

循环 miRNA 作为结直肠癌生物标志物的研究进展

谢文群 谭诗云

摘 要 microRNA(miRNA)是在转录后水平调控基因表达的内源性非编码单链小 RNA,它调控着细胞的分化、增殖、凋亡等多种生理及病理过程。随着人们对其功能及基因表达研究的逐步深入,发现 miRNA 的表达具有组织特异性,且有类似于癌基因或者抑癌基因的功能。进一步研究发现,miRNA 在外周血中稳定存在且足以被检测出来。在结直肠癌中已发现多种 miRNA 表达异常,循环 miRNAs 有望成为一种非侵入性的可以指导结直肠癌诊断、治疗以及预后评估的生物标志物。

关键词 结直肠癌 循环 miRNA 生物标志物

中图分类号 R735

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.002

一、miRNA 概述

1. miRNA 的概念: microRNA(miRNA)即微小 RNA,是一类新发现的长度在 22nt 左右的内源非编码单链小 RNA,广泛存在于动物、植物、病毒等多种有机体中^[1]。1993 年, Lee 等^[2]在对秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的研究中发现了一种长度为 22nt 的非编码小片段单链 RNA,即 lin-4, lin-4 RNA 便是现在人们所熟知的 miRNA。miRNA 在转录后水平调控基因的表达,其通过与靶基因 mRNA 的碱基互补配对来影响 mRNA 的稳定性或抑制其翻译^[1]。研究发现,miRNA 是极为重要的基因调控物质,根据计算机的推测,人类基因组中可能存在约 1000 多个 miRNA 基因,约有 10%~30% 的蛋白编码基因受 miRNA 的调控,这些基因大多是与机体生长发育相关的基因。一旦 miRNA 的调节功能异常将可能导致人类疾病的发生,如癌症、糖尿病和心血管疾病等^[3,4]。

2. miRNA 的生物合成及作用机制:目前研究发现 miRNA 的生物合成过程大致如下:在真核生物细胞核内,miRNA 基因首先转录生成几百至几千 nt 的初级产物(pri-miRNA),该产物在核内被 RNA 酶 III 内切酶家族的 Drosha 酶及 DGCR8 蛋白复合物(通常把此复合物称为 pri-miRNA 的微处理器)切割成 65nt 左右的发夹状前体(pre-miRNA)。pre-miRNA 在转运蛋白 Exportin-5 和 Ran-GTP 的协同作用下被转运出细胞核,然后经 Dicer 酶切割成约 22nt

的成熟 miRNA。成熟的 miRNA 在 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)的引导下与互补 mRNA 完全或不完全配对,发挥其对基因表达的调控作用。miRNA 是通过降解 mRNA 或抑制 mRNA 翻译来调节目的基因 mRNA 表达的,而具体采用何种机制,则主要由 miRNA 与其靶 mRNA 序列互补配对的程度来决定。在不同的生命体中其发挥作用的方式则有所差异,在植物体内,miRNA 与靶 mRNA 完全或接近完全互补结合,miRNA 主要指导 mRNA 特异性切割。动物体内 miRNA 则与靶 mRNA 3'UTR(3'非翻译区)不完全互补结合,miRNA 主要介导 mRNA 的翻译抑制^[5]。

二、循环系统中 miRNA 的发现

近年的研究发现,正常人血清或血浆中存在一定量的 miRNA,而且其成分稳定,在疾病状态下 miRNA 表达谱会发生相应变化,并且,循环系统中 miRNA 有稳定性高,重复性好及检测技术的微创性等优点^[6]。Lawrie 等^[7]首次报道了血清中存在 miRNA,并发现与健康人相比,弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者血清中 miR-155、miR-210、miR-21 高表达,其中的 miR-21 与患者的无瘤生存期密切相关。此后,多项研究报道了循环 miRNA 在不同类型癌症的早期诊断、预后评估及疗效评价中的作用及应用前景,包括食管癌、乳腺癌、胃癌、前列腺癌及肺癌等^[8,9]。

三、miRNA 与肿瘤

研究发现,约有半数的 miRNA 编码基因位于肿瘤发生、发展相关的脆性位点,这些位点在癌细胞中易于缺失、扩增或者突变^[10]。大量的研究显示,miRNA 具有与癌基因或抑癌基因相似的作用,miRNA 的表达异常与肿瘤发生、发展密切相关,它在肿瘤发生、

作者单位:430060 武汉大学人民医院消化内科

通讯作者:谭诗云,主任医师,博士生导师,电子信箱:tanshiyun@medmail.com.cn

发展过程中具有重要作用。第 1 个证实 miRNA 与肿瘤相关的研究是在对慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 的研究中,在约 68% 的 CLL 患者中,miR - 15a 和 miR - 16a 的表达出现下调或缺失,并且 CLL 患者的基因组 DNA 在染色体 13q14 区域常发生缺失,而 miR - 15a 和 miR - 16a 族正好位于这个区域^[11]。随后的一系列研究又发现在其他类型肿瘤中也存在 miRNA 表达水平的改变,包括胃癌、前列腺癌、食管癌、结直肠癌等多种恶性肿瘤^[12]。并且,miRNA 的表达谱与肿瘤的特点及分级密切相关。miRNA 的表达具有组织特异性,在一些未发现原发灶的肿瘤疾病中甚至可以用 miRNA 来判断肿瘤组织的来源^[13]。

四、循环系统中的 miRNA 与结直肠癌

2011 年全球癌症统计显示:结直肠癌的发生率居男性所有恶性肿瘤的第 3 位,居女性所有恶性肿瘤的第 2 位;其病死率居则分别居女性及男性所有恶性肿瘤病死率的第 3、4 位。结直肠癌已成为一个严峻的全球性公共卫生问题^[14]。但目前尚无理想的生物标志物可运用到结直肠癌的诊断、预后及疗效预测和治疗中。循环系统中的 miRNA 以其稳定性高,可重复性好及检测技术微创等优点,在对肿瘤的诊断、疗效预测、治疗指导及预后评估等方面逐渐显示出其巨大应用前景。本文总结了循环系统中的 miRNA 作为结直肠癌生物学标志物的最新研究进展(表 1)。

表 1 循环系统中的 miRNA 作为结直肠癌诊断和预后评估生物标志物总结表

miRNA	样本	标志物	miRNA 表达水平及意义
miR - 15b ^[15]	血浆	诊断	升高
miR - 18a ^[15]	血浆	诊断	在大肠癌及高级别腺瘤中升高
miR - 19a ^[15]	血浆	诊断	升高
miR - 335 ^[15]	血浆	诊断	升高
miR - 17 - 3p ^[16]	血浆	诊断	升高,术后降低
miR - 92 ^[16]	血浆	诊断	升高,术后下降,能鉴别大肠癌与胃癌、炎症性肠病
miR - 29a ^[17]	血浆	诊断	在大肠癌及高级别腺瘤中升高
miR - 92a ^[17]	血浆	诊断	在大肠癌及高级别腺瘤中升高
miR - 21 ^[18]	血浆	诊断	升高
miR - 601 ^[19]	血浆	诊断	在大肠癌及高级别腺瘤中降低
miR - 760 ^[19]	血浆	诊断	在大肠癌及高级别腺瘤中降低
miR - 29a ^[21]	血清	诊断及预后	在伴肝转移的大肠癌较无肝转移的大肠癌患者表达升高
miR - 221 ^[22]	血浆	诊断及预后	升高,与大肠癌患者生存期及 p53 相关
miR - 141 ^[23]	血浆	预后	升高,与大肠癌患者生存期相关

1. 循环系统中的 miRNA 与结直肠癌的诊断(表 1):多项研究显示,循环系统中的 miRNA 对结直肠癌的诊断及鉴别诊断具有重要作用^[15-19]。Giraldez 等^[15]在对结直肠癌患者血浆 miRNA 的表达谱进行检测时发现,miR - 18a、miR - 19a、miR - 19b、miR - 15b、miR - 29a、miR - 335 等 5 个 miRNA 在结直肠癌患者血浆中表达水平升高,是潜在的结直肠癌诊断标志物,其中只有 miR - 18a 在结肠高级别腺瘤患者中表达升高,表明 miRNA 的表达在疾病的不同阶段及不同疾病中有其相对特异性的变化。Ng 等^[16]研究发现,血浆 miRNA 的表达情况与组织样本具有一定程度的符合率,在其所检测的 95 个 miRNA 中,miR - 95、miR - 222、miR - 135b、miR - 17a - 3p 和 miR - 92a 在血浆及组织中均高表达,其中 miR - 92a 和 miR - 17a - 3p 的差异最具统计学意义($P = 0.000$),miR - 92a 对结直肠癌诊断的敏感度是 89%,特异性是

70%;miR - 17a - 3p 的诊断敏感度和特异性分别是 64% 和 70%。并且在术后第 7 天 miR - 92a 及 miR - 17 - 3p 的表达水平下降,表明血浆中升高的 miRNA 可能系肿瘤细胞释放所致,当肿瘤负荷减少时血浆 miRNA 的含量亦下降。因此,miRNA 有望成为肿瘤检测及复发的监测指标。此外,由于 miR - 92a 尚可以将结直肠癌与其他胃肠道肿瘤如胃癌及炎症性肠病区分开,其敏感度为 64.9%,特异性为 81.4%。Huang 等^[17]的研究也有相似结论,其研究发现血浆 miR - 92a 和 miR - 29a 不仅能区分正常人与结直肠癌患者($P = 0.000$),也能区分正常人与结直肠高级别腺瘤患者($P = 0.000$)。miR - 29a 对于区分正常人与结直肠癌患者的敏感度为 69.0%,特异性为 89.1%;其区分正常人与高级别腺瘤患者的敏感度和特异性分别为 62.2% 及 84.7%。miR - 92a 对于区分正常人与结直肠癌的敏感度为 84.0%,特异性为

71.2% ;其区分正常人与高级别腺瘤的敏感度和特异性分别为 64.9% 及 81.4%。将两者联合检测则可提高敏感度和特异性,两者联合检测对于结直肠癌检测的敏感度和特异性分别为 83.0% 及 84.7%。因此,血浆 miR-92a 和 miR-29a 有望成为结直肠癌早期诊断的指标。Kanaan 等^[18]研究发现,其所检测的血浆 miRNA-21 对诊断结直肠癌的敏感度和特异性均为 90%。Wang 等^[19]研究发现 miRNA-601 及 miRNA-760 在结直肠癌及高级别腺瘤患者血浆中的表达水平均降低,两者联合检测时,其对诊断结直肠癌的敏感度可达 83.3%,特异性为 69.1%;对诊断高级别腺瘤的敏感度和特异性则分别可达 72.1% 及 62.1%。但值得注意的是,某些 miRNA 的血浆水平升高可以出现在多种类型肿瘤中,如 Chen 等^[6]研究发现,在结直肠癌患者血浆中升高的 69 个 miRNA,其中有 80% 在肺癌患者血浆中也出现异常表达,如 miRNA-134、miRNA-146b、miRNA-221 等。因此,今后需要更进一步探索发现结直肠癌特异性的循环 miRNA。

2. 循环系统中的 miRNA 与结直肠癌的预后评估(表 1):目前,临床上对结直肠癌的预后评估主要依赖于患者临床表现、病理学及传统肿瘤标志物检测结果,但肿瘤转移或复发时常无明显临床表现,而病理学证据很难获得且重复性较差。传统的肿瘤标志物如癌胚抗原(CEA)在结直肠癌预后评估中虽有重要价值,但临床工作中其特异性虽较高(95%),但其敏感度较低(56%)。因此,寻找新型结直肠癌的预后生物学标志物有着重要的意义。Wang 等^[20]研究 miR-17a-3P、miR-29a 和 miR-92a 在结直肠癌伴或不伴肝转移患者血清中的差异表达情况,结果发现结直肠癌伴肝转移的患者血清 miR-29a 的表达水平升高,且其差异具有统计学意义,其监测结直肠癌伴肝转移的敏感度和特异性均为 75%。因此,血清 miR-29a 有望作为早期监测结直肠癌肝转移的标志物。Pu 等检测结直肠癌患者血浆中 miR-21、miR-221 及 miR-222 的表达情况时发现存在 p53 突变的结直肠癌患者其血浆中 miR-221 表达的表达式水平升高且生存期短,miR-221 可能成为结直肠癌预后评估的指标。Cheng 等检测结直肠癌患者血浆中 miR-21、miR-921、miR-141 的表达情况,研究发现尽管三者均在结直肠癌中异常表达,但只有 miR-141 的表达差异具有统计学意义,并且与结直肠癌的 TNM 分期相关($r = 0.605$, $P = 0.000$)。高表达的

miR-141 患者预后较差,其敏感度 77.1%,特异性为 89.7%,是转移性结肠癌的独立预后因素,当与癌胚抗原(CEA)结合检测时,其敏感度和特异性均升高。

五、展 望

miRNA 的发现是对现有的真核生物基因表达调控理论的重要补充,在疾病的诊断和治疗中的运用仍是一个漫长的过程,尽管如此,对 miRNA 的深入研究无疑增进了人类对疾病尤其是恶性肿瘤的发生、发展、转归等机制的认识,促进了其在疾病的诊断和治疗方面的快速发展。并且,由于检测技术的发展以及循环 miRNA 自身的特点,使得循环系统中的 miRNA 有望成为一种非侵入性的肿瘤标志物。理想的生物学标志物的检测应该是微创的,并且具有较高的敏感度和特异性。但是,目前在临床上检测的单一循环系统中的生物学标志物都不足以满足上述条件,因此联合检测一组特异的循环系统中的生物标志物较单一的更实用,其敏感度、特异性及准确性均较高。循环系统中的 miRNA 应用于临床时,应联合检测一组或者与其他的生物标志物结合起来使用。笔者相信,随着 miRNA 的研究进展,特定的循环系统中的 miRNA 表达谱(并非一两个 miRNA)可以成为某一生理或疾病状态下的指纹,其在未来的诊断疾病和个体化医疗中必然发挥巨大作用。

参考文献

- 1 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297
- 2 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854
- 3 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP, et al. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120(1): 15-20
- 4 Berezikov E, Guryev V, vande Belt J, et al. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes[J]. Cell, 2005, 120(1): 21-24
- 5 Kusenda B, Mraz M, Mayer J, et al. MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance[J]. Biomed Pap Med Fae Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2006, 150(2): 205-215
- 6 Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997-1006
- 7 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, et al. Detection of elevated levels of tumor-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. Br J Haematol, 2008, 141(5): 672-675
- 8 Brase JC, Wuttig D, Kuner R, et al. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 306
- 9 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as

- stable blood – based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(30):10513 – 10518
- 10 Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DL. MicroRNAs and cancer[J]. Br J Surg, 2007, 94(1):23 – 30
 - 11 Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, *et al.*, Frequent deletions and down – regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q 14 in chronic lymphocytic leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(24):15524 – 15529
 - 12 Visone R, Croce CM. MiRNA and cancer[J]. American Journal of Pathology, 2009, 174(4):1131 – 1138
 - 13 Rosenfeld N, Aharonov R, Meid E, *et al.* MicroRNA accurately identify cancer tissue origin[J]. Nat Biotechnol., 2008, 26(4):462 – 469
 - 14 Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69 – 90
 - 15 Giraldez MD, Lozano JJ, Ramirez G, *et al.* Circulating microRNAs as biomarkers of colorectal cancer: results from a genome – wide profiling and validation study[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012, 11(6):681 – 688
 - 16 Ng EK, Chong WW, Jin H. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening[J]. Gut, 2009, 58(10):1375 – 1381
 - 17 Huang Z, Huang D, Ni S, *et al.* Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 127(1):118 – 126
 - 18 Kanaan Z, Rai SN, Eichenberger MR, *et al.* Plasma miR – 21: a potential diagnostic marker of colorectal cancer[J]. Ann Surg, 2012, 256(3):544 – 551
 - 19 Wang Q, Huang Z, Ni S, *et al.* Plasma miR – 601 and miR – 760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer[J]. PLoS ONE, 2012, 7(9):e44398
 - 20 Wang LG, Gu J. Serum microRNA – 29a is a promising novel marker for early detection of colorectal liver metastasis[J]. Cancer Epidemiol, 2012, 36(1):e61 – e67 (收稿日期:2014 – 10 – 22)
(修回日期:2014 – 10 – 27)

半乳糖凝集素 – 1 在妇科恶性肿瘤中生物活性的研究进展

周青峰 陶雪娇 朱雪琼

摘 要 近年来的研究表明,半乳糖凝集素 – 1 在多种恶性肿瘤中特异性表达并参与调节癌细胞的多种生物学活性。本文就半乳糖凝集素 – 1 在宫颈癌、卵巢癌等妇科恶性肿瘤中的表达以及在肿瘤的发生、发展、侵袭和转移、化疗疗效以及预后评价中的作用进行综述。

关键词 半乳糖凝集素 – 1 宫颈癌 卵巢癌 子宫内膜癌 绒毛膜癌

中图分类号 R737.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.003

半乳糖凝集素(galectins, gal)属于凝集素家族系统,该家族的基因相对保守。具有糖类识别区这一特征性的结构,由 130 个氨基酸构成,对富含 β – 半乳糖苷的糖复合物具有特殊的亲和力。半乳糖凝集素 – 1(galectin – 1, gal – 1)是 gal 家族中的一员,由 LGALS1(lectin, galactosidebinding, soluble 1)基因编码,定位于人类 22q13 染色体,由 4 个外显子组成,编码由 135 个氨基酸组成的蛋白质^[1]。gal – 1 具有多种生物学活性,参与细胞的增殖、转移、黏附、凋亡、炎症反应及免疫应答等^[1-3]。

研究发现,gal – 1 可诱导激活的 T 细胞凋亡进而

促使肿瘤免疫逃逸,也可以调节同型肿瘤细胞的黏附以及肿瘤细胞与细胞外基质的作用^[4]。体外实验发现它可通过调节肿瘤黏附到内皮细胞,促进肿瘤的侵袭和迁移。肿瘤细胞内的 gal – 1 可促进肿瘤的增殖,并且与癌基因 H – Ras 相互作用来调节肿瘤的转化。另外,有研究者发现,抗血管内皮生长因子治疗肿瘤是通过促进肿瘤细胞分泌 gal – 1,炎症因子及低氧环境可促进这一过程的发生^[5]。

近年来的研究表明,gal – 1 蛋白在多种恶性肿瘤中特异性表达并参与调节癌细胞的多种生物学活性,如与前列腺癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、膀胱癌、淋巴瘤、黑色素瘤、胰腺癌、甲状腺癌、胃癌等的发生、发展、转移、侵袭等有着密切的联系^[3]。但关于 gal – 1 在妇科恶性肿瘤中的研究报道较少。本文就目前 gal – 1 在妇科恶性肿瘤中生物活性的研究进展进行综述。

基金项目:浙江省高层次创新人才基金资助项目

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院妇产科

通讯作者:朱雪琼,电子信箱:zjwzzxq@163.com