[20] Liu CG, George AC, Brian M, et al. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues[J]. PNAS,2004,101(26):9740-9744.
[21] Jiang J,Lee EJ,Gusev Y,et al. Real-time expression profiling of microRNA precursors in human cancer cell lines [J]. Nucleic Acids Research,2005,33: 5394-5403.
[22] 徐卫,李建勇,陆凤. 液相杂交检测 B 细胞淋巴瘤细胞系 miR-28 的表达[J]. 中华实验血液学杂志,2006,14(2): 289-292.
[23] Chen ZC. Micro-RNAs as oncogenes and tumor suppressors[J]. J New England Med,2005,353(17):1768-1771.
[24] Calin GA,Ferracin M,Masayoshi S,et al. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia[J]. J new England med, 2005,353(17):1793-1801.
[25] Cheng AM,Byrom MW, Shelton J,et al. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis[J]. Nucleic Acids Research,2005,33(4):1290-1297.

(收稿日期:2010-05-26)

miRNA 与乳腺癌的关系及其研究进展

赵苏瑛 综述,李 岷 审校(江苏省中医院,南京 210029)

【关键词】 miRNA; 乳腺癌; 相关性研究
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.062
中图分类号:R737.9 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)18-2026-02

miRNA 是真核生物中一类长度约为 22 个核苷酸的参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链 RNA,能通过与靶 miRNA 特异性的碱基配对引起靶 miRNA 的降解或抑制其翻译,从而对基因进行转录后的表达调控[1]。目前,人类已发现 326 个 miRNA 基因,计算机预测可能会超过 1 000 个,约 1/3 的蛋白编码基因受 miRNA 调控。miRNA 的主要功能是调节生物体生长、发育和疾病发生过程中有关基因的表达[2]。大量研究表明,miRNA 在肿瘤细胞中表达水平的异常,是肿瘤发生、发展的重要影响因素[3]。

1 miRNA 与肿瘤的关系

miRNA 基因以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在。研究显示,超过一半的 miRNA 位于肿瘤相关基因组的区域和脆性位点、杂合型丢失区(minimal regions of loss of heterozygosity)、扩增区(minimal region of amp lication,minimal amplico ns)或断裂点区(common breakpoint region)。提示 miRNA 实际上可作为致癌基因或抑癌基因而发挥作用[4]。目前,miRNA 已知的功能是在转录后水平调控基因的表达,主要作为基因表达的负调控因子。大量研究证明,miRNA 与多种肿瘤的存在密切相关,它的作用靶点可为抑癌基因,定位于扩增区,使其表达上调,则发挥抑癌基因样作用;其靶点也可为癌基因,当癌基因 miRNA 表达水平升高时,miRNA 则发挥阻止细胞的恶性转化作用[5]。

miRNA 与肿瘤相关的证据最早源于染色体 13q14 在慢性淋巴细胞白血病(CLL)中缺失的研究[6]。Calin 等研究发现,超过半数的 CLL 病例会发生 13q14 的缺失,缺失分析表明 miR-15a 和 miR-16-1 是最小共同缺失区域内仅有的两个基因。miR-15a、miR-16-1 的表达模式与 CLL 的生物学特性和临床表现密切相关,与编码基因的表达谱相比较,miRNA 表达谱可能成为划分肿瘤亚型的更为精确的方法[7]。

到目前为止,已经确认与人类肿瘤相关的 miRNA 已有几十余种[8],但这种关系的研究一直局限于肿瘤组织与正常组织中,即 miRNA 被称作基于组织的肿瘤标记物。因为过去的研究显示,miRNA 分子在血液中并不稳定,因此在血液中进行 miRNA 检测一直无相关报道。直到美国弗雷德哈钦森癌症研究中心在 2008 年的 Proceedings of the National Academy of Sciences 上发表了一篇名为"Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection"的文章,文章中提出作为一个细胞不同部分的"刹车",miRNA 可以调控靶基因的表达,从而使基因处于控制之中,这类分子比以蛋白为基础的早期癌症检测系统有明显的优势,这主要表现在它们更易于检测(用量低),并且现有的技术更能快速地建立起 miRNA 为基础的早期检测系统[1]。为了这项研究,Tewari 和他的合作者检测了患有前列腺癌的小鼠及人的血液,并与正常组作为对照。他们检测了试验组和对照组由肿瘤所产生的 miRNA 分子,基于对 miRNA 的检测结果,他们可以区分哪个个体患有癌症。这项研究显示,此前认为在血液中并不认为可以作为癌症标记分子的 miRNA 分子,对于早期癌症的诊断可以有重要意义。

人类自身存在的 miRNA 分子也是最近才发现的。Tewari 的研究小组最初研究了这类分子在癌症发生和保持过程中的作用。在这个研究过程中,他们发现 miRNA 分子在细胞外的循环并且能明显保持稳定。研究人员惊奇地发现在血浆和血清中存在有 miRNA 分子[8],并且这种分子独立于细胞之外,也不能被血液中降解其他 RNA 分子的酶降解。对于这类 miRNA 分子如何抵御 RNA 酶的降解以及它们怎么进入血液,到目前为止完全是一个谜。

这也导致研究人员进入另外一个新的研究方向,那就是证明与癌症相关的 miRNA 分子是否能被发现。早期对蠕虫和果蝇等模拟动物的研究显示,某些 miRNA 分子在某些特异的细胞中有特异的表达而在其他地方则没有[9]。新研究结果提供了一种理论和实验基础,将激励全世界的科学家研究利用 miRNA 分子作为分子标记研究各种癌症的发生[10]。

2 miRNA 与乳腺癌的关系

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,据资料统计,发病率占全身各种恶性肿瘤的 7%~10%,在妇女仅次于子宫癌。在女性中,乳腺癌发病率随着年龄的增长而上升,在月经初潮前罕见,20 岁前亦少见,但 20 岁以后发病率迅速上升,45~50 岁较高[11]。乳腺癌很早期时,临床上毫无症状,也无肿块,是

很难发现的,在临床能发现肿块前,肿瘤的隐匿阶段平均为 12 年,等到有明显症状时大都已是晚期,只能选择手术切除或是放射治疗,对于患者来说,痛苦大并且可能影响到生活质量,因此如何早期发现一直是研究的热点问题。

Iorio 等比较了 10 例正常乳腺组织和 76 例新生乳腺癌组织中 miRNA 的表达谱,发现 miR-125b、miR-145、miR-21 和 miR-155 的表达在乳腺癌组织中显著降低[12],其中 miR-155 降低的程度尤为明显,miRNA 的表达与乳腺癌的病理生理学特征,如分期、增殖指数、雌激素和孕甾酮受体[13]的表达以及血管受侵有关[14]。

乳腺癌作为一种人群中高发性肿瘤,在早期诊断方面缺少决定性的实验室检测依据。原癌基因与抑癌基因的测定缺少特异性,而 CA153 等糖类抗原标记物一方面特异性不是很高,另一方面在早期敏感度也较低。近年来发现的一些蛋白标记物及激素受体由于测定方法受限,而成为该项方法的瓶颈。miRNA 的检测手段如 qRT-PCR、基因芯片技术近年来获得飞速进展,在样本中即使含量只有几个拷贝也能准确检出,这就为临床的早期诊断提供了可能[15]。

miR-155 是一种已经被证实与乳腺癌发病相关的 miRNA[12],其在乳腺癌组织中的表达与正常组织相比明显下调,且这种差异具有显著性。而 Tewari 研究组关于 miRNA 可以在血液中稳定存在的发现为在血液中检测 miR-155 提供了可能。

3　展　　望

现今,研究血中 miRNA 的差异表达及其表达谱的变化与肿瘤间的相互关系[13-15]成为各国学者的研究热点,该研究成果必将具有划时代的意义,也将带来新一轮的检验革命。

参考文献

[1] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proceedings National Academy Sci, 2008, 105: 10513-10518.

[2] Hunter MP, Ismail N, Zhang X, et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. [J]PLoS One, 2008, 3(11): 3694-3701.

[3] Hagan JP, Croce CM. MicroRNAs in carcinogenesis[J]. Cytogenet Genome Res, 2007, 118: 252-259.

[4] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2008, 110: 13-21.

[5] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 983-984.

[6] Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers[J]. PLoS ONE, 2008, 3: e3148-e3152.

[7] Lawrie CH, Gal S, Duncop HM, et al. Detection of elevated levels of tumor-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. Br J Haematol, 2008, 141: 672-675.

[8] Chim SS, Shing TH, Hung EC, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma [J]. Clin Chem, 2008, 54(3): 482-490.

[9] Tsang JC, Lo YM. Circulating nucleic acids in plasma/serum[J]. Pathology, 2007, 39: 197-207.

[10] 丁倩,钟雪云. miRNA 在肿瘤研究中的应用[J]. 现代肿瘤医学,2009,17(6):1204-1206.

[11] 万菁. 外周血 miRNA 作为肿瘤标志物的研究进展[J]. 肿瘤,2009,29(6):597-599.

[12] Jiang S, Zhang HW, Lu MH, et al. MicroRNA-155 functions as an OncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene[J]. Cancer Res, 2010, 70(8): 3119-3127.

[13] Li H, Bian C, Liao L, et al. miR-17-5p promotes human breast cancer cell migration and invasion through suppression of HBP1[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 5: 27-31.

[14] Wright JA, Richer JK, Goodall GJ. microRNAs and EMT in mammary cells and breast cancer [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 45(2): 213-223.

[15] O'Day E, Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(2): 201-206.

(收稿日期:2010-05-08)

即时检验在免疫学检测中的应用

余明杰,王　萍,韩媛媛,王　坤(安徽省亳州市人民医院检验科　236800)

【关键词】 即时检验;　免疫学;　实验室技术和方法;　快速诊断
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.063
中图分类号:R446　　文献标志码:A　　文章编号:1672-9455(2010)18-2027-03

即时检验(point-of-care testing,POCT)作为临床检验领域新出现的一种检验手段,正日益受到人们的重视。特别是近几年随着免疫学技术和自动化技术的发展,POCT 被广泛应用在免疫学试验中,为很多临床疾病的快速诊断提供了有效的辅助手段。2007 年,美国有近 80%的实验室工作在 POCT 上完成[1],因此就目前的发展趋势来看,在不远的将来,随着免疫检测 POCT 方法的进一步开发应用,POCT 有可能覆盖整个一般小实验室的所有免疫检测项目。POCT 的目的是提供准确的、可信的、低成本的、并且能在短时间反馈患者情况的信息系统。近年来,POCT 也用于急诊检验和其他的门诊检验,以提高检测速度和减少人工操作。

1　免疫项目的 POCT 检测技术