

## 血清 miR-93 在乳腺癌患者早期诊断和术后评估中的作用

罗燕红, 谢 鹏, 何 侠, 黄克伟

(南京医科大学附属江苏省肿瘤医院放疗科, 江苏 南京 210009)

**[摘要]** 目的:探讨血清 miR-93 在乳腺癌早期诊断和术后评估中的作用。方法:提取 30 例乳腺肿瘤患者术前、术后血清以及 10 例健康人血清中的总 RNA,利用实时荧光定量 PCR 技术分析 miR-93 在血清中的表达情况。结果:相对于健康人,miR-93 在乳腺癌患者术前血清中的表达显著上调,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。在 ROC 分析中,miR-93 的曲线下面积为 0.990。miR-93 在术前血清中的表达水平与乳腺癌 TNM 分期明显相关,而与患者年龄、月经情况及腋淋巴转移无关( $P > 0.05$ )。在乳腺癌患者接受手术后血清 miR-93 的表达水平显著下调,差异具有统计学意义( $P < 0.000 1$ )。结论:miR-93 在乳腺癌患者术前血清中表达显著升高,而在术后血清中表达显著下降,提示其与乳腺癌的发生和发展具有一定相关性,可能作为乳腺癌诊断和术后评估的新的指标。

**[关键词]** 乳腺癌;血清 miRNA;诊断;术后评估

**[中图分类号]** R737.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)09-1235-03

**doi:**10.7655/NYDXBNS20150910

乳腺癌是严重危害女性健康的主要恶性肿瘤之一,其发生发展是多阶段、多因素、多基因参与的过程,早期诊断困难,预后较差。小 RNA(microRNA, miRNA) 是一类长度为 18~25 个核苷酸的非编码 miRNA,其可通过序列特异性的方式来调节特异基因的表达,参与了细胞生长、分化、凋亡、代谢等几乎所有的生物过程<sup>[1]</sup>。多个研究小组已经证实 miRNA 在不同肿瘤组织间存在异常表达,且在肿瘤的发生、发展中起着极其重要的作用<sup>[2]</sup>。有研究报道 miR-93 在乳腺癌肿瘤组织中表达上调,在肿瘤的发生和发展过程中起着原癌基因的作用,但其在乳腺癌血清中的研究则甚少<sup>[3]</sup>。本研究采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测 30 例乳腺浸润性导管癌患者术前、术后血清和 10 例正常人血清中 miR-93 的表达

水平,探讨 miR-93 的变化在临床中的意义。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

收集南京医科大学附属江苏省肿瘤医院肿瘤外科 2010 年 1 月—2012 年 12 月乳腺浸润性导管癌女性患者 30 例,年龄 20~60 岁,平均年龄(48.2 ± 6.7)岁。其中有腋淋巴转移 16 例,无腋淋巴转移 14 例;TNM 分期:Ⅰ期 10 例,Ⅱ期 8 例,Ⅲ期 12 例。分别收集这些患者的术前和术后血清,术后血清为手术后 7~15 d 内收集。10 例健康人为正常对照组,年龄 25~60 岁,平均年龄(46.6 ± 8.0)岁,收集其血清。临床资料统计见表 1。血清收集后在-70℃冰箱长期保存。

表 1 30 例乳腺癌患者和 10 例正常人临床参数统计

[n(%)]

| 组别   | 年龄       |          | TNM 分期  |          |          | 月经情况     |          | 腋淋巴转移    |          |
|------|----------|----------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|      | ≤49 岁    | >49 岁    | Ⅰ期      | Ⅱ期       | Ⅲ期       | 绝经前      | 绝经后      | 有        | 无        |
| 乳腺癌组 | 12(40.0) | 18(60.0) | 8(26.7) | 12(40.0) | 10(33.3) | 14(46.7) | 16(53.3) | 10(45.8) | 20(54.2) |
| 对照组  | 4(40.0)  | 6(60.0)  | -       | -        | -        | -        | -        | -        | -        |

#### 1.2 方法

**血样采集与血清分离:** 无菌采集实验个体外周血,3 500 g 离心 10 min,将血清与血细胞分离,-70℃保存。

**RNA 提取:** 从样本血清中提取富含 miRNA 的总 RNA,提取采用 miRNA easy Mini Kit 试剂盒(Qiagen 公司,德国),具体操作参见试剂盒说明书。

**逆转录和实时荧光定量 PCR:**miR-93 的逆转录和扩增采用 TaqMan 检测试剂盒(ABI 公司,美国),在荧光定量 PCR 仪 ABI7500 上检测。因到目前为止没有已知的 miRNA 作为内参以消除样品间 RNA 含量的差异,故扩增时选用人 RNU6B 作为内参<sup>[4]</sup>。miR-93 的相对表达量采用  $2^{-\Delta Ct}$  方法计算求得,其中  $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{miR-RNU6B}$ 。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS13.0 软件进行统计学处理,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用两独立样本 *t* 检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验, $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。根据 miR-93 在乳腺癌术前组和正常对照组中的表达量,使用 SPSS 13.0 中的 ROC 曲线绘制功能计算和分析。

## 2 结果

### 2.1 miR-93 在乳腺癌患者术前血清中的表达情况

乳腺癌患者术前血清中 miR-93 的表达量相对正常人显著升高,为正常人的 2.57 倍 ( $P < 0.001$ , 图 1)。

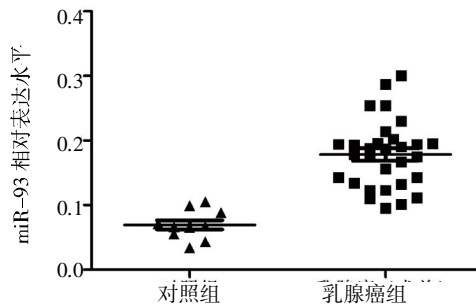


图 1 乳腺癌患者术前血清和正常人血清中 miR-93 的表达情况

### 2.2 乳腺癌患者血清 miR-93 的 ROC 曲线分析

乳腺癌患者术前血清 miR-93 的 ROC 曲线分析显示其 AUC=0.990(图 2)。

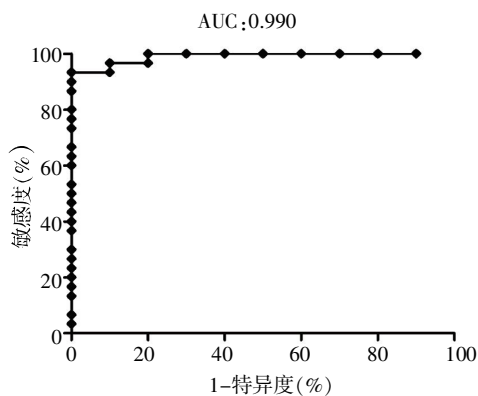


图 2 miR-93 的 ROC 曲线分析

### 2.3 血清 miR-93 表达水平与乳腺癌 TNM 分期的关系

乳腺癌 TNM II 期和 III 期中血清 miR-93 的表达量为 I 期中的 2.02 倍,差异具有统计学意义( $P < 0.001$ ,图 3)。

### 2.4 miR-93 表达水平与乳腺癌手术的关系

乳腺癌患者手术后血清 miR-93 显著降低,与

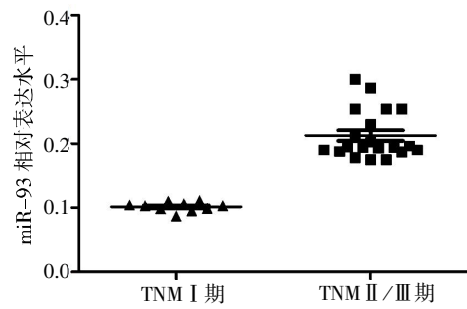


图 3 TNM I 期和 TNM II/III 期乳腺癌患者血清中 miR-93 的表达

术前表达量的比值为 0.605 2,差异具有统计学意义 ( $P < 0.000 1$ ,图 4)。

### 2.5 miR-93 与乳腺癌其他临床参数之间的关系

miR-93 的表达与患者年龄、月经情况和腋淋巴转移无关( $P > 0.05$ )。

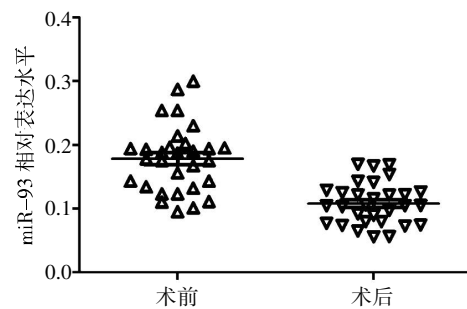


图 4 术前和术后乳腺癌患者血清中 miR-93 的表达

## 3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其发生发展是一个多基因、多阶段的变化过程。虽然近年来外科手术和诊疗技术都有所提高,但乳腺癌的筛查和早期诊断治疗依然不甚精确,因此寻求新的诊断指标依然是临床诊疗的首要任务。此外,如何对乳腺癌的治疗效果进行评估也是临床中的难题之一。

本研究利用荧光定量 PCR 技术在乳腺癌患者术前、术后血清以及正常健康人血清中分析了 miR-93 表达水平及其与临床病理特征的关系。结果表明,miR-93 在 30 例乳腺癌患者术前血清中表达显著升高,ROC 曲线分析显示其 AUC=0.990, 具有较好的区分效果,提示 miR-93 可以作为乳腺癌的新的诊断指标。miR-93 的表达与乳腺癌 TNM 分期明显相关,其在乳腺癌 TNM I 期中的表达量低于其在 II、III 期中的表达量,而与患者年龄、月经情况及腋淋巴转移无关,说明 miR-93 可能参与了乳腺癌的发病过程并且可以促进乳腺癌的发展。乳腺癌患者术后,血清 miR-93 表达水平显著降低,说明 miR-93 也

许与肿瘤切除相关。这些结果提示 miR-93 或许可以作为一种血清分子标志物用于乳腺癌的早期诊断和术后评估。miR-93 在乳腺癌中发挥着重要的作用。Singh 等<sup>[5]</sup>发现 miR-93 可以靶向 NRF2 促进乳腺癌的增殖和降低乳腺癌的凋亡。Fang 等<sup>[6]</sup>发现 miR-93 可以靶向 LATS2 促进乳腺癌的迁移。根据最新的研究结果,血清 miRNA 在肿瘤的发生和发展中也发挥着重要作用。利用 TargetScan 软件显示 miR-93 下游有 1 220 个可能的靶基因,血清中的 miR-93 可能作用于某个或者某些靶基因而发挥作用。本研究发现 miR-93 在乳腺癌患者血清中的表达增加,也许血清 miR-93 可以通过血液循环靶向其靶基因从而发挥其功能。鉴于肿瘤的发生是一个复杂的过程,仅仅采用一种血清 miRNA 作为肿瘤标志物往往特异性不足,若将多种 miRNA 组合使用并与其他类型肿瘤标志物检测相结合,有望显著提高诊断的准确性<sup>[7]</sup>。此外,本实验中选用的临床病例偏少,并且对患者的激素受体情况没有做更多的分组,有待更进一步的研究。

血清 miRNA 作为肿瘤诊断和预后分子标志物具有创伤小、便捷准确和重复性好的优势,其作为新兴的肿瘤分子标志物在未来的肿瘤临床诊断和

治疗中必将会有更好的应用前景。

[参考文献]

- [1] Bartel DP. MicroRNAs:genomics,biogenesis,mechanism, and function[J]. Cell,2004,116(2):281-297
- [2] Esquela-Kerscher A,Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer[J]. Nat Rev Cancer,2006,6(4):259-269
- [3] Fang L,Du WW,Yang W,et al. MiR-93 enhances angiogenesis and metastasis by targeting LATS2[J]. Cell Cycle,2012,11(23):4352-4365
- [4] Ng EK,Chong WW,Jin H,et al. Differential expression of microRNAs in plasma of colorectal cancer patients:a potential marker for colorectal cancer screening[J]. Gut, 2009,58(2):1375-1381
- [5] Singh B,Ronghe AM,Chatterjee A,et al. MicroRNA-93 regulates NRF2 expression and is associated with breast carcinogenesis [J]. Carcinogenesis,2013,34(5):1165 - 1172
- [6] Fang L,Du WW,Yang W,et al. MiR-93 enhances angiogenesis and metastasis by targeting LATS2 [J]. Cell Cycle,2012,11(23):4352-4365
- [7] Schaeffer P,Mulcahy HE,Meyer P,et al. Telomerase RNA as a detection marker in the serum of breast cancer patients[J]. Clin Cancer Res,2000,6(10):3823-3826

[收稿日期] 2015-02-13

本刊现已启用网上稿件管理系统,作者登陆  
<http://jnmn.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件  
审理情况。