

## 微小 RNA 与胃癌

田树波, 于健春, 康维明, 马志强, 叶欣, 曹战江

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院基本外科, 北京 100730

通信作者: 于健春 电话: 010-69152213, 电子邮件: yu-jch@163.com

**摘要:** 胃癌的发生是基因和环境共同作用的结果。微小 RNA (miRNA) 分子可以调控细胞的增殖、分化和凋亡等过程, 并对胃癌的发生、发展发挥重要的调节作用。近年来, miRNA 与胃癌的相关性研究不断深入, 从 miRNA 表达谱研究、miRNA 与表观遗传相互调控及幽门螺杆菌感染相关 miRNA 等方面揭示了 miRNA 在胃癌发生发展中的作用。miRNA 在血液中有高稳定性, 循环 miRNA 无创诊断胃癌有着广阔的应用前景。

**关键词:** 微小 RNA; 胃癌; 表观遗传

中图分类号: R604 文献标志码: A 文章编号: 1000-503X(2014)02-0214-04

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2014.02.020

## MicroRNA and Gastric Cancer

TIAN Shu-bo, YU Jian-chun, KANG Wei-ming, MA Zhi-qiang, YE Xin, CAO Zhan-jiang

Department of General Surgery, PUMC Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730, China

Corresponding author: YU Jian-chun Tel: 010-69152213, E-mail: yu-jch@163.com

**ABSTRACT:** Gastric cancer is caused by the interaction of genetic and environmental factors. MicroRNA (miRNA) is involved in many cellular processes including proliferation, differentiation, and apoptosis and plays an important role in pathogenesis of gastric cancer, as demonstrated in many recent studies from perspectives including miRNA profiling, reciprocal modulation between epigenetic and miRNA, and *Helicobacter pylori* infection. MiRNA is highly stable in blood, and therefore non-invasive diagnosis of gastric cancer using circulating miRNA may be promising.

**Key words:** microRNA; gastric cancer; epigenetic

*Acta Acad Med Sin*, 2014,36(2):214-217

胃癌是我国常见的消化道肿瘤, 其恶性程度较高, 预后差。早期诊断、早期治疗是提高患者生存质量、降低病死率的唯一途径。胃镜加病理活检是目前公认的最有效的胃癌检出方法。血清肿瘤标志物检测方便、容易接受, 是目前常用的检测指标。但是由于常用的癌胚抗原等肿瘤标志物敏感性及特异性较差, 所以急需寻找胃癌敏感的分子标志物<sup>[1]</sup>。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类由内源基因编码的长度

约为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子, 它们在动植物中参与转录后基因表达调控<sup>[2]</sup>。现在已经明确每个 miRNA 可以有多个靶基因, 而一个靶基因也可以受控于多个 miRNA, 这种复杂的调节网络使 miRNA 和基因的关系密切联系在一起<sup>[3]</sup>。近年研究表明, miRNA 可稳定存在于血浆等体液中, 有可能作为一种新的生物标志物用于临床, 有助于诊断疾病或判断疾病预后<sup>[4]</sup>。

基金项目: 北京市自然科学基金 (7132209) Supported by Beijing Municipal Natural Sciences Foundation (7132209)

miRNA 在调节基因功能方面发挥重要作用, 其几乎参与到生物体的各个过程, 如细胞增殖、凋亡、分化、代谢和上皮间质转化, 同时, 其与肿瘤的形成亦有较大的关系。miRNA 在胃癌组织中表达谱与正常组织有较大差异, 其在胃癌的发生发展过程中涉及表观遗传学等多方面。同时, 血浆游离 miRNA 亦是近年研究的热点。

### miRNA 在胃癌的表达谱

基因高通量技术的实现, 使对 miRNA 有了更深层次的认识。不同的肿瘤其 miRNA 的表达谱不同, 肿瘤组织与相对应的正常组织表达谱也不同, 由此可以区别不同肿瘤的胚胎起源。肿瘤发展的不同阶段其 miRNA 的表达谱亦不相同。孙铁为等<sup>[5]</sup>采用基因芯片技术检测了 52 例胃癌组织、7 例癌旁正常胃组织的 miRNA 的表达, 经分析, 表达有差异的 miRNA 共 54 个, 其中有 23 个 miRNA 上调, 如 miR-21、miR-30b 等; 31 个 miRNA 下调, 如 miR-429、miR-200 等。王霖沛等<sup>[6]</sup>分析了 72 例胃癌组织及其相应胃上皮组织标本, 同样采用微阵列技术检测胃癌 miRNA 表达谱, 结果显示与胃正常上皮组织相比, 胃癌中表达上调超过 2 倍的 miRNA 有 7 个, 分别为 miR-374b、miR-Plus-E1212、miR-338-5p、miR-297、miR-135b、miR-18a, 差异均具有统计学意义; 表达下调超过 2 倍的 miRNA 有 9 个, 分别为 miR-29b-2、miR-1260、miRPlus-E1241、miR-S1-5p、miR-148a、miR-29c、miR-647、miR-196b、ebv-miR-BART5, 差异具有统计学意义。Brenner 等<sup>[7]</sup>分析了 1995 至 2005 年 45 例行胃癌根治术的患者, 均未行术前及术后的化疗, 术后观察 36 个月后将这些患者分为两组, 胃癌复发的患者 (预后差组, 14 例, 占 31%) 和未复发的患者 (预后好组, 31 例, 占 69%)。胃癌组织样本分别用福尔马林固定及石蜡包埋后提取总的 RNA, 用 miRNA 微阵列技术测定各个样本的 miRNA 表达水平, 分析后显示 3 条 miRNA, 分别为 miR-451、miR-199a-3p 和 miR-195, 在两组患者中表达差异具有统计学意义, 且高表达的 miRNA 与较差的肿瘤预后明显相关。其中, miR-451 对于预测良好的结局最具有意义。另有研究表明, miRNA 的表达在不同病理类型的胃癌中差异具有统计学意义, 肠型胃癌与弥漫型胃癌其 miRNA 表达谱亦不相同。聚类分析表明, 8 条 RNA 包括 miR-100、miR-143 和 miR-145 等在弥漫型胃癌中明显上调, 而 miR-202、miR-373、

miR-494 和 miR-498 在肠型胃癌中明显上调<sup>[8]</sup>。表明胃癌相对于癌旁正常组织存在差异表达的 miRNA, 而这些 miRNA 可能参与胃癌的发生、发展。当然, miRNA 芯片实验中也有可能存在误差, 这是因为在样本的收集、保存、提取、芯片杂交等诸多过程中, 容易受到外界因素的影响, 会出现 RNA 的降解或污染, 以致于不同的实验组分析 miRNA 表达谱中有所不同。miRNA 参与肿瘤发生的很多阶段, 且不如蛋白标志物那样稳定, 对 miRNA 更准确的测定尚需更敏感、可靠的技术。

### miRNA 与表观遗传的相互调控 在胃癌发生发展中的应用

DNA 甲基化和组蛋白修饰等表观遗传机制是胃癌发生发展的重要原因, 表观遗传是指 DNA 序列不发生变化而基因表达却发生了可遗传的改变, 最重要的是 CpG 岛甲基化所致抑癌基因转录失活和 N 端结构域转录后修饰使 DNA 甲基化和组蛋白修饰。miRNA 在基因表达的遗传学调控中发挥重要作用, 而表观遗传在调控 miRNA 的表达中同样发挥重要作用, 二者之间相互作用调控胃癌的发生。

Tsukamoto 等<sup>[9]</sup>证实在胃癌细胞系 NUGC3 中加入 DNA 甲基化抑制剂和 (或) 组蛋白乙酰化抑制剂, 可通过恢复 miRNA-375 的表达进而抑制细胞的增殖, 提示表观遗传学可能参与 miRNA-375 的表达调控。Li 等<sup>[10]</sup>研究 miRNA-338-3p 和表观遗传相互调控对胃癌的发生发展的关系, 实验用微阵列技术检测了胃癌组织与相应癌旁正常组织中的 miRNA 表达谱, 发现 miRNA-338-3p 在胃癌组织中低表达, 且与胃癌的临床病理类型密切相关, 低表达预示着胃癌的分期越晚, 越有可能出现淋巴结的转移; 应用 5-氮杂胞嘧啶处理后引起 miRNA 明显的去甲基化, miR-338-3p 水平升高, 结果显示肿瘤细胞恢复 miR-338-3p 表达后, 可明显抑制肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭, 从而证实 miR-338-3p 在胃癌中发挥抑制因子的作用, 甲基化状态的 miR-338-3p 可作为胃癌潜在的诊断分子。

miRNA 表达水平的差异意味着肿瘤的发生, 而 miRNA 的沉默表达与 CpG 岛的甲基化有关。Suzuki 等<sup>[11]</sup>的研究显示 miR-34b 和 miR-34c 在胃癌中为表观遗传沉默状态, 主要原因是 miR-34b/c 临近 CpG 岛的甲基化, 同样在胃癌细胞系实验中也能观察到这种现象, 而幽门螺杆菌表达阴性的正常胃黏膜组织未发现

这种甲基化, 当把 miR-34b 和 miR-34c 的前体转染至胃癌细胞中, 可以明显抑制肿瘤细胞的生长和改变基因的表达谱。因此, 甲基化的 miR-34b/c 有可能作为一个有前景的分子标志物, 恢复其表达可以作为一个有效的治疗肿瘤的方法。

### 幽门螺杆菌与 miRNA

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 感染是胃癌发病的主要原因<sup>[12]</sup>, miRNA 同样被证实与胃癌的发生有关系。HP 感染可以影响肿瘤相关 miRNA 的表达, 目前已经发现胃癌中与 HP 感染相关的 miRNA 大致可分为上调和下调两类。上调的如 miR-21、miR-146a、miR-155 等, 下调的有 let-7 家族、miR-31/32、miR-101 等。Xiao 等<sup>[13]</sup> 研究显示, HP 感染通过核转录因子- $\kappa$ B 和促进转录激活蛋白-1 信号转导通路促使胃黏膜上皮的 miR-155 水平上调, 同样, miR-155 下调白介素-8 和生长相关癌基因- $\alpha$  的释放。所以, miR-155 可能是作为 HP 感染过程中免疫应答的媒介。

Liu 等<sup>[14]</sup> 研究表明, HP 感染胃上皮细胞后能够诱导 miR-146a 的表达, 实验用 HP 重组蛋白、全菌蛋白、培养上清及 HP 感染相关炎性细胞因子刺激胃上皮细胞, 结果显示炎性因子白介素-8、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白介素-1 $\beta$  能够刺激胃上皮细胞 miR-146a 的表达, 而 miR-146a 启动子荧光素酶实验结果表明, HP 感染过程中, 核转录因子- $\kappa$ B 在 miR-146a 的诱导表达中发挥重要的作用。所以, miR-146a 可以视为一类新的负反馈因子, 参与 HP 感染的炎症反应的调节过程。miRNA 在 HP 感染的起始和进展过程中发挥着重要的作用, 但是, HP 导致胃炎进而导致胃癌发生的机制仍不明确, 需要更深入的研究来明确此机制。

### 循环 miRNA 与胃癌的诊断

miRNA 分子同已知的循环核酸 (DNA 和 RNA) 一样, 广泛存在于正常人和不同患者血清和血浆中, 并且随着生理状况、疾病的种类和病程的不同, miRNA 分子在血清和血浆中存在的数量和种类也不相同。目前的观点认为, 循环 miRNA 主要来自凋亡的细胞、细胞释放的 miRNA 入血以及循环细胞的裂解。血液中的 miRNA 分子有着良好的稳定性, 采用常规的实时定量 PCR 方法即可测到。循环 miRNA 在生物体中有重要的作用, 其有希望作为良好的肿瘤标志物, 而理想的循

环 miRNA 标志物应在肿瘤细胞中高表达。

Li 等<sup>[15]</sup> 应用常规的实时定量 PCR 方法, 检测了 30 例早期胃癌术前、术后和 70 例正常健康人的血液 miRNA-199a-3p 的表达, 结果表明早期胃癌患者血液 miRNA-199a-3p 的表达量明显高于正常人及处于癌前病变的患者, 而术后与术前相比, miRNA-199a-3p 的表达量明显下降, 其在血浆中的表达量与肿瘤侵犯的程度无关, 血浆中 miRNA-199a-3p 表达预测早期胃癌的敏感性、特异性及准确性分别为 76%、74% 和 75%。由此, 血浆 miRNA-199a-3p 可以作为诊断早期胃癌的一个新型的标志物。Komatsu 等<sup>[16]</sup> 回顾性分析了 2008 至 2009 年行手术治疗的 69 例胃癌患者血浆的 miRNA 浓度和预后之间的关系, 血清 miRNA 主要检测的是 miR-17-5p、miR-21、miR-106a 和 miR-106b, 结果表明血浆 miR-21 的高浓度和 miR-106a 的低浓度与术后患者低生存率明显相关, 而血浆 miR-17-5p 和 miR-106b 的浓度与胃癌的预后无相关性。术前检测血浆 miR-21 高浓度的胃癌患者提示其发生血管转移的可能性大, 多因素分析提示, 血浆 miR-21 浓度是胃癌的独立预后因素。Liu 等<sup>[17]</sup> 采取 20 例胃癌患者的血浆为研究组, 另采取 20 例年龄、性别相似的无肿瘤患者的血浆作为对照组, 对两组样品首先采用 Solexa 全基因测序方法检测血液表达的 miRNA, 结果表明相对于对照组, 胃癌患者血浆 19 种 miRNA 明显上调, 常规的实时定量 PCR 进一步对上调的 miRNA 分析, 提示 5 种 miRNA (miR-1、miR-20a、miR-27a、miR-34 和 miR-423-5p) 可以作为胃癌诊断的生物标志物, 且和肿瘤的分期相关, 另外, 诊断分析结果显示, 5 种 miRNA 联合描绘的受试者工作特征曲线下面积为 0.879, 明显高于其他的蛋白标记物如癌胚抗原 (0.503) 和糖类抗原 19-9 (0.600), 表明 miRNA 联合检测对于诊断胃癌的准确性更高, 相对于传统的蛋白分子标志物, miRNA 也有着明显的优势。以上研究主要集中在 miRNA 分子用于胃癌的诊断方面, 其已经显示了良好的应用前景。miRNA 标志物将成为疾病发生发展相关基因标志物、蛋白标志物和代谢物标志物中的结合点, 可以更好地认识肿瘤发生机制, 从而提供肿瘤诊断的组合物标志物。随着循环 miRNA 检测方法的标准化和机制的逐渐阐明, 循环 miRNA 将有更广阔的应用前景。

综上, 随着研究的不断深入, 越来越多的 miRNA 分子被发现。在胃癌的形成和发展过程中, 人们逐渐认识到 miRNA 癌基因、抑癌基因及与胃癌发生、发展的作用。miRNA 可以调控多个基因的表达, 一个基因

同样受多个 miRNA 的调节, 他们之间是“多对多”的关系。虽然 miRNA 的研究有了较大的进展, 但仍有领域未被认识, 例如更准确预测靶基因的方法、miRNA 控制靶基因蛋白的过程等, 这些在胃癌和正常组织中表达有差异的 miRNA 可能成为临床上有效的靶点。敲除致癌的 miRNA 或者补充抑癌的 miRNA 使之高表达都可以发挥抑制肿瘤生长的作用, 相信随着胃癌特异性的 miRNA 的靶基因及其调控机制的进一步明确, 可以利用更特异的 miRNA 发现胃癌、指导胃癌的治疗。

### 参 考 文 献

- [1] Wang F, Sun GP, Zou YF, et al. MicroRNAs as promising biomarkers for gastric cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2012, 11(6):259-267.
- [2] Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease [J]. *Dev Cell*, 2006, 11(4):441-450.
- [3] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4):259-269.
- [4] Allegra A, Alonci A, Campo S, et al. Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review) [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(6):1897-1912.
- [5] 孙铁为, 陈晓宁, 刘军, 等. 胃癌中微小 RNA 表达谱及 miR-429 表达水平的研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2012, 29(3):385-387.
- [6] 王霖沛, 马筱秋, 蔡建春. 微小 RNA-135b 在胃癌发生发展中的临床病理意义及其作用 [J]. *中华医学杂志*, 2012, 92(46):3269-3273.
- [7] Brenner B, Hoshen MB, Purim O, et al. MicroRNAs as a potential prognostic factor in gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(35):3976-3985.
- [8] Ueda T, Volinia S, Okumura H, et al. Relation between microRNA expression and progression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(2):136-146.
- [9] 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 [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6):2339-2349.
- [10] Li P, Chen X, Su L, et al. Epigenetic silencing of miR-338-3p contributes to tumorigenicity in gastric cancer by targeting SSX2IP [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e66782.
- [11] 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 [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(12):2066-2073.
- [12] Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer [J]. *N Engl J Med*, 2001, 345(11):784-789.
- [13] Xiao B, Liu Z, Li BS, et al. Induction of microRNA-155 during Helicobacter pylori infection and its negative regulatory role in the inflammatory response [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(6):916-925.
- [14] Liu Z, Xiao B, Tang B, et al. Up-regulated microRNA-146a negatively modulate Helicobacter pylori-induced inflammatory response in human gastric epithelial cells [J]. *Microbes Infect*, 2010, 12(11):854-863.
- [15] Li C, Li JF, Cai Q, et al. MiRNA-199a-3p: a potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2013, 108(2):89-92.
- [16] Komatsu S, Ichikawa D, Tsujiura M, et al. Prognostic impact of circulating miR-21 in the plasma of patients with gastric carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(1):271-276.
- [17] 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 [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(5):784-791.

(收稿日期: 2013-12-13)