文献综述 RECIEW

# miRNA与食管癌

贺小停, 曹秀峰

贺小停, 曹秀峰. 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心 江苏省南京市 210029
通讯作者: 曹秀峰, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心科. cxf551101@sina.com
电话: 0255-2271474
收稿日期: 2007-04-28 接受日期: 2007-05-22

## Relationship between microRNA and esophageal carcinoma

Xiao-Ting He, Xiu-Feng Cao

Xiao-Ting He, Xiu-Feng Cao, Oncology Center, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xiu-Feng Cao, Oncology Center, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. cxf551101@sina.com
Received: 2007-04-28 Accepted: 2007-05-22

## Abstract
A class of small non-coding RNAs, 21-25 nucleotides long, is widely distributed in all plants and animals. These are known as microRNA (miRNA), and are highly conserved in evolution, expressing in special tissues and timing. They function as negative regulators of genetic pathways and regulate crucial biological processes in cells through proliferation, differentiation and apoptosis. Therefore, alterations of miRNA may result in some critical anthological processes. Previous studies have shown that miRNA can function as oncogenes/tumor suppressor genes. Therefore, expression profiling of human tumors is associated with diagnosis, differentiation stage and prognosis, and can be used to classify human cancers better than mRNA can. This review focused on miRNA and discussed its generation, functional mechanisms, its relationship with tumors, and research methods, as well as its potential role in the diagnosis, staging and biological therapy for esophageal carcinoma.

Key Words: MicroRNA; Tumor; Oncogenes/Tumor suppressors genes; Esophageal carcinoma

He XT, Cao XF. Relationship between microRNA and esophageal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007;15(19):2133-2137

## 摘要
动植物中广泛存在着一大类小的非编码蛋白质的RNA, 21-25个核苷酸长度, 被命名为microRNA(miRNA). miRNA在物种进化中相当保守, 其表达有组织特异性和时序特异性. 其功能为负调控基因表达,进而调节细胞的代谢, 增殖, 分化和凋亡等基本的生理过程. 因此, miRNA的改变必会导致一些严重的病理过程. 研究已证实miRNA在肿瘤的发生和发展起着癌基因或抑癌基因的作用, miRNA的表达谱可用于某些肿瘤的诊断、分期和判断预后, 并且在肿瘤分类方面较mRNA有更大地优越性. 本文着重介绍miRNA的产生, 作用机制, 与肿瘤的关系, 检测方法及其在食管癌的诊断、分期和生物治疗方面的潜在作用.

关键词: MicroRNA; 肿瘤; 癌基因/抑癌基因; 食管癌

贺小停, 曹秀峰. miRNA与食管癌. 世界华人消化杂志 2007;15(19):2133-2137
http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2133.asp

## 0 引言
microRNAs(miRNAs)是一个长度为21-25个核苷酸非编码的小RNA大家族, 人类基因组编码了超过1000个miRNA[1], 通过干扰mRNA的翻译而下调靶基因的表达. 生物信息学数据表明[2], miRNA几乎参与体内所有的基本的信号传导途径, 包括许多重要肿瘤相关基因的表达. 研究表明, miRNA表达失调与肿瘤发生密切相关, 并已成功利用miRNA对肿瘤进行诊断, 分期与生物治疗. 而食管癌是世界上最常见的6大恶性肿瘤之一, 在我国其死亡率居恶性肿瘤的第4位(17.38/$10^5$). 目前, 其临床治疗仍以手术, 放疗及化疗等综合治疗为主, 而在已经对后基因组计划进行研究的今天, 已较成功的在分子水平上确认食管癌的致病基因[3-5], 而如何对其进行基因治疗仍是一大难题.

■背景资料
自1993年科学家们在线虫体内发现非编码的miRNA及其能调控基因表达以来, miRNA的重要性已成为生命科学领域的研究热点. 研究发现, miRNA的表达失控将导致重大疾病, 例如肿瘤的发生. 随后的研究发现, miRNA的表达谱可用于某些肿瘤的诊断, 分期, 判断预后, 并且在肿瘤分类方面较mRNA有更大地优越性. 食管癌是世界6大恶性肿瘤之一, 目前的治疗仍以手术为主的综合治疗为主要治疗手段, 但往往发现时已是晚期而失去治疗时机, miRNA将为其提供更有效的方法.

■相关报道
Stoffel *et al*阐述了miRNA的潜在治疗作用. Takamizawa *et al*发现let-7在肺癌中低表达, 并且与肺癌患者术后存活期相关. Fjose *et al*探讨了miRNA的治疗作用从动物模型向的过渡.

## 1 miRNA的特点

作为一种新的基因表达调控因子, 与以往的各类小RNA及蛋白质酶相比, 无论是产生还是作用机制上, 都有其独到的特点. 绝大多数人类的miRNA位于编码蛋白质或非编码蛋白质mRNA的内含子区域, 还有一部分miRNA的基因位于基因组的转录本之间[1]. 其合成过程较为复杂, 包括5个重要步骤和5个关键的蛋白质酶, RNA转录酶Ⅱ(PolⅡ)完成miRNA的转录[6]; 2种RNaseIII——Drasha[7-8]和Dicer[9], 分别在细胞核内和细胞质中完成miRNA的转化和修饰, 并且Drasha在细胞核内作用需辅助因子Pasha(即DGCR)联合作用; 依赖Ran-GTP的转运蛋白Exportin-5将miRNA 的前体pre-miRNA由核内转移至胞质中[10-11], 以及RNA沉默复合体(RISC)中的 Argonaute蛋白质家族[9,12], 在miRNA结合至RISC中发挥重要作用. miRNA基因的突变, 易位或丢失, 以及生物合成过程中的任一环节的异常都会导致miRNA表达水平的改变.

miRNA双链结构进入RISC后, 一条链形成成熟有功能的miRNA并在RISC中行使作用, 另一条链被降解. miRNA通过其5'端识别并结合靶mRNA, miRNA5'端的错配会导致miRNA对靶mRNA调节功能丧失[13]. 正确配对后, 因配对程度不同而采取2种不同的作用机制. miRNA与mRNA完全或近似完全配对时, 会引起靶mRNA的降解, 从而抑制其翻译, 这个过程类似于siRNA介导的基因沉默(RNAi)[13-14], 其结合位点在靶mRNA的开放阅读框, 这种机制多见于植物中. 另一种机制是通过与靶mRNA的不完全互补来实现, 动物中多采用这一方式. 在此路径中, miRNA结合到mRNA的3'端非翻译区[15], 以前观点认为不影响mRNA的稳定性, 只是在转录后水平上抑制功能蛋白质的合成, 但最近研究显示, 以miR-125b和let-7为代表的miRNAs亦可在此路径中引起mRNA快速脱腺苷酸化而降解, 并不可逆转[16]. 是否存在其他机制有待进一步研究.

## 2 miRNA与肿瘤

肿瘤被认为是一种复杂的基因病, 几乎在所有肿瘤的发生或发展过程中都有癌基因的过表达和/或抑癌基因的表达缺失. 研究发现[17], 几乎一半的miRNA基因定位于这些基因的脆性位点或相关遗传区域, 并对这些基因行转录后调控, 而起到类似于癌基因或抑癌基因的作用.

**2.1 有抑癌基因作用的miRNA** Calin *et al*[18]首次证实了miRNA与肿瘤相关. 在将近65%的慢性淋巴性白血病, 50%的套细胞淋巴瘤患者, 16-40%的骨髓瘤患者, 60%的前列腺癌患者中都有miR-15a和miR-16-1的表达缺失, 而研究发现, miR-15a和miR-16-1可负调控Bcl2的表达[19], Bcl2是一个抗凋亡基因, 参与多种肿瘤的发生, miR-15a和miR-16-1的缺失导致Bcl2的过表达, 使受损细胞不能凋亡, 进而导致肿瘤的形成.

MiRNA let-7家族是典型的有抑癌基因作用的分子. 在肺癌, 结肠癌等肿瘤的研究中发现, let-7负调控原癌基因Ras/let-60的表达[20-21]. 并在非小细胞性肺癌中发现, let-7表达水平越低, 其预后越差, 术后生存期越短[22]. 最近研究发现了let-7的另一靶癌基因-HMGA2. HMGA2是HMGA家族的成员之一, 他主要在胚胎形成时期表达, 而在成人中几乎是缺乏的[23]. HMGA2作为一种原癌基因在良性和恶性间充质肿瘤等多肿瘤的形成中发挥作用[24-25]. 进一步研究显示, let-7对HMGA2的作用主要依赖其3'-UTR, 由于染色体移位毁坏了HMGA2的3'-UTR结构, 无法与let-7结合而失去let-7的抑制作用, 产生不依赖支持物生长-肿瘤转化的特征性改变[26-27]. 有趣的是, 在对头颈部鳞状细胞癌的研究中发现[27], 在癌细胞中HMGA2的表达与细胞对拓扑异构酶Ⅱ抑制物的化学敏感性相关, 并受到miR-98的抑制性调节, 进而提示miR-98的抑癌功能.这也说明一个mRNA可有多个miRNA调节.

Michael *et al*[28]发现, 在结肠癌组织中, miR-143和miR-145的表达明显下调. 其他研究在乳腺癌, 前列腺癌等中发现同样的情况. 研究发现雌激素有强大的促有丝分裂功能, 并在女性生殖系统肿瘤组织中高表达而显示出致癌作用, 在动物实验证实雌激素的致癌作用是由雌激素受体alpha介导的, 而且在绝大多数的乳腺癌中有ERα的过表达.进一步研究证实, 在ERα的3'-UTR存在着microRNA miR-206的结合区, miR-206在乳腺癌中下调ERαmRNA或蛋白质的表达, 从而扮演了抑癌基因的角色[29].

**2.2 有致癌基因作用的miRNA** 在B细胞淋巴瘤, 滤泡型淋巴瘤及套细胞淋巴瘤中, 常有13q13位点的扩增, 而这个区域包含了转录miR-17-92基因簇的c13orf25基因, miR-17-92基因簇似乎起着癌基因的作用[30]. 研究进一步证实[31], miR-17-92基因簇与*c-myc*有协同作用, 过表达*c-myc*和miR-17-92基因簇的肿瘤与仅有*c-myc*过

表达的肿瘤相比, 具有更强的增殖能力和更低的细胞死亡率. 同时, 在人类B细胞肿瘤中及胰腺癌中发现另一和*c-myc*有协同作用的miRNA-miR-155/BIC的过表达[32-34].

Volinia *et al*[35]用芯片分析了6种实体瘤(肺癌, 乳腺癌, 结肠癌, 胃癌, 前列腺癌, 胰管癌)的miRNA表达谱发现, miR-21均显著过表达, 提示其在肿瘤形成过程中起广泛的致癌作用. 新近研究显示, miR-21通过直接下调抑癌基因tropomyosin 1(TPM1)而发挥作用[36]. Voorhoeve *et al*[37]在睾丸干细胞肿瘤的研究中发现, miR-372和miR-373有癌基因的作用, 具体机制尚待研究.

## 3 miRNA的检测方法

自1993年首次发现miRNA以来, 其检测方法日新月异, 这些方法各有其优缺点, 但大体都可分为4步, 靶RNA的标记, DNA-DNA杂交, 染色, 信号分析. 最初的miRNA是随着分离和克隆细胞内小分子RNA而获得的. 随后则依靠Northern blot杂交技术来检测miRNA, 即用直接克隆法建立一个miRNA的cDNA文库, 然后与基因组数据库中BLAST比对, 再用Northern印迹法来确认[38]. 但这种方法只适合于那些在细胞内常表达, 高丰度的miRNA基因, 而对于那些丰度低, 在特定阶段和特定组织才表达的miRNA则需要另一种方法-生物信息学技术, 总结已知的miRNA的特征, 用计算机对基因组序列进行搜索, 找出表达的miRNA. 随后, 研究者将眼球转到了miRNA的前体而发明了一种新的方法, Schmittgen *et al*[39]首次用定量RT-PCR来检测miRNA前体, Lee *et al*[34]用RT-PCR检测miRNA前体的方法确定在胰管癌中miR-221, miR-376a和miR-301显著高表达. Chen *et al*[40]则用定量RT-PCR检测活性miRNA表达谱.

随着芯片技术的发展, miRNA表达谱芯片问世. Liu *et al*[41]首次报道了用1个含有200多个寡聚核苷酸的微排列芯片来检测miRNA序列, 随后, miRNA芯片技术成为分析肿瘤特异性的miRNA表达水平的最常用的高通量技术. Calin *et al*[18]用金银芯片技术首次证实了miRNA-miR-15a与miR-16-1在慢性淋巴性白血病(CLL)的类似癌基因作用. Michael *et al*[28]发现miR-143和miR-145在结肠癌细胞中表达显著下调. He *et al*[30-31]证实miR-17-92基因簇在诸多淋巴瘤中高表达, 并与癌基因*c-myc*有协同作用. Volinia *et al*[35]发现miR-21在6种实体瘤中高表达.

2005年, Lu *et al*[42]发明了1种具有高度特异性磁珠流式细胞技术, 系统地分析了334种淋巴瘤和实体瘤中miRNA的表达谱, 并开创性认为miRNA水平可用于肿瘤的诊断和分期.

Vinther *et al*[43]则发明1种稳定同位素标记核酸细胞培养(SILAC)研究了稀拉细胞中的504个miRNAs, 其中12种miRNAs显示出被miR-1抑制, 从而在蛋白质水平证实了miR-1的抑癌功能.

## 4 miRNA在食管癌的诊断, 分期与治疗中的潜在作用

食管癌变是多种因素综合作用, 多基因变化先后积累或叠加形成的. 研究证实[1-3], 其发生与Rb, P53等抑癌基因失活, 以及环境等多因素使原癌基因*H-ras*, *c-myc*和*hsl-1*等激活有关, 最近又在食管鳞状细胞癌中发现了1种新的癌基因GAEC1[44]. 而miRNA作为继蛋白质之后又1高效的基因表达调控因子, 并已证实在多种肿瘤的发生发展中有重要作用. 综合以上考虑, miRNA极大可能在食管癌中有更大的作用空间. 但遗憾的是, 目前国内外尚无此方面的报道, 因此, 本研究利用基因芯片技术, 通过癌组织及癌旁正常组织的横向比较找出癌组织中特异表达的miRNA, 并对各期进行纵向比较, 找出肿瘤各期miRNA差异, 从而完成对食管癌的诊断和分期, 然后定量分析, 如特异性miRNA为高表达, 则有癌基因作用, 如为低或无表达, 则有抑癌基因的作用, 进而在基因水平上通过RNAi[14,45], 反义核苷酸方法[46]对食管癌进行生物治疗, 使表达异常的基因或蛋白质恢复正常.

目前存在的最大问题就是, 要确定有癌基因或抑癌基因作用的miRNA的靶蛋白或其靶基因, 从而指导基因治疗, 并期望为肿瘤的筛查提供新的更加简便和特异的手段. 然而研究发现, 同一个miRNA在对某一基因调控时, 可通过参与不同的信号路径, 或同一信号路径的不同环节来完成, 即在不同种类的肿瘤中对靶基因的调节方式有很大差异, 从而为研究带来困难, 但也有利于基因治疗, 因为我们期望的治疗工具应有高度特异性, 而不是广泛的起作用. 因而, 本研究的另一目的, 就是确定食管癌中特异性的miRNA的靶基因, 及其调控机制.

同时, 肿瘤治疗失败的最大原因在于他的转移性, 而之前的研究尚未探讨miRNA在此过程中的作用. 食管癌的特殊生理位置, 使其转移后果更严重. 当食管癌确诊时, 往往已经转移, 而失去治疗机会. 并有研究表明[47], 在食管肿瘤的

**■创新盘点**
miRNA作为一种新的基因表达调控因子, 其特点和结构特点与传统的蛋白酶都有区别, 将成为肿瘤的生物治疗领域的一个新亮点.

■应用要点
如果本文相关研究成功, 将为食管癌的诊断, 治疗及判断预后提供新的更好的方法, 有效降低食管癌的死亡率, 提高患者的生活质量.

转移中有重要基因参与, 本实验将探讨miRNA在食管癌的转移中是否有作用, 程度如何, 能否指导治疗.

另一难题就是如何对肿瘤进行基因治疗并能从实验室向临床应用过渡, 由于肿瘤细胞的复杂性和多样性, 使得治疗的效果很难推广, 而只局限于某些肿瘤[48]. 随着对miRNA在肿瘤中的功能研究的深入, 将会由越来越多地研究机构来寻找能作为肿瘤生物治疗的靶miRNA. 目前, 最常用的治疗方法就是RNAi, RNAi是一种强有力的基因沉默工具, 由内源或外源性的双链RNA(dsRNA)导入细胞, 经核酸酶III如Dicer剪切成siRNA, 与特异性的核酸内切酶, 核酸外切酶, 解旋酶等形成RISC引起同源的mRNA降解, 从而抑制相应的基因表达. 在肿瘤组织中, 如miRNA是发挥癌基因的作用, 则通过使异常miRNA沉默使抑癌基因表达恢复正常, 如miRNA相当于抑癌基因, 则通过干扰癌基因的表达而达到治疗目的. 此外, 还可使用药物治疗, 在非小细胞肺癌中以及小鼠胚胎干细胞研究中发现[49-50], Dicer水平明显降低, 使具有抑癌基因作用的miRNA表达下调. 我们可通过人工合成的Dicer类似物对其进行治疗. 还有反义核酸技术[46], 能有效灭活有致病性的靶miRNA. 用病毒载体向癌变细胞内引入有抑癌作用的miRNA等方法. miRNA究竟能否在肿瘤的治疗中显示巨大的作用需更深入的研究.

## 5 参考文献


1 Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res* 2004; 14: 1902-1910
2 Alvarez-Garcia I, Miska EA. MicroRNA functions in animal development and human disease. *Development* 2005; 132: 4653-4662
3 王立东, 陈虹, 郭丽梅. 肿瘤抑制基因P53-Rb系统变化与食管癌变关系研究及展望. 世界华人消化杂志 2001; 9: 367-371
4 腾梁红, 吕宁, 赵晓航, 薛丽燕, 刘芳, 林冬梅, 王卉心, 何祖根, 谢永强, 刘秀云. 组织芯片技术检测食管癌前病变相关预警标志物. 世界华人消化杂志 2005; 13: 6-9
5 Bonde P, Sui G, Dhara S, Wang J, Broor A, Kim IF, Wiley JE, Marti G, Duncan M, Jaffee E, Montgomery E, Maitra A, Harmon JW. Cytogenetic characterization and gene expression profiling in the rat reflux-induced esophageal tumor model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133: 763-769
6 Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, Kim VN. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J* 2004; 23: 4051-4060
7 Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Radmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419
8 Lee Y, Kim VN. Preparation and analysis of Drosha. *Methods Mol Biol* 2005; 309: 17-28
9 Joshua-Tor L. The Argonautes. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2006; 71: 67-72
10 Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA* 2004; 10: 185-191
11 Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303: 95-98
12 Morita S, Horii T, Kimura M, Goto Y, Ochiya T, Hatada I. One Argonaute family member, Eif2c2 (Ago2), is essential for development and appears not to be involved in DNA methylation. *Genomics* 2007; 89: 687-696
13 Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115: 209-216
14 Tomari Y, Zamore PD. Perspective: machines for RNAi. *Genes Dev* 2005; 19: 517-529
15 Lai EC. Micro RNAs are complementary to 3' UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation. *Nat Genet* 2002; 30: 363-364
16 Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 4034-4039
17 Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2999-3004
18 Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 15524-15529
19 Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 13944-13949
20 Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, Labourier E, Reinert KL, Brown D, Slack FJ. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005; 120: 635-647
21 Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 903-906
22 Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64: 3753-3756
23 Hirning-Folz U, Wilda M, Rippe V, Bullerdiek J, Hameister H. The expression pattern of the Hmgic gene during development. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 23: 350-357
24 Sgarra R, Rustighi A, Tessari MA, Di Bernardo J, Altamura S, Fusco A, Manfioletti G, Giancotti V. Nuclear phosphoproteins HMGA and their

relationship with chromatin structure and cancer. *FEBS Lett* 2004; 574: 1-8
25 Rogalla P, Drechsler K, Frey G, Hennig Y, Helmke B, Bonk U, Bullerdiek J. HMGI-C expression patterns in human tissues. Implications for the genesis of frequent mesenchymal tumors. *Am J Pathol* 1996; 149: 775-779
26 Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev* 2007; 21: 1025-1030
27 Hebert C, Norris K, Scheper MA, Nikitakis N, Sauk JJ. High mobility group A2 is a target for miRNA-98 in head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Cancer* 2007; 6: 5
28 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. Mol *Cancer Res* 2003; 1: 882-891
29 Adams BD, Furneaux H, White BA. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1132-1147
30 He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-833
31 O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. *c-Myc*-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435: 839-843
32 Kluiver J, Poppema S, de Jong D, Blokzijl T, Harms G, Jacobs S, Kroesen BJ, van den Berg A. BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* 2005; 207: 243-249
33 Tam W, Dahlberg JE. miR-155/BIC as an oncogenic microRNA. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 211-212
34 Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1046-1054
35 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261
36 Zhu S, Si ML, Wu H, Mo YY. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). *J Biol Chem* 2007; 282: 14328-14336
37 Voorhoeve PM, le Sage C, Schrier M, Gillis AJ, Stoop H, Nagel R, Liu YP, van Duijse J, Drost J, Griekspoor A, Zlotorynski E, Yabuta N, De Vita G, Nojima H, Looijenga LH, Agami R. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors. *Cell* 2006; 124: 1169-1181
38 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol* 2002; 12: 735-739
39 Schmittgen TD, Jiang J, Liu Q, Yang L. A high-throughput method to monitor the expression of microRNA precursors. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: e43
40 Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, Barbisin M, Xu NL, Mahuvakar VR, Andersen MR, Lao KQ, Livak KJ, Guegler KJ. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: e179
41 Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744
42 Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435: 834-838
43 Vinther J, Hedegaard MM, Gardner PP, Andersen JS, Arctander P. Identification of miRNA targets with stable isotope labeling by amino acids in cell culture. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: e107
44 Law FB, Chen YW, Wong KY, Ying J, Tao Q, Langford C, Lee PY, Law S, Cheung RW, Chui CH, Tsao SW, Lam KY, Wong J, Srivastava G, Tang JC. Identification of a novel tumor transforming gene GAEC1 at 7q22 which encodes a nuclear protein and is frequently amplified and overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2007
45 Davidson BL, Boudreau RL. RNA interference: a tool for querying nervous system function and an emerging therapy. *Neuron* 2007; 53: 781-788
46 Hammond SM. MicroRNA therapeutics: a new niche for antisense nucleic acids. *Trends Mol Med* 2006; 12: 99-101
47 Luo ML, Shen XM, Zhang Y, Wei F, Xu X, Cai Y, Zhang X, Sun YT, Zhan QM, Wu M, Wang MR. Amplification and overexpression of CTTN (EMS1) contribute to the metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by promoting cell migration and anoikis resistance. *Cancer Res* 2006; 66: 11690-11699
48 Slack FJ, Weidhaas JB. MicroRNAs as a potential magic bullet in cancer. Future Oncol 2006; 2: 73-82
49 Du T, Zamore PD. microPrimer: the biogenesis and function of microRNA. *Development* 2005; 132: 4645-4652
50 Schmitter D, Filkowski J, Sewer A, Pillai RS, Oakeley EJ, Zavolan M, Svoboda P, Filipowicz W. Effects of Dicer and Argonaute down-regulation on mRNA levels in human HEK293 cells. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: 4801-4815

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

**■同行评价**
microRNA与血液肿瘤相关性强, 但与食管癌关系目前报道不多. 本文立体新颖, 可读性较强, 具有一定的学术价值和参考意义.