

miR-1 在淮安地区食管癌患者癌组织中的表达特征及其临床意义*

潘 晴,顾万娟,孙丽丽,杜希林[△](江苏省淮安市淮阴医院检验科 223300)

【摘要】 目的 探讨 miR-1 在淮安地区食管癌中的表达特征及其临床意义。**方法** 采用荧光定量 PCR 技术检测 34 例食管癌患者癌组织和癌旁组织中的 miR-1 相对表达水平,并分析其与肿瘤发生部位、肿瘤分期的关系。**结果** (1)淮安地区食管癌患者癌组织及癌旁组织中的 miR-1 相对表达量分别为(0.048 4±0.013 1)、(0.136 9±0.025 7),癌组织明显低于癌旁组织($t=3.065, P<0.01$);(2)食管鳞状细胞癌中 miR-1 表达水平与 TNM 分期有关,随 I、II 期呈逐渐下降的趋势,II 期患者癌旁组织中 miR-1 水平显著低于 I 期患者($t=2.422, P<0.05$);(3)食管癌 miR-1 表达水平与发生部位有关,食管上段及中段癌组织 miR-1 表达水平均显著低于癌旁组织($t=-2.522, P<0.05; t=-2.931, P<0.01$),而食管下段癌组织与癌旁组织中 miR-1 表达水平差异无统计学意义($t=2.251, P>0.05$)。**结论** miR-1 参与淮安地区食管患者食管癌的发生机制。

【关键词】 miR-1; 食管癌; 癌组织

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.07.015 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)07-0902-02

Expression characteristics of miR-1 in esophageal carcinoma tissue in Huaian area and its clinical significance* PAN Qing, GU Wan-juan, SUN Li-li, DU Xi-lin[△] (Department of Clinical Laboratory, Huaiyin Hospital, Huaian, Jiangsu 223300, China)

【Abstract】 Objective To investigate the expression characteristics of miR-1 in esophageal carcinoma (EC) in Huaian. area and its clinical significance. **Methods** The related expression level of miR-1 in EC tissue and para-carcinoma tissue from 34 patients with EC was detected by adopting the fluorescent quantitative PCR technology. The relation between the miR-1 level with tumor occurrence site and tumor classification was analyzed. **Results** (1) The related expression levels of miR-1 in EC tissue and para-carcinoma tissue in Huaian area were (0.048 4±0.013 1) and (0.136 9±0.025 7), the EC tissue was significantly lower than the para-carcinoma tissue($t=3.065, P<0.01$); (2) the miR-1 expression level in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) was associated with TNM classification, which showed the descending tend with stage I to stage II, the miR-1 level in para-carcinoma tissue of the stage II was significantly lower than that in stage I ($t=2.422, P<0.05$); (3) the miR-1 expression level was related with the occurrence site, the miR-1 expression level in EC tissue of esophageal upper and middle part was significantly lower than that in the para-carcinoma tissue ($t=-2.522, P<0.05; t=-2.931, P<0.01$). However, the difference in miR-1 expression level between EC tissues and para-carcinoma tissue in the lower part of esophagus had no statistical significance ($t=2.251, P>0.05$). **Conclusion** miR-1 might be involved in the generation pathogenesis of EC.

【Key words】 miR-1; esophageal carcinoma; carcinoma tissue

食管癌是我国最常见的消化道恶性肿瘤,其组织类型主要为鳞状细胞癌,发病呈现明显的地域特点,江苏淮安地区为高发区之一,位居该地区恶性肿瘤首位^[1]。近年来,微小 RNA(miRNA)在恶性肿瘤发病过程中的作用逐渐受到重视^[2],研究报告 miR-1 食管癌细胞株中呈低表达^[3],本文探讨了 miR-1 在淮安地区食管癌组织中的表达特征。

1 资料与方法

1.1 一般资料 长期居住于淮安市区及周边地区的食管癌患者 34 例,男 27 例,女 7 例,年龄 49~73 岁,食管上段癌 4 例,中段 23 例,下段 7 例。所有患者均未行放/化疗,术中取切除的癌组织以及癌旁组织(距离癌组织 5 cm 左右)适量,迅速置于液氮中保存,用于后续的试验,所有患者均经组织学确诊,其中食管鳞状细胞癌(ESCC)32 例,基底细胞鳞状细胞癌 1 例,食管肉瘤样癌 1 例。ESCC 分期根据 2009 年食管癌国际

TNM 分期标准(第 7 版),0 期 1 例,Ⅰ期 19 例,Ⅱ期 14 例。
1.2 试剂 miRNeasy 总 RNA 抽提试剂购自德国 QIAGEN 公司,反转录试剂盒及 Taq Man MicroRNA Assay 购自美国 ABI 公司。
1.3 组织 miR-1 表达水平检测 采用 qRT-PCR 技术检测食管癌组织和癌旁组织中的 miR-1 表达量,简要过程如下:取 100 mg 左右组织置于 700 μL TRIzol 中匀浆(置冰上),提取总 RNA,步骤严格按照 miRNeasy 总 RNA 抽提试剂盒说明书,紫外分光光度仪测量 RNA 质量和浓度,使 OD260/OD280 在 1.8~2.0,反转录为 cDNA,作为模板,在 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)上检测 miR-1 表达。以 U6 snRNA 为内参照,探针和引物由 Life technologies 公司合成。利用 ABI 7500 Sytem SDS Software v1.3 软件分析溶解曲线,得到阈值循环数(Ct 值),应用 2^{-△Ct} 方法计算 miR-1 相对表达量,

* 基金项目:江苏省淮安市科技支撑计划资助项目(HAS2013107)。
作者简介:潘晴,女,大专,主管技师,主要从事检验工作。 △ 通讯作者,E-mail:XKH@njmu.edu.cn。

每个标本进行技术重复 3 次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,组间比较采用独立标本 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-1 在食管癌组织及癌旁组织中的表达 采用 qRT-PCR 技术检测 34 例食管癌患者癌组织及癌旁组织(图 1a)中的 miR-1 表达水平,发现 miR-1 在癌组织及癌旁组织中的相对表达量分别为(0.048 4±0.013 1)、(0.136 9±0.025 7)(图 1b),癌组织明显低于癌旁组织(*t*=3.065, *P*<0.01)。34 例患者中,癌组织 miR-1 表达水平与癌旁组织相差 2 倍以上的 23 例,相差 4 倍以上的 17 例;1 例基底细胞鳞状细胞癌癌组织 miR-1 相对表达量为 0.000 694,而癌旁组织为 0.030 925,相差 44 倍之多,1 例食管肉瘤样癌组织 miR-1 相对表达量为 0.001 972,而癌旁组织为 0.043 795,相差 22 倍(图 1c)。

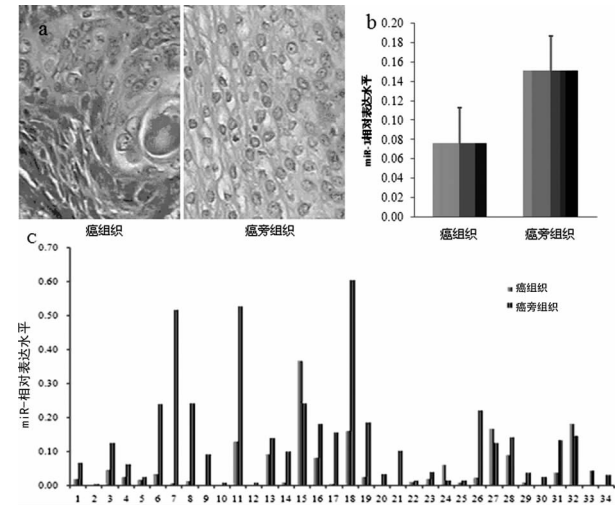


图 1 miR-1 在 34 例食管癌组织及癌旁组织中的表达

2.2 miR-1 表达水平与 ESCC TNM 分期的关系 miR-1 在各期 ESCC 癌组织及癌旁组织中的表达水平见表 1。原位癌癌组织中 miR-1 表达水平最高,随 I、II 期呈逐渐下降的趋势,但组间差异无统计学意义(*P*>0.05),但 II 期患者癌旁组织中 miR-1 水平显著低于 I 期患者(*t*=2.422, *P*<0.05)。

表 1 miR-1 在不同分期 ESCC 癌组织及癌旁组织的相对表达水平($\bar{x}\pm s$)

分期	<i>n</i>	miR-1 相对表达水平	
		癌组织	癌旁组织
0 期	1	0.182 1	0.145 9
I 期	19	0.052 8±0.090 6	0.186 0±0.184 9
II 期	14	0.035 6±0.049 5	0.075 3±0.067 3*

注:与癌组织比较,**P*<0.05。

表 2 不同部位食管癌 miR-1 表达特征($\bar{x}\pm s$)

肿瘤部位	<i>n</i>	miR-1 相对表达水平	
		癌组织	癌旁组织
食管上段	5	0.010 4±0.002 9	0.104 5±0.037 2**
食管中段	22	0.053 4±0.017 6	0.171 7±0.036 3*
食管下段	7	0.060 0±0.030 0	0.050 4±0.022 3

注:与癌组织比较,**P*<0.01;***P*<0.05。

2.3 miR-1 表达水平与食管癌发生部位的关系 食管上段、中段及下段癌 miR-1 表达特征见表 2,食管上段及中段癌组织

miR-1 表达水平均显著低于癌旁组织(*t*=−2.522, *P*<0.05; *t*=−2.931, *P*<0.01),而食管下段癌组织与癌旁组织中 miR-1 表达水平差异无统计学意义(*t*=2.251, *P*>0.05)。与食管中、下段癌比较,食管上段癌组织中 miR-1 表达水平较低,但差异无统计学意义(*P*>0.05)。

3 讨 论

miRNA 是一类具有在转录后水平调控基因表达功能的非编码小分子 RNAs,可通过调控致癌基因或抑癌基因影响肿瘤的发生、发展和转归过程。miRNAs 在 ESCC 发病机制中的作用近来逐渐受到重视,文献[4]研究表明,ESCC 癌组织中 miR-NA-21 表达水平显著高于癌旁组织,且与肿瘤的转移有关。Guo 等[5]发现北京地区 ESCC 患者癌组织中 miR-25、miR-424 及 miR-151 表达显著上调,miR-100、miR-99a、miR-29c 和 miR-140 表达显著下调。文献[6]采用 miRNA 芯片技术检测到 miR-1 在淮安地区 ESCC 患者癌组织中表达显著下降,ESCC 细胞株 KYSE 150 中 miR-1 表达水平亦显著低于正常食管上皮细胞株 Het-1A 细胞。以上结果表明,不同地区 ESCC 癌组织的 miRNA 表达谱存在差异。本研究采用荧光定量 PCR 技术检测淮安地区 34 例食管癌患者癌组织及癌旁组织中 miR-1 相对表达水平,进一步证实 miR-1 在淮安地区食管癌癌组织中表达下调的特征。

2008 年以及近年来的研究数据均显示,食管癌位居淮安地区恶性肿瘤首位,成为威胁当地居民健康和寿命最严重的疾病。虽然地方政府针对高危因素采取了改水、防霉、整治环境、改变居民生活习惯等措施进行干预,但该地区食管癌的发病率,尤其是病死率并没有明显改观,其原因可能与该疾病的确切发病机制尚未阐明有关[1]。本文研究发现该地区 34 例食管癌患者中,癌组织中 miR-1 表达水平与癌旁组织相差 2 倍以上 23 例,相差 4 倍以上的 17 例;1 例食管肉瘤样癌组织相差 22 倍,1 例基底细胞鳞状细胞癌相差 44 倍之多。在 ESCC 中,miR-1 表达水平尚与肿瘤的进展有关,癌组织中 miR-1 表达水平随 0、I、II 期呈逐渐下降的趋势,尤其是 II 期患者癌旁组织中 miR-1 表达水平显著低于 I 期患者,这些结果提示 miR-1 在淮安地区食管癌发生、发展过程中具有重要作用。

本文研究结果还显示,胸上段及中段食管癌癌组织与癌旁组织中 miR-1 表达差异显著,而胸下段食管癌组织与癌旁组织中的表达差异不明显,一般认为胸下段食管癌预后要好于中上段,miR-1 是否参与其中的机制尚待进一步研究。在对本研究对象的随访中,作者也发现,生存期大于 3 年的患者癌组织与癌旁组织中 miR-1 表达差异较小,但由于失访率偏高,未能做进一步统计学分析。

目前已证实,miR-1 在头颈部鳞癌、胃癌、肝癌、肺癌等多种肿瘤中均表达异常,主要通过下调 MET、PNP、TAGLN2、API-5、CXCR4 等与细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移相关的基因发挥抑癌作用[7]。本研究结果进一步丰富了 miR-1 参与人类肿瘤发病机制的认识,为 miR-1 作为抑癌基因用于肿瘤治疗提供了新的实验依据。

参考文献

[1] 李前文,袁光金,杜云翔,等.淮安地区食管癌流行特征及治疗情况分析研究[J].临床肿瘤学杂志,2012,17(2):142-145.
[2] Di Leva G,Croce CM. miRNA profiling of cancer[J]. Curr Opin Genet Dev,2013,23(1):3-11. (下转第 906 页)

分析显示,鲍曼不动杆菌分离率呈不断增加趋势,亚胺培南和美罗培南的耐药率从 2006 年的 12.1% 和 24.1% 上升至 2011 年的 83.1% 和 83.5%。Dae 等^[8]对 253 株鲍曼不动杆菌进行分析,其中 208 例(占 82.5%)对碳青霉烯类抗菌药物产生耐药,亚胺培南和美罗培南耐药率高达 80.2% 和 81.8%。2013 年 CHINET 显示,鲍曼不动杆菌对多黏菌素 B 的耐药率(<1%)最低,其次为 SAM(36.4%),亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 62.8% 和 59.4%^[4]。本次药敏试验结果显示,SAM 的耐药率最低为 29.3%,其余抗菌药物耐药率在 69.6%~100.0%,提示鲍曼不动杆菌耐药形势严峻。由于 MicroScan WalkAway 96 Plus 全自动微生物鉴定/药敏测试系统中暂无对多黏菌素 B 的药物敏感性试验,本实验并未获得鲍曼不动杆菌对多黏菌素 B 的耐药率。

消毒是目前预防和控制医院感染的主要方法和手段。《中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识》指出:鲍曼不动杆菌医院感染防控中,应加强环境清洁与消毒^[9]。然而,同抗菌药物的使用一样,细菌对消毒剂也可产生抗性。一般认为,细菌对消毒剂的抗性是指对消毒剂常用浓度不再敏感的菌株出现,或是指在能杀灭或抑制绝大部分该种细菌的消毒剂浓度下出现不能被杀灭或抑制菌株的现象^[10]。但细菌介导消毒剂抗性的具体机制尚不十分清楚。近年来临床使用的消毒剂有多种,季铵盐类消毒剂如苯扎溴铵(新洁尔灭)、醋酸氯己定等便是其中之一。早在 1951 年,Lowbury 就发现铜绿假单胞菌对季铵盐类化合物有耐受现象。目前已报道的季铵盐类消毒剂耐药基因有: qacA、qacB、qacC、qacE、qacEΔ1、qacF、qacG、qacH、qacJ,其中 qacEΔ1 是 qacE 的缺失型,是 I 类整合子的一部分,由整合子介导,表达细菌多种化合物外排泵,可被革兰阴性菌广泛获取^[11]。目前关于鲍曼不动杆菌耐消毒剂基因的报道主要集中在对 qacEΔ1 的研究上,但世界各地报道的携带率差异较大。本次研究即对泸州地区多重耐药鲍曼不动杆菌的 qacEΔ1 基因携带率进行调查,结果显示,56 株多重耐药鲍曼不动杆菌中共检出 50 株 qacEΔ1 阳性标本,携带率高,为 89.3%。低于国内学者陈辉英^[12]对 20 株从重症监护室患者分离出的耐药性鲍曼不动杆菌中,耐消毒剂基因 qacEΔ1 阳性携带率为 100%,高于美国 Taitt 等^[13]在对 97 株临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌进行分析时,检出 44 株携带 qacEΔ1 基因,携带率为 45.36%。与伊朗 Mahzounieh 等^[14]在对从烧伤患者分离出的多重耐药鲍曼不动杆菌研究分析中发现,其耐消毒剂基因 qacEΔ1 阳性携带率高达 80.00% 相一致。

综上所述,加强对多重耐药鲍曼不动杆菌的耐药性监测及对消毒剂抗性进行分析,对指导医院科学合理使用抗菌药物及消毒剂具有重要意义。

参考文献

[1] Munoz-Price LS, Weinstein RA. Acinetobacter infection

(上接第 903 页)

- [3] 蒋森,付海龙,徐广峰,等. Has-miR-1 在人食管癌细胞株中的表达及生物信息学分析[J]. 山东医药,2010,52(43):32-34.
- [4] Hiyoshi Y, Kamohara H, Karashima R, et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(6):1915-1922.
- [5] Guo Y, Chen Z, Zhang L, et al. Distinctive MicroRNA Profiles Relating to Patient Survival in Esophageal Squamous Cell Carcinoma[J]. Cancer Res, 2008, 68(1):26-33.

[J]. N Engl J Med, 2008, 358(12):1271-1281.

- [2] Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, et al. Global spread of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii [J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(2):233-238.
- [3] 俞云松. 多耐药鲍曼不动杆菌-21 世纪革兰阴性菌的“MRSA”[J]. 中华临床感染病杂志, 2009, 2(2):65-68.
- [4] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5):365-374.
- [5] 苏青, 范琳, 于景云. 鲍曼不动杆菌的临床分布及耐药性监测[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(1):80-82.
- [6] 孙静娜, 刘泽世, 王国欣, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌的临床分布及其外排泵基因型分析[J]. 山东医药, 2014, 54(43):22-24.
- [7] 张樱, 杨继勇, 叶丽艳, 等. 连续 18 年的鲍氏不动杆菌耐药变迁及不同来源分布[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(6):1433-1435.
- [8] Dae HK, Ji YC, Hae WK, et al. Spread of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Global Clone 2 in Asia and AbaR-Type Resistance Islands [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(11):5239-5246.
- [9] 陈佰义, 何礼贤, 胡必杰, 等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中国医药科学, 2012, 2(8):3-8.
- [10] 林辉, 郑剑. 铜绿假单胞菌对消毒剂抗药性的研究进展[J]. 中国消毒学杂志, 2007, 24(3):269-271.
- [11] Kucken D, Feucht H, Kaulfers P. Association of qacE and qacEΔ1 with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria[J]. FEMS Microbiol Lett, 2000, 183(1):95-98.
- [12] 陈辉英. 鲍氏不动杆菌消毒剂耐药基因 qacEΔ1 的检测[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(6):1429-1430.
- [13] Taitt CR, Leski TA, Stockelman MG, et al. Antimicrobial resistance determinants in Acinetobacter baumannii isolates taken from military treatment facilities[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(2):768-781.
- [14] Mahzounieh M, Khoshnood S, Ebrahimi A, et al. Detection of Antiseptic-Resistance Genes in Pseudomonas and Acinetobacter spp. Isolated From Burn Patients [J]. Jundishapur J Nat Pharm Prod, 2014, 9(2):15402.

(收稿日期:2015-08-22 修回日期:2015-12-10)

- [6] Fu HL, Wu de P, Wang XF, et al. Altered miRNA expression is associated with differentiation, invasion, and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in patients from Huaian, China [J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 67(2):657-668.
- [7] Nohata N, Sone Y, Hanazawa T, et al. miR-1 as a tumor suppressive microRNA targeting TAGLN2 in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2011, 2(1/2):29-42.

(收稿日期:2015-10-01 修回日期:2015-12-15)