

结直肠癌中microRNA标志物临床诊断价值的研究进展

裴傲秋¹, 罗 茂², 何晓彬¹

Recent Progress of microRNA as Colorectal Cancer Clinical Biomarker

PEI Aoqiu¹, LUO Mao², HE Xiaobin¹

1. The Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China; 2. Research Center for Drug, Luzhou Medical College

Corresponding Author: LUO Mao, E-mail: luomao20050908@163.com

Abstract: Colorectal cancer is the commonest malignancy. Its occurrence, development, diagnosis and prognosis have become a hot topic in current clinical researches. microRNAs (miRNAs) are an extensive class of endogenous, non-coding, short (19-25 nt) RNA molecules and have the extensive adjustment in human life activities. Recent researches have revealed aberrant expression of miRNAs could contribute to the development and progression of colorectal cancer, indicating that miRNAs could be a novel biomarker in clinical early diagnosis and prognosis evaluation of colorectal cancer. This review focuses on the recent progress of miRNAs in colorectal cancer, including research progress of miRNA as the diagnosis, treatment and prognosis clinical biomarker of colorectal cancer, regulatory mechanisms of miRNAs in colorectal cancer and broad clinical application prospects of miRNAs as the novel colorectal cancer clinical biomarker.

Key words: Colorectal cancer; miRNA; Early diagnosis; Prognosis; Clinical biomarker; Regulatory mechanisms

摘 要: 结直肠癌是最常见的消化道恶性肿瘤, 其发生、发展及诊疗、预后已成为当前临床研究关注的热点。microRNAs (miRNAs) 是一类内源性的、19~25个碱基长度的小分子非编码RNA, 在人体生命活动中具有广泛的调节功能。目前发现, 部分miRNAs异常表达与结直肠癌的发生、发展密切相关, 提示miRNAs可作为结直肠癌临床早期诊断及预后评估的特异性新型生物标志物。文章综述了miRNAs作为结直肠癌临床早期诊断、预后和治疗结果评估生物标志物的研究进展, 揭示结直肠癌miRNAs参与的基因表达调控机制, 展望miRNAs作为结直肠癌新型诊断分子标志物及治疗靶点的广阔临床应用前景。

关键词: 结直肠癌; miRNA; 早期诊断; 预后评估; 生物标志物; 调控机制

中图分类号: R730.4; R735.3 **文献标识码:** A

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的消化道恶性肿瘤, 在我国发病率逐年增高, 其发生、发展及诊疗、预后已成为当前临床研究关注的热点^[1]。尽管大量研究力图揭示结直肠癌诊断及预后有效监测途径, 但至今为止, 临床诊疗方案决议仍只能取决于肿瘤影像学或病理学检测结果。临床诊断的限制性可能导致部分高风险CRC患者和低风险CRC患者不能明确区分, 相应地导致患者可能接受不到充分治疗或经受不必要的治

疗^[1]。因此, 查明结直肠癌生物病理机, 研发结直肠癌临床早期诊断及预后评估等特异性新型生物标志物已成为当前结直肠癌临床治疗的关键。

microRNAs (miRNAs)是一类内源性的、19~25个碱基长度的小分子非编码RNA, 它可以通过与靶基因mRNA分子的3'端非编码区(3'-UTR)互补匹配导致靶mRNA分子的翻译抑制, 进而在人体内生命活动中发挥重要调控作用, 广泛参与肿瘤的发生、发展和转移, 既能扮演致癌基因角色, 也能发挥重要抑癌基因作用^[2-3]。近来, 部分研究揭示部分miRNAs异常表达与CRC的发生、发展密切相关, 提示miRNA可作为CRC临床早期诊断及预后评估的特异性新型生物标志物^[4]。本文综述miRNA作为结直肠癌临床早期诊断、预后和治疗结果评估生物标志物的研究进展, 揭示结直肠癌miRNA参与的分子调控机制, 展望miRNA作为结直

收稿日期: 2013-06-17; 修回日期: 2013-07-26

基金项目: 四川省教育厅青年项目资助课题(11ZB123); 四川省卫生厅资助项目(120371)

作者单位: 1. 646000 四川泸州, 泸州医学院临床医学院; 2. 泸州医学院药物研究中心

通信作者: 罗茂, E-mail: luomao20050908@163.com

作者简介: 裴傲秋(1982-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤内科研究

肠癌新型诊断分子标志物及治疗靶点的广阔临床应用前景。

1 结直肠癌miRNA诊断标志物

结直肠癌临床早期诊断可有效降低发病率与死亡率。目前结肠镜检查术已成为临床结直肠癌高危人群诊断“金标准”，然而，结肠镜检查术的侵入性及高昂费用限制其广泛应用^[4-5]。因此，寻求患者接受、临床实用的新型结直肠癌诊断标志物成为当前临床研究的热点。

1.1 结直肠癌血清/血浆miRNA诊断标志物

研究显示癌胚抗原（CEA）是结直肠癌血清/血浆中唯一的分子标志物，但特异性差、低敏感度等缺陷限制CEA临床应用，尤其不适用于结直肠癌早期诊断^[6]。部分研究揭示，人体外周血液内包含高浓度、高稳定性游离态miRNAs，参与体内大量细胞信号转导通路及遗传信息转化^[7]。由于肿瘤发生与miRNA异常表达密切相关，不同肿瘤类型存在各自特异性异常表达的miRNAs，其中部分miRNAs将被分泌进入血液循环^[7-8]。据此，研究推测，血清/血浆中的部分肿瘤分泌循环miRNAs可能是结直肠癌临床诊断分子标志物。

Ng等^[9]利用miRNA芯片与荧光定量PCR验证挖掘结直肠癌血浆内差异表达miRNAs，鉴定可能的结直肠癌临床诊断miRNA分子标志物，研究表明miR-17-92基因簇中miR-17-3p和miR-92a的高水平表达与结直肠癌密切相关，并且结直肠癌患者手术后血浆内miR-17-3p和miR-92a表达水平显著降低，这一结果证实结直肠癌细胞能够分泌异常表达的miRNAs进入血液循环。进一步研究发现miR-92a诊断结直肠癌的敏感度为89%，特异性为70%，并且miR-92a能够区别结直肠癌与其他胃肠道癌症和炎性肠病，研究推测miR-92a可能是潜在的结直肠癌早期诊断标志物。Huang等^[10]研究进一步证实miR-92a的诊断潜力，研究发现结直肠癌患者体内血浆包含高水平miR-92a，其诊断敏感度和特异性与Ng等^[9]研究结果一致。

Chen等^[11]深度测序挖掘结直肠癌血清miRNAs，共获得显著性差异表达结直肠癌血清特有miRNAs 69个。研究进一步显示这些miRNAs中80%同样也存在于肺癌血清内，提示仅少量显著性差异表达结直肠癌血清miRNAs可以最终发展为特定的结直肠癌诊断标志物。并且，研究推测不同类型肿瘤血清内存在共同的癌变相关miRNAs，其中部分异常表达miRNAs可能只是由于肿瘤诱导体内其他源头（如

免疫细胞）产生。Wang等^[12]研究利用miRNA芯片挖掘CRC患者和健康人血浆差异表达miRNA，结果显示CRC患者血浆中miR-10a、miR-19a、miR-24、miR-92a、miR-125a-5p、miR-141、miR-150、miR-188-3p、miR-192、miR-210、miR-221、miR-376a、miR-495、miR-572、miR-601、miR-720、miR-760、hsa-let-7a和hsa-let-7e等表达下调，进一步qRT-PCR验证结果显示，CRC患者血浆内miR-601和miR-760表达水平显著降低，研究推测血浆miR-601和miR-760可能是潜在的CRC患者早期诊断标志物。Luo等^[13]最新研究提出当前应深入研究鉴定结直肠癌血清/血浆单个miRNA功能，进入使用多个血清/血浆miRNAs组合作为特定的结直肠癌诊断标志物。

1.2 结直肠癌排泄物miRNA诊断标志物

近年来，基于粪便等排泄物作为结直肠癌非侵入式筛选测验方法已被临床广泛应用，其中利用愈创木脂进行的粪便隐血试验（FOBT）是当前临床最广泛应用的结直肠癌筛选途径^[14]。然而，由于结直肠癌不规则出血、消化残留物中红肉的出现及其他导致胃肠道出血等原因，导致结直肠癌粪便隐血试验的特异性和敏感度相对较低，如部分直径大于1cm的晚期肿瘤不能被FOBT检出^[14-15]。随后，部分研究收集粪便中包含的不断从肠道和肿瘤位点脱落的结肠上皮细胞，检测结直肠癌，理论上这些脱落结肠上皮细胞携带大量重要的遗传和表观遗传学信息，后续测试可进行如突变基因或异常表达mRNAs、蛋白及miRNAs等检测^[16]。

相对于mRNAs和蛋白易降解特性，内源性miRNA被RNase酶包装、保护，更容易被检出。但是，粪便内环境较血清/血浆内环境复杂恶劣，并且研究推测粪便的总RNA中人RNA所占比较小小于1%，据此，研究指出临床研发粪便miRNAs的结直肠癌诊断标志物，必须满足多个标准，主要包括可测性、再现性、可预测性等^[16-17]。2009年，Ahmed等^[18]开拓性尝试从粪便试样中分离筛选结直肠癌miRNA标志物，研究独创了一个新的粪便miRNA检测程序，主要包括粪便分离、粪便中miRNA提取及定量分析。研究进一步揭示，部分miRNAs的异常表达水平可区分健康人与CRC引起的溃疡性结肠炎，还能区分CRC的不同Dukes分期，如CRC患者Dukes分期处于晚期的患者粪便中包含高水平miR-21、miR-106a、miR-96、miR-203、miR-20a、miR-326和miR-92，而miR-320、miR-126、miR-484-5p、miR-143、miR-145、miR-16和miR-125b在CRC患者Dukes分期处于晚期的粪便中表达水平较低^[18]。由于Ahmed等^[18]研究样本较少，不能显示其筛选获得结直肠癌miRNA标志物的统计学意义，部分研究对Ahmed等^[18]结论

产生质疑,如Link等^[16]利用miRNA芯片筛选比较健康者粪便与健康者结肠黏膜上皮组织miRNA,结果显示两组样品中284个miRNA表达模式高度相似,不同个体或同一个体不同时间粪便miRNA表达模式也很相似,进一步研究显示,结直肠癌和结肠腺癌患者粪便中miR-21、miR-106a表达水平较高,但miR-21、miR-106a表达水平与肿瘤分期呈负相关关系,并且CRC与健康对照组粪便中miR-143、miR-17、miR-622和miR-65-3p表达水平无明显差异。Koga等^[19]结合免疫磁珠与上皮细胞黏附因子抗体(EpCAM)分离纯化获取粪便内结肠上皮细胞,实时定量qPCR检测结果显示CRC患者与健康人粪便内结肠miR-21表达水平变化差异无统计学意义,但CRC患者粪便内包含高表达水平的miR-135、miR-17-92簇,研究提示粪便内部分特异性差异表达miRNAs可作为早期CRC无创性生物诊断标志物。另外,部分研究显示广泛应用于组织、细胞系中miRNA表达定量内参RNU6B的表达与粪便总RNA浓度没有任何关联,且粪便RNU6B降解迅速,检测率较低,提示粪便内miRNA表达检测应使用其他持续表达小分子RNAs作为标准化内参基因,如18s rRNA、miR-16等^[4]。

Ahlquist等^[20]研究推测CRC早期粪便中肿瘤细胞及大多数肿瘤分子标志物比血液中更容易被检出,提示进行粪便miRNA标志物检测在CRC癌前病变筛查中极具优势,但近端区域脱落的结肠上皮细胞运输距离较长,且过多暴露于细胞毒性药物内,将导致临床取样或保存试样量很少。假设上述机制为粪便miRNA的普遍现象,那么临床利用粪便miRNA诊断右侧结肠癌的可能性较小。尽管当前临床miRNA标志物实践应用尚处于初期,并且相关miRNA诊断标志物研究进展均未超过临床前阶段,但这些研究结果提示深入进行CRC粪便miRNA筛选检测,深入研究其分子机制,将可获取高特异性、高敏感度及再现性的CRC临床miRNA诊断标志物。

2 结直肠癌miRNA预后标志物

尽管近年来外科手术技术已获得长足改进,但可手术肿瘤CRC患者仍有较高的术后局部复发风险,并且不同患者个体对临床辅助疗法的反应也不尽相同。目前,临床筛查重要功能CRC miRNA,并使其作为CRC预后标志物的研究已广泛开展。部分临床前期和临床研究表明,部分miRNA特异性差异表达可用于CRC预后评估,揭示miR-21可能是重要的CRC预后分子标志物^[21-23]。Slaby等^[21]研究显示CRC患者体内上调表达miR-21与淋巴结阳性及远程转移密切相关。随后,两个

研究团队先后利用miRNA芯片筛选鉴定不同种族、不同地域结直肠癌预后miRNA分子标志物,其中Schetter等^[22]研究共挖掘37个表达异常的CRC预后miRNAs,结果显示5个高表达水平miRNAs(miR-20a、miR-21、miR-106a、miR-181b、miR-203)与CRC预后患者低存活率密切相关,进一步研究揭示,亚洲CRC患者较差预后与高水平肿瘤miR-21显著相关,并且高表达水平miR-21的CRC患者与临床辅助疗法反应较差及CRC三期患者易迅速复发等密切相关。Kulda等^[23]研究证实CRC初期高水平miR-21与较短的无瘤间隔期(DFI)密切联系,但与总生存期(OS)无关,进一步研究发现尽管CRC肝转移过程伴随高表达水平miR-21,但其表达水平与DFI或OS无关。miR-31是调控肿瘤转移的重要因子,在CRC细胞系和组织中异常表达。Bandrés等^[24]研究显示CRC四期患者miR-31表达显著高于CRC二期。Wang等^[25]研究证实miR-31表达水平与CRC病理分期(包括局部侵袭)密切相关。

部分研究显示,微卫星状态与CRC进程及患者对辅助疗法的反应相关。2007年,Lanza等^[26]首次报道微卫星状态与多个肿瘤miRNA芯片数据存在关联,研究鉴定了14个在肿瘤微卫星稳定性(MSS)和微卫星高不稳定性(MSI-H)之间差异表达的miRNAs。Schepeler等^[27]利用miRNA芯片分析49个CRC患者TNM二期临床样本,结果显示miR-142-3p、miR-212、miR-151和miR-144组合可从肿瘤微卫星稳定性(MSS)中显著分离肿瘤微卫星不稳定性(MSI),分离敏感度为92%,特异性为81%。进一步研究表明芯片结果中有17个miRNAs能够在CRC转移复发状态中分离微卫星稳定性(MSS)亚型,其结果准确度为81%,敏感度为77%,特异性为83%。在这17个miRNAs中,高表达水平的miR-320和miR-498与CRC患者较长无进展生存期(PFS)密切相关。随后,Earle等^[28]研究显示,上调表达的miR-92、let-7a和miR-145与低微卫星不稳定状态(MSI-L)相关,然而表达水平升高的miR-155、miR-223、miR-31和miR-26b却与高微卫星不稳定状态(MSL-H)相关。

3 结直肠癌miRNA治疗结果预测标志物

目前,以氟尿嘧啶类药物为基础的辅助疗法已广泛应用于CRC临床治疗^[29]。研究显示对第四代氟尿嘧啶类药物S-1反应的CRC患者体内miR-181b和let-7g表达水平较低,但miR-181b和let-7g与CRC患者存活期无关^[30]。Song等^[31]研究发现miR-215通过下调p53所依赖的无齿状蛋白同系物(DTL),进而提高细胞周期基因p53和p21的表

达, 诱导G₂期增殖抑制, 增强HCT116对甲氨蝶呤(MTX)和雷替曲赛(TDX)的药物抵抗, 但对顺铂和阿霉素无任何影响, 研究进一步指出尽管临床CRC患者miR-215下调表达, 但CRC干细胞中存在高水平表达的miR-215。

西妥昔单抗是一种对抗表皮生长因子受体(EGFR)的单克隆抗体, 可用于治疗野生型(KRAS)转移性结直肠癌^[32]。Ragusa等^[32]研究显示突变型KRAS转移性结直肠癌中miR-146b-3p和miR-46-5p丰度比野生型KRAS中更高, 研究提出下调表达的let-7b、let-7e和上调表达的miR-17-3p可能是潜在的西妥昔单抗加化疗的联合治疗结果预测标志物。

部分miRNAs可参与调节放射敏感度, 如Svoboda等^[33]研究表明直肠癌患者经卡培他滨同步放化疗(CRT)治疗后短期内诱导miR-125b和miR-137下调表达, 并且更高诱导患者体内miR-125b和miR-137表达与治疗效果反应较差有关。Ahmed等^[18]研究显示CRC细胞系HT29经两组X线照射后, HT29内miRNA表达模型不同, 但研究的临时实践价值尚待深入探究。

4 结直肠癌miRNA与单核苷酸多态性(SNP)相关性及其对治疗反应的影响

单核苷酸多态性(SNP)是染色体基因组水平上单个核苷酸变异引起的序列多态性。SNP不仅是遗传标记, 也可通过调控基因表达影响个体对不同疾病的易感性, 与多种肿瘤疾病存在显著相关性^[34]。研究揭示人miRNA基因及其靶点基因存在SNP, 这些SNP可通过影响miRNA对靶基因的调控过程进而调控相关疾病的易感性或药物反应性^[34]。Landi等^[35]研究首次揭示结直肠癌miRNA的靶基因结合序列存在的SNP显著增加CRC发病风险。Lee等^[36]研究显示结直肠癌miR-492C/G和G/G基因型患者的无进展生存期(PFS)显著短于C/C基因型患者, 但总生存期(OS)无明显差异, 并且多变量分析结果表明已鉴定的结直肠癌miRNA相关基因SNP与患者生存期也无明显关联。

极度保守区域(UCR)可编码一类非编码RNA, 这些RNA的表达受相关miRNA调控。Yang等^[37]研究证实UCR的SNP与癌症易感性密切相关。Wojcik等^[38]研究随机选取28个白种人的极度保守区域并测序, 同时在35名CRC患者中鉴定4个序列突变的极度保守区域, 但这些序列突变UCR并未在相应无CRC对照个体中出现。研究进一步推测CRC患者uc.276的90位点A>G碱基替换可干扰miR-214和miR-887联系。Lee等^[36]研究韩国426位CRC患者治疗反应, 结果显示定位于miRNA前体的17个SNP

(包括rs1834306和rs7372209)并未影响CRC患者存活率。这些结果均提示miRNA相关基因SNP作为可能的CRC预后标志物尚待深入研究。

5 结语

随着miRNA研究迅猛发展, 大量研究揭示miRNA在肿瘤的发生、发展和转移, 既能扮演致癌基因角色, 也能发挥重要抑癌基因作用, miRNA为我们对肿瘤的诊断与治疗提供了新的分子标志物及新型治疗靶点, 其中包括结直肠癌。本文综述部分特异性差异表达miRNAs作为结直肠癌临床早期诊断、预后和治疗结果预测等分子标志物的研究进展, 然而, 当前具有临床实用价值的结直肠癌miRNA生物标志物很少, 虽然近期研究揭示了大量潜在的结直肠癌miRNA生物标志物, 但如果要将其应用于临床诊断及治疗, 还需进一步的深入研究。另外, 部分研究推测结直肠癌粪便miRNA中可能包含高特异性、高敏感度及再现性的miRNA诊断标志物, 但结直肠癌粪便miRNA研究仍处于初期, 推测结直肠癌粪便miRNA的研究, 势必成为未来探讨结直肠癌复杂分子机制、鉴定结直肠癌miRNA诊断标志物的一个热点。

大量关于结直肠癌与miRNA关系的研究已基本揭示出miRNAs在CRC发病机制中所起到的重要作用, 但仍有部分问题急需进一步解决, 如怎样在全基因水平大规模筛选鉴定可能的结直肠癌miRNA生物标志物; 结直肠癌miRNA的异常表达及功能发挥具体受哪些因子调控; 结直肠癌miRNA经释放进入循环血液后涉及怎样的基因表达调控机制及作用途径; 如何建立适宜的临床应用结直肠癌miRNA标准化检测体系等。随着结直肠癌miRNA作用机制的明确, 其对结直肠癌临床诊断、预后和治疗将会有广阔的临床应用前景, 如针对特定的结直肠癌miRNA的干预可提高化疗药物对结直肠癌原发灶及转移灶的治疗敏感度, 进而开发新型miRNA基因治疗药物。

参考文献:

- [1] Corté H, Manceau G, Blons H, *et al.* MicroRNA and colorectal cancer[J]. Dig Liver Disc, 2012, 44(3):195-200.
- [2] Meng W, McElroy JP, Volinia S, *et al.* Comparison of microRNA deep sequencing of matched formalin-fixed paraffin-embedded and fresh frozen cancer tissues[J]. PloS One, 2013, 8(5):e64393.
- [3] Mao Y, Chen H, Lin Y, *et al.* microRNA-330 inhibits cell motility by downregulating Sp1 in prostate cancer cells[J]. Oncol Rep, 2013, 30(1):327-33.
- [4] Dong Y, Wu WK, Wu CW, *et al.* MicroRNA dysregulation in colorectal cancer: a clinical perspective[J]. Br J Cancer, 2011, 104

- (6):893-8.
- [5] Aslam MI, Patel M, Singh B, *et al.* MicroRNA manipulation in colorectal cancer cells: from laboratory to clinical application[J]. *J Transl Med*,2012,10:128.
 - [6] Schee K, Fodstad Ø, Flatmark K. MicroRNAs as biomarkers in colorectal cancer[J]. *Am J Pathol*,2010,177(4):1592-9.
 - [7] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2008,105(30):10513-8.
 - [8] Zen K, Zhang CY. Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers[J]. *Med Res Rev*,2012,32(2):326-48.
 - [9] Ng EK, Chong WW, Jin H, *et al.* Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening[J]. *Gut*,2009,58(10):1375-81.
 - [10] Huang Z, Huang D, Ni S, *et al.* Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*,2010,127(1):118-26.
 - [11] Chen X, Ba Y, Ma L, *et al.* Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. *Cell Res*,2008,18(10):997-1006.
 - [12] Wang Q, Huang Z, Ni S, *et al.* Plasma miR-601 and miR-760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer[J]. *PLoS One*,2012,7(9):e44398.
 - [13] Luo X, Stock C, Burwinkel B, *et al.* Identification and evaluation of plasma microRNAs for early detection of colorectal cancer[J]. *PLoS One*,2013,8(5):e62880.
 - [14] Lieberman DA. Clinical practice. Screening for colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*,2009,361(12):1179-87.
 - [15] Sali L, Grazzini G, Carozzi F, *et al.* Screening for colorectal cancer with FOBT, virtual colonoscopy and optical colonoscopy: study protocol for a randomized controlled trial in the Florence district (SAVE study)[J]. *Trials*,2013,14:74.
 - [16] Link A, Balaguer F, Shen Y, *et al.* Fecal microRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,2010,19(7):1766-74.
 - [17] Kunte DP, Delacruz M, Wali RK, *et al.* Dysregulation of microRNAs in colonic field carcinogenesis: implications for screening[J]. *PLoS One*,2012,7(9):e45591.
 - [18] Ahmed FE, Jeffries CD, Vos PW, *et al.* Diagnostic microRNA markers for screening sporadic human colon cancer and active ulcerative colitis in stool and tissue[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2009,6(5):281-95.
 - [19] Koga Y, Yasunaga M, Takahashi A, *et al.* MicroRNA expression profiling of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*,2010,3(11): 1435-42.
 - [20] Ahlquist DA. Molecular detection of colorectal neoplasia[J]. *Gastroenterology*,2010,138(6):2127-39.
 - [21] Slaby O, Svoboda M, Fabian P, *et al.* Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer[J]. *Oncology*,2007, 72(5-6):397-402.
 - [22] Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, *et al.* MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma[J]. *JAMA*,2008,299(4):425-36.
 - [23] Kulda V, Pesta M, Topolcan O, *et al.* Relevance of miR-21 and miR-143 expression in tissue samples of colorectal carcinoma and its liver metastases[J]. *Cancer Genet Cytogenet*,2010,200(2):154-60.
 - [24] Bandrés E, Cubedo E, Agirre X, *et al.* Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues[J]. *Mol Cancer*,2006,5:29.
 - [25] Wang CJ, Zhou ZG, Wang L, *et al.* Clinicopathological significance of microRNA-31, -143 and -145 expression in colorectal cancer[J]. *Dis Markers*,2009,26(1):27-34.
 - [26] Lanza G, Ferracin M, Gafà R, *et al.* mRNA/microRNA gene expression profile in microsatellite unstable colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*,2007,6:54.
 - [27] Schepeler T, Reinert JT, Ostensfeld MS, *et al.* Diagnostic and prognostic microRNAs in stage II colon cancer[J]. *Cancer Res*,2008,68(15):6416-24.
 - [28] Earle JS, Luthra R, Romans A, *et al.* Association of microRNA expression with microsatellite instability status in colorectal adenocarcinoma[J]. *J Mol Diagn*,2010,12(4):433-40.
 - [29] Yoshida M, Goto M, Kii T, *et al.* Retrospective study as first-line chemotherapy combined anti-VEGF antibody with fluoropyrimidine for frail patients with unresectable or metastatic colorectal cancer [J]. *Digestion*,2013,87(1):59-64.
 - [30] Nakajima G, Hayashi K, Xi Y, *et al.* Non-coding MicroRNAs hsa-let-7g and hsa-miR-181b are associated with chemoresponse to S-1 in colon cancer[J]. *Cancer Genomics Proteomics*,2006,3(5):317-24.
 - [31] Song B, Wang Y, Titmus MA, *et al.* Molecular mechanism of chemoresistance by miR-215 in osteosarcoma and colon cancer cells[J]. *Mol Cancer*,2010,9:96.
 - [32] Ragusa M, Majorana A, Statello L, *et al.* Specific alterations of microRNA transcriptome and global network structure in colorectal carcinoma after cetuximab treatment[J]. *Mol Cancer Ther*,2010,9(12):3396-409.
 - [33] Svoboda M, Izakovicova Holla L, Seif R, *et al.* Micro-RNAs miR125b and miR137 are frequently upregulated in response to capecitabine chemoradiotherapy of rectal cancer[J]. *Int J Oncol*,2008,33(3):541-7.
 - [34] Dai J, Gu J, Huang M, *et al.* GWAS-identified colorectal cancer susceptibility loci associated with clinical outcomes[J]. *Carcinogenesis*,2012,33(7):1327-31.
 - [35] Landi D, Gemignani F, Naccarati A, *et al.* Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer[J]. *Carcinogenesis*,2008,29(3):579-84.
 - [36] Lee HC, Kim JG, Chae YS, *et al.* Prognostic impact of microRNA-related gene polymorphisms on survival of patients with colorectal cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*,2010,136(7):1073-8.
 - [37] Yang R, Frank B, Hemminki K, *et al.* SNPs in ultraconserved elements and familial breast cancer risk[J]. *Carcinogenesis*,2008, 29(2):351-5.
 - [38] Wojcik SE, Rossi S, Shimizu M, *et al.* Non-codingRNA sequence variations in human chronic lymphocytic leukemia and colorectal cancer[J]. *Carcinogenesis*,2010,31(2):208-5.

[编辑: 周永红; 校对: 尤婷婷]