



let-7a1和let-7c在非小细胞肺癌中的表达及临床意义

李殿明, 柳兆飞, 宁国兰

引用本文:

李殿明, 柳兆飞, 宁国兰. let-7a1和let-7c在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(3): 285-290.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.03.002>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[微小RNA-100在胃癌中的表达及临床意义](#)

The expression of microRNA-100 in gastric cancer and its clinical significance

蚌埠医学院学报. 2015, 40(1): 37-39,42 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.01.012>

[SPINK1和Vimentin在非小细胞肺癌中的表达及意义](#)

Expression levels of SPINK1 and Vimentin in non-small cell lung cancer and its clinical significance

蚌埠医学院学报. 2020, 45(2): 211-214 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.02.020>

[微小RNA-125b及其靶基因信号素分子4C在乳腺癌中的表达及意义](#)

Expressions of microRNA-125b and semaphorin 4C in breast cancer and its significance

蚌埠医学院学报. 2015, 40(10): 1301-1304 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.10.001>

[食管鳞癌组织中乳腺癌扩增基因1的表达及临床意义](#)

Expression of AIB1 protein in esophageal squamous cell carcinoma, and its clinical significance

蚌埠医学院学报. 2017, 42(4): 424-426 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2017.04.002>

[肺癌病人EGFR基因突变与相关病理和临床特征分析](#)

Analysis of the relationship between EGFR gene mutation, and related pathological and clinical features in lung cancer patients

蚌埠医学院学报. 2020, 45(1): 26-30,34 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.01.007>

let-7a1 和 let-7c 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义

李殿明¹, 柳兆飞², 宁国兰³

[摘要] **目的:**探讨人类微小 RNA let-7a1 和 let-7c 在肺癌组织中的表达及与临床病理特征之间的关系。**方法:**收集 53 例肺癌组织手术标本及临床资料,其中包括肺癌组织 44 例(收集其癌组织和癌旁正常组织)和良性肺疾病组织 9 例。并收集病人吸烟史、肿瘤 TNM 分期、病理分化程度及有无淋巴结转移等。采用 Trizol 法提取总 RNA,采用荧光定量 PCR 检测 let-7a1 和 let-7c 的表达,分析其在肺癌组织、癌旁正常组织及良性肺疾病组织中的表达差异及与临床特征的关系。**结果:**肺癌组织中 let-7a1 和 let-7c 的相对表达量均低于癌旁正常组织和良性肺疾病组织($P < 0.05$);癌旁正常组织中 let-7a1 和 let-7c 的相对表达量均低于良性肺疾病组织($P < 0.05$)。let-7a1 表达与分化程度、吸烟和 TNM 分期有关($P < 0.05 \sim P < 0.01$),与淋巴结有无转移无关($P > 0.05$)。let-7c 表达与淋巴结转移、分化程度有关($P < 0.01$),与吸烟、TNM 分期无关($P > 0.05$)。**结论:**let-7a1 和 let-7c 基因在肺癌组织中相对表达量降低,并且随临床分期进展、淋巴结转移呈明显下降趋势,提示两者与肺癌的发生、发展及转移密切相关,let-7a1 和 let-7c 可能成为肺癌早期诊断生物标志因子,并可能成为肺癌的靶向治疗新的靶点,为高危人群的早期干预提供实验依据。

[关键词] 肺肿瘤;微小 RNA;let-7a1;let-7c**[中图分类号]** R 734.2**[文献标志码]** A**DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.03.002**Expression and clinical significance of let-7a1 and let-7c in non-small cell lung cancer**LI Dian-ming¹, LIU Zhao-fei², NING Guo-lan³

(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Anhui Clinical and Preclinical Key Laboratory of Respiratory Disease, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004; 2. Department of Respiratory Medicine, Linquan People's Hospital, Linquan Anhui 236400; 3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Fuyang Second People's Hospital, Fuyang Anhui 236000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of human microRNA let-7a1 and let-7c in lung cancer tissues and its relationship with clinicopathological features. **Methods:** The surgical specimens and clinical data of 53 cases of lung tissue were collected, including 44 cases of lung cancer used to collect cancer tissue and paracancerous normal tissue, and 9 cases of benign lung disease tissue. The smoking history, TNM stage, pathological differentiation and lymph node metastasis were collected. The total RNA was extracted by Trizol method, and the expression of let-7a1 and let-7c was detected by fluorescence quantitative PCR. The difference of let-7a1 and let-7c expression in lung cancer tissue, paracancerous normal tissue and benign lung disease tissue, and its relationship with clinical features were analyzed. **Results:** The relative expression of let-7a1 and let-7c in lung cancer tissue was lower than that in paracancerous normal tissue and benign lung disease tissue ($P < 0.05$), and the relative expression of let-7a1 and let-7c in paracancerous normal tissue was lower than that in benign lung disease tissue ($P < 0.05$). The expression of let-7a1 was related to differentiating degree, smoking and TNM stage ($P < 0.05$ to

[收稿日期] 2020-03-20 [修回日期] 2020-06-17

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究重点项目(KJ2018A0997);安徽省教育厅自然科学研究项目(KJ2010B113)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院呼吸与危重症医学科,安徽省呼吸系病临床基础重点实验室,安徽蚌埠 233004; 2. 安徽省临泉县人民医院呼吸内科,236400; 3. 安徽省阜阳市第二人民医院呼吸与危重症医学科,236000

[作者简介] 李殿明(1970-),男,硕士研究生导师,主任医师,副教授。

[10] SHI J, SUN J, LIU C, et al. All-trans-retinoic acid (ATRA) plus oxaliplatin plus 5-fluorouracil/leucovorin (FOLFOX) versus FOLFOX alone as palliative chemotherapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma and extrahepatic metastasis: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2019, 20(1):245.

[11] SCHNEIDER SM, OFFTERDINGER M, HUBER H, et al. Activation of retinoic acid receptor α is sufficient for full induction of retinoid responses in SK-BR-3 and T47D human breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(19):5479.

[12] WHEATLEY SP, ALTIERI DC. Survivin at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(7):jcs223826.

[13] SANDUR SK, DEORUKHKAR A, PANDEY MK, et al. Curcumin modulates the radiosensitivity of colorectal cancer cells by suppressing constitutive and inducible NF- κ B activity [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 75(2):534.

[14] 李晓波, 徐芳. 姜黄素通过影响 NF- κ B 信号通路促进肺癌细胞的放射敏感性 [J]. *重庆医学*, 2017, 46(6):749.

(本文编辑 赵素容)

$P < 0.01$), but was not related to smoking and TNM stage ($P > 0.05$). The expression of let-7c was related to lymph node metastasis and differentiating degree ($P < 0.01$), but was not related to smoking and TNM stage ($P > 0.05$). **Conclusions:** The relative expression of let-7a1 and let-7c genes in lung cancer tissue decreases, and exhibits decreasing trend with the progress of clinical stage and lymph node metastasis, which suggests that let-7a1 and let-7c are closely related to the occurrence, development and metastasis of lung cancer. Let-7a1 and let-7c may become biomarkers for early diagnosis of lung cancer, and become new targets for targeted therapy of lung cancer, to provide experimental basis for early intervention of high-risk groups.

[**Key words**] lung neoplasms; microRNA; let-7a1; let-7c

肺癌是目前发病率与病死率最高的恶性肿瘤,死亡率高主要是由于绝大部分病人确诊时已属中晚期,5年生存率极低^[1]。因此,肺癌的早期诊断和有效的治疗方法是改善预后和提高生存率的关键。近年来,一些研究发现微小RNA(microRNA, miRNA)能调节多种肿瘤的发生、发展及转移等^[2]。循环miRNAs可作为肺癌诊断标记物^[3],还可在预测肿瘤治疗反应、疗效评价^[4]及预后^[5]等方面起到重要作用。

miRNA广泛存在于真核生物中,是一种在进化中高度保守的短链非编码RNA^[6]。let-7是人体第一个被发现的miRNA,包含13个成员:let-7-a-1/2/3, let-7-b, let-7-c, let-7-d, let-7-e, let-7-f-1/2, let-7-g, let-7-i, mir-98和mir-202^[7]。let-7家族是目前研究最多的miRNA之一,研究^[8-10]发现其在多种肿瘤中表达下调,可能作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤的发生、发展。关于let-7与肿瘤的研究大多集中在let-7a和let-7b上,关于let-7c的研究较少,而且let-7a1和let-7c共同在肺癌中的研究,至今未见报道。

本研究通过检测肺癌组织、癌旁正常组织和良性肺疾病组织中let-7a1和let-7c基因的表达,分析两者与肺癌发生、发展的相关性,探讨其在肺癌发生中可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料 本研究获得蚌埠医学院第一附属医院伦理委员会批准,同时标本采集得到病人及家属的知情同意。入组标准:(1)年龄18~75岁;(2)首次确诊的非小细胞肺癌且TNM分期在Ⅲ期以前的病人,或良性肺疾病有外科手术指征者;(3)未行化疗、放疗、靶向治疗及免疫治疗等;(4)肺功能较好能够耐受手术者;(5)无其他手术禁忌证者。排除标准:(1)年龄<18岁或>75岁;(2)TNM分期为Ⅳ期的病人,或良性肺疾病无外科手术指征者;(3)接受过化疗、放疗、靶向治疗及免疫治疗等;(4)肺功能较差者;(5)有其他手术禁忌证或拒绝手术

治疗者。收取2014年6月至2015年6月在蚌埠医学院第一附属医院胸外科行肺癌根治术的肺癌组织及远离癌组织边缘5cm的癌旁正常组织44例,其中男25例,女19例,年龄47~72岁,术后病理检查均证实为非小细胞肺癌。其中鳞癌21例,腺癌23例。另外收集良性肺疾病组织9例(肺炎性假瘤3例,结核球2例,肺囊肿1例,复发性气胸1例,支气管扩张1例,胸外伤致左下肺不张1例)作为阴性对照,男8例,女1例,年龄12~57岁。样本一部分放在准备好的RNA保存液中,在4℃冰箱过夜后,-80℃冰箱保存待用。另一部分行石蜡包埋,病理常规HE染色,观察组织结构。免疫组织化学标记采用SP法,所用一抗TTF1、CK7、NapsinA、p63、p40均购自福州迈新生物技术有限公司,PBS代替一抗作阴性对照。并收集病人吸烟史、肿瘤TNM分期、病理分化程度及有无淋巴结转移等。

1.1.2 主要试剂 Trizol试剂(Invitrogen公司);RNA保存液[(天根生化科技(北京)有限公司);DAB显色试剂盒(福州迈新生物技术公司)];EB(北京天根生化科技有限公司);All-in-One™ miRNA qRT-PCR检测试剂盒(广州复能);let-7a1、let-7c基因引物、U6内参引物(广州复能);SuperScript III反转录试剂盒(ABI-Invitrogen);Sybr qPCR试剂盒(ABI-Invitrogen)。

1.1.3 主要仪器 超净工作台(苏州市净化设备有限公司);Finnpipette各型移液器(芬兰ABI-Invitrogen);7500型PCR仪(美国ABI公司);AlphaView图像分析软件(美国Alpha公司);Eppendorf 5810R型冷冻高速离心机(德国Eppendorf公司);琼脂糖水平电泳槽(美国Bio-Rad公司);MK200-1型干式恒温器(杭州奥盛仪器有限公司);XW-80A型漩涡混合器(上海医科大学仪器厂);VCR76X5型振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

1.1.4 引物设计 PCR反应所用的下游引物为试剂盒提供的通用引物,上游引物是广州复能基因提供的All-in-One™ miRNA qPCR引物;let-7a的上游引物序列号为HmiRQP0002;let-7c的上游引物序列

号为 HmiRQP0006; U6 的上游引物序列号为 HmiRQP9001。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取 按说明书进行,用琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 的完整性,28S/18S ≥ 2 ,说明 RNA 完整性良好(见图 1)。使用分光光度计测定样品 OD 值,经紫外分光光度仪分析 OD₂₆₀/OD₂₈₀, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值均为 1.8 ~ 2.0。

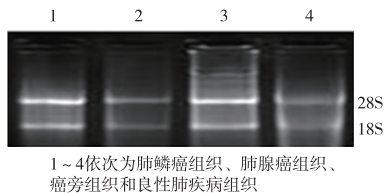


图1 总RNA 2%琼脂糖凝胶电泳图

1.2.2 荧光定量 PCR 染料法 荧光定量 PCR 检测组织中 miRNA 表达。因成熟 let-7 很短,只有 22 nt,而且其末端不具有 mRNA 所有的多聚腺苷酸尾巴,所以普通逆转录试剂盒中的随机引物和 Olig(dT)引物几乎不能对其进行逆转录。因此,在逆转录前需对其末端进行加工修饰,本研究选择加尾法修饰进行逆转录,首先利用 ploy(A) 酶在其末端进行加尾反应,产物类似 mRNA,然后再利用 Olig(dT)引物对其进行逆转录,确保荧光定量 PCR 的特异性。

按 All-in-One™ miRNA qRT-PCR 检测试剂盒加尾法逆转录和 PCR 试剂盒说明书步骤进行,PCR 仪器程序参数设置如下:预变性 95 °C、10 min,1 个循环;变性 95 °C、10 s,退火 60 °C、24 s,延伸 72 °C、34 s,共 40 个循环。扩增结束后直接做溶解曲线检测 PCR 产物的特异性。以 cDNA 为模板,U6 为内对照,检测各标本的 let-7a1 和 let-7c 的相对表达水平。

1.2.3 PCR 产物的判定和计算 50 × ROX Reference Dye 是荧光定量 PCR 常用的 DNA 结合染料。因染料法与双链 DNA 结合并不是一一对应,一旦有引物二聚体形成或非特异性扩增都将影响结果。所以通过溶解曲线分析判断 PCR 反应的特异性。最终以内参校正的相对值作为后期统计分析数据。

使用 ABI 公司的 StepOnePlus™ (96 孔) 实时荧光 PCR 扩增仪进行实时荧光定量 PCR 反应,检测各八连管中 cDNA 的 Ct 值(C 代表荧光信号到达阈值时所需要的 PCR 反应次数,t 代表循环阈值),实验设 3 个复孔,取平均值,以组织中 U6 的表达作为内参进行相对定量,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值法计算 2 种 miRNA 在组织中的相对表达量。公式: $\Delta Ct = Ct(\text{let-7}) - Ct(\text{U6})$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{实验组织}) - \Delta Ct$

(对照组织)。

1.3 统计学方法 采用 *t* 检验、方差分析和 *q* 检验。

2 结果

2.1 肺腺癌和鳞癌的病理诊断及免疫组织化学标记结果 肺腺癌病理显示肿瘤结节状生长,浸润周围肺组织;低倍镜下癌细胞呈不规则腺管状排列,在胶原纤维间浸润性生长。免疫组织化学结果显示癌细胞表达 TTF1、CK7、NapsionA(见图 2)。肺鳞癌病理显示不规则结节状生长,与周围肺组织界限不清;低倍镜下癌细胞呈大小不一的巢团状生长,可见小的角化珠及细胞内角化,间质胶原化。免疫组织化学结果显示癌细胞表达 p63、p40(见图 3)。

2.2 let-7a1 和 let-7c 基因在肺癌组织、癌旁正常组织和良性肺疾病组织中的表达的扩增曲线 Line 图和溶解曲线图 荧光定量 PCR 扩增曲线呈较为光滑的 S 型,均在 30 个循环以前出现扩增信号,结果较为可靠;由于产物序列不同,溶解曲线荧光信号主峰基本集中在 80 ~ 90 °C 和 78 ~ 88 °C,其前有小的杂峰,考虑为复空中底物浓度过低所至引物二聚体的形成(见图 4 ~ 7)。

2.3 let-7a1 和 let-7c 基因在肺癌组织、癌旁正常组织和良性肺疾病组织中的表达比较 肺癌组织中 let-7a1 和 let-7c 的相对表达量均低于癌旁正常组织和良性肺疾病组织($P < 0.05$);癌旁正常组织中 let-7a1 和 let-7c 的相对表达量均低于良性肺疾病组织($P < 0.05$)(见表 1)。

表 1 肺癌组织、癌旁正常组织和良性肺疾病组织中 let-7a1、let-7c 基因的表达比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	let-7a1	let-7c
肺癌组织	44	0.93 ± 0.46 ^{**}	1.16 ± 0.76 ^{**}
癌旁正常组织	44	1.18 ± 0.54 [*]	1.59 ± 0.88 [*]
良性肺疾病组织	9	1.38 ± 0.54	1.81 ± 0.63
<i>F</i>	—	4.39	4.30
<i>P</i>	—	<0.05	<0.05
<i>MS</i> 组内	—	0.026	0.652

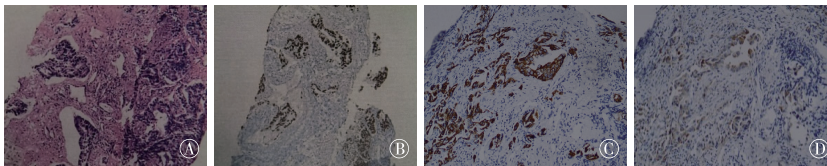
q 检验:与良性肺疾病组织比较 * $P < 0.05$;与癌旁组织比较 # $P < 0.05$

2.4 let-7a1 和 let-7c 基因在不同病理类型肺癌组织中的表达比较 let-7a 和 let-7c 基因在肺鳞癌和腺癌中的相对表达量差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 2);在肺鳞癌和腺癌旁正常组织中的相对表达量差异也均无统计学意义($P > 0.05$)(见

表 3)。

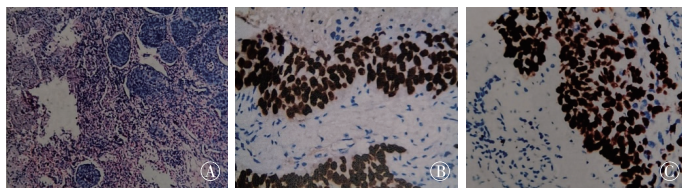
2.5 let-7a1 和 let-7c 表达与肺癌临床特征之间的关系分析 let-7a1 表达与分化程度、吸烟和 TNM 分期有关($P < 0.05 \sim P < 0.01$),与淋巴结有无转移无

关($P > 0.05$)。let-7c 表达与淋巴结转移、分化程度有关($P < 0.01$),与吸烟、TNM 分期无关($P > 0.05$) (见表 4)。



A: 肺腺癌 (HE); B: 肺腺癌组织中TTF1表达, 阳性定位于细胞核 (Elivision); C: 肺腺癌组织中CK7表达, 阳性定位于细胞质 (Elivision); D: 肺腺癌组织中NapsinA表达, 阳性定位于细胞质 (Elivision)

图2 肺腺癌HE染色及免疫组织化学标记结果



A: 肺鳞癌 (HE); B: 肺鳞癌组织中p63表达, 阳性定位于细胞核 (Elivision); C: 肺鳞癌组织中p40表达, 阳性定位于细胞核 (Elivision)

图3 肺鳞癌HE染色及免疫组织化学标记结果

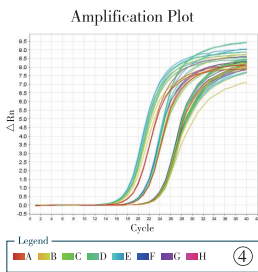


图4 let-7a1扩增曲线Line图

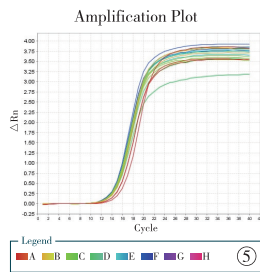


图5 let-7c扩增曲线Line图

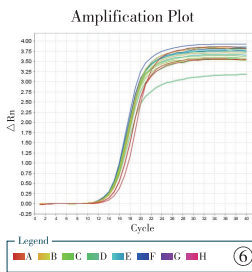


图6 内参U6扩增曲线Line图

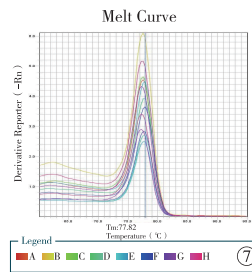


图7 三者溶解曲线

表 2 let-7a1 和 let-7c 基因在不同病理类型肺癌组织中的表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	let-7a1	let-7c
鳞癌	21	1.01 ± 0.41	1.02 ± 0.83
腺癌	23	0.86 ± 0.49	1.07 ± 0.90
t	—	1.12	0.86
P	—	>0.05	>0.05

表 3 let-7a 和 let-7c 基因在不同病理类型肺癌旁正常组织中的表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	let-7a1	let-7c
鳞癌旁正常组织	21	1.33 ± 0.62	1.61 ± 0.74
腺癌旁正常组织	23	1.05 ± 0.41	1.57 ± 1.00
t	—	1.78	0.16
P	—	>0.05	>0.05

3 讨论

肺癌是发病率及死亡率最高的癌症,2018 年全

球肺癌新发病例达到 209 万余例,肺癌相关死亡病例高达 176 万余例,同年我国统计数据显示约有 77.4 万的新增肺癌病例,其中 69 万人死于肺癌^[11]。非小细胞肺癌占肺癌的 80% ~ 90%,而小细胞癌在过去 20 多年里在许多国家的发病率一直在下降^[12]。对于非小细胞肺癌,近年来尽管采用了手术、化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗等,其 5 年生存率仅 15%^[13]。靶向和免疫治疗一直是肺癌领域研究的热点,但也存在较多问题,靶向治疗主要针对有 EGFR、ALK、c-MET、ROS1 等突变的病人,但仍有大约有一半的非小细胞肺癌病人无明确靶点,同时靶向治疗耐药不可避免;免疫治疗开创肿瘤治疗新纪元,一旦获益可能长期生存,但获益率仅 20% 左右^[14],且有一定不良反应。因此,进一步阐明肺癌发展演变过程中分子机制,提高靶向和免疫治疗的疗效将对治疗肺癌具有重大意义。

本研究通过荧光定量 PCR 检测肺癌组织中 let-7a1、let-7c 的表达情况并结合临床资料,分析其可能

的分子机制。结果显示,肺癌组织中 let-7a1 和 let-7c 基因表达低于癌旁组织和正常肺组织,差异有统计学意义;但在腺癌、鳞癌组织及其癌旁组织中表达,差异均无统计学意义;这与尚学芹等^[15]研究结果一致,也与其在其他肿瘤组织中的表达结果一致^[16-17]。但 FASSINA 等^[18]研究认为,在腺癌组织中 let-7a、let-7b、let-7c、let-7f、let-7g、let-7i 和 miR-98 的表达量明显高于鳞癌组织,考虑本研究所使用的均为手术标本,均经严格的标本清洗及储存处理,而且本研究样本量 44 例高于 FASSINA 等研究的所采用的针吸标本组织 31 例,故认为本研究结果更可信。

表 4 let-7a-1 和 let-7c 基因与各临床相关指标之间的关系 ($\bar{x} \pm s$)

临床特征	n	let-7a1	let-7c
淋巴结转移			
有	30	0.90 ± 0.43	0.80 ± 0.31
无	14	1.00 ± 0.52	1.95 ± 0.86
t	—	0.66	6.54
P	—	>0.05	<0.01
分化程度			
低	4	0.35 ± 0.11	1.04 ± 0.30
中	27	0.79 ± 0.28 *	0.92 ± 0.51
高	13	1.42 ± 0.39 **#	1.71 ± 1.02#
F	—	26.58	5.85
P	—	<0.01	<0.01
吸烟			
有	23	0.63 ± 0.21	1.04 ± 0.52
无	21	1.27 ± 0.41	1.29 ± 0.96
t	—	6.64	1.08
P	—	<0.01	>0.05
TNM 分期			
≤ IIIa 期	39	0.99 ± 0.45	1.20 ± 0.80
IIIb 期	5	0.50 ± 0.28	0.87 ± 0.38
t	—	2.41	0.91
P	—	<0.05	>0.05

q 检验:与低分化组比较 *P<0.05;与中分化组比较#P<0.05

本研究结果显示,Let-7c 在肺癌组织中的表达与淋巴结转移、分化程度有关,与 ZHAO 等^[19]的报道一致,也与耿森等^[20]在乳腺癌和 ZHU 等^[21]在肝癌细胞中体外及体内实验结果一致,但具体作用机制有待进一步研究。ZHAO 等^[19]认为肺癌的转移与 let-7c 下游靶基因整合素 β3 和丝裂原蛋白激酶激酶激酶 3 有关,这给肺癌的淋巴结转移途径研究提供新的证据。对于本研究发现的 let-7c 与吸

烟、TNM 分期无关,尚未见文献报道,其发生机制我们将进一步探讨。与之不同的是 let-7a1 则与吸烟、TNM 分期明显相关,而与淋巴结转移无关。另外 let-7a1 在肺癌中的表达随分化程度越差其表达明显减低。同时本研究结果还显示,let-7a1 表达在一定程度上与吸烟相关,有吸烟史者表达减低,这与 IZZOTTI 等^[22]研究的烟草暴露环境中小鼠的肺组织上皮细胞 let-7 表达下降的结果基本一致。

目前关于 let-7 在肺癌中的治疗价值主要集中在以下几方面:(1)含铂两药方案一直是肺癌的标准化疗方案,但有效率较低,客观缓解率为 29.2%~36.4%^[23]。最近有研究^[24]认为肺癌细胞对铂类药物的耐药可能也与 let-7 和 miR-29 对 Cockayne syndrome protein B 的调节有关。(2)针对非小细胞肺癌中上调 let-7 基因的研究认为高迁移率族蛋白 A2 mRNA 是 let-7b 的功能性小分子 RNA,在 HCC827 细胞的的体内外研究结果都表明能使其特异性沉默,因此认为 let-7 可能是潜在的肿瘤治疗靶点^[25]。另有研究^[26]发现 miR-203 通过抑制 LIN28B 和促进 let-7 的生物合成,在抑制肺癌细胞增殖和促进凋亡方面发挥了重要作用。(3)靶向治疗一直是非小细胞肺癌治疗的热点,特别是 EGFR-TKIs 的临床应用,给病人带来了无进展生存期的获益,改善了生活质量,但耐药不可避免,其分子机制尚不清楚。有研究^[27]报道与吉非替尼敏感 PC9 细胞相比,吉非替尼耐药 PC9/GR 细胞 let-7 家族表达下调,miR-17 家族表达上调。let-7 和 miR-17 参与了非小细胞肺癌 EGFR-TKI 耐药的调控,可作为预测非小细胞肺癌 EGFR-TKI 耐药的生物标志物。(4)免疫检查点抑制剂是肿瘤治疗的一个最有前途的靶点,但客观应答率小于 40%,并且对 PD-1/PD-L1 表达调控的机制知之甚少。CHEN 等^[28]研究发现 let-7 能够抑制 PD-L1 表达,而 LIN28 是一种 RNA 结合蛋白,在大多数癌细胞中上调,抑制 let-7 的生物合成,从而促进 PD-L1 的表达。因此,抑制 LIN28 可能是预防癌细胞免疫逃逸的一种策略。因此 let-7 已成为肿瘤治疗和免疫应答的关键分子,本身也具有潜在的免疫治疗靶点作用^[29]。

LI 等^[30]通过 Meta 分析探讨 microRNA let-7 在肺癌中的预后作用也发现 let-7 的低表达提示整体生存率低,危险比为 1.55(95% CI:1.16~2.09, P<0.05)。let-7 的低表达与肺癌病人预后不良密切相关。

综上,let-7a1 和 let-7c 基因在肺癌组织中低表

达,并且随临床分期进展、淋巴结转移呈明显下降趋势,提示两者与肺癌的发生、发展及转移密切相关,let-7a1和let-7c可能成为肺癌早期诊断生物标记因子,并可能成为肺癌的靶向治疗新的靶点,为高危人群的早期干预提供实验依据。

[参 考 文 献]

- [1] TORRE LA, SIEGEL RL, JEMAL A. Lung cancer statistics[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 893:1.
- [2] REDDY KB. MicroRNA(miRNA) in cancer[J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15(1):38.
- [3] WANG C, DING M, XIA M, *et al*. A five-miRNA panel identified from a multicentric case-control study serves as a novel diagnostic tool for ethnically diverse non-small-cell lung cancer patients[J]. *Bio Medicine*, 2015, 2(10):1377.
- [4] FRANCHINA T, AMODEO V, BRONTE G, *et al*. Circulating miR-22, miR-24 and miR-34a as novel predictive biomarkers to pemetrexed-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2014, 229(1):97.
- [5] MATIKAS A, SYRIGOS KN, AGELAKI S. Circulating biomarkers in non-small-cell lung cancer: current status and future challenges[J]. *Clin Lung Cancer*, 2016, 17(6):507.
- [6] STEFANI G, SLACK FJ. Small non-coding RNAs in animal development[J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2008, 9(3):219.
- [7] BOYERINAS B, PARK SM, HAU A, *et al*. The role of let-7 in cell differentiation and cancer[J]. *Endocrine-Related Cancer*, 2010, 17(1):F19.
- [8] YE Y, LI X, YANG Q, *et al*. The role of microRNA in human lung squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 200(2):127.
- [9] ZHONG Z, DONG Z, YANG L, *et al*. Inhibition of proliferation of human lung cancer cells by green tea catechins is mediated by upregulation of let-7[J]. *Exp Ther Med*, 2012, 4(2):267.
- [10] ZHAN M, QU Q, WANG G, *et al*. Let-7c inhibits NSCLC cell proliferation by targeting HOXA1[J]. *APJCP*, 2013, 14(1):387.
- [11] 中国临床肿瘤学会血管靶向治疗专家委员会, 非小细胞肺癌专家委员会, 非小细胞肺癌抗血管生成药物治疗专家组. 晚期非小细胞肺癌抗血管生成药物治疗中国专家共识(2019版)[J]. *中国肺癌杂志*, 2019, 22(7):401.
- [12] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394.
- [13] 何圆, 尤长宣. 非小细胞肺癌免疫治疗进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2014, 17(3):277.
- [14] 张娣, 黄架旗, 张初峰, 等. PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂在肺癌中的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2019, 22(6):366.
- [15] 尚学琴, 阎婷婷, 杨眉, 等. 肺癌组织中 Let-7 的表达及意义[J]. *广东医学*, 2018, 39(7):983.
- [16] 董峰, 马君俊, 孙晶, 等. miR-124a、let-7 表达与胃癌临床病理特征和化疗疗效的相关性[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(24):4643.
- [17] 喻箴, 肖明耀, 崔明, 等. Let-7 在正常乳腺组织和乳腺癌组织中的表达[J]. *昆明医科大学学报*, 2016, 37(7):19.
- [18] FASSINA A, CAPPELLESO R, FASSAN M. Classification of non-small cell lung carcinoma in transthoracic needle specimens using microRNA expression profiling[J]. *Chest*, 2011, 140(5):1305.
- [19] ZHAO B, HAN H, CHEN J, *et al*. MicroRNA let-7c inhibits migration and invasion of human non-small cell lung cancer by targeting ITGB3 and MAP4K3[J]. *Cancer Letters*, 2014, 342(1):43.
- [20] 耿森, 潘静坤, 罗芸, 等. miRNA Let-7 与乳腺癌预后的相关性分析[J]. *局解手术学杂志*, 2019, 28(1):1.
- [21] ZHU X, WU L, YAO J, *et al*. MicroRNA let-7c inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest by targeting CDC25A in human hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0124266.
- [22] IZZOTTI A, CALIN GA, ARRIGO P, *et al*. Downregulation of microRNA expression in the lungs of rats exposed to cigarette smoke[J]. *Faseb J*, 2009, 23(3):806.
- [23] 李玉梅, 刘静, 周争光, 等. 培美曲塞与吉西他滨联合顺铂一线治疗晚期非小细胞肺癌的对比研究[J]. *蚌埠医学院学报*, 2018, 43(6):719.
- [24] YANG Z, LIU C, WU H, *et al*. CSB affected on the sensitivity of lung cancer cells to platinum-based drugs through the global decrease of let-7 and miR-29[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):948.
- [25] MEIRAV S, ANNABELLE B, MAUD-EMMANUELLE G, *et al*. Hydrophobically modified let-7b miRNA enhances biodistribution to NSCLC and downregulates HMGA2 in vivo[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19:267.
- [26] ZHOU Y, LIANG H, LIAO Z, *et al*. MIR-203 enhances let-7 biogenesis by targeting LIN28B to suppress tumor growth in lung cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:42680.
- [27] YIN J, HU W, PAN L, *et al*. Let-7 and miR-17 promote self-renewal and drive gefitinib resistance in non-small cell lung cancer(Article)[J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(2):495.
- [28] CHEN Y, XIE C, ZHENG X, *et al*. LIN28/let-7/PD-L1 pathway as a target for cancer immunotherapy[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(3):487.
- [29] GILLES ME, SLACK FJ. Let-7 microRNA as a potential therapeutic target with implications for immunotherapy[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(11):929.
- [30] LI XX, DI X, CONG S, *et al*. The role of let-7 and HMGA2 in the occurrence and development of lung cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(23):8353.

(本文编辑 赵素容)