

LIN28/let-7信号通路与肿瘤发生发展的关系

卞石惠 翁星月 李杰 张尤历 徐岷*

(江苏大学附属医院, 镇江 212000)

摘要 Let-7家族是最古老而保守的microRNAs(miRNAs)之一, 由于它在许多肿瘤中表达下降或缺失, 故被认为是肿瘤抑制因子。LIN28是一种高度保守的RNA结合蛋白, 在多种恶性肿瘤中过度表达, 通过抑制let-7而发挥致癌功能。目前认为, LIN28/let-7通路与恶性肿瘤发生发展密切相关, 因此深入研究LIN28/let-7信号通路的调控机制将为恶性肿瘤的诊断和治疗提供新的策略。

关键词 LIN28; let-7; 肿瘤; 信号通路; 肿瘤形成

The Relationship between LIN28/let-7 Signal Pathway and Cancer

Bian Shihui, Weng Xingyue, Li Jie, Zhang Youli, Xu Min*

(Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China)

Abstract The let-7 family, one of the most ancient and highly conserved microRNAs (miRNAs), plays critical roles in tumor suppressing. However, during normal development, accumulation of let-7 can be prevented by LIN28, a highly conserved RNA-binding protein, suggesting that over-expression of LIN28 might promote malignancy via repression of let-7. Emerging evidences suggest that LIN28/let-7 signal pathway can not only partly reveal the mechanism of tumorigenesis, but also guide the treatment of cancers.

Keywords LIN28; let-7; cancer; signal pathway; tumorigenesis

Let-7家族属于miRNAs, 其最先发现于秀丽隐杆线虫中, 调控未分化细胞向分化细胞的转变过程^[1]。Let-7通过与靶mRNAs的特定序列结合, 诱导靶mRNAs剪切或阻遏其翻译。由于let-7家族的靶mRNAs大多数是癌相关基因^[1], 因而let-7行使着“抑癌基因”的功能。LIN28是一种高度保守的RNA结合蛋白, 在转录后水平选择性地阻断let-7家族的生物合成过程^[2]。LIN28/let-7通路在生物体内的调控作用日渐成为研究重点, 从胚胎发育到恶性肿瘤、炎症和代谢, LIN28/let-7通路均发挥了重要作用^[2-5]。本文就LIN28/let-7通路在恶性肿瘤发生、发展、诊断和治疗中的研究进展作简要综述。

1 LIN28的基本结构和功能

LIN28家族包含两个成员, 即LIN28A和LIN28B, 是一类小于30 kDa的蛋白。LIN28蛋白结构中包含一个冷休克结构域和一对CCHC锌指模体, 在与RNA结合过程中发挥功能, 其中LIN28B结构域中还包含核定位信号和核仁定位信号, 提示LIN28B定位在核内^[2]。LIN28主要通过抑制靶miRNAs的表达而发挥重要功能^[6]。研究发现, LIN28蛋白主要在胞浆中诱导let-7前体(pre-let-7) 3'端的尿苷化, 而尿苷化的let-7前体(up-let-7)不能被Dicer酶加工, 因而阻遏let-7的成熟^[7]。LIN28最重要的功能莫过于其干细胞维持功能, 将LIN28与其他3个因子NANOG、OCT4和SOX2共同转入到人体上皮细胞中, 可使其重编程为多能干细胞, 表明LIN28具有维持“细胞干性”的功能^[8]。LIN28参与肿瘤的形成过程, Viswanathan等^[9]指出, 在约15%的恶性肿瘤中存在着LIN28的激活。研究表明, LIN28的高表达与肿瘤的恶性程度和病人的不良预后密切相关^[9-12]。此外, LIN28还

收稿日期: 2014-07-14 接受日期: 2014-09-12

国家自然科学基金(批准号: 81472333)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0511-85026370, E-mail: peterxu1974@163.com

Received: July 14, 2014 Accepted: September 12, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81472333)

*Corresponding author. Tel: +86-511-85026370, E-mail: peterxu1974@163.com

网络出版时间: 2014-12-25 09:59

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20141225.0959.003.html>

参与调节葡萄糖的代谢过程, 在小鼠细胞中过表达LIN28可以增强细胞对胰岛素的敏感性, 促进糖类代谢; 相反, 特异性下调LIN28可以导致胰岛素抵抗和葡萄糖耐受不良^[3]。

2 Let-7家族的功能

人类成熟let-7包含10个家族成员, 由13个前体序列合成而来。其中前体let-7a-1、let-7a-2和let-7a-3合成成熟的let7a, 前体let-7f-1和let-7f-2合成成熟的let-7f^[13]。Let-7生物合成的调控可发生在转录和转录后水平, let-7基因完成复制后在RNA聚合酶II的作用下生成pri-let-7, 该过程可因转录因子myc的绑定而被抑制。然而, let-7基因转录后的成熟过程也可因LIN28的结合而被抑制^[13]。Let-7作为miRNAs, 主要在转录后水平调控基因的表达^[1]。miRNAs是一类长度为22~24 nt的内源、单链、非编码小RNA, 通过与靶mRNAs的特定序列结合, 诱导靶mRNAs剪切或阻遏其翻译。在肿瘤中, let-7调控多种癌相关基因的表达, 在肝癌细胞中let-7g通过下调I型胶原a2而抑制细胞迁移^[14]; 在肺癌中let-7通过下调癌基因ras而成为肺癌的抑癌基因^[1]; 还有学者指出, let-7a可以作为前列腺癌治疗的一个靶点^[15]。

3 LIN28/let-7通路在相关恶性肿瘤中的作用

LIN28与let-7之间是一种负反馈调节机制, LIN28抑制let-7的成熟过程, 而LIN28也是let-7的下游靶基因, let-7通过与LIN28 mRNA的3'-非编码端(3'-UTR)结合而阻遏其翻译^[16]。与LIN28/let-7信号通路相关的影响因子包括原癌基因(*C-myc*)、癌基因(*ras*)、高迁移率族蛋白(HMGA2)、RE1沉默转录因子(REST)和细胞核因子 κ B(NF- κ B)等^[17]。有学者指出, LIN28/let-7通路在肿瘤形成过程中保持着一种阴阳平衡的状态^[18]。

3.1 乳腺癌

Sakurai等^[19]初步检测了LIN28和let-7在乳腺癌组织中的表达, 收集了26例日本病人的原发性乳腺癌标本, 通过免疫组织化学染色, 在16例组织中检测到LIN28的高表达, 并且主要定位在乳腺癌细胞的胞浆内; 在26例组织中选取了21例进行PCR芯片分析, 通过聚类分析发现, 在LIN28表达高的组织中let-7表达低, 而在LIN28表达低的组织中let-7表达

高。但是, LIN28/let-7通路在乳腺癌的发生发展过程中的作用并未阐明。Iliopoulos等^[20]在乳腺癌MCF10A细胞(包含雌激素受体-类固醇受体共刺激因子, ER-*Src*)中发现, *Src*可以激活NF- κ B, NF- κ B通过与LIN28B基因中的NF- κ B位点结合而直接转录激活LIN28B, LIN28B对let-7的下调使其下游IL-6去抑制, 而IL-6又能激活NF- κ B, 从而形成一个完整的正反馈调节环路, LIN28/let-7通路将炎症和肿瘤紧密联系起来, 促使肿瘤的发生。后来研究发现, 在乳腺癌细胞中LIN28通过下调let-7a的表达诱导了上皮向间质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 从而促进了乳腺癌细胞的转移^[21]。Wnt- β -catenin是另一个经典的信号通路, 在促进肿瘤细胞增殖过程中发挥重要作用。Cai等^[22]在乳腺癌细胞中发现, Wnt- β -catenin信号通过直接结合到LIN28基因的启动子上转录激活LIN28, 同时在多种乳腺癌细胞系中均证实了 β -catenin的过表达导致let-7家族的下调, 更重要的是, LIN28的抑制或let-7a的过表达能够平衡Wnt- β -catenin的促增殖效应。因此, Wnt- β -catenin/LIN28/let-7信号通路在促进乳腺癌细胞增殖中发挥重要作用。放射治疗是乳腺癌治疗的重要手段, 而乳腺癌细胞的放疗抵抗也是乳腺癌治疗的障碍。研究发现, 在高表达LIN28的乳腺癌细胞中干扰LIN28能增强放疗敏感性, 而在稳转LIN28的乳腺癌细胞系中过表达let-7a能够抑制放疗抵抗, 因此LIN28/let-7通路可能参与了乳腺癌细胞的放疗抵抗^[23]。这些研究为LIN28/let-7通路成为乳腺癌治疗的靶点提供了理论依据。

3.2 恶性生殖细胞肿瘤

生殖细胞肿瘤主要包括睾丸精原细胞瘤、卵巢无性细胞瘤和性腺外生殖细胞瘤。研究发现, LIN28蛋白在所有亚型的恶性生殖细胞肿瘤中都是高表达的^[24]。Murray等^[25]在恶性生殖细胞肿瘤中发现, LIN28蛋白增多会降低let-7分子的水平; 而反过来, let-7分子水平降低也会增加细胞中多种促癌蛋白的含量, 包括LIN28。LIN28蛋白在这一恶性循环中起着“开关”作用。然而, 通过降低细胞内LIN28蛋白的含量, 或直接增加let-7分子水平可以逆转这一恶性循环。此外, 研究发现, LIN28可以作为睾丸生殖细胞的肿瘤标志物。对103例原发性和83例转移性睾丸生殖细胞肿瘤组织进行免疫组织化学染色检测LIN28的表达, 发现LIN28对睾丸生精小管内生殖细

瘤、精原细胞瘤和胚胎癌的检出率达100%。因此, LIN28可作为睾丸生殖细胞肿瘤的诊断标志物应用于临床^[26]。

3.3 卵巢癌

卵巢上皮肿瘤是最常见的卵巢肿瘤, Lu等^[27]收集了211例卵巢上皮肿瘤组织, 在185例(87.7%)组织中检测到LIN28A的表达, 在127例(60.2%)组织中检测到LIN28B的表达, 在184例(87.2%)组织中检测到前体let-7a-3, 但发现let-7a-3的表达与LIN28B有差异, 而与LIN28A没有差异, 推测在卵巢上皮肿瘤中LIN28B干扰了let-7a的成熟。然而, let-7a的表达水平对指导卵巢上皮肿瘤病人的化疗有重要意义。研究发现, let-7a表达水平低的病人接受以顺铂为基础联合紫杉醇的化疗策略预后良好; 而let-7a高表达的病人接受同样的化疗策略时预后很差, 而接受顺铂单一化疗时预后良好^[28]。

浆液性囊腺癌是最常见的卵巢上皮肿瘤, 高级别的浆液性囊腺癌(high-grade serous ovarian carcinoma, HG-SOC)是卵巢癌病人死亡的主要原因, 按不同的病理特征分为C1、C2、C4和C5四种分子亚型。Helland等^[29]在C5亚型的肿瘤中发现了MYCN/LIN28B/let-7通路的激活。由于MYCN的扩增激活了LIN28B的表达, 进而抑制了let-7的合成使其下游癌基因HMGA2去抑制而表达增加, 该通路的异常激活可能在HG-SOC的发生中发挥重要的作用。

3.4 结直肠癌

King等^[30-31]通过结肠癌组织芯片分析发现, LIN28B在结肠癌中高表达, 而let-7家族中的let-7a和let-7b在正常结肠组织中是表达最高的, 在结肠癌中显著降低, 并且LIN28B通过对let-7的抑制而促进结肠癌细胞的转移。多胺(polyamine)在哺乳类动物的组织细胞中广泛存在, 主要含腐胺(putrescine)、精胺(spermidine)和精胺(spermine)三种。肿瘤细胞的快速生长高度依赖细胞内的多胺水平。致癌环境和遗传因素在诱发细胞恶性生长的同时, 也伴随有多胺代谢的异常, 以致多胺在细胞中大量堆积。Paz等^[32]在结直肠癌细胞HCT116中发现, 在多胺存在的条件下, 真核细胞翻译起始因子5A1/2(eIF5A1/2)被激活, eIF5A1/2介导LIN28的表达进而抑制let-7, 并上调let-7的下游基因HMGA2的表达。因此推测, 多胺在结直肠癌细胞中通过调控LIN28/let-7通路促进结直肠癌的发展。

3.5 B细胞淋巴瘤

Chang等^[33]研究发现, LIN28B在myc诱导的B细胞淋巴瘤模型中高表达, 成熟let-7呈低表达, 而let-7前体水平未受到抑制。Myc作为致癌转录因子, 能与LIN28B的启动子结合, 增加LIN28B的表达, 从而抑制let-7的成熟; 而let-7又能结合至myc mRNA的3'-UTR, 调控myc的表达。因此, myc/LIN28/let-7形成一个正反馈致癌环路, 从而增强myc介导的促增殖等致癌作用。

3.6 肺癌

Pan等^[34]在小细胞肺癌细胞株NCI446中发现, LIN28的激活介导let-7家族的抑制, 并且抑制LIN28/let-7信号通路, 可显著抑制肺癌细胞的增殖。此外, 还发现LIN28/let-7信号参与肿瘤细胞对放疗敏感性的调控。ras在保护放疗诱导的细胞死亡中发挥重要作用, let-7通过调控ras通路增加放疗敏感性。研究发现, let-7g在放疗不敏感的肺癌细胞H1299中低表达, 而在放疗敏感的肺癌细胞H460中高表达^[35]。在H1299细胞中高表达let-7可以通过抑制ras而增强肺癌细胞敏感性, 推测LIN28通过LIN28/let-7通路激活ras而调控肿瘤细胞对放疗的敏感性^[35]。

3.7 肝癌

肝癌是亚洲发病率最高的恶性肿瘤之一, 而肝癌细胞也是对化疗药物高度耐药的一种细胞。紫杉醇(paclitaxel, TAX)是治疗肝癌的重要化疗药之一。研究发现, 在肝癌细胞耐药株Hep3B/TAX中LIN28表达异常增高, 而let-7家族表达降低(除了let-7b), bcl-xL是let-7的靶基因, 在该耐药株中抗凋亡蛋白bcl-xL表达量显著增加, 推测LIN28/let-7/bcl-xL通路参与了肝癌细胞的耐药过程^[36]。

4 结论

综上所述, 研究LIN28/let-7信号通路对了解恶性肿瘤的发生发展、评估病人预后及指导肿瘤放化疗均有重大意义。LIN28/let-7信号通路在多种恶性肿瘤中调控异常, 对该通路的调控可作为抗肿瘤药物治疗和基因治疗的新靶点。在未来, 关于LIN28蛋白在恶性肿瘤细胞中的确切定位还有待进一步发现; 该信号通路中的具体调控机制, 尤其在找寻通路抑制剂和与细胞内其他通路交叉作用方面, 还有待进一步阐明。我们相信, LIN28蛋白可能成为恶性肿瘤的新突破口, 为恶性肿瘤的诊断和治疗迎来新的曙光。

参考文献 (References)

- 1 Bussing I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer. *Trends Mol Med* 2008; 14(9): 400-9.
- 2 Thornton JE, Gregory RI. How does Lin28 let-7 control development and disease? *Trends Cell Biol* 2012; 22(9): 474-82.
- 3 Zhu H, Shyh-Chang N, Segre AV, Shinoda G, Shah SP, Einhorn WS, *et al.* The Lin28/let-7 axis regulates glucose metabolism. *Cell* 2011; 147(1): 81-94.
- 4 Oudejans C, Lozoya T, Domínguez F, Romero-Ruiz A, Steffani L, Martínez S, *et al.* The Lin28/let-7 system in early human embryonic tissue and ectopic pregnancy. *PLoS One* 2014; 9(1): e87698.
- 5 Shyh-Chang N, Daley GQ. Lin28: Primal regulator of growth and metabolism in stem cells. *Cell Stem Cell* 2013; 12(4): 395-406.
- 6 Mayr F, Heinemann U. Mechanisms of Lin28-mediated miRNA and mRNA regulation—a structural and functional perspective. *Int J Mol Sci* 2013; 14(8): 16532-53.
- 7 Heo I, Joo C, Cho J, Ha M, Han J, Kim VN. Lin28 mediates the terminal uridylation of let-7 precursor microRNA. *Mol Cell* 2008; 32(2): 276-84.
- 8 Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, *et al.* Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318(5858): 1917-20.
- 9 Viswanathan SR, Powers JT, Einhorn W, Hoshida Y, Ng TL, Toffanin S, *et al.* Lin28 promotes transformation and is associated with advanced human malignancies. *Nat Genet* 2009; 41(7): 843-8.
- 10 Hamano R, Miyata H, Yamasaki M, Sugimura K, Tanaka K, Kurokawa Y, *et al.* High expression of Lin28 is associated with tumour aggressiveness and poor prognosis of patients in oesophagus cancer. *Br J Cancer* 2012; 106(8): 1415-23.
- 11 Wu T, Jia J, Xiong X, He H, Bu L, Zhao Z, *et al.* Increased expression of Lin28B associated with poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2013; 8(12): e83869.
- 12 罗玄, 吴云林, 冯立新. LIN28对胃腺癌细胞增殖周期的影响及机制. *内科理论与实践* (Luo Xuan, Wu Yunlin, Feng Lixin. Influence and mechanism of lin28 on cell cycle regulation in gastric carcinoma cells. *J Intern Med Concepts Pract*) 2010; 5(1): 62-7.
- 13 Roush S, Slack FJ. The let-7 family of microRNAs. *Trends Cell Biol* 2008; 18(10): 505-16.
- 14 Ji J, Zhao L, Budhu A, Forgues M, Jia HL, Qin LX, *et al.* Let-7g targets collagen type I a2 and inhibits cell migration in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2010; 52: 690-7.
- 15 Wu XQ, Huang C, Liu XH, Li J. MicroRNA let-7a: A novel therapeutic candidate in prostate cancer. *Asian J Androl* 2014; 16(2): 327-8.
- 16 Yang XJ, Lin XJ, Zhong XM, Kaur S, Li N, Liang S, *et al.* Double negative feedback loop between reprogramming factor LIN28 and microRNA let-7 regulates aldehyde dehydrogenase 1-positive cancer stem cells. *Cancer Res* 2010; 70(22): 9463-72.
- 17 饶丽华, 黄孝文, 许胜. Lin28/Let-7调节环分子机制及相关因子研究进展. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志* (Rao Lihua, Huang Xiaowen, Xu Sheng. Molecular mechanism and related influence factors of Lin28/Let-7 axis. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg (China)*) 2014; 28(9): 663-5.
- 18 Ji J, Wang XW. A Yin-Yang balancing act of the Lin28/let-7 link in tumorigenesis. *J Hepatol* 2010; 53(5): 974-5.
- 19 Sakurai M, Miki Y, Masuda M, Hata S, Shibahara Y, Hirakawa H, *et al.* LIN28: A regulator of tumor-suppressing activity of let-7 microRNA in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012; 131(3/4/5): 101-6.
- 20 Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF-kappaB, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL-6 links inflammation to cell transformation. *Cell* 2009; 139(4): 693-706.
- 21 Liu Y, Li H, Feng J, Cui X, Huang W, Li Y, *et al.* Lin28 Induces epithelial-to-mesenchymal transition and stemness via down-regulation of let-7a in breast cancer cells. *PLoS One* 2013; 8(12): e83083.
- 22 Cai WY, Wei TZ, Luo QC, Wu QW, Liu QF, Yang M, *et al.* The Wnt-beta-catenin pathway represses let-7 microRNA expression through transactivation of Lin28 to augment breast cancer stem cell expansion. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 13): 2877-89.
- 23 Wang LB, Yuan C, Lv KZ, Xie SD, Fu PF, Liu XJ, *et al.* Lin28 mediates radiation resistance of breast cancer cells via regulation of caspase, H2AX and Let-7 signaling. *PLoS One* 2013; 8(6): e67373.
- 24 West JA, Viswanathan SR, Yabuuchi A, Cunniff K, Takeuchi A, Park IH, *et al.* A role for Lin28 in primordial germ-cell development and germ-cell malignancy. *Nature* 2009; 460(7257): 909-13.
- 25 Murray MJ, Saini HK, Siegler CA, Hanning JE, Barker EM, van Dongen S, *et al.* LIN28 expression in malignant germ cell tumors downregulates let-7 and increases oncogene levels. *Cancer Res* 2013; 73(15): 4872-84.
- 26 Cao D, Allan RW, Cheng L, Peng Y, Guo CC, Dahiya N, *et al.* RNA-binding protein LIN28 is a marker for testicular germ cell tumors. *Hum pathol* 2011; 42(5): 710-8.
- 27 Lu L, Katsaros D, Shaverdashvili K, Qian B, Wu Y, de la Longrais IA, *et al.* Pluripotent factor Lin-28 and its homologue lin-28b in epithelial ovarian cancer and their associations with disease outcomes and expression of let-7a and IGF-II. *Eur J Cancer* 2009; 45(12): 2212-8.
- 28 Lu L, Schwartz P, Scarampi L, Rutherford T, Canuto EM, Yu H, *et al.* MicroRNA let-7a: A potential marker for selection of paclitaxel in ovarian cancer management. *Gynecol Oncol* 2011; 122(2): 366-71.
- 29 Tan P, Helland Å, Anglesio MS, George J, Cowin PA, Johnstone CN, *et al.* Deregulation of MYCN, LIN28B and LET7 in a molecular subtype of aggressive high-grade serous ovarian cancers. *PLoS One* 2011; 6(4): e18064.
- 30 King CE, Cuatrecasas M, Castells A, Sepulveda AR, Lee JS, Rustgi AK. LIN28B promotes colon cancer progression and metastasis. *Cancer Res* 2011; 71(12): 4260-8.
- 31 King CE, Wang L, Winograd R, Madison BB, Mongroo PS, Johnstone CN, *et al.* LIN28B fosters colon cancer migration, invasion and transformation through let-7-dependent and -independent mechanisms. *Oncogene* 2011; 30(40): 4185-93.
- 32 Paz EA, LaFleur B, Gerner EW. Polyamines are oncometabolites that regulate the LIN28/let-7 pathway in colorectal cancer cells.

- Mol Carcinog 2014; 53 Suppl 1: E96-106.
- 33 Chang TC, Zeitels LR, Hwang HW, Chivukula RR, Wentzel EA, Dews M, *et al.* Lin-28B transactivation is necessary for Myc-mediated let-7 repression and proliferation. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106(9): 3384-9.
- 34 Pan L, Gong Z, Zhong Z, Dong Z, Liu Q, Le Y, *et al.* Lin-28 reactivation is required for let-7 repression and proliferation in human small cell lung cancer cells. Mol Cell Biochem 2011; 355(1/2): 257-63.
- 35 Sun HJ, Hong GW, Woong YP. LIN28B confers radio-resistance through the posttranscriptional control of KRAS. Exp Mol Med 2009; 41(12): 912-8.
- 36 Tian N, Han Z, Li Z, Zhou M, Fan C. Lin28/let-7/Bcl-xL pathway: the underlying mechanism of drug resistance in Hep3B cells. Oncol Rep 2014; 32: 1050-6.