

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201902010

· 论著 ·

miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义

周小娟¹, 张俊杰¹, 刘 勇²

(1. 长沙市第一医院耳鼻咽喉头颈外科, 湖南长沙 410005; 2. 中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科耳鼻咽喉科重大疾病研究湖南省重点实验室, 湖南长沙 410008)

摘要: **目的** 探讨 miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义。**方法** 采用 qRT-PCR 检测 76 例鼻咽癌和 28 例鼻咽部黏膜组织中 miR-485-5p 的表达, 并结合临床信息, 统计分析其表达水平与鼻咽癌患者临床病理参数的相关性。**结果** miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的表达较鼻咽部黏膜组织显著下降 ($P < 0.05$); 同时 miR-485-5p 低表达与鼻咽癌患者的淋巴结转移密切相关 ($P = 0.001$), 而与鼻咽癌患者的年龄、性别、T 分级和 TNM 分期无明显相关 ($P > 0.05$)。**结论** 本研究表明 miR-485-5p 为转移相关基因, 可能在鼻咽癌转移中发挥了重要作用。

关键词: 鼻咽癌; miR-485-5p; 转移

中图分类号: R739.63

The expression and clinical significance of miR-485-5p in nasopharyngeal carcinoma

ZHOU Xiao-juan¹, ZHANG Jun-jie¹, LIU Yong²

(1. Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, the First Hospital of Changsha City, Changsha 410005, China; 2. Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Key Laboratory of Otolaryngology Major Disease Research of Hunan Province, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of miR-485-5p in nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** The expression of miR-485-5p in 76 specimens of NPC and 28 of nasopharyngeal epithelial tissue was detected with qRT-PCR, and the correlations between the expression and clinicopathological parameters were analyzed statistically. **Results** The expression of miR-485-5p was decreased in NPC tissues when compared with nasopharyngeal epithelial tissues ($P < 0.05$). Low expression of miR-485-5p was closely associated with the lymph node metastasis in NPC patients ($P = 0.001$), while not statistically associated with patients' age, gender, T classification and TNM stages of NPC (all $P > 0.05$). **Conclusion** As a metastasis-associated gene, miR-485-5p may play an important role in metastasis of NPC.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; miR-485-5p; Metastasis

miRNAs 是一类长约 22 核苷酸大小的内源性非编码 RNA, 可通过碱基互补方式与其靶基因 mRNA 的 3' 或 5' 非翻译区发生部分或完全互补, 对靶基因 mRNA 发生剪切或抑制 mRNA 的翻译过程, 从而发挥对靶基因的调控作用^[1]。近年来, miRNAs 在恶性肿瘤发生和进展中的作用备受关注。其中 miR-485-5p 在多种实体瘤组织中表达降低, 作为抑

癌基因参与肿瘤的侵袭转移和化疗耐药等恶性生物学行为^[2-7], 但其在鼻咽癌组织中的表达及功能目前未见报道。因此, 本研究检测鼻咽癌组织中 miR-485-5p 的表达水平, 并统计分析其表达与鼻咽癌患者临床病理参数之间的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

所有标本来自中南大学湘雅医院 2013 年 10 月~2015 年 12 月门诊鼻咽肿块患者 76 例, 均经病理诊断证实为低分化鳞癌, 取材前未经放疗及其他

基金项目: 国家自然科学基金(81874133); 湖南省自然科学基金(2018JJ2630); 湖湘青年英才(2018RS3024)。

作者简介: 周小娟, 女, 硕士, 主治医师。

通信作者: 刘 勇, Email: liuyongent@csu.edu.cn

治疗。患者临床信息详见表1。非肿瘤组织标本来自28例鼻咽部活检经病检确诊为慢性黏膜炎症组织。所有新鲜组织标本,均在活检后立即用盐水清除其表面血迹置入含有RNA保存液的1.5 ml EP管后,放入液氮罐保存备用。上述所有标本的收集均获得患者的知情同意,并经过中南大学湘雅医院医学伦理学委员会审查通过。

1.2 qRT-PCR 检测组织 miR-485-5p 的表达

鼻咽癌及鼻咽部黏膜组织总 RNA 提取按照之前发表文章进行^[8-10]。详细步骤参考按 TRIzol® reagent 试剂(Invitrogen, 美国)说明书。miR-485-5p 采用 All-in-One™ miRNA qRT-PCR 检测试剂盒(Gene Copoeia Inc, 美国)进行 qRT-PCR 反应,以 U6 作为内参照;以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值表示 miR-485-5p 的相对表达量^[11]。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验,均为双侧检验, $P < 0.05$ 视为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的表达

本研究首先利用 qRT-PCR 在 76 例鼻咽癌组织及 28 例鼻咽部黏膜组织中检测了 miR-485-5p 的表达,结果发现其在鼻咽癌组织中的表达量为 0.58 ± 0.03 ,在鼻咽部黏膜组织中的表达量为 1.11 ± 0.04 ,表明 miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的表达量显著降低(图 1, $P < 0.001$)。

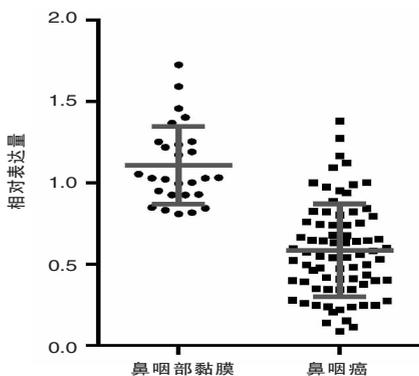


图1 qRT-PCR 检测 miR-485-5p 在鼻咽癌与鼻咽部黏膜组织中的表达

2.2 miR-485-5p 与鼻咽癌患者临床病理参数之间的相关性分析

进一步统计分析发现,miR-485-5p 在淋巴结转

移患者原发灶组织中的表达量较淋巴结无转移的患者显著下降(0.491 ± 0.252 vs 0.706 ± 0.284 ; 表 1, $P = 0.001$),表明 miR-485-5p 低表达与鼻咽癌患者的淋巴结转移密切相关。同时,miR-485-5p 的表达水平与鼻咽癌患者的年龄、性别、T 分级和临床分期无明显相关性($P > 0.05$)。具体数据见表 1。

表 1 miRNA-485-5p 表达与鼻咽癌患者临床病理参数的关系 (例, $\bar{x} \pm s$)

项目	例数	相对表达量	t	P
性别				
男	52	0.597 ± 0.281	0.536	0.861
女	24	0.559 ± 0.300		
年龄(岁)				
<57	38	0.551 ± 0.255	-1.033	0.357
≥57	38	0.618 ± 0.313		
T 分级				
T1、T2	46	0.646 ± 0.259	2.357	0.644
T3、T4	30	0.491 ± 0.280		
临床分期				
I、II	34	0.648 ± 0.271	1.775	0.683
III、IV	42	0.533 ± 0.290		
是否远处转移				
是	43	0.491 ± 0.252	3.487	0.001
否	33	0.706 ± 0.284		

3 讨论

鼻咽癌为头颈部常见的恶性肿瘤,目前采取的主要治疗策略是以放疗为主、化疗为辅的综合治疗方案。近年来,肿瘤免疫治疗亦显示出良好的临床应用前景^[12]。但鼻咽癌患者的预后改善有限,有待进一步提高。肿瘤细胞内源性癌基因或抑癌基因的表达和功能紊乱会导致肿瘤的恶性进展,如恶性增殖、侵袭转移和对治疗发生抵抗^[13]。因此,在分子水平寻找与肿瘤发生发展密切相关的分子标志物和治疗干预靶点,对疾病进展实施动态监测和分子靶向干预,有望改善患者的临床治疗预后,具有重要的科学研究价值。

本研究通过 qPCR 技术检测发现,miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的表达水平显著低于鼻咽部黏膜组织。结合患者临床病理参数分析进一步发现,miR-485-5p 低表达与鼻咽癌患者的淋巴结转移密切相关,提示 miR-485-5p 可能作为抑癌基因参与鼻咽癌的侵袭转移。目前,在乳腺癌^[4, 14]、膀胱癌、胃癌^[15-16]、小细胞肺癌^[17]和脑胶质瘤等多种实体瘤中发现,miR-485-5p 在肿瘤组织中均表达下降,且其低表达与恶性肿瘤的多个临床病理参数(包括临

床分期和胞膜浸润等)密切相关。结合本研究 miR-485-5p 在鼻咽癌组织中的临床分析结果,表明在多种实体瘤中 miR-485-5p 可能是一良好的分子标志物,在多种肿瘤的恶性进展中具有监测价值。

颈部淋巴结转移影响鼻咽癌患者的临床治疗决策和预后。在多个体内外实验研究中发现,miR-485-5p 表达下调可促进乳腺癌^[4, 14]、小细胞肺癌^[17]、肝癌^[18]、舌鳞癌^[19]和骨肉瘤^[20]等恶性肿瘤的侵袭转移,同时 miR-485-5p 在上述转移性实体瘤组织中的表达较非转移性更低。本研究主要发现 miR-485-5p 低表达与鼻咽癌患者的颈部淋巴结转移密切相关,与上述研究结果一致,说明 miR-485-5p 为转移相关基因。现有机制研究发现 miR-485-5p 可调控肿瘤细胞“干性”^[17]、上皮-间质转化^[18-19]和能量代谢^[7]等过程,进而影响肿瘤的侵袭转移。miRNAs 多通过与靶基因 mRNA 的 3' 或 5' 非翻译区结合,促进靶基因 mRNA 的降解而发挥对基因调控作用。现有研究已发现 miR-485-5p 的特异性靶基因有 CD147^[21]、PAX3^[22]、Survivin^[2]、HMGA2^[6]、IGF2BP2^[7]和 NUDT1^[16]等,通过抑制上述癌基因的表达和功能,在多种实体瘤中发挥抑癌作用。但 miR-485-5p 在鼻咽癌侵袭转移中的作用和下游靶基因有待于后续体内外研究进一步证实。

总而言之,本研究在组织学研究发现 miR-485-5p 在鼻咽癌组织中显著下调,且与鼻咽癌患者的淋巴结转移密切相关。目前 miR-485-5p 仅在胃癌^[23]等少数肿瘤中有过预后研究,表明其低表达与患者预后不良有关。但 miR-485-5p 在鼻咽癌患者预后监测中的作用,以及其如何影响鼻咽癌侵袭转移的分子机制有待于今后进一步研究。

参考文献:

[1] Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division [J]. *Cell*, 2005, 122 (1): 6-7.

[2] Wang M, Cai WR, Meng R, et al. miR-485-5p suppresses breast cancer progression and chemosensitivity by targeting survivin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501 (1): 48-54.

[3] Mou X, Liu S. MiR-485 inhibits metastasis and EMT of lung adenocarcinoma by targeting Flot2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477 (4): 521-526.

[4] Lou C, Xiao M, Cheng S, et al. MiR-485-3p and miR-485-5p suppress breast cancer cell metastasis by inhibiting PGC-1 α expression [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e2159.

[5] Wang FR, Xu SH, Wang BM, et al. MiR-485-5p inhibits metastasis and proliferation of osteosarcoma by targeting CX3CL1 [J]. *Eur*

Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22 (21): 7197-7204.

[6] Chen Z, Li Q, Wang S, et al. miR4855p inhibits bladder cancer metastasis by targeting HMGA2 [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36 (4): 1136-1142.

[7] Huang RS, Zheng YL, Li C, et al. MicroRNA-485-5p suppresses growth and metastasis in non-small cell lung cancer cells by targeting IGF2BP2 [J]. *Life Sci*, 2018, 199: 104-111.

[8] 刘超,李果,刘勇,等. miR-324-3p 及其靶基因 WNT2B 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28 (21): 1676-1678, 1684.

Liu C, Li G, Liu Y, et al. The expression and significance of miRNA-324-3p and WNT2B in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2014, 28 (21): 1676-1678, 1684.

[9] 谭浩蕾,朱刚才,余笠,等. MiR-22 经上皮-间质转化调控头颈鳞癌的侵袭转移 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2017, 23 (1): 43-48.

Tan HL, Zhu GC, She L, et al. MiR-22 regulates the invasion and metastasis via remodeling epithelial-mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2017, 23 (1): 43-48.

[10] 杨年婷,刘超,李果,等. miR-324-3p 经上皮-间质转化调控鼻咽癌侵袭转移的实验分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2016, 22 (2): 95-99.

Yang NT, Liu C, Li G, et al. miR-324-3p regulates the migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma via epithelial-mesenchymal transition [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2016, 22 (2): 95-99.

[11] Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method [J]. *Nat Protoc*, 2008, 3 (6): 1101-1108.

[12] Ferris RL, Blumenschein G Jr., Fayette J, et al. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(19): 1856-1867.

[13] Wellenstein MD, de Visser KE. Cancer-cell-intrinsic mechanisms shaping the tumor immune landscape [J]. *Immunity*, 2018, 48 (3): 399-416.

[14] Anaya-Ruiz M, Bandala C, Perez-Santos JL. miR-485 acts as a tumor suppressor by inhibiting cell growth and migration in breast carcinoma T47D cells [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14 (6): 3757-3760.

[15] Kang M, Ren MP, Zhao L, et al. miR-485-5p acts as a negative regulator in gastric cancer progression by targeting flotillin-1 [J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7 (11): 2212-2222.

[16] Duan J, Zhang H, Li S, et al. The role of miR-485-5p/NUDT1 axis in gastric cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2017, 17: 92.

[17] Jiang P, Xu C, Chen L, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibited cancer stem cell-like properties by targeting hsa-mir-485-5p/RXR α in lung cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(10): 8623-8635.

(下转第 161 页)