

脑胶质瘤病人血浆 miR-9-3p 的变化及其与病人临床预后的关系

孙玉书 王 飞 王振飞 王选平 牟永平

【摘要】目的 探讨脑胶质瘤病人血浆 miR-9-3p 的变化及临床意义。**方法** 选取 2016 年 3 月 1 日至 2019 年 3 月 1 日收治的脑胶质瘤 42 例,另选 20 例同期健康查体者为对照,用 RT-PCR 法检测血浆 miR-9-3p 水平。42 例脑胶质瘤术后随访 24~60 个月,记录生存情况;以血浆 miR-9-3p 平均值为准,分为低表达和高表达。**结果** 脑胶质瘤病人血浆 miR-9-3p 水平明显降低($P<0.05$),多因素 Cox 分析显示,血浆 miR-9-3p 低表达是脑胶质瘤病人不良生存预后的独立危险因素($P<0.05$)。生存曲线分析显示,miR-9-3p 低表达脑胶质瘤病人中位总生存期较高表达病人明显缩短($P<0.05$)。**结论** 人脑胶质瘤血浆 miR-9-3p 表达下调,与病人不良生存预后密切相关。

【关键词】 脑胶质瘤;miR-9-3p;血浆水平;预后

【文章编号】 1009-153X(2022)08-0653-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; R 651.1*1

Relationship between plasma level of miR-9-3p and survival pronosis of patients with glioma

SUN Yu-shu¹, WANG Fei², WANG Zhen-fei³, WANG Xuan-ping³, MU Yong-ping³. 1. Department of Oncology, Affiliated People's Hospital of Inner Mongolia Medical University (Inner Mongolia Cancer Hospital), Hohhot 010020, China; 2. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010010, China; 3. Department of Tumor Molecular Diagnostic Laboratory, Affiliated People's Hospital of Inner Mongolia Medical University (Inner Mongolia Cancer Hospital), Hohhot 010020, China

【Abstract】 Objective To explore the relationship between plasma level of miR-9-3p and survival pronosis of patients with glioma. **Methods** The plasma level of miR-9-3p of 42 glioma patients and 20 health people (control group) were detected by real-time fluorescent quantitative PCR. The glioma patients were followed up for 24~60 months after operation, and their survival was recorded. According to the mean level of plasma miR-9-3p, the glioma patients were divided into low expression and high expression groups. **Results** The plasma level of miR-9-3p of glioma patients was significantly lower than control group ($P<0.05$). Multivariate Cox analysis showed that the low expression of plasma miR-9-3p was an independent risk factor for poor survival prognosis of glioma patients ($P<0.05$). Survival curve analysis showed that the median overall survival time of glioma patients in low expression group was significantly shorter than that of the glioma patients in high expression group ($P<0.05$). **Conclusions** The plasma miR-9-3p is down-regulated in human gliomas, Which is closely related to the poor survival prognosis of glioma patients.

【Key words】 Glioma; miR-9-3p; Plasma level; Prognosis

胶质瘤是成人颅内最常见的恶性肿瘤^[1]。近年来,胶质瘤的治疗主要依靠手术切除,并结合放疗和化疗的联合治疗,但脑胶质瘤具有高度侵袭性,术后容易复发,中位生存期仅 12 个月^[2]。因此,探讨脑胶质瘤的发病机制,寻找新的诊断和治疗方法显得尤为重要。微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类

长度 22~24 个核苷的非编码 RNA,在进化上高度保守,通过与靶基因 mRNA 3'-UTR 区域结合调控基因的表达,调节细胞分化、凋亡、细胞周期、增殖和分裂等^[3,4]。Yang 等^[5]研究发现,脑胶质瘤组织 miRNA 芯片差异表达谱中 miR-9-3p 表达下调。本文选取 42 例脑胶质瘤和 20 例健康体检者为对照,用 RT-PCR 法检测血浆 miR-9-3p 水平,分析血浆 miR-9-3p 水平与脑胶质瘤病人生存预后的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 3 月 1 日至 2019 年 3 月 1 日收治的脑胶质瘤 42 例,其中男 23 例,女 19 例;年龄 14~68 岁。另选 20 例同期健康查体者为对照,其中男 11 例,女 9 例;年龄 18~65 岁。本研究经内蒙古

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2022.08.009
基金项目:呼和浩特市科技局基金项目(kjjxm201701);内蒙古医科大学致远人才项目(ZY0202036)
作者单位:010020 呼和浩特,内蒙古医科大学附属人民医院暨内蒙古自治区肿瘤医院肿瘤内科(孙玉书),肿瘤分子诊断实验室(王振飞、王选平、牟永平);010010 呼和浩特,内蒙古医科大学附属医院神经外科(王 飞)
通讯作者:牟永平, E-mail: ypmu040@sina.com

医科大学伦理委员会批准,病人签署知情同意书。

1.2 术后随访 采用电话、微信、门诊等方式随访,随访时间为手术之日到死亡或末次随访时间至2021年3月1日。本文42例脑胶质瘤随访24~60个月,记录生存情况。

1.3 PCR检测血浆miR-9-3p水平 术前取静脉血2 ml,离心分离血浆备用。使用miRcute miRNA血清/血浆提取分离试剂盒(北京天根生化公司)提取血浆总RNA,测定总RNA浓度和纯度,置-80℃保存备用。使用增强型miRNA cDNA第一链合成试剂盒(北京天根生化公司)反转录为cDNA,应用miRcute (SYBR Green)增强型miRNA荧光定量检测试剂盒(北京天根生化公司)扩增,使用ABI公司7500系列实时荧光定量PCR仪进行扩增。扩增条件:95℃、15 min起始模板变性,然后94℃、20 s,64℃、30 s,5个循环,富集低丰度目标miRNA,94℃、20 s,PCR循环中模板变性;72℃、34 s退火、延伸;60℃、34 s收集荧光,40个循环。检测重复3次,取平均值。以U6为内参,应用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法量化分析。以血浆miR-9-3p平均值为准,分为低表达和高表达。miR-9-3p引物正义链5'-TCT TTG GTT ATC TAG CTG TAT GA-3',反义链5'-ATA CAG CTA GAT AAC CAA AGA TT-3'。

1.4 统计学方法 采用SPSS 25.0软件分析;定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;多因

素Cox比例回归风险模型分析生存预后影响因素;Kaplan-Meier生存曲线分析miR-9-3p水平与脑胶质瘤生存预后的关系;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 脑胶质瘤病人血浆miR-9-3p的变化 与对照组相比,脑胶质瘤病人血浆miR-9-3p水平明显下降($P<0.05$,图1)。

2.2 血浆miR-9-3p水平与脑胶质瘤病人临床特征的关系 脑胶质瘤病人血浆miR-9-3p与病人年龄、性别、肿瘤位置无明显相关性($P>0.05$),而与脑胶质瘤病理分级相关($P<0.05$)。见表1。

2.3 脑胶质瘤病人预后影响因素 多因素Cox回归分析显示,肿瘤病理分级Ⅰ~Ⅱ级($OR=0.026$;95% CI 0.002~0.366; $P=0.007$)、血浆miR-9-3p高表达($OR=0.047$;95% CI 0.004~0.502; $P=0.011$)的脑胶质瘤病人生存预后较好。

2.4 血浆miR-9-3p水平与脑胶质瘤病人生存期的关系 生存曲线分析显示,血浆miR-9-3p低表达脑胶质瘤病人中位总生存期较高表达脑胶质瘤病人明显缩短($P<0.05$,图2)。

3 讨论

miRNA既可作为抑癌基因下调癌基因活性,也可作为癌基因下调抑癌基因活性,参与人类肿瘤的

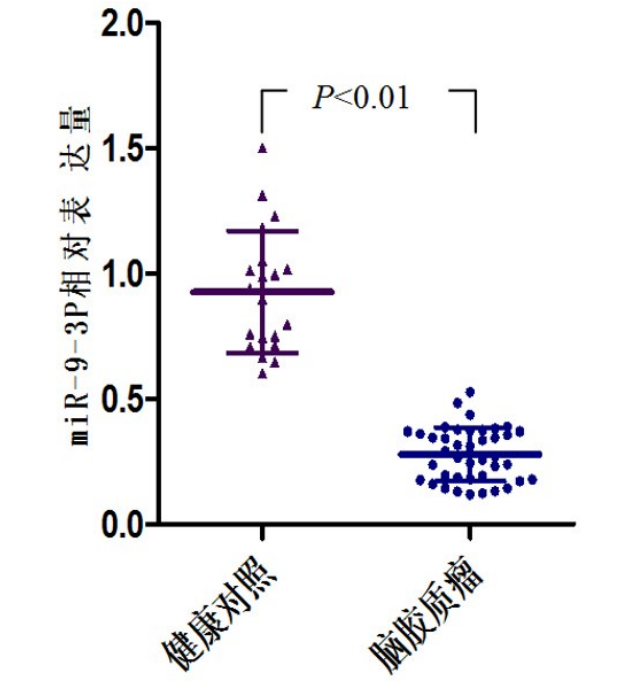


图1 脑胶质瘤病人血浆miR-9-3p水平明显降低

表1 血浆miR-9-3p水平与脑胶质瘤病人临床特征的关系

临床特征	例数(例)	血浆miR-9-3p水平	t/F 值	P 值
性别				
男	23	0.59±0.34	0.062	0.951
女	19	0.59±0.42		
年龄				
>45岁	21	0.29±0.10	0.725	0.473
≤45岁	21	0.27±0.11		
肿瘤部位				
额页	22	0.27±0.10	2.081	0.138
颞叶	11	0.27±0.09		
其他	9	0.31±0.14		
肿瘤类型				
星形	25	0.27±0.11	0.700	0.504
少突	9	0.32±0.13		
混合	8	0.27±0.65		
肿瘤病理分级				
Ⅰ~Ⅱ级	17	0.34±0.10	3.872	<0.001
Ⅲ~Ⅳ级	25	0.23±0.09		

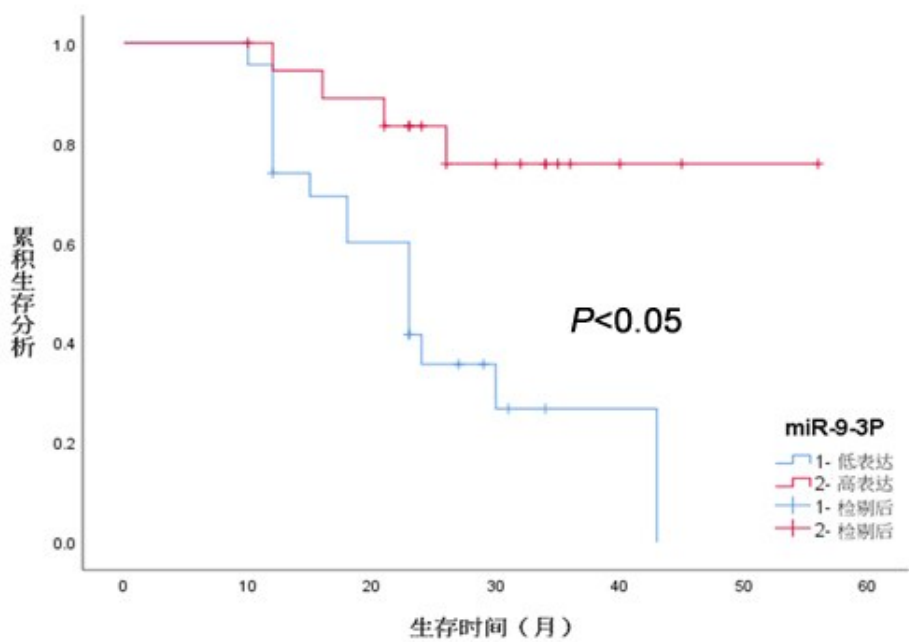


图2 生存曲线分析血浆miR-9-3p水平与脑胶质瘤病人生存期的关系

形成^[6]。miR-9-3p 定位于 15 号染色体 q26.1, 在多种肿瘤中异常表达。研究表明, 甲状腺髓样癌 miR-9-3p 表达上调, 靶向调控 BLCAP 抑制细胞凋亡, 促进肿瘤生长^[7]。但也有研究表明 miR-9-3p 具有抑制肿瘤生长的作用, 例如乳腺癌 miR-9-3p 靶向调节 ITGB1 的表达, 抑制乳腺癌生长^[8], 肝癌细胞 miR-9-3p 靶向调控 TAZ 发挥抑癌基因的作用^[9]。本文结果显示脑胶质瘤病人血浆 miR-9-3p 显著下调, 与胶质瘤病理分级密切相关, 是病人生存预后不良的独立危险因素。杜鹏等^[10]研究发现 miR-9 通过促进 LDHA 表达, 增强肿瘤细胞有氧糖酵解, 促进人脑胶质瘤 LN229 细胞增殖。这提示 miR-9-3p 在人脑胶质瘤中具有抑癌基因的功能。

总之, 人脑胶质瘤 miR-9-3p 表达下调, 与病人不良生存预后密切相关。

【参考文献】

[1] Miller CR, Perry A. Glioblastoma [J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 131(3): 397- 406.

[2] Ma X, Lv YF, Liu J, et al. Survival analysis of 205 patients with glioblastoma multiforme: clinical characteristics, treatment and prognosis in China [J]. J Clin Neurosci, 2009, 16 (12): 1595-1598.

[3] 韩铨琛,胡晨浩,杨帆,等. miRNA-145 在脑胶质瘤中的作用[J]. 中国临床神经外科杂志, 2017, 22(7): 486-

488,523.

[4] 魏川江,刘 娟,王 策,等. miR-221 在脑胶质瘤中的表达及调控关系[J]. 中国临床神经外科杂志, 2017, 22(7): 463-466.

[5] Yang L, Mu Y, Cui H, et al. MiR-9-3p augments apoptosis induced by H₂O₂ through down regulation of Herpud1 in glioma [J]. Plos One, 2017, 12(4): e0174839.

[6] Gregory RI, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis and cancer [J]. Cancer Res, 2005, 65(9): 3509-3512.

[7] Chen Y, Zhang S, Zhao R, et al. Upregulated miR-9-3p promotes cell growth and inhibits apoptosis in medullary thyroid carcinoma by targeting BLCAP [J]. Oncol Res, 2017, 25(8):1215-1222.

[8] Granger DA, Golitz BT, Johnson GL, et al. MicroRNA 9-3p targets beta1 integrin to sensitize claudin-low breast cancer cells to MEK inhibition [J]. Mol Cell Biol, 2013, 33(11): 2260-2274.

[9] Higashi T, Hayashi H, Ishimoto T, et al. miR-9-3p plays a tumour- suppressor role by targeting TAZ (WWTR1) in hepatocellular carcinoma cells [J]. Br J Cancer, 2015, 113 (2): 252-258.

[10] 杜鹏,努尔艾合麦提江·牙力昆,张晶晶,等. miR-9 对人脑胶质瘤 LN229 细胞增殖的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(3): 258-260.

(2021-07-20 收稿, 2022-07-19 修回)