

pharmacology, 2017, 37(3): 113~115.

【文章编号】1006-6233(2019)08-1321-05

环状 RNA ciRS-7 和 EGFR 在子宫内膜癌组织中的表达水平

安欣¹, 崔志利², 魏婷¹, 杨学丽¹, 尹峰¹

(1.河北省邯郸市第一医院病理科, 河北 邯郸 056000

2.河北工程大学附属医院妇科, 河北 邯郸 056000)

【摘要】目的:探讨环状 RNA ciRS-7 和表皮生长因子受体(EGFR)在子宫内膜癌中的表达关系及临床意义。**方法:**收集 2011 年 7 月至 2013 年 5 月邯郸市第一医院收治的 62 例行手术治疗的 EC 患者肿瘤组织标本为研究组,同时收集 60 例因子宫肌瘤行子宫切除的正常子宫内膜组织作为对照组,采用实时荧光定量 PCR 技术(qRT-PCR)检测所有标本中 ciRS-7、EGFR 表达水平,分析二者表达水平相关性及其与临床病理特征和预后关系。**结果:**研究组组织中 ciRS-7、EGFR 表达水平明显高于对照组($P<0.05$);ciRS-7 表达与年龄、绝经情况无关($P>0.05$),与组织学分化、病理分期、肌层浸润及淋巴结转移相关($P<0.05$);EGFR 表达与年龄无关($P>0.05$),与绝经情况、组织学分化、病理分期、肌层浸润及淋巴结转移相关($P<0.05$);相关性分析显示,EC 患者组织中 ciRS-7 与 EGFR 表达呈正相关性($r=0.875, P<0.001$);ciRS-7 高表达组患者中位生存时间低于低表达组患者($P<0.05$),EGFR 高表达患者中位生存时间低于低表达组患者($P<0.05$)。**结论:**EC 患者组织中 ciRS-7、EGFR 均高表达,二者呈正相关性,并与组织学分化、病理分期、肌层浸润、淋巴结转移及预后相关,推测二者均可作为 EC 预后评估的潜在生物标记物。

【关键词】 子宫内膜癌; ciRS-7; 表皮生长因子受体; 临床病理特征

【文献标识码】 A

【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2019.08.023

Expression Levels of Cyclic RNA ciRS-7 and EGFR in Endometrial Carcinoma

AN Xin, et al

(Handan First Hospital of Hebei Province, Hebei Handan 056000, China)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions and clinical significances of cyclic RNA ciRS-7 and epidermal growth factor receptor (EGFR) in endometrial cancer. **Methods:** 62 patients tissue with endometrial cancer who underwent surgical treatment in Handan First Hospital from July 2011 to May 2013 were studied, meanwhile, 60 normal endometrial tissues of hysteromyoma patients undergoing hysterectomy were collected as control group, real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of ciRS-7 and EGFR in all specimens, the correlation between the expressions of ciRS-7 and EGFR, and their relationships with clinicopathological characteristics and prognosis. **Results:** The expression levels of ciRS-7 and EGFR in the study group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); the expression of ciRS-7 was not correlated with age and menopause ($P>0.05$), but with histological differentiation, pathological stage, myometrial invasion, and lymph node metastasis ($P<0.05$); the expression of EGFR was not related to age ($P>0.05$), but related to menopause, histological differentiation, pathological stage, myometrial invasion, and lymph node metastasis ($P<0.05$); the correlation analysis showed that there was a positive correlation between ciRS-7 and EGFR expression in endometrial cancer tissues ($r = 0.875, P<0.001$); the median survival time of patients with high expression of ciRS-7 was lower than that of patients with low expression ($P<0.05$), and the median survival time of patients with high expression of EGFR was lower than that of patients with low expression ($P<0.05$). **Conclusion:** The expressions of ciRS-7 and EGFR are high in endometrial cancer, they were positively correlated, and correlated with histological differentiation, pathological stage, myometrial invasion, lymph node metastasis, and prognosis, it is speculated that both of them can be used as potential biomarkers for prognostic evaluation of endome-

trial cancer.

[Key words] Endometrial carcinoma; CiRS-7; Epidermal growth factor receptor; Clinicopathological features

子宫内膜癌(Endometrial carcinoma, EC)是临床常见女性生殖系统恶性肿瘤疾病之一,50~60岁女性为其高发群体^[1]。早期EC患者5年生存率可达74%~91%,而IV期仅为20%~26%,因此,早期诊断对于改善患者预后十分重要^[2,3]。环状RNA(circRNA)是内源性非编码RNA,对miRNA有竞争性抑制作用,参与多种疾病发生、发展,环状RNA-7(circRNA-7)属于circRNA,与微小RNA-7(miR-7)有至少70个选择性保守结合位点,可屏蔽miR-7对靶基因抑制或降解作用,在多种肿瘤发展中发挥重要作用^[4]。表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)是表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)的受体,有研究发现EGFR在EC组织中高表达,并与肿瘤分期、转移有关^[5]。但关于ciRS-7在EC组织中表达情况,及与EGFR表达关系的研究报道较少。因此,本文探讨ciRS-7和EGFR在EC中的表达关系及临床意义,旨在为EC治疗及改善预后寻找新靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料:收集2011年7月至2013年5月邯郸市第一医院收治的62例行手术治疗的EC患者组织标本作为研究组,同时收集60例因子宫肌瘤行子宫切除的正常子宫内膜组织作为对照组,纳入标准:①经组织病理学确诊为EC患者;②病例资料与随访记录资料完整;③患者及其家属均知晓本研究内容,签署知情同意书。排除标准:①患者术前无放、化疗治疗史;②近3个月无激素使用史;③合并严重高血压、糖尿病代谢障碍性疾病者;④合并严重甲状腺亢进/减退等内分泌系统疾病者;⑤合并红斑狼疮、类风湿性关节炎等自身免疫障碍性疾病者;⑥合并其他部位恶性肿瘤疾病者。研究组年龄36~72岁,平均(51.42±4.65)岁;绝经44例,未绝经18例;组织学分级:G1期19例,G2期31

例,G3期12例;病理分期:I期14例,II期35例,III期10例,IV期3例;淋巴结转移18例,无转移44例;对照组年龄35~75岁,平均(52.28±4.53)岁;绝经46例,未绝经14例,两组研究对象年龄、绝经情况等一般资料比较,差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性。本研究经过邯郸市第一医院伦理委员会审核批准。

1.2 试剂与仪器:Trizol、逆转录试剂盒、荧光定量PCR试剂盒均购自北京全式金公司,普通PCR仪、凝胶成像系统均购自美国Bio-Rad公司,1500型全波段酶标仪购自美国Thermo公司,荧光定量PCR仪购自美国Life公司,引物序列由南京金斯瑞生物科技有限公司提供。

1.3 方法:实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测组织标本中ciRS-7、EGFR表达水平,①总RNA提取:取待测冰冻组织标本100mg于研钵中,加液氮研磨成粉状,置于离心管中,加Trizol 1mL,提取RNA,严格参照Trizol提取RNA步骤操作,酶标仪测定RNA浓度和纯度,A260/A280在1.8~2.2之间时,方可进行cDNA合成。②cDNA合成:溶解试剂,冰盒上配制,反应体系为:5×Trans Script® All-in-One Super Mix for qPCR 4μL, gDNA Remover 1μL, RNA模板5μL, 无RNA酶水10μL, 反应总体积20μL, 反应条件:42℃ 15min, 85℃ 5s, 4℃维持,合成的cDNA。③qRT-PCR检测以GAPDH为内参基因,cDNA为模板,反应体系:2×Trans Start® Top Green qPCR Super Mix 5μL, 上游引物0.5μL, 下游引物0.5μL, cDNA模板1μL, ddH₂O 3μL, 反应体积10μL, 反应条件:95℃ 5min; 95℃ 30s; 60℃ 30s; 72℃ 30s, 72℃ 10min; 设3个重复孔, 35个循环, 进行PCR反应, 采用2^{-ΔΔCT}方法计算ciRS-7、EGFR相对表达量,引物序列见表1。

表1 qRT-PCR 扩增引物序列

基因	正向引物 5'-3'	反向引物 5'-3'
ciRS-7	ACGTCTCCAGTGTGCTGA	CTTGACACAGGTGCCATC
EGFR	AACCTTCTGGAGGGTGAGCC	GTTGTCTGGTCCCCGTCTG
GAPDH	GAAAGCCTGCCGGTACTAA	GCCCAATACGACCAAATCAGAG

1.4 随访:术后电话随访5年,至2018年5月结束。记录患者随访中删失和死亡情况。

1.5 统计学分析:采用SPSS20.0统计软件进行统计分析。计量资料用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检

验;计数资料用(%)表示,采用 χ^2 检验;采用pearson进行相关性分析,采用Kaplan-Meier法来衡量生存时间。当 $P < 0.05$ 时,差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 ciRS-7、EGFR 表达水平比较: 研究组组织中 ciRS-7、EGFR 表达水平明显高于对照组 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.2 ciRS-7、EGFR 表达与临床病理特征关系: 以 EC 患者组织中 ciRS-7、EGFR 表达水平中位数 (1.91, 1.69) 为界, 将患者分成 ciRS-7 高表达组 28 例、低表达组 34 例, EGFR 高表达组 30 例、低表达组 32 例。EC 患者肿瘤组织 ciRS-7、EGFR 表达与年龄情况无关 (P

> 0.05), 与组织学分化、病理分期、肌层浸润及淋巴结转移有关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 两组 ciRS-7、EGFR 表达水平比较

组别	n	ciRS-7	EGFR
对照组	60	0.86±0.27	0.69±0.21
研究组	62	1.93±0.62	1.72±0.54
t		12.29	13.80
P		0.00	0.00

表 3 ciRS-7、EGFR 表达与临床病理特征关系

参数	ciRS-7				P	EGFR				
	n	高表达 (n=28)	低表达 (n=34)	χ^2		n	高表达 (n=30)	低表达 (n=32)	χ^2	P
年龄(岁)										
≤50	13	5	8	0.30	0.56	5	8	0.65	0.42	
>50	49	23	26			25	24			
绝经情况										
未绝经	18	6	12	1.43	0.23	5	13	4.31	0.04	
已绝经	44	22	22			25	19			
组织学分级										
G1	19	7	12	8.76	0.01	8	11	11.37	0.00	
G2	31	11	20			11	20			
G3	12	10	2			11	1			
病理分期										
I-II	49	17	32	10.34	0.00	18	31	12.71	0.00	
III-IV	13	11	2			12	1			
肌层浸润										
<1/2	20	5	15	4.85	0.03	4	16	9.53	0.00	
≥1/2	42	23	19			26	16			
淋巴结转移										
有	18	15	3	14.92	0.00	16	2	16.66	0.00	
无	44	13	31			14	30			

2.3 EC 患者组织中 ciRS-7、EGFR 表达相关性: 通过pearson 相关性分析显示, EC 患者组织中 ciRS-7 与

EGFR 表达呈正相关性 ($r = 0.875, P < 0.001$), 见图 1。

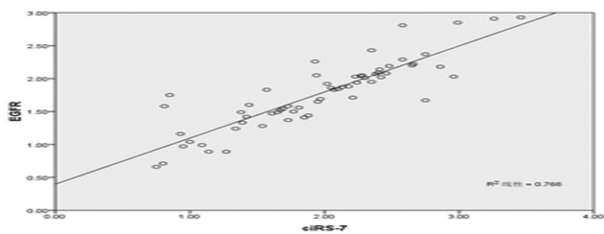


图1 EC患者组织中ciRS-7、EGFR表达相关性

2.4 ciRS-7、EGFR表达与EC患者预后关系:ciRS-7低表达组患者中位生存时间为(56.564±1.467)个月,高表达组患者中位生存时间为(49.825±2.954)个月,两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 11.681, P < 0.001$),见图2;EGFR低表达患者中位生存时间为(56.663±1.446)个月,高表达组患者中位生存时间为(46.321±3.484)个月,两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 15.760, P < 0.001$),见图3。

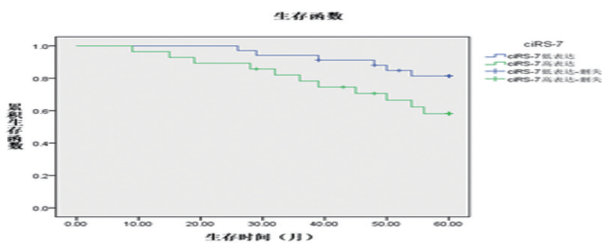


图2 ciRS-7高表达和低表达组患者生存曲线

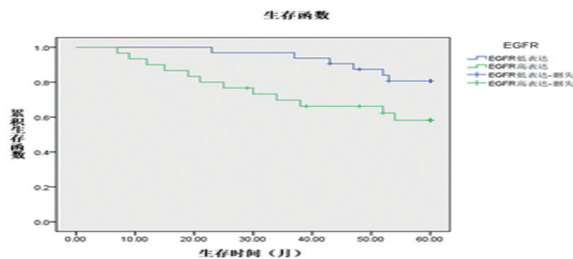


图3 EGFR高表达和低表达组患者生存曲线

3 讨论

EC是女性生殖道三大恶性肿瘤之一,其发病率占女性生殖道恶性肿瘤的20%~30%,并呈逐年升高趋势,且发病年龄趋于年轻化^[6]。随着EC治疗方法及检测技术不断改进,其生存率有较大提高,但晚期患者预后较差,且复发率高。因此,探寻EC新的治疗靶点及预后评估指标,对提高患者生存率,改善预后极其重要。

circRNA是哺乳动物中普遍存在的非编码RNA,具有竞争性内源RNA(ceRNA)功能,富含miRNA结

合位点,可降低miRNA对靶基因的抑制,提高靶基因水平。而ciRS-7是最早被确认具有miRNA海绵作用的circRNA,ciRS-7又被称为小脑变性相关蛋白1反义转录物(antisense to the cerebellar degeneration-related protein 1 transcript,CDRIas),在肝癌、宫颈癌、胃癌等肿瘤中表达异常^[7,8]。Li等^[9]研究发现ciRS-7在食管癌组织中高表达,沉默ciRS-7后,癌细胞增殖、迁移及侵袭力降低,可作为诊断和治疗潜在作用靶点。EGFR是一种具有酪氨酸激酶活性的糖蛋白,广泛分布于机体上皮细胞、胶质细胞表面,在子宫内膜癌、非小细胞肺癌等多种恶性肿瘤中异常表达,提示其与肿瘤发生发展有关。时沛^[10]研究发现EGFR在胃癌组织中的阳性表达率高于癌旁组织,是影响胃癌不良预后的独立因子。本研究结果显示,肿瘤组织中ciRS-7、EGFR表达水平显著高于对照组,提示EC组织中ciRS-7、EGFR可能参与疾病发生发展。临床病理分析结果显示,EC患者肿瘤组织ciRS-7、EGFR表达与组织学分化、病理分期、肌层浸润及淋巴结转移有关,进一步提示ciRS-7、EGFR可能参与EC的发生发展。

有研究证实,高水平的ciRS-7可通过结合miR-7,从而降低miR-7活性,导致miR-7靶基因表达水平增高^[11]。另有研究显示,在恶性肿瘤中miR-7可负调控EGFR表达^[12]。相关性分析显示,EC患者组织中ciRS-7与EGFR表达正相关性,提示ciRS-7与EGFR可能通过相互协同作用参与EC发生发展,高表达的ciRS-7可能通过抑制miR-7进而促进EGFR表达,其具体机制还需进一步研究证实。生存曲线分析显示,ciRS-7、EGFR高表达组患者中位生存时间低于低表达组患者,提示ciRS-7、EGFR高表达患者预后较差,可能作为EC患者预后的潜在生物标记物。

综上所述,EC患者组织中ciRS-7、EGFR表达水平平均升高,二者呈正相关。由于本研究所选样本量有限,且是单中心研究,可能对研究结果造成一定误差,在进一步验证及分子机制研究中会尽可能扩大样本量,开展多中心研究。

【参考文献】

- [1] Gibson W J, Hoivik E A, Halle M K, et al. The genomic landscape and evolution of endometrial carcinoma progression and abdominopelvic metastasis: [J]. Nature Genetics, 2016, 48(8):848~855.
- [2] Talhouk A, Hoang L N, Mcconechy M K, et al. Molecular classification of endometrial carcinoma on diagnostic specimens is highly concordant with final hysterectomy: earlier prognostic information to guide treatment [J]. Gynecologic Oncology, 2016, 143(1):46~53.
- [3] 杨曦,马珂,吴成. 子宫内膜癌的流行病学及高危因素 [J]. 实用妇产科杂志, 2015, 31(7):485~488.

- [4] 林晓静.环状RNA在妇科肿瘤中的研究进展[J].现代妇产科进展,2017,26(7):556~557.
- [5] 孟德祺. EGFR、HER-2、PDGFR- α 、PR、ER在子宫内膜癌中的表达及其与肌层浸润的相关性[J].现代医学,2016,28(11):1536~1540.
- [6] Ding K, Yuan Y, Chong Q Y, et al. Autocrine prolactin stimulates endometrial carcinoma growth and metastasis and reduces sensitivity to chemotherapy [J]. Endocrinology, 2017, 158(6):1595~1611.
- [7] Zheng X B, Zhang M, Xu M Q. Detection and characterization of ciRS-7: a potential promoter of the development of cancer[J]. Neoplasia, 2017, 64(3):321~328.
- [8] Pan H, Tao L, Jiang Y, et al. Overexpression of Circular RNA ciRS - 7 Abrogates the Tumor Suppressive Effect of miR - 7 on Gastric Cancer via PTEN/PI3K/AKT Signaling Pathway[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 119(1):440~446.
- [9] Li R, Ke S, Meng F, et al. CiRS-7 promotes growth and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma via regulation of miR-7/HOXB13[J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(8):838~851.
- [10] 时沛.胃腺癌组织中 HIF-1 α 和 EGFR 蛋白的表达与预后的关系[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2016,23(1):89~94.
- [11] Su C, Han Y, Zhang H, et al. CiRS - 7 targeting miR - 7 modulates the progression of non - small cell lung cancer in a manner dependent on NF - κ B signalling[J]. Journal of Cellular & Molecular Medicine, 2018, 22(6):3097~3107.
- [12] 孙连碧,李广海,曹东华.miR-7靶向调节EGFR基因对卵巢癌SKOV3细胞增殖和侵袭的影响[J].解剖科学进展,2017,31(4):360~362.

【文章编号】1006-6233(2019)08-1325-05

方体定向神经内镜血肿清除与双软通道钻孔引流对 高血压脑出血患者的作用分析

何黎明¹, 刘保国¹, 王泽麟², 谷斌亮², 肖 罡¹, 龙潮新¹, 田 硕¹, 钟 兵¹

(1.广东省粤北人民医院神经外科, 广东 韶关 512026

2.广东省乐昌市人民医院神经外科, 广东 乐昌 512200)

【摘要】目的:探讨方体定向神经内镜血肿清除与双软通道钻孔引流对高血压脑出血患者的作用。**方法:**选择2016年8月至2018年7月我院收治的高血压脑出血患者87例,根据简单随机分组法分为观察组(45例)和对照组(42例)。观察组采取方体定向神经内镜血肿清除术,对照组采取双软通道钻孔引流。比较两组临床疗效,美国国立卫生院脑卒中量表评分(NIHSS)、Barthel指数,手术指标,炎症因子水平,并发症。**结果:**观察组临床总有效率显著高于对照组($P<0.05$)。术前,两组患者NIHSS评分和Barthel指数比较无显著差异($P>0.05$),术后15d、术后30d、术后3个月,两组患者NIHSS评分呈降低趋势($P<0.05$),Barthel指数呈上升趋势($P<0.05$),观察组的NIHSS评分低于对照组($P<0.05$),Barthel指数高于对照组($P<0.05$),两组在组间、不同时间点间、组间·不同时间点间交互效应比较差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组的术中失血量、手术时间显著多于对照组($P<0.05$),血肿清除率明显高于对照组($P<0.05$)。术前,两组患者白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)水平比较无显著差异($P>0.05$),术后7d、15d、30d,两组患者IL-6、TNF- α 、hs-CRP水平呈降低趋势($P<0.05$),但观察组始终低于对照组($P<0.05$),两组在组间、不同时间点间、组间·不同时间点间交互效应比较差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者术后再出血、肺部感染、脑部积水、颅内感染、引流管堵塞、颅内积气比较无显著差异($P>0.05$)。**结论:**相对于双软通道钻孔引流治疗高血压脑出血,方体定向神经内镜血肿清除术治疗高血压脑出血,其血肿清除率更高,更能有效改善患者神经功能和日常生活能力、炎症因子水平,临床疗效良好,并发症少,有助于患者预后的改善。

【关键词】 神经内镜血肿清除; 双软通道钻孔引流; 高血压脑出血; 临床疗效

【文献标识码】 A **【doi】**10.3969/j.issn.1006-6233.2019.08.024

Comparison of Clinical Effects of Directional Neuroendoscopy with Hematoma Evacuation and Double Soft-channel Drainage in the Treatment of Hypertensive Intracerebral Hemorrhage

【基金项目】广东省自然科学基金项目,(编号:2016A030313755);广东省韶关市科技计划项目,(编号:2017CX/K006)