

引用本文:崔桂荣,张金华,刘亚宁,等.微RNA-194在宫颈癌中的表达及临床意义[J].安徽医药,2023,27(9):1857-1860.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.09.036.



◇临床医学◇

微RNA-194在宫颈癌中的表达及临床意义

崔桂荣,张金华,刘亚宁,李焱

作者单位:邯郸市第一医院血液内科,河北 邯郸056002

摘要: **目的** 探讨微RNA(miRNA)-194在宫颈癌组织中的表达情况及其临床意义。**方法** 回顾性选取2013年5月至2016年1月于邯郸市第一医院行手术治疗的136例宫颈癌病人为研究对象,采用分层抽样选取58例宫颈癌病人的癌组织及相应癌旁正常组织,其余78例病人仅选取癌组织,获取136例宫颈癌组织标本及58例癌旁正常组织标本。采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测宫颈癌组织和癌旁组织中miRNA-194表达水平,分析miRNA-194表达与宫颈癌病人临床病理特征及预后的关系。**结果** qRT-PCR结果表明136例宫颈癌病人癌组织miRNA-194的表达量(1.140 ± 0.655)明显低于癌旁组织(4.502 ± 1.168)($P<0.001$)。miRNA-194表达水平与宫颈癌病人的国际妇产科联盟(FIGO)分期($P=0.001$)和肿瘤长径($P=0.033$)相关。miRNA-194低表达的宫颈癌病人的生存期显著低于miRNA-194高表达病人[$HR\ 95\%CI=2.17(1.21, 3.90)$, $\log\text{-rank}\ P=0.012$]。Cox回归分析结果表明miRNA-194表达是影响宫颈癌病人预后的独立因素。**结论** miRNA-194在宫颈癌的发生发展中有一定作用,其在宫颈癌病人癌组织中更低,miRNA-194有可能成为宫颈癌诊断和预后的指标。

关键词: 子宫肿瘤; 子宫颈; 微RNA-194; 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应; 预后

Expression and clinical significance of miRNA-194 in cervical cancer

CUI Guirong,ZHANG Jinhua,LIU Yaning,LI Yan

Author Affiliation:Department of Hematology, The First Hospital of Handan City, Handan, Hebei 056002, China

Abstract: **Objective** To detect the microRNA(miRNA)-194 expression level in cervical cancer, and to explore its clinical significance.**Methods** Totally 136 cervical cancer patients, who underwent surgery in The First Hospital of Handan City from May 2013 to January 2016, were retrospectively selected as research objects. Cancer tissue and corresponding adjacent normal cervical tissue specimens of 58 patients were collected by stratified sampling method and only cancer tissue were collected from the other 78 patients. Totally there were 136 specimens of cervical cancer tissue and 58 specimens of adjacent normal tissue. The expressions of miRNA-194 in cancer tissue and adjacent tissue were detected by quantitative real time polymerase chain reaction(qRT-PCR), and its relationship with clinicopathological features and prognosis of cervical cancer patients was analyzed.**Results** qRT-PCR results showed that the expression level of miRNA-194 in cancer tissue of 136 patients with cervical cancer was significantly lower than that in adjacent tissue [(1.140 ± 0.655) vs. (4.502 ± 1.168) , $P<0.001$]. The expression level of miRNA-194 in cervical cancer was associated with FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) stage ($P=0.001$) and tumor size ($P=0.033$). Overall survival of cervical cancer patients with lower levels of miRNA-194 was significantly shorter than those with higher levels of miRNA-194 [$HR\ 95\%CI=2.17(1.21, 3.90)$, $\log\text{-rank}\ P=0.012$]. Cox regression analysis results showed that miRNA-194 expression was an independent risk factor for prognosis of cervical cancer patients.**Conclusion** miRNA-194 plays a certain role in the occurrence and development of cervical cancer, the expression of which is lower in the cancer tissue of cervical cancer patients, and may serve as a potential diagnostic and prognostic marker for cervical cancer.

Key words: Uterine neoplasms; Cervix uteri; MiRNA-194; Quantitative real time polymerase chain reaction; Prognosis

在我国宫颈癌是一个威胁妇女健康最常见的恶性肿瘤之一,宫颈鳞癌是宫颈癌的主要病理类型^[1-2]。近年来,由于宫颈癌筛查工作的广泛开展和以外科手术、放疗、化疗和靶向治疗等治疗技术提高,宫颈癌的临床预后有了很大的改善,但总体生存率仍有待进一步提高^[3]。

微RNA(microRNA,miRNA)是一类能够调节基因表达的短单链内源非编码RNA(长约18~25个核

苷酸),广泛存在于动物、植物、病毒等多种有机体中,miRNA可通过与互补的mRNA选择性地结合降解靶mRNA或抑制mRNA翻译,在转录后水平调控基因的表达^[4]。miRNA通过调控细胞发育、增殖、分化、凋亡、信号转导、肿瘤发生和发展等基因的表达参与多种重要的生物学过程^[5]。miRNA在各种恶性肿瘤中异常表达,其作用涉及原癌基因的激活与抑癌基因的失活,miRNA在宫颈癌的诊断和治疗中有

重要作用^[6]。研究发现 miRNA-194 在肺癌、喉癌、胃癌等实体瘤中异常表达^[7-11],大量研究证实 miRNA-194 与恶性肿瘤的侵袭和转移存在必然联系^[12],但是 miRNA-194 在宫颈癌中的作用目前仍未见明确的报道。

本研究通过回顾性收集宫颈癌组织以及癌旁组织样本,采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测上述样本中 miRNA-194 的表达情况,并分析 miRNA-194 的表达与临床病理因素的相关性,为研究 miRNA-194 在宫颈癌中的作用及其机制奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 5 月至 2016 年 1 月于邯郸市第一医院行手术治疗的 136 例宫颈癌病人为研究对象。136 例病人中采用分层抽样法选取 58 例宫颈癌病人的癌组织及相应癌旁正常组织,其余 78 例病人仅选取癌组织。癌旁组织取自手术切除残端,距离癌组织大于 2 cm,切缘阴性,所取标本离体后置于液氮罐内迅速冷冻后置-80℃保存。纳入标准:年龄 18~80 岁;术前均经病理学检查确诊为宫颈鳞癌;术前未行化疗、放疗、激素治疗以及其他特殊治疗;行宫颈根治手术;术后病理确诊为宫颈鳞癌;病人临床诊疗及随访资料完整。排除标准:合并其他恶性肿瘤;合并严重妇科及心、脑、肾等严重内科疾病;随访资料不完整;随访期间因肿瘤以外因素死亡。136 例病人年龄 31~69 岁,中位年龄为 46 岁;外生型 91 例,内生型 45 例;病理分级低、中和高分化分别为 55 例、43 例和 38 例;2018 国际妇产科联盟(FIGO)临床分期^[13]:ⅠA 期 8 例,ⅠB 期 9 例,ⅡA 期 22 例,ⅡB 期 18 例,ⅢA 期 10 例,ⅢB 期 6 例,ⅢC 期 58 例,ⅣA 期 5 例;肿瘤长径(4.12±1.08)cm,范围为 2.8~8.4 cm;淋巴结转移 63 例(ⅢC~ⅣA 期),无淋巴结转移 73 例(ⅠA~ⅢB 期)。本研究经邯郸市第一医院医学伦理委员会批准(批号 201706F)。

1.2 主要试剂 Trizol 总 RNA 提取试剂盒,逆转录酶试剂盒,荧光定量 PCR sybrgreen 试剂盒, Taqman small RNA Assays, DNA marker 等主要试剂购于美国 Invitrogen 公司和 Life Technologies 公司。

1.3 qRT-PCR 采用 qRT-PCR 技术检测 136 例宫颈癌组织样本及 58 例癌旁组织样本中的 miRNA-194 相对表达量。参照说明中所述详细实验方法步骤,应用总 RNA 抽提试剂对上述样本进行总 RNA 的提取。用超微量分光光度计检测总 RNA 浓度和纯度。应用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为互补 DNA(cDNA)。依照试剂盒说明书,配制反应液 10 μL:总 RNA 1 ng,根据总 RNA 浓度计算出所需体

积,5 U/μL Poly A Polymerase 1 μL, RTase Mix 1 μL, 5×PAP/RT Buffer 2.5 μL, 双蒸水(RNase/Dnase free)补齐至总反应液为 25 μL。控制反应条件为 37℃ 60 min, 85℃ 5 min。miRNA-194 正向引物 5'-CAC-GCATGTAACAGCAAC-3', 反向引物 5'-CCAGTG-CAGGGTCCGAGGTA-3'。所有反应均设置 3 个复孔,反应条件为 95℃ 15 min、95℃ 10 s、58℃ 15 s、70℃ 30 s,共 30 个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参基因,使用 2^{-ΔΔCt}法计算 miRNA-194 的相对表达量。根据 miRNA-194 的相对表达量的中位值对 136 例宫颈癌病人进行分组。

1.4 随访 本研究中所有病人的随访资料均保存完整,包括家庭地址和联系方式,随访方式为门诊、入院复查和电话随访,随访截止日期为 2019 年 6 月。观察终点为宫颈癌病人死亡,生存时间定义为术后病理确诊至因宫颈癌死亡的时间段。全组 136 例病人中,获得随访 132 例,失访 4 例。所有病人随访时间为 2~72 个月,中位随访时间为 48 个月,死亡 49 例。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验比较宫颈癌组织和癌旁组织间 miRNA-194 的表达差异;计数资料以例数表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 log-rank 检验比较 miRNA-194 高低表达组间的生存差异。采用 Cox 风险回归对 miRNA-194 表达以及临床病理特征和病人总体生存率之间的关系进行分析。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-194 在宫颈鳞癌组织中低表达 qRT-PCR 检测结果表明 136 例宫颈鳞癌病人癌组织 miRNA-194 的相对表达量(1.140±0.655)明显低于癌旁组织(4.502±1.168)(两独立样本 *t* 检验 *t*=25.49, *P*<0.001),其中 58 例宫颈鳞癌病人癌组织及其配对的癌旁组织 miRNA-194 的相对表达量分别为 1.471±0.561 和 4.502±1.168(配对样本 *t* 检验 *t*=17.82, *P*<0.001)。

2.2 miRNA-194 表达与临床病理特征的关系 本研究根据 miRNA-194 在宫颈癌组织中的相对表达中位数 1.015 将 136 例病人分为 miRNA-194 高、低表达组各 68 例。如表 1 所示,结果表明宫颈癌中 miRNA-194 相对表达水平与病人的年龄、大体类型、病理分级、浸润深度、淋巴结转移无关,与宫颈癌病人的 FIGO 分期和肿瘤长径相关,miRNA-194 在宫颈癌高 FIGO 分期(*P*=0.001)和肿瘤长径大(*P*=0.033)的癌组织中相对表达水平较低。

表1 miRNA-194表达水平与宫颈癌病人临床病理特征的关系/例

项目	例数	miRNA-194 表达		χ^2 值	P值
		低表达 (n=68)	高表达 (n=68)		
年龄				0.51	0.476
≤50岁	86	45	41		
>50岁	50	23	27		
大体类型				0.20	1.267
外生型	91	42	49		
内生型	45	26	19		
病理分级				3.70	0.055
低分化	55	33	22		
中-高分化	81	35	46		
FIGO 分期				10.90	0.001
I A~II B期	57	19	38		
III A~IV A期	79	49	30		
肿瘤长径				4.25	0.033
≤4 cm	64	26	38		
>4 cm	72	42	30		
浸润深度				0.27	0.604
≤1/2	59	28	31		
>1/2	77	40	37		
淋巴结转移				1.45	0.228
阴性	73	33	40		
阳性	63	35	28		

注:FIGO为国际妇产科联盟。

2.3 miRNA-194低表达的宫颈癌病人生存期较短 Kaplan-Meier生存分析结果显示,miRNA-194高表达组病人3年和5年总生存率分别为87.8%和73.2%,低表达组宫颈癌病人的3年和5年总生存率分别为70.2%和51.6%,miRNA-194低表达组病人的生存期明显低于高表达组[HR 95%CI=2.17(1.21, 3.90), log-rank P=0.012]。Cox回归分析结果如表2所示,单因素分析表明FIGO临床分期、肿瘤长径、淋巴结转移情况和miRNA-194表达是影响136例宫颈癌病人生存预后的因素,进一步的多因素分析表

明FIGO临床分期和miRNA-194表达是影响宫颈癌病人预后的独立因素。

3 讨论

目前国内外大量研究证实miRNA-194充当抑癌基因作用于多种恶性肿瘤,在肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移等生物过程中起关键作用^[14-15]。然而,miRNA-194在宫颈癌中的作用尚不清楚。研究miRNA-194在宫颈癌中的表达、临床意义及与预后的相关性,对宫颈癌的诊断、判断预后及个体化靶向治疗具有重要意义。研究表明miRNA-194在非小细胞肺癌组织中低表达与病人生存期短显著相关,miRNA-194可通过靶向调节hNUDC基因抑制非小细胞肺癌细胞增殖,参与肺癌的发生发展^[10,16]。近期,国内学者王纯斌等^[17]的研究进一步证实了miRNA-194在非小细胞肺癌细胞中低表达,miRNA-194可抑制A549细胞的增殖和克隆形成能力,促进凋亡,其机制与调控JAK2/STAT3信号通路并促进活化的Caspase-3蛋白表达有关。马一栋等^[18]研究表明miRNA-194在肝癌细胞中的表达明显低于肝脏正常细胞,过表达miRNA-194可减慢肝癌细胞周期进程,抑制肝癌细胞生长,其机制可能与miRNA-194靶向调节甲基化转移酶DNMT3A相关。另外有学者研究表明胃癌病人血液中miRNA-194的表达水平明显低于健康人群,miRNA-194的表达水平与肿瘤分化程度、TNM分期、淋巴转移呈负相关,该研究提示miRNA-194可作为诊断胃癌的潜在生物标志物^[19]。

本研究结果显示:miRNA-194在宫颈癌组织中的表达明显低于癌旁正常组织,提示miRNA-194在宫颈癌组织中呈明显低表达,推测miRNA-194表达水平的下降与宫颈癌的发生、发展密切相关,随后探讨miRNA-194的表达与宫颈癌病人临床病理特征的关系,结果显示miRNA-194的表达与宫颈癌病人的FIGO分期和肿瘤长径具有密切关系,miRNA-194的表达与宫颈癌病人FIGO分期和肿瘤长径呈

表2 影响宫颈癌136例预后的Cox单因素和多因素分析

临床病例特征	单因素分析			多因素分析		
	HR值	95%CI	P值	HR值	95%CI	P值
年龄(>50岁比≤50岁)	1.11	(0.76, 1.61)	0.598			
病理分级(中高分化比低分化)	1.66	(0.88, 3.04)	0.121			
大体类型(外生型比内生型)	0.93	(0.84, 1.12)	0.822			
FIGO分期(III A~IV A期比I A~II B期)	2.81	(2.10, 3.90)	<0.001	2.18	(1.42, 3.30)	0.001
肿瘤长径(>4 cm比≤4 cm)	2.90	(1.96, 4.25)	<0.001	1.81	(0.93, 2.81)	0.061
浸润深度(>1/2比≤1/2)	1.04	(0.73, 1.52)	0.851			
淋巴结转移(阳性比阴性)	2.39	(1.48, 3.85)	<0.001	1.45	(0.89, 2.38)	0.211
miRNA-194(低表达比高表达)	1.05	(1.02, 1.10)	0.006	1.12	(1.11, 1.21)	0.008

注:FIGO为国际妇产科联盟。

反比,提示 miRNA-194 的表达与宫颈癌的进展密切相关;miRNA-194 低表达者 5 年总生存率明显低于 miRNA-194 高表达者,且 miRNA-194 表达是宫颈癌病人独立预后因素,提示 miRNA-194 表达与宫颈癌预后密切相关,因此我们推测 miRNA-194 表达可作为一种新型宫颈癌预后和治疗靶点应用于临床。

Zhao 等^[11]通过收集 165 例经病理检查确诊的胃癌病人肿瘤组织及邻近健康组织,应用 qRT-PCR 检测胃癌组织中 miRNA-194 的表达水平显著低于邻近组织,miRNA-194 在胃癌中的表达与 TNM 分期、癌细胞分化程度和淋巴结转移密切相关,体外实验表明过表达 miRNA-194 可显著抑制胃癌细胞的增殖和迁移。miRNA-194 在喉部鳞状细胞癌中呈明显低表达,miRNA-194 低表达喉癌病人的总生存时间和无进展生存时间明显低于 miRNA-194 高表达病人,miRNA-194 表达与临床分期成反比关系^[8]。此外,miRNA-194 在膀胱癌、鼻咽癌、肾透明细胞癌、黑色素瘤等肿瘤中均有低表达,其表达水平的降低与预后不良密切相关,miRNA-194 可通过一系列信号通路参与肿瘤生长和转移^[7,20-22]。

miRNA-194 在恶性肿瘤的化疗敏感性中也起到重要作用。miRNA-194 可通过靶向 Wee1 在喉鳞状细胞癌中发挥抑癌作用,过表达 miRNA-194 可以抑制喉鳞状细胞癌细胞的增殖、迁移、侵袭和耐药性^[8]。过表达 miRNA-194 通过调节 HMGA2 抑制结直肠癌细胞的存活和上皮-间质转化,同时增加结直肠癌细胞对铂类和伊立替康治疗的敏感性^[9]。miRNA-194 通过抑制 FOXA1 调节非小细胞肺癌细胞对铂类化疗敏感性,miRNA-194 在顺铂耐药的肺非小细胞肺癌细胞系中表达下调,过表达 miRNA-194 可增加顺铂治疗的敏感性^[12]。上述研究结果提示,miRNA-194 抑制肿瘤细胞的增殖和转移,并可逆转肿瘤细胞对多种化疗药物的耐药。

综上所述,miRNA-194 在宫颈癌中呈明显低表达,且与宫颈癌临床分期、肿瘤长径及预后密切相关,检测 miRNA-194 的表达可为宫颈癌的诊断和预后提供依据,其在宫颈癌进展中的具体作用机制值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 许雪,葛霞,袁金萍,等.安徽省 73239 例宫颈液基细胞学的 Bethesda 系统报告结果分析[J].安徽医学,2017,38(4):490-494.
- [2] 王宇,宋淑芳,刘凤.我国宫颈癌流行病学特征和发病高危因素的研究进展[J].中国妇幼保健,2019,34(5):1206-1208.
- [3] 王智,朱巍.VEGFR 抑制剂在宫颈癌放射治疗中的应用研究[J].癌症进展,2019,17(14):1638-1641.
- [4] WU P, YANG S, SINGH S, et al. The landscape and implications of chimeric RNAs in cervical cancer [J]. EBioMedicine,

- 2018,37:158-167.
- [5] GAO C, ZHOU C, ZHUANG J, et al. MicroRNA expression in cervical cancer: novel diagnostic and prognostic biomarkers [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(8):7080-7090.
- [6] 彭程,黄余良. MicroRNA 在宫颈癌中的诊断和治疗研究进展 [J]. 西南军医,2018,20(2):146-150.
- [7] ZHANG M, ZHUANG Q, CUI L. MiR-194 inhibits cell proliferation and invasion via repression of RAP2B in bladder cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 80:268-275.
- [8] LI P, YANG Y, LIU H, et al. MiR-194 functions as a tumor suppressor in laryngeal squamous cell carcinoma by targeting Wee1 [J]. J Hematol Oncol, 2017, 10(1):1-4.
- [9] CHANG H, YE S, PAN S, et al. Overexpression of miR-194 reverses HMGA2-driven signatures in colorectal cancer [J]. Theranostics, 2017, 7(16):3889-3900.
- [10] MI J, ZOU Y, LIN X, et al. Dysregulation of the miR-194-CUL4B negative feedback loop drives tumorigenesis in non-small-cell lung carcinoma [J]. Mol Oncol, 2017, 11(3):305-319.
- [11] ZHAO X, HOU Y, TUO Z, et al. Application values of miR-194 and miR-29 in the diagnosis and prognosis of gastric cancer [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(5):4179-4184.
- [12] ZHU X, LI D, YU F, et al. miR-194 inhibits the proliferation, invasion, migration, and enhances the chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells by targeting forkhead box A1 protein [J]. Oncotarget, 2016, 7(11):13139-13152.
- [13] 李静,索红燕,孔为民.《国际妇产科联盟(FIGO)2018 癌症报告:宫颈癌新分期及诊治指南》解读 [J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(6):646-649.
- [14] BASATI G, RAZAVI AE, PAKZAD I, et al. Circulating levels of the miRNAs, miR-194, and miR-29b, as clinically useful biomarkers for colorectal cancer [J]. Tumor Biology, 2016, 37(2):1781-1788.
- [15] CHIANG Y, SONG Y, WANG Z, et al. microRNA-192, -194 and -215 are frequently downregulated in colorectal cancer [J]. Exp Ther Med, 2012, 3(3):560-566.
- [16] ZHOU L, DI Q, SUN B, et al. MicroRNA-194 restrains the cell progression of non-small cell lung cancer by targeting human nuclear distribution protein C [J]. Oncol Rep, 2016, 35(6):3435-3444.
- [17] 王纯斌,袁琳,王梅娟,等. miR-194 对人非小细胞肺癌细胞系 A549 增殖、凋亡的影响及其机制 [J]. 山东医药, 2019, 59(15):10-14.
- [18] 马一栋,杨茜,霍月红,等. miR-194 通过靶定 DNMT3A 基因调控肝癌细胞的生长 [J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(2):187-192.
- [19] 鲍晶,李春英,陈跃峰,等. miR-194 在胃癌患者血液中的表达及临床意义 [J]. 河北医药, 2018, 40(7):965-968.
- [20] YIN W, SHI L, MAO Y. MiR-194 regulates nasopharyngeal carcinoma progression by modulating MAP3K3 expression [J]. FEBS Open Bio, 2019, 9(1):43-52.
- [21] NOFECH-MOZES R, KHELLA HW, SCORILAS A, et al. MicroRNA-194 is a marker for good prognosis in clear cell renal cell carcinoma [J]. Cancer Med, 2016, 5(4):656-664.
- [22] GUO B, HUI Q, ZHANG Y, et al. miR-194 is a negative regulator of GEF-H1 pathway in melanoma [J]. Oncol Rep, 2016, 36(4):2412-2420.

(收稿日期:2020-02-23,修回日期:2020-04-20)