

宫颈癌相关 MicroRNAs 的临床研究进展*

崔陶, 郑莹[△]

(四川大学华西第二医院妇产科, 四川 成都 610041)

摘要: MicroRNAs(miRNAs)是一类内源性非编码的小分子RNA,在细胞增殖、细胞周期、凋亡等方面发挥重要作用,与多种肿瘤的发生、发展、侵袭、转移密切相关。近年来,有关miRNAs与宫颈癌关系的临床研究日益增多,如在宫颈癌中miRNAs表达谱存在明显异常,提示其可能在宫颈癌的发生和发展中起着重要作用。

关键词: MicroRNAs; 宫颈上皮内瘤变; 宫颈肿瘤; 进展

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)16-0001-04

Clinical Research Progress on MicroRNAs Associated with Cervical Cancer

Cui Tao, Zheng Ying

(Department of Obstetrics and Gynecology, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041)

Abstract: MicroRNAs(miRNAs) is a kind of endogenous noncoding small RNA, it plays an important role in cell proliferation, cell cycle and apoptosis and so on, which is closely associated with the occurrence, development, invasion and metastasis of various tumors. In recent years, the clinical researches focus on the correlation between miRNAs and cervical cancer has been increasing. The abnormal expression of miRNAs in cervical cancer suggested that it might play an important role in the occurrence and development of cervical cancer.

Key words: MicroRNAs; cervical intraepithelial neoplasia; cervical neoplasms; progress

世界卫生组织(WHO)国际癌症研究机构报告,仅2012年全世界就有超过100万的妇女确诊为生殖道恶性肿瘤,其中宫颈鳞状细胞癌占50%^[1]。对于缺乏足够资源投入疾病筛查和预防的欠发达国家和地区,宫颈癌带来的社会疾病负担尤为沉重。我国是宫颈癌的高发国家,由于医疗资源有限,迫切需要对宫颈癌的发病机制、预后因素、肿瘤标志物等进行研究,以期找到经济实用的宫颈癌筛查方法和对治疗前景、预后等进行评估的检测指标,从而改善我国宫颈癌治疗现状并降低其死亡率。MicroRNAs(miRNAs)参与基因表达的转录后调节,调节细胞的生长、分化、细胞周期和凋亡等过程,在肿瘤发生、发展中发挥重要作用,是当前研究的热点。

1 概述

miRNAs为内源性单链RNA,大小为18~24个核苷酸,参与机体基因网络的调控^[2]。20多年前,miRNAs首次被学者发现和描述^[3]。到目前为止,miRNAs基因库(www.miRBase.org)中已记载了超过3万种成熟miRNAs,其中超过2500种被证明在人体有表达,且这一数据还在呈指数性地增长^[4]。miRNAs作为调控的主导分子参与肿瘤的发生、发展,位于肿瘤发生、发展这一级联途径的金字塔顶端,有强大的能力调控多个复杂的基因,其

中包括很多目前尚未发现的下游目的基因^[5]。

miRNAs的生物合成需要几个阶段,这一过程称为miRNAs的成熟。首先,位于细胞核内编码miRNAs的基因在核糖核苷酸酶(RNase)Ⅱ或Ⅲ的作用下,形成初级miRNAs,其在Drosha酶(RNA内切酶Ⅲ)和双链RNA结合蛋白Pasha的辅助作用下,生成约70个单核苷酸的发夹状茎环结构,即前体miRNAs。前体miRNAs进入胞质后,通过RNaseⅢ Dicer的剪切,形成成熟miRNAs。成熟miRNAs结合到RNA诱导的基因沉默复合物(RNA induced silencing complex, RISC)中发挥作用。miRNAs主要通过mRNA降解和翻译抑制两方面的机制介导转录后基因的调控。不同组织在不同发育时期具有不同的miRNAs表达谱,具有癌基因活性的miRNAs和具有抑癌基因活性的miRNAs相互制衡,处于动态平衡中。如果平衡被破坏,组织细胞就可能向恶性转化。

2 宫颈癌的诊治

全球宫颈癌的发病率居女性肿瘤的第4位^[1,6]。在发达国家,通过宫颈细胞学联合人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)的检测,使初步筛查宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)的敏感性大大提高。早期接种高危型HPV疫苗也有助于预防宫颈癌^[7]。

*基金项目:国家自然科学基金青年基金项目[81101991]。

第一作者:崔陶,女,博士研究生,主治医师,主要从事妇产科相关疾病临床、基础及教学工作,(电子信箱)cuitao8012@163.com。

[△]通信作者:郑莹,女,博士研究生,博士后,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向为妇科常见病、多发病及妇科恶性肿瘤的微创治疗,(电话)028-85503349,(电子信箱)zhy_chd@126.com。

同时,部分患者还需联合其他检测项目,如阴道镜、液基细胞学检查等。然而,由于这些检测和预防措施的总体费用较高,尚难以在发展中国家得到普遍推广。因此,对宫颈细胞学初筛阳性的患者,寻找更为经济、可靠的检测方法,来进一步判断其宫颈病变的发展趋势,以确定应该继续随访还是临床干预,是当前宫颈癌诊治的研究热点。这对于欠发达国家和地区提高癌前病变的筛查,并最终改善宫颈癌的总体治疗效果并降低死亡率有重要意义。目前已有研究证明,在宫颈癌前病变及宫颈癌中均有 miRNAs 表达的异常,miRNAs 可能在宫颈癌的发病、演变和预后中发挥重要作用^[18-9]。深入研究 miRNAs 在宫颈癌发生、发展中的作用,可为寻找宫颈癌特异性诊断标志物和寻找新的肿瘤治疗靶点提供依据,也可为临床治疗方案的选择和预后评估提供指标。

3 miRNAs 与宫颈癌基因易感性

目前,尽管已公认 99% 以上宫颈癌的发生与 HPV 感染有关,但并不是所有感染了 HPV 的病变都将演变为宫颈癌。因此,不少研究人员仍致力于宫颈癌的基因易感性研究,以期通过寻找 miRNAs 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点,预测 HPV 感染患者宫颈癌的发生风险^[10]。目前已发现一部分 SNP 位点可能对宫颈癌有保护作用^[11-12],但其保护机制尚不清楚,其中研究最广泛的是 miR-146a 中的 rs2910164。Yin 等^[11]认为,在亚洲人群中,该 SNP 位点与宫颈癌发生风险降低有关,但 Wang 等^[13]却认为没有保护作用。有研究表明,在中国东部人群中,初级 miR-218 可能与宫颈癌发病风险降低有关,其机制可能是初级 miR-218 二级结构的变异^[14];也有研究认为,miRNAs 的 SNP 与宫颈癌的发生风险没有相关性^[15]。总之,通过 miRNAs 预测 HPV 感染后宫颈癌发病的风险,还缺乏足够的证据。

4 miRNAs 与宫颈 CIN

CIN 是宫颈癌典型的癌前病变,可反映宫颈癌发生、发展的连续过程。CINⅢ伴随 HPV 感染的持续存在,是导致宫颈浸润癌发生的绝对高危因素^[16]。CIN 具有两种不同的结局,一是病变自然消退,二是病变发展为浸润性宫颈癌。对于临床医生,若能判断出 CIN 病灶可自行逆转的患者,就可使这部分患者免受手术的损伤,也能避免术后出现的宫颈机能不全、早产等并发症^[17]。

目前,在宫颈病变组织和宫颈癌细胞系中已发现 HPV 基因编码的 miRNAs,认为 HPV 基因组中常发生的 miRNAs 结合位点丢失可能与宫颈癌的发生、发展有关,但这些研究似乎并未得到临床证实,尚待进一步研究^[18]。近年来,较多学者着重于 miRNAs 在 CIN 转变为宫颈浸润癌的过程中发挥的作用(见表 1),如通过检测

miR-25/miR-92a 和 miR-22/miR-29a 的比率,判断哪些感染了 HPV 的患者更易发展为宫颈浸润癌^[19-20]。有研究认为,由甲基化调控在 CIN 到宫颈浸润癌的转变中发挥重要作用的 miR-124,可通过特异性的甲基化定量聚合酶链反应(PCR)在宫颈细胞学标本中进行检测^[21]。还有一些涉及人体组织的研究,包括 miR-203 经甲基化启动后,可通过影响血管内皮生长因子-A(vascular endothelial growth factor-A, VEGFA)影响肿瘤血管生成的研究等^[22]。RNA 酶的存在,使由细胞分泌到血液循环中的 miRNAs 小分子在转移过程中能迅速被降解掉。因此,研究者们最初认为血清中并不存在 miRNAs,直到 2007 年,包裹在外染色体和颗粒小泡中的 miRNAs 在血液中被检测到后,相应的临床研究才越来越多,miR-126 和 miR-21 就是在血清中发现的与宫颈癌发生相关的 miRNAs^[23]。通过检测宫颈癌患者血清中的 miRNAs,研究者们还发现了许多 miRNAs 的候选标记物,如表达量明显升高的 miR-21, miR-27a, miR-34, miR-34a 和 miR-196a^[9]。这些研究结果表明,血清中的 miRNAs 可能成为宫颈癌早期诊断的预测指标。

5 miRNAs 与宫颈癌预后

目前,对 miRNAs 表达谱的研究主要集中在寻找出与宫颈癌临床特征如化疗耐药性、淋巴结转移、总生存率等相关的 miRNAs(见表 1)。对于宫颈癌,有无淋巴结转移是术前判断的难点,也是决定患者临床分期及选择治疗方案的关键。若术前可疑有淋巴结转移,则治疗方式将以保留子宫的放射治疗(简称放疗)为主,而不再是广泛性子官切除,而确定有无淋巴结转移则一般需要组织活检。因此,减少手术风险和优化治疗方案的关键是用非侵入性的检测方法确定疾病的浸润范围。

血清中的 miR-20a 具有超过 70% 的灵敏度和特异性,可能成为术前预测宫颈癌患者有无淋巴结转移的指标^[24]。也有研究发现,血清中 miR-1246, miR-20a, miR-2392, miR-3147, miR-3162-5p 和 miR-4484 的表达,其灵敏度和特异性与组织中的表达更为接近,也可用于预测有无淋巴结转移^[25]。Huang 等^[26]发现,晚期宫颈癌中有 7 种 miRNAs 的表达明显下降,包括 let-7c, miR-10b, miR-100, miR-125b, miR-143, miR-145 和 miR-199a-5p,其中 miR-100 和 miR-125b 与宫颈癌预后不良有关。此外,miRNAs 与化学治疗(简称化疗)敏感性也有相关性。一项随机对照研究表明,对 IIB 期宫颈癌患者术前进行的新辅助化疗有助于改善预后。其机制可能是顺铂调控了 p53:miR-34a; E2F 通路和 p53:miR-605; Mdm2 通路,这两条信号通路已被证实是肿瘤发生、发展的关键信号传导途径^[27]。

表1 与宫颈癌相关的 miRNA 临床研究(部分)

miRNAs	临床研究结论	作者	参考文献(序号,年份)
miR-100	降低与从 CIN 演变为宫颈癌有关	Li BH	[20],2011
miR-21	表达与从 CIN 演变为宫颈癌有关	Deftereos G	[28],2011
miR-375	低表达与淋巴结转移相关	Wang F	[29],2011
miR-133b	升高与宫颈癌的发生和转移相关	Qin W	[30],2012
miR-218	血清水平与临床分期、淋巴结转移相关	Shi TY	[13],2013;[31],2012
	初级 miR-218 的 rs11134527 SNP 与宫颈癌发病风险相关	Yu J	[32],2013
miR-146a	miR-146a 中 rs2910164 SNP 与宫颈癌发病风险降低有关	Yin Z	[11],2013
miR-181a	宫颈癌化疗敏感性有关	Ke G	[33],2013
miR-203	血清水平与淋巴结转移相关	Zhao S	[24,34]2013
miR-20a	血清水平与淋巴结转移、病理分级和肿瘤大小相关	Zhao S	[24,34]2013
miR-424	与宫颈癌分期、淋巴结转移、微血管浸润等相关	Xu J	[35],2013
miR-497	组织中的表达与临床分期和淋巴结转移相关	Luo M	[36],2013
miR-224	与微血管浸润、HPV 感染、淋巴结转移、总生存率、临床分期有关	Shen SN	[37],2013
miR-27a	miR-27a rs895819 SNP 与宫颈癌发病风险有关	Xiong XD	[12],2014
miR-25/miR-92a	表达比率增加与宫颈鳞癌发生有关	Wang X	[19],2014
miR-22/miR-29a			
miR-155	miR-155 上调可能与不良预后相关	Fang H	[38]2016
miR-466	与宫颈癌发生、发展相关	Sun P	[39],2017
miR-378	升高与宫颈癌的发生和转移有关	Ma C;Tan D	[40,41],2018
miR-492	与淋巴转移率呈正相关,与预后相关	Liu M	[42],2018

6 展望

miRNAs 为宫颈癌的研究开辟了新的领域。miRNAs 分子作为诊断、治疗和预后评价的可能指标,在宫颈癌甚至整个女性生殖系统肿瘤中具有潜在的巨大临床应用前景。尽管通过体外研究和动物模型试验,miRNAs 参与肿瘤发生、发展的某些分子机制已被初步证实,但这对于了解 miRNAs 在宫颈癌发生、发展中的作用仅是一个开端,至今还没有任何一种 miRNA 分子已用于临床治疗。相信随着宫颈肿瘤 miRNAs 表达谱的日趋完善及调控机制的深入研究,miRNAs 在宫颈癌的筛查、诊断、治疗和预后评价等方面的应用将跨入新时代。

参考文献:

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer, 2015, 136(5):E359 - E386.
- [2] Hawkins SM, Buchold GM, Matzuk MM. Minireview: The roles of small RNA pathways in reproductive medicine[J]. Mol Endocrinol, 2011, 25(8):1257 - 1279.
- [3] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 1998, 391(6669):806 - 811.
- [4] Griffiths - Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, et al. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature[J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(Database issue):D140 - D144.
- [5] Vera J, Lai X, Schmitz U, et al. MicroRNA-regulated networks: the perfect storm for classical molecular biology, the ideal scenario

for systems biology[J]. Adv Exp Med Biol, 2013, 774:55 - 76.

- [6] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12):2893 - 2917.
- [7] Serrano B, Alemany L, Tous S, et al. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease[J]. Infect Agent Cancer, 2012, 7(1):38.
- [8] Hu X, Schwarz JK, Lewis JS, et al. A microRNA expression signature for cervical cancer prognosis[J]. Cancer Res, 2010, 70(4):1441 - 1448.
- [9] Gocze K, Gombos K, Juhasz K, et al. Unique microRNA expression profiles in cervical cancer[J]. Anticancer Res, 2013, 33(6):2561 - 2567.
- [10] Johanneson B, Chen D, Enroth S, et al. Systematic validation of hypothesis-driven candidate genes for cervical cancer in a genome-wide association study[J]. Carcinogenesis, 2014, 35(9):2084 - 2088.
- [11] Yin Z, Yan L, Cui Z, et al. Effects of common polymorphisms rs2910164 in miR-146a and rs3746444 in miR-499 on cancer susceptibility: a meta-analysis[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(4):3003 - 3013.
- [12] Xiong XD, Luo XP, Cheng J, et al. A genetic variant in pre-miR-27a is associated with a reduced cervical cancer risk in southern Chinese women[J]. Gynecol Oncol, 2014, 132(2):450 - 454.
- [13] Wang J, Bi J, Liu X, et al. Has-miR-146a polymorphism (rs2910164) and cancer risk: a meta-analysis of 19 case -

- control studies[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(4):4571–4579.
- [14] Shi TY, Chen XJ, Zhu ML, et al. A pri-miR-218 variant and risk of cervical carcinoma in Chinese women[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13(1):19.
- [15] Chen J, Qin Z, Pan S, et al. Genetic variants in RAN, DICER and HIWI of microRNA biogenesis genes and risk of cervical carcinoma in a Chinese population[J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25(5):565–571.
- [16] Kjaer SK, Frederiksen K, Munk C, et al. Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(19):1478–1488.
- [17] Conner SN, Frey HA, Cahill AG, et al. Loop electrosurgical excision procedure and risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis[J]. *Obstet Gynecol*, 2014, 123(4):752–761.
- [18] Mandal P, Bhattacharjee B, Das Ghosh D, et al. Differential expression of HPV16 L2 gene in cervical cancers harboring episomal HPV16 genomes: influence of synonymous and non-coding region variations[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e65647.
- [19] Wang X, Wang HK, Li Y, et al. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(11):4262–4267.
- [20] Li BH, Zhou JS, Ye F, et al. Reduced miR-100 expression in cervical cancer and precursors and its carcinogenic effect through targeting PLK1 protein[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(14):2166–2174.
- [21] Wilting SM, Van Boerdonk RA, Henken FE, et al. Methylation-mediated silencing and tumour suppressive function of hsa-miR-124 in cervical cancer[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9:167.
- [22] Zhu X, Er K, Mao C, et al. miR-203 suppresses tumor growth and angiogenesis by targeting VEGFA in cervical cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(1):64–73.
- [23] Gilad S, Meiri E, Yagov Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers[J]. *PLoS One*, 2008, 3(9):e3148.
- [24] Zhao S, Yao DS, Chen JY, et al. Aberrant expression of miR-20a and miR-203 in cervical cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(4):2289–2293.
- [25] Chen J, Yao D, Li Y, et al. Serum microRNA expression levels can predict lymph node metastasis in patients with early-stage cervical squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(3):557–567.
- [26] Huang L, Lin JX, Yu YH, et al. Downregulation of six microRNAs is associated with advanced stage, lymph node metastasis and poor prognosis in small cell carcinoma of the cervix[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e33762.
- [27] Sun H, Xin J, Lu Z, et al. Potential molecular mechanisms for improved prognosis and outcome with neoadjuvant chemotherapy prior to laparoscopic radical hysterectomy for patients with cervical cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(5):1528–1540.
- [28] Deftereos G, Corrie SR, Feng Q, et al. Expression of mir-21 and mir-143 in cervical specimens ranging from histologically normal through to invasive cervical cancer[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12):e28423.
- [29] Wang F, Li Y, Zhou J, et al. miR-375 is down-regulated in squamous cervical cancer and inhibits cell migration and invasion via targeting transcription factor SP1[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(5):2580–2588.
- [30] Qin W, Dong P, Ma C, et al. MicroRNA-133b is a key promoter of cervical carcinoma development through the activation of the ERK and AKT1 pathways[J]. *Oncogene*, 2012, 31(36):4067–4075.
- [31] Yu J, Wang Y, Dong R, et al. Circulating microRNA-218 was reduced in cervical cancer and correlated with tumor invasion[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(4):671–674.
- [32] Suzuki H, Maruyama R, Yamamoto E, et al. Epigenetic alteration and microRNA dysregulation in cancer[J]. *Front Genet*, 2013, 4:258.
- [33] Ke G, Liang L, Yang JM, et al. MiR-181a confers resistance of cervical cancer to radiation therapy through targeting the pro-apoptotic PRKCD gene[J]. *Oncogene*, 2013, 32(25):3019–3027.
- [34] Zhao S, Yao D, Chen J, et al. Circulating miRNA-20a and miRNA-203 for screening lymph node metastasis in early stage cervical cancer[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2013, 17(8):631–636.
- [35] Xu J, Li Y, Wang F, et al. Suppressed miR-424 expression via upregulation of target gene Chk1 contributes to the progression of cervical cancer[J]. *Oncogene*, 2013, 32(8):976–987.
- [36] Luo M, Shen D, Zhou X, et al. MicroRNA-497 is a potential prognostic marker in human cervical cancer and functions as a tumor suppressor by targeting the insulin-like growth factor 1 receptor[J]. *Surgery*, 2013, 153(6):836–847.
- [37] Shen SN, Wang LF, Jia YF, et al. Upregulation of microRNA-224 is associated with aggressive progression and poor prognosis in human cervical cancer[J]. *Diagn Pathol*, 2013, 8:69.
- [38] Fang H, Shuang D, Yi Z, et al. Up-regulated microRNA-155 expression is associated with poor prognosis in cervical cancer patients[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83:64–69.
- [39] Sun P, Shen Y, Gong JM, et al. A New MicroRNA Expression Signature for Cervical Cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(2):339–343.
- [40] Ma C, Zhang W, Wu Q, et al. Identification of a microRNA signature associated with survivability in cervical squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3):e0193625.
- [41] Tan D, Zhou C, Han S, et al. MicroRNA-378 enhances migration and invasion in cervical cancer by directly targeting autophagy-related protein 12[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5):6319–6326.
- [42] Liu M, An J, Huang M, et al. MicroRNA-492 overexpression involves in cell proliferation, migration, and radiotherapy response of cervical squamous cell carcinomas[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(1):32–43.

(收稿日期:2018-04-10)