

血清 microRNA 标记物在结直肠癌诊治中的价值

李力, 蔡敏, 黄玲, 王斌, 程烽涛, 汤霞敏

上海市杨浦区中心医院消化内科, 上海 200090

关键词: microRNA; 直肠癌; 结肠癌; 大肠癌; 诊断; 治疗

中图分类号: R 735.3 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2015)06-0808-03

microRNA (miRNA) 是一类由 22 个核苷酸组成的单链 RNA, 其转录后可对相关基因的增殖、分化、凋亡及新陈代谢等进行调控, 具有重要的生理意义。2002 年, Calin 等^[1]学者第一次通过基础研究对 miRNA 与人类肿瘤的发病机制进行了研究, 发现位于 13q14 的 2 个 miRNA, miRNA-15a 和 miRNA-16-1 在 B 细胞慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 中常存在表达缺失, 而约 68% 的 CLL 患者这 2 个 miRNA 表达均下降。这一结果, 引起广泛临床学者的关注, 随后, miRNA 与肿瘤间的关系的研究成为热点课题。且该类研究还提示, miRNA 可以对癌基因进行激活或抑制调节, 在未来对于癌症的临床诊断和治疗具有重要的应用前景。

1 miRNA 标记物简介

1.1 miRNA 标记物的发现 相关学者通过对线虫的发育缺陷进行研究时首次发现了 miRNA^[2]。在学者们的相关研究中, 他们最初使用克隆的方法发现 lin-4, 在后续的实验中, 该团队又发现 lin-4 不可以单独编码蛋白质, 但却可以转录成另一种小分子 RNA。经准确测定, 该小分子 RNA 约含有 22 个碱基对, 且该碱基对通过不完全配对的方式与靶基因 lin-4 序列的 3'UTR 相结合, 从而对 lin-4 的表达产生抑制作用, 导致 lin-4 不可以单独编码蛋白质。随后在多种生物物种中鉴别出了上千种 miRNA。

1.2 miRNA 的生物学特性 成熟的 miRNA 一般是由 21 ~ 25 个碱基组成, 是由单链 RNA 前体 (pre-miRNA) 在 Dicer 酶的催化作用下生成。该 pre-miRNA 包含约 70 ~ 90 个碱基, 形状为发夹结构。在同种动物中, miRNA 基因基本相同, 而在特种进化过程中基因也未发生较大变化。如研究发现 1/3 是与人类同源的 miRNA。研究发现近 60% 的 miRNA 基因都位于染色体脆性位点或染色体缺失扩增的区域^[3]。

2 miRNA 与结直肠癌的发生、发展的关系

近年来, 研究表明, miRNA 可以对抑癌基因的活性产生下调作用, 还可以细胞分化及凋亡产生负性调控作用, 在肿瘤细胞的发生、发展中起到重要作用^[3]。研究显示, miR-135 家族

在结直肠癌组织中表达上调, 发挥致癌作用。同时, 还可作为抑癌基因, 下调原癌基因的活性, 从而影响结直肠癌的发生与发展。

miRNA 可分为原癌 OncomiR 及抑癌 TSmiR 两种不同类型的基因。前者的靶基因即抑癌基因。在人体生长发育的不同阶段, 部分器官组织中的 miRNA 基因启动子处于不断被激活的状态, 从而加速了 miRNA 的发展进程, 从而引起 OncomiR 的表达增加, 使靶基因 (抑癌基因) 的表达受到抑制, 最终导致结直肠癌的形成。

3 miRNA 在结直肠癌诊断及治疗中的应用

3.1 miRNA 在结直肠癌诊断中的应用 结直肠癌是全球第三大恶性肿瘤, 也是世界上癌症相关死亡的主要原因。近年来我国大肠癌发病增长迅速。随着结直肠癌手术技术的进步、新化疗药物和靶向药物的问世、新辅助治疗策略的普及, 结直肠癌患者短期病死率已有所下降。然而, 因早期结直肠癌缺乏典型的临床表现, 多数患者一经发现即为中晚期, 部分患者甚至丧失根治性手术的机会, 总体预后仍然不佳。因而, 寻求有效的结直肠癌早期标志物具有重要意义。

现有研究表明, 临床上广泛应用的血肿肿瘤标志物均具有敏感性、特异性及准确性较低等缺陷^[3], 这也是单个肿瘤标志物在临床诊治中的重要不足所在。然而, 进一步研究表明, 多种肿瘤标志物联合应用于某种肿瘤的诊断可大大提高其准确性、特异性等, 可显示出较多的优越性。相关基础研究证实, miRNA 富含于各器官组织的血清中, 且其表达谱可对肿瘤的诊断提供较好的参考, 其应用价值如特异性、敏感性及准确性等可能比已经报道的所有肿瘤标志物都要高。

目前用于大肠癌早诊的研究多集中于血清标志物检测, 已经获得的分子包括大肠癌中表达上调的 miR-15b、miR-17-3p 和 miR-17-5p; 表达下调的 miR-9、miR-30-3p 和 miR-101 等^[3]。近期研究发现, 粪便中 miRNA 性质稳定, 不易被降解, 有望作为大肠癌筛查的新型标志物^[4]。目前, 对于结肠癌的诊断方法都有明显的缺陷, 至今还没有一种被医疗系统及大众广泛认可的诊断标准。因而, 对于结肠癌的诊断临床迫切需要一种新的早期诊断淋巴瘤的方法。Kin 等^[5]对结肠癌患者血清中的 miRNA 与健康人进行比较, 结果检测出了 69 个正常血清中没有的 miRNA, 其中有 14 种 miRNA 具有结肠癌特异性。

3.2 miRNA 对结直肠癌的治疗进展

3.2.1 miRNA 新药研发进展 上述报道已经表明 miRNA 与多种肿瘤的发生、发展密切相关,因此,利用 miRNA 与肿瘤的关系进行新药研发已经成为业界的热点和重点^[6-8]。众多生物制药与研发公司开始涉足 miRNA 相关新药研发。其中,新药研发的第一个思路是 miRNA 与靶 mRNA 可进行不完全匹配,从而抑制基因编码翻译,以产生基因调控作用;第二个思路是与研发 miRNA 有关的肿瘤组织的特异性药物,以降低 miRNA 对正常器官及组织的不良反应。

进行 miRNA 抗肿瘤药物研发的先驱者是 Rosetta 公司,该公司的研究表明,miR-191 受到抑制后,肝癌的进展将变慢,提示该基因对肝癌有一定的抑制作用。同时,该公司的基础研究还表明,miR-191 抑制物对肝癌的抑制作用是通过调节 SOX4 等基因所致。该基因被调节后可导致 TGF- β 及 MAPK 两种不同信号通路受到阻滞,从而产生抑制肿瘤生长的作用^[9-11]。

从基础研究到临床前研究,2010 年,美国 Mima Therapeutics 公司在权威杂志上报道了 TsmiR 替代疗法对直肠癌的临床前治疗数据。该研究分别将 100 μ g 脂质纳米粒及 100 μ g miR-34a 模拟物(miR-Rx34)经尾静脉和瘤内注射入直肠癌小鼠体内,经实验观察和检验检测,表明两者均可抑制小鼠直肠癌的进展^[12-13]。

迄今为止,进入临床研究的 miRNA 类药物为数不多。2008 年,丹麦 Santaris Pharma 药物研发公司报道了进入 I 期临床研究的丙型肝炎病毒感染药物 miravirsin,并显示了较好的实验结果,于 2010 年 9 月进入 II 期临床试验。Miravirsin 为靶向抑制 miR-122 的化合物,为全球第一个经人体试验的 miRNA 类药物,进一步证实了 miRNA 药物在临床治疗中应用的可能性和前景^[14-15]。

3.2.2 miRNA 与传统药物联用 众多研究表明,miRNA 药物可对肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性及其特异性产生重大影响。2009 年,我国中山医院相关研究团队的研究就表明,干扰素辅助治疗不能改变 miR-26 高表达肿瘤患者的预后,但其 5 年随访生存率在 miR-26 较低表达者中明显提高^[16]。提示 miRNA 对抗肿瘤药物的敏感性有较大影响。此外,相关研究也表明,当结肠癌患者细胞株内 miR-21 水平下降时,接受吉西他滨治疗组的疗效将明显改善;而当 miR-21 水平升高时,治疗效果则明显下降^[17]。上述研究结果均表明,将传统抗肿瘤药物与 miRNA 药物联合使用,可改善抗肿瘤治疗效果,与 miRNA 药物对抗肿瘤药物的敏感性及其特异性作用有关^[18-20]。

4 结论

大肠癌最主要的癌前病变是大肠息肉尤其是大肠腺瘤性息肉(CRA),对其早期检出和早期处理可显著降低大肠癌的发病率和病死率。结肠镜是目前大肠癌最理想的检测手段,但肠镜检查存在一定的痛苦,且费用高。因而有效的肿瘤标志物用于早期明确诊断结直肠癌具有重要意义^[21-22]。miRNA 是细胞内一类长约 22nt 的非编码的单链 RNA 分子。miR-

NA 主要通过与其靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区(untranslated region,UTR)结合,抑制其翻译或促进其降解,从而下调相关蛋白的表达水平。miRNA 可以通过调控多个靶基因表达,不仅参与调节细胞正常生理过程,而且在肿瘤的发生、发展、侵袭过程中起重要作用^[23-25]。

综上所述,miRNA 对于肿瘤疾病的诊断及治疗有良好的应用前景。目前,miRNA 和反义 miRNA 药物正在被广大研究者所探究。虽然研究结果证实 miRNA 药物对肿瘤的治疗具有显著的疗效,且可降低化疗药物引发的不良反应,但 miRNA 药物同其他核酸治疗药物一样,具有稳定性差、器官靶向性差及毒理反应多等不足。为此,新药研发中,如何设计低毒、药物体内作用时间长、效率高的 miRNA 药物已经成为临床研究的重要课题。也是 miRNA 药物从试验研究走向临床应用的关键一步。相信随着对 miRNA 药物的更进一步的探索,miRNA 作为靶标应用于结直肠癌患者的临床诊治中,将为人类攻克结直肠癌带来新的希望。

参考文献

- [1] Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(24):15524-15529.
- [2] Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. Br J Haematol, 2008, 141(5):672-675.
- [3] Corté H, Manceau G, Blons H, et al. MicroRNA and colorectal cancer[J]. Dig Liver Dis, 2012, 44(3):195-200.
- [4] 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.
- [5] Kin C, Kidess E, Poultsides GA, et al. Colorectal cancer diagnostics: biomarkers, cell-free DNA, circulating tumor cells and defining heterogeneous populations by single-cell analysis[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2013, 13(6):581-599.
- [6] Jiang L, Huang Q, Zhang S, et al. Hsa-miR-125a-3p and hsa-miR-125a-5p are downregulated in non-small cell lung cancer and have inverse effects on invasion and migration of lung cancer cells[J]. BMC Cancer, 2010, 10:318.
- [7] Guan Y, Yao H, Zheng Z, et al. MiR-125b targets BCL3 and suppresses ovarian cancer proliferation[J]. Int J Cancer, 2011, 128(10):2274-2283.
- [8] Lange CP, Laird PW. Clinical applications of DNA methylation biomarkers in colorectal cancer[J]. Epigenomics, 2013, 5(2):105-108.
- [9] Chan SH, Wu CW, Li AF, et al. miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association[J]. Anticancer Res, 2008, 28(2A):907-911.
- [10] Ji J, Shi J, Budhu A, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer[J]. N Engl J Med, 2009, 361(5):1437-1447.

nol Metab, 2006, 91(7):2480-2483.

- [25] Zügel U, Steinmeyer A, Giesen C, et al. A novel immunosuppressive I α , 25-dihydroxyvitamin D₃ analog with reduced hypercalcemic activity[J]. J Invest Dermatol, 2002, 119(6):1434-1442.
- [26] Strauch UG, Obermeier F, Grunwald N, et al. Calcitriol analog ZK191784 ameliorates acute and chronic dextran sodium sulfate-induced colitis by modulation of intestinal dendritic cell numbers and phenotype[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(48):6529-6537.
- [27] Laverny G, Penna G, Vetrano S, et al. Efficacy of a potent and safe vitamin D receptor agonist for the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Immunol Lett, 2010, 131(1):49-58.
- [28] Steinmeyer A, Kirsch G, Neef G, et al. New synthetic vitamin D analogs with antiproliferative activities[J]. Curr Pharm Des, 2000, 6(7):767-789.
- [29] Daniel C, Radeke HH, Sartory NA, et al. The new low calcemic vitamin D analog 22-ene-25-oxa-vitamin D prominently ameliorates T helper cell type 1-mediated colitis in mice[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 319(2):622-631.
- [30] Pender SL, Tickle SP, Docherty AJ, et al. A major role for matrix metalloproteinases in T cell injury in the gut[J]. J Immunol, 1997, 158(4):1582-1590.
- [31] Martinesi M, Treves C, Bonanomi AG, et al. Down-regulation of adhesion molecules and matrix metalloproteinases by ZK156979 in inflammatory bowel diseases[J]. Clin Immunol, 2010, 136(1):51-60.
- [32] Binderup L, Latini S, Binderup E, et al. 20-epi-vitamin D₃ analogues: a novel class of potent regulators of cell growth and immune responses[J]. Biochem Pharmacol, 1991, 42(8):1569-1575.
- [33] Stio M, Martinesi M, Bruni S, et al. Interaction among vitamin D(3) analogue KH1060, TNF-alpha, and vitamin D receptor protein in peripheral blood mononuclear cells of inflammatory bowel disease patients[J]. Int Immunopharmacol, 2006, 6(7):1083-1092.

收稿日期:2015-02-26 编辑:王国品

(上接第 809 页)

- [11] Meng F, Henson R, Lang M, et al. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines[J]. Gastroenterology, 2006, 130(7):2113-2129.
- [12] Kent OA, Mendell JT. A small piece in the cancer puzzle: microRNAs as tumor suppressors and oncogenes[J]. Oncogene, 2006, 25(46):6188-6196.
- [13] Wang F, Sun GP, Zou YF, et al. Quantitative assessment of the association between miR-196a2 rs11614913 polymorphism and gastrointestinal cancer risk[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(1):109-116.
- [14] 魏清筠, 朱远源, 彭薇, 等. MicroRNA 在肿瘤诊断、治疗中的应用[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(19):3794-3797.
- [15] 杨中玫, 沈茜. 游离 microRNA 在肿瘤诊断中的临床应用价值[J]. 检验医学, 2010, 25(5):407-410.
- [16] 梁超, 王朝霞. MicroRNA 与肿瘤诊断和治疗研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(7):411-414.
- [17] 秦玉璇, 李子俊. microRNA 靶分子在人类消化系肿瘤诊断和治疗中的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2011, 31(1):42-44.
- [18] Zhu HT, Dong QZ, Wang G, et al. Identification of suitable reference genes for qRT-PCR analysis of circulating microRNAs in hepatitis B virus-infected patients[J]. Mol Biotechnol, 2012, 50(1):49-56.
- [19] Song J, Bai Z, Han W, et al. Identification of suitable reference genes for qPCR analysis of serum microRNA in gastric cancer patients[J]. Dig Dis Sci, 2012, 57(4):897-904.
- [20] Zanutto S, Pizzamiglio S, Ghilotti M, et al. Circulating miR-378 in plasma: a reliable, haemolysis-independent biomarker for colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2014, 110(4):1001-1007.
- [21] Liu R, Chen X, Du Y, et al. Serum microRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer[J]. Clin Chem, 2012, 58(3):610-618.
- [22] Asaga S, Kuo C, Nguyen T, et al. Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer[J]. Clin Chem, 2011, 57(1):84-91.
- [23] Lardizábal MN, Nocito AL, Daniele SM, et al. Reference genes for real-time PCR quantification of microRNAs and messenger RNAs in rat models of hepatotoxicity[J]. PLoS One, 2012, 7(5):e36323.
- [24] Hu Z, Dong J, Wang LE, et al. Serum microRNA profiling and breast cancer risk: the use of miR-484/191 as endogenous controls[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(4):828-834.
- [25] Ma Y, Li W, Wang H. Roles of miRNA in the initiation and development of colorectal carcinoma[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(7):1253-1261.

收稿日期:2015-02-04 编辑:王国品