

# 大肠癌组织 miRNA205 表达及临床意义分析

陈昌裕<sup>1</sup> 余昌俊<sup>1</sup> 张敏<sup>2</sup> 谭胜<sup>2</sup> 龙腾云<sup>1</sup> 朱正杰<sup>1</sup> 欧阳欢<sup>1</sup>

**摘要** 应用实时定量 PCR 法检测 miRNA205 在 37 对大肠癌组织及远端正常黏膜中的表达,用 graphpad 软件 *t* 检验分析 miRNA205 在大肠癌中的表达差异及与临床各病理参数的关系。与癌旁组织比较,miRNA205 在大肠癌组织中明显低表达,差异有统计学意义,但 miRNA205 在大肠癌中的表达水平与临床各病理参数(性别、年龄、肿瘤浸润深度、细胞分化、淋巴结转移)无明显相关性。

**关键词** 大肠癌; miRNA205; PCR

**中图分类号** R 735.34

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2014)07-1016-03

miRNA 是一类内生的长度约 22-nt 的小非编码 RNA,直接与靶 mRNA 3' 非翻译区结合发挥调节作用。人类基因中约 60% 是 miRNA 的靶基因。miRNA 在各种各样的生物过程中起着关键的作用,包括细胞分化、增殖、凋亡、发育、浸润、迁移等。Hogan et al<sup>[1]</sup> 发现 miRNA 在大肠癌中存在异常表达,起着癌基因或抑癌基因的作用,在大肠癌的发生、发展、转移中起着重要作用。该研究通过实时定量 PCR 法检测 37 对大肠癌组织中 miRNA205 的表达情况,分析 miRNA205 在大肠癌中的表达及其与各病理参数之间的关系,进一步探讨 miRNA205 在大肠癌诊断和治疗中意义。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 37 对新鲜大肠癌组织及癌远端 5 cm 正常大肠黏膜组织来自于安徽医科大学第一附属医院 2013 年 4 月~8 月大肠癌手术切除标本,取材后液氮速冻半小时后置于 -80 °C 冰箱保存。患者年龄 39~83 (59.23 ± 12.73) 岁;男 24 例,女 13 例;直肠癌 17 例,结肠癌 20 例(右半结肠 15 例,乙状结肠 3 例,横结肠 2 例)。Dukes 分期: I 期 2 例, II 期 8 例, III 期 23 例, IV 期 4 例;高分化腺癌 2 例,

中分化腺癌 23 例,中-低分化腺癌 11 例,低分化腺癌 1 例。病例术前均未行化疗,术后病理经病理科医师明确诊断。

**1.2 主要仪器与试剂** -80 °C 超低温冰箱(中科美菱);台式高速冷冻离心机(美国艾本德 Eppendorf 公司,货号: 5810R);分光光度计(日本岛津公司,货号: UV-1240);实时荧光定量 PCR 仪(美国安捷伦 Stratagene 公司,货号: Mx3000P);PCR 自动系列化分析仪(中国东胜创新有限公司);miRNA 提取试剂盒(美国 Ambion 公司);RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit(美国 Thermofisher 公司);FastStart Universal SYBR Green Master( Roche 公司);所用引物及 U6 引物均购自华大科技有限公司。

## 1.3 实时定量 PCR 方法

**1.3.1 组织 miRNA 提取** 取 50~100 mg 大肠癌组织及癌旁正常组织,高速匀浆后加入 600 μl Lysis/Binding Buffer,按照说明书提取 miRNA,用紫外分光光度计测定所提取 miRNA 浓度。

**1.3.2 逆转录反应** 按照逆转录试剂盒操作说明进行逆转录:冰上加入下列试剂:miRNA 的量为 100 ng, 5 × RT Buffer 4 μl, dNTP 2 μl, U6 RT Primer 1 μl, miRNA RT Primer 1 μl, RTase 0.5 μl, RNase Inhibitor 0.5 μl, 加 DEPC 水至 20 μl。所有试剂加完后,置于 PCR 自动系列化分析仪,反应条件:42 °C 1 h, 70 °C 10 min。

**1.3.3 实时荧光定量 PCR** 实时荧光定量 PCR 反应体系:上述逆转录生成的 cDNA 稀释 50 倍后取 9.4 μl, miRNA205 Real Time Primer Mix 0.6 μl, Reaction Buffer 10 μl。将反应管置于实时荧光定量 PCR 仪,反应条件:95 °C 10 min 热启动, 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 40 个循环后 95 °C 1 min, 60 °C 30 s, 95 °C 30 s, 仪器自动对荧光信号进行检测。

**1.4 统计学处理** 实验结果用  $\bar{x} \pm s$  表示(数值为测得值 × 1 000 000)。统计分析运用 GraphPad Prism 软件。本文数据经正态性检验均符合正态分布。大肠癌组织和配对癌旁正常黏膜组织 miRNA205 表达差异采用配对样本 *t* 检验分析,miRNA205 表达水平与临床各病理参数之间的关系用非配对 *t* 检验方法分析。

2014-04-08 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:31201022)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院胃肠外科,合肥 230022

<sup>2</sup>中国科学技术大学生命科学院,合肥 230026

作者简介:陈昌裕,男,硕士研究生;

余昌俊,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: yuchangjun321@163.com

## 2 结果

**2.1 miRNA205 在大肠癌组织中的表达** 本实验通过 miRNA205 和内参 U6RNA 的扩增曲线,得到每组大肠癌和癌旁正常组织的 Ct 值,通过计算,大肠癌中 miRNA205 表达水平低于相应的癌旁正常组织,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图 1。

**2.2 miRNA205 和结肠癌临床病理指标之间的关系** 根据统计结果显示,大肠癌样本中 miRNA205 表达与患者年龄、性别和分期、分化、肿瘤大小无相关性,见表 1。

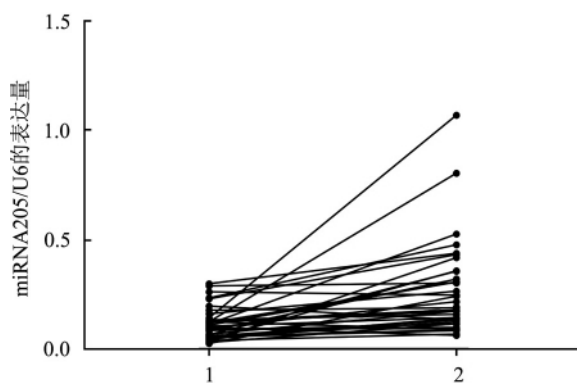


图 1 比较 miRNA205 在肿瘤组织中和对应癌旁正常黏膜中的表达量  
1: 肿瘤组织; 2: 癌旁正常黏膜组织

表 1 肿瘤中 miRNA205 表达量与临床各病理指标关系( $\bar{x} \pm s$ )

项目	n	miRNA205	t 值	P 值
性别				
男	24	0.115 8 ± 0.013 6	0.144 3	0.886 1
女	13	0.119 5 ± 0.023 4		
年龄(岁)				
≥50	26	0.105 9 ± 0.013 1	1.473 0	0.149 6
<50	11	0.143 6 ± 0.024 4		
浸润深度				
T1 ~ T2	12	0.117 7 ± 0.019 5	0.030 9	0.975 5
T3 ~ T4	25	0.116 9 ± 0.015 1		
淋巴结转移				
有	27	0.123 1 ± 0.015 8	0.826 1	0.414 3
无	10	0.100 9 ± 0.009 7		
肿瘤分化				
高、中	25	0.123 5 ± 0.016 8	0.766 9	0.448 3
中-低、低	12	0.103 9 ± 0.010 6		

## 3 讨论

大肠癌作为一种常见的恶性肿瘤,在肿瘤死亡率位列第三。大肠癌的发病率,尤其是远端结肠和直肠癌的发病率在近年逐渐增高并趋于年轻化<sup>[2]</sup>。

虽然提倡早期诊断和治疗,但近 1/2 的患者发现时已有远处转移,术前未发生转移者,超过 1/3 的患者术后仍会复发,所以有效的早期诊断和肿瘤的治疗显得尤为重要。越来越多的研究<sup>[3-4]</sup>表明,miRNA 对肿瘤的诊断、治疗和预后的评估等具有重要价值。

本研究显示,miRNA205 在大肠癌中表达下调,这表明 miRNA205 在大肠癌中可能扮演着抑癌基因的角色。国内外一些学者<sup>[5]</sup>研究也发现 miRNA205 在不同的癌症组织中的差异表达及其意义,发现 miRNA205 在恶性黑色素瘤、食道癌、神经胶质瘤、口腔癌、乳腺癌、前列腺癌中低表达,也起着抑癌基因的作用;然而在另外的如皮肤鳞状细胞癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、子宫内膜癌中 miRNA205 表达上调,在这些癌症中,miRNA205 可能为促癌基因。miRNA205 在不同的肿瘤中扮演着相反的角色,可能是通过作用于不同的靶基因发挥其生物学作用,Cai et al<sup>[6]</sup>研究发现,miRNA205 在非小细胞肺癌中作用于 PTEN 和 PHLPP2 以增大 AKT 信号来发挥作用。Elgamal et al<sup>[7]</sup>研究发现,miRNA205 在乳腺癌中作用于 HMGB3 来抑制乳腺癌细胞的增殖和浸润。另外,有研究<sup>[8-9]</sup>表明,miRNA205 与肿瘤的分级分期和浸润深度等相关;但通过与各病理参数对比统计发现,miRNA205 与各病理参数无明显相关性。

综上所述,miRNA205 在大肠癌中表达下降,在大肠癌的发生和发展中可能起着抑癌基因的作用,但其在结肠癌中的具体作用机制还不清楚,后期还需要在细胞和动物模型中进一步研究,使其成为大肠癌诊断和治疗的新靶点。

### 参考文献

- [1] Hogan N M, Joyce M R, Kerin M J. MicroRNA expression in colorectal cancer[J]. Cancer Biomark 2012, 11(6): 239-43.
- [2] Austin H, Jane H S, King J et al. Changes in colorectal cancer incidence rates in young and older adults in the United States: what does it tell us about screening[J]. Cancer Causes Control 2014, 25(2): 191-201.
- [3] Hou S X, Ding B J, Li H Z et al. Identification of microRNA-205 as a potential prognostic indicator for human glioma[J]. J Clin Neurosci 2013, 20(7): 933-7.
- [4] Lei L, Huang Y, Gong W. miR-205 promotes the growth, metastasis and chemoresistance of NSCLC cells by targeting PTEN[J]. Oncol Rep 2013, 30(6): 2897-902.
- [5] Orang A V, Safaralizadeh R, Hosseinpour F M A. Insights into the diverse roles of miR-205 in human cancers[J]. Asian Pac Cancer Prev 2014, 15(2): 577-83.

# 硼替佐米治疗多发性骨髓瘤的疗效和安全性分析

秦 慧 汪延生 丁士华 吴 凡 王芝涛 王强生

**摘要** 收集接受硼替佐米 + 地塞米松 + 沙利度胺(BDT) 方案化疗的 25 例多发性骨髓瘤(MM) 患者的临床信息, 对其疗效、相关影响因素及不良反应进行回顾性分析及评价。以硼替佐米为基础的化疗方案治疗 25 例 MM 患者的总有效(OR) 率为 80.00% (20/25), 其中完全缓解(CR) 9 例(36.00%) 非常好的部分缓解(VGPR) 6 例(24.00%), 部分缓解(PR) 5 例(20.00%); 复发/难治性 MM 患者与新诊断 MM 患者的疗效相当(OR 率: 62.5% vs 88.24%,  $P > 0.05$ ); 国际分期系统(ISS) I + II 期患者疗效与 III 期患者疗效差异无统计学意义(OR 率: 83.33% vs 76.92%;  $P > 0.05$ ); 长疗程( $\geq 4$  个疗程) 化疗组患者的 CR 率明显高于短疗程(3、2、1 个疗程) 化疗组患者(77.78% vs 30.77% vs 15.79% vs 4.00%); 浆细胞白血病及严重肾功能损害的 MM

瘤可获得 VGPR 以上疗效; 主要不良反应包括周围神经病变、胃肠道反应、血小板减少、粒细胞缺乏、皮疹等, 经过对症治疗以及调整剂量后均能改善。

**关键词** 多发性骨髓瘤; 硼替佐米; 疗效; 不良反应

中图分类号 R 553

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2014) 07 - 1018 - 04

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM) 迄今仍是难以治愈的恶性血液系统疾病。靶向药物硼替佐米——可逆性蛋白酶体抑制剂的出現明显改善了 MM 患者的治疗效果<sup>[1]</sup>, 美国国家综合癌症网已将硼替佐米推荐为 MM 一线用药。该研究回顾性分析了以硼替佐米为主的硼替佐米 + 地塞米松 + 沙利度胺(BDT) 诱导化疗方案治疗 25 例 MM 的临床资料, 对其疗效和安全性进行分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料 收集2008年10月~2013年10月

2014 - 03 - 20 接收

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金(编号: KJ2009A78)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院血液科, 安徽医科大学血液病研究中心, 合肥 230601

作者简介: 秦 慧, 女, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: qinhi6957@sina.com

[6] Cai J, Fang L, Huang Y, et al. MiR-205 targets PTEN and PHLPP2 to augment AKT signaling and drive malignant phenotypes in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(17): 5402 - 15.

[7] Elgamal O A, Park J K, Gusev Y, et al. Tumor suppressive function of mir-205 in breast cancer is linked to HMGB3 regulation [J]. *PLoS One* 2013 8(10): e76402.

[8] Ratert N, Meyer H A, Jung M, et al. MiRNA profiling identifies candidate miRNAs for bladder cancer diagnosis and clinical outcome [J]. *J Mol Diagn* 2013, 15(5): 695 - 705.

[9] Dip N, Reis S T, Timoszczuk L S, et al. Stage, grade and behavior of bladder urothelial carcinoma defined by the microRNA expression profile [J]. *J Urol* 2012, 188(5): 1951 - 6.

## Expression of miRNA205 in colorectal cancer tissue and its clinical significance

Chen Changyu<sup>1</sup>, Yu Changjun<sup>1</sup>, Zhang Min<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

<sup>2</sup>Dept of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

**Abstract** Real-time PCR was used to analyze the expression of miRNA205, paired *t* test and unpaired *t* test of graphpad was used to analyze the different expression between cancer tissues and normal tissues and the relationship between miRNA205 expression and clinical pathological characteristics. The expression of miRNA205 of the 37 cancers was significantly different from the normal ones, but there was no significant correlation between the miRNA205 expression levels and clinical pathological characteristics (gender, age, depth of invasion, cell differentiation, lymph node metastasis).

**Key words** colorectal cancer; miRNA205; PCR