

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.01.001

· 院士论坛 ·

## MicroRNA 与肝癌诊治:新的机遇和挑战

侯晋, 曹雪涛(第二军医大学免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)



**侯晋** 博士, 副教授, 硕士生导师, 任职于第二军医大学免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室。研究方向为炎症与肿瘤发生的分子调控机制, 相关研究成果发表 SCI 收录学术论文十余篇。代表性科研成果为揭示肝炎、肝硬化和肝癌发生、发展过程相关的 microRNA 组, 并发现 miR-199 在肝癌进展中的作用及其机制, 该成果发表于 *Cancer Cell*, 获评“2011 年中国百篇最具影响国际学术论文”和“2011 年中国十大科技进展”之一; 在肝癌生物治疗方面, 揭示干扰素诱导基因 RIG-I 是肝癌干扰素治疗疗效预判的新分子靶标, 并发现 RIG-I 参与调控干扰素下游效应信号通路中的作用和机制, 及其在肝癌预后判断和肝癌发生性别差异中的作用和机制, 同样发表于 *Cancer Cell*。主持国家自然科学基金面上项目、优秀青年科学基金项目多项, 参与国家 973 计划研究项目等。E-mail: houjinsmmu@126.com



**曹雪涛** 教授, 博士生导师, 中国工程院院士。现任中国医学科学院院长、第二军医大学免疫学研究所所长、医学免疫学国家重点实验室主任, 全球慢性疾病防控联盟主席、亚太地区免疫学联盟主席, 中国免疫学会秘书长、国家 863 计划现代医学主题专家组组长、国家 973 计划免疫学项目首席科学家、国务院学位评议委员会学科评议基础医学组召集人。任《中国肿瘤生物治疗杂志》主编, *Cell Mol Immunol* 杂志共同主编, *J Mol Med*, *Gene Ther*, *Cancer Immunol Res* 副主编, *Cell*, *Ann Rev Immunol*, *Sci Transl Med*, *eLife* 等杂志编委。主要从事天然免疫识别与免疫调节的基础研究和疾病免疫治疗的应用研究。以通信作者身份在 *Science*, *Cell*, *Nat Immunol* 等杂志发表 SCI 论文 226 篇, 论文被 SCI 他引 6 000 余次; 主编和共同主编学术专著 8 部, 参编 11 部。获国家发明专利 16 项。培养的 12 名博士获评“全国百篇优秀博士学位论文”。E-mail: caoxt@immunol.org

**[摘要]** MicroRNA(miRNA)广泛参与机体各项生理和病理过程,近年来受到广泛关注且研究进展迅速。肝癌尤其是乙型肝炎相关肝癌是我国的重大疾病,miRNA在肝癌发生、发展过程中发挥着重要作用,在肝癌发生、肿瘤进展、预后判断和生物治疗等方面,miRNA均能通过调控其靶基因的表达参与其中。由于大规模平行测序等miRNA组学研究的新技术进展迅速,肝脏与肝癌miRNA组的研究进一步加深了科研工作者对肝癌相关miRNA的理解。在肝脏中富集表达的miRNA在肝癌组织中均出现表达失调,这些表达失调的重要miRNA已被证明是肝癌基因治疗的潜在靶点。此外,肝癌患者血清中存在的游离miRNA被证实是肝癌诊断和个体化治疗的潜在生物标志物。笔者简要阐述肝癌相关miRNA的表达和作用机制及其在临床肝癌诊断和干预中的潜在意义与价值,并对miRNA给肝癌诊治带来新的机遇和挑战作一展望。

**[关键词]** 肝细胞癌;microRNA;microRNA组;标志物;诊断;治疗

**[中图分类号]** R735.7; R730.54; Q522

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)01-0001-07

## MicroRNAs in the management of hepatocellular carcinoma: New opportunities and challenges

Hou Jin, Cao Xuetao( National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China )

**[ Abstract ]** MicroRNAs plays critical roles in diverse physiological and pathological processes. It has attracted world-

**[ 基金项目 ]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)(No. 2012CB518900);国家自然科学基金资助项目(No. 31170826、No. 31370864);国家自然科学基金优秀青年基金资助项目(No. 81422037);上海市晨光计划(No. 12CG39)资助项目。Project supported by the National Key Basic Research Program of China(No. 2012CB518900), the National Natural Science Foundation of China(No. 31170826, No. 31370864), the National Natural Science Foundation for Outstanding Youth(No. 81422037), and the Chenguang Project of Shanghai(No. 12CG39)

**[ 优先出版 ]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150205.1440.001.html>

wide attention and rapid progress has been achieved in the past two decades. Hepatocellular carcinoma (HCC), especially hepatitis B virus (HBV)-related HCC, is particularly prevalent in China. Recently, as the possible roles for microRNAs in the pathogenesis and progression of HCC is being gradually uncovered, significant advances have been made in microRNA-based diagnosis and therapy of HCC. Owing to the rapid progress of new techniques such as massive parallel signature sequencing, miRNomes of human normal liver and HCC have been revealed, then deepened our understanding of the important microRNAs in HCC development. The enriched microRNAs in the liver are reported to be deregulated during HCC development, and these microRNAs are suggested to bear considerable therapeutic potential in HCC gene therapy. Moreover, serum microRNAs in HCC patients are also determined to be biomarkers for HCC diagnosis and individual therapy. This review paper aims to summarize the recent literature on the regulation of microRNAs expression in HCC, downstream targets of microRNAs in HCC development, and outlook the potential of serum microRNAs as diagnostic/prognostic makers and therapeutic targets for HCC.

[ **Key words** ] hepatocellular carcinoma (HCC); microRNA; miRNome; marker; diagnosis; therapy

[ Chin J Cancer Biother, 2015, 22(1): 1-7 ]

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最为常见的肝脏原发性肿瘤, 目前其发病率在恶性肿瘤中列第五位, 在肿瘤所导致的死亡中列第三位<sup>[1]</sup>。肝癌的发生与肝脏慢性炎症密切相关, 目前认为病毒性肝炎、过量饮酒和非酒精性肝脏脂肪性变是导致肝癌发生的重要原因<sup>[2-4]</sup>。在我国, 慢性乙型肝炎及肝硬化是导致肝癌的主要原因。由于我国乙型肝炎患病率居世界之首, 乙型肝炎相关性肝癌已列为我国的重大疾病。肝癌的发生、发展主要与肝脏慢性炎症所导致的肝细胞反复损伤与增生密切相关, 分子机制主要包括肝细胞内的癌基因激活、抑癌基因失活以及肝癌相关信号通路的过度活化<sup>[5-6]</sup>。肝癌发生、发展的分子机制研究及与临床密切结合的转化医学研究将为肝癌的防控和治疗提出新的干预方向。

MicroRNA (miRNA) 是一类长度约为 18~25 个核苷酸的小片段非编码 RNA, 其能通过调控靶基因的表达进而广泛地参与机体各项生理和病理过程。在哺乳动物中, miRNA 的作用机制主要认为是通过作用于靶 mRNA 的 3' 非翻译区进而抑制靶基因的表达<sup>[7]</sup>。近年来, 在特定生理和病理过程中研究 miRNA 的作用和机制进展迅速, 尤其在肿瘤发生、发展过程中, miRNA 能够广泛参与肿瘤发生、肿瘤生物学特性、肿瘤微环境改变、肿瘤相关免疫细胞驯化以及肿瘤干细胞病理等各个过程, 并能够作为肿瘤早期诊断、预后判断和干预治疗的潜在靶点<sup>[8]</sup>。

## 1 miRNA 组学分析及其对肝癌研究的意义

在特定生理和病理过程中, 使用高通量检测技术系统测定胞内 miRNA 表达谱的改变是 miRNA 研究的重要手段。尤其在特定疾病的发生、发展过程

中, 检测 miRNA 表达谱的改变能够有效地系统筛选表达发生改变 miRNA, 进而为具体研究 miRNA 的功能奠定基础。检测 miRNA 表达谱的技术主要包括 miRNA 表达谱芯片和大规模平行测序技术。大规模平行测序技术的发展对系统研究细胞内 miRNA 组提供了重要技术支持, 较传统表达谱芯片技术具有显著优势。由于大规模平行测序技术是基于对 miRNA 序列的随机测序, 其可以系统揭示细胞内的 miRNA 组, 包括揭示 miRNA 的表达水平和组织细胞富集表达的 miRNA、发现差异表达的 miRNA 及其变化趋势, 以及探索新的 miRNA 基因等<sup>[9]</sup>。此外, 由于 miRNA 的表达具有一定的组织细胞特异性, 即在某一类细胞中, 仅有少数几种 miRNA 处于富集表达状态。由于 miRNA 仅在表达量达到某一水平后才能发挥调控靶基因表达的功能, 这些富集表达的 miRNA 在这一特定组织或细胞的功能行使或病理改变中发挥更为重要的作用<sup>[10]</sup>。因此, 使用大规模平行测序技术深度揭示肝癌发生、发展过程中的 miRNA 组及其变化规律, 对于肝癌研究尤为重要。

目前, 正常肝脏组织中的 miRNA 组已通过大规模平行测序技术获得, 尤其是肝脏富集表达的 miRNA 已基本确认<sup>[10]</sup>。在肝脏组织中, 表达量前十位 miRNA 的表达量总和占肝脏 miRNA 组的 90% 左右 (表 1), 表达量最高的 miR-122 占肝脏 miRNA 组的 50% 左右。这些 miRNA 在肝脏生理中显然能够发挥更为重要的作用。正常肝脏组织中 miRNA 组的揭示为研究 miRNA 在肝脏生理和肝脏疾病中的作用和机制奠定了基础。

## 2 肝癌中表达失调的重要 miRNA

正常肝脏组织中的 miRNA 组学研究确定了肝

脏组织中富集表达的 miRNA。在肝癌中,这些富集 miRNA 的表达缺失以及其他一些低表达 miRNA 的异常表达活化在肝癌发生、发展中发挥着重要调控作用。近年来,miRNA 表达失调的机制及其在肝癌发生、发展中所发挥的作用和机制已有了一定深度的研究,并且已发现部分 miRNA 还能作为肝癌预后判断和干预治疗的潜在靶点。

表 1 正常肝脏组织中表达富集的 miRNA 及其比例<sup>[10]</sup>

miRNA	肝脏 miRNA 组中表达的比例(%)
miR-122	52.0
miR-192	16.9
miR-199	4.9
miR-101	3.7
let-7a	3.3
miR-99a	2.2
let-7c	2.1
let-7b	1.7
let-7f	1.5
合计	88.2

## 2.1 在肝癌中表达降低的重要 miRNA

2.1.1 miR-122 作为肝脏组织中表达最为富集的 miRNA,miR-122 在肝脏分化发育和稳态维持等生理过程中发挥着重要作用。早期研究发现,miR-122 参与调控肝脏的脂质代谢过程<sup>[11]</sup>,辅助 HCV 的复制并可作为慢性丙型肝炎抗病毒治疗的潜在靶点<sup>[12]</sup>。在肝癌组织中,研究发现 miR-122 在部分肝癌组织中特异性表达降低,并与肝癌患者的预后和复发转移密切相关。目前已证实,miR-122 可通过靶向细胞周期蛋白 Cyclin G1、GF-1R、Wnt1、AKT3 和 ADAM10 等分子抑制肝癌的发生、上皮-间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)和血管新生<sup>[13-17]</sup>。同时,在 miR-122 缺陷小鼠体内观测到肝癌的自发形成,以及一系列基因的异常表达,涉及细胞生长和凋亡、EMT,以及炎症和肿瘤发生等<sup>[18-19]</sup>。此外,血清中的 miR-122 可作为病毒感染和非酒精性脂肪肝诱发肝脏损伤的早期血清标志物<sup>[20]</sup>。

### 2.1.2 miR-192

miR-192 在肝脏内富集表达并占肝脏 miRNA 组的 16.9%,然而目前并未发现其在肝癌组织中表达失调,仅有少量研究报道称其可能存在抑癌作用。miR-192 的表达可被 p53 分子显著诱导上调,通过靶向作用于 Zeb2 分子进而抑制肝癌细胞发生

EMT<sup>[21]</sup>。尽管目前 miR-192 在肝癌发生、发展中所发挥的具体作用尚不明确,有关 miR-192 在其他肿瘤中的研究已有一定进展,如结肠癌中 miR-192 能够靶向 Bcl-2、Zeb2 和 VEGF 的表达,进而促进肿瘤细胞凋亡、抑制血管新生和肝脏转移<sup>[22]</sup>;成神经细胞瘤中 miR-192 能够靶向结合于 Dicer 1 的 3'UTR 区,进而促进肿瘤细胞的增殖和侵袭<sup>[23]</sup>。有关 miR-192 在肝脏生理和肝癌发生、发展中的具体作用和机制仍有待进一步研究。

2.1.3 miR-199 miR-199 是肝脏中第三富集表达的 miRNA,同时也是肝癌组织中特异性低表达的 miRNA,且与肝癌患者不良预后和复发密切相关<sup>[10]</sup>。研究<sup>[10]</sup>发现,miR-199 能够直接靶向作用于 PAK4 的表达,抑制 PAK4/Raf/MEK/ERK 信号通路进而抑制肿瘤生长。亦有报道<sup>[24]</sup>证实,miR-199 靶向作用于 mTOR 和 c-Met 的表达,进而导致肝癌细胞 G<sub>1</sub> 期阻滞、降低细胞侵袭能力、增强其对多柔比星等化疗药物的敏感性。近期研究<sup>[25]</sup>也显示,miR-199 能够通过靶向抑制 FZD7 分子及其下游基因  $\beta$ -catenin、Jun、Cyclin D1 和 Myc 的表达,进而影响 Wnt 信号通路并抑制肝癌发生。与组织中类似,在肝癌患者血清中也发现 miR-199 表达水平的显著降低,这也提示其具有成为患者诊断血清标志物的潜在可能性<sup>[26]</sup>。此外,在肝炎病毒感染组织中 miR-199 表达量显著增加,并且 miR-199 能够靶向 HCV 的 RNA 序列和 HBV 的转录组,提示肝细胞内的 miR-199 表达能够抑制肝炎病毒复制进而发挥抗病毒作用<sup>[27-28]</sup>。

### 2.1.4 miR-101

miR-101 是另一富集表达于肝脏且在肝癌组织中特异性表达降低的 miRNA,早期发现 miR-101 能够靶向 Me1-1 从而发挥促肿瘤细胞凋亡的作用<sup>[29]</sup>。随后发现,肝癌中特异性高表达的甲基转移酶 EZH2 能够通过表观遗传学修饰进而沉默一系列 miRNA,包括 miR-101,并能促进肝癌的侵袭转移<sup>[30]</sup>。新近研究<sup>[31]</sup>显示,miR-101 亦可靶向作用于 EZH2,进而抑制肝癌细胞增殖、侵袭和集落形成,并增强对化疗药物多柔比星的敏感性。因此,正常肝脏中 miR-101 和 EZH2 的表达处于相互抑制的稳定状态,而肝癌发生打破了这一平衡,导致两者的表达失调。同时研究人员<sup>[32-33]</sup>亦发现,HBV 及其 X 蛋白(HBx)可以抑制 miR-101 的表达,导致 miR-101 的靶蛋白如 RAB5A 和 DNMT3A 的表达上调,前者促进肿瘤细胞增殖和迁移,后者通过改变肝细胞内 DNA 甲基化水平发挥促癌作用,这可能为 HBV 相关肝癌的发生提供新的分子机制。

### 2.1.5 let-7 家族

let-7 家族是最早被发现的人类 miRNA, 其中 let-7a/b/c/f 在肝脏中均有一定的富集表达。研究<sup>[34]</sup>显示, HBx 蛋白可下调 let-7a 的表达, 导致靶分子 STAT3 的高表达, 进而促进细胞增殖和肿瘤发生。关于 let-7b 在肝癌中的作用还不甚明确, 目前研究<sup>[35]</sup>证实, let-7b 可以结合 HCV 的 5'UTR 区从而抑制病毒的复制。肝癌组织中 let-7c 的表达特异性降低, 提示其在肝癌发展中可能发挥一定作用, 但机制仍未知。有研究<sup>[36]</sup>发现, let-7c 可以靶向作用于癌基因 TRIB2, 进而抑制肺癌细胞的增殖。有关 let-7f 在肝癌发生、发展中作用的研究较少, 目前有报道 let-7f 在肝癌患者血清中表达降低<sup>[37]</sup>, 而抑制 let-7f 可一定程度诱导脂肪组织来源的干细胞向肝脏细胞分化<sup>[38]</sup>, 因此 let-7f 可能是肝脏再生修复的潜在治疗靶点。

### 2.1.6 miR-99a

miR-99a 同样被证实为在正常肝脏中富集表达而在肝癌组织中特异性低表达, 且 miR-99a 在肝癌组织中的低表达与肝癌患者更差的预后密切相关。研究<sup>[39]</sup>证实, miR-99a 能够靶向作用于 IGF-1R 和 mTOR 的表达, 进而引起肝癌细胞的 G<sub>1</sub> 期细胞阻滞, 以及抑制肝癌细胞增殖并发挥抑癌作用。新近研究<sup>[40]</sup>发现, miR-99a 还能靶向作用于 Ago2 进而抑制 miR-21 的作用, 解除 miR-21 对 PTEN 的抑制作用, 从而抑制肿瘤生长。

## 2.2 肝癌组织中表达显著增高的 miRNA

### 2.2.1 miR-221

虽然 miR-221 并非正常肝脏组织中富集表达的 miRNA, 但发现其在包括肝癌在内的多种恶性实体瘤中均存在特异性高表达, 肝癌临床数据显示 miR-221 的表达量与肝癌肿瘤大小、肝硬化程度和患者预后生存密切相关<sup>[41]</sup>。进一步机制研究发现, miR-221 能够靶向作用于细胞周期激酶抑制蛋白 p27 和 p57, 增加合成熟期细胞数目, 进而促进肝癌细胞周期进展<sup>[42-43]</sup>; 同时 miR-221 通过抑制另一靶点 DDIT4, 干扰 mTOR 信号, 进而促进肿瘤发生发展<sup>[44]</sup>。在原位肝癌小鼠模型中, 发现胆固醇偶联抗 miR-221 核苷酸药物可以有效抑制肝癌细胞增殖、促进肝癌细胞凋亡, 进而减缓肿瘤生长和延长荷瘤小鼠生存期<sup>[45]</sup>。新近研究<sup>[46]</sup>发现, miR-221 的表达可受 HCV 感染上调, 这一过程依赖于 NF- $\kappa$ B 信号的活化。而 miR-221 又可以靶向作用于 SOCS1 和 SOCS3, 增强干扰素下游信号通路的活化, 从而提高干扰素抗 HCV 的功效<sup>[47]</sup>。

### 2.2.2 miR-224

miR-224 是肝癌中另一高表达的

miRNA, 通过多方面影响肝癌细胞生物学特性, 发挥癌基因作用。研究<sup>[48]</sup>发现, 肝癌细胞内 miR-224 能够靶向作用于 HOXD10 分子, 增强 PAK4 磷酸化和 MMP-9 的表达, 进而促进癌细胞侵袭转移; 体内外模型中证实, miR-224 能够靶向抑制 SMAD4 表达, 进而促进细胞增殖<sup>[49]</sup>; 还有报道<sup>[50]</sup>发现, miR-224 能够靶向作用于 PPP2R1B 分子进而导致 AKT 信号过度活化, 增加肝脏癌变风险。此外, 在关于 miR-224 在肝癌组织中高表达的机制方面, 研究发现一方面组蛋白乙酰化与 miR-224 的高表达有直接关联<sup>[51]</sup>; 另一方面炎症信号(如 LPS、LT $\alpha$ 、TNF- $\alpha$  等)通过 NF- $\kappa$ B 信号通路增强 miR-224 的转录和表达<sup>[52]</sup>。

### 2.2.3 miR-21

miR-21 的异常表达最先发现于成胶质细胞瘤<sup>[53]</sup>, 随后证实其在包括肝癌在内的多种肿瘤中特异性高表达, 在肿瘤发生、发展中发挥关键作用。在肝癌细胞中, miR-21 能够靶向作用于 MAP2K3, 进而促进癌细胞增殖<sup>[54]</sup>。同时 miR-21 亦可靶向抑制 PDCD4, 从而激活下游 c-Jun、MMP-2、MMP-9、AP-1 的表达, 而 AP-1 又可正反馈调控 miR-21 的转录, 这一反馈环路增加了肝癌侵袭转移的风险<sup>[55]</sup>。临床数据显示, 肝癌患者肿瘤组织内 miR-21 表达异常增高, 其中 miR-21 表达量相对较高的肝癌患者生存期更短<sup>[56]</sup>, 且对术后 IFN- $\alpha$ /5-FU 联合治疗反应性不佳<sup>[57]</sup>, 提示 miR-21 可能是潜在的肝癌预后判断和治疗的分子标志物。而在 HBV 感染过程中, HBx 蛋白能够诱导 IL-6-STAT3 信号通路的活化, 导致上调 miR-21 的表达<sup>[58]</sup>, 进而靶向作用于抑癌分子 PCDC4, 促进肝癌发生<sup>[59]</sup>。

## 3 血清 miRNA 检测与肝癌的诊断和预后

与组织中 miRNA 表达相似, 正常人血清中稳定存在的 miRNA 在疾病状态下也会发生改变。由于 miRNA 片段较小且具有一定的稳定性, 可以通过较为敏感的检测手段如 qRT-PCR 等检测血清或其他体液标本中的 miRNA, 进而实现疾病的诊断。近年来研究显示肝癌患者血清中存在大量异常表达的 miRNA, 其中低表达的 miR-16、let-7f、miR-21、miR-139、miR-101、miR-122、miR-1 和高表达的 miR-17-5p 可能是 HBV 相关肝癌预后复发的指示分子<sup>[60-64]</sup>; 而在 HCV 感染的肝癌患者血清中, miR-30c-5p、miR-223-3p、miR-302c-5p 和 miR-17-5p 的特异低表达, 以及 miR-221 的特异高表达, 亦提示其为肝癌复发的潜在生物标志物<sup>[65-66]</sup>。同时有研究<sup>[67]</sup>发现, I 型糖原累积症合并肝脏腺瘤患者血清中特异高表达 miR-130b, 为 I 型糖原累积症患者检测肝

癌发生提供了潜在的诊断标志物。

血清中存在的 miRNA 极有可能来源于组织细胞内的 miRNA。胞内的 miRNA 可能在细胞坏死或凋亡的过程中通过外泌体排出等方式释放入血,进而导致血清中存在游离的 miRNA。因此,血清中的 miRNA 含量极有可能反映了组织中的 miRNA 表达改变。此外,在肿瘤侵袭周围组织的过程中,亦有可能导致组织损伤,进而使得正常组织细胞内的 miRNA 释放入血。血清中 miRNA 的来源和机制仍有待进一步研究。总之,通过检测血清 miRNA 的含量进而实现肝癌的诊断和鉴别诊断虽具有较好的应用前景,但目前仍然缺少特异性的肝癌诊断血清分子标志物。

#### 4 基于 miRNA 的肝癌干预和治疗

由于 miRNA 在肝癌发生、发展中发挥至关重要的作用,近年来研究人员展开以 miRNA 为基础的靶向治疗研究。有报道<sup>[68]</sup>称,利用溶瘤腺病毒载体,在肝癌体内外模型中过表达 miR-34a 和 IL-24 均可发挥抗肿瘤作用。同时亦有研究<sup>[69]</sup>发现,利用阳离子脂质毫微粒作为载体,向小鼠肝癌模型内导入 miR-122 拟似物,可以高度靶向肝脏肿瘤细胞,抑制其增殖和血管新生。笔者也尝试使用胆固醇酯偶联的 miR-199 拟似物和腺相关病毒载体以实现 miR-199 的高表达,发现它们均能在小鼠荷肝癌模型中显著增加肝癌细胞中的 miR-199 表达并抑制肝癌进展<sup>[10]</sup>。此外,异常表达的 miRNA 除可作为治疗靶点外,亦被发现可能是肝癌患者个体化治疗的生物标志物,如有研究<sup>[70]</sup>发现,miR-26 低表达的肝癌患者尽管生存预后不佳,但对于干扰素治疗却有良好应答。

由于多个 miRNA 能够发挥类似抑癌基因的作用,在肝癌细胞内导入这些 miRNA 已被证明具有抑制肝癌进展的作用,因此,基于 miRNA 的肝癌基因治疗具有潜在的应用价值。在肿瘤基因治疗中,安全可靠的基因治疗导入方式是基因治疗能否成功的关键之处。由于 miRNA 片段较短,易于合成胆固醇酯偶联的小片段 miRNA 拟似物,较传统的以病毒载体或脂质体载体等导入方式具有不发生基因组整合和易于控制输入剂量等优点,但在癌细胞摄取特异性和长效性等方面有所减弱,目前在安全性和有效性等方面还停留在实验室阶段。基于 miRNA 的基因治疗虽有良好的应用前景,但寻求合适的基因治疗导入方式仍是其能否成功的关键。

#### 5 展望

目前,对肝癌相关的 miRNA 尤其是肝脏组织中

富集表达的 miRNA,人们已对其在肝癌发生、发展中的表达变化和作用机制有了一定的认识。但是,由于 miRNA 和靶基因的相互作用关系复杂,同一 miRNA 可以作用于多个靶基因,而同一基因的表达可能受多个 miRNA 调控。因此,miRNA 和靶基因之间存在复杂的调控网络。在肝癌相关 miRNA 中,miRNA 的作用分子机制尤其是与靶基因之间的调控网络目前仍知之甚少。再者,miRNA 表达的自身调控机制目前仍不清晰,miRNA 自身表达及与靶基因网络之间的作用环路仍然未知,miRNA 表达与作用的调控环路将是未来 miRNA 研究的关键问题之一。此外,miRNA 之间的相互作用以及 miRNA 与其他非编码 RNA 之间的相互作用关系仍有待研究。这些科学问题的研究进展将为 miRNA 在肝癌发生、发展中的作用网络和调控环路提供更为完整的认识。在肝癌诊断方面,血清 miRNA 的检测将可能为肝癌的诊断提供新的标志物,肝癌组织中的 miRNA 表达谱检测也将为肝癌的病理分型提供新思路,并且基于 miRNA 表达检测并以此为生物标志物指导制定放化疗和生物治疗等个体化治疗方案具有较好的临床应用前景。在肝癌治疗方面,基于已证明具有抑癌基因作用 miRNA 而进行的基因治疗研究,也为基因治疗的临床应用拓展了方向。

#### [参考文献]

- [1] Yang JD, Roberts LR. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma [J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2010, 24(4): 899-919.
- [2] Duan XY, Zhang L, Fan JG, et al. NAFLD leads to liver cancer: Do we have sufficient evidence? [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345(2): 230-234.
- [3] Karagozian R, Derdák Z, Baffy G. Obesity-associated mechanisms of hepatocarcinogenesis [J]. *Metabolism*, 2014, 63(5): 607-617.
- [4] Nakagawa H, Umemura A, Taniguchi K, et al. ER stress cooperates with hypernutrition to trigger TNF-dependent spontaneous HCC development [J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(3): 331-343.
- [5] Zhang DY, Friedman SL. Fibrosis-dependent mechanisms of hepatocarcinogenesis [J]. *Hepatology*, 2012, 56(2): 769-775.
- [6] He G, Karin M. NF- $\kappa$ B and STAT3-key players in liver inflammation and cancer [J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 159-168.
- [7] Panera N, Gnani D, Crudele A, et al. MicroRNAs as controlled systems and controllers in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(41): 15079-15086.
- [8] Zhu Z, Zhang X, Wang G, et al. Role of microRNAs in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepat Mon*, 2014, 14(8): e18672.
- [9] Yan C, Shi X, Wang Q, et al. Genome-wide identification and expression analysis of microRNA involved in small cell lung cancer via deep sequencing [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(5): 2633-

- 2642.
- [ 10 ] Hou J, Lin L, Zhou W, et al. Identification of miRNomes in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma [ J ]. *Cancer Cell*, 2011, 19( 2 ): 232-243.
- [ 11 ] Esau C, Davis S, Murray SF, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting [ J ]. *Cell Metab*, 2006, 3( 2 ): 87-98.
- [ 12 ] Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA [ J ]. *Science*, 2005, 309( 5740 ): 1577-1581.
- [ 13 ] Gramantieri L, Ferracin M, Fornari F, et al. Cyclin G1 is a target of miR-122a, a microRNA frequently down-regulated in human hepatocellular carcinoma [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 13 ): 6092-6099.
- [ 14 ] Zeng C, Wang R, Li D, et al. A novel GSK-3 beta-C/EBP alpha-miR-122-insulin-like growth factor 1 receptor regulatory circuitry in human hepatocellular carcinoma [ J ]. *Hepatology*, 2010, 52( 5 ): 1702-1712.
- [ 15 ] Xu J, Zhu X, Wu L, et al. MicroRNA-122 suppresses cell proliferation and induces cell apoptosis in hepatocellular carcinoma by directly targeting Wnt/b-catenin pathway [ J ]. *Liver Int*, 2012, 32( 5 ): 752-760.
- [ 16 ] Nassirpour R, Mehta PP, Yin MJ. MiR-122 regulates tumorigenesis in hepatocellular carcinoma by targeting AKT3 [ J ]. *PLoS ONE*, 2013, 8( 11 ): e79655.
- [ 17 ] Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa T. Antitumor function of microRNA-122 against hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Gastroenterol*, 2014, 49( 4 ): 589-593.
- [ 18 ] Hsu SH, Wang B, Kota J, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver [ J ]. *J Clin Invest*, 2012, 122( 8 ): 2871-2883.
- [ 19 ] Tsai WC, Hsu SD, Hsu CS, et al. MicroRNA-122 plays a critical role in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis [ J ]. *J Clin Invest*, 2012, 122( 8 ): 2884-2897.
- [ 20 ] Cermelli S, Ruggieri A, Marrero JA, et al. Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease [ J ]. *PLoS ONE*, 2011, 6( 8 ): e23937.
- [ 21 ] Kim T, Veronese A, Pichiorri F, et al. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition through microRNAs targeting ZEB1 and ZEB2 [ J ]. *J Exp Med*, 2011, 208( 5 ): 875-883.
- [ 22 ] Geng L, Chaudhuri A, Talmon G, et al. MicroRNA-192 suppresses liver metastasis of colon cancer [ J ]. *Oncogene*, 2014, 33( 46 ): 5332-5340.
- [ 23 ] Feinberg-Gorenshtein G, Guedj A, Shichrur K, et al. MiR-192 directly binds and regulates Dicer1 expression in neuroblastoma [ J ]. *PLoS ONE*, 2013, 8( 11 ): e78713.
- [ 24 ] Fornari F, Milazzo M, Chieco P, et al. MiR-199a-3p regulates mTOR and c-Met to influence the doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells [ J ]. *Cancer Res*, 2010, 70( 12 ): 5184-5193.
- [ 25 ] Song J, Gao L, Yang G, et al. MiR-199a regulates cell proliferation and survival by targeting FZD7 [ J ]. *PLoS ONE*, 2014, 9( 10 ): e110074.
- [ 26 ] Qu KZ, Zhang K, Li H, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Clin Gastroenterol*, 2011, 45( 4 ): 355-360.
- [ 27 ] Murakami Y, Aly HH, Tajima A, et al. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a [ J ]. *J Hepatol*, 2009, 50( 3 ): 453-460.
- [ 28 ] Chen Y, Shen A, Rider PJ, et al. A liver-specific microRNA binds to a highly conserved RNA sequence of hepatitis B virus and negatively regulates viral gene expression and replication [ J ]. *FASEB J*, 2011, 25( 12 ): 4511-4521.
- [ 29 ] Su H, Yang JR, Xu T, et al. MicroRNA-101, down-regulated in hepatocellular carcinoma, promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 3 ): 1135-1142.
- [ 30 ] Au SL, Wong CC, Lee JM, et al. Enhancer of zeste homolog 2 epigenetically silences multiple tumor suppressor microRNAs to promote liver cancer metastasis [ J ]. *Hepatology*, 2012, 56( 2 ): 622-631.
- [ 31 ] Xu L, Beckebaum S, Iacob S, et al. MicroRNA-101 inhibits human hepatocellular carcinoma progression through EZH2 down-regulation and increased cytostatic drug sensitivity [ J ]. *J Hepatol*, 2014, 60( 3 ): 590-598.
- [ 32 ] Sheng Y, Li J, Zou C, et al. Downregulation of miR-101-3p by hepatitis B virus promotes proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells by targeting Rab5a [ J ]. *Arch Virol*, 2014, 159( 9 ): 2397-2410.
- [ 33 ] Wei X, Xiang T, Ren G, et al. miR-101 is down-regulated by the hepatitis B virus X protein and induces aberrant DNA methylation by targeting DNA methyltransferase 3A [ J ]. *Cell Signal*, 2013, 25( 2 ): 439-446.
- [ 34 ] Wang Y, Lu Y, Toh ST, et al. Lethal-7 is down-regulated by the hepatitis B virus X protein and targets signal transducer and activator of transcription 3 [ J ]. *J Hepatol*, 2010, 53( 1 ): 57-66.
- [ 35 ] Cheng JC, Yeh YJ, Tseng CP, et al. Let-7b is a novel regulator of hepatitis C virus replication [ J ]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69( 15 ): 2621-2633.
- [ 36 ] Wang PY, Sun YX, Zhang S, et al. Let-7c inhibits A549 cell proliferation through oncogenic TRIB2 related factors [ J ]. *FEBS Lett*, 2013, 587( 16 ): 2675-2681.
- [ 37 ] Ge W, Yu DC, Li QG, et al. Expression of serum miR-16, let-7f, and miR-21 in patients with hepatocellular carcinoma and their clinical significances [ J ]. *Clin Lab*, 2014, 60( 3 ): 427-434.
- [ 38 ] Davoodian N, Lotfi AS, Soleimani M, et al. Let-7f microRNA negatively regulates hepatic differentiation of human adipose tissue-derived stem cells [ J ]. *J Physiol Biochem*, 2014, 70( 3 ): 781-789.
- [ 39 ] Li D, Liu X, Lin L, et al. MicroRNA-99a inhibits hepatocellular carcinoma growth and correlates with prognosis of patients with hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Biol Chem*, 2011, 286( 42 ): 36677-36685.
- [ 40 ] Zhang J, Jin H, Liu H, et al. MiRNA-99a directly regulates AGO2 through translational repression in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Oncogenesis*, 2014, 3( 4 ): e97.

- [ 41 ] Li J, Wang Y, Yu W, et al. Expression of serum miR-221 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 406( 1 ): 70-73.
- [ 42 ] Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, et al. MiR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma [ J ]. *Oncogene*, 2008, 27( 43 ): 5651-5661.
- [ 43 ] Yuan Q, Loya K, Rani B, et al. MicroRNA-221 overexpression accelerates hepatocyte proliferation during liver regeneration [ J ]. *Hepatology*, 2013, 57( 1 ): 299-310.
- [ 44 ] Pineau P, Volinia S, McJunkin K, et al. miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107( 1 ): 264-269.
- [ 45 ] Park JK, Kogure T, Nuovo GJ, et al. miR-221 silencing blocks hepatocellular carcinoma and promotes survival [ J ]. *Cancer Res*, 2011, 71( 24 ): 7608-7616.
- [ 46 ] Ding CL, Xu G, Ren H, et al. HCV infection induces the upregulation of miR-221 in NF- $\kappa$ B dependent manner [ J ]. *Virus Res*, 2015, 196( 1 ): 135-139.
- [ 47 ] Xu G, Yang F, Ding CL, et al. MiR-221 accentuates IFN's anti-HCV effect by downregulating SOCS1 and SOCS3 [ J ]. *Virology*, 2014, 462/463: 343-350.
- [ 48 ] Li Q, Ding C, Chen C, et al. miR-224 promotion of cell migration and invasion by targeting Homeobox D 10 gene in human hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29( 4 ): 835-842.
- [ 49 ] Wang Y, Ren J, Gao Y, et al. MicroRNA-224 targets SMAD family member 4 to promote cell proliferation and negatively influence patient survival [ J ]. *PLoS ONE*, 2013, 8( 7 ): e68744.
- [ 50 ] Ma D, Tao X, Gao F, et al. miR-224 functions as an onco-miRNA in hepatocellular carcinoma cells by activating AKT signaling [ J ]. *Oncol Lett*, 2012, 4( 3 ): 483-488.
- [ 51 ] Wang Y, Toh HC, Chow P, et al. MicroRNA-224 is up-regulated in hepatocellular carcinoma through epigenetic mechanisms [ J ]. *FASEB J*, 2012, 26( 7 ): 3032-3041.
- [ 52 ] Scisciani C, Vossio S, Guerrieri F, et al. Transcriptional regulation of miR-224 upregulated in human HCCs by NF $\kappa$ B inflammatory pathways [ J ]. *J Hepatol*, 2012, 56( 4 ): 855-861.
- [ 53 ] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an anti-apoptotic factor in human glioblastoma cells [ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65( 14 ): 6029-6033.
- [ 54 ] Xu G, Zhang Y, Wei J, et al. MicroRNA-21 promotes hepatocellular carcinoma HepG2 cell proliferation through repression of mitogen-activated protein kinase-kinase 3 [ J ]. *BMC Cancer*, 2013, 13( 1 ): 469-477.
- [ 55 ] Zhu Q, Wang Z, Hu Y, et al. miR-21 promotes migration and invasion by the miR-21-PDCD4-AP-1 feedback loop in human hepatocellular carcinoma [ J ]. *Oncol Rep*, 2012, 27( 5 ): 1660-1668.
- [ 56 ] Wang WY, Zhang HF, Wang L, et al. miR-21 expression predicts prognosis in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2014, 38( 6 ): 715-719.
- [ 57 ] Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, et al. MicroRNA-21 induces resistance to the anti-tumour effect of interferon- $\alpha$ /5-fluorouracil in hepatocellular carcinoma cells [ J ]. *Br J Cancer*, 2010, 103( 10 ): 1617-1626.
- [ 58 ] Li CH, Xu F, Chow S, et al. Hepatitis B virus X protein promotes hepatocellular carcinoma transformation through interleukin-6 activation of microRNA-21 expression [ J ]. *Eur J Cancer*, 2014, 50( 15 ): 2560-2569.
- [ 59 ] Qiu X, Dong S, Qiao F, et al. HBx-mediated miR-21 upregulation represses tumor-suppressor function of PDCD4 in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Oncogene*, 2013, 32( 27 ): 3296-3305.
- [ 60 ] Ge W, Yu DC, Li QG, et al. Expression of serum miR-16, let-7f, and miR-21 in patients with hepatocellular carcinoma and their clinical significances [ J ]. *Clin Lab*, 2014, 60( 3 ): 427-434.
- [ 61 ] Li T, Yin J, Yuan L, et al. Downregulation of microRNA-139 is associated with hepatocellular carcinoma risk and short-term survival [ J ]. *Oncol Rep*, 2014, 31( 4 ): 1699-1706.
- [ 62 ] Fu Y, Wei X, Tang C, et al. Circulation microRNA-101 as a potential biomarker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [ J ]. *Oncol Lett*, 2013, 6( 6 ): 1811-1815.
- [ 63 ] Verena K, Bernd K, Thomas P, et al. Serum microRNA-1 and microRNA-122 are prognostic markers in patients with hepatocellular carcinoma [ J ]. *Eur J Cancer*, 2013, 49( 16 ): 3442-3449.
- [ 64 ] Zheng J, Dong P, Gao S, et al. High expression of serum miR-17-5p associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma [ J ]. *Hepatogastroenterology*, 2013, 60( 123 ): 549-552.
- [ 65 ] El-Garem H, Ammer A, Shehab H, et al. Circulating microRNA, miR-122 and miR-221 signature in Egyptian patients with chronic hepatitis C related hepatocellular carcinoma [ J ]. *World J Hepatol*, 2014, 6( 11 ): 818-824.
- [ 66 ] Oksuz Z, Serin MS, Kaplan E, et al. Serum microRNAs; miR-30c-5p, miR-223-3p, miR-302c-3p and miR-17-5p could be used as novel non-invasive biomarkers for HCV-positive cirrhosis and hepatocellular carcinoma [ J ]. *Mol Biol Rep*, 2014[ Epub ahead of print ].
- [ 67 ] Chiu LY, Kishnani PS, Chuang TP, et al. Identification of differentially expressed microRNAs in human hepatocellular adenoma associated with type I glycogen storage disease: a potential utility as biomarkers [ J ]. *J Gastroenterol*, 2014, 49( 8 ): 1274-1284.
- [ 68 ] Lou W, Chen Q, Ma L, et al. Oncolytic adenovirus co-expression miRNA-34a and IL-24 induces superior antitumor activity in experimental tumor model [ J ]. *J Mol Med ( Berl )*, 2013, 91( 16 ): 715-725.
- [ 69 ] Hsu SH, Yu B, Wang X, et al. Cationic lipid nanoparticles for therapeutic delivery of siRNA and miRNA to murine liver tumor [ J ]. *Nanomedicine*, 2013, 9( 8 ): 1169-1180.
- [ 70 ] Ji JF, Shi J, Budhu A, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer [ J ]. *N Engl J Med*, 2009, 361( 15 ): 1437-1447.

[ 收稿日期 ] 2015 - 01 - 20

[ 修回日期 ] 2015 - 01 - 30

[ 本文编辑 ] 阮芳铭