

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201805014

· 论著 ·

# miR-34b 基因在鼻咽癌组织中的表达及意义

符 牧, 杨中川, 梁 颖

(海口市人民医院耳鼻咽喉科, 海南 海口 570208)

**摘要:** **目的** 检测鼻咽癌组织中 miR-34b 的表达, 并探讨其与鼻咽癌临床病理的关系。**方法** 收集2016年1月~2017年10月海口市人民医院经病理确诊的114例鼻咽癌患者标本作为鼻咽癌组, 另选取同期行鼻内镜鼻息肉手术切除的良性鼻咽标本40例作为对照组。采用荧光定量PCR检测 miR-34b 在两组中的表达, 并分析其与鼻咽癌临床病理特征的关系。**结果** 鼻咽癌组织中 miR-34b 的相对表达量  $2^{-\Delta Ct}$  值为  $0.136 \pm 0.021$ , 显著低于对照组的  $0.294 \pm 0.052$  ( $P < 0.01$ ); miR-34b 的相对表达量  $2^{-\Delta Ct}$  值与鼻咽癌患者的性别、年龄和病理分级无显著相关性 ( $P > 0.05$ ); miR-34b 的相对表达量  $2^{-\Delta Ct}$  值在临床 III、IV 期患者为  $0.126 \pm 0.015$ , 显著低于 I、II 期患者的  $0.183 \pm 0.046$  ( $P < 0.05$ ); miR-34b 值在淋巴结有转移的患者为  $0.116 \pm 0.013$ , 显著低于无转移的  $0.162 \pm 0.041$  ( $P < 0.05$ )。**结论** 鼻咽癌组织中 miR-34b 呈低表达, 其表达变化可能参与鼻咽癌的发生、发展和转移过程。

**关键词:** 鼻咽癌; miR-34b; 荧光定量-PCR

中图分类号: R730.261; R739.63 文献标识码: A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24(5): 451-453]

## Clinical significance of miR-34b expression in nasopharyngeal carcinoma tissues

FU Mu, YANG Zhong-chuan, LIANG Ying

(Department of Otorhinolaryngology, People's Hospital of Haikou City, Haikou 570208, China)

**Abstract:** **Objective** To detect the changes of miR-34b expression in nasopharyngeal carcinoma (NPC) and explore its clinicopathological significance. **Methods** Specimens from 114 NPC patients hospitalized in our department from Jan 2016 to Oct 2017 were included and 40 benign nasopharyngeal specimens obtained during endoscopic surgery of nasal polyps were selected as control. Fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the expression of miR-34b. The relationship between the miR-34b expression and clinicopathological features of NPC was analyzed. **Results** The  $2^{-\Delta Ct}$  value of miR-34b in the NPC group was  $0.136 \pm 0.021$ , which was lower than that of  $0.294 \pm 0.052$  in the control group ( $P < 0.01$ ). The  $2^{-\Delta Ct}$  value of miR-34b was insignificantly correlated with patients' gender, age and differentiation of tumor (all  $P > 0.05$ ). The  $2^{-\Delta Ct}$  value of miR-34b in NPC specimens of stage III and IV was  $0.126 \pm 0.015$ , which was lower than that of  $0.183 \pm 0.046$  in those of stage I and II ( $P < 0.05$ ). And the value in lymph node metastasis subgroup of NPC was  $0.116 \pm 0.013$ , which was lower than that of  $0.162 \pm 0.041$  in subgroup without lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Low expression of miR-34b is detected in NPC, which may participate in the occurrence, development, and lymph node metastasis of this tumor.

**Key words:** Nasopharyngeal neoplasm; miR-34b; Fluorescence quantitative polymerase chain reaction

[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(5): 451-453]

鼻咽癌是常见的头颈部恶性肿瘤, 其发病机制目前尚未完全阐明, 随着我国人口老龄化加剧, 鼻咽癌的人群患病率呈现不断上升的趋势<sup>[1]</sup>。微小

RNA (miRNA) 是一类高度保守的非编码 RNA 短序列, 核苷酸长度 18 ~ 25bp<sup>[2]</sup>, 研究显示此非编码 RNA 可以调节很多致癌基因、抑癌基因, 参与到肿瘤的发生、发展、侵袭、抗药等过程中<sup>[3]</sup>。miR-34b 是 MiR-34 家族成员, 此家族成员保持了 82% ~ 86% 的基因同源性, 家族中的 miR-34a 已被很多临床研究证实是一个关键的抑癌因素<sup>[4]</sup>, 在一些恶性

基金项目: 海南省自然科学基金项目(20168315)。  
作者简介: 符 牧, 男, 主治医师。  
通信作者: 符 牧, Email: ml3876789781\_1@163.com

实体瘤的观察中也发现 miR-34b 具有抑癌的活性<sup>[5]</sup>。本研究检测了鼻咽癌患者组织标本中 miR-34b 基因表达的改变,并探讨 miR-34b 表达改变在鼻咽癌中的临床意义。

## 1 资料与方法

收集海口市人民医院耳鼻咽喉科 2016 年 1 月~2017 年 10 月收治的 114 例经病理确诊为鼻咽癌的患者标本。其中男 66 例,女 48 例;年龄 35~77 岁,平均(61.54 ± 12.41)岁。病理分级<sup>[6]</sup>:鳞状细胞癌 46 例,非角化性癌 41 例,未分化型癌 27 例。临床分期<sup>[6]</sup>: I 期 8 例, II 期 12 例, III 期 62 例, IV 期 32 例;淋巴结转移:颈部伴淋巴结转移 64 例,无淋巴结转移 50 例。排除对象:曾接受放疗、化疗、生物免疫治疗者,伴发其他器官原发性肿瘤者。另选取我院同期行鼻内镜鼻息肉手术切除的良性鼻咽标本 40 例作为对照组,均经术后病理排除肿瘤,其中男 23 例,女 17 例;年龄 34~72 岁,平均(61.28 ± 12.17)岁。两组在性别年龄差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究获得我院伦理委员会批准,并与家属签署知情同意书。

### 1.1 主要试剂和仪器

Trizol、Taq Micro RNA 逆转录试剂盒购自美国 Ambion 公司, RNA 提取试剂盒购自日本 Takara 公司, miRNA 特异性茎环结构反转录引物由上海生工生物公司设计合成,实时荧光定量 PCR 试剂盒购自广州市锐博生物科技有限公司, ABI-7500 PCR 仪为美国 Applied Biosystems 公司产品。

### 1.2 miR-34b 表达的检测

取鼻咽癌和对照组组织 50 mg,用液氮研磨法将组织磨成粉末, PBS 缓冲液洗涤后加入 1 ml Trizol,按照 RNA 提取试剂盒说明书操作提取组织总 RNA,取 40 ng 总 RNA 使用 RT-PCR 试剂盒反转录出 cDNA。以 cDNA 为模板进行实时定量荧光 PCR 扩增,以试剂盒提供的 U6 作为内参照。扩增条件: 95℃ 预变性 60 s, 95℃ 变性 15 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环。根据标准溶解曲线,参照内参照 U6 计算 miR-34b 的相对表达量用  $2^{-\Delta Ct}$  值表示。每个检测重复 3 次,取平均值。

### 1.3 统计学方法

资料输入 SPSS 16.0 软件进行分析,采用 K-S 检验进行计量资料的正态分布检验,  $P > 0.05$  符合正态分布,正态分布的计量资料采用配对  $t$  检验,多

组均数比较使用方差分析,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 两组 miR-34b 相对表达量比较

鼻咽癌组织中 miR-34b 的相对表达量  $2^{-\Delta Ct}$  值为  $0.136 \pm 0.021$ ,对照鼻咽组织中 miR-34b 的相对表达量  $2^{-\Delta Ct}$  值为  $0.294 \pm 0.052$ ,统计分析显示鼻咽癌组织中  $2^{-\Delta Ct}$  值显著低于对照鼻咽组织 ( $P = 0.000$ )。具体见表 1。

表 1 miR-34b 在鼻咽癌组织和对照组组织中表达量的比较 (例,  $\bar{x} \pm s$ )

分组	例数	相对表达量 $2^{-\Delta Ct}$	$t$	$P$
对照组	40	$0.294 \pm 0.052$	13.75	0.000
鼻咽癌组	114	$0.136 \pm 0.021$		

### 2.2 miR-34b 表达与鼻咽癌患者各临床指标的关系

miR-34b 的相对表达量  $2^{-\Delta Ct}$  值与鼻咽癌患者的性别、年龄和病理分级无显著相关性 ( $P > 0.05$ );在临床 III、IV 期患者中其相对表达量为  $0.126 \pm 0.015$ ,显著低于 I、II 期患者的  $0.183 \pm 0.046$  ( $P < 0.05$ );在有淋巴结有转移患者中为  $0.116 \pm 0.013$ ,显著低于无转移的  $0.162 \pm 0.041$  ( $P < 0.05$ )。具体见表 2。

表 2 鼻咽癌 miR-34b 的表达与临床指标的关系 (例,  $\bar{x} \pm s$ )

临床指标	例数	$2^{-\Delta Ct}$	$t/(F)$	$P$
性别			(0.295)	0.706
男	66	$0.137 \pm 0.023$		
女	48	$0.135 \pm 0.019$		
年龄(岁)			(0.284)	0.723
≥60	71	$0.134 \pm 0.016$		
<60	43	$0.139 \pm 0.027$		
临床分期			2.638	0.018
I、II 期	20	$0.183 \pm 0.046$		
III、IV 期	94	$0.126 \pm 0.015$		
病理分级			(0.285)	0.719
鳞状细胞癌	46	$0.133 \pm 0.017$		
非角化性	41	$0.137 \pm 0.023$		
未分化型	27	$0.139 \pm 0.025$		
淋巴结转移			2.614	0.023
无	50	$0.162 \pm 0.041$		
有	64	$0.116 \pm 0.013$		

## 3 讨论

鼻咽癌的发生、发展需要一个过程,鼻咽位置隐蔽,患者就诊时往往已经发展到中、晚期,病变如果能早期发现并切除,患者可以获得好的预后<sup>[7]</sup>。

miRNA 是机体内一种极为重要的基因调控物质,参与到细胞的增殖、分化、合成代谢过程中<sup>[8]</sup>,对肿瘤细胞的分化、增殖也可以起到调控作用<sup>[9]</sup>。差异基因芯片分析显示鼻咽癌中存在一些表达异常的 miRNAs,具有诊断、预测治疗反应及判断预后的价值或预后价值<sup>[10]</sup>。miR-34b 是 miR-34 家族成员<sup>[11]</sup>,有研究显示 miR-34b 基因突变的失活与肿瘤的发病风险密切相关<sup>[12]</sup>,吕磊等<sup>[13]</sup>给膀胱癌 BIU-87 细胞转染 miR-34b 基因后,发现肿瘤细胞的增殖得到了抑制,Yu 等<sup>[14]</sup>的研究发现肿瘤干细胞中 miR-34b 低表达,此基因的缺失可以丧失对肿瘤干细胞的抑制,增加了肿瘤复发的机会。上述研究结果都提示了 miR-34b 在肿瘤中发挥着抗肿瘤活性,本研究使用实时荧光定量 PCR 分析,与对照的非肿瘤鼻咽组织比较,鼻咽癌组织中 miR-34b 的  $2^{-\Delta Ct}$  值显著减低,说明了鼻咽癌组织 miR-34b 低表达,提示了 miR-34b 低表达可能参与了鼻咽癌的发生过程。

本研究检测到了临床 III、IV 期鼻咽癌患者 miR-34b 的表达量显著低于 I、II 期患者,说明了低的 miR-34b 表达预示差的预后。本研究也观察到有淋巴结转移的患者 miR-34b 的表达量显著低于淋巴结无转移的患者,说明了 miR-34b 有可能在鼻咽癌中发挥抑制肿瘤迁移的作用。上述结果提示了在鼻咽癌中低表达 miR-34b,可能与鼻咽癌的临床分期、肿瘤转移等病理参数密切相关。总之,本研究发现鼻咽癌组织中 miR-34b 低表达,其变化可能参与鼻咽癌的发生、发展和转移过程。

#### 参考文献:

[1] Cai Y, Xue M, Chen W, et al. Expenditure of hospital care on cancer in China, from 2011 to 2015 [J]. *Chin J Cancer Res*, 2017, 29(3):253-262.

[2] Wang J, Chen J, Sen S. MicroRNA as biomarkers and diagnostics [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(1):25-30.

[3] 邓铃, 罗霞, 杨咏, 等. 鼻咽癌石蜡标本中筛选差异表达的 miRNA [J]. *广东药学院学报*, 2014, 30(4):497-500.

Deng L, Luo X, Yang Y, et al. Screening differential expression of miRNA in paraffin specimens of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Journal of Guangdong Pharmaceutical University*, 2014, 30(4):497-500.

[4] 王琼, 刘蓓, 贺玉娟, 等. MiR-34b 的表达与三阴性乳腺癌的临床特点及预后的关系 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(1):26-29.

Wang Q, Liu B, He YJ, et al. The relationship between the expression of MiR-34b and clinical characteristics and prognosis of

three negative breast cancer [J]. *Journal of Modern Medicine in China*, 2015, 25(1):26-29.

[5] Jiang L, Hermeking H. miR-34a and miR-34b/c suppress intestinal tumorigenesis [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(10):2746-2758.

[6] 黄少华, 陈贤明, 谢九根. 不同病理类型鼻咽癌临床特征和预后分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2015, 21(5):383-385.

Huang SH, Chen XM, Xie JG. Different clinical features and prognosis of pathological types in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery*, 2015, 21(5):383-385.

[7] 余笠, 谭浩蕾, 朱刚才, 等. MiR-98 靶向 MTDH 调控鼻咽癌恶性进展的实验研究 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2016, 22(6):455-461.

She L, Tan HL, Zhu GC, et al. MiR-98 targeting MTDH regulation of malignant progress in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery*, 2016, 22(6):455-461.

[8] Xu C, Chen YP, Ma J. Clinical trials in nasopharyngeal carcinoma-past, present and future [J]. *Chin Clin Oncol*, 2016, 5(2):20-24.

[9] 杨年婷, 刘超, 李果, 等. MiR-324-3p 经上皮-间质转化调控鼻咽癌迁移侵袭的实验分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2016, 22(2):95-99.

Yang NT, Liu C, Li G, et al. MiR-324-3p regulating the migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma through epithelial mesenchymal transition [J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery*, 2016, 22(2):95-99.

[10] Li L, Wu J, Sima X, et al. Interactions of miR-34b/c and TP-53 polymorphisms on the risk of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3):1919-1923.

[11] 殷玉敬, 高辉, 郭佳, 等. MiR-34b 和 miR-155 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义 [J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(14):1993-1996.

Yin YJ, Gao H, Guo J, et al. Expression and clinical significance of MiR-34b and miR-155 in non-small cell lung cancer [J]. *Modern Oncology*, 2015, 23(14):1993-1996.

[12] Li H, Diao S, Li J, et al. An updated meta-analysis of 23 case-control studies on the association between miR-34b/c polymorphism and cancer risk [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17):28888-28896.

[13] 吕磊, 黄韬, 黄遂斌, 等. miR-34b 抑制膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖 [J]. *肿瘤*, 2016, 36(1):12-19.

Lyu L, Huang T, Huang SB, et al. MiR-34b inhibits the proliferation of bladder cancer BIU-87 cells [J]. *Tumor*, 2016, 36(1):12-19.

[14] Yu K. The Rs4938723 polymorphism reduces expression of microRNA-34b and increases the risk of recurrence after endoscopic dissection in early gastric cancer [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(3):1235-1246.

(收稿日期:2017-11-24)