

## · 综述 ·

## microRNA 与肾上腺皮质肿瘤

钟佳燊 崔蓉蓉

【摘要】 microRNA(miRNA)是一类非编码小分子 RNA,通过转录后机制抑制基因表达。其表达水平的异常和肿瘤的发生、发展关系密切。许多研究表明,异常表达的miRNA影响肾上腺皮质细胞的增殖、凋亡及功能,可作为良、恶性肾上腺皮质肿瘤的生物标志物。

【关键词】 microRNA;肾上腺皮质肿瘤

基金项目:湖南省发改委基金课题(2013 1199 号);2016 年中南大学研究生自主探索创新项目(2016zzts541)

**microRNA and adrenocortical tumor** Zhong Jiayu, Cui Rongrong. Department of Endocrinology, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410000, China

Corresponding author: Cui Rongrong, Email:rongrongcui530@hotmail.com

【Abstract】 microRNAs(miRNA) are a class of small, noncoding RNAs that inhibited gene expression by post transcriptional mechanisms. The abnormal expression of miRNA have been closely associated with the tumor genesis and development. Many studies have indicated that the abnormal expression of miRNA, which can be used as biomarkers to determine the benign or malignant adrenocortical tumors, affected the proliferation, apoptosis and function of adrenal cells.

【Key words】 microRNA;Adrenocortical tumor

**Fund program:** Development and Reform Commission Topic Foundation of Hunan Province (2013 1199); The Fundamental Research Funds for Central Universities of Central South University(2016zzts541)

肾上腺皮质肿瘤在临床上较为常见,大多数是良性和非功能性的,其尸检患病率为1.4%~2.9%,老年人则达9%。而原发性肾上腺皮质瘤较罕见且预后极差,其年发病率为0.7~2例/百万人,5年生存率仅35%~58%。由于肾上腺皮质良、恶性肿瘤的预后和临床处理完全不同,判断肾上腺皮质肿瘤良、恶性至关重要,而目前韦斯评分系统和组织学判断其良、恶性也不完全可靠,需要找到更为可靠的生物标志物<sup>[1]</sup>。研究表明,microRNA(miRNA)与肾上腺皮质肿瘤相关,是判断肾上腺皮质肿瘤良、恶性的新的潜在生物标志物。随着对miRNA与肾上腺皮质肿瘤研究的不断深入,发现越来越多的miRNA在肾上腺皮质肿瘤中表达异常,它们通过调控细胞的增殖、凋亡及分泌激素功能,参与肾上腺皮质肿瘤的发生、发展及侵袭、转移。

### 1 miRNA 与肾上腺细胞的增殖和凋亡

Özata等<sup>[2]</sup>研究发现,与腺瘤及正常组织相比,

miRNA-195和miRNA-497在肾上腺皮质瘤中呈低表达。在人肾上腺皮质瘤NCI-H295R细胞中过表达miRNA-195和miRNA-497后,miRNA-195和miRNA-497通过与促凋亡基因联合作用,导致细胞生长明显减慢并诱导细胞死亡。miRNA-497在肾上腺皮质瘤中还可通过负向调控抗凋亡蛋白Bcl-2和Bcl-w促进细胞凋亡。与肾上腺皮质腺瘤及正常肾上腺组织相比,促凋亡基因PUMA在肾上腺皮质瘤中表达水平显著降低,而miRNA-483-3p表达水平却与之相反,说明miRNA-483-3p可调控促凋亡基因PUMA表达,促进细胞凋亡,而miRNA-483-5p则不影响凋亡,但抑制miRNA-483-5p和miRNA-483-3p表达,细胞增殖均明显减少。

与正常肾上腺组织相比,肾上腺皮质瘤miRNA-7表达降低,通过对人肾上腺皮质瘤细胞株H295R和SW-13转染miRNA-7拟似物(mimics)发现,上调其表达可以诱导细胞G<sub>1</sub>周期受阻,从而明显减少这两种细胞的增殖<sup>[3]</sup>。miRNA-205与miRNA-7表达类似,通过对SW-13进行转染发现,上调miRNA-205的表达可以抑制cyclin D1的表达,导致

细胞周期调控失常,细胞从  $G_1$  向 S 转换受阻,从而抑制细胞增殖。同时它可以抑制 Bcl-2 的表达,导致线粒体凋亡通路下游蛋白 Bax、caspase-3、caspase-9 的表达增加,促进细胞凋亡,发挥抑制肿瘤生长作用<sup>[4]</sup>。miRNA-375 在肾上腺皮质癌和醛固酮瘤中较正常肾上腺皮质组织表达低,过表达 miRNA-375 同样也抑制 H295R 细胞的增殖,它还可以通过抑制其靶基因 MTDH 来抑制细胞活力<sup>[5]</sup>。

## 2 miRNA 与肾上腺细胞的功能

H295R 细胞具备稳定表达所有类固醇激素的特点,而 SW-13 不能分泌重要的类固醇激素和生长因子,故关于 miRNA 与肾上腺细胞功能的研究目前均采用 H295R 细胞。miRNA 主要通过作用于和生成类固醇相关的靶基因,而影响肾上腺细胞的分泌功能。研究发现,miRNA-24 在醛固酮瘤中的表达较正常组织下调,在 H295R 细胞中转染 miRNA-24 的 pre-miRNA 和 anti-miRNA 后,通过调节 CYP11B1 和 CYP11B2 基因表达而使 H295R 细胞分泌的皮质醇和醛固酮相应的下调或上调<sup>[6]</sup>。研究发现,缺氧可以激活特定的 miRNAs,从而影响类固醇生成因子的表达,这可能是肾上腺肿瘤激素分泌失调的原因<sup>[7]</sup>。对 H295R 细胞进行缺氧处理后,miRNA-98 表达上调,导致 CYP19A1 基因表达水平下降,这可能使雌二醇的表达减少<sup>[8]</sup>。缺氧处理的 H295R 细胞中 miRNA-10b 与 miRNA-98 的表达水平相似,在 H295R 细胞转染 miRNA-10b 后发现,其通过调控 CYP21A2、CYP11B1 和 CYP11B2 基因,导致细胞皮质醇和醛固酮表达水平的改变<sup>[9]</sup>。miRNA-21 的表达则由血管紧张素 II 调控,其过表达导致醛固酮分泌增多,细胞增殖增加,但皮质醇分泌不受影响。

## 3 miRNA 作为肾上腺肿瘤的生物标志物

目前临床上鉴别肾上腺皮质癌和肾上腺良性肿瘤存在难度,因此发现更多有价值的肿瘤标志物是急需解决的问题。而目前与肾上腺皮质肿瘤相关 miRNA 表达谱的研究已取得初步进展,通过分析良、恶性肿瘤间 miRNA 的差异表达,可以发现具有诊断价值的 miRNA 标志物并提示预后。

研究发现,肾上腺皮质癌中 miRNA-483-5p 过表达,miRNA-195 低表达,miRNA-503 和 miRNA-511 之间的表达差异及 miRNA-335 和 miRNA-675 的过表达可以作为诊断肾上腺皮质恶性肿瘤的可靠标志物。miRNA-483-5p、miRNA-503、miRNA-1202、miRNA-1275、miRNA-638、miRNA-572 和 miRNA-1915 表达越高,

miRNA-195 表达越低,肾上腺皮质癌患者的总生存期越短<sup>[2,10-11]</sup>。同样,侵袭性肾上腺皮质癌患者的 miRNA-9 表达水平较非侵袭性肾上腺皮质癌和腺瘤明显升高,其过表达也降低肾上腺皮质癌患者总生存期<sup>[12]</sup>。因此,过表达的 miRNA-483-5p、miRNA-9 和低表达的 miRNA-195 可以用来鉴别侵袭性和非侵袭性肾上腺皮质癌。同时,miRNA-503、miRNA-1202 及 miRNA-1275 的过表达还提示患者预后较差<sup>[13]</sup>。

Patterson 等<sup>[14]</sup>基于 miRNA-483-5p 表达水平对经病理证实的 10 例肾上腺恶性肿瘤和 23 例良性肿瘤患者进行分类,结果 10 例恶性肿瘤中 8 例被正确划分为恶性,23 例良性肿瘤均被正确划分为良性,证明了 miRNA-483-5p 的表达增加预示肿瘤的恶性,敏感性达 80%,特异性达 100%,是目前鉴别肾上腺皮质良、恶性肿瘤最有价值的标志物。同时他们发现,胰岛素样生长因子 2 mRNA 和 miRNA-483-5p 的表达呈正相关,提示它们有相同的基因表达位点。因此,miRNA-483 的表达水平可间接反映胰岛素样生长因子 2 的表达。临床上靶向抑制胰岛素样生长因子信号抗肿瘤效果明显,故通过评估肿瘤标本或血清中 miRNA-483 的表达水平即可快速评估该方法对患者的治疗效果,对肿瘤个体化治疗有指导意义。

Schmitz 等<sup>[11]</sup>用微阵列分析了肾上腺良、恶性肿瘤中 667 个 miRNA 的表达情况,结果 miRNA-675、miRNA-139-3p 和 miRNA-335 表达水平最低。其中 miRNA-675 和 miRNA-335 联合检测对于肾上腺皮质腺癌的诊断有较高价值。

Feinmesser 等<sup>[15]</sup>研究发现,肾上腺皮质肿瘤的重量和大小与 miRNA-214、miRNA-125b 和 miRNA-335 的表达水平密切相关。miRNA-214、miRNA-125b 表达下调的肿瘤更重,而 miRNA-483-3p、miRNA-483-5p、miRNA-513a-5p 和 miRNA-503 表达上调,miRNA-497、miRNA-22 表达下调的肿瘤体积更大。其中 miRNA-503 在肾上腺皮质腺瘤中表达很少或几乎不表达,这使得它的上调成为区分癌和腺瘤的最佳生物学标志(准确率 97%,95% CI: 0.842 ~ 0.999),miRNA-34a 和 miRNA-497 的共同表达低下可以区分癌和腺瘤,敏感性达 100%,特异性达 96%。

血液循环中的 miRNAs 可用来作为恶性肿瘤侵袭性的生物标志物,有利于术前早期诊断。近期有 3 项研究评估了肾上腺皮质肿瘤患者血液样本中的 miRNAs,均证实在肾上腺皮质癌组织中过表达的 miRNA-483-5p 在患者血液中也过表达<sup>[10,16-17]</sup>。Patel

等<sup>[16]</sup>发现,miRNA-34a和miRNA-483-5p在癌中比腺瘤中表达水平更高。ROC 曲线分析显示,miRNA-34a 准确性高(曲线下面积 = 0.83,  $P=0.001$ )。同时指出,血清 miRNAs 表达水平和病变范围、PET 结果及无病生存时间没有联系。Szabó 等<sup>[10]</sup>分析 ROC 曲线发现,联合 miRNA-210 和 miRNA-181b,miRNA-100 和 miRNA-181b 的 $\Delta$ CT 阈值诊断肿瘤良、恶性准确性最高(曲线下面积分别为 0.87、0.85)。Chabre 等<sup>[17]</sup>认为,miRNA-195 是区分肿瘤良、恶性的最好生物标志物(曲线下面积 = 0.948,  $P<0.0001$ ),而 miRNA-483-5p 可以区分肿瘤是否复发(曲线下面积 = 0.929,  $P<0.0001$ )。另外,miRNA-483-5p 表达越高,miRNA-195 表达越低预示着复发率越高,生存率越低。然而目前已经报道的这些血液循环中 miRNAs 的敏感性和特异性不够高,还不足以作为临床恶性肿瘤的生物标志物<sup>[10,17]</sup>。

儿童肾上腺皮质癌有不同的临床表现、病理及分子学特征<sup>[18]</sup>。目前只有 1 篇发表的研究评估了儿童肾上腺肿瘤的 miRNA 表达谱。Doghman 等<sup>[19]</sup>发现有 26 个失调的 miRNAs,和正常组织相比大多数在肿瘤中下调。这些 miRNA 不能明显鉴别肿瘤的良、恶性,但是确认了基于复发几率的 3 个亚群。值得注意的是,miRNA-483-3p 在儿童肾上腺皮质良、恶性肿瘤中都是上调的,这和之前发现的胰岛素样生长因子 2 不仅在恶性肿瘤中过表达的结果一致。此外,这些 miRNAs 共享同一种子序列,提示它们可能调节同一系列的靶 mRNAs。在腺瘤细胞中也证明了这些特定的 miRNAs 可以多层次调节胰岛素样生长因子 1 受体和哺乳动物雷帕霉素靶向基因的信号级联通路。

#### 4 结论

许多研究发现,在肾上腺皮质肿瘤中 miRNA 表达水平改变,提示它和肾上腺皮质肿瘤的发生机制有关,其可能作为血液和组织的生物标志来诊断肾上腺皮质肿瘤。然而,不同研究团队的结果有差异,这可能与不同的研究环境、实验方法和患者分组等有关。目前需要更深入、更大样本量的研究来确保 miRNA 能准确反映肾上腺皮质肿瘤的良、恶性,并挖掘能反映病情进展的 miRNA。miRNA 在肿瘤的诊治中有很大的潜力,但是在其用于临床诊治肾上腺皮质肿瘤方面还有很长的路要走。

#### 参 考 文 献

- [1] Papotti M, Libè R, Duregon E, et al. The Weiss score and beyond--histopathology for adrenocortical carcinoma [J]. *Horm Cancer*, 2011, 2(6):333-340. DOI:10.1007/s12672-011-0088-0.
- [2] Özata DM, Caramuta S, Velázquez-Fernández D, et al. The role of microRNA deregulation in the pathogenesis of adrenocortical carcinoma [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2011, 18(6):643-655. DOI:10.1530/ERC-11-0082.
- [3] Glover AR, Zhao JT, Gill AJ, et al. MicroRNA-7 as a tumor suppressor and novel therapeutic for adrenocortical carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34):36675-36688. DOI:10.18632/oncotarget.5383.
- [4] Wu Y, Wang W, Hu W, et al. MicroRNA-205 suppresses the growth of adrenocortical carcinoma SW-13 cells via targeting Bcl-2 [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(6):3104-3110. DOI:10.3892/or.2015.4295.
- [5] He J, Cao Y, Su T, et al. Downregulation of miR-375 in aldosterone-producing adenomas promotes tumour cell growth via MTDH [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 83(4):581-589. DOI:10.1111/cen.12814.
- [6] Robertson S, MacKenzie SM, Alvarez-Madrado S, et al. MicroRNA-24 is a novel regulator of aldosterone and cortisol production in the human adrenal cortex [J]. *Hypertension*, 2013, 62(3):572-578. DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01102.
- [7] Baley J, Li J. MicroRNAs and ovarian function [J]. *J Ovarian Res*, 2012, 5:8. DOI:10.1186/1757-2215-5-8.
- [8] Yu RM, Chaturvedi G, Tong SK, et al. Evidence for microRNA-mediated regulation of steroidogenesis by hypoxia [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(2):1138-1147. DOI:10.1021/es504676s.
- [9] Nusrin S, Tong SK, Chaturvedi G, et al. Regulation of CYP11B1 and CYP11B2 steroidogenic genes by hypoxia-inducible miR-10b in H295R cells [J]. *Mar Pollut Bull*, 2014, 85(2):344-351. DOI:10.1016/j.marpollbul.2014.04.002.
- [10] Szabó DR, Luconi M, Szabó PM, et al. Analysis of circulating microRNAs in adrenocortical tumors [J]. *Lab Invest*, 2014, 94(3):331-339. DOI:10.1038/labinvest.2013.148.
- [11] Schmitz KJ, Helwig J, Bertram S, et al. Differential expression of microRNA-675, microRNA-139-3p and microRNA-335 in benign and malignant adrenocortical tumours [J]. *J Clin Pathol*, 2011, 64(6):529-535. DOI:10.1136/jcp.2010.085621.
- [12] Faria AM, Sbiera S, Ribeiro TC, et al. Expression of LIN28 and its regulatory microRNAs in adult adrenocortical cancer [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 82(4):481-488. DOI:10.1111/cen.12607.
- [13] Cho WC. MicroRNAs: potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy [J]. *Int J Biochem Cell Biol*,

- 2010, 42 ( 8 ) : 1273-1281. DOI: 10. 1016/j. biocel. 2009. 12. 014.
- [ 14 ] Patterson EE, Holloway AK, Weng J, et al. MicroRNA profiling of adrenocortical tumors reveals miR-483 as a marker of malignancy [ J ]. *Cancer*, 2011, 117 ( 8 ) : 1630-1639. DOI: 10. 1002/ cncr. 25724.
- [ 15 ] Feinmesser M, Benbassat C, Meiri E, et al. Specific microRNAs differentiate adrenocortical adenomas from carcinomas and correlate with weiss histopathologic system [ J ]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2015, 23 ( 7 ) : 522-531. DOI: 10. 1097/PAI. 0000000000000117.
- [ 16 ] Patel D, Boufraqueh M, Jain M, et al. MiR-34a and miR-483-5p are candidate serum biomarkers for adrenocortical tumors [ J ]. *Surgery*, 2013, 154 ( 6 ) : 1224-1228. DOI: 10. 1016/j. surg. 2013. 06. 022.
- [ 17 ] Chabre O, Libé R, Assie G, et al. Serum miR-483-5p and miR-195 are predictive of recurrence risk in adrenocortical cancer patients [ J ]. *Endocr Relat Cancer*, 2013, 20 ( 4 ) : 579-594. DOI: 10. 1530/ ERC-13-0051.
- [ 18 ] Faria AM, Almeida MQ. Differences in the molecular mechanisms of adrenocortical tumorigenesis between children and adults [ J ]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 351 ( 1 ) : 52-57. DOI: 10. 1016/ j. mce. 2011. 09. 040.
- [ 19 ] Doghman M, El Wakil A, Cardinaud B, et al. Regulation of insulin-like growth factor-mammalian target of rapamycin signaling by microRNA in childhood adrenocortical tumors [ J ]. *Cancer Res*, 2010, 70 ( 11 ) : 4666-4675. DOI: 10. 1158/0008-5472. CAN-09-3970.

( 收稿日期: 2016-09-21 )

( 上接第 276 页 )

- [ 11 ] van der Pouw Kraan TC, Chen WJ, Bunck MC, et al. Metabolic changes in type 2 diabetes are reflected in peripheral blood cells, revealing aberrant cytotoxicity, a viral signature, and hypoxia inducible factor activity [ J ]. *BMC Med Genomics*, 2015, 8 : 20. DOI: 10. 1186/s12920-015-0096-y.
- [ 12 ] Kumar NP, Sridhar R, Nair D, et al. Type 2 diabetes mellitus is associated with altered CD8 ( + ) T and natural killer cell function in pulmonary tuberculosis [ J ]. *Immunology*, 2015, 144 ( 4 ) : 677-686. DOI: 10. 1111/imm. 12421.
- [ 13 ] Kumar NP, Moideen K, George PJ, et al. Impaired cytokine but enhanced cytotoxic marker expression in mycobacterium tuberculosis-induced CD8 <sup>+</sup> T cells in individuals with type 2 diabetes and latent mycobacterium tuberculosis infection [ J ]. *J Infect Dis*, 2016, 213 ( 5 ) : 866-870. DOI: 10. 1093/infdis/jiv484.
- [ 14 ] Rodriguez Camargo DC, Tripsianes K, Buday K, et al. The red-ox environment triggers conformational changes and aggregation of hIAPP in type II Diabetes [ J ]. *Sci Rep*, 2017, 7 : 44041. DOI: 10. 1038/srep44041.
- [ 15 ] Berrou J, Fougeray S, Venot M, et al. Natural killer cell function, an important target for infection and tumor protection, is impaired in type 2 diabetes [ J ]. *PLoS One*, 2013, 8 ( 4 ) : e62418. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0062418.
- [ 16 ] Lee BC, Kim MS, Pae M, et al. Adipose natural killer cells regulate adipose tissue macrophages to promote insulin resistance in obesity [ J ]. *Cell Metab*, 2016, 23 ( 4 ) : 685-698. DOI: 10. 1016/ j. cmet. 2016. 03. 002.
- [ 17 ] O'Rourke RW, Meyer KA, Neeley CK, et al. Systemic NK cell ablation attenuates intra-abdominal adipose tissue macrophage infiltration in murine obesity [ J ]. *Obesity ( Silver Spring )*, 2014, 22 ( 10 ) : 2109-2114. DOI: 10. 1002/oby. 20823.
- [ 18 ] Lee BC, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842 ( 3 ) : 446-462. DOI: 10. 1016/j. bbadis. 2013. 05. 017.
- [ 19 ] Wensveen FM, Jelenčić V, Valentić S, et al. NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance [ J ]. *Nat Immunol*, 2015, 16 ( 4 ) : 376-385. DOI: 10. 1038/ni. 3120.
- [ 20 ] Mir M, Rostami A, Hormozi M. Comparison of serum levels of IL-18 in peripheral blood of patients with type II diabetes with nephropathy clinical protests and patients with type II diabetes-without nephropathy clinical protests [ J ]. *Diabetes Metab Syndr*, 2016, pii: S1871-4021 ( 16 ) 30171-0. DOI: 10. 1016/j. dsx. 2016. 08. 018.
- [ 21 ] Bonaccorsi I, De Pasquale C, Campana S, et al. Natural killer cells in the innate immunity network of atherosclerosis [ J ]. *Immunol Lett*, 2015, 168 ( 1 ) : 51-57. DOI: 10. 1016/j. imlet. 2015. 09. 006.
- [ 22 ] Medeiros MC, Frasnelli SC, Bastos Ade S, et al. Modulation of cell proliferation, survival and gene expression by RAGE and TLR signaling in cells of the innate and adaptive immune response: role of p38 MAPK and NF-κB [ J ]. *J Appl Oral Sci*, 2014, 22 ( 3 ) : 185-193.

( 收稿日期: 2016-11-20 )