

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.04.020

MicroRNA: 一种新型的肺癌诊断、预测和治疗的生物标志物

MicroRNA: A novel biomarker of diagnosis, prediction and treatment of lung cancer

关雅萍¹综述;王俊²,王宝成²审阅(1. 泰山医学院 研究生部,山东 泰安 271000; 2. 济南军区总医院 肿瘤科,山东 济南 250031)

[摘要] MicroRNA(miRNA)是非蛋白编码的短RNAs,可在转录或转录后水平调节mRNA的表达。大量研究表明,miRNA在细胞增殖、分化、凋亡和代谢方面发挥着重要作用,并参与了癌基因和抗癌基因的信号调控。在多种人类恶性肿瘤中已经检测到异常表达的miRNA,并且发现miRNA与肿瘤的发生、发展、预测、诊断、治疗和预后有关,因此,miRNA作为癌症诊断、预测和治疗的潜在标记物,具有广阔的临床应用前景。miRNA在非小细胞肺癌中扮演着多重角色,包括在肺癌发生过程中发挥促癌基因或抑癌基因的作用,调控肺癌细胞的增殖和分化,参与肺癌的侵袭和转移,影响肺癌对放、化疗的敏感性等。因而,miRNA可以作为一种标志物,在血液或痰液标本中为临床提供诊断依据,在肺癌的化学治疗及放射治疗中成为疗效预测指标,还可能提示肺癌组织的分化程度和患者预后,同时还可以作为肺癌治疗潜在靶点。

[关键词] microRNA;肺癌;生物标志物

[中图分类号] R734.2; R730.4; Q522

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)04-0498-08

在全世界范围内,肺癌的病死率远高于其他恶性肿瘤。由于缺乏早期筛查和诊断的特异性生物标志物,大部分肺癌患者确诊时已经处于晚期。目前许多学者致力于应用影像学 and 痰细胞学对肺癌进行早期筛查,但该局面仍无改观,肺癌的五年总生存率仍低于15%。MicroRNA(miRNA)是长度21~25 nt的RNA分子,可以特异性识别靶mRNA并调控编码基因的表达,它们通过促进mRNA降解或抑制基因转录而影响mRNA在转录和转录后水平的表达。miRNA可调节不同的生物学过程,如细胞分化、增殖、代谢、耐药和细胞死亡^[1]。现在普遍认为,miRNA异常的表达与肿瘤发生、发展、诊断、治疗及预后关系密切^[2-4]。比较癌组织和非癌组织中miRNA表达谱的差异有助于发现肺癌早期诊断和预测疗效及患者预后新的生物标志物,调节具有致癌或抑癌功能的miRNA表达可能成为肺癌治疗新方法,结合传统放化疗与靶向其敏感性相关miRNA也为肺癌的治疗研究提供了新的策略。

1 miRNA对肺癌细胞增殖和分化的作用

1.1 抑制肺癌细胞增殖的miRNA

很多研究表明,miRNA在调节细胞周期和器官肿瘤生成(包括肺癌)中发挥重要作用^[5-7]。Liu等^[8]发现,miRNA-133b通过靶向作用于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)抑制非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,

NSCLC)的生长。生物信息学和荧光素酶报告分析显示,miRNA-133b可以与EGFR mRNA的3'端未翻译区(3'-untranslated region,3'-UTR)特异性结合,miR-133b转染抑制了EGFR mRNA的翻译,且通过EGFR信号通路调节EGFR-TKI的敏感性,因此认为miRNA-133b可能是抗EGFR治疗的敏感性靶点。Yamaguchi等^[9]研究发现,在肺癌H3255、A549和HCC827细胞中miR-542-5p也能下调EGFR mRNA和蛋白表达水平,抑制肺癌细胞的增殖,是EGFR介导肿瘤生成的重要调节因子。表皮生长因子样结构域7(epidermal growth factor-like domain 7,EGFLD7)是一种表皮生长因子控制基因,与细胞转移和血管生成有关。Sun等^[10]的研究发现,miR-126过表达可以使肺腺癌A549细胞中EGFLD7的表达增高,继而抑制体外和体内肿瘤生长。而Miko等^[11]发现,在小细胞肺癌(small cell lung cancer,SCLC)H69细胞中,miR-126可使细胞周期停滞在

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30901788, No. 81272619);山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2010HQ038, No. ZR2010HM059)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 30901788, No. 8127269), and the Natural Science Foundation of Shandong Province(No. ZR2010HQ038, No. ZR2010HM059)

[作者简介] 关雅萍(1989-),女,山东省聊城市人,硕士生,主要从事肺癌转移机制的研究。E-mail:guanyaping123@163.com

[通信作者] 王宝成(Wang Baocheng, corresponding author),E-mail: baochengwang@hotmail.com

G₁ 期并抑制其增殖,该研究还显示溶质载体家族 7 中的成员 5 (solute carrier family7, member 5, SLC7A5)是 miR-126 发挥抑制细胞增殖作用的直接靶点。Ohdaira 等^[12]发现,miR-494 的靶点为胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 1(insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 1, IGF2BP1), IGF2BP1 可抑制胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF2)mRNA 的翻译。在 A549 细胞中 miR-194 呈组成性表达,并诱导 IGF2 表达,从而促进细胞的增殖。而使用 miR-194 可以将 IGF2 mRNA 的表达抑制在基础水平。因此认为,miR-194 能够抑制肺癌细胞的增殖。Xiong 等^[13]发现,miR-7 的蛋白结合位点在 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(B-cell CLL/lymphoma 2, Bcl-2)的 3' UTR。Bcl-2 是一种原癌基因,miR-7 可在转录和翻译水平下调 Bcl-2 的表达,继而抑制 A549 细胞的增殖。Zhong 等^[14]发现 miR-107、miR-126 和 let-7a 的过表达可以抑制肺癌细胞的生长。在转基因和基因敲除模型中 miRNA 的实验研究正在进行,将为其用于治疗肺癌提供更多的实验依据。

1.2 促进肺癌细胞增殖的 miRNA

miR-21 是目前研究较广泛的一种 miRNA,已明确其与肺癌的 TNM 分期、淋巴结转移有关。Liu 等^[15]研究发现 miR-21 在肺癌中表达增高,它可以促进肺癌细胞的生长、转移和侵袭,而抗 miR-21 则可起到明显的抑制作用。同时发现,miR-21 的促癌作用是通过抑制 PTEN(phosphatase and tensin homolog) mRNA 和蛋白的表达完成的。PTEN 是一种抑癌基因,参与调控细胞生存信号通路 PI3K/AKT,在肺癌及遗传性肿瘤中常见其发生突变。Liu 等^[16]另一研究发现,miR-196a 在肺癌中表达增高,且与临床分期和淋巴结转移密切相关;HOXA5 基因为同源异型盒基因家族(homeobox genes)成员,其基因产物为转录因子,与靶基因的 DNA 序列特异性结合,实现对下游基因的抑制或激活作用。miR-196a 可以直接结合 HOXA5 基因的 3' UTR 区,在 mRNA 和蛋白水平抑制 HOXA5 的表达。如果敲除 HOXA5,则可以促进 NSCLC 细胞生长,因此 miR-196a 可以通过抑制 HOXA5 促进肺癌细胞的增殖。与抑制肿瘤细胞的 miRNA 比较,目前促进肿瘤细胞增殖的 miRNA 并不多见,虽然已证实的这些 miRNA 为探讨恶性肿瘤的发生机制提供了一定的实验依据,但仍需要更详尽的研究来进一步说明。

2 miRNA 作为抑癌基因

Let-7 是非常重要的 miRNA,在肺组织中表达较

高。Takamizawa 等^[17]指出,在 40% 肺肿瘤和 60% 肺癌细胞株中 let-7 呈低表达。Ras 基因是一种原癌基因,在肺癌中高表达且有多个 let-7 结合位点,说明 let-7 在 Ras 的下调中发挥了一定作用。Johnson 等^[18]的研究也发现,肺癌模型中 let-7 低表达但 Ras 高表达。Let-7 过表达可以抑制细胞生长,提示在这个过程中 let-7 可以调节 Ras 表达。Ras 相关蛋白 Rab14(ras-related protein Rab14)也与肿瘤生成有关,研究^[19]表明 miR-451 过表达可以明显抑制 RAB14 蛋白的表达,并且 miR-451 水平与 NSCLC 分化、病理分期和淋巴结转移有关,miR-451 下调则诱导 RAB14 蛋白表达增高。该结果表明 miR-451 作为 NSCLC 抑制基因的功能主要通过靶向作用于 RAB14 实现。Kang 等^[20]采用 RT-PCR 技术,检测了肺癌组织中的 miR-99b 和成纤维细胞生长因子 3 (fibroblast growth factor receptor, FGFR3)的表达,发现 miR-99b 表达减少而 FGFR3 表达增加,进一步研究发现 miR-99b 特异的靶点在 FGFR3 的 3' UTR。Feng 等^[21]发现,miR-192 过表达可以抑制 NSCLC A549、H460 和 95D 细胞的增殖,还可以通过减少成视网膜细胞瘤基因 1(retinoblastoma 1, RBI)mRNA 和蛋白的表达及阻碍 RBI 3' UTR 的活性来抑制肿瘤形成。这些结果表明,miR-192 是一抑癌基因,可以通过作用于 RBI 基因继而抑制肺癌细胞的增殖、诱导细胞凋亡来发挥作用。

表 1 与肺癌细胞增殖有关的 miRNA

抑制细胞增殖		促进细胞增殖	
miRNA	作用靶点	miRNA	作用靶点
miR-133b	EGFR	miR-21	PTEN
miR-542-5p	EGFR	miR-196a	HOXA5
miR-126	EGFLD7(NSCLC) SLC7A5(SCLC)		
miR-494	IGF2BP1		
miR-7	Bcl-2		

PED/PEA-15(phosphoprotein enriched in diabetes/phosphoprotein enriched in astrocytes-15)是具有广泛抗凋亡作用的死亡结构域家族的一员,在包括肺癌在内的多种人类肿瘤中表达增加。Incoronato 等^[22]认为,miR-212 是 PED/PEA-15 表达的负调控因子。miR-212 的异常表达增加了肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导基因,并诱导肺癌细胞死亡。研究表明,PED/PEA-15 和 miR-212 的表达呈负相关,认为

miR-212 是肿瘤抑制因子。Sun 等^[23]发现, miR-182 的异常表达可明显抑制肺癌细胞的增殖, 主要通过抑制 G 蛋白信号调节基因 17(regulator of G-protein signaling 17, *RGS17*) 而发挥作用。RGS17 在肺腺癌和前列腺癌中高表达, 可通过诱导环腺苷酸反应元件结合蛋白磷酸化促使肿瘤细胞生长。Wang 等^[24]发现, miR-125a-5p 可调节包括 *EGFR* 信号在内的多个下游基因的表达, 反义 miR-125a-5p 可明显促进肿瘤细胞迁移和侵袭, 这表明 miR-125a-5p 负向调控肺癌转移和侵袭表型。果蝇 *zeste* 基因增强子人类同源物(enhancer of *zeste* homolog 2, *EZH2*), 是一种人类同源的果蝇多梳蛋白族基因, 通过重组染色体、修复核小体及与其他转录因子相互作用而在转录调节中发挥关键作用。研究^[25]发现, *EZH2* 的过表达可以增强肿瘤细胞的增殖和侵袭能力, 还可以促进细胞恶性转化。在 NSCLC 中 miR-101 的低表达与 *EZH2* 的过表达有关, 增强 miR-101 表达或敲除 *EZH2* 基因可以通过诱导凋亡前体蛋白 Bim 的表达来抑制 NSCLC 增殖、侵袭和诱导紫杉醇介导的细胞凋亡^[26]。这提示 miR-101 能够抑制 NSCLC 中 *EZH2* 的促癌作用。

3 miRNA 作为促癌因子

除具抑癌作用外, 一些 miRNA 也有致癌作用。如 miR-17-92 在包括肺癌在内的很多实体瘤发生中起到了一定作用。在肺癌细胞, 特别是 SCLC 细胞中 miR-17-92 的过表达可以促进细胞的增殖^[27]。虽然 miR-17-92 诱导肺癌生长的分子机制仍不清楚, 但在 HeLa 细胞中, 人们发现 *PTEN* 是 miR-17-92 的靶分子^[28]。其他研究认为, miR-31 可以抑制大肿瘤抑制因子同源物 2(large tumor suppressor, homolog 2, *LATS2*) 和 PP2A 调节亚基-B 亚型(protein phosphatase 2, regulatory subunit B alpha, *PPP2R2A*) 的表达。这两种基因在 miR-31 沉默的细胞中高表达。这些研究结果表明, miR-31 具有促进肺癌发生的作用。

4 miRNA 对肺癌侵袭和转移的影响

侵袭和转移是恶性肿瘤研究的热点, miRNA 也在这一过程中发挥重要作用。Liu 等^[29]报道了 miR-26a 可以上调转移相关基因, 如基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, *MMP2*)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*) 和 β -catenin 的表达, 进而抑制 PTEN 激活 AKT 通路, 最终增强肺癌的转移潜能。Fang 等^[30]研究表明,

MMP2 是 miR-29b 的直接作用靶点, miR-29b 可以抑制 *MMP2* 的表达进而抑制肺癌的转移。

原癌基因 *c-Crk*(proto-oncogene *c-Crk*, *CRK*) 参与细胞内多种信号传导途径, 其表达产物是细胞黏附、增殖和迁徙的接头蛋白。*CRK* 表达的增加与肺癌侵袭能力的增加有关。Crawford 等^[31]发现, 肺癌细胞中 miR-126 过表达能够抑制 *CRK* 蛋白表达但不影响 *CRK* mRNA 水平的表达。

血管内皮生长因子受体 1(vascular endothelial growth factor receptor 1, *VEGFR1*) 是 *SRC* 原癌基因家族中的一员, 可促进肿瘤血管生成。Roybal 等^[32]发现, miR-200 可靶向抑制 *VEGFR1*, 从而影响肺腺癌细胞侵袭和转移的能力。

表 2 参与调控肺癌发生的 miRNA

抑癌		促癌	
miRNA	作用靶点	miRNA	作用靶点
Let-7	<i>Ras</i>	miR-17-92	<i>PTEN</i>
miR-451	<i>RAB14</i>	miR-31	<i>LATS2/PPP2R2A</i>
miR-99b	<i>FGFR3</i>		
miR-192	<i>RBI</i>		
miR-212	<i>PED/PEA-15</i>		
Has-miR-182	<i>RGS17</i>		
miR-125a-5p	<i>EGFR</i>		
miR-101	<i>EZH2</i>		
miR-542-5p	<i>EGFR</i>		

表 3 与肺癌侵袭相关的 miRNA

miRNA	靶基因	作用结果
miR-26a	<i>PTEN</i>	促进转移
miR-29b	<i>MMP2</i>	抑制转移
miR-126	<i>CRK</i>	抑制转移
miR-200	<i>VEGFR1</i>	抑制转移

5 miRNA 表达谱作为肺癌诊断和预测的标志物

诊断是肺癌筛查和治疗的前提, miRNA 的表达具有时间和空间特异性, 与肿瘤的发展和分化状态有关, 因此 miRNA 表达谱研究有助于肺癌的诊断。痰液检查和血液检查都是简便可行的诊断手段, 通过检测痰液和血液中不同种类的 miRNA 表达水平

及其变化,将有助于肺癌的诊断和预测。

Xie 等^[33]发现,与正常人相比,肺癌患者痰标本中 miR-21 表达显著增高,其用于诊断肺癌的敏感度和特异性分别为 69.66% 和 100.00%。因此,无创方式检查痰液中 miRNA 的表达变化可用于肺癌诊断。Yu 等^[34]发现,在手术切除的肺癌组织和痰液标本中,miR-21、miR-486、miR-375 和 miR-200b 的共表达是预测肺腺癌的生物标记物,敏感度 80.6%,特异度 91.7%。Xing 等^[35]发现,诊断肺癌时痰液中 miR-205、miR-210 和 miR-708 表达的检测具有高度的敏感性(73%)和特异性(96%)。

外周血中的 miRNA 非常稳定^[36-37]。Chen 等^[36]检测了 NSCLC、结直肠癌和糖尿病患者的 miR-141,发现患者血清 miRNA 的表达谱与其他人群明显不同: NSCLC 有 8 种特异性 miRNA(包括 miR-205、miR-206 和 miR-335 等),而结直肠癌有 14 种特异性 miRNA(包括 miR-485-5p、miR-361-3p、miR-326 和 miR-487b 等)。

最新的一项研究^[36]发现,肺癌患者血清中可检测到 63 种在正常机体中检测不到的 miRNA^[36]。miRNA 表型在肺癌患者的血清和血细胞中是不同的,而在健康人群中无差异。与正常机体相比,在 NSCLC 血清中 miR-25 和 miR-223 都呈高表达,因此可以被看作是 NSCLC 特有的生物标志物。Cui 等^[38]研究了 4 种 miRNA(miR-125b、miR-10b、miR-34a 和 miR-155)在肺癌患者外周血中的表达变化,发现四种 miRNA 与正常组织相比表达均明显增高。通过不同分期中的表达对比研究发现,miR-125b 和 miR-155 在 IV 期患者中的表达较 III A 期和 III B 期明显增高,而 miR-10b 和 miR-34a 在不同分期肺癌患者中的表达基本无明显统计学差异。Rabinowits 等^[39]发现,癌症患者和正常人群外周循环 miRNA 浓度分别为 158.6 和 68.1 ng/ml,但外周循环和肿瘤组织中的 miRNA 水平没有明显差异。在癌症患者和正常人群的外周血及肿瘤组织中 miRNA 的表达谱明显不同,预示着血循环中 miRNA 可以作为肺癌筛查的标志物。

6 miRNA 作为肺癌治疗的靶点

6.1 miRNA 在肺癌化疗中的作用

miRNA 种类繁多,不同种类的 miRNA 在肿瘤化疗中的作用不尽相同,其对化疗的影响主要包括:预测化疗反应、化疗增敏和调节化学药物耐药等。

Gao 等^[40]研究了在铂类药物耐药的 NSCLC A549 细胞中 miRNA 的表达情况,发现 miR-21 的过

表达可以明显增强 A549 细胞对铂类化疗药的耐药性,反之则可减少耐药性。研究还发现,反义 miR-21 转染后 A549 细胞中 *P TEN* 抑癌基因表达上调而 *Bcl-2* 原癌基因下调,而转染 miR-21 前体则出现相反的作用。因此认为,在 NSCLC 组织中和血浆中 miR-21 的表达可以作为预测肺癌患者对铂类药物辅助化疗反应疗效的预测标志物,其表达的增高与耐药呈正相关。Ranade 等^[41]采用 RT-PCR 对 SCLC 患者的组织标本进行研究,发现 miR-92a-2*、miR-147 和 miR-574-5p 与化疗耐药显著相关;多因素分析显示,性别和 miR-92a-2* 是 SCLC 患者的预后因子。因此,miR-92a-2* 可以用于 SCLC 患者耐药风险的筛查,预测患者的化疗疗效。

表 4 用于诊断和预测肺癌的 miRNA

痰液标本	血标本
miR-21	miR-205
miR-486	miR-20b
miR-375	miR-335
miR-200b	miR-25
miR-205	miR-125b
miR-210	miR-10b
miR-708	miR-34a
miR-155	

多药耐药是影响化疗疗效的重要原因之一,有报道认为 miRNA 与多药耐药相关^[42]。Zhu 等^[43]发现 miR-200bc/429 簇的表达增强可以提高肺癌细胞对抗癌药物的敏感性。miR-200bc/429 簇的靶点为 *Bcl-2* 和 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, *XIAP*),其表达增强可以降低 *Bcl-2* 和 *XIAP* 的蛋白表达水平,进而增强抗癌药物的敏感性,促使肿瘤细胞死亡。另一项研究^[44]发现,miR-181b 在顺铂耐药 A549 细胞中表达减低。体外药物敏感性实验证实,miR-181b 可以增强顺铂耐药 A549 细胞对抗癌药物的敏感度,其作用靶点为 *Bcl-2* 的 3'-UTR。miR-181b 水平增高可降低 *Bcl-2* 蛋白水平,从而增强顺铂介导的 A549 细胞凋亡。众所周知,抗癌药物 *EGFR*-TKI 可用于 *EGFR* 突变 NSCLC 的治疗,但部分患者会发生耐药。Wang 等^[45]研究发现,这种获得性耐药除了可能是 *EGFR* 基因的二次突变外,miRNA 也参与其中,特别是 miR-214 在吉非替尼耐药细胞株 HCC827/GR 中表达明显上

调。而在 HCC827/GR 细胞株中 miR-214 的表达与 *PTEN* 相反。敲除 *miR-214* 后, *PTEN* 和 *p-AKT* 表达升高, 且 HCC827/GR 重新获得了对吉非替尼的敏感性。因此, 抑制 miR-214 可用于逆转肿瘤细胞对 *EGFR-TKI* 的获得性耐药。而 Feng 等^[46] 研究发现, miRNA-200b 可以通过靶向作用于 E2F3 增加其表达, 继而逆转肺腺癌对多西他赛的耐药性。这些研究结果表明, 某些 miRNA 可以对抗化疗药物的多药耐药, 但具体如何应用于临床还需要进一步的研究和论证。

此外, 研究较为广泛的是 miRNA 与铂类药物敏感性。TP53 是一抑癌基因, 该基因突变在肺癌中非常常见, 它是 DNA 损伤和修复的控制蛋白, 通过延长 G₁ 到 S 期的过程促使 DNA 的损伤修复。Zhang 等^[47] 研究发现, miR-98 和 miR-453 可靶向作用于 TP53 的 3'-UTR 继而下调 TP53 的表达。进一步研究发现, 顺铂可能通过 miR-98 调节的 TP53 通路来抑制 A549 细胞的生长。Wang 等^[48] 发现, 在体外药物敏感性试验中, miR-138 表达上调可以增强 A549 细胞对顺铂的敏感性。谷胱甘肽 S 转移酶 P1 (Glutathione S-Transferase P1, GSTP1) 是体内生物转化最重要的 II 相代谢酶之一, 是细胞抗损伤、抗癌变的主要解毒系统, 很多研究表明 GSTP1 与顺铂耐药有关。Zhang 等^[49] 发现, GSTP1 在肺癌 A549 细胞中表达上调, 而 miR-513a-3p 则低表达。荧光酶活性实验证实 GSTP1 是 miR-513a-3p 作用的靶分子; miR-513a-3p 过表达增加了肺腺癌细胞对顺铂的敏感性, 诱导了细胞凋亡。因此, 通过靶向作用于 GSTP1, miR-513a-3p 可以增敏顺铂对肺腺癌的化疗敏感性。在 Galluzzi 等^[50] 的研究中, miR-181a 和 miR-630 在对顺铂敏感的 A549 细胞中表达增高。使用 miRNA 抑制剂作用于这两种 miRNA 后, 并不能影响 A549 细胞对顺铂的敏感性; 继而发现 miR-181a 前体可以辅助顺铂介导的细胞死亡, 但 miR-630 前体的作用相反, 这两种前体 miRNA 在凋亡途径的线粒体或线粒体后阶段发挥调节作用。此外, miR-630 前体可以抑制 DNA 损伤的早期反应, 通过在 G₀/G₁ 期的阻碍作用抑制 A549 细胞的死亡。所以 miR-181a 对顺铂在肺癌化疗中的疗效有增敏作用, miR-630 则有抑制作用。Bian 等^[51] 通过 RT-PCR 检测了 10 例 NSCLC 和对照组织中 miR-451 的表达, 发现 miR-451 在 NSCLC 中的表达水平明显高于正常组织, miR-451 的表达不仅可抑制肺癌细胞的生长、诱导细胞凋亡, 而且可使 AKT 信号通路失活, 促进顺铂介导的细胞凋亡, 表明 miR-451 在

A549 细胞对顺铂的反应中有增敏作用。

还有一些研究发现 miRNA 对其他药物耐药也有一定的作用。比如, Feng 等^[52] 发现, miR-100 在对多西他赛耐药的 NSCLC 细胞中表达显著降低。外源性 miR-100 的表达可使耐药肺癌细胞重新获得对多西他赛的敏感性, 这种效果主用是通过抑制细胞增殖、阻滞 G₂/M 期细胞和促进凋亡实现的。敲除 miR-100 的靶点 *Plk1* 与引入外源性 miR-100 的效果相当。因此, miR-100 的下调可以通过促进 *Plk1* 的过表达从而最终导致肺腺癌对多西他赛耐药。Zhu 等^[53] 研究发现, 提高 miR-126 表达可以显著降低 A549 细胞对多柔比星和长春新碱的敏感性, 而且 miR-126 的表达与 NSCLC 的耐药有关。

表 5 化疗相关的 miRNA

调节化疗耐药	化疗增敏作用
miR-200bc/429(逆转多药耐药)	miR-98(铂类)
miR-181b(逆转铂类耐药)	miR-138(铂类)
miR-214(促进吉非替尼耐药)	miR-513a-3p(铂类)
miR-200b(逆转多西他赛耐药)	miR-181a(铂类)
miR-630(促进铂类耐药)	miR-451a(铂类)
miR-126(降低多柔比星和 长春新碱的敏感性)	miR-100(多西他赛)

6.2 miRNA 在肺癌放射治疗中的作用

综合大量文献, 发现 miRNA 除了与肺癌的化疗反应相关外, 还与对放射治疗的敏感性有关。Balca 等^[54] 研究发现, 在 *p53* 野生型突变和 *K-Ras* 基因突变的 NSCLC 中进行低于 4Gy 剂量的放射治疗时, miR-34b 过表达可以降低 NSCLC 细胞的存活。Chen 等^[55] 研究发现, 异位的 miR-101 可以降低 *ATM* 和 *DNA-PK* 水平, 增加 H1299、H1975 和 A549 细胞的放疗敏感性, 但是不能改变 H157 细胞的放疗敏感性。由此得出结论: 外源性的 miR-101 对 NSCLC 有放疗增敏作用。陈智贤等^[56] 研究了与癌细胞放疗耐受相关的 miR-7 的潜在靶点, 他们发现该靶点与 EGFR 信号活化有关。外源性的 miR-7 过表达可以降低 EGFR 和 Akt 的表达, 进而增加肺癌细胞对放疗的敏感性。已知癌细胞中核因子 κ B1 (NF κ B1) 的活性与电离辐射的耐受有关。Arora 等^[57] 研究发现, miR-9 的过表达可以抑制肺癌细胞 H1299 中 NF κ B1 水平, 进而使 γ 电离细胞的生存分数降低, 从而增加放疗致细胞死亡的能力。同样,

let-7g 也有相似的作用, Wang 等^[58]的研究结果发现,在放疗敏感的患者中, miR-126、miR-let-7a、miR-495、miR-451 和 miR-128b 等五种 miRNA 表达明显上调,而 miR-130a、miR-106b、miR-19b、miR-22、miR-15b、miR-17-5p 和 miR-21 等七种 miRNA 表达降低。miR-126 的过表达可以抑制 SK-MES-1 细胞的生长,促进电离辐射诱导的细胞凋亡,其靶点为 PI3K-Akt 通路。

7 miRNA 作为肺癌分化和预后标志物

最近研究发现 miRNA 表达也可以作为肺癌的分化程度的标记物。let-7 位于染色体的脆性位点,也存在于杂合性丢失的最小区域、放大的最小区域或常断裂的区域^[59]。相反,let-7 的高表达见于分化良好的肿瘤内,它靶向的原癌基因(*HMGA2* 和 *Ras*)表达下调。因此,let-7 可能可以作为低分化肿瘤的标记物^[60]。

Hu 等^[61]发现, I - III a 期肺腺癌和小细胞肺癌的患者进行手术和辅助化疗后,血清中 miR-486 和 miR-30d 的高表达与患者生存时间的缩短有关,随后也发现血清中 miR-1 和 miR-499 的低表达也与肺癌患者生存时间的缩短有关。进一步的研究表明,携带有两个或更多 miRNA 异常表达的患者生存时间明显比无携带或只有一个 miRNA 表达异常的患者短。Gallardo 等^[62]的研究显示,在肿瘤组织中 miR-34a 的低表达与高复发风险有关;联合检测到 miR-34a 低表达与 *p53* 基因突变同时存在的肺癌患者有更高的复发风险。

Edin 等^[63]研究发现,let-7b 和 miR-126 的低表达在肺癌组织中发挥着抗血管生成的作用,而且与肺癌患者的低生存率明显相关。Cui 等^[38]的研究发现,miR-125b 除了可以作为肺癌的诊断标志物之外,其表达水平的升高与患者生存率的降低有关。多变量分析显示 miR-125b 的表达是 NSCLC 患者重要的预后标志物。Jang 等^[64]研究了在 NSCLC 中 miR-708 的表达水平,发现 miR-708 升高与非吸烟肺腺癌患者死亡率的增加关系密切。另一项研究指出,miR-429、miR-200 与肺癌患者无病生存率降低相关,而且血浆中 miR-486-5p 的下调与不良预后相关。在肺腺癌患者中,miR-155 的高表达与患者生存率呈负相关,是决定预后的因素之一。有研究^[65]报告,在有淋巴结转移的小细胞肺癌患者中,miR-155 表达水平与肺癌患者预后呈负相关。

8 结 语

miRNA 在恶性肿瘤多种生物学行为中扮演着

重要角色,因而可作为癌症诊断、治疗和预后的重要标志物。miRNA 可以调控肿瘤细胞的增殖,可作为肿瘤和预测标志物,还参与了化疗药物的耐药和放化疗增敏等多种机制。miRNA 作为基因表达的调控分子,也将对新药的研发和个体化靶向治疗产生重大影响,在未来肺癌的治疗中起到举足轻重的作用。未来针对 miRNA 设计的筛查和治疗手段将从基础走向临床,最终会使更多的肺癌患者获益。

[参 考 文 献]

- [1] Ambros V. MicroRNA pathways in flies and worms: Growth, death, fat, stress, and timing [J]. Cell, 2003, 113(6): 673-676.
- [2] Ortholan C, Puissegur MP, Ilie M, et al. MicroRNAs and lung cancer: New oncogenes and tumor suppressors, new prognostic factors and potential therapeutic targets [J]. Curr Med Chem, 2009, 16(9): 1047-1061.
- [3] Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis [J]. Cancer Cell, 2006, 9(3): 189-198.
- [4] 薛逸荃, 曹雪涛. RNA 异常与肿瘤调控研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(1): 1-12.
- [5] Carleton M, Cleary MA, Linsley PS. MicroRNAs and cell cycle regulation [J]. Cell Cycle, 2007, 6(17): 2127-2132.
- [6] Chivukula RR, Mendell JT. Circular reasoning: MicroRNAs and cell-cycle control [J]. Trends Biochem Sci, 2008, 33(10): 474-481.
- [7] 赵敏, 苏长青. MicroRNA 对肿瘤基因的调控及其临床意义 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(2): 235-238.
- [8] Liu L, Shao X, Gao W, et al. MicroRNA-133b inhibits the growth of non-small-cell lung cancer by targeting the epidermal growth factor receptor [J]. FEBS J, 2012, 279(20): 3800-3812.
- [9] Yamaguchi G, Takanashi M, Tanaka M, et al. Isolation of miRNA that target EGFR mRNA in human lung cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 420(2): 411-416.
- [10] Sun Y, Bai Y, Zhang F, et al. miR-126 inhibits non-small cell lung cancer cells proliferation by targeting EGFL7 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(3): 1483-1489.
- [11] Miko E, Margitai Z, Czimmerer Z, et al. miR-126 inhibits proliferation of small cell lung cancer cells by targeting SLC7A5 [J]. FEBS Lett, 2011, 585(8): 1191-1196.
- [12] Ohdaira H, Sekiguchi M, Miyata K, et al. MicroRNA-494 suppresses cell proliferation and induces senescence in A549 lung cancer cells [J]. Cell Prolif, 2012, 45(1): 32-38.
- [13] Xiong S, Zheng Y, Jiang P, et al. MicroRNA-7 inhibits the growth of human non-small cell lung cancer A549 cells through targeting Bel-2 [J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(6): 805-814.
- [14] Zhong M, Ma X, Sun C, et al. MicroRNAs reduce tumor growth and contribute to enhance cytotoxicity induced by gefitinib in non-small cell lung cancer [J]. Chem Biol Interact, 2010, 184(3) :

- 431-438.
- [15] Liu ZL, Wang H, Liu J, et al. MicroRNA-21 (miR-21) expression promotes growth, metastasis, and chemo- or radioresistance in non-small cell lung cancer cells by targeting PTEN [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 372(1/2): 35-45.
- [16] Liu XH, Lu KH, Wang KM, et al. MicroRNA-196a promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion through targeting HOXA5 [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(1): 348.
- [17] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 3753-3756.
- [18] Johnson CD, Esquela-Kerscher A, Stefani G, et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(16): 7713-7722.
- [19] Wang R, Wang ZX, Yang JS, et al. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14) [J]. *Oncogene*, 2011, 30(23): 2644-2658.
- [20] Kang J, Lee SY, Lee SY, et al. MicroRNA-99b acts as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by directly targeting fibroblast growth factor receptor 3 [J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(1): 149-153.
- [21] Feng S, Cong S, Zhang X, et al. MicroRNA-192 targeting retinoblastoma 1 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in lung cancer cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(15): 6669-6678.
- [22] Inconato M, Garofalo M, Urso L, et al. miR-212 increases tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand sensitivity in non-small cell lung cancer by targeting the antiapoptotic protein PED [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(9): 3638-3646.
- [23] Sun Y, Fang R, Li C, et al. Hsa-mir-182 suppresses lung tumorigenesis through down regulation of RGS17 expression in vitro [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 501-507.
- [24] Wang G, Mao W, Zheng S, et al. Epidermal growth factor receptor-regulated miR-125a-5p-a metastatic inhibitor of lung cancer [J]. *FEBS J*, 2009, 276(19): 5571-5578.
- [25] Karanikolas BD, Figueiredo ML, Wu L. Comprehensive evaluation of the role of EZH2 in the growth, invasion, and aggression of a panel of prostate cancer cell lines [J]. *Prostate*, 2010, 70(6): 675-688.
- [26] Zhang JG, Guo JF, Liu DL, et al. MicroRNA-101 exerts tumor-suppressive functions in non-small cell lung cancer through directly targeting enhancer of zeste homolog 2 [J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(4): 671-678.
- [27] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(7): 2257-2261.
- [28] Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, et al. Prediction of mammalian microRNA targets [J]. *Cell*, 2003, 115(7): 787-798.
- [29] Liu B, Wu X, Liu B, et al. MiR-26a enhances metastasis potential of lung cancer cells via AKT pathway by targeting PTEN [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(11): 1692-1704.
- [30] Fang JH, Zhou HC, Zeng C, et al. MicroRNA-29b suppresses tumor angiogenesis, invasion, and metastasis by regulating matrix metalloproteinase 2 expression [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1729-1740.
- [31] Crawford M, Brawner E, Batte K, et al. MicroRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(4): 607-612.
- [32] Roybal JD, Zang Y, Ahn YH, et al. miR-200 Inhibits lung adenocarcinoma cell invasion and metastasis by targeting Flt1/ VEGFR1 [J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(1): 25-35.
- [33] Xie Y, Todd NW, Liu Z, et al. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2010, 67(2): 170-176.
- [34] Yu L, Todd NW, Xing L, et al. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2870-2878.
- [35] Xing L, Todd NW, Yu L, et al. Early detection of squamous cell lung cancer in sputum by a panel of microRNA markers [J]. *Mod Pathol*, 2010, 23(8): 1157-1164.
- [36] 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.
- [37] 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.
- [38] Cui EH, Li HJ, Hua F, et al. Serum microRNA 125b as a diagnostic or prognostic biomarker for advanced NSCLC patients receiving cisplatin-based chemotherapy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(2): 309-313.
- [39] Rabinowitz G, Gercel-Taylor C, Day JM, et al. Exosomal microRNA: A diagnostic marker for lung cancer [J]. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10(1): 42-46.
- [40] Gao W, Lu X, Liu L, et al. MiRNA-21: A biomarker predictive for platinum-based adjuvant chemotherapy response in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(5): 330-340.
- [41] Ranade AR, Cherba D, Sridhar S, et al. MicroRNA 92a-2* : A biomarker predictive for chemoresistance and prognostic for survival in patients with small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(8): 1273-1278.
- [42] 陈龙邦. 人肺腺癌多西他赛耐药机制的研究 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 19(5): 467-471.
- [43] Zhu W, Xu H, Zhu D, et al. miR-200bc/429 cluster modulates multidrug resistance of human cancer cell lines by targeting Bcl-2 and XIAP [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(3): 723-731.
- [44] Zhu W, Shan X, Wang T, et al. miR-181b modulates multidrug resistance by targeting Bcl-2 in human cancer cell lines [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(11): 2520-2529.
- [45] Wang YS, Wang YH, Xia HP, et al. MicroRNA-214 regulates the acquired resistance to gefitinib via the PTEN/AKT pathway in EGFR-mutant cell lines [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(1): 2552-2560.

- [46] Feng B, Wang R, Song HZ, et al. MicroRNA-200b reverses chemoresistance of docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma cells by targeting E2F3 [J]. *Cancer*, 2012, 118(13): 3365-3376.
- [47] Zhang S, Zhang C, Li Y, et al. MiR-98 regulates cisplatin-induced A549 cell death by inhibiting TP53 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(6): 436-442.
- [48] Wang Q, Zhong M, Liu W, et al. Alterations of microRNAs in cisplatin-resistant human non-small cell lung cancer cells (A549/DDP) [J]. *Exp Lung Res*, 2011, 37(7): 427-434.
- [49] Zhang X, Zhu J, Xing R, et al. miR-513a-3p sensitizes human lung adenocarcinoma cells to chemotherapy by targeting GSTP1 [J]. *Lung Cancer*, 2012, 77(3): 488-494.
- [50] Galluzzi L, Morselli E, Vitale I, et al. miR-181a and miR-630 regulate cisplatin-induced cancer cell death [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(5): 1793-1803.
- [51] Bian HB, Pan X, Yang JS, et al. Upregulation of microRNA-451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549) [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30: 20.
- [52] Feng B, Wang R, Chen LB. MiR-100 resensitizes docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma cells (SPC-A1) to docetaxel by targeting Plk1 [J]. *Cancer Lett*, 2012, 317(2): 184-191.
- [53] Zhu X, Li H, Long L, et al. miR-126 enhances the sensitivity of non-small cell lung cancer cells to anticancer agents by targeting vascular endothelial growth factor A [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2012, 44(6): 519-526.
- [54] Balça-Silva J, Sousa Neves S, Gonçalves AC, et al. Effect of miR-34b overexpression on the radiosensitivity of non-small cell lung cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(5): 1603-1609.
- [55] Chen S, Wang H, Ng WL, et al. Radiosensitizing effects of ectopic miR-101 on non-small-cell lung cancer cells depend on the endogenous miR-101 level [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 81(5): 1524-1529.
- [56] 陈智贤,孙爱民,陈勇,等.放射敏感性、X线辐射剂量对鼻咽癌细胞 miR-7 表达的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(80): 1810-1816.
- [57] Arora H, Qureshi R, Jin S, et al. miR-9 and let-7g enhance the sensitivity to ionizing radiation by suppression of NFκB1 [J]. *Exp Mol Med*, 2011, 43(5): 298-304.
- [58] Wang XC, Du LQ, Tian LL, et al. Expression and function of miRNA in postoperative radiotherapy sensitive and resistant patients of non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2011, 72(1): 92-99.
- [59] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(9): 2999-3004.
- [60] Shell S, Park SM, Radjabi AR, et al. Let-7 expression defines two differentiation stages of cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(27): 11400-11405.
- [61] Hu Z, Chen X, Zhao Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(10): 1721-1726.
- [62] Gallardo E, Navarro A, Vinolas N, et al. miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small-cell lung cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(11): 1903-1909.
- [63] Jusufović E, Rijavec M, Korošec P, et al. let-7b and miR-126 are down-regulated in tumor tissue and correlate with microvessel density and survival outcomes in non-small-cell Lung Cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45577.
- [64] Jang JS, Jeon HS, Sun Z, et al. Increased miR-708 expression in NSCLC and its association with poor survival in lung adenocarcinoma from never smokers [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(13): 3658-3667.
- [65] Donnem T, Eklo K, Berg T, et al. Prognostic impact of MiR-155 in non-small cell lung cancer evaluated by in situ hybridization [J]. *J Transl Med*, 2011, 9: 6.

[收稿日期] 2013 - 01 - 12

[修回日期] 2013 - 05 - 25

[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,本刊对论文中有关实验动物的描述,要求请清楚以下事项:(1)品种、品系及亚系的确切名称;(2)遗传背景或其来源;(3)微生物检测状况;(4)性别、年龄、体重;(5)质量等级及合格证书编号;(6)饲养环境和实验环境;(7)健康状况;(8)对动物实验的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级(包括悉生动物)。省部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。

(本刊编辑部)