

不同民族前列腺癌患者癌组织 miRNA 表达差异研究

王文光,王玉杰,刘 强,马 军,李前进,木拉提·热夏提,阿斯木江·阿不拉

(新疆医科大学第一附属医院泌尿外科,新疆 乌鲁木齐 830054)

摘要: **目的** 通过高通量测序探索不同民族前列腺癌患者生物学差异的候选 miRNA, 寻找潜在的肿瘤标志物。**方法** 选取 2020 年 10 月-2021 年 8 月新疆医科大学第一附属医院收治的病理确诊为汉族(HANC 组)、维吾尔族(WEIC 组)前列腺癌患者各 18 例,哈萨克族(HAC 组)前列腺癌患者 3 例,前列腺增生(HANN 组)患者 18 例。使用穿刺组织提取 RNA 进行测序,筛选差异表达的 miRNA 并进行靶基因预测及功能分析。采用 qRT-PCR 技术检测 5 个候选 miRNA 表达水平并进行扩大样本量验证。**结果** 通过高通量测序,HANC、WEIC、HAC、HANN 各组分别获得 18 490 709 条、14 440 655 条、17 192 254 条、17 069 016 条原始测序序列, 经过对测序片段碱基的质量检验和长度筛选, 各组获得干净序列分别为 15 814 065 条、13 418 490 条、16 318 109 条、16 399 958 条。筛选的差异表达 miRNA 中 WEIC 组较 HAC 组上调 4 个 miRNA, 下调 8 个 miRNA; WEIC 组较 HANC 组上调 15 个 miRNA, 下调 21 个 miRNA; HAC 组较 HANC 组上调 20 个 miRNA, 下调 16 个 miRNA; HANC 组较 HANN 组上调 69 个 miRNA, 下调 76 个 miRNA。功能预测显示, 不同民族间差异 miRNA 的靶基因参与的 KEGG 通路具有一定的相似性;qRT-PCR 验证了 5 个候选 miRNA, 结果显示 HANC 组和 WEIC 组中 hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 表达水平高于 HANN 组,hsa-miR-339-3p 表达水平则低于 HANN 组 ($P<0.05$); 与 HANC 组相比, WEIC 组中 hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 表达水平下调,hsa-miR-339-3p 和 hsa-miR-423-5p 表达水平则上调,但两民族间各 miRNA 表达比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。此外,qRT-PCR 验证结果与高通量结果表达趋势一致。**结论** hsa-miR-619-5p 和 hsa-miR-339-3p 有潜力作为前列腺癌与前列腺增生患者分子诊断标志物。

关键词: 前列腺癌;miRNA;高通量测序;肿瘤标志物

中图分类号:R737.25

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.01.002

文章编号:1006-1959(2023)01-0007-10

Differential Expression of miRNA in Cancer Tissues of Patients with Prostate Cancer in Different Nationalities

WANG Wen-guang,WANG Yu-jie,LIU Qiang,MA Jun,LI Qian-jin,Mulati Rexiati,Asimujiang Abula

(Department of Urology,the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University,Urumqi 830054,Xinjiang China)

Abstract: Objective To explore the candidate miRNAs with biological differences in prostate cancer patients of different nationalities by high-throughput sequencing, and to find potential tumor markers.**Methods** Eighteen patients with prostate cancer (HANC group), 18 patients with Uygur (WEIC group), 3 patients with Kazak (HAC group) and 18 patients with benign prostatic hyperplasia (HANN group) were treated in the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from October 2020 to August 2021. RNA was extracted from punctured tissues for sequencing, and differentially expressed miRNAs were screened for target gene prediction and functional analysis. The expression levels of 5 candidate miRNA were detected by qRT-PCR technique and verified by enlarged sample size.**Results** Through high-throughput sequencing, an average of 18 490 709, 14 440 655, 17 192 254, and 17 069 016 original sequencing sequences were obtained from each group of HANC, WEIC, HAC, and HANN, respectively. After quality inspection and length screening of the sequenced fragments, 15 814 065, 13 418 490, 16 318 109, and 16 399 958 clean sequences were obtained from each group, respectively. Among the differentially expressed miRNAs screened, compared with HAC group, 4 miRNAs were up-regulated and 8 miRNAs were down-regulated in WEIC group; compared with HANC group, 15 miRNAs were up-regulated and 21 miRNAs were down-regulated in WEIC group; compared with HANC group, 20 miRNAs were up-regulated and 16 miRNAs were down-regulated in HAC group; compared with the HANN group, the HANC group up-regulated 69 miRNAs and down-regulated 76 miRNAs. Functional prediction showed that the KEGG pathway involved in the target genes of different miRNAs between different ethnic groups had certain similarities. Five candidate miRNAs were verified by qRT-PCR. The results showed that the expression levels of hsa-miR-4485-3p and hsa-miR-619-5p in HANC group and WEIC group were higher than those in HANN group, while the expression level of hsa-miR-339-3p was lower than that in HANN group ($P<0.05$). Compared with HANC group, the expression levels of hsa-miR-1973, hsa-miR-4485-3p and hsa-miR-619-5p in WEIC group were down-regulated, while the expression levels of hsa-miR-339-3p and hsa-miR-423-5p were up-regulated, but there was no significant difference in the expression of each miRNA between the two nationalities ($P>0.05$). In addition, the qRT-PCR results were consistent with the high-throughput results.**Conclusion** hsa-miR-619-5p and hsa-miR-339-3p have potential as molecular diagnostic markers for prostate cancer and benign prostatic hyperplasia.

Key words: Prostate cancer;miRNA;High-throughput sequencing;Tumor marker

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号:2019D01C314)

作者简介:王文光(1981.9-),男,新疆奇台县人,硕士,副主任医师,主要从事泌尿系肿瘤的研究

通讯作者:阿斯木江·阿不拉(1984.7-),男,新疆阿克苏人,硕士,副主任医师,主要从事泌尿系肿瘤的研究

前列腺癌(prostate cancer)已成为男性最常见的恶性肿瘤,居男性常见肿瘤第2位,仅次于肺癌。目前主要通过血清前列腺特异性抗原(PSA)的筛查来进行疾病的诊断与预后判断^[1]。但由于PSA水平容易受到炎症水平、良性前列腺增生等因素的影响,存在特异性及敏感性不高的问题。因此,寻找侵入性更低、特异性及灵敏度更高的前列腺癌诊断标志物成为研究人员关注的热点。已有文献报道^[2-5],miRNA能通过调控多种靶基因及其信号通路调控前列腺癌发生与发展。近年来有研究发现^[6,7],miRNA在乳腺癌、结肠癌等肿瘤患者中表达存在一定差异,而这种差异可能与不同民族癌症的发病率及死亡率有一定相关性。本研究采用高通量技术对汉族、维吾尔族及哈萨克族前列腺癌患者及汉族前列腺增生患者进行全面的miRNA表达谱分析及验证,以获得与民族相关的差异miRNA表达谱,为该疾病在不同民族发病差异研究方面提供新的线索,同时验证其作为前列腺癌诊断标志物的潜在价值,为下一步筛选疾病特异的诊断标志物提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取2020年10月–2021年8月新疆医科大学第一附属医院收治的病理确诊为前列腺癌患者39例及前列腺增生患者18例。将前列腺癌患者依据民族分为汉族18例、维吾尔族18例、哈萨克族3例,并分别设为汉族前列腺癌组(HANC)、维吾尔族前列腺癌组(WEIC)、哈萨克族前列腺癌组(HAC),而汉族前列腺增生患者设为汉族前列腺增生组(HANN)。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:经病理确诊为前列腺癌的初治患者;穿刺病理结果显示13针均为阳性患者;HANN组为穿刺病理确诊的良性前列腺增生患者。排除标准:有其他部位肿瘤病史。

1.3 方法 收集前列腺癌患者穿刺标本,置BD冻存管中,液氮快速冷冻后,–80℃冰箱保存待测。根据纳入及排除标准挑选符合要求的组织标本。

1.3.1 RNA的提取 总RNA提取及文库构建由上海欧易生物医学科技有限公司完成。取前列腺癌患者标本汉族3例、维吾尔族3例、哈萨克族3例及汉族前列腺增生标本3例。在液氮中分别将样品研磨后,加1.5 ml TRIzol裂解液,组织研磨后使组织细胞充分裂解,离心取上清液,抽提纯化样品的总RNA。采用Nanodrop仪器(赛默飞,美国)定量,检测A260/A280的总RNA纯度。琼脂糖凝胶电泳检测,初步检

测完整性。经Agilent 2100 Bioanalyzer(安捷伦科技,美国)检测合格的RNA样本用于后续高通量miRNA测序。

1.3.2 miRNA文库构建及测序 用NEBNext® Small RNA Library Prep Set for Illumina® (NEB,美国)构建文库:加入3'SR Adaptor for Illumina,70℃反应2 min,迅速置冰上;加入3'Ligation Reaction Buffer (2×)和3'Ligation Enzyme Mix进行3'SR Adaptor连接,反应程序:25℃ 60 min;随后加入SR RT Primer for Illumina杂交逆转录引物,75℃ 5 min、37℃ 15 min、25℃ 15 min;加入5'SR Adaptor for Illumina (denatured)、5'Ligation Reaction Buffer (10×)和5'Ligation Enzyme Mix连接5'SR Adaptor,25℃反应60 min;加入First Strand Synthesis Reaction Buffer、Murine RNase Inhibitor和ProtoScript II Reverse Transcriptase进行反转录;随后加入LongAmp Taq 2× Master Mix进行12~15轮的PCR扩增,扩增引物为SR Primer for Illumina和Index Primer,反应条件:94℃预变性30 s、94℃变性15 s、62℃退火30 s、70℃延伸15 s;配制6%聚丙烯酰胺凝胶,150 V电泳60 min,回收约147 bp大小的文库。文库构建完成后,用Qubit定量和High-sensitivity DNA chip检测,确保文库质量。取约10 ng的文库,在NovaSeq S4 PE150中进行测序。

1.3.3 数据过滤及注释 首先去掉原始reads中的接头序列,并进行序列的长度过滤,去掉序列长度小于17 bp,以及序列长度大于35 bp的序列。对序列进行Q20质控,保留Q20达到80%及以上的序列,最终得到高质量的clean reads并用于后续分析。对clean reads的长度分布进行统计,以初步评估样本的小RNA分布情况。根据参考基因组序列,将clean reads比对到基因组,统计reads比对到基因组的百分比。使用blastn软件,注释出rRNA、snRNA、snoRNA、tRNA等序列。最终将这些注释到Rfam数据库的序列进行过滤去除,并将能比对上转录本的序列且长度在小于17 bp大于35 bp的reads进行去除。接下来,将过滤后的序列同repeat数据库进行比对,鉴定可能的重复序列。针对鉴定出的重复序列进行过滤去除,并用于后续新的miRNA预测分析。

1.3.4 生物信息学分析 ①miRNA差异表达分析:根据鉴定的已知的成熟体miRNA以及新预测的miRNA的序列进行表达量统计,miRNA表达量计算

采用 TPM 计算度量指标。采用 DESeq 差异算法计算 P 值,并筛选出 P 值小于 0.05 的 miRNA;②差异 miRNA 功能分析:针对差异的已知 miRNA 以及新预测的 miRNA,使用 Target-Scan、miRDB 以及 Mi-randa 数据库进行差异 miRNA 的靶基因预测。靶基因的 KEGG 和 GO 分析使用超几何分布检验进行富集分析, P 值经 Benjamini&Hochberg 多重检验校正后得到 FDR,运行环境为 R。

1.4 候选差异 miRNA 的验证 取汉族、维吾尔族前列腺癌组织和汉族前列腺增生标本各 15 例,采用实时荧光定量 PCR 技术检测差异表达的 miRNA 的相对表达量,验证上述高通量测序的结果。根据高通量测序结果,筛选 5 个在不同民族间及前列腺癌与前列腺增生中都有显著差异的 miRNA 进行验证。

提取总 RNA,使用 miRNA 第一链 cDNA 合成(加尾法)试剂盒(B532451,上海生工)获得 cDNA。取 8 μ l 的 cDNA 为模板,采用 miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒(染料法)试剂盒(B532461,上海生工)在 ABI7500 扩增仪(美国 ABI 公司)上进行扩增,5 条 miRNA 特异性引物由上海生工生物公司完成设计与合成,引物序列见表 1。扩增条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s、95 $^{\circ}$ C 变性 5 s、60 $^{\circ}$ C 退火 30 s、40 个循环。每个样本设置 3 个技术重复,取平均值。应用相对定量分析方法($2^{-\Delta\Delta Ct}$)计算各组样本中目的 miRNA 的相对表达量。以每组每个样本中 U6 的表达量为参照,计算各组 miRNA 的相对表达量。

1.5 统计学方法 运用 SPSS 19.0 统计学软件进行统

计学分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差检验分析,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 荧光定量 miRNA 检测引物信息表

引物名称	序列(5'→3')
hsa-miR-1973 F	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA
hsa-miR-339-3p F	UGAGCGCCUCGACGACAGACCCG
hsa-miR-423-5p F	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU
hsa-miR-4485-3p F	UAACGGCCGCGGUACCCUAA
hsa-miR-619-5p F	GCUGGGAUUAACAGGCAUGAGCC

2 结果

2.1 测序数据统计 为探讨不同民族前列腺癌患者癌组织中 miRNA 的表达差异,选择汉族、维吾尔族、哈萨克族 3 个民族,每组 3 例,进行组织 miRNA 高通量测序。同时,为了对比前列腺癌组织与良性病变组织中 miRNA 的表达差异,选择汉族前列腺癌以及前列腺增生患者,每组 3 例,进行组织 miRNA 高通量测序。通过高通量测序,汉族前列腺癌组(HANC)、维吾尔族前列腺癌组(WEIC)、哈萨克族前列腺癌组(HAC)、汉族前列腺增生组(HANN)各组平均分别获得 18 490 709 条、14 440 655 条、17 192 254 条、17 069 016 条原始测序序列,经过对测序片段碱基的质量检验和长度筛选,各组获得干净序列分别为 15 814 065 条、13 418 490 条、16 318 109 条、16 399 958 条,各组小 RNA 文库测序数据统计见表 2。同时,这些序列的长度均匀分布在 18~24 个核苷酸上。

表 2 各组小 RNA 文库测序数据统计

组别	原始序列条数	干净序列条数	数据留存率(%)
HANC1	19 904 540	17 631 835	88.58
HANC2	18 290 316	14 262 906	77.98
HANC3	17 277 273	15 547 454	89.99
WEIC1	15 161 630	13 959 666	92.07
WEIC2	14 581 751	13 655 588	93.65
WEIC3	13 578 586	12 640 218	93.09
HAC1	17 873 009	16 969 476	94.94
HAC2	17 323 188	16 496 428	95.23
HAC3	16 380 565	15 488 424	94.55
HANN1	18 974 695	18 173 639	95.78
HANN2	14 166 927	13 536 871	95.55
HANN3	18 065 427	17 489 366	96.81

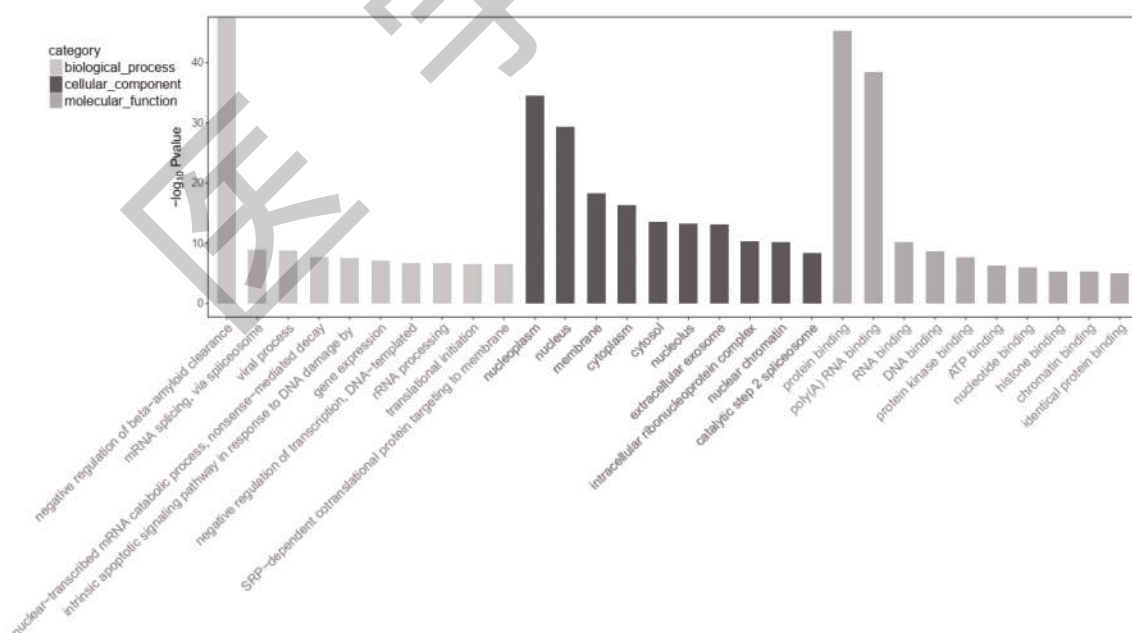
2.2 差异 miRNA 表达分析 利用 DESeq 软件包中的负二项分布检验计算基因差异表达量。采用 NB(负二项分布检验的方式)对 reads 数进行差异显著性检验,basemean 值来估算 miRNA 表达量,筛选出 P 值小于 0.05 且倍数变化 2 倍以上的 miRNA。筛选的差异表达 miRNA 统计结果见表 3,其中 WEIC 组较 HAC 组上调 4 个 miRNA,下调 8 个 miRNA;WEIC 组较 HANC 组上调 15 个 miRNA,下调 21 个 miRNA;HAC 组较 HANC 组上调 20 个 miRNA,下调 16 个 miRNA;HANC 组较 HANN 组上调 69 个 miRNA,下调 76 个 miRNA。

2.3 差异 miRNA 靶基因预测及靶基因功能分析 针对差异表达分析得到的 miRNA,利用 Target-Scan、miRDB 以及 miRanda 软件对本实验中差异表达显著的 miRNA 进行靶基因预测,预测结果进行进一步

的筛选及整理,最终使用预测到的靶基因进行 GO 基因功能富集分析及 KEGG 信号通路富集分析。GO 总共有 3 类,分为生物学过程、细胞组分和分子功能,对差异 miRNA 的靶基因进行显著性富集分析见图 1,KEGG 富集分析结果见图 2。结果显示,不同民族间前列腺癌患者癌组织差异 miRNA 靶基因富集的通路有一定相似性,均富集到了细胞周期、前列腺癌、病毒致癌作用、癌症相关 miRNA 及糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路。此外,黏着斑以及粘附连接通路富集度也较高。相比之下,HANC 组较 HANN 组有大量靶基因显著富集在内质网蛋白加工、内吞作用以及 RNA 运输等信号通路,即不同民族前列腺癌组织之间 miRNA 靶基因涉及的通路存在一定的相似性,而前列腺癌与增生组织间则存在更大的异质性。

表 3 各组差异表达 miRNA 统计

Control	Case	上调	下调	总数
HANN1、HANN2、HANN3	HANC1、HANC2、HANC3	69	76	145
HAC1、HAC2、HAC3	WEIC1、WEIC2、WEIC3	4	8	12
HANC1、HANC2、HANC3	WEIC1、WEIC2、WEIC3	15	21	36
HANC1、HANC2、HANC3	HAC1、HAC2、HAC3	20	16	36

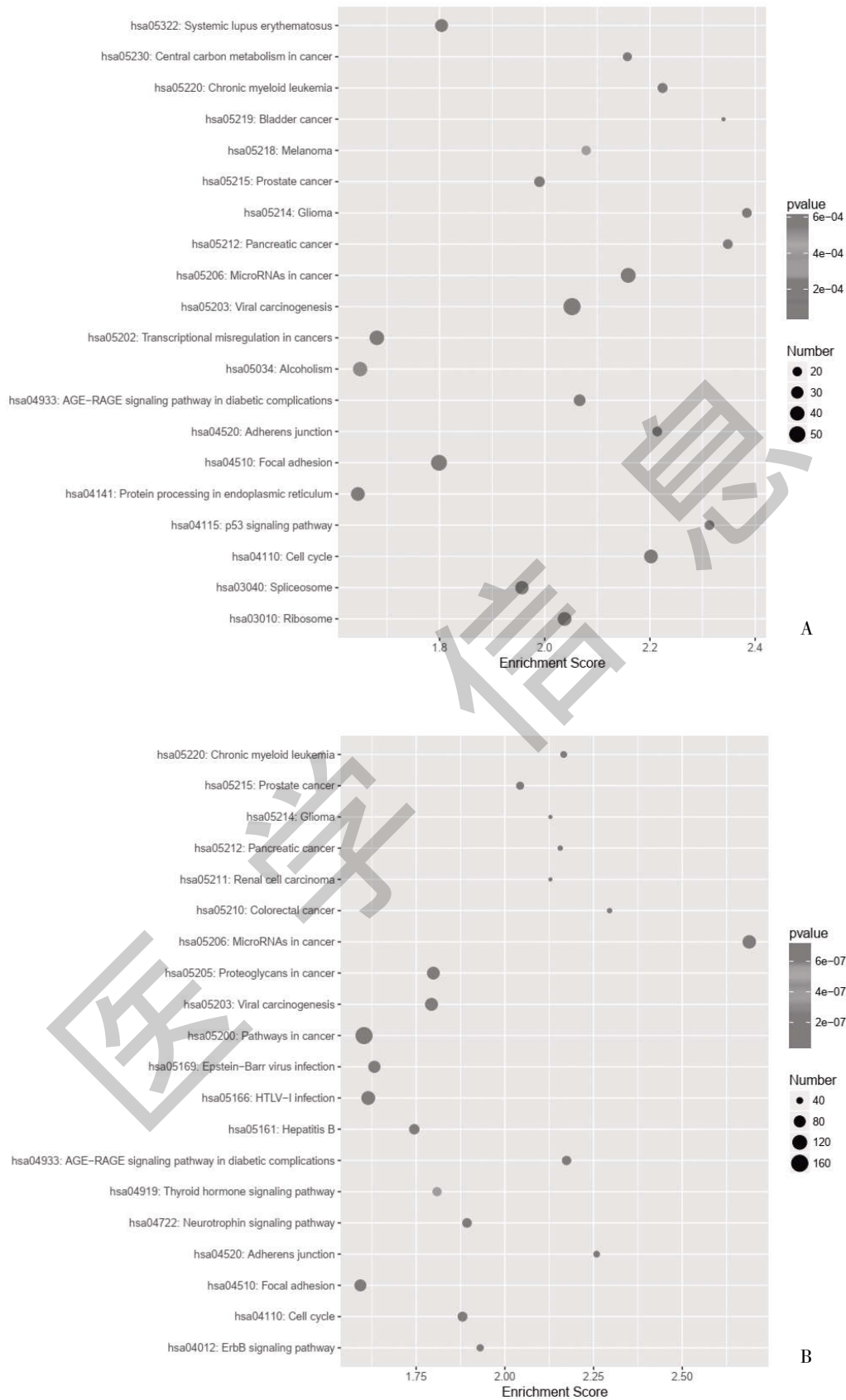


A

注:A:HAC 组与 WEIC 组;B:HANC 组与 HAC 组;C:HANC 组与 WEIC 组;D:HANN 组与 HANC 组

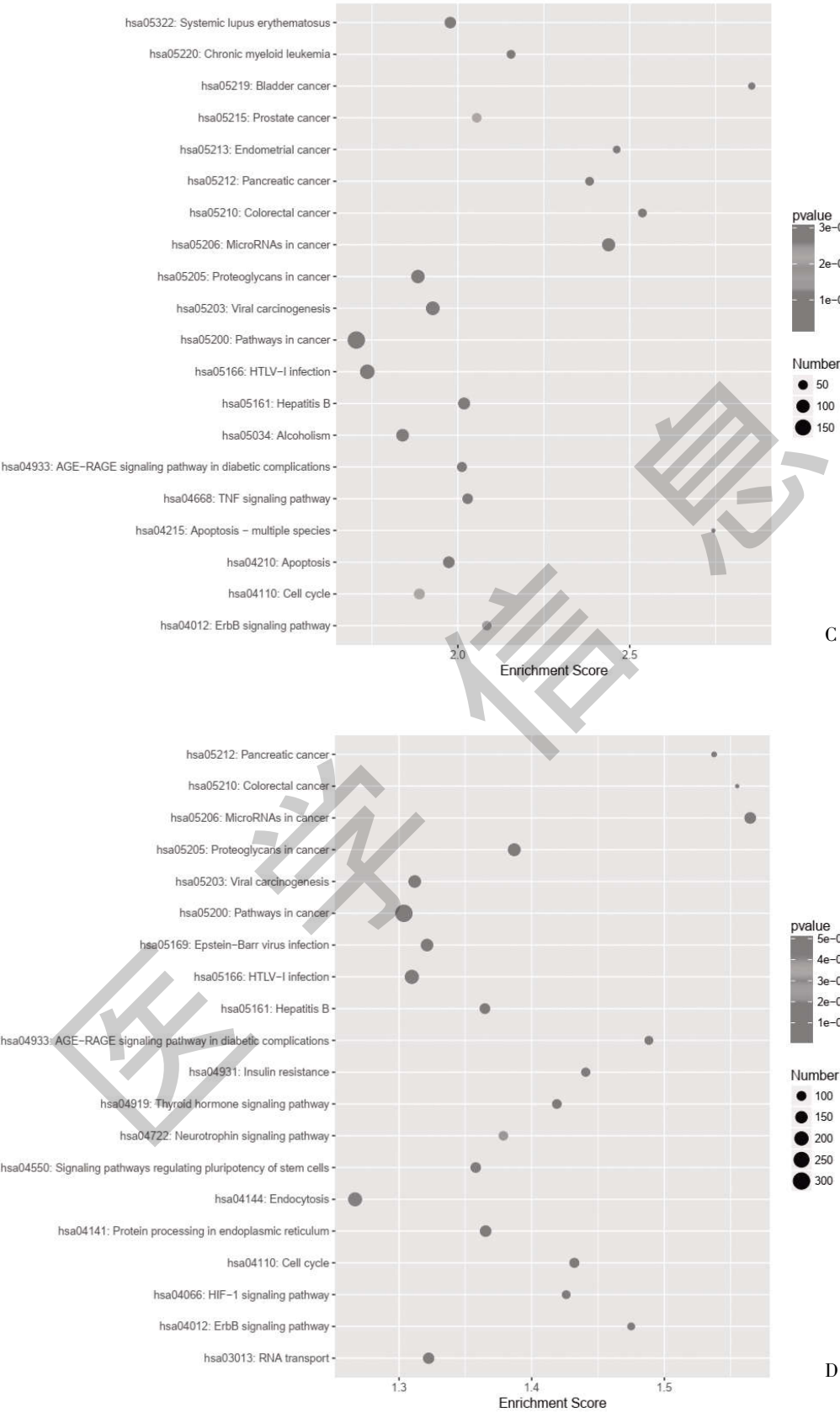
图 1 各组差异 miRNA 靶基因 GO 富集分析 TOP10 条目图





注:A:HAC 组与 WEIC 组;B:HANC 组与 HAC 组;C:HANC 组与 WEIC 组;D:HANN 组与 HANC 组

图 2 各组差异 miRNA 靶基因 KEGG 富集分析 TOP20 气泡图



注:A:HAC 组与 WEIC 组;B:HANC 组与 HAC 组;C:HANC 组与 WEIC 组;D:HANN 组与 HANC 组

图 2 各组差异 miRNA 靶基因 KEGG 富集分析 TOP20 气泡图(续)

2.4 差异 miRNA 的表达验证 根据 miRNA 测序结果,按照 $P<0.05$,FC(差异倍数) >2 筛选在不同民族之间表达有差异且在 HANC 组与 HANN 组表达有差异的 5 个 miRNA 进行扩大样本量验证,验证基因分别是 hsa-miR-1973、hsa-miR-339-3p、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p。

RT-PCR 验证结果显示,与 HANN 组比较,HANC 组和 WEIC 组中 hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 表达水平上调,且各组 hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 比较,差异有

统计学意义 ($P<0.05$)。而 HANC 组和 WEIC 组中 hsa-miR-339-3p 和 hsa-miR-423-5p 表达水平下调,各组 hsa-miR-339-3p 比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$); 通过对比不同民族 miRNA 表达水平发现,与 HANC 组比较,WEIC 组中 hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 表达水平下调,hsa-miR-339-3p 和 hsa-miR-423-5p 表达水平则上调。但两民族间各个 miRNA 表达比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。另外,miRNA 在各组组织中的表达趋势与高通量测序趋势一致,说明高通量测序结果是可靠的,见图 3、表 4。

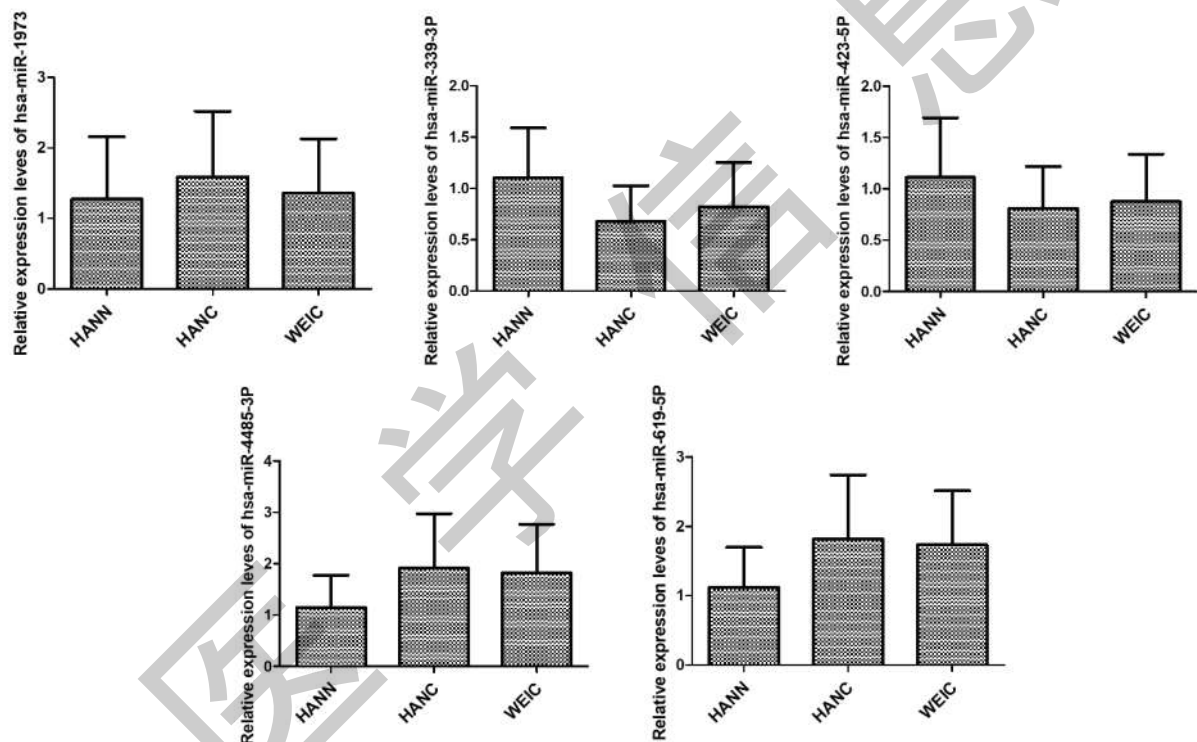


图 3 各组前列腺组织各基因表达柱状图

表 4 各组 miRNA 表达分析 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Has-miR-1973	Has-miR-339-3P	Has-miR-423-5P	Has-miR-4485-3P	Has-miR-619-5P
HANN	15	1.273±0.885	1.104±0.488	1.111±0.581	1.149±0.629	1.121±0.579
HANC	15	1.592±0.928	0.680±0.346 ^Δ	0.810±0.407	1.918±1.054 ^Δ	1.822±0.921 ^Δ
WEIC	15	1.355±0.776	0.824±0.428	0.875±0.462	1.825±0.942 ^Δ	1.734±0.781 ^Δ

注:与 HANN 组比较,^Δ $P<0.05$

3 讨论

大量研究表明^[8,9],miRNA 通过调控其靶 mRNA,参与增殖、凋亡、细胞迁移、坏死及个体发育等很多重要的病理和生理过程。在肿瘤发生发展过程中,miRNA 往往作为促癌或抑癌因子发挥重要作用,异常表达的 miRNA 影响癌细胞增殖、凋亡、侵袭、分化及上皮间质转化(EMT)等^[10]。研究发现^[11],miR-21 一方面通过靶向 PTEN 调控 PI3K/Akt/mTOR 通路参与前列腺癌细胞生长及血管生成,另一方面调节 Wnt/ β -catenin 通路影响细胞周期,对前列腺癌的发生具有重要调控作用。Huang S 等^[12]研究发现,miR-141-3p 与前列腺癌骨转移密切相关,其过表达可以抑制 NF- κ B 信号通路的激活,进而抑制前列腺癌的骨转移。

本研究采用高通量测序技术对汉族、维吾尔族、哈萨克族 3 个不同民族前列腺癌患者间 miRNA 表达谱进行了研究,测序结果显示 WEIC 组较 HAC 组相比,有 12 个差异表达的 miRNA;WEIC 组较 HANC 组相比,有 36 个差异表达的 miRNA;HAC 组较 HANC 组相比,有 36 个差异表达的 miRNA。同时,HANC 组较 HANN 组相比,共筛选到 145 个差异表达的 miRNA。对各组差异 miRNA 的靶基因进行预测,随后进行 GO 及 KEGG 基因功能富集分析发现,不同民族间前列腺癌差异表达的 miRNA 虽然各有不同,但其靶基因富集的通路有一定相似性,均富集到了细胞周期、前列腺癌、病毒致癌作用、癌症相关 miRNA 及糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路。此外,黏着斑以及粘附连接通路富集度也较高。相比之下,HANC 组较 HANN 组的靶基因显著富集在内质网蛋白加工、内吞作用以及 RNA 运输等信号通路,可以看出前列腺癌与增生组织间则存在更大的异质性。

为了进一步验证测序的结果,更深入地研究 miRNA 表达在不同民族间的异质性。通过对高通量测序各组间表达量丰度高、差异倍数较高且差异显著的 miRNA 进行筛选,结合文献研究情况,最终选择了 5 个候选 miRNA。按照与 miRNA 高通量测序相同入选标准,扩大样本量进行了验证,结果显示前列腺癌组织中 hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 表达水平较高,hsa-miR-339-3p 和 hsa-miR-423-5p 表达水平较低,且各组 hsa-miR-4485-3p、hsa-miR-619-5p 和 hsa-miR-339-3p

比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。目前,已有研究报道了 hsa-miR-619-5p 和 hsa-miR-339-3p 与前列腺癌疾病的相关性,如 Knyazev EN 等^[13]分析了前列腺癌和良性增生患者外周血循环 miRNA 表达谱,发现前列腺癌患者中 hsa-miR-619-5p 的表达显著升高;Medina-Villaamil V 等^[14]通过 miRNA 芯片分析局限性前列腺癌患者和健康人群血液循环中的 miRNA,共获得了 10 个表达差异具有统计学意义的候选 miRNAs,而 hsa-miR-339-3p 是其中之一,且该研究通过对比活检后不同危险等级患者血液 miRNA 差异发现 hsa-miR-339-3p 在高风险人群中表达更高,可作为识别前列腺癌高危人群的生物标志物。可以看出,hsa-miR-619-5p 和 hsa-miR-339-3p 均有望作为前列腺癌与前列腺增生患者鉴别诊断的标志物。

另外,hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-423-5p 在前期前列腺癌的研究报道较少,但在其他类型肿瘤中已有研究。有研究表明^[15,16],hsa-miR-423-5p 能够促进肿瘤细胞的自噬,可能被认为是一种潜在的癌症生物标志物。Sun X 等^[17]研究发现,hsa-miR-423-5p 在乳腺癌组织中表达上调,并通过体内外研究明确了 LncRNA LINC00968/hsa-miR-423-5p/PROX1 信号轴的相互调控作用可以影响乳腺癌的增殖、迁移以及血管形成等生物学过程。另有研究发现^[18],hsa-miR-4485-3p 在 CD133⁺骨肉瘤干细胞中的表达显著高于 CD133⁻细胞,提示其可能参与骨肉瘤的疾病进展。但 hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-423-5p 在相关癌症中的确切机制尚需进一步实验研究。既往研究显示^[19,20],hsa-miR-1973 在包括乳腺癌和早期结肠癌在内的多种肿瘤疾病中表达增强。Fomicheva KA 等^[21]研究发现,与 MDA-MB-231 细胞培养相比,hsa-miR-1973 在异种移植瘤中表达增强,可能通过降低细胞对凋亡的敏感性,并作为与宿主机体相互作用的应答,促进了肿瘤的生长。因此,hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-423-5p 在前列腺癌疾病中具体的作用机制值得进一步深入研究。

排除遗传等因素,肿瘤在不同种族间的发病率差异还未得到很好的解释。本研究通过对比不同民族 miRNA 表达水平发现,与 HANC 组相比,WEIC 组中 hsa-miR-1973、hsa-miR-4485-3p 和 hsa-miR-619-5p 表达水平下调,hsa-miR-339-3p 和

hsa-miR-423-5p 表达水平则上调。基因表达水平与高通量测序结果趋势一致,但两民族间各 miRNA 表达量差异不显著,可以看出同类疾病不同民族间基因表达水平有一定差异,这可能与不同民族患者的遗传背景有关。

综上所述,hsa-miR-619-5p 和 hsa-miR-339-3p 有潜力作为前列腺癌与前列腺增生患者分子诊断标志物。此外,本研究初步探讨了不同民族前列腺癌组织 miRNA 表达差异,明确了不同民族间基因表达的异质性,为进一步阐述不同民族疾病发病提供了新的切入点。然而,由于本研究用于验证的样本量较少,尚存在一定的局限性,有待进一步扩大样本量进行验证。

参考文献:

- [1]Barry MJ,Simmons LH.Prevention of Prostate Cancer Morbidity and Mortality: Primary Prevention and Early Detection[J].Med Clin North Am,2017,101(4):787-806.
- [2]Taheri M,Safarzadeh A,Hussen BM,et al.LncRNA/miRNA/mRNA Network Introduces Novel Biomarkers in Prostate Cancer[J].Cells,2022,11(23):3776.
- [3]Peng S,Liu C,Fan X,et al.Analysis of aberrant miRNA-mRNA interaction networks in prostate cancer to conjecture its molecular mechanisms[J].Cancer Biomark,2022,35(4):395-407.
- [4]Mollaei H,Safaralizadeh R,Rostami Z.MicroRNA replacement therapy in cancer [J].Journal of Cellular Physiology,2019,234(8):12369-12384.
- [5]Saliminejad K,Khorram Khorshid HR,Soleymani Fard S,et al.An overview of microRNAs: biology,functions,therapeutics,and analysis methods [J].Journal of Cellular Physiology,2019,234(5):5451-5465.
- [6]Pollard J,Burns PA,Hughes TA,et al.Differential Expression of MicroRNAs in Breast Cancers from Four Different Ethnicities [J].Pathobiology,2018,85(4):220-226.
- [7]Li E,Ji P,Ouyang N,et al.Differential expression of miRNAs in colon cancer between African and Caucasian Americans: implications for cancer racial health disparities [J].Int J Oncol,2014,45(2):587-594.
- [8]Dayakar A,Shanmukha KD,Kalangi SK.Spectrum of microRNAs and their target genes in cancer: intervention in diagnosis and therapy[J].Mol Biol Rep,2022,49(7):6827-6846.
- [9]Khan S,Ayub H,Khan T,et al.MicroRNA biogenesis, gene silencing mechanisms and role in breast, ovarian and prostate cancer[J].Biochimie,2019,167:12-24.
- [10]Pu M,Chen J,Tao Z,et al.Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression[J].Cell Mol Life Sci,2019,76(3):441-451.
- [11]Yang Y,Guo JX,Shao ZQ,et al.miR-21 targets and inhibits tumor suppressor gene PTEN to promote prostate cancer cell proliferation and invasion: An experimental study[J].Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,2017,10(1): 87-91.
- [12]Huang S,Wa Q,Pan J,et al.Downregulation of miR-141-3p promotes bone metastasis via activating NF- κ B signaling in prostate cancer [J].Journal of Experimental & Clinical Cancer Research,2017,36(1):1-13.
- [13]Knyazev EN,Fomicheva KA,Mikhailenko DS,et al.Plasma levels of hsa-miR-619-5p and hsa-miR-1184 differ in prostatic benign hyperplasia and cancer [J].Bulletin of Experimental Biology and Medicine,2016,161(1):108-111.
- [14]Medina-Villaamil V,Martinez-Breijo S,Portela-Pereira P,et al.Circulating MicroRNAs in blood of patients with prostate cancer[J].Actas Urol Esp,2014,38(10):633-639.
- [15]Jiang F,Hu X,Cao H,et al.Hsa_circ_0000081 promotes the function of gastric cancer through sponging hsa-miR-423-5p to influence 3-phosphoinositide-dependent kinase 1 expression [J].Bioengineered,2022,13(4):8277-8290.
- [16]McDermott AM,Miller N,Wall D,et al.Identification and validation of oncologic miRNA biomarkers for luminal A-like breast cancer[J].PLoS One,2014,9(1):e87032.
- [17]Sun X,Huang T,Zhang C,et al.Long non-coding RNA LINC00968 reduces cell proliferation and migration and angiogenesis in breast cancer through up-regulation of PROX1 by reducing hsa-miR-423-5p[J].Cell Cycle,2019,18(16):1908.
- [18]Shu X,Liu W,Liu H,et al.Analysis of microRNA expression in CD133 positive cancer stem like cells of human osteosarcoma cell line MG-63[J].Peer J,2021,9:e12115.
- [19]Fomicheva KA,Knyazev EN,Mal'tseva DV.hsa-miR-1973 MicroRNA is significantly and differentially expressed in MDA-MB-231 cells of breast adenocarcinoma and xenografts derived from the tumor[J].Bull Exp Biol Med,2017,163(5):660-662.
- [20]Rammer M,Webersinke G,Haitchi-Petnehazy S,et al.MicroRNAs and their role for T stage determination and lymph node metastasis in early colon carcinoma [J].Clinical & Experimental Metastasis,2017,34(6): 431-440.
- [21]Fomicheva KA,Knyazev EN,Mal'tseva DV.hsa-miR-1973 MicroRNA is significantly and differentially expressed in MDA-MB-231 cells of breast adenocarcinoma and xenografts derived from the tumor [J].Bulletin of Experimental Biology and Medicine,2017,163(5):660-662.

收稿日期:2022-12-08;修回日期:2022-12-29

编辑/杜帆