

- Biomed Res Int, 2020, 2020: 7183629. DOI: 10.1155/2020/7183629.
- [4] YU X, ZHENG H, TSE G, et al. CASC2: An emerging tumour-suppressing long noncoding RNA in human cancers and melanoma [J/OL]. Cell Prolif, 2018, 51 (6) : e12506. DOI: 10.1111/cpr.12506.
- [5] ZHU LL, SHI DW, CAO JH, et al. LncRNA CASC2 alleviates sepsis-induced acute lung injury by regulating the miR-152-3p/PDK4 axis[J]. Immunol Invest, 2022, 51(5):1257-1271.
- [6] 中华医学会儿科学分会急救学组, 中华医学会急诊医学分会儿科学组, 中国医师协会儿童重症医师分会. 儿童脓毒性休克(感染性休克)诊治专家共识(2015版)[J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(8):576-580.
- [7] HWAJA A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury[J]. Nephron Clinical Practice, 2012, 120(4):C179-C184.
- [8] KNAUS WA, DRAPER EA, WAGNER DP, et al. APACHE II: a severity of disease classification system [J]. Crit Care Med, 1985, 13(10):818-829.
- [9] 吴仕燕, 张华, 吴文, 等. 血清 miR-21-3p 对脓毒症患儿并发急性肾损伤的预测价值[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(3): 269-273.
- [10] ZHU D, WU X, XUE Q. Long non-coding RNA CASC2 restrains high glucose-induced proliferation, inflammation and fibrosis in human glomerular mesangial cells through mediating miR-135a-5p/TIMP3 axis and JNK signaling [J]. Diabetol Metab Syndr, 2021, 13(1):89.
- [11] HAN Y, LIU Y, YANG C, et al. LncRNA CASC2 inhibits hypoxia-induced pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration by regulating the miR-222/ING5 axis [J]. Cell Mol Biol Lett, 2020, 25(1):21.
- [12] ZENG J, CHEN JY, MENG J, et al. Inflammation and DNA methylation coregulate the CtBP-PCAF-c-MYC transcriptional complex to activate the expression of a long non-coding RNA CASC2 in acute pancreatitis [J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(12): 2116-2130.
- [13] ZHANG XL, ZHU HQ, ZHANG Y, et al. LncRNA CASC2 regulates high glucose-induced proliferation, extracellular matrix accumulation and oxidative stress of human mesangial cells via miR-133b/FOXPI axis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24 (2):802-812.
- [14] LIU C, GUO X, BAI S, et al. LncRNA CASC2 downregulation participates in rheumatoid arthritis, and CASC2 overexpression promotes the apoptosis of fibroblast-like synoviocytes by downregulating IL-17 [J]. Mol Med Rep, 2020, 21(5):2131-2137.
- [15] WANG L, SU N, ZHANG Y, et al. Clinical significance of serum lncRNA cancer susceptibility candidate 2 (CASC2) for chronic renal failure in patients with type 2 diabetes [J]. Med Sci Monit, 2018, 24(1):6079-6084.
- [16] WANG M, WEI J, SHANG F, et al. Long non-coding RNA CASC2 ameliorates sepsis-induced acute kidney injury by regulating the miR-155 and NF- κ B pathway [J]. Int J Mol Med, 2020, 45(5):1554-1562.
- [17] HU QH, ZEN WW, ZHANG M, et al. Long non-coding RNA CASC2 overexpression ameliorates sepsis-associated acute kidney injury by regulating MiR-545-3p/PPARA axis [J]. J Surg Res, 2021, 265:223-232.
- [18] 吴斌, 梁文启, 王美堂. 脓毒症患者血清 lncRNA IFNG-AS1 的表达及临床意义 [J]. 实用医学杂志, 2020, 36(5):590-592.
- [19] 宋蕾, 张建国, 刘英勋. LncRNA SNHG3 通过调控 miR-410-3p 对脓毒症血管内皮细胞增殖、凋亡的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(10):1921-1926.

(收稿日期:2022-02-11,修回日期:2022-03-30)

引用本文:杨洋,王高波,李文清,等.CUL4相关因子7、微RNA-589-5p在结直肠癌组织中表达与临床病理特征及预后的关系[J].安徽医药,2023,27(6):1239-1244.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.06.042.

◇临床医学◇



CUL4相关因子7、微RNA-589-5p在结直肠癌组织中表达与临床病理特征及预后的关系

杨洋,王高波,李文清,王佳,杨博伟,马蓉

作者单位:宝鸡市人民医院结直肠肛门外科,陕西 宝鸡 721000

摘要: **目的** 分析结直肠癌组织中CUL4相关因子7(DCAF7)、微RNA-589-5p(miR-589-5p)表达水平,并探讨其与结直肠癌临床病理特征及预后的关系。**方法** 纳入2018年9月至2019年9月于宝鸡市人民医院行结直肠癌根治术的78例。采用实时荧光定量PCR法检测组织中miR-589-5p、DCAF7 mRNA表达水平。免疫组化法检测组织中DCAF7表达。Spearman法分析组织miR-589-5p与DCAF7的相关性。分析miR-589-5p、DCAF7水平与结直肠癌临床病理特征的关系。Kaplan-Meier法分析结直肠癌组织miR-589-5p、DCAF7表达与病人预后的关系,多因素Cox回归分析影响结直肠癌预后的因素。**结果** Ualcan数据库中,结肠腺癌组织中miR-589表达水平低于癌旁组织($P<0.05$),DCAF7表达水平高于癌旁组织($P<0.05$)。与癌旁组织相比,结直肠癌组织中DCAF7阳性表达率及DCAF7 mRNA相对表达水平(2.79 ± 0.84 比 1.02 ± 0.31)较高($P<0.05$),miR-589-5p相对表达水平(0.44 ± 0.09 比 1.04 ± 0.22)较低($P<0.05$)。Spearman相关分析显示,组织中miR-589-5p与DCAF7表达水平呈负相关($P<0.05$)。miR-589-5p、DCAF7均与淋巴结转移、肿瘤浸润深度相关($P<0.05$)。Kaplan-Meier法显示,miR-589-5p高表达组病人平

均生存时间显著长于 miR-589-5p 低表达结直肠癌病人 ($P<0.05$), DCAF7 阴性表达病人平均生存时间显著长于 DCAF7 阳性表达病人 ($P<0.05$)。多因素分析表明, 淋巴结有转移、miR-589-5p 低表达、DCAF7 阳性是影响结直肠癌病人不良预后的独立危险因素 ($P<0.05$)。与 Control 组比, miR mimic 组 miR-589-5p 表达 (2.58 ± 0.32 比 1.02 ± 0.12) 显著升高 ($P<0.05$), DCAF7 表达 (0.37 ± 0.06 比 1.01 ± 0.12)、侵袭细胞数 (60.88 ± 9.94 比 178.52 ± 26.08) 个显著降低 ($P<0.05$); 与 miR mimic 组比, miR mimic+pc-DCAF7 组 DCAF7 表达、侵袭细胞数显著升高 ($P<0.05$)。结论 结直肠癌组织中 DCAF7 呈高表达、miR-589-5p 呈低表达, 与结直肠癌淋巴结转移、肿瘤浸润深度以及不良预后有关。

关键词: 结直肠肿瘤; 微 RNA-589-5p; CUL4 相关因子 7(DCAF7); 肿瘤转移; 肿瘤浸润; 临床病理特征; 生存分析

The relationship between the expression of DCAF7 and miR-589-5p in colorectal cancer and clinicopathological characteristics and prognosis

YANG Yang, WANG Gaobo, LI Wenqing, WANG Jia, YANG Bowei, MA Rong

Author Affiliation: Colorectal and Anal Surgery, Baoji People's Hospital, Baoji, Shaanxi 721000, China

Abstract: **Objective** To analyze the expression levels of DCAF7 and microRNA-589-5p (miR-589-5p) in colorectal cancer tissues, and to explore their relationship with the clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal cancer. **Methods** Seventy-eight patients who underwent radical resection of colorectal cancer in Baoji People's Hospital from September 2018 to September 2019 were enrolled. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression levels of miR-589-5p and DCAF7 mRNA in the tissues. Immunohistochemical method was used to detect the expression of DCAF7 in the tissues. Spearman method was used to analyze the correlation between tissue miR-589-5p and DCAF7. The relationship between miR-589-5p, DCAF7 levels and clinicopathological characteristics of colorectal cancer was analyzed. Kaplan-Meier method was used to analyze the relationship between the expression of miR-589-5p and DCAF7 in colorectal cancer tissues and the prognosis of patients, and multivariate Cox regression was used to analyze the factors affecting the prognosis of colorectal cancer. **Results** In the Ualcan database, the expression level of miR-589 in colon adenocarcinoma tissue was lower than that in adjacent tissues ($P<0.05$), and the expression level of DCAF7 was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). Compared with adjacent tissues, the positive expression rate of DCAF7 and the relative expression level of DCAF7 mRNA (2.79 ± 0.84 vs. 1.02 ± 0.31) in colorectal cancer tissue were higher ($P<0.05$), and the relative expression level of miR-589-5p (0.44 ± 0.09 vs. 1.04 ± 0.22) was lower ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression levels of miR-589-5p and DCAF7 in tissues were negatively correlated ($P<0.05$). Both miR-589-5p and DCAF7 were related to lymph node metastasis and the depth of tumor invasion ($P<0.05$). Kaplan-Meier method showed that the average survival time of patients in the miR-589-5p high expression group was significantly longer than that in colorectal cancer patients with miR-589-5p low expression ($P<0.05$), the average survival time of patients with negative expression of DCAF7 was significantly longer than that of patients with positive expression of DCAF7 ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that lymph node metastasis, low expression of miR-589-5p, and positive DCAF7 were independent risk factors affecting the poor prognosis of patients with colorectal cancer ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression of miR-589-5p (2.58 ± 0.32 vs. 1.02 ± 0.12) in the miR mimic group was significantly increased ($P<0.05$), the expression of DCAF7 (0.37 ± 0.06 vs. 1.01 ± 0.12) and the number of invasive cells (60.88 ± 9.94 vs. 178.52 ± 26.08) individual were significantly decreased ($P<0.05$); Compared with the miR mimic group, the expression of DCAF7 and the number of invasive cells were significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** DCAF7 is highly expressed in colorectal cancer tissues, and miR-589-5p is lowly expressed. They are related to lymph node metastasis, depth of tumor invasion and poor prognosis in colorectal cancer.

Key words: Colorectal neoplasms; miR-589-5p; DCAF7; Neoplasm metastasis; Neoplasm invasiveness; Clinicopathological characteristics; Survival analysis

据全球数据统计, 2020 年结直肠癌的全球发病率位居第 3 位, 死亡率位居第 2 位^[1-2]。结直肠癌也是我国的第三大常见恶性肿瘤^[3]。寻找有效的分子靶标对改善结直肠癌病人预后具有重要作用。相关研究显示, 微 RNA 与结直肠癌的发生、发展及预后存在密切关系^[4-6]。微 RNA-589-5p (miR-589-5p) 可调控细胞的增殖、凋亡^[7]。He 等^[8]研究显示, miR-589-5p 低表达促进喉癌细胞的增殖迁移。Qian 等^[9]

通过分析显示, CUL4 相关因子 7(DCAF7) 对转移性肾细胞癌具有诊断价值, 且对肾细胞癌病人预后具有良好的预测价值。笔者通过检索 Target Scan Human 网站发现, miR-589-5p 与 DCAF7 存在结合位点。本研究选取结直肠癌病人 78 例为研究对象, 探究 miR-589-5p、DCAF7 在结直肠癌中临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2018 年 9 月至 2019 年 9 月于

宝鸡市人民医院行结直肠癌根治术的78例病人,年龄范围32~73岁,年龄(53.29 ± 11.61)岁,男性46例,女性32例。手术过程中留取癌旁组织及结直肠癌组织,癌旁组织距离肿瘤组织上缘 >5 cm,组织冲洗后,液氮冷冻。TNM分期参照第7版(2010)结直肠癌美国癌症联合委员会(AJCC)分期标准^[10]。纳入标准:①术后标本经病理诊断为结直肠癌;②原发性结直肠初诊者;③年龄大于20岁。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②术前接受过肿瘤放、化疗;③合并心、肝、肾等严重疾病者;④存在自身免疫缺陷疾病。病人或其近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 检测结直肠癌组织中 miR-589-5p、DCAF7 mRNA 表达水平 使用TRIzol试剂(北京百奥莱博科技有限公司)提取组织总RNA,用NanoDropND-1000分光光度计(美国NanoDrop Tech公司)检测RNA的纯度及浓度,依据Primescript RT Reagent Kit(日本TaKaRa公司)说明书反转录得到互补DNA(cDNA)。采用7300型实时荧光定量PCR仪(美国ABI公司)对miR-589-5p、DCAF7 mRNA及内参U6、 β 肌动蛋白(β -actin)进行扩增反应。按照试剂盒说明书建立反应体系,每个样品设3个复孔。miR-589-5p、U6引物由上海生工合成。反应条件:95℃,3 min;95℃,30 s;61℃,30 s;72℃,30 s;40个循环。反应结束后收集数据,并对所得数据Ct值进行分析,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-589-5p相对表达量。引物设计见表1。

1.3 免疫组化检测结直肠癌组织中 DCAF7 蛋白表达 采用免疫组化染色法检测DCAF7蛋白表达。阴性对照采用生理盐水磷酸盐缓冲液(PBS)。结果判定:由2位专业人员盲法审片,每个实验结果选取5个高倍镜视野进行计数。DCAF7阳性表达为出现棕黄色至棕褐色颗粒。按染色强度计分:无着色(0分),浅黄色(1分),棕黄色(2分),棕褐色(3分)。阳性细胞所占百分比评分: $\leq 10\%$ 记0分,11%~50%计1分,51%~75%计2分, $>75\%$ 计3分。两次评分乘积为最终得分, ≤ 2 分为阴性表达, >2 分为阳性表达。

1.4 随访 从结直肠癌病人入院手术后开始随访,随访至2021年9月,最长随访时间3年,以电话或门诊方式随访。记录病人总生存时间,即开始治疗到

至因任何原因引起死亡的时间。

1.5 Ualcan 数据库检索 在Ualcan数据库(<http://ualcan.path.uab.edu>)中检索。设定gene symbol分别为miR-589-5p、DCAF7,设定用TCGA数据库为Colon adenocarcinoma,分析miR-589-5p、DCAF7表达。

1.6 细胞实验

1.6.1 细胞培养 将结直肠癌细胞(SW837)及人结肠上皮细胞NCM460接种于含有1%双抗+10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基中,常规培养。待细胞融合度到70%~80%时,传代2~3次。

1.6.2 分组及转染 将SW837细胞接种到6孔板(2×10^5 个/孔)中在培养箱培养24 h后,细胞分为Control组、mimic组、miR mimic组,miR mimic+pc-NC组,miR mimic+pc-DCAF7组,使用Lipofectamine™2000试剂盒分别将mimic、miR-589-5p mimic、pcDNA3.1、pcDNA3.1 DCAF7转染至各组SW837细胞,48 h后,收取转染细胞,实时荧光定量PCR法检测miR-589-5p、DCAF7表达。

1.6.3 Transwell 实验检测 SW837 细胞侵袭能力 取“1.6.2”方法中的各组SW837细胞,Transwell小室上室中Matrigel胶晾干后,吸取200 μ L细胞悬液注入Transwell小室上室内,下室添加500 μ L培养基,培养箱常规培养48 h,擦去未过膜的SW837细胞,无水乙醇固定(15 min)后进行结晶紫染色(25 min),在镜下随机选择5个视野,计算侵袭细胞数。

1.6.4 双萤光素酶报告基因检测 miR-589-5p、DCAF7 的靶向关系 使用TargetScanHuman网站预测miR-589-5p与DCAF7的结合位点;扩增与miR-589-5p结合的DCAF7 3'UTR片段,与pmirGLO载体连接构建pmirGLO-DCAF7-wt野生型载体;使用定点突变技术将结合片段突变,构建pmirGLO-DCAF7-mut突变型载体。将SW837细胞分为pmirGLO-DCAF7-wt+miR-589-5p mimic组、pmirGLO-DCAF7-wt+mimic NC组、pmirGLO-DCAF7-mut+miR-589-5p mimic组、pmirGLO-DCAF7-mut+mimic NC组,将pmirGLO-DCAF7-wt、pmirGLO-DCAF7-mut、mimic NC、miR-589-5p mimic分别转染至SW837细胞中,24 h后检测海肾及萤火虫萤光值,计算相对萤光素酶活性。

表1 实时荧光定量PCR法引物序列

基因	正向引物5'-3'	反向引物5'-3'
DCAF7	GCAGAAACACCTTTGACCAC	GATTCACGCGCCCTAACACC
β -actin	CACGATCGAGGCCGACTATC	TAATGACGAGATGCAACAGT
微RNA-589-5p	GTCGTATGCTAGCGTGCTTG	CAAATATCCGCCAGTATTG
U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC	GTGCAGGGTCCGAGCT

注:DCAF7为CUL4相关因子7, β -actin为 β 肌动蛋白。

1.7 统计学方法 采用软件SPSS 25.0对数据进行分析,计量资料(miR-589-5p相对表达量等)以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料(DCAF7蛋白表达)用例(%)表示,采用 χ^2 检验。Spearman法分析分析miR-589-5p与DCAF7的相关性。采用Kaplan-Meier法分析结直肠癌组织miR-589-5p、DCAF7表达与病人预后的关系,行log-rank检验;多因素Cox回归分析影响结直肠癌预后的因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ualcan数据库中结肠腺癌组织和癌旁组织miR-589-5p、DCAF7表达水平比较 Ualcan数据库中,结肠腺癌组织中miR-589-5p表达水平低于癌旁组织($P < 0.001$);结肠腺癌组织DCAF7表达水平高于癌旁组织($P < 0.001$)。见图1,2。

2.2 miR-589-5p、DCAF7在结直肠癌组织上的表达水平 与癌旁组织DCAF7阳性表达率12.82%(10/78)相比,结直肠癌组织中DCAF7阳性表达率62.82(49/78)相对表达水平较高($\chi^2=41.46$, $P < 0.001$)。与癌旁组织相比,结直肠癌组织中DCAF7 mRNA相对表达水平较高($P < 0.05$),miR-589-5p相

对表达水平较低($P < 0.05$),见表2。

表2 miR-589-5p在结直肠癌组织和癌旁组织表达水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-589-5p/U6	DCAF7 mRNA
结直肠癌组织	78	0.44±0.09	2.79±0.84
癌旁组织	78	1.04±0.22	1.02±0.31
t 值		22.29	17.46
P 值		<0.001	<0.001

注:miR-589-5p为微RNA-589-5p,DCAF7为CUL4相关因子7。

2.3 结直肠癌组织miR-589-5p和DCAF7表达水平的相关性 根据miR-589-5p平均值(0.44)将结直肠癌组织分为高表达组36例(其中DCAF7阳性表达12例,阴性表达24例),低表达组共42例(其中DCAF7阳性表达37例,阴性表达5例),经Spearman相关分析显示,组织中miR-589-5p与DCAF7表达水平呈负相关($r = -0.56$, $P < 0.05$)。

2.4 miR-589-5p、DCAF7表达与结直肠癌病人临床病理特征的关系 观察结果显示miR-589-5p、DCAF7均与淋巴结转移、肿瘤浸润深度相关($P < 0.05$),与病人年龄、性别、TNM分期、肿瘤长径、组织分化程度无关($P > 0.05$)。详见表3。

表3 miR-589-5p、DCAF7表达与结直肠癌临床病理特征的关系/例(%)

病理特征	miR-589-5p		χ^2 值	P 值	DCAF7		χ^2 值	P 值
	高表达组($n=36$)	低表达组($n=42$)			阳性($n=49$)	阴性($n=29$)		
年龄			0.97	0.325			0.23	0.633
<60岁	22(51.16)	21(48.84)			26(60.47)	17(39.53)		
≥60岁	14(40.00)	21(60.00)			23(65.71)	12(34.29)		
性别			1.06	0.303			1.00	0.317
男	19(41.30)	27(58.70)			31(67.39)	15(32.61)		
女	17(53.13)	15(46.87)			18(56.25)	14(43.75)		
肿瘤长径			0.40	0.528			0.08	0.772
≤5 cm	18(50.00)	18(50.00)			22(61.11)	14(38.89)		
>5 cm	18(42.86)	24(57.14)			27(64.29)	15(35.71)		
TNM分期			1.96	0.162			0.68	0.410
I~II期	22(53.66)	19(46.34)			24(58.54)	17(41.46)		
III期	14(37.84)	23(62.16)			25(67.57)	12(32.43)		
组织分化程度			0.75	0.387			0.18	0.667
低分化	5(35.71)	9(64.29)			10(71.42)	4(28.57)		
高、中分化	31(48.44)	33(51.56)			39(60.94)	25(39.06)		
淋巴结转移			7.45	0.006			8.78	0.003
无转移	28(58.33)	20(41.67)			24(50.00)	24(50.00)		
有转移	8(26.67)	22(73.33)			25(83.33)	5(16.67)		
肿瘤浸润深度			9.65	0.002			6.87	0.009
T1~T2	21(64.74)	10(32.26)			14(45.16)	17(54.84)		
T3~T4	15(31.91)	32(68.09)			35(74.47)	12(25.53)		

注:miR-589-5p为微RNA-589-5p,DCAF7为CUL4相关因子7。

2.5 miR-589-5p、DCAF7表达与结直肠癌病人预后的关系 Kaplan-Meier法显示miR-589-5p高表达组生存时间为(32.06±1.30)个月,显著长于miR-589-5p低表达结直肠癌病人(24.25±1.73)个月,log Rank 检验, $\chi^2=10.55$, $P=0.001$ 。DCAF7阴性表达生存时间为(31.51±1.55)个月,显著长于DCAF7阳性(25.52±1.59)个月,Log Rank 检验, $\chi^2=6.22$, $P=0.013$ 。见图3。

2.6 影响结直肠癌病人预后的因素分析 单因素分析表明,肿瘤浸润深度、淋巴结转移、miR-589-5p、DCAF7均是影响结直肠癌病人不良预后的危险因素,见表4。多因素分析表明,淋巴结转移(无转移/有转移)HR及其95%CI为1.80(1.10, 2.96)($P=0.020$)、miR-589-5p(高表达/低表达)HR及其95%CI为1.92(1.26, 2.93)($P=0.003$)、DCAF7(阴性/阳性)HR及其95%CI为1.80(1.20, 2.81)($P=0.005$)是影响结直肠癌病人不良预后的独立危险因素($P<0.05$)。

表4 影响结直肠癌病人预后的危险因素分析

变量	单因素分析		
	HR值	95%CI	P值
年龄(<60岁/≥60岁)	1.13	(0.66, 1.94)	0.662
性别(女/男)	1.21	(0.67, 2.19)	0.532
肿瘤长径(<5 cm/≥5 cm)	1.31	(0.76, 2.25)	0.325
TNM分期(I~II期/III~IV期)	1.58	(0.84, 2.69)	0.165
组织分化程度(高、中分化/低分化)	1.35	(0.82, 2.24)	0.166
肿瘤浸润深度(T1~T2/T3~T4)	1.86	(1.10, 3.13)	0.019
淋巴结转移(无转移/有转移)	2.11	(1.28, 3.48)	0.003
miR-589-5p(高表达/低表达)	2.16	(1.42, 3.30)	<0.001
DCAF7(阴性/阳性)	2.09	(1.37, 3.20)	<0.001

注:miR-589-5p为微RNA-589-5p,DCAF7为CUL4相关因子7。

2.7 DCAF7与miR-589-5p在NCM460细胞和SW837细胞中表达水平比较 NCM460细胞组DCAF7表达水平为1.02±0.09,miR-589-5p表达水平为1.01±0.11,与NCM460细胞比,SW837细胞中DCAF7的表达2.62±0.29升高($t=11.78$, $P<0.001$),miR-589-5p的表达0.36±0.06降低($t=11.60$, $P<0.001$)。

2.8 各组SW837中miR-589-5p、DCAF7表达水平及细胞侵袭能力比较 与Control组比,miR mimic组miR-589-5p表达显著升高($P<0.05$),DCAF7表达和侵袭细胞数显著降低($P<0.05$);与miR mimic组比,miR mimic+pc-DCAF7组miR-589-5p表达差异无

统计学意义($P>0.05$),DCAF7表达和侵袭细胞数显著升高($P<0.05$),见图4,表5。

表5 结肠腺癌病人各组SW837细胞中miR-589-5p、DCAF7 mRNA表达水平及细胞侵袭能力比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-589-5p	DCAF7	侵袭细胞数/个
Control组	5	1.02±0.12	1.01±0.12	178.52±26.08
mimic组	5	1.00±0.11	1.03±0.11	173.75±26.02
miR mimic组	5	2.58±0.32 ^①	0.37±0.06 ^①	60.88±9.94 ^①
miR mimic+pc-NC组	5	2.57±0.31	0.35±0.07	59.37±9.63
miR mimic+pc-DCAF7组	5	2.60±0.32	0.83±0.11 ^②	134.46±20.57 ^②
F值		56.72	59.94	43.37
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:miR-589-5p为微小RNA-589-5p,DCAF7为CUL4相关因子7。

①与Control组比较, $P<0.05$ 。②与miR mimic组比较, $P<0.05$ 。

2.9 DCAF7与miR-589-5p靶向关系验证 TargetScanHuman网址预测DCAF7与miR-589-5p间存在结合位点,见图5。双萤光素酶报告基因结果显示:与pmirGLO-DCAF7-wt+mimic NC组相比0.99±0.12,SW837细胞萤光素酶活性在pmirGLO-DCAF7-wt miR-589-5p mimic组0.31±0.03显著降低($t=12.40$, $P<0.001$),与pmirGLO-DCAF7-mut+mimic NC组相比0.97±0.11,SW837细胞萤光素酶活性在pmirGLO-DCAF7-mut miR-589-5p mimic组0.99±0.14差异无统计学意义($t=0.25$, $P=0.808$)。

3 讨论

近年来我国结直肠癌的发病率和死亡率一直在增加^[11-12]。尤其是中晚期结直肠癌病人^[13-14]。目前,根治性手术是治疗结直肠癌的有效方法,但早期病程隐匿及大多数结肠癌病人就诊时已处于中晚期是病人预后差的主要原因^[15]。已证实,一些肿瘤分子与结直肠癌病理特征及预后有密不可分的关系^[16-17]。

本研究通过Ualcan数据库分析表明,结肠腺癌组织中miR-589表达水平显著低于癌旁组织,DCAF7表达水平显著高于癌旁组织,且本研究发现结直肠癌组织中DCAF7阳性表达率及DCAF7 mRNA相对表达水平较癌旁组织高,miR-589-5p相对表达水平较癌旁组织低,表明本研究与Ualcan数据库分析结果一致,提示miR-589-5p、DCAF7可能对结直肠癌发生有影响。Wu、Zhang^[18]通过体外细胞实验显示,miR-589-5p在肾细胞癌中作为Ln-

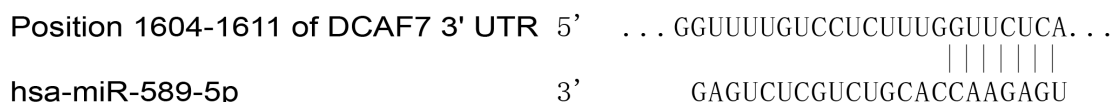


图5 结肠腺癌病人CUL4相关因子7(DCAF7)与微RNA(miR)-589-5p结合位点

cRNA 赖氨酰氧化酶如 1 反义 RNA 1 (LOXL1-AS1) 分子海绵, 高表达 miR-589-5p 可抑制肾细胞癌的增殖和迁移, 为肾细胞癌的治疗开辟了新方向。Ji 等^[19]研究显示 miR-589-5p 在前列腺癌中下调, 低表达 miR-589-5p 可通过靶向负调节趋化因子配体 5 而促进前列腺癌细胞的细胞迁移和侵袭。Misir 等^[20]通过检索 GEPIA 数据库分析表明, 乳腺癌组织中 DCAF7 阳性表达率明显高于正常乳腺组织。本研究显示结直肠癌组织中 miR-589-5p 与 DCAF7 表达水平呈负相关, miR-589-5p、DCAF7 均与淋巴结转移、肿瘤浸润深度相关, 提示 miR-589-5p 可能与 DCAF7 共同影响结直肠癌病情进程。本研究发现 miR-589-5p 高表达组病人平均生存时间显著长于 miR-589-5p 低表达结直肠癌病人, DCAF7 阴性表达病人平均生存时间显著长于 DCAF7 阳性表达病人, miR-589-5p 低表达、DCAF7 阳性是影响结直肠癌病人不良预后的独立危险因素, 提示 miR-589-5p、DCAF7 可能影响结直肠癌预后不良发生, 有作为结直肠癌预后新分子标志物的潜力。本研究经过细胞学实验证实, SW837 细胞中 miR-589-5p 表达下调, DCAF7 表达上调, 与 miR-589-5p、DCAF7 在结直肠癌组织中研究结果一致, 还证实 miR-589-5p 与 DCAF7 存在靶向关系, miR-589-5p 高表达抑制 SW837 细胞侵袭, DCAF7 高表达可逆转 miR-589-5p 高表达对 SW837 细胞侵袭的抑制作用, 表明 miR-589-5p 高表达可能通过抑制 DCAF7 表达来抑制 SW83 细胞的侵袭。

综上所述, 结直肠癌组织中 miR-589-5p 呈低表达、DCAF7 呈高表达, 与结直肠癌淋巴结转移、肿瘤浸润深度以及预后不良独立危险因素, 有望成为结直肠癌治疗的新分子标志物。但本研究尚未深入探讨 miR-589-5p、DCAF7 与结直肠癌预后不良病理机制的关系, 仍需深入探讨。

(本文图 1~4 见插图 6-10)

参考文献

- [1] 何秋凤, 李琳, 卢一艳, 等. 法尼醇 X 受体在结直肠肿瘤组织中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2021, 33(8): 579-584.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [3] 王青, 李明珠, 程文瑾, 等. 中国女性常见妇科恶性肿瘤认知度调查[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(4):420-422.
- [4] 赵晓昕, 董严, 顾焱, 等. RCN2 和 PEAK1 在结直肠癌中的表达与临床病理特征及预后的关系[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(12):2299-2303.
- [5] 张辉, 王成刚, 崔志荣, 等. MiR-195 和 DLL4 蛋白表达与结直肠癌临床病理特征及预后的关系[J]. 中华普通外科杂志, 2021, 36(3):169-173.
- [6] 李智永, 杜太平, 陈颢, 等. 微小 RNA-205 靶向调控单羧酸转运蛋白 1 对结直肠癌细胞乳酸水平和增殖能力的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(6):1086-1089.
- [7] 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]. Neoplasma, 2018, 65(5):753-761.
- [8] HE G, YAO W, LI L, et al. LOXL1-AS1 contributes to the proliferation and migration of laryngocarcinoma cells through miR-589-5p/TRAF6 axis[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1):504-515.
- [9] QIAN S, SUN S, ZHANG L, et al. Integrative analysis of DNA methylation identified 12 signature genes specific to metastatic ccRCC [J]. Front Oncol, 2020, 10: 556018. DOI: 10.3389/fonc.2020.556018.
- [10] 张鹏, 徐岩, 郭江宁, 等. 国际抗癌联盟-美国癌症联合委员会第 7 版与第 6 版 TNM 分期中的 pT 分期对胃癌患者预后的预测价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(3):190-194.
- [11] LA VECCHIA S, SEBASTIÁN C. Metabolic pathways regulating colorectal cancer initiation and progression [J]. Semin Cell Dev Biol, 2020, 98(1):63-70.
- [12] 廖代祥, 郑博, 张彦斌, 等. RRBPI 与 RABEX-5 蛋白在结直肠癌组织中的表达及与临床病理特征和预后的关系[J]. 实用肿瘤学杂志, 2020, 34(1):43-48.
- [13] 叶剑强, 魏喆强, 俞俊霞, 等. NDRG1、LDH-5 和 PTEN 在左半结直肠癌中的表达及临床病理意义[J]. 诊断病理学杂志, 2019, 26(5):319-323.
- [14] 狄子杨, 唐强, 狄茂军, 等. 腹腔热灌注化疗治疗晚期结直肠癌的疗效分析[J]. 临床外科杂志, 2020, 28(5):433-436.
- [15] 孙跃明, 张冬生, 封益飞, 等. 早期结直肠癌非治愈性内镜切除术后追加外科手术的临床观察[J]. 中华胃肠外科杂志, 2020, 23(5):486-491.
- [16] 李品玉, 盛文杰, 张嫻怡, 等. TRAP1 对结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 天津医药, 2020, 48(9):813-817.
- [17] 陈飞儿, 张凤, 谈振宇, 等. 白细胞介素 35 和白细胞介素 37 与结直肠癌临床病理学特征及预后的相关性研究[J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(6):456-461.
- [18] WU C, ZHANG J. Long non-coding RNA LOXL1-AS1 sponges miR-589-5p to up-regulate CBX5 expression in renal cell carcinoma [J]. Biosci Rep, 2020, 40 (11) : BSR20200212. DOI: 10.1042/BSR20200212.
- [19] JI L, JIANG X, MAO F, et al. miR-589-5p is downregulated in prostate cancer and regulates tumor cell viability and metastasis by targeting CCL-5[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2):1373-1382.
- [20] MISIR S, HEPOKUR C, ALIYAZICIOGLU Y, et al. Biomarker potentials of miRNA-associated circRNAs in breast cancer (MCF-7) cells: an in vitro and in silico study[J]. Mol Biol Rep, 2021, 48(3):2463-2471.

(收稿日期:2022-03-17, 修回日期:2022-04-06)