

三阴性乳腺癌患者血清 miR-146a, miR let-7a 水平表达与临床病理特征和化疗疗效的相关性研究

王英英¹, 朱 娇²

(1. 陕西中医药大学附属医院肿瘤二科, 陕西咸阳 712000; 2. 兵器工业五二一医院肿瘤血液病科, 西安 710065)

摘要: 目的 探究三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 患者血清 miR-146a 和 miR let-7a 水平表达与临床病理特征和化疗疗效的相关性。方法 选择陕西中医药大学附属医院 2014 年 7 月~2016 年 6 月行乳腺癌根治术并经免疫组化 (immunohistochemical, IHC) 检测证实为 TNBC 的 79 例患者为研究对象。采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测血清 miR-146a 和 miR let-7a 的水平。相关性采用 Spearman 秩相关分析。结果 血清 miR-146a 和 miR let-7a 在肿瘤直径 ≥ 3 cm, 临床分期 III 期和淋巴结转移的患者中的表达水平高于肿瘤直径 < 3 cm 者, 临床分期 I-II 期和无淋巴结转移的患者, 差异具有统计学意义 ($t=7.41\sim 10.39$, 均 $P < 0.05$)。TNBC 患者化疗后血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平 (0.81 ± 0.32 和 0.60 ± 0.26) 显著低于化疗前 (1.77 ± 0.51 和 1.92 ± 0.77), 差异具有统计学意义 ($t=11.31, 10.11$, 均 $P=0.00$)。疾病控制组患者血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平 (0.37 ± 0.12 和 0.51 ± 0.17) 低于疾病进展组 (1.40 ± 0.79 和 1.62 ± 0.55), 差异具有统计学意义 ($t=8.97, 10.22$, 均 $P < 0.05$)。Spearman 秩相关分析显示血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与化疗疗效呈负相关 ($r=-0.199, -0.150$, 均 $P < 0.01$)。结论 血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与肿瘤直径、临床分期、淋巴结转移和化疗疗效相关。

关键词: 三阴性乳腺癌; miR-146a; miR let-7a; 临床病理特征

中图分类号: R737.9; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 06-060-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.012

Correlation of Serum miR-146a and miR let-7a Expression with Clinicopathological Characteristics and Chemotherapy Efficacy in Patients with Triple Negative Breast Cancer

WANG Ying-ying¹, ZHU Jiao²

(1. the Second Oncology Department, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712000, China; 2. Department of Oncology Hematology, 521 Hospital of Norinco Group, Xi'an 710065, China)

Abstract: Objective To explore the correlation between serum miR-146a and miR let-7a expression and clinicopathological characteristics and chemotherapy efficacy in patients with triple negative breast cancer (TNBC). **Methods** Seventy-nine patients with TNBC who underwent radical mastectomy of breast cancer and were confirmed by immunohistochemical (IHC) detection in the Affiliated Hospital of Shaanxi University of traditional Chinese Medicine from July 2014 to June 2016 were selected as the research subjects. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the levels of serum miR-146a and miR let-7a. Spearman rank correlation analysis was used for correlation analysis. **Results** The expression level of serum miR-146a and miR let-7a in patients with tumor diameter ≥ 3 cm, clinical stage III and lymph node metastasis was higher than that in patients with tumor diameter < 3 cm, clinical stage I-II and no lymph node metastasis, and the difference were statistically significant ($t=7.41\sim 10.39$, all $P < 0.05$). The expression levels of serum miR-146a and miR let-7a in TNBC patients after chemotherapy (0.81 ± 0.32 and 0.60 ± 0.26) were significantly lower than those before chemotherapy (1.77 ± 0.51 and 1.92 ± 0.77), and the difference was statistically significant ($t=11.31, 10.11$, all $P=0.00$). The expression levels of serum miR-146a and miR let-7a in the disease control group (0.37 ± 0.12 and 0.51 ± 0.17) were lower than those in the disease progression group (1.40 ± 0.79 and 1.62 ± 0.55), and the difference was statistically significant ($t=8.97, 10.22$, all $P < 0.05$). Spearman rank correlation analysis showed that the expression levels of serum miR-146a and miR let-7a were negatively correlated with chemotherapy efficacy ($r=-0.199, -0.150$, all $P < 0.01$). **Conclusion** The expression levels of serum miR-146a and miR let-7a were correlated with tumor diameter, clinical stage, lymph node metastasis and chemotherapy efficacy.

作者简介: 王英英 (1986-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 常见肿瘤的诊疗, E-mail: listars555@163.com。

通讯作者: 朱娇 (1987-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 肿瘤血液病的临床诊疗, E-mail: aa362484318@126.com。

Keywords: triple negative breast cancer; miR-146a; miR let-7a; clinicopathological features

三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 是指雌激素受体 (estrogen receptor, ER), 人类表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, Her-2) 和孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 均呈阴性的乳腺癌 (breast cancer, BC)。TNBC 约占 BC 的 20%, 具有强侵袭性和预后较差等特点^[1-2]。目前临床上仍缺乏个体化治疗方案, 因此引起广大科研工作者的广泛关注。miRNA 是一类长度为 19~25 nt 的非编码单链小分子, 近年来研究显示 miRNA 是 TNBC 的潜在治疗靶点^[3]。本研究通过检测 TNBC 患者血清 miR-146a 和 miR let-7a 的表达水平, 分析其与 TNBC 临床病理特征和化疗疗效的相关性, 旨在为 TNBC 的临床诊疗提供依据, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择陕西中医药大学附属医院 2014 年 7 月~2016 年 6 月行乳腺癌根治术的 79 例女性患者为研究对象, 经免疫组化 (immunohistochemical, IHC) 检测证实为 TNBC。年龄 21~60 岁, 平均年龄 45.68 ± 8.78 岁; 肿瘤直径 1~14 cm, 平均肿瘤直径 5.27 ± 1.21 cm; 绝经前 38 例, 绝经后 41 例; I 期 21 例、II 期 28 例和 III 期 30 例; 伴淋巴结转移 42 例, 不伴淋巴结转移 37 例。本研究经我院伦理委员会批准。

纳入标准: 术前未经放疗、化疗者。

排除标准: ①并发其他恶性肿瘤者; ②严重肝肾功能异常者; ③高血压、糖尿病和冠心病等。

1.2 仪器与试剂 盐酸表柔比星 [辉瑞制药 (无锡) 有限公司, 批准文号: 国药准字 H20000496] 75 mg/m^2 , 静脉滴注; 环磷酰胺 (江苏恒瑞医药股份有限公司, 批准文号: 国药准字 H32020857) 500 mg/m^2 , 静脉推注; 紫衫醇 (百时美施贵宝上海贸易有限公

司, 批准文号: 国药准字 H20110470) 80 mg/m^2 , 静脉滴注; Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司; 血清 RNA 提取试剂盒购自北京天根公司; UV-2450 紫外分光光度计 (日本岛津公司); ABI 7500 Fast 荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司); 逆转录试剂盒 (ABI Applied Biosystems 公司, 美国); miR-146a 和 miR let-7a 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.3 方法 采集 TNBC 患者化疗前、后空腹肘静脉血 5 ml, $3\,000 \text{ r/min}$ 离心 5 min, -80°C 保存待测。采用血清 RNA 提取试剂盒提取血清中的总 RNA, 应用紫外分光光度计分析 RNA 纯度。按照逆转录试剂盒操作说明将 RNA 逆转录为 cDNA。采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测血清 miR-146a 和 miR let-7a 的水平。

根据实体瘤疗效评价标准评定疗效: 完全缓解 (complete remission, CR): 病灶完全消失; 部分缓解 (partial remission, PR): 病灶最大长径总和减少 $\geq 30\%$; 疾病稳定 (stable disease, SD): 病灶最大长径总和减少 $20\% \sim 30\%$; 疾病进展 (progression of disease, PD): 病灶最大长径总和增加 $\geq 20\%$ 。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计学软件处理数据, 满足正态性分布及方差齐性的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验。计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验。相关性采用 Spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与 TNBC 患者临床病理特征的关系 见表 1。血清 miR-146a 和 miR let-7a 在肿瘤直径 $\geq 3 \text{ cm}$, 临床分期 III 期和淋巴结转移的患者中的表达水平高于肿瘤直径 $< 3 \text{ cm}$, 临床分期 I~II 期和无淋巴结转移的患者, 其差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

表 1 血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与 TNBC 患者临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	miR-146a	t 值	P 值	miR let-7a	t 值	P 值
年龄 (岁)							
≥ 50	51	1.25 ± 0.58	0.43	0.60	1.67 ± 0.81	1.71	0.19
< 50	28	1.34 ± 0.61			1.71 ± 0.77		
肿瘤直径 (cm)							
≥ 3	32	1.97 ± 0.72	7.41	0.02	1.27 ± 0.13	8.53	0.02
< 3	47	1.01 ± 0.18			0.87 ± 0.02		
月经情况							
绝经前	38	1.41 ± 1.01	0.50	0.45	1.55 ± 0.11	0.67	0.51
绝经后	41	1.45 ± 1.10			1.61 ± 0.10		
临床分期							
I~II 期	49	1.14 ± 0.21	10.39	0.00	1.37 ± 1.13	9.91	0.01
III 期	30	1.67 ± 0.59			2.01 ± 1.58		
淋巴结转移							
是	42	1.71 ± 0.49	8.75	0.02	1.79 ± 1.50	8.93	0.02
否	37	1.02 ± 0.07			1.01 ± 1.10		

2.2 化疗前、后血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平的比较 TNBC 患者化疗后血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平 (0.81 ± 0.32 , 0.60 ± 0.26) 显著低于化疗前 (1.77 ± 0.51 , 1.92 ± 0.77), 其差异具有统计学意义 ($t=11.31$, 10.11 , 均 $P=0.00$)。

2.3 血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与化疗疗效的相关性 化疗后, CR 5 例 (6.33%), PR 31 例 (39.24%), SD 27 例 (34.18%) 和 PD 16 例 (20.25%)。根据化疗疗效分为疾病进展组 ($n=PD=16$) 和疾病控制组 ($n=CR+PR+SD=63$), 疾病控制组患者血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平 (0.37 ± 0.12 , 0.51 ± 0.17) 低于疾病进展组 (1.40 ± 0.79 , 1.62 ± 0.55), 其差异具有统计学意义 ($t=8.97$, 10.22 , 均 $P < 0.05$)。Spearman 秩相关分析显示血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与化疗疗效呈负相关 ($r=-0.199$, -0.150 , 均 $P < 0.001$)。

3 讨论

TNBC 是一类 ER, Her-2 和 PR 均呈阴性的 BC, 其约占 BC 病理类型的 20%, 侵袭性强、死亡率和复发转移率高、预后差^[4-5]。有研究指出 TNBC 患者的 5 年总体生存率 (overall survival, OS) 明显低于非 TNBC 患者^[6]。目前由于 TNBC 基因表达的特异性, 临床上常采用化疗的治疗方案。miRNA 是一类长度为 19~25 nt 的非编码单链小分子, 何姝瑾等^[7]指出 miRNA 通过上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 调节 TNBC 的进展。因此, 探究靶向调节因子 miRNA 可为临床治疗 TNBC 提供新方向并提升患者生存质量。miR-146a 位于第 5 号染色体的 LOC28628 基因中的第二个外显子区, 其可参与肿瘤的侵袭、转移过程, 在免疫疾病中, miR-146a 通过核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号转导发挥调控作用^[8-9]。let-7 具有高度保守性、组织细胞特异性和时序性, 其可用作肺癌和乳腺癌的肿瘤标志物^[10]。let-7 作用靶点有 Ras, ERK, HMGA2 和 Her-2 等。本研究通过检测 TNBC 患者血清 miR-146a 和 miR let-7a 的表达水平, 分析其与 TNBC 临床病理特征和化疗疗效的相关性, 旨在为 TNBC 的临床诊疗提供依据。

本研究分析了血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达与 TNBC 患者临床病理特征的关系, 结果显示肿瘤直径 ≥ 3 cm, 临床分期 III 期和淋巴结转移的患者血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平较高, 化疗后血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平显著降低, 提示了 miR-146a 和 miR let-7a 很可能参与了 TNBC 的发生、发展过程。本研究中 79 例研究对象, 其中疾病进展组 16 例和疾病控制组 63 例, 说明盐酸表柔比星、环磷酰胺和紫杉醇联合的化疗方案效果较

理想。进一步采用 Spearman 秩相关分析分析血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与化疗疗效的相关性, 结果显示其与化疗疗效呈负相关。

综上所述, 血清 miR-146a 和 miR let-7a 表达水平与肿瘤直径、临床分期、淋巴结转移和化疗疗效相关。miR-146a 和 miR let-7a 可作为 TNBC 潜在的肿瘤标志物, 值得深入研究和探讨。

参考文献:

- [1] 张继博, 史业辉, 贾勇圣, 等. 三阴性乳腺癌治疗进展 [J]. 肿瘤, 2017, 37(7):788-794.
ZHANG Jibo, SHI Yehui, JIA Yongsheng, et al. Advances in treatment of triple negative breast cancer [J]. Tumor, 2017, 37(7):788-794.
- [2] 倪晨, 李婷, 吴振华, 等. 三阴性乳腺癌化疗进展 [J]. 中国癌症杂志, 2014, 24(4):316-320.
NI Chen, LI Ting, WU Zhenhua, et al. Progress on chemotherapy for triple negative breast cancer [J]. China Oncology, 2014, 24(4):316-320.
- [3] 王舒淇, 王东生. microRNA 在三阴性乳腺癌转移中的作用 [J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(13):1640-1644.
WANG Shuqi, WANG Dongsheng. Role of microRNA in triple negative breast cancer metastasis [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2020, 41(13):1640-1644.
- [4] 万军. 血清肿瘤标志物 CA153, CA125, CEA 和 HER-2 联合检测在乳腺癌诊断中的价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(6):119-121.
WAN Jun. Value of combined detection of tumor markers CA153, CA125, CEA and HER-2 in the diagnosis of breast cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(6):119-121.
- [5] 杨永德, 周焱琳. 浸润性乳腺癌组织中 miRNA-206 表达与临床病理及预后的关系 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(4):45-48.
YANG Yongde, ZHOU Yanlin. Relationship between expression of miRNA-206 and clinical pathology and prognosis in invasive breast cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(4):45-48.
- [6] 袁中玉, 王树森, 高岩, 等. 305 例三阴乳腺癌患者的临床特征及预后因素分析 [J]. 癌症, 2008, 27(6):561-565.
YUAN Zhongyu, WANG Shusen, GAO Yan, et al. Clinical characteristics and prognosis of triple-negative breast cancer: a report of 305 cases [J]. Chinese Journal of Cancer, 2008, 27(6):561-565.
- [7] 何姝瑾, 陈厚文, 熊丽霞. MicroRNA 对 EMT 的调节作用及其与肿瘤侵袭的关系 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(11): 1197-1205.
HE Shujin, CHEN Houwen, XIONG Lixia. Effects of microRNA on tumor epithelial-mesenchymal transition [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2016, 32(11): 1197-1205.
- [8] 曾长青, 黄良祥, 郑羽, 等. miR-146a 在结肠癌中的表达及意义 [J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(3):396-400.

- ZENG Changqing, HUANG Liangxiang, ZHENG Yu, et al. Expression of miR-146a in colon cancer and its significance [J]. Journal of Southern Medical University, 2014, 34 (3): 396-400.
- [9] 谭俊龙, 郑明霞, 刘湘宁, 等. miR-146a 的功能及其靶基因的研究进展 [J]. 生命科学, 2019, 32(4): 387-395.
- TAN Junlong, ZHENG Mingxia, LIU Xiangning, et al. Advances in the function and target genes of miR-146a [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2019, 32(4): 387-395.
- [10] 李封, 张艳, 张琼, 等. 外泌体介导的 Let-7a 通过下调 MYC 表达抑制三阴性乳腺癌细胞的恶性生物学行为 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(9): 962-968.
- LI Feng, ZHANG Yan, ZHANG Qiong, et al. Exosome-mediated Let-7a in inhibits malignant biological behaviors of triple-negative breast cancer cells by down-regulating MYC expression [J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2019, 26(9): 962-968.
- 收稿日期: 2021-01-15
修回日期: 2021-03-09

(上接第54页)

- PAN Xuming, CHEN Danlei, MA Hongzhen, et al. Research progress on the role of miRNA in renal ischemia-reperfusion injury [J]. Zhejiang Medical Journal, 2019, 41(10): 1091-1095.
- [12] 彭武建, 谭奎璧, 黄建溶. 非 IgA 系膜增生性肾小球肾炎患者全基因组 miRNA 表达谱的特征 [J]. 中国当代医药, 2016, 23(18): 4-7.
- PENG Wujian, TAN Kuibi, HUANG Jianrong, et al. Characteristics of the genome-wide microRNAs expression profiles in non-IgA mesangial proliferative glomerulonephritis [J]. China Modern Medicine, 2016, 23(18): 4-7.
- [13] 张翠平, 陈婷婷, 王成, 等. 儿童原发性肾病综合征患者尿液外泌体 miR-23b-3p 水平变化及其临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 1-4, 9.
- ZHANG Cuiping, CHEN Tingting, WANG Cheng, et al. Levels and its significance of urinary exosomal miR-23b-3p in children with nephrotic syndrome [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(1): 1-4, 9.
- [14] 吴忠璟, 陈亚凤, 高芳虹. 糖尿病肾病患者血清 miR-135b 水平检测与疾病预后的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(3): 88-91.
- WU Zhongjing, CHEN Yafeng, GAO Fanghong. Correlation between serum miR-135b level and prognosis in patients with diabetic nephropathy [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(3): 88-91.
- [15] SALEEB R M, FARAG M, DING Qiang, et al. Integrated molecular analysis of papillary renal cell carcinoma and precursor lesions unfolds evolutionary process from kidney progenitor-like cells [J]. The American Journal of Pathology, 2019, 189(10): 2046-2060.
- [16] XIAO Bin, WANG Lina, LI Wei, et al. Plasma microRNA panel is a novel biomarker for focal segmental glomerulosclerosis and associated with podocyte apoptosis [J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(5): 533.
- [17] TAKASHIMA Y, KAWAGUCHI A, IWADATE Y, et al. MicroRNA signature constituted of miR-30d, miR-93, and miR-181b is a promising prognostic marker in primary central nervous system lymphoma [J]. PLoS One, 2019, 14(1): e0210400.
- [18] LÜ Lina, LI Dandan, TIAN Fengqun, et al. Silence of lncRNA GAS5 alleviates high glucose toxicity to human renal tubular epithelial HK-2 cells through regulation of miR-27a [J]. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology (Print), 2019, 47(1): 2205-2212.
- [19] 王琳琳, 冯佳莉, 刘俊芬, 等. 2 型糖尿病和糖尿病肾病患者血清 miR-181b 水平及意义 [J]. 实用医学杂志, 2019, 35(18): 2853-2856.
- WANG Linlin, MENG Jiali, LIU Junfen, et al. Serum miR-181b level and significance in patients with type 2 diabetes and diabetic nephropathy [J]. The Journal of Practical Medicine, 2019, 35(18): 2853-2856.
- [20] 陈云, 张媛媛, 刘海亭, 等. 高血压患者尿微量白蛋白 / 肌酐比值与动态血压水平及血压变异性的关系 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2016, 8(1): 75-77.
- CHEN Yun, ZHANG Yuanyuan, LIU Haiting, et al. Relationship among ratio of urinary micro albuminuria to creatinine, ambulatory blood pressure level and blood pressure variability in hypertensive patients [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Cardiovascular Medicine, 2016, 8(1): 75-77.
- [21] 吴军, 郭传申, 苑进凯, 等. miR-181b 及其关键靶基因 PTEN 和 TIMP-3 在肝细胞肝癌中的表达和意义 [J]. 中国现代普通外科进展, 2016, 19(8): 599-603.
- WU Jun, GUO Chuanshen, YUAN Jinkai, et al. MiR-181b and its key target gene PTEN and TIMP-3 expression in hepatocellular carcinoma and significance [J]. Chinese Journal of Current Advances in General Surgery, 2016, 19(8): 599-603.
- [22] WANG B, HSU S H, MAJUMDER S, et al. TGF β -mediated upregulation of hepatic miR-181b promotes hepatocarcinogenesis by targeting TIMP3 (Article) [J]. Oncogene, 2010, 29(12): 1787-1797.
- [23] CHIRA A, MURESAN M S, BRAICU C, et al. Serum patterns of mir-23a and mir-181b in irritable bowel syndrome and colorectal cancer - A pilot study [J]. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 2020, 20(2): 254-261.
- [24] ZHU Fuxiang, WU Henglan, CHEN Jianxiang, et al. Dysregulation of microRNA-181b and TIMP3 is functionally involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10): 18963-18969.
- 收稿日期: 2021-01-15
修回日期: 2021-06-11