

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.07.001

肿瘤防治专题

非小细胞肺癌组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 表达水平及临床意义

余凤, 李良, 李鸿雁, 楚鑫



基金项目: 江苏省卫生健康委员会科研项目(H2021019)

作者单位: 211500 南京, 东南大学附属中大医院江北院区病理科(余凤、李良), 胸心外科(李鸿雁、楚鑫)

通信作者: 余凤, E-mail: yufengfeng683@163.com

【摘要】目的 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)组织中微小RNA-605-5p(miR-605-5p)、肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白3(TNFAIP3)表达水平与患者5年内生存的关系。**方法** 选取2014年2月—2018年1月在东南大学附属中大医院江北院区行手术切除的NSCLC患者87例,术中留取NSCLC组织及距其>3cm的癌旁正常组织。免疫组织化学法检测NSCLC组织和癌旁正常组织TNFAIP3表达,实时荧光定量PCR法检测NSCLC组织和癌旁正常组织miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA表达;术后随访5年,统计总生存率;比较生存组和死亡组NSCLC组织中miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA表达水平;分析NSCLC组织中miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA表达与临床病理特征的关系,miR-605-5p与TNFAIP3 mRNA表达水平的相关性,miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA表达与患者生存的关系,影响NSCLC患者5年内生存的因素,miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA表达水平对患者5年内生存的预测价值。**结果** NSCLC组织中TNFAIP3阳性率为25.29%,明显低于癌旁正常组织的57.47%($\chi^2/P=18.575/<0.001$);NSCLC组织中miR-605-5p表达水平明显高于癌旁正常组织,TNFAIP3 mRNA表达水平明显低于癌旁正常组织($t/P=16.316/<0.001, 26.746/<0.001$);miR-605-5p高表达组TNM分期中Ⅲ期、有淋巴结转移比例均明显高于miR-605-5p低表达组($\chi^2/P=21.611/<0.001, 6.472/<0.001$);TNFAIP3 mRNA低表达组TNM分期中Ⅲ期、有淋巴结转移比例明显高于TNFAIP3 mRNA高表达组($\chi^2/P=15.783/<0.001, 13.839/<0.001$);NSCLC组织中miR-605-5p与TNFAIP3 mRNA表达水平呈负相关($r/P=-0.453/<0.001$);miR-605-5p低表达组5年总生存率为52.38%(22/42),明显高于miR-605-5p高表达组的26.67%(12/45),差异有统计学意义($\chi^2/P=6.034/0.014$);TNFAIP3 mRNA低表达组5年总生存率为21.95%(9/41),明显低于TNFAIP3 mRNA高表达组的54.35%(25/46),差异有统计学意义($\chi^2/P=9.557/0.002$);死亡组NSCLC组织中miR-605-5p表达水平明显高于生存组,TNFAIP3 mRNA表达水平明显低于生存组($t/P=2.515/0.014, 6.678/<0.001$);TNM Ⅲ期、有淋巴结转移、miR-605-5p高表达、TNFAIP3 mRNA低表达是影响NSCLC患者5年内生存的危险因素[OR(95%CI)=1.998(1.326~3.010)、2.845(1.577~5.132)、1.760(1.206~2.569)、2.534(1.618~3.969)];miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA及二者联合预测患者5年内生存的AUC分别为0.761、0.837、0.910,二者联合的AUC高于各自单独预测的AUC($Z/P=2.716/0.007, 1.986/0.047$)。**结论** NSCLC组织中miR-605-5p高表达、TNFAIP3低表达,二者可能共同影响NSCLC患者5年内生存情况,对患者5年内生存具有较高预测价值。

【关键词】 非小细胞肺癌;微小RNA-605-5p;肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白3;生存率

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A

The expression levels and clinical significance of miR-605-5p and TNFAIP3 in non-small cell lung cancer tissues Yu Feng*, Li Liang, Li Hongyan, Chu Xin. * Department of Pathology, Jiangbei Hospital of Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Jiangsu Province, Nanjing 211500, China

Corresponding author: Yu Feng, E-mail: yufengfeng683@163.com

Funding program: Jiangsu Provincial Health Care Commission Scientific Research Project (H2021019)

【Abstract】 Objective To investigate micro RNA-605-5p (miR-605-5p) and tumor necrosis factor α in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissue and relationship between the expression level of inducible protein 3 (TNFAIP3) and the 5-year survival of patients. **Methods** From February 2014 to January 2018, 87 patients with NSCLC who underwent surgical resection in Jiangbei Hospital, Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University were selected. During the operation, NSCLC tissue and normal tissue adjacent to the cancer were taken. Immunohistochemical method was used to detect the expression

of TNFAIP3 in NSCLC tissue and normal tissue adjacent to cancer. Real time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA in NSCLC tissue and normal tissue adjacent to cancer; Follow up for 5 years after surgery and calculate the overall survival rate; Compare the expression levels of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA in NSCLC tissues between the survival group and the death group; Analyze the relationship between miR-605-5p, TNFAIP3 mRNA expression and clinical pathological characteristics in NSCLC tissue, the correlation between miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA expression levels, the relationship between miR-605-5p, TNFAIP3 mRNA expression and patient survival, factors affecting 5-year survival of NSCLC patients, and the predictive value of miR-605-5p, TNFAIP3 mRNA expression levels on 5-year survival of patients. **Results** The positive rate of TNFAIP3 in NSCLC tissue was 25.29%, significantly lower than 57.47% in normal tissues adjacent to cancer ($\chi^2/P=18.575/ <0.001$); The expression level of miR-605-5p in NSCLC tissue was significantly higher than that in normal tissue adjacent to cancer, while the expression level of TNFAIP3 mRNA was significantly lower than that in normal tissue adjacent to cancer ($t/P=16.316/ <0.001$, $26.746/ <0.001$); The proportion of stage III and lymph node metastasis in TNM staging in the high expression group of miR-605-5p was significantly higher than that in the low expression group of miR-605-5p ($\chi^2/P=21.611/ <0.001$, $6.472/ <0.001$); The proportion of stage III and lymph node metastasis in TNM staging was significantly higher in the low expression group of TNFAIP3 mRNA than in the high expression group of TNFAIP3 mRNA ($\chi^2/P=15.783/ <0.001$, $13.839/ <0.001$); There is a negative correlation between miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA expression level in NSCLC tissue ($r/P= -0.453/ <0.001$); The 5-year overall survival rate of the miR-605-5p low expression group was 52.38% (22/42), significantly higher than the 26.67% (12/45) of the miR-605-5p high expression group, and the difference was statistically significant ($\chi^2/P=6.034/0.014$); The 5-year overall survival rate of the low expression group of TNFAIP3 mRNA was 21.95% (9/41), significantly lower than 54.35% (25/46) of the high expression group of TNFAIP3 mRNA, and the difference was statistically significant ($\chi^2/P=9.557/0.002$); The expression level of miR-605-5p in NSCLC tissue of the death group was significantly higher than that of the survival group, while the expression level of TNFAIP3 mRNA was significantly lower than that of the survival group ($t/P=2.515/0.014$, $6.678/ <0.001$); TNM stage III, lymph node metastasis, high expression of miR-605-5p, and low expression of TNFAIP3 mRNA are risk factors affecting 5-year survival in NSCLC patients [OR (95% CI)=1.998 (1.326 – 3.010), 2.845 (1.577 – 5.132), 1.760 (1.206 – 2.569), 2.534 (1.618 – 3.969)]; The AUC predicted by miR-605-5p, TNFAIP3 mRNA, and their combination for 5-year survival in patients were 0.761, 0.837, and 0.910, respectively. The combined AUC of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA was higher than the AUC predicted by miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA alone ($Z/P=2.716/0.007$, $1.986/0.047$). **Conclusion** High expression of miR-605-5p and low expression of TNFAIP3 in NSCLC tissue may jointly affect the 5-year survival of NSCLC patients, which has high predictive value for 5-year survival.

【Key words】 Non-small cell lung cancer; MicroRNA-605-5p; Tumor necrosis factor- α -induced protein 3; Survival rate

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 主要起源于肺部腺体或支气管黏膜^[1], 其早期无明显症状, 随病情进展可表现为咳嗽等临床症状, 同时常因肿瘤远处转移而出现一系列并发症, 此时患者可能错过最佳治疗时机, 预后相对较差^[2]。因此, 寻找能早期评估 NSCLC 患者预后的指标, 对 NSCLC 的治疗及改善患者近远期预后是非常重要的。既往研究发现^[3-4], 微小 RNA (microRNA, miRNA) 可通过与靶基因信使 RNA (mRNA) 3' 端非翻译区结合在 NSCLC 细胞转移、复发等过程中起关键性作用。微小 RNA-605-5p (microRNA-605-5p, miR-605-5p) 是 miRNA 中一员, 其异常表达与 NSCLC 发病有关^[5]。肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3 (tumor necrosis factor alpha induced protein 3, TNFAIP3) 是内皮细胞经肿瘤坏死因子诱导后表达的编码产物, 可参与炎症反应、细胞分化等过程,

在多种肿瘤的恶变过程中发挥重要作用^[6]。研究证实, miR-605-5p 可通过靶向 TNFAIP3 促进 NSCLC 发展^[7]。但二者的靶向作用尚未在临床研究中得到证实。因此, 现分析 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 表达水平及其对患者预后的潜在评估价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2014 年 2 月—2018 年 1 月在东南大学附属中大医院江北院区行手术切除的 NSCLC 患者 87 例作为观察对象。术中留取 NSCLC 组织及距其 >3 cm 的癌旁正常组织, 并置于液氮中保存。男 47 例, 女 40 例; 年龄 38 ~ 75 (54.19 \pm 14.82) 岁, \leq 54 岁 43 例, >54 岁 44 例; 吸烟 52 例, 无吸烟 35 例; 肿瘤直径: \leq 3 cm 46 例, >3 cm 41 例; 组织类型: 腺癌 38 例, 鳞癌 49 例; TNM 分期^[8]: I 期 19 例, II 期 36 例, III 期 32 例; 淋巴结转移 37 例, 无淋巴结转移 50 例。本研

究已经获得医院伦理委员会批准 (ZDLS-临床 2014-04), 患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合 NSCLC 诊断标准, 且经病理证实^[6]; ②临床病理资料完整; ③均为首次确诊患者且配合随访。(2) 排除标准: ①合并其他恶性肿瘤; ②入组前接受抗肿瘤治疗; ③严重肝、肾功能障碍者; ④合并其他肺部疾病。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 免疫组织化学法检测 TNFAIP3 表达: NSCLC 组织和癌旁正常组织标本经常规处理后, 加入稀释的兔抗人 TNFAIP3 单克隆抗体 (批号 KL-18641, 购自上海鲁汶生物科技有限公司) 工作液, 浓度为 1:100, 其余检测方法参照即用型高效免疫组织化学二抗试剂盒 (批号 YS09322B, 购自上海雅吉生物科技有限公司) 说明书操作, 其中阳性对照和阴性对照分别为已知阳性切片、磷酸盐缓冲液。由 2 位经验丰富的病理科医师共同对每张切片的染色结果进行判读, (1) 细胞染色强度评分: 无显色、弱显色、中等显色、强显色分别为 0、1、2、3 分; (2) 阳性染色的细胞比例: <5%、5%~20%、21%~50%、51%~75%、>75% 分别为 0、1、2、3、4 分。以两项评分的乘积 <4 分为 TNFAIP3 阴性, 乘积 ≥4 分为 TNFAIP3 阳性^[9]。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 法检测 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达: 取出液氮中保存的 NSCLC 和癌旁正常组织标本, 采用 Trizol 试剂盒 (批号 HK-6013M, 购自美国 Invitrogen 公司) 提取总 RNA, 并依照 TaqMan miRNA 反转录试剂盒 (批号 931047, 购自杭州市海基生物科技有限公司) 说明书中的方法进行反转录, 得到 cDNA 并置于 -80℃ 冰箱保存。实时荧光定量 PCR 反应条件为: 95℃ 10 min、95℃ 15 s、60℃ 47 s、56℃ 19 s, 共运行 45 个循环。引物均由苏州金唯智生物科技有限公司合成, 见表 1。反应完成后, 用 2^{-ΔΔCt} 法分析并计算 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 的相对表达量。

表 1 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 引物序列

Tab. 1 miR-605-5p, TNFAIP3 mRNA primer sequences

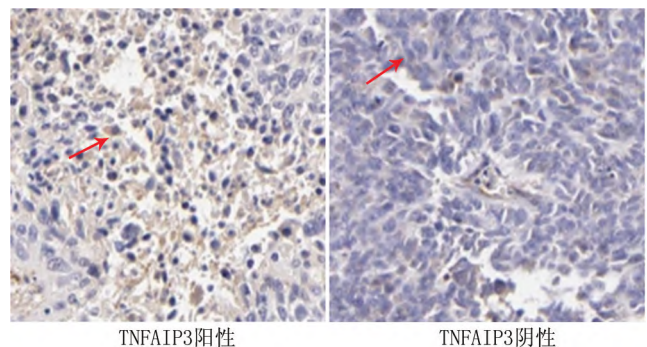
基因	正向引物	反向引物
miR-605-5p	5'-GCGCAACTGTTTCAG-AG-3'	5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'
内参 U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-A-3'	5'-AACGCTTCACGAATTT-GCGT-3'
TNFAIP3 mRNA	5'-CTTGTGGCGCTGAAA-ACGAA-3'	5'-TTCACCTTGCAGGGCA-TAGG-3'
内参 GAPDH	5'-GATTGGTCTGATTGG-GCCG-3'	5'-GCCTTCTCCATGGTGG-TGAA-3'

1.3.3 预后随访: NSCLC 患者术后第 1 天开始随访, 随访至 2023 年 1 月 31 日, 共随访 5 年。随访方式为打电话或门诊复查, 随访终点为患者死亡或随访结束。无失访患者, 计算总生存率。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件处理数据。计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 2 组间比较采用成组 *t* 检验; Pearson 法分析 NSCLC 组织中 miR-605-5p 与 TNFAIP3 mRNA 表达水平的相关性; Kaplan-Meier 生存曲线分析 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达与患者生存的关系; Logistic 回归分析影响 NSCLC 患者 5 年内生存的危险因素; 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 预测患者 5 年内生存的价值, 曲线下面积 (AUC) 比较行 *Z* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 组织和癌旁正常组织中 TNFAIP3 表达比较 TNFAIP3 主要表达于细胞浆, 呈棕黄色或棕褐色颗粒, 见图 1。NSCLC 组织中 TNFAIP3 阳性率为 25.29% (22/87), 明显低于癌旁正常组织的 57.47% (50/87), 差异有统计学意义 ($\chi^2/P = 18.575 / < 0.001$)。



注: 红色箭头指示为 TNFAIP3 表达

图 1 NSCLC 组织中 TNFAIP3 表达 (免疫组织化学染色, × 200)

Fig. 1 TNFAIP3 expression in NSCLC tissue (immunohistochemical staining, × 200)

2.2 NSCLC 组织和癌旁正常组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平比较 NSCLC 组织中 miR-605-5p 表达水平明显高于癌旁正常组织 (P < 0.01), TNFAIP3 mRNA 表达水平明显低于癌旁正常组织 (P < 0.01), 见表 2。

表 2 NSCLC 组织和癌旁正常组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA expression levels in NSCLC tissue and normal tissue adjacent to cancer

组别	例数	miR-605-5p	TNFAIP3 mRNA
癌旁正常组织	87	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.06
NSCLC 组织	87	1.86 ± 0.49	0.51 ± 0.16
t 值		16.316	26.746
P 值		<0.001	<0.001

2.3 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达在不同临床/病理特征中差异比较 分别以 NSCLC 组织 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平均值 1.86、0.51 为界,将患者分为 miR-605-5p 低表达组 42 例(miR-605-5p < 1.86)和 miR-605-5p 高表达组 45 例(miR-605-5p ≥ 1.86),TNFAIP3 mRNA 低表达组 41 例(TNFAIP3 mRNA < 0.51)和 TNFAIP3 mRNA 高表达组 46 例(TNFAIP3 mRNA ≥ 0.51);NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达与性别、年龄、吸烟、肿瘤直径、组织类型无关($P > 0.05$);miR-605-5p 高表达组 TNM 分期中Ⅲ期、有淋巴结转移比例明显高于 miR-605-5p 低表达组($P < 0.01$);TNFAIP3 mRNA 低表达组 TNM 分期中Ⅲ期、有淋巴结转移比例明显高于 TNFAIP3 mRNA 高表达组($P < 0.01$),见表 3。

2.4 NSCLC 组织中 miR-605-5p 与 TNFAIP3 mRNA 表达水平的相关性 NSCLC 组织中 miR-605-5p 与

TNFAIP3 mRNA 表达水平呈负相关($r = -0.453, P < 0.001$)。

2.5 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达与患者生存的关系 NSCLC 患者随访 5 年,生存 34 例(生存组),死亡 53 例(死亡组);miR-605-5p 低表达组 5 年总生存率为 52.38% (22/42),明显高于 miR-605-5p 高表达组的 26.67% (12/45),差异有统计学意义($\chi^2 = 6.034, P = 0.014$);TNFAIP3 mRNA 低表达组 5 年总生存率为 21.95% (9/41),明显低于 TNFAIP3 mRNA 高表达组的 54.35% (25/46),差异有统计学意义($\chi^2 = 9.557, P = 0.002$)。

2.6 生存组和死亡组 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平比较 死亡组 NSCLC 组织中 miR-605-5p 表达水平明显高于生存组($P < 0.05$),TNFAIP3 mRNA 表达水平明显低于生存组($P < 0.01$),见表 4。

2.7 影响 NSCLC 患者 5 年内生存的多因素分析 以 NSCLC 患者 5 年内生存情况为因变量(生存 = 0,死亡 = 1),以 TNM 分期(Ⅰ + Ⅱ期 = 0,Ⅲ期 = 1)、淋巴结转移(无 = 0,有 = 1)、miR-605-5p(低表达 = 0,高表达 = 1)、TNFAIP3 mRNA(高表达 = 0,低表达 = 1)为自变量,进行 Logistic 回归分析,结果发现,TNM Ⅲ期、有淋巴结转移、miR-605-5p 高表达、TNFAIP3 mRNA 低表达是影响 NSCLC 患者 5 年内生存的危险因素($P < 0.01$),见表 5。

表 3 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 在不同临床/病理特征中表达差异比较 [例(%)]

Tab. 3 Comparison of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA expression differences in different clinical/pathological features in NSCLC tissues

项目	例数	miR-605-5p		χ^2 值	P 值	TNFAIP3 mRNA		χ^2 值	P 值	
		低表达组 (n = 42)	高表达组 (n = 45)			低表达组 (n = 41)	高表达组 (n = 46)			
性别	男	47	21(44.68)	26(55.32)	0.529	0.467	25(53.19)	22(46.81)	1.509	0.219
	女	40	21(52.50)	19(47.50)			16(40.00)	24(60.00)		
年龄	≤54 岁	43	23(53.49)	20(46.51)	0.925	0.336	19(44.19)	24(55.81)	0.295	0.587
	>54 岁	44	19(43.18)	25(56.82)			22(50.00)	22(50.00)		
吸烟	有	52	22(42.31)	30(57.69)	1.844	0.175	27(51.92)	25(48.08)	1.194	0.275
	无	35	20(57.14)	15(42.86)			14(40.00)	21(60.00)		
肿瘤直径	≤3 cm	46	24(52.17)	22(47.83)	0.594	0.441	18(39.13)	28(60.87)	2.505	0.114
	>3 cm	41	18(43.90)	23(56.10)			23(56.10)	18(43.90)		
组织类型	腺癌	38	17(44.74)	21(55.26)	0.338	0.561	21(55.26)	17(44.74)	1.793	0.181
	鳞癌	49	25(51.02)	24(48.98)			20(40.82)	29(59.18)		
TNM 分期	Ⅰ + Ⅱ期	55	37(67.27)	18(32.73)	21.611	<0.001	17(30.91)	38(69.09)	15.783	<0.001
	Ⅲ期	32	5(15.62)	27(84.38)			24(75.00)	8(25.00)		
淋巴结转移	有	37	12(32.43)	25(67.57)	6.472	0.011	26(70.27)	11(29.73)	13.839	<0.001
	无	50	30(60.00)	20(40.00)			15(30.00)	35(70.00)		

表 4 生存组和死亡组 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA expression levels in NSCLC tissues between survival and death groups

组别	例数	miR-605-5p	TNFAIP3 mRNA
生存组	34	1.70 ± 0.47	0.65 ± 0.18
死亡组	53	1.97 ± 0.50	0.42 ± 0.14
<i>t</i> 值		2.515	6.678
<i>P</i> 值		0.014	<0.001

表 5 影响 NSCLC 患者 5 年内生存的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5 Multivariate logistic regression analysis on the 5-year survival of NSCLC patients

自变量	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
TNM 分期 III 期	0.692	0.209	10.967	0.001	1.998	1.326 ~ 3.010
有淋巴结转移	1.046	0.301	12.066	0.001	2.845	1.577 ~ 5.132
miR-605-5p 高表达	0.565	0.193	8.580	0.003	1.760	1.206 ~ 2.569
TNFAIP3 mRNA 低表达	0.930	0.229	16.486	<0.001	2.534	1.618 ~ 3.969

2.8 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平对患者 5 年内生存的预测价值 绘制 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 及二者联合预测患者 5 年内生存的 ROC 曲线,并计算 AUC,结果显示:miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 及二者联合预测患者 5 年内生存的 AUC 分别为 0.761、0.837、0.910;二者联合的 AUC 高于 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 各自单独预测的 AUC ($Z = 2.716、1.986, P = 0.007、0.047$),见图 2、表 6。

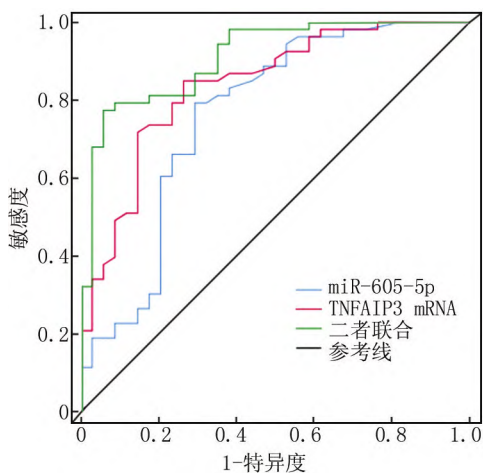


图 2 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 预测患者 5 年内生存的 ROC 曲线

Fig. 2 Receiver operating characteristic of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA in NSCLC tissue predicting patients' survival within 5 years

表 6 NSCLC 组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平对患者 5 年内生存的预测价值

Tab. 6 Predictive value of miR-605-5p and TNFAIP3 mRNA expression levels in NSCLC tissue for 5-year survival of patients

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
miR-605-5p	1.75	0.761	0.650 ~ 0.872	0.793	0.706	0.499
TNFAIP3 mRNA	0.63	0.837	0.751 ~ 0.924	0.849	0.735	0.584
二者联合		0.910	0.849 ~ 0.971	0.774	0.941	0.715

3 讨论

miRNA 是一类具有广泛生物学功能的非编码 RNA,近年来研究显示其在肺癌发生发展及放化疗耐药性中均扮演着重要角色,可通过对 miRNA 的调控为肺癌的治疗提供新方向^[10-11]。相关研究表明,miR-139-5p、miR-25-3p 等在肺癌和癌旁组织中的表达存在差异^[12-14]。Ye 等^[15]研究发现,miR-605 高表达与 NSCLC 的发生、发展有关。但 NSCLC 和癌旁组织中 miR-605-5p 的表达是否存在差异尚不十分清楚。本研究结果发现,NSCLC 组织中 miR-605-5p 表达水平明显高于癌旁正常组织,与 Ye 等^[15]研究结果类似,提示 miR-605-5p 表达上调可能与 NSCLC 发病有关。进一步研究发现,miR-605-5p 高表达者 TNM 分期 III 期及有淋巴结转移比例较高,提示 miR-605-5p 表达变化与 NSCLC 恶变程度有关,可能原因是 miR-605-5p 高表达的 NSCLC 组织中癌细胞具有更强的侵袭和转移能力,可加速 NSCLC 进展。本研究绘制以 miR-605-5p 表达水平均值为界值的 Kaplan-Meier 生存曲线,结果显示与 miR-605-5p 高表达者比较,miR-605-5p 低表达者具有较高的 5 年总生存率,提示检测 miR-605-5p 表达可能有利于评估 NSCLC 患者远期生存情况。此外,死亡患者的 NSCLC 组织中 miR-605-5p 表达水平较生存患者高,miR-605-5p 高表达是影响 NSCLC 患者 5 年内生存的危险因素,且其可作为预测患者 5 年内生存的指标,提示 miR-605-5p 可能作为评估 NSCLC 患者生存的独立预后指标。

TNFAIP3 又称为锌指蛋白 A20,含 7 个锌指区的 C 和 N 末端区,首次发现于人脐静脉内皮细胞^[16-17]。TNFAIP3 作为一种核因子- κ B 信号通路抑制剂,其在炎症反应相关的多种恶性疾病中有重要意义^[18-19]。Sharif-Askari 等^[20]研究报道,乳腺癌组织中 TNFAIP3 呈低表达,且会影响乳腺癌患者预后。秦英^[21]研究发现,弥漫大 B 细胞淋巴瘤病灶内 TNFAIP3 mRNA 表达量较对照组低,其低表达与患者淋巴瘤分期有关。本

研究发现, NSCLC 组织中 TNFAIP3 阳性率、TNFAIP3 mRNA 表达水平均较癌旁正常组织低, 同时发现 TNFAIP3 低表达者 TNM 分期 III 期及有淋巴结转移比例较高, 提示 TNFAIP3 表达下调可能参与 NSCLC 发生、发展, 与 Sharif-Askari 等^[20] 和秦英^[21] 的研究结果相似, 可能原因是 TNFAIP3 作为癌症抑制因子, 其低表达会使 NSCLC 细胞恶性生物学行为增强, 从而加快 NSCLC 恶性进展。Kaplan-Meier 生存曲线结果显示, TNFAIP3 高表达者 5 年总生存率明显高于 TNFAIP3 低表达者, 提示 TNFAIP3 表达可能与 NSCLC 患者不良预后有一定关联。同时死亡患者的 NSCLC 组织中 TNFAIP3 mRNA 表达水平明显低于生存患者, TNFAIP3 mRNA 低表达是影响 NSCLC 患者 5 年内生存的危险因素, 且其预测患者 5 年内生存的 AUC 为 0.837, 进一步提示检测 TNFAIP3 表达对判断 NSCLC 患者预后有一定价值。ROC 曲线结果还显示, miR-605-5p 联合 TNFAIP3 mRNA 预测患者 5 年内生存的 AUC 高于二者单独预测的 AUC, 提示联合检测 miR-605-5p、TNFAIP3 mRNA 表达水平, 可能对判断患者 5 年内生存情况更有意义。此外, Pearson 相关分析发现, NSCLC 组织中 miR-605-5p 与 TNFAIP3 mRNA 表达呈负相关, 提示 miR-605-5p 和 TNFAIP3 mRNA 可能相互影响, 在 NSCLC 患者预后中发挥作用, 但具体作用机制需深入探讨。

综上所述, miR-605-5p 在 NSCLC 组织中表达上调, TNFAIP3 mRNA 表达下调, 二者呈负相关, 与 NSCLC 患者 TNM 分期、淋巴结转移密切相关, 均可能作为评估患者预后的重要指标, 可为 NSCLC 的靶向治疗提供新思路。但临床影响 NSCLC 患者预后的因素较多, 为验证结果需扩大样本继续探究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

余凤:设计研究方案,实施研究过程,撰写论文;李良:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;李鸿雁:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;楚鑫:进行统计学分析

参考文献

[1] Brahmer JR, Lee JS, Ciuleanu TE, et al. Five-year survival outcomes with Nivolumab plus Ipilimumab Versus chemotherapy as first-line treatment for metastatic non-small-cell lung cancer in check mate 227[J]. J Clin Oncol, 2023, 41(6):1200-1212. DOI:10.1200/JCO.22.01503.

[2] Zhang H, Liu Z, Wen H, et al. Immunosuppressive TREM2(+) macrophages are associated with undesirable prognosis and responses to anti-PD-1 immunotherapy in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Immunol Immunother, 2022, 71(10):2511-2522. DOI:10.1007/s00262-022-03173-w.

[3] Yang P, Zhang D, Zhou F, et al. miR-203a-3p-DNMT3B feedback

loop facilitates non-small cell lung cancer progression[J]. Hum Cell, 2022, 35(4):1219-1233. DOI:10.1007/s13577-022-00728-y.

[4] 张静,刘爽,王洁,等.非小细胞肺癌组织 miR-139-5p 和 CTNNB1 蛋白表达与放射敏感性的关系[J].疑难病杂志,2022,21(1):1-6. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.01.001.

Zhang J, Liu S, Wang J, et al. The relationship between the expression of miR-139-5p and CTNNB1 protein and radiosensitivity in non-small cell lung cancer[J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases, 2022, 21(1):1-6. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.01.001.

[5] Zhou W, Li R. microRNA-605 inhibits the oncogenicity of non-small-cell lung cancer by directly targeting Forkhead Box P1[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12(1):3765-3777. DOI:10.2147/OTT.S193675.

[6] Gao M, Li X, Yang M, et al. TNFAIP3 mediates FGFR1 activation-induced breast cancer angiogenesis by promoting VEGFA expression and secretion[J]. Clin Transl Oncol, 2022, 24(12):2453-2465. DOI:10.1007/s12094-022-02918-4.

[7] Liao Y, Cao L, Wang F, et al. miR-605-5p promotes invasion and proliferation by targeting TNFAIP3 in non-small-cell lung cancer[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(1):779-787. DOI:10.1002/jcb.29323.

[8] 支修益,石远凯,于金明.中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J].中华肿瘤杂志,2015,37(1):67-78. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.01.014.

Zhi XY, Shi YK, Yu JM. Standards for the diagnosis and treatment of primary lung cancer (2015 version) in China[J]. Chinese Journal of Oncology, 2015, 37(1):67-78. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.01.014.

[9] 要兆旭,韩海平,冯志星.喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin 表达与临床病理特征和预后的关系[J].中国临床研究,2020,33(2):145-149. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2020.02.001.

Yao ZX, Han HP, Feng ZX. Correlation of miR-34a and Survivin expression with clinicopathological characteristics and prognosis in laryngeal cancer tissues[J]. Chinese Journal of Clinical Research, 2020, 33(2):145-149. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2020.02.001.

[10] Alexandre D, Teixeira B, Rico A, et al. Molecular beacon for detection miRNA-21 as a biomarker of lung cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6):3330-3343. DOI:10.3390/ijms23063330.

[11] Amri J, Molaee N, Karami H, et al. Combination of two miRNAs has a stronger effect on stimulating apoptosis, inhibiting cell growth, and increasing erlotinib sensitivity relative to single miRNA in A549 lung cancer cells[J]. Biotechnol Appl Biochem, 2022, 69(4):1383-1394. DOI:10.1002/bab.2211.

[12] Du H, Bao Y, Liu C, et al. miR-139-5p enhances cisplatin sensitivity in non-small cell lung cancer cells by inhibiting cell proliferation and promoting apoptosis via the targeting of Homeobox protein Hox-B2[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(2):104-112. DOI:10.3892/mmr.2020.11743.

[13] 张卫强,赵京,刘克强,等.miR-25-3p 和 PHLPP2 在肺腺癌中的表达及其与预后的相关性分析[J].重庆医学,2020,49(23):3936-3940. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.23.017.

Zhang WQ, Zhao J, Liu KQ, et al. Expressions of miR-25-3p and PHLPP2 in lung adenocarcinoma and their relationships with prognosis[J]. Chongqing Medicine, 2020, 49(23):3936-3940. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.23.017.

(下转 685 页)

- Song CY, Zhu SC, Shen WB, et al. Analysis of the impact of immune function and peripheral blood inflammation indicators on prognosis in patients with clinical stage III esophageal cancer before and after radiotherapy [J]. Chinese Journal of Radiology and Protection, 2020, 40 (3): 189-195. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-5098. 2020. 03. 006.
- [13] Ren X, Zhang L, Zhang Y, et al. Insights gained from single-cell analysis of immune cells in the tumor microenvironment [J]. Annu Rev Immunol, 2021, 39(1): 583-609. DOI: 10. 1146/annurev-immunol-110519-071134.
- [14] Zhang A, Miao K, Sun H, et al. Tumor heterogeneity reshapes the tumor microenvironment to influence drug resistance [J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(7): 3019-3033. DOI: 10. 7150/ijbs. 72534.
- [15] 金从国, 段林灿, 沈红梅, 等. 铁皮石斛和 CIK 细胞对非小细胞肺癌患者术后外周血循环肿瘤细胞、细胞免疫功能和预后的影响 [J]. 疑难病杂志, 2022, 21 (2): 157-161, 166. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 02. 010.
- Jin CG, Duan LC, Shen HM, et al. Effects of dendrobium officinale and CIK cells on circulating tumor cells, cellular immune function and prognosis in peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer after surgery [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (2): 157-161, 166. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 02. 010.
- [16] 刘洁, 许凯龙, 马立新, 等. 基于单细胞转录组的多级别胶质瘤异质性及其免疫微环境分析揭示了潜在的预后生物标志物 [J]. 生物工程学报, 2022, 38 (10): 3790-3808. DOI: 10. 13345/j. cjb. 220481.
- Liu J, Xu KL, Ma LX, et al. Heterogeneity and immune microenvironment analysis of multi-level glioma based on single cell transcriptome reveal potential prognostic biomarkers [J]. Journal of Biotechnology, 2022, 38 (10): 3790-3808. DOI: 10. 13345/j. cjb. 220481.
- [17] Sui H, Dongye S, Liu X, et al. Immunotherapy of targeting MDSCs in tumor microenvironment [J]. Front Immunol, 2022, 13 (1): 990463. DOI: 10. 3389/fimmu. 2022. 990463.
- [18] 郭伟峰, 何约明, 黄弘, 等. CD4⁺IL-22⁺T 细胞和 MDSCs 细胞在肺癌患者免疫微环境中的表达及其在预后评估中的价值 [J]. 免疫学杂志, 2021, 37 (10): 917-920. DOI: 10. 13431/j. cnki. immunol. j. 20210129.
- Guo WF, He YM, Huang H, et al. Expression of CD4⁺IL-22⁺T cells and MDSCs cells in the immune microenvironment of lung cancer patients and their value in prognosis evaluation [J]. Journal of Immunology, 2021, 37 (10): 917-920. DOI: 10. 13431/j. cnki. immunol. j. 20210129.
- [19] Baumann T, Dunkel A, Schmid C, et al. Regulatory myeloid cells paralyze T cells through cell-cell transfer of the metabolite methylglyoxal [J]. Nat Immunol, 2020, 21 (5): 555-566. DOI: 10. 1038/s41590-020-0666-9.
- [20] Jain MD, Zhao H, Wang X, et al. Tumor interferon signaling and suppressive myeloid cells are associated with CAR T-cell failure in large B-cell lymphoma [J]. Blood, 2021, 137 (19): 2621-2633. DOI: 10. 1182/blood. 2020007445.
- [21] Veglia F, Sanseviero E, Gabrilovich DI. Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity [J]. Nat Rev Immunol, 2021, 21 (8): 485-498. DOI: 10. 1038/s41577-020-00490-y.

(收稿日期: 2023-03-07)

(上接 678 页)

- [14] 张静, 刘爽, 王洁, 等. 非小细胞肺癌组织 miR-139-5 p 和 CTNNB1 蛋白表达与放射敏感性的关系 [J]. 疑难病杂志, 2022, 21 (1): 1-6. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 01. 001.
- Zhang J, Liu S, Wang J, et al. The relationship between the expression of miR-139-5p and CTNNB1 protein and radiosensitivity in non-small cell lung cancer [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (1): 1-6. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 01. 001.
- [15] Ye Y, Zhuang J, Wang G, et al. microRNA-605 promotes cell proliferation, migration and invasion in non-small cell lung cancer by directly targeting LATS2 [J]. Exp Ther Med, 2022, 24 (2): 488. DOI: 10. 3892/etm. 2022. 11415.
- [16] Zhou J, Hu M, He M, et al. TNFAIP3 interacting protein 3 is an activator of Hippo-YAP signaling protecting against hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. Hepatology, 2021, 74 (4): 2133-2153. DOI: 10. 1002/hep. 32015.
- [17] Angolano C, Kaczmarek E, Essayagh S, et al. A20/TNFAIP3 increases ENOS expression in an ERK5/KLF2-dependent manner to support endothelial cell health in the face of inflammation [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8 (1): 651230-651243. DOI: 10. 3389/fcvm. 2021. 651230.
- [18] Zhuo Z, Kong H, Jin P, et al. The ubiquitin-editing enzyme TNFAIP3 exerts neuroprotective roles in epilepsy rats through repressing inflammation [J]. Gen Physiol Biophys, 2022, 41 (6): 499-509. DOI: 10. 4149/gpb_2022041.
- [19] Xie Z, Chen J, Xiao Z, et al. TNFAIP3 alleviates pain in lumbar disc herniation rats by inhibiting the NF-κB pathway [J]. Ann Transl Med, 2022, 10 (2): 80-88. DOI: 10. 21037/atm-21-6499.
- [20] Sharif-Askari FS, Al-Khayyal N, Talaat I, et al. Immunohistochemical assessment of TNFAIP3/A20 expression correlates with early tumorigenesis in breast cancer [J]. Anticancer Res, 2021, 41 (2): 739-745. DOI: 10. 21873/anticancer. 14825.
- [21] 秦英. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤中 HK-II、TNFAIP3 异常表达与肿瘤细胞恶性特征的相关性 [J]. 海南医学院学报, 2018, 24 (22): 2015-2018, 2022. DOI: 10. 13210/j. cnki. jhmu. 20181010. 002.
- Qin Y. Correlation between abnormal expression of HK-II and TNFAIP3 and malignancy in diffuse large B-cell lymphoma [J]. Journal of Hainan Medical University, 2018, 24 (22): 2015-2018, 2022. DOI: 10. 13210/j. cnki. jhmu. 20181010. 002.

(收稿日期: 2023-04-09)