·综　述·

# miRNA在胶质瘤临床诊疗中的研究进展

赵建辉　胡世颉 综述　费　舟 审校

【关键词】胶质瘤;miRNA;诊断;治疗
【文章编号】1009-153X(2016)10-0642-04　【文献标志码】A　【中国图书资料分类号】R 739.41

微小核糖核酸(micro ribonucleic acid,miRNA)是一类长18~25个核苷酸的非编码RNA小分子,通过碱基互补原则结合到靶信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid,mRNA)的3′端非翻译区,使mRNA降解或阻碍其翻译过程来发挥转录后调控功能。自首个miRNA分子(lin-4)发现以来迄今已经三十多年[1]。1993年,Lee等[2]发现lin-4有两个转录区域能互补结合lin-14 mRNA,阐明miRNA通过反义RNA-RNA来调控靶mRNA的作用机制。之后,第二个miRNA(let-7)的发现说明这类具有调控功能的miRNA具有广泛的生物功能[3]。本文就miRNA在胶质瘤诊疗中作用研究进展进行综述。

## 1 miRNA的生物合成

所有miRNA体内合成的经典途经均为将初级miRNA转录子转变成具有生物活性22个左右核苷酸的成熟miRNA。具体来说,在RNA聚合酶Ⅱ的催化下,miRNA基因转录成长片段的具有茎环二级结构的初级miRNA,在细胞核内经过RNA聚合酶Ⅲ Drosha剪切加工成前体miRNA,经转运蛋白exportin-5转运至细胞质,首尾结合成小茎环RNA,再经Dicer酶加工成短dsRNA即miRNA-miRNA[4],详见图1。该双链一条被引入RNA诱导沉默复合物复合体中,一条则降解。另外,还有两条非经典途经:一是mirtron形成途径,miRNA在核内加工最初阶段,应用剪接机制绕过Drosha酶的剪切[5];二是miR-451特有途经,其前体直接结合Ago2被剪切,不依赖Dicer酶,剩下的RNA即为成熟的miRNA[6]。

## 2 miRNA基本生理功能

目前,miRBase网站(http://www.mirbase.org/)统计共发现28 645个miRNA。据预测人类有近1/3的基因是miRNA的潜在作用靶点[7]。miRNA功能繁多,是维持机体稳态所必需的功能分子,参与神经干细胞分化、内分泌、代谢与营养调节、造血、免疫调节、心脏再生以及肿瘤的发生发展和肿瘤耐药等。虽然每一个特定的miRNA并没有一个特定的生理功能,但miRNA生物合成的每一步缺失都可能导致胚胎死亡[8]。可以说,miRNA是机体不可或缺的调控分子,几乎参与机体所有的生理功能,在机体中发挥着重要的生理作用。

## 3 miRNA在胶质瘤中的表达

miRNA在胶质瘤中广泛存在,但是每种miRNA表达量不一样。Koshkin等[9]采用实时定量聚合酶链反应分析不同恶性程度的胶质瘤的10种miRNA的表达量,发现随着胶质瘤恶性程度的增加,miR-21表达量明显增加,而miR-137表达量则明显下降;胶质瘤miR-9、miR-17、miR-20a、miR-23a、miR-26a表达量较高,而miR-7较低。Zhu等[10]采用miRNA芯片筛选和实时定量聚合酶链反应研究发现胶质瘤及其周围脑组织存在13个差异表达的miRNA,这些miRNA的表达在不同级别的胶质瘤中是不一样的,不同的miRNA与胶质瘤的恶性进展有关。

## 4 胶质瘤的分子病理诊断

目前胶质瘤的诊断主要依赖于影像学检查,最终诊断需要手术切除标本行病理检查或组织活检进行病理检查。血液和脑脊液(cerebrospinal fluid,CSF)是两种常见且方便采集的体液。目前学者们正锲而不舍的追求高效、准确、无创的诊断方法,如

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.10.029
基金项目:国家自然科学基金(81101710);陕西省社会发展科技攻关项目(2015SF030);陕西省国际科技合作与交流计划(2016KW-011)
作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院神经外科(赵建辉、胡世颉、费　舟)
通讯作者:费　舟,E-mail:feizhou@fmmu.edu.cn

能通过外周血或CSF即可诊断胶质瘤。

Westphal等[11]认为外周血包含有肿瘤DNA、miRNA和蛋白的细胞外囊泡，能作为快速诊断胶质瘤典型基因突变、调节性miRNA和肿瘤蛋白的信息池，甚至能分析脑肿瘤的全基因组。Baraniskin等[12]采用RT-PCR分析胶质瘤CSF的miRNA表达量，发现miR-15b和miR-21可以用来作为胶质瘤的诊断标志物。Teplyuk等[13]采用RT-PCR分析两个临床中心的118例共分为6组包括非脑肿瘤、多形性胶质母细胞瘤（glioblastoma multiforme，GBM）以及转移瘤等标本的miRNA表达量，并结合TCGA数据库下载的261例GBM标本miRNA数据，筛选出CSF中可作为诊断标志物有miR-10b、miR-21、miR-125b和miR-200家族（a、b、c、miR-141），他们认为在脑肿瘤标本中均有miR-10b，而正常脑组织和非脑肿瘤的CSF中并不表达或检测不到，并且miR-21在正常脑组织中存在，在脑肿瘤标本中均升高；miR-200家族在脑转移瘤和脑膜转移瘤的CSF中高表达，而在对照和GBM组CSF中均未高表达，因此可以用来鉴别GBM和脑转移瘤。

Drusco等[14]采用NanoString、RT-PCR和ISH等方法研究48例（其中14例无疾病，34例中枢神经系统肿瘤）共82例CSF样品，分析5个主要诊断miRNAs（miR-451、miR-223、miR-125b、miR-711和miR-935）和2个辅助诊断用的miRNA（miR-125b和miR-223），发现CSF miRNA的表达在不同分组患者中表达存在差异，同时miR-451可以作为正常miRNA，因为在正常脑组织中其表达量较低，能作为区别正常和肿瘤CSF的标志物。具体详细的诊断指南见图2：①CSF检测miR-451、miR-711和miR-935能鉴别正常（以上3种miRNA表达量均低）、良性肿瘤（3种miRNA表达量均高）和其他类型肿瘤，需要辅助其他miRNA表达量分析鉴别；②miR-451表达量低、miR-711表达量极低并且未检测到miR-935表达为中枢神经系统原发性淋巴瘤；③miR-935未表达而miR-451和miR-711表达量较高强烈提示为GBM或髓母细胞瘤（medulloblastoma，MB），此种情况下伴有miR-125b高表达的为MB，伴有miR-223和miR-711高表达的为GBM；④肺癌脑转移或乳腺癌脑转移高表达miR-935，可伴有或不伴有miR-223和miR-125b高表达。

## 5 治疗

肿瘤miRNA常规分为促癌miRNA和抑癌miRNA。目前胶质瘤miRNA机制研究从不同角度加深了对胶质瘤的了解，比如GBM异常表达Myc和let-7a，影像胶质瘤生长和糖代谢[15]，miR-21及其靶基因PDCD4介导GBM细胞凋亡[16]。Gao等[17]发现抑癌miR-218在GBM侵袭、转移、增殖和干性维持方面的重要作用，可以作为GBM潜在的治疗靶点。类似方面的报道不断增多，足以说明miRNA在参与胶质瘤生理活动中的重要性，同时从miRNA参与肿瘤发生发展的多个层次来看，miRNA是胶质瘤治疗的重要潜在靶点之一。目前只是因miRNA和mRNA网络调控的复杂性，尚未出现巨大突破，可以预见未来多靶点联合治疗和主要调控通路的发现必将加速miRNA参与肿瘤发生发展机制研究走向临床应用。

## 6 化疗耐药和放疗增敏

尽管替莫唑胺（temozolomide，TMZ）能抑制GBM生长，但是对TMZ的耐药依旧很常见，常常导致治疗失败。化疗耐药是GBM治疗的主要问题，而miRNA和mRNA相互作用网络很可能调节着其中大多数的生物学过程，研究miRNA和mRNA的调节关系能让我们更好的了解肿瘤化疗耐药的复杂过程，因为部分miRNA也能发挥化疗增敏的作用。She等[18]报道miR-128和miR-149通过作用于Rap1B介导的细胞骨架重塑来增强TMZ的化疗敏感性。基于miRNA的肿瘤治疗策略不论是单用还是联合标准化治疗增强化疗药物的敏感性，均已有相关研究报道，相信最终能有助于克服化疗耐药的问题。

此外，GBM对放疗也容易慢慢不敏感，并且患者之间的放疗敏感性也差异比较大。Wu等[19]采用基因芯片技术研究术后放疗敏感和放疗抵抗患者miRNA表达谱，结果发现与放疗抵抗组患者相比，放疗敏感组有13个miRNA明显上调，10个miRNA明显下调；通过生物信息分析发现这些表达差异的miRNA主要参与信号转导、增殖、衰老和死亡等生理过程，说明miRNA可作为GBM术后放疗患者的临床预后判断指标。Yang等[20]报道miR-210敲除能抑制低氧诱导的干细胞干性维持，同时降低放疗抵抗。总之，miRNA参与胶质瘤的放化疗抵抗。随着对miRNA作用机制的不断研究，对放化疗抵抗机制越来越清晰，将有助于克服放化疗抵抗这个难题。

## 7 预后判断

尽管依赖组织病理可以诊断胶质瘤，但是却无法判断患者的预后和生存情况。而单凭临床表现又

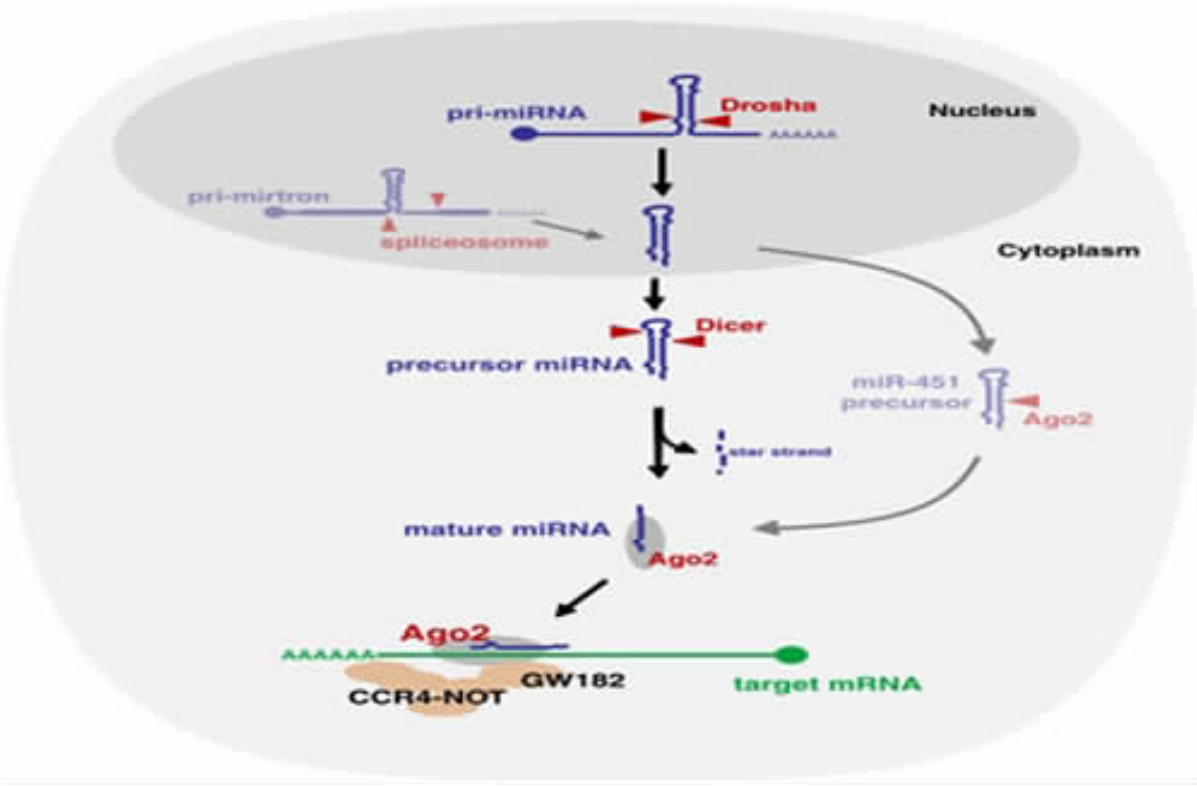


图1　miRNA的生物合成途经，引用参考文献[4]

pri-miRNA：初始miRNA；precursor miRNA：前体miRNA；mature miRNA：成熟miRNA；target mRNA：靶mRNA；Nucleus：细胞核；Cytoplasm：细胞质；spliceosome：剪接体

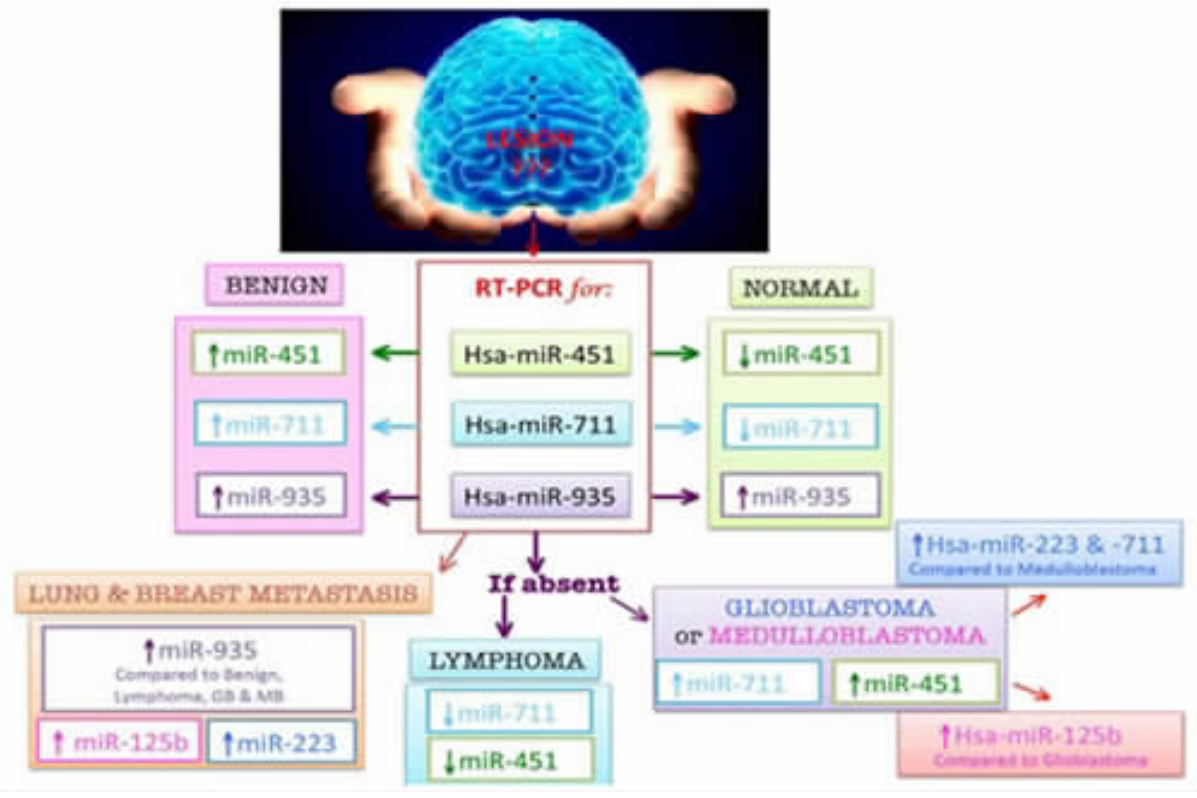


图2　中枢神经系统肿瘤脑脊液miRNA诊断流程图，引用参考文献[14]

Glioblastoma：胶质母细胞瘤；Medulloblastoma：髓母细胞瘤；Lymphoma：淋巴瘤；Metastasis：转移瘤

不能预测疾病的进展，反倒是基因表达谱分析在临床诊断和预后判断中应用越来越广泛，许多与预后生存相关的基因已经鉴定出来，miRNA表达差异分析预测患者生存期在几种癌症中已有研究报道。目前对有助于GBM预后判断的生物标志物的识别研究越来越多，利用生物信息学分析工具整合miRNA和靶基因水平，发现一些基因的表达与不同级别胶质瘤患者的总体生存率密切相关；同时，miRNA生物标志物识别要结合临床病理特征可能会更加准确预测胶质瘤患者的预后。

综上所述，miRNA在胶质瘤机制探讨、临床诊断、辅助治疗、预后判断以及复发中具有重要的临床应用价值。随着大数据时代的到来，利用生物信息分析结合实验室常规研究手段能更高效准确筛选出可作为治疗和判断预后的生物标志物的miRNA，从而提高胶质瘤的诊疗水平，延长患者的生存期，减少复发和放化疗抵抗。

**【参考文献】**


[1] Horvitz HR, Sulston JE. Isolation and genetic characterization of cell-lineage mutants of the nematode Caenorhabditis elegans [J]. Genetics, 1980, 96(2): 435-454.

[2] 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.

[3] Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, *et al*. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA [J]. Nature, 2000, 408(6808): 86-89.

[4] Hammond SM. An overview of microRNAs [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 87: 3-14.

[5] Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing [J]. Nature, 2007, 448(7149): 83-86.

[6] Yang JS, Maurin T, Robine N, *et al*. Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(34): 15163-15168.

[7] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets [J]. Cell, 2005, 120(1): 15-20.

[8] Wang Y, Medvid R, Melton C, *et al*. DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silencing of embryonic stem cell self-renewal [J]. Nat Genet, 2007, 39(3): 380-385.

[9] Koshkin FA, Chistyakov DA, Nikitin AG, *et al*. Profile of microRNA expression in brain tumors of different malignancy [J]. Bull Exp Biol Med, 2014, 157(6): 794-797.

[10] Zhu XP, Mou KJ, Xu QF, *et al*. Microarray analysis of the aberrant microRNA expression pattern in gliomas of different grades [J]. Oncol Rep, 2015, 34(1): 318-324.

[11] Westphal M, Lamszus K. Circulating biomarkers for gliomas [J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(10): 556-566.

[12] Baraniskin A, Kuhnhenn J, Schlegel U, *et al*. Identification of microRNAs in the cerebrospinal fluid as biomarker for the diagnosis of glioma [J]. Neuro Oncol, 2012, 14(1): 29-33.

[13] Teplyuk NM, Mollenhauer B, Gabriely G, *et al*. MicroRNAs in cerebrospinal fluid identify glioblastoma and metastatic brain cancers and reflect disease activity [J]. Neuro Oncol, 2012, 14(6): 689-700.

[14] Drusco A, Bottoni A, Lagana A, *et al*. A differentially expressed set of microRNAs in cerebro-spinal fluid (CSF) can diagnose CNS malignancies [J]. Oncotarget, 2015, 6(25): 20829-20839.

[15] Wang G, Wang J, Zhao H, *et al*. The role of Myc and let-7a in glioblastoma, glucose metabolism and response to therapy [J]. Arch Biochem Biophys, 2015, 580: 84-92.

[16] Wang G, Wang JJ, Tang HM, *et al*. Targeting strategies on miRNA-21 and PDCD4 for glioblastoma [J]. Arch Biochem Biophys, 2015, 580: 64-74.

[17] Gao X, Jin W. The emerging role of tumor-suppressive microRNA-218 in targeting glioblastoma stemness [J]. Cancer Lett, 2014, 353(1): 25-31.

[18] She X, Yu Z, Cui Y, *et al*. miR-128 and miR-149 enhance the chemosensitivity of temozolomide by Rap1B-mediated cytoskeletal remodeling in glioblastoma [J]. Oncol Rep, 2014, 32(3): 957-964.

[19] Wu HM, Wang HD, Tang Y, *et al*. Differential expression of microRNAs in postoperative radiotherapy sensitive and resistant patients with glioblastoma multiforme [J]. Tumour Biol, 2015, 36(6): 4723-4730.

[20] Yang W, Wei J, Guo T, *et al*. Knockdown of miR-210 decreases hypoxic glioma stem cells stemness and radio-resistance [J]. Exp Cell Res, 2014, 326(1): 22-35.


（2016-03-06收稿，2016-06-10修回）