

# 血清 miR-145 表达与乳腺癌患者的相关性分析

卜易莹<sup>1</sup>, 韩东兴<sup>1</sup>, 刘邦令<sup>1</sup>, 姚露<sup>1</sup>, 刘少扬<sup>2</sup>

(1.上海市建工医院乳腺外科, 上海 200080;

2.上海市普陀区中心医院骨科, 上海 200333)

**摘要:**目的 探讨乳腺癌骨转移患者血清 miR-145 的表达水平及其临床意义。方法 采集上海市建工医院于 2014 年 8 月~2017 年 8 月收治的 160 例乳腺癌患者的血清样本, 其中乳腺癌骨转移患者与非骨转移患者各 80 例。采用实时荧光定量 PCR 检测血清样本中 miR-145 的表达水平, 并分析其与有无骨转移、骨转移程度、骨痛程度的相关关系。结果 骨转移患者血清中 miR-145 的相对表达量低于乳腺癌非骨转移患者 $[(1.22 \pm 0.24) \text{ vs } (2.57 \pm 0.38)]$ , 差异有统计学意义 $(P < 0.05)$ ; 且 miR-145 的相对表达量与患者的骨转移程度 $(r = -0.873)$ 、骨痛程度 $(r = -0.685)$ 呈负相关, 差异有统计学意义 $(P < 0.05)$ 。结论 乳腺癌骨转移患者血清 miR-145 的表达量明显降低, 且与病情呈负相关, miR-145 可作为诊断及病情评估指标。

**关键词:** miR-145; 乳腺癌; 骨转移

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2019.07.002

文章编号: 1006-1959(2019)07-0005-03

## Correlation Analysis between Serum miR-145 Expression and Breast Cancer Patients

BU Yi-ying<sup>1</sup>, HAN Dong-xing<sup>1</sup>, LIU Bang-ling<sup>1</sup>, YAO Lu<sup>1</sup>, LIU Shao-yang<sup>2</sup>

(1.Department of Breast Surgery, Shanghai Construction Engineering Hospital, Shanghai 200080, China;

2.Department of Orthopaedics, Shanghai Putuo District Central Hospital, Shanghai 200333, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression level of serum miR-145 in patients with breast cancer and its clinical significance. **Methods** Serum samples of 160 breast cancer patients admitted to Shanghai Construction Engineering Hospital from August 2014 to August 2017 were collected, including 80 patients with breast cancer metastasis and non-bone metastasis. Real-time quantitative PCR was used to detect the expression level of miR-145 in serum samples, and its correlation with bone metastasis, bone metastasis and bone pain was analyzed. **Results** The relative expression of miR-145 in patients with bone metastases was lower than that in patients with non-bone metastases  $[(1.22 \pm 0.24) \text{ vs } (2.57 \pm 0.38)]$ , the difference was statistically significant  $(P < 0.05)$ ; and miR-145 The relative expression was negatively correlated with the degree of bone metastasis  $(r = -0.873)$  and the degree of bone pain  $(r = -0.685)$ , the difference was statistically significant  $(P < 0.05)$ . **Conclusion** The expression of serum miR-145 is significantly decreased in patients with bone metastasis from breast cancer, and it is negatively correlated with the condition. miR-145 can be used as a diagnostic and disease assessment index.

**Key words:** miR-145; Breast cancer; Bone metastasis

乳腺癌(breast cancer)是发生于乳腺上皮组织的恶性肿瘤,是目前全球女性最常见的恶性肿瘤之一,占女性肿瘤总发病率的 30%<sup>[1,2]</sup>。尽管随着乳腺癌根治术技术的不断提高及各种靶向性药物的应用,乳腺癌患者的生存率及生活质量都有了显著提高,但其复发、转移仍是影响患者预后的主要因素。其中尤以骨转移最为常见,其发生率远高于肺、肝转移。有研究表明以骨转移为首发症状患者占 27%~50%,乳腺癌患者术后复发患者 2 年内发生骨转移的概率高达 63.4%<sup>[3,4]</sup>,骨转移早期症状不典型,诊断困难,发现时多已丧失最佳治疗时机,且病情进展迅速,其 5 年生存率仅有 20%<sup>[5]</sup>。因此,乳腺癌骨转移的实验室生化检查有极大的临床意义,是近年来的研究热点。微小 RNA(miR)是一类高度保守的由 18~22 个核苷酸组成的单链非编码 RNA。其经由 Dicer 酶完成 miR 前体到成熟体的转化<sup>[6,7]</sup>。miR 通过结合于 mRNA 的 3' 末端的非编码区从而抑制靶 mRNA 的翻译发挥调控靶基因表达的作用<sup>[8]</sup>。差异性表达的 mRNA 广泛参与肿瘤的发生、发展,因此特

异性表达 mRNA 也被认为是肿瘤诊断、治疗的新靶点。本研究探讨了 miR-145 在乳腺癌骨转移患者的表达量,以期为乳腺癌骨转移的诊断及治疗靶点的筛查提供新的思路。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 8 月~2017 年 8 月于上海市建工医院收治的 160 例乳腺癌患者,均为女性,按照是否存在骨转移分为乳腺癌骨转移组及乳腺癌非骨转移组,各 80 例。其中乳腺癌骨转移组,年龄 31~74 岁,平均年龄 $(52.57 \pm 6.36)$ 岁,病程 9 个月~9 年 6 个月,平均病程 $(5.20 \pm 2.61)$ 年;乳腺癌非骨转移组,年龄 32~77 岁,平均年龄 $(57.70 \pm 5.25)$ 岁,病程 7 个月~9 年 3 个月,平均病程 $(4.28 \pm 3.66)$ 年。纳入的所有患者原发灶均经过穿刺活检或病理切片检查明确为乳腺癌,骨转移病灶经计算机断层扫描、核磁共振成像或放射性核素扫描确认至少有 1 处转移灶。本研究经医院伦理委员会审批通过,患者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 所有血清标本均于患者明确诊断后未行手术治疗、放化疗、内分泌治疗之前采集。使用不含抗凝剂的真空采血管采集 两组患者外周静脉

作者简介: 卜易莹(1984.12-),女,上海人,硕士,医师,主要从事乳腺外科研究工作

通讯作者: 刘少扬(1988.8-),男,上海人,硕士,医师,主要从事骨外科研究工作

血 5 ml, 于 4℃ 下 2500 r/min 离心 15 min, 取上层血清液移至不含 RNA 酶的冻存管中, 置入 -80℃ 冰箱保存。

**1.2.2 RNA 提取与 miR-145 实时定量 PCR (qPCR) 检测** 血清样本中总 RNA 的提取采用 Trizol 试剂按操作说明书提取, 采用 Nano-Drop 2000 检测提取 RNA 的浓度并调节浓度为 200 ng/μL, 取 2 μL 按照 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Takara) 反转录试剂盒将 mRNA 反转录为 cDNA。每个样本取 2 μg, qPCR 采用 SYBR 法检测, 反应体系按上海生博生物公司 mRNA 荧光定量试剂盒操作规定进行操作, qPCR 扩增反应条件: 94℃ 10 min 预变性, 94℃ 30 s 变性, 60℃ 1 min 退火, 共 45 个循环。将 cDNA 于 ABI Prism7300 型实时定量 PCR 仪进行 qPCR 检测。miR-145 上游引物: 5'-GTCCAGTTTCCAGGAATCCCT-3', 下游引物: 5'-GCTGTCAACATACGCTACGTAACG-3'。以 U6 为 miR-145 的内参基因, 所有反应均设立 3 个复孔, 采用 2-Ct 计算相对表达量。

**1.3 观察指标及评价标准** 比较两组 miR-145 相对表达量, 分析其与有无骨转移、骨转移程度、骨痛程度的相关关系。采用疼痛视觉模拟评分 (VAS 评分)

评价骨痛程度, 按疼痛严重程度分组, 0~3 分为轻度组、4~6 分为中度组、7~10 分为重度组。采用 Soloway 分级标准评价肿瘤转移程度及 CT、MRI、PET-CT 的检查结果所显示的骨转移病灶数量不同, 1~6 个转移灶为 1 级、7~20 个转移灶为 2 级、>20 个转移灶为 3 级。所有患者均经过 12~36 个月随访观察。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS19.0 对数据进行统计分析。计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用独立样本 *t* 检验; 组间比较采用单因素方差分析, 相关性分析采用 Spearman 分析。以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 miR-145 在乳腺癌骨转移与非骨转移患者血清样本中的差异表达** qPCR 结果显示, miR-145 在两组患者血清样本中均有表达, 乳腺癌骨转移组患者血清 miR-145 相对表达量为 ( $1.22 \pm 0.24$ ) 低于乳腺癌非骨转移组的 ( $2.57 \pm 0.38$ ), 差异有统计学意义 ( $t = 10.96, P = 0.02$ )。

**2.2 miR-145 相对表达量与骨转移患者骨痛程度及骨转移程度的相关性分析** 经 Spearman 相关性分析发现, miR-145 与骨转移患者的骨痛程度及骨转移程度呈负相关, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 miR-145 相对表达量与骨痛、骨转移程度的相关性分析

| 类别       | <i>n</i> | miR-145   | <i>r</i> | <i>P</i> |
|----------|----------|-----------|----------|----------|
| 骨痛程度(分)  |          |           | -0.685   | 0.035    |
| 轻度组      | 43       | 1.68±0.31 |          |          |
| 中度组      | 25       | 0.96±0.23 |          |          |
| 重度组      | 12       | 0.74±0.26 |          |          |
| 骨转移程度(个) |          |           | -0.873   | 0.009    |
| 1 级组     | 37       | 1.52±0.29 |          |          |
| 2 级组     | 29       | 1.03±0.32 |          |          |
| 3 级组     | 14       | 0.66±0.21 |          |          |

## 3 讨论

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤, 在我国每年有近 17 万女性罹患乳腺癌。乳腺癌骨转移是乳腺癌最常见的转移灶。乳腺癌骨转移会导致病理性骨折、剧烈骨痛、神经功能障碍严重影响生活质量, 而其早期症状往往不明显, 一旦出现上述症状则多为疾病中晚期, 临床治疗效果不佳。寻找一种简单有效、且特异性高的实验室检查方法对乳腺癌骨转移患者的早期筛查有重要的临床意义。Matamala N 等<sup>[9]</sup>研究表明 mRNA 不仅仅在组织细胞中, 而且在血清中也能稳定存在。血清标本比较容易获得且近年来 qPCR 技术的日臻成熟, 这就为利用 mRNA 表达筛查诊断乳腺癌骨转移提供了比较可靠的技术路线。

Chang Y 等<sup>[10]</sup> 研究表明 miR-145 可通过调控 MAP3K1 来抑制非小细胞性肺癌的转化进程。Sheng

N 等<sup>[11]</sup> 研究显示 miR-145 表达可以抑制结肠癌细胞的侵袭与迁移, 其在结肠癌细胞中的表达下调。以上研究表明 miR-145 在恶性肿瘤的进程中可以发挥抑制的作用, 这也与本实验的研究结果一致。本研究结果显示乳腺癌骨转移患者血清中 miR-145 相对表达量低于非骨转移患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 且 miR-145 相对表达量与乳腺癌骨转移患者的骨转移程度、骨痛程度呈负相关, miR-145 相对表达量越低, 患者的骨痛明显, 患者骨转移程度越高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。提示 miR-145 可能参与了乳腺癌骨转移相关的生物学进程, 包含 miR-145 在内的 miRNA 家族参与多种生物学进程, 包括细胞的增殖、定向分化、凋亡等, 其调控及表达异常均可导致细胞的病理进程。生物信息学研究发现 SOX11 可能是 miR-145 作用的靶基因。SOX 家族是在细胞生长

中起关键调节作用的一组转录因子,SOX11 在抑癌及促癌中的作用已被广泛研究<sup>[12,13]</sup>。但 miR-145 通过靶向调节 SOX11 及其下游关于肿瘤骨转移的具体调节机制仍有待进一步的实验研究。

综上所述,miR-145 在在乳腺癌骨转移患者血清中的相对表达量相较于非骨转移患者显著下调,且其下调程度与骨痛程度及转移程度均呈相关性,miR-145 可作为乳腺癌骨转移的潜在诊断与筛查方法。

#### 参考文献:

- [1]Sigel RL,Miller KD,Jemal A.Cancer statistics,2016 [J].CA Cancer J Clin,2016,66(1):7-30.
- [2]Futakuchi M,Singh RK.Animal model for mammary tumor growth in the bone microenvironment[J].Breast Cancer,2013,20(3):195-203.
- [3]Xiao W,Zou Y,Zheng S,et al.Primary tumor resection in stage IV breast cancer:A systematic review and meta-analysis[J].European Journal of Surgical Oncology,2018,44(10):1604-1512.
- [4]Oruc Z,Kaplan MA,Arslan C.An update on the currently available and future chemotherapy for treating bone metastases in breast cancer patients [J].Expert Opinion on Pharmacother,2018,19(12):1305-1316.
- [5]Hofbauer LC,Rachner T,Singh SK.Fatal attraction:Why breast cancer cells home to bone [J].Breast Cancer Research,2008,10(1):101.
- [6]Hutvagner G,McLachlan J,Pasquinelli AE,et al.A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA [J].Science,2001,293(5531):834-838.
- [7]陈靛昱,张清媛.MicroRNA 在乳腺癌内分泌耐药中的研究新进展[J].临床肿瘤学杂志,2014,19(12):1147-1150.
- [8]Nakajima N,Takahashi T,Kitamura R,et al.MicroRNA-1 facilitates skeletal myogenic differentiation without affecting osteoblastic and adipogenic differentiation [J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2006,350(4):1006-1012.
- [9]Matamala N,Vargas MT,González-Cámpora R,et al.Tumor microRNA expression profiling identifies circulating microRNAs for early breast cancer detection [J].Clinical chemistry,2015,61(8):1098-1106
- [10]Chang Y, Yan W, Sun C,et al.miR-145-5p inhibits epithelial-mesenchymal transition via the JNK signaling pathway by targeting MAP3K1 in non-small cell lung cancer cells [J].Oncology Letters,2017,14(6):6923-6928.
- [11]Sheng N,Tan G,You W,et al.MiR-145 inhibits human colorectal cancer cell migration and invasion via PAK4-dependent pathway[J].Cancer Medicine,2017,6(6):1331-1340.
- [12]Jethon A,Pula B,Olbromski M,et al.Prognostic significance of SOX18 expression in non-small cell lung cancer [J].International Journal of Oncology,2015,46(1):123-132.
- [13]吴晓玲,厉云,李牧,等.Sox11 在宫颈癌及其癌前病变中的表达及意义[J].西安交通大学学报(医学版)2018,39(1):73-77.

收稿日期:2019-2-18;修回日期:2019-2-28

编辑/杜帆