

pert Rev Mol Diagn, 2011, 11(5):473-485.

[8] Pachmann K, Clement JH, Schneider CP, et al. Standardized quantification of circulating peripheral tumor cells from lung and breast cancer[J]. Clin Chem Lab Med, 2005, 43(6):617-627.

[9] 黄其宇. 利用免疫磁珠分离法(IMS)从患者粪便中检出 EHEC-O157H7 菌[J]. 中国医学检验杂志, 2001, 2(3):204-204.

[10] Devriese LA, Bosma AJ, van de Heuvel MM, et al. Circulating tumor cell detection in advanced non-small cell lung cancer patients by multi-marker QPCR analysis[J]. Lung Cancer, 2012, 75(2):242-247.

[11] 刘志东, 许绍发, 李云松, 等. 非小细胞肺癌循环肿瘤细胞的定量检测[J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25(9):1130-1131.

[12] Alunni-Fabbini A, Sandri M. Circulating tumor ceus in clinical practice: methods of detection and possible characterization[J]. Methods, 2010, 50(4):289-297.

[13] Lagoudianakis EE, Katakaki A, Manouras A, et al. Detection of epithelial cells by RT-PCR targeting CEA, CK20, and TEM-8 in colorectal carcinoma patients using Onco Quick density gradient centrifugation system[J]. J Surg Res, 2009, 155(2):183-190.

[14] Wu C, Hao H, Li L, et al. Preliminary investigation of the clinical significance of detecting circulating tumor cells enriched from lung cancer patients[J]. J Thorac Oncol, 2009, 4(1):30-36.

[15] 许峰, 吴翼伟, 章斌. 血清 IGF-1 及 CEA、CYFRA21-1、NSE 联合检测在肺癌诊治中的价值[J]. 中华核医学杂志, 2011, 31(3):205-209.

[16] Dong Q, Huang J, Zhou Y, et al. Hematogenous dissemination of lung cancer cells during surgery: quantitative detection by flow cytometry and prognostic significance[J]. Lung Cancer, 2002, 37(3):293-301.

[17] 沈宗丽, 朱月清, 庄一平, 等. 流式细胞术检测肺癌患者 P16 蛋白表达水平的应用价值[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(10):1051-1053.

[18] 马靓, 茅国新. 外周血 Lunx mRNA、Muc1 mRNA、CEA 联合检测对非小细胞肺癌微转移的诊断价值[J]. 实用肿瘤杂志, 2011, 26(5):481-485.

[19] Zhao S, Yang H, Zhang M, et al. Circulating tumor cells(CTCs) detected by triple-marker EpCAM, CK19 and hMAM RT-PCR and their relation to clinical outcome in metastatic breast cancer patients[J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 65(2):263-273.

[20] Ozkumur E, Shah AM, Ciciliano JC, et al. Inertial focusing for tumor antigen-dependent and independent sorting of rare circulating tumor cells[J]. Sci Transl Med, 2013, 5(179):179ra47.

[21] Coumans FA, Doggen CJ, Attard G, et al. All circulating EpCAM⁺CK⁺CD45⁻ objects predict overall survival in castration-resistant prostate cancer[J]. Ann Oncol, 2010, 21(9):1851-1857.

[22] Naito T, Tanaka F, Ono A, et al. Prognostic impact of circulating tumor cells in patients with small cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2012, 7(3):512-519.

[23] Hou JM, Krebs M, Ward T, et al. Circulating tumor cells as a window on metastasis biology in lung cancer[J]. Am J Pathol, 2011, 178(3):989-996.

[24] Hiltermann TJ, Pore MM, van den Berg A, et al. Circulating tumor cells in small-cell lung cancer: a predictive and prognostic factor[J]. Ann Oncol, 2012, 23(11):2937-2942.

[25] 嵇金陵, 何晓东, 索美芳, 等. 利用新型免疫磁珠富集原理检测肺癌患者外周血循环肿瘤细胞[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(8):727-732.

[26] Hou JM, Greystoke A, Lancashire L, et al. Evaluation of circulating tumor cells and serological cell death biomarkers in small cell lung cancer patients undergoing chemotherapy[J]. Am J Pathol, 2009, 175(2):808-816.

[27] Hirose T, Murata Y, Oki Y, et al. Relationship of circulating tumor cells to the effectiveness of cytotoxic chemotherapy in patients with metastatic non-small-cell lung cancer[J]. Oncol Res, 2012, 20(2/3):131-137.

[28] Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(4):274-284.

[29] 李晓琳, 谢鹏, 孟雪, 等. 表皮生长因子受体分子显像与基因突变在非小细胞肺癌中的研究进展[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2012, 32(5):393-396.

(收稿日期:2014-03-25)

• 综 述 •

ERS 与 miRNAs 间的相互作用在类风湿关节炎中的研究进展*

刘玮玮¹, 张富强², 吴 茜¹综述, 李光迪^{1△} 审校

(兰州大学第二医院:1. 检验科;2. 骨科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 内质网应激; 微小 mRNA; 类风湿关节炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.19.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)19-2656-03

类风湿关节炎是一种慢性的,以滑膜炎为主要特征的自身免疫性疾病^[1]。类风湿关节炎的发病机制十分复杂,目前的研究发现,内质网应激和微小 RNA 可能参与了其病理过程。目前,就内质网应激或微小 RNA 单独对类风湿关节炎的影响已有相关研究涉及,但此二者共同在类风湿关节炎的发生、发展中产生的作用鲜有报道。现就内质网应激与微小 RNA 间的

相互作用及其与类风湿关节炎的关系进行综述。

1 内质网应激和微小 RNA 的概述

细胞蛋白质翻译后的修饰和折叠主要在内质网中完成。很多外在因素,如热量、射线、感染和缺氧等均可损伤内质网正常功能,表现为大量未完成折叠或错误折叠的蛋白质在细胞内质网中聚集,并将引发细胞产生应激反应,这种现象称为内质

* 基金项目:甘肃省科技支撑项目(041255)。 作者简介:刘玮玮,女,在读研究生,主要从事自身免疫性疾病研究工作。 △ 通讯作者, E-mail:guangdi843133@163.com。

网应激。微小 RNA 是一类内源性非编码 RNA,通过基因表达的调控来发挥重要作用。大量的研究发现,细胞内质网应激和微小 RNA 相互作用从而参与复杂的生理过程。本文通过探讨内质网应激和微小 RNA 的相互作用及其与类风湿关节炎的关系,以期对类风湿关节炎的发生和发展机制的研究,以及新的治疗方案提供思路。

2 内质网应激在类风湿关节炎发病机制中的作用

2.1 内质网应激的生理及病理意义 内质网参与真核细胞中蛋白质合成、折叠与分泌。它通过增强蛋白质折叠能力、停滞大多数蛋白质的翻译、加速蛋白质的降解等一系列控制系统,防止未折叠或错误折叠的蛋白在内质网腔内聚集和堆积^[2]。如果未完成折叠的蛋白质或发生错误折叠的蛋白质在内质网中大量蓄积,将导致胞内发生未折叠蛋白质反应(unfolded protein response,UPR)。这个过程称之为内质网应激。这是外界病理或生理环境变化促使细胞进行的一种应激状态。越来越多的研究表明,UPR 在很多疾病的发病机制中起到重要作用,如代谢性疾病、神经系统疾病、自身免疫性疾病等^[3]。内质网应激的 3 条信号通路中的重要分子分别是双链 RNA 依赖的蛋白激酶样 ER 激酶(PERK)、激活作用转录因子 6(ATF6)、肌醇需酶-1(IRE1),一般用这 3 个参与 UPR 的标志性分子来提示内质网应激的发生^[4-5]。在内质网应激诱导的 UPR 中,IRE1 发挥重要作用。作为一种定位于内质网的跨膜蛋白,IRE1 同时具有蛋白激酶和核糖核酸酶(ribonuclease)活性。哺乳动物中有两种 IRE1,分别为 IRE1 α 和 IRE1 β 。IRE1 α 在不同组织中广泛表达,IRE1 β 主要分布在消化道上皮细胞^[6]。IRE1 α -X 盒结合蛋白 1(XBP1)通路是 UPR 3 种通路中进化最为保守的一种,并在一些疾病的发生和发展中起关键作用^[7]。

2.2 IRE1 α -XBP1 通路介导的内质网应激在类风湿关节炎中的作用 急性感染时,在 UPR 过程中 IRE1 首先被激活,然后通过其核糖核酸内切酶结构域对 XBP1 mRNA 进行剪接,使其成为 UPR 中的强转录激活因子,激活的 IRE1 α 及其下游的 XBP1 在巨噬细胞中促进前炎症因子的释放^[8-9]。由于巨噬细胞在类风湿关节炎的滑膜炎过程中起核心作用,可促进多种炎症因子的释放^[10],诱发类风湿关节炎局部炎症细胞的堆积,导致关节局部形成炎症细胞的浸润环境。上述现象同样已在类风湿关节炎的患者及类风湿关节炎疾病的动物模型中观察到。有研究显示,类风湿关节炎患者的关节滑液中 IRE1 α 呈高水平表达,而在敲除 IRE1 α 基因后发现类风湿关节炎小鼠的炎症得到明显抑制^[11],说明内质网应激可能与类风湿关节炎的病程进展有一定的联系。UPR 的标志分子 IRE1 α 是催化 XBP1 剪切的唯一酶^[12],因此,剪切后的 XBP1 表达水平的增高也可间接反映 UPR 水平。此外,有学者发现,影响新陈代谢及心血管疾病的危险因素(包括高血压、肥胖、高血糖、血脂异常等)都可激活 IRE1 α ,且在类风湿关节炎患者中非常普遍^[13]。这些危险因素,在类风湿关节炎的微环境中升高,也可能是 IRE1 α -XBP1 通路引起类风湿关节炎发生和发展的一种途径。

2.3 氧化应激诱导的内质网应激与类风湿关节炎的联系 类风湿关节炎患者在过氧化能力增强的同时,抗氧化能力会减弱。一定量的活性氧可触发恶性循环,产生氧化应激,而在类风湿关节炎病理进程中,氧化应激本身亦有促进的作用^[14]。活性氧攻击的重要目标中,内质网为其中之一。内质网中的蛋白质在活性氧作用下被氧化修饰,并在内质网内蓄积,从而抑

制蛋白质合成,而内质网内钙离子被耗损殆尽,进而触发内质网应激反应发生^[15],这也提示过氧化诱发的内质网应激反应可能与类风湿关节炎的发生互为因果,但究其具体作用机制目前尚未明确。

3 微小 RNA 在类风湿关节炎中的作用

3.1 微小 RNA 的生物起源及功能 微小 RNA 是一类近年来发现的长约 22 个核苷酸的内源性非编码单链小分子 RNA 片段^[16],在 RNA 聚合酶的作用下,细胞核内编码微小 RNA 的基因转录生成初级微小 RNA,初级微小 RNA 长度可达数千个碱基。而在经典微小 RNA 的合成途径中一种 DGCR8/Drosha 微处理复合体将初级微小 RNA 剪切为前体微小 RNA。输出蛋白 5 作为核质/细胞质转运蛋白,发挥转运功能,帮助前体微小 RNA 从核内被运输到细胞质中。而后在 Dicer 酶的作用下^[17],把前体微小 RNA 剪切成 21~25 个核苷酸长度,最后在 RNA 解旋酶作用下生成成熟的微小 RNA,成熟的微小 RNA 结合到 RNA 诱导的基因沉默复合物(RNA-induced silencing complex,RISC)而发挥作用^[18]。

3.2 微小 RNA 与类风湿关节炎 类风湿关节炎的病因至今并不十分明确,但目前已有研究表明微小 RNA 的异常表达与类风湿关节炎的发生和发展密切相关^[19]。在类风湿关节炎患者中,异常表达的微小 RNA 主要有以下这些:微小 RNA-146a、微小 RNA-155、微小 RNA-124a、微小 RNA-203、微小 RNA-132、微小 RNA-223、微小 RNA-16、微小 RNA-498、微小 RNA-363、微小 RNA-323-3p。

4 内质网应激调节的微小 RNA 与类风湿关节炎

大量证据表明内质网应激与微小 RNA 之间通过相互作用参与诸多重要的生理过程^[20-22]。如 Semaan 等^[23]发现 XBP1 是激活微小 RNA-346 表达的关键因素,而微小 RNA-346 在控制炎症方面发挥重要作用;此外 Huntzinger 等^[24]发现,微小 RNA-30c-2* 是 XBP1 表达的潜在调节器,而内质网应激介导的微小 RNA-30c-2* 的表达直接参与了 PERK 通路对核因子 κ B 的激活^[22]。在内质网应激反应早期,细胞产生内质网应激伴侣参与蛋白质的折叠和转运,维持细胞稳态,促进细胞的增殖和存活^[9],而滑膜细胞的过度增殖和凋亡不足有可能参与类风湿关节炎的关节软骨和骨组织损害。据报道,类风湿关节炎患者的滑膜细胞存在异常的凋亡过程,其滑膜组织中凋亡的细胞频率较低,这些异常与凋亡相关基因表达异常有关^[25]。内质网应激途径也可能通过与凋亡基因相互作用而参与其中^[26]。已有文献证实微小 RNA-17 和微小 RNA-34a 在类风湿关节炎患者的滑膜成纤维细胞中介导细胞凋亡^[27]。在无细胞系统中发现重组的 IER1 α 持续激活会在离 Dicer 酶一定距离的位置选择性地切割微小 RNA,导致微小 RNA-17、微小 RNA-34a、微小 RNA-96 和微小 RNA-125b 表达迅速下降,从而降低细胞凋亡的水平。为了研究 IRE1 α 如何抑制微小 RNA 的表达,Upton 等^[28]以微小 RNA-17 为代表进行研究,结果发现激活的 IRE1 α 并没有影响初级微小 RNA-17 的表达,却降低了前体微小 RNA-17 及成熟微小 RNA-17 的表达。说明 IRE1 α 在微小 RNA 的合成阶段对其进行影响。然而在类风湿关节炎中 IRE1 α 是否影响微小 RNA 的表达并没有明确研究。

5 展望

内质网应激介导的微小 RNA 对类风湿关节炎影响的研究为类风湿关节炎的诊断与治疗提供了新的思路,但还存在很多未知领域。PERK、ATF-6 对类风湿关节炎是否也如 IER1 α

XBP1 通路一样,可以选择性切割一些微小 RNA 的表达,有待于进一步研究。

参考文献

[1] Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis[J]. Nature, 2003, 423(6937): 356-361.

[2] Shore GC, Papa FR, Oakes SA. Signaling cell death from the endoplasmic reticulum stress response[J]. Curr Opin Cell Biol, 2011, 23(2): 143-149.

[3] Martinon F, Chen X, Lee AH, et al. TLR activation of the transcription factor XBP1 regulates innate immune responses in macrophages[J]. Nat Immunol, 2010, 11(5): 411-418.

[4] Lee AH, Heidtman K, Hotamisligil GS, et al. Dual and opposing roles of the unfolded protein response regulated by IRE1 alpha and XBP1 in proinsulin processing and insulin secretion[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(21): 8885-8890.

[5] Dong D, Ni M, Li J, et al. Critical role of the stress chaperone GRP78/BiP in tumor proliferation, survival, and tumor angiogenesis in transgene-induced mammary tumor development[J]. Cancer Res, 2008, 68(2): 498-505.

[6] Han D, Lerner AG, Vande Walle L, et al. IRE1alpha kinase activation modes control alternate endoribonuclease outputs to determine divergent cell fates[J]. Cell, 2009, 138(3): 562-575.

[7] Sha H, He Y, Yang L, et al. Stressed out about obesity: IRE1alpha-XBP1 in metabolic disorders[J]. Trends Endocrinol Metab, 2011, 22(9): 374-381.

[8] Harama D, Koyama K, Mukai M, et al. A subcytotoxic dose of subtilase cytotoxin prevents lipopolysaccharide-induced inflammatory responses, depending on its capacity to induce the unfolded protein response[J]. J Immunol, 2009, 183(2): 1368-1374.

[9] Yoo SA, You S, Yoon HJ, et al. A novel pathogenic role of the ER chaperone GRP78/BiP in rheumatoid arthritis[J]. J Exp Med, 2012, 209(4): 871-886.

[10] 奚正德, 葛海良. 巨噬细胞及其表达和分泌产物在类风湿性关节炎发病中的作用[J]. 自然杂志, 2009, 31(5): 262.

[11] Qiu Q, Zheng Z, Chang L, et al. Toll-like receptor-mediated IRE1alpha activation as a therapeutic target for inflammatory arthritis[J]. EMBO J, 2013, 32(18): 2477-2490.

[12] Zhang K, Wang S, Malhotra J, et al. The unfolded protein response transducer IRE1alpha prevents ER stress-induced hepatic steatosis[J]. EMBO J, 2011, 30(7): 1357-1375.

[13] 彭志庆, 李革革, 初颜兵, 等. IRE1alpha 促进人牙周膜成纤维细胞增殖[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(5): 435-437

[14] Ishibashi T. Molecular hydrogen: new antioxidant and anti-inflam-

matory therapy for rheumatoid arthritis and related diseases[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(35): 6375-6381.

[15] Vijayakumar D, Suresh K, Manoharan S. Lipid peroxidation and antioxidant status in blood of rheumatoid arthritis patients[J]. Indian J Clin Biochem, 2006, 21(1): 105-110.

[16] Chan EK, Ceribelli A, Satoh M. MicroRNA-146a in autoimmunity and innate immune responses[J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72 Suppl 2: S90-95.

[17] Pauley KM, Cha S, Chan EK. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases[J]. J Autoimmun, 2009, 32(3/4): 189-194.

[18] Kim VN, Nam JW. Genomics of microRNA[J]. Trends Genet, 2006, 22(3): 165-173.

[19] Furer V, Greenberg JD, Attur M, et al. The role of microRNA in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases[J]. Clin Immunol, 2010, 136(1): 1-15.

[20] Dai R, Li J, Liu Y, et al. miR-221/222 suppression protects against endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis via p27 (kip1) and MEK/ERK-mediated cell cycle regulation[J]. Biol Chem, 2010, 391(7): 791-801.

[21] Behrman S, Acosta-Alvear D, Walter P. A CHOP-regulated microRNA controls rhodopsin expression[J]. J Cell Biol, 2011, 192(6): 919-927.

[22] Byrd AE, Aragon IV, Brewer JW. MicroRNA-30c-2* limits expression of proadaptive factor XBP1 in the unfolded protein response[J]. J Cell Biol, 2012, 196(6): 689-698.

[23] Semaan N, Frenzel L, Alsaleh G, et al. miR-346 controls release of TNF-alpha protein and stability of its mRNA in rheumatoid arthritis via tristetraprolin stabilization[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e19827.

[24] Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay[J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(2): 99-110.

[25] 崔淑华. 动脉粥样硬化中巨噬细胞凋亡与内质网应激机制[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2011, 31(4): 315-318.

[26] 杨海燕, 刘新伟, 马亚飞, 等. 低 pH 液灌注对兔缺血再灌注心肌内质网应激与细胞凋亡的影响研究[J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(1): 31-34.

[27] Niederer F, Trenkmann M, Ospelt C, et al. Down-regulation of microRNA-34a* in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts promotes apoptosis resistance[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(6): 1771-1779.

[28] Upton JP, Wang L, Han D, et al. IRE1alpha cleaves select microRNAs during ER stress to derepress translation of proapoptotic caspase-2[J]. Science, 2012, 338(618): 818-822.

(收稿日期: 2014-04-29)

• 综 述 •

结直肠癌与人组织激肽释放酶关系的研究进展

李 青¹综述, 陈英剑², 胡成进^{2△}审校

(1. 辽宁医学院, 辽宁锦州 121001; 2. 济南军区总医院实验诊断科, 山东济南 250031)

关键词: 人组织激肽释放酶; 结直肠癌; 分子生物学

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 19. 038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)19-2658-04

全球每年死于结直肠癌的患者约为 50 万, 新诊断病例约 100 万^[1]。如何降低结直肠癌的病死率成为当前亟待解决的