

miR-10b 与肿瘤侵袭转移关系的研究进展

王 莹 综述, 续 薇[△] 审校

(吉林大学第一医院检验科, 吉林长春 130021)

关键词: 肿瘤; miR-10b; 肿瘤浸润; 肿瘤转移; 综述**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.031**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2012)17-2114-03

微小 RNA(miRNA)是一类进化上高度保守的、内源性的非编码小分子单链 RNA,它通过与靶基因相互作用来降解靶 mRNA 或抑制靶基因的翻译,从而进行转录后的表达调控^[1]。Lee 等^[2]和 Reinhart 等^[3]分别在线虫中发现了能调控胚胎后期发育的小分子 RNA lin-4 和具有转录后调节功能的小分子 RNA let-7。Calin 等^[4]揭示了 miRNA 与人类肿瘤形成的关系。研究者发现,5'端识别规则对 miRNA 加工生成的精确性和效率有重要影响,从而参与调控机体的生长发育等过程^[5-8]。随着研究的深入,miRNA 作为一种潜在的肿瘤标志物而成为研究热点。现就 miR-10b 与肿瘤侵袭转移的关系予以综述。

1 miRNA

1.1 miRNA 的特性及功能 miRNA 主要有四点特性:(1)保守性,其本身不具有开放阅读框架(ORF),通常长度为 22 nt,但在 3'端可有 1~2 个碱基的长度变化^[9];(2)miRNA 的基因分布常具有明显的基因簇聚集现象而不是分散分布的;(3)miRNA 在表达过程中具有生物发育阶段性,组织特异性和细胞特异性;(4)1 个 miRNA 可以调控多个靶基因,多个 miRNA 也可作用于 1 个靶基因^[10],其在生物体发育过程、细胞分化和凋亡、肿瘤的发生等过程中起着重要的调控作用^[11-13]。

1.2 miRNA 与肿瘤的关系 研究发现,30%以上的蛋白编码基因可能成为 miRNA 的靶基因,一半作用的 miRNA 定位于肿瘤相关基因组区域,提示 miRNA 在肿瘤发生、发展过程中可能发挥癌基因或抑癌基因作用^[14-16]。新近的研究表明,在胃癌细胞中,miR-150 和 miR-130b 的表达水平提高,它们可能发挥了类似原癌基因的作用,促进胃组织的癌变^[17]。Guo 等^[18]发现在胃癌组织中低表达的 miR-622 通过靶向调控生长抑制因子家族 ING1,促进胃癌细胞的侵袭与肿瘤的转移。

2 miR-10b

2.1 miR-10b 的生物过程 miR-10b 定位于 2 号染色体短臂 3 区 1 带 1 亚带的 HOXD4 与 HOXD8 基因之间,尚未明确具体结构。核内 RNA 内切酶Ⅲ(RnaseⅢ)家族的 Droscha 酶剪接具有 3'帽子和 5'多聚尾的初始转录结构为 110 nt 长度的发夹状前体(pre-miR-10b)。在 Ran-GTP 和转运蛋白 Exportin-5 的协同作用下 pre-miR-10b 由细胞核转移进入细胞质内,经 Dicer 酶切割形成 23 nt 长度的成熟 miR-10b^[19-20]。成熟的 miR-10b 再与 RNA 诱导沉默复合物结合形成非对称的 RNA 诱导沉默复合物,然后与靶 mRNA 的 3'端非编码区(3'-UTR)完全或不完全配对结合,抑制 mRNA 翻译或降解 mRNA,从而参与调控细胞代谢。miR-10b 所定位的 HOX 基因簇与肿瘤的发生及侵袭转移密切相关,其可能通过多种靶点 mRNA 的表达平衡发挥促进癌细胞转移的作用。

2.2 miR-10b 与肿瘤侵袭转移的关系

2.2.1 miR-10b 与乳腺癌的关系 Ma 等^[21]研究发现,miR-NA-10b 在转移性乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和 SUM1315 中 miR-10b 表达量比非转移性乳腺癌细胞系 MCF-7 高 50 倍。Ma 等^[22]将两种人乳腺癌细胞株 SUM149 和 SUM159 分别移植到 NOD-SCID 小鼠的乳腺脂肪垫中建立异种移植模型,结果发现 SUM149 模型在移植 6 周后,miR-10b 表达癌细胞侵入基质而对照组肿瘤局限在纤维囊中没有发生侵袭,在 SUM159 模型中,miR-10b 异位表达引起更明显的肺转移和肉眼可见的腹膜转移。这些结果表明,miR-10b 是一种促进乳腺肿瘤转移的 miRNA,它的潜在靶目标是 T 淋巴瘤侵袭转移诱导因子 1(Tiam1)和 Rac 的鸟核苷酸的转换因子(GEF)^[23],miR-10b 可抑制 Tiam1 在乳腺癌细胞中的表达、抑制 Tiam1 调节 Rac 激活,同时活化促存活和促凋亡基因,这与癌基因的作用相似^[24-25]。

2.2.2 miR-10b 与食道癌的关系 miR-10b 和多种食管鳞状细胞癌细胞株的活动性和侵袭性有密切的关系。miR-10b 的靶目标是 KLF4,一个抑制细胞迁移和食道癌入侵的肿瘤抑制基因,在 KYSE140 和 KYSE450 细胞中,miR-10b 的高表达导致内源性 KLF4 蛋白减少,而在 EC9706 中 miR-10b 的低表达引起细胞 KLF4 蛋白质的上调。Tian 等^[26]研究分析 40 例食道癌标本及它们相邻的正常组织的 miR-10b 的表达水平,发现 38 例食道癌肿瘤组织 miR-10b 高表达,表明 miR-10b 与食道癌的发生发展有密切关系。

2.2.3 miR-10b 与胃癌的关系 miR-10b 与胃癌肿瘤细胞的细胞周期、凋亡改变及浸润转移密切相关^[27]。通过基因芯片检测发现,miR-10b 的功能异常主要体现在肿瘤中的上调或下调表达失常。在 MNK45 细胞,miR-10b 的下调可以抑制细胞的转移和侵袭。而在 GES-1 细胞,miR-10b 的增强性表达使 HOXD10 的 mRNA 的翻译受到抑制,继而导致 RHOC 的表达增加促进了肿瘤转移的增强^[28-29]。Kim 等^[30]研究发现调节 miR-10b 可作为一个治疗胃癌的新疗法。miR-10b 甲基化增加了编码连接微管膜蛋白等致癌基因的表达,MAPRE1 是 miR-10b 的靶目标,表达降低同时增加 miR-10b 的表达,会导致集落形成和细胞生长的明显减低。miR-10b 甲基化可以是评估胃癌进展的有效的生物学标志,miR-10b 的调节对胃癌的早期诊断及判断预后具有重要意义。

2.2.4 miR-10b 与胶质瘤的关系 胶质瘤是颅内最常见的恶性肿瘤之一,呈侵袭性生长,Takashi 等^[31]发现在人脑胶质母细胞瘤中 miR-10b 的表达量高于肿瘤周边脑组织,并且随着肿瘤的恶性程度的提高而进行性升高。研究表明,在恶性胶质瘤

[△] 通讯作者,E-mail:xuwei0210@sina.com。

中,miR-10b 通过负性调节细胞周期抑制基因 CDKN1A/P21,和 CDKN2A/p16 来促进癌细胞增殖^[32]。在恶性外周神经鞘瘤细胞中 miR-10b 可以通过沉默神经纤维瘤蛋白和活化 RAS 信号通路在 NF1 肿瘤形成和发展中发挥重要作用^[33]。

2.2.5 miR-10b 与急性髓细胞白血病的关系 Garzon 等^[34]在研究了 85 例急性髓性白血病病例后发现 miR-10b 表达量升高,并且在 50 例 NPMc 阳性病例中与 NPMc 阴性病例中 miR-10b 表达量差异显著,提示 miR-10b 的表达水平可以作为区分 NPMc 阳性和 NPMc 阴性的急性髓性白血病的可靠指标。

3 miR-10b 的研究前景和展望

随着现代医学和相关研究的不断发展,关于 miRNA 的研究将会进一步深入,对其与肿瘤的侵袭性及转移能力的密切关系将会不断完善,miR-10b 作为 miRNA 家族中的一个,对肿瘤的诊断和治疗具有一定的意义。miR-10b 的目的基因,调控基因以及与其他癌基因、抑癌基因关系的研究还不清楚,如何将 miR-10b 的检测作为临床实验室灵敏、准确、重复性好并且有质量控制标准的常规检验方法及检验项目,应用于临床治疗仍需进一步的研究。miR-10b 可能成为肿瘤诊断、分级以及判断预后的标记,进一步成为潜在的药靶在临床上减弱甚至消除肿瘤的侵袭性和远处转移能力,评价判断肿瘤转移,继而成为肿瘤治疗的新策略。

参考文献

- [1] Wu WK, Law PT, Lee CW, et al. MicroRNA in colorectal cancer from benchtop to bedside[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(3): 247-253.
- [2] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-24* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-4*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [3] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates development timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-906.
- [4] 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 USA*, 2004, 101(9): 2999-3004.
- [5] MacFarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer[J]. *Curr Genomics*, 2010, 11(7): 537-561.
- [6] Shin C, Nam JW, Farh KK, et al. Expanding the microRNA targeting code: functional sites with centered pairing[J]. *Mol Cell*, 2010, 38(6): 789-802.
- [7] Zhang X, Zeng Y. The terminal loop region controls microRNA processing by Droscha and Dicer[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(21): 7689-7697.
- [8] Park JE, Heo I, Tian Y, et al. Dicer recognizes the 5' end of RNA for efficient and accurate processing[J]. *Nature*, 2011, 475(7335): 201-205.
- [9] Guo JM, Miao Y, Xiao BX, et al. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 24(4): 652-657.
- [10] Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large number of target mRNAs[J]. *Nature*, 2005, 433(7027): 769-773.
- [11] Zhang B, Pan X, Anderson TA. MicroRNA: a new player in stem cells[J]. *Cell Physiol*, 2006, 209(2): 266-269.

- [12] Tanno B, Cesi V, Vitali R, et al. Silencing of endogenous IGFBP-5 by microRNA interference affects proliferation, apoptosis and differentiation of neuroblastoma cells[J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12(3): 213-223.
- [13] 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 USA*, 2006, 103(13): 2257-2261.
- [14] Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, et al. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes[J]. *Cell*, 2005, 120(1): 21-24.
- [15] 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 USA*, 2004, 101(9): 2999-3004.
- [16] Cummins JM, He Y, Leary RJ, et al. The colorectal microRNAome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(10): 3687-3692.
- [17] Lai KW, Koh KX, Loh M, et al. MicroRNA-130b regulates the tumour suppressor RUNX3 in gastric cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(8): 1456-1463.
- [18] Guo XB, Jing CQ, Li LP, et al. Down-regulation of miR-622 in gastric cancer promotes cellular invasion and tumor metastasis by targeting ING1 gene[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(14): 1895-1902.
- [19] Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing[J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1401-1414.
- [20] Lagos QM, Rauhut R, Meyer J, et al. New microRNAs from mouse and human[J]. *RNA*, 2003, 9(2): 175-179.
- [21] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA210b in breast cancer[J]. *Nature*, 2007, 449(7163): 682-688.
- [22] Ma L, Reinhardt F, Pan E, et al. Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(4): 341-347.
- [23] Moriarty CH, Pursell B, Mercurio AM. miR-10b targets Tiam1: implications for Rac activation and carcinoma migration[J]. *Epub*, 2010, 285(27): 20541-20546.
- [24] 钟玉祥. Has-miR-10b 与肿瘤侵袭性关系的研究进展[J]. *医学综述*, 2010, 16(10): 1476-1479.
- [25] Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(12): 976-990.
- [26] 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.
- [27] Zhou H, Gou J, Lou Y, et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker[J]. *J Mol Med*, 2010, 88(7): 709-717.
- [28] Li X, Zhang Y, Ding J, et al. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature[J]. *Gut*, 2010, 59(5): 579-585.
- [29] Liu Z, Zhu J, Cao H, et al. MiR-10b promotes cell invasion through RH-OC-AKT signaling pathway by targeting HOXD10 in gastric cancer[J]. *Int Oncol*, 2012, 40(5): 1553-1560.
- [30] Kim K, Lee HC, Park JL, et al. Epigenetic regulation of microRNA-10b and targeting of oncogenic MAPRE1 in gastric cancer[J]. *Epigenetics*, 2011, 6(6): 740-751.
- [31] Takashi S, Masamitsu N, Takeshi K, et al. MicroRNA-10b is overexpressed in malignant glioma and associated with tumor invasive factors, uPAR and RhoC[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(12):

1407-1413.
[32] Gabriely G, Yi M. Human glioma growth is controlled by microRNA-10b[J]. Cancer Res, 2011, 71(10):3563-3572.
[33] Chai G, Liu N, Ma J, et al. MicroRNA-10b regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1[J]. Cancer Sci, 2010, 101(9):1997-2004.

[34] Garzon R, Garofalo M. Distinctive microRNA signature of acute-myeloid leukemia bearing cytoplasmic mutated nucleophosmin [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2008, 105(10):3945-3950.

(收稿日期:2012-04-18)

• 综 述 •

维生素 D 实验室检测方法研究进展

姜 丽, 李 波 综述, 李 洋, 邹家荏 审校
(重庆三峡中心医院御安分院检验科, 重庆 404000)

关键词: 维生素 D 缺乏; 维生素 D₃; 25-羟维生素 D₂; 串联质谱法; 化学发光测定法; 色谱法, 高压液相
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.032 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)17-2116-02

维生素 D(VD)是人体必需的营养素,人体自身不能合成,需通过日光照射或食物摄入获得。VD 为脂溶性维生素,固醇类衍生物,共 5 种,其中 VD₂、VD₃ 与健康关系密切,且均为 VD 原经紫外线照射后的衍生物^[1]。这两种形式的 VD 均无生物活性,必须在体内经过两次羟化后方能发挥生物效应。VD 在肝脏 25-羟化酶作用下转化为 25 羟基维生素 D[25-(OH)D],再经过肾脏中线粒体细胞色素 P450 氧化酶(1 α 羟化酶)的催化转化为有生物活性的 1,25-二羟基维生素 D[1,25-(OH)₂D]^[2]。VD 在血液中主要以 25-(OH)D 的形式运输,其浓度最高,最稳定,半衰期最长(2 周左右),故血清 25-(OH)D 浓度是评价体内 VD 营养状况最为有效的指标^[3]。通常将 25-(OH)D $\geq$ 30 ng/mL、20~<30 ng/mL、<20 ng/mL 分别定义为 VD 充足、不足和缺乏^[4]。

VD 能与甲状旁腺激素共同作用,维持血钙水平的稳定,促进钙在肠内的吸收。体内 VD 不足也会限制钙的吸收,对骨健康产生消极影响。Pieper 等^[5]调查了 1 174 例患者血清 25-(OH)D 浓度分布及其与髌骨骨折的联系,发现 VD 缺乏在髌部骨折的老年人群中十分普遍,VD 在多变量控制的模型中与血清钙相关,但单靠血清钙一个指标无法确切证实。亦有研究显示,人体 VD 缺乏可导致肌肉无力,提高 VD 水平可使肌肉反应速度和强度均大幅度提高^[6]。

大量研究证实 1,25-(OH)₂D₃ 不仅可以维持钙磷及骨代谢平衡,还可参与多种病理过程,发挥对慢性肾脏疾病的肾保护作用^[7]。有研究证实 1,25-(OH)₂D₃ 不足是慢性肾脏疾病患者的明显危险因素,且二者互为因果,形成恶性循环^[8]。VD 还能通过与蛋白激酶 C、促丝裂原活化蛋白激酶、蛋白激酶 A、磷脂酰肌醇、Ca²⁺ 依赖性电压门控通道或 Ca²⁺ 非依赖性电压门控通道相互作用介导第二信使旁路的激活,影响细胞内信号转导通路,改变细胞内钙浓度,激活或抑制 Bcl-2、c-jun,最终影响细胞增殖、分化和凋亡^[9]。体内外实验研究均已证明 1,25-(OH)₂D₃ 对乳腺、前列腺、结肠、胆囊、甲状腺、垂体肿瘤以及白血病和淋巴瘤均具有生长抑制和促进肿瘤细胞分化的作用^[10-11]。

有报道指出,VD 是生理条件下葡萄糖刺激胰岛素分泌以及维持正常糖耐量的必须物质^[12]。Holick^[13]的研究证实,补充了活性 VD 类似物的大鼠与对照组相比,其血清 L-12、NF-7 显著减少,糖尿病(DM)发生率明显降低。Hypponen 等^[14]经过长期随访证实,儿童期补充 VD 可使 DM 患病风险降低

80%,而缺乏 VD 的儿童,其患 DM 的风险增加 200%。活性 VD 及其类似物能够调节 T 细胞介导的疾病状态。这种作用在多种自身免疫性疾病的动物模型中已得到证实,如 1 型 DM、多发性硬化症、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、自身免疫性甲状腺炎等^[15]。

VD 缺乏可使患高血压、冠心病的危险性大大增加^[16]。Teng 等^[17]对 51 037 例血液透析患者连续观察 2 年,发现注射 VD 可使治疗组心血管病死亡率大大降低。

VD 不仅是保证人体正常生长发育、维护骨骼和肌肉系统正常功能的重要物质,还与肿瘤、自身免疫性疾病、感染性疾病和心血管疾病有关^[18],也被称为“疾病预防的明日之星”^[19]。但长期或大剂量过多使用的 VD 亦可发生中毒,表现为血清 25-(OH)D 水平明显增加和高钙血症,临床上还可出现各种毒性症状^[20]。

目前检测 VD 的方法主要有:放射免疫法(RIA),灵敏度高,特异性强,精密度好,仪器设备条件要求不高,是基层单位对超微量物质测定的主要手段,但存在放射污染的潜在风险;ELISA 法,设备和操作简单,无污染但敏感性和特异性较差。化学发光免疫测定(CLIA),操作简单、快速,无同位素污染等优点,容易自动化,现已有多家厂商开发出相关自动免疫分析仪;高效液相色谱法(HPLC),灵敏度、特异性、准确性都较高,但设备较贵,标本前处理过程复杂;液相色谱-质谱联用法(LC-MS/MS),灵敏度、特异性、准确性都高,但操作程序较复杂,需要更昂贵的特殊仪器。

一个采用液-液萃取反相 LC-MS/MS 法检测血清 25-(OH)D₃ 和 25-(OH)D₂ 的参考测量程序已被审慎评估。Tai 等^[21]通过该法检测已知浓度的 25-(OH)D 标本。25-(OH)D₃ 和 25-(OH)D₂ 的回收率为 99.0%~101.0%,绝对回收率分别为 97%和 92%。同时也获得了出色的精度,25-(OH)D $>$ 1 ng/g 时不精密度(CV)为 0.2%~0.6%,25-(OH)D $<$ 1 ng/g 时 CV $<$ 2%。该方法能够将 25-(OH)D₃ 和 25-(OH)D₂ 同其各自的同分异构体分离开。在信噪比约为 3 时检测限约为 0.15 ng/g。此方法检测血清 25-(OH)D₃ 和 25-(OH)D₂ 具有良好的准确度和精密度,可以用来与临床其他检测 VD 的方法作比较,亦能够溯源到一个更高要求的标准。

Lensmeyer 等^[22]对 HPLC 法测 VD 与 LC-MS/MS 法、竞争蛋白结合法原理的 Nichols Advantage 平台、Diasorin(意大利索灵集团)的 RIA 法做了比较。HPLC 法测 25-(OH)D₃ 批