

微小 RNA - 21 在非小细胞肺癌中诊疗作用的研究进展

程万里 汪俊其 刘鑫 任文俊 王平

摘要 非小细胞肺癌(non-small cell lung, NSCLC)作为肺癌中最常见的亚型,虽然目前 NSCLC 有着较好的治疗手段,但由于缺乏早期诊断、精准治疗和预后判断,NSCLC 的病死率仍然较高。microRNA - 21(miR - 21)是 miRNA 中的一员,既往研究表明,miR - 21 作为一种致癌 miRNA,通过调控各种靶分子和信号通路抑制基因表达从而促进 NSCLC 的发展。miR - 21 在 NSCLC 的发病、诊断、治疗、预后方面有着密切的关系。本文旨在总结近年来 miR - 21 在 NSCLC 诊疗作用研究中所取得的进展。

关键词 非小细胞肺癌 microRNA - 21 生物学标志物

中图分类号 R734.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.08.006

肺癌已成为世界上最常见的恶性肿瘤之一,其发生率和病死率均很高,亦是我国主要癌症相关死因^[1]。非小细胞肺癌(non-small cell lung, NSCLC)患者数量占有所有肺癌患者的 80% ~ 85%,其中大部分患者被发现时已是中晚期,治疗方法虽已有精进,但是患者的 5 年生存率却不足 20%^[2]。目前临床上所面临的主要挑战则是早期发现、有效治疗和生存期预测手段的缺乏。肺癌患者的复发和转移也是导致总生存期较差的重要因素^[3]。miRNA 作为无创的生物学标志物,对判断 NSCLC 的诊断、治疗以及预后具有重要意义^[4]。NSCLC 是一个多因素、多步骤、编码基因和非编码基因复杂渐进的疾病。其中 miR - 21 的表达水平与 NSCLC 的发生、增殖、迁移以及侵袭有着密切关系^[5]。通过测定 miR - 21 的表达水平可能在 NSCLC 早期诊断、治疗效果、预后预测方面发挥着重要作用,也为探寻 NSCLC 的生物学标志物提供了一个全新思路。

一、microRNA - 21

microRNA(miRNA)是一种内源性小 RNA,参与转录后基因调节和表达。miRNA 通过结合其目标信使 RNA(mRNA)的 3' - 未翻译区域而发挥功能。在人类癌症中,许多 miRNA 被证实通过上调或下调来参与肿瘤的生长。因此,作为基因表达关键调控因子,miRNA 有着巨大的生物学标志物潜力^[6,7]。

基金项目:云南省卫生健康委员会医学后备人才培养计划项目(H-2018027);云南省科技计划昆医联合项目(面上项目)(201901C070324)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院(程万里、汪俊其、刘鑫、任文俊、王平);650032 昆明,云南省第一人民医院心脏大血管外科(任文俊)

通信作者:王平,电子信箱:826313904@qq.com

miR - 21 是 miRNA 家族中的一员,成熟的 miR - 21 由内源性 19 ~ 22 个核苷酸的非编码 RNA 分子组成,随后被纳入 RNA 诱导的沉默复合体,通过与 mRNA 不完全碱基配对,靶向结合到各种 mRNA 的 3' - 未翻译区域而发挥作用^[8]。miR - 21 参与多种癌症相关过程,高表达的 miR - 21 常出现在多种癌症中,如乳腺癌、食管癌、胃癌、肺癌、结直肠癌^[9]。既往研究也表明,miR - 21 是一种致癌 miRNA。抑制 miR - 21 表达可降低结直肠癌、胃癌、肺癌的增殖、迁移和侵袭^[10-12]。

近年来一些研究表明,具有致癌作用的 miR - 21 在 NSCLC 中表达上调,通过作用于各种靶点如磷酸酶和张力素同源物等调控 NSCLC 癌细胞的生长、转移以及凋亡或者作为下游调控因子被环状 RNA 等进行调控,证实其在 NSCLC 中的促癌作用^[13-15]。如今,关于 miR - 21 相关的前景也正在被挖掘,其作为生物学标志物的作用也在逐渐被证实。虽然 miR - 21 在 NSCLC 中的具体机制还尚未完全阐明,但既往研究表明,miR - 21 在 NSCLC 诊断、治疗及预后预测方面具有潜在价值,也为 miR - 21 作为新型癌症生物学标志物提供了依据。

二、miR - 21 在 NSCLC 中的诊断作用

NSCLC 是世界范围内最常见的肺癌亚型。虽然治疗手段有所进步,但高病死率不可避免,主要原因是早期 NSCLC 症状不明显,大多数确诊的 NSCLC 患者(约 75%)已处于中晚期,其临床上主要弊端是早期诊断手段有限^[16-18]。因此对于 NSCLC 而言,开发一种新的生物学标志物已是迫在眉睫。研究表明,在 NSCLC 的早期诊断中通过分析肿瘤源性 miRNA 可能作为非入侵性、高敏感度和无创性早期 NSCLC 诊断生物学标志物的候选者^[19]。

研究发现,通过反转录定量聚合酶链式反应对129例早期NSCLC患者和83例健康对照分析发现,早期NSCLC血浆样本中表达相对于健康对照组血浆miR-21表达显著升高($P < 0.05$),进一步经过手术治疗后发现NSCLC患者miR-21表达水平有所降低^[20]。表明肿瘤源性的miR-21可作为NSCLC的早期非侵袭性生物学标志物诊断手段。有研究者研究miR-21与肺癌分期的关系时通过检测miR-21的表达发现Ⅲ/Ⅳ期肺癌患者较Ⅰ/Ⅱ期肺癌患者的miR-21表达水平显著上调($P < 0.05$)^[21]。这也说明miR-21对肺癌患者的分期诊断提供依据,也为后续治疗提供了参考。另一项研究发现,在肺癌中miR-21表达水平与肺癌病理类型也存在着联系,利用实时荧光定量PCR技术检测小细胞肺癌21例、肺腺癌18例、肺鳞癌22例以及正常对照26例,发现肺腺癌患者血清miR-21水平明显高于其他两种类型,其次肺癌患者血清中的miR-21表达水平显著高于正常对照组($P < 0.001$)^[22]。这也说明miR-21除在肺癌中具有诊断价值以外,可能对肿瘤的病理类型的区分也会起到有一定的提示作用。

有研究者在研究循环miRNA对NSCLC的诊断作用时,通过对30例NSCLC患者和30例健康对照血清样本中提取总RNA,反转录为cDNA并进行RNA定量,来检测miR-21的表达水平,再通过统计学分析发现,NSCLC患者miR-21的表达水平显著高于健康组。这说明miR-21可以通过液体活检检测其表达从而发挥出诊断NSCLC的潜力^[23]。当然,这一发现还需要更大的样本量去验证miR-21诊断的准确性。也有研究表明,miR-21联合miR-210、miR-1290和miR-150可提高NSCLC的诊断准确性^[24]。这一组miRNA可以应对复杂分子对于NSCLC的起始和发展的影响,也降低了单个miRNA诊断的局限性。Yang等^[25]研究发现,通过比较miR-21与miR-let-7a的比例值来作为NSCLC与良性肿瘤鉴别诊断的手段,NSCLC患者组的miR-21与miR-let-7a比值则显著高于良性肿瘤组($P < 0.05$)。这些证据均都表明,miR-21作为非入侵性生物学标志物在NSCLC早期诊断具有相当大的前景。

三、miR-21在NSCLC中的治疗作用

NSCLC的主要治疗手段则是手术和化疗,但大部分晚期患者对于化疗不敏感或者较早出现耐药性严重影响患者生存期限。近年来研究表明,miR-21表达水平的降低可作为肺癌治疗的良性指标。一项

研究发现,具有促癌作用的miR-21其表达可被miR-21抑制剂(miR-21 inhibitor, miR-21i)抑制。miR-21i与化疗药物阿霉素联合治疗NSCLC可有协同作用,进而研究发现了一种磷酸钙聚合物包被的纳米颗粒配方,与阿霉素共同递送miR-21i,不仅下调了NSCLC中的miR-21的表达,也提高了阿霉素的疗效^[26]。这种基于RNA干扰和化疗结合的治疗方法也具有巨大前景。近年来,有研究发现,miR-21与长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)之间可能存在着潜在的相互作用关系。

Chen等^[27]研究发现,在lncRNA生长抑制特异性转录本5(growth arrest specific transcript 5, lncRNA GAS5)与miR-21/PTEN/Akt轴之间存在相互作用关系,lncRNA GAS5过表达或抑制miR-21的表达可使PTEN水平升高,Akt磷酸化水平降低,进而提高了NSCLC细胞(A549细胞株)对放射治疗的敏感度。这也表明了miR-21在NSCLC的放射治疗中也有着重要潜在作用。另一项研究发现,lncRNA母系表达基因3(maternally expressed gene 3, lncRNA MEG3)作为一种肿瘤抑制因子可以抑制miR-21的表达,进而影响PI₃K/Akt通路来抑制NSCLC细胞的迁移和转移^[28]。

随着研究的深入,lncRNA MEG3对miR-21的抑制作用会逐渐清晰,其也可能成为NSCLC治疗的一种新的方案。有研究显示,作为麻醉药物的异丙酚作用于体外肺腺癌A549细胞时,异丙酚可有效地下调miR-21的表达,进而通过miR-21/PTEN/Akt通路抑制癌细胞的生长和增殖并且促进细胞凋亡^[29]。这提示着对于肺腺癌患者手术治疗时使用异丙酚作为麻醉剂可能更为适合。这些证据均表明miR-21具有作为NSCLC治疗的潜在价值,对于miR-21而言其本身也可作为药物开发的靶点发挥作用,这些隐藏的价值则需要更加深入的探索和验证。

四、miR-21在NSCLC的预后预测作用

越来越多的研究探讨了miR-21的表达在NSCLC预后的价值。miR-21也有望成为NSCLC预后判断的生物学标志物。有研究发现,在NSCLC患者3年生存率跟踪随访分析中发现,血浆中miR-21高表达组中的患者生存率相较于低表达组的患者3年生存率明显降低($P < 0.05$)。进一步通过多变量分析得出miR-21的表达与淋巴结转移、TNM分期以及分化水平均相关($P < 0.05$)。这也使得miR-

21有望成为 NSCLC 预后的良好指标。该研究中 miR-21 的表达与预后关系已较为明朗,当联合检测 PTEN 和 P27 表达水平时亦可增加预后预测的效率^[30]。另外,有报道称,在 I/II 期的 NSCLC 中 miR-21 的过表达可达到最高值,但是在 III/IV 期中的 NSCLC lncRNA H19 的表达程度会较 miR-21 的幅度更加明显。此外,还发现当 miR-21 和 lncRNA H19 的表达均升高时,患者的总生存期会降低。提示 miR-21 在预后预测中联合 lncRNA H19 的表达,不仅能评估出 NSCLC 的进展,对总生存期预测也有着一定的价值。

有研究者在分析 miR-21 在 NSCLC 预后中的作用时发现,miR-21 表达水平升高与总生存期缩短相关。NSCLC 中的复发和转移也是常见的挑战。另外一项研究发现,复发组的 miR-21 的表达水平(8.18 ± 2.71)明显高于初诊断组(5.33 ± 1.96)血浆中的 miR-21 表达水平($P < 0.01$)。还有研究者研究胸腔灌洗液细胞学检查时发现,细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)中 miR-21 (EV-miR-21)的表达水平和原发部位肺腺癌预后不良呈正相关,且与胸膜浸润程度也有着一定关系。说明通过检测 EV-miR-21 表达水平有助于预测 NSCLC 患者的肿瘤复发和预后。另一项研究表明,晚期 NSCLC 患者血浆中的 miR-21 表达水平与化疗疗效存在联系。肺鳞癌和肺腺癌患者分别使用吉西他滨+顺铂与培美曲塞+顺铂方案治疗两个周期(2周/周期)后检测 miR-21 的相对表达量,发现 miR-21 的表达较治疗之前明显降低。这也提示了 miR-21 在晚期 NSCLC 化疗治疗疗效中扮演了重要角色,不仅预测 NSCLC 的化疗预后,还评估了化疗的疗效。以上证据表明,miR-21 在 NSCLC 中是具有预后预测价值的生物学标志物,而且这些发现同时对于 NSCLC 诊断方面也有一定程度上的支持。

五、展 望

随着近年来研究者对 miR-21 研究的深入,越来越多的研究证据表明了 miR-21 在 NSCLC 中具有巨大的临床价值,在 NSCLC 的诊断、治疗及预后的研究领域取得了巨大的成果。虽然 miR-21 的研究有着相当的成就,但至今为止临床上的应用却是极少。尽管 miR-21 与 NSCLC 诊疗方面的潜在联系逐渐被证实,但是仍然面临着很多的挑战。例如与 miR-21 相关的具体机制未完全阐明,miR-21 是否能成为简单易行、低成本高效益、快速高敏感度的

生物学标志物,能否成为安全、有效、具可行性的靶向治疗的目标等问题还需要大量的临床研究来验证。miR-21 存在于多种肿瘤之中,这之间是否会存在一些异常改变现象,这也是颇具挑战性的问题。即便如此,相信随着研究者对 miR-21 研究的深入和实验技术的进步,这些问题将会逐一解决。

参考文献

- Han Z, Li Q, Sun S, *et al.* Inactivated Sendai virus strain Tianjin induces apoptosis and autophagy through reactive oxygen species production in osteosarcoma MG-63 cells[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4179-4190
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386
- Feng B, Zhang K, Wang R, *et al.* Non-small-cell lung cancer and miRNAs: novel biomarkers and promising tools for treatment[J]. *Clin Sci: Lond*, 2015, 128(10): 619-634
- 高晓会, 张亚利, 张治业, 等. miR-21 靶向 Atg5 对非小细胞肺癌 A549 细胞自噬调控促进细胞增殖、迁移和侵袭的实验研究[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24(2): 97-101
- Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1202-1207
- Ali Syeda Z, Langden SSS, Munkhzul C, *et al.* Regulatory mechanism of MicroRNA expression in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1723
- Zheng W, Zhao J, Tao Y, *et al.* MicroRNA-21: a promising biomarker for the prognosis and diagnosis of non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 2777-2782
- Wang B, Zhang Q. The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(10): 1659-1666
- 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
- Zhang BG, Li JF, Yu BQ, *et al.* MicroRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(4): 1019-1026
- Liu XG, Zhu WY, Huang YY, *et al.* High expression of serum miR-21 and tumor miR-200c associated with poor prognosis in patients with lung cancer[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2): 618-626
- Dai L, Chen F, Zheng Y, *et al.* miR-21 regulates growth and EMT in lung cancer cells via PTEN/Akt/GSK3 β signaling[J]. *Front Biosci: Landmark Ed*, 2019, 24: 1426-1439

(下转第 28 页)

- 24 Ali N, Gohar S, Zaky I, *et al.* Osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia; a report from Children's Cancer Hospital Egypt (CCHE) [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2019, 66(1): e27440
- 25 Mogensen SS, Harila - Saari A, Makitie O, *et al.* Comparing osteonecrosis clinical phenotype, timing, and risk factors in children and young adults treated for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2018, 65(10): e27300
- 26 Thompson J, Fisher B, Sung L, *et al.* Musculoskeletal impairments in children receiving intensive therapy for acute leukemia or undergoing hematopoietic stem cell transplant; a report from the Children's Oncology Group [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2021, 68(8): e29053
- 27 Straszowski L, Jovic T, Castillo - Tandazo W, *et al.* Effects of chemotherapy agents used to treat pediatric acute lymphoblastic leukemia patients on bone parameters and longitudinal growth of juvenile mice [J]. *Exp Hematol*, 2020, 82(1): 1 - 7
- 28 Albertsen BK, Grell K, Abrahamsson J, *et al.* Intermittent versus continuous PEG - asparaginase to reduce asparaginase - associated toxicities; a NOPHO ALL2008 randomized study [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(19): 1638 - 1646
- 29 Tauer JT, Hofbauer LC, Jung R, *et al.* Impact of long - term exposure to the tyrosine kinase inhibitor imatinib on the skeleton of growing rats [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0131192
- 30 Toksvang LN, Andres - Jensen L, Rank CU, *et al.* Maintenance therapy and risk of osteonecrosis in children and young adults with acute lymphoblastic leukemia; a NOPHO ALL2008 sub - study [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2021, 88(5): 911 - 917
- 31 Solmaz I, Ozdemir MA, Unal E, *et al.* Effect of vitamin K2 and vitamin D3 on bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukemia; a prospective cohort study [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2021, 34(4): 441 - 447
- 32 Utriainen P, Niimimäki TT, Huurre AJ, *et al.* Bisphosphonate treatment in children with acute lymphoblastic leukemia and osteonecrosis - radiological and clinical findings in a national cohort [J]. *Acta Oncol*, 2021, 60(9): 1140 - 1145
- 33 Hernigou P, Auregan JC, Dubory A, *et al.* Ankle osteonecrosis in fifty - one children and adolescent's leukemia survivors; a prospective randomized study on percutaneous mesenchymal stem cells treatment [J]. *Int Orthop*, 2021, 45(9): 2383 - 2393
- (收稿日期: 2022 - 01 - 30)
(修回日期: 2022 - 02 - 23)
-
- (上接第 24 页)
- 14 Zhang CC, Li Y, Feng XZ, *et al.* Circular RNA circ_0001287 inhibits the proliferation, metastasis, and radiosensitivity of non - small cell lung cancer cells by sponging microRNA miR - 21 and up - regulating phosphatase and tensin homolog expression [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 414 - 425
- 15 Yang Z, Xu X, Song C. Circular RNA La - related protein 4 inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation while promotes apoptosis through sponging microRNA - 21 - 5p [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2022, 37(2): 111 - 118
- 16 Zheng W, Zhao J, Tao Y, *et al.* MicroRNA - 21: a promising biomarker for the prognosis and diagnosis of non - small cell lung cancer [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 2777 - 2782
- 17 Yamanashi K, Okumura N, Takahashi A, *et al.* Surgical and survival outcomes of lung cancer patients with intratumoral lung abscesses [J]. *J Cardiothorac Surg*, 2017, 12(1): 44
- 18 Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, *et al.* Lung cancer; current therapies and new targeted treatments [J]. *Lancet*, 2017, 389(10066): 299 - 311
- 19 Jin X, Chen Y, Chen H, *et al.* Evaluation of tumor - derived exosomal miRNA as potential diagnostic biomarkers for early - stage non - small cell lung cancer using next - generation sequencing [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(17): 5311 - 5319
- 20 Zhang H, Mao F, Shen T, *et al.* Plasma miR - 145, miR - 20a, miR - 21 and miR - 223 as novel biomarkers for screening early - stage non - small cell lung cancer [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(2): 669 - 676
- 21 韩乐, 陈文娟, 雷光焰, 等. microRNA - 21, microRNA - 25 在肺癌组织中的表达及意义 [J]. *陕西医学杂志*, 2019, 48(12): 1596 - 1600
- 22 王文栋, 裴泽浩, 席小雪, 等. 肺癌患者 miR - 21 靶基因挖掘及其在血清中的表达与诊断价值 [J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(9): 1118 - 1125
- 23 Rai S, Garg PK, Bhatt S, *et al.* The diagnostic role of microRNA 21 in patients with non-small cell lung cancer; an exploratory study [J]. *Lung India*, 2020, 37(6): 501 - 505
- 24 Jiang HG, Dai CH, Xu YP, *et al.* Four plasma miRNAs act as biomarkers for diagnosis and prognosis of non - small cell lung cancer [J]. *Oncol Lett*, 2021, 22(5): 792
- 25 Yang G, Wang T, Qu X, *et al.* Exosomal miR - 21/Let - 7a ratio distinguishes non - small cell lung cancer from benign pulmonary diseases [J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2020, 16(4): 280 - 286
- 26 Sriram V, Lee JY. Calcium phosphate - polymeric nanoparticle system for co - delivery of microRNA - 21 inhibitor and doxorubicin [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, 208: 112061
- 27 Chen L, Ren P, Zhang Y, *et al.* Long noncoding RNA GASS increases the radiosensitivity of A549 cells through interaction with the miR21/PTEN/Akt axis [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(3): 897 - 907
- 28 Lv D, Bi Q, Li Y, *et al.* Long noncoding RNA MEG3 inhibits cell migration and invasion of non-small cell lung cancer cells by regulating the miR215p/PTEN axis [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(3): 191
- 29 Zheng X, Dong L, Zhao S, *et al.* Propofol affects non - small - cell lung cancer cell biology by regulating the miR - 21/PTEN/AKT pathway in vitro and in vivo [J]. *Anesth Analg*, 2020, 131(4): 1270 - 1280
- 30 Yang L, Yang J. Expression and clinical significance of microRNA - 21, PTEN and p27 in cancer tissues of patients with non - small cell lung cancer [J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(4): 49
- (收稿日期: 2021 - 12 - 29)
(修回日期: 2022 - 02 - 14)