

· 综述 ·

甲状腺癌中 miRNA 的表达及作用

张倍宁 闫如意 周金莲 崔彦

【摘要】 microRNA (miRNA) 是一类进化上高度保守、细胞内源性表达的单链非编码小分子 RNA, 其通过与靶基因 mRNA 碱基互补配对, 从而在转录后水平调控靶基因的表达。近年来研究发现, 多种 miRNA 在不同类型甲状腺癌中表达异常, 表明 miRNA 可能在甲状腺癌的发生、发展过程中有重要的作用。

【关键词】 甲状腺癌; 微小 RNA

基金项目: 全军试验技术研究计划重点项目 (SYFD1500128)

Expression and function of miRNA in thyroid carcinoma Zhang Beining*, Yan Ruyi, Zhou Jinlian, Cui Yan. * Department of General Surgery, The Affiliated 306 Hospital of PLA, Anhui Medical University, Beijing 100183, China

Corresponding author: Cui Yan, Email: dryancui@aliyun.com

【Abstract】 microRNA is a class of single-stranded, non-coding small molecule RNA that is highly conserved and endogenous, which is matched to the target gene mRNA base, thus regulating the expression of the target gene at post-transcriptional levels. In recent years, several studies have found that miRNA dys-regulated expressed in different types of thyroid carcinoma, and indicated that miRNA might play important roles in the occurrence and development of thyroid carcinoma.

【Key words】 Thyroid carcinoma; MicroRNA

Fund program: The Key Program Grants of PLA Planning Technology Research (SYFD1500128)

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤。除髓样癌外, 绝大部分甲状腺癌起源于滤泡上皮细胞。在全球范围内, 甲状腺癌约占全部恶性肿瘤的 1%。近年来, 甲状腺癌的发病率有明显上升趋势。microRNA (miRNA) 作为一种高度保守的小分子非编码 RNA, 具有转录后调控基因的功能, 广泛参与细胞分化、增殖、发育及凋亡等过程, 是目前肿瘤研究领域的热点。本文就 miRNA 与甲状腺癌表达的相关研究进展作一综述。

1 miRNA 与甲状腺乳头状癌 (PTC)

PTC 是最常见的甲状腺癌类型, 占甲状腺癌的 80%~90%。近年来, 有关 miRNA 与 PTC 的研究成为又一热点, 已证实, miRNA 的异常表达与 PTC 发生、发展密切相关^[1]。研究表明, 通过检测 PTC 组织和外周血中 miRNA 的异常表达情况, 有助于判断

肿瘤大小、腺体外侵犯以及淋巴结转移等。与 PTC 相关的最常见 miRNA 包括 miRNA-146、miRNA-222 和 miRNA-221。研究还发现, miRNA-222 和 miRNA-146b 表达异常与 PTC 复发相关; 深度测序技术和体外研究证实, 发挥优先调节作用的 miRNA-146、miRNA-222 和 miRNA-221 涉及 PTC 的发病机制^[2]。miRNA-146b 过表达具有促进 PTC 细胞转移及浸润的作用。PTC 伴随淋巴结转移的患者, miRNA-146b 表达明显上调, miRNA-146b 通过下调肿瘤抑制因子 ZNF3 表达, 增强 Wnt/ β -catenin 信号通路, 从而激活上皮间充质转化 (EMT) 相关转录因子, 抑制 E-钙黏蛋白产生, 诱导 EMT, 进而促进 PTC 细胞的浸润^[3]。Hu 等^[4] 研究发现, PTC 组织中 miRNA-940、miRNA-15a、miRNA-16 明显高表达, 并与肿瘤多中心、高侵袭、淋巴结转移和远处转移及疾病进展相关, 可作为有潜在价值的诊断标志物。姜兴莲等^[5] 采用 RT-PCR 方法检测 PTC 和非肿瘤组织中 miRNA 的表达, 发现 miRNA-221 在 PTC 组织中的表达明显高于结节性甲状腺肿及癌旁正常甲状腺组织, 并与肿瘤 TNM 分期、包膜侵犯及淋巴结转移相关。miRNA-221 和白

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2018.03.006

作者单位: 100083 北京, 安徽医科大学解放军第 306 医院临床学院普通外科 (张倍宁、崔彦); 100101 北京, 解放军第 306 医院放射科 (闫如意), 病理科 (周金莲), 普通外科 (崔彦)

通信作者: 崔彦, Email: dryancui@aliyun.com

细胞素-17在 PTC 组织的表达具有明显相关性,提示 miRNA-221 在 PTC 的发生和发展过程中可能通过某种机制对白细胞介素-17 的表达具有调控作用。在 BRAF 突变的 PTC 患者中,晚期患者 miRNA-221 的表达明显高于早期患者,并与肿块大小、恶性程度、肿瘤侵袭性和淋巴结的转移有关。但并没有发现 miRNA-221 和 BRAF mRNA 3'-UTR 存在结合位点,提示 miRNA-221 的靶基因可能不是 BRAF^[6]。但 BRAF V600E 可以通过激活核因子- κ B 信号通路抑制凋亡,促进癌细胞侵袭。因此,miRNA-221 可能通过激活核因子- κ B 信号通路导致 BRAF 突变。李元梅等^[7]研究发现,miRNA-106b 在 PTC 组织中的表达水平显著低于相应癌旁组织,其表达降低与 PTC 患者的不良临床病理特征相关;同时发现 miRNA-106b 能减弱细胞增殖能力,增加细胞凋亡。miRNA-106b 对 PTC 细胞生物学功能影响的具体分子信号机制仍不明确,其调控 PTC 细胞增殖及凋亡的具体分子机制有待进一步研究。贺新伟等^[8]研究结果表明,PTC 组织中 miRNA-145 表达显著降低,且与临床病理特征有关,上调 miRNA-145 表达能抑制 PTC 细胞增殖,阻滞细胞周期,促进细胞凋亡,认为 miRNA-145 可能作为抑癌基因在 PTC 的发生和发展中扮演着重要的角色。双特异性蛋白磷酸酶 (DUSPs) 家族包含丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶,可同时对磷酸苏氨酸和磷酸酪氨酸去磷酸化,从而使丝裂原活化蛋白激酶失去活性,而 DUSP6 mRNA 含有 miRNA-145 的结合位点,沉默 DUSP6 的表达会抑制 PTC 细胞的增殖^[9]。上述研究结果提示,在 PTC 中,miRNA-145 通过调控 DUSP6,由此影响丝裂原活化蛋白激酶信号通路,抑制癌细胞增殖及浸润。饶丽华等^[10]研究发现, Lin28A、Lin28B 基因在 37 例 PTC 组织中高表达,而 Let-7g miRNA 表达下调,认为 Lin28/Let-7g 轴调节异常可能是 PTC 发生、发展过程中的重要分子调节机制。谢琿等^[11]研究发现,miRNA-22 在 PTC 组织和细胞系中的表达量显著降低,在血清中的表达量显著升高,与肿瘤分期和化学治疗敏感性有关,同时发现 miRNA-22 参与多个信号通路,其可能通过靶向调控沉默信息调节因子和高迁移率蛋白 B1,影响 PTC 的发生、发展。

2 miRNA 与甲状腺滤泡状癌 (FTC)

FTC 是患病率仅次于 PTC 的甲状腺癌,约占分化型甲状腺癌的 12%^[12]。Wojtas 等^[13]应用 miRNA 芯片技术分析 FTC 及癌旁正常组织的 miRNA 表达情况,发现 miRNA-146b、miRNA-183 和 miRNA-221 在

FTC 组织中表达明显上调,而 miRNA-199b 表达则下调。研究表明,miRNA-146b 和 miRNA-183 通过诱导细胞迁徙和抑制细胞凋亡而参与 FTC 的发生和发展。Colamaio 等^[14]应用定量 RT-PCR 技术研究证明,miRNA-142-3p 通过直接和间接作用下调 ASH1L 和 MLL1 表达,后者属于 Trithorax 组 (TrxG) 蛋白,是 Homeobox 基因表达的主要调节因子,通过组蛋白 H3 第 4 赖氨酸甲基化,维持活性靶基因的转录,miRNA-142-3p 可通过重新激活甲状腺特异性 Hox 基因表达而抑制 FTC 的发生和发展。Mancikova 等^[15]通过深度 RNA 测序研究发现,滤泡腺瘤中有 90 个 miRNA 存在过表达,较正常组织增加了两倍,FTC 和 PTC 中分别有 114 和 26 个 miRNA 过表达,其中在滤泡腺瘤和 FTC 中存在 miRNA 的极端过表达现象,分别为 3 452 倍和 1 866 倍,而 PTC 样品中仅为 101 倍;FTC 组织中大量高度上调的 miRNA 属于 miRNA-515 基因家族 (miRNA-517a/b、-518a/b/c/e/f 和 -516a/b)、miRNA-182、miRNA-183 和 miRNA-96,而下调的 miRNA-1247 为首次发现;值得注意的是,通过临床随访发现,肿瘤组织中 miRNA-192 和 let-7a 表达可提示肿瘤复发。Colamaio 等^[16]研究发现,let-7a 在 FTC 肿瘤组织中低表达,外源性增加 let-7a 的表达可使 FTC 具有上皮样的细胞表型,细胞之间黏附性增强而迁移能力减弱,进一步研究发现,let-7a 可靶向抑制离子转换调节器 5,进而在 FTC 肿瘤侵袭过程中发挥作用。一系列研究表明,在分化型甲状腺癌的发生、发展过程中,miRNA 发挥了重要的调控作用,并具有潜在的分子标志物价值,但尚需深入研究^[1,16-17]。

3 miRNA 与甲状腺髓样癌 (MTC)

MTC 起源于分泌降钙素的甲状腺滤泡旁 C 细胞,是甲状腺癌中少见的病理类型,占甲状腺癌的 3%~5%,75% 为散发,25% 具有家族遗传性。MTC 多发生于 50 岁以上的中老年人,女性略多。新近研究表明,miRNA 参与了 MTC 的发病机制,而且散发 MTC 和家族性 MTC 的 miRNA 表达不同^[18]。miRNA 虽是评估甲状腺癌预后的重要指标,但在 MTC 中的报道较为少见。Abraham 等^[19]应用 miRNA 微阵列分析发现,MTC 组织中 miRNA-183 和 miRNA-375 过表达预示淋巴结转移,并与肿瘤残留、远处转移、死亡率有关。结果提示 miRNA 在 MTC 发生、发展过程中发挥关键作用,有望作为重要的生物标志物用于诊断和预后评估,成为潜在的治疗靶点。Mian 等^[20]分析 MTC 组织中 miRNA 表达谱,发现 miRNA 批量显

著过表达,包括miRNA-21、miRNA-127、miRNA-154、miRNA-224、miRNA-323、miRNA-370、miRNA-9、miRNA-183和miRNA-375;程序性细胞凋亡因子4(PDCD4)表达显著下调;相比携带野生型RET基因的散发MTC,携带体细胞RET基因突变的散发MTC中miRNA-127表达水平显著降低;在散发MTC和家族性MTC中,miRNA-224上调与淋巴结阴性、早期诊断、随访期间治愈相关;结论认为,MTC中miRNA表达失调可能是甲状腺C细胞发生癌变的早期事件;miRNA-224上调可能是MTC预后良好的生物标志物。Pennelli等^[21]研究家族性MTC和散发性MTC中miRNA表达特点,发现MTC组织中miRNA-21明显过表达,而相应的PDCD4显著下调;miRNA-21过表达与降钙素水平、淋巴结转移、疾病进展等相关;研究结果提示,MTC组织中miRNA-21具有调节PDCD4的作用,后者属于肿瘤抑制基因,是一种程序性细胞死亡因子,参与肿瘤发病;miRNA-21/PDCD4通路与MTC临床病理参数及预后具有密切关系,并具有潜在治疗靶标价值。目前,MTC的首选治疗是甲状腺全切除术加颈部淋巴结廓清术,但约80%的患者诊断确立时已有远处转移,因此仅靠外科手术远远不够,亟待新型补充疗法,包括miRNA相关靶向疗法的研究具有重要的临床意义。

4 miRNA与甲状腺未分化癌(ATC)

ATC是甲状腺恶性肿瘤中最具侵袭性的类型,虽然其发病率仅占甲状腺癌的1%~2%,但死亡率却占了甲状腺癌的14%~39%^[22]。ATC多发生在40岁以上,发病迅速,早期即可发生浸润和转移,恶性程度高,即便采取了手术、放射治疗、化学治疗等综合治疗,但效果有限,预后很差。Esposito等^[23]研究发现,miRNA-25和miRNA-30d的异位表达通过诱导G2/M期细胞周期的停滞,抑制ATC细胞的增殖和集落形成。miRNA-25和miRNA-30d的靶目标果蝇zeste基因增强子同源物2(enhancer of zeste homolog 2, EZH2),具有致癌活性并且在ATC中明显上调,但在分化型甲状腺癌中不明显。而miRNA-25和miRNA-30d的表达与ATC中的EZH2蛋白水平存在负相关,表明miRNA-25和miRNA-30d在体内调控EZH2的表达中也起着关键作用。Huang等^[24]研究发现,miRNA-99a通常在ATC组织标本和细胞系中下调。miRNA-99a的过表达不仅通过诱导细胞凋亡和G1期细胞积累而显著降低ATC细胞活力,而且抑制体内肿瘤的发生。miRNA-99a作为肿瘤抑制因

子发挥作用,并通过靶向ATC细胞中的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/翻译抑制分子p-4E结合蛋白1/核糖体蛋白通路来抑制肿瘤发生。鉴于此,miRNA-99a有望成为ATC的新型生物标志物判断预后,成为治疗靶点。Braun等^[25]研究发现,miRNA-125b在PTC中上调,而在ATC中下调;并且miRNA-200和miRNA-30有助于鉴别分化型甲状腺癌和ATC。ATC中miRNA-200和miRNA-30的表达显著低于FTC及正常甲状腺组织,而转化生长因子- β 受体1的水平显著升高。同时发现,miRNA-200和miRNA-30可靶向抑制转化生长因子- β 受体1表达,外源性高表达miRNA-200和miRNA-30可使ATC细胞的侵袭性减弱并发生EMT。Boufraqueh等^[26]研究发现,与分化型甲状腺癌和正常组织相比,miRNA-30a在ATC中表达下调,miRNA-30a具有降低细胞侵袭和迁移、EMT以及赖氨酰氧化酶表达的作用。另有研究发现,ATC组织和细胞系中miRNA-125b表达水平下调,而磷脂酰肌醇3激酶催化亚基三角体(PIK3CD)表达水平上调,二者呈负相关;ATC组织和细胞系中,miRNA-125b抑制ATC细胞的迁移和侵袭,而PIK3CD过表达可对此产生逆转作用;外源性miRNA-125b能降低ATC细胞中磷脂酰肌醇3激酶、磷酸化蛋白激酶B和磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白等的表达;研究结果表明,miRNA-125b通过对PIK3CD的靶向作用抑制ATC细胞迁移和侵袭,有望成为治疗ATC的治疗靶点^[27]。综合来看,以多受体酪氨酸激酶抑制剂为代表的新型靶向治疗药物显示出可喜临床试验疗效的同时,ATC组织中miRNA表达特性的研究进一步显示出其潜在的基础研究和临床应用价值。

5 展望

miRNA虽仅占人类基因组的1%,但其调控的基因超过30%,可见其作用及机制非常重要。一系列研究显示,miRNAs在甲状腺癌中表达异常,参与肿瘤的各种生物学和代谢过程,且不同类型甲状腺癌中miRNA的表达也不相同,尤为重要,miRNA的表达情况与甲状腺癌的病理类型、疾病分期、淋巴结转移、疗效评估、预后判断等密切相关,具有肿瘤标志物和治疗靶标的潜在价值^[28]。这将为甲状腺癌的基础与临床研究提供崭新的思路 and 平台,为疾病的诊断、治疗和预后提供新的突破口。

参 考 文 献

- [1] Zhu G, Xie L, Miller D. Expression of microRNAs in thyroid

- carcinoma[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1617:261-280. DOI:10.1007/978-1-4939-7046-9_19.
- [2] Chruściak A, Lam AK. Clinical pathological impacts of micro RNAs in papillary thyroid carcinoma: a crucial review [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 99 (3): 393-398. DOI:10.1016/j.yexmp.2015.08.013.
 - [3] Deng X, Wu B, Xiao K, et al. MiR-146b-5p promotes metastasis and induces epithelial-mesenchymal transition in thyroid cancer by targeting ZNRF3 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35 (1): 71-82. DOI:10.1159/000369676.
 - [4] Hu J, Li C, Liu C, et al. Expressions of miRNAs in papillary thyroid carcinoma and their associations with the clinical characteristics of PTC [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 18 (1): 87-94. DOI:10.3233/CBM-161723.
 - [5] 姜兴莲, 张徽, 陈晏林, 等. MicroRNA-221 及白细胞介素-17 在甲状腺乳头状癌中的表达及相关性 [J]. *中华病理学杂志*, 2017, 46 (3): 160-165. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.03.004.
 - [6] Zhou YL, Liu C, Dai XX, et al. Overexpression of miR-221 is associated with aggressive clinicopathologic characteristics and the BRAF mutation in papillary thyroid carcinomas [J]. *Med Oncol*, 2012, 29 (5): 3360-3366. DOI:10.1007/s12032-012-0315-8.
 - [7] 李元梅, 孙利敏, 王媛媛, 等. microRNA-106b 在甲状腺癌中表达的临床意义及生物学功能 [J]. *中华内分泌外科杂志*, 2017, 11 (1): 60-64. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-6090.2017.01.014.
 - [8] 贺新伟, 林道浙, 薛迪新, 等. miR-145 在甲状腺乳头状癌中的表达及功能研究 [J]. *中华内分泌外科杂志*, 2017, 11 (3): 224-248. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-6090.2017.03.012.
 - [9] Gu Y, Li D, Luo Q, et al. MicroRNA-145 inhibits human papillary cancer TPC1 cell proliferation by targeting DUSP6 [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8 (6): 8590-8598.
 - [10] 饶丽华, 余发斌, 潘雪凯, 等. Let-7 微小 RNA 在甲状腺乳头状癌的表达及其临床意义 [J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33 (8): 2019-2021. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.08.043.
 - [11] 谢辉, 张欢欢, 应华忠, 等. 微 RNA-22 在甲状腺乳头状癌中的表达及与化学治疗敏感性的关系 [J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2017, 44 (2): 95-99. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4149.2017.02.005.
 - [12] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American thyroid association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2016, 26 (1): 1-133. DOI:10.1089/thy.2015.0020.
 - [13] Wojtas B, Ferraz C, Stokowy T, et al. Differential miRNA expression defines migration and reduced apoptosis in follicular thyroid carcinomas [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 388 (1-2): 1-9. DOI:10.1016/j.mce.2014.02.011.
 - [14] Colamaio M, Puca F, Ragozzino E, et al. miR-142-3p down-regulation contributes to thyroid follicular tumorigenesis by targeting ASH1L and MLL1 [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100 (1): E59-E69. DOI:10.1210/jc.2014-2280.
 - [15] Mancikova V, Castelblanco E, Pineiro-Yanez E, et al. MicroRNA deep-sequencing reveals master regulators of follicular and papillary thyroid tumors [J]. *Mod Pathol*, 2015, 28 (6): 748-757. DOI:10.1038/modpathol.2015.44.
 - [16] Colamaio M, Calì G, Sarnataro D, et al. Let-7a down-regulation plays a role in thyroid neoplasias of follicular histotype affecting cell adhesion and migration through its ability to target the FXR5 (Dysadherin) gene [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97 (11): E2168-E2178. DOI:10.1210/jc.2012-1929.
 - [17] 耿艳, 徐书杭, 鲁一兵, 等. 非编码 RNA 在分化型甲状腺癌分子诊断中的作用 [J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2017, 37 (2): 101-104. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.02.008.
 - [18] Accardo G, Conzo G, Esposito D, et al. Genetics of medullary thyroid cancer: an overview [J]. *Int J Surg*, 2017, 41 (Suppl 1): S2-S6. DOI:10.1016/j.ijssu.2017.02.064.
 - [19] Abraham D, Jackson N, Gundara JS, et al. MicroRNA profiling of sporadic and hereditary medullary thyroid cancer identifies predictors of nodal metastasis, prognosis, and potential therapeutic targets [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17 (14): 4772-4781. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-11-0242.
 - [20] Mian C, Pennelli G, Fassan M, et al. MicroRNA profiles in familial and sporadic medullary thyroid carcinoma: preliminary relationships with RET status and outcome [J]. *Thyroid*, 2012, 22 (9): 890-896. DOI:10.1089/thy.2012.0045.
 - [21] Pennelli G, Galuppini F, Barollo S, et al. The PDCD4/miR-21 pathway in medullary thyroid carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2015, 46 (1): 50-57. DOI:10.1016/j.humpath.2014.09.006.
 - [22] Molinaro E, Romei C, Biagini A, et al. Anaplastic thyroid carcinoma: from clinicopathology to genetics and advanced therapies [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13 (11): 644-660. DOI:10.1038/nrendo.2017.76.
 - [23] Esposito F, Tornincasa M, Pallante P, et al. Down-regulation of the miR-25 and miR-30d contributes to the development of anaplastic thyroid carcinoma targeting the polycomb protein EZH2 [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97 (5): E710-E718. DOI:10.1210/jc.2011-3068.
 - [24] Huang HG, Luo X, Wu S, et al. MiR-99a inhibits cell proliferation and tumorigenesis through targeting mTOR in human anaplastic thyroid cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16 (12): 4937-4944.
 - [25] Braun J, Hoang-Vu C, Dralle H, et al. Downregulation of micro RNAs directs the EMT and invasive potential of anaplastic thyroid carcinomas [J]. *Oncogene*, 2010, 29 (29): 4237-4244. DOI:10.1038/onc.2010.169.
 - [26] Boufraquech M, Nilubol N, Zhang L, et al. miR30a inhibits LOX expression and anaplastic thyroid cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2015, 75 (2): 367-377. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-2304.
 - [27] Bu Q, You F, Pan G, et al. MiR-125b inhibits anaplastic thyroid cancer cell migration and invasion by targeting PIK3CD [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 443-448. DOI:10.1016/j.biopha.2016.11.090.
 - [28] Pishkari S, Paryan M, Hashemi M, et al. The role of microRNAs in different types of thyroid carcinoma: a comprehensive analysis to find new miRNA supplementary therapies [J]. *J Endocrinol Invest*, 2017. DOI:10.1007/s40618-017-0735-6.

(收稿日期:2017-08-29)