

血浆 miR-663 和 sHLA-G 在甲状腺乳头状癌中的表达水平及其诊断价值

许建华*

(北京市煤炭总医院普外科,北京 100028)

摘要:目的 探讨甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)患者血浆 microRNA-663(miR-663)和可溶性人类白细胞抗原-G(soluble human leukocyte antigen-G, sHLA-G)的表达水平在 PTC 中的诊断价值。**方法** 选取 68 例 PTC(甲状腺癌组)、40 例甲状腺腺瘤(甲状腺腺瘤组)和 30 例健康对照者(健康对照组)。采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定血浆 sHLA-G 表达水平,采用定量反转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测血浆 miR-663 水平。**结果** 甲状腺癌组血浆 sHLA-G 水平均高于甲状腺腺瘤组和健康对照组(均 $P < 0.01$)。甲状腺癌组血浆 miR-663 相对表达水平均低于甲状腺腺瘤组和健康对照组(均 $P < 0.01$)。PTC 患者血浆 sHLA-G 水平在肿瘤大小、浸润程度、淋巴结转移和 TNM 分期方面比较,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。血浆 miR-663 水平在浸润程度、淋巴结转移和 TNM 分期方面比较,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。PTC 患者血浆 miR-663 和 sHLA-G 的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为 0.208(95% CI:0.123 ~ 0.293, $P = 0.048$)和 0.790(95% CI:0.708 ~ 0.873, $P < 0.01$)。当 miR-663 的截断值为 2.76 时,敏感度为 87.0%,特异度为 54.8%,阳性预测值为 66.3%,阴性预测值为 58.9%。当 sHLA-G 的截断值为 37.3 时,敏感度为 64.7%,特异度为 82.5%,阳性预测值为 64.8%,阴性预测值为 52.5%。2 个指标联合检测的 AUC 值为 0.502(95% CI:0.391 ~ 0.612, $P = 0.013$),敏感度为 89.3%,特异度为 83.8%,阳性预测值为 69.0%,阴性预测值为 61.6%。**结论** 血浆 miR-663 和 sHLA-G 表达水平可作为甲状腺良恶性疾病鉴别诊断的辅助参考指标,与甲状腺癌的侵袭和转移密切相关。

关键词: 甲状腺肿瘤/诊断; 甲状腺肿瘤/病理学; 癌, 乳头状/病理学; 癌, 乳头状/诊断; 微 RNAs/血液; 基因表达; HLA 抗原/血液; 早期诊断; 预后; 诊断, 鉴别

中图分类号: R736.1; R730.4 文献标志码: A 文章编号: 1001-1692(2019)04-0332-06

The expression of plasma miR-663 and sHLA-G in papillary thyroid carcinoma and its diagnostic value

Xu Jianhua

(Department of General Surgery, Meitan General Hospital, Beijing 100028, China)

Corresponding to: Xu Jianhua, E-mail: xjhmtzyy1988@126.com

Abstract: Objective To detect the plasma levels of microRNA-663 (miR-663) and soluble human leukocyte antigen-G (sHLA-G) in patients with papillary thyroid carcinoma (PTC), and investigate the diagnostic value in PTC. **Methods** Sixty-eight cases of PTC (thyroid carcinoma group), forty cases of thyroid adenoma (thyroid adenoma group), and thirty healthy controls (control group) were selected. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the plasma levels of sHLA-G. Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the relative expression of miR-663. **Results** The plasma level of sHLA-G in the thyroid carcinoma group was significantly higher than those in the thyroid adenoma group and the control group (both $P < 0.01$). The plasma level of miR-663 in the thyroid carcinoma group was significantly lower than those in the thyroid adenoma group and the control group (both $P <$

收稿日期: 2018-03-28

DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2019.04.010

作者简介: 许建华(1971-),男,北京人,副主任医师,从事普通外科学临床研究

* 通信作者 E-mail: xjhmtzyy1988@126.com

0.01)。Plasma sHLA-G level was correlated with tumor size, tumor infiltration, lymph node metastasis, and TNM staging (all $P < 0.05$)。Plasma miR-663 level was correlated with tumor infiltration, lymph node metastasis, and TNM staging (all $P < 0.05$)。The areas under the receiver operation characteristic curve (AUC) of plasma miR-663 and sHLA-G were 0.208 (95% CI: 0.123-0.293, $P = 0.048$) and 0.790 (95% CI: 0.708-0.873, $P < 0.01$), respectively。When the cut-off value of miR-663 was 2.76, the sensitivity was 87.0%, the specificity was 54.8%, the positive predictive value was 66.3%, and the negative predictive value was 58.9%。When the cut-off value of sHLA-G was 37.3, the sensitivity was 64.7%, the specificity was 82.5%, the positive predictive value was 64.8%, and the negative predictive value was 52.5%。The AUC of the combined detection of the two indexes was 0.502 (95% CI: 0.391-0.612, $P = 0.013$), with a sensitivity of 89.3%, a specificity of 83.8%, a positive predictive value of 69.0%, and a negative predictive value of 61.6%。 **Conclusion** The plasma levels of sHLA-G and miR-663 can be used as a supplementary reference for the differential diagnosis of benign and malignant thyroid diseases, which is closely related to the invasion and metastasis of thyroid carcinoma。

Key words: thyroid neoplasms/diagnosis; thyroid neoplasms/pathology; carcinoma, papillary/pathology; carcinoma, papillary/diagnosis; microRNAs/blood; gene expression; HLA antigens/blood; early diagnosis; prognosis; diagnosis, differential

甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤^[1],其发病率正在增加,特别是女性^[2]。甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见的甲状腺恶性肿瘤类型,然而在甲状腺疾病(良性或恶性)中经常观察到乳头状结构,但治疗方案差异很大。因此早期鉴别良恶性极为重要,可以避免不必要的手术治疗。

以往的研究显示,miR-663在许多重要病理过程中发挥作用,包括自身免疫性疾病、感染和炎症反应^[3]。然而,其在不同肿瘤进展中的作用是不相一致的。尽管其在乳腺癌中起着癌症启动子的作用^[4],miR-663是潜在的肿瘤抑制因子^[5]。人类白细胞抗原-G(human leukocyte antigen-G, HLA-G)是一种非经典的主要组织相容性复合体 I 类抗原。研究报道,可溶性 HLA-G(soluble HLA-G, sHLA-G)的异常表达促使肿瘤细胞逃避癌症免疫监视系统^[6]。研究证实,sHLA-G在恶性肿瘤中的异常表达增高,初步阐明其与肿瘤诊断、预后和免疫靶点治疗的潜在意义^[7]。但是有关 PTC 中 miR-663 和 sHLA-G 的作用的研究极少。因此本研究旨在检测 PTC 中血浆 miR-663 和 sHLA-G 的表达水平,探讨 2 个指标在 PTC 中的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 1 月至 2016 年 12 月在本院普通外科收治的 PTC 患者 68 例(甲状腺癌组)。其中,男性 31 例,女性 37 例;年龄 35 ~ 63 岁, (46.4 ± 5.9)岁,中位年龄 48 岁。纳入标准:(1)经病理证实为 PTC;(2)入院前未接受内分泌治疗,未服用过

免疫调节剂和激素类药物及其他肿瘤相关治疗。排除标准:(1)有严重感染、肝肾功能异常、血液系统疾病和免疫系统疾病等;(2)伴有其他恶性肿瘤。另选取同期甲状腺腺瘤 40 例(甲状腺腺瘤组)。其中,男性 18 例,女性 22 例;年龄 32 ~ 61 岁, (44.2 ± 6.3)岁,中位年龄 47 岁。选取同期 30 例健康体检者作为健康对照组。其中,男性 13 例,女性 17 例;年龄 28 ~ 60 岁, (43.2 ± 6.8)岁,中位年龄 46 岁。三组在年龄和性别等一般资料方面比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。本研究经本院伦理委员会同意,所有患者签署知情同意书。

1.2 检测方法

所有受试者晨起空腹采集静脉血 3 mL,加入到 EDTA 抗凝血管中,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,采用 ELISA 法检测血浆 sHLA-G 浓度,试剂盒购于北京易科攀博生物公司,严格按试剂盒说明书进行操作。所有患者采血前均未行放疗化疗等治疗。miR-663 检测,采集静脉血后,加入到 EDTA 抗凝血管中,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,随后以 12 000 r/min 离心 10 min,取上清置于无 RNA 酶的 Ep 管中,-80℃ 冰箱保存,集中待测。总 RNA 抽提:使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)根据说明书从血清中分离总 RNA;通过无 RNase 水洗涤,收集总 RNA,然后使用 NanoDrop ND-1000 核酸定量检测仪(美国 Thermo Scientific 公司)检测 RNA 浓度和纯度。定量反转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR):按照 TaqMan microRNA 反转录试剂盒说明书(美国 Ambion 公司)进行反转录,定量检测血浆样品中 microRNA。根据 GenBank 数据库提供的核酸序列

设计 PCR 引物。miR-663: 上游引物 5'-CAGGAT-GAGACATGAGGCCA-3'; 下游引物 5'-CTCTCGT-GCTGCCATACCTGAT-3'。使用 U6 作为 miR-663 表达的 内部对照。U6: 上游引物 5'-CGTACTCG-GTCGTCCTCGA-3'; 下游引物 5'-ATACGCTCG-TACGTGACGTGAC-3'。采用 TaqMan Universal PCR master mix 试剂盒进行实时荧光定量 PCR 检测, qPCR 在 7300 实时 PCR 反应体系(美国 ABI 公司) 上进行, 反应条件为 95℃ 下孵育 10 min, 随后 40 个 循环, 95℃ 15 s, 60℃ 1 min。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析 miR-663 的相对表达水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS18.0 统计学软件进行数据分析。计数资料用频数(百分比)表示, 组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间 比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较, 采用 LSD 法。应用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价 miR-663 和 sHLA-G 诊断 PTC 的能力。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 miR-663 和 sHLA-G 水平比较

甲状腺癌组、甲状腺腺瘤组和健康对照组血浆 miR-663 和 sHLA-G 水平比较, 差异均具有统计学意义($F = 94.067, P < 0.01; F = 144.897, P < 0.01$); 进一步两两比较, 甲状腺癌组血浆 sHLA-G 水平均高

于甲状腺腺瘤组和健康对照组(均 $P < 0.01$), 甲状腺腺瘤组血浆 sHLA-G 水平高于健康对照组($P < 0.01$)。甲状腺癌组血浆 miR-663 水平均低于甲状腺腺瘤组和健康对照组(均 $P < 0.01$), 甲状腺腺瘤组则低于健康对照组($P < 0.01$, 表 1)。

表 1 甲状腺癌组、甲状腺腺瘤组和健康对照组血浆 miR-663 和 sHLA-G 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of plasma miR-663 and sHLA-G levels in the thyroid carcinoma group, the thyroid adenoma group and the control group($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sHLA-G (ng/mL)	miR-663
甲状腺癌组	68	44.59 \pm 12.70	2.54 \pm 1.09
甲状腺腺瘤组	40	30.69 \pm 7.58	3.87 \pm 1.18
健康对照组	30	7.70 \pm 2.88	6.15 \pm 1.50

注 sHLA-G: 可溶性人类白细胞抗原-G(soluble human leukocyte antigen-G)

2.2 血浆 miR-663 和 sHLA-G 水平与 PTC 病理特征的关系

PTC 患者血浆 miR-663 相对表达水平在性别、年龄和肿瘤大小方面比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$); 在浸润程度、淋巴结转移和 TNM 分期方面比较, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。PTC 患者血浆 sHLA-G 水平在性别和年龄方面比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$); 在肿瘤大小、浸润程度、淋巴结转移和 TNM 分期方面比较, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$, 表 2)。

表 2 PTC 患者血浆 miR-663 和 sHLA-G 水平与病理特征的关系($\bar{x} \pm s$)

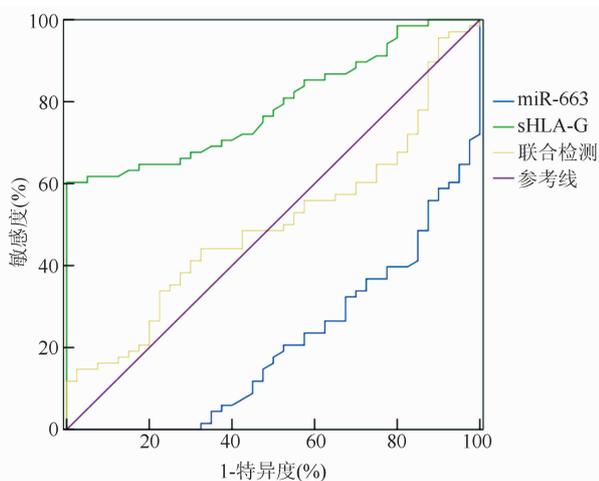
Table 2 Relationship between plasma miR-663 and sHLA-G levels and pathological features in PTC patients($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	例数	sHLA-G (ng/mL)	P 值	miR-663	P 值
性别			0.181		0.421
男	23	41.70 \pm 15.61		2.69 \pm 1.19	
女	45	46.06 \pm 10.82		2.46 \pm 1.04	
年龄			0.150		0.068
<45 岁	30	42.08 \pm 14.70		2.33 \pm 1.06	
≥ 45 岁	38	46.56 \pm 10.66		2.81 \pm 1.17	
肿瘤大小			0.002		0.146
<2 cm	30	39.30 \pm 12.57		2.39 \pm 1.09	
≥ 2 cm	38	48.76 \pm 11.20		2.80 \pm 1.05	
浸润程度			0.003		0.024
未浸润包膜	31	39.74 \pm 13.41		2.31 \pm 1.03	
超过包膜	37	48.65 \pm 10.62		2.90 \pm 1.11	
TNM 分期			0.002		<0.01
I + II 期	25	38.40 \pm 12.39		1.81 \pm 0.90	
III + IV 期	43	48.18 \pm 11.55		2.97 \pm 0.95	
淋巴结转移			0.017		<0.01
无	28	40.63 \pm 10.23		1.74 \pm 0.66	
有	40	47.24 \pm 11.36		3.10 \pm 0.98	

注 sHLA-G: 可溶性人类白细胞抗原-G(soluble human leukocyte antigen-G)

2.3 血浆 miR-663 和 sHLA-G 对 PTC 的诊断价值

血浆 miR-663 和 sHLA-G 的 ROC 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 分别为 0.208 (95% CI: 0.123 ~ 0.293, $P = 0.048$) 和 0.790 (95% CI: 0.708 ~ 0.873, $P < 0.01$)。当 miR-663 的截断值为 2.76 时, 敏感度为 87.0%, 特异度为 54.8%, 阳性预测值为 66.3%, 阴性预测值为 58.9%。当 sHLA-G 的截断值为 37.3 时, 敏感度为 64.7%, 特异度为 82.5%, 阳性预测值 64.8%, 阴性预测值 52.5%。2 个指标联合检测的 AUC 值为 0.502 (95% CI: 0.391 ~ 0.612, $P = 0.043$), 其敏感度为 89.3%, 特异度为 83.8%, 阳性预测值为 69.0%, 阴性预测值为 61.6% (图 1)。



注 sHLA-G: 可溶性人类白细胞抗原-G (soluble human leukocyte antigen-G)

图 1 各指标对甲状腺乳头状癌的诊断价值 ROC 曲线分析

Fig. 1 ROC curve analysis of diagnostic value of each index for PTC

3 讨论

3.1 血浆 miR-663 水平与 PTC 的关系

研究证实, miR-663 在癌症发生中起重要作用^[8]。miR-663 在去势抵抗性前列腺癌中增高^[9]。在鼻咽癌组织和细胞株中 miR-663 表达上调, miR-663 的敲除抑制鼻咽癌细胞在体外和体内的生长^[10]。miR-663 表达水平下降对肝癌细胞的增殖起到抑制作用, 并促进内质网应激下的细胞凋亡。因此, miR-663 在不同的肿瘤类型中起到肿瘤抑制或致癌作用。目前 miR-663 在 PTC 中的作用尚不清楚。miRNA 微阵列分析显示, PTC 中 miR-663 表达水平下降。PTC 组织样品和 PTC 细胞株中 miR-

663 的表达受到抑制。miR-663 的上调抑制 PTC 细胞的侵袭和迁移。进一步研究表明, 转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- β , TGF $\beta 1$) 是 miR-663 的直接靶点, 并介导 miR-663 对 PTC 生长的影响。通过靶向 TGF $\beta 1$, miR-663 有效地调节上皮-间质转化 (enchymal transition, EMT) 标志物和基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP) 的表达^[11]。目前有关 miR-663 在 PTC 中临床意义的研究极少。

本研究发现, PTC 患者血浆 miR-663 相对表达水平低于甲状腺腺瘤组和健康对照组, 提示血浆 miR-663 表达水平的下调促进 PTC 发生和发展。此外, miR-663 表达水平在浸润程度、淋巴结转移和 TNM 分期方面差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。表明 miR-663 与 PTC 的侵袭转移有关。进一步 ROC 曲线分析结果显示, miR-663 的 AUC 值为 0.208, 其 ROC 曲线处在对角线右下方, 这表明 miR-663 的检测值越小, 诊断 PTC 的可能性越大。当 miR-663 的截断值为 2.76 时, 敏感度为 87.0%, 特异度为 54.8%, 阳性预测值为 66.3%, 阴性预测值为 58.9%。说明 miR-663 对于 PTC 的诊断有着较好的敏感度。

3.2 血浆 sHLA-G 水平与 PTC 的关系

sHLA-G 在免疫耐受和癌症作用中起着关键作用。sHLA-G 可以在肿瘤部位局部或通过循环系统损害宿主抗肿瘤免疫应答^[12]。作为诊断或预后的临床生物标志物的 sHLA-G 异常表达已经在部分肿瘤中被研究^[13]。研究显示, 血浆 sHLA-G 表达水平在肺癌、胃癌和卵巢癌等癌症患者中均有增加^[14-15]。田玫玲等^[16]研究发现, 子宫颈癌患者血清 sHLA-G 水平高于癌前病变, 与国际妇产科联盟 (International Federation of Gynecologists and Obstetricians, FIGO) 分期和淋巴结转移密切相关, sHLA-G 检测有助于子宫颈癌及子宫颈上皮内瘤变的早期诊断及病情评估, 有可能成为一种新的早期诊断指标。Dardano 等^[17]研究发现, PTC 患者血浆 sHLA-G 值高于健康对照组, 血浆 sHLA-G 高水平的 PTC 患者比血浆 sHLA-G 低水平显示更强的侵袭作用。这表明 sHLA-G 是 PTC 侵袭状况的潜在新型标志物。研究发现, PTC、滤泡状甲状腺癌及腺瘤 HLA-G 阳性表达增强, 高于甲状腺肿和正常组织, 此外 HLA-G 表达与肿瘤分期或无瘤生存期无关。HLA-G 从增生到癌表达逐渐增强, HLA-G 在甲状腺肿瘤细胞中抑制细胞毒性免疫系统, 促进肿瘤的逃避和进展。本研究结果显示, PTC 组血浆 sHLA-G 水平较甲状

腺瘤组和健康对照组增高,表明血浆 sHLA-G 可能参与甲状腺组织的恶性病变过程。血浆 sHLA-G 水平的 PTC 患者表现出较高的侵袭行为,升高的血浆 sHLA-G 水平可能被认为是诊断 PTC 组织病理侵袭性的潜在新标志物。本研究显示,血浆 sHLA-G 水平在肿瘤大小、浸润程度、淋巴结转移和 TNM 分期方面比较,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$),表明 sHLA-G 参与甲状腺癌的发生和发展以及淋巴结转移过程,与其恶性程度有关。

除其抑制免疫功能之外,sHLA-G 被认为是区分恶性和良性肿瘤或健康对照的诊断工具。Ben Amor 等^[18]进行 ROC 曲线分析,以评估 sHLA-G 作为非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)诊断标志物的可行性。该分析表明,血清 sHLA-G 水平的测定是鉴别 NSCLC 患者的高度特异度和敏感度的方法。NSCLC 患者的血清 sHLA-G 水平可能是 NSCLC 诊断和预后的有用生物标志物。本研究分析 sHLA-G 对 PTC 的诊断价值,结果显示,sHLA-G 的 AUC 为 0.790,当 sHLA-G 的截断值为 37.3 时,敏感度为 64.7%,特异度为 82.5%,阳性预测值为 64.8%,阴性预测值为 52.5%。根据诊断标准,当 AUC 为 0.7~0.9 时,ROC 曲线更准确,表明 sHLA-G 对 PTC 的诊断价值较高,具有良好的特异度,可能是 PTC 潜在的肿瘤标志物。进一步分析 2 个指标联合诊断 PTC 的 AUC 值为 0.502,其敏感度为 89.3%,特异度为 83.8%,阳性预测值为 69.0%,阴性预测值为 61.6%。提示 2 个指标联合检测对于诊断 PTC 的能力优于单独指标检测,且具有良好的敏感度和特异度。

综上所述,PTC 患者血浆 miR-663 和 sHLA-G 表达水平增高,可作为甲状腺良恶性疾病鉴别诊断的辅助参考指标,与甲状腺癌的侵袭和转移密切相关。本研究不足之处在于未能监测甲状腺癌术前和术后血浆 sHLA-G 表达水平的变化以及分析 sHLA-G 对甲状腺癌的疗效判断的临床意义,未来的工作也将进一步对甲状腺癌患者随访,以期了解 sHLA-G 在甲状腺癌患者的预后潜在的作用。

参考文献:

[1] 翁 侠,洪晓明. LincRNA-PVT1 在甲状腺癌组织中的表达及意义[J]. 实用肿瘤杂志,2017,32(1):57-61.
 [2] Sullivan SA. Thyroid nodules and thyroid cancer in pregnancy[J]. Clin Obstet Gynecol,2019,62(2):365-372.
 [3] Benakanakere MR,Zhao J,Finoti L, et al. MicroRNA-663

antagonizes apoptosis antagonizing transcription factor to induce apoptosis in epithelial cells[J]. Apoptosis,2019,24(1/2):108-118.
 [4] Hu H,Li S,Cui X, et al. The overexpression of hypomethylated miR-663 induces chemotherapy resistance in human breast cancer cells by targeting heparin sulfate proteoglycan 2(HSPG2)[J]. J Biol Chem,2013,288(16):10973-10985.
 [5] Tsikitis VL,Potter A,Mori M, et al. MicroRNA signatures of colonic polyps on screening and histology[J]. Cancer Prev Res (Phila),2016,9(12):942-949.
 [6] Yie SM,Hu Z. Human leukocyte antigen-G (HLA-G) as a marker for diagnosis, prognosis and tumor immune escape in human malignancies [J]. Histol Histopathol,2011,26(3):409-420.
 [7] Amiot L,Ferrone S,Grosse-Wilde H, et al. Biology of HLA-G in cancer;a candidate molecule for therapeutic intervention? [J]. Cell Mol Life Sci,2011,68(3):417-431.
 [8] Arthurs AL,Lumbers ER,Pringle KG. MicroRNA mimics that target the placental renin-angiotensin system inhibit trophoblast proliferation[J]. Mol Hum Reprod,2019,25(4):218-227.
 [9] Jiao L,Deng Z,Xu C, et al. miR-663 induces castration-resistant prostate cancer transformation and predicts clinical recurrence[J]. J Cell Physiol,2014,229(7):834-844.
 [10] Yi C,Wang Q,Wang L, et al. MiR-663, a microRNA targeting p21(WAF1/CIP1), promotes the proliferation and tumorigenesis of nasopharyngeal carcinoma [J]. Oncogene,2012,31(41):4421-4433.
 [11] Wang Z,Zhang H,Zhang P, et al. MicroRNA-663 suppresses cell invasion and migration by targeting transforming growth factor beta 1 in papillary thyroid carcinoma [J]. Tumour Biol,2016,37(6):7633-7644.
 [12] Loumagne L,Baudhuin J,Favier B, et al. *In vivo* evidence that secretion of HLA-G by immunogenic tumor cells allows their evasion from immunosurveillance[J]. Int J Cancer,2014,135(9):2107-2117.
 [13] Lin A,Yan WH. HLA-G expression in cancers:roles in immune evasion, metastasis and target for therapy [J]. Mol Med,2015,21(1):782-791.
 [14] Pan YQ,Ruan YY,Peng JB, et al. Diagnostic significance of soluble human leukocyte antigen-G for gastric cancer[J]. Hum Immunol,2016,77(4):317-324.
 [15] Yan WH,Liu D,Lu HY, et al. Significance of tumour cell HLA-G5/-G6 isoform expression in discrimination for adenocarcinoma from squamous cell carcinoma in lung cancer patients[J]. J Cell Mol Med,2015,19(4):778-785.

DCLK1 基因启动子甲基化与口腔鳞癌 临床病理特征及预后的关系

张建丽¹, 谷 峰¹, 田燕晓²

(1. 河南科技大学第一附属医院口腔科, 河南 洛阳 471003;

2. 河南科技大学第一附属医院病理科, 河南 洛阳 471003)

摘要:目的 探讨双肾上腺素样激酶 1 (doublecortin-like kinase 1, DCLK1) 基因启动子甲基化与口腔鳞癌临床病理特征及预后的关系。方法 选取手术切除的 129 例口腔鳞癌组织和对应癌旁组织, 采用甲基化特异性 PCR 检测 DCLK1 基因启动子甲基化情况, 分析其与临床病理特征之间的关系。RT-PCR 和免疫组织化学法分别检测 DCLK1 mRNA 和蛋白表达水平, 并分析 DCLK1 基因启动子甲基化与 DCLK1 mRNA 和蛋白表达之间关系。随访 3 年, 采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 分析 DCLK1 基因启动子甲基化对患者预后的影响。结果 口腔鳞癌组织和癌旁组织中 DCLK1 基因启动子甲基化阳性表达率分别为 35.7% 和 64.3% ($P < 0.01$)。口腔鳞癌组织中 DCLK1 mRNA 水平和蛋白表达均较癌旁组织上升 (均 $P < 0.01$)。口腔鳞癌组织中 DCLK1 基因启动子甲基化阳性表达与 DCLK1 mRNA 和蛋白表达之间均呈负相关 ($r = -0.767, P < 0.01; r = -0.671, P < 0.01$)。DCLK1 基因启动子甲基化状态在口腔鳞癌患者 TNM 分期、组织分化程度和淋巴结转移方面比较, 差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。DCLK1 基因启动子甲基化阳性表达患者 3 年无进展生存率和总生存率均高于阴性表达患者 (63.0% vs 43.4%, 69.6% vs 47.0%, 均 $P < 0.05$)。结论 DCLK1 去甲基化表达异常, 与口腔鳞癌临床病理特征相关, 影响患者预后。DCLK1 去甲基化状态可能通过参与调控 DCLK1 mRNA 表达和蛋白分泌在肿瘤发生和发展发挥作用。

关键词: 口腔肿瘤/病理学; 口腔肿瘤/代谢; 癌, 鳞状细胞/代谢; 癌, 鳞状细胞/病理学; DNA 甲基化; 微管相关蛋白质类/代谢; 基因表达; 预后

中图分类号: R739.8; R730.23 文献标志码: A 文章编号: 1001-1692(2019)04-0337-06

Relationship of DCLK1 gene promoter methylation with clinicopathological features and prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma

Zhang Jianli¹, Gu Feng¹, Tian Yanxiao²

(1. Department of Stomatology, First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 2. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

收稿日期: 2018-08-30

DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2019.04.011

作者简介: 张建丽 (1970-), 女, 河南洛阳人, 副主任医师, 从事口腔颌面外科学研究

=====

[16] 田玫玲, 卢庆乐. 血清可溶性白细胞 G 抗原在宫颈癌及癌前病变的临床诊断意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(7): 889 - 891.

[17] Dardano A, Rizzo R, Polini A, et al. Soluble human leukocyte antigen-g and its insertion/deletion polymorphism in papillary thyroid carcinoma: novel potential biomarkers of disease? [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(11): 4080 - 4086.

[18] Ben Amor A, Beauchemin K, Faucher MC, et al. Human leukocyte antigen G polymorphism and expression are associated with an increased risk of non-small-cell lung cancer and advanced disease stage [J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161210.