

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.12.006

miRNA-329 和 Tiam1 在胃癌中的表达及其临床意义*

田 衍,舒 若[△],曾玉剑,王昆华,罗华友
(昆明医科大学第一附属医院胃肠与疝外科,昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨胃癌组织和癌旁正常组织中 miRNA-329(miR-329)、Tiam1 的表达及其临床意义。**方法** 收集 2015 年 6 月至 2017 年 3 月在该院接受治疗的 36 例胃癌组织和癌旁组织标本,利用实时荧光定量 PCR 检测 miR-329、Tiam1 mRNA 的表达,并对两者进行相关性分析,研究 miR-329、Tiam1 与临床病理特征的关系。**结果** 胃癌组织的 miR-329 水平比癌旁组织低,差异有统计学意义($P<0.05$);胃肠癌组织 Tiam1 mRNA 水平比癌旁组织高,差异有统计学意义($P<0.05$)。miR-329 与 Tiam1 mRNA 水平呈明显负相关($r=-0.854,P<0.01$)。Ⅲ期、Ⅳ期胃癌组织中 miR-329 水平明显低于Ⅰ期和Ⅱ期($P<0.05$);Ⅲ期、Ⅳ期胃癌组织中 Tiam1 mRNA 水平明显高于Ⅰ期和Ⅱ期($P<0.05$)。miR-329 在有淋巴结转移胃癌组织的表达明显低于无淋巴结转移者($P<0.05$),而有淋巴结转移胃癌组织中 Tiam1 mRNA 表达水平明显高于无淋巴结转移者($P<0.05$)。**结论** miR-329 及 Tiam1 可能是胃癌的诊断标志物和潜在治疗靶点。

[关键词] 胃肿瘤;miR-329;Tiam1;实时荧光定量 PCR
[中图法分类号] R735 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)12-2006-03

Expressions of miR-329 and Tiam1 in gastric cancer and their clinical significances*

TIAN Yan,SHURuo[△],ZENG Yujian,WANG Kunhua,LUO Huayou
(Department of Gastrointestinal and Hernia Surgery,the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University,Kunming,Yunnan 650032,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of microRNA-329 (miR-329) and Tiam1 in gastric cancer tissues and the para-carcinoma tissues,and analyze their clinical significances. **Methods** A total of 36 samples of gastric cancer tissues and the para-carcinoma tissues from whom treated at the hospital from June 2015 to March 2017 were collected. The expressions of miR-329 and Tiam1 mRNA were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The correlation between them and their correlations with the clinical pathology features were analyzed. **Results** miR-329 expression was lower in gastric cancer tissues compared with that in the para-carcinoma tissues,the difference was statistically significant ($P<0.05$). Tiam1 mRNA was significantly higher in gastric cancer tissues compared with that in the para-carcinoma tissues,the difference was statistically significant ($P<0.05$). miR-329 expression was negatively correlated with Tiam1 mRNA expression ($r=-0.854,P<0.01$). Furthermore,miR-329 expressions in gastric cancer tissues in stage Ⅲ and Ⅳ were significantly lower than those in stage Ⅰ and Ⅱ ($P<0.05$),while Tiam1 mRNA expressions in gastric cancer tissues in stage Ⅲ and Ⅳ were significantly higher than those in stage Ⅰ and Ⅱ ($P<0.05$). In addition,miR-329 expression in gastric cancer tissues with lymph node metastasis was obviously lower than that without lymph node metastasis ($P<0.05$),while Tiam1 mRNA expression was obviously higher ($P<0.05$). **Conclusion** miR-29b and Tiam1 might be the potential diagnostic markers and therapeutic targets for gastric cancer.

[Key words] gastric neoplasms;miR-329;Tiam1;real-time quantitative PCR

胃癌是最常见的癌症之一,主要发生在亚洲国家,包括韩国、日本和中国^[1]。胃癌的发生受到多种因素的影响,包括高盐食物、硝化食品和酒精摄入量,水果和蔬菜摄入过少,吸烟和幽门螺旋杆菌感染等^[2]。与其他恶性肿瘤一样,遗传和表观遗传因素均参与了胃癌的发病机制^[3]。如果在发病早期诊断出胃癌,其病死率会大大降低^[4],因此寻找发病早期的特异性肿瘤标记物来筛选高风险人群具有重要作用。但是,由于肿瘤标记物的低敏感度和特异度,检测胃癌的标记物较为有限^[5]。因此,发现诊断胃癌的新的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(3171101074);云岭学者项目(YLXL20170002);云南省卫生厅内设机构项目(2018NS0084,2018NS0085)。
作者简介:田衍(1973—),副主任医师,硕士,主要从事胃肠肿瘤方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:waterlily30@163.com。

表 1 RT-qPCR 检测基因的引物序列

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
miR-326	GGGAACACACCTGGTTAAC	CAGTGCCTGTCGTGGAGT
Tiam1	GCATTCTGTGACTGAGCAG	TCAGGAAGCCAATTCTCACG
U6	CTCGCTTCGGCAGCACATATACT	ACGCTTCACGAATTTGCGTGTCT
GAPDH	AATGGGCAGCCGTTAGGAAA	TGAAGGGGTCATTGATGGCA

标记物是学界目前亟待解决的重大问题。

miRNA 是一类片段大小为 21~25 bp 的非编码 RNA,它们能够通过抑制 mRNA 的翻译或者绑定 mRNA 的 3'-UTR 区减少 mRNA 分子,从而沉默它们同源的靶基因,在不同的细胞过程中发挥重要作用,维持正常的生理环境^[6-8]。在癌症中,特别的 miRNA 能够作为抑癌因子或致癌因子,因此被认为是癌症早期诊断和判断预后的生物标记物^[9],能够控制肿瘤的多种功能,包括细胞增殖、转移、入侵、分化、凋亡和代谢过程等^[10]。研究发现,miRNA-329(miR-329)在胃癌中低表达,而其靶基因 T 淋巴瘤浸润转移诱导因子 1(Tiam1)在胃癌中高表达^[11-12]。但目前综合分析 miR-329 和 Tiam1 在胃癌中的表达及其临床意义的文献较少,本研究通过检测胃癌组织和癌旁组织中 miR-329、Tiam1 mRNA 表达,分析两者相关性,并且观察它们与胃癌病理特征的关系,以探讨胃癌的发病机制和潜在的药物治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在取得患者知情同意后,收集本院 2015 年 6 月至 2017 年 3 月手术切除的胃癌组织标本及正常的癌旁组织(距离癌组织大于 3 cm),手术切除的新鲜标本置于-80℃冰箱保存。标本共计 36 例,其中男 23 例,女 13 例;年龄 40~79 岁,平均(67.89±8.19)岁。参考 2010 年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UJCC/AICC)的 TNM 分期标准对胃癌组织进行临床分期^[13]。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 按照 Trizol 试剂说明书取约 50 mg 组织提取总 RNA,RNase-Free H₂O 溶解 RNA,微量分光光度计检测 RNA 浓度及纯度,然后反转录合成 cDNA,-80℃保存备用。采用 Taqman RT-PCR kit 进行 PCR 扩增,检测 miR-329 以 U6 为内参基因,检测 Tiam1 mRNA 表达水平以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参基因,引物序列见表 1。反应在 ABIQ6 型实时荧光定量 PCR 仪上进行,测定每个样品的 Ct 值,相对含量为 2^{-△△Ct}。

1.2.2 观察指标 记录并统计所有患者标本的临床分期及是否出现淋巴结转移情况。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行分析处理。所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,

采用 Pearson 相关系数等分析数据,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-329 与 Tiam1 mRNA 在胃癌组织和癌旁组织中的相对表达量分析 胃癌组织的 miR-329 水平比癌旁组织低,差异有统计学意义(*P*<0.05);胃癌组织 Tiam1 mRNA 水平比癌旁组织高,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

表 2 miR-329、Tiam1 mRNA 在胃癌组织和癌旁组织中的水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-329	Tiam1
胃癌组织	36	0.42±0.32	4.31±2.41
癌旁组织	36	1.00±0.00	1.00±0.00
<i>t</i>		-10.09	8.30
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.2 miR-329 与 Tiam1 mRNA 的相关性分析 将 miR-329 与 Tiam1 mRNA 在胃癌组织与癌旁组织中的相对表达量进行相关分析,结果显示二者表达呈明显负相关(*r*=-0.854,*P*<0.01),见图 1。

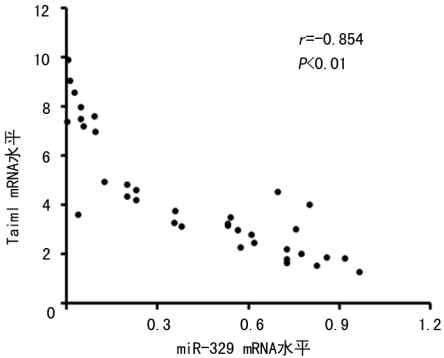


图 1 miR-329 与 Tiam1 mRNA 表达的相关性

2.3 miR-329、Tiam1 表达与胃癌主要临床病理特征的关系 在不同临床分期中,miR-329 和 Tiam1 mRNA 水平表现出不同的趋势。随着临床分期的进展,miR-329 水平下降,其中Ⅲ期和Ⅳ期胃癌组织中 miR-329 水平明显低于Ⅰ期和Ⅱ期胃癌组织(*P*<0.05)。随着临床分期的进展,Tiam1 mRNA 表达上升,其中Ⅲ期和Ⅳ期胃癌组织中 Tiam1 mRNA 水平明显高于Ⅰ期和Ⅱ期胃癌组织(*P*<0.05)。miR-329 在有淋巴结转移的胃癌组织中的表达明显低于无淋巴结转移

者($P<0.05$),而有淋巴结转移的胃癌组织中 Tiam1 mRNA 的水平明显高于无淋巴结转移者($P<0.05$),见表 3。

表 3 miR-329、Tiam1 mRNA 水平与胃癌临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	miR-329	<i>P</i>	Tiam1	<i>P</i>
临床分期			<0.05		<0.05
I + II	22	0.64±0.08		2.77±0.96	
III + IV	14	0.08±0.07		6.72±1.97	
淋巴结转移			<0.05		<0.05
有	12	0.06±0.05		7.13±1.83	
无	24	0.60±0.22		2.90±1.00	

3 讨 论

胃癌是一种恶性上皮肿瘤疾病,具有高发病率和病死率^[14-16]。研究表明,miRNA 在多种癌症中异常表达,并且参与癌症的发生和发展^[17-19]。miR-329 在许多癌症中低表达,如神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤和胰腺癌等^[20-22]。miR-329 通过绑定 KDM1A 能够抑制神经母细胞瘤细胞的生长和运动^[20]。而在胃癌中,通过下调 Tiam1、miR-329 能够抑制细胞的入侵和生长^[11]。

本研究发现,胃癌组织中 miR-329 表达下降,同时 Tiam1 过表达,两者呈明显负相关。结合相关文献报道及生物信息学分析,猜测肠道正常组织 miR-329 对 Tiam1 的表达负向调控。在各种致癌因子的刺激下,miR-329 对 Tiam1 的负向调控相对较弱,从而使 Tiam1 的表达在病理状态下增加,影响肿瘤的微环境,从而进一步诱导和促进肿瘤细胞的转移。本研究发现,与癌旁正常组织相比,Tiam1 在胃癌组织中的表达升高,且 TNM 分期为 I、II 期胃癌组织中 miR-329 的表达水平明显高于 III、IV 期胃癌组织($P<0.05$),而 I、II 期胃癌组织中 Tiam1 mRNA 的表达水平明显低于 III、IV 期胃癌($P<0.05$),因此推测 miR-329 和 Tiam1 mRNA 可能成为胃癌临床分期的指标。另外,miR-329 在有淋巴结转移的胃癌组织中的表达明显低于无淋巴结转移者,Tiam1 mRNA 表达则与其相反。曹苏娟等^[23]研究发现,与正常胃黏膜组织相比,Tiam1 在胃癌组织中高表达,且随着 TNM 分期的升高和淋巴结转移的发生,Tiam1 蛋白染色阳性率逐渐升高。LIU 等^[24]研究发现 Tiam1 在转移性结肠癌细胞系(LoVo 和 SW620)中的表达明显高于原发性结肠癌细胞系(LS174T、SW480、HCT116、LST、HRT 和 Hee8693)的表达,这说明 Tiam1 基因与癌症转移性相关。上述结果均证明,Tiam1 的表达与癌症的侵袭、转移密切相关。而本文结果提示,胃癌中 miR-329 表达下降,Tiam1 表达上调可能是胃癌

的发病机制之一,miR-329 和 Tiam1 可能是胃癌潜在的诊断标志物。

参考文献

[1] PARKIN D M, BRAY F, FERLAY J, et al. Global cancer statistics,2002[J]. CA Cancer J Clin,2005,55(2):74-108.

[2] MINGUEZ B,LACHENMAYER A. Diagnostic and prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma [J]. Dis Markers,2011,31(3):181-190.

[3] HARTGRINK H H, JANSEN E P, VAN GRIEKEN N C, et al. Gastric cancer[J]. Lancet,2009,374(9688):477-490.

[4] GOTODA T, YAMAMOTO H, SOETIKNO R M. Endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer[J]. J Gastroenterol,2006,41(10):929-942.

[5] LI C, LI J F, CAI Q, et al. MiRNA-199a-3p: a potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer [J]. J Surg Oncol,2013,108(2):89-92.

[6] SEKAR D, HAIRUL ISLAM V I, THIRUGNANASAMBANTHAM K, et al. Relevance of miR-21 in HIV and non-HIV-related lymphomas [J]. Tumour Biol,2014,35(9):8387-8393.

[7] SARAVANAN S, THIRUGNANASAMBANTHAM K, HANIEH H, et al. miRNA-24 and miRNA-466i-5p controls inflammation in rat hepatocytes[J]. Cell Mol Immunol,2015,12(1):113-115.

[8] SEKAR D, SARAVANAN S, KARIKALAN K, et al. Role of microRNA 21 in mesenchymal stem cell (MSC) differentiation; a powerful biomarker in MSCs derived cells[J]. Curr Pharm Biotechnol,2015,16(1):43-48.

[9] HE L, THOMSON J M, HEMANN M T, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene [J]. Nature,2005,435(743):828-833.

[10] SHIMONO Y, ZABALA M, CHO R W, et al. Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells[J]. Cell,2009,138(3):592-603.

[11] LI Z, YU X, WANG Y, et al. By downregulating TIAM1 expression, microRNA-329 suppresses gastric cancer invasion and growth [J]. Oncotarget,2015,6(19):17559-17569.

[12] SHI Y L, MIAO R Z, CHENG L, et al. Up-regulation of T-lymphoma and metastasis gene 1 in gastric cancer and its involvement in cell invasion and migration [J]. Chin Med J (Engl),2013,126(4):640-645.

[13] SOBIN L H, FLEMING I D. TNM classification of malignant tumors, fifth edition (1997). union Internationale contre le cancer and the American joint committee on cancer [J]. Cancer,1997,80(9):1803-1804.

[14] HEISE K, BERTRAN E, ANDIA M E, et al. Incidence and survival of stomach cancer in a high-risk population of Chile [J]. World J Gastroenterol,2009,(下转第 2013 页)

- 1765.
- [2] PÉREZFERRER A, NAVARROSUAY R, VIEJOLLOR EN-TE A, et al. In vitro thromboelastometric evaluation of the efficacy of frozen platelet transfusion[J]. *Thromb Res*, 2015, 136(2):348-53.
- [3] CROWE J H, TABLIN F, WOLKERS W F, et al. Stabilization of membranes in human platelets freeze-dried with trehalose[J]. *Chem Phys Lipids*, 2003, 122(1/2):41-52.
- [4] 刘仁强, 秦艳兰, 梁兵, 等. 血小板制品细菌污染风险的研究[J]. *临床血液学杂志(输血与检验版)*, 2010, 23(2):210-213.
- [5] Centers for Disease Control and Prevention(DCD). Fatal-bacterial infections associated with platelet transfusions United States, 2004[J]. *M M WR Morb Mortal Wkly Rep*, 2005, 54(7):168-170.
- [6] 丁国良, 秦卫胜, 赵林园, 等. 冰冻血小板的关键制备技术及临床应用研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(4):1226-1231.
- [7] HULL W F, WOOD D C. Eye effects of DMSO; report of negative results[J]. *Northwest Med*, 1969, 68(1):39-41.
- [8] JOVANOVIĆ R, GRUJIĆ J, RADLOVACKI V, et al. Cryopreservation-challenge of platelet concentrates long time preservation[J]. *Health MED*, 2011, 5(6):1683-1694.
- [9] 李卉, 邢颜超, 刘景汉. 临床应用低温保存血小板的 8 年回顾性研究[J]. *中国输血杂志*, 2008, 21(11):849-851.
- [10] 春媛, 张楠, 庞桂芝, 等. 血液病患者反复输注冷冻血小板联合冷沉淀的效果观察[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(19):3967-3968.
- [11] 吴子权. 分析机采新鲜血小板与冰冻血小板的临床应用疗效[J]. *中外医疗*, 2014(26):54-55.
- [12] 刘广亚, 单桂秋, 张雅妮, 等. 冷冻血小板促进大鼠皮肤创面愈合的研究[J]. *中国输血杂志*, 2014, 2(27):139-142.
- [13] 罗光成, 易婷婷, 刘素兰, 等. 二甲亚砜对外周血单个核细胞增殖能力和细胞因子分泌功能的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(5):711-714.
- [14] HOLLEY A, MARKS D C, JOHNSON L, et al. Frozen blood products: clinically effective and potentially ideal for remote Australia[J]. *Anaesth Intensive Care*, 2013, 41(1):10-19.
- [15] LELKENS C C, KONING J G, DE KORT B, et al. Experiences with frozen blood products in the Netherlands military[J]. *Transfusion*, 2006, 46(9):17.

(收稿日期:2019-01-22 修回日期:2019-03-27)

(上接第 2008 页)

- 18(15):1854-1862.
- [15] WU C W, HSIUNG C A, LO S S, et al. Nodal dissection for patients with gastric cancer: a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(4):309-315.
- [16] WU C W, LO S S, SHEN K H, et al. Surgical mortality, survival, and quality of life after resection for gastric cancer in the elderly[J]. *World J Surg*, 2000, 24(4):465-472.
- [17] FEI B J, WU H R. MiR-378 inhibits progression of human gastric cancer MGC-803 cells by targeting MAPK1 in vitro[J]. *Oncol Res*, 2012, 20(12):557-564.
- [18] YE Z, JING Z L, YANGBO L, et al. Propofol inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells by regulation of microRNA-143 expression[J]. *Oncol Res*, 2013, 21(4):201-207.
- [19] WANG Z Y, WANG N, LIU P X, et al. MicroRNA-25 regulates chemoresistance-associated autophagy in breast cancer cells, a process modulated by the natural autophagy inducer isoliquiritigenin[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16):7013-7026.
- [20] YANG H F, LI Q, ZHAO W H, et al. miR-329 suppresses the growth and motility of neuroblastoma by targeting KDM1A[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(1):192-197.
- [21] XIAO B X, TAN L, HE B F, et al. MiRNA-329 targeting E2F1 inhibits cell proliferation in glioma cells[J]. *J Transl Med*, 2013, 11(1):172.
- [22] WANG X J, LU X X, ZHANG T, et al. Mir-329 restricts tumor growth by targeting grb2 in pancreatic cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16):21441-21453.
- [23] 曹苏娟, 李国亮, 张忠山, 等. 胃癌组织中 Tiam1 的表达及临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2012, 27(4):343-345.
- [24] LIU L, WU D H, DING Y Q. Tiam1 gene expression and its significance in colorectal carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(5):705-707.

(收稿日期:2019-01-18 修回日期:2019-03-23)