

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.04.011
文章编号: 1005-8982(2020)04-0061-04

MicroRNA-1301 在肝癌中的表达及临床意义

陈彪, 季沅, 金慧涵, 王雷, 包嘉凌

(南京医科大学附属无锡第二医院 肝胆外科, 江苏 无锡 214001)

摘要: **目的** 检测 microRNA-1301 (miR-1301) 在原发性肝细胞癌 (HCC) 中的表达及临床意义。**方法** 选取 2011 年 1 月—2014 年 1 月 在南京医科大学附属无锡第二医院行 HCC 根治手术的 60 例患者临床资料、组织样本及随访资料。qRT-PCR 检测肝癌及癌旁组织中 miR-1301 的表达, 分析 miR-1301 的表达与肝癌患者临床特征及预后关系。**结果** HCC 癌组织中 miR-1301 相对表达量低于癌旁组织 ($P < 0.05$), 且肿瘤直径、临床分期、有无脉管癌栓和 miR-1301 相对表达量与患者不良预后有关 ($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析显示, miR-1301 低表达组肝癌患者总生存率低于高表达组 ($P < 0.05$)。多因素 Cox 分险比例模型提示, 肿瘤直径 [$\hat{HR} = 1.417$ (95% CI: 1.432, 4.166)]、脉管癌栓 [$\hat{HR} = 0.493$ (95% CI: 0.205, 0.936)]、临床分期 [$\hat{HR} = 2.013$ (95% CI: 0.933, 3.114)]、miR-1301 低表达 [$\hat{HR} = 2.893$ (95% CI: 1.139, 3.452), $P = 0.011$] 是影响肝癌患者总体生存率的独立危险因素。**结论** miR-1301 在肝癌组织中低表达, 与患者不良预后密切相关, 可为肝癌患者预后评估提供新的分子标志物。

关键词: 肝肿瘤; microRNA/ 微 RNAs; 预后

中图分类号: R735.7; R363

文献标识码: A

Expression of MicroRNA-1301 in hepatocellular carcinoma and its clinical significance

Si Chen, Yuan Ji, Hui-han Jin, Lei Wang, Jia-ling Bao

(Department of Hepatobiliary Surgery, Nanjing Medical University Affiliated Wuxi No.2 Hospital, Wuxi, Jiangsu 214001, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of miR-1301 in hepatocellular carcinoma (HCC) and analyze its clinical significance. **Methods** The clinical data, tissue samples and follow-up information of 60 patients who underwent the radical operation of liver cancer in our hospital from January 2011 to January 2014 were collected. Quantitative Real-time PCR (qRT-PCR) was used to determine the expression of miR-1301 in HCC tissues and adjacent normal tissue. The relationship between the expression of miR-1301 and clinical data and prognosis were analyzed. **Results** The expression of miR-1301 was decreased in HCC samples compared with the adjacent non-cancer tissues, and significantly correlated with tumor diameter, tumor stage and vascular carcinoma ($P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that low miR-1301 expression associated with a declined overall survival ($P < 0.05$). Multivariate analysis showed that the expression of tumor diameter, vascular carcinoma tumor stage and miR-1301 was an independent predictor for overall survival of patients with HCC. **Conclusion** This study indicates that miR-1301 is downregulated in hepatocellular carcinoma tissue and closely related to poorer survival in patients with HCC, which may provide a new prognostic biomarker for HCC patients.

Keywords: liver neoplasms; microrna; prognosis

收稿日期: 2019-08-16

[通信作者] 包嘉凌, E-mail: bzk2004bb@126.com

原发性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是世界第 5 大常见的恶性肿瘤, 中国患者约占 55%^[1]。手术是治疗 HCC 的主要方式, 但术后复发率高, 其 5 年生存率仍较低^[2]。microRNA (miRNA) 是一群内源性非编码小分子 RNA, 通过与靶基因 mRNA 的 3' 非编码区 (3'UTR) 结合, 导致靶基因 mRNA 降解或翻译受阻, 以参与靶基因的转录后调节^[3]。有研究表明, miR-1301 在包括 HCC 内的多种肿瘤中表达下调, 对肿瘤的发生、发展起到抑制作用^[4-7], 但其与肝癌患者临床预后关系尚不明确。本研究通过检测 HCC 组织中 miR-1301 的表达水平, 分析其与患者临床数据及预后的关系, 可能为 HCC 患者预后评估提供新的分子标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2011 年 1 月—2014 年 1 月在南京医科大学附属无锡第二医院行 HCC 根治手术的 60 例患者临床资料、组织样本及随访资料。根据 miR-1301 相对表达量数值的中位数截点, 将患者分为高表达组和低表达组, 每组 30 例。所有癌组织及相应癌旁组织 (距肿瘤边缘 >2 cm 的正常肝脏组织) 均与液氮速冻并保存于 -80℃ 冰箱。患者术后第 1、3 及 6 个月复查 CT、血清甲胎蛋白 (alpha-fetal protein, AFP), 之后每半年复查 CT 及 AFP, 所有考虑复发转移的患者有 CT、超声造影、AFP 或穿刺活检病理等其中 2 或 3 项诊断, 患者随访时间截至 2019 年 1 月。本研究通过医院伦理委员会批准, 患者及其家属知情同意。

1.2 方法

所有肝癌组织及癌旁组织的 RNA 通过 Trizol (美国 Invitrogen 公司) 提取, 具体步骤参照试剂盒说明书。通过逆转录试剂盒 (美国 Applied Biosystems 公司) 将 RNA 逆转录成互补 DNA, 然后应用 miR 特异性 TaqMan 探针和 TaqMan Universal PCR Master Mix (美国 ABI 公司) 进行 miR-1301 的实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测, 反应在 StepOne Plus 探测系统 (美国 ABI 公司) 上进行, 反应条件: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 1 min, 60℃ 延伸 1 min, 共 40 个循环。内参为 RNU6B, 每个反应设置 3 个复孔, miR-1301 的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 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 χ^2 检验; 用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较用 Log-rank χ^2 检验, 影响因素的分析用多因素 Cox 风险比例模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-1301 在肝癌组织中表达降低

癌组织组与癌旁组织组 miR-1301 相对表达量分别为 (26.900 ± 8.994) 和 (41.183 ± 10.759), 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=7.824$, $P=0.000$), 癌组织组低于癌旁组织组。见图 1。

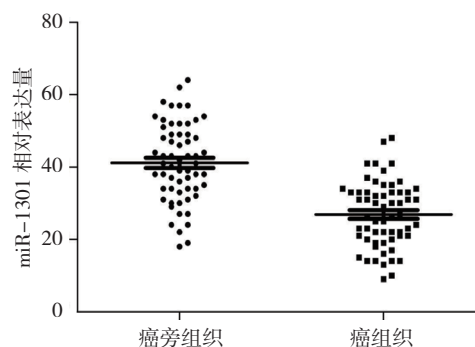


图 1 HCC 患者癌组织与癌旁组织中 miR-1301 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.2 miR-1301 相对表达量与患者临床病理特征的关系

miR-1301 相对表达量在患者性别、年龄、乙型肝炎病毒、肿瘤部位、AFP 水平及 Child 分级比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而肿瘤直径、临床分期及有无脉管癌栓比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同影响因素的 miR-1301 的高表达率比较

因素	n	高表达例数	高表达率 /%	χ^2 值	P 值
性别					
男	32	14	43.750	1.071	0.301
女	28	16	57.143		
年龄					
>60 岁	37	19	51.351	0.071	0.791
≤ 60 岁	23	11	47.826		

续表 1

因素	n	高表达例数	高表达率 /%	χ^2 值	P 值
乙型肝炎病毒					
阴性	9	4	44.444	0.131	0.718
阳性	51	26	50.980		
肿瘤部位					
右肝	38	20	52.631	0.287	0.592
左肝	22	10	45.455		
肿瘤直径					
≤ 5 cm	42	25	59.524	5.079	0.024
>5 cm	18	5	27.778		
AFP					
≤ 200 ng/ml	21	9	42.857	0.659	0.417
>200 ng/ml	39	21	53.846		
Child 分级					
A	36	20	55.556	1.111	0.292
B	24	10	41.667		
脉管癌栓					
有	13	3	23.077	4.812	0.028
无	47	27	57.447		
临床分期					
I、II 期	42	26	61.905	7.937	0.005
III、IV 期	18	4	22.222		

2.3 miR-1301 表达下调提示肝癌患者不良预后

为分析 miR-1301 表达与患者临床预后的关系, 绘制 miR-1301 低表达组和高表达组 Kaplan-Meier 曲线。miR-1301 低表达组总生存为 23.33% (7/30), miR-1301 高表达组总生存为 50.00% (15/30), 经 Log-rank χ^2 检验, 结果显示 miR-1301 低表达组肝癌患者总生存率低于高表达组 ($\chi^2=0.032, P=0.021$) (见图 2)。单因素分析显示, 肿瘤直径、脉管癌栓、临床分期及 miR-1301 表达量与患者不良预后有关 ($P<0.05$)。多因素 Cox 回归模型分析显示, 肿瘤直径、脉管癌栓临床分期、miR-1301 低表达是影响肝癌预后的独立因素 ($P<0.05$)。见表 2。

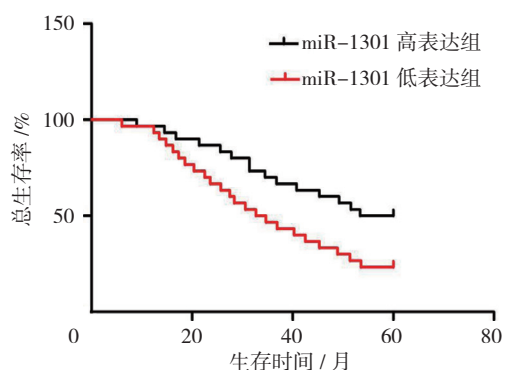


图 2 HCC 组织中 miR-1301 表达与患者总生存率的关系

表 2 肝癌患者术后预后影响因素的单因素及多因素分析参数

变量	单因素分析				多因素分析			
	$\hat{H}R$	95% CI		P 值	$\hat{H}R$	95% CI		P 值
		下限	上限			下限	上限	
性别	1.158	0.812	1.563	0.177	1.422	0.933	2.177	0.217
年龄	0.982	0.829	1.019	0.381	0.571	0.321	1.022	0.418
乙肝病毒	1.334	0.615	1.931	0.247	1.033	0.514	1.673	0.316
肿瘤部位	2.655	1.235	3.884	0.214	2.135	1.144	3.235	0.188
肿瘤直径	1.771	1.021	3.668	0.002	1.417	1.432	4.166	0.006
AFP	0.478	0.288	0.991	0.674	0.564	0.312	1.015	0.501
Child 分级	1.517	0.933	2.661	0.193	1.316	0.732	2.016	0.215
脉管癌栓	0.573	0.239	0.862	0.008	0.493	0.205	0.936	0.016
临床分期	2.451	1.113	4.583	0.006	2.013	0.933	3.114	0.008
miR-1301 低表达	3.315	1.776	6.451	0.003	2.893	1.139	3.452	0.011

3 讨论

miRNA 是一类长约 23 个核苷酸序列的非编码小 RNA, 对几乎所有肿瘤的发生、发展过程扮演重要角色, 例如 HCC, 其参与肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭及转移等生物过程^[8]。近年来在肿瘤预后标志物研究领域, miRNA 已成为新的研究热点, 已发现多个 miRNA 与肝癌的临床预后相关, 其具有成为肝癌预后分子标志物的潜能^[9-12]。

越来越多的研究表明, miR-1301 对包括 HCC 内的多种肿瘤表达下调, 对肿瘤的发生、发展起到抑制作用, 提示患者的不良预后。YANG 等^[4]发现, miR-1301 在肝癌中表达下调, 靶向调控 BCL9 mRNA, 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制肝癌的侵袭、转移及血管形成。ZHI 等^[6]发现, miR-1301 通过靶向调控 N-Ras 抑制人胶质瘤细胞的增殖, 此外 miR-1301 的表达下调还与胶质瘤患者不良预后相关^[12]。YAO 等^[14]研究发现, miR-1301 可通过介导 RanGAP1 下调, 增加慢性粒细胞白血病患者伊马替尼的疗效。本研究同样发现, miR-1301 在肝癌组织中表达下调, 首次发现 miR-1301 表达水平与肝癌患者的肿瘤直径、临床分期及有无脉管癌栓相关, Kaplan-Meier 生存分析结果提示, miR-1301 高表达组总生存率高于低表达组, 进一步单因素及多因素分析提示, miR-1301 表达量是影响肝癌预后的独立因素, 可能为肝癌的预后评估提供新的途径。

综上所述, miR-1301 在多种肿瘤中扮演抑癌基因作用, miR-1301 的表达下调促进肿瘤的发生、发展, 提示患者的不良预后。一种 miRNA 可调控不同的靶基因从而发挥不同的生理功能。进一步研究 miR-1301 在肝癌发生、发展中的具体分子机制, 可能为肝癌的诊断、治疗及预后评估提供新的分子标志物。

参 考 文 献:

- [1] SIEGL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013[J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30.
- [2] TSUCHIYA N, SWAWADA Y, ENDO I, et al. Biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. World J

Gastroenterol, 2015, 21(37): 10573-10583.

- [3] WINTER J, JUNG S, KELLER S, et al. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(3): 228-234.
- [4] YANG C, XU Y, CHENG F, et al. MiR-1301 inhibits hepatocellular carcinoma cell migration, invasion, and angiogenesis by decreasing Wnt/ β -catenin signaling through targeting BCL9[J]. Cell Death Dis, 2017, DOI: 10.1038/cddis.2017.356.
- [5] BI D, NING H, LIU S, et al. MiR-1301 promotes prostate cancer proliferation through directly targeting PPP2R2C[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 81: 25-30.
- [6] ZHI T, JIANG K, ZHANG C, et al. MicroRNA-1301 inhibits proliferation of human glioma cells by directly targeting N-Ras[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(4): 982-998.
- [7] FANG L, YANG N, MA J, et al. MicroRNA-1301-mediated inhibition of tumorigenesis[J]. Oncol Rep, 2012, 27(4): 929-34.
- [8] MIEALIZZI D S, FARABAUGH S M, FORD H L. Epithelial-mesenchymal transition in cancer[J]. Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 15(2): 117-134.
- [9] XU M, WANG Y, HE HT, et al. MiR-589-5p is a potential prognostic marker of hepatocellular carcinoma and regulates tumor cell growth by targeting MIG-6[J]. Neoplasia, 2018, 65(5): 753-761.
- [10] AN Y, GAO S, ZHAO W C, et al. Novel serum microRNAs panel on the diagnostic and prognostic implications of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol. 2018, 24(24): 2596-2604.
- [11] LU G, MA Y, JIA C, et al. Reduced miR-125a levels associated with poor survival of patients with hepatocellular cancer[J]. Oncol Lett. 2017, 14(5): 5952-5958.
- [12] 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(08): 660-663.
- [13] BAI Q L, HU C W, WANG X R, et al. Association between downexpression of miR-1301 and poor prognosis in patients with glioma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2017, 21(19): 4298-4303.
- [14] YAO L, KU-CHUNG C, HSING-JIN EUGENE L, et al. MicroRNA-1301-Mediated RanGAP1 down regulation induces BCR-ABL nuclear entrapment to enhance imatinib efficacy in chronic myeloid leukemia cells[J]. PLoS One, 2016, DOI: 10.1371/journal.pone.0156260.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 陈虬, 季沉, 金慧涵, 等. MicroRNA-1301 在肝癌中的表达及临床意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(4): 61-64.