

- [28] Midis GP, Fabian DF, Lefor AT. Lymphocyte migration to tumors after hyperthermia and immunotherapy[J]. J Surg Res, 1992, 52(5):530-536.
- [29] 赵庆孝, 杨鹏飞, 王玉凯, 等. 射频电极针的发展现状[J]. 中国医药导刊, 2011, 13(5):901-903.
- [30] 罗荣光, 顾仰葵, 高飞, 等. 单针灌注电极射频消融治疗肝脏肿瘤疗效分析[J]. 介入放射学杂志, 2010, 19(8):617-621.
- [31] Yamakado K, Nakatsuka A, Ohmori S, et al. Radiofrequency ablation combined with chemoembolization in hepatocellular carcinoma: treatment response based on tumor size and morphology[J]. J Vasc Interv Radiol, 2002, 13(12):1225-1232.
- [32] Sakr Ayman A, Abdel A. The combined effect of radiofrequency and ethanol ablation in the management of large hepatocellular carcinoma[J]. Eur J Radiol, 2004, 54(3):418-425.
- [33] Rau B. Prooperative treatment of rectal cancer with radiation, chemotherapy and hyperthmia; analysis of treatment efficacy and heat-shock response[J]. Radiat Res, 1999, 151(4):479-488.
- [34] Todryk SM, Eaton J, Birchall L, et al. Heated tumour cells of autologous and allogeneic origin elicit anti-tumour immunity[J]. Cancer Immunol Immunother, 2004, 53(4):323-330.

(收稿日期:2012-04-09)

• 综 述 •

糖化清蛋白检测临床意义研究进展

黄田海, 毛雁飞, 马兰花 综述, 谭琳琳 审校
(解放军第 324 医院, 重庆 400020)

关键词:糖尿病; 血糖; 血清白蛋白; 综述
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.18.026 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)18-2226-04

与非糖尿病(NDM)个体相比,糖尿病(DM)患者体内多种蛋白质可发生糖化作用,其中部分糖化蛋白质被认为与DM慢性并发症有关^[1-2]。在众多的糖化蛋白质中,糖化血红蛋白(HbA1c)被认为是判断DM患者血糖控制水平的金指标^[3-4]。糖尿病控制与并发症试验(DCTT)研究结果认为, HbA1c<7.0%是用于判断DM慢性并发症的理想指标^[5]。红细胞的生存周期一般为120 d,因此HbA1c水平反映的是几个月前的血糖含量^[6]。当在较短的时间内血糖控制水平出现波动时, HbA1c检测并不能反映血糖控制的真实水平。而且, HbA1c水平受红细胞生存周期的影响较大,尤其是当血红蛋白变异或其他疾病(如溶血性贫血、肾性贫血等)导致红细胞生存周期缩短时。此时, HbA1c水平已不能准确反映机体的血糖控制水平^[7-9]。由于果糖胺水平不受血红蛋白异常代谢的影响,因此,也曾用于评价血糖控制水平。果糖胺水平与血清中已转化为酮胺类的糖化蛋白质的水平有关。果糖胺的检测通常采用还原显色反应,即果糖胺在碱性溶液中具有还原性,能够还原硝基四氮唑蓝而产生色彩变化。果糖胺水平不受贫血或血红蛋白变异的影响。而且,在血液蛋白质中所占比例最大的清蛋白具有比血红蛋白更快的代谢速度。因此,较HbA1c而言,果糖胺水平能反映更短时间周期内的血糖控制水平^[10]。然而,果糖胺水平受血液蛋白质和相对分子质量较小的其他物质的水平影响较大(如胆红素、尿酸等)^[10]。

糖化清蛋白(GA)检测则可避免果糖胺检测所受到的上述因素的影响^[11]。GA也是一种酮胺类物质,是清蛋白与葡萄糖通过非酶促氧化反应相连接而生成的产物。与果糖胺类似,GA也是反映血糖控制水平的理想指标,且不受血红蛋白代谢状态的影响。而且,与HbA1c相比,GA反映的血糖控制水平的时间周期更短。GA检测曾采用高效液相色谱法(HPLC),步骤繁琐、耗时,且成本较高。目前,GA检测通常采用酶法,且大部分自动化生化分析仪都可用于GA检测^[12-13]。笔者现就GA检测以监控血糖控制水平的临床意义作简要综述。

1 血糖控制水平的短期变化

清蛋白的代谢半衰期明显短于血红蛋白,因此,当血糖控

制水平出现短期变化时,GA水平的改变更为迅速^[6,14]。有研究显示,在接受胰岛素治疗,但血糖控制效果欠佳的2型DM(T2DM)患者中, HbA1c水平仅从10.9%下降至10.0%,而GA水平从35.6%下降至25.0%;在所监测的2周时间中, HbA1c和GA水平分别下降了0.9%和10.6%,GA的下降幅度达到了HbA1c下降幅度的10倍以上^[15]。因此,GA能够比HbA1c更好地反映血糖控制水平受治疗因素的影响而出现短期变化。

1型DM(T1DM)发病更为迅速,尤其是当T1DM患者胰岛β细胞被迅速破坏时,患者血糖和血液酮胺类物质的水平在短时间内即可升高^[16]。研究显示,虽然T1DM患者体内HbA1c与GA水平呈正相关,但与T2DM患者相比,其回归曲线存在明显的上漂移;而且,由于T1DM患者血糖水平是在极短时间内升高的,因此,GA水平升高的幅度比HbA1c更为明显,且T1DM患者GA/HbA1c比值升高的幅度也明显大于T2DM患者。以GA/HbA1c≥3.2作为临界值时,其在T1DM和T2DM鉴别诊断中的灵敏度和特异度分别为97%和98%。因此,GA/HbA1c比值升高对于T1DM的诊断具有重要的临床意义^[17]。

2 餐后高血糖

流行病学研究显示,餐后高血糖是心血管疾病的危险因素之一。与空腹血糖相比,餐后血糖水平可能与心血管疾病的关系更为显著^[18-19]。因此,α葡萄糖苷酶抑制剂治疗能有效避免糖耐量受损或DM患者继发心血管疾病^[20-21]。HbA1c是反映血糖水平的指标之一。另一方面,与空腹血糖相比,GA与餐后血糖水平具有更高的相关性。研究显示,T1DM患者GA/HbA1c水平明显高于T2DM患者,且T1DM患者血糖水平的波动幅度也明显大于T2DM患者^[22]。由此可见,虽然T1DM和T2DM患者有可能具有相同的HbA1c水平,但前者的GA水平明显高于后者。因此,与HbA1c相比,GA能够更有效地反映餐后血糖水平和血糖波动范围。

研究显示,接受胰岛素治疗的T2DM患者,其GA/HbA1c水平明显高于接受饮食治疗或口服降糖药治疗的患者^[23]。胰

岛 β 细胞功能稳态模型评估法 (HOMA- β) 分析结果显示, 接受胰岛素治疗的患者分泌胰岛素的能力, 及 HOMA- β 明显低于未接受胰岛素治疗的患者。由此可见, GA/HbA1c 与 HOMA- β 存在明显的负相关, 说明内源性胰岛素分泌水平的降低与 GA/HbA1c 水平升高有关。另一方面, 在 T1DM 患者中, GA/HbA1c 水平与血糖水平也明显相关^[22]。因此, 胰岛素分泌减少有可能增加甘油酯的水平, 进而导致 GA/HbA1c 水平升高。持续性血糖监测 (CGM) 可实现血糖水平的 24 h 监控。CGM 数据显示, 对于甘油酯水平升高的 DM 患者而言, GA 与血糖水平波动的相关性较 HbA1c 和 1,5-脱水葡萄糖醇 (1,5-AG) 更为明显^[24]。口服糖耐量试验 (OGTT) 显示, 胃切除患者的血糖通常在口服葡萄糖 30~60 min 后仍处于很高的水平。接受了胃切除手术的 NDM 患者, 其 GA、HbA1c 和 GA/HbA1c 水平均高于未接受胃切除手术的 NDM 患者。由此可见, 胃切除术导致 GA 水平升高的幅度大于 HbA1c。这也说明 GA 能够更有效地反映餐后血糖水平。

GA 水平能够比 HbA1c 更有效地反映餐后高血糖的机制尚不明确, 可能与以下因素有关: (1) DM 患者血糖水平控制不佳且红细胞生存周期缩短^[25]; (2) 红细胞经 GLUT1 介导的葡萄糖摄取被下调, 导致 HbA1c 水平上升幅度较低^[26]; (3) 清蛋白和血红蛋白具有不同的糖化率^[27]; (4) 胰岛素或口服降糖药对清蛋白代谢的直接影响^[28]。

3 贫 血

溶血性疾病可缩短红细胞的生存周期, 因此, 溶血性疾病患者 HbA1c 水平可能低于血糖的真实水平^[7]。而缺铁性贫血 (IDA) 患者 HbA1c 水平可能高于血糖的真实水平^[29-30]。研究显示, 即使是处于铁缺乏期的患者, 其 HbA1c 水平都有可能高于血糖的真实水平^[31]。IDA 是最常见的贫血性疾病之一。由于绝经前妇女多数处于铁缺乏状态, 因此 HbA1c 水平高于血糖真实水平的情况在绝经前妇女中极为常见^[30,32]。另一方面, 当 IDA 患者接受铁剂治疗时, 由于红细胞生存周期存在缩短的可能, 因此 HbA1c 水平可出现一过性降低^[33-34]。而 GA 水平不受上述因素的影响, 因此更适合用于评价极易出现铁缺乏症的绝经前妇女的血糖水平^[34]。

4 妊 娠

对于已患有 DM 的孕妇和患有妊娠期糖尿病 (GDM) 的孕妇而言, 有效的血糖水平控制对降低宫内死胎发病率、避免胎儿生长异常和其他并发症具有重要意义^[35-36]。研究显示, 妊娠期内 HbA1c 水平可能存在双相性变化, 在孕 24 周时, HbA1c 水平可降至最低水平^[37-38]。孕早期和孕中期 HbA1c 水平降低可能与血糖水平减低有关, 而导致 HbA1c 水平在孕晚期上升的因素还不明确。有资料显示, NDM 孕妇在孕中期和孕晚期有可能出现 HbA1c 水平的升高, 而 GA 水平则无明显变化, 提示上述阶段 HbA1c 水平升高可能与血糖水平无关^[39]。孕妇在孕中期时对铁的需求极高, 也极易出现铁缺乏症。研究显示, NDM 和 DM 孕妇在孕中期即可出现 HbA1c 水平升高, 转铁蛋白饱和度和血清铁水平降低, 而 GA 水平无明显改变, 提示 HbA1c 水平的升高可能与孕妇处于铁缺乏状态有关^[40-41]。上述研究结果说明 HbA1c 不是用于评价妊娠期血糖控制水平的理想指标。而 GA 水平不受铁缺乏症的影响, 且可有效评价血糖控制水平的短期变化, 是评价妊娠期血糖控制水平的理想指标。

5 慢性肝脏疾病 (CLD)

肝脏是控制血糖水平的重要器官, 因此 CLD (如慢性肝

炎、肝硬化等) 患者极易出现糖代谢异常。约 70%~90% 的 CLD 患者存在糖耐量受损, 其中约 30%~60% 可能继发 DM^[42]。对 CLD 患者而言, 血糖控制水平往往与疾病预后密切相关^[43]。CLD 患者往往处于脾功能亢进状态, 因此其红细胞生存周期明显缩短, 导致 HbA1c 水平有可能不随患者血糖水平升高而上升^[44]。而 CLD 患者清蛋白代谢速率减慢, 导致清蛋白代谢半衰期延长, 因此 GA 和果糖胺水平有可能不随患者血糖降低而下降^[45-46]。由此可见, 目前尚没有十分理想的指标可用于准确判断 CLD 患者的血糖控制水平。但有研究显示 GA/HbA1c 水平可独立反映肝功能状况, 说明同时检测 CLD 患者 GA 和 HbA1c 水平具有重要的临床意义^[46-48]。

6 小 结

HbA1c 并非评价血糖控制水平的理想指标, 在多种病理状态下不能反映血糖控制的真实水平。GA 则能更为可靠地反映多种病理状态下的血糖控制水平, 这对病情评估、疗效评价和预后判断具有极其重要的临床意义。

参考文献

- [1] Taniguchi N. Initial reaction of protein glycation//Shigeta Y, Taniguchi N. Significance of protein glycation reaction in a living body [M]. Tokyo, Japan: Igaku-Shoin, 2007; 2-8.
- [2] Cohen MP. Nonenzymatic glycation: a central mechanism in diabetic microvasculopathy[J]. J Diabet Complications, 1988, 2(4): 214-217.
- [3] Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, et al. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 1976, 295(8): 417-420.
- [4] Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus[J]. Science, 1978, 20(1): 21-27.
- [5] The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 1993, 329(6): 977-986.
- [6] Tahara Y, Shima K. Kinetics of HbA1c, glycated albumin, and fructosamine and analysis of their weight functions against preceding plasma glucose level[J]. Diabetes Care, 1995, 18(4): 440-447.
- [7] Panzer S, Kronik G, Lechner K, et al. Glycosylated hemoglobin's (GHb): an index of red cell survival[J]. Blood, 1982, 59(10): 1348-1350.
- [8] Jeffcoate SL. Diabetes control and complications: the role of glycated haemoglobin, 25 years on[J]. Diabet Med, 2004, 21(4): 657-665.
- [9] Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin [J]. Clin Chem, 2001, 47(2): 153-163.
- [10] Armbruster DA. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness[J]. Clin Chem, 1987, 33(12): 2153-2163.
- [11] Guthrow CE, Morris MA, Day JF, et al. Enhanced nonenzymatic glycosylation of human serum albumin in diabetes mellitus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76(9): 4258-4261.
- [12] Kouzuma T, Usami T, Yamakoshi M, et al. An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples [J]. Clin Chim Acta, 2002, 324(1): 61-71.
- [13] Kouzuma T, Uemastu Y, Usami T, et al. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albu-

- min measurement method[J]. *Clin Chim Acta*, 2004, 346(2): 135-143.
- [14] Takahashi S, Uchino H, Shimizu T, et al. Comparison of glycated albumin (GA) and glycated hemoglobin (HbA1c) in type 2 diabetic patients: usefulness of GA for evaluation of short-term changes in glycemic control[J]. *Endocr J*, 2007, 54(1): 139-144.
- [15] Kohzuma T, Koga M, Lucica GA-L glycated albumin assay kit: a new diagnostic test for diabetes mellitus[J]. *Mol Diagn Ther*, 2010, 14(1): 49-51.
- [16] Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, et al. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM Study Group[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(5): 301-307.
- [17] Koga M, Murai J, Saito H, et al. Serum glycated albumin to hemoglobin A(1C) ratio can distinguish fulminant type 1 diabetes mellitus from type 2 diabetes mellitus[J]. *Ann Clin Biochem*, 2010, 47(Pt 4): 313-317.
- [18] The DECODE study group. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria[J]. *Lancet*, 1999, 354(5): 617-621.
- [19] Tominaga M, Eguchi H, Manaka H, et al. Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study[J]. *Diabetes Care*, 1999, 22(6): 920-924.
- [20] Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, et al. Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial[J]. *Lancet*, 2002, 359(9323): 2072-2077.
- [21] Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, et al. Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial[J]. *JAMA*, 2003, 290(4): 486-494.
- [22] Yoshiuchi K, Matsuhisa M, Katakami N, et al. Glycated albumin is a better indicator for glucose excursion than glycated hemoglobin in type 1 and type 2 diabetes[J]. *Endocr J*, 2008, 55(3): 503-507.
- [23] Koga M, Murai J, Saito H, et al. Glycated albumin and glycated hemoglobin are influenced differently by endogenous insulin secretion in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(2): 270-272.
- [24] Suwa T, Ohta A, Matsui T, et al. Relationship between clinical markers of glycemia and glucose excursion evaluated by continuous glucose monitoring (CGM) [J]. *Endocr J*, 2010, 57(2): 135-140.
- [25] Virtue MA, Furne JK, Nuttall FQ, et al. Relationship between GHb concentration and erythrocyte survival determined from breath carbon monoxide concentration[J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(4): 931-935.
- [26] Cohen RM, Holmes YR, Chenier TC, et al. Discordance between HbA1c and fructosamine: evidence for a glycosylation gap and its relation to diabetic nephropathy[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(1): 163-167.
- [27] Iberg N, Fluckiger R. Nonenzymatic glycosylation of albumin in vivo. Identification of multiple glycosylated sites[J]. *J Biol Chem*, 1986, 261(29): 13542-13545.
- [28] Tessari P, Kiwanuka E, Million R, et al. Albumin and fibrinogen synthesis and insulin effect in type 2 diabetic patients with normoalbuminuria[J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(2): 323-328.
- [29] Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin A1c in nondiabetic patients[J]. *Acta Haematol*, 2004, 112(1): 126-128.
- [30] Kim C, Bullard KM, Herman WH, et al. Association between iron deficiency and A1C Levels among adults without diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006 [J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(4): 780-785.
- [31] Koga M, Morita S, Saito H, et al. Association of erythrocyte indices with glycated haemoglobin in pre-menopausal women[J]. *Diabet Med*, 2007, 24(8): 843-847.
- [32] Koga M, Saito H, Mukai M, et al. Influence of iron metabolism indices on glycated haemoglobin but not glycated albumin levels in premenopausal women[J]. *Acta Diabetol*, 2010, 47(Suppl 1): 65-69.
- [33] Gram-Hansen P, Eriksen J, Mourits-Andersen T, et al. Glycosylated haemoglobin (HbA1c) in iron- and vitamin B12 deficiency [J]. *J Intern Med*, 1990, 227(2): 133-136.
- [34] Koga M, Hashimoto K, Murai J, et al. Usefulness of glycated albumin as an indicator of glycemic control status in patients with hemolytic anemia[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(3/4): 253-257.
- [35] Evers IM, de Valk HW, Mol BW, et al. Macrosomia despite good glycaemic control in type I diabetic pregnancy: results of a nationwide study in The Netherlands [J]. *Diabetologia*, 2002, 45(11): 1484-1489.
- [36] Lauenborg J, Mathiesen E, Ovesen P, et al. Audit on stillbirths in women with pregestational type 1 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(5): 1385-1389.
- [37] Phelps RL, Honig GR, Green D, et al. Biphasic changes in hemoglobin A1c concentrations during normal human pregnancy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1983, 147(6): 651-653.
- [38] Worth R, Potter JM, Drury J, et al. Glycosylated haemoglobin in normal pregnancy: a longitudinal study with two independent methods[J]. *Diabetologia*, 1985, 28(2): 76-79.
- [39] Sanaka M. Management of pregnant patients with diabetes mellitus[J]. *Diabetes J*, 2006, 34(2): 127-135.
- [40] Hashimoto K, Noguchi S, Morimoto Y, et al. A1C but not serum glycated albumin is elevated in late pregnancy owing to iron deficiency[J]. *Diabetes Care*, 2008, 31(10): 1945-1948.
- [41] Hashimoto K, Osugi T, Noguchi S, et al. A1C but not serum glycated albumin is elevated because of iron deficiency in late pregnancy in diabetic women[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(3): 509-511.
- [42] Bianchi G, Marchesini G, Zoli M, et al. Diabetes mellitus in chronic active hepatitis and cirrhosis[J]. *Gastroenterology*, 1984, 87(3): 688-694.
- [43] Giampaolo B, Giulio M, Marco Z, et al. Prognostic significance of diabetes in patients with cirrhosis[J]. *Hepatology*, 1994, 20(1 Pt1): 119-125.
- [44] Nomura Y, Nanjo K, Miyano M, et al. Hemoglobin A1 in cirrhosis of the liver[J]. *Diabetes Res*, 1989, 11(4): 177-180.
- [45] Trenti T, Cristani A, Cioni G, et al. Fructosamine and glycated hemoglobin as indices of glycemic control in patients with liver cirrhosis[J]. *Ric Clin Lab*, 1990, 20(4): 261-267.
- [46] Bando Y, Tachibana Y, Fukuoka K, et al. Clinical study of long-term glycemic control makers in patients with chronic liver disease[J]. *J Jpn Diab Soc*, 1997, 40(1): 17-24.
- [47] Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, et al. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c: analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial[J]. *Diabetes Care*, 2002, 25(2): 275-278.

[48] Koga M, Kasayama S, Kanehara H, et al. CLD (chronic liver disease)-HbA1c as a suitable indicator for estimation of mean plasma glucose in patients with chronic liver disease[J]. Diabetes Res

Clin Pract, 2008, 81(2): 258-262.

(收稿日期: 2012-01-09)

• 综 述 •

血清 microRNA 作为肿瘤生物标志物的研究进展*

许欣宜 综述, 杜冀晖[△] 审核

(广东医学院附属深圳南山医院中心实验室, 广东深圳 518052)

关键词: 微 RNAs; 肿瘤; 生物学标记; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 18. 027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)18-2229-03

microRNA (miRNA) 作为一类独特的小分子非编码 RNA, 能够在转录后水平调控蛋白合成, 参与多种生物学信号通路的调节^[1]。肿瘤患者血液循环中存在源自肿瘤的 miRNA, 且组织或血清中 miRNA 的异常表达与多种恶性肿瘤的发生和发展密切相关。由于 miRNA 在不同肿瘤中具有特定的表达模式, 且 miRNA 在血液中有较高的稳定性和特异性, 血清 miRNA 有望成为新兴的肿瘤诊断和预后的生物标志物。本文对血清 miRNA 作为循环生物标志物在肿瘤诊断中的应用研究进展作一综述。

1 miRNA 与肿瘤的发生、发展相关

miRNA 是一类长度为 18-24 nt 的非编码单链小分子, 是基因表达的重要调节分子。miRNA 可结合 mRNA 的 3' 端非编码区 (UTR), 通过降解 mRNA 或抑制翻译影响 RNA 稳定性和蛋白质翻译效率。目前已知的人 miRNA 达到 2 148 个 (Sanger miRBase18.0 数据库)^[2]。每个 miRNA 可调节数百个靶基因, 涉及细胞生命活动中众多的信号转导途径, 在细胞增殖、分化、凋亡、免疫反应及血管生成等过程中发挥作用^[3]。miRNA 表达异常会使细胞增殖和分化失去控制, 最终导致肿瘤的发生。

miRNA 具有较好的组织特异性, 在不同肿瘤中具有特定的表达模式, 并在肝癌、肺癌、肠癌、卵巢癌和白血病等多种恶性肿瘤中得到了证实^[4]。采用 miRNA 芯片对来自 6 种实体瘤 (乳腺、结肠、肺、胰腺、前列腺和胃) 的共 540 个样本 (363 个肿瘤样本, 177 个相应的正常组织样本) miRNA 表达谱的研究结果提示, 存在一组包含 21 种 miRNA 差异表达的 miRNA 标记谱, 在至少 3 种不同类型的肿瘤中表达有差异, 其中 miR-21 在 6 种肿瘤中均为过表达, miR-17-5p 和 miR-191 在 5 种肿瘤中为过表达^[5]。miRNA 表达还具有肿瘤发生的阶段特异性, 同一种肿瘤在不同分期具有不同的 miRNA 表达谱。miR-31 在结肠癌中的表达水平高于正常结肠黏膜, 且与晚期 TNM 分期及肿瘤浸润程度呈正相关^[6]。不同类型及不同进展期的肿瘤有不同组合的、表达异常的 miRNA 表达谱, 使得 miRNA 有望成为肿瘤诊断新的生物学标志物和治疗药物作用靶标。

2 血清游离 miRNA 的来源与特性

2008 年 Lawrie 等^[7]首次证实可从血清中提取并确定游离 miRNA 的含量, Chen 等^[8]则应用 Solexa 高通量测序技术亦证实分离自血清的小 RNA 主要成分是 miRNA。

2.1 血清游离 miRNA 的来源 过滤和差速离心证实 miR-

NAs 并非来源于循环血细胞^[9]。目前有关循环 miRNA 的来源主要有两种观点: (1) 来源于组织损伤后的被动释放, 如 miRNA-208 在心脏组织特异性表达, 当心肌组织损伤后可在血清中检测到^[10]。肿瘤组织因快速增殖和细胞溶解死亡, 大量 miRNA 也会被动释放到循环中。(2) 成熟的 miRNA 在细胞内被脂质或脂蛋白包被成外切体或超微小泡后分泌至胞外并进入血液, 可经内吞作用进入受体细胞并去包被, 释放 miRNA 发挥生物学功能^[11]。有研究发现, 外周血中源自肿瘤细胞的外切体数量与卵巢癌分期高度相关, 而且其内含的 miRNA 与原始肿瘤细胞中的 miRNA 含量相关, 提示外切体内含的 miRNA 在肿瘤发生、发展中可能发挥重要作用^[12]。

2.2 血清游离 miRNA 的特性 内源性循环 miRNA 在血清中非常稳定, 可能与其能和蛋白等结合形成复合体有关, 从而能有效抵抗 RNase 的降解^[13]。体液中的游离 miRNA 可耐受煮沸、高/低 pH、RNase 等处理, 在反复冻融 8 次、室温放置 24 h 等情况下, 其含量仍保持相对稳定^[8-9], 说明血清 miRNA 具有作为理想的生物标志物所需的某些特性, 为血清 miRNA 作为生物标志物用于临床检测提供了可能。

3 血清 miRNAs 作为肿瘤诊断标志物的应用研究

尽管肿瘤组织 miRNA 表达谱与肿瘤发病及预后相关, 但由于肿瘤组织检测技术复杂、创伤大, 难以真正应用于临床诊断。外周血检测具有无创伤、可重复、多指标同时检测等优点, 因此更适于临床应用。

Lawrie 等^[7]最早报道肿瘤特异性血清 miRNA 表达异常, 与健康者相比, 弥漫性 B 细胞淋巴瘤患者血清 miRNA-21 含量明显升高。为验证血清中是否存在来自肿瘤的游离 miRNA 分子, Mitchell 等^[9]将人前列腺癌细胞 22Rv1 接种至 NOD/SCID 小鼠体内, 在小鼠血浆中可检测到源自人肿瘤细胞、而在小鼠中没有同源基因的 miR-629* 和 miR-660, 且含量与移植瘤大小有关, 证实来源于上皮细胞肿瘤的 miRNA 也可以进入血液循环; 进一步的小样本病例对照研究 (25 例患者和 25 例健康者) 发现, 前列腺癌患者血清 miR-141 含量明显增高, 对前列腺癌的诊断特异度为 100% 时, 其灵敏度为 60%, 与前列腺特异性抗原具有较好的相关性。Ng 等^[14]用定量 PCR 分析结肠癌 (CRC) 患者癌组织、癌旁组织、血浆及健康者血浆 miRNA 表达谱, 发现 5 种 miRNA 在 CRC 组织和患者血浆中均升高, 其中 miR-92 和 miR-17-3p 在 CRC 患者血浆中显著升高, 并在肿瘤切除后显著降低; 更大样本的验证研究显示, miR-92

* 基金项目: 广东省深圳市科技计划项目 (201002167)。△ 通讯作者, E-mail: jihuidu@163.com。