

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.048

MicroRNA:潜在的新型食管癌生物标记*

付文博 魏育涛[△] 罗波 薛亚军 胡思远

(石河子大学医学院第一附属医院心胸外科 新疆 石河子 832000)

摘要: MicroRNA(miRNA)为长约 23 个核苷酸非编码的内源性微小 RNA,在各种调节通路中发挥重要的基因调节作用,主要通过靶向 mRNA 3' 非翻译端,抑制或降解 mRNA,调控细胞发育、凋亡、增殖及分化等生命活动。到目前为止,miRNA 为人们理解肿瘤的发生发展提供了新的角度,展示了其作为肿瘤标志物的巨大潜能。食管癌是常见的恶性肿瘤之一,越来越多的证据表明 miRNA 与食管癌存在密切联系。本文就食管癌的发生发展,病理分类,血清学标记物,耐药性与 miRNA 表达特点的关系展开论述。

关键词: 微小 RNA;食管癌;诊断;生物标记

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)25-4984-03

MicroRNA: a New Potential Esophagus Cancer Biomarker*

FU Wen-bo, WEI Yu-tao[△], LUO Bo, XUE Ya-jun, HU Si-yuan

(Department of Cardiothoracic Surgery, First affiliated hospital of Medical college, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, 832000, China)

ABSTRACT: MicroRNA (miRNA) are endogenous approximately 23 nucleotide noncoding RNA molecules that play important gene-regulatory roles in diverse regulation pathways, including those involved in cell development, differentiation, proliferation, and apoptosis by targeting mRNAs for cleavage or translational repression. To date, miRNAs have given us a new perspective to understand carcinogenesis and demonstrated the potential role to act as cancer biomarkers. Esophageal cancer is one of the most lethal human cancers in China. Growing evidence has showed a close connection between miRNAs and esophageal cancer. In this review, information regarding the relationship between the esophageal cancer development, pathological classification, plasma marker, chemoresistance and the expression characteristic of miRNAs is discussed.

Key words: microRNA; Esophageal cancer; Diagnosis; Biomarker

Chinese Library Classification(CLC): R735.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)25-4984-03

前言

食管癌是最常见的恶性肿瘤之一,目前中国食管癌发病率为 19.34/10 万,在癌症新发病例构成中位居第 6 位,占全部癌症发病的 7.27%。食管癌死亡率为 15.39/10 万,占全部癌症死亡总数的 8.96%,在癌症死亡原因中列第 4 位^[1]。由于缺乏有效的预防手段和早期诊断方法,临床上首次确诊的 ESCC 患者 80%以上为中、晚期,其 5 年生存率仅为 10%左右,预后极差。因而探索敏感、特异的生物标记,从而降低食管癌的发病率和死亡率显得尤为迫切。

1 MicroRNA 与肿瘤

MicroRNA(miRNA)为长约 23 个核苷酸非编码的内源性微小 RNA,miRNA 原始前体(pri-miRNA)在细胞核内形成后被核糖核酸酶 III 和 DGCR8 蛋白组成的核微处理复合物剪切形成 miRNA 前体(pre-miRNA),随后 pre-miRNA 在转运蛋白

Exportin5 的作用下转运到胞质中并与 RNA 诱导的沉默复合体(RISC)相结合,RISC 内的 DICER1 蛋白切掉 pre-miRNA 上的茎环结构释放出成熟 miRNA^[2-4]。miRNA 对编码蛋白质基因的表达具有广泛影响,并主要通过靶向 mRNA 3' 非翻译端,抑制或降解 mRNA,调控细胞发育、凋亡、增殖及分化等生命活动,其表达水平的改变与人类多种疾病密切相关^[5,6]。Volinia 等^[7]研究了 4419 份人类样本的 miRNA 表达谱,其中有 3312 份肿瘤样本 1107 份非肿瘤样本,囊括了 50 种正常组织类型,51 种肿瘤类型,发现 miRNA 与肿瘤存在广泛的联系,涉及头颈部癌、乳腺癌、前列腺癌等多种肿瘤^[8-10]。

2 MicroRNA 与食管癌

2.1 miRNA 与食管癌的发展过程

研究表明特定 miRNA 异常表达与淋巴结转移和 TNM 分期明显相关,并能够影响癌细胞迁移和侵袭及 ESCC 的进展^[11]。Kong 等^[12]通过功能试验发现 miR-375 通过调节胰岛素样生长

* 基金项目:兵团卫生科技基金(2014BB019)

作者简介:付文博(1986-),男,硕士研究生,主要研究方向:慢性肝病及消化道肿瘤的临床与基础研究,电话:09932858456, E-mail:fwbzx@126.com

△ 通讯作者:魏育涛,男,副教授,硕士生导师,主要研究方向:慢性肝病及消化道肿瘤的临床与基础研究, E-mail:wytygh@163.com

(收稿日期:2013-10-20 接受日期:2013-11-15)

因子受体 1 的表达抑制细胞集落形成,影响细胞流动、增殖,以及肿瘤的形成和转移。miR-143 和 miR-145 表达增高与 ESCC 患者转移复发有关,miR-21 和 miR-205 表达增高与 ESCC 患者的淋巴结转移有关^[2]。其中,miR-21 在转录后水平通过靶向 PDCD4 调节细胞增殖和浸润,当 ESCC 患者出现癌细胞浸润深达浆膜时 miR-21 水平明显升高,伴有淋巴结转移或静脉入侵时,miR-21 的表达水平同样明显增高^[13,14],miR-205 表达水平的改变并不会改变 ESCC 细胞的增殖和凋亡,但参与癌细胞的侵袭和迁移,并对 ESCC 具有特异性抑制作用^[15]。Hu 等^[16]研究发现 miR-16-2 与淋巴结转移有关,miR-126 的表达与肿瘤细胞分化和淋巴结转移有关,miR-195p 的表达与较高病理分期的 AC 患者有关。miR-16-2 通过抑制 RAR- β 2 增加食管癌细胞的增殖和转移而 miR-34a 通过抑制 c-Met 和周期蛋白 D1 抑制食管癌细胞增殖和转移,miR-98 和 miR-214 则通过诱导 Zeste 基因增强子同源物 2 表达增高促进 ESCC 的转移和侵袭^[17]。在对食管癌细胞株的研究中 Hiyoshi 及同事^[18]发现,在 Eca109 细胞中转染 let-7,可以明显降低细胞增殖,下降程度达 14%。相反,当转染 let-7 抑制物并导致 let-7 下调,可以促进细胞的增殖达 16%。在 ESCC 患者中 Let-7 低表达并与淋巴结转移有关,出现淋巴结转移的患者比未转移的患者 let-7 表达明显下调,提示 let-7 参与了 ESCC 的进展。此外,miR-10b 与 ESCC 细胞的迁移和侵袭密切相关^[19],miR-223 增高减少细胞迁移和侵袭,沉默 miR-223 增加细胞迁移和侵袭^[20],转染 miR-145,miR-133a 和 miR-133b 抑制食管癌细胞增殖和浸润^[21]。这就说明 miRNA 的表达特征对于研究能够识别食管癌的存在和侵袭的肿瘤标记物具有潜在的临床应用价值^[22]。

2.2 miRNA 与食管组织病理类型及良恶性

Feber 研究团队^[23]发现不同 miRNA 表达特征可以区分的食管癌病理学组织类型包括食管腺癌(AC),食管鳞癌(ESCC),正常鳞状上皮(NSE),Barrett 食管(BE)及高度异型增生组织(HGD)。如 ESCC 和 AC 内 miR-203 和 miR-205 的表达水平比 NSE 低 2 到 10 倍,而 AC、ESCC 内 miR-21 的表达水平比 NSE 高 3 到 5 倍。miR-194,miR-192 和 miR-200c 在 AC 中高表达,miR-342 在 ESCC 和 NSE 内差异性表达,但在 AC 与 NSE 中表达无差异。miR-21,miR-205,miR-203 和 miR-93 在癌组织和 NSE 内差异性表达,而在 AC 和 ESCC 之间表达无差异。NSE 和 ESCC 内 miRNA 表达谱的相似程度比 AC 高,Barrett 食管和 AC 中 miRNA 表达谱的相似程度比鳞状上皮来源的组织高^[23,24]。Hong 等^[25]发现与癌旁正常组织相比,ESCC 细胞内 miR-155,miR-100,miR-146,miR-296,miR-10b,miR-203,miR-483,miR-494 和 miR-220 表达增高,miR-143,miR-375 和 miR-339 表达降低。其中,miR-296 的表达水平在食管炎组织,食管原位癌组织,ESCC 组织内的表达水平逐步升高。Mathe 等^[26]在 AC 患者中发现,与癌旁组织相比 miR-21,miR-223,miR-192 和 miR-194 表达升高,而 miR-203 表达减少,AC 和 ESCC 患者相比,AC 患者 miR-194 和 miR-375 表达升高。与 NSE 相比柱状上皮的 miR-21,miR-143,miR-145,miR-194 和 miR-215 表达水平明显增高。AC 内 miR-143,miR-145 和 miR-215 的表达水平低于 BE 的表达水平。鳞状上皮内 miR-203 和 miR-205 的表

达水平比其他任何柱状上皮内的水平都要高的多。其中,miR-215 在 BE 患者中高表达且具有组织特异性^[27]。此外,hsa-miR-335,hsa-miR-181d,hsa-miR-25,hsa-miR-7 和 hsa-miR-495 在食管癌中与病理形态分类相关(蕈伞与髓质型),hsa-miR-25 和 hsa-miR-130b 与分化相关(高、中、低)^[28]。

2.3 miRNA 作为血清标记物

miRNA 在人体液当中普遍存在,癌症细胞活跃地分泌 miRNA 因而同样存在于血液当中,且 miRNA 是血清中小 RNA 的主要成分^[29,30]。Zhang 等^[30]发现血清 miR-10a,miR-22,miR-100,miR-148b,miR-223,miR-133a 和 miR-127-3p 可以作为检测 ESCC 的生物标记且年龄、吸烟史、饮酒对血清 miRNA 浓度无显著影响。这 7 种血清 miRNA 浓度表达谱可以作为诊断食管癌非侵入性、精确的生物标记,并且它们要比传统癌胚抗原敏感的多。食管癌病人血浆中 miR-21 明显高表达,术后 miR-21 的表水平显著降低。血清 miR-21 水平升高的患者癌细胞血管侵袭性增高,并且与复发高度相关。这就说明检测循环 miRNA,可为诊断 ESCC 提供新的肿瘤标记物^[31]。Kurashige 等^[32]研究也发现 ESCC 患者 miR-21 的表达水平明显高于健康对照组,并且术后 miRNA-21 表达水平明显低于术前组,对化疗有效的患者 miRNA-21 表达水平亦明显降低,化疗无效的患者则无明显改变。另外,Komatsu 等^[33]发现检测血浆 miR-21 和 miR-375 的表达水平可以作为 ESCC 肿瘤标记物反映肿瘤动态。高浓度的 miR-21 和低浓度的 miR-375 预后明显不良,多变量分析进一步发现 miR-21 和 miR-375 作为独立的预后因素,可以作为 ESCC 预后可靠的血清标记物。因此,深入研究血清 miRNA 将为食管癌的诊断和跟踪治疗以及癌细胞的远处转移提供有益的信息,并且利于完善食管癌发生发展的机制,做到早发现早治疗,进而提高食管癌的治愈率。

2.4 miRNA 与食管癌的耐药性

顺铂是治疗 ESCC 常用的化疗剂,然而耐药性的产生削弱了其治疗作用,因而阐明耐药机制显得尤为迫切。研究表明 miRNA 与食管癌化疗显著相关^[34],miR-141,miR-21,miR-19b,miR-200a,miR-19a,miR-27a,miR-20a 和 miR-20b 在耐顺铂的 ESCC 中高表达,而 miR-205 和 miR-224 则低表达,其中上调最明显的是 miR-141,通过定量 PCR 和免疫印迹测定证明 miR-141 通过与 YAP1 直接作用抑制其表达而产生耐药性。YAP1 能够诱导细胞凋亡,miR-141 正是通过诱导 YAP1 表达减少增加 ESCC 顺铂耐药性^[35,36],miR-200c 则主要通过 Akt 通路实现顺铂耐药性^[37]。此外,Zhang 等^[38]通过 MTT 及报告基因实验研究发现下调 miR-27a 可以使食管癌细胞对 p 糖蛋白类相关和 p 糖蛋白类非相关药物敏感性增加,并可促进阿霉素诱导的细胞凋亡,同时增加癌细胞内的阿霉素积累并减少阿霉素释放,最终使 ESCC 凋亡。其可能是机制是下调 P 糖蛋白,Bcl-2 基因的表达并抑制多重耐药基因 1 的转录。这些研究无疑为食管癌耐药性的研究及未来的治疗提供了新的思路和途径。然而不同学者的靶 miRNA 不具备统一性,这就说明可能是多个 miRNA 参与了食管癌的耐药性。这就需要进行深入的研究 miRNA 参与食管癌耐药性的机制以明确特异的 miRNA 或 miRNA 组合,从而为未来食管癌临床化疗积累更多的数据。

3 结论

就目前研究而言,miRNA 广泛参与食管癌的病理生理过程,涉及食管癌的发生,发展及抑制过程。其潜在生物价值十分明显,有必要进行全面系统的研究阐明 miRNA 在食管癌中的分子机制,并采用大样本,多层次,多地域的研究方法,寻找敏感特异的 miRNA 或 miRNA 表达谱,使之标准化、量化。从而为食管癌的早发现,早诊断,早治疗提供有力的支撑,并为筛选不同病理类型的病人提供客观依据。此外,miRNA 作为一个潜在的药物靶标,对于探索特异性治疗方法亦具显著的实际意义。

参考文献(References)

- [1] 张思维,张敏,李光琳,等. 2003~2007 年中国食管癌发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(4): 241-247
Zhang Si-wei, Zhang Min, Li Guang-lin, et al. An Analysis of Incidence and Mortality of Esophageal Cancer in China, 2003~2007[J]. China Cancer, 2012, 21(4): 241-247
- [2] Akagi I, Miyashita M, Ishibashi O, et al. Relationship between altered expression levels of MIR21, MIR143, MIR145, and MIR205 and clinicopathologic features of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Dis Esophagus, 2011, 24(7): 523-530
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297
- [4] Ebert MSSharp PA. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes[J]. Cell, 2012, 149(3): 515-524
- [5] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233
- [6] Ul Hussain M. Micro-RNAs (miRNAs): genomic organisation, biogenesis and mode of action[J]. Cell Tissue Res, 2012, 349(2): 405-413
- [7] Volinia S, Galasso M, Costinean S, et al. Reprogramming of miRNA networks in cancer and leukemia[J]. Genome Res, 2010, 20(5): 589-599
- [8] Christensen BC, Avissar-Whiting M, Ouellet LG, et al. Mature microRNA sequence polymorphism in MIR196A2 is associated with risk and prognosis of head and neck cancer[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(14): 3713-3720
- [9] Chen L, Li Y, Fu Y, et al. Role of Deregulated microRNAs in Breast Cancer Progression Using FFPE Tissue [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54213
- [10] Leite KR, Canavez JM, Reis ST, et al. miRNA analysis of prostate cancer by quantitative real time PCR: comparison between formalin-fixed paraffin embedded and fresh-frozen tissue[J]. Urol Oncol, 2011, 29(5): 533-537
- [11] Chen ZL, Zhao XH, Wang JW, et al. microRNA-92a promotes lymph node metastasis of human esophageal squamous cell carcinoma via E-cadherin[J]. J Biol Chem, 2011, 286(12): 10725-10734
- [12] Kong KL, Kwong DL, Chan TH, et al. MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like growth factor 1 receptor[J]. Gut, 2012, 61(1): 33-42
- [13] Hiyoshi Y, Kamohara H, Karashima R, et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(6): 1915-1922
- [14] Ma WJ, Lv GD, Tuersun A, et al. Role of microRNA-21 and effect on PTEN in Kazakh's esophageal squamous cell carcinoma [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38(5): 3253-3260
- [15] Matsushima K, Isomoto H, Yamaguchi N, et al. MiRNA-205 modulates cellular invasion and migration via regulating zinc finger E-box binding homeobox 2 expression in esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. J Transl Med, 2011, 9(1): 30
- [16] Hu Y, Correa AM, Hoque A, et al. Prognostic significance of differentially expressed miRNAs in esophageal cancer [J]. Int J Cancer, 2011, 128(1): 132-143
- [17] Huang SD, Yuan Y, Zhuang CW, et al. MicroRNA-98 and microRNA-214 post-transcriptionally regulate enhancer of zeste homolog 2 and inhibit migration and invasion in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Mol Cancer, 2012, 11(1): 51
- [18] Liu Q, Lv GD, Qin X, et al. Role of microRNA let-7 and effect to HMGA2 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(2): 1239-1246
- [19] Tian Y, Luo A, Cai Y, et al. MicroRNA-10b promotes migration and invasion through KLF4 in human esophageal cancer cell lines [J]. J Biol Chem, 2010, 285(11): 7986-7994
- [20] Li S, Li Z, Guo F, et al. miR-223 regulates migration and invasion by targeting Artemin in human esophageal carcinoma [J]. J Biomed Sci, 2011, 18
- [21] Kano M, Seki N, Kikkawa N, et al. miR-145, miR-133a and miR-133b: Tumor-suppressive miRNAs target FSCN1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12): 2804-2814
- [22] David SMeltzer SJ. MicroRNA involvement in esophageal carcinogenesis[J]. Curr Opin Pharmacol, 2011, 11(6): 612-616
- [23] Feber A, Xi L, Luketich JD, et al. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135 (2): 255-260; discussion 260
- [24] Feber A, Xi L, Pennathur A, et al. MicroRNA prognostic signature for nodal metastases and survival in esophageal adenocarcinoma[J]. Ann Thorac Surg, 2011, 91(5): 1523-1530
- [25] Hong L, Han Y, Zhang H, et al. The prognostic and chemotherapeutic value of miR-296 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Ann Surg, 2010, 251(6): 1056-1063
- [26] Mathe EA, Nguyen GH, Bowman ED, et al. MicroRNA expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus: associations with survival [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15 (19): 6192-6200
- [27] Wijnhoven BP, Hussey DJ, Watson DI, et al. MicroRNA profiling of Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma [J]. Br J Surg, 2010, 97(6): 853-861
- [28] Guo Y, Chen Z, Zhang L, et al. Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Res, 2008, 68(1): 26-33
- [29] Billeter AT, Barnett RE, Druen D, et al. MicroRNA as a new factor in lung and esophageal cancer[J]. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2012, 24(3): 155-165

- Novel Solid Nanodispersion System for Oral Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs [J]. *Journal of Controlled Release*, 2013, 1(8): 385-399
- [16] Hidalgo IJ. Assessing the absorption of new pharmaceuticals [J]. *Current topics in medicinal chemistry*, 2001, 1(5): 385-401
- [17] Shah P, Jogani V, Bagchi T, et al. Role of Caco 2 Cell Monolayers in Prediction of Intestinal Drug Absorption [J]. *Biotechnology progress*, 2006, 22(1): 186-198
- [18] Wang M, Sun B, Feng J, et al. Investigation of Transport Mechanism of Exendin-4 across Madin Darby Canine Kidney Cell Monolayers[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 35(5): 745-752
- [19] Shu Y, Bello CL, Mangravite LM, et al. Functional characteristics and steroid hormone-mediated regulation of an organic cation transporter in Madin-Darby canine kidney cells [J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001, 299(1): 392-398
- [20] Karyekar CS, Eddington ND, Garimella TS, et al. Evaluation of P glycoprotein-Mediated Renal Drug Interactions in an MDR1 MDCK Model [J]. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 2003, 23(4): 436-442
- [21] Yeh JH, Chung HM, Ho CM, et al. Mercury-induced Ca^{2+} increase and cytotoxicity in renal tubular cells [J]. *Life sciences*, 2004, 74(16): 2075-2083
- [22] Garberg P, Ball M, Borg N, et al. In vitro models for the blood-brain barrier[J]. *Toxicology in vitro*, 2005, 19(3): 299-334
- [23] Lv H, Wang F, Reddy MR, et al. Screening candidate anticancer drugs for brain tumor chemotherapy: Pharmacokinetic-driven approach for a series of (E)-N-(substituted aryl)-3-(substituted phenyl) propenamide analogues [J]. *Investigational New Drugs*, 2012, 30(6): 2263-2273
- [24] Strougo A, Eissing T, Yassen A, et al. First dose in children: physiological insights into pharmacokinetic scaling approaches and their implications in paediatric drug development [J]. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*, 2012, 39(2): 195-203

(上接第 4986 页)

- [30] Zhang C, Wang C, Chen X, et al. Expression profile of microRNAs in serum: a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Chem*, 2010, 56(12): 1871-1879
- [31] Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(1): 104-111
- [32] Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, et al. Serum microRNA-21 is a novel biomarker in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106(2): 188-192
- [33] Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, et al. Prognostic impact of circulating miR-21 and miR-375 in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12(Suppl 1): S53-59
- [34] Ko MA, Zehong G, Virtanen C, et al. MicroRNA expression profiling of esophageal cancer before and after induction chemoradiotherapy [J]. *Ann Thorac Surg*, 2012, 94(4): 1094-1102; discussion 1102-1093
- [35] Imanaka Y, Tsuchiya S, Sato F, et al. MicroRNA-141 confers resistance to cisplatin-induced apoptosis by targeting YAP1 in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Hum Genet*, 2011, 56(4): 270-276
- [36] Wang W, Huang J, Chen J. Angiomotin-like proteins associate with and negatively regulate YAP1 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (6): 4364-4370
- [37] Hamano R, Miyata H, Yamasaki M, et al. Overexpression of miR-200c induces chemoresistance in esophageal cancers mediated through activation of the Akt signaling pathway [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(9): 3029-3038
- [38] Zhang H, Li M, Han Y, et al. Down-regulation of miR-27a might reverse multidrug resistance of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(9): 2545-2551