

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.19.008
文章编号: 1005-8982 (2018) 19-0041-04

MicroRNA-1469 低表达与食管鳞状细胞癌 临床病理特征及预后的关系

李亚俊¹, 顾晓静¹, 杨乐¹, 边虹²

(宁夏医科大学总医院 1. 消化内科, 2. 胸外科, 宁夏 银川 750004)

摘要: 目的 探讨 microRNA-1469 (miR-1469) 低表达与食管鳞状细胞癌临床病理特征及预后的关系。**方法** 通过实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测食管鳞癌术后肿瘤组织中 miR-1469 的表达情况, χ^2 检验分析不同临床病理特征患者 miR-1469 的表达水平, Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线, Log-rank 检验比较不同组别生存曲线的差异。**结果** miR-1469 的表达水平与浸润深度、淋巴结转移及病理分期差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。生存分析提示 miR-1469 低表达的患者其无瘤生存率 (17.9% vs 42.8%, $P = 0.004$) 及术后 5 年总生存率 (29.3% vs 47.1%, $P = 0.027$) 均降低。在 N_{1-3} 的患者中, 低表达 miR-1469 组的 5 年无瘤生存率低于高表达组 (7.3% vs 31.5%, $P = 0.043$)。**结论** 通过检测 miR-1469 的表达情况, 可以预测食管癌患者疾病进程及术后临床预后。

关键词: microRNA-1469; 食管鳞状细胞癌; 预后

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

Relationships of low expression of miR-1469 with progression and clinical outcomes of esophageal squamous cell carcinoma

Ya-jun Li¹, Xiao-jing Gu¹, Le Yang¹, Hong Bian²

(1. Department of Digestive Diseases, 2. Department of Thoracic Surgery, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract: Objective To explore the relationships of low expression of miR-1469 with progression and unfavorable post-surgical clinical outcomes in patients with esophageal squamous cell carcinoma. **Methods** The expression of miR-1469 was detected by qRT-PCR in the patients who successfully underwent esophagectomy for esophageal squamous cell carcinoma. Then χ^2 test, Kaplan-Meier method, and Log-rank test were performed. **Results** There were statistical differences in cancer invasion depth, lymph node metastasis and pathologic stage between the miR-1469 low-expression and high-expression groups ($P < 0.05$). The patients with miR-1469 low expression had significantly lower disease-free survival rate (17.9% vs. 42.8%, $P = 0.004$) and post-operative 5-year overall survival rate (29.31% vs. 47.1%, $P = 0.027$). miR-1469 low expression significantly predicted unfavorable 5-year disease-free survival rate among the patients with N_{1-3} (7.3% vs 31.5%, $P = 0.043$). **Conclusions** The expression of miR-1469 could predict disease progression and post-surgical clinical outcomes for patients with esophageal squamous cell carcinoma.

Keywords: miR-1469; esophageal squamous cell carcinoma; prognosis

食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 是一种常见的消化道肿瘤, 在我国

收稿日期: 2017-11-16

[通信作者] 边虹, E-mail: bianhong2005@163.com; Tel: 0951-6746923

的发病率较高^[1]。由于其具有局部侵袭浸润、早期转移等特点,往往预后不佳,生存率较低。通过对 ESCC 生物学标志物及信号通路的研究,可以预测肿瘤的预后,指导治疗方案,实现精准治疗,从而提高 ESCC 的生存率。

微小 RNA (microRNA) 是一类非编码功能的单链 RNA,长度约 17 ~ 25 个核苷酸。microRNA 参与包括细胞增殖、凋亡、迁移及分化等多种病理生理过程,并且参与肿瘤信号通路,在肿瘤的发生、发展中具有重要作用^[2]。MicroRNA-1469 (miR-1469) 系 microRNA 家族中的一员,位于 15 号染色体,相关研究发现^[3],miR-1469 在多种肿瘤组织中异常表达,具体表现为在凋亡的肿瘤细胞中,miR-1469 的表达水平显著提高。目前已有文献报道 microRNA 在 ESCC 中的作用^[4],但 miR-1469 与 ESCC 的关系尚无相关报道。本研究选择 miR-1469,首先研究其在 ESCC 中的表达情况,并观察其在 ESCC 进展及预后中所起到的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2009 年 6 月 -2010 年 6 月在宁夏医科大学总医院初次诊断为 ESCC 的患者 98 例。入选标准为:①均行食管癌根治手术;②术前未行放化疗;③未有围手术期死亡;④临床病理与随访资料完整。所有的肿瘤组织及肿瘤旁正常食管组织于术后储存于液氮中,病理结果经病理科两名医生确认。TNM 分期采用 UICC/AJCC 2009 第 7 版标准。

所有患者随访内容包括体格检查、上消化道造影、胸腹部 CT 以及胃镜等,随访间隔时间为 3 ~ 6 个月,随访时间至患者死亡或本研究的截止日期(2015 年 6 月)。

1.2 实时荧光定量聚合酶链反应

根据说明书使用 Trizol 裂解液从冷冻组织中提起总 RNA,然后通过 U-3010 紫外分光光度计测定 RNA 的浓度及纯度。然后依据上海生工 RNA PCR-Kit 试剂说明书进行实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测基因表达水平。采用 IQ5 software 分析实验结果,计算 Ct 值。使用内参基因 GAPDH 的 Ct 值校正目的基因 Ct 值,得到 Δ Ct 值。比较处理组和对照组的 Δ Ct 值得到 $\Delta\Delta$ Ct 值。基因表达量比值(处理组/对照组)

$=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验,计数资料以例表示,比较用 χ^2 检验,Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线,Log-rank 检验生存曲线的统计学差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-1469 在 ESCC 中的表达情况

比较 miR-1469 在 ESCC 及癌旁正常组织中的表达情况,如果 ESCC 中的 miR-1469 的表达量低于癌旁正常组织,系 miR-1469 的低表达,反之,为 miR-1469 的高表达。结果显示(见图 1),miR-1469 低表达组共 42 例,表达量为 (2.51 ± 0.73) ,miR-1469 高表达组共 56 例,表达量为 (6.27 ± 1.08) ,两组比较差异有统计学意义($t = -19.457, P = 0.000$)。

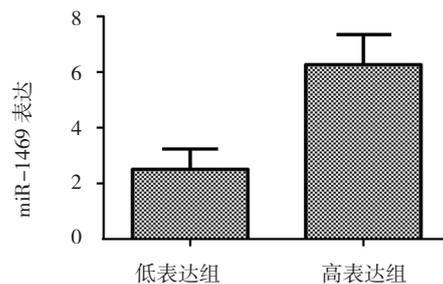


图 1 miR-1469 在 ESCC 中的表达

2.2 miR-1469 表达与临床病理特征的关系

miR-1469 表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结的转移及病理分期,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.704, 24.000$ 和 $53.844, P = 0.033, 0.000$ 和 0.000),而与年龄、性别、肿瘤直径和分化程度,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.056, 1.224, 2.046$ 和 $5.125, P = 0.813, 0.269, 0.193$ 和 0.076)。见附表。

2.3 miR-1469 表达与肿瘤复发和转移的关系

共有 65 例患者出现肿瘤的复发或转移,其 5 年无瘤生存率为 32.6%,其中 38 例为 miR-1469 低表达,27 例为 miR-1469 高表达,两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 7.040, P = 0.008$),提示 miR-1469 低表达组的肿瘤复发或转移率高于高表达组。低表达 miR-1469 的患者 5 年无瘤生存率低于高表达 miR-1469 的患者(17.9% vs 42.8%, $P = 0.004$)。见图 2。

附表 miR-1469 的表达与临床病理特征的关系 例

组别	年龄		男/女	肿瘤直径		分化程度		
	<60 岁	≥ 60 岁		<5 cm	≥ 5 cm	高	中	低
例数	41	57	79/19	66	32	24	49	25
miR-1469 低表达	17	25	36/6	25	17	6	23	13
miR-1469 高表达	24	32	43/13	41	15	18	26	12
χ^2 值	0.056		1.224	2.046		5.152		
P 值	0.813		0.269	0.193		0.076		

组别	浸润深度				淋巴结转移				病理分期		
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	I	II	III
例数	18	31	39	10	49	22	17	10	14	44	40
miR-1469 低表达	5	10	20	7	9	14	11	8	2	13	27
miR-1469 高表达	13	21	19	3	40	8	6	2	12	31	13
χ^2 值	8.704				24.000				53.844		
P 值	0.033				0.000				0.000		

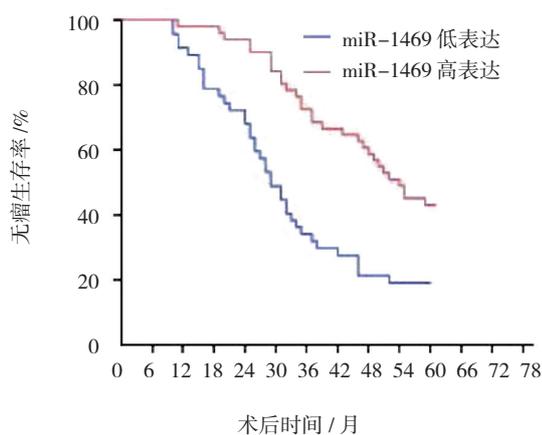


图 2 患者 5 年总无瘤生存率

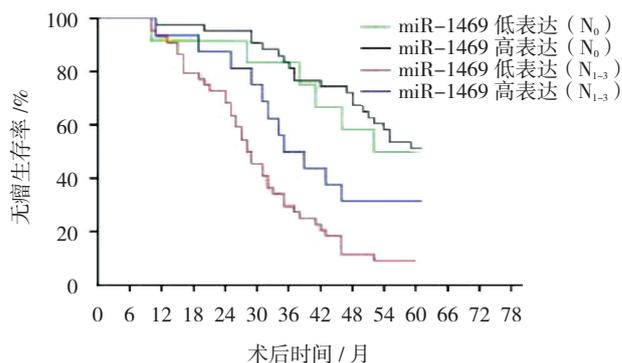


图 3 N₀ 及 N₁₋₃ 患者的 5 年无瘤生存率

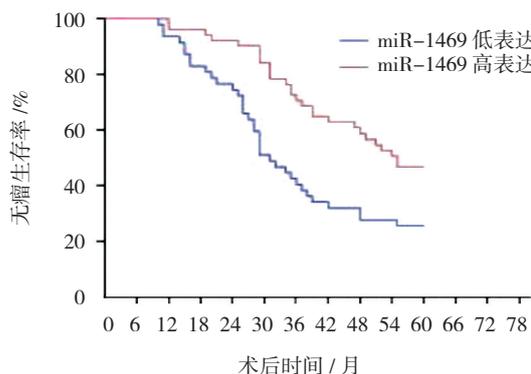


图 4 患者 5 年总生存率

2.4 miR-1469 的表达与淋巴结转移的关系

分析 miR-1469 的表达与淋巴结转移的关系发现, 在 N₀ 患者中, miR-1469 低表达者共 9 例, 在 N₁₋₃ 患者中, miR-1469 低表达者共 33 例, 两者差异有统计学意义 ($\chi^2=24.000, P=0.000$)。在 N₁₋₃ 的患者中, 低表达 miR-1469 组的 5 年无瘤生存率低于高表达组 (7.3% vs 31.5%, $P=0.043$)。见图 3。

2.5 miR-1469 的表达与预后的关系

在 98 例患者中, 56 例在随访期间内死亡, 5 年总生存率为 39.5%。低表达 miR-1469 组的 5 年总生存率低于高表达组 (29.3% vs 47.1%, $P=0.027$)。见图 4。

3 讨论

作为一种常见的消化道恶性肿瘤, 食管癌具有较高的死亡率, 多数患者在发现的时候肿瘤就已经侵透食管外膜或已经发生远处转移, 并且预后不佳^[5]。目

前国际上通用的分期标准为 TNM 分期, 根据此分期来判断患者的病程及预后, 但是 TNM 分期能不能准确地判断病情的转归尚存在争议, 越来越多的研究关注于淋巴结转移的个数^[6]。在 ESCC 患者中, 淋巴结转移者更容易出现肿瘤的复发及转移, 更多的学者认为淋巴结转移系独立的预后因素^[7]。microRNA 富含 RNA, 其序列大小约为 17 ~ 25 个核苷酸, 在调节细胞增殖、凋亡、迁移和分化等生理及病理过程中起到了关键的作用^[8], 并且参与肿瘤信号通路的过度激活或者过度抑制, 在肿瘤的临床诊疗中, 能够指导分型及预后^[9]。作为 microRNA 中的一员, miR-1469 位于 15 号染色体, 具有致癌基因或抑癌基因的活性^[10], 参与了肿瘤的进程中。miR-1469 在肿瘤组织中异常表达, 具体表现为在凋亡瘤细胞中, miR-1469 的表达水平提高。XU 等^[3]的研究发现, 在肺癌中, miR-1469 能够增强 VP16 所诱导的细胞凋亡, 进一步研究发现 stat5a 系 miR-1469 作用的靶点, miR-1469 通过 stat5a 调节肿瘤细胞的增生和凋亡。关于 stat 与食管癌的关系已有大量的文献阐述, 而 miR-1469、stat5a 及食管癌 3 者之间的关系尚未有相关研究。因此, 本研究选择 miR-1469, 首先研究其在 ESCC 中的表达情况, 并观察其在 ESCC 进展及预后中所起到的作用。本研究系统分析 98 例 ESCC 患者标本中 miR-1469 的表达以及与临床病理特征及预后的关系, 发现 miR-1469 的表达水平与浸润深度、淋巴结转移及病理分期差异有统计学意义, 具体表现为在 T₁、N₀ 及 I 期患者中, miR-1469 多呈现高表达, 在中晚期患者中多为低表达, 这提示 miR-1469 的表达水平与 ESCC 的进程密切相关, miR-1469 的表达水平能够协助判断肿瘤的分期及淋巴结转移情况。

miR-1469 的表达水平与 5 年无瘤生存率和总生存率密切相关, 低表达 miR-1469 的 ESCC 患者, 其 5 年无瘤生存率和总生存率均低于高表达者。进一步地分析发现, 在 N₀ 患者中, miR-1469 表达水平的高低与 5 年无瘤生存率无相关, 但在 N₁₋₃ 患者中, 其 5 年无瘤生存率差异有统计学意义, 这提示在淋巴结转移的患者中, miR-1469 低表达者更容易出现肿瘤的复发

及转移。

综上所述, miR-1469 的表达与 ESCC 的病理分期及预后具有密切的关系, miR-1469 低表达患者更容易出现 ESCC 的复发及转移, 且预后较差, 与既往的文献^[3]关于 miR-1469 对于人类肿瘤的抑制作用的报道具有一致性。但是 miR-1469 对 ESCC 的抑制作用需要进一步的体外细胞实验加以验证, 其作用靶点及信号通路需进一步明确。这将对于实现 ESCC 的精准治疗具有重大的意义。

参 考 文 献:

- [1] TOH Y, EGASHIRA A, YAMAMOTO M. Epigenetic alterations and their clinical implications in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2013, 61(5): 262-269.
- [2] YU Q, LI B, LI P, et al. Plasma microRNAs to predict the response of radiotherapy in esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. Am J Transl Res, 2015, 7(10): 2060-2071.
- [3] XU C, ZHANG L, LI H, et al. MiRNA-1469 promotes lung cancer cells apoptosis through targeting STAT5a[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(3): 1180-1189.
- [4] HUI B, CHEN X, HUI L, et al. Serum miRNA expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett[J]. 2015, 10(5): 3008-3012.
- [5] KAFESHANI M, JANGHORBANI M, SALEHI R, et al. Dietary approaches to stop hypertension influence on insulin receptor substrate-1 gene expression: A randomized controlled clinical trial[J]. J Res Med Sci, 20(9): 832-837.
- [6] 赵蕊. 淋巴结转移率较 TNM 分期是否能更好地预测结肠癌患者的预后 [J]. 中国普外基础与临床, 2013, 20(11): 1227.
- [7] OKUMURA H, UCHIKADO Y, SETOYAMA T, et al. Biomarkers for predicting the response of esophageal squamous cell carcinoma to neoadjuvant chemoradiation therapy[J]. Surg Today, 2014, 44(3): 421-428.
- [8] LIU L, ZHAO Z, ZHOU W, et al. Enhanced expression of miR-425 promotes esophageal squamous cell carcinoma tumorigenesis by targeting SMAD2[J]. J Genet Genomics, 2015, 42(11): 601-611.
- [9] LI C, LI D C, CHE S S, et al. The decreased expression of miR-625 predicts poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(6): 9560-9564.
- [10] YANG B, JING C, WANG J, et al. Identification of microRNAs associated with lymphangiogenesis in human gastric cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2014, 16(4): 374-379.

(张蕾 编辑)