

• 临床检验研究论著 •

miR-31 在肿瘤中预后作用的 meta 分析及机制*

付文博¹, 宋亚芹¹, 杨 兰², 朱建波², 魏育涛^{3△}

(1. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832000; 2. 石河子大学医学院病理科, 新疆石河子 832000;

3. 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:目的 综合评价 miR-31 与肿瘤预后之间的关系, 探讨其相关机制。方法 仔细检索美国国立图书馆(PubMed), 荷兰医学文摘(EMBASE)以及 ISI Web of Science 数据库与 miR-31 相关肿瘤预后文献, 提取预后数据风险比(HR)和 95%可信区间(95%CI), 并对预后数据进行合成分析。结果 共有 7 篇研究符合入选标准, 累积病例 2 012 例; Meta 分析显示, 肿瘤患者 miR-31 表达降低预后不良(HR=0.784, 95%CI:0.630~0.974); 而亚组分析中采用多变量分析及中国人群的研究合成结果分别为 3.512(95%CI:1.797~6.865)、1.574 (95%CI:1.062~2.333), 提示 miR-31 表达升高预后不良; miR-31 在消化系统中则无统计学意义($P>0.05$)。结论 miR-31 在肿瘤中的预后作用可能具有组织及地域特异性, 具备作为新型标记物的潜力。

关键词:肿瘤; miR-31; 预后; 肿瘤标记物; Meta 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)20-2729-03

Meta-analysis and associated mechanism on prognostic role of miR-31 in carcinomas*

Fu Wenbo¹, Song Yaqin¹, Yang Lan², Zhu Jianbo², Wei Yutao^{3△}

(1. Medical College, Shihezi University, Shihezhi, Xinjiang 832000, China; 2. Department of Pathology, Medical

College, Shihezi University, Shihezhi, Xinjiang 832000, China; 3. Department of

Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezhi, Xinjiang 832000, China)

Abstract:Objective To synthetically evaluate the relationship between miR-31 and the prognosis of carcinoma and to investigate its related mechanism. **Methods** The correlative literatures of tumor prognosis were retrieved from the electronic databases PubMed, EMBASE and ISI Web of Science. The pooled hazard ratios (HRs) and 95% confidence interval(95%CI) were extracted. The prognostic data were performed the synthesis analysis. **Results** A total of 7 trials conformed to the inclusion criteria including accumulated 2 012 cases of carcinoma. Meta-analysis revealed that the decrease of miR-31 expression in the tumor patients had the poor prognosis (HR=0.784, 95%CI:0.630-0.974); in the subgroup analysis, the synthesis results adopting the multivariable analysis and China subjects were 3.512 (95%CI:1.797-6.865) and 1.574 (95%CI:1.062-2.333), which indicating that the increase of miR-31 expression predicted the poor prognosis; miR-31 had no statistical significance in the digestive system ($P>0.05$). **Conclusion** The prognostic role of miR-31 may possess the histological and regional specificity and has the potential as a novel marker.

Key words:carcinoma; miR-31; prognosis; tumor markers; meta analysis

miRNA 是一类约 23 个核苷酸高度保守的内源性表达的非编码小 RNA^[1]。Calin 等^[2]研究表明, 超过 50% miRNA 位于脆弱基因位点和肿瘤相关的基因组区域, 提示 miRNA 可能在人类肿瘤的发病机制中起着至关重要的作用。此后不断有研究表明 miRNA 异常表达关系到肿瘤的发生和发展, 并提示其表达谱具有明显的预后意义^[3-5]。在目前发现的 miRNA 中, miR-31 是最有吸引力的 miRNA 之一^[5], 来自不同的研究机构显示 miR-31 对肿瘤患者具有潜在的预后意义。然而不同学者的结果并不一致, 本文希望通过荟萃分析评估 miR-31 在肿瘤预后中的整体风险, 探讨其可能机制, 为后续研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 文献检索 本篇 meta 分析参照 Stroup 等^[6]发布的 MOOSE 指南及 Moher 等^[7]发布的 PRISMA 准则。分别检索

美国国立图书馆(PubMed), 荷兰医学文摘(EMBASE)以及 ISI Web of Science, 检索关键词为: miR-31 or microRNA-31 and cancer or neoplasm or carcinoma or tumor and prognos * or surviv *。检索日期为建库时间至 2014 年 1 月 10 日。同时对所获取文献和综述的参考文献进一步检索以获取可能缺失的研究文献。

1.2 纳入及排除标准

1.2.1 纳入标准 (1)文献包含预后数据风险比(HR)和 95%置信区间(95%CI)或生存曲线; (2)样本量超过 50 例; (3)同一研究机构发表的多篇相似文献, 保留研究对象最多的文献; (4)文献语言限于英文; (5)研究领域限于肿瘤患者预后; (6)对 miR-31 表达采取二分类; (7)若两位评审者纳入意见发生冲突则引入第 3 位评审者。

1.2.2 排除标准 (1)研究疾病非肿瘤; (2)研究对象不完整;

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260301);国家自然科学基金资助项目(81460059);兵团卫生科技-兵团博士基金(2014BB019)。

作者简介:付文博,男,在读研究生,主要从事食管癌研究。△ 通讯作者:E-mail:wytfwb@126.com。

(3)无法提取预后数据;(4)动物、细胞试验;(5)综述、病例报告、信件、会议文章。

1.3 数据提取 数据提取包含:第一作者、发表年份、人群来源、样本量、研究设计类型、肿瘤分期、HR 及 95%CI。Valastyan 等^[5]的研究未包含 HR 和 95%CI,则根据研究人数及 KM 生存曲线进行提取^[8]。

1.4 统计学处理 采用 DL 法计算集合 HR 及 95%CI,根据统计结果评估文献内部异质性而采用不同计算模型,无异质性采用固定效应模型,存在异质性采用随机效应模型^[9]。通常情况下 HR 大于 1 表示预后不良,小于 1 时则有保护意义且 95%CI 不包含 1,同时 $P<0.05$ 差异有统计学意义^[10]。发表偏倚通过 Begg's 漏斗图及 Egger's 检验进行评估, $P<0.05$ 差异有统计学意义,采用 STATA v11.0 分析所有的数据^[11]。

2 结 果

检索结束共得到相关文献 289 篇,通过查看题目、摘要及关键词排除重复、综述和不相关研究 276 篇得到 14 篇,进一步阅读全文排除无 HR 及 95%CI 的文献 4 篇^[12-15],来自同一研究机构的研究结果 1 篇^[16],Zhang 等^[17]的相似文献一篇,无关肿瘤患者预后 1 篇^[18],共得到 7 篇^[3-5,17,19-21]文献符合文献入选标准,见表 1。4 篇文献研究来自中国,Tan 等^[4],Zhang 等^[17],Schaefer 等^[20]进行了多变量分析,研究类型均为回顾性研究且 miR-31 检测方法均为 qRT-PCR。除 Zhang 等^[17]采用肿瘤组织和血清外,其他研究均采用肿瘤组织。入选总样本量 2 012 例,其中食管癌患者 657 例,结肠癌 316 例,乳腺癌 295 例,肺癌 148 例,膀胱癌 126 例,前列腺癌 470 例。

表 1 纳入研究的基本特点

研究	人群	设计	类型	<i>n</i>	分期	方法	样本
Schee 等(2012) ^[3]	Norway	R	结肠	316	I~Ⅲ	qRT-PCR	组织
Valastyan 等(2009) ^[5]	US	R	乳腺	295	—	qRT-PCR	组织
Lin 等(2012) ^[11]	China	R	食管	89	I~Ⅲ	qRT-PCR	组织
Zhang 等(2011) ^[17]	China	R	食管	568	I~Ⅳ	qRT-PCR	组织,血清
Tan 等(2011) ^[4]	China	R	肺	148	I~Ⅲ	qRT-PCR	组织
Wang 等(2013) ^[19]	China	R	膀胱	126	Ta~T4	qRT-PCR	组织
Schaefer 等(2010) ^[20]	Germany	R	前列腺	470	T2a~T3b	qRT-PCR	组织

R:回顾性研究;—:未给出数据。

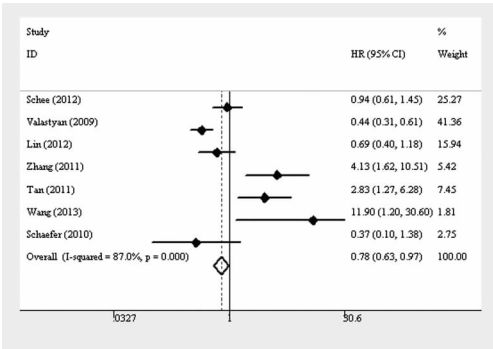


图 1 各研究中 miR-31 预后评估森林图

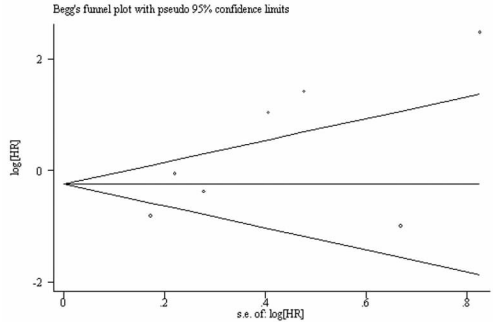


图 2 纳入研究中 miR-31 预后评估漏斗图

Meta 分析显示,肿瘤患者 miR-31 表达降低预后不良 ($HR=0.784, 95\%CI: 0.630\sim0.974$),见图 1。而采用多变量分析(3 篇)及中国人群(4 篇)的研究合成结果分别为 $HR=3.512, 95\%CI$ 为 $1.797\sim6.865$ 及 $HR=1.574, 95\%CI$ 为

$1.062\sim2.333$,提示 miR-31 表达升高预后不良,miR-31 在消化系统中差异无统计学意义($P>0.05$)。Begg's 漏斗和 Egger's 检验均未发现明显偏倚,见图 2。

3 讨 论

miRNA 通过靶向 mRNA 调控基因表达,化学性质非常稳定,即使保存数十年的石蜡标本依然保持性质不变,可以通过如 qRT-PCR 这样高通量的方法进行检测^[4],并且某些 miRNA 存在于唾液、血液、血浆以及粪便等排泄物中^[3,22],采样便捷。基于这些特点,miRNA 非常适合作为新型预后生物标记物。miR-31 位于染色体 9p21.3 上,首次发现于 Hela 细胞中^[19]。到目前为止,有多个研究机构发现 miR-31 异常表达与肿瘤患者的预后相关,荟萃分析 7 项研究结果提示 miR-31 表达降低预后不良,而荟萃采用多变量分析(3 项)及中国人群(4 项)的研究结果提示 miR-31 表达升高预后不良,miR-31 在消化系统(3 项)中差异无统计学意义($P>0.05$),这提示 miR-31 在肿瘤中预后作用可能具有组织及地域特异性,其潜在机制包括:(1)miRNA 根据靶标的不同分为致癌基因和抑癌基因^[4],比如 miR-31 在食管癌当中通过抑制肿瘤抑制基因 EMP1、KSR2 和 RGS4 起到致癌基因的作用^[17],乳腺癌当中通过抑制 Fzd3、ITGA5、M-RIP、MMP16、RDX 和 RhoA 一系列基因转移,从而起到抑制癌基因的作用^[5];(2)miR-31 的靶基因存在多个结合位点,miR-31 与其他结合位点的结合可能影响 miR-31 的生物作用,并且 miR-31 与靶基因结合不充分也影响 miR-31 生物功能的发挥^[4];(3)miRNA-miRNA 之间的相互作用可以影响预后,Wu 等^[16]通过超几何计算发现 miRNA-miRNA 交互以

及 miRNA 旁路网的相互作用影响肿瘤患者预后,高表达 miR-31 和低表达 miR-338-3p 组合的生存时间比低表达 miR-31 和高表达 miR-338-3p 组合明显短,而无交互作用时单一 miR-31 或 miR-338-3p 异常表达与预后无关;(4)有限的研究和研究对象可能降低研究结果的可靠性,本研究纳入的 7 篇文献包含 4 个国家 6 种不同的肿瘤所产生的异质性也会引起不一致的结果,同时有力提示 miR-31 在肿瘤中预后作用具有组织及地域特异性,有望开展特异性治疗靶点;(5)从生存曲线中提取 HR 和 95%CI 的方法要比直接从已发表的文献中得到的数据可靠性要低。值得注意的是 Wu 等^[16]研究表明,miR-31 和 miR-338-3p 组合具有预后意义,而单一 miR-31 或 miR-338-3p 无预后意义,说明一组 miRNA 能够增加预测效能,组合标记物有望成为新研究方向。目前,对 miR-31 预后的研究多采用肿瘤组织,Zhang 等^[17]对血液 miR-31 的研究发现循环 miR-31 同样具有预后意义。由于循环标记物更容易获得,因此实时检测循环 miR-31 可能为及早干预肿瘤患者提供有益的证据。深入理解肿瘤的分子发病机制,特别是肿瘤发生及转移机制对于研究新的标记物 and 治疗方法极其重要^[17],目前 miR-31 在肿瘤中的分子机制依然不明确,并且本研究纳入的文献数及样本量偏小,因此有必要进一步研究加以证实 miR-31 在肿瘤患者预后中的作用。鉴于 miRNA 的分子机制和理化性质,其作为新型标记物的潜力显著,研究者希望通过系统评估 miR-31 在肿瘤中预后作用及探讨其相关机制,为改善肿瘤患者预后提供有益的理论依据,并为极具地域特征的新疆哈萨克族食管癌研究提供借鉴。

参考文献

- [1] Mattick JS, Makunin IV. Small regulatory RNAs in mammals[J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(1): 121-132.
- [2] 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.
- [3] Schee K, Boye K, Abrahamsen TW, et al. Clinical relevance of microRNA miR-21, miR-31, miR-92a, miR-101, miR-106a and miR-145 in colorectal cancer[J]. BMC Cancer, 2012, 12(505): 505.
- [4] Tan X, Qin W, Zhang L, et al. A 5-microRNA signature for lung squamous cell carcinoma diagnosis and hsa-miR-31 for prognosis [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(21): 6802-6811.
- [5] Valastyan S, Reinhardt F, Benaich N, et al. A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis[J]. Cell, 2009, 137(6): 1032-1046.
- [6] Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis of observational studies in epidemiology group[J]. JAMA, 2000, 283(15): 2008-2012.
- [7] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the prisma statement

- [J]. BMJ, 2009, 62 (10): 1006-1012.
- [8] Tierney JF, Stewart LA, Ghersi D, et al. Practical methods for incorporating summary time-to-event data into meta-analysis[J]. Trials, 2007, 8(16): 16.
- [9] Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses[J]. BMJ, 2003, 327(7414): 557-560.
- [10] Gould-Rothberg BE, Bracken MB, Rimm DL. Tissue biomarkers for prognosis in cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis[J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101(7): 452-474.
- [11] Lin S, Pan L, Guo S, et al. Prognostic role of microRNA-181a/b in hematological malignancies: a meta-analysis[J]. Plos One, 2013, 8(3): 59532.
- [12] Cekaite L, Rantala JK, Bruun J, et al. MiR-9, -31, and -182 deregulation promote proliferation and tumor cell survival in colon cancer[J]. Neoplasia, 2012, 14(9): 868-879.
- [13] Papaconstantinou IG, Manta A, Gazouli M, et al. Expression of microRNAs in patients with pancreatic cancer and its prognostic significance[J]. Pancreas, 2013, 42(1): 67-71.
- [14] Leidner RS, Ravi L, Leahy P, et al. The microRNAs, MiR-31 and MiR-375, as candidate markers in Barrett's esophageal carcinogenesis[J]. Genes Chrom Cancer, 2012, 51(5): 473-479.
- [15] Meng W, Ye Z, Cui R, et al. MicroRNA-31 predicts the presence of lymph node metastases and survival in patients with lung adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(19): 5423-5433.
- [16] Wu B, Li C, Zhang P, et al. Dissection of miRNA-miRNA interaction in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Plos One, 2013, 8(9): e73191.
- [17] Zhang T, Wang Q, Zhao D, et al. The oncogenetic role of microRNA-31 as a potential biomarker in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Sci (Lond), 2011, 121(10): 437-447.
- [18] Zhang ZN, Xu JJ, Fu YJ, et al. Transcriptomic analysis of peripheral blood mononuclear cells in rapid progressors in early HIV infection identifies a signature closely correlated with disease progression[J]. Clin Chem, 2013, 59(8): 1175-1186.
- [19] Wang S, Li Q, Wang K, et al. Decreased expression of microRNA-31 associates with aggressive tumor progression and poor prognosis in patients with bladder cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2013, 15(10): 849-854.
- [20] Schaefer A, Jung M, Mollenkopf HJ, et al. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma [J]. Int J Cancer, 2010, 126(5): 1166-1176.
- [21] Lin RJ, Xiao DW, Liao LD, et al. MiR-142-3p as a potential prognostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Surg Oncol, 2012, 105(2): 175-182.
- [22] Takeshita N, Hoshino I, Mori M, et al. Serum microRNA expression profile: miR-1246 as a novel diagnostic and prognostic biomarker for oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Br J Cancer, 2013, 108(3): 644-652.

(收稿日期: 2014-04-14)