

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.04.005  
文章编号: 1005-8982 (2019) 04-0023-05

## MicroRNA-452 和 microRNA-5100 在 NSCLC 组织中的表达及其临床意义

程鹏

(南阳医学高等专科学校第一附属医院 肿瘤内科, 河南 南阳 473000)

**摘要: 目的** 检测非小细胞肺癌 (NSCLC) 癌组织中 microRNA-452 (miR-452) 和 microRNA-5100 (miR-5100) 的表达水平, 并探究其临床意义。**方法** 采用实时聚合酶链反应 (real-time PCR) 检测 94 例 NSCLC 患者的癌组织和癌旁正常组织中 miR-452 和 miR-5100 的表达水平, 分析其与临床病理特征的关系; 采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 miR-452 和 miR-5100 表达对患者术后 5 年总生存率和生存时间的影响。**结果** NSCLC 癌组织中 miR-452 相对表达量低于癌旁正常组织 ( $P < 0.05$ ), NSCLC 癌组织中 miR-5100 相对表达量高于癌旁正常组织 ( $P < 0.05$ )。NSCLC 癌组织中, miR-452 高表达与肿瘤病理类型、肿瘤分化程度、肿瘤大小及淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ); miR-5100 高表达与肿瘤分化程度、TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ )。miR-452 高表达患者的术后 5 年总生存率高于低表达患者 ( $P < 0.05$ ), 中位生存时间长于低表达患者 ( $P < 0.05$ ); miR-5100 高表达患者的术后 5 年总生存率低于低表达患者 ( $P < 0.05$ ), 中位生存时间短于低表达患者 ( $P < 0.05$ )。**结论** 在 NSCLC 癌组织中, miR-452 呈低表达、miR-5100 呈高表达, 两者可能参与 NSCLC 肿瘤形成和恶性进展, 影响患者预后。

**关键词:** 癌, 非小细胞肺; microRNAs; 预后

**中图分类号:** R734.2

**文献标识码:** A

## The expressions and clinical significance of microRNA-452 and microRNA-5100 in the non-small cell lung cancer tissues

Peng Cheng

(Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473000, China)

**Abstract: Objective** To detect the expression of micro RNA-452 (microRNA-452) and micro RNA-5100 (microRNA-5100) in the cancer tissues of non-small cell lung cancer (NSCLC), and to explore the clinical significance. **Methods** The expression levels of microRNA-452 and microRNA-5100 in the cancer tissues and the adjacent normal tissues from 94 patients with NSCLC were determined by the real-time PCR assay. The correlations in the microRNA-452, microRNA-5100 expression and the clinicopathological characteristics were evaluated. The Kaplan-Meier survival curve was utilized to analyze the influences of expressions of microRNA-452 and microRNA-5100 on the 5-year survival rate and the survival time after operations. **Results** The real-time PCR results showed that in the NSCLC tissues, the expression of microRNA-452 was lower in the NSCLC tissues than that in the adjacent normal tissues, and the expression of microRNA-5100 was higher than that in the adjacent normal tissues, and there were both statistical significances ( $P < 0.05$ ). In the NSCLC tissues, the high expression

of microRNA-452 was correlated with tumor pathological type, the tumor differentiation degree, the tumor size and the lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ), and high expression of the microRNA-5100 was correlated with tumor differentiation degree and the TNM stages ( $P < 0.05$ ). The Log Rank results suggested that the 5-year survival rate after operations of patients in the high-microRNA-452 group was higher than that in the low-microRNA-452 group ( $\chi^2 = 8.324, P = 0.004$ ), and the medium survival time of patients in the high-microRNA-452 group was longer than that in the low-microRNA-452 group ( $\chi^2 = 7.318, P = 0.007$ ); the 5-year survival rate after operations of patients in the high-microRNA-5100 group was lower than that in the low-microRNA-5100 group ( $\chi^2 = 7.693, P = 0.006$ ), and the medium survival time of patients in the high-microRNA-5100 group was shorter than that in the low-microRNA-5100 group ( $\chi^2 = 8.174, P = 0.004$ ). **Conclusions** In the NSCLC tissues, the microRNA-452 is lowly expressed and the microRNA-5100 is highly expressed, which may exert synergistic action on the tumorigenesis and progression of NSCLC and influence the prognosis.

**Keywords:** carcinoma, non-small-cell lung; microRNAs; prognosis

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是肺癌最常见的病理亚型<sup>[1]</sup>。NSCLC 患者预后差, 寻找能够预测患者预后的生物靶标, 对提高 NSCLC 早期诊断率、改善患者预后具有积极意义<sup>[2]</sup>。目前发现多个 microRNA (miRNA) 分子可作为 NSCLC 病情进展和预后评估的可靠预测分子<sup>[3-4]</sup>。近年来, microRNA-452 (miR-452) 和 microRNA-5100 (miR-5100) 成为 miRNA 研究领域的热点, 而关于 miR-452 和 miR-5100 在 NSCLC 中的表达及对患者病情判断、预后的预测作用, 国内尚无报道<sup>[5-6]</sup>。本研究旨在检测 NSCLC 癌组织中 miR-452 和 miR-5100 的表达水平, 分析其在患者病情判断、预后预测中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2012 年 1 月—2012 年 12 月南阳医学高等专科学校第一附属医院收治的 94 例 NSCLC 患者的癌组织和距离癌组织 >5 cm 的癌旁正常组织, 手术过程中取出组织样本后, 立即置于液氮中保存。纳入标准: 术前未接受抗肿瘤治疗; 术后经病理证实为 NSCLC; 具备完整的病历资料。排除标准: 术前接受抗肿瘤治疗; 合并其他恶性肿瘤; 合并肺炎、肺结核等其他肺部疾病。以手术时间为起点, 采用门诊或电话随访的方式, 对患者进行 1 ~ 60 个月的随访, 直至随访时间结束或患者死亡。本研究经本院伦理委员会审核批准。

### 1.2 实时聚合酶链反应

取出液氮保存的组织样本, 切取适量组织, 采用 Trizol 试剂提取总 RNA, TaqMan miRNA 试剂盒进行逆转录, 产物置于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。采用

miScript Reverse Transcription 试剂盒和 miScript SYBR Green PCR 试剂盒进行实时聚合酶链反应 (real-time polymerase chain reaction, real-time PCR)。反应条件:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min,  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性 15 s,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火 1 min, 共 45 个循环。miR-452 正向引物:  $5' - \text{GCGCAACTGTTTGCAGAG} - 3'$ , 反向引物:  $5' - \text{CTGCAGGGTCCGAGGT} - 3'$ ; miR-5100 正向引物:  $5' - \text{TGGCTCTGCCTTTATTCCCTAGT} - 3'$ , 反向引物:  $5' - \text{AAATAAGGTGCTTTGGGAATCTGT} - 3'$ ; U6 正向引物:  $5' - \text{CTCGCTTCGGCAGCAC} - 3'$ , 反向引物:  $5' - \text{AACGCTTCACGAATTTGCGT} - 3'$ 。以 U6 为内参, 用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miR-452 和 miR-5100 的相对表达量。

### 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, 比较用  $t$  检验; 计数资料以率 (%) 表示, 比较用  $\chi^2$  检验; Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较用 Log-rank  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NSCLC 癌组织中 miR-452 和 miR-5100 的表达情况

NSCLC 癌组织中 miR-452 和 miR-5100 相对表达量分别为 ( $0.26 \pm 0.11$ ) 和 ( $3.25 \pm 0.79$ ), 癌旁正常组织中 miR-452 和 miR-5100 相对表达量分别为 ( $1.15 \pm 0.21$ ) 和 ( $1.09 \pm 0.18$ ), 两者 miR-452 相对表达量比较, 差异有统计学意义 ( $t = 36.399, P = 0.000$ ), NSCLC 癌组织低于癌旁正常组织; 两者 miR-5100 相对表达量比较, 差异有统计学意义 ( $t = -25.846, P = 0.000$ ), NSCLC 癌组织高于癌旁正常组织。

## 2.2 miR-452、miR-5100 表达水平与 NSCLC 患者临床病理特征的关系

NSCLC 患者 miR-452 高表达 49 例。miR-452 高表达与患者年龄、性别、是否吸烟、是否远处转移及 TNM 分期无相关性 ( $P > 0.05$ ), 而与肿瘤病理类型、分化程度、肿瘤大小及淋巴结转移有相关性 ( $P < 0.05$ )。

见附表。

NSCLC 患者 miR-5100 高表达 47 例。miR-5100 高表达与患者年龄、性别、是否吸烟、肿瘤病理类型、肿瘤大小、淋巴结转移和远处转移无相关性 ( $P > 0.05$ ), 而与肿瘤分化程度、TNM 分期有相关性 ( $P < 0.05$ )。见附表。

附表 不同影响因素下 miR-452 和 miR-5100 的高表达率比较

影响因素	例数	miR-452		$\chi^2$ 值	P 值	miR-5100		$\chi^2$ 值	P 值
		高表达例数	高表达率 /%			高表达例数	高表达率 /%		
年龄									
<55 岁	49	21	42.86	3.525	0.060	23	46.94	0.384	0.536
≥ 55 岁	45	28	62.22			24	53.33		
性别									
男	32	18	56.25	0.330	0.565	19	59.38	1.706	0.192
女	62	31	50.00			28	45.16		
吸烟									
是	56	29	51.79	0.006	0.936	29	51.79	0.177	0.674
否	38	20	52.63			18	47.37		
肿瘤病理类型									
鳞癌	52	22	42.31	5.738	0.047	25	48.08	0.436	0.804
腺癌	39	26	66.67			20	51.28		
其他	3	1	33.33			2	66.67		
分化程度									
低分化	35	11	31.43	9.574	0.002	26	74.29	13.155	0.000
中、高分化	59	38	64.41			21	35.59		
肿瘤大小									
<3 cm	49	32	65.31	7.123	0.008	24	48.98	0.043	0.836
≥ 3 cm	45	17	37.78			23	51.11		
淋巴结转移									
是	33	11	33.33	7.198	0.007	19	57.58	1.167	0.280
否	61	38	62.30			28	45.90		
远处转移									
是	30	14	46.67	0.527	0.468	16	53.33	0.196	0.658
否	64	35	54.69			31	48.44		
TNM 分期									
I、II	67	32	47.76	1.782	0.182	26	38.81	11.692	0.001
III、IV	27	17	62.96			21	77.78		

### 2.3 NSCLC 癌组织中 miR-452 和 miR-5100 表达水平对患者预后的影响

NSCLC 患者中 miR-452 高表达 49 例, 低表达 45 例。miR-452 高表达组患者的术后 5 年总生存率为 51.02% (25/49), 低表达组为 22.22% (10/45), 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=8.324, P=0.004$ )。miR-452 高表达组患者的术后中位生存时间为 43.00 个月, 低表达组为 36.00 个月, 经 Log-rank  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=7.318, P=0.007$ )。见图 1。

miR-5100 高表达患者 47 例, 低表达 47 例。miR-5100 高表达组患者的术后 5 年总生存率为 23.40% (11/47), 低表达组为 51.06% (24/47), 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=7.693, P=0.006$ )。miR-5100 高表达组患者的术后中位生存时间为 36.00 个月, 低表达组为 43.00 个月, 经 Log-rank  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=8.174, P=0.004$ )。见图 2。

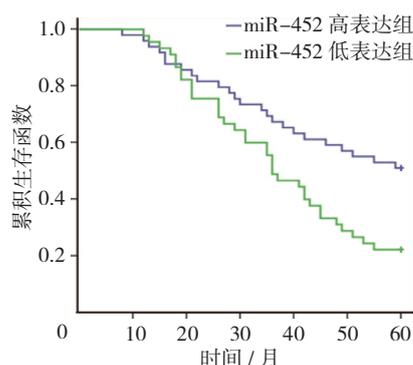


图 1 NSCLC 患者 miR-452 表达的 Kaplan-Meier 生存曲线

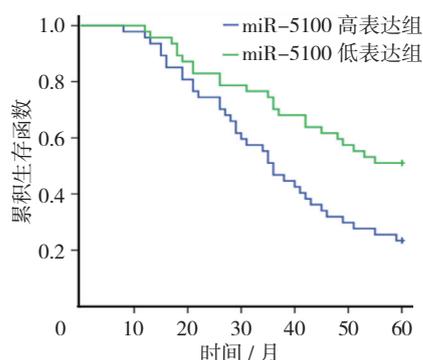


图 2 NSCLC 患者 miR-5100 表达的 Kaplan-Meier 生存曲线

## 3 讨论

肺癌的发生、发展是多因素、多基因共同作用的过程。目前, 大量研究致力于探究 miRNA 在肺癌发生、发展中的功能作用, let-7 家族成员均与肺癌患者预后

相关<sup>[7-8]</sup>。

miRNA 通过特异性结合至信使 RNA (mRNA) 的 3' - 非翻译区, 诱导 mRNA 降解或抑制翻译, 进而调控基因表达, miRNA 通过调节促癌基因或抑癌基因的表达, 进而发挥功能<sup>[9-10]</sup>。研究证实, miR-452 在恶性肿瘤中既可发挥促癌基因功能又具有抑癌基因功能, 如在乳腺癌中, miR-452 表达升高, 而在食管癌中, miR-452 表达降低<sup>[11-12]</sup>。本研究发现, 与癌旁正常组织相比, miR-452 在 NSCLC 癌组织中表达降低, 与 HE 等<sup>[13]</sup> 研究结果一致。由此推测, miR-452 低表达在 NSCLC 肿瘤形成过程中发挥促进作用, miR-452 在 NSCLC 中发挥抑癌基因功能。有研究发现, miR-452 低表达与脑胶质瘤的临床分期和患者预后紧密相关<sup>[14]</sup>。本研究结果发现, miR-452 高表达与肿瘤病理类型、分化程度、肿瘤大小及淋巴结转移有关, 即肿瘤分化程度越高, miR-452 表达水平越高, 肿瘤直径越大、存在淋巴结转移, miR-452 表达水平越低, 提示 miR-452 低表达可能抑制肿瘤细胞分化, 促进肿瘤细胞增殖及上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程。KRISTENSEN 等<sup>[15]</sup> 在前列腺癌细胞中的研究发现, miR-452 可通过调节与细胞周期、细胞黏附或细胞能动性相关的信号通路活性, 抑制细胞增殖、侵袭迁移, 有研究证实, miR-452 能抑制 NSCLC 细胞增殖和侵袭<sup>[16]</sup>。后续研究中, 笔者将对 miR-452 影响 NSCLC 细胞分化、增殖及侵袭迁移的内在机制进行深入探究。

CHIJIWA 等<sup>[17]</sup> 发现, 在胰腺癌细胞中, 外源性增加 miR-5100 表达可抑制细胞增殖和侵袭迁移; HUANG 等<sup>[18]</sup> 研究结果揭示, miR-5100 在肺癌组织和肺癌细胞株中表达增加, 且 miR-5100 具有促进细胞增殖的功能, 由此推测, miR-5100 可同时兼具促癌基因和抑癌基因的功能。本研究中 real-time PCR 结果显示, miR-5100 在 NSCLC 癌组织中表达增加, 提示其可能参与并促进 NSCLC 肿瘤形成, 具有促癌基因功能。此外, 本研究发现, 在肿瘤分化程度低的 NSCLC 癌组织中, miR-5100 表达水平较高, 而 miR-5100 高表达与 TNM 分期有关, 由此推测, miR-5100 可抑制肿瘤细胞分化、诱导肿瘤恶性进展。LI 等<sup>[19]</sup> 研究发现, 在肺上皮细胞中, miR-5100 可激活 Smad2/3, 促进细胞发生 EMT, 目前关于 miR-5100 在 NSCLC 中的作用机制研究甚少。后续研究中, 笔者将在体外细胞水平, 通过改变 miR-5100 表达量, 探究其在 NSCLC 中的具

体作用机制。

Kaplan–Meier生存分析发现,在NSCLC癌组织中,miR-452低表达、miR-5100高表达,均预示患者较低的术后5年总生存率和较短的中位生存时间,miR-452和miR-5100可作为预测NSCLC患者预后的生物靶分子。

综上所述,本研究发现在NSCLC癌组织中,miR-452呈低表达、miR-5100呈高表达,且均与患者较差的临床病理特征和不良预后相关。miR-452和miR-5100可作为NSCLC患者病情进展评估、预后和治疗靶标的候选分子。

#### 参 考 文 献:

- [1] PABANI A, BUTTS C A. Current landscape of immunotherapy for the treatment of metastatic non-small-cell lung cancer[J]. *Curr Oncol*, 2018, 25(Suppl 1): S94-S102.
- [2] 裴振, 霍小蕾, 田向阳, 等. 长链非编码 RNA MIAT 在非小细胞肺癌中的表达及功能研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(4): 592-598.
- [3] 施博文, 乔文亮, 韩玉栋, 等. 非小细胞肺癌免疫治疗的研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(20): 3969-3973.
- [4] 李振宇, 卢秀波, 冯云, 等. 微小 RNA-21 对磷酸酶和张力蛋白同源物基因在乳腺癌细胞的表达及细胞凋亡的研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(28): 26-28.
- [5] XUE J, YANG J, LUO M, et al. MicroRNA-targeted therapeutics for lung cancer treatment[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2017, 12(2): 141-157.
- [6] HAN Y, LI H, miRNAs as biomarkers and for the early detection of non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(5): 3119-3131.
- [7] 段影, 邹跃, 江其生, 等. Let-7 在肺癌诊断、治疗及预后评估中的作用 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(2): 292-296.
- [8] XIE P, LI X, TAN X, et al. Sequential serum Let-7 is a novel biomarker to predict accelerated re proliferation during fractional radiotherapy in lung cancer[J]. *Clin Lung Cancer*, 2016, 17(5): e95-e101.
- [9] LIN J M, CHUANG C C, ZUO L. potential roles of microRNAs and ROS in colorectal cancer: diagnostic biomarkers and therapeutic targets[J]. *J Oncotarget*, 2017, 8(10): 17328-17346.
- [10] 申思宁, 李印, 刘先本, 等. 微小 RNA-136 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义 [J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(8): 1900-1902.
- [11] 秦玉, 张琳华, 朱敦皖. MicroRNA 在乳腺癌治疗中的应用进展 [J]. *国际生物医学工程杂志*, 2017, 40(3): 205-210.
- [12] 江文洋, 任杰, 范国华, 等. microRNA 和食管癌关系的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(13): 1931-1934.
- [13] HE Z, XIA Y, PAN C, et al. Up-regulation of MiR-452 inhibits metastasis of non-small cell lung cancer by regulating BMI[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(1): 387-398.
- [14] ZHANG Y, HAN L, PANG J, et al. Expression of microRNA-452 via adenoviral vector inhibits non-small cell lung cancer cells proliferation and metastasis[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6): 8259-8270.
- [15] KRISTENSEN H, HALDRUP C, STRAND S, et al. Hypermethylation of the GABRE ~ miR-452 ~ miR-224 promoter in prostate cancer predicts biochemical recurrence after radical prostatectomy[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(8): 2169-2181.
- [16] 谭晓刚, 支修益. MicroRNA 与非小细胞肺癌 [J]. *首都医科大学学报*, 2015, 36(4): 519-524.
- [17] CHIJIWA Y, MORIYAMA T, OHUCHIDA K, et al. Overexpression of microRNA-5100 decreases the aggressive phenotype of pancreatic cancer cells by targeting PODXL[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(4): 1688-1700.
- [18] HUANG H, JIANG Y, WANG Y, et al. miR-5100 promotes tumor growth in lung cancer by targeting Rab6[J]. *Cancer Lett*, 2015, 362(1): 15-24.
- [19] LI C Y, WANG Y H, LIN Z Y, et al. MiR-5100 targets TOB2 to drive epithelial-mesenchymal transition associated with activating smad2/3 in lung epithelial cells[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(10): 4694-4706.

(李科 编辑)