及芯片技术来证实他们所发现的每一个乳腺癌特异性miRNA。研究人员鉴定出了表达发生显著失调的一批miRNA（mir-125b、mir-145、mir-21以及mir-155），同时他们还发现了一些与乳腺癌某些病理特征，例如雌激素分泌、黄体酮受体表达、肿瘤分期、血管侵袭和癌细胞增殖相关的miRNA。该项研究成果加深了人们对于乳腺癌分子机制的认识，提示了一些miRNA的异常表达很可能在乳腺癌的发病机理中扮演极其重要的角色。

更多阅读：http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=538

前列腺癌和结肠癌研究

前列腺癌与结肠癌都属于上皮细胞癌，即发生病变和恶性转化的是包裹器官的上皮组织，而不是器官本身。目前美国男性患前列腺癌的人数已经超过肺癌而跃居第一位，同时前列腺癌患者的死亡率在各种肿瘤中也同样高居第二位。在西方国家，结肠癌的患病人数虽位列第三，但其致死率却排名第二。尽管对于前列腺癌和结肠癌等上皮细胞癌已经进行了相当多的研究，但我们对于这些肿瘤分子发生机制的了解还相当少。最近的一些前列腺癌研究结果表明染色体的重排会导致一些基因相互合并，形成研究人员所称的融合基因。在大多数所研究的前列腺癌组织样本中都观察到这种具有独特的分子特征的融合基因，但是在良性或者未发生恶性转化的前列腺组织中则未发现有基因融合现象。这些重要的研究发现说明在其它上皮细胞肿瘤中也可能会发生染色体的重排。miRNA在这类型肿瘤中的作用开始受到关注，研究人员想弄清楚miRNA在上皮细胞肿瘤中究竟起到何种作用。

miRNA研究回顾

1） 来自旧金山海湾地区的Michael Mattie等人采用经过优化的高通量miRNA表达谱技术评估了前列腺癌和乳腺癌活组织样本中的一些新的生物标记。传统的高通量miRNA表达谱研究需要大量样本，而临床样本通常只是少量手术切除的病变组织或者穿刺检查剩下的一点组织，因此大大限制了高通量技术的运用。Michael Mattie等人所采用的高通量研究方法只需要极少量的样本，因此克服了样本量不足这个障碍。在该项研究中，研究人员采用了一种全新的研究方法，即将miRNA的标记与线性放大相结合，从而只需要几皮克

纯化的miRNA就能获得高敏感度的miRNA芯片表达谱。在两个不同前列腺癌细胞系中分别用芯片技术和RT-PCR检测了miRNA的表达水平，二者的结果体现了很好的一致性（R^2=0.81）；对乳腺癌和前列腺癌病人临床活组织样本的研究结果成功证明了样本放大、标记和芯片研究这一技术平台的有效性。该小组的研究成果表明采用经过优化的miRNA特异性芯片技术平台就能从乳腺癌和前列腺癌的活组织切片这样的小量临床样本中获得能够提供新的生物鉴定标记的miRNA表达谱。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=976

2） Yukihiro Akao等人在对miRNA let-7在人类结肠癌和细胞系中的表达作了一番研究后发现，不论是肿瘤组织还是细胞系中都有约三分之一出现let-7表达下调。该研究小组使用半定量逆转录PCR，同时结合使用细胞转染及Western-blot实验以研究let-7在结肠癌中究竟扮演何种角色。向低表达let-7的人类结肠癌细胞DLD-1中转染let-7a-1前体（染色体 9q22.3）后，细胞生长受到抑制而且RAS及c-myc蛋白表达水平也出现下调，但是编码这两个蛋白的mRNA却没发生显著变化。该实验结果表明miRNA let-7很可能参与了对结肠癌细胞生长的调节，而且还强调了miRNA对于开发新的抗肿瘤RNA药物的重要性。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=893

3） Yaguang Xi等人利用细胞株HCT-116（p53野生型）和HCT-116（p53缺失型）在结肠癌中研究了肿瘤抑制子p53调节miRNA的表达以及已发生转录的信使RNA的机制。研究人员采用了miRNA芯片技术和实时定量逆转录PCR技术以研究p53对miRNA的表达影响。结果表明细胞内有近200个mRNA会受到转录后水平的调节。进一步的序列分析表明这些mRNA中有一些可能是miRNA的靶标，例如转录起始因子eIF-5A、eIF-4A以及蛋白磷酸酶1（Protein phosphatase 1）。Yaguang Xi等人所开展的这项开创性研究第一次证明了野生型p53与miRNA之间的相互作用会影响其它基因的表达，从而让我们更深入地了解了p53如何通过不同机制在多个水平调节基因的表达。

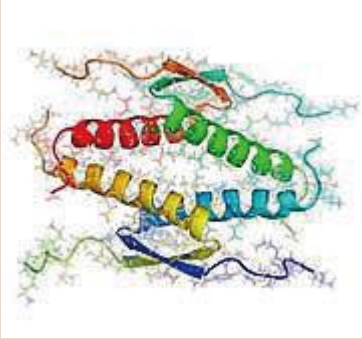
更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=868

科研综述 研究前沿 热点话题
技术方法 专题评述 生命百态
会议展览 教学视频

www.LifeOmics.com

p53研究

由于肿瘤抑制基因p53在信号转导途径及细胞DNA修复中所起的重要作用，1993年著名的美国《科学》（*Science*）杂志将其评选为当年的“年度分子”（"Molecule of the Year"）。P53具有重要的生物学功能，它能通过多种机制行使一个抗肿瘤基因的作用。在细胞受到持续损伤时p53能够激活DNA修复功能，阻断细胞周期，在损伤过于严重以致不能修复时甚至会诱导细胞凋亡。有趣的是，在正常没有受到损伤的细胞中，p53以一种失活形式存在，并与MDM2蛋白结合。一旦DNA发生损伤，MDM2就会发生磷酸化并与p53分离。随着技术的进步，研究人员现在已能观察p53在多种细胞损伤应答中所扮演的角色，特别是肿瘤细胞。目前认为miRNA参与了多个生物信号途径的调节，其中就包括p53信号转导途径。



miRNA研究回顾

1） 来自瑞典卡罗林斯卡研究所（Karolinska Institute，Sweden）的Cristina Méndez Vidal等人在小鼠中研究了p53介导的Wig-1蛋白表达，发现该蛋白能够与具有siRNA和miRNA类似结构特点的双链RNA结合。该小组研究人员采用细胞培养、转化及免疫学技术在体外证实Wig-1能够与siRNA/miRNA结合，从而提示Wig-1参与了miRNA对细胞生长和生存的调节，这同时也揭示了p53如何通过miRNA来诱导细胞生长阻滞和/或凋亡。研究人员认为，Wig-1与miRNA结合后能够稳定miRNA与其靶mRNA形成的不完全配对双链，从而影响靶mRNA的稳定性、转录甚至翻译。基于已有的发现，研究人员构建了缺失双链RNA结合能力的Wig-1突变体以进一步研究Wig-1的功能，这一研究结果将最终确定Wig-1与双链RNA的结合在p53介导的肿瘤抑制中所起的作用。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=1101

2） 来自荷兰、意大利及日本三地的科研人员合作构建了一个表达大多数人类miRNA克隆及所对应DNA片段的载体文库以筛选具有新型功能的miRNA。经过筛选，研究人员发现miR-372和miR-373在细胞转化过程中是原癌基因的帮凶，两者皆能够诱导含有原癌基因RAS和野生型p53基因的人类原代细胞发生增殖和癌变。这些miRNA可以直接抑制肿瘤抑制蛋白LATS2的表达，从而，减轻p53对CDK蛋白表达的抑制作用。该小组的研究结果表明miRNA很可能是人类睾丸精子细胞癌的潜在原癌基因，由于miRNA能够阻断p53信号通路，因此即使在有野生型p53存在的条件下细胞仍然可以发生恶性生长。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=842

3） Michael Dews等人对由Myc激活的miRNA簇所导致肿瘤血管生成增加的现象进行了研究，以确定原癌基因Myc在遗传背景复杂的肿瘤中对新血管生成的影响。在体外，低度过表达激活的K-RAS或Myc基因就能导致p53缺失小鼠的结肠细胞发生恶性转化，因此研究人员利用结肠细胞这一特性分别在体内和体外研究了RasGfp与RasGfpMyc对细胞生长的不同影响。为了确定Myc对肿瘤生长的作用，研究人员对不同大小的肿瘤进行了免疫组化分析，之后又采用芯片技术测定了Myc对促血管和抑血管生成分子表达的影响（芯片结果经过了RT-PCR和免疫印迹的验证）。研究人员继续开展了蛋白表达和细胞生长研究以弄清miR-17-92在恶性生长且只表达RAS的细胞中发生表达上调所具有的生物学意义。研究结果表明，miR-17-92会影响一些非细胞自身的生理过程，例如肿瘤的血管生成。因此，针对miRNA的反义核苷酸片段正作为一项新的治疗技术而越来越受到人们的重视，因为这种技术可能对那些已经具有抗凋亡能力的肿瘤细胞具有同样的疗效。

更多阅读: http://www.opengenomics.com/miRNAPublications.aspx?PID=1040

知易行难/编译