

血清微小 RNA-451 对食管癌放化疗效果评估价值

曲日初, 马金玉, 姚 健, 谷 爽

(吉林省人民医院, 吉林 长春 130062)

摘要: [目的] 探讨血清微小 RNA-451 对食管癌的诊断及放化疗效果评估价值。[方法] 选择食管癌患者 60 例(病例组)及同时时间段内进行健康体检者 60 名(对照组), 分析血清微小 RNA-451 与食管癌临床病理特征的相关性及对放化疗效果的评估价值。[结果] 治疗前病例组患者血清微小 RNA-451 表达水平高于对照组($t=11.674, P<0.001$)。有淋巴转移患者的血清微小 RNA-451 表达水平高于无淋巴转移者($t=-5.378, P<0.001$), 临床分期高的患者血清微小 RNA-451 表达水平高于临床分期低的患者($t=-5.740, P<0.001$)。经过治疗后, 所有患者的血清微小 RNA-451 表达水平均降低, 其中完全缓解、部分缓解、稳定组患者与治疗前相比, 差异均有统计学意义($t=5.297, 6.610, 3.204; P$ 均 <0.05), 而进展组与治疗前相比, 差异无统计学意义($t=0.725, P=0.489$), 患者的治疗效果与血清微小 RNA-451 表达水平下降的幅度之间呈现正相关($r=0.729, P<0.05$)。[结论] 血清微小 RNA-451 可进行食管癌患者治疗效果的评估。

关键词: 食管肿瘤; 微小 RNA-451; 诊断; 疗效

中图分类号: R735.1 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2019)10-0896-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.10.B009

Value of Serum Micro RNA-451 in Efficacy Evaluation for Patients with Esophageal Cancer Undergoing Radiochemotherapy

QU Ri-chu, MA Jin-yu, YAO Jian, GU Shuang

(Jilin Provincial People's Hospital, Changchun 130062, China)

Abstract: [Objective] To assess the application of serum micro RNA-451 in diagnosis and efficacy evaluation for patients with esophageal cancer undergoing radiochemotherapy. [Methods] Sixty patients with esophageal cancer undergoing radiochemotherapy were and 60 healthy subjects (control group) were recruited in the study. The value of serum miRNA-451 in diagnosis and efficacy evaluation for esophageal cancer patients was analyzed. [Results] The expression level of serum miRNA-451 in cancer patients was higher than that in control group before treatment($t=11.674, P<0.05$). The expression of miRNA-451 in patients with lymph node metastasis was higher than that in the patients without lymph node metastasis ($t=-5.378, P<0.001$), and the miRNA-451 expression in patients with advance clinical stage was higher than that in patients with early stage ($t=-5.740, P<0.001$). After treatment, the expression levels of miRNA-451 in CR, PR and SD patients were significantly decreased ($t=5.297, 6.610, 3.204$, all $P<0.05$), while that in PD patients was not significantly changed ($t=0.725, P=0.489$). There was a positive correlation between the therapeutic effect and the decrease of serum miRNA-451 level ($r=0.729, P<0.05$). [Conclusion] Serum miRNA-451 may be used as a marker for the therapeutic effect of patients.

Subject words: esophageal cancer; micro RNA-451; diagnosis; effect

食管癌早期缺乏特异性临床症状, 在诊疗过程中常发生误诊漏诊^[1], 超过 70% 的食管癌患者确诊时已为疾病晚期^[2]。微小 RNA 为非编码功能的具有

高度保守性的单链 RNA, 可在转录水平和转录后水平干扰 mRNA 的碱基互补配对, 达到对靶基因的表达负性控制效果。研究显示微小 RNA 直接参与到各类恶性肿瘤的发生发展过程^[3], 对该类因子的检测可对恶性肿瘤的早期诊断和治疗效果进行评估。存在于血清中的微小 RNA 可以抵抗内源性核酸酶活性, 以游离的形式存在, 特别是对于血清中微小 RNA-

基金项目: 吉林省卫生厅资助项目(2017Q005)

通信作者: 曲日初, 主治医师, 硕士; 吉林省人民医院胸外科, 吉林省长春市朝阳区工农大路 1183 号(130062); E-mail: wzy086@163.com

收稿日期: 2018-05-15; 修回日期: 2018-08-27

451 的测量技术已相对成熟。本研究对微小 RNA-451 对食管癌及放化疗效果评估价值进行探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2016 年 1 月至 2017 年 12 月在我院进行治疗的食管癌患者 60 例及同时间段内 60 名在我院进行健康体检者的资料进行回顾性分析。研究经医院医学伦理委员会批准通过。

纳入标准:①经病理检查确诊为食管癌;②心肺肝肾功能较正常,为首次接受放化疗治疗;③按照我院的方案进行治疗,依从性良好,并且可以提供相应的数据资料(尤其是放化疗数据与效果资料)进行分析;④患者及家属对本研究知情同意并且签署知情同意书。

排除标准:①病灶没有经过病理学或者临床的诊断,无法确诊是否为食管癌或临床分期;②拒绝接受治疗;③合并有消化系统、神经系统、免疫血液系统等疾病,可能对研究的结果造成影响;④预期寿命低于 3 个月;⑤对研究中所使用的药物和器材有过敏现象。

两组性别、年龄、BMI、合并症、吸烟、饮酒情况差异均无统计学意义($P>0.05$)(Table 1)。

1.2 研究方法

1.2.1 食管癌患者治疗方法

患者给予放化疗治疗,其中放疗方法为使用 6MV-X 射线三维调强/适行放疗,大体肿瘤区包括食管的原发病灶,临床靶区为大体肿瘤区和阳性淋巴

结,在临床靶区的左右与前后外放 0.9~1.0cm,在大体肿瘤区的上下放 1.0~3.0cm,或者在阳性淋巴结的上下外放 1.5~2.0cm,计划靶区在临床靶区的基础上再各外放 1.0~1.5cm,95%的计划靶区的处方剂量维持在 60~65Gy 之间,每次剂量为 2Gy,每日进行 1 次治疗,每周 5d,完成一周治疗后停止。放疗过程中同时给予化疗,具体方案:顺铂(山东凤凰制药股份有限公司,国药准字 H20056422,20mg/支)与 5-氟尿嘧啶(远大医药黄石飞云制药有限公司,国药准字 H20051137,0.25g/支),顺铂剂量为 40~50mg/m²,5-氟尿嘧啶剂量为 500mg/m²,每周 1 次,共 5 次,放疗结束后不再进行化疗。若患者出现放化疗毒副反应则进行相应的对症处理。

1.2.2 微小 RNA-451 检测方法

采集对照组和病例组在治疗前及治疗后的晨起肘部空腹静脉血 5ml,常温下以 3500 r/min 离心 15min 后取上层血清放入-70℃的冰箱内待用。使用微小 RNA 提取试剂盒按照操作步骤提取血清中的总 RNA,使用核酸测定仪和 ND1000 分光光度仪(美国 Thermo 公司)对 RNA 的浓度和纯度进行测试,将 RNA 逆转录为 cDNA,以逆转录产物为模板,进行定量的 PCR 检测。微小 RNA 的表达量使用实时定量 PCR 的 Ct 均值表示,相对定量使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算, $\Delta Ct = Ct_{\text{目标基因}} - Ct_{\text{actin}}$; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{癌组织}} - \Delta Ct_{\text{癌旁组织}}$, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 指数的意义是食管癌患者血清中的微小 RNA-451 的水平相当与健康对照者的倍数。

1.3 观察指标

分析病例组患者血清微小 RNA-451 表达水平与临床特征数据之间的关系。

治疗效果评价标准参照世界卫生组织颁布的实体瘤近期疗效评定标准^[4],分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(PD)和进展(SD),比较不同亚组患者经过治疗后的血清微小 RNA-451 表达水平降低情况。表达水平变化率=(治疗后表达水平-治疗前表达水平)/治疗前表达水平×100%。治疗效果评价的时间为患者完成放疗与 5 次化疗后。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行统计

Table 1 Comparison of the basic data between two groups

Index	Case group (n=60)	Control group (n=60)	χ^2/t	P
Gender			0.600	0.439
Male	38	42		
Female	22	18		
Age(years)	65.87±8.94	65.13±7.98	0.478	0.633
BMI(kg/m ²)	23.68±2.14	24.01±2.37	-0.801	0.425
Complication				
Heart disease	4	5	0.120	0.729
Hypertension	11	13	0.208	0.648
Diabetes	10	14	0.833	0.361
Hyperlipidemia	12	15	0.430	0.512
Smoke	17	13	0.711	0.399
Drink wine	25	30	0.839	0.360
Serum micro RNA-451($\bar{x}\pm s, 2^{-\Delta\Delta Ct}$)	3.91±0.92	2.14±0.73	11.674	<0.001

学处理,对数据进行描述性分析,计量资料结果使用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

治疗前病例组患者的血清微小 RNA-451 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($t=11.674, P<0.05$)(Table 1)。

2.1 血清微小 RNA-451 与食管癌临床病理特征的关系

年龄、肿瘤直径与血清微小 RNA-451 无明显相关性(P 均 >0.05),有淋巴转移的患者血清微小 RNA-451 水平高于无淋巴转移患者($P<0.001$),临床分期高的患者血清微小 RNA-451 水平高于临床分期低的患者($P<0.001$)。见 Table 2。

2.2 不同治疗效果组治疗前后血清微小 RNA-451 表达水平比较

本组 60 例患者,疗效评价为 CR、PR、SD 和 PD 的分别为 12 例、25 例、18 例和 5 例,经过治疗后,患者的血清微小 RNA-451 表达水平出现降低,且 CR、PR、SD 组的患者与治疗前相比,差异有统计学意义(P 均 <0.05),而 PD 组患者与治疗前相比,差异无统计学意义($P=0.489$)。患者的治疗效果与血清微小 RNA-451 表达水平下降的幅度之间均呈正相关($r=0.729, P<0.05$)。见 Table 3。

3 讨论

食管癌属于恶性消化道肿瘤,恶性程度高,生存率低,预后差。由于疾病早期临床表现不具有特异性,患者主动就医确诊积极性不高,且缺乏早期诊断

Table 2 Relationship between serum micro RNA-451 data and clinical data in patients with esophageal cancer

Item	n	Serum micro RNA-451 expression level	t/F	P
Gender			0.536	0.594
Male	38	3.98±1.01		
Female	22	3.84±0.91		
Age(years)			0.465	0.644
≥65	31	3.99±1.06		
<65	29	3.87±0.93		
Tumor diameter(cm)			-0.370	0.713
≥3	21	3.85±0.95		
<3	39	3.94±0.87		
Lesion location			0.827	0.412
Neck + upper thoracic segment	19	4.11±0.98		
Middle thoracic + lower thoracic segment	41	3.90±0.89		
Lymph node metastasis			-5.378	<0.001
No	21	3.04±0.84		
Yes	39	4.31±0.95		
Clinical stages			-5.740	<0.001
I + II	42	3.01±0.81		
III	18	4.35±0.97		
Histological type			1.021	0.357
Squamous cell carcinoma	49	3.94±0.81		
Adenocarcinoma	9	3.87±0.94		
Undifferentiated carcinoma	2	3.89±0.90		

Table 3 Comparison of the percentage reduction in serum microRNA-451 expression between different subgroups after treatment

Groups	Before treatment	After treatment	t	P	Concentration change rate(%)
CR group(n=12)	3.93±0.94	2.28±0.53 ^{bcd}	5.297	<0.001	-41.99±5.71
PR group(n=25)	3.95±0.96	2.57±0.41 ^{acd}	6.610	<0.001	-34.91±4.60
SD group(n=18)	3.90±0.91	3.14±0.43 ^{abd}	3.204	0.003	-19.45±3.05
PD group(n=5)	3.89±0.88	3.56±0.51 ^{abc}	0.725	0.489	-8.49±1.21
F	1.227	82.889	-	-	-
P	0.324	<0.001	-	-	-

Note: a: Compared with CR group, $P<0.05$; b: Compared with PR group, $P<0.05$; c: Compared with SD group, $P<0.05$; d: Compared with PD group, $P<0.05$.

方法,绝大多数患者确诊时已处于疾病晚期^[5]。

微小 RNA 是近年被逐渐开发出的针对于肿瘤组织的血清标志物指标之一。微小 RNA 在人体的肿瘤组织中性质稳定,而且不同组织来源的恶性肿瘤组织或者肿瘤的细胞体系中,微小 RNA 的表达水平也有差异,但在同一个体中较为稳定。微小 RNA 是具有癌基因还是具有抑癌基因的功能主要决定于下游的靶 mRNA 的表达情况。本研究中所关注的微小 RNA-451 的位置在染色体 17q11.2,为一种多功能类型的微小 RNA,在人体中对多种生理过程进行调

控,其中包括恶性肿瘤的增殖,转移和播散等,该微小 RNA 在人体的体液中还能够逃避 RNA 酶的降解作用,从而保持分子的稳定和持续存在。从血清中获取该种因子浓度数值的技术相对成熟,所得数据可靠性较好。

本研究结果显示食管癌患者中微小 RNA-451 表达水平显著高于健康对照组($P<0.05$)。研究认为微小 RNA-451 的表达水平与多种因素相关,包括肿瘤的病理分期、分化程度和是否出现淋巴结转移等,并且很有可能通过 Akt 信号通路的失活促使细胞发生凋亡。本研究结果显示,随着患者出现淋巴结转移和临床分期的增高,其表达水平增高(P 均 <0.05),提示微小 RNA-451 的表达水平与淋巴结转移和临床分期相关之外,也间接证明了该因子在食管癌的发病过程中起到了促癌基因的作用,表达水平越高,患者预后越差。

微小 RNA-451 的表达水平与肿瘤放化疗敏感性的研究也得到了关注。有研究结果认为该因子的存在增加了小细胞肺癌患者的放疗敏感性^[6]。而且微小 RNA-451 的存在可能与其对抑癌基因 *Pten* 之间的相互作用有关,该因子有可能成为潜在的化疗增敏剂。本研究以食管癌患者最终的治疗效果为依据,对 60 例患者进行分组,并对治疗前后的微小 RNA-451 表达情况进行比较,结果显示患者治疗效果与血清微小 RNA-451 表达水平下降的幅度之间呈正相关,提示微小 RNA-451 的表达情况可以作为患者放化疗治疗效果的评估指标。本研究由于条件所限,纳入的样本量较小,以后可进一步扩大样本量,进行随机对照研究,对本研究结果进行深入验证。

综上所述,血清微小 RNA-451 可以对食管癌治疗效果进行评估,但是在实际临床工作中,还需从患者的实际情况出发进行综合考虑。

参考文献:

- [1] Wang M,Xia YM,Wang WC,et al. MiR-1246 promotes metastasis of esophageal cancer by targeting GSK3 β [J]. Journal of Modern Oncology,2017,25(9):1369-1374. [王明,夏彦民,王文辰,等.miR-1246 通过靶向 GSK3 β 促进食管癌转移的机制 [J]. 现代肿瘤医学,2017,25(9):1369-1374.]
- [2] Huang H,Xu PF,Wei PF,et al. A meta-analysis of the benefits of radiotherapy combined with traditional Chinese medicine in the treatment of advanced esophageal cancer [J]. Journal of Modern Oncology,2017,25(9):1413-1417. [黄辉,徐鹏飞,魏鹏飞,等.放疗联合中药治疗中晚期食管癌生存获益的 Meta 分析 [J]. 现代肿瘤医学,2017,25(9):1413-1417.]
- [3] Dong HL. Expression of miR-543 in cervical cancer and its effect on invasion and metastasis of cervical cancer cells[J]. Journal of Modern Oncology,2018,26(2):178-182. [董红玲.miR-543 在宫颈癌中的表达及其对宫颈癌细胞侵袭与转移的影响[J]. 现代肿瘤医学,2018,26(2):178-182.]
- [4] Zheng B,Song CH,Teng Y,et al. Clinical study on the short-term efficacy of 125I radioactive seed implantation in the treatment of hypoxic tumors[J]. Chinese Journal of Radiation Oncology,2018,27(5):478-482. [郑报,宋程辉,滕云,等.125I 放射性粒子植入治疗乏氧肿瘤近期疗效的临床研究 [J]. 中华放射肿瘤学杂志,2018,27(5):478-482.]
- [5] You W,Wang ZX,Li J,et al. The value of tumor abnormal protein detection in the diagnosis of esophageal cancer[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine,2017,24(3):279-281,337. [尤玮,王泽新,李佳,等.肿瘤异常蛋白检测在食管癌诊断中的价值研究[J]. 标记免疫分析与临床,2017,24(3):279-281,337.]
- [6] Wu TH,Peng R,Peng HM,et al. Proliferation inhibition of lung cancer cells and preliminary identification of target genes by miR-451 [J]. Journal of Third Military Medical University,2015,37(18):1823-1829. [武天慧,彭睿,彭惠民,等.miR-451 对肺癌细胞的增殖抑制及其靶基因的初步鉴定[J]. 第三军医大学学报,2015,37(18):1823-1829.]