

• 论 著 •

circKIF4A 表达与甲状腺癌患者临床病理特征及预后的关系*

牛丽丽¹, 李秀芬², 孙太冉³, 谢小谢², 安 阳², 李 鑫⁴

河北北方学院附属第二医院: 1. 重症医学科; 2. 内分泌科; 3. 普外科; 4. 针灸科, 河北张家口 075100

摘要:目的 探讨 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者临床病理特征及预后的关系。方法 采用随机取样法选取 2016 年 4 月至 2017 年 4 月在该院确诊为甲状腺癌患者 120 例, 在手术中取患者癌组织和癌旁组织, 根据手术病理检测分为甲状腺癌组和癌旁组。采用 qRT-PCR 的方法检测 circKIF4A 在甲状腺癌组、癌旁组中的相对表达水平, 分析 circKIF4A 表达与甲状腺癌临床病理特征的关系。Kaplan-Meier 生存曲线分析 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者预后的关系。Cox 回归分析甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影响因素。结果 与癌旁组 circKIF4A 相对表达水平相比, 甲状腺癌组 circKIF4A 相对表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。circKIF4A 表达与包膜侵犯、淋巴结转移、分化程度有关 ($P < 0.05$); Kaplan-Meier 生存曲线分析显示, circKIF4A 高表达患者术后 5 年累积生存率低于 circKIF4A 低表达患者, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 11.368, P = 0.001$); 多因素分析结果显示, 包膜侵犯、分化程度、淋巴结转移、circKIF4A 表达水平是甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影响因素 ($P < 0.05$)。结论 circKIF4A 在甲状腺癌组织中呈高表达, 与甲状腺癌患者临床病理特征及术后 5 年生存情况有关, 有作为甲状腺癌预后的潜在标志物的可能。

关键词: 甲状腺癌; circKIF4A; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.006

中图法分类号: R736.1

文章编号: 1673-4130(2024)04-0416-04

文献标志码: A

Relationship between circKIF4A expression and clinicopathologic features and prognosis of thyroid cancer patients*NIU Lili¹, LI Xiufen², SUN Tairan³, XIE Xiaoxie², AN Yang², LI Xin⁴

1. Department of Intensive Care Medicine; 2. Department of Endocrinology; 3. Department of General Surgery; 4. Department of Acupuncture and Moxibustion, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075100, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between circKIF4A expression and clinicopathologic features and prognosis of thyroid cancer patients. **Methods** A total of 120 patients diagnosed with thyroid cancer in our hospital from April 2016 to April 2017 were selected by random sampling method. Cancer tissues and adjacent tissues were taken during surgery and divided into thyroid cancer group and adjacent cancer group according to surgical pathologic detection. The relative expression level of circKIF4A in thyroid cancer group and paracancer group was detected by qRT-PCR, and the relationship between circKIF4A expression and clinicopathological features of thyroid cancer was analyzed. Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the relationship between circKIF4A expression and prognosis of thyroid cancer patients. Cox regression analysis was performed to analyze the factors influencing the poor prognosis of patients with thyroid cancer 5 years after surgery. **Results** The relative expression level of circKIF4A in thyroid cancer group was higher than that in paracancer group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression of circKIF4A was correlated with the degree of capsule invasion, lymph node metastasis and differentiation ($P < 0.05$). Kaplan-Meier survival curve analysis showed that the 5-year cumulative survival rate of patients with high circKIF4A expression was lower than those with low circKIF4A expression, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 11.368, P = 0.001$). Multivariate analysis showed that envelope invasion, degree of differentiation, lymph node metastasis and circKIF4A expression level were the influencing factors for poor prognosis of thyroid cancer patients at 5 years after surgery ($P < 0.05$). **Conclusion** circKIF4A is highly expressed in thy-

* 基金项目: 张家口市重点研发计划项目(2021089D)。

作者简介: 牛丽丽, 女, 主治医师, 主要从事甲状腺结节中西医结合发病基础及治疗与维生素 D 的相关性研究。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231124.1539.004.html>(2023-11-27)

roid cancer tissues, which is related to the clinicopathological features and 5-year postoperative survival of thyroid cancer patients, and may be used as a potential prognostic marker for thyroid cancer.

Key words: thyroid cancer; circKIF4A; prognosis

甲状腺癌是最常见的内分泌肿瘤,发病率每年增加,绝大多数甲状腺癌起源于甲状腺滤泡细胞^[1]。甲状腺癌是一种由进行性遗传和表观遗传分子异常引起的疾病^[2]。尽管在基础和临床癌症研究方面取得了重大进展,但大多数晚期癌症仍然无法治愈^[3]。因此寻找与甲状腺癌预后有关的生物标志物具有重要的意义。随着环状 RNA(circRNA)测序和生物信息学分析的进步,在肿瘤中发现了越来越多异常表达的 circRNA 参与恶性肿瘤的许多生物学过程^[4]。CircKIF4A 是一种在肿瘤中广泛上调的新型 circRNA,此外,敲除 circKIF4A 可以显著抑制体外和体内癌症的发展^[5]。结果表明, circKIF4A 能够通过上调抗氧化蛋白 GPX4 表达,直接海绵 miR-1231,促进甲状腺癌进展^[6]。在胶质瘤组织中, circKIF4A 水平显著增加,抑制 circKIF4A 可以抑制胶质瘤细胞的克隆形成、迁移和侵袭能力,并增加其凋亡^[7]。在卵巢癌组织中, circKIF4A 水平升高, circKIF4A 的敲除抑制卵巢癌细胞增殖和迁移,作为一种 circRNA, circKIF4A 可以通过海绵吸附 miR-127 来上调 JAM3 水平,以增强卵巢癌的进展^[7-8]。然而, circKIF4A 在甲状腺癌中研究甚少。因此,本研究检测 circKIF4A 在甲状腺癌组织中的表达状况,分析其与甲状腺癌患者临床特征及预后的关系,旨在探讨 circKIF4A 是否可作为甲状腺癌预后的潜在标志物,为寻找甲状腺癌预后相关的潜在生物标志物提供参考依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用随机取样法选取 2016 年 4 月至 2017 年 4 月在本院确诊为甲状腺癌的患者 120 例作为研究对象。在手术中取患者癌组织和癌旁组织(癌灶周 3 cm 以外的正常组织),均已经过病理学检验确认,研究对象根据手术病理检测分为甲状腺癌组

和癌旁组各 120 例。年龄 35~55 岁,平均(47.50±5.12)岁,男性 70 例,女性 50 例,体重指数为(22.34±2.57)kg/m²。按照肿瘤最大径分为肿瘤最大径≥2 cm 55 例,肿瘤最大径<2 cm 65 例^[9];按照临床病理特征分为包膜侵犯 57 例,淋巴结转移 62 例;按照分化程度分为低分化 36 例,中分化 40 例,高分化 44 例。本次研究均通过本院伦理委员会的批准,所有患者均知情并同意参与本研究。纳入标准:(1)符合《甲状腺癌的诊断治疗》的诊断标准^[9];(2)所有患者在术前未接受放化疗;(3)甲状腺乳头状癌患者,所有患者的临床资料完整。排除标准:(1)患有其他恶性肿瘤;(2)合并肾脏疾病、肝炎;(3)患有心肌梗死或者高血压疾病;(4)患有其他传染性疾病;(5)精神异常无法正常交流。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 circKIF4A 表达水平 在手术中分别取甲状腺癌患者的癌组织和癌旁组织 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm,取出即放入液氮中保存,使用总 RNA 提取试剂 Trizol(货号:RN0101,杭州昊鑫生物科技股份有限公司)提取两种组织的总 RNA,并使用通用反转录试剂盒(货号:YT9036,北京伊塔生物科技有限公司)生成 cDNA。使用荧光定量 PCR 仪(型号:Rotor-Gene Q, QIAGEN)和通用 qRT-PCR 试剂盒(货号:YT9031,北京伊塔生物科技有限公司)进行 qRT-PCR,反应体系共 12.0 μL;qRT-PCR 反应酶 6.0 μL,cDNA 1.0 μL,上、下引物各 0.8 μL,无菌水 3.4 μL。反应条件:95 °C 90 s;95 °C 30 s,63 °C 30 s,72 °C 15 s,40 个循环。采用 2^{-ΔΔCt} 法分析结果。qRT-PCR 引物均由西安擎科生物科技有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	序列	大小(bp)
circKIF4A	正向 5'-GAGGTACCTGCTGGATCT-3'	121
	反向 5'-TGGAATCTCTGTAGGGCACA-3'	
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	正向 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'	102
	反向 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'	

1.2.2 随访 对甲状腺癌患者进行为期 5 年的随访,进行门诊复诊或者电话统计患者术后生存情况,统计终止日期为 2022 年 4 月或患者死亡。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组

间比较用配对样本 *t* 检验分析;计数资料以 *n*(%)表示,行 χ^2 检验;等级资料(分化程度)比较行秩和检验。Kaplan-Meier 生存曲线分析 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者预后的关系(采用 Log-rank 法);采用 Cox 回归分析甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影

响因素,以逐步向前法筛选自变量。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 circKIF4A 相对表达水平比较 与癌旁组 circKIF4A 相对表达水平(1.01±0.11)相比,甲状腺癌组 circKIF4A 相对表达水平(1.75±0.34)升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者临床病理特征的关系 以 circKIF4A 的中位数为界限分为 circKIF4A 高表达(circKIF4A≥1.460)和 circKIF4A 低表达(circKIF4A<1.460)。circKIF4A 表达与甲状腺癌患者的年龄、肿瘤最大径无关($P > 0.05$),与包膜侵犯、淋巴结转移、分化程度有关($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者预后的关系 对患者进行术后 5 年时间的随访,Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,circKIF4A 高表达患者术后 5 年累积生存率[40/60(66.67%)]低于 circKIF4A 低表达[55/60(91.67%)]患者,差异有统计学意义($\chi^2 = 11.368, P = 0.001$)。见图 1。

2.4 COX 回归分析甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影响因素 将甲状腺癌患者术后 5 年生存情况作为因变量,将包膜侵犯、淋巴结转移、分化程度、circKIF4A 相对表达水平作为影响因素纳入 COX 回归分析(采用逐步向前法筛选自变量),赋值方式为包膜侵犯(0=无;1=有)、淋巴结转移(0=无;1=有)、分化程度(0=高分化;1=低、中分化)、circKIF4A 表达

水平(0=低表达;1=高表达)。多因素分析结果显示,包膜侵犯、分化程度、淋巴结转移、circKIF4A 表达水平是甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影响因素($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	n	circKIF4A 高表达(n=60)	circKIF4A 低表达(n=60)	χ^2/Z	P
年龄				0.133	0.715
<48 岁	58	30(50.00)	28(46.67)		
≥48 岁	62	30(50.00)	32(53.33)		
肿瘤最大径				2.719	0.099
≥2 cm	55	32(53.33)	23(38.33)		
<2 cm	65	28(46.67)	37(61.67)		
包膜侵犯				12.063	0.001
有	57	38(63.33)	19(31.67)		
无	63	22(36.67)	41(68.33)		
淋巴结转移				10.812	0.001
有	62	40(66.67)	22(36.67)		
无	58	20(33.33)	38(63.33)		
分化程度				20.979	<0.001
低分化	36	21(35.00)	15(25.00)		
中分化	40	19(31.67)	21(35.00)		
高分化	44	20(33.33)	24(40.00)		

表 3 COX 回归分析影响甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影响因素

项目	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
包膜侵犯	3.127	1.587~6.161	0.001	2.240	1.441~3.482	<0.001
淋巴结转移	5.934	2.376~14.821	<0.001	1.625	1.255~2.105	<0.001
分化程度	5.224	1.146~23.815	0.033	4.983	1.995~12.445	0.001
circKIF4A 表达水平	4.534	1.815~11.324	0.001	3.885	1.556~9.703	0.004

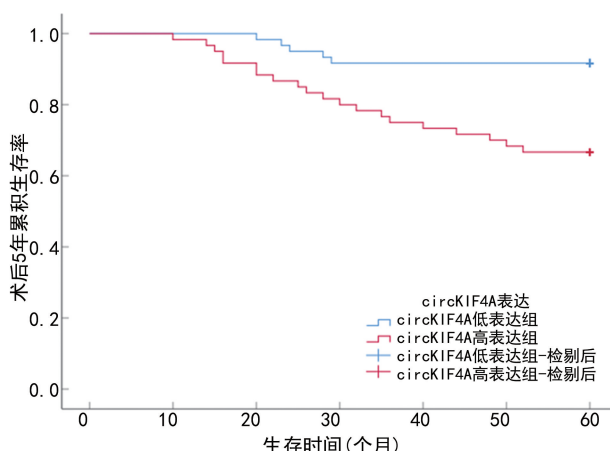


图 1 circKIF4A 表达与甲状腺癌患者预后的关系

3 讨 论

甲状腺癌是位于甲状腺内的最常见内分泌癌^[10]。甲状腺癌由甲状腺的两种不同细胞类型(滤泡细胞和滤泡旁细胞)发展而来^[11]。滤泡细胞是负责碘摄取和甲状腺激素合成的上皮细胞,而滤泡旁细胞产生和分泌激素降钙素,滤泡细胞是大多数甲状腺源性癌发生的原因^[12]。目前甲状腺癌的发病率较高,因此寻找与甲状腺癌疾病有关的生物标志物,对患者的预后具有重要的价值。

circRNA 是丰富的非编码共价闭合 RNA,它们由外显子或内含子前体 mRNA 反向剪接序列组成,没有上游头部或下游尾部,与线性 mRNA 相比,它们的环状结构增强了其稳定性和对 RNA 核酸外切酶的

抗性^[13]。作为内源性非编码 RNA 的新形式,它们在各种细胞和组织中的表达水平升高,它们是潜在的 miRNA 海绵,用于调节关键下游基因的表达,剪接或充当编码蛋白质的转录因子^[14]。circKIF4A 通过海绵化 miR-1231,上调 GPX4 表达和抑制铁含量减少来促进甲状腺癌的恶性进展^[6,15]。circKIF4A/miR-375/KIF4A 轴参与三阴性乳腺癌的发生,是新型预后标志物和治疗靶点^[16]。此外,circKIF4A 沉默可以通过海绵吸附 miR-152 来调节 ZEB1 表达,以阻止乳腺癌细胞转移并促进细胞凋亡^[17]。circKIF4A 可以通过海绵吸附 miR-375/1231 来上调 Notch2 水平,从而促进膀胱癌的进展^[18]。这些研究表明 circKIF4A 在癌症中过表达促进癌细胞侵袭和转移,表明 circKIF4A 参与了癌细胞侵袭和转移的过程。

本研究发现,与癌旁组 circKIF4A 相对表达水平相比,甲状腺癌组 circKIF4A 相对表达水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),与前人研究结果一致^[15],circKIF4A 与甲状腺癌的发生有关,推测其在甲状腺癌中起促癌的作用。本研究发现,circKIF4A 表达与包膜侵犯、淋巴结转移、分化程度有关,可能原因是 circKIF4A 表达影响肿瘤细胞的迁移和侵袭,增加淋巴结转移,从而导致甲状腺癌患者病理特征不理想;Kaplan-Meier 曲线分析结果显示,circKIF4A 高表达患者术后 5 年累积生存率低于 circKIF4A 低表达患者,差异有统计学意义($\chi^2 = 11.368, P = 0.001$),进一步提示 circKIF4A 高表达可能预示患者病死率高,证明 circKIF4A 可能是甲状腺癌预后不良的生物标志物。多因素分析结果显示,包膜侵犯、分化程度、淋巴结转移、circKIF4A 表达水平是甲状腺癌患者术后 5 年预后不良的影响因素,由此说明,circKIF4A 可能在甲状腺癌疾病中发挥促癌的作用。

综上所述,circKIF4A 在甲状腺癌组织中高表达,与甲状腺癌患者临床病理特征有关,有成为甲状腺癌预后的潜在标志物的可能。但由于本研究仍然存在一些不足之处,研究的样本量较少,后续会增加样本量对其深入研究。

参考文献

[1] 刘志敏,刘天卿,王红龙,等. PTTG1IP 在甲状腺滤泡上皮细胞起源肿瘤中的表达及意义[J]. 大连医科大学学报,2020,42(4):299-303.

[2] 吉丽银,符策岗. 在甲状腺癌中参与上皮-间质性转化的表观遗传学改变[J]. 生命的化学,2020,4(1):568-573.

[3] 毛君,付琨. microRNAs 在甲状腺癌中的异常表达和功能研究进展[J]. 中国临床研究,2021,34(1):126-128.

[4] 王站,郭浩,蔡焱,等. 结节性硬化症相关肾血管平滑肌脂肪瘤的 circRNA 表达谱及 ceRNA 调控网络的构建[J]. 中华泌尿外科杂志,2021,12(1):925-931.

[5] 宋伟丽,周朋哲,陈宏伟,等. circKIF4A 通过靶向 miR-3666 调控胃癌 AGS 细胞增殖,迁移和侵袭研究[J]. 医学分子生物学杂志,2021,18(5):354-359.

[6] CHEN W, FU J, CHEN Y, et al. Circular RNA circKIF4A facilitates the malignant progression and suppresses ferroptosis by sponging miR-1231 and upregulating GPX4 in papillary thyroid cancer[J]. Aging(Albany NY),2021,13(12):16500-16512.

[7] LUO K, LIU A, WU H, et al. CircKIF4A promotes glioma growth and temozolomide resistance by accelerating glycolysis[J]. Cell Death Dis,2022,13(8):740.

[8] 曾芸. 德阳地区六家医疗机构 2013—2017 年慢性乙型肝炎住院患者抗病毒药物应用情况分析[D]. 泸州:西南医科大学,2023.

[9] 张清华,王瑞华,卓宜盟. 甲状腺癌的诊断治疗[J]. 中国普通外科杂志,2010,11(1):1169-1172.

[10] 张永红. 双酚 A 和雌二醇对甲状腺乳头状癌细胞增殖的影响和机制研究[D]. 济南:山东大学,2017.

[11] 唐悦,李杨,张荣嘉,等. lncRNA SNHG14 在甲状腺乳头状癌组织中的表达及其对癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 现代肿瘤医学,2022,30(15):2727-2732.

[12] 欧慧婷,汪新宇,余怀新,等. H2S 对 Graves 甲亢小鼠甲状腺功能与甲状腺滤泡上皮细胞损伤的保护作用及机制[J]. 西部医学,2021,8(1):1138-1144.

[13] 黄颖,袁琼,周乾毅. 环状 RNA 在巨噬细胞中的作用[J]. 微生物学免疫学进展,2021,49(4):99-103.

[14] 李小玲,邵馨,郭玲,等. 甲状腺癌组织中长链非编码 RNA 浆细胞瘤变体易位 1 和微小 RNA-195-5p 表达及临床意义[J]. 中国医药导报,2021,18(19):22-26.

[15] 范会利,赵如华,张赫,等. E2F 转录因子 7 在甲状腺乳头状癌中的表达及生物学作用[J]. 实用医学杂志,2022,38(17):2138-2144.

[16] 陈柱,宋晓薇,曹稳琰,等. KIF4A 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 广西医科大学学报,2019,36(11):1733-1737.

[17] JIN Y, YANG L, LI X, et al. Circular RNA KIF4A promotes cell migration, invasion and inhibits apoptosis through miR-152/ZEB1 axis in breast cancer[J]. Diagn Pathol,2020,15(1):55.

[18] SHI Y R, WU Z, XIONG K, et al. Circular RNA circKIF4A Sponges miR-375/1231 to promote bladder cancer progression by upregulating NOTCH2 expression[J]. Front Pharmacol,2020,11(1):605.

(收稿日期:2023-06-08 修回日期:2023-11-10)