

• 综述 •

microRNA 在肺癌诊疗中的临床价值^{*}宋银丹¹ 综述, 张艳亮, 段勇^{2△} 审校

(1. 余姚市人民医院检验科, 浙江余姚 315400; 2. 昆明医科大学附属第一医院检验科, 云南昆明 650032)

关键词: microRNA; 肺癌; 诊断; 治疗

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.035

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)23-3232-03

肺癌是癌症导致死亡的最主要原因, 占癌症死亡总数的 23%^[1]。肺癌主要分两大类, 非小细胞肺癌(NSCLC)约占 80.4%, 小细胞肺癌(SCLC)占 16.8%。NSCLC 可进一步分为腺癌、鳞癌、大细胞肺癌、支气管肺泡癌。近 10 年来, 尽管放化疗技术和手术水平有了很大程度的提高, 但肺癌的病死率基本保持不变。目前, 肺癌的早期诊断存在困难, 患者被确诊时多已进入中晚期阶段。早期癌瘤一般有 80%~90% 的治愈率, 而晚期癌的 5 年生存率一般均极低, 早发现、早诊断是肺癌治疗的关键。因此, 国内外学者都期待找出具有高敏感性和特异性能够对肺癌进行早期诊断的方法。

microRNA 是一大类长度约为 22 个核苷酸的内源性非编码小分子 RNA。最先发现的两个 microRNA 是 lin-4 和 let-7。目前为止, 预测人类基因组中可能存在的 microRNA 超过 1 000 个, 约占总基因组的 1%~3%, 调控大约 30% 的人类组基因^[2]。microRNA 与肿瘤是密切相关的, 约 52% 的 microRNA 位于与肿瘤相关的基因位点和脆性染色体区^[3], 且在不同肿瘤中具有特定的表达模式。近年来, 许多研究表明 microRNA 参与了肺癌发生和发展中的全过程^[4], 对肺癌的诊断、治疗和预后有重要的作用。因此, microRNA 有望成为新型的临床生物标志物用于肺癌的诊断、治疗和预后。

1 microRNA 的生物合成和作用机制

microRNA 通常先由细胞核内编码 microRNA 的基因转录成 pri-microRNA。pri-microRNA 在一种 Drosha RNase 的作用下, 剪切成约 70 个核苷酸的具有茎环结构的 microRNA 前体(pre-microRNA)。pre-microRNA 在 GTP 依赖的 Exportin5 的作用下, 从核内运输到胞质中。在 Dicer 酶的作用下, microRNA 前体被剪切为具有 20~24 个核苷酸长度的双链 microRNA。然后这种双链很快被整合到 miRSC 复合体中并被转运至靶 mRNA。当 microRNA 和靶 mRNA 完全配对时, 诱导靶 mRNA 降解; 当不完全配对时, 则抑制靶 mRNA 的翻译, 在翻译后水平负向调节靶基因表达^[5]。

2 microRNA 与肺癌的诊断

2.1 组织 microRNA 与肺癌的诊断 microRNA 相关的研究均表明其具有组织特异性, 不同的肿瘤甚至肿瘤亚型中有不同的表达水平。虽然肺癌与多种疾病都能表达 microRNA, 但肺癌本身却能表达一些特定的 microRNA^[6], 利用这些特定的 microRNA, 对肺癌进行诊断。Capodanno 等^[7] 研究显示 Let-7

和 miR-21 在非小细胞肺癌组织中的表达显著高于非癌肺组织。肺癌病理类型不同, 对于准确定制肺癌治疗方案也有非常重要的意义, 但现阶段肺癌的检测手段区分各病理类型的敏感性和特异性较差。Hamamoto 等^[8] 研究显示, miR-196b, miR-205 和 miR-37 能够准确地区分肺腺癌和肺鳞癌。

2.2 血清/血浆 microRNA 与肺癌的诊断 除组织 microRNA 可对肺癌与正常组织鉴别外, 血浆和血清也含有大量稳定的 microRNA, 可用于肺癌的诊断。microRNA 在血清或血浆中很稳定, 能够抵抗 RNase 酶的降解, 多次冻融后也能被检出^[9], 因此可成为肿瘤早期诊断的一种无创技术。Tang 等^[10] 研究显示 miR-21, miR-145 和 miR-155 在肺癌患者中的表达显著高于非癌肺患者。Shen 等^[11] 为了评价循环的 microRNA 作为肺癌的诊断指标的准确性, 进行了 meta 分析。对不同的研究结果集中使用随机效应模型, 有 13 个出版物被纳入 meta 分析。用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)来对 microRNA 的整体检测性能进行评估, 结果显示其对肺癌诊断的灵敏度为 0.85 (95%CI: 0.83~0.87), 特异性为 0.84 (95%CI: 0.81~0.86), 此结果表明循环的 microRNA 作为肺癌的诊断标志物有很大的潜力。

2.3 痰液 microRNA 与肺癌的诊断 肺癌患者痰液也是值得留取和检测的有价值的标本。Yu 等^[12] 对 7 个 microRNA 进行检测, 结果表明 3 个 microRNA 组合 (miR-205, miR-210, miR-708) 诊断肺鳞癌的敏感度和特异度分别为 76% 和 96%; 4 个 microRNA 组合 (miR-21, miR-486, miR-375, miR-200b) 诊断肺腺癌时的敏感度和特异度分别是 80.6% 和 91.7%。

3 microRNA 与肺癌的治疗

3.1 RAS, p53 通路相关的 microRNA 与肺癌的治疗 RAS 和 p53 通路是肺癌中最常见的两种通路改变, 这两种通路的改变会使临床治疗的反应性下降从而使患者的生存率降低。RAS 家族主要包括 H-RAS, K-RAS 和 N-RAS 三类, 该通路激活可促进肿瘤增殖。Let-7 可以对 RAS 家族表达进行负调控, 而且 let-7 过表达对 K-RAS 变异型癌细胞的抑制效应更为突出^[13], 是潜在的治疗靶点。p53 是重要的抑癌基因, 可以通过诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡来维持基因组的稳定性。miR-34 家族是 p53 的直接转录靶点, p53 突变肿瘤的 miRNA 表达下降, 因此用 miR-34 处理突变的 p53 肿瘤可能成为抑制肺癌发生的有效治疗途径^[14]。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助(81160292)。 作者简介: 宋银丹, 女, 检验技师, 主要从事生物化学与分子生物学研究。 △ 通讯作者, E-mail: duanyong7@139.com。

3.2 与侵袭、转移相关的 microRNA 与肺癌治疗 肿瘤的侵袭、转移是肺癌治疗的一大难点,与转移相关的 microRNA 可为抑制转移提供潜在的治疗靶标。近年来研究显示上皮-间质转化(EMT)参与肿瘤的侵袭与转移,成为了研究的热点。EMT 是上皮细胞由于失去了上皮的特性而获得间质细胞表型的一种生物现象。其主要的分子变化为下调上皮细胞黏附相关分子(如 E-钙黏蛋白)、上调间质细胞特征相关分子(如 N-钙黏蛋白)及表达各种细胞外基质(ECM)相关蛋白。一些 microRNA 对 EMT 转化起负调控作用,目前研究较多的是 miR-200 家族, Pacurari 等^[15] 研究显示在非小细胞肺癌株 H1299 中过表达 miR-200 家族,通过其靶向调控 E-cadherin 的转录抑制因子 ZEB1 和 ZEB2,增加 E-钙黏蛋白并部分逆转 EMT。 Tominaga 等^[16] 研究显示在肺癌细胞株 A549 过度表达 miR-1 可以抑制肿瘤细胞发生 EMT,从而防止肿瘤细胞转移。Liu 等^[17] 研究表明 miR-21 在晚期 NSCLC 患者的肿瘤组织中高表达,PTEN 是 miR-21 的一个靶基因,可以负向调节 PKB-AKT 通路,在 NSCLC 的转移过程中发挥着重要的作用,是潜在的治疗靶点。目前,认为肝细胞生长因子(HGF)与其受体(c-Met)与多种肿瘤的发生和转移相关^[18],Lee 等^[19] 研究显示 miR-7515 的通过抑制 c-Met 在调控肺癌细胞的增殖和迁移中起着重要的作用。

3.3 与耐药相关的 microRNA 与肺癌的治疗 近年来,肿瘤耐药的问题逐渐成为人们关注的热点。体内外研究发现,肺癌中过表达 miR-135 可导致紫杉醇耐药^[20]。研究发现,过表达的 miR-98 通过 HMGA2 作用可使肺癌细胞株 A549 对顺铂(cisplatin, DDP)的敏感性增加^[21]。

4 microRNA 与肺癌的预后

肺癌的患者很需要有特定的标志物来进行预后判断,从而提高疗效。通常来说 NSCLC 患者在进行手术后,30% 会复发。特定的 microRNA 的表达模式与肿瘤的预后相关,Solomides 等^[22] 研究显示 microRNA 有很大的潜力成为肺癌进行预后判断的标志物。1et-7 是第一个发现与肺癌预后有密切关系的 microRNA,其表达降低常常提示预后不良。Yang 等^[23] 研究显示 miR-21、miR-155 在 NSCLC 肿瘤组织中表达上调,患者术后复发率将提高。Hu 等^[24] 研究显示血清中的 4 种 microRNA 组合(miR-486、miR-499、miR-30d 和 miR-1)能够准确预测肺癌患者的预后。

5 肺癌中 microRNA 的检测方法

检测 microRNA 的方法有多种,主要分为两大类:一类是不需要样本扩增的探针直接杂交法,如 Northern blotting 法、基因芯片法和微球杂交的流式细胞检测法(bead-based hybridization technology);另一类是基于样本 microRNA 扩增的方法,如荧光定量 PCR 法和测序法。每种方法各有优缺点:(1) Northern blotting 法是检测 microRNA 的常规方法,耗时长、灵敏度低、样品需要量大,不能进行高通量检测,但仍被认为是 microRNA 检测的金标准。(2)基因芯片法:能够同时检测多个样本,快速简便,可以对 microRNA 进行高通量分析。但芯片上不同的探针分子和待测分子之间容易发生交叉反应,重复性和准确性较差,还需要 RT-PCR 等其他方法进行验证。(3)微球杂交的流式细胞检测法:新一代的生物芯片技术,克服了

基因芯片法的不足^[25],但需要特殊的流式细胞仪来进行微球解码及信号检测。因此,该法的检测成本较高,难以在普通实验室推广应用。(4)实时荧光定量 PCR 法(qPCR):主要用于 DNA 或 RNA 的定量分析,基础研究经常采用此法。

6 小结

总之,microRNA 的研究已十分活跃,使我们对肺癌发生、发展机制的了解越来越多,这有利于我们提高对现有肺癌诊断和治疗的水平。云南省宣威地区是全球非吸烟女性肺癌发病率最高的地区之一,如果通过检测宣威肺癌组织标本中 microRNA 的表达谱,可以协助临幊上早期诊断宣威肺癌,提高其临床治疗效果,那么这就具有了一定的经济价值和社会价值。

参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(1): 69-90.
- [2] Rothschild SI. Epigenetic Therapy in Lung Cancer-Role of microRNAs[J]. Front Oncol, 2013, 3(1): 158.
- [3] Melo SA, Esteller M. Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire[J]. FEBS Lett, 2011, 585(20): 2087-2099.
- [4] Zhang WC, Liu J, Xu X, et al. The role of microRNAs in lung cancer progression[J]. Med Oncol, 2013, 30(5): 675.
- [5] Lemons D, Maurya MR, Subramaniam S, et al. Developing microRNA screening as a functional genomics tool for disease research[J]. Front Physiol, 2013, 4(2): 223.
- [6] 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, 2006, 103(10): 2257-2261.
- [7] Capodanno A, Boldrini L, Proietti A, et al. Let-7g and miR-21 expression in non-small cell lung cancer: Correlation with clinicopathological and molecular features[J]. Int J Oncol, 2013, 43(6): 765-774.
- [8] Hamamoto J, Soejima K, Yoda S, et al. Identification of microRNAs differentially expressed between lung squamous cell carcinoma and lung adenocarcinoma[J]. Mol Med Rep, 2013, 8(4): 456-462.
- [9] Keller A, Leidinger P, Gislefoss R, et al. Stable serum miRNA profiles as potential tool for non-invasive lung cancer diagnosis [J]. RNA Biol, 2011, 8(5): 506-516.
- [10] Tang D, Shen Y, Wang M, et al. Identification of plasma microRNAs as novel noninvasive biomarkers for early detection of lung cancer[J]. Eur J Cancer Prev, 2013, 22(6): 540-548.
- [11] Shen Y, Wang T, Yang T, et al. Diagnostic value of circulating microRNAs for lung cancer: a meta-analysis[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2013, 17(3): 359-366.
- [12] 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(27): 2870-2878.
- [13] Oh JS, Kim JJ, Byun JY, et al. Lin28-let7 modulates radiosensitivity of human cancer cells with activation of K-Ras[J]. Int J Radiat Oncol, Biol, Phys, 2010, 76(1): 5-8.
- [14] Wong MY, Yu Y, Walsh WR, et al. microRNA-34 family and treatment of cancers with mutant or wild-type p53(Review)[J].

Int J Oncol, 2011, 38(11):1189-1195.

- [15] Pacurari M, Addison JB, Bondalapati N, et al. The microRNA-200 family targets multiple non-small cell lung cancer prognostic markers in H1299 cells and BEAS-2B cells[J]. Int J Oncol, 2013, 43(2):548-560.
- [16] Tominaga E, Yuasa K, Shimazaki S, et al. MicroRNA-1 targets Slug and endows lung cancer A549 cells with epithelial and anti-tumorigenic properties[J]. Exp Cell Res, 2013, 319(1):77-88.
- [17] 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):35-45.
- [18] Blumenschein GR, Jr., Mills GB, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the hepatocyte growth factor-cMET axis in cancer therapy[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(26):3287-3296.
- [19] Lee JM, Yoo JK, Yoo H, et al. The novel miR-7515 decreases the proliferation and migration of human lung cancer cells by targeting c-Met[J]. Mol Cancer Res, 2013, 11(1):43-53.
- [20] Holleman A, Chung I, Olsen RR, et al. miR-135a contributes to

paclitaxel resistance in tumor cells both in vitro and in vivo[J]. Oncogene, 2011, 26(30):4386-4398.

- [21] Xiang Q, Tang H, Yu J, et al. MicroRNA-98 sensitizes cisplatin-resistant human lung adenocarcinoma cells by up-regulation of HMGA2[J]. Die Pharmazie, 2013, 68(2):274-281.
- [22] Solomides CC, Evans BJ, Navenot JM, et al. MicroRNA profiling in lung cancer reveals new molecular markers for diagnosis[J]. Acta Cytologica, 2012, 56(6):645-654.
- [23] Yang M, Shen H, Qiu C, et al. High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer[J]. Eur J Cancer, 2013, 49(3):604-615.
- [24] 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(16):1721-1726.
- [25] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers[J]. Nature, 2005, 435(7):834-838.

(收稿日期:2014-05-05)

• 综述 •

同型半胱氨酸与精神障碍疾病关系的研究进展

黄平 综述, 周元丽 审校

(天津市公安局安康医院检验科, 天津 300240)

关键词: 同型半胱氨酸; 精神障碍; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)23-3234-03

同型半胱氨酸又称高半胱氨酸(Hcy)是一种含硫氨基酸。1932 年由 De Vigneaud 发现, 其结构式为 $\text{HSCH}_2(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$ 。20 世纪 60 年代初首次在尿中被发现, 继而 1969 年 Mc Cully 最先将重度同型半胱氨酸血症与动脉粥样硬化疾病相联系, 至今在持续 80 余年的时间中, 世界各地的学者将此指标的研究应用于医学的诸多方向, 在先天性代谢缺陷疾病、心血管、脑血管、中风、老年痴呆、脑梗死、精神分裂症等疾病的研究中都能寻到 Hcy 的影子。本文主要针对 Hcy 与精神科疾病关系的近期研究进展综述如下。

1 Hcy 的来源

Hcy 是一种含硫基的非必须氨基酸, 体内不能合成, 来源于饮食中摄取的蛋氨酸(也叫甲硫氨酸)和半胱氨酸, 是蛋氨酸循环去甲基后形成的中间代谢产物, 也是半胱氨酸代谢的中间产物^[1]。人体内产生 Hcy 的主要场所是红细胞, 离体的血液在收缩凝固的过程中持续释放 Hcy 至细胞外^[2]。血清中的 Hcy 主要以与血清蛋白结合的形式存在, 小部分以游离的形式存在^[1]。

2 Hcy 的代谢

关于 Hcy 的代谢, 主要有以下几种途径。

2.1 外排途径 体内浓度过高时可以通过肾脏直接排出体外。所以有学者可以通过尿液可以检测到 Hcy 的存在, 提示

体内浓度过高。

2.2 再甲基化途径 即通过叶酸循环途径, 由甲基四氢叶酸作为甲基供体, VitB_{12} 作为辅因子, 在蛋氨酸合成酶的催化下形成 L-蛋氨酸。叶酸循环途径中的限速酶为 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)。

2.3 转硫化途径 由 VitB_6 依赖的胱硫醚 β -合成酶催化完成, 代谢产物进入三羧酸循环或由尿排除。

3 Hcy 的生理作用

近年来的研究发现, Hcy 参与着体内 DNA、蛋白质、去甲肾上腺素(NE)等重要生命物质的甲基化反应。通过转甲基作用能合成肌酸、肾上腺素、肉毒碱、脂类等多种含甲基的活性物质^[3], 也可通过去甲基化参与 NE, 多巴胺(DA)、蛋白质等形成的过程, 但其本身并不直接参与蛋白质的合成过程^[4]。其体内的含量与性别、年龄等的关系各家研究还不趋于一致^[5-6]。

4 Hcy 的精神病理作用

截止到目前, 研究学者认定 Hcy 是一种反应性血管损伤标志性氨基酸^[2], 并作为神经毒性物质可能通过影响中枢神经发育参与了精神疾病的致病^[7], 可能的原因如下。

血液中增高的 Hcy 可刺激血管壁引起动脉血管的损伤, 导致炎症和管壁斑块的形成, 与血管病密切相关^[1]; Hcy 在血浆中能自我氧化, 形成半胱氨酸混合二硫物, 与 LDL 发生聚