

MicroRNA-499-5P在结肠癌、结肠腺瘤组织中的表达及其临床意义

杨燕楠, 朱海杭, 董晓耘, 俞文秀, 乐安君

杨燕楠, 朱海杭, 俞文秀, 乐安君, 扬州大学医学院临床医院 江苏省苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

董晓耘, 扬州大学医学院 江苏省扬州市 225001

杨燕楠, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 杨燕楠与朱海杭对此文所作贡献均等; 此课题由杨燕楠、朱海杭及董晓耘设计; 研究过程由杨燕楠、董晓耘、俞文秀及乐安君操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由朱海杭与董晓耘提供; 数据分析由杨燕楠与董晓耘完成; 本论文写作由杨燕楠与朱海杭完成。

通讯作者: 朱海杭, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 225001, 江苏省扬州市南通西路98号, 扬州大学医学院临床医院, 江苏省苏北人民医院消化内科。 zhuhaihang@medmail.com.cn
电话: 0514-87373385

收稿日期: 2015-09-17
修回日期: 2015-10-28
接受日期: 2015-11-09
在线出版日期: 2015-12-08

Clinical significance of microRNA-499-5P expression in colorectal cancer and colorectal polyps

Yan-Nan Yang, Hai-Hang Zhu, Xiao-Yun Dong, Wen-Xiu Yu, An-Jun Yue

Yan-Nan Yang, Hai-Hang Zhu, Wen-Xiu Yu, An-Jun Yue, Clinical Medical College of Yangzhou University, Department of Gastroenterology, Northern Jiangsu People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Xiao-Yun Dong, Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hai-Hang Zhu, Professor, Chief Physician, Clinical Medical College of Yangzhou University, Department of Gastroenterology, Northern Jiangsu People's Hospital, 98 Nantong West Road,

Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. zhuhaihang@medmail.com.cn

Received: 2015-09-17
Revised: 2015-10-28
Accepted: 2015-11-09
Published online: 2015-12-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of microRNA-499-5p (miR-499-5p) and its association with clinicopathological features in colorectal cancer and colorectal polyps.

METHODS: The expression levels of miR-499-5p in colorectal cancer, colorectal polyps and normal colorectal tissues were detected by stem-loop real-time quantitative PCR (qRT-PCR), and its correlation with clinicopathologic features of colorectal cancer was analyzed.

RESULTS: The miR-499-5p expression levels in colon cancer and colorectal polyps were significantly higher than that in normal colorectal tissues ($P = 0.01$, $P < 0.001$). The expression of miR-499-5p was associated with TNM stage ($P < 0.016$), depth of invasion ($P < 0.001$), tumor differentiation ($P < 0.001$) and lymph node metastasis ($P = 0.008$).

CONCLUSION: The miR-499-5p expression level is increased significantly in colon cancer and colorectal polyps compared with normal colorectal tissues. MiR-499-5p expression is related to clinical stage, depth of invasion, tumor differentiation and lymph node metastasis in colon cancer.

背景资料

结肠癌作为消化系统恶性肿瘤, 其发病率和死亡率呈上升趋势, 手术治疗依然是结肠癌的主要治疗方式之一, 侵袭转移及化疗耐药仍为结肠癌患者的主要死亡原因。结肠癌侵袭转移机制复杂, 与多种癌基因及抑癌基因的表达异常有关, 而microRNA表达异常也是其中的重要环节。

同行评议者

周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科

■ 研究前沿

miR-499-5p在结肠癌、结肠腺瘤中高表达, miR-499-5p通过靶向FOXO4和PDCD4促进大肠癌细胞侵袭和肿瘤转移。本文作者在后续实验将会在细胞学及体外实验中进一步探讨miR-499-5p原癌基因的具体分子机制。

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA-499-5p; Colorectal cancer; Colorectal polyps; Diagnosis

Yang YN, Zhu HH, Dong XY, Yu WX, Yue AJ. Clinical significance of microRNA-499-5P expression in colorectal cancer and colorectal polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(34): 5465-5471 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5465.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i34.5465>

摘要

目的: 探讨microRNA-499-5p(miR-499-5p)在结肠癌、结肠腺瘤中的表达水平及其与临床病理特征的相关性。

方法: 分别提取40例结肠癌组织、结肠腺瘤组织和正常结肠黏膜组织标本的总RNA, 采用逆转录实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)方法检测miR-499-5p的表达量, 并分析其与临床分期、分化程度、淋巴结转移等临床病理特征的关系。

结果: miR-499-5P在结肠癌组织中、结肠腺瘤组织中相对表达水平均高于正常结肠黏膜组织($P < 0.001$), 其表达与TNM分期($P = 0.016$)、分化程度($P < 0.001$)、浸润深度($P < 0.001$)、淋巴结转移($P = 0.008$)相关。

结论: 相对于正常结肠黏膜组织, miR-499-5P在结肠癌、结肠腺瘤组织中表达明显上调, 且在结肠癌中的表达水平与临床分期、浸润深度、分化程度及是否有淋巴结转移有关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: MicroRNA-499-5p; 结肠癌; 结肠腺瘤; 诊断

核心提示: 本研究提示microRNA-499-5p(miR-499-5p)在结肠癌、结肠腺瘤组织中的表达量均增高, 并且结肠癌中的表达水平与结肠腺瘤中的表达水平有统计学意义, 其增长趋势贯穿于癌前病变至病程晚期的全过程, 这意味着miR-499-5p可能在结肠癌的发生、发展和转归过程中发挥着重要作用。

杨燕楠, 朱海杭, 董晓耘, 俞文秀, 乐安君. microRNA-499-5P在结肠癌、结肠腺瘤组织中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2015; 23(34): 5465-5471 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5465.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i34.5465>

[wjgnet.com/1009-3079/23/5465.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5465.asp) DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i34.5465>

0 引言

结肠癌是全球范围内常见的恶性肿瘤。2015年, 美国癌症协会发布的统计报告指出, 在美国男性和女性肿瘤患者中, 结肠癌的发病率和病死率呈上升趋势, 均已位列第3位^[1]。在我国, 结肠癌已成为仅次于肺癌和胃癌的第三大恶性肿瘤, 是消化系常见的恶性肿瘤之一。MicroRNA(miRNA)在真核生物中发现的一类具有调控功能的内源性的非编码RNA, 其大小长约21-25个核苷酸^[2], 具有高度保守性、时序性和组织特异性^[3]。近年的研究表明, miRNA在肿瘤的演进过程中发挥着癌基因或抑癌基因的作用。MicroRNA-499(miR-499)是一种近年来新发现的microRNA的家族成员, 研究表明miR-499在肿瘤中异常表达, 可作为肺癌、乳腺癌的预后指标。但是, microRNA-499-5p(miRNA-499-5p、miR-499-5p)在结肠癌、结肠腺瘤中表达研究甚少。本实验通过检测miR-499-5p在结肠癌及其结肠腺瘤组织中的表达, 探讨其与结肠癌临床病理指标的关系, 以期有助于结肠癌的发病机制及结肠癌诊断治疗和预后指标的后续研究。

1 材料和方法

1.1 材料 收集江苏省苏北人民医院病理科2013-2014年期间石蜡包埋结肠癌组织40例、结肠腺瘤40例及正常结肠组织标本40例。所有肿瘤患者均未接受化疗、放疗及其他针对肿瘤的特殊治疗。在40例结肠癌患者中, 男性25例, 女性15例; 年龄在36-80岁, 中位年龄63岁。结直肠癌组织参照全国结直肠癌协作组结直肠癌诊治规范及AJCC/UICC的TNM分期标准进行诊断、分级和分期。石蜡包埋组织切片总RNA提取试剂盒, FastQuant cDNA第一链合成试剂盒, SuperReal荧光定量预混试剂盒等购自北京TIANGEN公司, miR-499-5p、U6snRNA引物由上海Invitrogen生物技术有限公司合成, 实时定量荧光PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)仪7500(美国ABI公司)。

1.2 方法

1.2.1 RNA的提取: 利用石蜡包埋组织切片总RNA提取试剂盒(RNAPrep Pure FFPE Kit,

表 1 miR-499-5p、U6snRNA的qRT-PCR引物序列

引物名称	序列
miR-499-5p	上游: 5'-ACTGCTTAAGACTTGGAGTGA-3' 下游: 5'-TACATTGGTGTCTGTCGGAGTCGGCAA-3'
U6snRNA	上游: 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3' 下游: 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'

■ 相关报道

在结直肠癌组织中miR-499-5p异常升高表达,可能与负性抑制肿瘤抑癌基因和/或控制细胞的分化或凋亡有关,通过靶向作用FOXO4和PDCD4促进癌细胞侵袭和肿瘤转移。

DP439, TIANGEN公司), 按总RNA提取说明书提取RNA, 在检测RNA纯度时, $A_{260/280}$ 比值是衡量蛋白质污染程度的指标(高质量的RNA, $A_{260/280}$ 读数在1.8-2.1之间, 比值为2.0是高质量RNA的标志), 同时, 取一定量的RNA提取物, 用RNase-Free ddH₂O稀释 n 倍, 用RNase-Free ddH₂O将分光光度计调零, 取稀释液进行 A_{260} 、 A_{280} 测定, 按照以下公式进行RNA浓度的计算: 终浓度(ng/ μ L) = (A_{260}) \times 稀释倍数(n) \times 40。

1.2.2 RNA的逆转录: 利用FastQuant cDNA第一链合成试剂盒[FastQuant RT Kit (with gDNase), KR106, TIANGEN公司], 根据说明书进行第一条链的合成。将模板RNA在冰上解冻; 5 \times gDNA Buffer、FQ-RT Primer Mix、10 \times Fast RT Buffer、RNase-Free ddH₂O在室温(15 $^{\circ}$ C-25 $^{\circ}$ C)解冻, 解冻后迅速置于冰上。使用前将每种溶液涡旋振荡混匀, 简短离心以收集残留在管壁的液体。配制基因组DNA的去除体系(10 μ L): 5 \times gDNA Buffer 2 μ L、Total RNA 5 μ L、RNase-Free ddH₂O 3 μ L, 彻底混匀, 简单离心, 并置于42 $^{\circ}$ C, 孵育3 min。配制反转录反应体系(10 μ L): 10 \times Fast RT Buffer 2 μ L、RT Enzyme Mix 1 μ L、FQ-RT Primer Mix 2 μ L、RNase-Free ddH₂O补足到10 μ L, 将反转录反应中的Mix, 加到gDNA去除步骤的反应液中, 充分混匀。42 $^{\circ}$ C, 孵育15 min。95 $^{\circ}$ C, 孵育3 min之后放于冰上, 得到的cDNA用于后续实验或低温保存。

1.2.3 qRT-PCR扩增miR-499-5p: 利用SuperReal荧光定量预混试剂盒[SuperReal PreMix Plus (SYBR Green), FP205, TIANGEN公司], 根据说明书法进行qRT-PCR。于冰上进行qRT-PCR反应液的配制(20 μ L体系): 2 \times SuperReal PreMix Plus 10 μ L、正向引物(10 μ mol/L)0.6 μ L、反向引物(10 μ mol/L)0.6 μ L、50 \times ROX Reference Dye 0.4 μ L、cDNA模板1 μ L、

RNase-free ddH₂O 7.6 μ L。进行qRT-PCR反应: 95 $^{\circ}$ C预变性15 min、95 $^{\circ}$ C变性15 s、60 $^{\circ}$ C退火/延伸30 s, 循环40次。同时进行内参U6的PCR扩增(miR-499-5p、U6snRNA引物序列详如表1)。实验以U6snRNA为内参, Δ Ct指标的测定: Δ Ct指在同一个样品中, 目的基因与内参基因平均Ct值的差值, 即 Δ Ct = miR-499-5p平均Ct值-U6平均Ct值, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示的是实验组目的基因表达/对照组目的基因表达变化的倍数。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行统计学分析。数据以mean \pm SD表示, 研究对象的基本资料进行 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基本资料 所有标本总RNA电泳检测结果运用紫外线吸收法测定总RNA的浓度及纯度, 得到RNA溶液 $A_{260/280\text{ nm}}$ 的比值范围为1.8-2.1, 琼脂糖凝胶电泳结果表明总RNA样品完整性好, 符合qRT-PCR的要求。纳入研究对象, 结肠癌组男性25例, 女性15例, 年龄 ≥ 60 岁的25例, <60 岁的15例。结肠腺瘤组男性29例, 女性11例, 年龄 ≥ 60 岁的17例, <60 岁的23例。正常对照组男性22例, 女性18例, 年龄 ≥ 60 岁的15例, <60 岁的25例。经 χ^2 检验, 结肠癌组、结肠腺瘤组和正常对照组的性别($\chi^2 = 1.292$, $P = 0.524$)和年龄($\chi^2 = 4.200$, $P = 0.122$)无统计学意义。

2.2 miR-499-5p的表达

2.2.1 结肠癌、结肠腺瘤组织及正常结肠黏膜组织中的miR-499-5p的表达情况: qRT-PCR结果显示结肠癌组织、结肠腺瘤组的miR-499-5p的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的值高于正常结肠黏膜组织, 表明miR-499-5p在结肠癌组织、结肠腺瘤组织中表达上调。40例癌结肠癌组织与结肠腺瘤、正常结肠黏膜组织的相对表达量($1.12 \times 10^{-4} \pm 0.65 \times 10^{-4}$ vs $0.36 \times 10^{-4} \pm 0.23 \times 10^{-4}$, $0.10 \times 10^{-4} \pm 0.04 \times$

■ 创新盘点

前期报道大肠腺瘤组织中存在miR-499-5p的表达增高, 与大肠癌预后不良有关。本研究通过检测miR-499-5p在结肠癌及其结肠腺瘤组织中的表达, 并分析其与结肠癌临床分期、分化程度、淋巴结转移等病理特征的关系, 以期有助于结肠癌发病机制及结肠癌诊断治疗和预后指标的后续研究。

表 2 结肠癌、结肠腺瘤组织及正常结肠黏膜组织中的miR-499-5p的表达情况

分组	2 ^{-ΔΔCt}	2 ^{-ΔΔCt}	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
结肠癌	1.12 ± 0.65	12.15 ± 5.83	80.143	0.01
结肠腺瘤	0.36 ± 0.23	3.63 ± 0.93	8.346	<0.001
正常黏膜组织	0.10 ± 0.04	1.00 ± 0.00		

表 3 结肠癌组织中miR-499-5p表达水平与病理参数的关系

分组	<i>n</i>	2 ^{-ΔΔCt}	<i>t</i> / <i>F</i> 值	<i>P</i> 值
性别			0.530	0.599
男	25	10.86 ± 6.64		
女	15	11.93 ± 6.65		
年龄(岁)			0.638	0.527
≥60	25	12.31 ± 6.01		
<60	15	13.68 ± 7.51		
分化程度			26.300	<0.001
高	5	9.22 ± 2.10		
中	27	11.24 ± 4.06		
低	8	21.33 ± 3.89		
浸润深度			4.439	<0.001
T1+T2	10	9.10 ± 1.73		
T3+T4	30	14.46 ± 6.05		
淋巴结转移			-2.783	0.008
无	22	11.11 ± 4.06		
有	18	15.87 ± 6.12		
TNM分期			3.954	0.016
I	5	8.36 ± 1.30		
II	15	11.21 ± 4.78		
III	16	15.80 ± 5.78		
IV	4	16.83 ± 6.92		

10⁻⁴), 差异有统计学意义(*P*<0.001)(表2)。

2.2.2 结肠癌组织中miR-499-5p表达与临床病理特征的关系: 结肠癌组织中miR-499-5p的表达与肿瘤的分化程度相关, 高分化组的表达量低于中、低分化组的表达量, 中分化组表达量低于低分化组的表达量(*P*<0.001); 结肠癌组织中miR-499-5p的表达水平与临床TNM分期有显著相关性, I - II 期结肠癌组织中miR-499-5p表达量低于III-IV期(*P* = 0.016); 结肠癌组织中miR-499-5p的表达水平与肿瘤组织浸润深度有关, T1-T2的结肠癌组织中miR-499-5p表达量低于T3-T4(*P*<0.001); 结肠癌组织中miR-499-5p的表达与淋巴结的转移情况有显著相关性(*P* = 0.008),伴有淋巴结转移的结肠癌组织中miR-499-5p的表达水平高于无淋巴结转移的结肠癌组织; 结肠癌组织中miR-499-5p的表达量与其他临床病理因素如性别、年龄无明显相关性

(*P*>0.05)(表3)。

3 讨论

miRNA作为一类内源性表达的非编码小分子RNA, 主要通过与靶基因3'端非编码区的mRNA(3'-UTR)结合而抑制转录进而影响基因的表达^[4], 参与调控个体发育、细胞凋亡、细胞增殖和分化等生命活动, 与肿瘤的发生、转移、耐药等病理进程密切相关^[5]。研究^[6]证实, miRNA可调控至少30%的人类的蛋白编码基因的表达, 发挥着比蛋白编码基因更庞大的影响^[7,8]。在多种人类肿瘤中, miRNA因存在基因移位活化或基因脆性位点的基因突变而导致其表达异常^[9]。结肠癌作为临床上最常见的恶性肿瘤之一, 尽管近年随着抗表皮生长因子受体和抗血管内皮生长因子的分子靶向治疗的应用及化疗的进展^[10,11], 晚期结肠癌患者的中

位生存期已经由6 mo增高至2年^[12], 但侵袭转移及化疗耐药仍为结肠癌患者的主要死亡原因^[13]. 结肠癌侵袭转移机制复杂, 与多种癌基因及抑癌基因的表达异常有关, 而miRNA表达异常也是其中的重要环节^[14,15].

miR-499是一种新发现的microRNA的家族成员. 人类miR-499由20号染色体上肌球蛋白重链7b/14基因(*Myh7b/14*)的内含子20所编码的^[16]. 目前对于miR-499的研究主要集中在心血管循环系统, miR-499在心肌祖细胞阶段抑制细胞增殖, 促进细胞分化^[17]. Wang等^[18]发现miR-499在正常人血浆中浓度极低, 但在急性心肌梗死后1-3 h内, 便可在患者血浆中检测到显著升高的miR-499, 并在3-12 h达到峰值. Olivieri等^[19]发现miR-499-5p在非ST段抬高型的心肌梗塞早期评估中发挥着重要的作用.

近年随着研究深入, miR-499的单核苷酸多态性影响已在乳腺癌^[20]、胃癌^[21]、膀胱癌^[22]等多种癌症中得到证实. 同时, Li等^[23]研究分析显示, miR-499在非小细胞肺癌组织(non-small cell lung cancer, NSCLC)中表达上调, 可作为其早期诊断与评估患者预后的生物标志物. Hu等^[24]对243例非小细胞肺癌患者的研究发现, 血清miR-499的含量与患者的存活率有密切关系, 存活期长的患者比存活期短的患者血清miR-499含量高出5倍以上, 使得血清miR-499含量有望成为NSCLC患者存活期的评估标准, 便于指导临床治疗.

miR-499-5p作为miR-499簇的重要成员, 在结肠癌患者、结肠腺瘤组织中的表达情况国内外文献报道甚少. 李新华等^[25]采用miRCUR基因芯片(v.14.0)分析直肠癌组织和邻近非肿瘤组织之间差异表达的miRNA, 设定平均上升或下降倍数>2倍和 $P<0.05$ 为差异标准, 发现在直肠癌组织标本中miR-499-5p异常升高表达, 可能其通过负性抑制肿瘤抑癌基因和/或控制细胞的分化或凋亡途径来促进肿瘤的发展. 因此本课题选miR-499-5p作为研究对象. 本研究显示miR-499-5p在结肠癌、结肠腺瘤组织中的表达量均增高, 在分析miR-499-5p表达与结肠癌临床病理因素的相关性中发现, miR-499-5p表达水平与结肠癌组织的分化程度相关, 而且与结肠癌患者的TNM分期相关. miR-499-5p在中低分化组中的表达水平高于高分化组, 提示miR-499-5p主要在结肠癌的进

展阶段起作用, 而在结肠癌的发生起始阶段可能以其他因素起作用为主. 同时, miR-499-5p表达水平与结肠癌组织的淋巴结转移相关, 提示miR-499-5p可能在结肠癌肿瘤细胞的浸润与转移中发挥着一定作用, 并在一定程度上调控着癌细胞的行为.

在结肠癌相关的研究中, 国内外多项miRNA表达谱相关研究^[26,27]表明: 不但多种miRNA在结直肠癌组织中异常, 且在结直肠癌的发生过程中不同的miRNA通过不同途径发挥着不同的重要作用, 甚至在结直肠癌发生的腺瘤阶段即有差异^[28]. Kamatani等^[29]采用RT-PCR技术检测家族性腺瘤息肉病、结直肠腺瘤和结直肠癌以及配对的非肿瘤组织中miR-143和miR-145的表达水平, 结果发现miR-143和miR-145表达下调与*APC*基因突变有关, 是结直肠肿瘤发病的起始步骤. 本研究提示miR-499-5p在结肠癌、结肠腺瘤组织中的表达量均增高, 并且结肠癌中的表达水平与结肠腺瘤中的表达水平有统计学意义, 其增长趋势贯穿于癌前病变至病程晚期的全过程, 这意味着miR-499-5p可能在结肠癌的发生、发展和转归过程中发挥着重要作用.

目前miR-499-5p对结肠癌的发生发展的调控机制尚不明确, Liu等^[30]在2011年运用来自大肠癌患者原发病灶的低转移潜能细胞系SW480和来自同一患者1年后转移淋巴结组织的高转移潜能细胞系SW620鉴定出参与肿瘤转移的miRNA分子, miR-499-5p通过靶向FOXO4和PDCD4促进大肠癌细胞侵袭和肿瘤转移. miR-499-5p对结肠癌的调控机制有待于进一步的研究. 据此提示, 我们后续实验也将会在细胞学及体外实验上去进一步探讨miR-499-5p原癌基因的具体分子机制. 对于miR-499-5p在肿瘤生物学中的研究只是处于初级阶段, 尤其在结直肠癌的演进、侵袭的作用中有待进一步研究. 血清/血浆或者组织中的miR-499-5p的水平是否成为结直肠癌的早期诊断血清的指标, 以及对于miR-499-5p在结肠癌中作用机制, 判断其分期、预后有待进一步研究. 对于结直肠癌患者的血清/血浆中miR-499-5p水平变化情况, 在结肠息肉、炎症性肠病等变化亦需进一步探究. miRNA作为肿瘤研究的热点已越来越受到关注, 可望作为新的临床标志物, 对肿瘤的发生、发展、转归、治疗

应用要点

miRNA在肿瘤的演进中发挥癌基因或抑癌基因的作用. miR-499-5p是一种近年来新发现的miR-499簇的重要成员, 研究表明miR-499在肿瘤中异常表达, 可作为非小细胞肺癌的预后指标. miR-499-5p在大肠癌组织中的高表达, 通过靶向FOXO4和PDCD4促进大肠癌细胞侵袭和肿瘤转移, 为阐明miR-499-5p的促肿瘤发展的分子机制、信号通路奠定了基础.

■名词解释

单核苷酸多态性 (SNP): 是指基因组DNA中某一特定核苷酸位置上存在转换、插入、缺失等变化, 而且其中最少数1种等位基因在群体中的频率不小于1%。

等研究具有重要的临床意义。

4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 5-29 [PMID: 25559415 DOI: 10.3322/caac.21254]
- 2 Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *EMBO Mol Med* 2012; 4: 143-159 [PMID: 22351564 DOI: 10.1002/emmm.201100209]
- 3 Wu J, Ji X, Zhu L, Jiang Q, Wen Z, Xu S, Shao W, Cai J, Du Q, Zhu Y, Mao J. Up-regulation of microRNA-1290 impairs cytokinesis and affects the reprogramming of colon cancer cells. *Cancer Lett* 2013; 329: 155-163 [PMID: 23142292 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.10.038]
- 4 Lee I, Ajay SS, Yook JI, Kim HS, Hong SH, Kim NH, Dhanasekaran SM, Chinnaiyan AM, Athey BD. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genome Res* 2009; 19: 1175-1183 [PMID: 19336450 DOI: 10.1101/gr.089367.108]
- 5 Ohtsuka M, Ling H, Doki Y, Mori M, Calin GA. MicroRNA Processing and Human Cancer. *J Clin Med* 2015; 4: 1651-1667 [PMID: 26308063 DOI: 10.3390/jcm4081651]
- 6 Huang Y, Shen XJ, Zou Q, Wang SP, Tang SM, Zhang GZ. Biological functions of microRNAs: a review. *J Physiol Biochem* 2011; 67: 129-139 [PMID: 20981514 DOI: 10.1007/s13105-010-0050-6]
- 7 Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: D68-D73 [PMID: 24275495 DOI: 10.1093/nar/gkt1181]
- 8 Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 597-610 [PMID: 20661255 DOI: 10.1038/nrg2843]
- 9 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945]
- 10 Chin CC, Li JM, Lee KF, Huang YC, Wang KC, Lai HC, Cheng CC, Kuo YH, Shi CS. Selective β 2-AR Blockage Suppresses Colorectal Cancer Growth Through Regulation of EGFR-Akt/ERK1/2 Signaling, G1-Phase Arrest, and Apoptosis. *J Cell Physiol* 2016; 231: 459-472 [PMID: 26189563 DOI: 10.1002/jcp.25092]
- 11 Giordano G, Febbraro A, Tomaselli E, Sarnicola ML, Parcesep P, Parente D, Forte N, Fabozzi A, Remo A, Bonetti A, Manfrin E, Ghasemi S, Ceccarelli M, Cerulo L, Bazzoni F, Pancione M. Cancer-related CD15/FUT4 overexpression decreases benefit to agents targeting EGFR or VEGF acting as a novel RAF-MEK-ERK kinase downstream regulator in metastatic colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2015; 34: 108 [PMID: 26427914 DOI: 10.1186/s13046-015-0225-7]
- 12 Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Wolf M, Gansert J. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4697-4705 [PMID: 20921465 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.4860]
- 13 Tomida C, Aibara K, Yamagishi N, Yano C, Nagano H, Abe T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. The malignant progression effects of regorafenib in human colon cancer cells. *J Med Invest* 2015; 62: 195-198 [PMID: 26399347 DOI: 10.2152/jmi.62.195]
- 14 Chen WY, Zhao XJ, Yu ZF, Hu FL, Liu YP, Cui BB, Dong XS, Zhao YS. The potential of plasma miRNAs for diagnosis and risk estimation of colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 7092-7101 [PMID: 26261602]
- 15 Shivapurkar N, Weiner LM, Marshall JL, Madhavan S, Deslattes Mays A, Juhl H, Wellstein A. Recurrence of early stage colon cancer predicted by expression pattern of circulating microRNAs. *PLoS One* 2014; 9: e84686 [PMID: 24400111 DOI: 10.1371/journal.pone.0084686]
- 16 Tao L, Bei Y, Zhou Y, Xiao J, Li X. Non-coding RNAs in cardiac regeneration. *Oncotarget* 2015 Oct 10. [Epub ahead of print] [PMID: 26462179 DOI: 10.18632/oncotarget.6073]
- 17 Sluijter JP, van Mil A, van Vliet P, Metz CH, Liu J, Doevendans PA, Goumans MJ. MicroRNA-1 and -499 regulate differentiation and proliferation in human-derived cardiomyocyte progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 859-868 [PMID: 20081117 DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.197434]
- 18 Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, Qin YW, Jing Q. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J* 2010; 31: 659-666 [PMID: 20159880 DOI: 10.1093/eurheartj/ehq013]
- 19 Olivieri F, Antonicelli R, Spazzafumo L, Santini G, Rippo MR, Galeazzi R, Giovagnetti S, D'Alessandra Y, Marcheselli F, Capogrossi MC, Procopio AD. Admission levels of circulating miR-499-5p and risk of death in elderly patients after acute non-ST elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2014; 172: e276-e278 [PMID: 24461971 DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.12.203]
- 20 Omrani M, Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Hasani SS, Mashhadi MA, Arbabi F, Taheri M. hsa-mir-499 rs3746444 gene polymorphism is associated with susceptibility to breast cancer in an Iranian population. *Biomark Med* 2014; 8: 259-267 [PMID: 24521023 DOI: 10.2217/bmm.13.118]
- 21 Gu YP, Yuan QY, Zhang H, Wang CJ, Zhou F. Association between five common polymorphisms in microRNA genes and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2015; 14: 8375-8387 [PMID: 26345764 DOI: 10.4238/2015.July.28.4]
- 22 Deng S, Wang W, Li X, Zhang P. Common genetic polymorphisms in pre-microRNAs and risk of bladder cancer. *World J Surg Oncol* 2015; 13: 297 [PMID: 26458899 DOI: 10.1186/s12957-015-0683-6]
- 23 Li M, Zhang Q, Wu L, Jia C, Shi F, Li S, Peng A, Zhang G, Song X, Wang C. Serum miR-499 as a novel diagnostic and prognostic biomarker

- in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2014; 31: 1961-1967 [PMID: 24549225 DOI: 10.3892/or.2014.3029]
- 24 Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, Chen Y, Xu L, Zen K, Zhang C, Shen H. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1721-1726 [PMID: 20194856 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9342]
 - 25 李新华, 张桂英, 李乾, 徐美华, 冯德云, 吴畏. 直肠癌组织异常表达miRNAs的鉴定. *中南大学学报(医学版)* 2012; 37: 662-668
 - 26 Schetter AJ, Okayama H, Harris CC. The role of microRNAs in colorectal cancer. *Cancer J* 2012; 18: 244-252 [PMID: 22647361 DOI: 10.1097/PPO.0b013e318258b78]
 - 27 Hollis M, Nair K, Vyas A, Chaturvedi LS, Gambhir S, Vyas D. MicroRNAs potential utility in colon cancer: Early detection, prognosis, and chemosensitivity. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 8284-8292 [PMID: 26217080 DOI: 10.3748/wjg.v21.i27.8284]
 - 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 [PMID: 14573789]
 - 29 Kamatani A, Nakagawa Y, Akao Y, Maruyama N, Nagasaka M, Shibata T, Tahara T, Hirata I. Downregulation of anti-oncomirs miR-143/145 cluster occurs before APC gene aberration in the development of colorectal tumors. *Med Mol Morphol* 2013; 46: 166-171 [PMID: 23397547 DOI: 10.1007/s00795-013-0020-5]
 - 30 Liu X, Zhang Z, Sun L, Chai N, Tang S, Jin J, Hu H, Nie Y, Wang X, Wu K, Jin H, Fan D. MicroRNA-499-5p promotes cellular invasion and tumor metastasis in colorectal cancer by targeting FOXO4 and PDCD4. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1798-1805 [PMID: 21934092 DOI: 10.1093/carcin/bgr213]

同行评价

本文通过检测结肠癌组织、结肠腺瘤组织中的miR-499-5p表达, 分析此基因表达与结肠癌临床病理参数的关系. 该文研究内容文献报道较少, 研究本身具有科学意义, 有一定创新性.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

