

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.009

miR-191 在宫颈癌组织中的表达及其临床意义

张英, 马瑞霞, 董学彩, 陈彩霞(新乡市中心医院 妇瘤科, 河南 新乡 453000)

[摘要] **目的:** 探讨宫颈癌组织中 miR-191 的表达及其对患者预后的影响。**方法:** 选取 2012 年 12 月至 2014 年 12 月在新乡市中心医院行手术治疗的 107 例宫颈癌患者的组织标本和 46 例行子宫肌瘤手术切除患者的正常宫颈组织标本(对照组), 用 qPCR 术检测癌组织中 miR-191 表达水平。术后第 1 天开始随访, 随访截止日期 2019 年 12 月 31 日, 所有患者均随访满 5 年, 以死亡作为终点事件, 记录患者生存期和 5 年生存率, 采用 Kaplan-Meier 法和 Cox 比例风险回归模型分别进行生存预后影响因素分析。**结果:** miR-191 在宫颈癌组织中的表达水平显著高于对照组($P < 0.01$); 是否高危 HPV 感染、不同病理分级、FIGO 分期和是否发生淋巴结转移的宫颈癌组织中 miR-191 表达水平差异比较有统计学意义(均 $P < 0.01$)。miR-191 低表达组患者的 5 年生存率显著高于高表达组(81.48% vs 33.75%, $\chi^2 = 16.905$, $P < 0.01$); 病理分级、FIGO 分期、淋巴结转移和 miR-191 表达是影响宫颈癌患者预后的危险因素($HR = 0.486, 3.065, 2.339$ 和 2.755 , 均 $P < 0.05$)。**结论:** miR-191 在宫颈癌组织中高表达, 且随着疾病的恶性进展而表达水平升高, 有望成为宫颈癌早期诊断和预后评估的潜在生物标志物。

[关键词] 宫颈癌; miR-191; 病理学指标; 预后; Cox 比例风险回归模型

[中图分类号] R737.33; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)10-1126-05

Expression and clinical significance of miR-191 in cervical cancer tissues

ZHANG Ying, MA Ruixia, DONG Xuecai, CHEN Caixia (Department of Gynecologic Oncology, Xinxiang Central Hospital, Xinxiang 453000, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of miR-191 in cervical cancer tissues and its effect on the patients' prognosis. **Methods:** One hundred and seven cervical cancer tissue specimens from patients who underwent surgical treatment and 46 normal cervical tissue specimens from patients who underwent surgical resection of uterine fibroids (the control group) in Xinxiang Central Hospital were collected from December 2012 to December 2014. The expression of miR-191 in cancer tissues was detected by qPCR. All patients were followed up from the first day after surgery, and the follow-up deadline was December 31, 2019. All patients were followed up for 5 years, with death as the end event. The survival time and 5-year survival rate of the patients were recorded. Survival analysis was performed using Kaplan-Meier method and the factors affecting survival prognosis were analyzed using Cox proportional hazard regression model. **Results:** The expression level of miR-191 in cervical cancer tissues was significantly higher than that in the tissues from control group ($P < 0.01$). There were significant differences in miR-191 expression among patients with different high-risk HPV infection status, different pathological grades and FIGO stages, and different lymph node metastasis status (all $P < 0.01$). The 5-year survival rate of patients in the miR-191 low expression group was significantly higher than those patients in the high expression group (81.48% vs 33.75%, $\chi^2 = 16.905$, $P < 0.01$). Pathological grade, FIGO stage, lymph node metastasis and the expression of miR-191 were risk factors affecting the prognosis of cervical cancer patients ($HR = 0.486, 3.065, 2.339$ and 2.755 , all $P < 0.05$). **Conclusion:** miR-191 is highly expressed in cervical cancer tissues, and its expression level increases with the progression of malignancy. It is expected to become a potential biomarker for early diagnosis and prognosis evaluation of cervical cancer.

[Key words] cervical cancer; miR-191; pathological indicators; prognosis; Cox proportional hazards regression model

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(10): 1126-1130. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.10.009]

近年来,随着诊疗手段的不断进展,多数宫颈癌患者预后得到了极大改善,总体生存时间不断延长^[1],但对于就诊时已处于中晚期及术后复发患者,病死率依然较高,且预后较差^[2]。因此,积极探讨影响宫颈癌患者病情进展及术后复发的相关机制或敏感基因,对提高诊疗水平及改善预后具有重要意义。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类含有约 20 个

核苷酸的单链非编码 RNA,通过在转录后水平对靶

[基金项目] 吴阶平医学基金资助项目(No.320.6750.14109)。Project supported by the WU Jieping Medical Foundation (No.320.6750.14109)

[作者简介] 张英(1979-),女,硕士,副主任医师,主要从事妇科肿瘤的临床治疗研究

[通信作者] 张英(ZHANG Ying, corresponding author), E-mail: 3282378421@qq.com

分子表达进行调控,在细胞增殖、分化、代谢、凋亡等多种生理过程中发挥重要作用^[3],同时亦可发挥类似于癌基因或抑癌基因的作用而参与肿瘤发生及病理进展过程^[4]。有研究^[5]指出,宫颈癌组织中存在 miRNA 基因谱异常。miR-191 作为重要的 miRNA 之一,与非小细胞肺癌^[6]、原发性肝癌^[7]等恶性生物学特征关系密切,但其在宫颈癌发生发展中的作用鲜有报道。本研究通过检测宫颈癌组织中 miR-191 表达水平,探讨其在不同病理学指标间表达差异性,以及与患者预后的相关性,以期为该病的临床诊治和预后评估提供参考资料。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2012 年 12 月至 2014 年 12 月在新乡市中心医院手术切除的 107 例宫颈癌患者的组织标本,以及 46 例子宫肌瘤行手术切除患者的正常宫颈组织标本作为对照组。病例纳入标准:(1)术前未行放化疗;(2)术后病理证实为宫颈癌;(3)临床资料完整且完成随访。病例排除标准:(1)合并有其他恶性肿瘤者;(2)合并有自身免疫系统疾病者;(3)心肝肾等重要脏器严重功能障碍者。患者年龄 30~73 岁,平均年龄(45.37±12.61)岁;对照组平均年龄(44.21±13.15)岁。所有术中留取组织标本均于液氮中保存,术前均告知并签署知情同意书,研究方案征得医院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂和仪器

总 RNA 提取试剂(TRIzol 法)购自美国 Invitrogen 公司,逆转录和 SYBR Green Master Mix 试剂盒自日本 TaKaRa 公司,miR-191 和内参 U6 引物由上海生工生物公司设计合成,StepOnePlus 实时荧光定量 PCR (qPCR)仪购自美国 ABI 公司。

1.3 qPCR 法检测宫颈癌组织中 miR-191 的表达

将宫颈癌和对照组组织剪碎、研磨,加入细胞裂解液,提取总 RNA 并按逆转录试剂盒说明逆转录为互补 cDNA,反应条件:42 °C 60 min,95 °C 5 min,在热循环仪中冷却至 4 °C。使用 SYBR Green Master Mix 试剂盒对 miR-191 引物在 qPCR 仪 96 微孔板上进行扩增。引物序列:miR-191 F 为 5'-GCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCC-3',R 为 5'-CAACGGAATCCCAAAAGC-3';U6 F 为 5'-CGCGCAACGGAATCCCA-3',R 为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'。反应条件:95 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,73 °C 延伸 30 s,共进行 38 次循环。以 U6 为参考,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算宫颈癌和对照组组织中 miR-191 相对表达量。实验重复 3 次。

1.4 病例随访

所有患者术后第 1 天起开始随访,形式包括住院查房、院外门诊复查、病历追踪、电话随访等。随访截至日期 2019 年 12 月 31 日,所有患者均随访满 5 年,以死亡作为终点事件,记录患者生存时间和 5 年生存率。

1.5 统计学处理

利用 SPSS 21.0 统计软件进行实验数据的统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法,预后影响因素分析采用 Cox 比例风险回归模型。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-191 在宫颈癌组织中高表达

PCR 检测结果(图 1)显示,miR-191 在宫颈癌组织中表达水平显著高于正常宫颈组织($t=46.903, P<0.01$)。

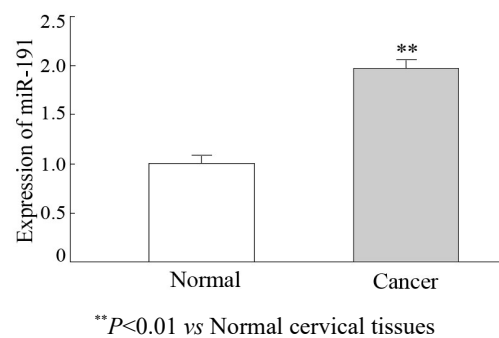


图 1 miR-191 在宫颈癌组织和正常宫颈组织中的表达

Fig.1 Expression of miR-191 in cervical cancer tissues and normal cervical tissues

2.2 miR-191 在不同临床特征指标的宫颈癌组织中的表达

分析 miR-191 在不同病理特征指标宫颈癌患者组织中的表达水平,结果(表 1)发现,在是否高危人乳头状瘤病毒感染(human papillomavirus, HPV)感染、不同病理分级、FIGO 分期和是否发生淋巴结转移的宫颈癌患者组织中 miR-191 表达差异有统计学意义(均 $P<0.01$, 表 1)。

2.3 宫颈癌组织中 miR-191 表达与预后的关系

截至日期 2019 年 12 月 31 日,107 例患者得到 2~60 个月的随访。以宫颈癌组织中 miR-191 表达量的 P_{25} 值为界值,将患者分为低表达组($n=27$)和高表达组($n=80$)。Kaplan-Meier 生存分析结果(图 1)显示,miR-191 低表达组患者 5 年生存率为 81.48%、平均生存期为(54.48±2.31)个月,高表达组则分别为 33.75%、(33.40±2.38)个月,两组比较差异有统计学意义($\chi^2=16.905, P<0.01$)。

表1 不同临床特征指标的宫颈癌组织中 miR-191 表达水平比较

Tab.1 Comparison of miR-191 expression levels in cervical cancer tissues with different clinical characteristics indicators

Clinical characteristic index	n	Expression of miR-191	t	P
Age (t/a)				
≥45	47	1.95±0.12	0.943	0.348
<45	60	1.98±0.14		
Pathological type				
Squamous carcinoma	67	1.97±0.13	0.356	0.723
Adenocarcinoma	40	1.96±0.12		
Tumor size (d/cm)				
≥4	62	1.98±0.13	1.252	0.213
<4	45	1.95±0.12		
Menopause				
Yes	49	1.94±0.11	1.790	0.076
No	58	1.99±0.14		
High risk HPV infection				
Yes	25	2.05±0.11	4.202	<0.01
No	82	1.94±0.12		
Pathological grade				
G1-G2	73	1.93±0.12	4.351	<0.01
G3	34	2.04±0.11		
FIGO stage				
I b	37	1.90±0.13	4.016	<0.01
II a-III	70	2.00±0.13		
Lymphatic metastasis				
Yes	28	2.05±0.12	4.087	<0.01
No	79	1.94±0.12		
Myometrial invasion				
≥1/2	63	1.98±0.13	1.092	0.277
<1/2	44	1.95±0.12		

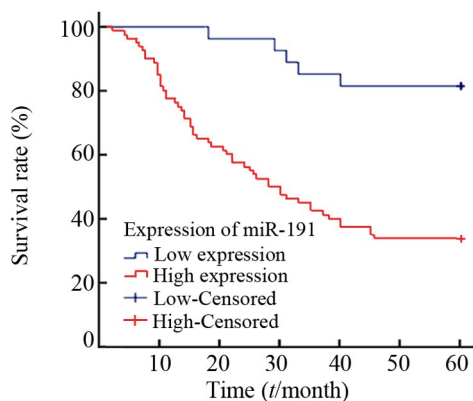


图2 宫颈癌组织中 miR-191 表达与患者预后的关系
Fig.2 Relationship between miR-191 expression in cervical cancer tissues and prognosis of patients

2.4 宫颈癌患者预后的多因素影响分析

Cox 比例风险回归模型结果(表2)显示,病理分级、FIGO 分期、淋巴结转移和 miR-191 表达是影响宫颈癌患者预后的风险因素(HR=0.486、3.065、2.339、

2.755, 均 P<0.05)。

3 讨论

宫颈癌为女性生殖系统常见恶性肿瘤,其发病率呈逐年升高趋势,发病年龄日趋年轻化,且病死率高居女性生殖系统恶性肿瘤的首位^[8],已对女性生存与健康构成严重威胁。宫颈癌侵袭转移力较强,术后复发率高,有研究^[9]指出,2/3 以上已发生盆腔转移的宫颈癌患者术后会复发。因此,积极探讨影响患者侵袭与转移的早期标志物,对该病早期诊疗及改善预后意义重大。miR-191 定位于人染色体 3p21.31,已有研究发现,该基因表达异常与炎症反应^[10]、肺动脉高压^[11]、糖尿病^[12]等多种疾病有关,同时发现其在食管癌^[13]、胶质瘤^[14]、前列腺癌^[15]等组织中高表达,可能作为癌基因参与恶性肿瘤的发生过程。本研究结果显示,miR-191 在宫颈癌组织中表达水平显著高于正常宫颈组织,表明 miR-191 在宫颈癌组织

中高表达,可能在宫颈癌中发挥癌基因的作用;miR-191 在病理分级 G3、FIGO 分期 II a~III 期、发生淋巴结转移的宫颈癌组织中表达水平升高,同时,高危

HPV 感染宫颈癌组织中 miR-191 表达水平升高,而高危 HPV 感染极大地增加了宫颈癌发病风险^[6],研究结果表明 miR-191 可能参与了宫颈癌的恶性化进程。

表2 影响宫颈癌患者预后的多因素 Cox 比例风险回归模型分析

Tab.2 Multivariate Cox proportional hazards regression analysis of prognostic factors in patients with cervical cancer

Variable	B	SE	Wald	P	HR	95% CI
Age (<45 vs ≥45)	0.080	0.277	0.084	0.772	1.084	0.630-1.865
Pathological type (adenocarcinoma vs squamous carcinoma)	0.078	0.290	0.072	0.788	1.081	0.612-1.909
Tumor size (<4 cm vs ≥4 cm)	0.129	0.285	0.205	0.650	1.138	0.651-1.990
Menopause (No vs Yes)	0.191	0.281	0.463	0.496	1.211	0.698-2.099
High risk HPV infection (No vs Yes)	0.378	0.317	1.419	0.234	1.459	0.784-2.716
Pathological grade (G3 vs G1-G2)	-0.722	0.324	4.959	0.026	0.486	0.257-0.917
FIGO stage (I b vs II a-III)	1.120	0.468	5.727	0.017	3.065	1.225-7.670
Lymphatic metastasis (No vs Yes)	0.850	0.329	6.687	0.010	2.339	1.228-4.453
Myometrial invasion (<1/2 vs ≥1/2)	-0.468	0.277	2.854	0.091	0.626	0.364-1.078
miR-191 lever (Low vs High)	1.013	0.501	4.091	0.043	2.755	1.032-7.355

有研究^[7]指出,miR-191 高表达与乳腺癌患者不良预后有关。miR-191 高表达的白血病/淋巴瘤患者3年总生存时间明显缩短^[8]。本研究结果显示,miR-191 低表达组患者的5年生存率和平均生存时间均高于高表达组患者,说明 miR-191 高表达与宫颈癌患者的预后有关,可能是评估患者预后的潜在指标。本研究 Cox 比例风险回归模型结果显示,miR-191 高表达是影响宫颈癌患者预后的风险因素,进一步说明 miR-191 与宫颈癌患者的预后有关,其高表达可能是宫颈癌患者预后不良的一个潜在风险因素。

综上所述,宫颈癌组织中 miR-191 高表达,且随着肿瘤的恶性进展而表达水平升高,是影响患者5年生存率和生存期的风险因素,有望成为宫颈癌早期诊疗及预后评估的潜在生物标志物。

[参考文献]

- [1] WANG X Y, FAN L W, YAN W X, et al. Comparison of accuracy and long-term prognosis between computed tomography-based and magnetic resonance imaging-based brachytherapy for cervical cancer: a meta-analysis[J]. J Med Imaging Radiat Oncol, 2020, 64(1): 151-162. DOI:10.1111/1754-9485.12984.
- [2] 陈晓静, 王薇, 周琛斐, 等. 肿瘤相关巨噬细胞促进宫颈癌侵袭转移的机制研究[J]. 肿瘤防治研究, 2019, 46(3): 212-217. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.0769.
- [3] 武庆娟, 陈恒文, 高健, 等. 外泌体 miRNA 在心血管疾病中的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(2): 371-377. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2020.02.027.
- [4] YI M, XU L P, JIAO Y, et al. The role of cancer-derived microRNAs in cancer immune escape[J/OL]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 25 [2020-05-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7103070/>. DOI:10.1186/s13045-020-00848-8.

- [5] 王庆玮, 倪观太. miRNA 与宫颈癌的关系[J]. 沈阳医学院学报, 2019, 21(5): 461-463,468. DOI:10.16753/j.cnki.1008-2344.2019.05.019.
- [6] LI F L, WEN J J, SHI J S, et al. MicroRNA-191 targets CCAAT/enhanced binding protein β and functions as an oncogenic molecule in human non-small cell lung carcinoma cells[J/OL]. Exp Ther Med, 2019, 18(2): 1175-1183[2020-05-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6601399/>. DOI:10.3892/etm.2019.7668.
- [7] 陈超, 罗菲, 刘欣璐, 等. 神所致恶性转化细胞的外泌体微小 RNA-191 促肝细胞增殖作用[J]. 中华地方病学杂志, 2017, 36(2): 113-117. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4255.2017.02.009.
- [8] OUK M, EDWARDS J D, COLBY-MILLEY J, et al. Psychiatric morbidity and cervical cancer screening: a retrospective population-based case-cohort study[J/OL]. CMAJ Open, 2020, 8(1): E134-E141[2020-05-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7065560/>. DOI:10.9778/cmajo.20190184.
- [9] LEE J, KIM C K, PARK S Y. Histogram analysis of apparent diffusion coefficients for predicting pelvic lymph node metastasis in patients with uterine cervical cancer[J]. MAGMA, 2020, 33(2): 283-292. DOI:10.1007/s10334-019-00777-9.
- [10] XU Y, ZOU Z, LIU Y, et al. MiR-191 is involved in renal dysfunction in arsenic-exposed populations by regulating inflammatory response caused by arsenic from burning arsenic-contaminated coal[J]. Hum Exp Toxicol, 2020, 39(1): 37-46. DOI:10.1177/0960327119874423.
- [11] ZHANG C X, WANG P B, MOHAMMED A, et al. Function of adipose-derived mesenchymal stem cells in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension through miR-191 via regulation of BMPR2[J/OL]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 2858750[2020-05-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6500697/>. DOI:10.1155/2019/2858750.
- [12] PARKER W A E, SCHULTE C, BARWARI T, et al. Aspirin, clopidogrel and prasugrel monotherapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a double-blind randomised controlled trial of the effects

- on thrombotic markers and microRNA levels[J/OL]. *Cardiovasc Diabetol*, 2020, 19(1): 3[2020-05-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6945631/>. DOI:10.1186/s12933-019-0981-3.
- [13] 胡珊珊, 宋彦, 罗玉明, 等. microRNA-191-5p 靶向 PLCD1 调控食管癌细胞顺铂耐药机制研究[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2019, 38(3): 477-480. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2019.03.017.
- [14] TIVNAN A, HEILINGER T, RAMSEY J M, et al. Anti-GD2-ch14.18/CHO coated nanoparticles mediate glioblastoma (GBM)-specific delivery of the aromatase inhibitor, letrozole, reducing proliferation, migration and chemoresistance in patient-derived GBM tumor cells[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(10): 16605-16620[2020-05-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5369988/>. DOI:10.18632/oncotarget.15073.
- [15] 张冲, 杨鹏, 刘振湘, 等. 前列腺癌细胞 miR-191-5p 表达变化及其对细胞增殖和凋亡的影响[J]. *山东医药*, 2018, 58(8): 51-53. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.08.014.
- [16] 陈静, 王红静. SIRT2 在宫颈癌组织中的表达及其临床意义[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2019, 52(5): 701-707. DOI:10.13464/j.scux-byxb.2019.05.014.
- [17] TIAN X X, ZHANG Z Q. MiR-191/DAB2 axis regulates the tumorigenicity of estrogen receptor-positive breast cancer[J]. *IUBMB Life*, 2018, 70(1): 71-80. DOI:10.1002/iub.1705.
- [18] 张景航, 杨晓煜, 李敏, 等. MicroRNA-191 在 T 淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤中的表达及其作用机制研究[J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(4): 273-277. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.04.003.zz.
- [收稿日期] 2020-05-18 [修回日期] 2020-09-04
[本文编辑] 党瑞山