

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.08.023

miR-23a 在宫颈癌患者组织血清中的表达及相关性分析*

林楠 许子琪 蔡雁[△] 贾长茹 孙思维 陈巧玲

(哈尔滨医科大学附属第四医院妇产科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨宫颈癌患者血清中 miR-23a 的表达及与患者预后转归的相关性分析。**方法:**选取在我院进行手术治疗的 120 例宫颈癌患者为观察组,120 例宫颈活检结果正常者为对照组。观察手术前及手术后患者血清中 miR-23a 的表达,肿瘤标志物及炎症因子含量变化,并分析 miR-23a 表达与宫颈癌患者临床病理特征的关系及预后。**结果:**观察组患者术前血清中 miR-23a 的相对表达量明显高于对照组 miR-23a 的相对量,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与手术前比较,术后观察组血清中 miR-23a 的相对量明显降低,肿瘤标志物癌抗原 125(Cancer antigen 125, CA125)及鳞状上皮细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCCA)含量明显降低,白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)及 C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)水平含量亦明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。观察组 120 例宫颈癌患者有 74 例 miR-23a 高表达,46 例为 miR-23a 低表达。观察组患者血清中高表达 miR-23a 含量变化与妇科疾病史,肿瘤直径,淋巴结转移,肿瘤分化程度有关,差异具有统计学意义($P<0.05$)。观察组患者 miR-23a 高表达患者生存期明显少于 miR-23a 低表达患者($P<0.05$)。**结论:**血清中 miR-23a 高表达可能是判断宫颈癌预后的重要标志物。

关键词: 宫颈癌;miR-23a;早期诊断

中图分类号:R737.33 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2021)08-1507-04

Expression and Correlation Analysis of miR-23a in Serum of Patients with Cervical Cancer*

LIN Nan, XU Zi-qi, CAI Yan[△], JIA Chang-ru, SUN Si-wei, CHEN Qiao-ling

(Department of Obstetrics and Gynecology, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of miR-23a in serum of patients with cervical cancer and its correlation with prognosis. **Methods:** 120 patients with cervical cancer who underwent surgical treatment in our hospital were selected as observation group and 120 patients with normal cervical biopsies as control group. Observe the expression of miR-23a, the changes of tumor markers and inflammatory factors in the serum of patients before and after surgery, and analyze the relationship between the expression of miR-23a and the clinicopathological characteristics and prognosis of cervical cancer patients. **Results:** The relative expression of miR-23a in serum of the observation group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). Compared with before operation, the relative amount of miR-23a in serum, the content of CA1225 and SCCA, the level of inflammatory factor IL-6, TNF- α and CRP in the observation group were significantly lower than those before operation, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There were 74 cases with high expression of miR-23a and 46 cases with low expression of miR-23a in 120 patients with cervical cancer in the observation group. The changes of high expression of miR-23a in the serum of the observation group were related to the history of gynecological diseases, tumor diameter, lymphatic metastasis and the degree of tumor differentiation, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The survival time of patients with high expression of miR-23a in observation group was significantly lower than that in patients with low expression of miR-23a($P<0.05$). **Conclusion:** The high expression of miR-23a in serum may be an important marker to judge the prognosis of cervical cancer.

Key words: Cervical cancer; miR-23a; Early diagnosis

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)08-1507-04

前言

宫颈癌是妇科临床常见的恶性肿瘤之一,在世界范围内发病率 and 致死率逐年上升,且年龄越来越年轻化,在现有调研发

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2019H078);黑龙江省大学生创新创业训练项目(201910226038)

作者简介:林楠(1980-),女,硕士,电话:13836128077

[△] 通讯作者:蔡雁(1965-),女,博士,主任医师,E-mail: 59061116@qq.com

(收稿日期:2020-08-23 接受日期:2020-09-18)

现,宫颈癌是女性生殖系统肿瘤发病率最高的,仅次于乳腺癌、结肠癌、肺癌,宫颈癌好发于围绝经期妇女,肥胖、糖尿病、高血压、未曾生育者以及长期不排卵者,其中原位癌高发年龄为30~35岁,浸润癌为45~55岁,对女性的生活质量和生存期造成严重威胁^[1]。因此研究宫颈癌的发生、发展及预后尤为重要。目前虽通过手术、放疗、化疗等治疗方法可取得一定的治疗效果,但仍存在一定不足,尤其是对疾病的生物学演变、发病率及死亡率变化,因此深入研究宫颈癌发生发展的作用机制,有利于疾病的早发现、早诊断、早预防、早治疗。近年来通过免疫细胞学筛查宫颈癌前病变及癌症早期发现应用越来越广泛,这在很大程度上提高了疾病的诊断率及治疗率,降低了死亡率。研究证明,MicroRNA(miRNA)是一组小内源性非编码RNA分子,主要在3'-UTR与靶mRNA结合,可参与人体内各类型癌症的多细胞过程,尤其在宫颈癌的发生、转移过程中表达作用的研究越来越多。miRNA在细胞增殖、分化、转移、凋亡过程发挥重要调节作用,其中miR-23a在多种肿瘤中表达上调,参与细胞分化,促进细胞间转移,与肿瘤的预后关系密切^[3-5]。本研究通过检测120例宫颈癌患者血清中miR-23a的相对表达量,肿瘤相关标志物及炎症因子水平变化,观察其相关性,为宫颈癌的早期诊断、治疗及预后转归提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取我院2015年1月至2017年12月收治的宫颈活检组织诊断为宫颈癌患者120例,年龄30-76岁,平均年龄(52.82±8.63)岁,其中Ia期60例,Ib期28例,IIa期32例;高分化16例,中分化88例,低分化16例。宫颈活检组织病理结果正常患者120例为对照组。

1.2 纳入及排除标准

1.2.1 纳入标准 ① 组织病理学提示宫颈癌; ② 年龄在30-60岁之间; ③ FIGO临床分期为Ia-IIa期; ④ 治疗前均未进行过放疗及手术治疗; ⑤ 首次确诊宫颈癌者; ⑥ 卡氏评分(Karnofsky, KPS)≥70分; ⑦ 患者及其家属均同意并签署相关知情同意书。

1.2.2 排除标准 ① 有严重心血管、神经系统疾病者; ② 治疗前接受过药物治疗或者手术治疗者; ③ 复发性宫颈癌患者; ④

有手术禁忌症者; ⑤ 不能耐受治疗,中途放弃者。

1.3 方法

观察组患者均进行手术治疗。术前3天清淡饮食,术前12小时禁食水,于全麻下行腹腔镜下广泛子宫切除术。于术前及术后2周观察相关指标变化。

1.4 观察指标

① 对血清中miR-23a的相对表达水平变化进行分析。观察组患者于入院时及术后2周清晨空腹抽取上肢静脉血10mL,3000 r/min离心,取上清液,-80℃保存,进行实时荧光定量PCR法检测血清中miR-23a的相对表达水平。miR-23a的上游引物:5'-GGG GAT CAC ATT GCC AGG-3'和下游引物5'-AGT GCG TGT CGT GGA GTC-3';U6的上游引物:5'-GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA AAAT-3'和下游引物5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'。采用相对定量的方法对miRNA进行相对量表达进行计算,以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示目的基因相对于配对,正常标本的变化倍数,其中 $\Delta CT = CT_{miRNA} - CT_{U6}$, $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{miRNA} - \Delta CT_{对照组}$ 。② 分析miR-23a表达与宫颈癌患者临床病理特征间的关系。③ 对两组患者血清肿瘤标志物与炎症因子变化进行分析。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中CA1225、SCCA、IL-6、TNF-α及CRP水平变化。④ 对宫颈癌患者生存期进行评估。于手术结束后即开始回访,截止至2019年06月30日,共回访1-4年,失访14例,随访率为88.33%。随访主要以电话和门诊复诊的方式为主,分析其生存期。

1.5 统计学分析

采用SPSS22.0软件包对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验;计数资料用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清中miR-23a水平变化

观察组术前血清中miR-23a的相对表达量为(4.56±1.26),明显高于对照组miR-23a的相对量(0.97±0.22),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与手术前比较,术后观察组血清中miR-23a的相对表达量明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表1。

表1 两组患者血清中miR-23a水平变化结果($\bar{x} \pm s, 2^{-\Delta\Delta CT}$)

Table 1 Results of changes in serum miR-23a levels in two groups of patients($\bar{x} \pm s, 2^{-\Delta\Delta CT}$)

Groups	n	miR-23a
Control group	120	0.97± 0.22
Observation group	Before surgery	4.56± 1.26*
	After surgery	1.27± 0.77#

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with before the surgery, # $P < 0.05$.

2.2 宫颈癌患者血清miR-23a表达与临床特征间的关系

根据宫颈癌患者miR-23a的表达水平,将≥1.76的样本定义为高表达,表达水平<1.76为低表达。则观察组120例宫颈癌患者有74例miR-23a高表达,46例为miR-23a低表达。观察组患者血清中高表达miR-23a含量变化与妇科疾病史,肿瘤直径,淋巴转移,肿瘤分化程度有关,差异具有统计学意义

($P < 0.05$),结果见表2。

2.3 两组患者手术前后肿瘤标志物及炎症因子水平变化

观察组患者术前血清中CA1225、SCCA、IL-6、TNF-α及CRP水平含量明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与手术前比较,观察组患者术后血清中肿瘤标志物CA1225及SCCA含量明显降低,炎症因子IL-6、TNF-α及CRP水平含量

亦明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 3。

表 2 血清中 miR-23a 水平与宫颈癌临床特征关系(n,%)

Table 2 Relationship between serum miR-23a level and clinical characteristics of cervical cancer(n,%)

Clinical features	n	miR-23a expression		P
		High expression	Low expression	
Age				0.57
≥ 60	64	40(62.5%)	24(37.5%)	
<60	56	34(60.71%)	22(39.29%)	
History of gynecological diseases				0.01
Yes	80	52(65%)	28(35%)	
No	40	23(57.5%)	17(42.5%)	
Tumor diameter(cm)				0.03
≥ 3	45	37(82.22%)	8(17.78%)	
<3	75	37(49.33%)	38(50.67%)	
Lymph node metastasis				0.04
Yes	43	31(72.09%)	12(17.91%)	
No	77	43(55.84%)	34(44.16%)	
Degree of tumor differentiation				0.01
Highly differentiated	104	70(67.31%)	34 (32.69%)	
Poorly differentiated	16	6(37.5%)	10(62.5%)	

表 3 两组患者血清中肿瘤标志物及炎症因子水平变化($\bar{x} \pm s, n=120$)

Table 3 Changes of serum tumor markers and inflammatory factors in the two groups of patients($\bar{x} \pm s, n=120$)

Groups	CA125(U/mL)	SCCA(ng/mL)	CRP(ng/mL)	TNF- α (pg/mL)	IL-6(ng/mL)	
Control group	16.75 \pm 6.22	1.39 \pm 0.44	3.63 \pm 1.78	13.87 \pm 3.21	7.13 \pm 1.62	
Observation group	Before surgery	68.78 \pm 11.93*	16.34 \pm 2.57*	12.75 \pm 3.62*	96.42 \pm 13.78*	118.17 \pm 48.23*
	After surgery	30.41 \pm 16.23 [#]	6.14 \pm 2.11 [#]	5.62 \pm 2.80 [#]	53.24 \pm 8.41 [#]	43.40 \pm 17.42 [#]

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$; compared with before the surgery, [#] $P<0.05$.

2.4 宫颈癌患者生存期结果分析

经过治疗,观察组患者 miR-23a 高表达患者生存期明显少

于 miR-23a 低表达患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果

见表 4。

表 4 宫颈癌患者生存期结果分析($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Survival results of cervical cancer patients($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Lifetime (month)
miR-23a High expression	64	26.32 \pm 2.22*
miR-23a Low expression	42	47.58 \pm 5.43

Note: Compared with patients with low expression of miR-23a, * $P<0.05$.

3 讨论

宫颈癌的发病预后与多基因的调控密切相关,其中 miRNA 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用,研究证实 miRNA 的异常表达与宫颈癌的发生、发展及预后有关^[6,7]。miRNA 是一种内源性单链非编码 RNA,与靶 mRNA 的非编码区 3' 端结合,通过碱基配对发生转录,进一步调节蛋白基因表达。在宫颈癌

细胞中存在多种异常表达的具有原癌基因活性的 miRNA,若基因结构发生异变或紊乱,会进一步促进细胞的癌变^[8-10]。研究发现在宫颈癌中 miR-9,miR-21a,miR-21b,miR-199a,miR-199b,miR-133a,miR-133b 等表达明显上调^[11-14]。

miR-23a 可通过调节细胞增殖、分化、凋亡,在各类肿瘤细胞中有较高的表达,是一种常见的致癌基因^[15-17]。研究发现在宫颈癌细胞中 miR-23a 相对表达量异常增加,癌细胞活性异常,

细胞增殖、分化能力明显增强。研究发现 miR-23a 高表达状态能抑制 PTEN 基因表达,加速癌细胞增殖与分化^[18,19]。miR-23a 通过调节 LATS1 的表达,降低细胞分化周期,抑制癌细胞凋亡,并可上调 p63 基因,进一步促进癌细胞的迁移分化,严重抑制化疗对宫颈癌的敏感性^[20]。本研究结果显示,观察组患者血清中 miR-23a 的相对表达量、CA1225 及 SCCA 含量均明显升高,说明 miR-23a 在宫颈癌患者血清中异常表达,可调控癌细胞,参与细胞的增殖、分化及凋亡过程。

有研究表明,miR-23a 高表达与宫颈癌患者的年龄、既往病史、肿瘤直径、淋巴结转移、肿瘤分化程度及生存期密切相关^[21,22]。在与宫颈癌患者的临床病理特征的研究中发现,在有淋巴结转移,肿瘤直径 ≥ 3 cm,肿瘤低分化及有妇科疾病的患者中 miR-23a 表达异常升高,说明 miR-23a 与宫颈癌患者病情变化有关,恶劣的宫颈环境,较大的癌组织并发淋巴结转移,使具有 miR-23a 的原癌基因大量释放入血,浸润分化越深,miR-23a 表达水平越高,使宫颈癌患者病情进一步发展。亦有研究证实 miR-23a 高表达在调节宫颈癌细胞的过程中可促进癌细胞增殖,影响患者的预后^[23,24]。研究结果显示 miR-23a 高表达患者的生存期明显少于 miR-23a 低表达患者,进一步证实 miR-23a 对评估宫颈癌患者的预后有一定诊断作用。当患者发生癌变时,机体的炎症反应会发生紊乱,应激状态下分泌大量 TNF- α ,刺激诱导 IL-6 分泌,并通过肝细胞使体内 CRP 合成^[25,26]。本研究结果表明,观察组患者术后血清中 IL-6、TNF- α 及 CRP 水平含量明显低于术前,这与术后患者 miR-23a 的相对表达量趋势一致。

综上所述,miR-23a 在宫颈癌患者血清中的表达与患者临床病理特征,预后转归关系密切,与常规肿瘤标志物及炎症因子水平结合检测,可作为判断宫颈癌预后的重要指标,但仍需大量的研究支持。

参考文献(References)

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [2] 刘萍. 中国大陆 13 年宫颈癌临床流行病学大数据评价 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(01): 41-45
- [3] How C, Pintilie M, Bruce JP, et al. Developing a prognostic Micro-RNA signature for human cervical carcinoma [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123946
- [4] Mo W, Tong C, Zhang Y, et al. microRNAs, differential regulations mediate the progress of Human Papillomavirus (HPV) induced Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) [J]. BMC Syst Biol, 2015, 9: 4
- [5] 逢子瑶, 彭越, 赵郑, 等. 微 RNA 在妇科疾病中的研究进展 [J]. 医学综述, 2020, 26(10): 1956-1961+1967
- [6] Bera A, VenkataSubbaRao K, Manoharan MS, et al. A miRNA signature of chemoresistant mesenchymal phenotype identifies novel molecular targets associated with advanced pancreatic cancer [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106343
- [7] Zhu XL, Wen SY, Ai ZH, et al. Screening for characteristic microRNAs between preinvasive and invasive stages of cervical cancer [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 55-62
- [8] González-Quintana V, Palma-Berré L, Campos-Parra AD, et al. MicroRNAs are involved in cervical cancer development, progression, clinical outcome and improvement treatment response (Review)[J]. Oncol Rep, 2016, 35(1): 3-12
- [9] 李密, 刘匀慧, 姚远. miR-141 和 lncRNA-H19 在宫颈癌中的表达及临床意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(13): 2333-2336
- [10] 张曦, 郝敏. miRNA-20a 在宫颈癌中作用机制的研究进展 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(01): 99-101
- [11] Pereira PM, Marques JP, Soares AR, et al. MicroRNA expression variability in human cervical tissues [J]. PLoS One, 2010, 5 (7): e11780
- [12] Zheng ZM, Wang X. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomaviruses [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1809 (11/12): 668-677
- [13] 陈小霞, 谢环. 宫颈癌组织中 miRNA-21, miRNA-127 和 miRNA-125a 的表达变化及临床指导意义 [J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(02): 76-81
- [14] 刘聃, 蔡明慧, 魏力. 子宫颈癌患者血清 miRNA-21 水平与临床病理因素及预后的关系 [J]. 肿瘤研究与临床, 2020, 32(05): 313-317
- [15] Cui Jing, Li Hao, Wang Ying, et al. Skullcapflavone I has a potent anti-pancreatic cancer activity by targeting miR-23a [J]. BioFactors (Oxford, England), 2020
- [16] Li Lexing, Huang Chunxiao, He Yulong, et al. Knockdown of Long Non-Coding RNA GAS5 Increases miR-23a by Targeting ATG3 Involved in Autophagy and Cell Viability [J]. Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 2018, 48(4): 1723-1734
- [17] Deshpande R, Mansara P, Kaul-Ghanekar R. Alpha-linolenic acid regulates Cox2/VEGF/MAPkinase pathway and decreases the expression of HPV oncoproteins E6/E7 through restoration of p53 and Rb expression in human cervical cancer cell lines [J]. Tumour Biol, 2016, 37(3): 3295-3305
- [18] Huilong Lin, Laien Shen, Qi Lin, et al. SNHG5 enhances Paclitaxel sensitivity of ovarian cancer cells through sponging miR-23a [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 123: 109711
- [19] Retraction: miR-23a Targets Interferon Regulatory Factor 1 and Modulates Cellular Proliferation and Paclitaxel-Induced Apoptosis in Gastric Adenocarcinoma Cells [J]. PloS one, 2020, 15(5)
- [20] Li Zhi-Qin, Wang Hong-Yan, Zeng Qing-Lei, et al. p65/miR-23a/CCL22 axis regulated regulatory T cells recruitment in hepatitis B virus positive hepatocellular carcinoma [J]. Cancer medicine, 2020, 9 (2): 711-723
- [21] Park JY, Seong SJ, Kim TJ, et al. Significance of body weight change during fertility-sparing progestin therapy in young women with early endometrial cancer [J]. Gynecologic Oncology, 2017, 146 (1): 39-43
- [22] Masood Abu-Halima, Basim M. Ayesha, Martin Hart, et al. Differential expression of miR-23a/b-3p and its target genes in male patients with subfertility [J]. Fertility and Sterility, 2019, 112(2): 323-335
- [23] Trabert B, Eldridge RC, Pfeiffer RM, et al. Prediagnostic circulating inflammation markers and endometrial cancer risk in the prostate, lung, Colorectal and ovarian cancer (PLCO) screening trial [J]. International journal of cancer, 2017, 140(3): 600-610
- [24] 李洪林. 子宫内膜癌中 MiR-23a 的表达及其对 SIX1 调控的机制研究 [D]. 天津医科大学, 2019
- [25] 金爱红. 抑制 miR-23a 表达增强卵巢癌细胞顺铂敏感性的分子机制研究 [D]. 安徽医科大学, 2016
- [26] 郑永法. 放疗通过 miR-23a/PTEN 通路促进 HUVEC 增殖及迁移的机制研究 [D]. 武汉大学, 2016