

DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2020.02.006
文章编号: 1007-1989(2020)02-0028-04

论 著

腹腔镜结直肠癌手术治疗对结直肠癌患者血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平的影响

陈明干, 丁新德, 章波, 朱松明

(上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院 普外科, 上海 202150)

摘要: **目的** 探究腹腔镜结直肠癌手术对结直肠癌(CRC)患者血清 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平的影响。**方法** 选取 2015 年 6 月—2018 年 6 月该院收治的 CRC 患者 120 例作为研究对象, 采用实时荧光定量 PCR 反应(RT-qPCR)检测血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平; 使用生活质量核心调查问卷第 3 版(QLQ-C30)评估腹腔镜结直肠癌手术治疗前后患者的状况。**结果** 经腹腔镜结直肠癌手术治疗后, CRC 患者的躯体、认知、情绪、角色和社会功能评分均得到明显提高; 患者血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 的相对水平均明显下降; 通过相关性分析发现, miR-17、miR-20a 和 miR-92 的相对量变化与 QLQ-C30 评分变化有相关性($P < 0.05$), 而 miR-21 则无相关性($P > 0.05$)。**结论** 腹腔镜结直肠癌手术治疗后, CRC 患者血清中 miR-17、miR-20a 和 miR-92 的水平可以作为评估治疗效果的潜在标志物。

关键字: 腹腔镜结直肠癌手术; 结直肠癌; miR-17; miR-21; miR-20a; miR-92

中图分类号: R735.3

Analysis of the effect of laparoscopic colorectal cancer surgery on serum levels of miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 in patients with colorectal cancer

Ming-gan Chen, Xin-de Ding, Bo Zhang, Song-ming Zhu

(Department of General Surgery, Chongming Branch of Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 202150, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of laparoscopic colorectal cancer surgery on serum miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 levels. **Methods** 120 patients with colorectal cancer from June 2015 to June 2018 were enrolled in the study. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 levels in serum. The QLQ-C30 score was used to assess the condition of patients before and after laparoscopic colorectal surgery. **Results** After laparoscopic colorectal cancer surgery, the body score, cognitive score, emotional score, role score and social function score were significantly improved; The miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 in serum decreased significantly. Correlation analysis showed that the relative changes of miR-17, miR-20a and miR-92 were correlated with the change of QLQ-C30 score ($P < 0.05$), while miR-21 was not ($P > 0.05$). **Conclusion** The serum level of miR-17, miR-20a and miR-92 in patients with laparoscopic colorectal cancer can be used as a potential marker to evaluate the therapeutic effect.

Keywords: laparoscopic colorectal cancer surgery; colorectal cancer; miR-17; miR-21; miR-20a; miR-92

收稿日期: 2019-04-10

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是西方国家癌症死亡的第二大常见原因^[1]。作为一种异质性疾病, CRC 因为多种遗传和表观遗传改变的积累而发生发展, 这些改变使全球基因表达谱得到拓展^[2]。正是这种遗传进展促成了 CRC 的多样性表型。miRNA 是最近发现的一类非编码 RNA, 其通过降解靶向 mRNA 或通过类似于小干扰 RNA 介导的基因沉默机制来调节基因表达^[3]。ZHANG 等^[4]研究发现, PRL-3 诱导的 miR-21、miR-17 和 miR-19a 能促进结肠癌的增殖和转移。CHAI 等^[5]发现, miR-20a 能够靶向 BNIP2, 并在结直肠腺癌 SW480 和 SW620 细胞系中提供化疗耐药性。TSUCHIDA 等^[6]发现, miR-92 是结肠癌中 miR-17-92 簇的关键致癌成分。因此, 本研究旨在探究腹腔镜结直肠癌手术对 CRC 患者血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入 2015 年 6 月—2018 年 6 月本院收治的 CRC 患者 120 例作为研究对象。其中, 男 71 例, 女 49 例; 年龄 29 ~ 51 岁, 平均 (39.13 ± 9.37) 岁。120 例 CRC 患者均经本院病理科证实。纳入标准: 术前结直肠肿瘤临床分期为 II 期及 III 期者。排除标准: ①同时患有其他癌症者; ②精神疾病者; ③近 3 个月经过化疗放疗的患者; ④严重心、肝、肾功能损伤者。两组患者一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。受试者均签署知情同意书。

1.2 手术方法

采用腹腔镜结直肠癌手术。基于加速康复外科理念, 患者在术前 8 h 内禁食、4 h 内禁饮, 手术前 1 晚口服洗肠散清洁肠道。在肿瘤下方切断封闭直肠, 保证切缘和肿瘤的距离足够, 中高位结直肠癌大于 5 cm, 低位结直肠癌大于 3 cm。修理结肠系膜血管, 距肿瘤预切点置入荷包钳, 切除、移去标本, 检查近端结肠的血运情况以及吻合的长度是否足够, 必要时继续游离结肠脾曲。游离结肠脾曲时, 将横结肠向右侧牵引, 降结肠向内侧牵引, 超声刀切断脾结肠韧带以及部分胃结肠韧带。收紧结扎荷包线, 放入腹腔, 缝合关闭左下腹横切口。重新建立气腹。扩肛, 碘伏水冲洗直肠腔, 圆形吻合器经肛门于直肠切割线附近刺穿, 与抵钉座对合, 完成吻合。用 50 ml 注射器往

直肠腔内注气。冲洗及引流管放置重建气腹, 反复以生理盐水冲洗盆腔, 确切止血, 盆底腹膜可不关闭, 腹腔镜监视下将腹腔引流管放到直肠膀胱陷凹。

1.3 观察指标

1.3.1 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 采集 120 例 CRC 患者行腹腔镜结直肠癌手术前 8 h 和术后 24 h 时的肘前部静脉血 5 ml。采用红细胞溶解法分离有核细胞, TRIZOL 法抽取总 RNA, RT-qPCR 法对血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平进行相对定量检测。引物序列见表 1, 交由北京擎科公司合成。

表 1 目的基因和内参基因 RT-qPCR 引物序列
Table 1 Quantitative PCR primer sequence of target gene and internal reference gene

引物名称	引物序列
miR-17-F	CAAAGTGCTTACAGTGCAGG
miR-17-R	CTACCTGCACTGTAAGC
miR-21-F	TGTCGGGTAGCTTATCAGACTGATG
miR-21-R	CATCACTCTGATAAGCTACCCGACA
miR-20a-F	GCTTATAGTGCAGGTAGT
miR-20a-R	GCTCATAATGCAGTAGAT
miR-92-F	ACAGGTTGGGATCGGTTCC
miR-92-R	CAGGCCGGACAAGTGCA
U6-F	GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT
U6-R	CGCTTCACGAATTTGCGTGCAT

1.3.2 生活质量评分 采用生活质量核心调查问卷第 3 版 (quality of life core questionnaire version 3.0, QLQ-C30) 评分, 对患者行腹腔镜结直肠癌手术前后躯体、认知、情绪、角色和社会功能评分进行认定。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验, 采用 Pearson 相关系数确定相关性。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者手术前后 QLQ-C30 评分比较

经过腹腔镜结直肠癌手术治疗后, 患者的躯体、认知、情绪、角色和社会功能评分均得到明显提高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 患者手术前后 QLQ-C30 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of QLQ-C30 scores before and after surgery (score, $\bar{x} \pm s$)

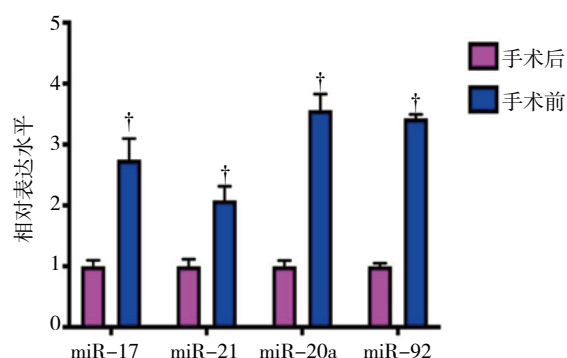
时间	躯体评分	认知评分	情绪评分	角色评分	社会功能评分
治疗前	33.19 ± 6.39	30.28 ± 8.48	36.19 ± 6.82	21.48 ± 7.47	23.98 ± 6.44
治疗后	71.59 ± 12.41	77.46 ± 13.08	78.68 ± 12.37	61.49 ± 12.49	61.22 ± 12.04
<i>t</i> 值	30.14	33.15	32.95	30.12	29.88
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 手术前后患者血清 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平比较

经过腹腔镜结直肠癌手术治疗后, 患者血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 的相对水平均明显下降, 治疗前后差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见附图。

2.3 手术前后患者 QLQ-C30 评分变化与血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 变化的相关性

采用 Pearson 相关系数对手术前后 QLQ-C30 评分变化与血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 的变化进行相关性分析, 结果显示, miR-17、miR-20a 和 miR-92 的相对表达量变化与 QLQ-C30 评分变化有相关性 ($P < 0.05$), 而 miR-21 则无相关性 ($P > 0.05$)。见表 3。



†表示与手术后患者血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

附图 手术前后患者血清 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平比较

Attached fig. Comparison of serum levels of miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 before and after surgery

表 3 手术前后患者 QLQ-C30 评分变化与血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 变化的相关性

Table 3 Correlation between changes of QLQ-C30 score and serum miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 before and after surgery

因素	miR-17 相对变化	miR-21 相对变化	miR-20a 相对变化	miR-92 相对变化
与 QLQ-C30 评分变化相关性的 <i>r</i> 值	0.392	0.026	0.318	0.224
与 QLQ-C30 评分变化相关性的 <i>P</i> 值	0.000	0.778	0.000	0.014

3 讨论

CRC 是世界上第四大致命的癌症, 全球 CRC 的死亡率约为 50%^[7]。许多国家的发病率逐年上升, 这可能与饮食和生活习惯的改变有关^[8]。腹腔镜结肠直肠癌手术现已广泛用于治疗结肠肿瘤, 该手术在过去 15 年中使用率稳步增加^[9-10]。本研究发现, 采用腹腔镜结直肠癌手术治疗后, 患者的躯体、认知、情绪、角色和社会功能评分均得到明显提高, 提示: 腹腔镜结直肠癌手术已成为外科医生治疗 CRC 的重要工具, 能够有效改善患者身体状况。

miRNA 属于一类内源表达的约 22 个核苷酸的非编码小 RNA^[11]。这些小 RNA 通过与蛋白质编码基

因的 mRNA 配对来影响基因调控, 通过降低翻译效率或 mRNA 水平来抑制基因表达^[12]。有研究表明, miRNA 表达的失调有助于多种多样的人类疾病的发生发展, 包括 CRC^[13]。本研究采用腹腔镜结直肠癌手术治疗 CRC, 术后患者的健康状况得到明显改善, 疗效明显。PRL-3 在结肠癌细胞中过表达, 并且通过激活 STAT3 诱导 miR-21、miR-17 和 miR-19a 表达^[4], 这些 miRNA 有助于结肠癌细胞的增殖和加强侵袭性。然而, 本研究中患者术后血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 的相对水平均明显下降, 提示: 腹腔镜结直肠癌手术能够减缓癌细胞增殖和侵袭。miR-20a 的调节改变了 SW620 和 SW480 细胞对化疗药物的敏感性; 敲除 miR-20a 使 SW620 细胞对

化学治疗剂敏感,而在 SW480 细胞中过表达 miR-20a 导致化学抗性^[5]。提示:经腹腔镜结直肠癌手术治疗后,能够有效降低耐药性,使化疗药物敏感。最近的 3 项研究^[6, 14-15]将 miR-92 鉴定为 miR-17-92 区域内的关键致癌介质,证明了 miR-92 能抑制 c-Myc 诱导的细胞凋亡,并通过 c-Myc 抑制磷酸酶和张力蛋白同源物两个肿瘤抑制因子来促进淋巴瘤形成,提示:腹腔镜结直肠癌手术治疗能使细胞的凋亡水平恢复到正常。本研究通过相关性分析发现,miR-17、miR-20a 和 miR-92 的相对表达量变化与 QLQ-C30 评分变化有相关性($P < 0.05$),而 miR-21 则无相关性($P > 0.05$),提示:患者血清中 miR-17, miR-20a 和 miR-92 水平可作为临床评价疗效的一种辅助标志物。

综上所述,腹腔镜结直肠癌手术治疗后,能够有效改善患者身体状况,患者血清中 miR-17、miR-20a 和 miR-92 的水平可以作为评估治疗效果的潜在标志物。

参 考 文 献:

- [1] DING C, HE J, ZHAO J, et al. β -catenin regulates IRF3-mediated innate immune signalling in colorectal cancer[J]. Cell Proliferation, 2018, 51(5): e12464.
- [2] 丁一波,杜琰,王颖,等.非可控性炎症,表观遗传和遗传改变在结直肠癌发生和侵袭过程中的作用[J].第二军医大学学报, 2015, 36(4): 362-366.
- [2] DING Y B, DU Y, WANG H, et al. The role of uncontrollable inflammation, epigenetic and genetic alterations in the development and invasion of colorectal cancer[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2015, 36(4): 362-366. Chinese
- [3] 赵路阳,张康,顾成磊,等.基于 microRNA-mRNA 配对表达谱进行联合分析的方法学进展[J].生物技术通讯, 2017, 28(4): 545-550.
- [3] ZHAO L Y, ZHANG K, GU C L, et al. Progress in the integrative analysis of microRNA and mRNA expression data[J]. Letters in Biotechnology, 2017, 28(4): 545-550. Chinese
- [4] ZHANG J, XIAO Z, LAI D, et al. miR-21, miR-17 and miR-19a induced by phosphatase of regenerating liver-3 promote the proliferation and metastasis of colon cancer[J]. British Journal of Cancer, 2012, 107(2): 352-359.
- [5] CHAI H, LIU M, TIAN R, et al. miR-20a targets BNIP2 and contributes chemotherapeutic resistance in colorectal adenocarcinoma SW480 and SW620 cell lines[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai), 2011, 43(3): 217-225.
- [6] TSUCHIDA A, OHNO S, WU W, et al. miR-92 is a key oncogenic component of the miR-17-92 cluster in colon cancer[J]. Cancer Science, 2011, 102(12): 2264-2271.
- [7] DING C M, HE J, LIAO W Y, et al. Regulation of WNT/ β -catenin signaling by carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase (CAD) in colorectal cancer cell[J]. Int J Clin Exp Med, 2017, 10(12): 16243-16253.
- [8] MURPHY N, MORENO V, HUGHES D J, et al. Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2019, 69: 2-9.
- [9] 郑锦,李年丰.腹腔镜和结肠镜双镜联合微创术治疗结肠良恶性肿瘤的临床疗效观察[J].中国医药指南, 2017, 15(21): 96-97.
- [9] ZHENG J, LI N F. Clinical efficacy of laparoscopic and colonoscopy combined with minimally invasive surgery for the treatment of colorectal benign and malignant tumors[J]. Guide of China Medicine, 2017, 15(21): 96-97. Chinese
- [10] 吴杨,易石坚.经脐单切口腹腔镜结直肠癌根治术的临床分析[J].中南医学科学杂志, 2017, 45(6): 588-590.
- [10] WU Y, YI S J. Clinical analysis of transumbilical single incision laparoscopic radical resection of colon cancer[J]. Medical Science Journal of Central South China, 2017, 45(6): 588-590. Chinese
- [11] MULLANY L E, SLATTERY M L. The functional role of miRNAs and colorectal cancer: insights from a large population-based study[J]. Cancer Biology & Medicine, 2019, 16(2): 211-219.
- [12] 胡怡然. miR-93-5p 在直肠癌组织中的表达及其临床意义[D].安徽医科大学, 2017.
- [12] HU Y R. Clinical evaluation of miR-93-5p expression in rectal cancer tissues[D]. Anhui Medical University, 2017. Chinese
- [13] 刘斌,刘丽霞,臧爱民,等. miRNA-30c 在结直肠癌的表达与预后相关性分析[J].医学研究与教育, 2017, 34(6): 1-6.
- [13] LIU B, LIU L X, ZANG A M, et al. Expression and prognosis of miRNA-30c in colorectal carcinoma[J]. Medical Research and Education, 2017, 34(6): 1-6. Chinese
- [14] BOUDJADI S, CARRIER J C, GROULX J F, et al. Integrin $\alpha 1 \beta 1$ expression is controlled by c-MYC in colorectal cancer cells[J]. Oncogene, 2016, 35(13): 1671-1678..
- [15] TÖGEL L, NIGHTINGALE R, CHUEH A C, et al. Dual targeting of bromodomain and extraterminal domain proteins, and WNT or MAPK signaling, inhibits c-MYC expression and proliferation of colorectal cancer cells[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2016, 15(6): 1217-1226.

本文引用格式:

陈明干,丁新德,章波,等.腹腔镜结直肠癌手术治疗对结直肠癌患者血清中 miR-17、miR-21、miR-20a 和 miR-92 水平的影响[J].中国内镜杂志, 2020, 26(2): 28-31.
CHEN M G, DING X D, ZHANG B, et al. Analysis of the effect of laparoscopic colorectal cancer surgery on serum levels of miR-17, miR-21, miR-20a and miR-92 in patients with colorectal cancer[J]. China Journal of Endoscopy, 2020, 26(2): 28-31. Chinese

(吴静 编辑)