

## • 综述 •

## 微小 RNA 在胃癌中的研究进展

龙思泽 高采平 李良平

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一,发病率位居恶性肿瘤的第四位,死亡率位居癌症中的第二位<sup>[1]</sup>。胃癌的发生是一个多因素、多步骤的过程,包括癌基因、抑癌基因改变。临床上,胃癌因缺少特异性症状而早期诊断十分困难,手术切除是治疗胃癌的主要手段,但在晚期胃癌预后仍然很差。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是真核生物中一类长度约 22 nt 的单链非编码小分子 RNA,其编码基因存在于基因组的基因间隔区或内含子中,通过与互补或部分互补靶 mRNA 的 3' 末端非翻译区 (3'-UTR) 结合,参与基因转录后水平调控,在细胞发育、增殖、分化和肿瘤发生等生物学行为中发挥重要作用。目前已发现的人类 miRNA 超过 2000 个,它们调节着基因组内近三分之一的基因表达。越来越多的证据表明,miRNA 在人类肿瘤,包括胃癌的发生、发展中发挥着重要的作用。本文就 miRNA 在胃癌中的研究进展作一综述。

## 一、miRNA 在胃癌中的异常表达

在肿瘤形成中,部分 miRNA 在肿瘤中表达上调,属于有癌基因作用的 miRNA,而有些 miRNA 的表达下调,这些 miRNA 起到抑癌基因的作用。它们通过调控癌基因或抑癌基因和(或)控制细胞的增殖或凋亡途径来影响肿瘤的发展。miR-21 与各类肿瘤的关系研究得比较深入,有学者发现 miR-21 在 92% 的胃癌组织中表达上调<sup>[2]</sup>,其上游基因与下游基因可能分别为 NF-kappaB<sup>[3]</sup>、RECK<sup>[4]</sup>。Gao 等<sup>[5]</sup>发现,miR-218 在胃癌组织中表达下调,与 NF-kappaB 转录活性升高有关。Ueda 等<sup>[6]</sup>运用 miRNA 芯片对 184 例胃癌组织和 169 例非癌胃黏膜进行分析,发现胃癌组织中 miR-181d、miR-21、miR-25、miR-93、miR-106a、miR-135a-1、miR-106b、miR-20a、miR-224 等 22 种 miRNA 表达升高,而 miR-148a、miR-375、miR-29c、miR-152、miR-451 等 13 个 miRNA 表达降低,83% 癌和非癌标本可通过这些 miRNA 特征区分。

研究发现,miRNA 异常表达的机制受多种因子的调控及表观遗传机制的调节。miR-218 在胃癌中伴随其宿主基因 Slit 表达下调,负相调节靶基因 Robo1,而 Robo1 又是 Slit 的受体之一,从而形成负反馈调节环路,Slit-miR-218-Robo1 调节环路的断裂可能与肿瘤的转移有关<sup>[7]</sup>。一些抑癌性 miRNA 的沉默与 CpG 岛的高水平甲基化有关。Suzuki 等<sup>[8]</sup>研究发现,miR-34b 和 miR-34c 在胃癌中表达下调,他们的表达下调与 miRNA-34b/c 邻近 CpG 岛的高水平甲基化相关,而且多灶胃癌比单灶胃癌的甲基化水平更高。Hashimoto 等<sup>[9]</sup>分析经甲基化转移酶抑制剂 5-氮-2'-脱氧胞苷处理的胃癌细胞株 (KATO-III) 的 miRNA 表达改变,发现与非处理的细胞相比,5 种 miRNA 在处理中明显上调。

## 二、miRNA 与胃癌的发生发展机制

## 1. 细胞增殖:近年的研究发现,miRNA 可能通过抑制抑癌

基因、激活癌基因而促进细胞的增殖,导致肿瘤的形成。有学者发现,miR-544 在胃癌中表达升高,并靶向作用于抑癌基因 IRX1,使其低表达而失活,促进胃癌细胞的增殖<sup>[10]</sup>。Cho 等<sup>[11]</sup>发现,在 AGS 胃癌细胞中,抑制 miR-372 表达,能抑制癌细胞增殖,在 G2/M 阶段阻止细胞周期,增加 AGS 细胞的凋亡,进一步研究发现,miR-372 主要通过下调肿瘤抑制基因 LATS2,在控制细胞周期、细胞增殖、凋亡方面起致癌的作用。癌基因 JAK2 受 miR-375 负相调节,在胃癌细胞中,miR-375 表达下调,恢复 miR-375 表达,可抑制 JAK2 表达水平,从而抑制胃癌细胞增殖<sup>[12]</sup>。

2. 细胞凋亡:miRNA 表达异常可影响凋亡抑制基因与凋亡活化基因的表达,从而导致细胞凋亡障碍,与肿瘤的发生有关。Tsukamoto 等<sup>[13]</sup>研究发现,miR-375 在胃癌中表达下调,而 miR-375 具有靶向下调抗细胞凋亡基因 14-3-3zeta 和 PDK1 表达,维护细胞正常凋亡的功能,是胃癌的抑制因子之一。Gao 等<sup>[5]</sup>报道 miR-218 在胃癌组织表达降低,体外试验中,增加 miR-218 的表达能抑制 ECOP 活性,从而调节 NF-kappaB 的转录,增加细胞凋亡。MiR-21 作为一种致癌基因,在胃癌细胞株中表达升高,而运用 miR-21 抑制剂,能显著增加胃癌细胞凋亡<sup>[4]</sup>。

3. 侵袭和转移:Zhang 等<sup>[4]</sup>发现,miR-21 能增强胃癌细胞的侵袭能力,负相调节其靶基因 RECK。而 RECK 是一种肿瘤抑制基因,能调控 MMP9、MMP2 和 MMP14 来影响肿瘤转移和血管形成,是肿瘤发展环节上的重要调控分子,与肿瘤的预后相关<sup>[14]</sup>。Lo 等<sup>[15]</sup>发现 miR-370 在胃癌组织和胃癌患者血清中升高,并可以通过靶向下调 TGFbeta-R II,促进胃癌细胞的转移和侵袭。miR-218 在胃癌中表达下调可消除 Robo1 抑制,使 Robo1 表达增加,从而激活 Slit-Robo1 通路活性,引发肿瘤转移,相反,使 miR-218 表达水平恢复,在体内外均观察到其抑制肿瘤细胞的侵袭和转移的作用<sup>[7]</sup>。

## 三、miRNA 基因多态性与胃癌的易感性

miRNA 单核苷酸多态性可能影响 miRNA 的成熟作用,影响其介导的转录调节或 miRNA 表达等,从而增加胃癌的易感风险。一项研究评价 miR-196a-2 基因多态性 (rs11614913) 与胃癌风险之间的关系发现,miR-196a-2 的突变型纯合子 CC 基因型比野生型纯合子 TT、杂合子 CT 患胃癌的风险增加 ( $P=0.038$ ),分层分析显示,突变型纯合子 CC 基因型与胃癌淋巴结转移显著相关 ( $P=0.011$ )<sup>[16]</sup>。Sun 等<sup>[17]</sup>研究胃癌中 hsa-miR-27a 多态性 (rs895819) 与进展期胃癌的关系,并评价 rs895819 在影响 hsa-miR-27a 以及其靶基因 ZBTB10 表达上的效应,发现个体不同基因型 (AG + GG) 与 AA 型相比,胃癌的易感风险显著增加 ( $P=0.019$ ),且在农村、非吸烟老年男性 (>58 岁) 中最为显著,另外还发现,hsa-miR-27a 基因变异与淋巴结转移有关,hsa-miR-27a 基因突变型促使 miR-27a 表达增加,并抑制 ZBTB10 mRNA 表达,进而促进胃癌发生。

## 四、miRNA 与胃癌的诊断

1. 循环 miRNA 与胃癌诊断:虽然肿瘤组织 miRNA 表达与肿瘤发病及预后相关,但是检测技术复杂、创伤较大,难以应用

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.10.126

作者单位:637400 四川阆中市人民医院消化内科(龙思泽);四川省人民医院消化内科(高采平、李良平)

通讯作者:李良平,Email:llp0131@medmail.com.cn

于临床诊断。比较而言,外周血较易获得和检测,利于推广,受到学术界广泛重视,外周血 miRNA 作为一类肿瘤标记物的研究已成为目前 miRNA 研究的热点之一。Tsujiura 等<sup>[18]</sup>分析血浆 miRNA 表达发现,在大多数胃癌标本中,血浆 miRNA 反映了肿瘤 miRNA,miRNA 的水平在手术治疗后明显降低,而在大规模的分析中,miR-17-5p、miR-21、miR-106a、miR-106b 的血浆浓度在胃癌患者中较对照组显著增高,然而 let-7a 在胃癌患者中显著降低( $P=0.002$ ),血浆 miR-106b/miR-106a/let-7a 比值作为肿瘤标记物检测胃癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.721、0.879。有研究<sup>[19]</sup>通过检测胃癌患者和无肿瘤对照组血清 miRNA 表达发现血清中多种 miRNA 升高,其中 miR-1、miR-20a、miR-27a、miR-34 和 miR-423-5p 五种 miRNA 表达升高可作为检测胃癌的分子标志,并且发现,这 5 种血清 miRNA 表达水平与胃癌的分期有关。

血清中 miRNA 来源和稳定表达的机制尚未完全明了。目前的研究普遍认为,主要来源于组织细胞的主动分泌过程,成熟的 miRNA 在细胞内被脂质或脂蛋白包被成外核体(Exosome),保护其免被 RNA 酶的降解,然后分泌至胞外并进入血液,而外核体运用胞吞、胞吐作用,在细胞与细胞间交流、靶向转运蛋白质、mRNA、miRNA 等物质中有十分重要的作用<sup>[20-21]</sup>。体外试验中,Ohshim 等<sup>[22]</sup>通过分离胃癌细胞株 AZ-P7a 的外核体并进行 miRNA 检测,也证实了外核体中 miRNA 的存在。另有研究认为,血清中 miRNA 可能来源于死亡细胞,并在血清中与 Ago 蛋白形成 Ago-miRNA 复合物从而保持其血清中的高稳定性<sup>[23]</sup>。

2. miRNA 与胃癌的预后:近年的研究显示,miRNA 表达异常与多种血液的和固体肿瘤的预后有关,可成为胃癌患者的预后估计指标。Li 等<sup>[24]</sup>运用一个 7 种 miRNA(miR-10b、miR-21、miR-223、miR-338、let-7a、miR-30a-5p、miR-126)组合来评估胃癌患者的预后,显示该 7 种 miRNA 组合与胃癌患者的无复发生存和总体生存密切相关,可作为一种独立的总体生存和无复发生存的预测指标。另有研究<sup>[6]</sup>发现 miR-125b、miR-199a、miR-100 与肿瘤的进展相关,let-7g 和 miR-433 的低表达及 miR-214 的高表达与肿瘤不良预后有关。Tchernitsa 等<sup>[25]</sup>研究胃癌组织及邻近正常组织的 miRNA 的表达发现,有 6 种 miRNA(miR-103、miR-21、miR-145、miR-106、miR-146a、miR-148a)在区分有无淋巴结转移方面有重要意义,独立的与患者的预后有关。

### 五、miRNA 与胃癌治疗

1. 以 miRNA 为基础的胃癌治疗:胃癌的治疗目前仍以手术治疗为主,作为胃癌的辅助治疗的研究,以 miRNA 为基础的基因治疗具有较好的前景,多国学者都进行了探索。有学者通过阻断或增强人类胃癌细胞株 SGC7901 miR-221 和 miR-222 的表达,发现 miR-221 和 miR-222 的上调诱导 SGC7901 恶性表型,而阻断 miR-221 和 miR-222 可通过诱导 PTEN 表达逆转其恶性表型,增加 SGC7901 细胞的放射敏感性,抑制癌细胞的增殖和侵袭,可作为有潜力的治疗靶点<sup>[26]</sup>。Takei 等<sup>[27]</sup>的研究发现,miR-516-3p 是一种抗肿瘤转移的 miRNA,在小鼠腹膜转移模型中,植入稳定高表达 miR-516-3p 的 44As3 细胞的裸鼠,其转移相关分子表达更低,具有更长的生存期,通过端蛋白介导将 miR-516-3p 表达载体植入 44As3 肿瘤也证实了其作为治疗介质的可行性,可能作为一种阻断胃癌转移的治疗方法。研究显示,ERBB2 是抑癌基因 miR-125a-5p 的直接靶基因,将 ERBB2 的单克隆抗体曲妥单抗联合 miR-125a-5p 前体,显示出更强的生长抑制效应,有望作为一个新的胃癌治疗方法<sup>[28]</sup>。

表观遗传治疗主要是运用甲基化抑制剂和组蛋白脱乙酰化

酶抑制剂,使沉默的基因激活而重新表达,包括沉默的抑癌性 miRNA,从而达到治疗肿瘤目的。miR-34b/c 在胃癌中表达下调,用甲基化转移酶抑制剂(5-氮-2'-脱氧胞苷和 4-丁酸苯酯)处理胃癌细胞后,miR-34b/c 表达可恢复,进而可抑制胃癌细胞生长<sup>[8]</sup>。Saito 等<sup>[29]</sup>研究 miRNA 在胃癌表观遗传治疗中作用发现,DNA 的去甲基化以及组蛋白脱乙酰化酶抑制剂能通过 RNA 聚合酶 II 激活沉默的 miR-512-5p,从而诱导 Mcl-1 的抑制,导致胃癌细胞的凋亡,提示通过表观遗传干预 miRNA 可能作为一种新的胃癌治疗方法。

2. miRNA 与胃癌的耐药:miRNA 可以对胃癌的耐药基因进行调节,影响化疗药物的治疗作用。Xia 等<sup>[30]</sup>研究发现,miR-15b 和 miR-16 在人类长春新碱耐药细胞亚系 SGC7901/VCR 胃癌细胞株中表达下调,转染 miR-15b 或 miR-16 前体使其表达上调,可增加 SGC7901/VCR 细胞对抗肿瘤药物的敏感性,而抑制其表达即出现多药物耐药(MDR)现象,在这一过程中,miR-15b 和 miR-16 表达与 bcl-2 的表达呈负相关,提示 miR-15b 和 miR-16 可能通过靶向作用于 bcl-2 调节细胞凋亡,与胃癌细胞 MDR 的发生有关。有学者发现<sup>[31]</sup>,包括 miR-196a、miR-200 家族、miR-338、miR-126、miR-31、miR-98、let-7g、miR-7 在内的 25 个 miRNAs 在羟喜树碱耐药的胃癌细胞株中表达下调,其变化特点有益于识别对羟喜树碱不同敏感性的细胞株。

### 六、展望

近年来,miRNA 的研究已取得了一定的进展,胃癌中异常 miRNA 筛选及其靶点、调控网络的鉴定将有助于阐明胃癌的发生、发展机制,目前还有待进一步的探索。血清及血浆 miRNA 检测的损伤小、稳定性好、灵敏度高,可作为分子生物标记,在胃癌诊断、预后估计等方面有着巨大的潜力。以 miRNA 为靶点或者以 miRNA 为手段的基因治疗,为胃癌的治疗提供了新的思路,可能会成为未来肿瘤治疗方案的组成部分之一。miRNA 对药物疗效的影响的研究,将有助于阐明胃癌耐药机制,在指导胃癌药物治疗方面具有重要的意义。总之,随着人们对 miRNA 的深入认识,miRNA 在胃癌乃至所有人类肿瘤的诊断、治疗领域,可能发挥重要的作用。

### 参 考 文 献

- [1] Danaei G, Vander HS, Lopez AD, et al. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet*, 2005, 366: 1784-1793.
- [2] Chan SH, Wu CW, Li AF, et al. miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association. *Anticancer Res*, 2008, 28: 907-911.
- [3] Shin VY, Jin H, Ng EK, et al. NF-kappaB targets miR-16 and miR-21 in gastric cancer; involvement of prostaglandin E receptors. *Carcinogenesis*, 2011, 32: 240-245.
- [4] Zhang Z, Li Z, Gao C, et al. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. *Lab Invest*, 2008, 88: 1358-1366.
- [5] Gao C, Zhang Z, Liu W, et al. Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer. *Cancer*, 2010, 116: 41-49.
- [6] Ueda T, Volinia S, Okumura H, et al. Relation between microRNA expression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis. *Lancet Oncol*, 2010, 11: 136-146.
- [7] Tie J, Pan Y, Zhao L, et al. MiR-218 inhibits invasion and metastasis of gastric cancer by targeting the Robo1 receptor. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1000879.
- [8] Suzuki H, Yamamoto E, Nojima M, et al. Methylation-associated silencing of microRNA-34b/c in gastric cancer and its involvement in an

- epigenetic field defect. *Carcinogenesis*, 2010, 31:2066-2073.
- [9] Hashimoto Y, Akiyama Y, Otsubo T, et al. Involvement of epigenetically silenced microRNA-181c in gastric carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 2010, 31:777-784.
- [10] Zhi Q, Guo X, Guo L, et al. Oncogenic miR-544 is an Important Molecular Target in Gastric Cancer. *Anticancer Agents Med Chem*, 2012.
- [11] Cho WJ, Shin JM, Kim JS, et al. miR-372 regulates cell cycle and apoptosis of ags human gastric cancer cell line through direct regulation of LATS2. *Mol Cells*, 2009, 28:521-527.
- [12] Ding L, Xu Y, Zhang W, et al. MiR--375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. *Cell Research*, 2010, 20:784-793.
- [13] Tsukamoto Y, Nakada C, Noguchi T, et al. MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta. *Cancer Res*, 2010, 70:2339-2349.
- [14] Oh J, Takahashi R, Kondo S, et al. The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell*, 2001, 107:789-800.
- [15] Lo SS, Hung PS, Chen JH, et al. Overexpression of miR-370 and downregulation of its novel target TGFbeta-R II contribute to the progression of gastric carcinoma. *Oncogene*, 2012, 31:226-237.
- [16] Peng S, Kuang Z, Sheng C, et al. Association of microRNA-196a-2 gene polymorphism with gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci*, 2010, 55:2288-2293.
- [17] Sun Q, Gu H, Zeng Y, et al. Hsa-mir-27a genetic variant contributes to gastric cancer susceptibility through affecting miR-27a and target gene expression. *Cancer Sci*, 2010, 101:2241-2247.
- [18] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer*, 2010, 102:1174-1179.
- [19] Liu R, Zhang C, Hu Z, et al. A five-microRNA signature identified from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis. *Eur J Cancer*, 2011, 47:784-791.
- [20] El-Hefnawy T, Raja S, Kelly L, et al. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics. *Clin Chem*, 2004, 50:564-573.
- [21] Pegtel DM, Cosmopoulos K, Thorley-Lawson DA, et al. Functional delivery of viral miRNAs via exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107:6328-6333.
- [22] Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, et al. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PLOS ONE*, 2010, 5:e13247.
- [23] Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, et al. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39:7223-7233.
- [24] Li X, Zhang Y, Zhang Y, et al. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut*, 2010, 59:579-585.
- [25] Tchernitsa O, Kasajima A, Schafer R, et al. Systematic evaluation of the miRNA-ome and its downstream effects on mRNA expression identifies gastric cancer progression. *J Pathol*, 2010, 222:310-319.
- [26] Chun-Zhi Z, Lei H, An-Ling Z, et al. MicroRNA-221 and microRNA-222 regulate gastric carcinoma cell proliferation and radioresistance by targeting PTEN. *BMC Cancer*, 2010, 10:367.
- [27] Takei Y, Takigahira M, Mihara K, et al. The metastasis-associated microRNA miR-516a-3p is a novel therapeutic target for inhibiting peritoneal dissemination of human scirrhous gastric cancer. *Cancer Res*, 2011, 71:1442-1453.
- [28] Nishida N, Mimori K, Fabbri M, et al. MicroRNA-125a-5p is an independent prognostic factor in gastric cancer and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in combination with trastuzumab. *Clin Cancer Res*, 2011, 17:2725-2733.
- [29] Saito Y, Suzuki H, Tsugawa H, et al. Chromatin remodeling at Alu repeats by epigenetic treatment activates silenced microRNA-512-5p with downregulation of Me1-1 in human gastric cancer cells. *Oncogene*, 2009, 28:2738-2744.
- [30] Xia L, Zhang D, Du R, et al. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. *Int J Cancer*, 2008, 123:372-379.
- [31] Wu XM, Shao XQ, Meng XX, et al. Genome-wide analysis of microRNA and mRNA expression signatures in hydroxycamptothecin-resistant gastric cancer cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32:259-269.

(收稿日期:2012-10-23)

(本文编辑:马超)

龙思泽,高采平,李良平.微小RNA在胃癌中的研究进展[J/CD].中华临床医师杂志:电子版,2013,7(10):4499-4501.