

# miRNA-145 在喉癌中的表达及临床意义

张定富, 吴秋芳, 戈长征

荆州市中心医院肿瘤科, 湖北 荆州 434020

**摘要:** **目的** 探讨微小核糖核酸 (microRNA, miRNA)-145 在喉癌中的表达及其与临床病理参数、预后之间的关系。**方法** 收集自 2013 年 6 月至 2015 年 6 月接受诊治的喉癌患者 60 例作为研究对象, 60 例均行喉癌根治术治疗, 术后常规放疗和化疗, 以手术获得的患者喉癌组织标本为喉癌组, 以患者远离肿瘤的正常喉组织标本为对照组。用逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测两组 miRNA-145 的表达情况, 并根据 miRNA-145 的平均相对表达量  $\geq 0.89$  和  $< 0.89$  将喉癌组分为高表达组 ( $n = 21$ ) 和低表达组 ( $n = 39$ ), 分析其与临床病理参数及预后的关系。**结果** 喉癌组 miRNA-145 的相对表达量显著低于正常组织 ( $0.89 \pm 0.26$  vs  $2.09 \pm 1.37$ ,  $P < 0.01$ ); miRNA-145 的表达与患者性别、年龄、分化程度、肿瘤部位无相关性 ( $P$  均  $> 0.05$ ); 而与是否有淋巴结转移、临床分期密切相关 ( $P$  均  $< 0.05$ )。miRNA-145 高表达患者的无进展生存率显著高于 miRNA-145 低表达患者 ( $P < 0.05$ )。**结论** miRNA-145 在喉癌组织中表达下调, miRNA-145 的表达很可能与喉癌组织的浸润、转移以及预后有关, 提示 miRNA-145 或可作为一种新的分子靶点用于喉癌的治疗及预后评估。

**关键词:** 微小核糖核酸-145; 喉癌; 临床病理参数; 无进展生存率

**中图分类号:** R 739.65 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2017)01-0048-03

喉癌是耳鼻喉部最为常见的一种恶性肿瘤, 全世界研究数据发现, 该病的发病率及死亡率呈逐年增加的趋势, 喉癌早期的治愈率较高, 死亡率高的原因在于喉癌早期临床体征不明显, 导致早期诊断比例较低, 70% 的患者确诊时已到了肿瘤晚期, 错过根治性手术治疗的佳时期; 另一方面其转移率和复发率较高, 统计发现, 晚期喉癌患者的 5 年生存率低于 50%<sup>[1]</sup>。

微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 是一种内源性非编码 RNA, 它是近年的研究热点, 它能作用于目标信使 RNA (mRNA) 的 3' 端, 调控目标基因的转录及表达。Babashah 等<sup>[2]</sup> 研究发现, miRNA 也能影响肿瘤细胞的发生与发展。与肿瘤的发生发展相关的 miRNA 主要是 miRNA-145, 它被认为是一种抑癌基因, 能调控肿瘤细胞的产生、分化、凋亡以及转移过程<sup>[3-4]</sup>。近年来有专家研究发现, miRNA-145 在喉癌中的表达恒定下调<sup>[5]</sup>, 但在喉癌中的作用研究不完善。本文旨在检测 miRNA-145 在喉癌的表达情况, 探讨其水平与病理参数和预后的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集自 2013 年 6 月至 2015 年 6 月在我院接受诊治的喉癌患者 60 例作为研究对象, 所

有患者均经临床和手术病理确诊。所有患者签署知情同意书, 并经过医院伦理协会批准。排除标准: (1) 药物过敏者; (2) 同时患其他原发肿瘤者; (3) 不配合参加实验者; (4) 未行放化疗治疗者。

**1.2 材料来源及处理** 以病理检查时所取患者喉癌组织标本为喉癌组, 以患者远离肿瘤的正常喉组织标本为对照组。所有组织于离体 1 h 之内放入离心管, 置于液氮速冻,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。

**1.3 逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测 miRNA-145 的含量** 对保存的组织标本进行 RNA 的提取、逆转录、PCR 扩增、PCR 产物琼脂糖凝胶电泳, 最后凝胶分析系统进行拍照, 然后用 Quantity one 凝胶分析软件进行差异分析, 整理分析相关数据。miRNA-145 基因引物序列 5'-ATCGTCCAGTTTTCCAGG-3' (上游) 和 5'-CGCCTCCACACTCACC-3' (下游)。取 U6 作为内参, U6 基因引物序列 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3' (上游) 和 5'-GGAACGCTTACGAATTTG-3' (下游)。

**1.4 治疗方法及随访** 对 60 例喉癌患者行喉癌根治术治疗, 术后常规放疗和化疗, 患者从手术之日起开始随访, 随访截止日期 2016 年 1 月。随访方式为: 定期复诊患者采用门诊随访, 未按时复诊患者采用电话随访。无进展生存率为从患者手术开始到随访截止无疾病进展患者占全部患者的比例。

**1.5 统计学方法** 运用 SPSS19.0 软件进行数据分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用成组  $t$  检验; 计数资

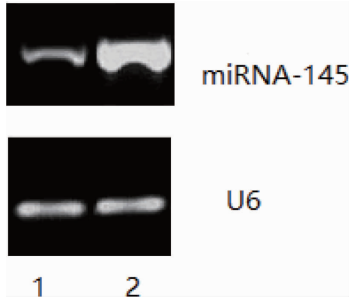
料以频数和%表示,采用 $\chi^2$ 检验;生存率计算采用Kaplan-Meier法,差异用log-rank法进行检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义

## 2 结果

2.1 miRNA-145 在喉癌组及对照组中的表达分析  
喉癌组 miRNA-145 的相对表达量为  $0.89 \pm 0.26$ , 对照组为  $2.09 \pm 1.37$ , 两组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见图 1。

2.2 miRNA-145 表达与患者不同临床病理参数的关联性  
将 60 例喉癌组的 miRNA-145 平均表达量 0.89 作为切点, 表达量  $\geq 0.89$  为高表达组,  $< 0.89$  为低表达组, 其中高表达组 21 例, 低表达组 39 例。结果显示 miRNA-145 的表达与患者性别、年龄、分化程度、肿瘤部位无关联性 ( $P$  均  $> 0.05$ ); 无淋巴结转移患者 miRNA-145 的表达明显高于有淋巴结转移患者 ( $P = 0.011$ ); 临床 I 期、II 期、III 期患者 miRNA-145 的表达逐渐降低 ( $P = 0.021$ )。见表 1。

2.3 miRNA-145 的表达与喉癌患者预后的关系  
到随访截止日, 本次研究仅 1 例患者 (miRNA-145 低表



注:1 泳道为喉癌组;2 泳道为对照组。

图 1 RT-PCR 检测 miRNA-145 表达的凝胶成像分析电泳图

表 1 miRNA-145 表达与患者不同临床病理参数的关联性

临床参数	例数	高表达[例(%)]	$\chi^2$ 值	$P$ 值
性别	男	8 (34.78)	0.175	0.754
	女	37 (35.14)		
年龄	<45 岁	3 (37.50)	0.614	0.454
	45~55 岁	6 (35.29)		
	>55 岁	35 (34.20)		
分化程度	低	6 (37.50)	0.225	0.725
	中	30 (33.33)		
	高	14 (35.71)		
淋巴结转移	有	3 (11.11)	6.243	0.011
	无	33 (54.55)		
临床分期	I 期	14 (46.67)	4.041	0.021
	II 期	5 (26.32)		
	III 期	2 (18.18)		
肿瘤部位	声门上型	4 (36.36)	0.386	0.623
	声门型	37 (35.13)		
	贯声门型	12 (33.33)		

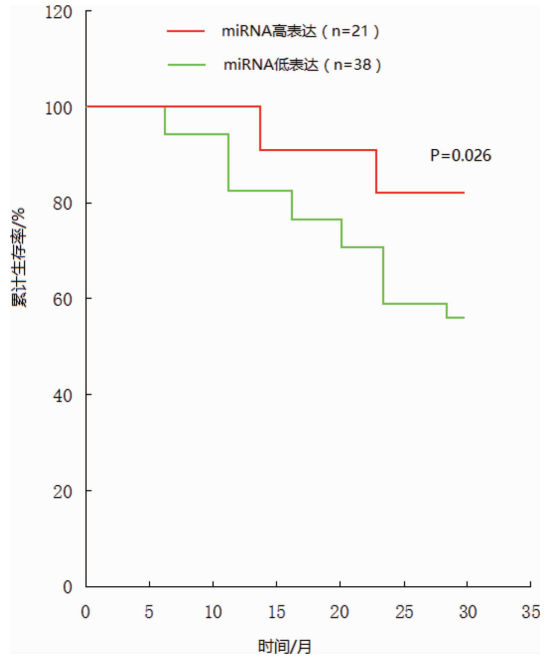


图 2 miRNA-145 的表达与喉癌患者无进展生存率的关系

达患者)失访,总随访率为 98.33%。21 例 miRNA-145 高表达患者,无进展生存率为 80.95%, 38 例 miRNA-145 低表达患者,无进展生存率为 52.63%, 两组差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.011, P = 0.026$ )。见图 2。

## 3 讨论

喉癌是耳鼻喉部最为常见的一种恶性肿瘤,全世界研究数据发现,该病的发病率及死亡率呈逐年增加的趋势<sup>[6]</sup>。早期喉癌患者一经确诊,在接受规范的抗癌治疗之后,大部分可以康复甚至完全缓解。喉癌死亡率之所以居高不下,是因为喉癌早期临床特征不明显,70%的患者确诊时已到了肿瘤晚期,已失去最佳治疗时机,另一方面转移率和复发率较高<sup>[7]</sup>,对于晚期喉癌,治疗效果仍然不理想,患者的 5 年生存率低于 50%,总体预后较差。

miRNA 广泛存在于动、植物基因组中,它是一种小分子单链 RNA<sup>[8]</sup>,大小约为 20 nt,它主要是通过目的基因的 3'端相互作用来调控目的基因的表达及翻译,影响人体的生长发育,参与肿瘤等疾病过程,有研究发现人类约三分之一的基因都由 miRNA 调控<sup>[9]</sup>。miRNA-145 位于人类基因组的 5 号染色体,被认为是一种抑癌基因,其调控的目的基因主要是: C-myc、ERBB<sup>[10]</sup>、IRS-1、ADAM17<sup>[11]</sup>、BNIP3、MUC-1、FSCN-1、STAT-1<sup>[12]</sup>、EGFR<sup>[13]</sup>、BNIP-3 等,通过作用于以上基因来调控肿瘤细胞的产生、分化及转移。研究发现,在乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、结直肠癌、非小细胞肺癌、胃癌等恶性肿瘤中,miRNA-145 的

表达均明显下降<sup>[14-19]</sup>。另一方面,随着肿瘤组织中 miRNA-145 表达的增加,肿瘤的扩散将显著降低,显示 miRNA-145 有抑癌的作用。

本研究结果发现,喉癌组织中 miRNA-145 的表达显著低于正常组织,差异具有统计学意义,显示 miRNA-145 在喉癌组织中表达下调。miRNA-145 与患者临床病理参数的关系分析发现,miRNA-145 的表达与患者性别、年龄、分化程度、肿瘤部位无关联性;而与是否有淋巴结转移、临床分期关联密切,提示 miRNA-145 的表达可能与喉癌组织的浸润和转移有关。miRNA-145 的表达与喉癌患者预后的关系分析发现,miRNA-145 高表达患者的无进展生存率显著高于 miRNA-145 低表达患者的无进展生存率,提示 miRNA-145 的表达可能与喉癌预后有关。

综上所述,miRNA-145 作为一种抑癌基因,其表达与喉癌的浸润、转移及预后密切相关,提示 miRNA-145 或可作为治疗喉癌的一个分子靶点:通过上调其表达来抑制喉癌的浸润及转移以改善喉癌患者的预后。

#### 参考文献

- [1] Koestler DC, Li J, Baron JA, et al. Distinct patterns of DNA methylation in conventional adenomas involving the right and left colon[J]. *Mod Pathol*, 2014, 27(1): 145 - 155.
- [2] Babashah S, Soleimani M. The oncogenic and tumour suppressive roles of microRNAs in cancer and apoptosis [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(8): 1127 - 1137.
- [3] Lu Y, Chopp M, Zhang X, et al. MiR-145 reduces ADAM17 expression and inhibits in vitro migration and invasion of glioma cells[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(1): 67 - 72.
- [4] Sachdeva M, Mo YY. miR-145 mediated suppression of cell growth, invasion and metastasis [J]. *Am J Transl Res*, 2010, 2(2): 170 - 180.
- [5] Yamada N, Noguchi S, Mori T, et al. Tumor-suppressive microRNA-145 targets catenin delta-1 to regulate Wnt /beta-catenin signaling in human colon cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(2): 332 - 342.
- [6] 胡尚英,陈万青,赵方辉,等. 中国 2003 - 2007 年口腔和咽喉癌

发病与死亡分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2013, 34(2): 164 - 167.

- [7] Focht KL, Martin-harris B, Bonilha HS. Stroboscopic Parameters Reported as Voice Outcome Measures in Patients Treated for Laryngeal Cancer: A Systematic Review [J]. *J Med Speech Lang Pathol*, 2013, 21(3): 5.
- [8] Small EM, Frost RJ, Olson EN. MicroRNAs add new dimension to cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2010, 121(8): 1022 - 1032.
- [9] 杨镇鸣,刘鸣. miRNA-145 与肿瘤的相关性研究进展[J]. *标记免疫分析与临床*, 2015, 22(11): 1173 - 1175.
- [10] Yan X, Chen X, Liang H, et al. miR-143 and miR-145 synergistically regulate ERBB3 to suppress cell proliferation and invasion in breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 220.
- [11] Doberstein K, Steinmeyer N, Hartmetz AK, et al. MicroRNA - 145 targets the metalloprotease ADAM17 and is suppressed in renal cell carcinoma patients [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(2): 218 - 230.
- [12] Gregersen LH, Jacobsen AB, Frankel LB, et al. MicroRNA-145 targets YES and STAT1 in colon cancer cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8836.
- [13] Cho WC, Chow AS, Au JS. MiR-145 inhibits cell proliferation of human lung adenocarcinoma by targeting EGFR and NUDT1 [J]. *RNA Biol*, 2011, 8(1): 125 - 131.
- [14] 邢晓芳,李子禹. miR-143 和 miR-145 在胃癌中的表达及功能研究 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2015, 18(1): 50 - 53.
- [15] Dip N, Reis ST, Srougi M, et al. Expression profile of microRNA-145 in urothelial bladder cancer [J]. *Int Braz J Urol*, 2013, 39(1): 95 - 101.
- [16] Guo W, Ren D, Chen X, et al. HGF1 promotes epithelial mesenchymal transition and bone invasion in prostate cancer under the regulation of microRNA-145 [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(7): 1606 - 1615.
- [17] 郭跃辉,姜斌,时婧,等. EGFR-AKT 信号通路下调肺癌细胞 miR-145 的表达 [J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(12): 2652 - 2655.
- [18] Chung YW, Bae HS, Song JY, et al. Detection of microRNA as novel biomarkers of epithelial ovarian cancer from the serum of ovarian cancer patients [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(4): 673 - 679.
- [19] 方芳,陈艳霞,马彩玲. 新疆维吾尔族和汉族妇女不同宫颈组织中 miRNA-145 的表达及临床意义 [J]. *中国临床研究*, 2016, 29(2): 173 - 177.

收稿日期: 2016 - 09 - 30 修回日期: 2016 - 10 - 20 编辑: 王国品