

MicroRNA 在卵巢癌诊疗中的作用

苏英杰, 高晨曦, 张 颐

(中国医科大学附属第一医院, 辽宁 沈阳 110001)

摘要:微小 RNA (micro RNA, miRNA) 是一类长度约为 22 个核苷酸的单链非编码 RNA, 参与调节体内基因的表达, 通过诱导靶 mRNA 的降解达到沉默的目的。目前大量研究表明多种 miRNA 与卵巢癌的诊断、预后以及化疗药物耐药中起到重要作用。全文对 miRNA 在卵巢癌中的多种作用进行总结, 为临床找寻新的分子标志物提供科学依据。

关键词: microRNA; 卵巢癌; 诊疗; 分子标志物

中图分类号: R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2021)01-0004-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.01.B002

Research Progress on MicroRNA in Diagnosis and Treatment of Ovarian Cancer

SU Ying-jie, GAO Chen-xi, ZHANG Yi

(The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: MicroRNA(miRNA) is a single-stranded non-coding RNA with a length of approximately 22 nucleotides. It functions in the post-transcriptional regulation of gene expression and RNA silencing through inducing the degradation of target mRNA. A large number of studies have shown that a variety of miRNAs play an important role in the diagnosis, prognosis, and monitoring chemotherapy resistance of ovarian cancer. In this review, we summarize the multiple roles of miRNAs in ovarian cancer and provide reference for the clinical research of new molecular markers.

Subject words: microRNA; ovarian cancer; medical treatment; biomarker

卵巢癌是妇科常见的恶性肿瘤, 也是女性中癌症相关死亡第五大主要原因^[1]。卵巢或输卵管的局部癌被定义为 I 期卵巢癌, 只有 15% 患者在此阶段被诊断, 75% 患者确诊时为 III 期或 IV 期^[2]。在世界范围内, 早期卵巢癌患者 5 年生存率为 80%, 而晚期卵巢癌则降至 30%^[3], 卵巢癌的肿瘤异质性使其早期发现和一级预防变得尤为复杂, 晚期患者的治疗效果和预后较差。因此, 卵巢癌的筛查、诊断和治疗是目前亟待解决的问题^[4]。本文就 microRNA(miRNA) 在卵巢癌的诊断、预后以及耐药等方面进行总结, 旨

在为寻找可靠的临床分子标志物提供科学依据。

1 MicroRNA 分子和功能特点

20 世纪 90 年代, 在秀丽隐虫中发现第一个 miRNA^[5]。初级 miRNA 在细胞核内合成后被特异性酶剪切(如 Drosha 和 Pasha)形成前体 miRNA, 前体 miRNA 通过核孔转运至细胞质内, 进入细胞质的前体 miRNA 被 Dicer 酶裂解, 形成具有约 22 个核苷酸长度的单链成熟 miRNA。成熟的 miRNA 通过与靶 mRNA 的互补序列结合, 抑制靶 mRNA 的翻译, 从而起到抑制基因表达的作用。大多数情况下, miRNA 能够与靶 mRNA 的 3' 非翻译区(untranslated region, UTR)相互作用, 从而诱导 mRNA 降解或抑制其翻译。研究表明, miRNA 能够与其他序列结合, 如

基金项目: 辽宁省中央引导地方科技发展专项(2019JH6/10400006); 中国医科大学 2019 年度临床医学培育学科支持计划(111-3110119069); 中国医科大学国际水平项目(2019 年)

通信作者: 张颐, 妇科主任, 教授、主任医师, 博士; 中国医科大学附属第一医院妇科, 辽宁省沈阳市和平区南京北街 155 号(110001); E-mail: zhangyi@cmu1h.com

收稿日期: 2020-05-08; **修回日期:** 2020-07-27

5'UTR 区、编码区和基因启动子区^[6]。miRNA 与其靶基因以及下游的效应分子之间形成的基础调控网络,在疾病的发生、发展中起着重要作用。

2 MicroRNA 与卵巢癌诊断

多项研究评估了卵巢癌患者血清 miRNA 表达谱作为恶性肿瘤的分子标志物,功能性实验证实了许多 miRNA 促癌或抑癌作用,miRNA 能够抑制靶 mRNA 的翻译过程,从而参与调节许多与促癌有关的细胞进程。

Resnick 等^[7]比较了 28 例卵巢癌患者和 15 例正常人血清样品中 miRNA 表达,发现 21 种 miRNA 差异性表达。与正常人相比,miR-21、miR-92、miR-93、miR-126 和 miR-29a 在卵巢癌患者中呈高表达,而 miR-155、miR-127 和 miR-99b 呈低表达,其中 3 例 miR-21、miR-92 和 miR-93 高表达的患者术前糖类抗原 125(carbohydrate antigen 125,CA125)正常,miRNA 的这种差异性表达提示其在临床诊断中的价值。随后,Yokoi 等^[8]使用微阵列技术对 4046 例女性的血清样本循环 miRNA 谱进行评估,包括 428 例卵巢癌患者,并基于 10 种 miRNA 的表达谱提出了最佳诊断模型。即使在早期卵巢癌中,该模型也具有 99%的敏感度和 100%的特异性。此外,他们应用 9~10 种循环 miRNA 的表达水平创建了另外 2 个模型用来区分卵巢癌与其他类型的实体瘤或卵巢良性肿瘤,该研究仍然具有一定局限性,属于回顾性研究,样本采集方法没有严格规定,尽管 miRNA 比较稳定,但是仍然存在许多操作步骤会影响 miRNA 在血清中的含量。该评估模式为 miRNA 成为卵巢癌诊断标志物提供了科学参考依据。Gao 等^[9]使用受试者操作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线评估了血清 miR-200c 和 miR-141 在卵巢癌中的诊断能力,发现这 2 种 miRNA 的曲线下面积(area under curve,AUC)值分别为 0.79 和 0.75。研究表明,miR-125b 在卵巢癌患者血清中下调并且与患者的临床分期、淋巴结转移以及化疗药物抵抗有关,该研究评估了血清 miR-125b 和 CA125 在区分上皮性卵巢癌患者和非癌症患者中的诊断效率,ROC 曲线结果表明 CA125 在上皮性卵巢癌诊断中显示出 51.6%的敏感度和 89.6%的特异性,而 miR-125b 与

CA125 联合应用显示出 83.6%的敏感度和 95.6%的特异性,两者联合应用有望成为临床诊断卵巢癌的分子标志^[10]。除此之外,血液中 miR-21 与 miR-22 被发现具有诊断价值,在上皮浆液性卵巢癌中,miR-21 表达增加,miR-22 表达下降,并且其表达水平与卵巢癌的 FIGO 分期、组织学亚型有关^[11]。有研究评估了外泌体中不同 miRNA 在卵巢癌诊断中的潜能, Kim 等^[12]发现,高级别浆液性卵巢癌患者外泌体中 miR-145 的表达水平是卵巢良性肿瘤的 47.7 倍,miR-145 作为诊断指标具有 91.7%的敏感度和 75%的特异性,高于 CA125 相应的敏感度和特异性,具有较好的诊断潜能^[13]。临床中,患者的外周血更易获得,对于外周血中液体成分的分析可能更有助于临床诊断,对于卵巢癌患者外周血 miRNA 的分析仍有待更深入的研究。

目前,临床应用影像学检查联合外周血 CA125、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen,CEA)、人附睾蛋白 4(human sapiens epididymis specific protein4,HE4)作为诊断卵巢癌的常用方法对于卵巢癌的筛查仍有局限性。因此,外周血 miRNA 分析可能有助于完善诊断方法,由于 miRNA 通过多个调控网络发挥作用,因此临床中可考虑联合多种 miRNA 来提高诊断的敏感度和特异性。目前,大多数评估 miRNA 在卵巢癌诊断中应用价值的研究样品并非来自早期患者,尚无特异性的 miRNA 能够标志正常组织发展为癌组织,未来寻找特异性的指标预测癌变的过程至关重要。

3 MicroRNA 与卵巢癌预后

由于卵巢癌筛查和诊断存在困难,患者预后通常较差,总生存率和无疾病进展生存期较短,预测患者生存结局的标志物有限,寻找可靠的预后评估标志物有助于指导临床治疗。

Eitan 等^[14]发现,Hsa-miR-23a、Hsa-miR-27a、Hsa-miR-24-2 和 Hsa-miR-21 高表达与患者的不良预后有关,而 Hsa-miR-449b 高表达与良好预后相关,其中 Hsa-miR-23a 和 Hsa-miR-27a 被认为是生存率和无复发生存率的预测指标,Hsa-miR-27a 高表达的患者临床通常表现为一线化疗药物反应性差、无进展生存期短等特点^[15]。Prahm 等^[16]应用微阵

列方法评估了 197 例上皮性卵巢癌患者组织中的 miRNA 表达,发现总生存期与 miR-1183 和 miR-126-3p 表达水平相关;疾病进展时间与 miR-139-3p 和 miR-802 的表达水平相关;无疾病进展生存期与 miR-23a-5p、miR-23a-3p、miR-802 表达水平相关;出现化疗抵抗与 miR-1234 表达水平有关。以上研究表明无论是血清 miRNA 还是癌组织中的 miRNA 对患者的预后都有影响,然而两者联合预测患者预后是否更有临床价值仍有待进一步阐明。另一项大型多中心研究显示,miR-200b、miR-1274A 和 miR-141 表达水平与卵巢癌患者生存期之间存在关联,在高级别浆液性卵巢癌中,miR-1274A 表达与患者预后相关性尤其明显^[17]。一项纳入 15 项回顾性队列研究的荟萃研究分析了一些在预测卵巢癌预后中有争议的 miRNA,该研究表明,miR-200 和 miR-30 家族的表达与卵巢癌患者的总生存期和无疾病进展生存期有关^[18]。Gunel 等^[19]比较了健康人和复发卵巢癌患者的血液标本,发现 miR-1273g-3p 在复发性卵巢癌患者中下调,其下游的信号通路也发生相应变化,miR-1273g-3p 可能成为卵巢癌患者化疗后复发的临床标志物。Tung 等^[20]对比了原发性卵巢癌和复发性卵巢癌的样本,发现 miR-150-5p 在复发性卵巢癌中上调,并且与早期复发以及不良生存相关,该课题组发现,在卵巢癌细胞中原癌基因 Myb 是 miR-150-5p 靶标,并且 miR-150-5p/c-Myb/Slug 轴在调节卵巢癌细胞的上皮-间质转化中起重要作用,在卵巢癌细胞中,Myb 的表达与良好的临床结果相关,而在晚期临床标本中,Myb 表达与 Slug 的表达呈负相关。这些结果表明,miR-150-5p 上调通过靶向 c-Myb/Slug 途径介导了卵巢癌复发,抑制 miR-150-5p 可以作为预防卵巢癌复发的新策略。外泌体中的 miRNA 也能够预测患者的预后,Zhang 等^[21]发现外泌体 miR-484 的表达和卵巢癌患者预后有关,miR-484 低表达与较短的总生存期和无进展生存期有关。

目前,血清 CA125、CEA、HE4 等标志物的水平通常可以用来提示化疗效果以及复发和耐药的可能。研究表明,血清 miRNA 水平以及癌组织中 miRNA 的表达在评估卵巢癌患者的预后中起到重要作用。目前研究多集中于上皮性卵巢癌,miRNA 在其他组织学类型中与预后的关系研究较少,寻找组织特异性的 miRNA 来预测患者预后更有临床意

义。miRNA 参与机体的多种调控作用、如何合理选择预测预后的指标仍需大量研究证明。

4 MicroRNA 与卵巢癌化疗药物的敏感度

化疗药物抵抗是临床癌症治疗过程中存在的难题之一。近年来研究发现,多种 miRNA 可能参与调节肿瘤细胞对不同药物耐药的过程。因此,解析 miRNA 在卵巢癌出现化疗药物耐药过程中的调控模式尤为重要^[22]。

多项研究验证了 miRNA 在卵巢癌铂类药物抵抗中的作用。Vang 等^[23]探究了 miR-150 和 miR-146a 对卵巢癌细胞系顺铂耐受的影响,发现 miR-150 能够增加卵巢癌细胞系 SKOV-3 的顺铂耐受性,对 OVCAR-8 和 IGROV-1 无明显影响,而 miR-146a 对卵巢癌细胞系的顺铂耐受性无明显影响。该研究表明,不同卵巢癌细胞系产生耐药的潜在机制可能有所不同,该结果为临床应用 miRNA 作为诊断标志物带来一定困难。miRNA 还通过参与调节蛋白的表达,从而调节卵巢癌细胞系对铂的敏感度,PTEN 是人体内重要的抑癌基因,其功能受到多种 miRNA 的调控。Zou 等^[24]发现,miR-630 能够调控卵巢癌细胞系 A2780 和 SKOV3 中 PTEN 的表达,从而抑制细胞增殖并增加了细胞对顺铂的敏感度。在相同的细胞系中,Li 等^[25]研究发现,miR-137 也能够增加细胞对顺铂的敏感度并促进癌细胞的凋亡。随后,Sun 等^[26]的研究表明,miR-137 能够调节 c-Myc 与 EZH2 之间的功能性连接,进而调节卵巢癌细胞系的顺铂耐药性。此外,有研究表明 miR-574-3p 能够通过下调 EGFR 的表达,抑制 Akt、FAK、c-SRC、MMP-9 的激活,抑制上皮性卵巢的顺铂抵抗^[27]。体外研究表明,miR-15a 与 miR-16 能够降低 BMI1 的表达,增加卵巢癌细胞系对顺铂的敏感度^[28]。在卵巢癌获得性顺铂抵抗过程中出现大量的 DNA 甲基化,推测 DNA 甲基转移酶在该过程中起重要作用,有研究表明 miR-200b、miR-200c 能够靶向 DNA 甲基转移酶逆转顺铂耐药^[29]。

紫杉醇也是卵巢癌化疗常用药物,临床中出现紫杉醇耐药是卵巢癌治疗过程中的难题。研究表明,

miR-106a 和 miR-591 能够直接靶向编码 ZEB1、BCL10 以及 caspase-7 基因,参与调节促凋亡作用,抑制 miR-106a 和 miR-591 表达能够降低卵巢癌细胞对紫杉醇的抗性^[30]。MiR-146 通过下调超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2,SOD2) 增加 CAOV3 卵巢癌细胞系对紫杉醇的敏感性^[31]。最新的研究发现,在卵巢癌中 miR-383-5p 通常下调,恢复其表达能够增强卵巢癌细胞系对紫杉醇的敏感性^[32]。此外,Kanlikilicer 等^[33]探索了卵巢癌患者血液中分泌体 miRNA 与紫杉醇抵抗的关系,发现分泌体 miR-1246 能够改变 PDGFR 信号通路并且下调 caveolin-1 蛋白,caveolin-1 蛋白表达与较长的总生存期有关,miR-1246 通过 caveolin-1 蛋白和磷酸化糖蛋白诱导卵巢癌细胞系紫杉醇抵抗。

研究表明,miRNA-200c 过表达能够增加卵巢癌细胞对奥拉帕利的敏感性^[34],靶向药物联合基于 miRNA 疗法可能提高患者生存期,改善预后。MiRNA 参与调节化疗药物耐药的过程通常涉及一些信号通路转导的改变以及一些蛋白表达水平的改变,信号通路抑制剂以及靶向药物的研发可能有助于改善预后。

5 总结与展望

目前,大多数研究都集中探究 miRNA 在高级别浆液性卵巢癌中的作用,其他组织学亚型研究较少,高级别浆液性卵巢癌具有高度异质性,使研究结果更加复杂,结果也存在局限性。此外,目前研究所用的细胞系过于老旧,由这些细胞系得出的研究结果应用于临床可行性较差。无论是卵巢癌的诊断,还是预后和耐药,通常涉及多种 miRNA 的改变,单一 miRNA 应用范围有限,而多种 miRNA 联合应用于临床诊断、预后和化疗耐药评估仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Biamonte F,Santamaria G,Sacco A,et al. MicroRNA let-7g acts as tumor suppressor and predictive biomarker for chemoresistance in human epithelial ovarian cancer[J]. Sci Rep,2019,9(1):5668.
- [2] Budiana ING,Angelina M,Pemayun TGA. Ovarian cancer:pathogenesis and current recommendations for pro-

- phylactic surgery[J]. J Turk Ger Gynecol Assoc,2019,20(1):47-54.
- [3] Matz M,Coleman MP,Carreira H,et al. Worldwide comparison of ovarian cancer survival:histological group and stage at diagnosis(CONCORD-2)[J]. Gynecol Oncol,2017,144(2):396-404.
- [4] Bracken CP,Scott HS,Goodall GJ. A network-biology perspective of microRNA function and dysfunction in cancer [J]. Nat Rev Genet,2016,17(12):719-732.
- [5] Lee RC,Feinbaum RL,Ambros V,et al. Elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell,1993,75(5):843-854.
- [6] Roden C,Gaillard J,Kanoria S,et al. Novel determinants of mammalian primary microRNA processing revealed by systematic evaluation of hairpin-containing transcripts and human genetic variation[J]. Genome Res,2017,27(3):374-384.
- [7] Resnick KE,Alder H,Hagan JP,et al. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform[J]. Gynecol Oncol,2009,112(1):55-59.
- [8] Yokoi A,Matsuzaki J,Yamamoto Y,et al. Integrated extracellular microRNA profiling for ovarian cancer screening[J]. Nat Commun,2018,9(1):4319.
- [9] Gao J,Wu N,Liu X,et al. MicroRNA-142-3p inhibits cell proliferation and chemoresistance in ovarian cancer via targeting sirtuin 1[J]. Exp Ther Med,2018,15(6):5205-5214.
- [10] Chen Z,Guo X,Sun S,et al. Serum miR-125b levels associated with epithelial ovarian cancer (EOC) development and treatment responses[J]. Bioengineered,2020,11(1):311-317.
- [11] Paliwal N,Vashist M,Chauhan M. Evaluation of miR-22 and miR-21 as diagnostic biomarkers in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Biotech,2020,10(3):142.
- [12] Kim S,Choi MC,Jeong JY,et al. Serum exosomal miRNA-145 and miRNA-200c as promising biomarkers for preoperative diagnosis of ovarian carcinomas[J]. J Cancer,2019,10(9):1958-1967.
- [13] Su YY,Sun L,Guo ZR,et al. Upregulated expression of serum exosomal miR-375 and miR-1307 enhance the diagnostic power of CA125 for ovarian cancer [J]. J Ovarian Res,2019,12(1):6.
- [14] Eitan R,Kushnir M,Lithwick-Yanai G,et al. Tumor microRNA expression patterns associated with resistance to platinum based chemotherapy and survival in ovarian cancer patients[J]. Gynecol Oncol,2009,114(2):253-259.

- [15] Fu X, Cui Y, Yang S, et al. MicroRNA-613 inhibited ovarian cancer cell proliferation and invasion by regulating KRAS[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6477–6483.
- [16] Prahm KP, Hogdall C, Karlsen MA, et al. Identification and validation of potential prognostic and predictive miRNAs of epithelial ovarian cancer[J]. *PLoS One*, 2018, 13(11): e0207319.
- [17] Zhu T, Gao W, Chen X, et al. A pilot study of circulating microRNA-125b as a diagnostic and prognostic biomarker for epithelial ovarian cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(1): 3–10.
- [18] Shi M, Mu Y, Zhang H, et al. MicroRNA-200 and microRNA-30 family as prognostic molecular signatures in ovarian cancer: a meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(32): e11505.
- [19] Gunel T, Gumusoglu E, Dogan B, et al. Potential biomarker of circulating hsa-miR-1273g-3p level for detection of recurrent epithelial ovarian cancer[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2018, 298(6): 1173–1180.
- [20] Tung CH, Kuo LW, Huang MF, et al. MicroRNA-150-5p promotes cell motility by inhibiting c-Myb-mediated slug suppression and is a prognostic biomarker for recurrent ovarian cancer[J]. *Oncogene*, 2020, 39(4): 862–876.
- [21] Zhang W, Su X, Li S, et al. Low serum exosomal miR-484 expression predicts unfavorable prognosis in ovarian cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 27(4): 485–491.
- [22] Zou YT, Gao JY, Wang HL, et al. Downregulation of microRNA-630 inhibits cell proliferation and invasion and enhances chemosensitivity in human ovarian carcinoma[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 8766–8777.
- [23] Vang S, Wu HT, Fischer A, et al. Identification of ovarian cancer metastatic miRNAs[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58226.
- [24] Zou J, Liu L, Wang Q, et al. Downregulation of miR-429 contributes to the development of drug resistance in epithelial ovarian cancer by targeting ZEB1[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 1357–1368.
- [25] Li X, Chen W, Zeng W, et al. MicroRNA-137 promotes apoptosis in ovarian cancer cells via the regulation of XI-AP[J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(1): 66–76.
- [26] Sun J, Cai X, Yung MM, et al. MiR-137 mediates the functional link between c-Myc and EZH2 that regulates cisplatin resistance in ovarian cancer[J]. *Oncogene*, 2019, 38(4): 564–580.
- [27] Zhang P, Zhu J, Zheng Y, et al. MiRNA-574-3p inhibits metastasis and chemoresistance of epithelial ovarian cancer (EOC) by negatively regulating epidermal growth factor receptor (EGFR) [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(7): 4151–4165.
- [28] Dwivedi SK, Mustafi SB, Mangala LS, et al. Therapeutic evaluation of microRNA-15a and microRNA-16 in ovarian cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 15093–15104.
- [29] Liu J, Zhang X, Huang Y, et al. MiR-200b and miR-200c co-contribute to the cisplatin sensitivity of ovarian cancer cells by targeting DNA methyltransferases [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(2): 1453–1460.
- [30] Huh JH, Kim TH, Kim K, et al. Dysregulation of miR-106a and miR-591 confers paclitaxel resistance to ovarian cancer[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(2): 452–461.
- [31] Cui Y, She K, Tian D, et al. MiR-146a inhibits proliferation and enhances chemosensitivity in epithelial ovarian cancer via reduction of SOD2[J]. *Oncol Res*, 2016, 23(6): 275–282.
- [32] Jiang J, Xie C, Liu Y, et al. Up-regulation of miR-383-5p suppresses proliferation and enhances chemosensitivity in ovarian cancer cells by targeting TRIM27 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 595–601.
- [33] Kanlikilicer P, Bayraktar R, Denizli M, et al. Exosomal miRNA confers chemo resistance via targeting Cav1/p-gp/M2-type macrophage axis in ovarian cancer[J]. *EBioMedicine*, 2018, 38: 100–112.
- [34] Vescarelli E, Gerini G, Megiorni F, et al. MiR-200c sensitizes olaparib-resistant ovarian cancer cells by targeting neuropilin 1[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 3.