

## miRNA 在唾液腺腺样囊性癌中的研究进展

刘发焯<sup>1</sup>, 罗春英<sup>2</sup>

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院附属医院病理科, 广西 百色 533000)

**摘要:** 唾液腺腺样囊性癌(Adenoid cystic carcinoma of salivary gland, SACC)是涎腺中常见的恶性肿瘤,具有嗜神经侵袭性,其远处转移发生率高,其中肺转移最为多见,发生肺转移的患者平均生存时间短、预后差,是患者的主要致死病因之一。近年来研究发现 miRNA 与多种恶性肿瘤的侵袭、转移和复发有关,研究 miRNA 在唾液腺腺样囊性癌的发生、发展和转移过程中的作用,有助于寻找改善腺样囊性癌患者预后、降低转移、复发和肿瘤新的治疗方案的方法和途径。

**关键词:** 唾液腺腺样囊性癌; miRNA; 增殖; 转移

**中图分类号:** R739.87

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2018)05-0486-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.05.024

miRNA 的调控失调几乎存在于所有的人类恶性肿瘤中。唾液腺腺样囊性癌(salivary adenoid cystic carcinoma, SACC)虽然发病率低,但其临床预后差。临床治疗以手术以及放化疗为主,且术后复发转移率高。近年来已有许多研究证明,miRNA 在各种肿瘤组织中表现出不同水平的上调或下调,促进肿瘤的发生和演进,成为影响肿瘤细胞发生、发展的重要因素。本文就近年来对 SACC 中 miRNA 分子标志物的研究新进展作一综述,为 SACC 的转移及复发的判断提供理论基础,以求为该疾病的治疗和诊断做出进一步的贡献。

### 1 miRNA 生物学特性及功能

miRNA 是近年来在多种真核细胞及病毒中发现的一类有 18 到 25 个核苷酸的短链非编码 RNA,其作用机制是通过与 mRNA 的 3' 端非编码区互补结合靶向裂解 mRNA 或抑制该 mRNA 的翻译,从而调控基因的表达。到目前为止,人类约有 2000 个 miRNA 基因组被发现,人类近 60% 的 mRNA 被证明包含 miRNA 的结合位点,其中约三分之一的蛋白编码基因受 miRNA 调控<sup>[1]</sup>。miRNA 的主要功能是调节生物体的生长发育,影响疾病发生过程中相关基因的表达。许多研究人员已经通过实验发现,miRNA 在各种肿瘤组织中的表达水平均有着不同程度的改变,这一现象表明 miRNA 在肿瘤细胞中表达水平的异常是影响肿瘤发生发展的重要因素。miRNA 作为一类具有调控功能的非编码单链小分子 RNA,通过核酸序列的互补

性,结合到特定的靶 mRNA,然后向上调节翻译或是降解靶 mRNA 从而来调节目的基因的表达。目前已知 miRNA 调节了多种生物学信号通路,尤其是 miRNA 的表达与多种人类的肿瘤相关。在肿瘤的发生发展与代谢过程中,miRNA 参与调控细胞分化、增殖、生长、迁移、凋亡等许多细胞行为。

### 2 SACC 特征

SACC 又被称为涎腺腺样囊性癌,是最常见的唾液腺恶性肿瘤之一,约占唾液腺恶性肿瘤的 21%~24%,以及头颈部恶性肿瘤的 1% 左右。本病的临床病理特点表现为病程进展缓慢,局部侵袭能力很强、血行性转移率高,具有嗜神经侵袭及肺部转移两大生物学特性。该病远处转移率可高达 40%,其中以肺部转移、骨转移以及肝脏转移最为常见,被研究人员及临床工作者称为头颈部最具有破坏性及最难以评估的肿瘤之一。目前,外科手术切除和辅助性的化疗治疗仍然是治疗 SACC 的主要手段,但是外科手术治疗不易彻底根治,而且该病对放化疗不敏感。部分患者甚至在原发部位已经得到良好控制后,局部复发及远处转移仍时有发生,腺样囊性癌的预后依然较差。

### 3 miRNA 与 SACC 发病的关系及 miRNA 的作用机制

在最新的研究报道中,WANG 等<sup>[2]</sup>进行了 SACC 转移相关 mRNAs 和 microRNAs 的基因组分析,证明 miR-3385p/3p 通过靶向 LAMC2 对抑制 SACC 细胞的侵袭与转移。在 2010 年,研究人员就利用 miRNA

**基金项目:** 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S201651),百色市科技计划项目(百科计字 2016[3]号),广西高校重点实验室开放课题(gxzdssysy2015204)

**第一作者简介:** 刘发焯(1993-),男,在读硕士研究生,研究方向:病理学与病理生理学,E-mail:631082133@qq.com

**通信作者简介:** 罗春英(1977-),女,硕士研究生导师,教授,研究方向:病理学与病理生理学,E-mail:chun2005008@163.com

芯片检测, qRT-PCR 验证, 靶基因软件预测, 筛查出了一组可能与 SACC 转移侵袭有关的特异 miRNA 及其靶基因。预测了 miR-24、miR-23b、miR-320 等多个与 SACC 相关的 miRNA, 并提出了这些 miRNA 的靶基因<sup>[3]</sup>, 这些 miRNA 都在 SACC 细胞中出现了明显的表达差异, 他们通过作用于其靶基因, 导致了 SACC 不同的肿瘤生物学行为。此外, 实验中还发现一系列包括 miR-15a、miR-16、miR-222、miR-126 等 miRNA, 它们对癌症的发生表现出抑制或促进的作用。miRNA 作为肿瘤增殖转移中的重要研究对象, 它们的异常表达与肿瘤大小、临床分期及复发密切相关, 探究不同表达的 miRNA 对 SACC 的影响有助于我们更好地为 SACC 寻找治疗措施。总之, 这些 miRNA 的提出都为我们寻找新的分子标志物与靶向基因来对目前治疗预后效果不佳的 SACC 打下一定基础。

**3.1 miR-21** miR-21 作为一个在不同的肿瘤中经常被过度表达的 miRNA, 许多研究证明它通过靶向抑癌基因进而与肿瘤的进展密切相关。目前已有许多的研究探讨了 miR-21 在 SACC 进展中起作用, 并探讨其相关的可能机制。如在 Jiang 等<sup>[4]</sup>的研究中证实, miR-21 的表达水平在 SACC 高于正常涎腺组织, 且在转移肿瘤中的表达也明显高于不转移的组织, miR-21 可能通过 MiR-21-PDCD4-Stat3 通路对 SACC 的进展与转移进行调控。YAN 等<sup>[5]</sup>的研究发现, miR-21 可通过调控 PTEN 和 Snail 蛋白的表达, 通过影响 SACC 细胞的 EMT 过程进一步调控 SACC 细胞的转移和侵袭。而黄育萌等<sup>[6]</sup>在实验中初步发现 miR-21 的下调可能增加 SACC 细胞对放疗的敏感性。提示同一 miRNA 在不同的情况下可能从 SACC 的转移侵袭或者对放化疗的敏感性等多方面对 SACC 的增殖转移进行调控。这些研究的发现为我们从多角度考虑 miRNA 对于 SACC 肿瘤的生物行为等方面提供了新的思路。

**3.2 miR-155** 在以往报道与研究中, miR-155 总是以过表达的表现形式出现在其他恶性疾病中<sup>[7-8]</sup>, 事实上, 先前的研究报告了 miRNA155 与乳腺癌<sup>[9]</sup>、结肠癌<sup>[10]</sup>和胰腺癌<sup>[11]</sup>肿瘤细胞增殖的相关性, 已经提示了 miRNA155 促进细胞周期进程与细胞的侵袭。Liu 等<sup>[12]</sup>通过实验初步解释了 miRNA155 的表达程度与 SACC 的增殖和侵袭性之间的关系, 他们发现 miRNA155 的异常表达在 SACC 的病理标本及细胞系中均有发生, 且与正常腺体组织和多形性腺瘤存在着显著的差异; 下调 miRNA155 的表达可以抑制 ACC-2 细胞在体外的增殖, 导致细胞周期 G<sub>1</sub> 期的阻滞, 使 ACC-2 细胞发生周期的再分布, 这与之之前 miRNA155 在其他肿瘤中的促进表达作用结论一致, 说明 miR-

NA155 有极大可能对肿瘤潜力无限的复制能力有一定的影响。同时降低 miRNA155 的表达可以影响 SACC 细胞中的 EGFR 的表达和 NF- $\kappa$ B 信号通路, 从而下调 ACC-2 细胞的体外侵袭能力, 显著抑制 SACC 细胞在裸鼠体内移植瘤的生长及肺转移能力。对于 miRNA155 进行更加深入的研究与探讨, 将会为对 SACC 的临床诊断和治疗有重要意义。

**3.3 miR-181a** miR-181a 在多种肿瘤, 如胃癌、结直肠癌、原发性肝癌等肿瘤中均有不同程度的表达差异<sup>[13]</sup>, 并根据癌症类型种类发挥癌基因或抑癌基因的作用。例如, 口腔鳞状细胞中 miR-181a 水平升高<sup>[14]</sup>, 而在胶质瘤中<sup>[15]</sup>, miR-181a 的水平则表现出下降的行为。研究已证实 miR-181a 可调控 K-ras、TCL1、p27 和 Bcl-2 等基因的表达。在 He 等<sup>[16]</sup>对 SACC 的研究中发现, miR-181a 能抑制 SACC 细胞的迁移、侵袭和增殖。在体外它能抑制肿瘤生长, 在体内抑制 SACC 的肺转移。在他们的荧光素酶报告基因检测中证实了 miR-181a 通过在体外和体内靶向 MAPK-Snai2 途径来抑制 SACC 的转移。而在何倩婷等<sup>[17]</sup>的研究中发现, miR-181a 通过靶向 SLUG 抑制 SACC 的侵袭和迁移。通过提高细胞中 miR-181a 表达, 可以降低 SLUG (Snai1) 基因的表达, 继而有效降低 SACC 的浸润转移能力。另有研究指出 SLUG 是 SCF/c-kit 信号通路中特异性的分子靶点, 在 SACC 的侵袭转移过程中起重要作用<sup>[18]</sup>, 这些发现都为 SACC 的治疗提供了重要的信息。关于 miR-181a 对于 SACC 患者的研究较少, 所以还需要进一步的研究, 以充分发掘 miR-181a 在有转移危险的 SACC 患者中的治疗作用。

**3.4 miR-98** miR-98/let-7 是一个高度保守的小 RNA 家族, 其成员在许多恶性肿瘤中起着抑制肿瘤的作用。在食管癌中, 67.5% 的癌组织中的 miR-98 表达水平较低。在乳腺癌中, miR-98 通过靶向活化素受体样激酶-4 和基质金属蛋白酶-11 来抑制癌细胞增殖、侵袭和血管生成。在恶性黑色素瘤中, miR-98 通过其靶基因 Il-6 通过 STAT 3-NF- $\kappa$ B-Lin28b 信号通路抑制肿瘤的生长。RAS 癌基因家族在多种癌症中异常常见, 其家族成员在肿瘤发生中起着重要作用<sup>[19]</sup>。RAS 通过激活多种细胞内信号转导级联, 包括 RAS/MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 通路, 促进肿瘤的发生<sup>[20-21]</sup>。N-RAS 的表达水平已被证明与肿瘤的恶性程度有关, 包括在乳腺癌、胰腺癌中<sup>[22-23]</sup>。多方研究表明, miRNA 可以调节 N-Ras 的表达<sup>[24-25]</sup>。Liu 等<sup>[26]</sup>通过生物信息学算法最终确定 N-Ras 作为 miR-98 的靶基因, 实验发现了 miR-98 的过表达抑制了细胞的增殖、侵袭和转移, miR-98 通过靶向 N-Ras 发挥抑癌作用, 当 miR-98 在原代组织和 ACC-M 细胞中表达下调

时,N-Ras在SACC组织中的表达明显高于癌旁组织,且其过表达明显与临床分期和肿瘤大小有关。此外,在ACC-M细胞中,过表达的miR-98抑制了细胞的增殖、侵袭和转移。通过PI3K/AKT和MAPK/ERK途径,它很明显地降低了N-RAS的表达与抑制细胞中的信号转导,从而达到抑癌的效果。而在林钊宇等<sup>[3]</sup>的对miR-98的靶基因结果预测也证实了miR-98与侵袭转移有关的靶基因是Ras。虽然我们可以推测miR-98有可能作为抑癌因子,通过负调控其靶基因N-RAS从而在SACC细胞中发挥抑癌作用。但是我们在研究体外细胞株的同时更需要进行进一步的体内研究,以探讨它的作用及其在SACC临床治疗中的潜力。

3.5 miR-24与miR-24-3p miRNA可通过抑制多种基因的表达,来发挥多方面的功能,进而影响SACC的生物学功能,包括细胞活性、增殖、迁移和侵袭能力等。在对于SACC的相关靶点寻找中,已经有相关学者用高通量的miRNA芯片技术发现miR-24可能是作用靶点之一<sup>[3]</sup>,在古丽扎尔·阿布里克木等<sup>[27]</sup>的实验中,他们以SACC的高转移细胞株和低转移细胞株为实验对象,将miR-24的拟似物miR-24mimics转染入肿瘤细胞,发现下调miR-24的表达能促进SACC的侵袭转移能力,而上调的miR-24的表达是导致SACC侵袭能力降低的直接原因,但是他们的实验并未发现miR-24调控的靶基因,其机制与通路也尚不完全清楚,这也有待我们进行进一步的探究。而Jing P等<sup>[28]</sup>通过实验发现,miR-24-3p可能干扰上皮间质转化(EMT)相关蛋白表达变化后影响肺腺癌中的增殖、迁移和侵袭。EMT在纤维化和癌症进展作为一种不可或缺的病理过程,其中E-cadherin的表达缺失被认为是EMT的关键步骤。SACC作为一个以高转移复发为死因的疾病,EMT是SACC转移和侵袭过程中的一部分,它的发生发展是非常重要的,其过程中所表现出的各种分子标志物与信号通路的表达异常都值得我们加以关注。

3.6 miR-320a miR-320a是新近发现的一种miRNA。大量研究发现,miR-320a在多种肿瘤细胞中表达水平异常,并在肿瘤的发生、发展及治疗过程中起重要作用。例如miR-320a已经被发现在结肠癌组织及其癌细胞株中呈现出下调状态,且miR-320a的异位表达通过靶向 $\beta$ -catenin<sup>[29]</sup>直接抑制结肠癌细胞生长。在白血病细胞中,强制的miR-320a表达可以抑制转铁蛋白受体1的表达和细胞增殖<sup>[30]</sup>。ITGB3在SACC细胞中作为一个miR-320a的靶向基因,可以认为是SACC的显著特征,上调的ITGB3基因有助于增强细胞附着,入侵和肿瘤的转移,Sun等<sup>[31]</sup>在实验中发现了miR-320a在转移SACC细胞中下调,促使了目标基因

ITGB3的表达。这些结果表明了miR-320a可作为SACC有效转移抑制点,即通过上调的miR-320a来抑制ITGB3基因的表达,从而抑制肿瘤的转移与入侵。此外,与低转移的实验细胞相比较,在高肺转移的实验细胞中,miR-320a的表达明显下调,因此该实验还通过多因素分析表明了miR-320a的表达是肺转移的独立指标,这为以肺转移为主的SACC提供了一个重要信息。总而言之,miR-320a作为独立TNM分期的转移预测标志物,这些发现都为具有潜在用途的miR-320a作为治疗靶点和预后生物标记提供了一个强有力的依据。其抑制SACC的转移机制线索,可预测性作为治疗的靶点。

#### 4 小结

综上所述,多种miRNA与SACC的发生、侵袭和预后有关,但其作用机制和相关靶基因的功能还不十分清楚。在对于SACC分子标志物的寻找以及靶向精准治疗的道路上仍然面临着许多的问题:①许多细胞实验的结果仍是采自体外细胞株,我们在研究体外细胞株的同时更需要进一步的体内研究,以探讨miRNA的作用及其在SACC中的治疗潜力;②miRNA在SACC领域的研究少或不够深入,许多miRNA的靶基因及其所介导的通路还未被我们所完全知晓,我们致力去探寻这些已知却未被完全应用于这个领域的miRNA,也许将会得到意想不到的收获;③在明确靶点后,如何将药物精准有效地对靶点进行干预治疗,这也是一大难题。随着分子生物技术的不断发展与进步,人们会找到更多的SACC肿瘤转移复发的miRNA分子标志物与治疗靶点,为该疾病的诊断与对转移复发的预防和治疗提供更多有效的资料与信息。

#### 参考文献:

- [1] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets [J]. *Cell*, 2005, 120(1):15-20.
- [2] Wang S, Zhang L, Shi P, et al. Genome-wide profiles of metastasis-associated mRNAs and microRNAs in salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(3):632-638.
- [3] 林钊宇, 李劲松, 武东辉, 等. 涎腺腺样囊性癌侵袭转移相关微小RNA的筛选 [J]. *中华口腔医学研究杂志(电子版)*, 2010, 4(6):29-35.
- [4] Jiang LH, Ge MH, Hou XX, et al. miR-21 regulates tumor progression through the miR-21-PDCD4-Stat3 pathway in human salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 2015, 95(12):1398-1408.
- [5] Yan F, Wang C, Li T, et al. Role of miR-21 in the growth

- and metastasis of human salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(3): 4237-4244.
- [6] 黄育萌, 王颖, 王涛, 等. 放疗对人涎腺腺样囊性癌细胞的 miRNA-21 与细胞生物学行为的影响 [J]. *实用口腔医学杂志*, 2017, 33(6): 792-797.
- [7] Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, et al. miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA [J]. *BBA-Molecular Basis of Disease*, 2009, 1792(6): 497-505.
- [8] Tili E, Michaille JJ, Wernicke D, et al. Mutator activity induced by microRNA-155 (miR-155) links inflammation and cancer [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(12): 4908-4913.
- [9] Wang F, Zheng Z, Guo J, et al. Correlation and quantitation of microRNA aberrant expression in tissues and sera from patients with breast tumor [J]. *Gynecologic oncology*, 2010, 119(3): 586-593.
- [10] Zhang H, Li W, Nan F, et al. MicroRNA expression profile of colon cancer stem-like cells in HT29 adenocarcinoma cell line [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2011, 404(1): 273-278.
- [11] Ryu JK, Hong SM, Karikari CA, et al. Aberrant MicroRNA-155 expression is an early event in the multi-step progression of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Pancreatology*, 2010, 10(1): 66-73.
- [12] Liu L, Hu Y, Fu J, et al. MicroRNA155 in the growth and invasion of salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2013, 42(2): 140-147.
- [13] 曹聪, 黄桂柳, 黄赞松, 等. miR-181a 与消化系统常见肿瘤关系的研究进展 [J]. *右江民族医学院学报*, 2017, 39(3): 229-231.
- [14] Yang CC, Hung PS, Wang PW, et al. miR-181 as a putative biomarker for lymph-node metastasis of oral squamous cell carcinoma [J]. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2011, 40(5): 397-404.
- [15] Chen G, Zhu W, Shi D, et al. MicroRNA-181a sensitizes human malignant glioma U87MG cells to radiation by targeting Bcl-2 [J]. *Oncology Reports*, 2010, 23(4): 997-1003.
- [16] He Q, Zhou X, Li S, et al. MicroRNA-181a suppresses salivary adenoid cystic carcinoma metastasis by targeting MAPK - Snai2 pathway [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2013, 1830(11): 5258-5266.
- [17] 何倩婷, 刘中华, 赵婷婷, 等. miR-181a 靶向 SLUG 抑制涎腺腺样囊性癌的侵袭和迁移 [J]. *北京口腔医学*, 2015, 23(1): 15-20.
- [18] Pérez-Losada J, Sánchez-Martín M, Rodríguez-García A, et al. Zinc-finger transcription factor Slug contributes to the function of the stem cell factor c-kit signaling pathway [J]. *Blood*, 2002, 100(4): 1274-1286.
- [19] Brossier NM, Precht AM, Longo JF, et al. Classic Ras proteins promote proliferation and survival via distinct phosphoproteome alterations in neurofibromin-null malignant peripheral nerve sheath tumor cells [J]. *J Neuro-pathol Exp Neurol*, 2015, 74(6): 568-586.
- [20] Santarpia L, Myers JN, Sherman SI, et al. Genetic alterations in the RAS/RAF/mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathways in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer*, 2010, 116(12): 2974-2983.
- [21] Posch C, Moslehi H, Feeney L, et al. Combined targeting of MEK and PI3K/mTOR effector pathways is necessary to effectively inhibit NRAS mutant melanoma in vitro and in vivo [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2013, 110(10): 4015-4020.
- [22] Li W, Liang RR, Zhou C, et al. The association between expressions of Ras and CD68 in the angiogenesis of breast cancers [J]. *Cancer Cell International*, 2015, 15(1): 17.
- [23] Ali S, Ahmad A, Aboukameel A, et al. RETRACTED: Increased Ras GTPase activity is regulated by miRNAs that can be attenuated by CDF treatment in pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2012, 319(2): 173-181.
- [24] Wang L, Shi ZM, Jiang CF, et al. MiR-143 acts as a tumor suppressor by targeting N-RAS and enhances temozolomide-induced apoptosis in glioma [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(14): 5416-5427.
- [25] Deng M, Tang H, Zhou Y, et al. miR-216b suppresses tumor growth and invasion by targeting KRAS in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Journal of Cell Science*, 2011, 124(pt 17): 2997-3005.
- [26] Liu X, Zhang W, Guo H, et al. miR-98 functions as a tumor suppressor in salivary adenoid cystic carcinomas [J]. *Onco Targets and Ther*, 2016, 9: 1777-1786.
- [27] 古丽扎尔·阿布里克木, 达拉罗, 海鹏, 等. MicroRNA-24 对涎腺腺样囊性癌侵袭转移的作用研究 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(19): 3130-3132.
- [28] Jing P, Zhao N, Xie N, et al. miR-24-3p/FGFR3 Signaling as a Novel Axis Is Involved in Epithelial-Mesenchymal Transition and Regulates Lung Adenocarcinoma Progression [J]. *Journal of Immunology Research*, 2018, 2018: 2834109.
- [29] Sun JY, Huang Y, Li JP, et al. MicroRNA-320a suppresses human colon cancer cell proliferation by directly targeting  $\beta$ -catenin [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 420(4): 787-792.
- [30] Schaar DG, Medina DJ, Moore DF, et al. miR-320 targets transferrin receptor 1 (CD71) and inhibits cell proliferation [J]. *Experimental Hematology*, 2009, 37(2): 245-255.
- [31] Sun L, Liu B, Lin Z, et al. MiR-320a acts as a prognostic factor and Inhibits metastasis of salivary adenoid cystic carcinoma by targeting ITGB3 [J]. *Molecular Cancer*, 2015, 14: 96.