

引用本文:陈小霞,谢环,李晓兰.微小RNA-9在子宫内膜癌组织中表达及意义[J].安徽医药,2022,26(8):1537-1540.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.012.

◇临床医学◇



微小RNA-9在子宫内膜癌组织中表达及意义

陈小霞,谢环,李晓兰

作者单位:三峡大学宜昌市第二人民医院妇产科,湖北 宜昌 443000

基金项目:湖北省自然科学基金(2015CFB574)、

摘要: 目的 探讨微小RNA-9(miR-9)在子宫内膜癌组织中表达及意义。方法 选取2012年4月至2014年4月在三峡大学宜昌市第二人民医院行手术治疗的子宫内膜癌病人97例,同期,留取因子宫良性病变行子宫切除手术的正常子宫内膜组织46份,实时荧光定量PCR术检测组织中miR-9表达,病人随访2~84个月,采用Kaplan-Meier法和Cox比例风险回归模型分析影响病人预后因素。结果 子宫内膜癌组织中miR-9相对表达量高于正常子宫内膜组织[(0.25±0.10)比(1.02±0.14), $t=38.42$, $P<0.001$];相比于FIGO分期I~II期、组织学分级G1~G2期、浸润深度<1/2肌层、未淋巴结转移,miR-9相对表达量在III~IV期[(0.20±0.09)比(0.28±0.10)]、G3期[(0.20±0.08)比(0.28±0.10)]、≥1/2肌层[(0.21±0.09)比(0.28±0.10)]、淋巴结转移[(0.20±0.08)比(0.27±0.10)]显著降低($P<0.05$);相比于高表达组,miR-9低表达组生存时间[(34.82±5.96)个月比(69.23±3.12)个月]和累积生存率(24.00%比75.00%)均降低($\chi^2=28.37$, $P<0.001$);miR-9低表达是病人预后的风险因素($HR=0.305$, $P<0.05$)。结论 miR-9在子宫内膜癌组织中呈低表达,与代表病人恶性进展指标负相关。

关键词: 子宫内膜肿瘤; 微小RNA-9; 临床病理指标; 预后; Cox比例风险回归模型

Expression of miR-9 in endometrial carcinoma and its significance

CHEN Xiaoxia, XIE Huan, LI Xiaolan

Author Affiliation: Department of Gynaecology and Obstetrics, Yichang Second People's Hospital Affiliated to China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and significance of miR-9 in endometrial carcinoma. **Methods** A total of 97 cases of patients with endometrial carcinoma who underwent surgery in Yichang Second People's Hospital Affiliated to China Three Gorges University from April 2012 to April 2014 were selected. In the same period, 46 cases of normal endometrial tissues from benign lesions undergoing hysterectomy were collected. Real-time quantitative PCR was used to detect the expressions of miR-9 in tissues. The patients were followed up for 2 to 84 months, and Kaplan-Meier method and Cox proportional hazards regression model were used to analyze the prognostic factors of patients. **Results** The relative expression level of miR-9 in endometrial carcinoma tissue was higher than that in the normal endometrial tissue [(0.25±0.10) vs. (1.02±0.14), $t=38.42$, $P<0.001$]. Compared with FIGO stage I to II stage, histological grade G1 to G2, invasion depth <1/2 muscle layer, and no lymph node metastasis, the relative expression levels of miR-9 in III to IV stage [(0.20±0.09) vs. (0.28±0.10)], G3 stage [(0.20±0.08) vs. (0.28±0.10)], ≥1/2 muscle layer [(0.21±0.09) vs. (0.28±0.10)], lymph node metastasis [(0.20±0.08) vs. (0.27±0.10)] were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the high expression group, the survival time [(34.82±5.96) months vs. (69.23±3.12) months] and cumulative survival rate (24.00% vs. 75.00%) in the miR-9 low expression group were decreased ($\chi^2=28.37$, $P<0.001$). The low expression of miR-9 was a risk factor for patient prognosis ($HR=0.305$, $P<0.05$). **Conclusion** miR-9 is lowly expressed in endometrial carcinoma tissues, and negatively correlated with indicators representing the malignant progression of patients.

Key words: Endometrial neoplasms; miRNA-9; Clinicopathological parameters; Prognosis; Cox proportional hazards regression model

子宫内膜癌发病率呈上升趋势、发病年龄出现年轻化^[1],对女性生命安全构成了严重威胁。尽管现有的临床诊疗手段不断进步,早期子宫内膜癌病人经规范化治疗后,总体生存期不断延长^[2],但对于进展期或转移复发的病人,预后依然较差,病死率较高^[3]。因此,积极探讨影响子宫内膜癌发生、进展

的早期标志物,对该肿瘤早期诊疗及预后改善具有重要意义。微小RNA(micro RNA, miRNA)是一种在转录后水平通过与mRNA靶序列结合而实现对靶基因的负性调控的非编码RNA,可在多种生理、病理过程中发挥重要作用^[4]。近年来发现^[5],miRNA与多种恶性肿瘤发生及进展密切相关。有研究

指出^[6],子宫内膜癌干细胞分化过程中部分 miRNA 的表达具有显著性变化。miR-9 作为一种 miRNA,可在体内多种组织中表达并发挥重要作用^[7]。本研究检测了 miR-9 在子宫内膜癌组织中表达情况,分析了与临床病理指标及预后的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 4 月至 2014 年 4 月在三峡大学宜昌市第二人民医院行手术治疗的子宫内膜癌病人,纳入标准:术前未接受放化疗、内分泌治疗;术后病理明确为子宫内膜癌;术前无内分泌、免疫、代谢性疾病;未失访,资料完善。排除标准:转移性子官内膜癌;合并有其他恶性肿瘤。共纳入 97 例,年龄(54.67±9.67)岁,范围为 34~73 岁。体重指数(BMI)(25.35±2.67)kg/m²,按照国际妇产科联盟(FIGO)2009 年标准:I~II 期 56 例,III~IV 期 41 例;36 例出现淋巴结转移。同期,留取因子宫肌瘤、脱垂等良性病变行子宫切除手术的正常子宫内膜组织 46 份,年龄(55.39±10.15)岁,范围为 32~74 岁。本研究通过宜昌市第二人民医院医院伦理委员会批准(批准文号:HBSYCSDER-MYY201108061136),所有病人均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 术 用外科剪将子宫内膜癌及正常子宫内膜组织剪碎,加入组织研磨机匀浆,按 Trizol 总 RNA 提取试剂说明(购自美国 Invitrogen 公司)提取总 RNA。利用紫外分光光度计检测总 RNA 浓度和纯度,合格标准:OD₂₆₀/OD₂₈₀在 1.80~2.20。按照逆转录试剂盒(购自日本 TaKaRa 公司)说明将总 RNA 逆转录为 cDNA,根据 PCR 扩增试剂盒(购自日本 TaKaRa 公司)操作步骤,用 CFX96 型实时荧光定量 PCR 仪(购自美国 Bio-Rad 公司)对引物序列进行扩增,引物序列:miR-9 正向 5'-GCCG-GTCTTTGGTTATCTAGCTGTATG-3',反向 5'-GCT-GTCAACGATACGCTACG-3';U6 正向 5'-CTGCTTC-GGCAGCACATATACT-3',反向 5'-ACGCTTCAC-GAATTTGCGTGTC-3'。反应条件:94℃ 3 min,94℃ 30 s,58℃ 30 s,73℃ 30 s,循环 38 次。采用 2^{-ΔΔCt}法计算组织中 miR-9 相对表达量。

1.2.2 随访 术后第 1 天开始,对病人进行随访,包括门诊、电话等,随访至 2019 年 4 月 30 日,随访 2~84 个月,记录病人死亡情况。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$,组间比较采用独立样本 *t* 检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 法和 Log-Rank 检验,多因素因素分析采用 Cox 比例风险回归模型,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 子宫内膜癌及正常子宫内膜组织中 miR-9 表达比较 miR-9 在子宫内膜癌组织相对表达量为(0.25±0.10),在正常子宫内膜组织中则为(1.02±0.14),差异有统计学意义(*t*=38.42,*P*<0.001)。

2.2 不同临床病理指标的子宫内膜癌组织中 miR-9 表达比较 相比于 FIGO 分期 I~II 期、组织学分级 G1~G2 期、浸润深度<1/2 肌层、未淋巴结转移,miR-9 相对表达量在 III~IV 期、G3 期、≥1/2 肌层、淋巴结转移显著降低(*P*<0.05),见表 1。

表 1 子宫内膜癌病人不同临床病理指标中 miR-9 表达比较/ $\bar{x} \pm s$

指标	例数	miR-9 相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄			1.36	0.177
<55 岁	43	0.23±0.10		
≥55 岁	54	0.26±0.10		
是否绝经			1.82	0.073
是	40	0.23±0.09		
否	57	0.26±0.10		
病理学类型			1.44	0.154
子宫内膜腺癌	77	0.25±0.10		
非子宫内膜腺癌	20	0.22±0.08		
FIGO 分期			3.84	<0.001
I~II 期	56	0.28±0.10		
III~IV 期	41	0.20±0.09		
组织学分级			3.76	<0.001
G1~G2 期	59	0.28±0.10		
G3 期	38	0.20±0.08		
浸润深度			3.89	<0.001
<1/2 肌层	55	0.28±0.10		
≥1/2 肌层	42	0.21±0.09		
雌激素受体			1.63	0.106
阳性	66	0.26±0.10		
阴性	31	0.22±0.10		
孕激素受体			1.78	0.078
阳性	61	0.23±0.10		
阴性	36	0.27±0.10		
淋巴结转移			3.46	0.001
是	36	0.20±0.08		
否	61	0.27±0.10		

2.3 miR-9 表达对子宫内膜癌病人生存时间的影响 选取 miR-9 相对表达量的 *P*₂₅ 值(0.16),病人分成低表达组(<0.16)16 例及高表达组(≥0.16)71 例,生存分析示,低表达组生存时间低于高表达组[(34.82±5.96)个月比(69.23±3.12)个月],累积生存率低于高表达组(24.00% 比 75.00%),差异有统计学意义($\chi^2=28.37$,*P*<0.001)。

2.4 影响病人预后的因素 FIGO 分期 III~IV 期、浸

润深度 $\geq 1/2$ 肌层、淋巴结转移和miR-9低表达是病人预后的风险因素($HR=2.44$ 、 2.75 、 2.26 和 0.31 , $P<0.05$)。

表2 子宫内膜癌97例预后影响因素的Cox比例风险回归模型

指标	B值	SE值	Wald χ^2 值	P值	HR	HR (95.0%CI)	
						下限	上限
年龄	-0.45	0.41	1.21	0.272	0.64	0.28	1.43
是否绝经	0.54	0.36	2.29	0.130	1.72	0.85	3.49
病理学类型	0.32	0.42	0.57	0.452	1.37	0.60	3.14
FIGO分期	0.97	0.40	6.01	0.014	2.64	1.22	5.73
组织学分级	0.17	0.40	0.19	0.664	1.19	0.54	2.60
浸润深度	1.02	0.43	5.63	0.018	2.77	1.19	6.42
雌激素受体	-0.44	0.46	0.92	0.338	0.65	0.26	1.50
孕激素受体	-0.37	0.39	0.86	0.353	0.69	0.32	1.50
淋巴结转移	0.83	0.40	4.23	0.040	2.30	1.04	5.08
miR-9表达	-1.14	0.35	10.79	0.001	0.32	0.16	0.63

3 讨论

子宫内膜癌诱发因素较多,发病率仅次于宫颈癌,位女性生殖道恶性肿瘤第二位^[8]。临床上对于早期子宫内膜癌病人的治疗主要以手术切除辅以放化疗,多数病人病情得到很好控制,5年生存率不断提高^[9],但对于晚期及发生复发转移的病人,死亡率较高,5年生存率不超过30%^[10]。目前,对于子宫内膜癌发生、进展机制及诊疗标志物研究尚处于起步阶段,积极寻找有效的分子标志物或靶基因对明确子宫内膜癌发生、进展机制及诊疗具有重要意义。有研究指出,miRNAs功能及表达异常与人类肿瘤发生、进展密切相关^[11]。miRNAs可在肿瘤发生中起促癌或抑癌基因功能^[12]。有研究指出,miRNAs基因谱在子宫内膜癌组织中出现异常^[13]。miR-9是近年来被发现在多种恶性肿瘤组织中表达异常的miRNA^[7],且在不同类型的恶性肿瘤中既可以扮演癌基因的作用而促进肿瘤发生及血管生成^[14],又可以作为抑癌基因参与肿瘤细胞增殖和运动^[15]。本研究中,miR-9在子宫内膜癌组织中相对表达量显著降低,提示可能发挥抑癌基因参与了子宫内膜癌发生。本研究中,相比于FIGO分期I~II期、组织学分级G1~G2期、浸润深度 $<1/2$ 肌层、未淋巴结转移,miR-9相对表达量在III-IV期、G3期、 $\geq 1/2$ 肌层、淋巴结转移显著降低,说明随着子宫内膜癌恶性程度增加,miR-9表达量降低,提示miR-9低表达可能参与了子宫内膜癌恶性化过程。

有研究指出,miR-9低表达与结直肠癌病人不良预后相关,是影响病人预后的因素^[16]。亦有研究

指出,miR-9是膀胱癌切除术后病人预后的影响因素^[17]。本研究结果表明,低表达组生存时间和累积生存率均低于高表达组,说明提示miR-9表达水平与病人预后有关。本研究结果进一步表明,miR-9低表达是病人预后的风险因素,可能是病人预后评估的潜在标志物。

综上所述,miR-9在子宫内膜癌组织中低表达,且是病人预后的风险指标,但其作用的分子机制尚需开展研究明确。

参考文献

- [1] TIAN J, LIANG Y, QU P. Antidiabetic medications and the risk of endometrial cancer in patients [J]. Gynecol Obstet Invest, 2019, 84(5):455-462.
- [2] 高玉霞,董学彩,王文翔,等.长链非编码RNA HOTTIP在子宫内膜癌患者组织中的表达及其临床意义[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2020,27(12):1378-1382.
- [3] SIMSEK SY, SERBETCIOGLU G, ALEMDAROGLU S, et al. Clinicopathologic characteristics of recurrent endometrioid endometrial cancer patients and analysis of methods used during surveillance [J]. J Gynecol Obstet Hum Reprod, 2019, 48(7):473-477.
- [4] CHAMANI E, SARGOLZAEI J, TAVAKOLI T, et al. microRNAs: novel markers in diagnostics and therapeutics of celiac disease [J]. DNA Cell Biol, 2019, 38(7):708-717.
- [5] YIN Y, LONG J, HE Q, et al. Emerging roles of circRNA in formation and progression of cancer [J]. J Cancer, 2019, 10(21):5015-5021.
- [6] 王伟,王臻,黄康榕,等.子宫内膜癌干细胞分化过程中microRNA表达谱的鉴定及分析[J].西安交通大学学报(医学版),2018,39(2):221-226.
- [7] 马志龙,宋国栋,赵东波,等.微小RNA-9的研究进展[J].中华实验外科杂志,2019,36(7):1327-1331.
- [8] 张金玲,李岩.子宫内膜癌的分子生物学进展[J].中国妇幼保健,2018,33(15):3588-3590.
- [9] 张英,马瑞霞,杜艳云,等. MicroRNA-15b在子宫内膜癌组织中的表达及其对子宫内膜癌细胞增殖的影响[J].新乡医学院学报,2018,35(3):177-181.
- [10] TODO Y, TAKESHITA S, OKAMOTO K, et al. Implications of para-aortic lymph node metastasis in patients with endometrial cancer without pelvic lymph node metastasis [J/OL]. J Gynecol Oncol, 2017, 28(5):e59. DOI: 10.3802/jgo.2017.28.e59.
- [11] AGHDAM AM, AMIRI A, SALARINIA R, et al. MicroRNAs as diagnostic, prognostic, and therapeutic biomarkers in prostate cancer [J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2019, 29(2):127-139.
- [12] OMAR HA, EL-SERAFI AT, HERSI F, et al. Immunomodulatory MicroRNAs in cancer: targeting immune checkpoints and the tumor microenvironment [J]. FEBS J, 2019, 286(18):3540-3557.
- [13] JAYARAMAN M, RADHAKRISHNAN R, MATHEWS CA, et al. Identification of novel diagnostic and prognostic miRNA signatures in endometrial cancer [J]. Genes Cancer, 2017, 8(5-6):566-576.

- [14] CHEN X, YANG F, ZHANG T, et al. MiR-9 promotes tumorigenesis and angiogenesis and is activated by MYC and OCT4 in human glioma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):99-115.
- [15] ZHU B, XI X, LIU Q, et al. MiR-9 functions as a tumor suppressor in acute myeloid leukemia by targeting CX chemokine receptor 4[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(6):3384-3397.
- [16] WANG WX, YU HL, LIU X. MiR-9-5p suppresses cell metastasis and epithelial-mesenchymal transition through targeting FOXP2 and predicts prognosis of colorectal carcinoma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(15):6467-6477.
- [17] SETTI BOUBAKER N, CICCHILLITI L, SAID R, et al. The clinical and prognostic value of miR-9 gene expression in Tunisian patients with bladder cancer[J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(5):4743-4750.
- (收稿日期:2020-06-22,修回日期:2020-08-05)

引用本文:孟林,种亚楠,沈晓燕,等.脑脊液脂质运载蛋白2检测对早期鉴别诊断血管性痴呆和阿尔茨海默病的价值[J].安徽医药,2022,26(8):1540-1543.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.013.

◇临床医学◇



脑脊液脂质运载蛋白2检测对早期鉴别诊断血管性痴呆和阿尔茨海默病的价值

孟林,种亚楠,沈晓燕,赵荣健,尤雪梅

作者单位:陕西省第四人民医院神经内科,陕西 西安710043

通信作者:尤雪梅,女,副主任医师,研究方向为帕金森病的基础及临床研究,

脑血管病,神经系统变性疾病,Email:liv682@163.com

摘要: 目的 探讨脑脊液脂质运载蛋白2(LCN2)对鉴别诊断血管性痴呆症与阿尔茨海默病的价值。方法 选取2017年1月至2019年10月在陕西省第四人民医院接受治疗的阿尔茨海默病病人46例(阿尔茨海默病组)、血管性痴呆病人32例(血管性痴呆组)为研究对象,用酶联免疫吸附(ELISA)法检测两组病人脑脊液中LCN2水平、 β -淀粉样蛋白($A\beta_{1-42}$)和总tau蛋白(T-tau)水平,并分析两组脑脊液LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白和T-tau蛋白水平、简易精神状态检查量表(MMSE)评分相关性;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析脑脊液LCN2水平对血管性痴呆症和阿尔茨海默病的鉴别诊断价值。结果 与阿尔茨海默病组相比,血管性痴呆组MMSE评分[(23.19±4.28)分比(16.74±4.03)分]、脑脊液中LCN2水平[(134.65±31.52)ng/L比(98.92±18.27)ng/L]、 $A\beta_{1-42}$ 蛋白水平[(362.18±62.15) μ g/L比(207.85±36.49) μ g/L]较高($P<0.05$),T-tau蛋白水平[(246.75±48.67) μ g/L比(304.26±61.53) μ g/L]较低($P<0.05$)。血管性痴呆病人脑脊液中LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白水平、MMSE评分呈正相关($P<0.05$),与T-tau蛋白水平呈负相关($P<0.05$)。ROC曲线结果显示,脑脊液中LCN2水平对阿尔茨海默病和血管性痴呆症诊断的曲线下面积AUC为0.855,灵敏度为71.90%,特异度为91.30%,95%CI为0.77,0.94。结论 血管性痴呆症与阿尔茨海默病病人脑脊液LCN2存在显著变化,是鉴别诊断血管性痴呆症和阿尔茨海默病的生物标志物,有利于病人尽早鉴别病情,对症治疗。

关键词: 痴呆,血管性; 阿尔茨海默病; 脂质运载蛋白2; 脑脊液; 鉴别诊断

The value of cerebrospinal fluid LCN2 detection in early differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease

MENG Lin,ZHONG Yanan,SHEN Xiaoyan,ZHAO Rongjian,YOU Xuemei

Author Affiliation:Department of Neurology, The Fourth People's Hospital of Shaanxi Province,Xi'an,Shaanxi 710043, China

Abstract: **Objective** To investigate the value of lipocalin-2 (LCN2) in the differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease.**Methods** A total of 46 patients with Alzheimer's disease (Alzheimer's disease group) and 32 patients with vascular dementia (vascular dementia group) who were treated in the Fourth People's Hospital of Shaanxi Province from January 2017 to October 2019 were selected as the study objects. The levels of LCN2, β -amyloid protein 1-42 ($A\beta_{1-42}$) and total tau protein (T-tau) in cerebrospinal fluid of the two groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the correlation between the level of LCN2 and levels of $A\beta_{1-42}$ protein, T-tau protein and MMSE score was analyzed; in addition, receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the value of cerebrospinal fluid LCN2 level in the differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease.