·综述·

微小 RNA 在食管癌中的研究进展

彭兵锋　凌志强　毛伟敏

摘要：微小 RNA(miRNA)是一类长度约为 17～25 个核苷酸的单链非编码 RNA，研究表明 miRNA 参与众多肿瘤的发生发展过程。食管癌是常见的易导致死亡的肿瘤之一，有文献指出 miRNA 异常表达与食管癌的发生、进展及预后等相关。miRNA 还能起癌基因或抑癌基因的作用，对食管癌进行调控。此文就 miRNA 在食管癌中的研究进展作一综述。

关键词：miRNA；食管癌；表达；调控

DOI：10.3969/j.issn.1673-534X.2011.06.005

微小 RNA(miRNA)是近年发现的一组天然丰富的 RNA，长度约 17～25 个核苷酸。首个已知的 miRNA 是 lin-4，它是通过对线虫基因 lin-4 的研究发现的[1]。miRNA 在细胞的凋亡、增殖、分化和新陈代谢等生理和病理过程中都发挥着重要作用，有研究[2]表明，miRNA 具有高度的组织特异性生物标记，具有潜在的临床实用性，如确定肿瘤的发生和类型等。有文献[3]指出，miRNA 对肿瘤有促进或抑制作用，即扮演癌基因或抑癌基因的角色，参与肿瘤的发生与发展。食管癌是世界常见恶性肿瘤之一，也是世界范围内导致死亡的肿瘤之一，男性较女性高发。不同地区食管癌的发病率明显不同，如中国北部为高发地带，发病率超过 100/10 000，而非洲西部发病率很低，不到 5/10 000。在中国高发地区河南省，食管癌是导致死亡的主要因素[4]。鳞状细胞癌(ESCC)和腺癌(EAC)是食管癌的两个主要病理类型，具有各自的病原学和病理学特异性。在中国，ESCC 是主要病理类型，而 EAC 则主要发生于西方国家[5]。

1　miRNA 在食管癌中的表达

miRNA 的表达谱能对食管癌的组织类型进行分类，并能区分肿瘤组织和正常组织。miRNA 的表达也能有效辨别高危险性的 Barrett 食管(BE)向 EAC 进展的患者，miRNA 与食管癌的发生相关的理论具有潜在的临床应用性，可作为一个预后的指标及确定新的药物靶向治疗。

1.1　miRNA 的表达与食管癌的组织类型

为避免由 BE 患者带来的不同表达，Mathe 等[6]只搜集了来自美国、加拿大、日本的 4 个临床研究中心的 100 例 EAC 和 70 例 ESCC 组织及它们对应的癌旁正常组织，并对两组组织进行芯片分析，结果显示 EAC 患者癌组织中 miR-21、miR-223、miR-192 和 miR-194 高表达，相对于正常组织，miR-203 在癌组织中低表达。ESCC 患者癌组织中 miR-21 较正常组织高表达，miR-75 则低表达；相对于 ESCC 患者的癌组织，miR-194 和 miR-375 在 EAC 患者癌组织中高表达；对 EAC 和 ESCC 患者癌组织进行实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)分析，结果显示 miR194 的表达升高量 EAC∶ESCC = 4.59，miR375 的表达升高量 EAC∶ESCC = 6.41。

1.2　miRNA 表达与食管疾病进展

为调查 miRNA 在 BE 和食管癌中的表达，从而鉴定食管疾病进展的潜在标志，Feber 等[7]对 35 个冰冻样本，包含 10 个 EAC 组织、10 个 ESCC 组织、9 个正常上皮(NSE)组织、5 个 BE 组织和一个重度不典型增生(HGD)组织中 miRNA 的表达送至 Ambion Bioarrays 公司进行分析。结果分成 4 个分支，对应 4 个相应组织群：(1)7 个 NSE 和 1 个 ESCC；(2)7 个 ESCC 和 1 个 NSE；(3)4 个 BE 和 1 个 ESCC；(4)所有 EAC 和各 1 个 BE、NSE、ESCC、HGD。监督聚类和主成分分析法显示，NSE 较近似于 ESCC，BE 较近似于 EAC。样本类型的配对比较结果显示，miR-203 和 miR-205 在 ESCC 和 EAC 中的表达比在 NSE 中低 2～10 倍，而在食管癌中 miR-21 的表达则比在 NSE 中高 3～5 倍，表明 miRNA 可能是肿瘤进展的标志。

Yang 等[8]对 16 例诊断为低度不典型增生(LGD)或 HGD 的 BE 或 EAC 患者的 32 对病变或正常组织中的 470 个人类 miRNA 进行研究，利用 BRB-Array 法中的分组对照模式，确定了从 LGD 到 HGD 过程中的 11 个重要的 miRNA，其中 5 个 miRNA（hsa-miR-200a、hsa-miR-513、hsa-miR-

基金项目：浙江省科技计划(2009C33143)；卫生部重大科研基金项目(WKJ2010-2-004)

作者单位：310022　杭州，浙江省肿瘤医院浙江省肿瘤研究所肿瘤分子遗传研究室

通信作者：凌志强，E-mail：lingzq@hotmail.com

125b、hsa-miR-101 和 hsa-miR-197）高表达，6 个 miRNA（hsa-miR-23b、hsa-miR-20b、hsa-miR-181b、hsa-miR-203、hsa-miR-193b 和 hsa-miR-636）低表达。7 个 miRNA 可能参与从 HGD 到 EAC 的转变，且均在 EAC 中低表达，包括 4 个 let-7 miRNA 家族成员（hsa-let-7b、hsa-let-7a、hsa-let-7c，hsa-let-7f）和 3 个 miRNA（hsa-miR-345、hsa-miR-494、hsa-miR-193a）。

1.3 miRNA 的表达与食管癌的预后

有研究指出，miRNA 的表达在食管癌的预后中起着重要作用。Guo 等[9]对食管癌组织中的 miRNA 进行芯片分析，结果显示 miR-103 和 miR-107的高表达均与 53 例中国食管癌患者的低生存率有关。

Ogawa 等[10]对 30 例日本 ESCC 患者组织标本中的 73 个 miRNA 的表达进行 qRT-PCR 定量分析，Kaplan-Meier 生存曲线显示 72 个 miRNA 的高表达与患者的生存率有关；其中 miR-129 的高表达造成的早期死亡率为低表达者的 18.11 倍，表明 miR-129 的高表达对 ESCC 的预后起着重要作用，因此 miR-129 被定义为手术后 ESCC 患者有价值的独立的预后标志。另有研究[6]表明，ESCC 患者正常组织中 miR-155 表达水平升高或癌组织中 miR-223 表达降低可能与预后不良有关。

Nguyen 等[11]用 qRT-PCR 测量 58 例 BE 和 35 例 EAC 患者的病变组织及对应正常组织中的 23 个炎症相关基因的表达，利用多元线性回归分析将这些数据建立起炎症危险模型，发现 miRNA-375 的表达促进炎症基因的表达，干扰素-γ（IFN-γ）、白细胞介素-1α（IL-1α）、IL-8、IL-21、IL-23 和黏蛋白在癌组织中的表达均与预后不良密切相关。他们建立了一个炎症危险性评估系统（IRS），IRS 高的患者预后较 IRS 低的差，这种关系在有 BE 既往史的患者中更普遍，结合 miRNA-375 后，IRS/miR 就成为较好的预后分析因素。炎症相关基因的表达谱和 BE 术后发生 EAC 的患者组织中 miRNA 的表达将成为临床评估预后的因素。

2 miRNA 对食管癌的调控

miRNA 在肿瘤的多个阶段中扮演着癌基因或抑癌基因的角色，能促进或抑制食管癌的发生发展。

2.1 促进食管癌转移

Hiyoshi 等[12]从 20 对 ESCC 组织及相对应的正常食管上皮组织中提取总 RNA，利用 TaqMan RT-PCR 测量 miR-21 的表达水平，结果其中 18 对 miR-21 在 ESCC 组织中的表达较正常组织显著提高，miR-21 在伴有淋巴结转移的患者的 ESCC 组织中的表达与在相对应的正常食管上皮组织中的表达比值（T/N）较无淋巴结转移的患者显著提高。

Tian 等[13]分析研究几种 ESCC 细胞系中miR-10b 的表达水平和细胞能动性及侵润性，结果显示 miR-10b在 KYSE140 细胞中过表达可增加细胞能动性及侵润性，而 miR-10b 在 EC9706 细胞中低表达则可降低细胞的侵润性，但对细胞能动性无影响。有报道指出，Kruppel 样因子 4（KLF4）能抑制食管癌细胞的转移和浸润，起着抑癌基因的作用。基于此，将 KLF4 设定为 miR-10b 的靶基因，miR-10b在 KYSE140 和 KYSE450 细胞中过表达可导致内源性 KLF4 蛋白减少，而 EC9706 细胞中 miR-10b 沉默则导致内源性 KLF4 蛋白增加。

2.2 对食管癌细胞增殖的调控

2.2.1 miRNA 抑制食管癌细胞增殖 Yuan 等[14]将 ΔNp63 的小干扰 RNA 分子（siRNA）及 miR-203 分别转染至两组 ESCC 细胞株 Eca-109 和 TE-1，通过荧光定量分析、RT-PCR 及 Western 印迹法研究 miR-203 对 ΔNp63 表达的调控（在 miR-203 转染的 ESCC 细胞中），并对 miR-203 及 pcDNA-ΔNp63 质粒（无 3'-非翻译区）转染的细胞采用细胞增殖定量分析法研究 ΔNp63 的再表达对 miR-203 诱导的抑制细胞增殖的作用，结果显示 miR-203 和 ΔNp63 siRNA 均能抑制 ESCC 细胞增殖，miR-203 能在转录后水平抑制 ΔNp63 的表达，miR-203 转染的细胞中 ΔNp63 的再表达可显著降低 miR-203 诱导的抑制细胞增殖作用。

Tsuchiya 等[15]将成纤维细胞生长因子类感受器 1（FGFRL1）定义为 ESCC 中 miR-210 的靶基因，发现 FGFRL1 通过阻止 G1/G0 期中的细胞周期停滞来加速癌细胞的增殖，还提出 miR-210 能通过抑制 FGFRL1 的作用而诱导 G1/G0 期及 G2/M 期中的细胞死亡和周期停滞来抑制癌细胞的生存及增殖，而 miR-210 的表达在低分化 ESCC 中显著降低。

2.2.2 miRNA 促进食管癌细胞增殖 Hu 等[16]用 Northern 印迹法和原位杂交法检测 10 个 miRNA 在 10 个食管癌细胞株及 158 个组织样本中的表达，发现 Let-7g、miR-21 和 miR-195p 在 10 个细胞株中都有所表达，miR-16-2、miR-30e、miR-34a、miR-126 和 miR-200a 在其中某些细胞株中表达，而 miR-9 和 miR-20a 则不表达；此外，miR-16-2 在抑制 RAR-β2表达的同时可促进癌细胞增殖。

3 结语

miRNA在细胞的凋亡、增殖、分化和新陈代谢

（下转第 353 页）