

microRNAs 在肿瘤病理学研究中的进展

李玉军

基金项目:山东省科技发展计划项目(2013GSF11866)

作者单位:266003 青岛市,青岛大学附属医院病理科

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.01.001

microRNAs (miRNAs) 是一类长度约为 20~23 nt 的内源性小分子单链非编码 RNA, 其位于基因组内非编码区, 进化上高度保守, 可在转录后水平对基因表达进行调节^[1-3]。miRNAs 通过调控基因表达、在细胞增殖、凋亡、分化及个体发育等过程中发挥着重要的作用。近十多年的研究^[4,5]已证实, miRNAs 与肿瘤的发生及发展关系密切, 通过调控其靶基因的表达从而影响肿瘤的发生发展, 发挥着类似癌基因或抑癌基因的作用。这些与肿瘤相关的 miRNAs 对肿瘤的诊断、治疗及判断预后都具有重要的意义及应用前景。

1 miRNAs 的发现、产生、成熟及作用机制

1993 年, Lee 等^[6]首先在线虫的胚胎发育期发现一种长度约为 22 nt 的小分子非编码 RNA, 能调节线虫细胞发育时序, 将其命名为 lin-4。随后研究者发现 lin-4 通过碱基配对的方式结合到 lin14 mRNA 的 3' 末端非翻译区 (3' untranslated region, 3'UTR), 可以抑制 lin14 蛋白表达。2000 年 Reinhart 等^[7]发现另一小分子单链非编码 RNA-let-7。与 lin-4 的作用机制相似, let-7 通过与 lin-41 和 lin-57 mRNA 的 3'UTR 结合实现转录抑制功能, 从而影响线虫的时序性发育。从此以后, lin-4 和 let-7 很快引起人们的关注, 许多实验室从家鼠、拟南芥、线虫、果蝇及人类等多种真核生物的细胞中陆续发现了超过 300 余种此类小分子非编码 RNA, 科学家以 miRNAs 来命名这些呈现时空特异性表达模式的非编码小分子。

miRNAs 的产生及成熟过程大致可分为核内及核外两个阶段。miRNAs 基因经 RNA 聚合酶 II 或 III 转录形成长度约 1000 bp 的长链 RNA 初始转录产物 (pri-miRNAs)。在细胞核中, Drosha 及 DGCR8 酶对 pri-miRNAs 的基部进行剪切, 形成约 60~70 nt 带有茎环结构的 pre-miRNAs, 然后通过转运蛋白 Exportin-5 运输到细胞质。在细胞质中, 由 Dicer 酶识别并切割 pre-miRNAs 双链的 3' 末端及 5' 末端, 形成 19~23 nt 的小分子 RNA, 即成熟的 miRNAs^[8]。

成熟的 miRNAs 在细胞中通过 RNA 诱导沉默复合体发挥作用^[9,10]。成熟 miRNAs 通过种子序列匹配而结合到靶

mRNAs 上, 通过与 3'UTR 完全或不完全互补结合, 对靶 mRNAs 进行降解或抑制其蛋白翻译, 从而抑制靶基因的表达, 发挥其生物学作用 (图 1)。多个 miRNAs 可以协同调节单个靶基因, 一个 miRNA 也可以调节若干个靶基因。因此, miRNAs 和靶基因之间形成了复杂的调控网络, 维系着细胞正常功能的运转。

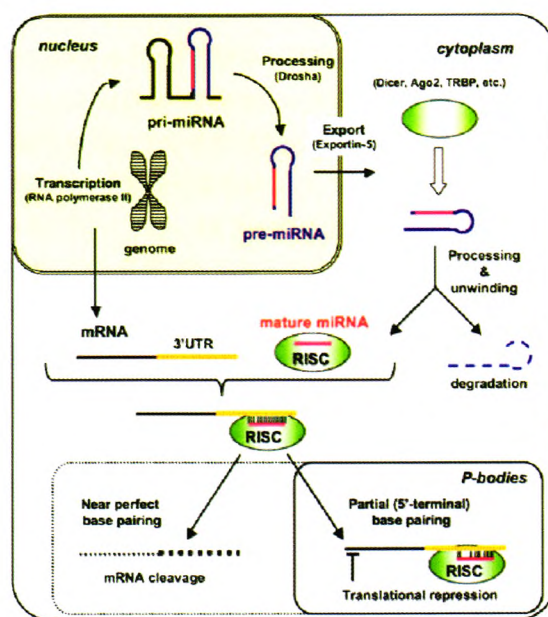


图 1 miRNAs 的产生及作用机制

2 miRNAs 与肿瘤基础研究

2.1 肿瘤细胞 miRNAs 表达差异及其机制

与正常细胞相比, 肿瘤细胞中有大量的 miRNAs 存在表达差异。miRNAs 表达失调最先在慢性 B 淋巴细胞性白血病 (B chronic lymphoblastic leukemia, B-CLL) 中被发现。在 50%~60% 的 B-CLL 患者中, 定位于淋巴细胞染色体 13q14 位置上的 miRNA-15 和 miRNA-16 的 2 个基因有缺失或表达下调现象^[3]。随后, 在人类多种肿瘤中都检测到 miRNAs 表达水平的变化。另有研究^[12]分析了取自乳腺、结肠、肺、前列腺、胰腺、胃等 6 种常见肿瘤的标本和正常组织对照, 发现研究的 228 个 miRNAs 中, 有 26 种 miRNAs 表达上调, 表达下调的只有 17

种。在甲状腺乳头状癌中,miRNA-221、miRNA-222 和 miRNA-146 表达显著上调^[12]。儿童 Burkitt 淋巴瘤及霍奇金淋巴瘤中,miRNA-155/BIC 的前体出现高表达^[13]。Bloomston 等^[14]对胰腺癌 miRNAs 表达谱进行分析,共发现 21 个 miRNAs 表达上调,4 个 miRNAs 表达下调。miRNA-125b、miRNA-145、miRNA-21 和 miRNA-155 在乳腺癌中均出现表达下调^[15]。miRNA-143 和 miRNA-145 在结肠肿瘤中均表达下调^[16]。miRNA-21 在肝癌、乳腺癌、恶性胶质瘤以及胰腺癌中均出现高表达^[17-23]。这些发现表明 miRNAs 的差异表达在肿瘤发病中具有重要作用,有望用于肿瘤诊断。

miRNAs 在肿瘤组织中为什么会出现表达失调?其机制目前已发现至少有 4 种:(1)许多 miRNAs 基因被证实定位在肿瘤相关的基因组区域,即位于基因组中易伴随肿瘤发生的变异区域。Calin 等^[24]研究了 186 个 miRNAs 在人类染色体上的定位与肿瘤发生的相关性,发现 50%的 miRNAs 基因频繁地出现在与肿瘤相关的基因区域或是脆性位点上,如纯合性缺失区、杂合性缺失区、扩增区、断裂点区、靠近抑癌基因或癌基因的部位等;(2)miRNAs 转录水平的调控。如 miRNA-34 家族是抑癌基因 p53 的直接转录调控靶标^[25]。miRNA-17-92 多顺反子基因受原癌基因 c-myc 的调控^[26];(3)miRNAs 表达的表现遗传调控。细胞发生恶性转化的表现遗传标志包括:DNA 整体甲基化水平异常、CpG 岛甲基化以及组蛋白修饰失调等。表现遗传调控异常会影响 miRNAs 的表达水平。在乳腺癌细胞中,组蛋白去乙酰化酶受抑制会引起 miRNAs 表达水平出现广泛而迅速的改变^[27]。用组蛋白去乙酰化酶的抑制物 4-苯丁酸和 5-氮杂脱氧胞苷联合作用于膀胱癌细胞后检测 313 个 miRNAs 表达情况,发现有 17 个 miRNAs 出现 3 倍以上的表达上调,其中 miRNA-127 的表达水平变化最大^[28]。miRNAs 也可调控外在体系的表达。miRNA-148 直接作用于 DNA 转甲基酶 III,催化 DNA 的甲基化^[29];miRNA-1 调控组蛋白转甲基酶 IV,而后者是一个重要的组蛋白修饰物^[30];(4)与 miRNAs 加工相关的基因及其蛋白异常变化。对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的大规模研究发现,在部分 NSCLC 中 Dicer 蛋白出现下调,而 Drosha 蛋白水平没有发生改变。Dicer 酶的失效与 miRNAs 表达下调相关^[31]。上述几种机制可独立发挥作用,也可以协同作用。另外,miRNAs 和 mRNA 之间的黏合性也可因突变或多态性受到影响,并干扰其转录过程。研究^[32]已发现 miRNA-146 前体上存在 G/C 单核苷酸多态性位点,该位点可影响 miRNAs 的成熟效率,并与肝细胞癌的发病风险相关。

2.2 miRNAs 参与肿瘤发生发展过程 正常细胞的生长、增殖、发育、分化和死亡是高度有序的过程,这一过程发生紊乱可导致肿瘤的产生。miRNAs 在肿瘤发生发展的各个阶段均发挥了重要作用。

细胞增殖异常是肿瘤的重要特征,miRNAs 可调控与细胞增殖相关的基因,改变细胞的正常周期,从而诱发了肿瘤。Yu 等^[33]研究发现,let-7 可调节 H-RAS 和 HMGA2 基因而影响乳腺癌起始细胞的自我更新能力,从而影响乳腺癌细胞的成瘤能力。let-7 还可通过下调 pan-RAS、N-RAS 和 K-RAS,从而抑制胶质瘤细胞增殖^[34]。miRNA-155 是由人 BIC 基因编码的 miRNA,miRNA-155 可通过抑制 MAD1、MX11、ROX/MNT 等基因的表达,促进 MYC 基因的活性,从而促进细胞增殖,并且过表达 miRNA-155 的转基因小鼠可出现 B 细胞异常增殖^[35]。

抵抗凋亡也是促进肿瘤发展的重要因素。miRNA-15a/16、miRNA-34、miRNA-29 等均可抑制 BCL-2 蛋白的表达,使肿瘤细胞抗凋亡能力增高^[36-38]。在人类上皮性肿瘤细胞中过表达 miRNA-143/145 可抑制 MDM2 表达,通过干扰 miRNAs-MDM2-p53 环路可促进细胞凋亡^[39]。

侵袭和转移也是恶性肿瘤发展的重要生物学特征,miRNAs 广泛参与肿瘤侵袭转移过程的调控。miRNA-21 是目前报道较多的可调控肿瘤转移的 miRNA,其对乳腺癌、肝细胞性肝癌、胆管癌、食管鳞癌、前列腺癌、结直肠癌以及黑色素瘤细胞的转移均有促进作用^[40-46]。miRNA-126 参与调控非小细胞肺癌细胞的黏附、侵袭和迁移,这一过程可能是由接头蛋白 Crk 介导的^[47]。Nakada 等^[48]通过微阵列和定量 PCR 技术,对肾透明细胞癌和嫌色细胞癌中的 470 个人类 miRNAs 进行检测,发现 miRNA-141 和 miRNA-200c 可能通过调控 ZFH1B 而抑制 E-钙黏蛋白的转录,进而影响肿瘤细胞的黏附和迁移。

新生血管的生成,可以为肿瘤生长提供营养和氧气。miRNAs 可通过直接或间接调节肿瘤血管生成来影响肿瘤的进展。多个研究小组的报道都证实 miRNAs 可影响肿瘤血管生成。miRNA-221/222 可通过负性调节 c-kit 的表达从而抑制脐带血管内皮细胞形成管的能力,也可通过下调 eNOS 抑制血管内皮细胞增殖和迁移^[49,50]。miRNA-17-92 簇可通过影响凝血酶敏感蛋白 1 的表达而调节血管生成^[51]。

3 miRNAs 与肿瘤的诊断、预后和治疗

miRNAs 的表达具有明显的组织特异性和肿瘤发生的阶段特异性,肿瘤发生发展的不同阶段具有不同的 miRNAs 表达谱。miRNAs 也可作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤发生发展过程。因此,miRNAs 在肿瘤的诊断和分类、预后判断以及治疗方面具有潜在的临床应用价值。

3.1 miRNAs 与肿瘤诊断 肿瘤细胞和正常细胞 miRNAs 表达谱的差别,以及不同类型肿瘤 miRNAs 表达谱的特异性,为肿瘤的诊断及鉴别诊断提供了非常有益的参考指标。Lu 等^[52]使用流式微球细胞分析技术表达谱的方法对 334 例样本中的 217 种人类 miRNAs 进行检测,发现 miRNAs 的表达谱可

较准确地区分正常细胞和癌细胞,并可鉴别分化不良的肿瘤。miRNA-205 及 miRNA-21 在胰腺导管腺癌中会出现过多表达,由于这两种 miRNA 表达的上调发生于胰腺导管细胞的表型改变,因此 miRNA-205 和 miRNA-21 被认为可以作为诊断胰腺导管腺癌的标志物^[53]。Volinia 等^[3]聚类分析了 363 个来自于 6 种常见的实体瘤(乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、胃癌以及前列腺癌)以及 177 个正常对照样本,结果显示不同组织器官表达的 miRNAs 各异。

随着 miRNAs 检测手段的不断发展,近年来检测血液样本中 miRNAs 可以为癌症的诊断提供无创性的检测方法。相对肿瘤组织而言,外周血血清较易获得和检测,临床应用便捷,且 miRNAs 在血清中可长期稳定存在。因此,血清 miRNAs 表达谱检测有可能成为一种癌症无创诊断的手段。文献研究^[54]发现,血清 miRNA-92 可用作结直肠癌的分子标志物,可以诊断 I~IV 期的结直肠癌,灵敏度可达 89%,特异性达到 70%。血清中 miRNA-141 的表达水平可作为前列腺癌的诊断标志物^[55]。目前,尽管 miRNAs 有助于临床肿瘤的诊断,但是距离真正应用于临床仍有很大距离,仍需大量临床病例资料的系统研究。

3.2 miRNAs 与肿瘤预后 利用恶性肿瘤中的 miRNAs 表达谱可鉴定出许多与癌症预后预测相关的信号。研究^[20,56,57]显示,miRNA-21 高表达的乳腺癌、结肠癌、前列腺癌患者预后较差。Takamizawa 等^[58]报道肺癌中 let-7 的表达水平下降,且与更低的术后存活率密切相关。在胰腺癌的 miRNAs 表达谱中,一共包含 6 个 miRNAs 的亚群,在有较长生存期的患者和 24 个月内死亡的患者中出现表达差异;另外,高表达 miRNA-196a-2 预示较差的预后^[15]。Li 等^[59]报道,一个包括 miRNA-10b、miRNA-21、miRNA-223、miRNA-338、let-7a、miRNA-30a-5p、miRNA-126 这 7 个 miRNAs 在内的 miRNAs 谱可用于胃癌患者的生存预测。在肝癌中,miRNA-221 的表达上调与患者更短的复发时间相关^[60]。另有研究^[61]发现,miRNA-199a/b-3p 在肝癌患者中的低表达与较差的生存预后有关。以上研究说明,miRNAs 表达谱不仅可以作为肿瘤的诊断标志,同时也可作为肿瘤的预后标志。

3.3 miRNAs 与肿瘤治疗 miRNAs 在诸多肿瘤中表达的研究证实了 miRNAs 在肿瘤发生发展中的作用,并显示 miRNAs 有可能作为肿瘤治疗的新靶点。例如,Elyakim 等^[62]在原位移植肝癌细胞的小鼠腹腔内注射 miRNA-191 抑制物,40 d 后发现实验组的移植瘤块明显比对照组小。利用慢病毒载体可将 let-7 导入乳腺癌干细胞,可以明显降低乳腺癌干细胞的体外自我更新能力和增殖能力,且显著抑制其体内成瘤和转移能力^[33]。Kim 等^[63]发现,在乳腺癌细胞系及乳腺癌患者的癌组织中,miRNA-145 与其靶基因如 c-MYC、IGF-1R、Fascin-1 表达量之间存在着负相关性。他们将腺病毒表达的

miRNA-145 导入乳腺癌细胞系以及乳腺癌小鼠进行体内外试验,发现腺病毒构建的 miRNA-145 均能抑制乳腺癌细胞的生长,而且 miRNA-145 与 5-氟尿嘧啶联合使用显示出更加强烈的抑癌作用,因此研究者认为 miRNA-145 在乳腺癌的治疗中具有应用价值。将脂质纳米与 miRNA-34a 模拟物的制剂分别经瘤内和尾静脉注入非小细胞肺癌荷瘤小鼠,均能有效抑制肿瘤的生长并诱导肿瘤细胞凋亡,且发现经尾静脉注射后小鼠瘤块更小^[64]。

4 小结

miRNAs 作为一类新的分子靶标显现出了广阔的应用前景。目前,miRNAs 应用于肿瘤的治疗仍然存在许多难题和弊端。因为细胞内每个 miRNA 分子可调控上千个靶基因,所以单纯进行某些特定的 miRNA 转染及单纯对某一个内源性 miRNA 进行基因打靶或拮抗都可能会导致非特异性的靶基因 mRNA 的降解或转录后翻译阻遏,从而产生多种副作用。其次 RNA 不稳定,易降解。如何提高 miRNAs 治疗转染的高效性、稳定性及特异性等都是需要面对和解决的问题。以 miRNAs 为策略的抗肿瘤治疗为肿瘤的生物治疗开辟了新途径,但 miRNAs 从实验室到用于肿瘤的治疗应用还有很长的路要走。

5 参考文献

- 1 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281-297.
- 2 Lim LP, Glasner ME, Yekta S, et al. Vertebrate microRNA genes. *Science*, 2003, 299: 1540.
- 3 Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 2257-2261.
- 4 Voorhoeve PM, le Sage C, Schrier M, et al. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors. *Cell*, 2006, 124: 1169-1181.
- 5 Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. Ras is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 2005, 120: 635-647.
- 6 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*, 1993, 75: 843-854.
- 7 Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403: 901-906.
- 8 Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors. *Mol Cell*, 2004, 16: 861-865.
- 9 Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 2004, 303: 95-98.
- 10 Kim VN. MicroRNA precursors in motion: Exportin-5 mediates their

- nuclear export. *Trends Cell Biol*, 2004, 14: 156-159.
- 11 Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR-15 and miR-16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15524-15529.
 - 12 He H, Jazdzewski K, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 19075-19080.
 - 13 Metzler M, Wilda M, Busch K, et al. High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004, 39: 167-169.
 - 14 Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, et al. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *Jama*, 2007, 297: 1901-1908.
 - 15 Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res*, 2005, 65: 7065-7070.
 - 16 Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, et al. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*, 2003, 1: 882-891.
 - 17 Connolly E, Melegari M, Landgraf P, et al. Elevated expression of the miR-17-92 polycistron and miR-21 in hepatitis virus-associated hepatocellular carcinoma contributes to the malignant phenotype. *Am J Pathol*, 2008, 173: 856-864.
 - 18 Gramantieri L, Fornari F, Callegari E, et al. MicroRNA involvement in hepatocellular carcinoma. *J Cell Mol Med*, 2008, 12: 2189-2204.
 - 19 Qian B, Katsaros D, Lu L, et al. High miR-21 expression in breast cancer associated with poor disease-free survival in early stage disease and high TGF-beta1. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 117: 131-140.
 - 20 Yan LX, Huang XF, Shao Q, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA*, 2008, 14: 2348-2360.
 - 21 Chen Y, Liu W, Chao T, et al. MicroRNA-21 down-regulates the expression of tumor suppressor PDCD4 in human glioblastoma cell T98G. *Cancer Letter*, 2008, 272: 197-205.
 - 22 Gabriely G, Wurdinger T, Kesari S, et al. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 5369-5380.
 - 23 Lee EJ, Cusev Y, Jiang J, et al. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 2007, 120: 1046-1054.
 - 24 Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 2999-3004.
 - 25 He L, He X, Lim LP, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*, 2007, 447: 1130-1134.
 - 26 He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature*, 2005, 435: 828-833.
 - 27 Scott GK, Mattie MD, Berger CE, et al. Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res*, 2006, 66: 1277-1281.
 - 28 Saito Y, Liang G, Egger G, et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell*, 2006, 9: 435-443.
 - 29 Duursma AM, Kedde M, Schrier M, et al. miR-148 targets human DNMT3b protein coding region. *Rna*, 2008, 14: 872-877.
 - 30 Datta J, Kutay H, Nasser MW, et al. Methylation mediated silencing of MicroRNA-1 gene and its role in hepatocellular carcinogenesis. *Cancer Res*, 2008, 68: 5049-5058.
 - 31 Karube Y, Tanaka H, Osada H, et al. Reduced expression of Dicer associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Cancer Sci* 2005, 96: 111-115.
 - 32 Xu T, Zhu Y, Wei QK, et al. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 2126-2131.
 - 33 Yu F, Yao H, Zhu P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell*, 2007, 131: 1109-1123.
 - 34 Lee ST, Chu K, Oh HJ, et al. Let-7 microRNA inhibits the proliferation of human glioblastoma cells. *J Neurooncol*, 2011, 102: 19-24.
 - 35 Costinean S, Zanesi N, Pekarsky Y, et al. Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 7024-7029.
 - 36 He L, He X, Lim LP, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*, 2007, 447: 1130-1134.
 - 37 Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 13944-13949.
 - 38 Xiong Y, Fang JH, Yun JP, et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2010, 51: 836-845.
 - 39 Zhang J, Sun Q, Zhang Z, et al. Loss of microRNA-143/145 disturbs cellular growth and apoptosis of human epithelial cancers by impairing the MDM2-p53 feedback loop. *Oncogene*, 2013, 32: 61-69.
 - 40 Zhu S, Wu H, Wu F, et al. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis. *Cell Res*, 2008, 18: 350-359.

- 41 Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology*, 2007, 133: 647-658.
- 42 Selaru FM, Olaru AV, Kan T, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in human cholangiocarcinoma and regulates programmed cell death 4 and tissue inhibitor of metalloproteinase 3. *Hepatology*, 2009, 49: 1595-1601.
- 43 Hiyoshi Y, Kamohara H, Karashima R, et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 1915-1922.
- 44 Li T, Li D, Sha J, et al. MicroRNA-21 directly targets MARCKS and promotes apoptosis resistance and invasion in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 383: 280-285.
- 45 Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcdcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene*, 2008, 27: 2128-2136.
- 46 Yang CH, Yue J, Pfeffer SR, et al. MicroRNA miR-21 regulates the metastatic behavior of B16 melanoma cells. *J Biol Chem*, 2011, 286: 39172-39178.
- 47 Crawford M, Brawner E, Batte K, et al. MicroRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373: 607-612.
- 48 Nakada C, Matsuura K, Tsukamoto Y, et al. Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c. *J Pathol*, 2008, 216: 418-427.
- 49 Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, et al. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood*, 2006, 108: 3068-3071.
- 50 Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, et al. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res*, 2007, 100: 1164-1173.
- 51 Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Yu J, et al. Dicer-dependent endothelial microRNAs are necessary for postnatal angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 14082-14087.
- 52 Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005, 435: 834-838.
- 53 du Rieu MC, Torrisani J, Selves J, et al. MicroRNA-21 is induced early in pancreatic ductal adenocarcinoma precursor lesions. *Clin Chem*, 2010, 56: 603-612.
- 54 Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*, 2009, 58: 1375-1381.
- 55 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 10513-10518.
- 56 Roldo C, Missiaglia E, Hagan JP, et al. MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *J Clin Oncol*, 2006, 24: 4677-4684.
- 57 Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA*, 2008, 299: 425-436.
- 58 Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*, 2004, 64: 3753-3756.
- 59 Li X, Zhang Y, Zhang Y, et al. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut*, 2010, 59: 579-585.
- 60 Gramantieri L, Fornari F, Callegari E, et al. MicroRNA involvement in hepatocellular carcinoma. *J Cell Mol Med*, 2008, 12: 2189-2204.
- 61 Hou J, Lin L, Zhou W, et al. Identification of miRNomes in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 2011, 19: 232-243.
- 62 Elyakim E, Sitbon E, Faerman A, et al. hsa-miR-191 is a candidate oncogene target for hepatocellular carcinoma therapy. *Cancer Res*, 2010, 70: 8077-8087.
- 63 Kim Seok-Jun, Oh Ji-Sun, Shin Ji-Young, et al. Development of microRNA-145 for therapeutic application in breast cancer. *J Controlled Release*, 2011, 155: 427-434.
- 64 Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, et al. Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer Res*, 2010, 70: 5923-5930.

(收稿日期: 2013-12-15)

(本文编辑: 杨军)