

循环 microRNA 在结直肠癌临床应用的研究进展

潘雅斯 余保平

摘 要 循环微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 是指一类通过细胞破裂或微囊泡分泌等进入循环系统的长约 19 ~ 25 个核苷酸序列的内源性非编码 RNA, 已被证实参与包括结直肠癌在内多种肿瘤细胞的生物学过程。miRNAs 在结直肠癌患者循环血中异常表达, 并可在血清中的稳定存在, 有望成为其诊断及预后判断及治疗检测的新生生物标志物, 本文主要将血清或血浆 miRNAs 在结直肠癌临床应用的研究进展做一综述。

关键词 结直肠癌 循环 microRNA 诊断 预后

中图分类号 R4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.002

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是人类最常见的发生率高、病死率高的恶性肿瘤之一, 转移性结直肠癌患者的低生存率更突出了早期诊断、早期治疗的必要性。微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 是一类内源性非编码 RNA, 参与包括 CRC 等肿瘤细胞增殖、分化、迁移、新生血管生成、细胞凋亡等生物学过程, 肿瘤来源的 miRNA 可通过破裂细胞或小囊泡体、细胞微泡进而释放入血, 其对 CRC 发病机制、诊断、预后判断及治疗等都有十分重要的意义^[1,2]。

一、循环 miRNA 分子概述

miRNA 是一类长约 19 ~ 25 个碱基对的内源性非编码 RNA, 于 1993 年在秀丽隐杆线虫的研究中首次发现, 其主要功能是通过结合目标信使 RNA (mRNAs) 3' 端非编码序列中的互补序列 (UTR) 以调节蛋白质翻译, 从而负调节 mRNA 翻译, 研究证实其参与调控多种细胞生物学过程^[3,4]。早在 1947 年便有报道称血浆中发现完整的胞外 RNA, 直至 2008 年有学者发现, miRNA 也存在于包括血浆、血小板、红细胞、有核血细胞等循环中, 通过与 RNA 结合蛋白 (如 Argonaute 2 和核仁磷酸蛋白 1) 结合, 或通过高密度脂蛋白结合, 血浆 miRNA 转化成微粒 (如外泌体、微泡或凋亡小体等), 免受内源性 RNA 酶干扰^[5,6]。循环 miRNA 生物学特性稳定, 可以抵抗核糖核酸酶、高温、pH 值变化等^[7]。而利用反转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 技术或者基因芯片技术即可完成对循环

miRNA 表达量的测定。这些特性使得循环 miRNA 可能作为 CRC 早期筛查及诊断的候选指标。

二、循环 miRNAs 与结直肠癌的诊断

CRC 肿瘤的启动、生长与转移跟多种信号通道 (如 Wnt 信号通路、EGFR 信号通路与 3TGF- β 信号通路失调、4P53 功能缺陷等) 相关, 而多个 miRNA 参与上述通路^[8]。至今已报道多项血清 miRNA 与 CRC 的相关研究, 部分血清 miRNA 在 CRC 患者中具有特异表达。

Chen 等^[9]首次将血清 miRNA 作为 CRC 的生物标志物深度测序发现, 69 种 miRNAs 在健康人群中未检测到, 而在 CRC 患者血清中显著性高表达。此外, Chen 等^[9]还证实了由 14 种血清 miRNAs 组成的表达谱在肺癌患者中不表达, 而可在 CRC 患者中特异表达, 这提示某些血清 miRNAs 在 CRC 中具有特异性。Ng 等^[10]发现与健康对照组相比, 95 种 miRNAs 在 CRC 患者血清中存在差异性表达。其中 miR-17-3p 和 miR-92 的含量在 CRC 患者中明显增高, 且 miR-92 在腺瘤和 CRC 中表达增高, 在炎症性疾病和胃癌中表达不增高。Ng 等^[10]研究发现, 相比于 CRC 其他潜在生物标志物如 CEA, 不管在 CRC 早期或晚期, 血清 miR-139-3p 均具有更高的敏感度 (96.6%) 和特异性 (97.8%)。

循环 miR-21 可在许多实体瘤中高表达, 据报道, 血清 miR-21 水平升高, 可强烈区分腺瘤和 CRC^[11]。通过基因芯片分析, 血清 miR-1290 在结肠直肠癌腺瘤 ($P=0.000$) 和结直肠癌 ($P=0.000$) 患者中表达显著上调, 且血清 miR-1290 可以区分腺瘤 ($AUC=0.718$) 及 CRC ($AUC=0.830$), 血清和组织中 miR-1290 高表达与肿瘤侵袭性相关, 并提示预

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (面上项目) (81770638, 81170351)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科

通讯作者: 余保平, 教授, 博士生导师, 电子信箱: yubp62@163.com

后不良^[12]。

Huang 等^[13]观察到 CRC 患者血浆中 miR-92a 和 miR-29a 水平升高。手术切除肿瘤后则显著下降,血浆中二者含量与肿瘤 TNM 分期高度相关,TNM 分期越高,miR-92a 和 miR-29a 水平越高。不久之后,Wang 等^[14]又发现,与对照组比较,CRC 患者血浆 miR-601 和 miR-760 显著降低。通过 miR-29a、miR-92a 和 miR-760 ROC 三者结合的曲线分析可明显提高 CRC 检出率,最终敏感度可达 83.3%,特异性达 93.1%。由此可证明,相对于单个 miRNA,多个循环 miRNA 联合检测更有助于 CRC 的诊断。

一组包含 6 种 miRNAs (miR-21、let-7g、miR-31、miR-92a、miR-181b、miR-203) 的组合通过血清 miRNAs 异常表达可以准确地区分 CRC 患者和对照组,并且与 CEA、CA-199 相比,敏感度、特异性分别高达 91%、93%^[15]。8 种血浆 miRNA (miR-15b、miR-17、miR-142-3p、miR-195、miR-331、miR-532-3p、miR-532 和 miR-652) 组合,能够高精度区分结肠腺瘤患者和健康人群 (AUC=0.868)^[16]。

综上所述,循环 miRNA 特别是循环 miRNA 组合联合检测,可作为 CRC 早期诊断和筛查的分子标志物。

三、循环 miRNA 在结直肠癌的预后判断与临床监测的研究

1. 循环 miRNA 与 CRC 预后:远处转移是结肠癌患者主要死亡原因,其主要归因于缺乏敏感的转移预测生物标志物。目前 miR-21 被认为是 CRC 患者强有力的预后标志物^[17];最近对 CRC 患者(其中 186 例术前血清样本,60 例术后患者)、43 例晚期腺瘤患者及 53 个对照样品的血清 miR-21 表达水平研究发现,术前腺瘤患者 ($P=0.000$) 及结肠直肠癌患者 ($P=0.000$) 循环 miR-21 表达明显升高^[18]。另外,血清 miR-200c 不仅可作为 CRC 独立预后标志物,其高表达还与淋巴结及远处转移正相关,尤其可作为 II 期 CRC 独立的复发预测标志物^[19]。Yin 等^[20]发现血清 miR-126、miR-141、miR-21 与 CRC 的肝转移相关,这提示三者可成为 CRC 肝转移初期临床诊断的分子标志物。Yang 等^[21]报道血清 miR-29c 的高表达与 II 期、III 期 CRC 早期复发高度相关,表明其具有识别复发高风险患者的潜力。

Huang 等^[13]对 100 例 CRC 患者与 59 名健康对照研究发现,血清 miR-92a 在 CRC 患者中高表达,手术切除肿瘤后表达水平降低,与未发生肝转移的 CRC 患者相比,CRC 肝转移患者血清 miRNA-29a

表达显著性增高 (AUC 为 0.803,敏感度为 75%,特异性为 75%)。Cheng 等^[22]应用 qRT-PCR 对 102 个血清样本进行研究,发现血清 miR-141 与 IV 期 CRC 高度相关。他们还发现 miR-141 和癌胚抗原 (CEA) 组合,可以进一步提高 CRC 患者检测的准确性。miR-141 可作为 CEA 的补充来检测 CRC 的远处转移,其高表达提示预后差。有学者对 58 个配对样本(原发性 CRC 组织与肝脏转移瘤组织标本),以及 186 个血清样本和与其相匹配的 154 个 CRC 患者组织标本研究发现,正常肝细胞几乎不表达 miR-203 而其在肝脏转移灶中强表达,且 CRC 肝转移患者血清 miR-203 表达显著上调,此外,他们还量化了一些消化道肿瘤(包括胃癌、食管癌)以及溃疡性结肠炎患者血清中 miR-203 的表达后发现,与 CRC 患者相比,上述疾病患者血清 miR-203 表达显著低下,这提示血清 miR-203 高表达很可能是 CRC 的特异性指标。他们仍证实了血清 miR-203 的表达可反映 CRC 的进展及癌细胞的播散,且不管有无转移,血清 miR-203 高表达与 CRC 患者远处转移及低存活率显著相关^[23]。这些数据表明,循环血中特定 miRNAs 的差异表达可以作为预测 CRC 预后的潜在分子指标。

2. 循环 miRNA 与 CRC 治疗:近年来,尽管药物治疗取得进展,但无手术指证的 CRC 患者接受药物治疗后中期存活率仍不容乐观,因此,miRNA 对药物的反应机制以及患者体内循环 miRNA 在治疗前后的变化趋势的监测则显得至关重要。一项研究分析了基于奥沙利铂的治疗应答者与非反应者血浆的 miRNA 表达情况,3 种 miRNA (miR-106a、miR-484 和 miR-130) 在非反应者中均上调;3 个 miRNA (miR-27b、miR-148a、miR-326) 过表达与降低无进展生存期相关;miR-326 也与总生存期降低有关 ($P=0.003$)^[24]。Hansen 等^[25]研究发现,血清 miR-126 的变化与患者接受化疗和贝伐珠单抗治疗的反应相关。Zhang 等^[26]研究发现,一组包含 miR-20a、miR-130、miR-145、miR-216 和 miR-372 5 种血清的 miRNA 谱,可预测 CRC 化疗敏感度。

癌症重要并发症是治疗后复发。一项关于 miR-29c 在 CRC 中作用的研究发现,与非早期复发患者相比,血清 miR-29c 在早期复发的患者(局部复发或切除后 1 年内发生远处转移)高表达^[27]。

四、展 望

大便潜血试验 (FOBT) 及血清癌胚抗原 (CEA)

检测是目前临床上广泛采用的 CRC 早期筛查的无创检查手段,但由于敏感度及特异性的限制,并不能作为 CRC 术前诊断的金标准。因此,寻找一种无创且敏感度及特异性均高的 CRC 术前筛查指标,具有重要的临床意义。循环 miRNA 的测定为非侵入性检查,具有稳定性高及检测方便准确等优势,而且 miRNA 本身就是 CRC 肿瘤细胞增殖、分化、迁移、新生血管生成、细胞凋亡等活动的参与者,若能找到与 CRC 相关的特异性好、敏感度高的 miRNA,早期发现结直肠癌,这必将大大提高 CRC 患者的 5 年生存率和生活质量。然而,由于缺乏大样本、多中心、前瞻性的研究数据,循环 miRNA 表达谱尚未完善等因素,循环 miRNA 作为 CRC 诊断和预后的生物学标志物仍然具有局限性。特定循环 miRNA 与现有的诊断指标相结合,或数个循环 miRNA 联合检测对 CRC 的临床应用具有重大意义。

综上所述,循环 miRNA 有助于监测病情变化以及指导临床治疗。

参考文献

- 1 Blenkiron C, Miska EA. miRNAs in cancer: approaches, aetiology, diagnostics and therapy[J]. *Hum Mol Genet*,2007,16(1):R106 - R113
- 2 Mirzaei H, Sahebkar A, Jaafari MR, *et al*. Diagnostic and therapeutic potential of exosomes in cancer: the beginning of a new tale? [J]. *J Cell Physiol*,2017,232(12):3251 - 3260
- 3 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*,2009,136(2):215 - 233
- 4 Chiang HR, Schoenfeld LW, Ruby JG, *et al*. Mammalian microRNAs: experimental evaluation of novel and previously annotated genes [J]. *Genes Dev*,2010,24(10):992 - 1009
- 5 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
- 6 Tijssen AJ, Pinto YM, Creemers EE. Circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for cardiovascular diseases[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*,2012,303(9):H1085 - H1095
- 7 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, *et al*. Circulating microRNAs as stable blood - based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2008,105(30):10513 - 10518
- 8 Shirafkan N, Mansoori B, Mohammadi A, *et al*. MicroRNAs as novel biomarkers for colorectal cancer: New outlooks[J]. *Biomed Pharmacother*,2017,97:1319 - 1330
- 9 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
- 10 Ng EK, Chong WW, Jin H, *et al*. 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
- 11 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
- 12 Imaoka H, Toiyama Y, Fujikawa H, *et al*. Circulating microRNA - 1290 as a novel diagnostic and prognostic biomarker in human colorectal cancer[J]. *Ann Oncol*,2016,27(10):1879
- 13 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
- 14 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
- 15 Wang J, Huang SK, Zhao M, *et al*. Identification of a circulating microRNA signature for colorectal cancer detection [J]. *PLoS One*,2014,9(4):e87451
- 16 Kanaan Z, Roberts H, Eichenberger MR, *et al*. A plasma microRNA panel for detection of colorectal adenomas: a step toward more precise screening for colorectal cancer[J]. *Ann Surg*,2013,258(3):400 - 408
- 17 Wu CW, Ng SS, Dong YJ, *et al*. Detection of miR - 92a and miR - 21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps[J]. *Gut*,2012,61(5):739 - 745
- 18 Toiyama Y, Takahashi M, Hur K, *et al*. Serum miR - 21 as a diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*,2013,105(12):849 - 859
- 19 Toiyama Y, Hur K, Tanaka K, *et al*. Serum miR - 200c is a novel prognostic and metastasis - predictive biomarker in patients with colorectal cancer[J]. *Ann Surg*,2014,259(4):735 - 743
- 20 Yin J, Bai Z, Song J, *et al*. Differential expression of serum miR - 126, miR - 141 and miR - 21 as novel biomarkers for early detection of liver metastasis in colorectal cancer[J]. *Chin J Cancer Res*,2014,26(1):95 - 103
- 21 Yang I, Tsai HL, Huang CW, *et al*. The functional significance of microRNA - 29c in patients with colorectal cancer: a potential circulating biomarker for predicting early relapse[J]. *PLoS One*,2013,8(6):e66842
- 22 Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, *et al*. Circulating plasma MiR - 141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis[J]. *PLoS One*,2011,6(3):e17745
- 23 Hur K, Toiyama Y, Okugawa Y, *et al*. Circulating microRNA - 203 predicts prognosis and metastasis in human colorectal cancer [J]. *Gut*,2017,66(4):654
- 24 Kjersem JB, Ikdahl T, Lingjaerde OC, *et al*. Plasma microRNAs predicting clinical outcome in metastatic colorectal cancer patients receiving first - line oxaliplatin - based treatment[J]. *Mol Oncol*,2014,8(1):59 - 67
- 25 Hansen TF, Carlsen AL, Heegaard NH, *et al*. Changes in circulating microRNA - 126 during treatment with chemotherapy and bevacizumab predicts treatment response in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*,2015,112(4):624 - 629
- 26 Zhang J, Zhang K, Bi M, *et al*. Circulating microRNA expressions in colorectal cancer as predictors of response to chemotherapy [J]. *Anti - cancer Drugs*,2014,25(3):346
- 27 Yang IP, Tsai HL, Huang CW, *et al*. The functional significance of microRNA - 29c in patients with colorectal cancer: a potential circulating biomarker for predicting early relapse[J]. *PLoS One*,2013,8(6):e66842

(收稿日期:2018 - 01 - 02)

(修回日期:2018 - 01 - 06)