

本文引用:张 蕾, 胡尔西旦·尼牙孜, 迪丽达尔·斯地克, 等. 长链非编码 RNA MALAT1 在宫颈癌血清与组织中的表达差异[J]. 新疆医科大学学报, 2018, 41(4): 478-480, 485. doi:10.3969/j.issn.1009-5551.2018.04.019

长链非编码 RNA MALAT1 在宫颈癌血清与组织中的表达差异

张 蕾, 胡尔西旦·尼牙孜, 迪丽达尔·斯地克, 赵化荣, 陈 瑞, 刘 攀, 张宋安,
张 洋, 叶建蔚, 包永星

(新疆医科大学第一附属医院肿瘤中心, 乌鲁木齐 830054)

摘要: **目的** 探讨长链非编码 RNA MALAT1 在宫颈癌血清及组织中的表达差异。 **方法** 检测新疆医科大学第一附属医院 2014 年 1 月—2016 年 12 月确诊的 60 例治疗前宫颈鳞癌患者血清及组织标本中 MALAT1 的表达, 所有患者均接受根治性放射治疗。对宫颈癌血清及组织中 MALAT1 的表达与其临床病理特征及放疗疗效的关系进行统计学分析。 **结果** 在宫颈癌患者癌组织中 MALAT1 的表达水平高于配对的正常组织 ($P < 0.05$); 且 MALAT1 的血清表达也高于正常血标本; 单因素分析显示: 患者的年龄、病理分化程度、肿瘤分期及鳞状细胞癌抗原(SCC)指标差异对预后的影响无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 而患者的淋巴结转移、治疗方式对预后的影响有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。宫颈癌中 MALAT1 的表达与放疗疗效负相关。 **结论** MALAT1 能作为一个预测宫颈癌放疗疗效的新指标。

关键词: MALAT1; 宫颈癌; 血清与组织

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5551(2018)04-0478-04

doi: 10.3969/j.issn.1009-5551.2018.04.019

The study of differential expression profile of long chain Non-coding RNA MALAT1 in serum and tissue of cervical cancer

ZHANG Lei, Huexidan Niyazi, Dilidaer Sidike, ZHAO Huarong, CHEN Rui, LIU Pan,
ZHANG Songan, ZHANG Yang, YE Jianwei, BAO Yongxing

(Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University,
Urumqi 830054, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the expression of long non-coding RNA MALAT1 and the effect of radiotherapy on cervical cancer tissues of the Han and Uygur patients. **Methods** 60 cervical cancer tissue samples were collected. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect MALAT1 mRNA expression. All the patients were received radiotherapy. MALAT1 expression in cervical carcinoma tissues and its relationship with curative effect of radiotherapy were subjected analysis. **Results** MALAT1 expression was significantly up-regulated in the endometrial cancer tissues compared to the normal tissues ($P < 0.05$); The serum expression of MALAT1 was also higher than that of normal blood samples. Single factor analysis showed there was no significant difference in the influ-

基金项目: 省部共建国家重点实验室开放课题项目 (SKL-HIDCA-2017-Y4)

作者简介: 张 蕾 (1984—), 女, 在读博士, 主治医师, 研究方向: 妇科恶性肿瘤的综合治疗。

通信作者: 包永星, 女, 博士, 主任医师, 研究方向: 恶性肿瘤的综合诊疗, E-mail: byxvip@163.com。

ence of age, ethnicity, pathological differentiation, tumor staging, and SCC markers on the prognosis of the patients ($P > 0.05$). However, lymph node metastasis and treatment methods had significant influence on prognosis ($P < 0.05$). The expression of MALAT1 in cervical cancer was negatively correlated with the effect of radiotherapy. **Conclusion** MALAT1 expression could be used as a new marker for predicating curative effect of radiotherapy of cervical carcinoma.

Keywords: MALAT1; cervical cancer; serum and tissue

宫颈癌是女性生殖系统肿瘤常见的肿瘤之一。我国每年宫颈癌新发病例占世界新发病例总数的1/5左右^[1]。因此,预测宫颈癌新的标志物,以及阐明宫颈癌发生及转移的分子水平机制,是提高宫颈癌患者生存率的首要问题,同时在治疗前通过对肿瘤放射敏感性的检测评估放疗疗效是及其重要的,为选择合理而有效的治疗提供有力的依据。因而与放疗疗效相关的分子标志物研究广受关注。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是最近几年发现的一系列转录物,长链非编码 RNA 的长度一般都超过 200nt,虽然它们不具有编码蛋白质的具体功能,但调节 mRNA 的剪切、降解以及翻译等过程发挥着其重要的作用^[2]。lncRNA 也逐渐被认为是肿瘤的相关分子,可以作为恶性肿瘤新的标志物来研究。肺癌转移相关转录本 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 在人类非小细胞肺癌中被首次发现,也是最早被发现的 lncRNA 之一^[3]。放疗抵抗组 MALAT1 表达明显高于放疗敏感组的表达量^[4]。因此,本文旨在研究 MALAT1 在宫颈癌中的表达及评价放疗疗效。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 1 月—2016 年 12 月新疆医科大学第一附属医院就诊的 70 例宫颈癌患者宫颈活检组织标本及血清,本研究通过新疆医科大学第一附属医院伦理委员会的审查及批准。所有标本采集后迅速置于液氮中,然后保存于 -80°C 冰箱中备用。其中 10 例患者因组织标本不合格,患者未完成放疗及失访等原因不纳入研究,在本研究中实际参加统计分析的患者为 60 例,患者年龄 40~70 岁,平均 55 岁。所有患者未行手术,只接受化疗或放疗。所有患者都签署了知情同意书。所有患者随访 48 月,未能按时至门诊复查者采用电话询问。生存时间为入院日至死亡或末次随访日的间隔(月数),记录患者病情进展和生存状况。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 放疗采用三维适形照射或调强照射(IMRT),DT45~50 Gy/25f,盆腔大野放疗后

行近距离放疗,36 Gy/6f。根据患者耐受情况同期给予 1~2 周期氟尿嘧啶+顺铂(FP)方案化疗,具体方案为:顺铂(PPD)75 mg/m² d 1~3 静点+氟尿嘧啶(5-FU)1 000 mg/m²持续 24 h 微量泵泵入。

1.2.2 评价标准 近期疗效判断按 WHO 实体瘤疗效评定标准,分为完全缓解(CR):肿瘤完全消失,持续 4 w 以上;部分缓解(PR):肿瘤缩小达 50%以上;持续 4 w;无变化(SD):肿瘤缩小不足 50%或增大<25%;恶化(PD):肿瘤增大>25%或出现的病灶。放疗结束后 4 w 由肿瘤科 2 位副教授行盆腔检查及结合 CT、B 超影像学检查评估。总有效率(RR)=CR+PR。

1.2.3 实验材料及方法 RNA 提取试剂 Trizol、PrimeScript™ cDNA 逆转录试剂盒(本 TaKaRa 公司生产,货号:1770989),SYBR Premix color 实时定量 PCR 试剂盒(北京天根公司生产,货号:65677),无水乙醇,三氯甲烷(氯仿),异丙醇,DEPC 原液(成都科龙化工生产)。组织及血 RNA 提取、cDNA 逆转录及实时聚合酶反应:总 mRNA 提取,按照 Trizol RNA 提取试剂操作说明进行操作, Nanodrop 测定 mRNA 的含量和浓度,保证 RNA 的完整性(OD260/280 值在 1.8~2.0 视为纯度很高,一般浓度在 1 000 ng/mL 较准)。总 mRNA 按照 TaKaRa 公司逆转录试剂盒操作说明逆转录成 cDNA。应用 SYBR 即时 PCR 试剂盒进行 PCR,具体操作按照试剂盒说明进行。MALAT1 及内参 GAPDH 引物序列如下: MALAT1, 上游引物 5'-GAATTGCGTCATTTAAAGCCTAGTT-3';下游引物 5'-GTTTCATCCTACCACTCCCAATTAAT-3'; GAPDH, 上游引物 5'-TGTTGCCATCAATGACCCCTT-3';下游引物 5'-CTCCACGACGTACTCAGCG-3'。反应体系构成:体系中试剂、底物,实验室用量;DNA Eraser Buffer, 1.0 μL;GEraser, 0.5 μL;Total, 调整后,最终实验用量为 300 ng;RNAase free H₂O,补充至总实验用量为 6 μL。条件:温度 37℃,时间 4 min。以配对正常组织的 CT 值为标准计算 MALAT1 相对表达水平,应用 $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ 表示。

从溶解曲线可以看出样品都已进入扩增的平台

期,说明实验的反应条件设定是比较准确的。以 GAPDH 为内对照组,当反应结束后计算出对应的 CT 值,即每个反应管中荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数,每个反应管的 CT 值与改模板的起始拷贝数都呈对数关系,CT 值越小则表示基因起始拷贝数量的数量越多,基因的表达式也随之越高,根据扩增曲线分别得到 MALAT1 和 GAPDH 的 CT 值,通过公示计算出其表达量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析。MALAT1 在宫颈癌组织中的表达水平与基本资料及各临床病例特征之间的分析采用卡方 χ^2 检验,此外对 MALAT1 高表达和低表达 2 组之间差异有统计学意义的指标进行调整,进行多因素 COX 回归分析,观察表达水平与生存率之间的关系, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MALAT1 在宫颈癌组织中的表达 与正常组织相比,MALAT1 在肿瘤组织中存在高表达,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),同时检测患者血清中 MALAT1 表达,放疗前患者 MALAT1 表达高于放疗后血清中 MALAT1 表达 ($P < 0.05$)。

2.2 MALAT1 的表达与宫颈癌患者临床病理特征的关系 在 60 例宫颈癌患者中 36 例肿瘤组织中的 MALAT1 呈低表达,24 例肿瘤组织中的 MALAT1 呈现高表达;MALAT1 的表达水平与淋巴结转移 ($P < 0.05$),而与年龄、肿瘤分化程度、肿瘤分期、鳞状细胞癌抗原(SCC)指标等无相关性 ($P > 0.05$),见表 1。

2.3 MALAT1 的表达与宫颈癌近期疗效的关系 CR

表 2 MALAT1 的表达与宫颈癌近期放疗疗效的关系

MALAT1 的表达水平	例数	CR	PR	SD	PD	PR+CR	Z	P
高表达	24	4(16.7)	2(8.3)	14(58.3)	4(16.7)	6(25.0)	-2.135	0.033
低表达	36	12(33.3)	8(22.2)	13(36.1)	3(8.3)	20(55.5)		

3 讨论

宫颈癌是世界妇女中最常见的恶性肿瘤之一,新疆是我国宫颈癌的高发区^[5]。本研究通过对新疆地区宫颈癌患者的长链非编码 RNA MALAT1 的表达情况进行了统计学分析,因本研究样本量较少等原因,不能完全肯定长链非编码 RNA 的表达在组织与血清学之间有明显的差异,仍需进一步研究。

年龄在宫颈癌预后中的影响目前尚不能确定,但年轻以及年老对于患者均是预后不利的因素,特别是在局部晚期宫颈癌,也有研究表明年轻患者比年老的预后要好^[6-9]。MALAT1 的表达与宫颈癌

为 16 例,PR 为 10 例,SD 为 27 例,PD 为 7 例。24 例 MALAT1 高表达的宫颈癌中 CR 为 4 例(16.7%),PR 的有 2 例(8.3%)。36 例 MALAT1 低表达的宫颈癌中 CR 为 12 例(33.3%),PR 的有 8 例(22.2%)。MALAT1 低表达的宫颈癌放疗疗效明显较高表达的好,2 组疗效差异有统计学意义 ($P < 0.05$),MALAT1 的表达与宫颈癌的疗效呈负相关,见表 2。

表 1 长链非编码 RNA MALAT1 与宫颈癌临床病理特征的相关性

临床病理特征	例数	MALAT1 的表达水平		χ^2 值	P 值
		低表达	高表达		
年龄/岁					
≤55	33	19	14	0.180	0.672
>55	27	17	10		
肿瘤分化					
低分化	14	6	8	3.214	0.070
中分化	30	18	12		
高分化	16	12	4		
肿瘤分期					
Ⅱ b	24	14	10	4.632	0.201
Ⅲ a	6	4	2		
Ⅲ b	26	14	12		
Ⅳ	4	4	0		
淋巴结转移					
无	50	28	22	4.457	0.035
有	10	8	2		
SCC 指标					
≤1.5	22	16	6	2.344	0.126
>1.5	38	20	18		

患者年龄无统计学意义 ($P > 0.05$),即年龄不能作为影响宫颈癌患者的放疗疗效及预后的因素,也可能与本研究组资料中宫颈癌患者样本数较少有关。

同时对于中晚期患者,放化联合治疗使宫颈癌患者的预后得到了极大地改善,但是患者总的生存率没有得到显著的提高,主要原因是因为多数宫颈癌患者就诊时已经出现微转移。如何有效的提高患者的生存率及有效的改善患者的生存质量是所有研究者们共同关注的焦点。本研究在肿瘤分化程度、肿瘤分期、SCC 指标等方面也进行了统计学分析表明:

(下转 485 页)

- induced metastatic conversion of NSCLC[J]. J Cell Biochem, 2015,116(11):2504-2516.
- [6] KROCKENBERGE M, ENGEL J B, KOLB J, et al. Macrophage migration inhibitory factor expression in cervical cancer [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010,136(5):651-657.
- [7] WILSON J M, COLETTA P L, CUTHBERT R J, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes intestinal tumorigenesis[J]. Gastroenterology, 2005,129(5):1485-1503.
- [8] HE L J, XIE D, HU P J, et al. Macrophage migration inhibitory factor as a potential prognostic factor in gastric cancer[J]. World J Gastroenterology, 2015,21(34):9916-9926.
- [9] MEYERSIEGLER K L, VERA P L, ICZKOWSKI K A, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene polymorphisms are associated with increased prostate cancer incidence [J]. Genes Immunity, 2007,8(8):646.
- [10] XU X, WANG B, YE C, et al. Overexpression of macrophage migration inhibitory factor induces angiogenesis in human breast cancer[J]. Cancer Letters, 2008,261(2):147-157.
- [收稿日期:2017-10-21]
(本文编辑 王艳)

(上接 480 页)

MALAT1 高表达和低表达 2 组的淋巴结转移发生率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 对淋巴结转移情况进行调整再次进行 COX 回归分析显示: 淋巴结转移是宫颈癌的独立预后影响因素 ($P < 0.05$), 其相对危险度为 $OR = 4.742(1.338 \sim 16.806)$ 。

Ying 等^[10]通过对 50 例宫颈癌组织标本和 25 例正常宫颈标本作对照, 结果发现, MALAT1 在宫颈癌患者中, 抗辐射病例中的表达高于辐射敏感病例中的表达。但是目前国内外有关 MALAT1 与宫颈癌放疗疗效相关研究还未常见, 因此本研究在宫颈癌患者组织中 MALAT1 的表达与放疗疗效和生存率进行了统计学分析, 结果发现 MALAT1 低表达的宫颈癌患者生存率高于高表达患者, 并差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这表明 MALAT1 的表达水平与放疗疗效是有相关性的。

总之, 本研究表明: lncRNA MALAT1 在宫颈癌中是高表达的, 在预测宫颈癌放疗疗效上起重要作用, 早期识别对射线抵抗的高危病例, 采取个体化治疗, 可减少复发及转移, 从而提高宫颈癌的疗效。

参考文献:

- [1] HOQUE M E, CHUMAN S, COOPOOSMAY R, et al. Cervical cancer screening among university students in south africa: a theory based study[J]. PloS one, 2014, 9(11): e111557.
- [2] LI L, M A YI NUER N, CHEN F. Status and distribution characteristics of HPV infection in Xinjiang Uygur women[J].
- Cancer Progression, 2010, 8(2): 114-119.
- [3] ORIGONI M, PRENDIVILLE W, PARASKEVAIDIS E. Cervical cancer prevention: new frontiers of diagnostic strategies[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 250917.
- [4] ESTELLER M. Non-coding RNAs in human disease[J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(12): 861-874.
- [5] 张媛媛, 阿衣西布卫·库尔班, 古扎丽努尔·阿不力孜, 等. 新疆巴楚县维吾尔族妇女 HPV 感染、宫颈高级别病变及宫颈癌与微量元素的关系[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(1): 26-31.
- [6] WU X S, NG X A, WU W G, et al. MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of cervical cancer cells by activating the ERK/MAPK pathway[J]. Cancer Biol Ther, 2014, 15(6): 806-814.
- [7] MIAO Y, FAN R, CHEN L, et al. Clinical significance of long Non-coding RNA MALAT1 expression in tissue and serum of breast cancer[J]. Ann Clin Lab Sci, 2016, 46(4): 418-424.
- [8] 胡尔西旦·尼牙孜, 忙尼沙汗·阿不都拉, 张蕾, 等. 年轻宫颈癌患者预后因素分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2012, 26(1): 103-104.
- [9] ARITA T, ICHIKAWA D, KONISHI H, et al. Circulating long non-coding RNAs in plasma of patients with gastric cancer [J]. Anticancer Res, 2013, 33(8): 3185-3193.
- [10] YING L, CHEN Q, WANG Y, et al. Upregulated MALAT1 contributes to bladder cancer cell migration by inducing epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Mol Biosyst, 2012, 8(9): 2289-2294.

[收稿日期: 2018-01-09]

(本文编辑 周芳)