

## · 综 述 ·

## miRNA 与肺癌关系的研究进展

许德兵<sup>1</sup>, 吴凌云<sup>2</sup> 综述, 宋 勇<sup>3</sup> 审校

〔摘要〕 miRNA 是一类长约 21 ~ 25 个核苷酸的小分子非编码 RNA, 能调节转录后靶基因的表达, 它在机体内对生长发育、细胞繁殖、代谢、凋亡等生理过程发挥着重要作用。miRNA 具有癌基因或抑癌基因的双重作用, 其表达水平的变化与肿瘤形成密切相关。肺癌是危害人类健康的恶性肿瘤之一, 由于常常不能及时诊断, 大部分肺癌患者发现时多已经是晚期, 因而预后较差。近年来, miRNA 与肺癌的关系备受关注。

〔关键词〕 肺癌; miRNA; 诊断

〔中图分类号〕 R605.97 〔文献标志码〕 A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2014.01.024

肺癌是最常见的肺原发性恶性肿瘤, 过去几十年中, 肺癌的发病率和死亡率明显有升高的趋势<sup>[1]</sup>。它严重威胁着人类的身体健康。在我国, 肺癌已超过癌症死因的 20%<sup>[2]</sup>。近几年来, 微小 RNA (microRNA, 简称 miRNA) 和肿瘤的关系渐渐引起人们的重视, 它是一种具有调控蛋白翻译功能的细胞内源性的非编码 RNA 分子, 是细胞发育、凋亡和代谢等多种维持生命必需的生物学功能调节因子, 它调节人类近 30% 的基因表达<sup>[3]</sup>。现就 miRNA 与肺癌关系的研究进展综述如下。

## 1 miRNA 概述

miRNA 是长度约 21 ~ 25 个核苷酸 (Nucleotide, 简称 nt) 的非编码的小 RNA 分子。它是通过 Drosha 剪切路径产生的。成熟的 miRNA 在细胞核由长约 2 kb 非编码的原始 miRNA 转录本 (pri-miRNA) 转录而来。在细胞核的 RNA 酶 Drosha 作用下, 长的 pri-miRNA 被剪切成为小的、长约 70nt 的具有茎环结构的前体 miRNA (pre-miRNA), 前体 miRNA 被输送到细胞质中, 在另一种高度保守的 RNA 酶 Dicer 的作用下剪切成长约 22nt 的成熟 miRNA<sup>[4]</sup>。miRNA 主要通过抑制其靶基因而起到调控作用, 在人体发育、细胞增殖、凋亡、激素分泌及肿瘤发生等多种生理和病理过程中发挥着重要作用<sup>[5]</sup>。

## 2 miRNA 与肺癌

目前已有多项研究证实在肺癌患者或多数肺癌

细胞株中某些 miRNA 异常表达<sup>[6]</sup>。Cho<sup>[7]</sup> 认为 miRNA 具有以细胞周期依赖性方式调节转录和翻译潜能, 这为我们在分子水平上进一步认识恶性肿瘤开拓了新的视野。

首先, miRNA 可能参与调控细胞增殖和凋亡。miRNA 异常表达时可使细胞增殖和凋亡紊乱, 从而可能促进肿瘤发生。如 miRNA-21 作为一种表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 调节的抗凋亡因子可能导致从不吸烟者罹患肺腺癌<sup>[8]</sup>。印洁等<sup>[9]</sup> 认为 miRNA-21 可能通过调节血管内皮生长因子 (VEGF) 表达水平及血管内皮细胞生长因子受体 2 (VEGFR2) 磷酸化水平参与肿瘤血管生成的调控, 培美曲塞对肿瘤血管生成具有一定的抑制作用。王璇等<sup>[10]</sup> 通过回顾性分析 301 例非小细胞肺癌组织 EGFR 基因突变检测结果, 比较聚合酶链反应 (PCR) 结合直接测序法、TaqMan 探针荧光定量 PCR 法和扩增阻碍突变系统 (ARMS) 法三种实验方法检查 EGFR 突变的差异, 探讨肺癌临床靶向个体化治疗进行 EGFR 分子病理检查的最佳方法, 认为对于不同来源的肺癌组织标本, 不同方法检测 EGFR 突变具有各自的优点和不足。其次, miRNA 本身会发生突变或缺失。异常表达的 miRNA 进而参与调节靶分子翻译, 使其表达上升或下降。

在肺癌中, let-7 是典型的具有抑癌基因作用的分子, let-7 表达下调时可引起原癌基因 (RAS) 的表达上调而成为肺癌发生的潜在原因<sup>[11]</sup>。王鹤等<sup>[12]</sup> 认为 miRNA-335 在非小细胞肺癌中呈高表达, miRNA-335 低表达能显著抑制肺腺癌 (SPCA)-1 细胞的迁移和侵袭能力。最近研究发现 miRNA-335 在结肠癌、儿童急性粒细胞性白血病及星形细胞瘤中也呈现高表达<sup>[13-14]</sup>, 发挥着癌基因的作用。而 Xu

作者单位: 1. 210002 江苏南京, 南京军区南京总医院干部保健科; 2. 210002 江苏南京, 解放军 81 医院药剂科; 3. 210002 江苏南京, 南京军区南京总医院呼吸内科  
通讯作者: 宋 勇, E-mail: yong-song 6310@ yahoo. com

等<sup>[15]</sup>发现 miRNA-335 在乳腺癌、胃癌中低表达,过表达后抑制肿瘤侵袭、转移,显示出 miRNA-335 在不同的肿瘤中发挥着不同的作用。

### 3 miRNA 的检测与肺癌的诊断

**3.1 组织中 miRNA 的检测与肺癌的诊断** 到目前为止尚未发现针对肺癌诊断的有效预测性的生物标志物。曾婷等<sup>[16]</sup>认为 miRNA-34a 对非小细胞肺癌的发生具有一定的调节作用,可能是非小细胞肺癌发生的重要环节,miRNA-34a 主要是通过 c-myc 的结合而发挥其调节作用。他们通过选取 56 例经病理诊断确诊为非小细胞肺癌患者的癌组织及癌旁组织,RT-PCR 法测定 miRNA-34a 及 c-myc mRNA 的表达水平,免疫组织化学法检测癌组织及癌旁组织的 P53 蛋白及 c-myc 蛋白的表达水平,结果显示癌组织的 miRNA-34a 的表达水平低于癌旁组织,c-myc mRNA 表达及 c-myc、P53 蛋白表达阳性率高于癌旁组织( $P < 0.05$ ),miRNA-34a 与 c-myc mRNA 表达水平呈负相关关系( $P < 0.05$ )。Wang 等<sup>[17]</sup>利用 miRNA 芯片技术,获得了 NSCLC 组织与癌旁正常肺组织的 miRNA 差异表达图谱,并通过荧光实时定量 PCR 鉴定了 40 个差异表达的 miRNAs,发现与癌旁正常肺组织相比,在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中 miRNA-335 表达显著增高。

Lu 等<sup>[18]</sup>对 334 例肿瘤及正常组织的 miRNA 表达谱进行了分析,发现各种肿瘤具有各自的特征性 miRNA,这对肺癌的诊断分型有重要的作用。王生等<sup>[19]</sup>通过采用实时定量 RT-PCR (quantitative real-time RT-PCR) 方法对 75 例肺癌患者术后癌组织及癌旁正常组织中 miRNA-31 的表达量进行检测,结果提示 miRNA-31 在癌组织中的相对表达量是癌旁正常组织的 6.48 倍( $P < 0.01$ )。吸烟患者 miRNA-31 的表达量是不吸烟患者的 3.06 倍( $P < 0.05$ )。在 NSCLC 中,与肿瘤长径  $\leq 3$  cm 肿瘤相比,长径 3cm 肿瘤中 miRNA-31 的表达量较高( $P < 0.05$ ),从而认为 miRNA-31 在肺癌组织中高表达、在不同肿块中表达的差异以及与吸烟的关系,提示其可能成为肺癌的筛查、诊断及预测肿块大小的一个生物标志物。

李光剑等<sup>[20]</sup>应用 miRNA 微阵列芯片分析技术,检测 37 例宣威地区非吸烟女性肺癌患者和 32 例非宣威地区非吸烟女性肺癌患者癌组织中的 miRNA 表达谱,发现 miRNA-494、miRNA-22 及 miRNA-200b 在两组癌组织中的表达水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且均在 16 例宣威地区 I 期非吸烟

女性肺癌患者和 14 例良性病变女性血清中稳定表达,并在两血清中的表达量显著不同( $P < 0.01$ ),用其作为分子标志物筛查早期肺癌患者,其敏感度和特异性为 85.26% 和 94.45%。Lebanony 等<sup>[21]</sup>采用高通量微阵列法检测 122 例 NSCLC 患者的 miRNA 表达,同时用定量逆转录 (quantitative reverse-transcription, qRT) PCR 技术在 20 个 NSCLC 石蜡包埋组织标本中进行验证,证实了 miRNA-205 是肺鳞癌的高特异性标志物。Barshack 等<sup>[22]</sup>发表的一项数据提示,miRNA-186 和 miRNA-126 的差异性表达在鉴别原发性肺癌和转移性肺癌时精确度较高。

**3.2 血液中 miRNA 的检测与肺癌的诊断** 肺癌是危害人类健康的恶性肿瘤之一,常常由于不能及时诊断,大部分肺癌患者发现时多已经是晚期了,因而预后较差。提高肺癌患者治愈率的主要措施是对肺癌患者进行早期诊断、及时治疗。由癌细胞释放的 miRNA 能稳定地循环于体液中,这使得它们有可能成为早期肺癌的生物标志物。Bianchi<sup>[23]</sup>等通过实验检测血清中 miRNA34,发现 miRNA34 在一群无症状高危人群中检测出早期 NSCLC 腺癌(非小细胞肺癌)的准确率达 80%。

Chen 等<sup>[24]</sup>发现,在血清和血浆中含有大量源自各种组织和器官的稳定的 miRNA;这些 miRNA 的表达谱显示出它有望成为诊断早期肺癌的新型无创生物标记物。Rabinowits 等<sup>[25]</sup>通过基因微阵列分析血清成分以外和全血中的 miRNA 的研究,也证明了肺癌组 miRNA 的表达比对照组的显著升高。Wei 等<sup>[26]</sup>应用 RT-PCR 法,研究 63 例 NSCLC 患者和 30 例健康对照组血浆中的 miRNA-21 表达情况,结果显示 NSCLC 患者的血浆 miRNA-21 水平明显高于年龄、性别匹配的对照组。

**3.3 痰液中 miRNA 的检测与肺癌的诊断** 杨小倩等<sup>[27]</sup>通过选取 NSCLC 患者 24 例,肺良性疾病(other pulmonary diseases, OPD)患者 24 例,11 例健康志愿者为对照,用 RT-PCR 方法检测痰中 miRNA-21、miRNA-155、miRNA-137 及 let-7a 的表达,结果显示 NSCLC 患者痰中 miRNA-21、miRNA-155 表达均显著高于 OPD 患者及健康对照者。NSCLC 患者 let-7a 表达均显著低于 OPD 患者和健康对照者。而三组患者痰中 miRNA-137 表达无统计学差异,从而认为痰 miRNA 可能成为肺癌诊断的一种新指标。

### 4 miRNA 与肺癌的治疗

目前肺癌治疗包括手术、化疗、放疗、介入治疗、中医中药等,进展不大。miRNA 可通过不同途径

调控肺癌的发生和发展,从而为肺癌治疗提供了一些新方法。Kumar 等<sup>[28]</sup>报道将 miRNA 类似物 miRNA-15a、miRNA-16-1 及 miRNA-29 导入到小鼠模型内,证实了这种方法可以抑制白血病细胞的生长;在 NSCLC 小鼠模型内导入外源性合成的 let-7 类似物后,可以诱导肺癌缓解。Liu 等<sup>[29]</sup>研究发现,在转基因肺癌中,miRNA-34c、miRNA-142-5p 和 miRNA-145 被抑制,而这些 miRNA 的单一过表达可显著抑制肺癌细胞生长。

## 5 miRNA 与肺癌的预后判断

miRNA 主要参与肿瘤的发生和发展,提示这些调节因子可能对于肺癌的预后判断有一定的作用。Hu 等<sup>[30]</sup>报道基于 Solexa 测序方法在血清中检测出 4 种 miRNA 的组合能够准确预测出 I 至 III a 期 NSCLC 患者的预后。这些研究为肺癌患者的预后提供了一些有益的探索和参考。

随着科学技术的不断进步,如全基因组转录谱、单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 分析、miRNA 微阵列、磁珠芯片技术等,为肺癌中 miRNA 进一步研究提供了可能。最近 Rao 等<sup>[31]</sup>研究发现,在人淋巴瘤细胞中,miR17-92 族通过激活 PI3K/Akt 信号通路来促进肿瘤细胞生长和调节其耐药性。miRNA 是近几年来生命科学的一个研究热点,与肺癌之间关系密切。目前,人们对 miRNA 的生物学特征、生成及作用机制,以及其在肺癌中的异常表达等,已有初步了解,将为今后肺癌的预防、早诊断和早治疗提供有力的理论和实践依据。因此,随着 miRNA 的研究进展,miRNA 与肺癌的关系越来越明了,肺癌患者将会从中获益。

## 【参考文献】

- [1] Sterlacci W, Fiegl M, Tzankov A. Prognostic and predictive value of cell cycle deregulation in non-small-cell lung cancer[J]. Pathobiology, 2012, 79(4): 175-194.
- [2] 陈一天, 徐益琛, 黄桂春, 等. 转移相关基因 1 蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及与预后的相关性[J]. 医学研究生学报, 2013, 26(7): 717-720.
- [3] Berezikov E, Guryev V, Vande Belt J, et al. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes [J]. Cell, 2005, 120(1): 21-24.
- [4] Williams AE. Functional aspects of animal microRNAs [J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(4): 545-562.
- [5] 周亚星, 吴文溪. miRNA 调控树突状细胞成熟机制研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19(1): 34-37.
- [6] 钱 莘, 丁金勇, 敖绪军, 等. 小鼠支气管肺泡干细胞 miRNAs 表达谱的鉴定 [J]. 肿瘤学杂志, 2011, 17(9): 657-661.

- [7] Cho WC. Updates in cancer research: insights from the AACR 100th Annual Meeting [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(5): 411-416.
- [8] Seike M, Goto A, Okano T, et al. MiR-21 is an EGFR-regulated anti-apoptotic factor in lung cancer in never-smokers [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(29): 12085-12090.
- [9] 印 洁, 李玉枫, 宋 勇, 等. miR-21 在肺癌血管生成中的作用及培美曲塞对其影响 [J]. 医学研究生学报, 2012, 25(5): 476-480.
- [10] 王 璇, 时姗姗, 马恒辉. 非小细胞肺癌表皮生长因子受体基因突变的结果分析 [J]. 东南国防医药, 2012, 14(5): 387-389.
- [11] 任为正, 叶鸿飞, 赵 健, 等. MicroRNA let-7 与肺癌关系的研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(4): 418-421.
- [12] 王 鹤, 刘志利, 德 伟, 等. microRNA-335 对人非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭及增殖能力的影响 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2012, 32(6): 795-799.
- [13] Vickers MM, Bar J, Gorn-Hondermann I, et al. Stage-dependent differential expression of microRNAs in colorectal cancer: potential role as markers of metastatic disease [J]. Clin Exp Metastasis, 2012, 29(2): 123-132.
- [14] Shu M, Zheng X, Wu S, et al. Targeting oncogenic miR-335 inhibits growth and invasion of malignant astrocytoma cells [J]. Mol Cancer, 2011, 10: 59.
- [15] Xu Y, Zhao F, Wang Z, et al. MicroRNA-335 acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting Bcl-wand specificity protein 1 [J]. Oncogene, 2012, 31(11): 1398-1407.
- [16] 曾 婷, 郝 丽, 谢逸欣, 等. microRNA-34a 与非小细胞肺癌的关系及其可能调节机制 [J]. 中国医药导报, 2012, 9(23): 5-7.
- [17] 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.
- [18] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. Nature, 2005, 435(7043): 834-838.
- [19] 王 生, 王启鸣, 王慧娟, 等. microRNA-31 在原发性肺癌组织中的表达及临床意义 [J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(3): 281-284.
- [20] 李光剑, 黄云超, 何越峰, 等. miRNA 标志物在诊断云南省宣威地区早期非吸烟女性肺癌中的价值 [J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(7): 802-806.
- [21] Lebanony D, Benjamin H, Gilad S, et al. Diagnostic assay based on hsamiR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small cell lung carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(12): 2030-2037.
- [22] Barshack I, Lithwick-Yanai G, Afek A, et al. MicroRNA expression differentiates between primary lung tumors and metastases to the lung [J]. Pathol Res Pract, 2010, 206(8): 578-584.
- [23] Bianchi F, Nicassio F, Marzi M, et al. A serum circulating microRNA diagnostic test to identify asymptomatic high-risk individuals with early stage lung cancer [J]. EMBO Molecular Medicine, 2011, 3(8): 495-503.
- [24] 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.

[6] 张鸣青,苏军凯,王爱民,等. 注水减轻结肠镜检查患者腹痛的随机对照研究[J]. 中国内镜杂志,2013,19(3):251-256.

[7] Leung FW, Leung JW, Siao-Salera RM, et al. The water method significantly enhances detection of diminutive lesions (adenoma and hyperplastic polyp combined) in the proximal colon in screening colonoscopy: data derived from two RCT in US veterans[J]. J Interv Gastroenterol, 2011, 1(2):48-52.

[8] Leung JW, Do LD, Siao-Salera RM, et al. Retrospective analysis showing the water method increased adenoma detection rate-a hypothesis generating observation[J]. J Interv Gastroenterol, 2011, 1(1):3-7.

[9] 苏军凯,张鸣青,王爱民,等. 温水灌注对困难结肠镜检查成功率及腹痛评分的影响[J]. 第三军医大学学报,2012,34(22):2311-2313.

[10] Church JM. Warm water irrigation for dealing with spasm during colonoscopy: simple, inexpensive, and effective [J]. Gastrointest Endosc, 2002, 56(5):672-674.

[11] Leung FW. Water-related techniques for performance of colonoscopy[J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(11):2847-2850.

[12] Pohl J, Messer I, Behrens A, et al. Water infusion for cecal intubation increases patient tolerance, but does not improve intubation of unsedated colonoscopies [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2011, 9(12):1039-1043.

[13] Leung FW, Aharonian HS, Leung JW, et al. Impact of a novel water method on scheduled unsedated colonoscopy in US veterans[J]. Gastrointest Endosc, 2009, 69(3):546-550.

[14] Hsieh YH, Lin HJ, Tseng KC. Limited water infusion decreases pain during minimally sedated colonoscopy[J]. World J Gastroenterology, 2011, 17(17):2236-2240.

[15] Brocchi E, Pezzilli R, Tomassetti P, et al. Warm water or oil-assisted colonoscopy: toward simpler examinations [J]. Am J Gastroenterol, 2008, 103(3):581-587.

[16] Falt P, Šmajstrla V, Fojtík P, et al. Cool water versus warm water immersion for minimal sedation colonoscopy: a double-blind, randomized trial [J]. Colorectal Dis, 2013, 15(10):e612-617.

[17] Baumann U. Water intubation of the sigmoid colon: water instillation speeds up left-sided colonoscopy [J]. Endoscopy, 1999, 31(4):314-317.

[18] Hamamoto N, Nakanishi Y, Morimoto N, et al. A new water instillation method for colonoscopy without sedation as performed by endoscopists-in-training [J]. Gastrointest Endosc, 2002, 56(6):825-828.

[19] Park SC, Keum B, Kim ES, et al. Usefulness of warm water and oil assistance in colonoscopy by trainees [J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(10):2940-2944.

[20] Lee BY, Katon R, Herzig D, et al. Warm water infusion during sedated colonoscopy does not decrease amount of sedation medication used [J]. Gastrointest Endosc, 2012, 76(6):1182-1187.

[21] 苏军凯,张鸣青,张荔群,等. 温水灌注提高初学者结肠镜检查成功率的应用研究[J]. 临床消化病杂志, 2013. 25(1):27-28.

[22] Leung FW, Amato A, Ell C, et al. Water-aided colonoscopy: a systematic review [J]. Gastrointest Endosc, 2012, 76(3):657-666.

[23] Rabenstein T, Radaelli F, Zolk O. Warm water infusion colonoscopy: a review and meta-analysis [J]. Endoscopy, 2012, 44(10):940-951.

[24] Kim HH, Park SJ, Park MI, et al. Transparent-cap-fitted colonoscopy shows higher performance with cecal intubation time in difficult cases [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(16):1953-1958.

(收稿日期:2013-07-22;修回日期:2013-09-28)

(本文编辑:潘雪飞)

(上接第 75 页)

[25] Rabinowits 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.

[26] Wei J, Gao W, Zhu CJ, et al. Identification of plasma microRNA-213 as a biomarker for early detection and chemosensitivity of non-small cell lung cancer [J]. Chin J Cancer, 2011, 30(6):407.

[27] 杨小倩,张义宏,孙波,等. 痰液 MicroRNAs 检测在非小细胞肺癌诊断中的应用价值 [J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(2):226-229.

[28] Kumar MS, Erkeland SJ, Pester RE, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(10):3903-3908.

[29] Liu X, Sempere LF, Galimberti F, et al. Uncovering growth-suppressive microRNAs in lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(4):1177-1183.

[30] 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):1721-1725.

[31] Rao E, Jiang C, Ji M, et al. The miRNA-17 ~ 92 cluster mediates chemoresistance and enhances tumor growth in mantle cell lymphoma via PI3K/AKT pathway activation [J]. Leukemia, 2012, 26(5):1064-1072.

(收稿日期:2013-06-04;修回日期:2013-09-28)

(本文编辑:潘雪飞)