

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.003

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.003>

## 结肠癌中 miR-1231 表达变化的临床意义

顾园<sup>1</sup>, 龚攀<sup>2</sup>

(鄂东医疗集团黄石市中心医院, 湖北理工学院附属医院 1. 消化内科; 2. 肿瘤外科, 湖北 黄石 435000)

**[摘要]** 目的: 观察结肠癌患者组织标本中miR-1231表达的改变, 并探讨其相关的临床意义。方法: 取鄂东医疗集团黄石市中心医院2016年2月至2017年8月收治的结肠癌患者94例, 取癌旁非肿瘤组织作为对照。采用qRT-PCR检测miR-1231的表达。分析miR-1231表达的变化与各临床指标间的相关性。结果: 结肠癌组织中miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 $0.146 \pm 0.018$ , 显著低于对照组织的 $0.282 \pm 0.047$ ( $P < 0.01$ )。miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值结肠癌患者的性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小无相关性( $P > 0.05$ )。miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在TNM临床III, IV期患者为 $0.125 \pm 0.014$ , 显著低于I, II期患者的 $0.161 \pm 0.028$ ( $P < 0.05$ )。miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在中、低分化患者为 $0.131 \pm 0.015$ , 显著低于高分化的 $0.174 \pm 0.032$ ( $P < 0.05$ )。miR-1231值在淋巴结有转移患者为 $0.125 \pm 0.014$ , 显著低于无转移的 $0.154 \pm 0.020$ ( $P < 0.05$ )。Pearson相关分析显示miR-1231表达与患者的临床TNM分析( $r = -0.361$ ,  $P < 0.05$ )、肿瘤分化( $r = -0.342$ ,  $P < 0.05$ )、淋巴结是否转移( $r = -0.354$ ,  $P < 0.05$ )呈负相关。结论: 结肠组织中miR-1231低表达, 其表达变化可能参与结肠癌的发生、发展、侵袭和转移过程。

**[关键词]** 结肠癌; miR-1231; qRT-PCR

## Clinical significance of changing in miR-1231 expression in colon cancer

GU Yuan<sup>1</sup>, GONG Pan<sup>2</sup>

(1. Department of Gastroenterology; 2. Department of Oncology Surgery, Affiliated Hospital of Hubei Polytechnic University, Huangshi Central Hospital of Edong Healthcare Group, Huangshi Hubei 435000, China)

**Abstract** **Objective:** To detect miR-1231 expression in colon cancer and explore its clinical significance. **Methods:** Ninety-four patients of colon cancer were enrolled in this study. The non-cancerous tissues beside the tumor were taken as controls. QRT-PCR analysis was used to detect miR-1231 expression. **Results:** MiR-1231 expression in the colon cancer tissue was  $0.146 \pm 0.018$ , which was lower than that of  $0.282 \pm 0.047$  in the control tissue ( $P < 0.01$ ). There was no significant correlation of miR-1231 with colon cancer patients' gender, age, tumor location, and tumor size ( $P > 0.05$ ). MiR-1231 expression in III and IV stage group was  $0.125 \pm 0.014$ , which was lower than that

收稿日期 (Date of reception): 2017-11-08

通信作者 (Corresponding author): 龚攀, Email: gongpan82@163.com

基金项目 (Foundation item): 湖北省卫生和计划生育委员会2015–2016年度科研立项基金一般项目(2015MB180)。This work was supported by the Project of Hubei Provincial 2015–2016 Health and Family Planning Commission of Science and Research Fund, China (2015MB180)。

of  $0.161 \pm 0.028$  in I and II stage group ( $P < 0.05$ ). MiR-1231 expression in median and low differentiation group was  $0.131 \pm 0.015$ , which was lower than that of  $0.174 \pm 0.032$  in well differentiation group ( $P < 0.05$ ). MiR-1231 expression in lymph node metastasis group was  $0.125 \pm 0.014$ , which was lower than that of  $0.154 \pm 0.020$  in non-lymph node metastasis group ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that the expression of miR-1231 was negatively correlated with clinical TNM analysis ( $r = -0.361, P < 0.05$ ), tumor differentiation ( $r = -0.342, P < 0.05$ ), lymph node metastasis ( $r = -0.354, P < 0.05$ ). **Conclusion:** Low expression of miR-1231 is found in colon cancer, which may be related to clinical stages, lymph node metastasis, and tumor differentiation of bladder cancer.

**Keywords** colon cancer; miR-1231; qRT-PCR

结肠癌是消化道常见的恶性肿瘤，随着我国工业化步伐、环境污染以及老龄化进程的加快，近年来我国结肠癌的发病率和病死率呈缓慢上升趋势<sup>[1]</sup>。微小RNA(miRNA)是一类不参与蛋白质编码的短序列，内源性小片段RNA。近期的研究<sup>[2]</sup>显示miRNA虽然不编码蛋白，但其可以调节编码RNA，参与到细胞的增殖、分化、合成代谢过程中，甚至可以发挥癌基因或抑癌基因功能，对肿瘤细胞的分化、增殖起到调控作用。miRNA寡核苷酸基因芯片杂交分析<sup>[3]</sup>已发现了一些与结肠癌密切相关的miRNA；细胞学研究<sup>[4]</sup>显示miR-1231在结肠癌干细胞中低表达，提示miR-1231有可能在结肠癌中发挥抑癌基因的作用。本研究旨在检测结肠癌患者组织标本中miR-1231表达的改变，并探讨其在结肠癌中的临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

取鄂东医疗集团黄石市中心医院2016年2月至2017年8月收治的结肠癌患者94例，病例均经病理确诊。另取离肿瘤边缘>5 cm的正常组织作为癌旁对照正常肠黏膜组织。排除标准：曾进行放射治疗(以下简称放疗)、化学治疗(以下简称化疗)、生物免疫治疗等干扰实验结果的治疗方式，伴发其他器官原发肿瘤。本研究获得鄂东医疗集团黄石市中心医院伦理委员会批准，并与家属签署知情同意书。其中男52例，女42例，年龄31~76( $60.42 \pm 11.53$ )岁；原发部位于左半结肠癌者43例，右半结肠癌者51例；肿瘤大小 $\geq 5$  cm者32例， $< 5$  cm者62例；TNM分期I期21例，II期34例，III期17例，IV期22例；高分化61例，中分化19例、低分化14例；淋巴结无转移患者69例、有转移患者25例。

### 1.2 主要试剂和仪器

Trizol试剂、RNA提取试剂盒、RNasey mini kit

RNA试剂盒、反转录试剂盒及PCR反应MIX购自美国Invitrogen公司，SYBR Green、引物 hs-miR-1231 和内参U6购自宝生物工程(大连)有限公司。qRT-PCR仪为美国Roche公司产品。

### 1.3 miR-1231 表达的检测

每例标本取50 mg组织，用液氮研磨法将组织磨成粉末，移入1.5 mL EP管中，离心沉淀加入1 mL TRIzol，提取组织总RNA，取40 ng总RNA使用qRT-PCR试剂盒反转录出cDNA。以cDNA为模板进行qRT-PCR扩增，在结肠癌及癌旁非癌组织miR-1231的表达量。扩增条件：94 °C预变性4 min；95 °C变性60 s，58 °C退火30 s，72 °C延伸15 s，30个循环；72 °C延伸5 min。根据标准溶解曲线计算目的基因的表达量，表示为 $2^{-\Delta Ct}$ 。每个样本设置3个复孔，实验重复3次，取平均值。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS 16.0统计学软件进行分析，采用K-S检验进行计量资料的正态分布检验， $P > 0.05$ 符合正态分布，正态分布的计量资料采用配对t检验，采用Pearson相关分析分析各指标的相关性，检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-1231 在结肠癌组织中的表达

结肠癌组织中miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 $0.146 \pm 0.018$ ，对照组织中miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 $0.282 \pm 0.047$ ，结肠癌组织中 $2^{-\Delta Ct}$ 值显著低于对照组织，差异有统计学意义( $t = 11.24, P < 0.01$ )。

### 2.2 miR-1231表达变化与各临床指标的相关性分析

miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值结肠癌患者的性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小无显著相关性( $P > 0.05$ )。miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在TNM临床III，

IV期患者为 $0.125 \pm 0.014$ , 显著低于I, II期患者的 $0.161 \pm 0.028$ ( $P < 0.05$ )。miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在中、低分化患者为 $0.131 \pm 0.015$ , 显著低于高分化的 $0.174 \pm 0.032$ ( $P < 0.05$ )。miR-1231值在淋巴结有转移患者为 $0.125 \pm 0.014$ , 显著低于无转移的 $0.154 \pm 0.020$ ( $P < 0.05$ )。Pearson相关分析显示miR-1231表达与患者的临床TNM分析( $r = -0.361$ ,  $P < 0.05$ )、肿瘤分化( $r = -0.342$ ,  $P < 0.05$ )、淋巴结是否转移( $r = -0.354$ ,  $P < 0.05$ )呈负相关。

**表1 MiR-1231表达变化与各临床指标的相关性分析**

**Table 1 Correlation between miR-1231 expression changes and various clinical indicators**

临床指标	n	miR-1231表达量	t	P
性别			0.372	0.643
男	52	$0.147 \pm 0.022$		
女	42	$0.143 \pm 0.016$		
年龄/岁			0.375	0.641
$\geq 60$	60	$0.144 \pm 0.018$		
<60	34	$0.150 \pm 0.024$		
原发部位			0.365	0.651
左半结肠癌	43	$0.148 \pm 0.020$		
右半结肠癌	51	$0.145 \pm 0.017$		
肿瘤大小/cm			0.384	0.633
$\geq 5$	32	$0.140 \pm 0.013$		
<5	62	$0.149 \pm 0.019$		
临床分期			2.614	0.016
I, II	55	$0.161 \pm 0.028$		
III, IV	39	$0.125 \pm 0.014$		
分化程度			2.623	0.014
中、低分化	61	$0.131 \pm 0.015$		
高分化	33	$0.174 \pm 0.032$		
淋巴结转移			2.521	0.036
无	69	$0.154 \pm 0.020$		
有	25	$0.125 \pm 0.014$		

### 3 讨论

结肠癌的发生、发展需要一个过程, 结肠位置隐蔽, 患者就诊时往往已经发展到中、晚期,

病变如果能早期发现并切除, 患者可以获得好的预后<sup>[5]</sup>。miRNA是一类长度为19~25个核苷酸的内源性非编码小分子RNA, 能够通过与靶mRNA 3'端非翻译区(3'UTR)完全或不完全互补配对, 使靶mRNA直接发生降解或者翻译受阻, 从而在转录后水平负调控靶基因的表达, 差异基因芯片分析显示结肠癌中存在一些表达异常的miRNAs, 具有诊断、预测治疗反应及判断预后的价值<sup>[6]</sup>。miR-1231是一个最近新发现的miRNA, 张双鹤等<sup>[7]</sup>在乳腺癌差异表达microRNA的分析中发现miR-1231低表达; Zhou等<sup>[8]</sup>的研究发现miR-1231结合位点的变化与肝癌密切相关, Zheng等<sup>[9]</sup>的研究发现miR-1231可以加强E3泛素连接酶PRPF19的活性, 加速PTPN11蛋白的降解, 减少SRC-ERK原癌信号转导通路的激活。上述结果提示miR-1231在肿瘤中发挥着抗肿瘤活性。本研究使用qRT-PCR分析, 观察到与癌旁正常组织比较, miR-1231的 $2^{-\Delta Ct}$ 值在结肠癌组织中异常减低, 说明结肠癌组织miR-1231低表达。

肿瘤的恶性进展、侵袭和转移是一个复杂的过程, miRNA的异常参与其中<sup>[10]</sup>。本研究检测到TNM临床III, IV期结肠癌患者miR-1231的表达量显著低于I, II期患者, 病理低分级的结肠癌患者低于高分级的患者。同时发现有淋巴结转移的患者miR-1231的表达量显著低于无淋巴结转移的患者。上述结果提示在结肠癌中低表达miR-1231可能与结肠癌的临床分期、细胞分化、淋巴结转移等病理参数密切相关。肿瘤干细胞理论认为: 肿瘤干细胞是肿瘤远处转移和复发的主要原因, 其具有无限增殖、自我更新、多系分化、耐药性、高度致瘤性等干细胞特性。阎立昆等<sup>[4]</sup>的研究显示miR-1231可以抑制对结肠癌干细胞增殖和侵袭, 促进干细胞凋亡, 可能是低表达的miR-1231失去了对肿瘤干细胞的作用, 从而导致miR-1231表达与患者的临床TNM分析、肿瘤分化、淋巴结是否转移呈负相关。

总之, 结肠组织中miR-1231低表达, 其表达变化可能参与结肠癌的发生、发展、侵袭和转移过程, 但是miR-1231如何调控结肠癌细胞的死亡, 以及能否作为一个结肠癌的分子标志物还有待进一步的研究来阐明。

### 参考文献

- Cai Y, Xue M, Chen W, et al. Expenditure of hospital care on cancer

- in China, from 2011 to 2015[J]. Chin J Cancer Res, 2017, 29(3): 253-262.
2. Mohammadi A, Mansoori B, Baradaran B. The role of microRNAs in colorectal cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84: 705-713.
3. 靳革, 盛世宇, 孔林, 等. miRNA与大肠癌的关系研究[J]. 中西医结合心血管病杂志(电子版), 2017, 5(1): 106.
- JIN Ge, SHENG Shiyu, KONG Lin, et al. Study on the relationship between miRNA and colorectal cancer[J]. Cardiovascular Disease Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2017, 5(1): 106.
4. 阎立昆, 李伟, 姚建锋, 等. miR-1231对结肠癌干细胞增殖、凋亡和侵袭的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(45): 6746-6752.
- YAN Likun, LI Wei, YAO Jianfeng, et al. Effect of miR-1231 on proliferation, apoptosis and invasion of colon cancer stem cells[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2016, 20(45): 6746-6752.
5. 祝丹希, 孟祥军. miRNA与结肠癌化疗敏感性关系的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2016, 25(9): 965-967.
- ZHU Danxi, MENG Xiangjun. Advances on the researches of miRNA and chemotherapy sensitivity of colon cancer[J]. Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2016, 25(9): 965-967.
6. 张永锋, 郭长军, 谭永港, 等. 溃疡性结肠炎相关性结肠癌差异表达的miRNA的筛选研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2014, 22(2): 65-68.
- ZHANG Yongfeng, GUO Changjun, TAN Yonggang, et al. Screening of differentially expressed miRNA in ulcerative colitis related colorectal cancer[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion, 2014, 22(2): 65-68.
7. 张双鹤, 韩涛, 刘兆喆, 等. 筛选三阴型乳腺癌差异表达microRNA的临床转化研究[J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(6): 19-22.
- ZHANG Shuanghe, HAN Tao, LIU Zhaozhe, et al. A clinical conversion research on screening of differential microRNA expressions in TNBC[J]. Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2016, 28(6): 19-22.
8. Zhou C, Yu Q, Chen L, et al. A miR-1231 binding site polymorphism in the 3'UTR of IFNAR1 is associated with hepatocellular carcinoma susceptibility[J]. Gene, 2012, 507(1): 95-98.
9. Zheng J, Huang X, Tan W, et al. Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation[J]. Nat Genet, 2016, 48(7): 747-757.
10. 王伟东, 袁玉松, 何臻. 结肠癌发生、发展与miRNA分子机制相关研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(7): 169-171.
- WANG Weidong, YUAN Yusong, HE Qin. Progress in the study of the molecular mechanism of colon carcinogenesis and development with miRNA[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2015, 35(7): 169-171.

**本文引用:** 顾园, 龚攀. 结肠癌中miR-1231表达变化的临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(1): 12-15. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.003

**Cite this article as:** GU Yuan, GONG Pan. Clinical significance of changing in miR-1231 expression in colon cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(1): 12-15. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.003