

·转化医学研究·

miR-490-5p 和 miR-363 作为结直肠癌诊断标记的研究

徐学虎 吴小兵 伍尚标 江庆萍 刘海波 陈戎 孙嫣

【摘要】 目的 筛查可作为结直肠癌诊断标记的微小 RNA(miRNA)。方法 采用实时荧光定量 PCR 分析 miRNA 在结直肠癌患者肿瘤和瘤旁组织之间的表达谱, 运用非配对 *t* 检验的方法, 筛查出表达水平具有统计学差异的 miRNA。并通过受试者特征曲线(ROC)分析 miR-363 和 miR-490-5p 作为诊断标记筛查结直肠癌患者的特异性和敏感性。结果 在男性和女性样本中分别发现 73 和 42 个表达具有显著性差异的 miRNA。而 33 个 miRNA 同时在男、女样本中都具有显著性的异常表达, 其中 10 个 miRNA 的异常表达水平超过 5 倍, 这 10 个 miRNA 在男女混合样本中同样具有显著性的异常表达。结论 男、女结直肠癌患者中的部分 miRNA 的表达水平具有显著差异; miR-363 和 miR-490-5p 具有作为结直肠癌的临床筛查指标的潜能。

【关键词】 结直肠肿瘤; 微小 RNA; 生物标记; 诊断标记

Study on miR-490-5p and miR-363 as novel biomarkers for the diagnosis of colorectal cancer Xu Xuehu*, Wu Xiaobing, Wu Shangbiao, Jiang Qingping, Liu Haibo, Chen Rong, Sun Yan. *Departament of General Surgery, The Third Affiliated Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China
Corresponding author: Xu Xuehu, Email: maxtiger@126.com

【Abstract】 **Objective** To identify dysregulated microRNA (miRNA) that can act as novel biomarker for colorectal cancer screening. **Methods** Real time-polymerase chain reaction was used to detect the expression profile of miRNA in tumor and paired normal tissues, and the significant dysregulated miRNA was examined by non-paired *t*-test. Receiver operating characteristic (ROC) curve was performed to evaluate the specificity and sensitivity of miR-363 and miR-490-5p as biomarkers to discriminate colorectal cancer patients from normal person. **Results** Seven-three dysregulated miRNAs were found in male samples, of which 6 miRNAs were up-regulated and other 67 miRNAs were down-regulated, while 42 dysregulated miRNAs were found in female samples, of which 5 were up-regulated and 37 were down-regulated in tumor tissues compared with normal tissues. Among above dysregulated miRNAs, 33 miRNAs had significant differences, besides, dysregulated expression level of 10 of 33 miRNAs was over 5 folds in male and female as well as mixed samples. **Conclusions** The expression pattern in female is different from that in male. miR-363 and miR-490-5p possess the potential in screening colorectal cancer patients from healthy people.

【Key words】 Colorectal neoplasms; microRNA; Biomarker; Diagnostic marker

结直肠癌是人类常见且发生率不断上升的恶性肿瘤^[1-3]。早期诊断对提高患者的生存率和预后很重要,但是超过 57% 的患者在诊断之前已经

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2014.01.010

基金项目: 广东省第三批重大科技专项(2011A080300002); 广东省部产学研结合引导项目(2011B090400526); 广州市科技和信息化局科技支撑计划(2010J-E141)

作者单位: 510150 广州医科大学附属第三医院普通外科(徐学虎、吴小兵、伍尚标、陈戎), 病理科(江庆萍), 妇产科研究所实验部(刘海波), 消化内科(孙嫣)

通信作者: 徐学虎, Email: maxtiger@126.com

发生转移^[4]。所以, 寻找一种高度敏感且具有高度特异性的诊断标志物对于结直肠癌的早期诊断非常重要。微小(microRNA, miRNA)是一类非编码但能调控基因表达的单链小 RNAs^[5]。研究发现, 它在许多生物学过程中起重要作用, 并与结直肠癌的发生有密切关系^[6-7]。但是, 以往很少有研究关注性别差异对 miRNA 表达水平的影响, 本实验采用实时荧光定量 PCR, 分析男女差异对 miRNA 在结直肠癌肿瘤和正常组织之间表达水平的影响。

资料与方法

一、一般资料

收集2010年6月1日至2012年12月1日期间在广州医学院附属第三医院手术切除的结直肠癌患者新鲜手术标本(标本均由本科研团队收集)共31例(课题组共收集150余例标本,但由于科研经费的限制,由实验人员取出随访资料相对完整的31例标本),其中男性15例(男组),女性16例(女组),年龄20~83(平均64.7)岁。所有病例均经术后病理确诊,术前均未做放、化疗处理,取肿瘤组织和配对的距离肿瘤边缘5 cm以上的癌旁组织,标本采集后迅速放至液氮中暂存并置于-80°C超低温冰箱保存备用,直到RNA的提取。所有标本的获取都取得病人知情同意。

二、实验材料

RNAZOL试剂盒购自美国MRC公司,All-in-OneTMcDNA合成试剂盒(反转录试剂盒)及qPCR试剂盒购自美国GeneCopoeia公司,cDNA合成仪(反转录仪)购自日本TaKaRa公司,扩增仪器MyiQTM购自美国BiOrad公司,PCR仪ViiATM7购自美国ABI公司,紫外分光光度仪(型号NanoDrop ND-1000)购自美国Thermo公司。

三、研究方法

1. miRNA的提取及质量检测:取-80°C保存的组织标本约100 mg,于液氮中研磨至粉末状,按照RNAZOL试剂盒说明书提取miRNA。利用紫外分光光度仪测定样品miRNA纯度(A_{260}/A_{280}),比值在1.7~1.9认为达到要求。同时采用甲醛变性凝胶电泳检测样本miRNA纯度。

2. 实时荧光定量PCR:首先进行预实验,按照All-in-OneTMcDNA合成试剂盒对样本miRNA进行反转录,并加入MS2RNA作为外参基因一起反转录并同时单独反转录MS2RNA,反转录反应条件:37°C 60 min,85°C 5 min所得的反转录产物用灭菌水稀释10倍后,按照All-in-OneTMqPCR试剂盒进行扩

增反应,扩增仪器MyiQTM,扩增条件:95°C 10 min,90°C 10 s,60°C 20 s,72°C 10 s,40个循环;然后65°C 10 s,60个循环,进行溶解并观察溶解曲线。采用U6、U44、U48和U49RNA作为预实验反应的内参基因,所有的反应都设有3个复孔并设外参和空白对照。

3. miRNA表达谱分析:当预实验中肿瘤和瘤旁组织的内参Ct值在18~25左右,且两组样本的外参值和阳性对照之间的差值在1个Ct之内时,则进行miRNA的表达谱检测。本实验分别检测1500条miRNAs在男女两个群体的肿瘤和瘤旁组织之间的表达谱。进行qRT-PCR的条件和试剂相同(如上所述),在PCR仪ViiATM7上对miRNA进行扩增,反应的内参是U6、U44、U48及U49 RNA,反应中加入ROX以平衡每孔反应容量的误差。每个miRNA均为3个复孔反应求其均数值。miRNA的相对表达量用4个内参(U6、U44、U48和U49)的平均值进行标准化处理,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算miRNA在组织中的相对表达量,其中 $\Delta\Delta Ct=(Ct_{\text{肿瘤}}-Ct_{\text{内参}})-(Ct_{\text{正常}}-Ct_{\text{内参}})$ 。 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 小于1表示肿瘤组织中miRNA表达低于瘤旁正常组织表达; $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 大于1表示肿瘤组织中miRNA表达较瘤旁正常组织高。

四、统计学方法

采用SPSS 16.0分析软件进行数据分析。有报道认为,非配对t检验比配对t检验更加保守^[8]。对miRNA数据进行非配对t检验,计数资料的比较采用 χ^2 检验。受试者特征曲线(ROC)用来确定采用某miRNA作为检测结直肠癌的敏感性及特异性,并从一般人群中筛查肿瘤患者的最佳截值点。

结 果

一、两组患者基本资料

两组患者在年龄、TNM分期、分化类型、组织定位的差异均无统计学意义,见表1。

二、男性样本中差异表达的miRNA

在男性肿瘤和瘤旁组织之间有73个差异表达的miRNA($P<0.05$)。其中有6个miRNA(miR-130b、

表1 两组患者基本资料[例(%)]

组别	例数	年龄 [($\bar{x}\pm s$)岁]	TNM分期			分化类型 ^a			组织定位	
			II	III	IV	高	中	低	结肠	直肠
男组	15	62.8±3.9	7(46.7)	6(40.0)	2(13.3)	2(13.3)	11(73.3)	2(13.3)	8(53.3)	7(46.7)
女组	16	66.4±3.8	8(50.0)	7(43.8)	1(6.2)	3(18.8)	9(56.2)	1(6.2)	11(68.8)	5(31.2)
P值		0.495		0.800			0.743			0.379

注:^a3例女性患者资料缺失

miR-200a、miR-429、miR-135b、miR-592、miR-96) 在肿瘤组织中为高表达, 且 miR-96 在肿瘤组织中的上调水平超过 5 倍; 其他 67 个为低表达, 其中有 29 个表达下调超过 5 倍。见表 2。

表 2 男组、女组及混合组样本中 miRNA 的表达分析

miRNA	男组(15 例)			女组(16 例)			混合组(31 例) ^b		
	$2^{-\Delta\Delta CT}$	变化水平 ^a	P 值	$2^{-\Delta\Delta CT}$	变化水平 ^a	P 值	$2^{-\Delta\Delta CT}$	变化水平 ^a	P 值
hsa-miR-1	0.04	-27.03	<0.01	0.11	-9.52	<0.01	0.06	-15.87	<0.01
hsa-miR-9	0.15	-6.54	<0.05	0.20	-5.08	<0.01	0.18	-5.71	<0.01
hsa-miR-22*	0.43	-2.35	<0.05	0.58	-1.73	>0.05	-	-	-
hsa-miR-23a	0.29	-3.51	<0.05	0.56	-1.80	>0.05	-	-	-
hsa-miR-23b	0.17	-5.88	<0.01	0.30	-3.31	<0.05	-	-	-
hsa-miR-24-1*	0.18	-5.46	<0.01	0.31	-3.21	<0.01	-	-	-
hsa-miR-26a	0.27	-3.66	<0.05	0.46	-2.17	<0.05	-	-	-
hsa-miR-27b	0.13	-7.46	<0.05	0.46	-2.20	>0.05	-	-	-
hsa-miR-28-5p	0.18	-5.68	<0.01	0.51	-1.97	>0.05	-	-	-
hsa-miR-30c	0.33	-3.08	<0.05	0.60	-1.68	>0.05	-	-	-
hsa-miR-30e*	0.21	-4.72	<0.01	0.31	-3.19	<0.01	-	-	-
hsa-miR-99a	0.15	-6.58	<0.05	0.26	-3.92	<0.01	-	-	-
hsa-miR-99b	0.15	-6.62	<0.01	0.31	-3.23	<0.01	-	-	-
hsa-miR-100	0.17	-5.81	<0.05	0.29	-3.46	<0.01	-	-	-
hsa-miR-125a-5p	0.16	-6.33	<0.01	0.38	-2.67	<0.05	-	-	-
hsa-miR-125b	0.16	-6.37	<0.01	0.35	-2.84	<0.05	-	-	-
hsa-miR-126	0.22	-4.57	<0.01	0.49	-2.05	>0.05	-	-	-
hsa-miR-130a	0.27	-3.68	<0.05	0.64	-1.57	>0.05	-	-	-
hsa-miR-133a	0.10	-9.90	<0.05	0.17	-6.06	>0.05	-	-	-
hsa-miR-133b	0.15	-6.62	<0.05	0.19	-5.32	<0.05	0.17	-5.92	<0.01
hsa-miR-137	0.09	-10.87	<0.01	0.10	-10.42	<0.01	0.09	-10.64	<0.01
hsa-miR-140-3p	0.40	-2.52	<0.05	0.43	-2.34	<0.05	-	-	-
hsa-miR-143	0.09	-10.75	<0.01	0.24	-4.22	<0.05	-	-	-
hsa-miR-143*	0.17	-5.78	<0.01	0.27	-3.76	<0.05	-	-	-
hsa-miR-144*	0.16	-6.41	<0.01	0.21	-4.69	<0.05	-	-	-
hsa-miR-145	0.05	-21.28	<0.01	0.09	-11.49	<0.01	0.07	-15.38	<0.01
hsa-miR-145*	0.06	-16.39	<0.01	0.08	-11.90	<0.01	0.07	-13.89	<0.01
hsa-miR-151-5p	0.41	-2.45	<0.05	0.90	-1.11	>0.05	-	-	-
hsa-miR-181c	0.32	-3.15	<0.01	0.69	-1.45	>0.05	-	-	-
hsa-miR-193a-5p	0.24	-4.26	<0.01	0.37	-2.72	>0.05	-	-	-
hsa-miR-193b	0.20	-4.90	<0.05	0.41	-2.43	<0.05	-	-	-
hsa-miR-199a-3p	0.27	-3.76	<0.01	0.49	-2.03	>0.05	-	-	-
hsa-miR-199b-3p	0.36	-2.76	<0.05	0.49	-2.03	>0.05	-	-	-
hsa-miR-204	0.21	-4.83	<0.01	0.53	-1.88	>0.05	-	-	-
hsa-miR-214	0.21	-4.67	<0.01	0.35	-2.82	>0.05	-	-	-
hsa-miR-214*	0.32	-3.14	<0.05	0.44	-2.26	>0.05	-	-	-
hsa-miR-218	0.18	-5.52	<0.05	0.34	-2.91	>0.05	-	-	-
hsa-miR-338-3p	0.43	-2.31	<0.05	0.55	-1.81	>0.05	-	-	-
hsa-miR-363	0.12	-8.26	<0.05	0.20	-5.03	<0.01	0.16	-6.37	<0.01
hsa-miR-365	0.17	-5.75	<0.01	0.50	-1.99	>0.05	-	-	-
hsa-miR-374b	0.35	-2.85	<0.05	0.46	-2.17	>0.05	-	-	-
hsa-miR-378*	0.33	-3.01	<0.01	0.30	-3.39	<0.01	-	-	-
hsa-miR-378i	0.25	-3.95	<0.05	0.34	-2.98	<0.05	-	-	-
hsa-miR-451	0.13	-7.46	<0.01	0.31	-3.19	<0.05	-	-	-
hsa-miR-487b	0.40	-2.53	<0.05	0.59	-1.71	>0.05	-	-	-
hsa-miR-490-5p	0.15	-6.80	<0.05	0.17	-5.78	<0.05	0.16	-6.25	<0.01
hsa-miR-574-3p	0.22	-4.50	<0.01	0.39	-2.56	<0.05	-	-	-
hsa-miR-574-5p	0.39	-2.59	<0.05	0.64	-1.57	>0.05	-	-	-

续表 2

miRNA	男组(15例)			女组(16例)			混合组(31例) ^b		
	2 ^{-ΔΔCT}	变化水平 ^a	P值	2 ^{-ΔΔCT}	变化水平 ^a	P值	2 ^{-ΔΔCT}	变化水平 ^a	P值
hsa-miR-768-3p	0.22	-4.63	<0.01	0.26	-3.92	<0.01	-	-	-
hsa-miR-1826	0.22	-4.48	<0.05	0.82	-1.22	>0.05	-	-	-
hsa-miR-1979	0.22	-4.65	<0.01	0.54	-1.86	>0.05	-	-	-
hsa-miR-3195	0.14	-7.25	<0.01	0.31	-3.18	>0.05	-	-	-
hsa-miR-3651	0.39	-2.59	<0.05	0.75	-1.34	>0.05	-	-	-
hsa-miR-3653	0.27	-3.65	<0.01	0.43	-2.33	>0.05	-	-	-
hsa-miR-3972	0.23	-4.31	<0.05	0.47	-2.12	>0.05	-	-	-
hsa-miR-4423-3p	0.20	-5.08	<0.05	0.32	-3.15	>0.05	-	-	-
hsa-miR-4443	0.29	-3.45	<0.05	0.53	-1.88	>0.05	-	-	-
hsa-miR-4510	0.13	-7.58	<0.05	0.25	-3.94	<0.05	-	-	-
hsa-miR-4526	0.24	-4.22	<0.05	0.48	-2.08	>0.05	-	-	-
hsa-miR-4684-3p	0.32	-3.12	<0.05	0.39	-2.58	>0.05	-	-	-
hsa-miR-4770	0.12	-8.33	<0.01	0.18	-5.49	<0.01	0.15	-6.76	<0.01
hsa-let-7b	0.25	-4.02	<0.01	0.37	-2.70	<0.05	-	-	-
hsa-let-7c	0.13	-8.00	<0.01	0.45	-2.23	>0.05	-	-	-
hsa-let-7d	0.27	-3.66	<0.05	0.17	-5.88	<0.05	-	-	-
hsa-let-7d*	0.26	-3.88	<0.05	0.38	-2.63	>0.05	-	-	-
hsa-let-7g	0.28	-3.61	<0.05	0.49	-2.06	>0.05	-	-	-
hsa-let-7i	0.48	-2.11	<0.05	0.70	-1.43	>0.05	-	-	-
hsa-miR-96	5.45	5.45	<0.01	6.90	6.90	<0.01	0.16	6.16	<0.01
hsa-miR-130b	2.71	2.71	<0.05	1.55	1.55	>0.05	-	-	-
hsa-miR-135b	4.17	4.18	<0.05	5.51	5.51	<0.05	-	-	-
hsa-miR-200a	3.69	3.70	<0.05	1.93	1.93	>0.05	-	-	-
hsa-miR-429	3.98	3.98	<0.01	2.14	2.14	>0.05	-	-	-
hsa-miR-592	4.21	4.21	<0.05	1.66	1.66	>0.05	-	-	-
hsa-miR-10b	0.51	-1.95	>0.05	0.40	-2.50	<0.05	-	-	-
hsa-miR-29b-2*	0.33	-3.00	>0.05	0.35	-2.86	<0.05	-	-	-
hsa-miR-30a	0.31	-3.26	>0.05	0.40	-2.49	<0.05	-	-	-
hsa-miR-30c-2*	0.35	-2.86	>0.05	0.30	-3.33	<0.05	-	-	-
hsa-miR-139-5p	0.24	-4.22	>0.05	0.27	-3.73	<0.05	-	-	-
hsa-miR-182	2.72	2.72	>0.05	3.55	3.55	<0.01	-	-	-
hsa-miR-183	2.88	2.88	>0.05	3.33	3.33	<0.05	-	-	-
hsa-miR-422a	0.47	-2.13	>0.05	0.36	-2.82	<0.05	-	-	-
hsa-miR-708	1.55	1.55	>0.05	2.20	2.20	<0.05	-	-	-

注:^a 变化水平是指肿瘤组织中的表达水平相对于瘤旁组织上调或下调的倍数;^b 混合组仅检测了变化水平超过 5 倍的 miRNA

三、女性样本中差异表达的 miRNA

女性样本中具有表达差异的 miRNA 有 42 个,其中 37 个在肿瘤组织中为低表达,其中 miR-1、miR-145*、miR-145、miR-137、let-7d、miR-490-5p、miR-4770、miR-133b、miR-9 和 miR-363 等 10 个 miRNA 下调水平超过 5 倍,而 miR-145* 和 miR-145 下降甚至超过 10 倍;另外 miR-708、miR-183、miR-182、miR-135b 和 miR-96 等 5 个 miRNA 为高表达,其中 miR-135b 和 miR-96 表达上调超过 5 倍。见表 2。

四、男和女组混合分析

有 33 个 miRNA 在男性和女性两个群体中都存在差异表达,其中 31 个 miRNA 表现为表达下调,2 个(miR-135b 和 miR-96)表现为高表达;有 10 个

miRNA 异常表达水平在两个群体中都超过 5 倍,9 个 miRNA (miR-1、miR-145*、miR-145、miR-137、miR-490-5p、miR-4770、miR-133b、miR-9、miR-363) 为低表达,1 个(miR-96)为高表达。见表 2。

五、混合样本中差异表达的 miRNA

将男性样本和女性样本混合,对以上研究发现的异常表达超过 5 倍的 miRNA(共 10 个)进行分析,10 个 miRNA 在混合样本中均为异常表达,且与男性、女性样本中的差异表达基本相似,见表 2。其中 miR-363 和 miR-490-5p 在肿瘤中的表达水平分别下调了 6.37 倍和 6.25 倍($P<0.01$),见图 1。

六、ROC 检测 miRNA 的敏感性及特异性

miR-363 和 miR-490-5p 作为结直肠癌诊断标

记的特异性和敏感性分别是 77.42% 和 74.19%、64.52% 和 70.79%，曲线下面积(AUC)分别为 0.780 和 0.737($P<0.01$)，见图 2。

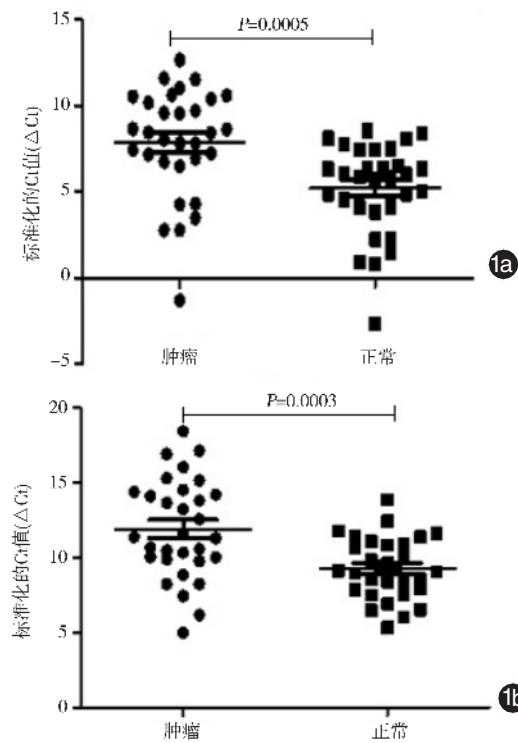


图 1 混合组中 miRNA 的表达分析 1a. miR-363; 1b. miR-490-5p

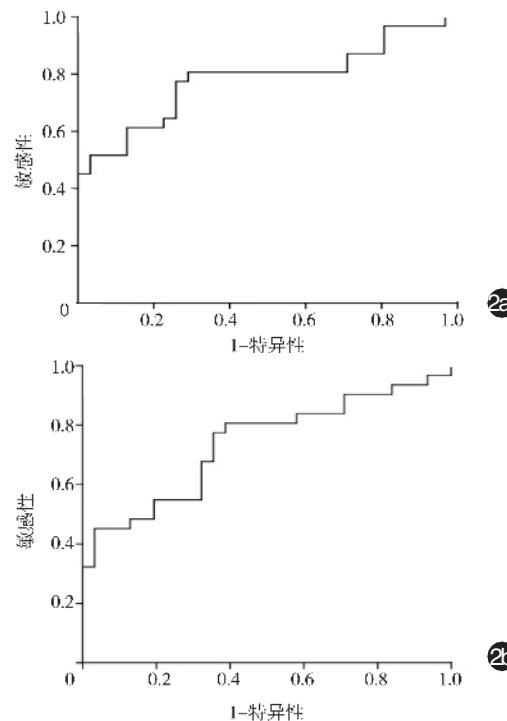


图 2 miRNA 检测结直肠癌的 ROC 曲线分析 2a.miR-363;2b.miR-490-5p

讨 论

随着 miRNA 在肿瘤学方面的应用被提出，关

于 miRNA 作为结直肠癌的生物学诊断标记的研究便不断见诸报道。本实验首次考虑性别因素对 miRNA 在结直肠癌中表达水平的影响。实验结果表明，miRNA 在男、女两大人群中表达并不完全一致：男性样本中有 73 个异常表达的 miRNA，女性样本中有 42 个，在两个群体中都存在异常表达的 miRNA 有 33 个。说明性别之间的差异对 miRNA 的表达水平确实有着重要的影响，而能够作为结直肠癌诊断标记的 miRNA，需要同时具备对不同性别的人群都普遍适用的诊断标记，否则就会造成因性别不同而漏诊。因此，若将 miRNA 应用于临床诊断，我们必须考虑这一影响因素。同时，对于实验中的那些具有性别间明显差异的 miRNA，其作为诊断标记可能并不适合整个人群，但对某一性别却具有重要的参考意义。

成熟的 miRNA 在细胞的发展、分化、增殖、凋亡和代谢等生物学过程中均起重要作用，其异常表达和结直肠癌的发生有密切的联系^[6]。本实验研究除发现一些没有被报道过 miRNA(如：miR-125a-5p、miR-24-1*、miR-363、miR-378i、miR-4510、miR-4770、miR-490-5p、miR-574-3p、miR-768-3p 及 miR-99b)外，同时也是以往的实验研究的很好确证。有研究发现，miR-1 在结直肠癌中表现为低表达，可抑制致癌因子 MET 的表达，所以 miR-1 表达下调可促使结直肠癌的进展^[7-8]。miR-145 在结直肠癌中多为低表达，其抑制肿瘤生长的功能是通过抑制靶基因 p70S6K1，下调缺氧诱导因子(HIF-1)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达水平来实现的^[8-9]。miR-135b 在肿瘤中的低表达与雌激素的抗癌作用相关。有研究发现，雌激素是通过调控错配基因(MMR)的活性抑制肿瘤的生长，而 miR-135b 的高表达会促使 MMR 活性增强进而致癌，雌二醇(E₂)通过雌激素受体(ER-β)下调 miR-135b 的表达水平达到抑癌的作用^[10-11]。miR-143 不仅在肿瘤组织中为低表达，在肿瘤患者的血液样本中同样为低表达，其原因与 miR-143 可以抑制细胞的增殖、迁徙及血管形成有关，可以阻止结直肠癌细胞发生的 TLR2 的通路，并且能提高结直肠癌患者对奥沙利铂的敏感性^[12-15]。其他 miRNA，如 miR-96 在结直肠癌肿瘤中高表达、miR-9 和 miR-140-3p 为低表达的情况，都与本研究结果相同^[12,16-17]。有报道认为，肿瘤细胞中 miRNA 生物合成的抑制，会促进细胞扩增和血管侵袭，并且促进肿瘤的生长和转移，所以

miRNA 在癌症组织中多为低表达的描述，在本实验中得到验证^[18-19]。当然，本实验结果也存在与其他研究的不同之处。Chiang 等^[20]研究发现，miR-192、miR-194 和 miR-215 为低表达。而在本实验中，这 3 个 miRNA 都没有表现出明显的表达异常。Piepoli 等^[12]发现，miR-1826 在结直肠癌组织中高表达，而 miR-10b 和 miR-30c 为低表达。而本实验中，miR-1826 和 miR-30c 在男性样本中表现为低表达，女性样本中却没有显著的异常表达；女性样本中 miR-10b 低表达，但在男性样本中均无显著性的异常表达。我们推测这些差异可能是由实验之间的技术差别、样本来源以及样本病理不同等因素造成。

在上述 10 个新发现的具有差异表达的 miRNA 中，miR-363 和 miR-490-5p 在男、女两独立样本以及男女混合样本中具有同样的差异表达。与正常组织相比，miR-363 和 miR-490-5p 在肿瘤组织中的表达下调超过 5 倍，但目前还没有关于他们的研究报道。当 AUC 值均大于 0.7 时，便可认为 miRNA 作为肿瘤标记能够较好地从人群中筛查出肿瘤患者^[16]。两个结果中的 AUC 值均大于 0.7，表明 miR-363 和 miR-490-5p 具有作为结直肠癌诊断标记的潜能。ROC 分析显示它们作为结直肠癌的诊断标记的特异性和敏感性约 70%，而且 AUC 都超过 0.7，表明它们有作为结直肠癌的临床筛查指标的潜能。但其特异性和敏感性并不很高，其作为结直肠癌诊断标记报道在该实验中也尚属首次，它们能否在以后的实验中得到验证，甚至作为检测标记应用于临床，是否还有其他更好的 miRNA 作为选择，还需要大量的实验加以探索证明。

综上所述，miRNA 在男女样本中的表达水平不尽相同，当临床中考虑 miRNA 作为诊断标记时，需对男女两个患者群体之间 miRNA 表达水平的差异进行分析思考。miR-363 和 miR-490-5p 具有作为结直肠癌的临床筛查指标的潜能。

参 考 文 献

- [1] Wang Q, Huang Z, Ni S, et al. Plasma miR-601 and miR-760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer [J]. PLoS One, 2012, 7:e44398.
- [2] Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, et al. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis [J]. PLoS One, 2011, 6:e17745.
- [3] Hrašovec S, Glavač D. MicroRNAs as Novel Biomarkers in Colorectal Cancer [J]. Front Genet, 2012, 3:180.
- [4] Aslam MI, Taylor K, Pringle JH, et al. MicroRNAs are novel biomarkers of colorectal cancer [J]. Br J Surg, 2009, 96:702-710.
- [5] Hu H, Li S, Liu J, et al. MicroRNA-193b modulates proliferation, migration, and invasion of non-small cell lung cancer cells [J]. Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai), 2012, 44:424-430.
- [6] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers [J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6:857-866.
- [7] Reid JF, Sokolova V, Zoni E, et al. miRNA profiling in colorectal cancer highlights miR-1 involvement in MET-dependent proliferation [J]. Mol Cancer Res, 2012, 10:504-515.
- [8] Hamfjord J, Stangeland AM, Hughes T, et al. Differential expression of miRNAs in colorectal cancer: comparison of paired tumor tissue and adjacent normal mucosa using high-throughput sequencing [J]. PLoS One, 2012, 7:e34150.
- [9] Xu Q, Liu LZ, Qian X, et al. MiR-145 directly targets p70S6K1 in cancer cells to inhibit tumor growth and angiogenesis [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40:761-774.
- [10] Xu XM, Qian JC, Deng ZL, et al. Expression of miR-21, miR-31, miR-96 and miR-135b is correlated with the clinical parameters of colorectal cancer [J]. Oncol Lett, 2012, 4:339-345.
- [11] He YQ, Sheng JQ, Ling XL, et al. Estradiol regulates miR-135b and mismatch repair gene expressions via estrogen receptor-β in colorectal cells [J]. Exp Mol Med, 2012, 44:723-732.
- [12] Piepoli A, Tavano F, Copetti M, et al. MiRNA expression profiles identify drivers in colorectal and pancreatic cancers [J]. PLoS One, 2012, 7:e33663.
- [13] Qian X, Yu J, Yin Y, et al. MicroRNA-143 inhibits tumor growth and angiogenesis and sensitizes chemosensitivity to oxaliplatin in colorectal cancers [J]. Cell Cycle, 2013, 12:1385-1394.
- [14] Ng EK, Tsang WP, Ng SS, et al. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer [J]. Br J Cancer, 2009, 101:699-706.
- [15] Guo H, Chen Y, Hu X, et al. The regulation of toll-like receptor 2 by miR-143 suppresses the invasion and migration of a subset of human colorectal carcinoma cells [J]. Mol Cancer, 2013, 12:77.
- [16] Kunte DP, DelaCruz M, Wali RK, et al. Dysregulation of MicroRNAs in Colonic Field Carcinogenesis: Implications for Screening [J]. PLoS One, 2012, 7:e45591.
- [17] Chen WC, Lin MS, Ye YL, et al. microRNA expression pattern and its alteration following celecoxib intervention in human colorectal cancer [J]. Exp Ther Med, 2012, 3:1039-1048.
- [18] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. Nature, 2005, 435:834-838.
- [19] Melo SA, Esteller M. Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire [J]. FEBS lett, 2011, 585:2087-2099.
- [20] Chiang Y, Song Y, Wang Z, et al. microRNA-192, -194 and -215 are frequently downregulated in colorectal cancer [J]. Exp Ther Med, 2012, 3:560-566.

(收稿日期：2013-03-12)