

MicroRNA-145 在皮肤基底细胞癌中的表达和临床意义

张更建 李雪 张延 陈永艳

(遵义医科大学附属医院皮肤科 贵州遵义 563000)

摘要:目的:探讨 miRNA-145 在皮肤基底细胞癌中的表达和临床意义。方法:通过实时定量 PCR 检测 45 例皮肤基底细胞癌患者的肿瘤组织及癌旁正常组织中 miRNA-145 的表达,并分析 miRNA-145 的表达水平与基底细胞癌患者病理特征及临床分型的相关性。同时检测癌基因 bcl-2 在基底细胞癌患者的肿瘤组织及癌旁组织中的表达。结果:皮肤基底细胞癌组织中 miRNA-145 的表达显著低于癌旁组织($P < 0.05$),且与基底细胞癌的直径呈负相关($P < 0.05$),与临床分型无明显相关性。肿瘤组织中 bcl-2 的 mRNA 表达高于正常皮肤组织($P < 0.05$)。结论:MiRNA-145 在基底细胞癌中呈低表达,可能通过调控癌基因的表达在其发生发展过程中发挥重要的作用。癌基因 bcl-2 表达升高,可能是 miRNA-145 作用的靶点之一。

关键词:基底细胞癌; miRNA-145; 癌基因

Clinical Significance of MicroRNA-145 in Basal Cell Carcinoma

ZHANG Gengjian LI Xue ZHANG Yan CHEN Yongyan

(Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Guizhou Zunyi, 563000)

[Corresponding author] ZHANG Gengjian, E-mail: zhgj126@126.com

[Abstract] Objective To investigate the expression and clinical significance of miRNA-145 in basal cell carcinoma (BCC). Methods Quantitative real time PCR was used to examine and compare the expression of miRNA-145 in 45 cases of BCC and adjacent normal skin tissues, and the correlation of miRNA-145 expression with pathological features and clinical classification were analyzed. Meanwhile the expression level of oncogene bcl-2 in tumor and pericarcinoma tissue were examined by QRT-PCR. Results The miRNA-145 expression was downregulated in BCC tissue in comparison with that in the normal skin tissue ($P < 0.05$), which was negatively correlated with the diameter, and had no significant correlation with clinical classification. The mRNA expression of bcl-2 in tumor tissue was higher than that in normal skin tissue ($P < 0.05$). Conclusion MiRNA-145 was downregulated in BCC, which may play an important role in the carcinogenesis through regulating oncogenes. Oncogene bcl-2 was upregulated in BCC, which could be one of the targets of MiRNA-145.

[Key words] Basal cell carcinoma; MiRNA-145; Oncogene

基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)又称基底细胞瘤、基底细胞上皮瘤、侵蚀性溃疡等。为发生于皮肤基底细胞层的肿瘤,是最常见的皮肤恶性肿瘤之一,发病率是鳞状细胞癌的 4-5 倍,且发病率逐年上升。BCC 本病主要发生于老年人,50 岁以上多见,可能与长期日晒、X 线照射、接触砷剂等密切相关,但具体的分子机制仍未阐明。

microRNAs (miRNAs)是一类广泛存在于真核细胞的内源性的长度约 18-24 nt 的非编码 RNA 分子,能与靶基因 mRNA 的 3'-UTR 互补结合,通过促进靶 miRNA 降解,在转录后水平抑制靶基因表达,参与调控细胞周期、细胞生长、凋亡、分化和应激反应等一系列生物过程。miRNA 的表达异常与肿瘤发生、发展和转移密切相关。miRNA-145 作为抑癌基因,可抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。本研究旨在进一步探讨 miRNA-145 在皮肤基底细胞癌发生发展中的作用,以期 BCC 的诊治提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2017 年 1 月至 2020 年 10 月期间在遵义医科大学附属医院收治的皮肤基底细胞癌患者 45 例纳入研究,收集患者的年龄、性别、肿瘤大小等相关临床资料。

1.2 组织标本的收集

收集皮肤基底细胞癌组织及周围正常组织,将标本采用冻存管保存于-80℃冰箱中直至 RNA 提取。

1.3 RNA 的提取及 cDNA 的合成

组织 RNA 的提取及 cDNA 的合成:将-80℃冰箱中保存的约 0.1 g 组织使用冰冻切片机制至 10um 薄片,再用匀浆机匀浆。采用 mir-VANA miRNA Isolation Kit(Ambion, Austin, TX)试剂盒处理总 RNA,使用 TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (Ambion)试剂盒将 10ng 纯化的 RNA 特异性逆转录 miRNA-145、bcl-2 及内参 U6 snRNA 相对应的 cDNA,反应体系为 15 ul,包含 master mix 7 ul、特异性逆转录引物 primer 3ul 及总 RNA 模板 5

ul。所逆转的 cDNA 即时进行 Real-time PCR 检测。

细胞 RNA 的提取及 cDNA 的合成:采用 Trizol(Invitrogen)法提取细胞的总 RNA,1%琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 的纯度,同时分光光度计在 260nm 处测量 RNA 的浓度。

通过软件读取基因扩增的起跳循环数(Ct 值),按照 $\Delta\Delta Ct$ 法计算目的基因的 mRNA 含量。令正常皮肤组织中目的基因的 mRNA 含量为 1.00,计算肿瘤组织中目的基因的 mRNA 含量。

1.4 统计学分析

采用 SPSS20.0 统计学软件录入和分析数据,计量资料采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-145 和 bcl-2 在基底细胞癌组织中的表达

通过 qRT-PCR 检测 45 例基底细胞癌组织及正常组织标本中 miRNA-145 表达量和 bcl-2 mRNA 含量,结果显示基底细胞癌组织内 miRNA-145 的表达较正常皮肤组织显著降低,肿瘤组织中的 bcl-2 mRNA 含量高于正常皮肤组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表 1)。

表 1 miRNA-145 在基底癌组织中的表达情况 (* $P < 0.05$)

组别	miRNA-145 表达	bcl-2 表达
基底癌组织	24.5 ± 3.6*	215.5 ± 20.6*
癌旁正常组织	100 ± 14.5	100 ± 16.3

2.2 miRNA-145 在基底癌组织中的表达与临床特点及临床分型的相关性

基底细胞癌组织中 miRNA-145 的表达水平与年龄、性别无明显差别,但与皮损的直径有关,直径越大,其表达越低($P < 0.05$)。(见表 2)。基底细胞癌组织中 miRNA-145 的表达水平在不同的临床类型无明显差异(见表 3)。

表 2 基底细胞癌组织中 miRNA-145 的表达水平与临床特点

临床特点	例数	miRNA-145 表达	P 值
年龄			>0.05
≥60 岁	28	23.5 ± 3.1	
<60 岁	17	24.9 ± 3.7	
性别			>0.05
男	30	24.8 ± 3.6	
女	15	24.1 ± 3.4	
皮损直径			<0.05
≥3CM	5	21.0 ± 2.4	
<3CM	40	24.7 ± 3.9	

表 3 基底细胞癌组织中 miRNA-145 的表达水平与临床分型

临床类型	例数	miRNA-145 的表达水平
结节溃疡型	30	24.6 ± 3.8
色素型	7	24.1 ± 3.5
浅表型	4	23.5 ± 3.4
硬化型	2	24.7 ± 3.9
其他型	2	25.1 ± 4.1

3 讨论

miRNA-145 是 miRNAs 家族中的重要一员,长约 4.09 kb,其编码基因位于人类染色体 5q32-33,具有茎-环结构的前体位于,在多种肿瘤中呈低表达。研究发现 miRNA145 在多种类型的肿瘤组织中表达明显减少,其中包括胃癌等消化道肿瘤^[1]、卵巢癌、宫颈癌等生殖器官^[2]、膀胱癌等泌尿系肿瘤^[3]、肺癌及骨肉瘤^[4]和白血病^[5]等,并且能够抑制肿瘤细胞的增殖生长、侵袭转移及凋亡等多个环节,均提示其发挥着抑癌基因的作用。

本研究表明,miRNA-145 的低表达与基底细胞癌的直径呈显著负相关,但是在不同的临床分型中的表达无明显差别,表明 miRNA-145 的低表达可能在基底细胞癌发生发展过程中也起重要作用,与临床分型无明显相关性,而与肿瘤的大小有一定的关系。

尽管已有研究报道 miRNA-145 具有肿瘤抑制作用,但其在肿瘤细胞增殖、转移以及侵袭中的机制尚不完全清楚。文献报道,miRNA-145 的高表达会诱导下调肿瘤转移相关的基因,包括 ADAM22、SPOCK3、PLAUR、SLC7A5 和 FASCN1^[6]。另有文献显示,在肾癌中 miRNA-145 可通过调控多个细胞凋亡相关的基因及细胞周期调节基因的表达起到抑癌作用,而 miRNA-145 的作用靶点是 bcl-2、e2f3、cdk6 和 cend1 其中的一个或是多个。本研究中 Bcl-2 在基底细胞癌组织中表达增加,发挥着癌基因的作用。由此提示,皮肤基底细胞癌中 miRNA-145 作用的靶点可能是 bcl-2, Bcl-2 蛋白能稳定线粒体膜,抑制细胞色素 c 释放,阻止 Apaf1 和 caspase 蛋白激活,从而抑制凋亡,在细胞凋亡信号通路中发挥重要作用。

我们将进一步研究 miRNA-145 对基底细胞癌细胞株的影响,探讨基底细胞癌发生发展的分子机制。随着研究的不断深入,miRNA-145 可能成为基底细胞癌基因治疗的重要一分子。

参考文献

- [1]刘莎;孙国平.miRNA145 作为抑癌基因在胃癌中的表达及其功能研究 [J].安徽医药,2014,18(10):1817-1821.
- [2]师婕,张林燕.宫颈鳞癌患者组织中 miR-145 的表达及意义[J].疑难病杂志,2013,12(5):359-361.
- [3]莫仁,彭景涛,马坚,等.MicroRNA-145 在肾癌中的临床意义及其分子机制探讨[J].现代生物医学进展,2014,14(21):4018-4021.
- [4]范磊,袁同洲,陈琦,等.microRNA-145 抑制骨肉瘤生长以及血管形成的动物实验研究[J].南京医科大学学报(自然科学版)2015,35(2):160-164.
- [5]王玉,田甜,徐晨,等.外周血中 miRNA-145 表达作为肿瘤潜在诊断标志物的系统评价[J].现代预防医学,2015,42(14):2654-2658.
- [6]郭跃辉,姜斌.肿瘤细胞 miRNA145 表达生物学意义的研究现状 [J].中华肿瘤防治杂志,2012,19(4):317-320.

基金项目:贵州省科技厅联合基金黔科合 LH 字[2016]7481 号