

人脑胶质母细胞瘤 miR-4516 表达与病人预后的关系

兰 展 仇 洪 冯 磊 黄章峰 禰 义 张传东 盘丽华

【摘要】目的 探讨人胶质母细胞瘤(GBM)组织微小核糖核酸-4516(miR-4516)的表达情况及其与病人预后的关系。方法 选取 2015 年 1 月~2019 年 5 月手术切除的 GBM 组织 89 例和颅脑损伤内减压术切除的非肿瘤脑组织 35 例为对照组,采用 qRT-PCR 检测 miR-4516 的表达水平,根据 miR-4516 表达水平的中位数分为高表达和低表达。GBM 病人术后随访 2 年,记录生存情况。结果 GBM 组织 miR-4516 表达水平[(5.32±1.75)]明显高于对照组[(1.13±0.45); $P<0.01$ ]。术后 2 年随访,42 例(47.19%)生存,47 例(52.81%)死亡。多因素 Cox 回归分析显示,miR-4516 高表达是 GBM 生存预后病例的独立危险因素( $P<0.05$ )。生存曲线分析显示 miR-4516 高表达组 2 年累积生存率(27.45%)明显低于低表达组(73.68%; $P<0.001$ )。结论 GBM 组织 miR-4516 表达增高,其高表达是病人预后不良的危险因素。

【关键词】胶质母细胞瘤;微小核糖核酸;miR-4516;预后

【文章编号】1009-153X(2022)02-0107-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Relationship between expression of miR-4516 in human glioblastoma tissues and patients' prognoses

LAN Zhan, QIU Hong, FENG Lei, HUANG Zhang-feng, FU Yi, ZHANG Chuan-dong, PAN Li-hua. Department of Neurosurgery, Hechi Hospital Affiliated to Youjiang Medical College for Nationalities (Hechi People's Hospital), Hechi 547000, China

【Abstract】Objective To investigate the expression level of microRNA-4516 (miR-4516) in human glioblastoma (GBM) tissues and its relationship with the patients prognoses. Methods The expression levels of miR-4516 were detected in GBM tissues obtained from 89 GBM patients who underwent microsurgery and in non-tumor cerebral tissues obtained from 35 patients with traumatic brain injury (control group) who underwent decompression from January 2015 to may 2019, using qRT-PCR. The GBM patients were divide into high-expression and low-expression groups according the medium expression level of miR-4516. The GBM patients were followed up for 2 years and the survival status was recorded. Results The expression level of miR-4516 in GBM tissues was significantly higher than that in the control group ( $P<0.05$ ). Of 89 GBM patients, 42 patients (47.19%) survived and 47 (52.81%) died at the end of the follow-up. Multivariate Cox regression analysis showed that high expression of miR-4516 was an independent risk factor for the poor survival of GBM patients ( $P<0.05$ ). Survival curve analysis showed that the 2-year cumulative survival rate (27.45%) of the miR-4516 high expression group was significantly lower than that (73.68%) of the low expression group ( $P<0.001$ ). Conclusions The expression of miR-4516 in GBM tissues is increased, and its high expression is a risk factor for poor prognosis of GBM patients.

【Key words】Glioblastoma; MicroRNA; MiR-4516; Prognosis

胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)具有恶性程度高、病死率高的特点,即使采用手术切除联合化疗、放疗等综合治疗,预后仍很差<sup>[1]</sup>。GBM 的发生、发展涉及的因素复杂,基因表达异常与其发生与进展密切相关<sup>[2]</sup>。研究表明微小核糖核酸(microRNA, miRNA)具有抗肿瘤或促肿瘤作用,可通过不同途径参与肿瘤细胞增殖、凋亡与侵袭过程<sup>[3-6]</sup>。王福花等<sup>[7]</sup>发现肝细胞癌组织 miR-4516 表达增高。Liu 等<sup>[8]</sup>研究显示 miR-4516 抑制剂能促进胃癌

细胞凋亡,提高化疗敏感性。本文探讨 GBM 组织 miR-4516 的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 1 月~2019 年 5 月手术切除的 GBM 组织 89 例,其中男 51 例,女 38 例;年龄 35~65 岁,平均(50.41±12.44)岁。选择同期颅脑损伤内减压术切除从非肿瘤脑组织 35 例为对照,其中男 19 例,女 16 例;年龄 34~63 岁,平均(48.41±11.68)岁。本研究方案获我院伦理委员会批准。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①术后病理诊断证实为 GBM,且为成年病人;术前检查资料完善;无精神障碍病史;术前未采用辅助放/化疗;签署同意书者。排除标准:因 GBM 复发就诊;患其他部位的原

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2022.02.012  
作者单位:547000 广西河池,右江民族医学院附属河池医院(河池市人民医院)神经外科(兰 展、仇 洪、冯 磊、黄章峰、禰 义、张传东、盘丽华)

发性肿瘤;患血液系统、免疫系统疾病;患肝、肾、心等脏器的原发性疾病。

1.3 miR-4516 表达水平的检测 采用 qRT-PCR 检测 miR-4516 的表达水平。采用 Trizol 提取总 RNA,并检测 RNA 纯度与浓度;然后逆转录合成 cDNA,采用 PCR 测定 miR-4516 相对表达量。PCR 反应条件:95 ℃ 预变性 15 min;95 ℃ 变性 15 s,55 ℃ 退火 30 s,70 ℃ 延伸 30 s;40 个循环。引物序列:miR-4516 上游序列 5'-CCGCCGACTAGTGTGATGTTAG-CAGACCCAGC-3',下游序列 5'-CCGCCGACGCGTT-GTCTTTCCACAGTAGTAAAGCT-3';内参 GAPDH 上游序列 5'-ACAGTCCATGCCATCACTGCC-3',下游序列 5'-GCCTGCTTCACCTTCTTG-3'。利用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 miR-4516 的表达水平。根据 miR-4516 表达水平的中位数分为高表达和低表达。

1.4 随访 术后通过电话随访、门诊随访、微信随访等方式随访 2 年,记录病人生存情况。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件分析;计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用样本  $t$  检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验;利用多因素 Cox 多元分析检验 GBM 病人生存预后的危险因素;采用生存曲线分析 miR-4516 表达水平与 GBM 病人生存预后的关系; $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GBM 组织 miR-4516 的表达变化 GBM 组织 miR-4516 表达水平  $[(5.32\pm 1.75)]$  明显高于对照组  $[(1.13\pm 0.45)]$ ; $P<0.01$ 。

2.2 随访结果 术后 2 年随访,42 例(47.19%)生存,47 例(52.81%)死亡。

2.3 GBM 病人生存预后的影响因素 多因素 Cox 回

归分析显示,肿瘤未全切除、肿瘤直径 $\geq 5$  cm、miR-4516 高表达是 GBM 生存预后病例的独立危险因素( $P<0.05$ ),术后化疗、术后放疗是生存预后的保护因素( $P<0.05$ )。见表 1。

2.4 miR-4516 表达水平与 GBM 病人生存预后的关系 生存曲线分析显示 miR-4516 高表达组 2 年累积生存率(27.45%)明显低于低表达组(73.68%; $P<0.001$ ;图 1)。

3 讨论

GBM 恶性程度高,预后差,5 年生存率不足 5%<sup>[9]</sup>。GBM 的发病机制复杂,多种基因参与其中,发挥重要的调节作用<sup>[10-13]</sup>。有研究报道 miR-4516 在食管鳞癌中存在特异性表达,与食管鳞癌的发生、进展有关<sup>[14]</sup>。Ji 等<sup>[15]</sup>发现 miR-4516 靶基因与细胞增殖调控密切相关,其过表达可能对乳腺癌细胞增殖有抑制作用,且 miR-4516 可用作三阴性乳腺癌的抗癌药物作用靶点。

miR-4516 是在不同肿瘤中可通过调节不同靶

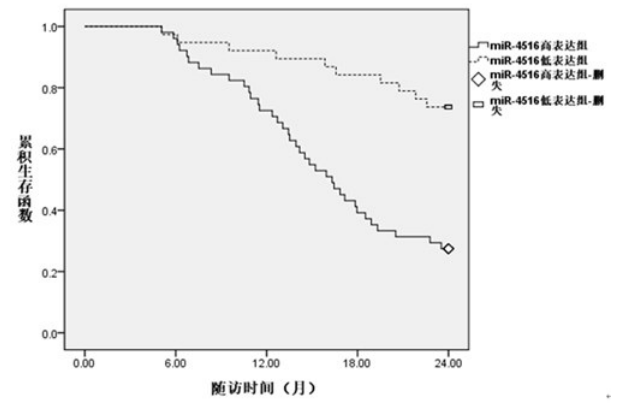


图 1 生存曲线分析 miR-4516 表达水平与胶质母细胞瘤病人生存预后的关系

表 1 本文胶质母细胞瘤病人生存预后影响因素的 Cox 回归分析

危险因素		单因素		多因素	
		风险比(95%置信区间)	<i>P</i> 值	风险比(95%置信区间)	<i>P</i> 值
肿瘤切除程度	全切除(参照组)				
	次全切除	2.958(1.788~4.894)	<0.001	3.522(1.945~6.378)	<0.001
肿瘤直径	≤5 cm(参照组)				
	>5cm	2.946(1.619~5.361)	<0.001	2.902(1.347~6.252)	0.007
术后化疗	无(参照组)				
	有	3.098(1.315~7.299)	0.010	3.102(1.212~7.939)	0.018
术后放疗	无(参照组)				
	有	3.140(1.519~6.491)	0.002	3.408(1.366~8.503)	0.009
miR-4516 表达水平	低表达(参照组)				
	高表达	3.164(1.892~5.291)	<0.001	2.848(1.824~4.447)	<0.001

基因,发挥促肿瘤或抗肿瘤作用<sup>[16]</sup>。Jin 等<sup>[17]</sup>研究显示 miR-4516 在结直肠癌组织中呈低表达,与结直肠癌 TNM 分期、淋巴结转移、肿瘤侵袭程度、远处转移有关,且 miR-4516 低表达是结直肠癌预后的危险因素。Chen 等<sup>[18]</sup>发现 miR-4516 能通过靶向调节正牙同源框 1 对胰腺癌细胞的迁移、增殖进行调节,起到抑制肿瘤因子的作用。而 Cui 等<sup>[19]</sup>则发现 miR-4516 能通过靶向蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 14 对 GBM 细胞 Hippo 信号通路进行调节,促进肿瘤进展。本文结果显示 GBM 组织 miR-4516 表达明显上调。这提示 miR-4516 在 GBM 中可能其促癌作用。

另外,本文结果显示 miR-4516 高表达是 GBM 预后不良的危险因素,2 年累积生存率明显降低。Sebastian 等<sup>[20]</sup>指出放疗可能影响 GBM 组织 miR-4516 相关的耐药信号通路,提示 miR-4516 信号轴与 GBM 的放疗效果有关。这可能是 miR-4516 低表达改善 GBM 病人预后的原因之一。

综上所述,GBM 组织 miR-4516 表达明显上调,增加病人预后不良风险。

[参考文献]

[1] 代从新,王 裕,马文斌. 胶质母细胞瘤综合治疗后假性进展[J]. 中华医学杂志,2019,99(13):1038-1040.

[2] 曹冰清,王 涛,康 涛,等. 胶质母细胞瘤相关基因的筛选和生物信息学分析[J]. 医学分子生物学杂志,2018,15(4):192-198.

[3] 徐 阳,袁凡恩,孙 前,等. miRNA 在胶质母细胞瘤血管生成和侵袭的作用[J]. 中国微侵袭神经外科杂志,2019,24(7):334-336.

[4] 王明明,唐瑞天,刘建雄. 胞外囊泡源性 miRNA 在胶质母细胞瘤中作用的研究进展[J]. 中国临床神经外科杂志,2021,26(1):50-52.

[5] 胡克琦,周达全,陈 锋,等. miR-153 下调 FOXR2、CDK8 和 CDK13 的表达抑制胶质母细胞瘤细胞增殖[J]. 中国临床神经外科杂志,2020,25(11):767-770.

[6] 王艳新,叶富跃,王 艳. miR-126 表达水平及其基因启动子甲基化状态与胶质母细胞瘤术后复发的关系[J]. 中国临床神经外科杂志,2021,26(9):682-686.

[7] 王福花,李 峰,王春艳,等. 血清 miRNA 表达谱在肝细胞癌中的差异性研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2020,28(6):25-28.

[8] Liu JB, Chen D, Liu HX, *et al.* A microRNA-4516 inhibitor

sensitizes chemo-resistant gastric cancer cells to chemo-therapy by upregulating ING4 [J]. RSC Adv, 2018, 8(66): 37795-37803.

[9] 任铭新,王可心,方一帆,等. 胶质母细胞瘤的分子生物学研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2017,23(10):863-867.

[10] 刘 森,沈 野,于洪飞,等. 基于 RNA-seq 研究胶质母细胞瘤中差异表达基因及蛋白相互作用网络[J]. 基因组学与应用生物学,2017,36(4):1280-1287.

[11] 王睿健,张文超,尹 涛. CREPT 在人脑胶质母细胞瘤组织中的表达及其与病人预后的关系[J]. 中国临床神经外科杂志,2021,26(1):20-22.

[12] 杨雅婷,李 晖. AEBP1 在胶质母细胞瘤中的表达及临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志,2020,25(8):521-524.

[13] 刘志峰,陈永汉,姜 浩. AMOTL2 与 FKBP51 表达水平与胶质母细胞瘤病人预后的关系[J]. 中国临床神经外科杂志,2021,26(10):780-783.

[14] 丁元杰,马 箐,郭旭东,等. 食管鳞癌患者血清差异表达 miRNAs 的筛选[J]. 山东医药,2018,58(15):1-4.

[15] Ji EK, Kim BG, Jang Y, *et al.* The stromal loss of miR-4516 promotes the FOSL1-dependent proliferation and malignancy of triple negative breast cancer [J]. Cancer Lett, 2019, 469(Pt 5): 256-265.

[16] Cui T, Gray A, Liu Z, *et al.* Abstract 5726: A novel tumor-promoting role for miR-4516 in glioblastoma [J]. Cancer Res, 2017, 77(13 Suppl): 5726-5726.

[17] Jin XH, Lu S, Wang AF. Expression and clinical significance of miR-4516 and miR-21-5p in serum of patients with colorectal cancer [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 241.

[18] Chen S, Xu M, Zhao J, *et al.* MicroRNA-4516 suppresses pancreatic cancer development via negatively regulating orthodenticle homeobox 1 [J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(12): 2159-2169.

[19] Cui T, Bell EH, McElroy J, *et al.* miR-4516 is a novel prognostic biomarker and promotes tumorigenesis via targeting PTPN14-mediated regulation of the Hippo pathway in glioblastoma [J]. Int J Radiat Oncol, 2018, 102(3): e176-e177.

[20] Sebastian E, Cui T, Bell EH, *et al.* Characterization of a novel mir-4516-PTPN14 therapeutic resistance pathway induced by radiation treatment in glioblastoma [J]. Int J Radiat Oncol, 2020, 108(3): e572.

(2021-09-17 收稿,2021-11-24 修回)