

· 综述 ·

## 微小核糖核酸-375 与肝细胞肝癌关系的研究进展

师玉卓<sup>1</sup>, 付婷<sup>2</sup>, 思广慧<sup>1</sup>, 邵中军<sup>2</sup>, 张维璐<sup>2\*</sup>, 王新华<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> 甘肃中医药大学公共卫生学院职业卫生与环境卫生教研室, 兰州 730000; <sup>2</sup> 空军军医大学军事预防医学系流行病学教研室, 西安 710032)

**【摘要】** 肝细胞肝癌(HCC)是全球最常见的恶性肿瘤之一,其早期症状隐匿,预后差,临床上对其早期诊断有一定的局限性。大量研究表明微小核糖核酸-375(miR-375)与HCC的发生发展有十分密切的关系,miR-375可通过靶向调节致癌基因信号通路影响HCC的发生或发展过程,是HCC早期诊断或预后的标志物。本文就近年miR-375与HCC研究的最新进展作一概述,为HCC的早期诊断、治疗及预后提供理论依据。

**【关键词】** 肿瘤;肝细胞;微小核糖核酸-375;诊断;治疗

**【中图分类号】** R181.13 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.12.196

## Research progress on relationship between micro ribonucleic acid-375 and hepatocellular carcinoma

SHI Yu-Zhuo<sup>1</sup>, FU Ting<sup>2</sup>, SI Guang-Hui<sup>1</sup>, SHAO Zhong-Jun<sup>2</sup>, ZHANG Wei-Lu<sup>2\*</sup>, WANG Xin-Hua<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; <sup>2</sup>Department of Epidemiology, Faculty of Preventive Medicine, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

**【Abstract】** Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignancies in the world with insidious early symptoms and poor prognosis. In clinical practice, there are some limitations in its early diagnosis. A wide array of studies have shown that micro ribonucleic acid-375 (miR-375) is closely related to the occurrence and development of HCC, exerting an effect by targeting oncogenic signaling pathways, thus serving as a marker of early diagnosis or prognosis of HCC. This article reviews the recent progress in the research on miRNA-375 and HCC, with a view of providing a theoretical basis for the early diagnosis, treatment and prognosis of HCC.

**【Key words】** tumor; hepatocyte; micro ribonucleic acid-375; diagnosis; treatment

*This work was supported by the Youth Project of National Natural Science Foundation of China (81773488) and National Special Prevention and Control of Major Infectious Diseases Project of China (2017ZX10105011).*

*Corresponding author: WANG Xin-Hua, E-mail: Wangxinhua1964@163.com; ZHANG Wei-Lu, E-mail: zhangweilu@126.com*

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)约占肝脏原发性肿瘤的90%,在我国其发病率占恶性肿瘤第四位,死亡率排第三位<sup>[1]</sup>。大部分HCC患者在早期时很难被发现,被确诊时已处于疾病中晚期<sup>[2]</sup>。目前临床应用最广泛的HCC早期筛查标志物为甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP),诊断灵敏度为60%~70%。但因为有一些肝炎患者中AFP的含量亦会升高<sup>[3]</sup>,故应用AFP筛查早期HCC具有一

定的漏诊率和误诊率。对早期HCC的诊断依然缺乏灵敏度和特异度高的肿瘤标志物。微小核糖核酸(micro ribonucleic acid, miRNA)作为一类内源性非编码小分子RNA,可经序列特异性翻译抑制或miRNA裂解调控基因表达,参与细胞发育、增殖、分化及凋亡等<sup>[4]</sup>。随着对miRNA发现的增多和研究技术的进步,在HCC各个病理过程中,对miRNA调控靶基因发挥作用的研究正在不断深入。其中

收稿日期: 2019-04-11; 接受日期: 2019-05-28

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81773488); 国家重大传染病防治专项(2017ZX10105011)

通信作者: 王新华, E-mail: Wangxinhua1964@163.com; 张维璐, E-mail: zhangweilu@126.com

miR-375 是一种与肿瘤的发生密切相关的 miRNA<sup>[5]</sup>。有研究发现,miR-375 为 HCC 特异性的血清学标志物,其灵敏度为 100%,特异度为 96%<sup>[6]</sup>。本文主要从作用机制、诊断及治疗三方面就近年 miR-375 与 HCC 研究的最新进展作一综述。

## 1 miR-375 的作用机制

miR-375 是 miRNA 家族中高度保守的一员,位于人类体细胞染色体 2q35 的 *Cryba2* 和 *Ccdcl08* 基因区域间<sup>[7]</sup>。miR-375 发挥作用机制与大部分 miRNA 类似,首先编码 miRNA 的基因在细胞核内 RNA 聚合酶 II 催化下生成为初级 miRNA,然后通过胞核内 Drosha 酶和 AGO2 基因的联合作用,初级 miRNA 被剪切为长约 70 个核苷酸长度的 miRNA 前体,并经转运蛋白从细胞核内运输到细胞质中,以 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)形式对靶基因进行调控作用,即 RISC 复合物中的单链 miRNA 与目标靶基因 miRNA 的 3'端非编码区域结合,从而在转录后水平对靶基因进行调控。调控作用主要分为两种情况:如果单链 miRNA 与靶基因的 miRNA 完全互补结合,那么就会导致下游靶基因 miRNA 的降解;如果不能完全互补结合,则单链 miRNA 对靶基因 miRNA 的翻译过程起到负调控的作用,从而抑制蛋白的翻译,但是对靶基因 miRNA 的表达并无任何影响<sup>[8,9]</sup>。

## 2 miR-375 在 HCC 中的调控作用

近年 miR-375 的异常表达与人类恶性肿瘤的发生发展关系成为研究热点,并且 miR-375 被发现广泛存在于人体的各种组织器官、细胞以及体液当中,参与不同恶性肿瘤细胞的增殖、转移及凋亡的调控<sup>[10]</sup>。研究表明,很多恶性肿瘤的发生发展都伴随着 miR-375 的异常表达,在 HCC 中也不例外。miR-375 在 HCC 中是一种依赖于相应“靶基因”表达下调的 miRNA<sup>[11]</sup>。He 等<sup>[12]</sup>通过对比 HCC 患者癌组织和正常癌旁组织以及癌细胞系的表达谱,发现 miR-375 在 HCC 组织和癌细胞系中显著下调,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),并发现 miR-375 是通过靶向调控星形细胞上调基因 1 (astrocyte elevated gene-1, AEG-1) 的表达而降低了细胞增殖的速率,进一步抑制了肿瘤细胞的迁移和侵袭。此外, Liu 等<sup>[13]</sup>发现 miR-375 能调控另外一种致 HCC 的驱动因子——Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP),研究人员对 48 例 HCC 患者肿瘤组织及邻近非肿瘤组织进行检测,发现 miR-375 可以降低 YAP

的转录活性。YAP 作为致癌基因能够促进 HCC 的恶性转移及增殖,而 miR-375 作为前者的重要调节因子,能与 YAP 原癌基因 3'端非编码区的某个特异性位点结合并在转录后水平调节 YAP,因此 miR-375 的表达增加能降低 YAP 的转录活性,减少 YAP 原癌基因的表达,从而抑制 HCC 的发展。这些研究提示 miR-375 的表达失调与癌症相关信号通路激活有着密切关系,也为我们进一步探索 HCC 的发生发展机制提供了新思路。

## 3 HCC 的诊断

### 3.1 传统诊断指标

HCC 患者发病早期症状隐匿,被确诊时已发展至中晚期,因此丧失了手术治疗的最佳时机,导致预后较差<sup>[14]</sup>。目前 HCC 的诊断主要依靠影像学检查(如 B 超、CT、磁共振成像)、活组织检查及血清 AFP 检测,其中 AFP 是目前临床诊断最常用的血清肿瘤标志物之一,广泛用于 HCC 的筛检<sup>[15]</sup>。临床上认为血清 AFP > 400 ng/ml 即可诊断为 HCC,但是以此为阳性阈值则有近 1/3 的早期 HCC 患者(肿瘤直径 < 3 cm)被漏诊<sup>[16]</sup>。因为在肝硬化患者和重型肝炎患者的恢复期,其血清 AFP 也会有大幅升高<sup>[17]</sup>。因此笔者认为 AFP 无法精确判断早期 HCC 的发生。近年来,用于检测 HCC 的其他血清标志物还有甲胎蛋白异质体 AFP-L3、热休克蛋白、高尔基体蛋白 73 (Golgi glycoprotein 73, GP73)、鳞状细胞癌抗原-IgM 复合物 (serpin squamous cell carcinoma antigen immunocomplexes-IgM, SCCA-IgM)、异常凝血酶原 (des- $\gamma$ -carboxy prothrombin, DCP)、骨桥蛋白、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 等<sup>[18]</sup>。尽管这些新的标志物与 AFP 的联合应用在一定程度上提高了 HCC 的检出水平,但他们均是在发生 HCC 之后才被检测到。而且这些血清学标志物由于诊断的特异度不高或成本效益方面的原因,均未能在 HCC 临床诊断中广泛应用。因此,寻找一种可以在 HCC 发病初期就能在血清中被检测到、并且有较高特异度和灵敏度的标志物是目前急需开展的研究工作。

### 3.2 miR-375 在 HCC 中的鉴别诊断

miRNA 作为 HCC 的潜在肿瘤标志物在 HCC 的诊断方面存在一定的意义。Zhou 等<sup>[19]</sup>研究发现,在 AFP 阴性表达的 HCC 患者血液和组织标本中可以检测到 miRNA 的异常表达,提示 miRNA 可以作为一种潜在的早期诊断工具。Li 等<sup>[6]</sup>发现仅依靠 miR-375 一项指标就可以将 HCC 患者与健康对照组区分开,其灵敏度高达 100%,特异度为 96%,远

高于传统的血清学标志物。此外,在众多诱发 HCC 的病因中,乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染尤为重要<sup>[20]</sup>。付婷婷等<sup>[21]</sup>收集了乙肝相关性 HCC 疾病进程中的血清,发现其 miR-375 水平与正常对照组存在差异,即健康对照>慢性 HBV 感染>肝硬化>HCC;通过分别使用 miR-375 和 AFP 从乙肝相关性疾病患者中诊断 HCC 患者发现,前者灵敏度为 93.8%,特异度为 63.9%,后者灵敏度为 75.0%,特异度为 65.5%。由此推测,miR-375 可能特别适用于 HBV 相关性 HCC 的早期筛查。此外,Elemery 等<sup>[22]</sup>利用 miRNA-375 对丙肝相关性 HCC 进行早期鉴别诊断发现,miR-375 在 HCC 患者中的表达水平明显低于其他组患者,即健康对照组>晚期丙肝纤维化>HCC。且 miR-375 从丙肝相关性疾病患者中鉴别诊断 HCC 患者的能力较强,其灵敏度高达 96.4%。另外,也有关于 miR-375 与 HCC 预后关系的报道,Zhou 等<sup>[23]</sup>对 38 例术后 HCC 患者的无病生存率(disease free survival, DFS)进行随访发现,低水平表达的 miR-375 是 DFS 降低的独立预测因子之一( $OR = 3.273, P = 0.032$ )。以上研究充分说明 miR-375 可以作为 HCC 疾病诊断和预后的标志物。

#### 4 miR-375 与 HCC 治疗

临床上 HCC 患者的 5 年生存率较差,原因包括无理想的靶向治疗方法及患者对化疗药物不敏感。目前,化疗是一种重要的 HCC 治疗模式,但其疗效有限,价格昂贵,生存效益差<sup>[24]</sup>。尽管 miR-375 作为 HCC 中下调的肿瘤抑制因子,但缺乏有效的递送策略,因此无理想的靶向治疗方法。在近年研究中,以纳米载体为基础的 miRNA 抗癌疗法备受人们关注。Xue 等<sup>[25]</sup>开发了一种直接将 miR-375 靶向导入 HCC 细胞的策略,即在金纳米离子(Au Nanoarticles, AuNPs)表面组装 miR-375 模拟物,形成 AuNP-miR-375 纳米颗粒。在 HCC 中,AuNP-miR-375 显示出较高的细胞摄取功能,既可以保留 miR-375 抑制细胞增殖、迁移/侵袭和诱导凋亡的活性,同时对宿主小鼠无明显毒性作用。有文献<sup>[26]</sup>报道,miR-375 与纳米颗粒共载并联合化疗药物合成的新型脂包膜可作为化疗不敏感 HCC 的潜在治疗方法,逆转癌细胞的耐药性,从而增强化疗药物的灵敏度,提高患者 5 年生存率。除此之外,有研究还发现,肿瘤细胞通过诱导自噬获得生存优势,使其能在恶劣的微环境下得以生存<sup>[27]</sup>。Chang 等<sup>[28]</sup>将 miR-375 导入裸鼠 HCC 移植瘤模型中发现,miR-375 通过降

低自噬相关蛋白 Atg7 的表达抑制了肿瘤细胞的自噬,HCC 细胞在体内生长的速度明显减慢。总之,我们认为 miR-375 结合纳米载体有望成为治疗 HCC 的潜在靶向药物。

#### 5 小结

miR-375 作为潜在的肿瘤标志物能够对 HCC 进行早期诊断,预测患者的预后;同时 miR-375 还可以作为一种潜在的肿瘤治疗药物,抑制癌细胞自噬,改善肿瘤的耐药情况、增加放疗敏感性,为基因诊断、治疗等提供了理论依据和新思路。但 HCC 疾病进程复杂,对于 miR-375 在 HCC 整个疾病进程中的表达差异及其具体机制仍需要深入研究。此外,参与 miR-375 的信号通路机制以及靶向基因和生物信息学网络调控的综合分析尚未完全阐明,miR-375 是否可以作为一种治疗方案还有待深入挖掘。

#### 【参考文献】

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [2] Jian Z, Lei Y, Xue G, *et al.* Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(36): 4781-4788. DOI: 10.3892/ol.2015.3642.
- [3] Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, *et al.* AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2017, 67(1): 358-380. DOI: 10.1002/hep.29086.
- [4] Qi W, Liang W, Wayne MM, *et al.* The function of miRNA in hepatic cancer stem cell [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 358902. DOI: 10.1155/2013/358902.
- [5] Yan JW, Lin JS, He XX. The emerging role of miR-375 in cancer[J]. Int J Cancer, 2014, 135(5): 1011-1018. DOI: 10.1002/ijc.28563.
- [6] Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, *et al.* Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma [J]. Cancer Res, 2010, 70(23): 9798-9807. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1001.
- [7] Barouk NN, Van OE. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain [J]. Febs J, 2009, 276(22): 6509-6521. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07353.x.
- [8] Arroyo JD, Gallichotte EN, Tewari M. Systematic design and functional analysis of artificial microRNAs [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(9): 6064-6077. DOI: 10.1093/nar/gku171.
- [9] Naidu S, Magee P, Garofalo MM. miRNA-based therapeutic intervention of cancer [J]. J Hematol Oncol, 2015, 8(1): 68. DOI: 10.1186/s13045-015-0162-0.
- [10] Juzenas S, Saltenien V, Kupcinskas J, *et al.* Analysis of deregulated microRNAs and their target genes in gastric cancer [J]. PLoS One, 2015, 10(8): e135762. DOI: 10.1371/journal.pone.0135762.

- [11] Lina L, Liping J, Yan D. Upregulation of miR-375 inhibits human liver cancer cell growth by modulating cell proliferation and apoptosis *via* targeting ErbB2[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 3319-3326. DOI: 10.3892/ol.2018.901119-3326.
- [12] He XX, Chang Y, Meng FY, *et al.* MicroRNA-375 targets AEG-1 in hepatocellular carcinoma and suppresses liver cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncogene*, 2012, 31(28): 3357-3369. DOI: 10.1038/onc.2011.500.
- [13] Liu AM, Poon RT, Luk JM. MicroRNA-375 targets hippo-signaling effector YAP in liver cancer and inhibits tumor properties[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(3): 623-627. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.03.036.
- [14] Colagrande S, Inghilesi AL, Aburas S, *et al.* Challenges of advanced hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(34): 7645-7659. DOI: 10.3748/wjg.v22.i34.7645.
- [15] Wang K, Bai Y, Chen S, *et al.* Genetic correction of serum AFP level improves risk prediction of primary hepatocellular carcinoma in the Dongfeng-Tongji Cohort Study [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(6): 2691-2698. DOI: 10.1002/cam4.1481.
- [16] Simpson HN, Mcguire BM. Screening and detection of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Liver Dis*, 2015, 19(2): 295-307. DOI: 10.1016/j.cld.2015.01.004.
- [17] Wong GL, Chan HL, Tse YK, *et al.* On-treatment alpha-fetoprotein is a specific tumor marker for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B receiving entecavir [J]. *Hepatology*, 2014, 59(3): 986-995. DOI: 10.1002/hep.26739.
- [18] Qin QF, Weng J, Xu GX, *et al.* Combination of serum tumor markers dickkopf-1, DCP and AFP for the diagnosis of primary hepatocellular carcinoma [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(4): 409-413. DOI: 1016/j.apjtm.2017.03.016.
- [19] Zhou J, Yu L, Gao X, *et al.* Plasma micro-RNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(36): 4781-4788. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697.
- [20] Petruzzello A. Epidemiology of hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV)-related hepatocellular carcinoma [J]. *Open Virol J*, 2018, 28(12): 26-32. DOI: 10.2174/187-435-790-1812010026.
- [21] 付婷. miR-375 在乙肝相关性肝癌的疾病进程中的表达及其临床意义[D]. 空军军医大学; 2016.
- Fu T. Expression of miR-375 in the progression of HBV-associated liver cancer and its clinical significance [D]. Air Force Medical University; 2016.
- [22] Elemeery MN, Badr AN, Mohamed MA, *et al.* Validation of a serum microRNA panel as biomarkers for early diagnosis of hepatocellular carcinoma post-hepatitis C infection in Egyptian patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(21): 3864-3875. DOI: 10.3748/wjg.v23.i21.3864.
- [23] Zhou N, Wu J, Wang X, *et al.* Low-level expression of microRNA-375 predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(2): 2145-2152. DOI: 10.1007/s13277-015-3841-0.
- [24] Siegel AB, Olsen SK, Magun A, *et al.* Sorafenib; where do we go from here? [J]. *Hepatology*, 2010, 52(1): 360-369. DOI: 10.1002/hep.23633.
- [25] Xue HY, Liu Y, Liao JZ, *et al.* Gold nanoparticles delivered miR-375 for treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 86675. DOI: 10.18632/oncotarget.13431.
- [26] Tan Y, Zhao P, Zhao R, *et al.* Anti-tumor efficiency of lipid-coated cisplatin nanoparticles co-loaded with microRNA-375 [J]. *Theranostics*, 2016, 6(1): 142-154. DOI: 10.7150/thno.13130.
- [27] Zhao P, Li M, Wang Y, *et al.* Enhancing anti-tumor efficiency in hepatocellular carcinoma through the autophagy inhibition by miR-375/sorafenib in lipid-coated calcium carbonate nanoparticles[J]. *Acta Biomater*, 2018, 72: 248-255. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.03.022.
- [28] Chang Y, Yan W, He X, *et al.* miR-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(12): 177-187. DOI: 10.4161/auto.21796.

(编辑: 张美)

## · 消 息 ·

### 《中华老年多器官疾病杂志》论文优先发表快速通道

为加快重大医学研究成果的交流推广,促进医学事业的发展,本刊对符合下列条件的论文开设快速通道,优先发表:(1)国家、军队、省部级基金资助项目;(2)其他具有国内领先水平的创新性科研成果论文;(3)相关领域各类最新指南解读。凡要求以“快速通道”发表的论文,作者应提供关于论文科学性和创新性的说明。本刊对符合标准的稿件,即快速审核及刊用。

地址: 100853 北京市复兴路 28 号,《中华老年多器官疾病杂志》编辑部

电话: 010-66936756

网址: www.mode301.cn

E-mail: zhlnldqg@mode301.cn