

• 论 著 •

miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌中的表达及临床意义^{*}

祝金波,王 敏,周 林[△],刘毓玲

湖北省武汉市中医医院检验科,湖北武汉 430050

摘 要:**目的** 探讨 miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌组织中的表达及其临床意义。**方法** 使用实时荧光定量 PCR 技术检测 46 例肾细胞癌患者癌组织与癌旁组织中 miR-122 和 miR-144-3p 的表达情况,比较二者在癌组织与癌旁组织中的差异。以肾细胞癌组织中 miR-122、miR-144-3p 的表达水平平均值作为分界,将 46 例患者分为 miR-122 低表达和 miR-122 高表达、miR-144-3p 低表达和 miR-144-3p 高表达,并分析不同年龄、性别、临床病理特征患者中 miR-122 和 miR-144-3p 的表达情况。**结果** miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌患者癌组织中的相对表达水平均明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同年龄、性别患者 miR-122、miR-144-3p 低表达百分率分别与 miR-122、miR-144-3p 高表达百分率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同 TNM 分期、临床分期患者 miR-122、miR-144-3p 低表达百分率分别与 miR-122、miR-144-3p 高表达百分率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** miR-122 和 miR-144-3p 在不同 TNM 分期、临床分期的肾细胞癌患者中表达存在差异,可能在肾细胞癌发生、发展中起重要作用。

关键词:肾细胞癌; miR-122; miR-144-3p; 肿瘤标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.022

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2021)10-1250-04

文献标志码:A

The expression and clinical significance of miR-122 and miR-144-3p in renal cell carcinoma^{*}

ZHU Jinbo, WANG Min, ZHOU Lin[△], LIU Yuling

Department of Clinical Laboratory, Wuhan Traditional Chinese Medicine

Hospital, Wuhan, Hubei 430050, China

Abstract:**Objective** To investigate the expression of miR-122 and miR-144-3p in renal cell carcinoma and their clinical significance. **Methods** The expression changes of miR-122 and miR-144-3p in cancer tissues and para-carcinoma tissue of 46 patients with renal cell carcinoma were detected by real-time quantitative PCR technique, and the differences on these two indicators in cancer tissues and para-carcinoma tissues were compared. The mean expression levels of miR-122 and miR-144-3p in renal cell carcinoma tissues were used as the dividing line. All 46 patients were divided into low expression level of miR-122 and high expression level of miR-122, low expression level of miR-144-3p and high expression level of miR-144-3p, and the expression status of miR-122 and miR-144-3p in patients with different ages, genders, clinic and pathological characteristics were analyzed. **Results** The relative expression levels of miR-122 and miR-144-3p in cancer tissues of patients with renal cell carcinoma were significantly higher than those in para-carcinoma tissue ($P<0.05$). There was no statistical significance between the low expression percentage of miR-122, miR-144-3p and the high expression percentage of miR-122, miR-144-3p in patients with different ages and genders ($P>0.05$). The low expression percentage of miR-122 and miR-144-3p had statistically significant different with the high expression percentage of miR-122 and miR-144-3p respectively in patients with different TNM stages and clinical stages ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of miR-122 and miR-144-3p are different in patients with renal cell carcinoma with different TNM stages and clinical stages, which might play an important role in the occurrence and development of renal cell carcinoma.

Key words: renal cell carcinoma; miR-122; miR-144-3p; tumor markers

^{*} 基金项目:湖北省武汉市卫生健康委员会医学科研项目(WZ19C37)。

作者简介:祝金波,男,技师,主要从事医学检验研究。 [△] 通信作者, E-mail:16191025@qq.com。

本文引用格式:祝金波,王敏,周林,等. miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(10):

肾细胞癌是起源于肾实质肾小管上皮的恶性肿瘤,其中透明细胞癌是最常见且恶性程度最高的类型,透明细胞癌患者极易发生肿瘤转移,导致患者预后差^[1-2]。肾细胞癌的早期症状不明显,大部分患者发现时已处于中晚期,肾细胞癌采用放疗、化疗治疗效果均不佳^[3]。肾细胞癌的发生、发展及转移是一个极其复杂的动态过程,具体机制尚不清楚,目前临床尚未发现能对其进行早期诊断及预后判断的特异性指标,因此,寻找早期诊断及治疗的靶标是肾细胞癌研究领域的热点。近些年研究人员发现微小 RNAs (miRNAs)在肾细胞癌的发生、发展过程中具有重要的作用^[4-5]。miRNAs 是长度约为 22 个核苷酸的内源性非编码 RNA 分子,它与生物体的细胞分化、发育、增殖、凋亡等多种生物学过程关系密切^[6]。多项研究显示,在肾细胞癌组织中能检测到异常表达的 miRNAs,miRNAs 在多种肿瘤的发生、发展过程中均发挥着重要的作用^[7-9]。本研究分析 miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌与癌旁组织中的表达差异,及其与病理分期、临床分期等之间的关系,旨在为肾细胞癌的早期诊断、治疗、预后判断提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 2 月至 2019 年 2 月 46 例在本院泌尿外科行肾脏切除术患者的肾细胞癌组织及其癌旁组织(距癌组织 5 cm 以上),并保存于液氮中。所有患者均经术后病理确诊为肾细胞癌,且癌旁组织无癌组织浸润。46 例患者中男 32 例,女 14 例;年龄 25~70 岁,平均(53.2±14.6)岁。组织学类型的分类采用世界卫生组织 2004 年肾细胞癌的病理分类标准,临床分期采用 2009 年国际抗癌组织和美国癌症联合会的临床分期标准。TNM 分期:T1 期 26 例,T2 期 17 例,T3 期 2 例,T4 期 1 例。临床分

期:I 期 26 例,II 期 17 例,III 期 2 例,IV 期 1 例。本研究通过本院医学伦理委员会批准,患者及家属均签署了知情同意书。

1.2 仪器与试剂 PRISM7000 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);UV-2006 型紫外分光光度计(日本岛津公司)。RNA 提取试剂为 Trizol 试剂(美国 invitrogen 公司);miRNA 专用反转录试剂盒及 miScript 反转录试剂盒(德国 Qiagen 公司);其他常规试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 总 RNA 的提取 采用液氮研磨法将组织磨成粉末,严格按照说明书的步骤加入 Trizol 试剂提取研磨后标本中的总 RNA,使用紫外分光光度计检测其水平,记录吸光度值(A_{260}),所提取总 RNA 放置于-80℃冰箱保存待测。

1.3.2 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 按照 miScript 反转录试剂盒说明书的步骤操作。取 1 μL 总 RNA 加入 20 μL 反应体系中,在 PRISM7000 实时荧光定量 PCR 仪上进行反转录,将反应体系设置为 37℃ 60 min,95℃ 5 min,合成 cDNA,稀释 10 倍后放置于-20℃保存待测。以 U6 snRNA 作为内参,引物由北京擎科新业生物技术有限公司合成,引物序列见表 1。样品目的基因相对表达水平采用 $\Delta\Delta CT$ 方法计算,其中相对表达水平= $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。

1.4 观察指标 比较 miR-122 和 miR-144-3p 在癌组织与癌旁组织中的差异。以肾细胞癌组织中 miR-122、miR-144-3p 的表达水平平均值作为分界,将 46 例患者分为 miR-122 低表达和 miR-122 高表达、miR-144-3p 低表达和 miR-144-3p 高表达,并分析不同年龄、性别、临床病理特征患者中 miR-122 和 miR-144-3p 的表达情况。

表 1 RT-qPCR 特异性引物

项目	引物序列(5'-3')	引物序列(3'-5')
miR-122	ACATACTCCTTTCTCAGAGTCCA	CCTTCCCTGAAGGTTCTCCTT
miR-144-3p	CTCTATCCAAAACAGGCCGC	TTTACATCCCAAGGCCCAT
U6 snRNA	CTCGCTTCGGCAGCACA	ACGCTTCACGAATTTCGT

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 癌组织和癌旁组织中 miR-122 和 miR-144-3p 的表达情况 miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌患者癌组织和癌旁组织中的相对表达水平见表 2,miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌患者癌组织中的相对

表达水平均明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 miR-122 和 miR-144-3p 表达水平比较($\bar{x}\pm s,n=46$)

组织类型	miR-122	miR-144-3p
癌组织	2.67±0.74	2.93±0.86
癌旁组织	0.89±0.26	1.22±0.31
t	15.392	12.687
P	<0.001	<0.001

2.2 不同特征患者 miR-122 在癌组织中的表达情况 不同年龄、性别患者 miR-122 低表达和 miR-122

高表达百分率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同 TNM 分期、临床分期患者 miR-122 低表达和 miR-122 高表达百分率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 不同特征患者 miR-122 在癌组织中的表达情况[n(%)]					
项目	n	低表达	高表达	χ^2	P
年龄(岁)				0.006	0.938
≤53.2	21	12(57.14)	9(42.86)		
>53.2	25	14(56.00)	11(44.00)		
性别				0.003	0.955
男	32	18(56.25)	14(43.75)		
女	14	8(57.14)	6(42.86)		
TNM 分期				3.638	0.046
T1	26	17(65.38)	9(34.62)		
T2	17	8(47.06)	9(52.94)		
T3	2	1(50.00)	1(50.00)		
T4	1	0(0.00)	1(100.00)		
临床分期				3.593	0.047
I 期	26	17(65.38)	9(34.62)		
II 期	17	9(52.94)	8(47.06)		
III 期	2	1(50.00)	1(50.00)		
IV 期	1	0(0.00)	1(100.00)		

2.3 不同特征患者 miR-144-3p 在癌组织中的表达情况 不同年龄、性别患者 miR-144-3p 低表达和 miR-144-3p 高表达百分率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同 TNM 分期、临床分期患者 miR-144-3p 低表达和 miR-144-3p 高表达百分率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 不同特征患者 miR-144-3p 在癌组织中的表达情况[n(%)]					
项目	n	低表达	高表达	χ^2	P
年龄(岁)				0.022	0.883
≤53.2	21	13(61.90)	8(38.10)		
>53.2	25	16(64.00)	9(36.00)		
性别				0.020	0.887
男	32	19(59.38)	13(40.62)		
女	14	8(57.14)	6(42.86)		
TNM 分期				4.438	0.039
T1	26	18(69.23)	8(30.77)		
T2	17	9(52.94)	8(47.06)		
T3	2	1(50.00)	1(50.00)		
T4	1	0(0.00)	1(100.00)		

续表 4 不同特征患者 miR-144-3p 在癌组织中的表达情况[n(%)]					
项目	n	低表达	高表达	χ^2	P
临床分期				3.593	0.047
I 期	26	17(65.38)	9(34.62)		
II 期	17	9(52.94)	8(47.06)		
III 期	2	1(50.00)	1(50.00)		
IV 期	1	0(0.00)	1(100.00)		

3 讨 论

肾细胞癌是我国目前发病率增长最快的恶性肿瘤之一,其起病较隐匿,早期临床症状不明显,因此早期诊断困难,且患者预后不佳,存活患者生活质量差。近年来,生物标志物的研究成为热点,为了改进临床诊断策略,提高疾病的治疗效果,筛选新的肾细胞癌生物标志物作为治疗靶点引起了重视。已有研究显示,miRNAs 以多种信号途径参与了肾细胞癌的调控^[10-12]。有研究表明,miRNA 在肾细胞癌和其他人类恶性肿瘤中起着重要作用,肾细胞癌组织中也存在 miRNA 表达的异常^[13-14],本研究对新的肾细胞癌标志物 miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌中的表达及临床意义进行探讨,以期为肾细胞癌的临床诊断提供新的思路 and 参考。

以往研究显示,尽管大部分 miRNAs 在肾细胞癌中表达下调^[15-16],但是还是存在一些 miRNAs 的表达上调,如在肾细胞癌中 miR-122 的表达水平明显上调^[17]。作为一种特异性 miRNAs,miR-122 在脂肪和胆固醇代谢中发挥着重要作用。研究显示,与癌旁组织相比,肾细胞癌组织中的 miR-122 表达上调,并且肾细胞癌组织中的 miR-122 水平与预后密切相关^[18-21]。miRNA 参与调控细胞增殖、分化和凋亡等多种生理过程,miR-144 位于染色体 17q11.2,具有 miR-144-3p 和 miR-144-5p 两种形式^[22]。miR-144-3p 可参与多种癌细胞的增殖、分化过程,能够促进肺癌细胞、肝癌细胞和胶质瘤细胞的增殖、迁移,发挥促癌基因的作用^[23-25]。邱彬^[26]的研究显示,在裸鼠体内 miR-144-3p 能促进肾细胞癌的肿瘤形成和生长,在肾细胞癌的发病机制中起重要作用。楼宁^[27]的研究也显示,miR-144-3p 在肾透明细胞癌组织中的表达水平明显高于正常组织。

本研究结果显示,miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌患者癌组织中的相对表达水平均明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。肾细胞癌组织中 miR-122 和 miR-144-3p 表达水平的高低与 TNM 分期、临床分期关系密切,提示 miR-122 和 miR-144-3p 可能在肾细胞癌发生、发展中起重要作用。

本研究为 miR-122 和 miR-144-3p 在肾细胞癌发生、发展中的机制研究提供了新的思路和参考, miR-122 和 miR-144-3p 有望成为肾细胞癌早期诊断和预后判断的新标志物。

参考文献

- [1] PETEJOVA N, MARTINEK A. Renal cell carcinoma: review of etiology, pathophysiology and risk factors[J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2016, 160(2): 183-194.
- [2] AKHTAR M, AL-BOZOM I A, AL HUSSAIN T. Molecular and metabolic basis of clear cell carcinoma of the kidney[J]. Adv Anat Pathol, 2018, 25(3): 189-196.
- [3] 李广斌, 王璐, 田立志, 等. miRNA 在肾癌中的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(21): 4226-4230.
- [4] BERESNEVA E V, LOGINOV V I, KHODYREV D S, et al. The hyper-methylated genes microRNA as potential markers of clear-cell carcinoma of kidney[J]. Klin Lab Diagn, 2017, 62(1): 13-18.
- [5] 管金, 王玉杰. 微小 RNA 与肾癌关系的研究进展[J]. 癌症进展, 2016, 14(1): 18-21.
- [6] TAKAHASHI R U, PRIETO-VILA M, HIRONAKA A, et al. The role of extracellular vesicle microRNAs in cancer biology[J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 55(5): 648-656.
- [7] SZABÓ Z, SZEGEDI K, GOMBOS K, et al. Expression of miRNA-21 and miRNA-221 in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) and their possible role in the development of ccRCC[J]. Urol Oncol, 2016, 34(12): 533. e21-533. e27.
- [8] ZHAI W, SUN Y, GUO C, et al. LncRNA-SARCC suppresses renal cell carcinoma (RCC) progression via altering the androgen receptor (AR)/miRNA-143-3p signals[J]. Cell Death Differ, 2017, 4(9): 1502-1517.
- [9] HE Y H, CHEN C, SHI Z. The biological roles and clinical implications of microRNAs in clear cell renal cell carcinoma[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(6): 4458-4465.
- [10] CAO J, SUN X, ZHANG X, et al. Inhibition of eIF4E cooperates with chemotherapy and immunotherapy in renal cell carcinoma[J]. Clin Transl Oncol, 2018, 20(6): 761-767.
- [11] DI J, GAO K, QU D, et al. Rap2B promotes angiogenesis via PI3K/AKT/VEGF signaling pathway in human renal cell carcinoma[J]. Tumour Biol, 2017, 39(7): 1010428317701653.
- [12] CHEN G, XU J Y, CHEN J, et al. Loss of PIG3 increases HIF-1 α level by promoting protein synthesis via mTOR pathway in renal cell carcinoma cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(19): 27176-27184.
- [13] JIN L, LI Y, HE T, et al. miR-15a-5p acts as an oncogene in renal cell carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(3):

- 1379-1386.
- [14] FEDORKO M, PACIK D, WASSERBAUER R, et al. MicroRNAs in the pathogenesis of renal cell carcinoma and their diagnostic and prognostic utility as cancer biomarkers[J]. Int J Biol Markers, 2016, 31(1): e26-37.
- [15] CHEN K, ZENG J, TANG K, et al. miR-490-5p suppresses tumour growth in renal cell carcinoma through targeting PIK3CA[J]. Biol Cell, 2016, 108(2): 41-50.
- [16] TANG Y, WAN W, WANG L, et al. microRNA-451 inhibited cell proliferation, migration and invasion through regulation of MIF in renal cell carcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(12): 15611-15621.
- [17] HEINEMANN F G, TOLKACH Y, DENG M, et al. Serum miR-122-5p and miR-206 expression: non-invasive prognostic biomarkers for renal cell carcinoma[J]. Clin Epigenetics, 2018, 10: 11.
- [18] JINGUSHI K, KASHIWAGI Y, UEDA Y, et al. High miR-122 expression promotes malignant phenotypes in ccRCC by targeting occludin[J]. Int J Oncol, 2017, 51(1): 289-297.
- [19] FAN Y, MA X, LI H, et al. miR-122 promotes metastasis of clear-cell renal cell carcinoma by downregulating dicer[J]. Int J Cancer, 2018, 142(3): 547-560.
- [20] 程建利, 张新涛, 陈杰青, 等. 肾癌患者血清和组织中 miR-21, -122, -222 含量检测及其相关靶基因的探究[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(9): 1269-1271.
- [21] 曹拓, 赵春娟, 余振东. miR-122 在肾癌中的异常表达及其临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(4): 559-563.
- [22] 姬丽娅, 马妮, 王新来, 等. miR-144-3p 分子在胶质瘤中的表达[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2018, 17(1): 9-12.
- [23] CHEN G, MA Y, JIANG Z, et al. Lico A causes ER stress and apoptosis via up-regulating miR-144-3p in human lung cancer cell line H292[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 837.
- [24] WU M, HUANG C, HUANG X, et al. MicroRNA-144-3p suppresses tumor growth and angiogenesis by targeting SGK3 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2017, 38(4): 2173-2181.
- [25] SONG J, MA Q, HU M, et al. The inhibition of miR-144-3p on cell proliferation and metastasis by targeting TOP2A in HCMV-positive glioblastoma cells[J]. Molecules, 2018, 23(12): 3259.
- [26] 邱彬. miR-144-3p 在肾癌中的临床价值鉴定及其对肿瘤生长的影响[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [27] 楼宁. miR-144-3p 在肾透明细胞癌中作为肿瘤标记物的鉴定及其生物学功能的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.