

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.018

miR-181a-5p 在宫颈癌组织及患者血清中的表达及临床意义

陈 嫣,胡 萃,欧阳佩琳

湖南省妇幼保健院妇产科,湖南长沙 410008

摘 要:**目的** 探讨 miR-181a-5p 在宫颈癌组织及患者血清中的表达及临床意义。**方法** 选取 2018 年 6 月至 2020 年 10 月该院收治的宫颈癌患者 110 例为宫颈癌组,另选取该院体检健康女性 100 例为对照组。收集宫颈癌患者癌组织、对应癌旁组织及血清标本,采用 PCR 技术分别检测组织标本及血清标本中 miR-181a-5p 的表达,对比分析 miR-181a-5p 在不同标本中的表达及其与患者临床特征的关系,并采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的临床价值。**结果** 宫颈癌患者癌组织中 miR-181a-5p 的相对表达水平为 9.41 ± 2.38 ,明显低于癌旁组织的 17.62 ± 3.54 ,差异有统计学意义($t = 20.198, P < 0.05$);宫颈癌组血清中 miR-181a-5p 的相对表达水平为 11.03 ± 2.76 ,明显低于对照组的 18.96 ± 4.13 ,差异有统计学意义($t = 16.492, P < 0.05$);不同分化程度、有无淋巴结转移、不同国际妇产科联盟分期的宫颈癌患者癌组织标本及血清标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平差异有统计学意义($P < 0.05$);癌组织中 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的曲线下面积(AUC)为 $0.871(95\%CI 0.745 \sim 0.983, P < 0.05)$,灵敏度为 94.42% ,特异度为 85.39% ;血清中 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的 AUC 为 $0.752(95\%CI 0.703 \sim 0.914, P < 0.05)$,灵敏度为 89.19% ,特异度为 79.82% 。**结论** miR-181a-5p 在宫颈癌组织及患者血清中均呈低表达,且其表达与宫颈癌发生、发展有关,可作为宫颈癌临床诊断的评价指标。

关键词:miR-181a-5p; 宫颈癌; 癌旁组织

中图法分类号:R737.33

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)14-2057-04

Expression and clinical significance of miR-181a-5p in cervical cancer tissues and patients' serum

CHEN Yan, HU Cui, OUYANG Peilin

Department of Obstetrics and Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410008, China

Abstract:**Objective** To investigate the expression and clinical significance of miR-181a-5p in cervical cancer tissues and patients' serum. **Methods** A total of 110 cervical cancer patients admitted to this hospital from June 2018 to October 2020 were selected as the cervical cancer group, and 100 healthy women who had undergone physical examination in the hospital were selected as the control group. The expression of miR-181a-5p in tissues and serum samples were detected by PCR. The expression of miR-181a-5p in different specimens and their relationship with clinical characteristics were analyzed. The clinical value of miR-181a-5p was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The relative expression level of miR-181a-5p in cervical cancer tissues was 9.41 ± 2.38 , which was significantly lower than that of adjacent tissues 17.62 ± 3.54 , and the difference was statistically significant ($t = 20.198, P < 0.05$). The relative expression level of miR-181a-5p in the serum of cervical cancer group was 11.03 ± 2.76 , which was significantly lower than that of the control group (18.96 ± 4.13), and the difference was statistically significant ($t = 16.492, P < 0.05$). The relative expression levels of miR-181a-5p in cervical cancer tissue specimens and serum specimens of cervical cancer patients with different levels of differentiation, with or without lymph node metastasis, and different international federation of obstetrics and gynecology stages were significantly different ($P < 0.05$). The area under the curve (AUC) of miR-181a-5p in the diagnosis of cervical cancer in cancer tissues was $0.871(95\%CI 0.745 \sim 0.983, P < 0.05)$, the sensitivity was 94.42% , and the specificity was 85.39% . The AUC of miR-181a-5p in the diagnosis of cervical cancer in serum was $0.752(95\%CI 0.703 \sim 0.914, P < 0.05)$, the sensitivity was 89.19% , and the specificity was 79.82% . **Conclusion** miR-181a-5p has low expression in cervical cancer tissues and patients' serum, and its expression is related to the occurrence and develop-

作者简介:陈嫣,女,医师,主要从事妇产科相关研究。

本文引用格式:陈嫣,胡萃,欧阳佩琳. miR-181a-5p 在宫颈癌组织及患者血清中的表达及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(14): 2057-2060.

ment of cervical cancer. It can be used as an evaluation index for the clinical diagnosis of cervical cancer.

Key words: miR-181a-5p; cervical cancer; adjacent tissues

我国每年宫颈癌新发病例约 13 万例,该病呈年轻化趋势^[1-2]。因此,探究宫颈癌分子生物学机制,明确临床诊疗靶点意义重大。miRNA 为一类非编码小 RNA,可在转录后调控靶基因表达^[3]。临床研究表明,miRNA 可通过影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移等参与肿瘤的发生、发展,且其在宫颈癌等多种肿瘤组织中表达异常^[4]。本研究组前期利用芯片技术检测了宫颈癌细胞培养的肿瘤球与贴壁细胞差异表达的 miRNA,其中,miR-181a-5p 差异表达较明显,且肿瘤球中 miR-181a-5p 表达下调。因此,为进一步探究 miR-181a-5p 在宫颈癌发生、发展中的作用,本研究对 110 例宫颈癌患者进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 6 月至 2020 年 10 月本院收治的宫颈癌患者 110 例为宫颈癌组,年龄 39~74 岁,平均(56.49±8.26)岁。纳入标准:(1)均为初发病例;(2)均接受手术治疗且经病理确诊;(3)术前未接受放疗化疗等治疗。排除标准:排除合并严重感染性疾病、严重心肝肾等功能障碍者。另选取 100 例本院的体检健康女性为对照组,年龄 36~71 岁,平均(57.86±7.41)岁。本研究经本院伦理学委员会审批,入组对象均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 收集宫颈癌患者术中癌组织及对应癌旁组织,经液氮冷冻处理后,保存于-80℃冰箱待检。采集空腹静脉血 4 mL,1 500 r/min 离心 10 min 后,留取血清保存于-80℃冰箱待检,宫颈癌患者于术前采集,对照组于体检当日采集。

1.2.2 总 RNA 提取 取组织标本 100 mg 及血清标本 400 μL,组织标本先经超声匀浆,应用 RNA 提取试剂盒(购自杭州新景生物公司)分别提取组织标本和血清标本中总 RNA,经 DEPC 水溶解,应用南京菲勒公司生产的分光光度计测定 RNA 的浓度和纯度。

1.2.3 反转录 按照反转录试剂盒(购自上海联迈生物公司)说明书进行操作,将组织标本及血清标本中 miR-181a-5p 反转录为 cDNA,反应体系如下:总 RNA 样品 2 μL、反转录酶 1 μL、上下游引物各 1 μL、核糖核酸酶抑制剂 0.5 μL、5 倍缓冲液 4 μL、dNTPs 混合物(10 mmol/L)1 μL,加入 RNase Free H₂O 补至 20 μL。反应条件:16℃ 15 min,42℃ 30 min,85℃ 10 min,4℃ 5 min,产物置于 4℃ 保存。

1.2.4 PCR 扩增反应 应用 LEPCGEN-96 实时荧光定量 PCR 仪(购自北京乐普医疗科技公司),按照 PCR 试剂盒(购自上海联迈生物公司)说明书操作,反应体系如下:已稀释的 cDNA 2 μL、上下游引物各 2 μL、SYBR GREEN I 荧光染料 12.5 μL,加双蒸水补

至 20 μL。反应条件:95℃ 30 s,1 个循环,95℃ 1 min,72℃ 1 min,60℃ 30 s,35 个循环。miR-181a-5p 及内参 U6 引物委托上海生工生物公司合成。miR-181a-5p 上游引物序列:5'-TGAGGGCTAGAGACAAG-CAG-3',下游引物序列:5'-GTCAAGTGCA-CACGCGTGAC-3';U6 上游引物序列:5'-CGAGCGTT-GACTCACCGTCA-3',下游引物序列:5'-ACCTG-TATTCTCGTGCTCAT-3'。应用公式 2^{-ΔΔCt} 计算组织标本及血清标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的临床价值。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织标本及血清标本中 miR-181a-5p 的表达分析 宫颈癌患者癌组织中 miR-181a-5p 的相对表达水平为 9.41±2.38,明显低于癌旁组织的 17.62±3.54,差异有统计学意义(*t*=20.198,*P*<0.05),见图 1。宫颈癌组血清中 miR-181a-5p 的相对表达水平为 11.03±2.76,明显低于对照组的 18.96±4.13,差异有统计学意义(*t*=16.492,*P*<0.05),见图 2。

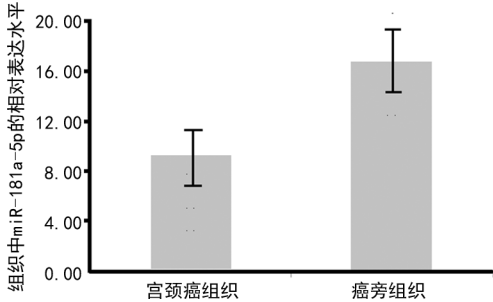


图 1 组织标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平

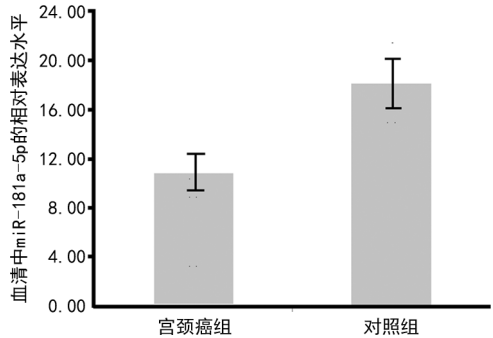


图 2 血清标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平

2.2 miR-181a-5p 的表达与宫颈癌患者临床特征的关系 不同分化程度、有淋巴结转移、不同国际妇产科联盟(FIGO)分期的宫颈癌患者癌组织标本及血

清标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平差异有统计学意义($P<0.05$);不同年龄、不同肿瘤最大径、是否绝经、不同病理分型的宫颈癌患者癌组织标本及血清

标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 miR-181a-5p 的相对表达水平与宫颈癌患者临床特征的关系

临床特征	<i>n</i>	癌组织($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	血清($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
年龄							
<60 岁	61	9.40±1.79	0.074	0.941	10.96±2.81	0.185	0.853
≥60 岁	49	9.43±2.46			11.05±2.14		
肿瘤最大径							
≥2 cm	54	9.44±2.80	0.098	0.922	11.06±1.97	0.232	0.817
<2 cm	56	9.39±2.53			10.97±2.09		
绝经							
是	78	9.37±2.16	0.181	0.857	10.94±2.31	0.277	0.782
否	32	9.45±1.98			11.07±2.03		
病理分型							
鳞癌	51	9.43±2.61	0.067	0.591	11.04±2.19	0.004	0.902
腺癌	42	9.38±1.98			10.92±2.26		
透明细胞癌	17	9.45±2.29			11.08±2.34		
分化程度							
中低分化	47	7.18±2.04	7.636	<0.001	9.93±1.64	5.839	<0.001
高分化	63	10.39±2.28			12.65±2.86		
淋巴结转移							
有	59	7.46±1.55	7.195	<0.001	10.17±1.84	4.205	<0.001
无	51	9.81±1.96			12.38±3.52		
FIGO 分期							
(Ⅰ+Ⅱ)期	48	10.76±2.67	9.869	<0.001	12.86±2.45	8.087	<0.001
(Ⅲ+Ⅳ)期	62	7.05±1.13			9.29±2.17		

2.3 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的 ROC 曲线分析 癌组织中 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的曲线下面积(AUC)为 0.871(95%CI 0.745~0.983, $P<0.05$),灵敏度为 94.42%,特异度为 85.39%;血清中 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的 AUC 为 0.752(95%CI 0.703~0.914, $P<0.05$),灵敏度为 89.19%,特异度为 79.82%,见图 3。

3 讨 论

宫颈癌为临床常见恶性肿瘤,既往研究显示,我国宫颈癌患者术后复发率和病死率较高^[5]。因此,明确宫颈癌的早期诊疗靶标,探究其分子生物学机制意义重大。

miR-181a-5p 为 miR-181 家族成员之一,其家族成员还包括 miR-181a、miR-181b 等序列,其中 miR-181a-5p 为成熟序列,已确定的靶标较多,如 OPN、K-ras、SHP2 等^[6]。既往研究显示,miR-181a-5p 与乳腺癌^[7]、肺癌^[8]、前列腺癌^[9]等肿瘤密切相关,其不同癌组织中表达异常。

本研究发现,与癌旁组织比较,宫颈癌癌组织中 miR-181a-5p 的相对表达水平降低,结果提示,miR-181a-5p 在宫颈癌组织中呈低表达,这与基因芯片检测结果一致。此外,本研究发现与对照组比较,宫颈癌组血清中 miR-181a-5p 的相对表达水平降低,进一步证实了 miR-181a-5p 在宫颈癌组织及患者血清中表达下调。侯歌等^[10]研究发现,抑制 miR-181a-5p 可增强宫颈癌细胞 SiHa 放射敏感性,促进癌细胞凋亡。

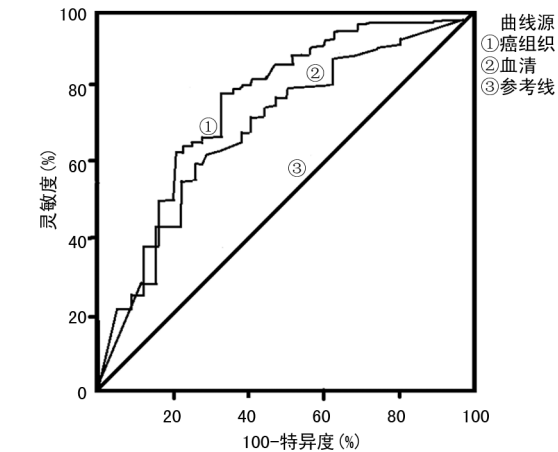


图 3 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的 ROC 曲线

另有研究报道,miR-181a-5p 可调控肝癌细胞增殖,其在肝癌组织中表达明显下调^[11]。

既往研究显示,miR-181a 可影响卵巢细胞癌的侵袭及迁移行为^[12]。本研究显示,不同分化程度、有无淋巴结转移、不同 FIGO 分期的宫颈癌患者癌组织标本及血清标本中 miR-181a-5p 的相对表达水平差异有统计学意义($P<0.05$)。结果提示,分化程度越低、有淋巴结转移、FIGO 分期越高的宫颈癌组织及患者血清中 miR-181a-5p 的相对表达水平越低,这说明 miR-181a-5p 与宫颈癌的恶性程度有关,其低表达可促进肿瘤细胞恶性转化,因此推测上调 miR-181a-5p 的表达可能是宫颈癌临床治疗的潜在靶点。王宏等^[13]报道,宫颈癌组织中 miR-181a 表达下调,且表达与癌组织分期、分化程度有关。李瀚等^[14]研究发现,宫颈癌组织中 miR-181b 表达明显低于正常宫颈组织,miR-181b 可抑制肿瘤细胞的侵袭、迁移能力。刘琴等^[15]研究报道,miR-181a 在卵巢癌细胞中表达下调,其表达与 FIGO 分期、淋巴结转移有关。由以上研究可知,miR-181 家族成员中 miR-181a-5p、miR-181a、miR-181b 与宫颈癌、卵巢癌等肿瘤有关。

通过 ROC 曲线发现癌组织中 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的 AUC 为 0.871(95%CI 0.745~0.983, $P<0.05$),灵敏度为 94.42%,特异度为 85.39%;血清中 miR-181a-5p 诊断宫颈癌的 AUC 为 0.752(95%CI 0.703~0.914, $P<0.05$),灵敏度为 89.19%,特异度为 79.82%。结果提示,miR-181a-5p 对宫颈癌临床诊断的特异度和灵敏度均较高。因此,推测 miR-181a-5p 可作为宫颈癌临床诊断的评价指标。

综上所述,miR-181a-5p 在患者宫颈癌组织及血清中均呈低表达,且其表达与宫颈癌发生、发展有关,可能成为宫颈癌临床诊断的评价指标。今后本研究将扩大样本量,进一步探究 miR-181a-5p 的表达与宫颈癌患者临床病理特征的关系,并对相关机制进行深入研究。

参考文献

- [1] 莫森,张敬,任玉兰. 宫颈癌微创和开腹根治性子宫切除术比较的前瞻性、多中心、随机对照临床试验:LACC 研究解读[J]. 中国癌症杂志,2019,29(1):68-75.
- [2] 修雨婷,孟凡旭,欧健,等. 211 例宫颈癌根治性放疗的预

- 后分析[J]. 中华放射医学与防护杂志,2019,39(10):762-767.
- [3] 莫羽,吴菲远,马天仲,等. miR-21 调控 PI3K/Akt 信号通路诱导宫颈癌细胞凋亡的机制研究[J]. 广西医科大学学报,2020,37(3):53-59.
- [4] 段正秀. 宫颈癌组织中 microRNA-124 表达量和癌细胞生长及侵袭的相关性分析[J]. 中国全科医学,2020,23(S1):170-172.
- [5] 王婵丽,肖天慧,王中海,等. miR-381 在子宫颈鳞癌患者血清和组织中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健杂志,2019,10(2):41-45.
- [6] 何建苗,赵华洲,王婷,等. miR-181a-5p 靶向 Kras 对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖及凋亡的调控作用[J]. 解放军医学杂志,2018,43(9):735-739.
- [7] BENEDETTI R, PAPULINO C, SGUEGLIA G, et al. Regulatory interplay between miR-181a-5p and estrogen receptor signaling cascade in breast cancer[J]. Cancers (Basel), 2021,13(3):543.
- [8] 明茂,欧祖秀. 长链非编码 RNA CCAT1 通过调控 miR-181a-5p 促进肺癌细胞增殖和转移的机制[J]. 临床与病理杂志,2020,40(12):3087-3094.
- [9] WANG Y, FANG Y X, DONG B, et al. Discovery of extracellular vesicles derived miR-181a-5p in patient's serum as an indicator for bone-metastatic prostate cancer[J]. Theranostics, 2021,11(2):878-892.
- [10] 侯歌,王成,李汝平,等. LncRNA MEG3 靶向 miR-181a-5p 调控宫颈癌细胞放射敏感性[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2020,29(10):894-900.
- [11] 毕建钢. MiR-181a-5p 通过靶向调控 Egr1 抑制 Egr1/TGF- β /Smad 信号通路延缓肝细胞癌的增殖[D]. 广州:南方医科大学,2019.
- [12] 王圣坦,朱根海,洪澜,等. miR-181a 通过调控上皮间质转化过程影响卵巢癌细胞的迁移和侵袭[J]. 现代生物医学进展,2018,18(18):3445-3449.
- [13] 王宏,李娜,罗颖. 宫颈癌组织中 miR-181a、GRP78mRNA 表达变化及其意义[J]. 山东医药,2019,59(36):69-72.
- [14] 李瀚,李彤,顾磊,等. miR-181b 靶向鼠双微体-2 对宫颈癌 Caski 细胞侵袭,迁移的影响及机制[J]. 中国妇幼保健,2019,34(18):192-195.
- [15] 刘琴,陈春燕,何湘娇,等. lncRNA HOST2, miR-181a 在卵巢上皮癌中的表达及临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志,2019,24(12):1104-1108.

(收稿日期:2020-11-16 修回日期:2021-02-18)