

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.16.006  
文章编号: 1005-8982 (2021) 16-0028-08

实验研究·论著

## 宫颈脱落细胞 microRNA-508-3p、ROCK1 的表达及其对宫颈癌的诊断价值研究\*

何立群, 袁婧, 张舒云

(诸暨市人民医院 病理科, 浙江 诸暨 311800)

**摘要: 目的** 探究宫颈脱落细胞 microRNA-508-3p(miR-508-3p)、ROCK1 的表达及其对宫颈癌的诊断价值。**方法** 选取 2016 年 2 月—2019 年 9 月诸暨市人民医院收集的宫颈脱落细胞标本 172 例, 其中正常组 70 例、宫颈上皮内瘤变组 54 例、宫颈癌组 48 例。通过 qRT-PCR、免疫组织化学、Western blotting 检测各组细胞 miR-508-3p、ROCK1 的表达, 荧光素酶报告实验验证宫颈病变脱落细胞 miR-508-3p 与 ROCK1 的相关性, 观察宫颈脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 表达与宫颈癌患者临床资料的关系, 通过受试者工作特征(ROC)曲线评估宫颈病变脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 表达对宫颈病变的诊断价值。**结果** 与正常组比较, 宫颈癌组和宫颈上皮内瘤变组 miR-508-3p 降低( $P < 0.05$ ), ROCK1 mRNA、ROCK1 mRNA 阳性率、ROCK1 蛋白相对表达量升高( $P < 0.05$ ); 与宫颈上皮内瘤变组比较, 宫颈癌组 miR-508-3p 降低, ROCK1 mRNA、ROCK1 mRNA 阳性率、ROCK1 蛋白相对表达量升高( $P < 0.05$ )。宫颈癌组、宫颈上皮内瘤变组 miR-508-3p 与 ROCK1 mRNA 呈负相关( $r = -0.6678$  和  $-0.5234$ , 均  $P = 0.000$ ), ROCK1 是 miR-508-3p 的直接靶基因。miR-508-3p、ROCK1 水平与宫颈癌患者 FIGO 分期、淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ), 与年龄、绝经情况、肿瘤直径及病理类型无关( $P > 0.05$ )。在诊断宫颈癌和宫颈上皮内瘤变时, miR-508-3p 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.946(95% CI: 0.899, 0.993)和 0.851(95% CI: 0.782, 0.921), 敏感性为 87.1%(95% CI: 0.776, 1.654)和 84.3%(95% CI: 0.746, 1.589), 特异性为 100.0%(95% CI: 1.000, 2.000)和 79.6%(95% CI: 0.702, 1.497); ROCK1 的 AUC 分别为 0.949(95% CI: 0.892, 1.000)和 0.905(95% CI: 0.852, 0.958), 敏感性为 89.6%(95% CI: 0.810, 1.706)和 77.8%(95% CI: 0.667, 1.445), 特异性为 100.0%(95% CI: 1.000, 2.000)和 88.6%(95% CI: 0.812, 1.698)。随访 1 年后, 48 例宫颈癌患者中生存 42 例, 死亡 6 例。生存组 miR-508-3p 高于死亡组( $P < 0.05$ ), ROCK1 mRNA 相对表达量低于死亡组( $P < 0.05$ )。**结论** 宫颈脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 在宫颈癌患者中表达异常, 其中 miR-508-3p 下调, ROCK1 上调, 两者呈靶向负调控关系, 并与宫颈癌患者 FIGO 分期及淋巴结转移密切相关, 具有一定的宫颈癌诊断价值, 可作为早期宫颈癌筛查的潜在生物学指标。

**关键词:** 宫颈脱落细胞; miR-508-3p; ROCK1; 宫颈癌; 诊断价值

**中图分类号:** R737.33

**文献标识码:** A

## Expression of microRNA-508-3p and ROCK1 in exfoliated cervical cells and their diagnostic values in cervical cancer\*

Li-qun He, Jing Yuan, Shu-yun Zhang

(Department of Pathology, Zhuji People's Hospital, Zhuji, Zhejiang 311800, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of microRNA-508-3p (miR-508-3p) and Rho-associated protein kinase 1 (ROCK1) in exfoliated cervical cells and their diagnostic values in cervical cancer. **Methods** From February 2016 to September 2019, 172 cases of exfoliated cervical cells were collected in our hospital,

收稿日期: 2021-02-25

\* 基金项目: 浙江省医学会临床科研基金(No: 2019ZYC-A159)

including 70 cases in the normal group, 54 cases in the cervical intraepithelial neoplasia group, and 48 cases in the cervical cancer group. The expression of miR-508-3p and ROCK1 in each group was detected by qRT-PCR, immunohistochemistry, and Western blotting. Luciferase assay was used to verify the interaction between miR-508-3p and ROCK1 in the exfoliated cervical cells. The relationship between the expression of miR-508-3p and ROCK1 in the exfoliated cervical cells and the clinical data of cervical cancer patients were analyzed, and the diagnostic value of miR-508-3p and ROCK1 expression in the exfoliated cervical cells was evaluated via receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Compared with the normal group, the content of miR-508-3p in cervical cancer group ( $P < 0.05$ ) and cervical intraepithelial neoplasia group ( $P < 0.05$ ) was decreased, while ROCK1 mRNA level, the positive rate of ROCK1 mRNA and ROCK1 protein content were increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the cervical intraepithelial neoplasia group, the content of miR-508-3p in the cervical cancer group was decreased ( $P < 0.05$ ), while ROCK1 mRNA level, the positive rate of ROCK1 mRNA and ROCK1 protein content were increased ( $P < 0.05$ ). MiR-508-3p was negatively correlated with ROCK1 in the cervical cancer group ( $r = -0.6678$ ,  $P = 0.000$ ) and the cervical intraepithelial neoplasia group ( $r = -0.5234$ ,  $P = 0.000$ ), and ROCK1 was the direct target gene of miR-508-3p. The relative expression levels of miR-508-3p and ROCK1 were correlated with FIGO stage and lymph node metastasis of cervical cancer ( $P < 0.05$ ), but not with age and menopausal status of patients, or diameter and pathological type of tumor ( $P > 0.05$ ). In the diagnosis of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia, the area under the ROC curve (AUC) of miR-508-3p was 0.946 (95% CI: 0.899, 0.993) and 0.851 (95% CI: 0.782, 0.921), the sensitivity was 87.1% (95% CI: 0.776, 1.654) and 84.3% (0.746, 1.589), and the specificity was 100.0% (1.000, 2.000) and 79.6% (95% CI: 0.702, 1.497), respectively. The AUC of ROCK1 was 0.949 (95% CI: 0.892, 1.000) and 0.905 (95% CI: 0.852, 0.958), the sensitivity was 89.6% (95% CI: 0.810, 1.706) and 77.8% (95% CI: 0.667, 1.445), and specificity was 100.0% (95% CI: 1.000, 2.000) and 88.6% (95% CI: 0.812, 1.698), respectively. After 1-year follow-up, 42 cases survived and 6 cases died in 48 cases of cervical cancer. The expression level of miR-508-3p in the survival group was higher than that in the death group, and the expression level of ROCK1 mRNA in the survival group was lower than that in the death group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The expression of miR-508-3p and ROCK1 in exfoliated cervical cells of patients with cervical cancer is severely abnormal, in which miR-508-3p is downregulated while ROCK1 is upregulated. The miR-508-3p targets ROCK1 and negatively regulates ROCK1, and both of them are closely associated with the pathological staging and lymph node metastasis in cervical cancer patients. Besides, they are of diagnostic value and may be potential biomarkers for cervical cancer screening.

**Keywords:** exfoliated cervical cells; miR-508-3p; ROCK1; cervical cancer; diagnostic value

宫颈癌是全球女性第 4 大常见癌症<sup>[1]</sup>。早期发现可显著降低宫颈癌患者治疗难度, 延长生存时间<sup>[2]</sup>。上个世纪, 以细胞学为基础的宫颈筛查在降低宫颈癌发病率和病死率方面取得了较大成功<sup>[3]</sup>。目前, 宫颈脱落细胞学检查是临床常用的筛查宫颈癌危险人群的方法之一, 特异性较高<sup>[4]</sup>。

MicroRNA (miRNAs) 作为重要的基因调节因子, 参与多种细胞内通路的调节<sup>[5]</sup>。而通过检测宫颈脱落细胞 miRNAs 的表达来评估宫颈癌的相关报道较少。有研究发现, microRNA-508-3p (miR-508-3p) 上调对宫颈癌细胞的形成及肺转移有抑制作用, miR-508-3p 在宫颈癌中发挥抑癌基因作用<sup>[6]</sup>。基础研究证实 ROCK1 与宫颈癌细胞的增殖及侵袭有关<sup>[7]</sup>。为进一步明确 miR-508-3p、ROCK1 在宫颈癌中的表达及其诊断价值, 本研究检测宫颈脱落细胞 (正常、宫颈上皮内瘤、宫颈癌) miR-508-3p、

ROCK1 的表达水平, 对两者的相关性、靶向关系进行探讨, 并分析其与宫颈癌病理特征的关系, 评估其对宫颈癌的诊断价值, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 2 月–2019 年 9 月诸暨市人民医院收集的宫颈脱落细胞标本 172 例。其中正常组 (病理检查正常) 70 例, 年龄 32 ~ 60 岁; 宫颈上皮内瘤变组 (病理学检查为宫颈上皮内瘤变<sup>[8]</sup>) 54 例, 年龄 34 ~ 57 岁; 宫颈癌组 (病理学检查为宫颈癌<sup>[8]</sup>) 48 例, 年龄 31 ~ 55 岁。本研究经医院医学伦理委员会审批, 所有受试者自愿参与实验且配合度较好。

### 1.2 纳入与排除标准

**1.2.1 纳入标准** 通过宫颈脱落细胞学检查, 宫

颈上皮内瘤变及宫颈癌患者符合相关诊断标准<sup>[8]</sup>；宫颈癌患者实施手术治疗；临床资料完整[包括年龄、绝经情况、肿瘤直径、宫颈癌的国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期、淋巴结转移、病理类型]。

**1.2.2 排除标准** 术前行放化疗、宫颈手术及子宫切除等治疗；宫颈不完整；患其他恶性肿瘤；年龄<30岁，或>65岁；孕妇或妊娠期女性；生殖道炎症性疾病<sup>[9]</sup>。

### 1.3 主要仪器与试剂

Trizol、PrimeScript RT 试剂盒、RNA 酶抑制剂由丹麦 DAKO 公司提供，免疫显色试剂 miR-508-3p、ROCK1、U6、GAPDH 引物由上海生工生物工程股份有限公司设计，离心机由上海精密仪器仪表有限公司提供，酶标仪由上海沃元科技有限公司提供，实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪由杭州艾康生物技术有限公司提供，免疫组织化学试剂盒购自瑞士罗氏公司，ROCK1、GAPDH 相关抗体购自美国圣克鲁斯生物技术公司。

### 1.4 qRT-PCR

提取总 RNA。将收集的全部宫颈脱落细胞标本保存于含细胞保存液的离心管中，离心弃上清液，加入 Trizol 溶液，用移液枪反复吹打后转移至灭菌管中，放置 10 min，加入 0.2 ml 氯仿，混匀后冰上静置 30 min，离心弃上清液，再转移至灭菌管中，加入等量的异丙醇，混匀后冰上静置 15 min，离心弃上清液，加入 75% 乙醇焦碳酸二乙酯水溶液 1 ml，混匀后离心弃上清液，倒置在吸水纸上吸干，加入 10  $\mu$ l DEPC 水溶液，冰上静置 30 min 使 RNA 充分溶解，或置入 -80℃ 冰箱冷冻保存待用。再采用 Stem-loopRT 法(反应体系：PrimeScript RT enzyme 0.8  $\mu$ l, PrimeScript RT Buffer 2.0  $\mu$ l, RNA 酶抑制剂 0.2  $\mu$ l, 各基因 RT 引物 0.2  $\mu$ l) 在 PCR 仪中进行逆转录，合成 cDNA。反应条件：16℃、30 min, 42℃、30 min, 85℃、5 min, 4℃持续。qRT-PCR 反应条件：95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火 30 s, 共计 40 个循环。其中 miR-508-3p 以 U6 为内参，ROCK1 以 GAPDH 为内参。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 mRNA 相对表达量，引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度/ bp
miR-	正向: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	17
508-3p	反向: 5'-TATCGTTGTACTCCAGACCAAGAC-3'	24
ROCK1	正向: 5'-AACATGCTGCTGGATAAATCTGG-3'	23
	反向: 5'-TGTATCACATCGTACCATGCCT-3'	22
U6	正向: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	17
	反向: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'	20
GAPDH	正向: 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	20
	反向: 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'	20

### 1.5 免疫组织化学

将收集的宫颈脱落细胞标本制成细胞薄片，通过免疫组织化学链霉素抗生物-过氧化物酶法检测 ROCK1 蛋白。ROCK1 蛋白免疫组织化学阳性判定标准：ROCK1 蛋白在细胞质或细胞核中呈黄色或棕黄色表达。ROCK1 蛋白阳性表达率(%) = ROCK1 阳性细胞/全部脱落细胞  $\times$  100%。

### 1.6 Western blotting

提取各标本中总蛋白，将提取出的蛋白 100℃ 煮沸 5 min, 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 2 h, 转膜, 5% 牛血清白蛋白室温密封 1 h, 加入一抗(1:1 000 稀释)ROCK1 及 GAPDH 4℃ 孵育过夜，磷酸盐缓冲液冲洗，加入相应二抗，室温孵育 1 h, 显色，暗室曝光，采用 ImageJ 2x 软件分析灰度值。

### 1.7 荧光素酶报告实验

通过 <http://www.targetscan.org> 网站预测 miR-508-3p 和 ROCK1 的靶向关系，以及 miR-508-3p 与 ROCK1 3'-UTR 的结合位点。合成含 miR-508-3p 结合位点的 ROCK1 3'-UTR 启动子区序列，构建 ROCK1 3'-UTR 野生型(wild type, WT)质粒(ROCK1-WT)。并在该质粒基础上构建 ROCK1 3'-UTR 突变型(mutant type, MUT)质粒(ROCK1-MUT)。参照质粒提取试剂盒说明书进行操作。将 ROCK1-WT、ROCK1-MUT 质粒分别与 mimics NC、miR-508-3p mimics 质粒混匀后共转染。转染 48 h 后通过荧光素酶试剂盒测定荧光素酶活性。

### 1.8 临床病理资料分析

查阅并统计行宫颈癌手术患者的年龄、绝经情况、肿瘤直径、FIGO 分期、淋巴结转移、病理

类型 (鳞癌及腺癌)。参照 miR-508-3p 及 ROCK1 中位值将宫颈癌患者分为高表达组与低表达组, 对上述两种基因与宫颈癌病理特征的关系进行分析。全部宫颈癌患者随访 1 年, 统计其生存、死亡例数。

### 1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用 *t* 检验或方差分析, 方差分析的两两比较用 SNK-*q* 法; 计数资料以构成比 (%) 表示, 比较用  $\chi^2$  检验; 绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线; 相关性分析用 Pearson 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组细胞 miR-508-3p 及 ROCK1 的表达

正常组、宫颈上皮内瘤变组、宫颈癌组脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 mRNA、ROCK1 mRNA 阳性率、ROCK1 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。进一步两两比较: 与正常组比较, 宫颈癌组和宫颈上皮内瘤变组 miR-508-3p 降低 (P < 0.05), ROCK1 mRNA、ROCK1 mRNA 阳性率、ROCK1 蛋白相对表达量升高 (P < 0.05); 与宫颈上皮内瘤变组比较, 宫颈癌组 miR-508-3p 降低 (P < 0.05), ROCK1 mRNA、ROCK1 mRNA 阳性率、ROCK1 蛋白相对表达量升高 (P < 0.05)。见表 2 和图 1、2。

表 2 各组宫颈脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 比较

组别	n	miR-508-3p	ROCK1 mRNA	ROCK1 mRNA 阳性率/%	ROCK1 蛋白
宫颈癌组	48	0.67 ± 0.19	2.80 ± 0.61	69.78 ± 10.14	1.15 ± 0.17
宫颈上皮内瘤变组	54	1.05 ± 0.24	1.95 ± 0.50	36.77 ± 8.50	0.47 ± 0.08
正常组	70	1.63 ± 0.53	1.18 ± 0.32	1.28 ± 0.16	0.16 ± 0.03
F 值		96.550	168.102	1324.006	1355.102
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

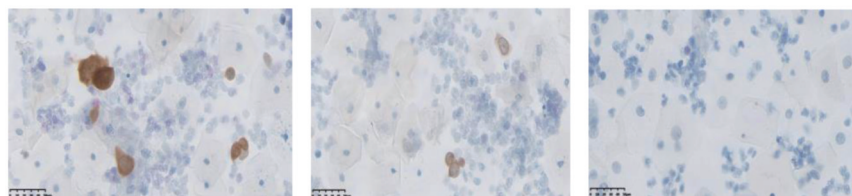


图 1 各组宫颈脱落细胞中 ROCK1 的表达 (免疫组织化学 × 200)

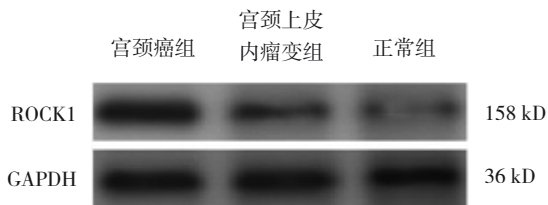


图 2 各组宫颈脱落细胞 ROCK1 蛋白的表达

宫颈癌组、宫颈上皮内瘤变组 miR-508-3p 与 ROCK1 mRNA 均呈负相关 ( $r = -0.6678$  和  $-0.5234$ , 均  $P = 0.000$ )。见图 3、4。

ROCK1 是 miR-508-3p 的预测靶基因 (见图 5)。ROCK1-WT 中, miR-508-3p mimics 组与 mimics NC 组荧光素酶活性分别为  $(0.47 \pm 0.02)$  和  $(0.99 \pm$

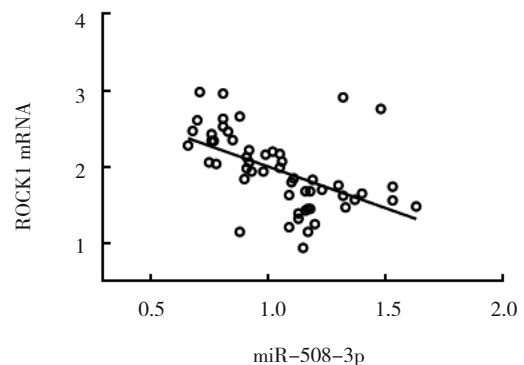


图 3 宫颈癌组 miR-508-3p 与 ROCK1 mRNA 的相关性散点图

$0.05)$ , 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $t = 16.724$ ,  $P = 0.000$ ), miR-508-3p mimics 组较低。ROCK1-MUT

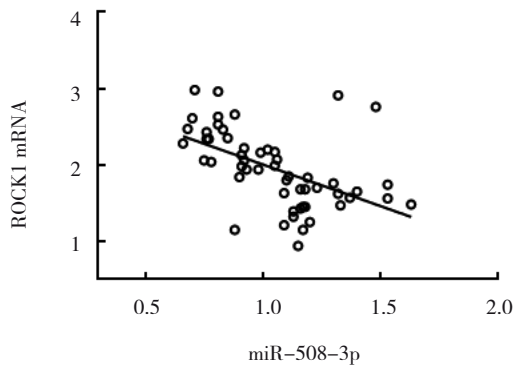


图 4 宫颈上皮内瘤变组 miR-508-3p 与 ROCK1 mRNA 的相关性散点图

中, miR-508-3p mimics 组与 mimics NC 组荧光素酶活性分别为  $(1.01 \pm 0.03)$  和  $(0.97 \pm 0.01)$ , 经  $t$  检验, 差异无统计学意义 ( $t=2.190, P=0.093$ )。

### 2.2 miR-508-3p、ROCK1 表达与宫颈癌临床病理特征的关系

不同 FIGO 分期、有无淋巴结转移患者的 miR-508-3p、ROCK1 表达水平比较, 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而不同年龄、绝经情况、肿瘤直径、病理类型患者的 miR-508-3p、ROCK1 表达水平比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

		Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type
Position 1085-1091 of ROCK1 3' UTR	5'	... CUUUCAUAAAUGAGUACAAUCU...	7mer-m8
hsa-miR-508-3p	3'	AG AUGAGGUUUUCCG-AUGUUAGU	
Position 2462-2468 of ROCK1 3' UTR	5'	... ACUUGUCAGGCUUGCUACAAUCU...	7mer-m8
hsa-miR-508-3p	3'	AG AUGAGGUUUUCCG AUGUUAGU	

图 5 Targetscan 网站预测 miR-508-3p 与 ROCK1 的靶向关系

表 3 各临床病理特征宫颈癌患者 miR-508-3p 和 ROCK1 表达水平比较 [n=24, 例(%)]

临床病理特征	miR-508-3p		$\chi^2$ 值	P 值	ROCK1		$\chi^2$ 值	P 值
	低表达	高表达			低表达	高表达		
<b>年龄</b>								
≥ 45 岁	13(54.17)	17(70.83)	1.422	0.233	14(58.33)	16(66.67)	0.356	0.551
< 45 岁	11(45.83)	7(29.17)			10(41.67)	8(33.33)		
<b>绝经情况</b>								
绝经	10(41.67)	12(50.00)	0.336	0.562	9(37.50)	13(54.17)	1.343	0.247
未绝经	14(58.33)	12(50.00)			15(62.50)	11(45.83)		
<b>肿瘤直径</b>								
≥ 4 cm	9(37.50)	6(25.00)	0.873	0.350	5(20.83)	10(41.67)	2.424	0.119
< 4 cm	15(62.50)	18(75.00)			19(79.17)	14(58.33)		
<b>FIGO 分期</b>								
I 期	5(20.83)	20(83.33)	20.923	0.000	17(70.83)	8(33.33)	9.717	0.008
II A 期	9(37.50)	4(16.67)			6(25.00)	7(29.17)		
II B 期	10(41.67)	0(0.00)			1(4.17)	9(37.50)		
<b>淋巴结转移</b>								
有	10(41.67)	1(4.17)	9.553	0.002	2(8.33)	9(37.50)	5.779	0.016
无	14(58.33)	23(95.83)			22(91.67)	15(62.50)		
<b>病理类型</b>								
鳞癌	19(79.17)	20(83.33)	0.137	0.712	21(87.50)	18(75.00)	1.231	0.267
腺癌	5(20.83)	4(16.67)			3(12.50)	6(25.00)		

### 2.3 miR-508-3p、ROCK1 诊断宫颈癌和宫颈上皮内瘤变的 ROC 曲线

miR-508-3p 诊断宫颈癌的 ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 0.946, 敏感性为 87.1%, 特异性为 100.0%, 约登指数为 0.871。miR-508-3p 诊断宫颈上皮内瘤变的 AUC 为 0.851, 敏感性为 84.3%, 特异性为 79.6%, 约登指数为 0.639。见表 4 和图 6。

ROCK1 诊断宫颈癌的 AUC 为 0.949, 敏感性为 89.6%, 特异性为 100.0%, 约登指数为 0.896。ROCK1

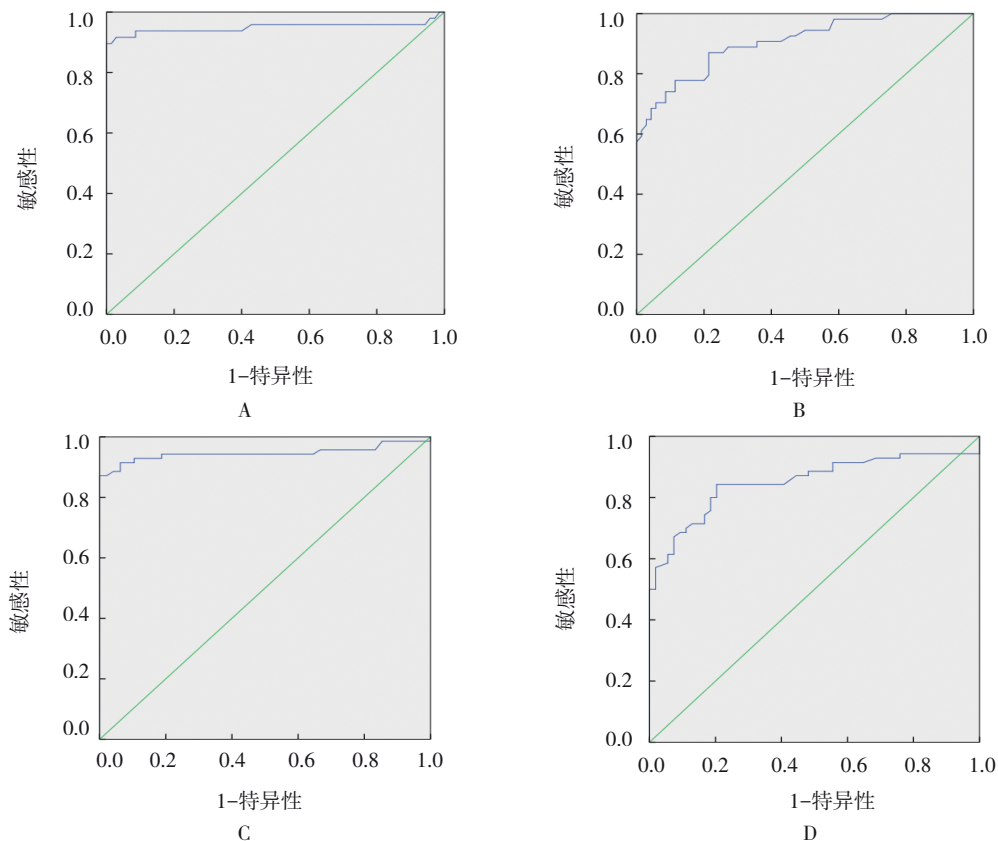
诊断宫颈上皮内瘤变的 AUC 为 0.905, 敏感性为 77.8%, 特异性为 88.6%, 约登指数为 0.663。见表 4 和图 6。

### 2.4 生存组和死亡组脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 的表达

随访 1 年后, 48 例宫颈癌患者中生存 42 例, 死亡 6 例。生存组与死亡组 miR-508-3p 和 ROCK1 mRNA 相对表达量比较, 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 生存组 miR-508-3p 高于死亡组, ROCK1 mRNA 相对表达量低于死亡组。见表 5。

表 4 miR-508-3p、ROCK1 诊断宫颈癌和宫颈上皮内瘤变的 ROC 曲线参数

指标	AUC	95% CI		敏感性/%	95% CI		特异性/%	95% CI		约登指数
		下限	上限		下限	上限		下限	上限	
<b>miR-508-3p</b>										
宫颈癌	0.946	0.899	0.993	87.1	0.776	1.654	100.0	1.000	2.000	0.871
宫颈上皮内瘤变	0.851	0.782	0.921	84.3	0.746	1.589	79.6	0.702	1.497	0.639
<b>ROCK1</b>										
宫颈癌	0.949	0.892	1.000	89.6	0.810	1.706	100.0	1.000	2.0010	0.896
宫颈上皮内瘤变	0.905	0.852	0.958	77.8	0.667	1.445	88.6	0.812	1.698	0.663



A: miR-508-3p 诊断宫颈癌的 ROC 曲线; B: miR-508-3p 诊断宫颈上皮内瘤变的 ROC 曲线; C: ROCK1 诊断宫颈癌的 ROC 曲线; D: ROCK1 诊断宫颈上皮内瘤变的 ROC 曲线。

图 6 miR-508-3p、ROCK1 诊断宫颈癌和宫颈上皮内瘤变的 ROC 曲线

表5 生存组与死亡组脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 mRNA 相对表达量比较

组别	n	miR-508-3p	ROCK1 mRNA
生存组	42	0.72 ± 0.21	2.35 ± 0.42
死亡组	6	0.32 ± 0.08	5.95 ± 1.08
t 值		4.582	15.478
P 值		0.000	0.000

### 3 讨论

约 90% 宫颈癌死亡患者处于低收入和中等收入国家，特别是在艾滋病流行率较高的地区，这主要是由于预防、筛查机会及治疗选择有限<sup>[10]</sup>。目前仅凭细胞形态学改变作为诊断依据难以满足大面积宫颈癌筛查的需求<sup>[11]</sup>。随着基因筛查、分子生物学、蛋白组学等生物医学工程的不断发展，宫颈癌标志物的筛选及其靶向治疗的探索已成为临床研究的焦点<sup>[12]</sup>。

miRNAs 是一类小分子非编码 RNA 序列，参与多种重要的生物学行为，在多种恶性肿瘤中均有 miRNA 异常表达<sup>[13-16]</sup>。miR-508-3p 是一种抑癌基因，在大肠癌<sup>[17]</sup>、乳腺癌<sup>[18]</sup>及胃癌<sup>[19]</sup>中呈低表达，上调 miR-508-3p 可对肿瘤细胞的侵袭、转移、凋亡及增殖发挥调控作用，可作为肿瘤性疾病的潜在治疗靶点。HU 等<sup>[6]</sup>研究报道，miR-508-3p 在宫颈癌细胞和细胞系中呈异常低表达，其高表达可抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭和迁移，促进宫颈癌细胞凋亡。ROCK1 作为 Rho 家族成员，可通过 Rho/ROCK 信号通路激活反向相关信号分子，参与癌细胞的增殖、侵袭及转移过程。在肿瘤的发生、发展中，ROCK1 可结合活化的 Rho 蛋白，促使 ROCK1 催化活性中心，诱导癌细胞肌动蛋白骨架重组，从而增强癌细胞运动能力<sup>[20]</sup>。现阶段关于 miR-508-3p、ROCK1 与宫颈癌关系的研究多集中于病变组织检测或血清检查，而 miR-508-3p、ROCK1 在宫颈脱落细胞中的检测尚未见研究报道。

自巴氏以形态学为基础创立的涂片宫颈脱落细胞学检查被应用于宫颈癌的筛查，宫颈癌患病率及病死率明显降低<sup>[21]</sup>。有研究发现，血清<sup>[22]</sup>、唾液<sup>[23]</sup>及尿液<sup>[24]</sup>等样本中能检测到 miRNAs。相较于血清标本，宫颈脱落细胞 miRNA 的表达更具有特异性。因此本研究通过检测健康人群、宫颈上皮

内瘤变及宫颈癌患者宫颈脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 的表达，分析两者与宫颈癌临床病理特征及预后的关系。

本研究结果显示，miR-508-3p 相对表达量在正常组、宫颈上皮内瘤变组及宫颈癌组中依次递减，说明当 miR-508-3p 呈低表达趋势时，宫颈病变越严重，而 ROCK1 表达与之相反，同时暗示两者存在一定的负调控关系。相关性分析结果显示，宫颈癌组、宫颈上皮内瘤变组 miR-508-3p 与 ROCK1 mRNA 均呈负相关，推测 miR-508-3p 可能通过靶向负调控 ROCK1 的表达，参与宫颈病变的发生、发展。荧光素酶报告实验结果表明，miR-508-3p 可能通过介导 ROCK1 的表达来调节宫颈癌细胞的恶性生物学行为，进而对宫颈癌的发生、发展起到一定的调控作用，而关于两者与宫颈癌细胞生物学行为作用机制的研究有待进一步探讨。

本研究结果显示，miR-508-3p、ROCK1 表达水平与宫颈癌患者的 FIGO 分期、淋巴结转移有关，而与年龄、绝经情况、肿瘤直径及病理类型无关。提示宫颈癌患者宫颈脱落细胞 miR-508-3p 表达水平越低，ROCK1 表达水平越高时，患者病情恶化越严重。这对宫颈癌的早期诊断具有一定的辅助意义。ROC 曲线结果显示，miR-508-3p 和 ROCK1 诊断宫颈癌的 AUC 分别为 0.946 和 0.949；miR-508-3p 和 ROCK1 诊断宫颈上皮内瘤变的 AUC 分别为 0.851 和 0.905，说明两者在宫颈癌的筛查中具有较好的诊断价值。随访 1 年后，生存组 miR-508-3p 高于死亡组，ROCK1 mRNA 相对表达量低于死亡组，说明两者对预后具有预测作用。

综上所述，宫颈脱落细胞 miR-508-3p、ROCK1 在宫颈癌患者中表达异常，其中 miR-508-3p 下调，ROCK1 上调，两者呈靶向负调控关系，并与宫颈癌患者 FIGO 分期及淋巴结转移密切相关，具有一定的宫颈癌诊断价值，可作为早期宫颈癌筛查的潜在生物学指标。

#### 参考文献：

- [1] JONAH M, ACHENBACH C J, O'DWYER L C, et al. Effect of cervical cancer education and provider recommendation for screening on screening rates: a systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0183924.

- [2] PIMPLE S A, MISHRA G A. Global strategies for cervical cancer prevention and screening[J]. *Minerva Ginecol*, 2019, 71(4): 313-320.
- [3] BHATLA N, SINGHAL S. Primary HPV screening for cervical cancer[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2020, 65(5): 98-108.
- [4] TIAN Q F, LI Y, WANG F F, et al. MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus-positive women[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 10(9): 1-8.
- [5] PARDINI B, DANIELA D M, FRANCAVILLA A, et al. MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: a systematic review[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 696.
- [6] HU P, ZHOU G J, ZHANG X H, et al. Long non-coding RNA Linc00483 accelerated tumorigenesis of cervical cancer by regulating miR-508-3p/RGS17 axis[J]. *Life Sci*, 2019, 234(2): 116789.
- [7] 秦海霞, 李少平, 朱利红, 等. miR-335 调控 ROCK1 对宫颈癌细胞作用的研究[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2018, 19(5): 407-410.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 宫颈癌及癌前病变规范化诊疗指南(试行)[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2013, 5(8): 37-46.
- [9] 梁登辉, 高原, 舒丽莎. 宫颈脱落细胞中 cyclin、Ki67 的表达对宫颈癌高危人群筛查的意义及其管理对策分析[J]. *中国性科学*, 2020, 29(7): 29-32.
- [10] CUBIE H A, CAMPBELL C. Cervical cancer screening-the challenges of complete pathways of care in low-income countries: focus on malawi[J]. *Womens Health (Lond)*, 2020, 16(10): 1745506520914804.
- [11] 张建芝. 江苏省南通市通州区农村妇女宫颈癌筛查结果分析[J]. *系统医学*, 2018, 3(15): 116-117.
- [12] HASANZADEH M, MOVAHEDI M, REJALI M, et al. The potential prognostic and therapeutic application of tissue and circulating microRNAs in cervical cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1289-1294.
- [13] AHADI A. The significance of microRNA deregulation in colorectal cancer development and the clinical uses as a diagnostic and prognostic biomarker and therapeutic agent[J]. *Noncoding RNA Res*, 2020, 5(3): 125-134.
- [14] 方红艳, 汪锋平, 张善征. 血清 miR-10a、IL-35 水平在脓毒症并发急性肾损伤的诊断的临床分析[J]. *浙江创伤外科*, 2020, 25(4): 728-730.
- [15] PEREIRA J D, TOSATTI J A G, SIMÕES R, et al. micrnas associated to anthracycline-induced cardiotoxicity in women with breast cancer: a systematic review and pathway analysis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110709.
- [16] 杨希, 朱君飞, 吴旭佳, 等. 非小细胞肺癌 miR-155 和 FoxO1 表达临床意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(10): 713-716.
- [17] WANG Z Z, JIN J J. LncRNA SLCO4A1-AS1 promotes colorectal cancer cell proliferation by enhancing autophagy via miR-508-3p/PARD3 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(14): 4876-4889.
- [18] GUO S J, ZENG H X, HUANG P, et al. miR-508-3p inhibits cell invasion and epithelial-mesenchymal transition by targeting ZEB1 in triple-negative breast cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(19): 6379-6385.
- [19] HUANG T T, KANG W, ZHANG B, et al. miR-508-3p concordantly silences NFKB1 and RELA to inactivate canonical NF- $\kappa$ B signaling in gastric carcinogenesis[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 9.
- [20] HU C B, LI Q L, HU J F, et al. miR-124 Inhibits growth and invasion of gastric cancer by targeting ROCK1[J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention Apjcp*, 2014, 15(16): 6543-6546.
- [21] 程甜甜, 杨贤子, 骆志国. Ax1 及其配体 Gas6 在宫颈鳞癌中的表达与意义[J]. *川北医学院学报*, 2016, 31(2): 228-231.
- [22] LEUNG CARMEN O N, DENG W, YE T M, et al. MicroRNA-135a-induced formation of CD133<sup>+</sup> subpopulation with cancer stem cell properties in cervical cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(11): 1592-1604.
- [23] SATAPATHY S, BATRA J, JEET V, et al. MicroRNAs in HPV associated cancers: small players with big consequences[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2017, 17(7): 711-722.
- [24] MIN X H, ZHANG M S, HUANG F J, et al. Live cell microma imaging using exonuclease III -aided recycling amplification based on aggregation-induced emission luminogens[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(14): 8998-9003.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 何立群, 袁婧, 张舒云. 宫颈脱落细胞 microRNA-508-3p、ROCK1 的表达及其对宫颈癌的诊断价值研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(16): 28-35.

Cite this article as: HE L Q, YUAN J, ZHANG S Y. Expression of microRNA-508-3p and ROCK1 in exfoliated cervical cells and their diagnostic values in cervical cancer[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(16): 28-35.