

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.19.008

文章编号: 1005-8982(2019)19-0048-05

MicroRNA-802 和 RAB23 在前列腺癌中的 表达水平及临床意义

姚泽钦, 汪溢, 朱家利, 罗后宙, 霍振清

(海南省第三人民医院 泌尿外科, 海南 三亚 572000)

摘要:目的 探讨 microRNA-802 (miR-802) 和 RAB23 在前列腺癌中的表达水平及临床意义。方法 选取在海南省第三人民医院泌尿外科手术切除的前列腺癌标本 60 例, 并选取其相对应癌旁组织作为对照, 用免疫组织化学检测 miR-802 和 RAB23 的表达水平, 分析 miR-802 和 RAB23 表达水平与前列腺癌患者临床病理参数间的关系及与前列腺癌患者预后。结果 miR-802 和 RAB23 在前列腺癌组织中的阳性率分别为 73.33% 和 70.00%, 高于癌旁组织中的 33.33% 和 28.33% ($P < 0.05$)。miR-802 和 RAB23 表达水平与年龄和术前 PSA 无关 ($P > 0.05$); 与 Gleason 评分相关, 评分越高, 表达率越低 ($P < 0.05$); 与病理分期相关, 表达高则病理分期早 ($P < 0.05$)。miR-802 和 RAB23 表达水平阴性组 3 年生存率及生存期均高于 miR-802 和 RAB23 表达水平阳性组 ($P < 0.05$)。结论 miR-802 和 RAB23 mRNA 在前列腺癌组织中的表达阳性率高于癌旁组织, 阴性表达能获得较好的预后。

关键词: 前列腺肿瘤; MicroRNA-802; RAB23 基因

中图分类号: R737.25

文献标识码: A

Expression level of microRNA-802 and RAB23 in prostate cancer and its Clinical significance

Ze-qin Yao, Yi Wang, Jia-li Zhu, Hou-zhou Luo, Zhen-qing Huo

(Department of Urology, The Third People's Hospital of Hainan Province, Sanya, Hainan 572000, China)

Abstract: Objective To investigate expression level of miR-802 and RAB23 in prostate cancer and its clinical significance. **Methods** Totally 60 cases of prostate cancer tissues were selected and their adjacent tissues were control group. Immunohistochemistry was used to detect the expression of miR-802 and RAB23. Then the relationship between the expression of miR-802 and RAB23 and the clinicopathological parameters was analyzed, as did the prognosis of prostate cancer patients. **Results** The positive rates of miR-802 and RAB23 in prostate cancer tissues were 73.33% and 70.00%, respectively, which were higher than 33.33% and 28.33% in adjacent normal tissues ($P < 0.05$). The expression levels of miR-802 and RAB23 were not significantly correlated with age and preoperative PSA ($P > 0.05$), but were negatively correlated with the Gleason score ($P < 0.05$) and pathological stage ($P < 0.05$); the 3-year survival rate and survival time of the miR-802 and RAB23 negative expression groups were significantly higher than those of the miR-802 and RAB23 positive expression groups ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression levels of miR-802 and RAB23 mRNA are higher in prostate cancer tissues than those in adjacent normal tissues. The patients with negative expression of miR-802 and RAB23 can achieve better prognosis.

Keywords: prostatic neoplasms; miR-802 microRNA, human; genes RAB23

收稿日期: 2019-03-06

前列腺癌是男性生殖系统常见的恶性肿瘤,在欧美等一些发达国家,前列腺癌在男性恶性肿瘤的发病率仅次于肺癌^[1]。我国前列腺癌的发病率和病死率相对较低,但由于生活习惯的改变、诊疗技术的革新及人口老龄化等因素,我国前列腺癌的发病率逐年上升,严重威胁我国男性健康^[2-3]。目前,前列腺癌的治疗方法还是常规手术切除再辅助放疗等,然而,5%的前列腺癌患者在诊断时仍然存在转移性病变。为使晚期前列腺癌患者获得满意的治疗效果,迫切需要找到一种更有效治疗前列腺癌的新指标^[4]。MicroRNA(miRNA)是长度约为22核苷酸的非编码RNA,在细胞增殖分化和凋亡等生物过程中发挥重要作用^[5]。通过Oncomine数据库整合前列腺癌组织(对比于正常前列腺组织)表达谱分析发现microRNA-802(miR-802)在前列腺癌中升高,提示miR-802可能在前列腺癌中起关键作用。RAB23是Hedgehog(Hh)信号通路的负调控因子,与肝癌、肺癌、胃癌等多种肿瘤密切相关,而目前RAB23与前列腺癌关系研究相对较少,其在前列腺癌中的作用尚未清楚^[6-8]。因此,本研究通过探讨前列腺癌组织中miR-802和RAB23表达水平及RAB23与病理参数的关系,为前列腺癌的预后及治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2013年1月—2016年12月在海南省第三人民医院泌尿外科手术切除的前列腺癌标本60例。年龄(68.74±6.82)岁,并选取其相对应癌旁组织(距肿瘤边缘>5cm)作为对照。术后立即将标本置于液氮中保存。纳入标准:①初次治疗,临床和病理资料保存完好;②无其他类型的肿瘤且无转移;③术前未接受放疗及雄激素剥夺治疗;④所有标本均经病理学证实。收集患者年龄、血清前列腺特异抗原(prostate specific antigen, PSA)水平、Gleason评分、病理分期及手术切缘阳性等情况。生化复发:前列腺癌术后连续2次PSA监测水平平均超过0.2 μg/L。

1.2 免疫组织化学检测 miR-802 和 RAB23 的表达

取前列腺癌组织及癌旁组织病理石蜡块进行切片,厚度为3 μm,经烤片、脱蜡、脱水后进行抗原修复,滴入过氧化氢阻断内源性过氧化氢酶活性,分别加入兔多克隆miR-802抗体和兔多克隆RAB23抗体(美国Santa Cruz公司)(稀释比1:100),4℃

过夜,加入辣根过氧化物酶HRP标记亲和纯化山羊抗兔二抗(IgG)(武汉艾美捷科技有限公司),室温30 min, DAB显色,苏木精复染,酒精脱水,二甲苯透明,封片。采用双盲法进行结果判定,随机选取5个高倍视野(×400)确定阳性染色细胞的数量和所占的比例。染色强度(I)评分:无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;同时计数阳性细胞百分率(P);>50%为3分,<25%~50%为2分,<5%~25%为1分,阳性细胞≤5%为0分;组织学评分H=I×P,0~1分为阴性表达,≥2分为阳性表达。

1.3 随访

在手术结束后对患者采用复诊或电话方式进行随访。随访截至2017年12月31日,随访5~53个月,平均25.81个月,无失访者。

1.4 统计学方法

数据分析采用SPSS 19.0统计软件。计数资料采用例(%)表示,不同组织中miR-802和RAB23的表达差异采用配对 χ^2 检验,miR-802和RAB23的表达情况与前列腺癌患者临床病理特征的关系采用 χ^2 检验进行判断;生存期采用中位数和四分位数M(P₂₅, P₇₅)表示,采用非参数检验;miR-802和RAB23的表达情况与前列腺癌患者预后采用Kaplan-Meier生存曲线分析,行Log-Rank检验,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-802 和 RAB23 在前列腺癌组织及癌旁组织中的表达

miR-802和RAB23在前列腺癌组织中的阳性率高于癌旁组织,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

2.2 miR-802 和 RAB23 表达与前列腺癌患者临床病理参数的关系

miR-802和RAB23表达与年龄和术前PSA不相关;与Gleason评分相关,评分越高,表达率越低;与

表1 miR-802 和 RAB23 在癌旁组织及前列腺癌组织中的表达比较 [n=60, 例(%)]

癌旁组织	癌组织 miR-802		癌组织 RAB23	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	10 (33.33)	10 (63.67)	7 (28.33)	10 (71.67)
阴性	34 (73.33)	6 (26.67)	35 (70.00)	8 (30.00)
χ^2 值	13.091		13.888	
P 值	0.000		0.000	

病理分期相关,表达高则病理分期早($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 miR-802 和 RAB23 表达与前列腺癌患者预后的关系

miR-802 和 RAB23 表达阴性组 3 年生存率及生

存期与 miR-802 和 RAB23 表达阳性组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), miR-802 和 RAB23 表达阴性组较 miR-802 和 RAB23 表达阳性组高。见表 3 和图 1。

表 2 前列腺癌患者临床病理参数与 miR-802 和 RAB23 表达的关系 例 (%)

临床病理参数	miR-802 表达		χ^2 值	P 值	RAB23 表达		χ^2 值	P 值
	阴性	阳性			阴性	阳性		
年龄								
<73 岁	8 (28.57)	20 (71.43)	1.340	0.248	8 (27.59)	21 (72.41)	1.080	0.309
≥ 73 岁	8 (25.00)	24 (75.00)			10 (32.26)	21 (67.74)		
术前 PSA								
<10 $\mu\text{g/L}$	9 (30.00)	21 (70.00)	0.950	0.462	11 (36.67)	19 (63.37)	1.160	0.294
$\geq 10 \mu\text{g/L}$	7 (23.33)	23 (76.67)			7 (23.33)	23 (76.67)		
Gleason 评分								
<8 分	13 (25.49)	38 (74.51)	9.570	0.000	14 (27.45)	37 (72.55)	8.250	0.000
≥ 8 分	3 (33.33)	6 (66.67)			4 (44.44)	5 (55.56)		
病理分期								
<T _{3a}	12 (24.49)	37 (75.51)	7.910	0.004	12 (25.00)	36 (75.00)	6.450	0.010
$\geq T_{3b}$	4 (36.36)	7 (63.64)			6 (50.00)	6 (50.00)		

表 3 miR-802 和 RAB23 表达与前列腺癌患者预后的关系

组别	n	3 年生存率例 (%)	χ^2 值	P 值	生存期 M (P ₂₅ , P ₇₅)	Z 值	P 值
miR-802							
阴性	16	7 (43.75)	4.830	0.034	38.24 (18.24, 19.18)	8.010	0.000
阳性	44	12 (27.27)			23.61 (10.54, 38.56)		
RAB23							
阴性	18	9 (50.00)	3.990	0.046	37.41 (20.17, 51.21)	7.060	0.000
阳性	42	10 (23.80)			25.64 (11.02, 40.73)		

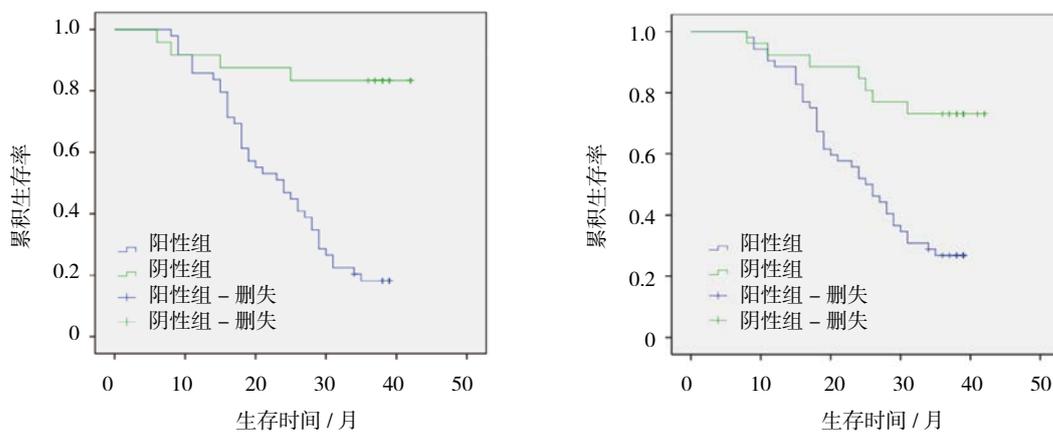


图 1 miR-802 和 RAB23 表达阳性、阴性组 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

据统计, 2016 年美国 180 890 例新发前列腺癌病例, 并有 26 120 例前列腺癌患者死亡, 同时, 我国前列腺癌病死人数约占全球前列腺癌死亡人数的 5%^[9-10]。目前关于前列腺癌恶性程度有效的评估指标仍缺乏, 同时“肿瘤即是一种基因病”理论已经得到广泛认可。因此, 寻找一种或几种前列腺癌标志物可以指导临床诊断和治疗尤为重要。

miRNA 最早在 1993 年被发现, 广泛存在于真核生物细胞内, 具有高度的组织特异性和保守性, 目前已经发现上千种 miRNA, 占人类基因数量的 1% ~ 3%, 却调控超过 30% 的基因表达, 约有 50% 肿瘤的变异区域内可检测到 miRNA 基因, 且其结果具有可重复性, 提示 miRNA 可能与肿瘤发生、发展密切相关^[11-13]。同时每个靶基因又受大量 miRNA 调控, 选择与靶基因相关性最高的 miRNA 进行干预, 是一种新的分子靶向治疗方法^[14]。通过靶基因的数据库 (TargetsCan 和 Pic Tar) 对 RAB23 的靶 miRNA 进行预测, 发现有 20 个 miRNA 与 RAB23 结合, 如 hsa-miR-425、hsa-miR-142-3p、miR-196b、miRNA-802 等。再通过热力学稳定性和序列保守性评分, 结果发现, miRNA-802 作为 RAB23 的首选靶 miRNA 作进一步研究。关于 miRNA-802 的研究最早是在肝组织中, 当肝组织受损时, miRNA-802 的表达升高, 且其升高程度与肝组织受损程度呈正相关^[15]。基因干扰是引起特定基因达到沉默作用的技术, 被《Science》誉为 2002 年度生物科技重大突破项目的第一位^[16]。通过基因干扰技术, 阻断 miRNA-802 的表达, 为抑制 RAB23 活性提供了可能^[17]。

RAB23 是 RAB 家族的重要成员, 位于染色体 6p11-6p12, 参与了调控细胞膜及囊泡的物质运输, 从而影响细胞增殖和迁移^[18]。RAB 家族成员中有几个可以是恶性肿瘤的驱动因素, RAB23 与癌症关系最为突出, 且研究较为清楚。RAB23 主要有持续激活型 RAB23、持续抑制型 RAB23 和野生型 RAB23。通过转染, 用显微镜观察发现, 持续激活型 RAB23 和野生型 RAB23 主要表达于细胞内, 而持续抑制型 RAB23 主要表达于胞浆, 通过对 Hh 信号通路的负调控作用, 将信息传递到细胞内^[19]。研究发现, RAB23 在肝癌、胃癌、乳腺癌及前列腺癌等组织中高表达, 且与肿瘤大小呈正相关, 说明 RAB23 促进肿瘤细胞的增殖和迁移^[20]。本研究结果显示, miR-802 和 RAB23 在前列腺

癌组织中的阳性率高于癌旁组织; miR-802 和 RAB23 表达与 Gleason 评分相关, 评分越高, 表达率越低; miR-802 和 RAB23 表达与病理分期相关, 表达高则病理分期早; miR-802 和 RAB23 表达阴性组 3 年生存率及生存期均高于 miR-802 和 RAB23 表达阳性组。

综上所述, miR-802 和 RAB23 mRNA 在前列腺癌组织中的表达阳性率高于癌旁组织, 阴性表达能获得较好的预后。本研究推断 miR-802 和 RAB23 在前列腺癌的发生发展过程中发挥重要作用, 有望成为前列腺癌早期诊断、预后判断及个体化治疗的新型分子标志物。

参 考 文 献:

- [1] MALVEZZI M, BERTUCCIO P, ROSSO T, et al. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women[J]. *Annals of Oncology*, 2015, 26(4): 779-786.
- [2] 齐金蕾, 王黎君, 周脉耕, 等. 1990-2013 年中国男性前列腺癌疾病负担分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2016, 37(6): 778-782.
- [3] WELSBIE D S, XU J, CHEN Y, et al. Histone deacetylases are required for androgen receptor function in hormone-sensitive and castrate-resistant prostate cancer[J]. *Cancer Research*, 2016, 69(3): 958-966.
- [4] 孙颖浩. 前列腺癌外科治疗的回顾与展望 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2017, 38(6): 406-407.
- [5] 吴兴成, 严维刚. MicroRNAs 在前列腺癌中的研究进展 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(2): 281-284.
- [6] ZHANG W, YU F, WANG Y, et al. Rab23 promotes the cisplatin resistance of ovarian cancer via the Shh-Gli-ABCG2 signaling pathway[J]. *Oncology Letters*, 2018, 15(4): 5155-5159.
- [7] 魏晰麟, 周忠笑, 张健, 等. Hedgehog 信号通路蛋白 Ptch1 和 Gli1 在胆管癌组织中的表达及意义 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2016, 18(1): 70-74.
- [8] 陈辉, 潘敦, 谢文俊, 等. Rab23 在胃癌组织中的表达及其临床意义 [J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(11): 2830-2832.
- [9] JEMAL A, TIWARI R C, MURRAY T, et al. Cancer statistics, 2004[J]. *CA Cancer J Clin*, 2004, 54(1): 8-29.
- [10] 叶定伟, 朱耀. 中国前列腺癌的流行病学概述和启示 [J]. *中华外科杂志*, 2015, 53(4): 249-252.
- [11] CHEN X, CLARENCE Y C, ZHANG X, et al. HGIMDA: Heterogeneous graph inference for miRNA-disease association prediction[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 65257-65269.
- [12] 梅颖, 刘朝奇. miRNA 调控肿瘤相关基因 c-met 的研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22(2): 204-209.
- [13] 易红, 张政. lncRNA 与 miRNA 相互作用对疾病的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(2): 267-271.
- [14] 张遥, 任秀智, 王延宙, 等. 靶向 Wnt1 的 miRNA 与 circRNA 及其靶基因间相互作用的生物信息学分析 [J]. *生物化学与生*

- 物物理进展, 2016, 43(11): 1094-1101.
- [15] WOLENSKI F S, SHAH P, SANO T, et al. Identification of microRNA biomarker candidates in urine and plasma from rats with kidney or liver damage[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2016, 37(3): 278-286.
- [16] COUZIN J. Small RNAs make big splash[J]. *Science*, 2002, 298(5602): 2296-2297.
- [17] ZHANG X Y, MU J H, LIU L Y, et al. Upregulation of miR-802 suppresses gastric cancer oncogenicity via targeting RAB23 expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(18): 4071-4078.
- [18] 李婷婷, 郑永钦, 王宗丽, 等. Rab23 基因在肿瘤中的研究进展 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2017, 8(2): 254-256.
- [19] 黄晓兵, 石毅, 王春森, 等. 三氧化二砷联合伊曲康唑对多发性骨髓瘤细胞 Hedgehog 信号通路的影响及抗肿瘤活性实验研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(5): 1459-1465.
- [20] CHH H, ELK G. Rab23 regulates radial migration of projection neurons via n-cadherin[J]. *Cerebral Cortex*, 2018, 28(4): 1-16.

(王荣兵 编辑)