

• 论 著 •

结直肠癌组织 microRNA-16-5p、microRNA-493-5p 表达与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路和预后的关系研究*

姚 勇¹, 李 森^{1△}, 徐文龙¹, 朱俊佳¹, 盛华明²

东南大学医学院附属江阴医院: 1. 肛肠外科; 2. 肿瘤科, 江苏江阴 214400

摘要:目的 探讨结直肠癌组织微小 RNA-16-5p(miR-16-5p)、microRNA-493-5p(miR-493-5p)表达与磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路和预后的关系。方法 选取 2016 年 1 月至 2019 年 1 月该院收治的 126 例接受根治性切除手术的结直肠癌患者,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测癌组织及癌旁组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关基因 mRNA 的表达水平并进行比较,分析癌组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关基因 mRNA 及临床病理特征的关系。术后随访 3 年,采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 miR-16-5p、miR-493-5p 高表达和低表达患者的预后情况。**结果** 总 RNA A₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.90,琼脂糖凝胶电泳提示 28S 与 18S rRNA 带亮度比值均>1.5,总 RNA 浓度 750 ng/μL,说明 RNA 纯度高、完整性较好。癌组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平均低于癌旁组织,PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平均高于癌旁组织($P<0.05$)。癌组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 与 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平均呈负相关($P<0.05$)。临床分期为Ⅲ期患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比高于Ⅰ期和Ⅱ期($P<0.05$);低分化患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达患者占比高于中分化和高分化,且中分化患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达患者占比高于高分化($P<0.05$);有淋巴结转移患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达患者占比高于无淋巴结转移($P<0.05$);T4 分期患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达患者占比高于 T1 和 T2 分期($P<0.05$),T3 分期患者中 miR-493-5p 低表达患者占比高于 T1 分期($P<0.05$)。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,miR-16-5p 高表达和低表达患者 3 年累积生存率为 93.22%、68.33%,生存率比较差异有统计学意义($P=0.017$)。miR-493-5p 高表达和低表达患者 3 年累积生存率为 94.74%、67.74%,生存率比较差异有统计学意义($P=0.012$)。**结论** miR-16-5p、miR-493-5p 在结直肠癌组织中表达下调,且与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路呈负相关,miR-16-5p、miR-493-5p 高表达患者的预后更好。

关键词:结直肠癌; 微小 RNA-16-5p; 微小 RNA-493-5p; 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.18.005 中图法分类号:R735.3
文章编号:1673-4130(2023)18-2198-07 文献标志码:A

Relationship between microRNA-16-5p and microRNA-493-5p expression in colorectal cancer tissues and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and prognosis*

YAO Yong¹, LI Sen^{1△}, XU Wenlong¹, ZHU Junjia¹, SHENG Huaming²

1. Department of Anorectal Surgery; 2. Department of Oncology, Jiangyin Hospital Affiliated to Medical College of Southeast University, Jiangyin, Jiangsu 214400, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between microRNA-16-5p (miR-16-5p) and microRNA-493-5p (miR-493-5p) expression and phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) signaling pathway and prognosis in colorectal cancer tissues. **Methods** A total of 126 colorectal cancer patients who were admitted to the hospital who underwent radical resection from January 2016 to January 2019 were selected. The expression levels of miR-16-5p, miR-493-5p and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway-related genes mRNA in cancer tissues and paracancerous tissues were detected and compared by quantitative real-time fluorescence PCR (qPCR). The relationship between miR-16-5p, miR-493-5p and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway-related gene mRNA and clinicopathological features in cancer tis-

* 基金项目:江苏省卫生健康委医学科研立项项目(MS20210116)。
作者简介:姚勇,男,副主任医师,主要从事结直肠癌诊治方向的研究。△ 通信作者,E-mail:doclisen@163.com。

sues were analyzed. The patients were followed up for 3 years after operation, Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the prognosis of patients with high expression of miR-16-5p and miR-493-5p and low expression of miR-16-5p and miR-493-5p. **Results** The total RNA A_{260}/A_{280} was 1.90. Agarose gel electrophoresis showed that the brightness ratio of 28S and 18S rRNA bands was >1.5 , and the total RNA concentration was $750\text{ ng}/\mu\text{L}$, which indicated that RNA had high purity and good integrity. The expression levels of miR-16-5p and miR-493-5p in the cancer tissues were lower than those in the paracancerous tissues, and the expression levels of PI3K, Akt and mTOR mRNA were higher than those in the paracancerous tissues ($P<0.05$). The proportion of patients with lymph node metastasis was higher than that without lymph node metastasis ($P<0.05$). The proportion of patients with low expression of miR-16-5p and miR-493-5p in patients with clinical stage III was higher than those in patients with stage I and II ($P<0.05$). The proportion of patients with low expression of miR-16-5p and miR-493-5p in patients with low differentiation was higher than those in patients with medium differentiation and high differentiation ($P<0.05$), and the proportion of patients with low expression of miR-16-5p and miR-493-5p in patients with medium differentiation was higher than that in patients with high differentiation ($P<0.05$). The proportion of patients with low expression of miR-16-5p and miR-493-5p in patients with lymph node metastasis was higher than that in patients without lymph node metastasis ($P<0.05$). The proportion of patients with low expression of miR-16-5p and miR-493-5p in patients with T4 stage was higher than that in patients with T1 and T2 stages, and the proportion of patients with low expression of miR-16-5p and miR-493-5p in patients with T3 stage was higher than that in patients with T1 ($P<0.05$). Kaplan-Meier survival curve analysis showed that the 3-year cumulative survival rates of patients with high expression and low expression of miR-16-5p were 93.22% and 68.33%, and the difference in survival rate was statistically significant ($P=0.017$). The 3-year cumulative survival rates of patients with high expression and low expression of miR-493-5p were 94.74% and 67.74%, respectively, and the difference in survival rate was statistically significant ($P=0.012$). **Conclusion** The expression levels of miR-16-5p and miR-493-5p are down-regulated in colorectal cancer tissues, and they are negatively correlated with PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. Patients with high expressions of miR-16-5p and miR-493-5p have better prognosis.

Key words: colorectal cancer; microRNA-16-5p; microRNA-493-5p; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian rapamycin target protein signaling pathway; prognosis

结直肠癌(CRC)是世界范围内第3大恶性肿瘤,其病死率居于恶性肿瘤第4位,目前我国CRC发病率及病死率呈持续升高趋势,给家庭及社会均带来巨大的负担^[1]。手术治疗、术后辅助化疗或放化疗依然是CRC治疗的主要手段,但部分患者术后生存期依然较短,预后差^[2]。故寻找与CRC病情进展、预后密切相关的生物标志物有助于通过早期诊治改善CRC患者预后。微小RNA(miRNA)是一类与癌细胞增殖、侵袭和转移密切相关的单链小RNA分子,且miRNA与癌细胞恶性生物学行为学相关^[3]。研究显示,骨髓间充质干细胞分泌miRNA-16-5p(miR-16-5p)能够抑制CRC细胞增殖和侵袭,同时能够促进其凋亡^[4]。另有报道发现,过表达miR-16-5p能抑制CRC上皮-间质转化过程^[5]。CUI等^[6]报道,过表达miRNA-493-5p(miR-493-5p)可抑制CRC细胞增殖、侵袭及迁移,低表达时发挥的作用则相反。磷脂酰肌醇3激酶/丝苏氨酸蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/AKT/mTOR)通路的激活是CRC等多

种癌症恶性进展的关键通路^[7-8]。本研究以CRC患者为研究对象,探讨miR-16-5p、miR-493-5p与PI3K/AKT/mTOR通路及预后的关系,为CRC临床诊治提供新的可靠生物标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年1月至2019年1月本院收治的126例接受根治性切除手术的CRC患者,其中男72例,女54例;年龄40~75岁,平均(59.72 ± 8.34)岁;病灶部位:左半结肠43例,右半结肠25例,直肠58例;临床分期:I期27例,II期52例,III期47例;肿瘤最大径: $<5\text{ cm}$ 85例, $\geq 5\text{ cm}$ 41例;肿瘤分化程度:高分化14例,中分化96例,低分化16例;T分期:T1期9例,T2期19例,T3期86例,T4期12例;伴淋巴结转移47例。纳入标准:(1)符合CRC诊断标准^[9],且经病理检查、影像学检查确诊;(2)拟接受根治性切除手术;(3)术前未接受放化疗及其他综合疗法治疗;(4)临床分期I~III期;(5)签署知情同意书;(6)年龄 >18 岁。排除标准:(1)伴

其他部位原发肿瘤；(2)伴肠道炎症性疾病或全身其他感染性疾病；(3)既往接受 CRC 相关治疗后复发；(4)存在认知或沟通障碍；(5)伴急性肠梗阻等严重并发症；(6)临床分期Ⅳ期。本研究获得本院伦理委员会审批。

1.2 治疗方法 126 例患者均接受根治性切除手术，包括开腹手术 78 例，腹腔镜手术 48 例。术后依据《中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)》^[9]进行术后化疗者 91 例，化疗方案：氟尿嘧啶单药者 16 例、卡培他滨 31 例、FOLFOX6 方案 26 例、XELOX 方案 18 例。

1.3 组织中 mRNA 表达水平检测 术中取癌组织，另取自距离癌肿 5 cm 的肠黏膜作为癌旁组织，标本采集完成后置于液氮中保存备用。取待测组织，研磨后采用 RNA 提取试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司)提取总 RNA，采用 DU800 紫外分光光度计(美国 Beckmancoulter 公司)测定 260 nm 吸光度(A)值，计算 RNA 浓度， A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.1 说明 RNA 纯度较好，琼脂糖凝胶电泳 28S、18S rRNA 条带清晰，且两条带亮度比值 ≥ 1.5 说明 RNA 完整性较好。将获取的 RNA 逆转录获得 cDNA，并以 cDNA 为模板链进行实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测，按照 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒设计 20 μ L 反应体系，反应条件：95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min；(95 $^{\circ}$ C 变性 15 s，59 $^{\circ}$ C 退火 30 s，72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min) $\times$ 42 个循环。miR-16-5p、miR-493-5p 以 U6 为内参，PI3K、Akt、mTOR 以 β -actin 为内参， $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量。所有引物设计及合成由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。见表 1。

表 1 引物序列	
基因	引物序列
miR-16-5p	F:5'-ACGTAGCTGGATGCGTAGTC-3'
	R:5'-GTGAGCTGATGCGTGATCAC-3'
miR-493-5p	F:5'-CGTAGGCGTAGGCTGTAGC-3'
	R:5'-CACGTAGGCTGGTTAGCGA-3'
U6	F:5'-CATGCTGGAGGCGAACCAG-3'
	R:5'-ATGGCTGAGAGCTGATGCA-3'
PI3K	F:5'-ACGTGAGTCGTAGTCGTGA-3'
	R:5'-AGCTGATGCGGATGCGTGC-3'
AKT	F:5'-CCGTAGGGCTGATGCTGGGAT-3'
	R:5'-AATGCGGCTAGCTGATGGCTA-3'
mTOR	F:5'-TAGGCTGAGGCTGATGCGTC-3'
	R:5'-GCGTGATGCTAGGACTGTGA-3'
β -actin	F:5'-CATGCGGGATGGCTGAG-3'
	R:5'-ATGCTGGAGCTGTGATC-3'

注：F 为正向引物，R 为反向引物。

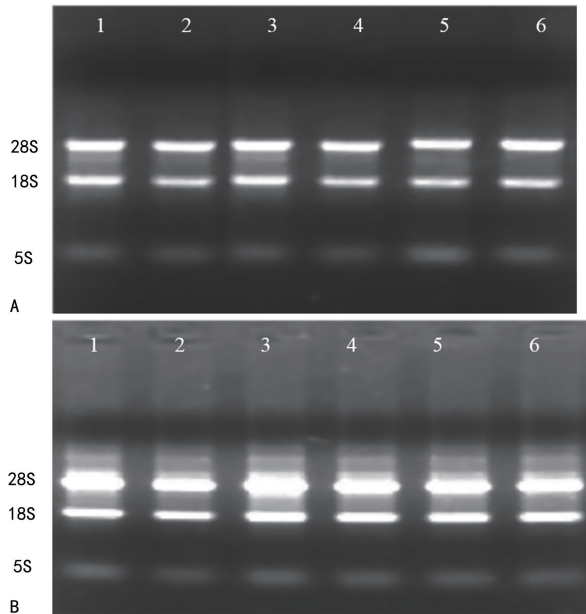
1.4 随访 所有患者出院后以电话或复诊方式进行

为期 3 年的随访，第 1 年随访频率为 3 个月 1 次，随后 6 个月 1 次。终点事件为患者全因死亡、失访、随访时间截止，术后随访开始至全因死亡、失访时间、随访时间截止记为总生存期(OS)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 *t* 检验；计数资料采用频数或百分率表示，组间比较采用 χ^2 检验，等级资料比较采用秩和检验；采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 miR-16-5p、miR-493-5p 不同表达水平的 CRC 患者术后预后情况。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RNA 质量测定结果 总 RNA A_{260}/A_{280} 为 1.90，琼脂糖凝胶电泳提示 28S 与 18S rRNA 带亮度比值均 >1.5 ，总 RNA 浓度 750 ng/ μ L，说明 RNA 纯度高、完整性较好，本次获得的 RNA 质量好，可应用于后续试验研究。见图 1。



注：A、B 分别为癌组织和癌旁组织总 RNA 凝胶电泳图。

图 1 总 RNA 凝胶电泳图

2.2 癌组织与癌旁组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平比较 癌组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平均低于癌旁组织(*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 癌组织与癌旁组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

类型	<i>n</i>	miR-16-5p	miR-493-5p
癌组织	126	0.18 $\pm$ 0.04	1.21 $\pm$ 0.26
癌旁组织	126	0.33 $\pm$ 0.09	1.85 $\pm$ 0.37
<i>t</i>		-17.096	-15.886
<i>P</i>		0.000	<0.001

2.3 癌组织与癌旁组织中 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平比较 癌组织中 PI3K、Akt、mTOR mRNA

NA 表达水平均高于癌旁组织($P<0.05$)。见表 3。

表 3 癌组织与癌旁组织中 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

类型	<i>n</i>	PI3K	Akt	mTOR
癌组织	126	4.11±1.10	3.85±0.81	2.74±0.68
癌旁组织	126	1.36±0.37	1.21±0.30	1.50±0.42
<i>t</i>		26.598	34.308	17.415
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 miR-16-5p、miR-493-5p 与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的相关性分析 癌组织中 miR-16-5p、miR-493-5p 与 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平均呈负相关($P<0.05$)。见表 4。

2.5 癌组织 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平与临床病理特征的关系 以癌组织中 miR-16-5p 平均值 0.18、miR-493-5p 平均值 1.21 作为分界点划分为高表达和低表达。临床分期为Ⅲ期患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比高于Ⅰ期和Ⅱ期($P<0.05$)，临床分期为Ⅰ期与Ⅱ期患者中 miR-16-5p、

miR-493-5p 低表达者占比比较差异无统计学意义($P>0.05$)；低分化患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比高于中分化和高分化，且中分化患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比高于高分化($P<0.05$)；有淋巴结转移患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比高于无淋巴结转移($P<0.05$)；T4 分期患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比高于 T1 和 T2 分期($P<0.05$)，T3 分期患者中 miR-493-5p 低表达者占比高于 T1 分期($P<0.05$)。不同性别、年龄、病灶部位、肿瘤最大径患者中 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达者占比比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 5。

表 4 miR-16-5p、miR-493-5p 与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的相关性分析

指标	miR-16-5p		miR-493-5p	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
PI3K	−0.426	<0.001	−0.318	0.002
Akt	−0.539	<0.001	−0.427	<0.001
mTOR	−0.617	<0.001	−0.506	<0.001

表 5 癌组织 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平与临床病理特征的关系[$n(\%)$]

临床病理特征	<i>n</i>	miR-16-5p		χ^2	<i>P</i>	miR-493-5p		χ^2	<i>P</i>
		高表达(<i>n</i> =62)	低表达(<i>n</i> =64)			高表达(<i>n</i> =60)	低表达(<i>n</i> =66)		
性别				0.265	0.607			0.215	0.643
男	72	34(47.22)	38(52.78)			33(45.83)	39(54.17)		
女	54	28(51.85)	26(48.15)			27(50.00)	27(50.00)		
年龄(岁)				1.132	0.287			1.110	0.292
≤60	61	33(54.10)	28(45.90)			32(52.46)	29(47.54)		
>60	65	29(44.62)	36(55.38)			28(43.08)	37(56.92)		
病灶部位				0.101	0.951			0.883	0.643
左半结肠	43	22(51.16)	21(48.84)			22(51.16)	21(48.84)		
右半结肠	25	12(48.00)	13(52.00)			13(52.00)	12(48.00)		
直肠	58	28(48.28)	30(51.72)			25(43.10)	33(56.90)		
临床分期				14.220	0.001			10.368	0.006
Ⅰ期	27	20(74.07)	7(25.93)			19(70.37)	8(29.63)		
Ⅱ期	52	28(53.85)	24(46.15)			26(50.00)	26(50.00)		
Ⅲ期	47	14(29.79)	33(70.21)			15(31.91)	32(68.09)		
肿瘤最大径(cm)				2.521	0.112			1.800	0.180
<5	85	46(54.12)	39(45.88)			44(51.76)	41(48.24)		
≥5	41	16(39.02)	25(60.98)			16(39.02)	25(60.98)		
肿瘤分化程度				16.115	<0.001			10.727	0.005
高分化	14	12(85.71)	2(14.29)			11(78.57)	3(21.43)		
中分化	96	48(50.00)	48(50.00)			46(47.92)	50(52.08)		
低分化	16	2(12.50)	14(87.50)			3(18.75)	13(81.25)		
T 分期				7.482	0.058			11.737	0.008
T1	9	7(77.78)	2(22.22)			8(88.89)	1(11.11)		

续表 5 癌组织 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平与临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	n	miR-16-5p		χ^2	P	miR-493-5p		χ^2	P
		高表达(n=62)	低表达(n=64)			高表达(n=60)	低表达(n=66)		
T2	19	12(63.16)	7(36.84)			11(57.89)	8(42.11)		
T3	86	40(46.51)	46(53.49)			39(45.35)	47(54.65)		
T4	12	3(25.00)	9(75.00)			2(16.67)	10(83.33)		
淋巴结转移				5.097	0.024			11.973	0.001
无	79	45(56.96)	34(43.04)			47(59.49)	32(40.51)		
有	47	17(36.17)	30(63.83)			13(27.66)	34(72.34)		

2.6 miR-16-5p、miR-493-5p 高表达与低表达患者 3 年 OS 生存曲线比较 随访 3 年,126 例患者中 7 例失访,119 例成功随访。随访率为 94.44%,总生存率为 80.67%(96/119)。依据各生存资料建立 Kaplan-Meier 生存曲线,见表 6、图 2。分析显示,miR-16-5p 高表达和低表达患者 3 年累积生存率为 93.22%、68.33%,生存率比较差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=5.565, P=0.017$)。miR-493-5p 高表达和低表达患者 3 年累积生存率为 94.74%、67.74%,生存率比较差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=6.313, P=0.012$)。

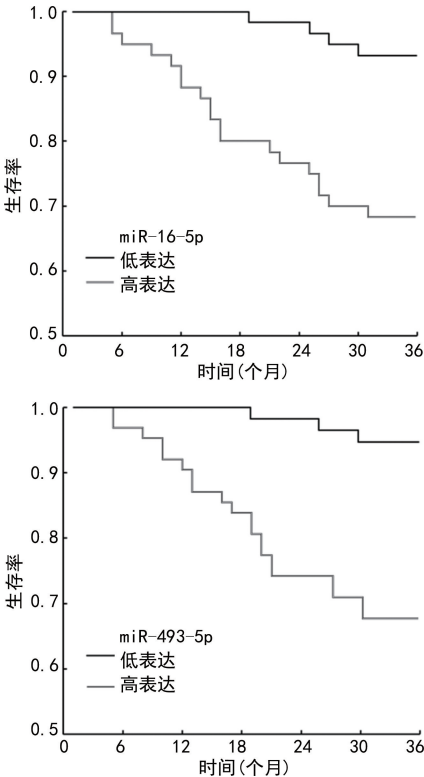


图 2 miR-16-5p 及 miR-493-5p 高、低表达患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

表 6 miR-16-5p、miR-493-5p 高表达与低表达患者生存资料比较[n(%)]

组别	n	3 年生存	Log-rank χ^2	P
miR-16-5p				
高表达	59	55(93.22)	5.657	0.017

续表 6 miR-16-5p、miR-493-5p 高表达与低表达患者生存资料比较[n(%)]

组别	n	3 年生存	Log-rank χ^2	P
低表达	60	41(68.33)		
miR-493-5p				
高表达	57	54(94.74)	6.313	0.012
低表达	62	42(67.74)		

3 讨 论

CRC 早期缺乏特异性临床症状,根治性手术辅助化疗依然是 CRC 治疗的主要手段,其能够在一定程度上延长患者生存期,但患者预后仍不十分理想^[10]。CRC 发病病因尚不明确,可能与多种因素相互作用有关,近年来研究认为,癌基因与抑癌基因表达紊乱是 CRC 发生及病情进展的关键^[11]。miRNA 位于非编码区,通过在转录水平上调控靶基因的表达参与复杂的生命过程,miRNA 通过与癌基因或抑癌基因的信使 RNA 定向结合参与癌细胞恶性行为学的调控,并根据恶性肿瘤类型或所处阶段的不同扮演不同角色,为探究恶性肿瘤发病机制提供了可能^[12]。PI3K/Akt/mTOR 通路激活参与 CRC 细胞增殖促进和凋亡抑制等多个过程^[13],寻找与该通路密切相关的非编码区 miRNA 异常表达基因,对改善 CRC 临床预后至关重要。

miR-16-5p 作为肿瘤抑制因子,参与多种恶性肿瘤的发生和发展。WANG 等^[14]发现,miR-16-5p 在乳腺癌细胞中低表达,过表达 miR-16-5p 能有效抑制乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭,将细胞阻滞于 G₂/M 期而诱导凋亡,说明 miR-16-5p 低表达能促进乳腺癌细胞无限增殖。REIS 等^[15]临床研究显示,肺癌患者循环血中 miR-16-5p 表达下调,在肺腺癌和肺鳞癌早期筛查中具有较高的特异度和灵敏度。上述研究结果均说明低表达 miR-16-5p 参与促进肿瘤细胞增殖、迁移等恶性行为学。miR-493-5p 定位于 20q11.2,已有研究发现,miR-493-5p 异常表达参与肝细胞癌^[16]、胃癌^[17]等恶性肿瘤进展。LIU 等^[18]发现,miR-493-5p 在胶质瘤组织及细胞系中均显著下调,过表达

miR-493-5p 能抑制胶质瘤细胞恶性行为,提示其作用机制可能与 PI3K/Akt 信号通路有关。本研究结果也显示,miR-16-5p 和 miR-493-5p 在 CRC 癌组织中低表达,这与二者在其他癌细胞中表达结果一致,提示其在癌细胞中的功能相似。PI3K/Akt/mTOR 是参与癌细胞增殖等恶性行为学的核心通路,该通路的激活提示 CRC 等癌细胞增殖能力增强,凋亡能力抑制,耐药性增强等^[19]。蔚晋斌等^[20]在骨肉瘤细胞体外研究中证实,miR-16-5p 能通过靶蛋白负调控 PI3K/Akt 信号通路,这与本研究结果相符。本研究相关性分析显示,miR-16-5p 和 miR-493-5p 与 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平均呈负相关,提示 miR-16-5p 和 miR-493-5p 可能具有负调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的作用,miR-16-5p 和 miR-493-5p 可能通过调控编码区靶蛋白的 mRNA 间接调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,但具体机制尚需进一步研究证实。

本研究发现,临床分期、T 分期越高,肿瘤分化程度越低,miR-16-5p、miR-493-5p 低表达率越高,有淋巴结转移患者 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达率高于无淋巴结转移患者,说明 miR-16-5p、miR-493-5p 与临床分期、肿瘤分化程度及浸润程度有关。本研究还显示,miR-16-5p 高表达和低表达患者 3 年累积生存率为 93.22%、68.33%。miR-16-5p 高表达与低表达患者生存曲线比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。miR-493-5p 高表达和低表达患者 3 年累积生存率为 94.74%、67.74%,miR-493-5p 高表达与低表达患者生存曲线比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。提示 miR-16-5p、miR-493-5p 高表达患者根治手术预后较好。CHEN 等^[21]发现,肺腺癌患者血清外泌体中 miR-16-5p 异常低表达,其表达水平与肿瘤分期呈负相关,且与程序性细胞死亡配体-1(PD-L1)阳性患者 PD-L1 抑制剂治疗后 OS 延长有关。LIANG 等^[22]发现,非小细胞肺癌患者癌组织中 miR-493-5p 表达下调,且其低表达与患者无进展生存期及 OS 较短有关。由上述研究中可知 miR-16-5p、miR-493-5p 表达水平越低,癌细胞的增殖、侵袭等能力越强,凋亡能力越弱,因此分析由于 miR-16-5p、miR-493-5p 低表达 CRC 癌灶中的细胞恶性侵袭能力更强,有利于癌细胞向周围组织浸润,促进 CRC 病情进展,可能与 miR-16-5p、miR-493-5p 负调控细胞易损信号通路 PI3K/Akt/mTOR 有关。

综上所述,miR-16-5p、miR-493-5p 在 CRC 癌组织中表达均下调,且与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路呈负相关,miR-16-5p、miR-493-5p 高表达患者生存期延长,可作为临床中 CRC 术后病情进展辅助评估的可靠生物标志物,同时为 CRC 治疗提供了潜在靶点。

参考文献

- [1] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志,2019,41(1):19-28.
- [2] QADERI S M, GALJART B, VERHOEF C, et al. Disease recurrence after colorectal cancer surgery in the modern era: a population-based study[J]. Int J Colorectal Dis, 2021,36(11):2399-2410.
- [3] HILL M, TRAN N. miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer[J]. Dis Model Mech, 2021,14(4): dmm047662.
- [4] XU Y, SHEN L, LI F, et al. microRNA-16-5p-containing exosomes derived from bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibit proliferation, migration, and invasion, while promoting apoptosis of colorectal cancer cells by downregulating ITGA2[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(11):21380-21394.
- [5] CAI K, YANG Y, GUO Z J, et al. Amentoflavone inhibits colorectal cancer epithelial-mesenchymal transition via the miR-16-5p/HMGA2/ β -catenin pathway[J]. Ann Transl Med, 2022,10(18):1009.
- [6] CUI F C, CHEN Y, WU X Y, et al. MicroRNA-493-5p suppresses colorectal cancer progression via the PI3K-Akt-FoxO3a signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020,24(8):4212-4223.
- [7] NARAYANANKUTTY A. PI3K/Akt/mTOR pathway as a therapeutic target for colorectal cancer: a review of preclinical and clinical evidence[J]. Curr Drug Targets, 2019,20(12):1217-1226.
- [8] TAN A C. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. Thorac Cancer, 2020,11(3):511-518.
- [9] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)[J]. 中华外科杂志, 2018,56(4):241-258.
- [10] 庄凯峰,蔡清香,陈鹭,等. 右美托咪定复合羟考酮在腹腔镜下直肠癌根治术患者术后镇痛中的作用及对应激反应和胃肠功能恢复的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022,22(6):1084-1087.
- [11] HON K W, ZAINAL ABIDIN S A, OTHMAN I, et al. The crosstalk between signaling pathways and cancer metabolism in colorectal cancer[J]. Front Pharmacol, 2021, 12(11):768861.
- [12] SLATTERY M L, HERRICK J S, MULLANY L E, et al. The co-regulatory networks of tumor suppressor genes, oncogenes, and miRNAs in colorectal cancer[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2017,56(11):769-787.
- [13] AKBARZADEH M, MIHANFAR A, AKBARZADEH S, et al. Crosstalk between miRNA and PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in cancer[J]. Life Sci, 2021,285:119984.
- [14] WANG Z, HU S, LI X, et al. MiR-16-5p suppresses breast cancer proliferation by targeting ANLN[J]. BMC Cancer, 2021,21(1):1188.

- renal cell carcinoma[J]. Biosci Rep, 2020, 40(11): 1-10.
- [8] XIAO L, WANG W, ZHAO J, et al. lncRNA MALAT1 promotes cell proliferation and invasion by regulating the miR101/EZH2 axis in oral squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2020, 20(5): 164.
- [9] 张玉颖, 尚松, 阎磊, 等. 外泌体在卵巢癌诊断及治疗中的研究进展[J]. 中国肿瘤, 2020, 29(6): 444-451.
- [10] 王海玲, 李东霞. LncRNA 与恶性肿瘤侵袭转移研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(13): 2114-2117.
- [11] 赵戈昱, 王金花, 刘慧. 长链非编码 RNA 在卵巢癌中的作用机制及研究进展[J]. 癌症进展, 2019, 17(15): 1755-1757, 1808.
- [12] XUE F, XU Y H, SHEN C C, et al. Non-coding RNA LOXL1-AS1 exhibits oncogenic activity in ovarian cancer via regulation of miR-18b-5p/VMA21 axis[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 125(5): 109568.
- [13] QI F, TAN B, MA F, et al. A synthetic light-switchable system based on CRISPR Cas13a regulates the expression of lncRNA MALAT1 and affects the malignant phenotype of bladder cancer cells[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(8): 1630-1636.
- [14] HUANG J, WANG F H, WANG L, et al. lncRNA MALAT1 promotes proliferation and migration of airway smooth muscle cells in asthma by downregulating microRNA-216a[J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(8): 4124-4131.
- [15] 李贺月, 张尊胜, 王军. 骆驼蓬碱通过 LOXL1-AS1 影响卵巢癌细胞 CAO3 增殖、凋亡、迁移侵袭[J]. 中国细胞生物学学报, 2021, 43(2): 385-393.
- [16] 张宝玺, 刁海丹, 李江宁. lncRNA MALAT1 和 miR-200c 在卵巢癌中的表达关系及临床意义[J]. 河北医药, 2019, 41(4): 489-493.
- [17] ZHANG J, XU X, CHEN Y, et al. The abnormal expression of chromosomal region maintenance 1 (CRM1)-survivin axis in ovarian cancer and its related mechanisms regulating proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells[J]. Bioengineered, 2022, 13(1): 624-633.
- [18] IAVARONE C, ZERVANTONAKIS I K, SELFORS L M, et al. Combined MEK and BCL-2/XL inhibition is effective in high-grade serous ovarian cancer patient-derived xenograft models and BIM levels are predictive of responsiveness[J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18(3): 642-655.
- [19] 丁祺, 杨红玉, 常春, 等. 卵巢癌患者外周血 miR-204 表达变化的临床病理意义及其对 Bcl-2、BDNF 的调控作用[J]. 中国计划生育和妇产科, 2021, 13(11): 37-41.
- [20] GUO C, WANG X, CHEN L P, et al. Long non-coding RNA MALAT1 regulates ovarian cancer cell proliferation, migration and apoptosis through Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(12): 3703-3712.
- [21] 杨珠兰, 郑丽澜, 陈玉芬. 非编码 RNA MALAT1 和 ANRIL 在卵巢癌患者组织中的表达情况及与临床病理的关系[J]. 中国性科学, 2021, 30(6): 49-51.

(收稿日期: 2023-02-10 修回日期: 2023-07-04)

(上接第 2203 页)

- [15] REIS P P, DRIGO S A, CARVALHO R F, et al. Circulating miR-16-5p, miR-92a-3p, and miR-451a in plasma from lung cancer patients: potential application in early detection and a regulatory role in tumorigenesis pathways[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(8): 2071.
- [16] YANG G, XU Q, WAN Y, et al. Circ-CSPP1 knockdown suppresses hepatocellular carcinoma progression through miR-493-5p releasing-mediated HMGB1 downregulation[J]. Cell Signal, 2021, 33(86): 110065.
- [17] LIU Z, WANG Y, DING Y. Circular RNA circPRKDC promotes tumorigenesis of gastric cancer via modulating insulin receptor substrate 2 (IRS2) and mediating microRNA-493-5p[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 7631-7643.
- [18] LIU H, LI Z, SUN H. MiR-493-5p inhibits the malignant development of gliomas via suppressing E2F3-mediated dysfunctions of P53 and PI3K/AKT pathways[J]. Clin Transl Oncol, 2022, 24(2): 363-370.
- [19] SANAEI M J, BAGHERY SAGHCHY K A, POURB AGHERI-SIGAROODI A, et al. The PI3K/Akt/mTOR axis in colorectal cancer: Oncogenic alterations, non-coding RNAs, therapeutic opportunities, and the emerging role of nanoparticles[J]. J Cell Physiol, 2022, 237(3): 1720-1752.
- [20] 蔚晋斌, 张慧君, 闫力维, 等. 微小 RNA16-5p 靶向四分子交联体 15 基因通过磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 中华医学杂志, 2020, 100(21): 1668-1675.
- [21] CHEN H L, LUO Y P, LIN M W, et al. Serum exosomal miR-16-5p functions as a tumor inhibitor and a new biomarker for PD-L1 inhibitor-dependent immunotherapy in lung adenocarcinoma by regulating PD-L1 expression[J]. Cancer Med, 2022, 11(13): 2627-2643.
- [22] LIANG Z, KONG R, HE Z, et al. High expression of miR-493-5p positively correlates with clinical prognosis of non small cell lung cancer by targeting oncogene ITGB1[J]. Oncotarget, 2017, 8(29): 47389-47399.

(收稿日期: 2023-02-03 修回日期: 2023-06-11)