

MicroRNAs 在肝母细胞瘤诊断、鉴别诊断及预后评估中的研究进展

成英杰 单 慈 石寒菡 顾 松

【摘要】 肝母细胞瘤(hepatoblastoma, HB)在儿童恶性肿瘤中较为罕见,多见于5岁以下儿童,男性较多见,约占儿童原发性肝脏恶性肿瘤的80%。其中仅95%的肝母细胞瘤存在甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)异常升高,而且与病理类型、肿瘤分期等相关性不大。仅通过异常升高的AFP水平进行肝母细胞瘤诊断、鉴别诊断及预后评估存在一定的局限性。目前已有诸多研究发现miRNAs在HB的发生、发展中起重要作用,且具有高度组织特异性、保守性和时序性,在不同病理类型的HB中mRNAs呈特异性表达。因此,有望联合AFP与microRNAs进行HB的分子分型,组成HB的分子指纹,用于肝母细胞瘤诊断、鉴别诊断及预后评估,具有重要的参考意义。

【关键词】 肝母细胞瘤; MicroRNAs; 生物学标记物; 分子分型; 诊断; 预后评估

【中图分类号】 R735.7 R730.45 R730.7

Research advances of MicroRNAs in the diagnosis, differential diagnosis and prognostic evaluation of hepatoblastoma. Cheng Yingjie, Shan Ci, Shi Hanhan, Gu Song. Department of Oncological Surgery, Affiliated Shanghai Children's Medical Center, Medical School of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China. Corresponding author: Gu Song, Email: gusongscmc@163.com

【Abstract】 As an extremely rare type of pediatric malignant carcinoma, hepatoblastoma (HB) is commonly found in boys aged under 5 years. It accounts for proximately 80% of primary malignant hepatic tumors in children. An abnormal elevation of α -fetoprotein (AFP) occurred only in 95% of HB children. And it was not significantly correlated with pathological type or tumor staging. There is some limitation for making the diagnosis, differential diagnosis and prognostic evaluation of hepatoblastoma merely through an abnormal elevation of AFP level. As demonstrated by many studies, playing important roles in the occurrence and development of HB, miRNAs had high levels of tissue specificity, conservatism and sequence and were specifically expressed in different pathological types of HB. Thus hopefully a combined biomarker of AFP and microRNAs may be utilized for molecular typing of HB. And HB fingerprint shall provide vital references for the diagnosis, differential diagnosis and prognostic evaluation of HB.

【Key words】 Hepatoblastoma; MicroRNAs; Biomarker; Molecular classification; Diagnosis; Prognostic Evaluation

肝母细胞瘤(hepatoblastoma, HB)源于胚胎发育时期未分化的肝脏母细胞,发病率约为1/1 500 000~1/1 000 000,其中80%~90%发生在5岁以下,男女发病比例1.5~2.0:1.0,约占儿童原发性肝脏恶性肿瘤的80%。HB起病隐匿,早期多无症状,患儿

常以偶然发现腹部肿块而就诊。主要病理学类型包括上皮型和混合型,上皮型完全由上皮细胞构成,分为4个亚型:单纯胎儿型(31%)、胚胎型(19%)、巨小梁型(3%)和小细胞分化型(3%),混合型(44%)则为上皮组织与间叶组织混合^[1]。临床上,单纯胎儿型预后最好,小细胞分化型预后最差。目前,HB的病因尚未明确,其发病的高危因素包括:早产、极低出生体重儿(VLBW, <1 500 g)、先兆子痫、胎儿水肿、羊水过多及遗传性疾病等^[2-4]。国际儿童肝脏肿瘤战略协会(International Childhood Liver Tumors Strategy Group, SIOPEL)建议术前化

DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.08.009

基金项目: 国家临床重点专科建设项目(编号:国卫办医函[2013]544号);上海市科学技术委员会医学引导(编号:134119a7600);上海交通大学“医工交叉研究基金”(编号:YG2015MS36)

作者单位: 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心普外科(上海市,200127)

通信作者: 顾松, Email: gusongscmc@163.com

疗,其5年总体生存率可达70%以上^[5]。HB中仅95%的肝母细胞瘤患儿存在甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)异常升高,且与病理类型、肿瘤分期等相关性不大。如果仅通过异常升高的AFP水平进行肝母细胞瘤诊断、鉴别诊断及预后评估则存在一定局限性。目前已有多个研究发现miRNAs在HB的发生、发展中有重要作用,且具有高度组织特异性、保守性和时序性,在HB不同病理类型中也具有特异性表达,有助于组成HB的分子指纹,用于HB诊断、鉴别诊断及预后评估。本文就此相关的研究进展做一个综述。

一、MicroRNAs

MicroRNAs(miRNAs)是一类具有调控功能的内源性非编码单链RNA,通过和靶基因mRNA配对引导RISC降解mRNA或者阻断mRNA的翻译,从而抑制蛋白质合成或调控基因的转录后表达^[6]。单一miRNA可与200多个功能不同的靶标结合,miRNAs调控了人类约1/3的基因。miRNAs在细胞增殖、干细胞分化和细胞凋亡等生物学过程中发挥了重要作用。miRNAs的异常表达与肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌等多种恶性肿瘤的发生、发展密切相关^[7-10]。miRNAs能够作为致癌基因参与恶性肿瘤的发生,通过影响细胞迁徙和细胞侵袭力而影响肿瘤的病程,也可作为抑癌基因抑制恶性肿瘤的形成;特定miRNAs的敲除或过表达可能成为肿瘤药物研究的新靶点^[11]。同时,miRNAs具有高度时序性、保守性和组织特异性,因其在疾病发展的不同阶段和不同组织来源的病变中表达,可被作为特定的生物标记物,在肿瘤的诊断和预后中有重要意义^[12]。

二、MicroRNAs与肝母细胞瘤的诊断及鉴别诊断

HB早期一般无明显症状,多因家属发现患儿腹部肿块而就诊。目前,HB的诊断除影像学检查和病理学检查外,血清中AFP水平不同程度升高也是一项指标^[13,14]。随着对HB研究的深入,诸多研究发现miRNAs的表达失调与HB的发生有关,miRNAs的表达水平和表达模式在肿瘤患儿和正常对照中以及HB的不同分型中并不完全相同^[14,15]。另外,Liu等^[16]及Jiao等^[17]对HB患儿血清外泌体中microRNAs表达的研究发现,microRNA-21及microRNA-34s水平的改变较AFP改变更为灵敏。因此,特定的miRNAs可成为HB诊断和预后的新型生物标记物。

Gyugos等^[14]报道,与非肿瘤肝脏组织相比,HB患儿样本组织中6种miRNAs的表达有显著改变,即miR-17-5P、miR-122、miR-195、miR-210以及miR-214的表达水平下调,而miR-221表达水平上调,从而为HB的诊断提供了新思路。同时,该研究发现,microRNAs在肝母细胞瘤的临床分型中也存在应用价值。胎儿型HB的组织成分和非肿瘤肝组织之间miRNAs的表达水平差异最大,而在胚胎型HB的组织成分中,仅发现miR-122的表达水平低于非肿瘤肝组织。对胎儿型HB和胚胎型HB的组织成分进行比较发现,miR-18a在胚胎型HB组织中表达水平更高,但尚没有进一步研究表明胎儿型和胚胎型HB中miRNAs的表达存在明显差异。

一些研究表明miR-492和miR-483也可作为HB的生物标记物^[18-20]。将不同来源肝胚细胞瘤HepT1细胞株、HB组织、原发性肝癌组织与正常组织进行对比研究,发现miR-492在前两类肿瘤中的表达高于正常组织,而原发性肝癌组织中miR-492的表达未观察到显著变化,提示miR-492与HB等某些特定的肝脏肿瘤有关^[18]。Frowein等^[19]研究表明与KRT19相关miR-492的高表达通过靶向基因CD44在HB转移的发生中起重要作用。同样,Salavatore等^[20]研究发现miR-483两种成熟体的表达和功能对于HB的确诊和与其他肝脏疾病的鉴别诊断有重要意义。miR-483-3p和miR-483-5p是从人胚肝中发现的,在约50%人类肿瘤中,miR-483的表达都呈上调,其中包括肝细胞癌(hepatocellular, HCC)。研究结果显示,HB患儿中miR-483-5p的表达水平比miR-483-3p更高,而非HB患儿中miR-483-3p的表达水平更高。除对肿瘤组织中microRNAs表达的研究以外,也有研究表明血清外泌体中microRNAs的表达可用于肿瘤的诊断和预后的评估。Liu等^[16]研究发现HB患儿外泌体中miR21的水平明显高于无外泌体的血清和全血中miR21的水平。Jiao等^[17]研究发现HB患儿血清外泌体中miR34s的表达低于正常对照组。这为HB早期快速诊断提供了新思路。

在15岁及以下的青少年中,HB和HCC是两种最常见的肝脏恶性肿瘤^[21]。由于HB较为罕见,常为散发,常用于诊断肝脏恶性肿瘤的生物标记物(如CTNBN1, APC, IGF-2等)在HB的确诊中并不完全有效。因而,miRNAs表达水平的检测或许能够帮助鉴别HB和HCC等肝脏恶性肿瘤。Magrelli等^[15]研究表明,与HCC组织中miRNAs的表达相

比,HB组织中有4种miRNAs的表达明显上调(miR-214、miR-199a、miR-150以及miR-125a),同时miR-148a的表达明显下调。

三、MicroRNAs与肝母细胞瘤的预后评估

1. 肝母细胞瘤相关预后因素。HB的预后与许多因素有关,包括肿瘤病理特点、AFP水平、血管浸润、转移和PRETEXT术前分期等^[22,23]。HB预后不良的因素包括瘤体直径 ≥ 10 cm、缺乏包膜、瘤组织分化差和有瘤栓形成。血清AFP水平 $> 1 \times 10^6$ $\mu\text{g/L}$ 或 < 100 $\mu\text{g/L}$ 、PRETEXT分期较高的患儿往往预后较差,且常对化疗不敏感^[24]。此外,在HB的诸多病理分型中,纯胎儿型预后最好,而小细胞未分化型和巨小梁型分化最差^[23,25]。

2. MicroRNAs与肝母细胞瘤生存率。上皮型HB中多种miRNAs在各亚型中的不同表达与患者存活率有关,尤其是miR-34家族。Jiao等^[26]研究发现,在接受外科切除术的HB患儿体内,miR-34家族在肿瘤组织中表达较正常组织低。随后,研究人员将miR-34家族进行了不同组合。miR-34a、miR-34b和miR-34c低表达,miR-34a和miR-34b低表达,miR-34a和miR-34c低表达在多变量分析中都是影响HB患儿生存率的独立危险因素。此外,miR-34a、miR-34b和miR-34c低表达对HB患儿的预后也有重要影响。

3. MicroRNAs与肝母细胞瘤患儿的生存分析。Gyugos等^[14]随访研究发现,HB总生存期与miR-21、miR-222、miR-224表达水平有关。miR-222和miR-224表达水平升高以及miR-21表达水平降低导致了总生存期减少(对应3种miRNAs,平均总生存期分别为92.50个月、57.63个月和55.56个月)。相反,miR-222和miR-224表达水平降低以及miR-21表达水平升高导致了总生存期增加(对应3种miRNAs,平均总生存期分别为101.78个月、132.78个月和144.50个月)。

miR-371-3家族包括miR-371、miR-372、miR-373,其特异性表达于胚胎干细胞中,在细胞增殖时迅速减少其过度表达或可提示细胞侵袭能力或者致癌能力增强^[27]。Cairo等^[28]发现miR-373在浸润性HB亚型中表达量有所升高。同时,在miR-373表达水平明显升高的HB中,瘤体直径 ≥ 10 cm的比例显著升高,且肿瘤直径有随miR-373表达量升高而增大的趋势。

四、结论

肝母细胞瘤是儿童常见的原发性肝脏恶性肿

瘤,仅通过异常升高的AFP水平进行诊断、鉴别诊断及预后评估存在一定的局限性。目前,已有多个研究发现miRNAs在HB的发生、发展中具有重要作用,且具有高度组织特异性、保守性和时序性,在不同病理类型的HB中也具有特异性表达。因此,有望通过AFP与microRNAs的组合进行HB的分子分型,组成HB的分子指纹,用于肝母细胞瘤诊断、鉴别诊断及预后评估。

参考文献

- 1 金晟,施诚仁. 儿童肝母细胞瘤研究现状[J]. 临床儿科杂志,2014,32(10):988-992. DOI:10.3969/j.issn.1000-3606.2014.10.31.
Jin S, Shi CR. Current research of hepatoblastoma in children [J]. J Clin Ped, 2014, 32(10):988-992. DOI:10.3969/j.issn.1000-3606.2014.10.31.
- 2 Heck JE, Meyers TJ, Lombardi C, et al. Case-control study of birth characteristics and the risk of hepatoblastoma [J]. Cancer Epidemiol, 2013, 37(4):390-395. DOI:10.1016/j.canep.2013.03.004.
- 3 Turcotte LM, Georgieff MK, Ross JA, et al. Neonatal Medical Exposures and Characteristics of Low Birth Weight Hepatoblastoma Cases; A Report From the Children's Oncology Group [J]. Pediatr Blood Cancer, 2014, 61(11):2018-2023. DOI:10.1002/pbc.25128.
- 4 Duffy KA, Deardorff MA, Kalish JM. The utility of alpha-fetoprotein screening in Beckwith-Wiedemann syndrome [J]. Am J Med Genet A, 2017, 173(3):581-584. DOI:10.1002/ajmg.a.38068.
- 5 Allan BJ, Parikh PP, Diaz S, et al. Predictors of survival and incidence of hepatoblastoma in the paediatric population [J]. HPB (Oxford), 2013, 15(10):741-746. DOI:10.1111/hpb.12112.
- 6 Salvatore M, Magrelli A, Taruscio D. The role of microRNAs in the biology of rare disease [J]. Int J Mol Cell Med, 2011, 12(10):6733-6742. DOI:10.3390/ijms12106733.
- 7 Li J, Li X, Kong X, et al. MiRNA-26b inhibits cellular proliferation by targeting CDK8 in breast cancer [J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(3):558-565.
- 8 Huang L, Li F, Deng P, et al. MicroRNA-223 promotes tumor progression in lung cancer A549 cells via activation of the NF- κ B signaling pathway [J]. Oncol Res, 2016, 24(6):405-413. DOI:10.3727/096504016x14685034103437.
- 9 Alhaidari AA, Syk I, Thorlacius H. MiR-155-5p positively regulates CCL17-induced colon cancer cell migration by targeting RhoA. [J]. Oncotarget, 2017, 8(9):14887-14896.

- DOI:10.18632/oncotarget.14841.
- 10 Min P, Li W, Zeng D, et al. A single nucleotide variant in microRNA-1269a promotes the occurrence and process of hepatocellular carcinoma by targeting to oncogenes SPATS2L and LRP6 [J]. *Bull Cancer*, 2017, 104 (4) : 311-320. DOI: 10.1016/j.bulcan.2016.11.021.
 - 11 Cristóbal I, Sanz-Álvarez M, Luque M, et al. The role of MicroRNAs in hepatoblastoma tumors [J]. *Cancers*, 2019, 11 (3) : 409. DOI: 10.3390/cancers11030409.
 - 12 王棕, 赵春华. miRNA 与癌症发生 [J]. *癌症进展*, 2011, 9(2) : 124-127. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1535.2011.02.003.
Wang L, Zhao CH. miRNA and carcinogenesis [J]. *Oncol Prog*, 2011, 9(2) : 124-127. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1535.2011.02.003.
 - 13 陶肇瑩, 王珊. 小儿肝母细胞瘤的诊断与治疗进展 [J]. *世界临床医学*, 2016, 10(13) : 100-101.
Tao ZK, Wang S. Progress in diagnosis and treatment of infantile hepatoblastoma [J]. *The World Clinical Medicine*, 2016, 10(13) : 100-101.
 - 14 Gyugos M, Lendvai G, Kenessey I, et al. MicroRNA expression might predict prognosis of epithelial hepatoblastoma [J]. *Virchows Archiv*, 2014, 464 (4) : 419-427. DOI: 10.1007/s00428-014-1549-y.
 - 15 Magrelli A, Azzalin G, Salvatore M, et al. Altered microRNA Expression Patterns in Hepatoblastoma Patients [J]. *Transl Oncol*, 2009, 2(3) : 157-163. DOI: 10.1593/tlo.09124.
 - 16 Liu W, Sheng C, Bing L. Diagnostic and prognostic values of serum exosomal microRNA-21 in children with hepatoblastoma: a Chinese population-based study [J]. *Pediatr Surg Int*, 2016, 32(11) : 1059-1065. DOI: 10.1007/s00383-016-3960-8.
 - 17 Jiao C, Jiao X, Zhu A, et al. Exosomal miR-34s panel as potential novel diagnostic and prognostic biomarker in patients with hepatoblastoma [J]. *Pediatr Surg*, 2017, 52 (4) : 618-624. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.09.070.
 - 18 杨美, 郭晓东, 周艳贤, 等. miRNA-492 在肝癌中表达变化的研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(10) : 1908-1910.
Yang M, Guo XD, Zhou YX, et al. Expression of miRNA-492 in hepatocellular carcinoma [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2013, 13(10) : 1908-1910.
 - 19 von Frowein J, Hauck SM, Kappler R, et al. MiR-492 regulates metastatic properties of hepatoblastoma via CD44 [J]. *Liver Int*, 2018, 38 (7) : 1280-1291. DOI: 10.1111/liv.13687.
 - 20 Salvatore M, Magrelli A, Flamini V, et al. Hepatoblastoma and microRNA-483 Two Forms and One Outcome [J]. *Genet Syndr Gene Ther*, 2016, 7 : 278. DOI: 10.4172/2157-7412.1000278.
 - 21 Roebuck DJ, Perilongo G. Hepatoblastoma: an oncological review [J]. *Pediatr Radiol*, 2006, 36 (3) : 183-186. DOI: 10.1007/s00247-005-0064-3.
 - 22 Ismail H, Broniszczak D, Kaliciński P, et al. Changing treatment and outcome of children with hepatoblastoma: analysis of a single center experience over the last 20 years [J]. *J Pediatr Surg*, 2012, 47 (7) : 1331-1339. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.11.073.
 - 23 Zhang Y, Zhang WL, Huang DS, et al. Clinical efficacy and prognosis factors for advanced hepatoblastoma in children: a 6-year retrospective study [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(8) : 4583-4589. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.8.4583.
 - 24 Qiao GL, Li L, Cheng W, et al. Predictors of survival after resection of children with hepatoblastoma: A single Asian center experience [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2014, 40 (11) : 1533-1539. DOI: 10.1016/j.ejso.2014.07.033.
 - 25 Qiao GL, Chen Z, Wang C, et al. Pure fetal histology subtype was associated with better prognosis of children with hepatoblastoma: A Chinese population-based study [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 31 (3) : 621-627. DOI: 10.1111/jgh.13165.
 - 26 Jiao C, Zhu A, Jiao X, et al. Combined low miR-34s are associated with unfavorable prognosis in children with hepatoblastoma: A Chinese population-based study [J]. *J Pediatr Surg*, 2016, 51(8) : 1355-1361. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.02.091.
 - 27 Ruby JG, Jan C, Player C, et al. Large-scale sequencing reveals 21U-RNAs and additional microRNAs and endogenous siRNAs in *C. elegans* [J]. *Cell*, 2006, 127 (6) : 1193. DOI: 10.1016/j.cell.2006.10.040.
 - 28 Cairo S, Wang Y, de Reyniès A, Durore K, et al. Stem cell-like micro-RNA signature driven by Myc in aggressive liver cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2010, 107 (47) : 20471. DOI: 10.1073/pnas.1009009107.
- (收稿日期: 2018-03-28)
- 本文引用格式:** 成英杰, 单慈, 石寒菡, 等. MicroRNAs 在肝母细胞瘤诊断、鉴别诊断及预后评估中的研究进展 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2019, 18(8) : 660-663. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.08.009.

Citing this article as: Cheng YJ, Shan C, Shi HH, et al. Research advances of MicroRNAs in the diagnosis, differential diagnosis and prognostic evaluation of hepatoblastoma [J]. *J Clin Ped Sur*, 2019, 18(8) : 660-663. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.08.009.