



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.025  
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4147.shtml

· 简要论著 ·

# 大肠癌组织中 miRNA-21 表达水平及其与预后的研究

胡小苗<sup>1</sup>, 李明忠<sup>2</sup>

(湖北省荆州市第一人民医院 1. 胃肠外科 2. 肿瘤外科, 湖北 荆州 434000)

## 摘要

目的: 探讨 miRNA-21 在大肠癌中的表达及其意义。

方法: 检测 90 例大肠癌患者肿瘤组织以及癌旁组织中 miRNA-21 的表达水平, 并对其表达水平与临床预后的关系进行分析。

结果: miRNA-21 在肿瘤组织中表达量明显升高, ( $P < 0.05$ ); miRNA-21 在直径  $> 6$  cm 的肿瘤中的表达水平显著高于  $< 6$  cm 者; 在  $> 70$  岁的肿瘤患者中的表达水平明显高于  $< 70$  岁者 ( $P < 0.05$ )。miRNA-21 的高表达与生存期下降密切相关 ( $HR = 2.416$ , 95% CI: 1.314~4.445,  $P = 0.005$ ), 而 miRNA-21 低表达的患者其生存期显著上升 ( $HR = 2.100$ , 95% CI: 1.157~3.813,  $P = 0.015$ ), 特别是 TNM1 期和 2 期的患者。

结论: 检测 miRNA-21 的表达对大肠癌诊断及预后的判断有临床意义。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(12):1717-1720]

## 关键词

结直肠肿瘤; miRNA-21; 预后

中图分类号: R735.3

大肠癌是临床上最为常见的肿瘤之一, 在所有的肿瘤发生率中约占 10%, 并且每年造成 123 万

的患者死亡<sup>[1]</sup>。中国是大肠癌的高发国家, 其大肠癌的发生人数为世界第三, 致死人数为世界第五, 并且随着饮食结构以及环境因素等的不断改变, 大肠癌在国内的发生正在不断增高<sup>[2]</sup>。对于大肠癌早期患者, 其肿瘤的预后相对令人满意, 但往往 2/3 的大肠癌在诊断时已经出现了临近组织或远处器官的转移, 因此如何早期诊断大肠癌的发生, 是大

收稿日期: 2014-09-28; 修订日期: 2014-11-09。

作者简介: 胡小苗, 湖北省荆州市第一人民医院副主任医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究。

通信作者: 李明忠, Email: limingzhong0123@163.com

complex [J]. *MOL Cell Boil*, 2001, 21(7):2413-2422.

[7] Jungert K, Buck A, Buchholz M, et al. Smad-Sp1 complexes mediate TGFbeta-induced early transcription of oncogenic Smad7 in pancreatic cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2006,27(2):2392-2401.

[8] Jennings R, Alsarraj M, Wright KL, et al. Regulation of the human transforming growth factor beta type II receptor gene promoter by novel Sp1 sites [J]. *Oncogene*, 2001, 20(47):6899-6909.

[9] Duan H, Heckman CA, Boxer LM. Histone deacetylase inhibitors down-regulate bcl-2 expression and induce apoptosis in t (14; 18) lymphomas [J]. *Mol Cell Boil*, 2005, 25(5):1608-1619.

[10] 张安华, 孙华文, 苏锦松, 等. Notch1/DLL4 信号通路在胃癌浸润和转移中的作用及其相关性 [J]. *中国普通外科杂志*, 2010, 19(4):374-378.

[11] 蒋梦真. KLF5、Sp1 和 Cyclin D1 在胃癌组织中表达及意义的研究 [D]. 昆明: 昆明医学院, 2009:15.

[12] Yu H, Jove R. The STATs of cancer--new molecular targets come of age [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(2):97-105.

[13] Niu G, Wright K L, Huang M, et al. Constitutive Stat-3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis [J]. *Oncogene*, 2002, 21(13):2000-2008.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 张鹏程, 梁鲁, 周大可, 等. 转录因子 Sp1 及 stat-3 在胃癌中的表达及意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(12):1714-1717. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.024  
Cite this article as: ZHANG PC, LIANG L, ZHOU DK, et al. The expression and significance of transcription factor Sp1 and stat-3 in gastric carcinoma [J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(12):1717-1717. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.24

肠癌取得较好预后的关键因素<sup>[3]</sup>。近几年,对大肠癌的分子发病机制以及治疗的不断发展,但对大肠癌的早期诊断仍无较大的进展。所以,大肠癌的早期诊断是我国面临的重大医学问题。

微小RNA(miRNA)是一类内源性的小分子非编码RNA,其能够在转录后对基因表达进行调节<sup>[4]</sup>。到目前为止,已有超过2500种miRNA在人类中被发现,它们能够作用于多种目标基因,并且其功能各不相同。miRNA参与了几乎所有的生理病理过程,例如细胞增殖、凋亡以及癌变<sup>[5-6]</sup>。因此,miRNA在许多疾病,包括肿瘤中,均出现了表达量的改变。miRNA能够同时作为致癌基因和抗肿瘤因子,在肿瘤的起始、进展、转移乃至治疗过程中发挥作用。因此,作为肿瘤发生和发展中的重要因素,miRNA在肿瘤的诊断和治疗中将起到突破性的作用<sup>[7-9]</sup>。

本研究通过检测大肠癌患者中miRNA-21的表达水平,对其与大肠癌的关系以及在肿瘤发生发展中的作用进行研究,并将miRNA-21的表达与大肠癌患者的临床指标和预后进行了分析,试图将其明确为临床中应用的诊断以及分级指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 患者与标本

共收集了2012年4月—2014年在我院就诊的90例大肠癌患者的肿瘤和癌旁组织。患者手术之前均未接受化疗和放疗,正常组织均在肿瘤组织边界5cm以外收集。本研究均得到患者书面同意,并由伦理委员会审批通过。

### 1.2 RNA提取及定量PCR检测

1.2.1 取材 手术中取得新鲜肿瘤组织以及癌旁组织,剪碎后,液氮速冻保存。

1.2.2 RNA提取 采用美国Ambion公司的RNA提取试剂盒进行提取,并通过德国Qiagen公司的反转录试剂盒反转录为cDNA。

1.2.3 定量PCR 所有反应均在Rotor Gene Q基因扩增仪上进行。PCR反应总体积20 $\mu$ L,包括10 $\mu$ L $\times$ SYBR Green Master Mix缓冲液,上、下游引物各200nmol/L,cDNA模板1 $\mu$ L(相当于80ng总RNA)。PCR反应条件如下:95 $^{\circ}$ C 15min,然后接40个温度循环包括94 $^{\circ}$ C 15s、55 $^{\circ}$ C 30s和70 $^{\circ}$ C 30s。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 13.0进行统计学分析。组间数值的比较采用 $t$ 检验。根据miRNA-21相对表达量进行实验分组。以肿瘤组织与正常组织miRNA-21表达量比值为2作为分界值,将大肠癌患者分为miRNA-21分为高表达组和低表达组。基因表达与临床病理因素分析采用 $\chi^2$ 检验,生存分析采用Kaplar-Meier方法,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 miRNA-21在大肠癌组织中的表达

与癌旁组织相比,miRNA-21在大肠癌组织中表达量明显上升( $P < 0.001$ ),差异有统计学意义( $P < 0.001$ )(图1)。

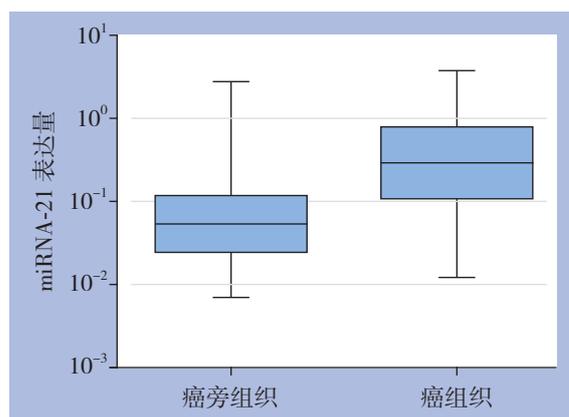


图1 大肠癌患者肿瘤组织以及癌旁组织中miRNA-21的表达水平

此外,在直径 $\geq 6$ cm的较大的肿瘤中,miRNA-21的表达水平显著性高于肿瘤直径 $< 6$ cm的较小的肿瘤( $P < 0.05$ );年龄 $> 70$ 岁的大肠癌患者中,miRNA-21的表达水平显著性高于年龄 $< 70$ 岁的患者( $P < 0.05$ )。

### 2.2 miRNA-21的表达水平与临床病理学分级的关系

将90例大肠癌患者依据miRNA-21表达水平分为两组,即高表达组和低表达组,并与大肠癌患者的临床病理学指标进行分析。结果发现,miRNA-21表达水平与大肠癌组织学分级有关( $P < 0.05$ )(表1)。

表 1 miRNA-21 表达水平与临床病理学指标的关系 [n( % )]

项目	miRNA-21 表达		P
	阳性	阴性	
年龄 (岁)			
< 70	25 (56.8)	17 (38.6)	0.135
≥ 70	19 (43.2)	27 (61.4)	
性别			
男	25 (55.6)	22 (48.9)	0.673
女	20 (44.4)	23 (51.1)	
肿瘤直径 (cm)			
≥ 6	14 (31.8)	20 (45.5)	0.781
< 6	30 (68.2)	24 (54.5)	
淋巴结转移			
有	32 (71.1)	24 (53.3)	0.127
无	13 (28.9)	21 (46.7)	
组织学分级			
好	3 (6.7)	2 (4.4)	0.781
中	23 (51.1)	26 (57.8)	
差	19 (42.2)	17 (37.8)	
TNM 分期			
I	5 (11.1)	3 (6.7)	0.042
II	27 (60.0)	19 (42.2)	
III	12 (26.7)	22 (48.9)	
IV	1 (2.2)	1 (2.2)	

### 2.3 miRNA-21 与大肠癌患者生存期的关系

在对 90 例患者平均 27 个月的随访过程中, 46 例患者死亡。中位生存期为 65.5 个月。第 3、5、7 年的患者生存率分别为 61.1%、48.5% 和 48.5%。生存分析表明, 在 miRNA-21 高表达组中, 患者的生存期较 miRNA-21 低表达组明显降低 ( $HR=2.416$ ,  $95\% CI=1.314\sim4.445$ ,  $P<0.05$ ) (表 2) (图 2)。

同时, miRNA-21 的表达水平与 TNM ( $HR=4.684$ ,  $95\% CI=1.292\sim16.981$ ) 和 LNM 淋巴转移 ( $HR=2.170$ ,  $95\% CI=0.473\sim9.960$ ) 密切相关 ( $P<0.05$ )。进一步, 我们还发现, miRNA-21 低表达组患者的 7 年生存率超过 70%, 而 miRNA-21 高表达组患者的 7 年生存率仅为 28% ( $HR=2.043$ ,  $95\% CI=1.095\sim3.812$ ,  $P<0.05$ ) (表 2)。

表 2 miRNA-21 表达与大肠癌患者生存期分析

因素	单因素分析		多因素分析 HR (95% CI)
	HR (95% CI)	P	
年龄 (岁)	1.755 (0.941~3.273)	0.077	—
性别	1.203 (0.672~2.156)	0.534	—
肿瘤直径	0.761 (0.423~1.370)	0.363	—
组织分级	0.640 (0.358~1.144)	0.132	—
TNM 分期	2.925 (1.628~5.258)	<0.001	4.684 (1.292~16.981)
淋巴结转移	2.990 (1.664~5.374)	<0.001	2.170 (0.473~9.960)
miRNA-21	2.416 (1.314~4.445)	0.005	2.043 (1.095~3.812)

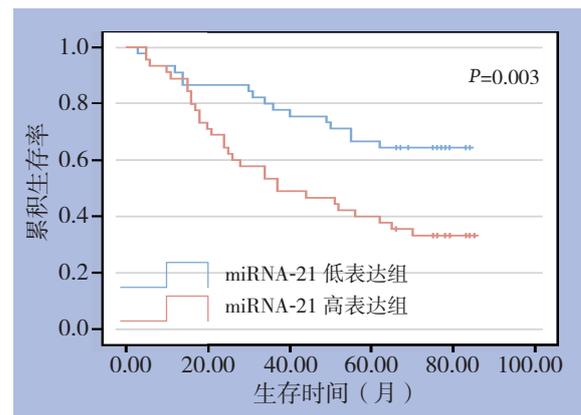


图 2 miRNA-21 表达水平与大肠癌患者生存期的关系

对 miRNA-21 表达水平与生存时间进行分析, miRNA-21 的高表达与生存期下降密切相关 ( $HR=2.416$ ,  $95\% CI=1.314\sim4.445$ ,  $P=0.005$ ), 而 miRNA-21 低表达的患者其生存期显著上升 ( $HR=2.100$ ,  $95\% CI=1.157\sim3.813$ ,  $P=0.015$ ), 在 TNM I 期与 II 期的患者中, miRNA-21 表达量较高的患者其总生存时间明显降低 ( $HR=2.796$ ,  $95\% CI=1.157\sim6.760$ ,  $P<0.05$ ) (图 3)。

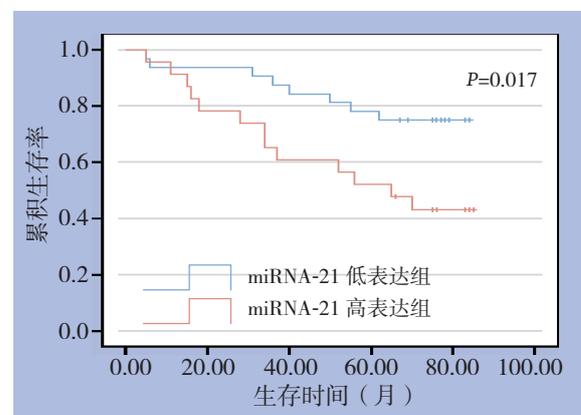


图 3 miRNA-21 表达水平与患者生存期的关系

## 3 讨论

大肠癌是一类由多分子通路所导致的多因素疾病。由于多致病因素的存在, 对大肠癌的诊断、治疗和预后带来了许多挑战。截至目前, 已有许多分子标记物应用于大肠癌的临床应用中, 例如小随体的不稳定性, BRAF、KRAS 以及 PICK3CA 的突变等等。但是, 根据上述指标进行分组后的患者对治疗的反应各不相同。因此, 临床对于大

肠癌的治疗急需找到一种能够广泛使用的生物标记物，用以区分不同大肠癌的侵袭性和致死性。本研究发现 miRNA-21 在人大肠癌组织中表达增高，且 miRNA-21 的表达水平与 TNM ( $HR=4.684$ ) 和淋巴转移 ( $HR=2.170$ ) 密切相关。由此可见，miRNA-21 的表达参与了大肠癌的发生、发展过程，参与了淋巴转移和 TNM 分期。我们进一步研究还发现，miRNA-21 低表达组患者的 7 年生存率超过 70%，而 miRNA-21 高表达组患者的 7 年生存率仅为 28%，说明 miRNA-21 能够对患者的预后产生影响。对 miRNA-21 表达水平与生存时间进行分析结果显示 miRNA-21 的高表达与生存期下降密切相关 ( $HR=2.416$ )，而 miRNA-21 低表达的患者其生存期显著上升 ( $HR=2.100$ )，在 TNM 1、2 期的患者中，miRNA-21 表达量较高的患者其总生存时间明显降低 ( $HR=2.796$ )，由此可见，抑制 miRNA-21 表达可能为大肠癌的治疗提供新的思路。

越来越多的研究表明，miRNA-21 在大肠癌的发生和发展中扮演着重要的角色。miRNA-21 的高表达能够通过激活 CDKN1C 和 RECK，从而促进大肠癌细胞的侵袭和转移能力。抗 miRNA-21 则能够通过上调 PTEN，从而显著地提高大肠癌细胞对放疗的敏感性<sup>[10-12]</sup>。上述的结果都提示，miRNA-21 是大肠癌中的一类重要调节因子

总而言之，本研究在大肠癌肿瘤标本中发现了 miRNA-21 高表达患者具有较高的病死率，特别是 TNM1 期和 2 期的患者。但是由于本研究中患者年龄普遍大于 70 岁，因此需要通过更多更详尽的临床研究以明确 miRNA-21 与大肠癌诊断及预后的联系。

## 参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.
- [2] 万德森. 结直肠癌流行趋势及其对策 [J]. *癌症*, 2009, 28(9):897-902.
- [3] Hegde SR, Sun W, Lynch JP. Systemic and targeted therapy for advanced colon cancer[J]. *Expert Rev GastroenterolHepatol*, 2008, 2(1):135-149.
- [4] Thomson DW, Bracken CP, Goodall GJ. Experimental strategies for microRNA target identification[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(16):6845-6853.
- [5] Osawa S, Shimada Y, Sekine S, et al. MicroRNA profiling of gastric cancer patients from formalin-fixed paraffin-embedded samples[J]. *OncolLett*, 2011, 2(4):613-619.
- [6] Munker R, Calin GA. MicroRNA profiling in cancer[J]. *ClinSci (Lond)*, 2011, 121(4):141-158.
- [7] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(2):647-658.
- [8] Markou A, Tsaroucha EG, Kaklamanis L, et al. Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR[J]. *ClinChem*, 2008, 54(10):1696-1704.
- [9] Dillhoff M, Liu J, Frankel W, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in pancreatic cancer and a potential predictor of survival[J]. *J GastrointestSurg*, 2008, 12(12):2171-2176.
- [10] Moriyama T, Ohuchida K, Mizumoto K, et al. MicroRNA-21 modulates biological functions of pancreatic cancer cells including their proliferation, invasion, and chemoresistance[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(5):1067-1074.
- [11] Pan X, Wang ZX, Wang R. MicroRNA-21: a novel therapeutic target in human cancer[J]. *Cancer BiolTher*, 2010, 10(12):1224-1232.
- [12] Giovannetti E, Funel N, Peters GJ, et al. MicroRNA-21 in pancreatic cancer: correlation with clinical outcome and pharmacologic aspects underlying its role in the modulation of gemcitabine activity[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(11):4528-4538.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 胡小苗, 李明忠. 大肠癌组织中 miRNA-21 表达水平及其与预后的研究[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(12):1717-1720. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.025  
**Cite this article as:** HU XM, LI MZ. A study on the level of miRNA-21 expression in colon cancer tissues and its relationship with prognosis[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(12):1717-1720. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.025