

非小细胞肺癌患者 miR-221、miR-630 表达及与预后的关系分析

赵 剑¹, 孙 燃¹, 汪 巧¹, 许亚军², 戴 敏¹

1. 安徽省芜湖市第二人民医院, 安徽 芜湖 241000; 2. 皖南医学院, 安徽 芜湖 241000

【摘要】 目的 分析非小细胞肺癌(NSCLC)miR-221、miR-630 表达及与预后的关系。**方法** 采集 198 例 NSCLC 患者癌组织及癌旁组织标本,检测 miR-221、miR-630 表达,分析与病理特征关系,Kaplan-Meier 法分析 2 年生存情况,Cox 回归分析 miR-221、miR-630 表达与预后的关系。**结果** 癌组织 miR-221 表达高于癌旁组织,miR-630 表达低于癌旁组织($P<0.05$)。TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移的 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-221 表达高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移患者($P<0.05$);TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤直径 ≥ 4 cm、有淋巴结转移的 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-630 表达低于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、肿瘤直径 <4 cm、无淋巴结转移患者($P<0.05$)。Kaplan-Meier 分析显示,miR-221 高表达者 2 年生存率为 55.56%,低于 miR-221 低表达者的 79.63%;miR-630 高表达者 2 年生存率为 75.96%,高于 miR-630 低表达的 50.00%($P<0.05$)。Cox 回归分析显示,TNM 分期、淋巴结转移及 miR-221、miR-630 表达是 NSCLC 预后的影响因素($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,miR-221 与 miR-630 表达呈负相关性($P<0.05$)。**结论** NSCLC 患者 miR-221 表达升高,miR-630 表达降低,且与 TNM 分期、淋巴结转移和预后相关,可作为 NSCLC 患者潜在预后评估的标记物。

【关键词】 非小细胞肺癌;miR-221;miR-630;预后

【中图分类号】 R734.2

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2024)05-0131-05

Analysis of the expressions of miR-221 and miR-630 and their relationship with prognosis in patients with non-small cell lung cancer ZHAO Jian¹, SUN Ran¹, WANG Qiao¹, XU Ya-jun², DAI Min¹

1. Wuhu Second People's Hospital, Wuhu 241000, China; 2. Wannan Medical College, Wuhu 241000, China

【Corresponding author】 DAI Min

【Abstract】 Objective To analyze the expressions of microRNA-221 (miR-221) and microRNA-630 (miR-630) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and their relationship with the prognosis. **Methods** Cancer tissue and adjacent tissue samples from 198 patients with NSCLC were collected. The expressions of miR-221 and miR-630 were detected. The relationship with pathological characteristics was analyzed. Kaplan-Meier method was used to analyze 2-year survival. Cox regression analysis was conducted to investigate the relationship between the expressions of miR-221 and miR-630 and the prognosis. **Results** The expressions of miR-221 in cancer tissues was higher than that in adjacent tissues, and the expressions of miR-630 was lower than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of miR-221 in tumor tissue of NSCLC patients at TNM stage III-IV with lymph node metastasis was higher than that in patients at TNM stage I-II and without lymph node metastasis ($P<0.05$). The expression of miR-630 in tumor tissues of NSCLC patients at TNM stage III-IV with tumor diameter ≥ 4 cm and with lymph node metastasis was lower than that in patients at TNM stage I-II with tumor diameter <4 cm and without lymph node metastasis ($P<0.05$). Kaplan-Meier analysis showed that the 2-year survival rate of those with high expression of miR-221 was 55.56% that was lower than 79.63% of those with low expression of miR-221. The 2-year survival rate of those with high expression of miR-630 was 75.96% that was higher than 50.00% of those with low expression of miR-630 ($P<0.05$). Cox regression analysis showed that TNM stage, lymph node metastasis, and expressions of miR-221 and miR-630 were prognostic factors of NSCLC ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression of miR-221 was negatively correlated with that of miR-630 ($P<0.05$). **Conclusions** The expression of miR-221 is increased and expression of miR-630 is decreased in patients with NSCLC. Their expressions are related to TNM staging, lymph node metastasis, and the prognosis. The two can be used as potential prognostic markers in patients with NSCLC.

【Key words】 Non-small cell lung cancer; MiR-221; MiR-630; Prognosis

近年来,我国肺癌发病率逐年升高^[1]。非小细胞肺癌(NSCLC)占 80%~85%,因其发病隐匿,早期缺乏典型症状体征,约 70% NSCLC 确诊时为中晚期,错过了最佳治疗时机,5 年生存率不到 15%^[2,3]。故寻找可尽早识别 NSCLC 的生物标志物对提高生存率至关重要。miRNA 存在于各生物体

中,可调节蛋白质靶基因表达,并具有较强的稳定性和特异性^[4]。孙玲玲等^[5]发现,miRNA 异常表达会影响细胞增殖、凋亡,导致肿瘤形成。且研究发现 miRNA 表达和 NSCLC 预后关系密切^[6]。miR-221 是 miRNA 成员,可识别转移位点恶性肿瘤组织来源^[7]。研究发现,miR-221 在恶性肿瘤中异常表达^[8]。miR-630 可调节与肿瘤生长、侵袭有关的抑癌基因,调控肿瘤发生发展^[9]。刘翔等^[10]发现 miR-630 能抑制乳腺癌细胞增殖、转移能力。本研究分析 NSCLC 组织中 miR-221、miR-630 表达及与

【基金项目】 安徽省科技计划项目(编号:2022zyxwjk168)

【通讯作者】 戴 敏

病理特征、预后关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 12 月至 2021 年 12 月安徽省芜湖市第二人民医院收治的 198 例 NSCLC 患者。纳入标准:①经病理学证实为 NSCLC;②年龄 40~80 岁;③患者均知情同意。排除标准:①合并其他部位恶性肿瘤;②具有放化疗治疗史;③伴有严重心肝肾疾病者;④血液系统疾病。198 例 NSCLC 患者中男 113 例,女 85 例;年龄<60 岁 88 例,≥60 岁 110 例;鳞癌 76 例(分化程度:高-中分化 45 例,低分化 31 例;TNM 分期:Ⅰ~Ⅱ期 42 例,Ⅲ~Ⅳ期 34 例,淋巴结转移 30 例),腺癌 122 例(分化程度:高-中分化 64 例,低分化 58 例;病理亚型:贴壁型 45 例,腺泡型 23 例,乳头型 15 例,微乳头型 8 例,实体型 31 例;TNM 分期:Ⅰ~Ⅱ期 49 例,Ⅲ~Ⅳ期 73 例,淋巴结转移 57 例);TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期 91 例,Ⅲ~Ⅳ期 107 例;肿瘤直径≥4 cm 者 81 例,<4 cm 者 117 例;高~中分化 109 例,低分化 89 例;淋巴结转移 87 例。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 检测 miR-221、miR-630 表达 采集 NSCLC 癌组织及癌旁组织标本,加入 1 ml TRIzol 裂解液,提取总 RNA。逆转录反应:16℃变性 30 min,42℃、85℃延伸 30 min、10 min。结束后取出 cDNA 产物冷却,稀释后混匀并吸取 2 μl 为定量 PCR。PCR 反应:95℃预变性 3 min,95℃12 s,62℃延伸

1 min,40 个循环;95℃终延伸 15 s,重复 3 次, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 分析 miR-221、miR-630 表达。

1.2.2 随访 采用门诊复查或电话等方式进行 2 年随访。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件处理数据。计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用 *t* 检验;采用 Kaplan-Meier 法分析生存情况;采用比例危险率回归模型(Cox 回归)分析 NSCLC 患者预后的影响因素。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌及癌旁组织 miR-221、miR-221 表达 癌组织 miR-221 表达高于癌旁组织,miR-630 低于癌旁组织(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 不同病理参数 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-221、miR-630 表达比较 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移的 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-221 表达高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移患者(*P*<0.05);TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤直径≥4 cm、有淋巴结转移的 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-630 表达低于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、肿瘤直径<4 cm、无淋巴结转移患者(*P*<0.05)。见表 2。

表 1 癌及癌旁组织 miR-221、miR-630 表达

组别	miR-221	miR-630
癌组织(<i>n</i> =198)	2.69±0.48	1.90±0.35
癌旁组织(<i>n</i> =198)	0.77±0.15	2.76±0.53
<i>t</i>	53.723	19.053
<i>P</i>	<0.001	<0.001

表 2 不同病理参数 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-221、miR-630 表达比较

项目		<i>n</i>	miR-221	miR-630
性别	男	113	2.65±0.36	2.03±0.48
	女	85	2.76±0.43	1.91±0.44
年龄	<60 岁	88	2.75±0.42	1.97±0.46
	≥60 岁	110	2.82±0.50	1.89±0.40
组织学类型	鳞癌	76	2.67±0.38	1.92±0.37
	腺癌	122	2.72±0.40	1.85±0.32
TNM 分期	Ⅰ~Ⅱ期	91	2.88±0.56	1.95±0.40
	Ⅲ~Ⅳ期	107	3.09±0.71 ^a	1.72±0.22 ^a
肿瘤直径	≥4 cm	81	2.94±0.60	1.66±0.17 ^b
	<4 cm	117	2.80±0.54	1.89±0.36
肿瘤分化程度	高~中分化	109	2.87±0.59	1.80±0.29
	低分化	89	3.02±0.64	1.87±0.36
淋巴结转移	有	87	3.21±0.89 ^c	1.60±0.13 ^c
	无	111	2.82±0.57	1.97±0.44

a 与 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期比较,*P*<0.05;b 与肿瘤直径<4cm 比较,*P*<0.05;c 与无淋巴结转移比较,*P*<0.05

2.3 miR-221、miR-630 表达阳性与阴性患者的生存分析 随访 2 年,无失访。Kaplan-Meier 分析显示,miR-221 高表达 2 年生存率低于 miR-221 低表达,miR-630 低表达 2 年生存率低于 miR-630 高表达($P<0.05$)。见表 3、图 1。

2.4 NSCLC 患者预后的影响因素分析 Cox 显示,TNM 分期、淋巴结转移及 miR-221、miR-630 是 NSCLC 预后影响因素($P<0.05$)。见表 4。

表 3 miR-221、miR-630 表达阳性与阴性患者的生存分析 [$n(\%)$]

指标	<i>n</i>	2 年生存率(%)
miR-221 表达	阳性	90
	阴性	108
log-rank test 检验		4.399
<i>P</i>		0.036
miR-630 表达	阳性	104
	阴性	94
log-rank test 检验		3.881
<i>P</i>		0.040

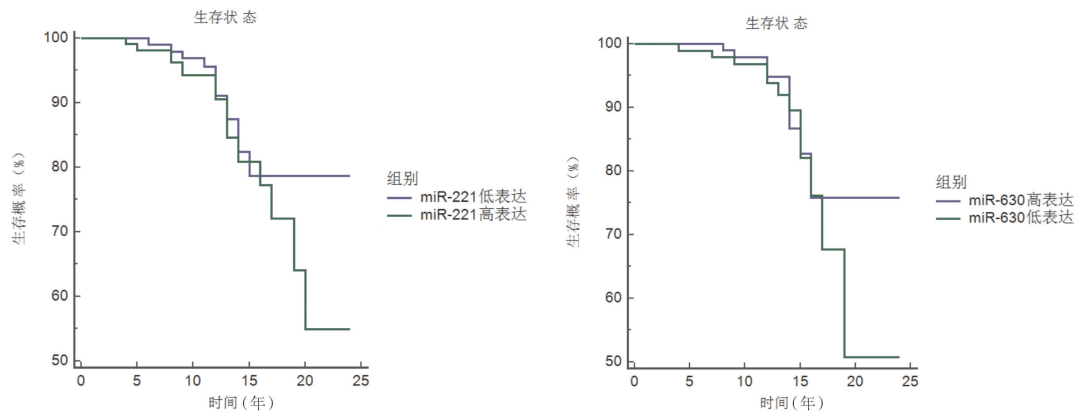


图 1 不同 miR-221、miR-630 表达的 NSCLC 患者生存率

表 4 NSCLC 患者预后的影响因素分析

因素	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95% CI
TNM 分期	0.388	0.114	11.584	0.001	1.474	1.179 ~ 1.843
肿瘤直径	0.296	0.151	3.843	0.051	0.344	1.000 ~ 1.808
淋巴结转移	0.407	0.121	11.314	0.001	1.502	1.185 ~ 1.904
miR-221	0.416	0.110	14.302	<0.001	1.516	1.222 ~ 1.881
miR-630	0.412	0.113	13.293	<0.001	1.510	1.210 ~ 1.884

2.5 miR-221 与 miR-630 表达的相关性分析

Spearman 分析显示,miR-221 与 miR-630 表达呈负相关性($r=-0.493, P<0.05$)。

3 讨论

NSCLC 是肺癌常见类型,具有侵袭性强、预后差等特点。近年来,随着免疫治疗和靶向治疗等新型治疗手段的出现,NSCLC 治疗效果得到了显著提高,但预后仍然较差,给社会、家庭带来巨大的经济负担,因此寻找可预测 NSCLC 患者预后情况的生物标志物有重要意义^[11~13]。

研究表明 miRNA 与肿瘤发生、发展相关,通过与靶基因 mRNA 结合来调控基因的表达^[14]。目前,人体内已经发现了 1000 多种 miRNA,但参与人类基因调控的 miRNA 不到 30%,对细胞增殖、分化、凋亡均有影响^[15]。诸多研究发现,miRNA 与多种

恶性肿瘤密切相关,主要表现在:miRNA 最早在果蝇和 *C. legans* 中发现,miRNA 异常表达会导致细胞增殖、凋亡调控机制紊乱,进而影响正常细胞增殖、凋亡,导致肿瘤等增生性疾病。研究人员还发现,人类染色体上的 miRNA 位点通常位于肿瘤相关的扩增和缺失位点^[16,17]。研究发现,miR-211 在恶性肿瘤中表达异常,其致癌基因或抑瘤基因与恶性肿瘤的类型有关^[18,19]。多数研究发现,miR-211 可上调癌基因表达,促进肿瘤增殖、侵袭^[20,21]。研究发现,miR-211 在肺癌组织及相关细胞系中表达量较高,在肺癌中发挥致癌基因的功能^[22]。miR-630 已被证明在一些肿瘤中起抑癌作用。Junior 等^[23]研究显示,miR-630 在胶质母细胞瘤组织中表达较低,且 miR-630 过表达与 U87 细胞增殖、侵袭水平降低有关。Pan 等^[24]研究结果显示,miR-630

通过抑制 Janus 激酶 2/转录激活蛋白 3 通路抑制甲状腺乳头状癌细胞生长、转移。也有研究发现 miR-630 具有促癌作用。一项临床研究表明,miR-630 在骨肉瘤组织中明显高于邻近非肿瘤组织,高水平的 miR-630 与新辅助化疗效果和较短的无进展生存期相关^[25]。Cui 等^[26]研究表明,来源于卵巢癌细胞的外泌体中携带了大量 miR-630,而 miR-630 可促进肿瘤相关成纤维细胞活化,为肿瘤细胞转移、定植提供良好微环境。本研究显示,癌组织 miR-221 较癌旁组织高,miR-630 较癌旁组织低,提示 miR-221、miR-630 可区分 NSCLC 组织和正常组织,推测 miR-221、miR-630 在 NSCLC 中发挥了癌基因和抑癌基因的功能,miR-221 表达升高可通过下调某些抑癌基因和细胞周期调节因子的表达促进肿瘤增殖、侵袭;miR-630 可抑制肿瘤增殖、侵袭,并通过调节相关靶基因的表达来发挥其抑癌作用。研究发现,TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移的 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-221 表达高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移患者;TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤直径 ≥ 4 cm、有淋巴结转移的 NSCLC 患者肿瘤组织 miR-630 表达低于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、肿瘤直径 <4 cm、无淋巴结转移患者,提示 miR-221 与 TNM 分期、淋巴结转移有关,miR-630 与 TNM 分期、肿瘤直径、淋巴结转移有关,说明 miR-221、miR-630 表达可能参与 NSCLC 的侵袭、转移,miR-221、miR-630 可调控下游靶基因、信号通路分子促进细胞增殖、转移。Kaplan-Meier 显示,miR-221 高表达 2 年生存率低于低表达,miR-630 低表达的 NSCLC 患者 2 年生存率低于 miR-630 高表达患者,提示 miR-221、miR-630 与 NSCLC 预后相关,Cox 显示,TNM 分期、淋巴结转移及 miR-221、miR-630 表达是 NSCLC 预后影响因素,提示 miR-221、miR-630 表达可作为预测 NSCLC 预后不良的手段。且研究发现,miR-221 与 miR-630 呈负相关性,表明 miR-221 与 miR-630 密切相关。

综上,NSCLC 患者癌组织中 miR-221 高表达、miR-630 低表达,且参与 NSCLC 发生发展和预后,可为 NSCLC 药物治疗提供新的靶点及其预后评估提供新的生物学指标。但本研究样本量少,可影响结论,后续还需扩大样本量进一步论证。

【参考文献】

[1] 黄圣凯,李琼,黄莺,等.三维可视化辅助单孔胸腔镜肺癌根治术治疗效果的临床研究[J].感染、炎症、修复,2022,23(2):99-101.

[2] 李华芳.非小细胞肺癌患者 ALK、ROS1 及 BRAF-V600E 基因突变与临床特征的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(6):701-704.

[3] 朱蕾,陈蕾.BCL-2、Bax 及 Beclin-1 表达与非小细胞肺癌临床病理特征的相关性分析[J].保健医学研究与实践,2023,20(4):49-54.

[4] 何荣琦,许荣誉.非小细胞肺癌患者肺组织中 miRNA-155 和 miRNA-221 的表达情况及其与预后的相关性[J].中国慢性病预防与控制,2020,28(1):57-60.

[5] 孙玲玲,乔靖,伍家鸣,等.miR-21、miR-182、miR-382 在非小细胞肺癌中的临床意义及益气除痰法的干预作用[J].广州中医药大学学报,2021,38(3):548-555.

[6] 张茜,王金霞,闫伏雨,等.非小细胞肺癌患者血浆 miR-17 和 miR-204 水平表达的临床意义及其预测价值分析[J].现代生物医学进展,2021,21(8):1460-1464.

[7] Song N, Luo J, Huang L, et al. miR-204-5p and miR-211 Synergistically Downregulate the α S1-Casein Content and Contribute to the Lower Allergy of Goat Milk[J]. J Agric Food Chem,2021,69(18):5353-5362.

[8] Pan JK, Lin CH, Kuo YL, et al. MiR-211 determines brain metastasis specificity through SOX11/NGN2 axis in triple-negative breast cancer[J]. Oncogene,2021,40(9):1737-1751.

[9] 王青安子,杨永秀.miR-630 在子宫内膜癌 Ishikawa 细胞增殖、侵袭和迁移中的作用及其机制[J].中国妇产科临床杂志,2020,21(3):272-274.

[10] 刘翔,王东,张夏璐,等.miR-630 通过靶向 BMI1 抑制乳腺癌细胞增殖的作用机制研究[J].局解手术学杂志,2018,27(6):391-395.

[11] 贾俊,赵勇,陈方.胸腔镜肺叶切除术与肺段切除术治疗非小细胞肺癌的疗效比较[J].保健医学研究与实践,2023,20(5):40-43.

[12] 曹喆,何玲,周剑,等.晚期肺癌患者化疗前后细胞免疫功能及 T 细胞分泌细胞因子的变化[J].感染、炎症、修复,2017,18(2):90-93.

[13] 卢强,王东光,陈慧芸,等."教育云+双轨"教学在胸外科继续医学教育中的应用研究[J].中华医学教育探索杂志,2021,20(9):251-253.

[14] 邱锋,王荟,龚立,等.miR-26b-5p 通过抑制 REST 表达调节胶质瘤细胞生长和侵袭[J].医学分子生物学杂志,2020,17(1):40-45.

[15] 毛兴波,盛涛,庄丽萍,等.胰腺癌组织 miRNA let-7a 与 HMGA2 的表达及血清 miRNA let-7a 水平对胰腺癌的诊断价值[J].四川大学学报:医学版,2020,51(4):540-545.

[16] 刘学娟,甘海宁,张丽妹,等.循环外泌体 miRNAs 在结直肠癌中的标志作用和临床转化中的挑战[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(3):157-163.

[17] 解宝泉,姚仲欣.非小细胞肺癌并发肺栓塞患者微小核糖核酸-1233、血清碱性成纤维细胞生长因子、血细胞参数变化及与患者预后关系[J].陕西医学杂志,2023,52(10):1349-1353.

[18] 高树雄,白文启.miR-30a-5p 和 miR-211 在结直肠癌组织中的表达及其与预后的关系[J].中国医师杂志,2020,22(6):881-885.

[19] Qiu J, Wang P, Chen Z, et al. Long noncoding RNA SNHG4 promotes the malignant progression of hepatocellular carcinoma through the miR-211-5p/CREB5 axis [J]. Cancer Med,2023,12(7):8388-8402.

[20] 陈艳霞,哈尼克孜·吐尔逊,梁凌云,等.长链非编码 RNA SNHG14/miR-211 对宫颈癌细胞的增殖、侵袭能力的影响[J].