

terone therapy for male hypogonadism; Contrasting perspectives to optimize care[J]. *Cli Endocrinol*, 2019, 90(1):56-65.

[10] STOIAN D, MOZOS I, CRAINA M, et al. Hypogonadism in male sexual dysfunction[J]. *Sexual Dysfunction*, 2017; 33.

[11] YU S, QIU L, LIU M, et al. Establishing reference intervals for sex hormones and SHBG in apparently healthy Chinese adult men based on a multicenter study[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(7):1152-1160.

[12] 韩玉清, 王一娜, 陆强, 等. 血清睾酮、硫酸脱氢表雄酮联合检测在多囊卵巢综合征诊断中价值的探讨[J]. *标记免疫分析与临床*, 2015, 22(3):181-182.

[13] NEALE S M, HOCKING R, BISWAS M, et al. Adult testosterone and calculated free testosterone reference ranges by tandem mass spectrometry[J]. *Ann Clin Biochem*, 2013, 50(2):159-161.

[14] KUSHNIR M M, BLAMIRE S T, ROCKWOOD A L, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for androstenedione, dehydroepiandrosterone, and testosterone with pediatric and adult reference intervals[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(7):1138-1147.

[15] DYBKAER R, SOLBERG H E. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values[J]. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1987, 25(9):657-662.

(收稿日期:2019-07-18 修回日期:2019-11-25)

• 短篇论著 •

肾细胞癌患者 miR-99a 和 IGF-1R 表达及临床特征

黄四爽¹, 熊 勤^{2△}

(湖北省汉川市人民医院:1. 检验科;2. 输血科, 湖北孝感 431600)

摘要:目的 研究胰岛素样生长因子 1 受体(IGF-1R)和 microRNA-99a(miR-99a)在肾细胞癌(RCC)癌组织中的表达情况,分析二者表达与临床病理特征的关系。**方法** 选取该院 2014 年 9 月至 2016 年 12 月收治的肾细胞癌患者 80 例,应用免疫组化法检测 43 例肾细胞癌、26 例癌旁组织及 11 例健侧肾组织的 miR-99a 和 IGF-1R 的表达,并对二者与组织学分级、淋巴转移和临床分期等临床资料的关系进行分析。**结果** RCC 患者腹膜转移、FIGO 分期、病理分化对患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的影响均有统计学意义($P<0.05$);RCC 患者不同组织治疗后临床结局对 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的影响均有统计学意义($P<0.05$);RCC 患者治疗后阴性患者和阳性患者血清视黄醇结合蛋白(RBP)、分泌型卷曲相关蛋白 5(SFRP5)、同型半胱氨酸(Hcy)、脑钠肽(BNP)、尿清蛋白排泄率(UAER)指标的差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** miR-99a、IGF-1R 在肾细胞癌的发展中有着至关重要的作用,二者可能成为肾细胞癌诊断、治疗与预后的标志物。

关键词:胰岛素样生长因子 1 受体; 肾细胞癌; 免疫组化法; 临床病理学

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2020. 04. 030 **中图法分类号:**R737. 11

文章编号:1673-4130(2020)04-0496-04 **文献标识码:**B

肾细胞癌(RCC)是临床泌尿系统肿瘤最常见的一类肿瘤,它源于肾小管上皮细胞^[1],成人发病率仅次于膀胱癌,位居第 2 位,且逐年上升^[2]。肾细胞癌的发病机制尚不明确,相关病理机制较为复杂。胰岛素样生长因子 1 受体(IGF-1R)作为络氨酸激酶跨膜的直接受体,参与到了细胞有丝分裂、细胞转化等过程^[3-4],同时和肿瘤发生和发展有一定关联。microRNA-99a(miR-99a)位于 21q21,与一些疾病密切相关,在多种常见肿瘤中均呈现出异常表达^[5]。还有学者提出,miR-99a 在子宫内膜癌、口腔癌、RCC、肝细胞癌和食管鳞状细胞癌中表达下调^[6-7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院泌尿科 2014 年 9 月至 2016 年 12 月收治的肾细胞癌患者 80 例,患者年龄 41~68 岁,平均(53. 68±4. 51)岁;男性 49 例,女性 31 例。根据患者病理学分类,将患者分为肾透明细胞癌(59 例),乳头状肾细胞癌(15 例),嫌色细胞性肾细胞癌(6 例)。诊断标准:肾细胞癌诊断治疗指南(2018 版本)。纳入标准:(1)首发原发性肾癌,无肿瘤转移;(2)术前均未接受规范的放疗(或化疗)。排除标准:(1)长期使用皮质激素或其他免疫抑制剂的患者;(2)合并其他原发和转移肿瘤及严重感染性疾病者;(3)对依维莫司过敏者;患有重度疾病,如心力衰竭、心肌梗死、心律失常、糖尿病等控制不佳的疾病者。所有入组患者均签署研究同意书,本研究获得医院医学伦理委员会批准(编号 20140706)。

△ 通信作者, E-mail: xmgxml@outlook. com.
本文引用格式:黄四爽,熊勤. 肾细胞癌患者 miR-99a 和 IGF-1R 表达及临床特征[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4):496-499.

1.2 方法

1.2.1 IGF-1R 水平检测 染色棕红色颗粒则认定 IGF-1R 蛋白阳性,根据染色强度进行具体分级和记分^[8]对阳性细胞的分级则参照 Volm 双评分法,在染色成功的肿瘤区域挑选 5 个高倍视野;然后对阳性细胞百分率进行评分,其中<25%为 1 分,25%~50%为 2 分,>50%则为 3 分;并且对染色强度也进行评价,分为 0 分(无色)、1 分(浅棕色)、2 分(棕黄色)、3 分(棕红色)。将阳性细胞百分率综合染色强度进行分级,具体为阴性(-):1~2 分,弱阳性(+):3~4 分,强阳性(++):5~6 分。同时由 2 名病理医师进行结果判断。

1.2.2 miR-99a 水平检测 使用免疫组化对 miR-99a 进行检测,miRNA cDNA 试剂盒(购自美国 Invitrogen 公司),而后采用 ABI 7900HT 序列检测系统(购自美国 Applied Biosystems 公司)进行测序。完成循环后通过仪器读取检测数值,同时由 2 名病理医师进行结果判断。

1.2.3 肾功能相关生化指标检测 取患者空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min,离心 5 min,取其上清液使用自动生化分析仪检测视黄醇结合蛋白(RBP)水平;使用酶联免疫吸附测定法检测分泌型卷曲相关蛋白 5(SFRP5)、脑钠肽(BNP)水平;使用循环液相法检测同型半胱氨酸(Hcy)水平;使用免疫比浊法测定尿清蛋白排泄率(UAER)水平。

1.2.4 疗效评价 按照标准(RECIST1.1)^[9]将疗效分为:完全缓解(CR,病灶全部消失)、部分缓解(PR,病灶缩小 30%或以上)、病情稳定(SD,病灶无明显改变)、疾病进展(PD,病灶增加明显)。

1.3 统计学处理 采用统计软件 SPSS18.0 建立数据库并分析,计数资料使用 χ^2 检验,以率(%)表示正态分布的计量资料使用 t 检验或方差分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同情况 RCC 患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平比较 RCC 患者性别、年龄、组织学类型、淋巴结转移对患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率及 IGF-1R 表达水平的比较,差异无统计学意义($P>0.05$);RCC 患者腹膜转移、FIGO 分期、病理分化对患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的影响均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 RCC 患者不同组织 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较 RCC 患者不同组织进行 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较,癌组织、癌旁组织、健侧肾组织中 IGF 阳性表达率的比较差异有统计学意义($P<0.05$),miR-99a 水平的比较差异也有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 RCC 患者治疗后临床结局与 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较 不同临床结局 RCC 患者比较,IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 患者 IGF-1R 表达情况对肾功能相关生化指标表达水平的影响 RCC 患者治疗后阴性患者和阳性患者 RBP、SFRP5、Hcy、BNP、UAER 水平的比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 1 不同情况 RCC 患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较

基本情况	<i>n</i>	构成比(%)	IGF-IR(+)				miR-99a		
			<i>n</i>	表达率(%)	χ^2	<i>P</i>	表达水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
性别									
男	37	46.25	23	62.16	1.259	0.427	2.47±0.55	0.296	0.744
女	43	53.75	25	58.14			2.45±0.52		
年龄(岁)									
<30	14	17.50	8	57.14	1.324	0.586	2.67±0.74	0.801	0.214
31~50	26	32.50	14	53.86			2.73±0.70		
>50	40	50.00	21	52.50			2.70±0.65		
组织学类型									
浆液型	44	55.00	27	61.36	1.443	0.692	2.55±0.47	0.593	0.412
非浆液型	36	45.00	22	61.11			2.59±0.62		
淋巴结转移									
无	25	31.25	17	68.00	1.498	0.743	2.65±0.71	0.743	0.358
有	55	68.75	36	65.45			2.69±0.84		
腹膜转移									
无	29	36.25	10	34.48	9.286	0.000	2.86±0.59	1.443	0.000

续表 1 不同情况 RCC 患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较

基本情况	<i>n</i>	构成比(%)	IGF-IR(+)				miR-99a		
			<i>n</i>	表达率(%)	χ^2	<i>P</i>	表达水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
有	51	63.75	39	76.47			3.54±0.62		
FIGO 分期									
I/II 期	42	52.50	20	47.62	11.245	0.000	2.73±0.69	1.240	0.000
III/IV 期	38	47.50	25	65.79			3.62±0.86		
病理分化									
G1/G2	46	57.50	17	36.96	10.741	0.000	2.41±0.57	1.302	0.000
G3	34	42.50	24	70.59			3.28±0.44		

表 2 RCC 患者不同组织 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较

基本情况	<i>n</i>	构成比(%)	IGF-IR(+)				miR-99a		
			<i>n</i>	表达率(%)	χ^2	<i>P</i>	表达水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
癌组织	43	53.75	34	79.07	15.427	0.000	3.94±0.78	2.465	0.000
癌旁组织	26	32.50	12	46.15			2.55±0.54		
健侧肾组织	11	13.75	4	36.36			2.30±0.62		

表 3 RCC 患者治疗后临床结局与 IGF 阳性表达率和 miR-99a 水平的比较

基本情况	<i>n</i>	构成比(%)	IGF-IR(+)				miR-99a		
			<i>n</i>	表达率(%)	χ^2	<i>P</i>	表达水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
CR	8	10.00	2	25.00	14.295	0.000	1.46±0.25	2.305	0.000
PR	21	26.25	7	33.33			1.82±0.44		
SD	40	50.00	23	57.50			2.47±0.59		
PD	11	13.75	8	72.73			3.14±0.86		

表 4 患者 IGF-1R 表达情况对肾功能相关生化指标表达水平的影响($\bar{x}\pm s$)

IGF 表达情况	<i>n</i>	RBP(ng/mL)	SFRP5(pg/mL)	Hcy(μmol/L)	BNP(pg/mL)	UAER(mg/24 h)
阴性	32	56.27±7.59	4.93±0.74	10.26±3.95	29.63±5.12	54.37±8.94
阳性	48	81.42±7.63	3.21±0.55	15.44±4.21	84.47±11.26	102.48±15.23
<i>t</i>		8.635	2.635	4.587	11.305	15.648
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨 论

RCC 的比例占全球恶性肿瘤的 2%~3%，虽然比例较小，但却呈逐年增长的趋势^[10]，目前对于 RCC 的主要治疗方法为根治性手术，但是根据统计数据显示，有将近 33% 的 RCC 患者在初诊时已经发生转移或在根治术后出现局部复发和远处转移^[11]，而转移性 RCC 对放化疗都不敏感，疗效和预后效果较差^[12]，所以尽早诊断 RCC 成为影响预后的关键因素之一，同时也提醒笔者需要对 RCC 的治疗和预后效果进行更精确的分析与判断。

本研究的结果显示，RCC 患者腹膜转移、FIGO 分期、病理分化对患者癌组织中 IGF 阳性表达率及 IGF-IR 表达水平的指标比较，差异有统计学意义

(*P*<0.05)。在肝癌、结直肠癌、胰腺癌及前列腺癌等其癌细胞中均有 IGF-1R 表达增高；而 IGF-IR 不仅对乳腺癌细胞的增殖有促进作用，而且对肿瘤恶性程度及转移性也有增加作用，本研究的结果发现 FIGO 分期为 III/IV 期的患者和病理分化为 G3 的患者，其 IGF-IR 表达水平明显上调，表明 IGF-IR 的水平也与 RCC 的病理组织学分型等具有一定关系。

本研究结果发现，CR、PR、SD、PD 患者 IGF 阳性表达率及 IGF-IR 表达水平的比较差异有统计学意义(*P*<0.05)。IGF 是一种常见、对人体诸多生理过程均有重要作用的生长因子，主要通过两套分泌机制(自分泌与旁分泌)对局部细胞产生不同程度的调节作用^[13]。还有学者提出，IGF-IR 与酪氨酸激酶结合

后悔激活细胞通路,使酪蛋白磷酸化过程加速,最终激活磷脂酰肌醇 3 激酶、丝氨酸苏氨酸蛋白激酶,最终影响到肿瘤细胞的生长^[14-16]。miRNA 是非编码的小分子 RNA,该基因表达失调参与许多生物过程,包括细胞增殖、分化、凋亡,并且参与癌症的进展^[17-19]。而 miR-99a 的异常表达表明该因子可能参与肾细胞癌的增殖生长。RCC 患者治疗后阴性患者和阳性患者 RBP、SFPRP5、Hcy、BNP、UAER 指标的差异有统计学意义($P < 0.05$),进一步表明血清 IGF-IR 与肾功能的下降有密切的关系。考虑可能机制是由于 IGF-IR 可促进血管细胞增生从而增加血管通透性,导致血管内皮损伤加快,对肾功能造成损伤,并引起微清蛋白尿发生^[20-21]。

综上所述,RCC 患者不同来源的组织中其 IGF-IR 阳性表达率和 miR-99a 表达水平均有明显差别,IGF-IR 阳性表达率越高,miR-99a 表达水平也越高,而患者肾功能相对越差。IGF-IR 和 miR-99a 定量检测有助于对疾病转归情况进行判定。

参考文献

- [1] 潘祉谕,达静静,董蓉,等. Snail1/IGF-1 信号通路介导高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT[J]. 中国病理生理杂志, 2017,33(9):1662-1668.
- [2] 潘祉谕,俞佳丽,孙翼,等. 高糖诱导肾小管上皮细胞发生上皮-间质转化过程中 Snail 1 对 IGF-1 表达的影响[J]. 广东医学,2017,38(15):2265-2270.
- [3] GU L, LI H, CHEN L, et al. MicroRNAs as prognostic molecular signatures in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. Oncotarget, 2015, 6(32): 545-560.
- [4] 刘卓,何峰,李媛媛,等. TGF- β 和 IGF-1 信号通路调控肾母细胞瘤细胞增殖机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017,24(12):813-816.
- [5] KANDI R, GUTTI U, UNDI R, et al. Understanding thrombocytopenia: physiological role of microRNA in survival of neonatal megakaryocytes [J]. J Thromb Thrombol, 2015,40(3):310-316.
- [6] 周香香. Klotho 调控 IGF-1R 信号通路在非霍奇金淋巴瘤中的作用及机制研究[D]. 山东:山东大学,2017.
- [7] 张大伟,许亮,徐俊楠,等. 肾移植受术者术前甘油三酯代谢对移植肾早期功能恢复的影响[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(5):427-431.
- [8] 刘卓. miR-140-5p 调控 TGF- β 和 IGF-1 信号通路影响肾母细胞瘤增殖和侵袭的分子机制研究[D]. 北京:北京协

- 和医学院,2017.
- [9] TAO Z, ZHAO H, WANG R, et al. Neuroprotective effect of microRNA-99a against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in mice[J]. J Neurol Sci, 2015, 355(2):113-119.
- [10] KANDI R, GUTTI U, SALADI R G, et al. MiR-125b and miR-99a encoded on chromosome 21 co-regulate vincristine resistance in childhood acute megakaryoblastic leukemia[J]. Hematol Oncol Stem Cell Ther, 2015, 8(2):95-97.
- [11] 李勇敏,谭小宁,马荣丽,等. 肾细胞分泌 HGF、IGF、TGF- β 促进骨细胞生长的实验研究[J]. 湖南中医杂志, 2017,33(1):138-140.
- [12] 王晓娟. miR-182 靶向 IGF1R 抑制肾透明细胞癌增殖、侵袭和转移机制的研究[D]. 郑州:郑州大学,2016.
- [13] FORÉS-MARTOS J, CERVERA-VIDAL R, CHIRIV-ELLA E, et al. A genomic approach to study down syndrome and cancer inverse comorbidity: untangling the chromosome 21[J]. Front Physiol, 2015, 6:10.
- [14] 刘睿. 早期糖尿病肾病使用利拉鲁肽降糖对肾功能的保护作用[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(22):2688-2691.
- [15] 孙建鸣. miR-99a、IGF-1R 在肾细胞癌中的表达及功能研究[D]. 苏州:苏州大学,2016.
- [16] FENG M, LUO X, GU C, et al. Systematic analysis of berberine-induced signaling pathway between miRNA clusters and mRNAs and identification of miR-99a-125b cluster function by seed-targeting inhibitors in multiple myeloma cells[J]. RNA Biol, 2015, 12(1):82-91.
- [17] ESTRABAUDE, APPOURCHAUX K, BIÈCHE I, et al. IGF135, miR-99a and HCV genotype to predict sustained virological response to pegylated-interferon plus ribavirin in chronic hepatitis C[J]. PLoS One, 2015, 10(4):95.
- [18] 张婷. VHL-/-肾细胞癌肿瘤形成过程中 HIF2 α 靶基因作用研究[D]. 天津:天津医科大学,2011.
- [19] HOU B, ISHINAGA H, MIDORIKAWA K, et al. Circulating microRNAs as novel prognosis biomarkers for head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(7):1042-1046.
- [20] 陈凤婷,李杰贤,林宇峰,等. IGF-1R 和 MP-2 蛋白在肾癌组织中的表达及意义[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(11):1152-1155.
- [21] 马晖,吴凯,米沙. IGF-1 及 IGF-1R 在肾细胞癌中的表达和临床意义[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2012, 4(6):328-330.

(收稿日期:2019-09-30 修回日期:2019-12-12)