

[30] 张玲. 醒脑静注射液治疗老年脑梗死患者的疗效及其对脑血流动力学的影响[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(24):6884-6886.

[31] 伊艳清. 醒脑静注射液治疗脑梗死临床疗效[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(2):312-314.

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.10.040

[32] 李虹. 醒脑静注射液在脑卒中治疗中的临床疗效[J]. 中国药物经济学, 2015, 10(3):51-52.

(收稿日期:2015-12-08 修回日期:2016-01-01)

微小 RNA 与卵巢癌关系的研究进展*

刘 洋, 侯友芳 综述, 张 捷[△] 审校

(昆明医科大学第二附属医院妇科, 昆明 650101)

[关键词] 微 RNAs, 卵巢肿瘤; 特异性诊断; 基因打靶

[中图分类号] R737.31

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)10-1407-03

卵巢癌(ovarian cancer)是严重威胁女性健康的恶性肿瘤之一,其发病率在女性生殖器恶性肿瘤中仅次于宫颈癌和子宫内膜癌,位居第三,但病死率却高居首位。卵巢癌在早期并无特异性临床表现,大部分患者确诊时已发生癌细胞的转移、侵袭,近期文献报道卵巢癌的 5 年生存率为 42.9%,但超过 80.0%的晚期卵巢癌患者会复发,且预后极差^[1]。目前,临床上卵巢癌的治疗方法是以前肿瘤细胞减灭术为基础并辅助 6~8 个疗程的紫杉醇和铂类为主的联合化学治疗,其完全缓解可达到 70%~80%^[2]。然而,高复发率和复发后的高耐药率是导致其高病死率的最主要原因之一。因此,针对卵巢癌的转移、诊断及治疗等已是亟待解决的问题。

微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类新近发现的具有调控基因作用的内源性非编码短序列 RNA,miRNA 表达谱的变化与肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移、浸润、转移密切相关,miRNA 在反映肿瘤疾病进展及预后方面具有重要的临床应用价值,有可能成为癌症治疗的新靶点^[3]。在卵巢癌中,通过对 miRNA 表达量的分析,不仅可以探究 miRNA 与卵巢癌的发生、发展之间的相关性,也可以对卵巢癌的诊断、治疗及预后提供新的靶点。

1 miRNA

1.1 miRNA 的特点及结构 1993 年 Lee 等^[4]对秀丽新小杆线虫进行研究时,发现了第一个 miRNA 的家族成员——lin-4,其虽然不参与编码蛋白质,但可调控秀丽新小杆线虫胚胎后期的基因表达。随着相关研究的深入,发现 miRNA 是一类小分子非编码的单链 RNA 序列,广泛存在于真核生物中,人体内除 Y 染色体以外的所有染色体中均分布 miRNA 的基因^[5]。根据 miRbase 的统计数据,截至 2014 年 6 月,从动、植物和病毒中已发现的 miRNA 多达 28 645 个,其中包含的人类 miRNA 超过 2 000 个。人类的 miRNA 可以调控 60%的人类基因的表达,其表达具有时间和组织特异性,在生物发育过程中发挥着包括早期发育、细胞分化、代谢、增殖、细胞周期调节、炎症及免疫系统等生理过程^[6-9]。miRNA 的分子结构特点为:前体 miRNA(pre-miRNA)常形成分子内茎环结构,成熟 miRNA 本身不含有开放阅读框,5'端有一磷酸基团,3'端为碱基,miRNA 能够特异性识别靶基因的 mRNA 的 3'端的非编码区(untrans-

lated regions,UTR),并为之互补配对,其互补配对的程度决定了其对 mRNA 的作用特性。若为完全互补配对,靶基因的 mRNA 即被机体降解;若为部分互补配对,则靶基因的 mRNA 的翻译作用会被抑制^[5]。

1.2 miRNA 的合成 miRNA 的合成是在细胞核和细胞质中进行的。在细胞核内,基因组 DNA 由 RNA 聚合酶 II (polymerase II, pol II) 转录生成 pri-miRNA, pri-miRNA 在核酸酶 Drosha 和其辅助因子 Pasha/DGCR8 的作用下被处理成 70 个核苷酸组成的具有茎环结构的 pre-miRNA^[10]。通过输出蛋白 5 和 ran-GTP 将 pre-miRNA 从细胞核内运送到细胞质中,由 Dicer 酶处理成为含有 21~24 个核苷酸的双链小分子 RNA^[11]。双链的 miRNA 组装成核糖核蛋白复合物,被称为沉默复合体(RISC)^[12]。RISC 诱导双链 miRNA 分子解链成为长约 21~22 个核苷酸的单链小分子 miRNA。miRNA 基因的突变、易位或丢失,以及在遗传分子合成过程中的任一环节的发生异常都会导致 miRNA 表达水平的改变,从而引起疾病,如肿瘤的发生、发展、转移等。

2 miRNA 与卵巢癌

2.1 卵巢癌中 miRNA 表达谱的变化 最近的研究发现,不同 miRNA 在卵巢癌中所起的作用不尽相同。一些 miRNA 在卵巢癌中的表达受到抑制,可以看作抑癌基因;另一些 miRNA 在卵巢癌中表达增加,可以看做促癌基因。Iorio 等^[13]通过比较 miRNA 在卵巢癌组织与正常组织中表达水平的变化,发现 miRNA-199a、miRNA-200a、miRNA-200b、miRNA-200 明显高于正常组织中的表达水平;而 miRNA-140、miRNA-145、miRNA-125b1 在癌组织中表现为低表达。Aqeilan 等^[14]研究发现 miRNA-15、miRNA-16 在卵巢癌组织中表达下调,miRNA-31 在浆液性卵巢癌细胞和组织中均低表达,是卵巢癌的抑癌基因^[15]。有研究者发现,miRNA-200a、miRNA-200b 及 miRNA-200c 在浆液性上皮性卵巢癌组织中的表达明显高于正常的卵巢组织^[16]。针对不同 miRNA 在卵巢癌中的表达高低及所起的作用不同,可以考虑将敏感表达的 miRNA 作为筛查指标之一,以期对卵巢癌的早期诊断提供更加特异的分子标志物。

2.2 miRNA 对卵巢癌转移及侵袭能力的影响 miRNA 与目标 mRNA 碱基互补配对识别目标 mRNA,进而参与调节细胞

* 基金项目:云南省教育厅科研基金重点项目(2014Z075)。 作者简介:刘洋(1979-),主治医师,博士,主要从事妇产科肿瘤研究。

[△] 通讯作者,E-mail:24069343@qq.com。

的发育、分化、增殖和凋亡等生理过程。崔彦芬等^[17]通过 MTT 细胞增殖实验、软琼脂集落形成实验和 Transwell 侵袭及迁移实验系统分析了过表达和抑制 miRNA-93 对卵巢癌 OVCAR3 细胞增殖、侵袭及迁移能力的影响,结果提示 miRNA-93 过表达后能显著提高 OVCAR3 细胞的侵袭和迁移能力,OVCAR3 细胞中内源性 miRNA-93 的表达被抑制后,细胞的侵袭和迁移能力均明显下降。通过对 55 例进展期卵巢癌进行研究发现:miRNA-200 基因组和 miRNA-429 与卵巢癌的复发率及生存率有关,其表达的增加可以抑制卵巢癌的转移^[18]。癌细胞发生转移不仅使癌症治疗预后不良,也是导致癌症治疗失败的重要原因。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤侵袭转移中发生的重要特征,卵巢癌中,EMT 的进程也被证实与肿瘤进展及转移密切相关,miRNA-125A 能够诱导高侵袭性卵巢癌细胞 EMT 的逆转^[10]。Li 等^[19]通过反转录 PCR 和蛋白免疫印迹(Western blot)等方法对卵巢癌和高转移性卵巢癌中 EZRIN 蛋白的表达情况及相关 miRNA 进行研究,发现在低转移性卵巢癌中 miRNA-183 和 miRNA-22 的表达比高转移性卵巢癌中均有提高,提高 miRNA-183 和 miRNA-22 在卵巢癌细胞中的表达可降低 EZRIN 蛋白表达水平,提示 miRNA-183 和 miRNA-22 可能通过抑制 EZRIN 而起到抑制卵巢癌转移的作用。let-7 家族是当前研究比较广泛的 miRNA 之一,let-7 具有抑制细胞增殖促进细胞分化和凋亡的生物学功能^[20]。在不同的肿瘤组织和细胞中,let-7 家族主要通过抑制原癌基因 RAS、HMGA2、c-Myc、c-De25A、cdk6 和 cyclin2 等的表达而抑制肿瘤细胞的生长和侵袭转移^[20-21]。Let-7A-3/let-7b 在 44% 的卵巢癌研究样本中缺失,恢复 let-7b 的表达能显著减少在体外和体内卵巢肿瘤的生长。let-7f 在侵袭转移能力较高的卵巢癌细胞中均呈低表达^[21],提示其可能有抑制卵巢癌侵袭转移的作用。

2.3 miRNA 与卵巢癌的治疗 miRNA 对卵巢癌细胞的药物敏感性有关,同时部分 miRNA 在卵巢癌的靶向治疗方面也有关系。Echevarria-Vargas 等^[22]研究发现,miRNA-21 与卵巢癌对顺铂耐药有关,研究者通过 RT-PCR 方法检测 miRNA-21,发现在顺铂耐药的卵巢癌中较顺铂敏感性的卵巢癌表达增高。Aqeilan 等^[14]研究发现,miRNA-15 和 miRNA-16 通过作用于靶基因 Bcl-2 与细胞的多重耐药性有关。提高对顺铂敏感的癌细胞中 miRNA-21 的表达水平可增加卵巢癌细胞的增殖。Dai 等^[23]通过向癌组织靶向输送 miRNA-29a 以重新表达具有卵巢癌抑制作用的基因 PTEN,一个 miRNA-29a 的转染嵌合体潜在的抗肿瘤作用是基于下游分子的表达和卵巢癌细胞的凋亡。Lu 等^[20]观察到对铂类和紫杉醇敏感的卵巢癌患者同耐药者相比,let-7a 的表达显著降低;只接受铂类化学治疗的高表达 let-7a 患者相比低表达 let-7a 患者的生存率更高。let-7a 可以作为一个潜在的生物学标记,来判断卵巢癌患者对化学治疗的敏感性。研究表明:肿瘤细胞可以同时有多个 miRNA 的失调,针对单个的 miRNA 的治疗是不够的,多靶点抗 miRNA 的抗转录治疗可以同时抑制多个 miRNA 的失调^[24]。

3 展 望

随着分子生物学的不断发展,人类对 miRNA 的研究与认识亦不断深入,miRNA 可能以一种新的卵巢癌在外周血中的生物学标志物对其进行检测,Taylor 等^[25]运用定时定量 RT-PCR 检测 50 例卵巢癌患者的外周血清与肿瘤组织内的 miRNA 的表达量的差异性发现二者差异性很小,且 miRNA 在血清中稳定存在。因此,如果在外周血中检测卵巢癌组织的特异

性 miRNA 的表达及改变,将对早期无明显临床症状的卵巢癌患者进行提前筛选、监测预后,评估风险有重要的临床意义。对表达异常的 miRNA 的靶基因进行预测和研究不仅可以揭示卵巢癌的发生发展的分子机制,而且也可为一个卵巢癌治疗的提供新靶点,这将会为临床治疗卵巢癌提供极大的帮助。总之 miRNA 与卵巢癌的发生发展和预后的关系及针对肿瘤的诊断和治疗中的作用还需更加深入地探索和研究。

参考文献

- [1] Office for National Statistics (ONS). Cancer survival in England: Patients diagnosed 2005-2009 and followed up to [EB/OL]. (2011-11-15) [2015-12-11]. http://www.ons.gov.uk/ons/dcp171778_240942.pdf.
- [2] Stordal B, Hamon M, Mceneaney V, et al. Resistance to paclitaxel in a cisplatin-resistant ovarian cancer cell line is mediated by P-glycoprotein [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40717.
- [3] Ryan BM, Robles AI, Harris CC. Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(6): 389-402.
- [4] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [5] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858.
- [6] Di LG, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer [J]. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9: 287-314.
- [7] Sokol NS. Small temporal RNAs in animal development [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2012, 22(4): 368-373.
- [8] He L, He XY, Lim LP, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network [J]. *Nature*, 2007, 447(7148): 1116-1130.
- [9] Contreras J, Rao DS. MicroRNAs in inflammation and immune responses [J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 404-413.
- [10] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing [J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-419.
- [11] Kim YK, Kim VN. Processing of intronic microRNAs [J]. *EMBO J*, 2007, 26(3): 775-783.
- [12] Pratt AJ, Macrae IJ. The RNA-induced silencing complex: a versatile gene-silencing machine [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(27): 17897-17901.
- [13] Iorio MV, Visone R, Di Leva G, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(18): 8699-8707.
- [14] Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(2): 215-220.
- [15] Creighton CJ, Fountain MD, Yu Z, et al. Molecular profiling uncovers a p53-associated role for microRNA-31 in inhibiting the proliferation of serous ovarian carcinomas and other cancers [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(5): 1906-1915.

- [16] Kan CW, Hahn MA, Gard GB, et al. Elevated levels of circulating microRNA-200 family members correlate with serous epithelial ovarian cancer[J]. BMC Cancer, 2012, 12:627.
- [17] 崔彦芬, 张婧芳, 刘英, 等. miRNA-93 在卵巢癌 OVCAR3 细胞的侵袭和迁移中的作用研究[J]. 现代妇产科进展, 2014, 23(9):681-684.
- [18] Hu XX, Macdonald DM, Huettner PC, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2009, 114(3):457-464.
- [19] Li J, Liang S H, Lu X. Potential role of ezrin and its related microRNA in ovarian cancer invasion and metastasis [J]. Zhonghua fu chan ke za zhi, 2010, 45(10):787-792.
- [20] Lu L, Schwartz P, Scarampi L, et al. MicroRNA let-7a: a potential marker for selection of paclitaxel in ovarian cancer management [J]. Gynecol Oncol, 2011, 122(2):366-371.
- [21] Büssing I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer [J]. Trends Mol Med, 2008, 14(9):400-409.
- [22] Echevarria-Vargas IM, Valiyeva F, Vivas-Mejia PE. Up-regulation of miR-21 in cisplatin resistant ovarian cancer via JNK-1/c-Jun pathway [J]. PLoS One, 2014, 9(5):e97094.
- [23] Dai F, Zhang Y, Zhu X, et al. Anticancer role of MUC1 aptamer-miR-29b chimera in epithelial ovarian carcinoma cells through regulation of PTEN methylation [J]. Target Oncol, 2012, 7(4):217-225.
- [24] Lu Y, Xiao J, Lin H, et al. A single anti-microRNA antisense oligodeoxynucleotide (AMO) targeting multiple microRNAs offers an improved approach for microRNA interference [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(3):e24.
- [25] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2008, 110(1):13-21.
- (收稿日期:2015-11-22 修回日期:2015-12-28)
- 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.10.041

孤立性肺结节影像学检查技术及应用进展*

宋婷妮 综述, 曾勇明[△] 审校

(重庆医科大学附属第一医院放射科 400016)

[关键词] 硬币病变, 肺; 体层摄影术, X 线计算机; 磁共振成像

[中图分类号] R730.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)10-1409-03

肺癌是全世界癌症致死的首要原因, 肺癌每年的死亡人数超过了乳腺癌、结肠癌和前列腺癌的总和^[1]。在美国每年有超过十六万人死于肺癌^[2], 贾世杰等^[3]在对 2002~2011 年中国恶性肿瘤病死率水平及变化趋势调查中发现, 标化病死率排在前 3 位的恶性肿瘤依次是肺癌、肝癌和胃癌, 其中肺癌病死率有逐渐上升的趋势。肺癌在进展期前通常是无症状的, 且有 10% 是在与肺癌无关的胸片检查中偶然发现的。所以大多数患者在诊断为肺癌时已经到了进展期, 此时寻找有效的治疗方法往往受限, 而且患者的预后很差。肺癌患者的 5 年平均生存率仅为 16.9%^[4], 国际早期肺癌行动计划(international early lung cancer action program, I-ELCAP)已经证实了 I 期肺癌患者术后的 10 年生存率可达到 88%^[5]。肺癌的早期诊断是提高患者生存率的关键, 也是一个难点。

孤立性肺结节(solitary pulmonary nodules, SPN)是指肺实质内单发孤立的圆形或类圆形、直径小于或等于 3 cm, 不伴有肺不张、无淋巴结肿大或肺内其他异常的病变^[6]。SPN 包括肺癌、感染、转移瘤和良性肿瘤等, SPN 的临床诊断及良恶性的鉴别是胸部影像学研究的重点与难点之一。因此, 对 SPN 的病因做出及时、准确的诊断能够极大地提高肺癌患者的生存率并改善预后。医学影像技术的发展显著地提高了 SPN 的检出率及肺癌的早期发现能力。现就 SPN 筛查相关的医学影像检查技术及应用进展综述如下。

1 胸部 X 射线摄影检查

数字 X 射线摄影(digital radiography, DR)由于其成本低、操作简单及低辐射剂量仍然是检查胸部疾病时最广泛使用的成像技术。近年来, DR 的时间减影技术通过对同一患者的先后两次检查图像的减影, 可以消除如肋骨及肺血管等正常组织的影响, Sasaki 等^[7]研究证实了使用时间减影技术(AUC=0.990)与未使用时间减影技术(AUC=0.951, P=0.028)和双重阅读方法(AUC=0.890, P=0.002)相比明显提高了肺癌检出的准确性。在日本, 时间减影技术已应用于临床。DR 的双能减影(dual-energy subtraction, DES)技术是利用高能和低能的 X 射线获得两幅原始图像, 利用骨和软组织衰减的能量依赖性通过图像处理以单独显示骨组织和软组织的数字减影技术。由于双次曝光有短暂的时间间隔, 可能会受到运动伪影的影响。计算机 X 射线摄影(computed radiography, CR)单次曝光 DES 技术^[8], 使用由一个只允许高能 X 射线光子通过的铜过滤板分开的两个片匣同时接受曝光, 在第一个片匣上形成正常的胸片, 在铜过滤板下的第二个片匣上生成骨组织的图像, 再通过减影就可获得软组织图像, 这样也消除了运动伪影的影响。DES 的优势在于可以显示那些被肋骨、锁骨及肩胛骨遮挡的结节^[9], 在 SPN 的钙化检出方面, DES 明显优于传统 DR (P<0.05)^[10]。数字体层融合(digital tomosynthesis, DTS)是一种全新的 X 射线诊断检查技术, 从不同角度来采集连续断

* 基金项目: 国家临床重点专科建设项目基金[国卫办(2013)544 号]。 作者简介: 宋婷妮(1992-), 在读硕士, 主要从事图像处理与仿真影像学研究。 △ 通讯作者, E-mail: zeng-ym@vip.sina.com。