

- in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies (J). *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(7): 2219-2241.
- (5) 杨艳艳, 赵琼, 廖琼, 等. 肠道菌群与小儿腹泻的中医药治疗进展 (J). *成都中医药大学学报*, 2014, 37(1): 111-113, 124.
- (6) 石永生, 王永军, 蒋成鹏, 等. 婴幼儿迁延性腹泻病发病及预后的高危因素 (J). *中国妇幼保健*, 2011, 26(5): 695-699.
- (7) 陈小娟. 肠道益生菌联合蒙脱石散治疗小儿过敏性腹泻的临床效果 (J). *临床医学研究与实践*, 2020, 5(11): 100-101.
- (8) 李国芳. 江育仁教授学术思想简介 (J). *中医儿科杂志*, 2016, 12(6): 6-9.
- (9) 杨志华, 杨文华. 七味白术散治疗小儿脾虚泄泻 23 例 (J). *甘肃中医*, 2010, 23(12): 36-37.
- (10) 陈海燕, 崔新亮. 白术散加味治疗小儿腹泻疗效观察 (J). *淮海医药*, 2011, 29(3): 260.
- (11) 豆新君, 朱宏浩. 益气补脾手法治疗小儿脾虚腹泻的疗效 (J). *临床医学研究与实践*, 2018, 3(26): 127-128.
- (12) 龚晶晶. 推拿治疗小儿秋季腹泻疗效观察 (J). *东方药膳*, 2019, 25(10): 180.
- (13) 王志云. 中医推拿治疗小儿秋季腹泻疗效观察 (J). *中国实用医药*, 2018, 13(8): 47-48.
- (14) 王文雅. 双歧三联活菌片联合蒙脱石散治疗小儿腹泻 (J). *中国城乡企业卫生*, 2020, 35(4): 127-128.
- (15) 庞爱华, 韩秋丽. 贝飞达治疗婴儿迁延性腹泻病疗效观察 (J). *中国现代医生*, 2009, 47(3): 153-154.
- (16) 何桂华, 陈亚梅. 思密达治疗小儿腹泻的效果研究 (J). *当代医药论丛*, 2019, 17(15): 136-137.

〔文章编号〕 1007-0893(2020)21-0196-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.21.095

miRNA 在宫颈癌中的研究进展

梁文丽^{1,3} 刘植华^{2,3*}

(1. 深圳市第二人民医院, 广东 深圳 518035; 2. 深圳市妇幼保健院, 广东 深圳 518000; 3. 广州医科大学, 广东 广州 510180)

〔摘要〕 微小 RNA (miRNA) 是一类小分子的非编码调控的单链 RNA。研究发现 miRNA 泛参与细胞生长、分化发育、增殖、凋亡、代谢等过程, 与人类的多种疾病密切相关。目前, miRNA 在宫颈癌的研究尚处于初级阶段, 本研究对 miRNA 与宫颈癌的发生、分化、转移、预后的相关性及其机制的研究予以综述。

〔关键词〕 宫颈癌; 微小 RNA; 基因多态性

〔中图分类号〕 R 737.33 〔文献标识码〕 A

宫颈癌是世界范围内最常见的妇科恶性肿瘤, 对女性健康和生命安全危害极大。宫颈癌被认为是第 1 个病因明确的人类肿瘤, 研究发现人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 感染是宫颈细胞发生癌变的必要因素^[1]; 此外, 先天遗传因素、免疫功能、外界环境等其他因素都对宫颈癌的发生有影响^[2]。目前 HPV 确切的致癌机制仍未被阐明, 但研究发现微小 RNA (microRNA, miRNA) 是此过程中的重要因子。Nambaru 等研究发现 HPV 整合位点附近检测出 miRNAs 基因, 并出现频率为 78.3%^[3]。

1 miRNA 简述

miRNA 是一类内源性短链非编码 RNA, 长度在 19~25 个核苷酸左右, 一般以单拷贝、多拷贝或成簇的形式存在于基

因组, 它通过与靶 mRNA 的 3' 非编码序列 (3'UTR) 的完全或不完整的碱基互补配对, 导致靶基因 mRNA 的降解或者抑制 mRNA 的翻译, 调控蛋白质的表达, 广泛参与细胞生长、分化发育、增殖、凋亡、代谢等过程。miRNA 于上世纪 90 年代在秀丽线虫中首次被发现, 至今已经在病毒、细菌、果蝇、脊椎动物等数千个物种体内发现。近年来大量实验表明, miRNA 在宫颈癌等许多肿瘤组织中的表达水平有不同程度的上调或下调, 提示其在肿瘤细胞的生长、增殖、凋亡等多种生物学过程中发挥着原癌基因或抑癌基因的作用^[4]。

2 宫颈癌中 miRNA 表达谱和调控网络

研究认为, 恶性肿瘤发生发展过程与多种 miRNA 有关, 且 miRNA 的表达具有时序和空间特异性。然而 miRNA 的

〔收稿日期〕 2020-07-05

〔基金项目〕 深圳市卫计委博士创新项目资助课题 (SZBC2017010)

〔作者简介〕 梁文丽, 女, 主治医师, 主要研究方向是妇科肿瘤。

〔*通信作者〕 刘植华 (E-mail: wingly@163.com)

改变是细胞恶变的原因还是结果,目前尚存在争议。研究发现宫颈癌中存在大量 miRNA 的异常表达,根据其在宫颈癌进程中的发挥的作用将其分为促癌 miRNA 和抑癌 miRNA。

MiR-21 是一个重要的癌症相关 miRNA,几乎在目前已知的所有人类肿瘤中有存在不同程度异常表达。MiR-21 基因定位于人类染色体 17q23.2 位点。Zhu 等发现,在宫颈癌细胞中抑制 MiR-21 能诱导肿瘤细胞发生细胞周期阻滞,同时癌细胞对化疗药物的敏感性增加^[5]。Peralta-Zaragoza 等研究发现, MiR-21 对抑癌基因 p53 和 cdc25 有负调控作用,能促进细胞增殖,通过影响 RECK 和 TPM1 促进肿瘤迁移和侵袭性;通过 PDCD4 和 PTEN 抑制肿瘤凋亡^[6]。宫颈癌细胞中 MiR-21 能够激活有丝分裂信号,诱导产生转录因子 AP-1, AP-1 与 MiR-21 启动子区结合后激活其转录,影响下游信号调节^[7]。以上研究表明 MiR-21 在宫颈癌细胞中异常表达,在与细胞恶性转化有关的增殖、凋亡、侵袭和转移等过程中具有重要的生物学作用。miR-143 是另一个在宫颈癌中意义重大的 miRNA,在多数研究中其被视为一个抑癌基因。Liu 等通过免疫组化技术发现, miR-143 在宫颈癌患者癌组织表达较癌旁组织明显降低,且其降低程度与癌症的临床分期、远端淋巴结转移和化疗后效果有关联^[8]。现有的研究已经发现 miR-143 的靶基因有 MACC1^[9]、Bcl-2^[10] 等,这些因子都是 MAPK 和 ERK5 信号通路上的关键蛋白。Liu 等研究发现 miR-143 在宫颈癌 HeLa 细胞中显著低表达,外源性转入 miR-143 后 HeLa 细胞中原癌基因 Bcl-2 表达明显受抑制,进一步实验发现细胞的增殖抑制,凋亡增加;而敲降 miR-143 后细胞中 Bcl-2 高表达^[8]。Li 等发现 miR-886-5p 在宫颈癌中显著高表达,且对 Bax 的表达有负调控作用,在 HPV16+ 的宫颈癌细胞中敲除 miR-886-5p 能够促进 Bax 的表达^[11]。Bax 作为抑癌基因,能编码凋亡前体蛋白,插入线粒体外膜后启动细胞死亡信号,导致细胞色素 C 的释放和 Caspase-9 的活化,进而促进肿瘤细胞凋亡。此外, let-7c、miR-126、miR-143、miR-106b、miR-146、miR-10a、miR-135b 等众多 miRNA 都被认为与宫颈癌有关,参与宫颈癌细胞的异常增殖、凋亡抑制、粘附侵袭等过程,发挥促癌或抑癌作用。

3 miRNA 的基因多态性与宫颈癌

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是指基因组上单个核苷酸变异所引起的 DNA 序列多态性。Lin 等研究发现 miRNA 结合位点的 SNP 能改变靶基因 mRNA 的功能,从而导致癌症的易感性和进展^[12]。Xu 等研究证实在亚洲人群中 miRNA 的单核苷酸多态性与多种癌症的发病风险有关^[13]。Wang 等通过对来自 19 个临床中心的 10496 个病例和 12885 个对照进行的 META 分析现实和, miR-146a 的 rs2910164 多态性能增加亚洲人群癌症的易感性 ($OR = 1.18, 95\% CI (1.03, 1.35)$)^[14]。Wang 等在另一项临床随机对照实验的 META 分析中发现 miR-499 的 rs3746444 多态性与癌症易感性有关, miR-499 的 rs3746444

多态性位点与杂合子模型的癌症风险更高^[15]。然而肿瘤是一个多因素的复杂过程,仅某一个 SNP 不足以预测癌症风险。miRNA 多态性和宫颈癌的发病机制之间关系复杂,查明基因型和疾病易感性之间的关系在理解疾病的发病机理、预测疾病预后转归等方面都有重要作用。

4 miRNA 染色体异常和宫颈癌

有研究指出染色体结构不稳定可能使 miRNA 的表达模式发生改变。Wilting 等在宫颈鳞状细胞癌中观察到 106 个 miRNA 在癌症连续发展过程中显著异常表达,其中 46 个在癌症晚期出现异常表达,33 个在 CIN-2-3 阶段持续发生表达改变,其中变化最显著的 5 个差异 miRNA 为 miR-9 (位于染色体 1q23.2), miR-15b (位于染色体 3q25.32), miR-28-5p (位于染色体 3q27.3), miR-100 和 miR-125b (均位于染色体 11q24.1)^[16]。进一步研究发现以上 miRNA 的表达变化与染色体异常有关,包括 HPV-DNA 整合到宿主染色体后引起的染色体断裂、丢失或畸变等,而染色体的异常又能反过来促进 HPV 诱导的癌变。可见,HPV 感染后病毒基因组与人类染色体之间相互作用最终导致 miRNA 表达谱变化,参与宫颈癌的发生发展。

5 miRNA 甲基化与宫颈癌

表观遗传学是不涉及基因序列改变,但能导致基因发生可遗传改变的表达调控方式,甲基化是其中一种重要的修饰手段。尽管近年来国内外有很多功能基因甲基化与宫颈癌的研究,但是有关 miRNA 甲基化和宫颈癌的报道并不多见。Botezatu 等通过直接定量甲基化特异性 PCR 检测 60 例宫颈癌患者癌组织中的甲基化状态,包括 29 例癌前病变、31 例原位癌,结果显示,宫颈癌组 miRNA 的甲基化程度与健康对照组之间存在显著差异,癌前病变组 miRNA 甲基化程度与对照组之间也存在显著差异,提示 miRNA 甲基化与宫颈癌相关,且在宫颈癌的进展过程中动态变化^[17]。Wilting 等指出 miRNA 的甲基化水平可能作为潜在的生物学标志物,评估宫颈癌的癌前病变状态^[18]。作为具有遗传易感性的基因甲基化修饰与人类肿瘤关系密切,对特定基因甲基化的检测可能作为疾病进展状态的预判指标,及时干预对于提高治疗效果,改善预后具有重要作用。

6 miRNA 与 HPV 感染

大量研究证明,高危型 HPV 感染是宫颈上皮瘤变和宫颈癌发生的重要因素,绝大多数宫颈癌与 HPV 感染有关。HPV 感染后 DNA 整合到宿主基因组是宫颈癌变必不可少的步骤。HPV16 编码 E5、E6 和 E7 这 3 种癌基因,其中在宫颈癌过程中有主导作用的是 E6 和 E7。Wang 等研究发现,HPV 病毒蛋白 E6 能通过泛素化途径降解抑癌基因 p53 而使 miR-34a 低表达;敲降 HPV16/18+ 宫颈癌细胞中的 E6 基因后,p53 和 miR-34a 高表达,证明病毒致瘤蛋白能影响 miRNA 的表达^[19]。Au 等也发现类似的现象,E6 蛋白能通

过降解 p53 下调 miR-23 水平, 从而引起尿激酶型纤溶酶原激活剂高表达^[20]。Stiasny 等指出 HPV 病毒蛋白 E7 能降解肿瘤抑制因子 pRb, 通过与 AP-1 转录因子家族结合, 引起下游基因的表达变化, 参与宫颈癌的过程^[21]。PRb 能与 E2F 特异性结合形成复合物, 阻断 E2F 对靶基因的转录调节, 使细胞发生 G1/S 期阻滞等将 HPV 蛋白 E7 移植到裸鼠体内后, E7 蛋白在裸鼠体内稳定表达 6 月, 诱导形成的病变组织学上类似与 HPV 引起的人类生殖器病变外观。虽然认为宫颈癌的发生发展与持续 HPV 感染密切相关, 但感染 HPV 的患者最终发展为宫颈癌者仍是极少数, 说明还有其他因素参与了宫颈癌的复杂过程。目前的研究虽然尚不能完全证实 HPV 感染导致了宫颈癌中 miRNA 的异常表达, 但为宫颈癌的研究提供了新的方向。

7 展 望

宫颈癌是发病率仅次于乳腺癌的女性恶性肿瘤, miRNA 与宫颈癌的发生发展的关系密切, 但两者之间的关系并未明确。随着 miRNA 研究的进展和芯片技术的快速发展, miRNA 联合基因多态性、染色体变异、基因甲基化修饰、HPV 感染等的研究不断深入, 为宫颈癌的诊断、治疗和预后监测提供了新的思路和方法。查明宫颈癌中特异性 miRNA 以及其作用机制, 有助于阐明宫颈癌的发病机制, 同时能为宫颈癌的诊疗提供新的靶向性分子标志物, 有助于寻找新的治疗手段和靶向药物, 具有重要的临床意义和社会价值。

[参考文献]

(1) Mahmoodi P, Fani M, Rezayi M, et al. Early detection of cervical cancer based on high-risk HPV DNA-based genosensors: A systematic review. *Biofactors* (J) . 2019, 45(2): 101-117.

(2) Sakamoto J, Kamiura S, Okayama K, et al. Single type infection of human papillomavirus as a cause for high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer in Japan (J) . *Papillomavirus Res*, 2018, 21(6): 46-51.

(3) Nambaru L, Meenakumari B, Swaminathan R, et al. Prognostic significance of HPV physical status and integration sites in cervical cancer (J) . *Asian Pac J Cancer Prev*, 2009, 10(3): 355-60.

(4) Ding HX, Lv Z, Yuan Y, et al. MiRNA Polymorphisms and Cancer Prognosis: A Systematic Review and Meta-Analysis (J) . *Front Oncol*, 2018, 38(8): 596.

(5) Zhu Y, Han Y, Tian T, et al. MiR-21-5p, miR-34a, and human telomerase RNA component as surrogate markers for cervical cancer progression (J) . *Pathol Res Pract*. 2018, 214(3): 374-379.

(6) Peralta-Zaragoza O, J Deas, A Meneses-Acosta, et al. Relevance of miR-21 in regulation of tumor suppressor gene PTEN in human cervical cancer cells (J) . *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 215.

(7) Feng Y, Zou W, Hu C, et al. Modulation of CASC2/miR-21

/PTEN pathway sensitizes cervical cancer to cisplatin (J) . *Arch Biochem Biophys*, 2017, 623(6): 20-30.

(8) Liu L, Wang YL, Wang JF. [Differential expression of miR-21, miR-126, miR-143, miR-373 in normal cervical tissue, cervical cancer tissue and Hela cell] (J) . *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2012, 43(4): 536-539.

(9) Akao Y, MKumazaki, H Shinohara, et al. Impairment of K-Ras signaling networks and increased efficacy of epidermal growth factor receptor inhibitors by a novel synthetic miR-143 (J) . *Cancer Sci*, 2018, 109(5): 1455-1467.

(10) Ma Z, Luo Y, Qiu M. miR-143 Induces the Apoptosis of Prostate Cancer LNCap Cells by Suppressing Bcl-2 Expression (J) . *Med Sci Monit*, 2017, 23(7): 359-365.

(11) Li JH, Xiao X, Zhang YN, et al. MicroRNA miR-886-5p inhibits apoptosis by down-regulating Bax expression in human cervical carcinoma cells (J) . *Gynecol Oncol*, 2011, 120(1): 145-151.

(12) Lin J, Zandi R, Shao R, et al. A miR-SNP biomarker linked to an increased lung cancer survival by miRNA-mediated down-regulation of FZD4 expression and Wnt signaling (J) . *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9029.

(13) Xu Q, Wu YF, Li Y, et al. SNP-SNP interactions of three new pri-miRNAs with the target gene PGC and multidimensional analysis of *H. pylori* in the gastric cancer/atrophic gastritis risk in a Chinese population (J) . *Oncotarget*, 2016, 7(17): 23700-23714.

(14) 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.

(15) Wang Y, Yang B, Ren X. Hsa-miR-499 polymorphism (rs3746444) and cancer risk: a meta-analysis of 17 case-control studies *Gene* (J) . 2012, 509(2): 267-272.

(16) Wilting SM, W Verlaet, A Jaspers, et al. Methylation-mediated transcriptional repression of microRNAs during cervical carcinogenesis (J) . *Epigenetics*, 2013, 8(2): 220-228.

(17) Botezatu A, CD Goia-Rusanu, IV Iancu, et al. Quantitative analysis of the relationship between microRNA124a, -34b and -203 gene methylation and cervical oncogenesis (J) . *Mol Med Rep*, 2011, 4(1): 121-128.

(18) Wilting SM, V Miok, A Jaspers, et al. Aberrant methylation-mediated silencing of microRNAs contributes to HPV-induced anchorage independence (J) . *Oncotarget*, 2016, 7(28): 43805-43819.

(19) Wang X, Meyers C, Guo M, et al. Upregulation of p18Ink4c expression by oncogenic HPV E6 via p53-miR-34a pathway (J) . *Int J Cancer*, 2011, 129(6): 1362-72.

(20) Au Yeung, TY Tsang, PL Yau, et al, Human papillomavirus type 16 E6 induces cervical cancer cell migration through the p53/microRNA-23b/urokinase-type plasminogen activator pathway (J) . *Oncogene*, 2011, 30(21): 2401-2410.

(21) Stiasny A, C Kuhn, D Mayr, et al. Immunohistochemical Evaluation of E6/E7 HPV Oncoproteins Staining in Cervical Cancer (J) . *Anticancer Res*, 2016, 36(6): 3195-3198.