

CasC7 与子宫内膜癌发生率的相关性分析

郭 萍

(河西学院附属张掖人民医院 甘肃 张掖 734000)

【摘 要】目的：研究长链非编码 RNA CasC7(lncRNA CasC7) 在子宫内膜癌中的表达并分析其相关性。方法：收集河西学院医学院 2017 年 1 月~2019 年 4 月经手术治疗的原发性 EMC 患者 116 例，收集患者的肿瘤标本与癌旁正常子宫内膜组织，采用免疫组织化学方法检测 CasC7 在子宫内膜癌及癌旁正常组织中的表达，并探讨 CasC7 的表达量与子宫内膜癌患者生存率与预后情况的相关性。结果：与正常的癌旁组织相比，lncRNA CasC7 在子宫内膜癌组织中的表达明显较高，且差异具有统计学意义 ($P<0.05$)；lncRNA CasC7 在子宫内膜癌患者癌组织中的表达与患者的年龄以及基本情况等无直接相关性；lncRNA CasC7 低表达组患者的五年存活率为 71.71%，显著高于高表达组存活率，具有统计学意义 ($P>0.05$)；CasC7 在子宫内膜癌组织中阳性表达率为 85.34%，呈显著正相关关系，同时具有较高 EMC 发生率。结论：lncRNA CasC7 在子宫内膜癌组织中的表达显著增加并与患者的预后存在显著相关性，lncRNA CasC7 有可能成为子宫内膜癌治疗的新靶点。

【关键词】CasC7；子宫内膜癌；发生率；相关性

Correlation analysis between CasC7 and the incidence of endometrial cancer

Ping Guo

(Zhangye People's Hospital affiliated to Hexi University, Zhangye, Gansu, 734000)

[Abstract] Objective To study the expression of long chain non-coding RNA CasC7 (lncRNA CasC7) in endometrial carcinoma and analyze its correlation. Method: 116 patients with primary EMC who underwent surgical treatment at Hexi University School of Medicine from January 2017 to April 2019 were collected. Tumor specimens and normal endometrial tissue adjacent to the cancer were collected. Immunohistochemical methods were used to detect the expression of CasC7 in endometrial cancer and normal tissue adjacent to the cancer, and the correlation between the expression of CasC7 and the survival rate and prognosis of endometrial cancer patients was explored. Result: Compared with normal paracancerous tissues, the expression of lncRNA CasC7 was significantly higher in endometrial cancer tissues, and the difference was statistically significant ($P<0.05$); The expression of lncRNA CasC7 in endometrial cancer patients' cancer tissue is not directly related to the patient's age and basic condition; The five-year survival rate of patients with low expression of lncRNA CasC7 was 71.71%, which was significantly higher than that of patients with high expression of CasC7 ($P>0.05$); The positive expression rate of CasC7 in endometrial cancer tissue is 85.34%, which is a significant positive correlation, and has a high incidence of EMC. Conclusion: The expression of lncRNA CasC7 is significantly increased in endometrial cancer tissue and has a significant correlation with patient prognosis. lncRNA CasC7 may become a new target for the treatment of endometrial cancer.

[Key words] CasC7; Endometrial cancer; Incidence rate; Relevance

引言

子宫内膜癌 (Endometrial Carcinoma, EMC) 是一种女性生殖系统肿瘤，常见于围绝经期以及绝经后的女性群体，其发病率约为 20%-30% (仅排在卵巢癌及子宫颈癌之后)。以北美与北欧为代表，EMC 的发病率约为发展中国家的 10 倍，且有逐年上升的趋势，对广大妇女的身体健康造成了严重的威胁^[1]。长链非编码 RNA (Long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度大于 200 个碱基的非编码 RNA，长期以来一直被认为不存在任何生物学功能。但随着近年来高通量技术与生物芯片的发展，众多学者发现 lncRNAs 可以作为一

种新型癌症因子调控手段，并在肿瘤的早期诊断及预后等方面具有重要应用价值^[2]。CasC7 是 RISC 催化组件 (AGO2) 基因中一条 9346b 的 lncRNA，其与癌症肿瘤领域的相关研究甚少。lncRNA CasC7 的表达对结肠癌细胞有抑制作用，然而对宫颈癌却有着促进作用，可显著调控癌症细胞因子的表达。研究拟观察 lncRNA CasC7 在子宫内膜癌中的表达情况，期待能够探究 CasC7 与 EMC 发生率的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取河西学院医学院 2017 年 1 月~2019 年 4 月

经手术治疗的原发性 EMC 患者 116 例, 收集患者的肿瘤标本与癌旁正常子宫内膜组织, 将其作为实验组。另外收集我院同期正常患者的子宫内膜的病理组织 78 例, 将其作为对照组进行对照试验分析。入选标准: (1) 所有病例术前未经放疗、化疗、激素和其他抗癌治疗; (2) 所有病例非其他恶性肿瘤患者; (3) 所有病例经过 EMC 全面分期手术; (4) 所有病例的相关临床和病理资料齐全。病理组织学分级标准: (1) 按分化程度分: G1 (高分化)——肿瘤组织中实性区 <5%, G2 (中分化)——肿瘤组织中实性区 6%~50%, G3 (低分化)——肿瘤组织中实性区 >50%; (2) 按肌层浸润深度分: 无浸润、浸及浅肌层、浸及深肌层和浆膜; (3) 按有无脉管癌栓或淋巴转移分: 有转移、无转移。实验经过我院伦理委员会审批通过后进行, 所有参与患者均了解实验步骤和内容并签署同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 数据筛选与相关性研究

从 NCBI 的 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) 中下载 EMC 基因表达谱样本数据集 GSE115810。样本数据集 GSE115810 按照分化级别分为 4 组并附带临床信息, 其中非 EMC 组织 (对照组) 样本 3 个, G1 (高分化) 样本 7 个, G2 (中分化) 样本 11 个, G3 (低分化) 样本 6 个, 利用 log2 intensity 值反映各组 CasC7 的相对表达量, 并进行回顾性研究和生存期分析。

1.2.2 免疫组织化学 SABC 法

按武汉博士德公司 lncRNA 原位杂交试剂盒说明书中操作步骤。所选标本经 10% 福尔马林溶液固定后石蜡包埋, 于 Bouin's 固定液中固定。组织经水洗, 70%、80%、90%、95%、100% I、100% II 等浓度乙醇脱水; 二甲苯 I、二甲苯 II 透明除去乙醇 (仔细观察, 避免透明过度); 石蜡 I、石蜡 II、石蜡 III 浸蜡除去二甲苯; 修蜡块、切片 (厚度 5 μ m)、展片与粘片。取 5 μ m 厚切片脱蜡, 并进行免疫组化染色。CasC7 以细胞内有棕黄色颗粒为阳性。阳性细胞表达数 $\leq$ 5% 阴性 (-)、6%~25% 弱阳性 (+)、26%~50% 中度阳性 (++)、> 50% 强阳性 (+++), (+)~(+++) 为阳性表达, (++)~(+++) 为过阳性表达。

1.2.3 实时 PCR

使用实时 PCR 检测子宫内膜组织中 CasC7 的表达。每个标本取子宫内膜组织 100mg, 用 TRIzol 法常规提取总 RNA。使用逆转录试剂盒 (GenStar, 中国) 从每个 sample.cDNA 中提取 500ng 的 RNA, Δ Ct 值 = Ct 值的 SMARCC2-Ct 值的 GAPDH, $2^{-\Delta}$ 中心值为 SMARCC2 的相对表达水平。

1.2.4 统计学方法

使用 GraphPad Prism5 作图及统计学处理, 不同分化级别的 CasC7 的相对表达量的组间比较采用 ANOVA 检验; 回顾性研究中组间比较采用 χ^2 检验, 生存分析采用 Log-rank (Mantel-Cox) 法和 Kaplan-Meier 法用于预后生存分析, $P < 0.05$ 为差异显著; 在 GSEA 中, $P < 0.05$ 及错误发现率 (False Discovery rates, FDR) < 0.25 的基因集作为显著富集基因集。

2 实验结果

2.1 选取患者的临床病例特征

研究共纳入 116 例 EMC 患者构建实验组。

可以发现, 所有 EMC 患者年龄普遍高于 50 岁, 肌层浸润小于 1/2 的患者共有 87 例, 占据总纳入病例的 75%。FIGO 分期为 I 期的患者最多, 人数占到了病例数的 69.8%, 所有患者中无淋巴结转移的患者例数为 98 例, 占总例数的 84.5%。

2.2 EMC 患者组织标本中 CasC7 表达情况

首先在实验中利用免疫组化技术来检测 EMC 组织及其癌旁组织中的 CasC7 表达量。按照相关知识可以知道 CasC7 阳性的细胞经免疫组化染色后会呈现出细胞内黄色。结果显示, 正常的癌旁组织在免疫组化染色后大多数细胞呈现出轻微淡蓝色; 而在 EMC 组织中, 在经过免疫组化染色后多表现出细胞内黄色。通过人为主观观察, 可以发现在 EMC 组织中 CasC7 阳性的细胞显著高于癌旁正常细胞。接着利用实时 PCR 技术来检验免疫组化结果的准确性, 结果见图 1。

图 1 表示 PCR 准确性检测结果。随机选取 15 例 EMC 组织及癌旁整合组织标本, 分为 3 组提取标本中的 DNA。结果显示, 所有样本中的 mRNA 表达完整, 且从 3 组样本中的表达情况来看, EMC 患者组织中的 CasC7 表达量较正常组别而言有显著上升。

2.3 CasC7 在 EMC 患者子宫内膜组织中的表达与

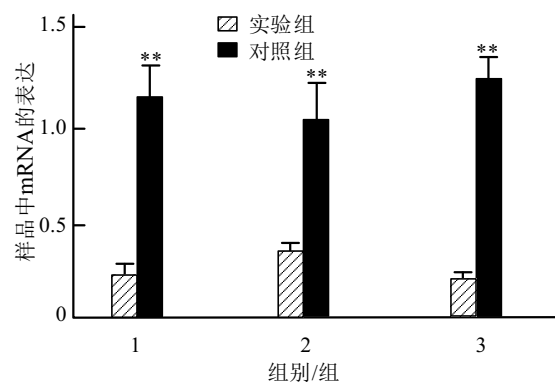


图 1 免疫组化结果的准确性检测

注: ** 表示和癌旁正常组织相比, $P < 0.05$

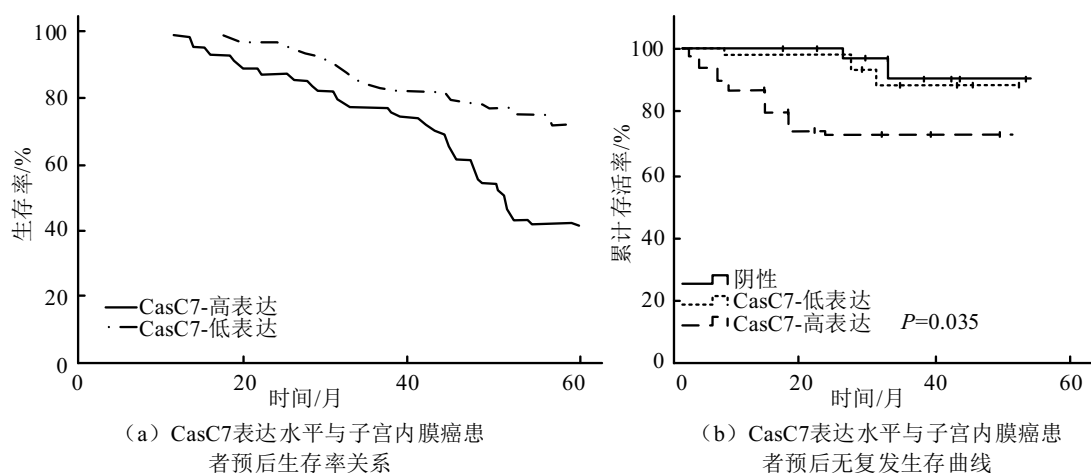


图2 CasC7 表达与 EMC 患者预后生存的关系

患者总生存率、无复发生存率的关系

截止随访结束时间, 116 例 EMC 患者中共随访 108 例, 失访 8 例, 将随访结果采用 Log-rank (Mantel-Cox) 法和 Kaplan-Meier 法进行预后生存分析, 得到患者随访五年后的生存曲线见图 2。

图 2 (a) 为 CasC7 表达水平与 EMC 患者预后生存率关系, 可以发现 CasC7 高表达组癌症患者的五年存活率为 42.84%, CasC7 低表达组患者的五年存活率为 71.71%。对比可知高表达组存活率显著低于低表达组存活率, 差异有统计学意义 ($\chi^2=10.02$, $P=0.0016$)。图 2 (b) 为 CasC7 表达水平与 EMC 患者预后无复发生存曲线, 可以看出, 其结果显示和图 2 (a) 相似, 同样表现为 EMC 组织中的 CasC7 阴性表达的患者无复发生存率显著高于 CasC7 阳性表达患者, 两组患者差异比较具有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.4 CasC7 表达水平与 EMC 发生率的相关性

探讨 EMC 患者病症发生率与 CasC7 表达水平的相关性, 分析 CasC7 在 EMC 组织中表达的相关性。

在 116 例子官内膜组织中, CasC7 阳性者共 99 例, 其中强阳性者 47 例, 中阳性者 36 例, 弱阳性者 16 例; 阴性者 17 例。计算可得阳性表达率为 85.34%, 且子宫内膜癌发生率显著较高。Speaman 等级相关分析显示: CasC7 在 EMC 组织中表达呈正相关 ($r=0.574$, $P=0.004$)。

讨论

EMC 作为女性最常见的生殖系统恶性肿瘤之一, 其发病率逐渐随着经济水平的提升而增长, 对女性健康造成了极大的困扰, 同时 EMC 并不明确的病因也渐渐增加了治疗难度。目前临床上主要认为女性绝经时间晚、雌性激素的长期服用等因素是导致女性出现 EMC 的高危因素, 此外也有研究显示肥胖、高血压也

会增加 EMC 患病风险^[3]。但是大部分研究结果只显示出了 EMC 的影响因素, 对其中癌细胞组织的关注较少。大量研究表明, lncRNAs 可调控基因的转录和转录后修饰, 虽不能直接编码蛋白, 但可调控蛋白的表达, 其异常表达可促进或抑制肿瘤, 且与肿瘤的复发、转移和预后等密切相关。lncRNA CasC7 是一条新发现的、与肿瘤生长、转移关系密切的长链非编码 RNA。因此研究将探讨 CasC7 在 EMC 组织中的表达, 分析 CasC7 与 EMC 发生率的相关性, 以期实现子宫内膜癌患者更好的预后效果, 并为判断 EMC 生物行为提供临床依据。

综上所述, 本研究发现 CasC7 在 EMC 患者的子宫内膜组织中的阳性表达显著高于癌旁组织, 同时与患者预后情况密切相关, 表示 CasC7 表达的变化可以反映 EMC 的发生与发展过程, 进一步成为判断 EMC 患者预后的参考指标。但实验中仍存在一定的不足, 关于 lncRNA CasC7 的作用机制有待进一步扩大样本进行深入分析, 以期对 EMC 的早期诊断、评估高危及判断预后提供理论依据, 为指导临床治疗作出贡献。

参考文献:

- [1] 张洁, 赵曼曼, 周妍. 基于 TCGA 数据集分析 mRNA 在子宫内膜癌中差异表达及对预后影响 [J]. 临床军医杂志, 2020, 1(48):59-62.
- [2] 刘腾, 马迎春. 基于生物信息库病例分析 ECT2 在子宫内膜癌中的表达及临床意义 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2022, 8(60):63-90.
- [3] 赵车冬, 张键, 赵娜, 等. 子宫内膜癌相关基因的生物信息学分析 [J]. 遵义医科大学学报, 2020, 4(43):482-488.

项目名称: CasC7 在子宫内膜癌中的促癌作用及相关信号通路的生物信息学分析。

项目编号: 21JR1RG301。