

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.08.029

miR-34a 与 PD-1、PD-L1 在膀胱癌中的临床意义^{*}

李俊朋, 乔庆东, 张琳, 葛玉坤, 谢海峰[△]

河南省新乡市中心医院泌尿外科, 河南新乡 453000

摘要:目的 探讨微小核糖核酸 34a(miR-34a)与程序性细胞死亡受体 1(PD-1)、程序性细胞死亡配体 1(PD-L1)在膀胱癌中的临床意义。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月该院收治的 45 例膀胱癌患者作为研究对象。比较 miR-34a、PD-1、PD-L1 在膀胱癌中的表达及其与临床病理参数的关系,以及 miR-34a 表达与 PD-1、PD-L1 的相关性。**结果** 不同年龄、肿瘤最大径、病理分级的膀胱癌患者 miR-34a 低表达和高表达分布情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的膀胱癌患者 miR-34a 低表达占比高于高表达,有淋巴结转移的膀胱癌患者 miR-34a 低表达占比低于高表达,差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同年龄、肿瘤最大径、TNM 分期,以及有无淋巴结转移的膀胱癌患者 PD-1 阳性表达和阴性表达分布情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);病理分级为高级别的膀胱癌患者 PD-1 阳性表达占比高于阴性表达,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同年龄、肿瘤最大径、病理分级,以及有无淋巴结转移的膀胱癌患者 PD-L1 阳性表达和阴性表达分布情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的膀胱癌患者 PD-L1 阳性表达占比高于阴性表达,差异有统计学意义($P<0.05$)。miR-34a 表达与 PD-L1 呈负相关($r=-0.725, P<0.05$),与 PD-1 无关($r=0.146, P>0.05$)。**结论** 膀胱癌患者 miR-34a 的表达水平越高,PD-L1 则呈低表达,可通过 miR-34a 的表达情况对膀胱癌患者作出早期诊断、临床病理分级等,提前对高危人群进行筛选,帮助患者早期进行对应治疗,改善其预后。

关键词:膀胱癌; 程序性细胞死亡受体 1; 程序性细胞死亡配体 1; 微小核糖核酸 34a

中图法分类号:R737.14

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)08-1147-03

膀胱癌是指原发于膀胱的恶性肿瘤,最常见膀胱肿瘤的病理类型为尿路上皮癌,这种膀胱癌发病率居泌尿系恶性肿瘤的第 1 位,是非常常见的一种泌尿系统恶性肿瘤,早期症状是血尿,血尿可能间断出现。程序性细胞死亡受体 1(PD-1)、程序性细胞死亡配体 1(PD-L1)是免疫反应中极其重要的协同共刺激分子,在肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用。有学者认为,PD-1、PD-L1 通路是逆转肿瘤细胞免疫逃逸和恢复抗癌免疫应答治疗的重要靶点^[1]。微小核糖核酸(miRNA)是一种小 RNA,其通过与 mRNA 互补配对结合,促进 mRNA 降解,调控靶基因表达,从而调控各种生命活动^[2]。本研究探讨膀胱癌患者 miR-34a 与 PD-1、PD-L1 的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月本院收治的 45 例膀胱癌患者作为研究对象,其中男 26 例,女 19 例;年龄 20~85 岁,平均(71.31±6.75)岁。纳入标准:(1)符合《新编常见恶性肿瘤诊治规范》诊断标准的患者;(2)精神状态正常的患者;(3)行膀胱癌切除术且切缘未见癌细胞浸润的患者。排除标准:(1)合并肝、肾功能不全的患者;(2)合并免疫系统的疾病的患者;(3)临床资料不完善的患者;(4)长期使用

免疫抑制剂治疗的患者;(5)合并其他恶性肿瘤的患者;(6)合并呼吸系统疾病的患者。所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会审批批准。

1.2 方法 采用 SYBRGreenPCRmasterMix 试剂盒进行实时荧光定量聚合酶链反应。miR-34a 引物序列设计如下:上游引物为 5'-GCAGATCTGGGGTGATTCA TCG-3';下游引物为 5'-GCATCGATGTGCATGCT TGT-3'。冰浴中配制 20 μL 聚合酶链反应体系,建立聚合酶链反应产物扩增曲线和溶解曲线。采用免疫组织化学染色法检测 PD-1 和 PD-L1 水平,将组织切片逐步进行二甲苯脱蜡和梯度乙醇水化,柠檬酸缓冲液进行组织抗原修复,冷却后滴加过氧化氢消除内源性过氧化物酶活性;随后滴加 PD-1 一抗(1:200 稀释)或 PD-L1 一抗(1:50 稀释)和二抗。二氨基联苯胺染色、脱水,中性树胶封片。将染色后的病理切片置于 400 倍视镜下,PD-1 和 PD-L1 定位于细胞膜上,随机选择 10 个视野,观察细胞阳性表达情况,计算出被染色阳性细胞的百分比。

1.3 观察指标 (1)对 miR-34a 在膀胱癌中的表达及与临床病理参数的关系进行比较;(2)对 PD-1 在膀胱癌中的表达及与临床病理参数的关系进行比较;

^{*} 基金项目:2020 年度河南省医学科技攻关计划联合共建立项项目(LHGJ20200943)。

[△] 通信作者,E-mail:haifeng75@126.com。

(3)对 PD-L1 在膀胱癌中的表达及与临床病理参数的关系进行比较;(4)比较 miR-34a 与 PD-1、PD-L1 的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析处理。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;采用 Pearson 相关进行相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同病理参数膀胱癌患者 miR-34a 高表达和低表达分布情况比较 癌旁正常组织 miR-34a mRNA 表达水平为 (4.21 ± 0.35) ,明显高于膀胱癌组织的 (1.51 ± 0.23) ,差异有统计学意义($t = 43.247, P < 0.05$)。不同年龄、肿瘤最大径、病理分级的膀胱癌患者 miR-34a 低表达和高表达分布情况比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的膀胱癌患者 miR-34a 低表达占比高于高表达,有淋巴结转移的膀胱癌患者 miR-34a 低表达占比低于高表达,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同病理参数膀胱癌患者 miR-34a 高表达和低表达分布情况比较[n(%)]

病理参数	<i>n</i>	miR-34a 高表达	miR-34a 低表达	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)				0.040	>0.05
<70	20	11(55.00)	9(45.00)		
≥70	25	13(52.00)	12(48.00)		
肿瘤最大径(cm)				0.134	>0.05
<2	24	15(62.50)	9(37.50)		
≥2	21	12(57.14)	9(42.86)		
TNM 分期(期)				13.878	<0.05
I	23	18(78.26)	5(21.74)		
Ⅱ~Ⅲ	22	5(22.73)	17(77.27)		
病理分级				0.161	>0.05
低级别	24	14(58.33)	10(41.67)		
高级别	21	11(52.38)	10(47.62)		
淋巴结转移				4.377	<0.05
无	25	11(44.00)	14(56.00)		
有	20	15(75.00)	5(25.00)		

2.2 不同病理参数膀胱癌患者 PD-1 阴性表达和阳性表达分布情况比较 不同年龄、肿瘤最大径、TNM 分期,以及有无淋巴结转移的膀胱癌患者 PD-1 阳性表达和阴性表达分布情况比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);病理分级为高级别的膀胱癌患者 PD-1 阳性表达占比高于阴性表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同病理参数膀胱癌患者 PD-L1 阴性表达和阳

性表达分布情况比较 不同年龄、肿瘤最大径、病理分级,以及有无淋巴结转移的膀胱癌患者 PD-L1 阳性表达和阴性表达分布情况比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的膀胱癌患者 PD-L1 阳性表达占比高于阴性表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 不同病理参数膀胱癌患者 PD-1 阴性表达和阳性表达分布情况比较[n(%)]

病理参数	<i>n</i>	PD-1 阴性表达	PD-1 阳性表达	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)				0.005	>0.05
<70	20	7(35.00)	13(65.00)		
≥70	25	9(36.00)	16(64.00)		
肿瘤最大径(cm)				0.230	>0.05
<2	24	12(50.00)	12(50.00)		
≥2	21	9(42.86)	12(57.14)		
TNM 分期(期)				0.551	>0.05
I	23	13(56.52)	10(43.48)		
Ⅱ~Ⅲ	22	10(45.45)	12(54.55)		
病理分级				9.244	<0.05
低级别	24	14(58.33)	10(41.67)		
高级别	21	3(14.29)	18(85.71)		
淋巴结转移				0.005	>0.05
有	25	11(44.00)	14(56.00)		
无	20	9(45.00)	11(55.00)		

表 3 不同病理参数膀胱癌患者 PD-L1 阴性表达和阳性表达分布情况比较[n(%)]

病理参数	<i>n</i>	PD-L1 阴性表达	PD-L1 阳性表达	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)				0.040	>0.05
<70	20	9(45.00)	11(55.00)		
≥70	25	12(48.00)	13(52.00)		
肿瘤最大径(cm)				0.275	>0.05
<2	24	11(45.83)	13(54.17)		
≥2	21	8(38.10)	13(61.90)		
TNM 分期(期)				9.911	<0.05
I	23	16(69.57)	7(30.43)		
Ⅱ~Ⅲ	22	5(22.73)	17(77.27)		
病理分级				0.192	>0.05
低级别	24	13(54.17)	11(45.83)		
高级别	21	10(47.62)	11(52.38)		
淋巴结转移				0.161	>0.05
有	25	14(56.00)	11(44.00)		
无	20	10(50.00)	10(50.00)		

2.4 miR-34a 表达与 PD-1、PD-L1 的相关性 miR-34a 表达与 PD-L1 呈负相关($r = -0.725, P < 0.05$), 与 PD-1 无关($r = 0.146, P > 0.05$)。

3 讨论

膀胱癌是指膀胱内细胞的恶性过度生长,最常见的过度生长位于膀胱腔内,也就是膀胱的黏膜上皮。人体内空腔脏器表面通常由上皮细胞构成,并且每个脏器均有自己的一类上皮细胞,其中膀胱的黏膜上皮细胞称为尿路上皮细胞,由它生成的癌称为尿路上皮癌,占有所有膀胱癌的 90%~95%,是最常见的一类膀胱癌,其他不太常见的膀胱癌有鳞状细胞癌和腺癌。对于膀胱癌,虽然关于其预后及肿瘤标志物水平的研究较多,但是仍以膀胱肿瘤危险因素评分表格作为预后的判断标准,该方法虽然可以预测不同群组肿瘤的复发率,但对于相同群组患者的个体化预测仍不足^[3]。

随着肿瘤免疫学研究的深入,免疫逃逸被认为是肿瘤发生的主要机制之一^[4]。肿瘤细胞可凭借诸如对自身表面抗原修饰、募集抑制性免疫细胞及分子改变肿瘤组织周围微环境等途径逃避机体免疫系统的监控、识别与攻击而继续分裂生长,这就是肿瘤的免疫逃逸^[5]。肿瘤的免疫反应是肿瘤发生和发展中的重要过程,脱离机体免疫监控后肿瘤的恶性生物学行为会进一步加快,从而促进肿瘤增殖、侵袭和转移。因此,了解肿瘤的免疫逃逸机制对于肿瘤的治疗尤其是免疫治疗具有重要作用^[6-7]。肿瘤免疫逃逸的机制主要与肿瘤细胞自身修饰变化和肿瘤免疫微环境改变有关。通过修饰和变化机制,肿瘤细胞自身可增强逃避免疫监视及攻击能力。PD-1、PD-L1 均是一种重要的免疫抑制分子,是肿瘤细胞中调控免疫逃逸的重要细胞因子,可通过与机体免疫 T 细胞进行特异性结合,从而降低 T 淋巴细胞活性,致使膀胱癌患者免疫功能下降^[8]。miR-34a 基因含有 2 个外显子,且 2 个外显子之间的内含子长度约为 30 kb。有研究发现,miR-34a 在各类恶性肿瘤组织中均有异常表达,并且可以调控一些有关的基因以参与恶性肿瘤的发展过程^[9]。miR-34a 在膀胱癌组织中呈明显低表达,并且与肿瘤大小、大体分型、组织学分型、TNM 分期、浸润深度、淋巴结是否转移、远处是否转移及 1 年内复发、死亡情况等密切相关。本研究结果显示,TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的膀胱癌患者 miR-34a 低表达占比高于高表达,有淋巴结转移的膀胱癌患者 miR-34a 低表达占比低于高表达;病理分级为高级别的膀胱癌患者 PD-1 阳性表达占比高于阴性表达;TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的膀胱癌患者 PD-L1 阳性表达占比高于阴性表达。提示膀胱癌患者的 miR-34a 低表达和 PD-1、PD-L1 的高表达与膀胱癌的发生、发展、转移及预后密切相关。分析其原因可能是随着 miR-34a 表达降低,膀胱肿瘤的大小及恶性程度均有增加的趋势,而膀胱肿瘤大小、恶性程度是影响膀胱癌复发及死亡等预后情

况的重要因素。景琼等^[10]研究发现,与癌组织比较,其旁边的正常组织 miR-34a 呈高表达,而 PD-L1 则呈低表达,经荧光素酶报告基因试验证实二者具有靶向调控关系。此外,有学者通过细胞试验发现,上调胶质瘤细胞 miR-34a 的表达可靶向抑制 PD-L1 的表达,进而抑制瘤细胞增殖,促使其凋亡^[11-12]。本研究结果显示,miR-34a 表达与 PD-L1 呈负相关,提示膀胱癌患者机体 miR-34a 表达与 PD-L1 呈负向变化。

综上所述,膀胱癌患者 miR-34a 的表达越高,PD-L1 表达则越低,可通过 miR-34a 的表达情况,对膀胱癌作出早期诊断、临床病理分级等,提前对高危人群进行筛选,帮助患者进行及早的对应治疗,改善其预后。但本研究样本量不足,其具体调节机制还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 董利琴,骆文龙. PD-1/PD-L1 信号通路及其相关免疫疗法在头颈部肿瘤治疗中的研究进展[J]. 重庆医学,2021,50(3):524-528.
- [2] 李荣迪,李学东. 非编码 RNA 在膀胱癌中的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志,2020,34(6):565-570.
- [3] 谢平,张世昌,郑江. 膀胱癌相关肿瘤标志物的研究进展与临床应用[J]. 医学理论与实践,2020,33(7):1071-1072.
- [4] 吴高亮,周伟敏,齐雪亮,等. 脂多糖介导的 TLR4 信号通路在膀胱癌免疫逃逸中的作用及其机制[J]. 中国老年学杂志,2017,37(22):5528-5530.
- [5] 吴晖,刘大千,秦路峰,等. 低糖浓度耐受对膀胱肿瘤 T24 细胞细胞学行为及免疫逃逸的影响[J]. 精准医学杂志,2019,34(2):147-151.
- [6] 刘春萍,曾星. 免疫疗法抗膀胱癌的研究进展[J]. 医学研究杂志,2017,46(12):11-14.
- [7] 张琳,平秦裕,杨萌,等. 膀胱癌免疫治疗的研究进展[J]. 山东医药,2021,61(19):100-103.
- [8] TAKEUCHI A, SHIOTA M, TATSUGAMI K, et al. BCG immunotherapy against non-muscle invasive bladder cancer: recent results, current studies and future perspectives[J]. Fukuoka Igaku Zasshi, 2016, 107(1): 8-11.
- [9] 张文君,戈伟,罗卫. PD-1/PD-L1 信号通路在恶性肿瘤免疫治疗中的作用[J]. 中国医药导报,2016,13(12):57-60.
- [10] 景琼,吴金平,王光亚. miR-34a、PD-1、PD-L1 在膀胱癌中的表达及其与预后的相关性分析[J]. 医学综述,2019,25(20):4133-4138.
- [11] 闫凤彩,金木兰,石峰,等. PD-1/PD-L1 在恶性肿瘤中的表达及研究进展[J]. 诊断病理学杂志,2019,26(1):61-65.
- [12] 殿泉,冯立文,乌仁高娃. PD-L1 和 miR-34a 在三阴乳腺癌中的表达及相关性研究[J]. 诊断病理学杂志,2020,27(1):38-41.