

指出单纯软组织松解术远期效果差,需增加肌力平衡手术。覃雄楚^[20]对 102 例先天性马蹄内翻足患儿,采用跟腱切断、足内侧软组织松解、跖筋膜切断、胫前肌外移等联合术式,并管型石膏外固定治疗,平均随访 9.8 年,按 Garceau 的标准进行评价,优良率 97.1%。但是,必须明确先天性马蹄足的治疗是一个持续长久的过程。需要全面的评价、长期的随访来减少可能出现的各种并发症。其治疗方法的选择需要考虑患儿的年龄和畸形的严重程度。对于小婴儿,手法矫正、石膏固定和跟腱延长是目前最为广泛应用的方法。对于畸形严重、保守治疗效果差的患儿,手术治疗是必要的。

参考文献:

- [1] Alvarez C. Review of current methods used in the treatment of clubfoot at initial presentation and at recurrence [J]. *Journal of Surgical Orthopaedic Advances*, 2008, 17(2):107.
- [2] Alvarez CM, Tredwell SJ, Keenan SP, et al. Treatment of idiopathic clubfoot utilizing botulinum a toxin: a new method and its short-term outcomes [J]. *J Pediatr Orthop*, 2005, 25(2):229.
- [3] Matthew B, Christina A. Update on clubfoot: etiology and treatment [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2009, 467:1146.
- [4] Scher DM. The Ponseti method for treatment of congenital club foot [J]. *Curr Opin Pediatr*, 2006, 18(1):22.
- [5] Richards BS, Johnston CE, Wilson H. Nonoperative clubfoot treatment using the French physical therapy method [J]. *J Pediatr Orthop*, 2005, 25(1):98.
- [6] 林刚,唐凯,楼越,等. Ponseti 方法治疗先天性马蹄内翻足疗效 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2007, 22(22):1753.
- [7] Herzenberg J, Radler C, Bor N. Ponseti versus traditional methods of casting for idiopathic clubfoot [J]. *J Pediatr Orthop*, 2002, 22(1):517.
- [8] Boehm S, Limpaphayom N, Alaaee F, et al. Early results of the Ponseti method for the treatment of clubfoot in distal arthrogyriposis [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2008, 90:1501.
- [9] Chen RC, Gordon JE, Luhmann SJ, et al. A new dynamic foot abduction orthosis for clubfoot treatment [J]. *J Pediatr Orthop*, 2007, 27:522.
- [10] Gurnett CA, Boehm S, Connolly A, et al. Impact of congenital talipes equinovarus etiology on treatment outcomes [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2008, 50:498.
- [11] Garg S, Dobbs MB. Use of the Ponseti method for recurrent clubfoot following posteromedial release [J]. *Indian J Orthop*, 2008, 42:68.
- [12] David M. The Ponseti method for treatment of congenital club foot [J]. *Current Opinion in Pediatrics*, 2006, 18:22.
- [13] 蔡振存,张立军,吉士俊. 先天性马蹄足的治疗概况 [J]. *Journal Of Clinical Pediatric Surgery*, 2006, 5(4):280.
- [14] Canale ST. 坎贝骨科手术学 [M]. 济南:山东科学技术出版社, 2005:946.
- [15] 李明,张德文,刘正全,等. 螺旋 CT 和三维重建技术在观察先天性马蹄内翻足骨骼特点中的应用 [J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(23):2129.
- [16] 徐瑞江,李浩宇,卢强,等. Carroll 手术入路治疗马蹄内翻足 [J]. *军医进修学院学报*, 2007, 28(4):266.
- [17] 李明,张德文,刘传康,等. 儿童先天性马蹄内翻足手术治疗中远期疗效评价 [J]. *重庆医学*, 2005, 34(2):195.
- [18] 宋涛,黄东海,李明. 肌腱转移手术治疗 55 例幼儿先天性马蹄内翻足效果随访 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2007, 15(15):1183.
- [19] 唐成林,张静哲,王汉中,等. 外科不同术式治疗先天性马蹄内翻足临床疗效比较 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2008, 34(4):698.
- [20] 覃雄楚. 先天性马蹄内翻足联合手术长期疗效观察 [J]. *中国矫形外科杂志* 2008, 16(17):1353.

(收稿日期:2009-09-10 修回日期:2009-10-10)

· 综 述 ·

MicroRNA 与胶质瘤

陈华萍,陈旭昕 综述,王关嵩 审校

(第三军医大学新桥医院呼吸内科研究所,重庆 400037)

关键词: microRNA; 胶质瘤

中图分类号: R730.264

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)08-0993-03

MicroRNA(miRNA)是一类非编码小分子 RNA,在真核生物基因表达中具有负调控作用,参与调控器官的形态建成、生长发育、激素分泌、信号转导、生长发育、细胞增殖、凋亡分化以及对外界环境变化的应答能力等生物学过程。自 1993 年 Lee 等人发现参与调控线虫时序发育的 lin-4 以来,研究人员在水稻、线虫、果蝇、人、小鼠、病毒等生物中相继已鉴定出上千种 miRNA。据推测,约 1% 的人类已知基因编码了 miRNAs,每个 miRNA 可调控约 100 个靶基因,在肿瘤发生、发展过程中发挥着癌基因或抑癌基因样作用^[1]。脑胶质瘤是颅内发生率最高的恶性肿瘤,预后差,据统计恶性胶质瘤大多(77%)在

确诊后 1 年内死亡。自 2002 年 11 月 Croce 研究组首次报道 miRNA 异常与肿瘤相关后,越来越多的证据显示 miRNA 在肿瘤的发生、发展中起着重要的作用。后来的研究提示,miRNA 的异常表达与胶质瘤的形成密切相关,但其间的“因果”并不清楚^[2]。研究发现反义寡核苷酸技术可以从基因水平上根治胶质瘤。本文就 MicroRNA 与胶质瘤关系的近期研究综述如下。

1 MicroRNA 的形成及特征

1.1 MicroRNA 的形成 miRNA 长度为 22~25 nt,广泛分布于真核细胞基因组中。miRNA 形成过程如下:首先 miRNA

被 RNA 聚合酶 II 转录为较长的初始转录本,该转录本含有数千个核苷酸,称为前体微小 RNA (pri-miRNA),在 pri-miRNA 内,miRNA 位于由大约 70 个核苷酸构成的环柄结构内。该环柄结构在细胞核内被 RNA 酶 III Droscha 和其辅助蛋白 Pasha/DGCR8 识别和切割,形成 pre-miRNA 之后,pre-miRNA 迅速被 Ran-GTP 依赖的核质/细胞质转运蛋白 Exportin-5 转运至细胞质,被位于细胞质内的 RNA 酶 III Dicer 进一步切割,产生一个类似于小干扰 RNA (siRNA) 和 miRNA 双链体,随后,该双链体解旋为成熟的 miRNA 和其互补序列 (miRNA^{*}),成熟的 miRNA 以一种 ATP 依赖的方式结合到 RNA 依赖的沉默复合物 (RISC) 中,形成非对称 RISC 复合物,RISC 的核心组分为 Argonaute 蛋白。而另一条链则可能类似于 siRNA 被 Argonaute-2 蛋白处理掉。

1.2 MicroRNA 的特征 miRNA 是真核生物基因表达中的一类负调控因子,其与靶基因 mRNA 3'UTR 区完全或部分互补结合,主要在转录后水平上通过介导靶基因 mRNA 的切割或抑制翻译来调节基因的表达。miRNA 基因大多以单拷贝、多拷贝或基因簇的形式存在于基因组中,大部分位于基因间隔区,但也有一部分 miRNA 来源于 pre-mRNA 的内含子,即内含子 miRNA,它们与前体 mRNA 位于同一方向,说明它们处于同一启动子控制,转录在同一条 RNA 链上。根据预测,人类细胞中约 1/3 的蛋白编码基因受 miRNA 的调控,因此,miRNA 与它们的靶分子组成了一个复杂的调控网络,控制生物体的重要生命活动。

2 MicroRNA 与胶质瘤

2.1 MicroRNA 参与胶质瘤的形成 胶质瘤的发生主要是由多基因改变引起,大量的文献报道胶质瘤活检组织和细胞系中均发现有染色体改变,其中有 7、14、20 号染色体的增加,8、9、10、13、22 号染色体的丢失,9p、13q、17q、17p 等片断丢失和双微体的形成。这些基因的改变通过对以下 3 种途径的破坏来诱导胶质瘤的发生:(1)酪氨酸激酶受体信号途径 (EGFR/PTEN/PI3k pathway);(2)p53/MDM2/p14 途径;(3)RB1/CDK4/p16 途径^[3]。这 3 种途径在机制上相互联系,相互补充,最终导致 G1/S 期监控点的失活,引起细胞周期调控紊乱,细胞异常增殖,肿瘤发生。

miRNAs 在参与胶质瘤的形成中主要以靶 mRNA 切割和翻译抑制 2 种方式调控相关基因的表达,多数 miRNA 以核糖蛋白复合体的形式与靶 mRNA 结合并使之抑制。当两者完全互补时,miRNA 的作用方式与 RNA 干扰相似,即与完全互补的同源 mRNA 配对结合,导致靶 mRNA 降解。而当 miRNA 与靶 mRNA 不完全互补时,miRNA 则通过与靶 mRNA 的 3' 端非翻译区结合,阻遏转录后翻译。由于许多动物中 miRNA 与靶 mRNA 并不完全互补,所以,主要的作用模式是转录后的翻译阻遏。动物实验中已证明 miRNA-21 (miR-21) 在胶质瘤的发生中发挥着重要的作用,它不但可抑制靶基因 TPM1 (tropomyosin 1) 而促进细胞增殖^[4-5],还能调控多个参与胶质瘤细胞增殖、凋亡和转移的基因。有学者在敲除肿瘤细胞株的 miR-21 后发现,半胱天冬酶被活化,引发凋亡率上升,导致肿瘤细胞株在小鼠体内的成瘤能力显著降低。Chan 等^[6]在试验中发现 miR-21 在恶性胶质瘤中的表达水平显著升高,敲除 miR-21 后胶质瘤的生长受到抑制,再次证实 miR-21 与胶质瘤的密切相关性。但目前关于 miR-21 在胶质瘤形成中的确切机制还不清楚,有待进一步研究。

Ciafre 等^[7]在试验中鉴定出一组在高度恶性原发性脑组

织肿瘤和胶质瘤细胞中表达谱发生了改变的 13 种 miRNA,靶基因为 17q23.2 的 miR-21、Xp11.3 的 miR-221、2q31 的 miR-10b、11q12 的 miR-130a、11q24.1 的 miR-125b-1、21q11.2 的 miR-125b-2、5q14 的 miR9-2、7q22miR-25、9q34 的 miR-123 共 9 种表达发生上调,而靶基因为 2q21 的 miR-128a、19p13.3 的 miR-181c、9q33.1-q34.13 的 miR-181a、1q31.2-q32.1 的 miR-181b 共 4 种表达出现下降,其中 miR-21 和 miR-221 变化最为显著。他发现 miR-21 在脑组织肿瘤中表达大幅度上调,在胶质瘤细胞中上调幅度并不十分明显,而 miRNA-221 在两者中都有较高表达,在后来 Barrad 等的实验中也证实了这一结果。研究还提示 miRNA-221 在其他的肿瘤时并未出现异常表达,预测其可能具有组织特异性,可考虑将它作为胶质瘤时的特异性分子标志,作为诊断胶质瘤的一项新指标。最近报道指出,miR-181 家族在大鼠胚胎期和新生儿期表达较低,而在成年大鼠则有一过性的高表达,这一发现提示 miR-181 家族在哺乳动物体内的表达可能具有阶段性,若在某一阶段表达降低可导致胶质瘤发生。因此,若在此阶段采取相应干预措施即可阻断胶质瘤的发生。

2.2 miRNA 与胶质瘤的治疗 脑胶质瘤发病率约 12/10 万,占有颅内肿瘤的 40%。由于其分化差、增殖快、侵袭性强,给治疗加大了难度。手术不能完整切除、放疗不敏感、化疗药物耐药性的产生给胶质瘤的治疗带来了极大的困扰,具有发病率、复发率、死亡率高和治愈率低等“三高一低”的特点。在目前的技术条件下,胶质瘤特别是高度恶性的胶质瘤预后尚不乐观。虽然目前以手术为主的综合治疗使胶质瘤的疗效有了较明显提高(低级别的星形细胞瘤和少突胶质细胞瘤患者的平均生存时间可达 6~10 年),但间变性星形细胞瘤 (WHO III 级) 和胶质母细胞瘤患者的平均生存时间仅有 30~36 个月和 12~15 个月。美国最新资料显示,在所有胶质细胞瘤中占半数的胶质母细胞瘤患者 1 年生存率约为 30%,5 年生存率不足 5%^[8]。

基因治疗方法在胶质瘤的临床实验已开展,其中 HSV-tk (单纯疱疹病毒) 基因治疗是最常用的方法,但 2 年生存率与历史对照无明显差异,有待进一步研究;病毒载体虽然转染瘤细胞效率较高,但其安全隐患限制了进一步临床使用^[9]。目前,miRNA 对胶质瘤的治疗成为研究热点,资料显示它能从发生机制上阻止胶质瘤的发生,可有效根治胶质瘤,大大提高存活率。尤其是 miR-21,miR-21 抑制细胞凋亡而促进肿瘤细胞增殖,因此,可通过反义寡核苷酸技术下调 miR-21 表达,诱导肿瘤细胞发生正常凋亡,从而达到治疗作用,这给从事胶质瘤研究的学者们提供了一条新途径。Corsten 等^[10]将锁定核苷酸 (locked nucleic acid, LNA)-抗 miR-21 寡核苷酸转染细胞,结果证明转染组抑制肿瘤细胞生长效果最为明显,大鼠体内试验也得到类似结果。NPC-S-TRAIL 为一种依赖诱导神经母细胞产生肿瘤坏死因子相关凋亡蛋白配体,由神经母细胞产生,能直接到达肿瘤组织与肿瘤细胞表面的受体相结合而无需经血脑屏障,不与正常组织或细胞发生结合,是治疗恶性肿瘤的有效方法。Corsten 等通过将 LNA-抗 miR-21 寡核苷酸和 NPC-S-TRAIL 相结合,不但克服了 LNA-anti miR-21 寡核苷酸不能透过血脑屏障的缺点,而且还发现结合后二者作用协同放大。

此外,在该联合治疗中,还发现二者均激活瘤细胞中的半胱天冬酶 3/7,提示半胱天冬酶途径可能是 miRNA 治疗胶质瘤的可能机制。半胱天冬酶激活能诱导肿瘤细胞凋亡,降低线

粒体膜电位,促进细胞色素 C 释放,增强射线对肿瘤细胞杀伤力,提高肿瘤放疗敏感性^[11]。王芳等^[12]将 miR-21-ASO 转染 U373MG 细胞后,并联合应用替尼泊苷 VM26,发现转染 miR-21-ASO 组胶质瘤细胞增殖活性明显下降,并呈剂量依赖性。提示 miRNA 提高肿瘤化疗敏感性,这为指导临床用药及开发新的抗肿瘤靶标提供了线索。

3 结 语

目前,人们对 miRNA 的基本特征、生物学功能等已有初步了解,miRNA 通过发挥基因调控作用从而促进肿瘤细胞的恶性转变,miRNA 有望成为新的肿瘤标记物用于诊断及预后评价,同时利用各种途径抑制或促进 miRNA 的表达和活性还能提高肿瘤治疗的效果。然而,有关 miRNA 的研究还存在许多难点,如 miR-21 的特异性并不强,不但在胶质瘤时表达升高,在肝癌、肺癌、卵巢癌等多种肿瘤组织中表达都较高^[13-14],以及 miRNA-21 作用的复杂性、表达的组织和时间特异性使得同一种 miRNA 可能靶定不同的基因,因此,miR-21 发挥作用可能并不仅限于上述基因,结合生物信息学及生物芯片的筛选技术,深入挖掘 miR-21 的其他靶基因将是医学科技工作者下一步的研究目标;在治疗上,反义寡核苷酸技术虽已渐趋成熟,但大多数还是处于一些体外试验和动物实验阶段,若要在临床上作研究,存在一些亟待解决的问题,首先在技术应用上寡核苷酸的稳定性有待于提高、半衰期需延长、作用机制要求作进一步剖析,再者临床应用剂量和作用时间及对降解产物毒性的作用研究、靶基因的选择及应用反义核酸的最佳时间等都需要作深入的研究。尽管如此,miRNA 在肿瘤的研究中必将具有广阔的前景,将为人类攻克肿瘤这一难题开辟新的视野。

参考文献:

[1] Cummins JM, He Y, Leary RJ, et al. The colorectal microRNAome[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(10):3687.
 [2] 周凡,庄诗美. microRNA 与肿瘤[J]. 生命科学, 2008, 20(2):207.
 [3] 石剑锋,马晓东. 脑胶质瘤的分子生物学研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2007, 13(5):446.
 [4] Si ML, Zhu S, Wu H, et al. MiR-21-mediated tumor

growth[J]. Oncogene, 2007, 26(19):2799.
 [5] Zhu SM, Si ML, Wu HL, et al. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1(TPM1)[J]. J Biol Chem, 2007, 282(19):14328.
 [6] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(14):6029.
 [7] Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 334(4):1351.
 [8] Deorah S, Lynch CF, Sibenaller ZA, et al. Trends in brain cancer incidence and survival in the United States: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1973 to 2001[J]. Neurosurg Focus, 2006, 20(4):1
 [9] 赵理乐,杨玉山. 脑胶质瘤的临床治疗前景展望[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(2):113.
 [10] Corsten MF, Miranda R, Kasmieh R, et al. MicroRNA-21 knockdown disrupts glioma growth in vivo and displays synergistic cytotoxicity with neural precursor cell-delivered s-TRAIL in human gliomas[J]. Cancer Res, 2007, 67(19):8994.
 [11] 孙继勇,蔺玉昌,黄强. 胶质瘤中分化相关基因的表达研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2005, 26(10):1123.
 [12] 王芳,孟颖,刘民,等. MicroRNA-21 反义寡核苷酸可以抑制 U373MG 细胞对替尼泊苷 VM26 的耐受性[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2008, 24(7):674.
 [13] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer [J]. Gastroenterology, 2007, 133(2):647.
 [14] 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 USA, 2006, 103(7):2257.

(收稿日期:2009-08-15 修回日期:2009-09-28)

· 综 述 ·

肝移植术后胆道并发症病因学探讨

窦海鹏 综述,张金辉 审校

(新疆医科大学第一附属医院腔镜肝移植科,乌鲁木齐 830054)

关键词:肝移植;胆道并发症;病因

中图分类号:R657.3;R619

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)08-0995-03

近年来,国内肝移植患者数量不断增加,疗效也在不断提高。但肝移植术后胆管并发症的发生率仍徘徊在 7%~30%,与胆管并发症相关的病死率为 6.0%~12.5%。肝移植术后的胆道并发症(biliary complications,BC)通常是指具有临床表现又有放射学依据、需行介入治疗或手术治疗的胆道狭窄、梗阻、胆漏及胆栓/泥形成等,其病因包括肝移植术式的选择、胆道重建方式、胆道吻合技术、T管的留置、缺血再灌注损伤、供肝灌注、胆道灌注、供肝胆管的修整、供肝动脉微小分支微血栓

形成、供受体 ABO 血型不合、免疫排斥反应及免疫抑制剂的应用、细菌及病毒感染、原发疾病、动脉窃血综合征等。因此,正确认识胆道并发症并采取有效对策在临床上越来越受到重视。

1 病 因

1.1 手术方式

1.1.1 肝移植术式 肝移植为治疗终末期肝脏疾病的有效手段,但移植界多年来一直面临供肝来源短缺的难题,为缓解受体需求和供体短缺之间的矛盾,近年开展了一系列新术式来拓