

正常结直肠组织、腺瘤、结直肠腺癌中 miRNAs 的表达差异*

朱林林, 陈 薇, 王 瑾, 甘 涛, 王一平, 杨锦林[△]

四川大学华西医院 消化内科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨 6 种 microRNA(miRNA)在正常结直肠组织、管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤及腺癌中的表达差异。**方法** 共搜集 44 例管状腺瘤、16 例管状绒毛状腺瘤、20 例腺癌患者的病变组织及其旁正常组织标本,应用 Real-time PCR 方法分别检测 miR-1、miR-9、miR-31、miR-135a、miR-137、miR-145 共 6 种 miRNA 的表达量,分析表达差异。**结果** ①管状腺瘤中 miR-1、miR-9、miR-137、miR-145 的表达均低于瘤旁正常组织,miR-31、miR-135a 的表达均高于瘤旁正常组织,其中 miR-9、miR-135a 差异有统计学意义($P<0.05$),miR-1、miR-137、miR-145、miR-31 差异无统计学意义($P>0.05$)。②管状绒毛状腺瘤中 miR-1、miR-137、miR-145 的表达均低于瘤旁正常组织,miR-9、miR-135a、miR-31 的表达均高于瘤旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。③结直肠腺癌中 miR-1、miR-9、miR-137、miR-145 的表达均低于瘤旁正常组织,miR-31、miR-135a 的表达高于瘤旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 正常结直肠组织、结直肠腺瘤、结直肠腺癌中 miRNA 的差异表达,提示上述 miRNA 在从正常结直肠组织到结直肠腺瘤、结直肠腺癌到结直肠癌的发生发展过程中可能发挥作用,为 miRNA 作为疾病预测、预后指标提供了实验基础。

【关键词】 结直肠腺瘤 结直肠癌 microRNA

Expression Difference of MicroRNAs in Colorectal Adenoma and Colorectal Cancer ZHU Lin-lin, CHEN Wei, WANG Jin, GAN Tao, WANG Yi-ping, YANG Jin-lin[△]. Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: mouse-577@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression difference of microRNAs in colorectal tubular adenoma, tubulovillous adenoma and colorectal cancer. **Methods** Real time-polymerase chain reaction was used to analysis the expression level of miR-1, miR-9, miR-31, miR-135a, miR-137 and miR-145 between colorectal tubular adenoma ($n=44$), tubulovillous adenoma ($n=16$), colorectal cancer ($n=20$) and paired paracancerous normal colorectal tissues. **Results** Compared with paired paracancerous normal colorectal tissues, colorectal tubular adenoma had decreased expression of miR-1, miR-9, miR-137 and miR-145 as well as increased expression of miR-31 and miR-135a. Colorectal tubulovillous adenoma had decreased levels of miR-1, miR-137, miR-145, as well as increased levels of miR-9, miR-135a, and miR-31. Colorectal cancer had the expressions of miR-1, miR-9, miR-137 and miR-145 decreased while the expression of miR-135a and miR-31 increased. **Conclusion** The differential expressions of microRNAs suggested that miRNAs participate in the development of colorectal adenoma and cancer.

【Key words】 Colorectal adenoma Colorectal cancer MicroRNA

结直肠癌是由基因及环境因素相互作用所致的复杂疾病。在从正常结直肠黏膜演变为浸润性癌的过程中,约 85% 的病例为散发病例,且经历从腺瘤到癌的缓慢进展过程^[1,2]。早期结直肠癌治疗后 5 年生存率超过 90%,而晚期结直肠癌治疗后 5 年生存率仅约 10%^[2]。目前结直肠癌发病率(4.3/100 000)仍排在全球恶性肿瘤的第 2~3 位,男性占 10%,女性占 9%^[1,3]。若在疾病的早期通过筛查程序发现进展缓慢的癌前病变或快速进展的肿瘤性病

变,则可大大降低社会和家庭癌症负担。因此,有关结直肠癌发生发展过程中的分子机制已成为研究热点,旨在发现疾病早期诊断、治疗及改善预后的生物标记^[1,3]。

microRNA(miR, miRNA)是一种小分子非编码 RNA,它可以使靶信使 RNA(mRNA)降解和/或抑制其翻译为蛋白质,从而在转录后水平负性调节蛋白编码基因的表达。在正常组织中,miRNA 可通过调节多种细胞程序如分化、增殖、凋亡等来维持组织的正常状态;而异常表达的 miRNA 则可致靶基因的异常活动^[4]。某种特定 miRNA 的表达上调可能会削弱负责抑制生长/增殖的基因作用,而其他

* 四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 2013SZ0081)资助

[△] 通讯作者, E-mail: mouse-577@163.com

下调的 miRNA 可能增强负责加速生长/增殖的基因作用,从而导致肿瘤的发生及进展^[5]。已有证据表明 miRNA 在人类肿瘤的发生发展中起着重要作用。在多种癌症组织如肺、前列腺、肝脏、乳腺、结直肠中 miRNA 均被发现异常表达。miRNA 作为一类高度保守的小分子非编码 RNA 参与了结直肠癌的发生、发展、淋巴结转移、远处转移及复发等多个过程,根据其调控的基因不同而发挥致癌因子作用或抑癌因子作用^[6],其表达量的变化可作为疾病诊断或预后的标记物;对于异常表达的 miRNA,若通过校正其表达量,也有望为疾病治疗提供方法。本研究检测了正常结直肠组织、结直肠管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤及结直肠腺癌这一序贯发生的组织变化系列中 6 种 miRNA 的表达水平,以分析 miRNA 在正常结直肠组织、癌前病变、结直肠癌中的表达差异。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2013 年 7 月至 2014 年 11 月四川大学华西医院消化内镜中心结直肠镜下活检组织标本,所取标本来源于 80 例患者的结直肠组织,分别取得患者结直肠腺瘤及其旁正常组织、结直肠癌及其旁正常组织。其中经病理证实为管状腺瘤 44 例,管状绒毛状腺瘤 16 例,腺癌 20 例。所有结直肠癌病例均未行放化疗。

所有患者在内镜检查前均签署必要时活检的知情同意书。本研究经我院伦理委员会批准,伦理号:2014 年审(144 号)。

1.2 研究方法

1.2.1 组织样本的获取 结直肠镜检查时发现结直肠腺瘤性息肉、结直肠癌病变,予一次性活检钳钳取病变旁正常结直肠组织标本、病变组织标本各 3 块,按照先钳取正常组织、后钳取病变组织的顺序获取标本后立即放入液氮罐,并转存至 -80°C 冰箱保存,直至 RNA 的提取。

1.2.2 主要试剂 MirVanaTM miRNA isolation Kit, Ambion, AM1561; miDETECT A TrackTM miRNA qRT-PCR Starter Kit, N1208(广州锐博生物科技有限公司)。

1.2.3 RNA 提取 按试剂盒(MirVanaTM miRNA isolation Kit, Ambion, AM1561)说明提取组织总 RNA。液氮研磨组织呈粉状,加入裂解液振荡混匀充分裂解组织,经氯仿分离,异丙醇沉淀。无水乙醇

清洗后用洗脱液溶解 RNA,总 RNA 经紫外分光光度计检测吸光度在 1.8~2.0 之间,10 g/L 琼脂糖凝胶电泳无明显降解。

1.2.4 PAP 法逆转录及实时荧光定量 PCR(real-time PCR) 采用 PAP 法对 RNA 进行逆转录。首先构建加尾体系,将 1 μg 总 RNA、1 μL 10 $\times$ poly(A)polymerase buffer、1 μL ATP、1 μL poly(A)polymerase 混合,加入 Rnase-free water 至 10 μL ,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 1 h 条件下反应,得到加尾产物。再将构建好的 10 μL 产物与 8 μL Reverse transcriptase mix 和 2 μL miDETECT A TrackTM Uni-RT Prime 混合,于 42 $^{\circ}\text{C}$ 1 h、72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 的条件下反应,得到 cDNA 产物, -80°C 冰箱保存。逆转录的 cDNA 采用 SYBR green real-time PCR 对目的基因进行实时荧光定量。按照说明书构建 PCR 反应体系(miDETECT A TrackTM miRNA forward primer 0.3 μL , miDETECT A TrackTM Uni-Reverse Primer 0.3 μL , 2 $\times$ SYBR Green Mix 5 μL , cDNA 2 μL , Dnase-free water 2.4 μL),反应条件均为:95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 20 s,70 $^{\circ}\text{C}$ 1 s(共 40 个循环)。运用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法,U6 作为内参,目标基因的表达量与 U6 表达量的比值为目标基因的相对表达量。

1.3 统计学方法

数据先经方差齐性分析,方差齐则采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 6 种 miRNA 在结直肠管状腺瘤中的表达

见附表。miR-1、miR-9、miR-137、miR-145 在结直肠管状腺瘤中的表达均低于瘤旁正常组织,其中 miR-9 差异有统计学意义($P<0.05$),miR-1、miR-137、miR-145 差异无统计学意义($P>0.05$);miR-31、miR-135a 在结直肠管状腺瘤中的表达高于瘤旁正常组织,其中 miR-135a 差异有统计学意义($P<0.05$),miR-31 差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 6 种 miRNA 在结直肠管状绒毛状腺瘤中的表达

见附表。miR-1、miR-137、miR-145 在管状绒毛状腺瘤中的表达均低于瘤旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$);miR-9、miR-135a、miR-31 在管状绒毛状腺瘤中的表达均高于瘤旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

附表 正常结直肠组织、腺瘤、结直肠腺瘤中 miRNAs 的相对表达量
Table Relative expression of microRNAs in different colorectal tissues

Tissue	n	MiR-1	MiR-9	MiR-31	MiR-135a	MiR-137	MiR-145
Tubular adenoma	44	12.96±2.68	2.39±0.52	1.19±0.31	10.44±2.04	5.21±1.54	18.85±3.09
Normal-T	44	20.26±3.77	6.57±0.91	0.46±0.09	2.60±0.44	5.58±1.09	23.17±3.98
P		0.15	0	0.143	0.003	0.052	0.388
Tubulovillous adenoma	16	2.16±0.91	1.02±0.23	0.74±0.23	3.02±0.56	0.09±0.05	3.76±1.45
Normal-Tv	16	13.63±4.75	0.31±0.12	0.02±0.01	0.83±0.34	2.55±0.69	8.00±1.48
P		0.001	0.012	0.001	0.004	0	0.006
Adenocarcinoma	20	3.77±1.34	0.72±0.38	0.76±0.40	3.34±0.62	0.77±0.27	4.49±1.35
Normal-A	20	11.05±2.68	3.12±1.03	0.04±0.02	0.72±0.12	3.27±0.82	14.63±2.79
P		0.001	0	0.013	0.001	0	0

Normal-T: Normal tissue adjacent to tubular adenoma; Normal-Tv: Normal tissue adjacent to tubulovillous adenoma; Normal-A: Normal tissue adjacent to tubular adenocarcinoma

2.3 6 种 miRNA 在结直肠腺瘤中的表达

见附表。miR-1、miR-9、miR-137、miR-145 在结直肠腺瘤中的表达均低于癌旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$);miR-31、miR-135a 在结直肠腺瘤中的表达高于癌旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

现有研究发现 miRNA 在人类癌症组织中呈现异常表达。这种异常表达主要为 miRNA 异常的高表达或低表达。高表达的 miRNA 通过抑制抑癌基因的表达而促进癌细胞的增殖、转移;低表达的 miRNA 则通过抑制癌基因的表达,从而抑制癌细胞增殖^[7]。

miR-1 在多种癌症组织中均呈现低表达,如肺癌、头颈部恶性肿瘤、甲状腺癌、肝细胞癌及结肠癌。在人结肠癌组织尤其是转移性结肠癌中,低表达的 miR-1 及转移相关结肠癌 1(metastasis associated colon cancer 1,MACC1)均与 MET 致癌基因的过度表达相关;miR-1 通过在 RNA 及蛋白水平直接下调 MET 癌基因的表达,从而发挥其对结直肠癌的抑制作用。体外实验发现,若 miR-1 在结肠癌细胞株中过度表达,则可见 MET 表达水平下降、MET 诱导的浸润生长过程被抑制^[8]。一项纳入 80 例结肠癌、28 例正常结肠组织的研究发现,miR-1 在结肠癌中的表达较正常组织中低^[9]。目前关于 miR-9 的低表达与肿瘤发生之间的关系尚不清楚。Cekaite 等^[4]的研究纳入 30 例结肠癌、10 例结肠息肉组织,发现 miR-9 在息肉、结肠癌各期中表达均下降;比较 miR-9 在结肠癌各临床分期中的表达量发现,早期结肠癌中 miR-9 的表达量最低,提示 miR-9 在结肠癌早期发挥着重要作用。此外,miR-9 在晚期结肠癌中的表达量增加,提示其在结肠癌的

发展中参与了多个步骤。Zhu 等^[10]纳入 10 例伴肝转移、15 例无远处转移的结肠癌组织,分别测定其中 miR-9 的表达量,发现 miR-9 在伴肝转移的结肠癌中的表达量显著高于无远处转移组(差异有统计学意义),提示 miR-9 可能参与了结肠癌的转移过程。Chen 等^[11]分别在体外实验(细胞株)、结直肠癌标本中测定 miR-31、缺氧诱导转录因子-1 α (hypoxia-inducible transcription factor 1 α ,HIF-1 α)抑制因子(FIH-1)的表达。结果显示,相较于正常结肠组织,FIH-1 在 50 例结肠癌组织中表达显著下调,且其表达量与肿瘤的 T 分期显著相关;提示 FIH-1 在结直肠癌的发展过程中起着肿瘤抑制作用。该研究还发现,miR-31 可通过直接调控 FIH-1 的表达促进结直肠癌的发生发展。此外,miR-31 还可诱导上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition,EMT),而 EMT 可下调钙粘蛋白的表达,从而削弱细胞之间的连接,使细胞获得迁移能力^[12]。进一步研究发现,miR-31 可能是以鼠肉瘤病毒致癌基因家族(RAS)p21GTP 酶活化蛋白 1 基因(RASA1)作为靶基因发挥作用,miR-31 的过度表达通过抑制 RASA1 而激活癌基因 RAS,参与肿瘤发生发展过程^[5]。

Cekaite 等^[4]应用 qRT-PCR 技术测定 30 例结肠癌组织(未行临床分期)、10 例癌旁正常组织、10 例结肠息肉中 miRNA 的表达量,发现相较于正常结肠组织,miR-31 在结肠癌各期、结肠息肉中的表达量均增加;进一步将结肠癌组织行临床分期后发现,miR-31 的表达水平与结肠癌分期相关。该研究同时也测定了 miR-31 在结肠癌细胞株 HT29、HCT116 及 SW480 中的表达,发现其表达量也上调,且在 HT29 细胞株中观察到增加的 miR-31 可使细胞凋亡减少这一现象,提示 miR-31 可能的结肠癌发生机制。而 miR-31 在结肠息肉中的表达上

调,提示可能早在结直肠癌前病变时 miR-31 已开始参与肿瘤进展过程。miR-135a 被认为是结直肠癌的致癌基因。Zhou 等^[13]测定结肠癌细胞株 SW480 及 SW620 中的 miR-135a 表达,发现 miR-135a 的表达较正常组织高,并观察到其促进细胞增殖的作用。进一步研究发现 miR-135a 可通过抑制其靶基因——转移抑制因子 1(MTSS1)的表达,从而促进结直肠癌细胞的生长及浸润^[13, 14]。此外, Vickers 等^[14]分别测定 15 例无远处转移、19 例伴肝脏转移的结直肠癌及其旁正常组织中的 miRNA,发现 miR-135a 在二者中的表达量均高于其旁正常组织;而在有转移的结直肠癌组织中,miR-135a 的表达量更高,提示 miR-135a 可能与结直肠癌的预后相关。

miR-137 在结直肠癌中表达下调,Chen 等^[6]已证实增加 miR-137 的表达可显著抑制试管内细胞增殖、迁移和侵袭并抑制体外实验中肿瘤的生长和转移。有学者发现高迁徙率族蛋白(high mobility group A1, HMGA1)可结合于 miR-137 启动子上引发其转录,诱导结直肠癌细胞的侵袭和转移^[15]。因此 miR-137 的下调可使 Musashi 蛋白(Musashi, MSI1)的表达增加而产生致癌作用。此外,miR-137 也可抑制结直肠癌细胞的增殖与侵袭^[16]。Balaguer 等^[17]发现启动子甲基化所致的 miR-137 表观遗传沉默是结直肠癌发生的早期事件。

大量研究表明,miR-145 可通过调节多个靶基因发挥肿瘤抑制作用;阻断 AKT 及 ERK1/2 通路的激活;通过直接作用于神经母细胞瘤 RAS 病毒原癌基因同系物、胰岛素受体底物 1 来抑制 HIF-1 及血管内皮生长因子的表达,下调磷酸化细胞外信号调节激酶 1 的水平,并通过靶向作用于 p21 蛋白活化激酶 4 抑制肿瘤生长^[18-20]。临床研究还发现,miR-145 在无肝转移结直肠癌患者的血浆及肿瘤组织中表达下调;粪便中下调的 miR-145 有望成为结直肠癌潜在的标记物。基于 miR-145 的促凋亡和抗增殖作用,miR-145 过度表达可抑制细胞增殖、迁移及侵袭能力,有望在结直肠癌的 miRNA 替代治疗中发挥潜在作用。

本研究发现,miR-1 在结直肠管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤及腺癌中的表达均低于其旁正常组织,除管状腺瘤外,差异均有统计学意义。这与现有体外、活体组织实验结果一致。此外,miR-1 的低表达在结直肠癌前病变就已经存在,与结直肠癌的发生发展过程一致,表明 miR-1 在结直肠癌的早期发生发

展中也发挥着作用。miR-9 在管状腺瘤、腺癌中的表达低于其旁正常组织,与现有研究结果一致;而在管状绒毛状腺瘤中的表达高于瘤旁正常组织,差异均有统计学意义。究其原因考虑可能因管状绒毛状腺瘤的病理中既包含管状腺瘤,又含绒毛状腺瘤成分;加之该病理类型的样本量最少等因素对结果产生影响。此外,因本研究无绒毛状腺瘤的 miRNA 表达结果,尚无法知晓 miR-9 在绒毛状腺瘤中的表达是否也升高。miR-31 在结直肠管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤及腺癌中的表达量较正常结直肠组织均显著增加,除管状腺瘤外差异均有统计学意义。这一结果也进一步证实 miR-31 可能在结直肠腺瘤时期就开始参与肿瘤的形成过程。miR-135a 在结直肠管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤及结直肠腺癌中的表达上调,表达水平均高于相应病变旁正常组织,差异有统计学意义,与体外实验研究结果一致,间接证实了 miR-135a 促进结直肠癌细胞的生长及浸润。miR-145 在结直肠管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤及结直肠腺癌中的表达下调,表达水平均低于相应病变旁正常组织,差异在管状绒毛状腺瘤、腺癌中有统计学意义。

现有研究中,测定结直肠癌中 miRNA 的表达较多,但有关结直肠腺瘤中 miRNA 的研究相对较少,且大多为体外实验、或具体到每一类型的腺瘤其样本含量较少。在本实验中,我们共纳入 44 例管状腺瘤,样本含量足够,因此研究结果具有一定意义;此外我们发现所测组织样本部分 miRNA 表达量差异较大,究其原因,可能与以下几方面相关:①样本含量(管状绒毛状腺瘤、腺癌)较少;②个体差异:尽管动物实验、细胞株等样本中测得的 miRNA 表达量结果一致性较好,但在人体组织中,某一 miRNA 可能既在非特异性炎症中表达上调或下调,也可在该例患者的结直肠腺瘤中表达上调或下调,从而导致差异性结果;③病变标本取材部位对结果的影响:对体积较小的病变多次取活检时,其中部分组织标本可能来自病变边缘,导致其 miRNA 表达量更趋于正常组织。

单个 miRNA 可调节多个靶基因,因此在不同细胞类型中该 miRNA 的功能各异,主要依赖于其调节的靶基因表达情况。随着对 miRNA 在结直肠癌中的作用的不断明了,miRNA 对于结直肠癌中的临床价值逐渐被挖掘出来,涉及诊断、治疗、预后各个方面。然而,由于之前的一些研究尚不成熟、miRNA 的测量手段没有统一、样本的选择存在差

异等问题,还需进一步的大量研究验证 miRNA 的临床价值。目前对于 miRNA 在结直肠腺瘤中的表达研究相对较少,而在这些有限的研究中,或样本含量少,或腺瘤病理类型少;本研究中管状腺瘤样本含量大,结果的一致性较好,但管状绒毛状腺瘤样本含量太少,且缺乏绒毛状腺瘤(这可能与单一的绒毛状腺瘤实际发病率较低有关)。我们将在下一步研究中扩大管状绒毛状腺瘤样本含量,并纳入绒毛状腺瘤,并进一步探索这些基因表达的靶向通路,结合临床资料,探讨这些基因表达与肿瘤分期、临床治疗、预后之间的相关性。

参 考 文 献

- Núñez-Sánchez MA, Dávalos A, González-Sarriás A, *et al.* MicroRNAs expression in normal and malignant colon tissues as biomarkers of colorectal cancer and in response to pomegranate extracts consumption: critical issues to discern between modulatory effects and potential artefacts. *Mol Nutr Food Res*,2015 Jun 23. doi:10.1002/mnfr.201500357.
- Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet*, 2014;383(9927):1490-1502.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide:sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*,2015;136(5):E359-E386.
- Cekaite L, Rantala JK, Bruun J, *et al.* MiR-9, -31, and -182 deregulation promote proliferation and tumor cell survival in colon cancer. *Neoplasia*,2012;14(9):868-879.
- Ye JJ, Cao J. MicroRNAs in colorectal cancer as markers and targets;recent advances. *World J Gastroenterol*,2014;20(15):4288-4299.
- Chen DL, Wang DS, Wu WJ, *et al.* Overexpression of paxillin induced by miR-137 suppression promotes tumor progression and metastasis in colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 2013; 34 (4):803-811.
- Han C, Yu Z, Duan Z, *et al.* Role of microRNA-1 in human cancer and its therapeutic potentials. *Biomed Res Int*, 2014; 2014:428371. doi:10.1155/2014/428371.
- Migliore C, Martin V, Leoni VP, *et al.* MiR-1 downregulation cooperates with MACC1 in promoting MET overexpression in human colon cancer. *Clin Cancer Res*,2012;18(3):737-747.
- Sarver AL, French AJ, Borralho PM, *et al.* Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states. *BMC Cancer*,2009;9:401. doi:10.1186/1471-2407-1189-1401.
- Zhu L, Chen H, Zhou D, *et al.* MicroRNA-9 up-regulation is involved in colorectal cancer metastasis via promoting cell motility. *Med Oncol*,2012;29(2):1037-1043.
- Chen T, Yao LQ, Shi Q, *et al.* MicroRNA-31 contributes to colorectal cancer development by targeting factor inhibiting HIF-1alpha (FIH-1). *Cancer Biol Ther*,2014;15(5):516-523.
- Lu MH, Huang CC, Pan MR, *et al.* Prospero homeobox 1 promotes epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells by inhibiting E-cadherin via miR-9. *Clin Cancer Res*,2012;18 (23):6416-6425.
- Zhou W, Li X, Liu F, *et al.* MiR-135a promotes growth and invasion of colorectal cancer via metastasis suppressor 1 in vitro. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*,2012; 44 (10): 838-846.
- Vickers MM, Bar J, Gorn-Hondermann I, *et al.* Stage-dependent differential expression of microRNAs in colorectal cancer:potential role as markers of metastatic disease. *Clin Exp Metastasis*,2012;29(2):123-132.
- Liang L, Li X, Zhang X, *et al.* MicroRNA-137, an HMGA1 target, suppresses colorectal cancer cell invasion and metastasis in mice by directly targeting FMNL2. *Gastroenterology*,2013; 144(3):624-635.
- Li HG, Zhao LH, Bao XB, *et al.* Meta-analysis of the differentially expressed colorectal cancer-related microRNA expression profiles. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014; 18 (14):2048-2057.
- Balaguer F, Link A, Lozano JJ, *et al.* Epigenetic silencing of miR-137 is an early event in colorectal carcinogenesis. *Cancer Res*,2010;70(16):6609-6618.
- Schee K, Boye K, Abrahamsen TW, *et al.* Clinical relevance of microRNA miR-21, miR-31, miR-92a, miR-101, miR-106a and miR-145 in colorectal cancer. *BMC Cancer*,2012;12:505. doi:10.1186/1471-2407-12-505.
- Drebber U, Lay M, Wedemeyer I, *et al.* Altered levels of the onco-microRNA 21 and the tumor-suppressor microRNAs 143 and 145 in advanced rectal cancer indicate successful neoadjuvant chemoradiotherapy. *Int J Oncol*,2011;39(2):409-415.
- Kamatani A, Nakagawa Y, Akao Y, *et al.* Downregulation of anti-oncomirs miR-143/145 cluster occurs before APC gene aberration in the development of colorectal tumors. *Med Mol Morphol*,2013;46(3):166-171.

(2015-09-04 收稿,2015-09-21 修回)

编辑 沈 进