

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.010

神经系统疾病专题

脑胶质瘤组织中 miR-4744、RIOK2 表达及其对患者预后的预测价值

段升强, 乔建新, 徐新文, 刘熙鹏, 张秀峰

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(20190872, 20210199)

作者单位: 075000 张家口, 河北北方学院附属第一医院神经外科

通信作者: 刘熙鹏, E-mail: lxpdoc@163.com



【摘要】目的 分析脑胶质瘤组织中微小 RNA-4744(miR-4744)、右开放阅读框激酶 2(RIOK2) 表达情况及对患者预后的预测价值。**方法** 纳入 2014 年 12 月—2017 年 11 月河北北方学院附属第一医院神经外科收治脑胶质瘤患者 102 例, 术中收集脑胶质瘤组织及相对应的癌旁正常组织, 实时荧光定量 PCR 法检测 miR-4744、RIOK2 信使 RNA(mRNA) 表达水平, 免疫组化检测 RIOK2 蛋白表达。分析脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与患者临床病理特征的关系, miR-4744 与 RIOK2 mRNA 表达水平的相关性, miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与预后的关系, 脑胶质瘤患者预后的影响因素, miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平对患者术后 5 年内死亡的预测价值。**结果** 与癌旁组织比较, 脑胶质瘤组织中 miR-4744 表达水平明显降低, RIOK2 mRNA 和蛋白阳性率均明显升高 [$t(\chi^2)P = 44.282 / <0.001$, $15.538 / <0.001$, $101.868 / <0.001$]; 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与肿瘤分级、远处转移、卡氏功能状态(KPS)评分有关 (miR-4744: $\chi^2/P = 33.443 / <0.001$, $45.773 / <0.001$, $37.920 / <0.001$, RIOK2: $\chi^2/P = 11.453 / 0.001$, $16.650 / <0.001$, $16.592 / <0.001$); 脑胶质瘤组织 miR-4744 与 RIOK2 mRNA 表达水平呈负相关 ($r/P = -0.636 / <0.001$); miR-4744 低表达组患者 5 年生存率低于 miR-4744 高表达组, RIOK2 mRNA 高表达组患者 5 年生存率低于 RIOK2 mRNA 低表达组 ($\chi^2/P = 20.874 / <0.001$, $10.437 / 0.001$); 肿瘤分级 III ~ IV 级、有远处转移、KPS 评分 <80 分、miR-4744 低表达、RIOK2 mRNA 高表达是脑胶质瘤患者 5 年内死亡的独立危险因素 [$HR(95\%CI) = 2.224(1.297 \sim 3.813)$, $2.442(1.408 \sim 4.237)$, $2.815(1.506 \sim 5.261)$, $2.140(1.173 \sim 3.907)$, $2.114(1.129 \sim 3.958)$]; 与存活组比较, 死亡组脑胶质瘤组织 miR-4744 表达水平明显降低, RIOK2 mRNA 表达水平明显升高 ($t/P = 8.146 / <0.001$, $3.324 / 0.001$); miR-4744、RIOK2 mRNA、两者联合预测患者 5 年内死亡的曲线下面积(AUC)分别为 0.752、0.711、0.885, 两者联合预测患者 5 年内死亡的 AUC 高于单独预测的 AUC ($Z/P = 3.147 / 0.002$, $3.531 / 0.004$)。**结论** 脑胶质瘤组织中 miR-4744 呈低表达, RIOK2 mRNA 呈高表达, 二者呈负相关, 共同调控脑胶质瘤患者的病情进展, 对患者预后预测具有较高价值。

【关键词】 脑胶质瘤; 微小 RNA-4744; 右开放阅读框激酶 2; 预后

【中图分类号】 R739.41 **【文献标识码】** A

The expression of miR-4744 and RIOK2 in glioma tissue and their predictive value for patient prognosis Duan Shengqiang, Qiao Jianxin, Xu Xinwen, Liu Xipeng, Zhang Xiufeng. Department of Neurosurgery, First Hospital Affiliated to Hebei North University, Hebei Province, Zhangjiakou 075000, China

Corresponding author: Liu Xipeng, E-mail: lxpdoc@163.com

Funding program: Medical Science Research Project of Hebei Province (20190872, 20210199)

【Abstract】 Objective To analyze the expression of microRNA-4744(miR-4744) and right open reading frame kinase 2(RIOK2) in glioma tissue and their predictive value for patient prognosis. **Methods** From December 2014 to November 2017, 102 patients with glioma were admitted to the Neurosurgery Department of the First Affiliated Hospital of Hebei North University. During the operation, glioma tissue and corresponding normal tissue adjacent to cancer were collected. The expression levels of miR-4744 and RIOK2 messenger RNA(mRNA) were detected by real-time fluorescent quantitative PCR, and RIOK2 protein expression was detected by immunohistochemistry. Analyze the relationship between the expression levels of miR-4744 and RIOK2 mRNA in glioma tissue and the clinical pathological characteristics of patients, the correlation between miR-4744 and RIOK2 mRNA expression levels, the relationship between miR-4744 and RIOK2 mRNA expression lev-

els and prognosis, the influencing factors of prognosis in glioma patients, and the predictive value of miR-4744 and RIOK2 mRNA expression levels on patient mortality within 5 years after surgery. **Results** Compared with adjacent tissues, the expression level of miR-4744 in glioma tissue was significantly reduced, and the positive rates of RIOK2 mRNA and protein were significantly increased ($t\chi^2/P=44.282/<0.001$, $15.538/<0.001$, $101.868/<0.001$). The expression levels of miR-4744 and RIOK2 mRNA in glioblastoma tissue were correlated with tumor grade, distant metastasis, and Kappa's functional state (KPS) score (miR-4744: $t/P=33.443/<0.001$, $45.773/<0.001$, $37.920/<0.001$; RIOK2: $11.453/0.001$, $16.650/<0.001$, $16.592/<0.001$). There is a negative correlation between miR-4744 and RIOK2 mRNA expression level in glioma tissue ($r/P=-0.636/<0.001$). The 5-year survival rate of patients in the miR-4744 low expression group is lower than that in the miR-4744 high expression group, and the 5-year survival rate of patients in the RIOK2 mRNA high expression group is lower than that in the RIOK2 mRNA low expression group ($\chi^2/P=20.874/<0.001$, $10.437/0.001$). Tumor grade III-IV, presence of distant metastasis, KPS score <80 , low expression of miR-4744, and high expression of RIOK2 mRNA are independent risk factors for 5-year mortality in glioma patients [$HR(95\% CI)=2.224 (1.297-3.813)$, $2.442 (1.408-4.237)$, $2.815 (1.506-5.261)$, $2.140 (1.173-3.907)$, $2.114 (1.129-3.958)$]. Compared with the survival group, the expression level of miR-4744 in glioma tissue of the death group was significantly reduced, while the expression level of RIOK2 mRNA was significantly increased ($t/P=8.146/<0.001$, $3.324/0.001$). The area under the curve (AUC) predicted by miR-4744, RIOK2 mRNA, and their combination for 5-year mortality were 0.752, 0.711, and 0.885, respectively. The AUC predicted by the combination of miR-4744 and RIOK2 mRNA was higher than that predicted by miR-4744 and RIOK2 mRNA alone ($Z/P=3.147/0.002$, $3.531/0.004$). **Conclusion** The expression of miR-4744 is low in glioma tissue, while the expression of RIOK2 mRNA is high. The two are negatively correlated and jointly regulate the progression of glioma patients, which has high value in predicting patient prognosis.

【Key words】 Glioma; MicroRNA-4744; Right open reading frame kinase 2; Prognosis

脑胶质瘤恶性程度高、进展快、预后差,且多数情况下手术无法完全切除^[1-2]。脑胶质瘤的预后评估具有重要意义,然而目前缺乏科学有效的判断方法。微小 RNA(miRNA)可以与其他信使 RNA(mRNA)的 3'-非翻译区结合调节超过 70% 人类基因的表达^[3]。研究发现,miRNA 可参与调控影响肿瘤发生发展的肿瘤细胞增殖和侵袭等生物学行为^[4]。微小 RNA-4744(miR-4744)是通过二代测序在脑胶质瘤组织中鉴定的一种新 miRNA,其过表达可抑制脑胶质瘤细胞迁移和侵袭^[5],但 miR-4744 是否可影响脑胶质瘤患者预后尚未可知。右开放阅读框激酶 2(RIOK2)是蛋白激酶(RIO)家族的成员,又被称为非典型激酶^[6-7]。RIOK2 在胶质母细胞瘤细胞中高表达,其过表达促进细胞增殖,其下调导致细胞凋亡并增加对化疗的敏感性^[8-9]。因此,RIOK2 在恶性肿瘤的进展中发挥促进作用,可能作为脑胶质瘤患者预后评估的生物指标。本研究检测 miR-4744、RIOK2 在脑胶质瘤组织中的表达,分析二者与患者临床病理特征和预后的关系,以期对脑胶质瘤患者的预后评估提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2014 年 12 月—2017 年 11 月河北北方学院附属第一医院神经外科收治脑胶质瘤患者 102 例作为研究对象,手术中收集脑胶质瘤组织及相对应的癌旁正常组织(距肿瘤边缘 ≥ 3 cm)。男 58 例,女 44 例,年龄 43 ~ 66 (55.03 ± 7.93) 岁;肿瘤部

位:额叶 63 例,颞叶 25 例,其他 14 例;肿瘤直径: <3 cm 50 例, ≥ 3 cm 52 例;依据“中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南”^[10]肿瘤分级标准进行分级: I ~ II 级 57 例, III ~ IV 级 45 例;有远处转移者 56 例,无远处转移者 46 例;卡氏功能状态(KPS)评分^[11]: ≥ 80 分 55 例, <80 分 47 例。本研究经医院伦理委员会批准(LS2014-083),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患者符合相关指南制定的诊断标准^[10],并结合病理检查和头颅 CT 检查结果最终确诊;②患者均为首次确诊,入院前未接受临床干预措施;③均行手术切除。(2)排除标准:①合并精神疾病;②合并其他脑部疾病;③心、肝、肾功能严重损害;④合并其他恶性肿瘤;⑤临床及随访资料不全;⑥妊娠、哺乳期女性。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR 法检测 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平:将脑胶质瘤组织及癌旁正常组织匀浆,Trizol 试剂盒(批号 RJ6829,购自北京鸿跃创新科技有限公司)提取组织中总 RNA,逆转录得到 cDNA,使用荧光定量 PCR 仪(型号 Quantagene Q225,购自天津迦美惠众科技有限公司)及 PCR 试剂盒(批号 HJ-39115,购自杭州九洋生物科技有限公司)进行扩增。miR-4744(内参基因 U6)、RIOK2 mRNA(内参基因 GAPDH)的引物序列均由南京有晴生物科技有限公司

合成,引物序列见表 1。反应条件:96℃ 3 min、95℃ 30 s、59℃ 30 s、72℃ 40 s、71℃ 5 min,共进行 38 个循环。反应结束收集相应数据,并进行 Ct 值分析,以 2^{-ΔΔCt} 算法计算 miR-4744、RIOK2 mRNA 的相对表达量。

表 1 miR-4744、RIOK2 mRNA 引物序列
Tab. 1 miR-4744, RIOK2 mRNA primer sequences

基 因	正向引物	反向引物
miR-4744	5'-GGGTCTAAAGAC-TAGACTTC-3'	5'-CAGTGCGTGTCTGTCGAGT-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCA-CA-3'	5'-AACGCTTCACGAATTT-GCGT-3'
RIOK2 mRNA	5'-GGAGCGTAC-CAAACTGTCCA-3'	5'-TCATG-GCAGAGAGACGAGAT-3'
GAPDH	5'-GAGTCAACGGATTTG-GTCGT-3'	5'-GACAAGCTTCCCGTTCT-CAG-3'

1.3.2 免疫组化法检测 RIOK2 蛋白表达:制作脑胶质瘤组织和癌旁组织石蜡切片,脱蜡,修复抗原,3% H₂O₂ 浸泡 15 min,阻断过氧化氢酶活性,加入兔抗人 RIOK2 单克隆抗体(批号 HPA029069,购自德国 Sigma 公司),室温孵育 1 h,4℃ 过夜,磷酸盐缓冲液清洗 1 次,而后加入二抗(批号 PA1173,购自广东固康生物科技有限公司)孵育 20 min,最后使用苏木素复染,脱水、封片,显微镜下观察染色结果:RIOK2 蛋白染色阳性信号定位于胞质,呈中棕黄色颗粒,依据着色程度和着色百分比进行评定。着色程度:未着色 0 分,浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分。着色百分比:无染色记 0 分,<25% 记 1 分,25% ~ <50% 记 2 分,50% ~ <75% 记 3 分,≥75% 记 4 分^[12]。两者乘积为半定量评价标准,≤2 分为阴性,>2 分为阳性。

1.3.3 预后随访:采用电话或门诊方式随访,随访期为 5 年,随访截止日期 2022 年 11 月 30 日。记录患者术后第 1 天到 5 年后的生存情况:102 例均获访,患者死亡(死亡组)47 例,生存(存活组)55 例。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ^2 检验;Pearson 法分析脑胶质瘤组织 miR-4744 与 RIOK2 mRNA 表达水平的相关性;Kaplan-Meier 法分析脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与预后的关系;Cox 回归分析脑胶质瘤患者预后的影响因素;受试者工作特征曲线(ROC)评估脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平对患者 5 年内死亡的预测价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脑胶质瘤组织和癌旁组织 miR-4744、RIOK2 表达比较 与癌旁组织比较,脑胶质瘤组织中 miR-4744 表达水平明显降低,RIOK2 mRNA 和蛋白阳性率明显升高(*P* < 0.01),见表 2、图 1。

表 2 脑胶质瘤组织和癌旁组织 miR-4744、RIOK2 表达比较
Tab. 2 Comparison of miR-4744 and RIOK2 expression between glioma tissue and adjacent cancer tissue

组 织	例数	miR-4744 ($\bar{x} \pm s$)	RIOK2 mRNA ($\bar{x} \pm s$)	RIOK2 蛋白阳性率[例(%)]
癌旁组织	102	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	14(13.73)
脑胶质瘤组织	102	0.43 ± 0.13	1.60 ± 0.39	86(84.31)
<i>t</i> / χ^2 值		44.282	15.538	101.868
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

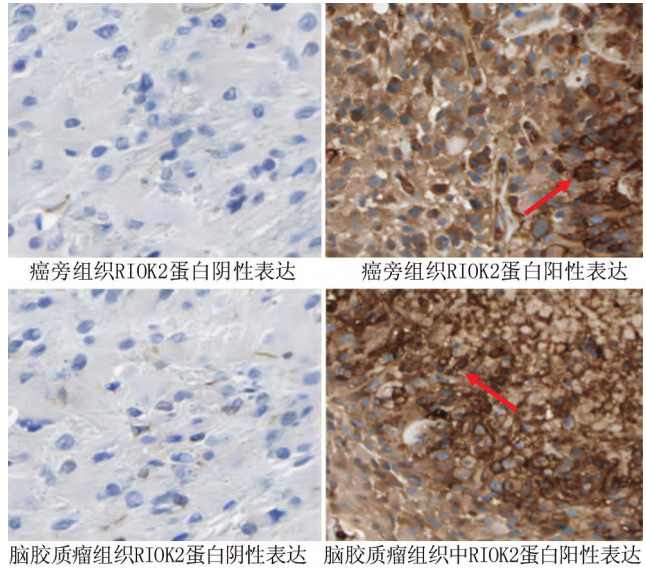


图 1 脑胶质瘤组织和癌旁组织 RIOK2 蛋白表达情况(免疫组化染色,×200)

Fig. 1 Expression of RIOK2 protein in glioma tissue and adjacent tissues (immunohistochemical staining, × 200)

2.2 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与患者临床病理特征的关系 分别以脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平的平均值(0.43、1.60)为临界值(≥平均值为高表达,<平均值为低表达),将患者分为 miR-4744 低表达组 51 例、miR-4744 高表达组 51 例;RIOK2 mRNA 低表达组 34 例、RIOK2 mRNA 高表达组 68 例。结果发现,脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤部位无关(*P* > 0.05),与肿瘤分级、远处转移、KPS 评分有关(*P* < 0.01),见表 3。

表 3 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与患者临床病理特征的关系 [例(%)]

Tab. 3 Relationship between miR-4744 and RIOK2 mRNA expression levels in glioma tissue and clinical pathological characteristics of patients

项 目	例数	miR-4744 低表达组 (n = 51)	miR-4744 高表达组 (n = 51)	χ^2 值	P 值	RIOK2 mRNA 低表达组(n = 34)	RIOK2 mRNA 高表达组(n = 68)	χ^2 值	P 值
性别									
男	58	31(53.45)	27(46.55)	0.639	0.424	19(32.76)	39(67.24)	0.020	0.888
女	44	20(45.45)	24(54.55)			15(34.09)	29(65.91)		
年龄									
<55 岁	54	28(51.85)	26(48.15)	0.157	0.692	16(29.63)	38(70.37)	0.708	0.400
≥55 岁	48	23(47.92)	25(52.08)			18(37.50)	30(62.50)		
肿瘤直径									
<3 cm	50	27(54.00)	23(46.00)	0.628	0.428	18(36.00)	32(64.00)	0.314	0.575
≥3 cm	52	24(46.15)	28(53.85)			16(30.77)	36(69.23)		
肿瘤分级									
I ~ II 级	57	14(24.56)	43(75.44)	33.443	<0.001	27(47.37)	30(52.63)	11.453	0.001
III ~ IV 级	45	37(82.22)	8(17.78)			7(15.56)	38(84.44)		
远处转移									
否	46	6(13.04)	40(86.96)	45.773	<0.001	25(54.35)	21(45.65)	16.650	<0.001
是	56	45(80.36)	11(19.64)			9(16.07)	47(83.93)		
KPS 评分									
≥80 分	55	12(21.82)	43(78.18)	37.920	<0.001	28(50.91)	27(49.09)	16.592	<0.001
<80 分	47	39(82.98)	8(17.02)			6(12.77)	41(87.23)		
肿瘤部位									
额叶	63	31(49.21)	32(50.79)	0.056	0.972	22(34.92)	41(65.08)	0.234	0.889
颞叶	25	13(52.00)	12(48.00)			8(32.00)	17(68.00)		
其他	14	7(50.00)	7(50.00)			4(28.57)	10(71.43)		

2.3 脑胶质瘤组织 miR-4744 与 RIOK2 mRNA 表达水平的相关性分析 Pearson 相关分析显示,脑胶质瘤组织 miR-4744 与 RIOK2 mRNA 表达水平呈负相关($r = -0.636, P < 0.001$)。

2.4 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与预后的关系 Kaplan-Meier 法分析显示,miR-4744 低表达组患者 5 年生存率为 31.37% (16/51),低于 miR-4744 高表达组的 76.47% (39/51),差异有统计学意义($\chi^2 = 20.874, P < 0.001$);RIOK2 mRNA 高表达组患者 5 年生存率为 42.65% (29/68),低于 RIOK2 mRNA 低表达组的 76.47% (26/34),差异有统计学意义($\chi^2 = 10.437, P = 0.001$),见图 2。

2.5 多因素 Cox 回归分析脑胶质瘤患者预后的影响因素 以脑胶质瘤患者 5 年内生存情况(生存 = 0,死亡 = 1)为因变量,以肿瘤分级(I ~ II 级 = 0, III ~ IV 级 = 1)、远处转移(否 = 0,是 = 1)、KPS 评分(≥80 分 = 0, <80 分 = 1)、miR-4744(高表达 = 0,低表达 = 1)、RIOK2 mRNA(低表达 = 0,高表达 = 1)为自变量进行多因素 Cox 回归分析。结果显示,肿瘤分级 III ~ IV 级、有远处转移、KPS 评分 <80 分、miR-4744 低表达、RIOK2 mRNA 高表达是脑胶质瘤患者 5 年内死亡的独立危险因素($P < 0.05$),见表 4。

2.6 存活组和死亡组脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平比较 与存活组比较,死亡组脑胶质瘤组织 miR-4744 表达水平明显降低,RIOK2 mRNA 表

达水平明显升高($P < 0.01$),见表 5。

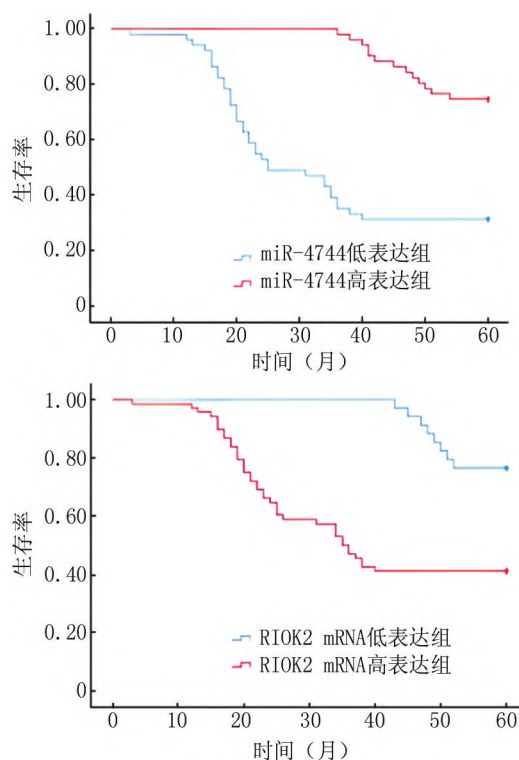


图 2 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平与预后的关系

Fig. 2 Relationship between miR-4744, RIOK2 mRNA expression levels and prognosis in glioma tissue

表 4 多因素 Cox 回归分析脑胶质瘤患者预后的影响因素

Tab. 4 Multivariate Cox regression analysis of prognostic factors in glioma patients

影响因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
肿瘤分级Ⅲ~Ⅳ级	0.799	0.275	8.448	0.004	2.224	1.297~3.813
有远处转移	0.893	0.281	10.099	0.001	2.442	1.408~4.237
KPS 评分<80 分	1.035	0.319	10.527	0.001	2.815	1.506~5.261
miR-4744 低表达	0.761	0.307	6.145	0.013	2.140	1.173~3.907
RIOK2 mRNA 高表达	0.749	0.320	5.472	0.019	2.114	1.129~3.958

表 5 存活组和死亡组脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Comparison of miR-4744 and RIOK2 mRNA expression levels in glioma tissues between survival and death groups

组别	例数	miR-4744	RIOK2 mRNA
存活组	55	0.55 ± 0.17	1.46 ± 0.36
死亡组	47	0.32 ± 0.10	1.72 ± 0.43
t 值		8.146	3.324
P 值		<0.001	0.001

2.7 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平对患者 5 年内死亡的预测价值 绘制脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平对患者 5 年内死亡的预测价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示,脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 及两者联合预测患者 5 年内死亡的 AUC 分别为 0.752、0.711、0.885,两者联合预测患者 5 年内死亡的 AUC 高于 miR-4744、RIOK2 mRNA 单独预测的 AUC ($Z/P=3.147/0.002$ 、 $3.531/0.004$),见表 6、图 3。

表 6 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平对患者 5 年内死亡的预测价值

Tab. 6 Predictive value of miR-4744 and RIOK2 mRNA expression levels in glioma tissue for 5-year mortality in patients

项目	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
miR-4744	0.47	0.752	0.657~0.832	0.771	0.778	0.549
RIOK2 mRNA	1.54	0.711	0.613~0.796	0.622	0.712	0.334
两者联合		0.885	0.807~0.940	0.917	0.632	0.549

3 讨论

脑胶质瘤按照其恶性程度分为低级别(Ⅰ~Ⅱ级)和高级别(Ⅲ~Ⅳ级)胶质瘤,不同级别脑胶质瘤的治疗方法也不尽相同,预后也相差较大^[13-14]。对临床来说,找到有效的胶质瘤预后判断指标很有必要。miRNA 可作为癌基因或肿瘤抑制因子,大量研究揭示了 miRNA 在胶质瘤进展中的失调^[15]。Qiu 等^[16]研究显示,胶质瘤患者脑脊液中 miR-1246 呈低表达,与胶质瘤复发率相关,miR-1246 升高可抑制胶

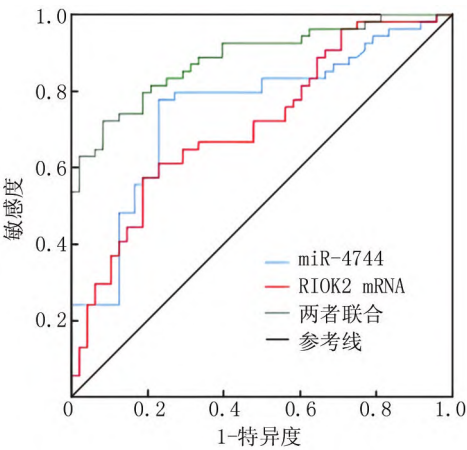


图 3 脑胶质瘤组织 miR-4744、RIOK2 mRNA 表达水平预测患者 5 年内死亡的 ROC 曲线
Fig. 3 ROC curve of miR-4744 and RIOK2 mRNA expression levels in glioma tissue predicting 5-year mortality in patients

质母细胞瘤的活化与生长。Song 等^[5]研究发现,miR-4744 可负向调控 RIOK2 表达来抑制胶质瘤细胞上皮间充质转化和生长。本研究发现,脑胶质瘤组织中 miR-4744 表达水平显著低于癌旁组织,且 miR-4744 表达水平与肿瘤分级、远处转移、KPS 评分有关,与 Song 等^[5]研究结果相符,表明 miR-4744 参与脑胶质瘤的发生过程,且影响疾病的进展。Kaplan-Meier 法分析结果显示,miR-4744 低表达患者 5 年生存率低于 miR-4744 高表达患者,死亡组 miR-4744 表达水平低于存活组,说明 miR-4744 与患者预后有关,其低表达可能提示脑胶质瘤患者预后不良。随后的 Cox 回归分析也显示,miR-4744 低表达是脑胶质瘤患者 5 年内死亡的独立危险因素。为评估 miR-4744 在脑胶质瘤患者预后中的应用价值,本研究进行了 ROC 曲线分析,结果发现 miR-4744 预测患者 5 年内死亡的 AUC 为 0.752,表明其对脑胶质瘤患者预后有一定的预测价值。RIO 激酶参与前糖体 RNA 加工和核糖体生物合成,其在核糖体合成和细胞周期进程中都发挥着关键作用,可调节肿瘤细胞生长^[17-18]。近年来,关于 RIO 激酶参与肿瘤的研究逐渐增多。Messling 等^[19]发现,

靶向抑制 RIOK2 可促使急性髓系白血病蛋白质合成减少和白血病细胞死亡。Matsuzaki 等^[20]研究报道, RIOK2 水平与舌鳞状细胞癌患者生存率密切相关, 敲低 RIOK2 表达可抑制口腔鳞状细胞癌细胞的生长。Yu 等^[21]研究发现, RIOK2 在胶质母细胞瘤中过度表达, 抑制 RIOK2 活性可使胶质母细胞瘤细胞周期阻滞和凋亡, 从而发挥抗肿瘤作用。本研究发现, 脑胶质瘤组织中 RIOK2 mRNA 和蛋白阳性率明显高于癌旁组织, 且 RIOK2 mRNA 表达水平与肿瘤分级、远处转移、KPS 评分有关, 与 Yu 等^[21]研究结果一致, 说明 RIOK2 可能参与了脑胶质瘤的发生和进展, 且与脑胶质瘤的恶性程度相关。上皮间质转化是导致胶质母细胞瘤侵袭特征的机制之一, 其特点是上皮标志物(如 E-钙黏蛋白)缺失和间充质标志物(如 N-钙黏蛋白、 β -连环蛋白)增加, 被认为是胶质瘤侵袭性的重要调节因子^[22]。推测 RIOK2 的过表达可能提高 N-钙黏蛋白、 β -连环蛋白的表达, 使得肿瘤细胞向周围组织或远处扩散的能力增加, 加剧癌症进程。Kaplan-Meier 生存分析结果显示, RIOK2 mRNA 高表达患者 5 年生存率低于 RIOK2 mRNA 低表达患者, RIOK2 mRNA 高表达是脑胶质瘤患者 5 年内死亡的独立危险因素, 且死亡组脑胶质瘤组织 RIOK2 mRNA 表达水平高于存活组, 表明 RIOK2 高表达与脑胶质瘤患者不良预后相关。进一步 ROC 曲线分析结果显示, RIOK2 mRNA 预测脑胶质瘤患者 5 年内死亡的 AUC 为 0.711, 而 miR-4744 和 RIOK2 mRNA 两者联合预测的 AUC 为 0.885, 提示两者联合预测脑胶质瘤患者预后的价值更高。

Gao 等^[9]报道称 miR-4744 可以与 RIOK2 的 3'-非翻译区结合并负调控 RIOK2 的表达, 且 miR-4744 对胶质瘤细胞的抑制作用可被 RIOK2 过表达逆转。本研究相关性分析显示, 脑胶质瘤组织 miR-4744 与 RIOK2 mRNA 表达水平呈负相关, 与其研究结果一致。

综上所述, miR-4744 在脑胶质瘤组织中低表达, RIOK2 mRNA 在脑胶质瘤组织中高表达, 二者呈负相关, 共同调控脑胶质瘤患者的病情进展, 且 miR-4744、RIOK2 mRNA 联合对患者预后预测具有较高价值。但关于二者调控脑胶质瘤进展的机制仍需进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

段升强:设计研究方案, 实施研究过程, 课题设计, 论文撰写; 乔建新:提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 徐新文:实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 刘熙鹏、张秀峰:进行统计学分析

参考文献

[1] Di W, Fan W, Wu F, et al. Clinical characterization and immunosup-

pressive regulation of CD161 (KLRB1) in glioma through 916 samples [J]. *Cancer Sci*, 2022, 113 (2): 756-769. DOI: 10.1111/cas.15236.

[2] 朱一硕, 崔玉洁, 刘崎, 等. 脑胶质瘤患者术后早期复发危险因素分析及预测模型构建 [J]. *国际肿瘤学杂志*, 2022, 49 (2): 79-83. DOI: 10.3760/cma.j.cn371439-20210121-00012.

Zhu YS, Cui YJ, Liu Q, et al. Analysis of risk factors and prediction model establishment for early postoperative recurrence in glioma patients [J]. *Journal of International Oncology*, 2022, 49 (2): 79-83. DOI: 10.3760/cma.j.cn371439-20210121-00012.

[3] Song Y, Jiao H, Lin Q, et al. Identification of the mir-423-3p/vldlr regulatory network for glioma using transcriptome analysis [J]. *Neurochem Res*, 2022, 47 (12): 3864-3901. DOI: 10.1007/s11064-022-03774-y.

[4] 王宏欣, 付苏, 淳雪莉, 等. miR-4539 通过靶向作用于叉头盒转录因子 1 抑制胶质瘤细胞生长的实验研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32 (5): 91-97. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.05.013.

Wang HX, Fu S, Chun XL, et al. miR-4539 inhibits the growth of glioma cells by targeting Foxp1 [J]. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 2022, 32 (5): 91-97. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.05.013.

[5] Song Y, Li C, Jin L, et al. RIOK2 is negatively regulated by miR-4744 and promotes glioma cell migration/invasion through epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24 (8): 4494-4509. DOI: 10.1111/jcmm.15107.

[6] Ghosh S, Raundhal M, Myers SA, et al. Identification of RIOK2 as a master regulator of human blood cell development [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23 (1): 109-121. DOI: 10.1038/s41590-021-01079-w.

[7] Du X, Zhou D, Zhou J, et al. RIOK3-mediated Akt phosphorylation facilitates synergistic replication of Marek's disease and reticuloendotheliosis viruses [J]. *Virulence*, 2022, 13 (1): 1184-1198. DOI: 10.1080/21505594.2022.2096247.

[8] Wang Y, Xie X, Li S, et al. Co-overexpression of RIOK1 and AKT1 as a prognostic risk factor in glioma [J]. *J Cancer*, 2021, 12 (19): 5745-5752. DOI: 10.7150/jca.60596.

[9] Gao S, Sha Z, Zhou J, et al. BYSL contributes to tumor growth by co-operating with the mTORC2 complex in gliomas [J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18 (1): 88-104. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0096.

[10] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南 (2015) [J]. *中华医学杂志*, 2016, 96 (7): 485-509. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.07.003.

《Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of glioma in the central nervous system》writing group. Chinese Guidelines for the diagnosis and treatment of glioma in the central nervous system (2015) [J]. *National Medical Journal of China*, 2016, 96 (7): 485-509. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.07.003.

[11] Gunawan PY, Islam AA, July J, et al. Karnofsky performance scale and neurological assessment of neuro-oncology scale as early predictor in glioma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21 (11): 3387-3392. DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.11.3387.

- [12] 田伟,李峰,张彬. STRAP 在人脑胶质瘤组织中的表达及临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2020, 25(8): 510-512, 516. DOI: 10.13798/j. issn. 1009-153X. 2020. 08. 005.
- Tian W, Li F, Zhang B. Expression of serine threonine kinase receptor associated protein in human glioma tissues and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Clinical Neurosurgery, 2020, 25(8): 510-512, 516. DOI: 10.13798/j. issn. 1009-153X. 2020. 08. 005.
- [13] 周祥,王仲伟,常海刚,等. ITGA3 在脑胶质瘤中的表达及其对预后的评估价值[J]. 中华神经医学杂志, 2022, 21(3): 232-241. DOI: 10.3760/cma. j. cn115354-20211012-00654.
- Zhou X, Wang ZW, Chang HG, et al. Integrin alpha 3 expression in glioma and its prognostic value in glioma patients[J]. Chinese Journal of Neuromedicine, 2022, 21(3): 232-241. DOI: 10.3760/cma. j. cn115354-20211012-00654.
- [14] 康鹏,原林皓,彭嘉宜,等. 甲基转移酶样 7B 在中国人群脑胶质瘤中的表达及预后分析[J]. 中华神经外科杂志, 2020, 36(6): 587-592. DOI: 10.3760/cma. j. cn112050-20191125-00498.
- Kang P, Yuan LH, Peng JY, et al. Expression and prognostic characteristics of methyltransferase-like 7B in Chinese glioma patients[J]. Chinese Journal of Neurosurgery, 2020, 36(6): 587-592. DOI: 10.3760/cma. j. cn112050-20191125-00498.
- [15] 宋旭东,罗波,陈华轩,等. miR-105 联合 MMP-2 预测脑胶质瘤术后复发的临床价值分析[J]. 东南大学学报: 医学版, 2022, 41(5): 615-623. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6264. 2022. 05. 003.
- Song XD, Luo B, Chen HX, et al. The clinical value of miR-105 in combination with MMP-2 predicting the postoperative recurrence of glioma of the brain[J]. Journal of Southeast University: Medical Science Edition, 2022, 41(5): 615-623. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6264. 2022. 05. 003.
- [16] Qiu W, Guo X, Li B, et al. Exosomal miR-1246 from glioma patient body fluids drives the differentiation and activation of myeloid-derived suppressor cells[J]. Mol Ther, 2021, 29(12): 3449-3464. DOI: 10.1016/j. ymthe. 2021. 06. 023.
- [17] 王雯,蒲育,赵东利. RIOK2 与食管鳞状细胞癌根治术后患者预后的关系[J]. 国际消化病杂志, 2021, 41(5): 365-369. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-534X. 2021. 05. 011.
- Wang W, Pu Y, Zhao DL. Relationship between RIOK2 and prognosis of patients after radical resection of esophageal squamous cell carcinoma[J]. International Journal of Digestive Diseases, 2021, 41(5): 365-369. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-534X. 2021. 05. 011.
- [18] Wang CB, Lorente-Macías A, Wells C, et al. Towards a RIOK2 chemical probe: cellular potency improvement of a selective 2-(acylamino)pyridine series[J]. RSC Med Chem, 2020, 12(1): 129-136. DOI: 10.1039/d0md00292e.
- [19] Messling JE, Agger K, Andersen KL, et al. Targeting RIOK2 ATPase activity leads to decreased protein synthesis and cell death in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2022, 139(2): 245-255. DOI: 10.1182/blood. 2021012629.
- [20] Matsuzaki Y, Naito Y, Miura N, et al. RIOK2 contributes to cell growth and protein synthesis in human oral squamous cell carcinoma[J]. Curr Oncol, 2022, 30(1): 381-391. DOI: 10.3390/curren-col30010031.
- [21] Yu M, Hu X, Yan J, et al. RIOK2 inhibitor nsc139021 exerts anti-tumor effects on glioblastoma via inducing skp2-mediated cell cycle arrest and apoptosis[J]. Biomedicines, 2021, 9(9): 1244. DOI: 10.3390/biomedicines9091244.
- [22] Zhao B, Ye X, Yang Y, et al. Knockdown of ER-α36 expression inhibits glioma proliferation, invasion and epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Anat Rec (Hoboken), 2022, 305(2): 321-332. DOI: 10.1002/ar. 24723.

(收稿日期: 2023-02-18)

(上接 612 页)

- [18] 田琴,田文芳,柳春霞. 缺血性脑卒中患者外周血中 Keap1-Nrf2/ARE 通路功能的变化及临床意义[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(3): 421-424. DOI: 10.13210/j. cnki. jhmu. 20180207. 001.
- Tian Q, Tian WF, Liu CX. The changes and clinical significance of Keap1-Nrf2/ARE pathway function in peripheral blood in patients with ischemic stroke[J]. J Hainan Med Univ, 2018, 24(3): 421-424. DOI: 10.13210/j. cnki. jhmu. 20180207. 001.
- [19] 王亚楠,刘佳,张林,等. Keap1/Nrf2/ARE 信号通路调控线粒体分裂在脑缺血/再灌注损伤中的作用[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2020, 41(4): 321-325. DOI: 10.3760/cma. j. cn321761-20190415-00001.
- Wang YN, Liu J, Zhang L, et al. Effects of Kelch-like ECH-associated protein 1/nuclear factor-E2-related factor 2/antioxidant response element signaling pathway on the regulation of mitochondrial fission in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Int J Anesth Resusc, 2020, 41(4): 321-325. DOI: 10.3760/cma. j. cn321761-20190415-00001.
- [20] 张立攀,朱云亮. 丁苯酞胶囊联合脑蛋白水解物对急性脑梗死患者 NIHSS 评分及 Keap1-Nrf2/ARE 信号传导通路的影响[J]. 河北医学, 2020, 26(9): 1454-1460. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-6233. 2020. 09. 012.
- Zhang LP, Zhu YL. Effects of Butylphthalide Soft Capsule combined with Brain Protein Hydrolysate on NIHSS score and Keap1-Nrf2/ARE signaling pathway in patients with acute cerebral infarction[J]. Hebei Med, 2020, 26(9): 1454-1460. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-6233. 2020. 09. 012.
- [21] Zhang X, Yuan M, Yang S, et al. Enriched environment improves post-stroke cognitive impairment and inhibits neuroinflammation and oxidative stress by activating Nrf2-ARE pathway[J]. Int J Neurosci, 2021, 131(7): 641-649. DOI: 10.1080/00207454. 2020. 1797722.
- [22] 姚娟,吴平安,李芸,等. Keap1-Nrf2-ARE 信号通路及其激活剂的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(10): 1342-1346. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-1978. 2019. 10. 003.
- Yao J, Wu PA, Li Y, et al. Research progress of small molecule activators in Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway[J]. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35(10): 1342-1346. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-1978. 2019. 10. 003.
- [23] Shi M, Wang J, Bi F, et al. Diosmetin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury through Keap1-mediated Nrf2/ARE signaling pathway activation and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. Environ Toxicol, 2022, 37(6): 1529-1542. DOI: 10.1002/tox. 23504.

(收稿日期: 2023-02-16)