

· 论著 ·

PD-1、PD-L1、miRNA let-7a1及let-7c在非小细胞肺癌组织中表达意义分析

钱宇清 于俊才*

江苏省第二中医院检验科(江苏 南京 210017)

【摘要】目的 分析程序性死亡-1(PD-1)、程序性死亡受体配体1(PD-L1)与微小RNA(miRNA)let-7a1、let-7c在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达。**方法** 选取2022年9月至2023年9月本院收治的200例NSCLC患者,采集其癌组织、癌旁正常组织,检测比较不同组织内PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达差异;另分析四项指标与患者各项临床病理特征间的关系。**结果** 癌组织内的PD-1、PD-L1阳性率高于癌旁正常组织,let-7a1、let-7c相对表达量低于癌旁正常组织($P<0.05$);PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达与NSCLC患者的临床分期、淋巴结转移、分化程度有关($P<0.05$)。**结论** PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c参与NSCLC的发生、发展。

【关键词】 非小细胞肺癌;淋巴结转移;相对表达量

【中图分类号】 R734.2

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.9.016

Expression Significance of PD-1, PD-L1, miRNA let-7a1 and Let-7c in Non-small Cell Lung Cancer Tissues

QIAN Yu-qing, YU Jun-cai*

Laboratory Department, Jiangsu Second Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanjing 210017, Jiangsu Province, China

Abstract: Objective To analyze the expression of programmed death 1 (PD-1), programmed death receptor ligand 1 (PD-L1), and microRNA (miRNA) let-7a1 and let-7c in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 200 NSCLC patients admitted to our hospital from September 2022 to September 2023 were selected, and their cancer tissues and adjacent normal tissues were collected. The expression differences of PD-1, PD-L1, let-7a1, and let-7c in different tissues were detected and compared; analyze the relationship between four indicators and various clinical and pathological characteristics of patients. **Results** The positive rates of PD-1 and PD-L1 in cancer tissue were higher than those in normal tissue adjacent to cancer, and the relative expression levels of let-7a1 and let-7c were lower than those in normal tissue adjacent to cancer ($P<0.05$); The expression of PD-1, PD-L1, let-7a1, and let-7c is related to the clinical stage, lymph node metastasis, and differentiation degree of NSCLC patients ($P<0.05$). **Conclusion** PD-1, PD-L1, let-7a1, and let-7c are involved in the occurrence and development of NSCLC.

Keywords: Non Small Cell Lung Cancer; Lymph Node Metastasis; Relative Expression Level

非小细胞肺癌(NSCLC)是临床多发的恶性肿瘤,发病率、死亡率在临床均处在较高水平,给居民的身心安全造成较多威胁^[1-2]。NSCLC起病隐匿,早期缺乏典型症状,容易误诊,影响患者预后^[3-4]。因此,对该病做到早发现、早治疗,对于确保患者获得一个好的预后十分重要。免疫系统在肿瘤转移、增殖过程中扮演重要角色,程序性死亡-1(PD-1)、程序性死亡受体配体1(PD-L1)属于负性T细胞刺激因子,会形成负性调节机制免疫应答,并可介导免疫逃逸^[5-6]。微小RNA(miRNA)大范围的分布在真核生物体内,参与调节多种肿瘤的发生、发展、转移等过程。let-7是临床研究最多的miRNA之一,而let-7a1、let-7c是let-7家族成员,可作为癌基因或者抑癌基因参与肿瘤的发生、发展。目前,临床关于PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c在NSCLC患者体内表达方面的研究较少。基于此,本研究以2022年9月至2023年9月本院收治的200例NSCLC患者为对象,探究四者与此类患者的关系。信息如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2022年9月至2023年9月本院收治的200例NSCLC患者。

纳入标准:病理检查确诊;无其余恶性肿瘤;依从性良好;生命体征平稳。排除标准:孕妇;有传染性疾病者;合并血液系统病症者;凝血系统异常者;重要脏器功能不全者;有精神疾病者;合并严重感染者。200例患者中,男性共134例,女性共66例;年龄41-76岁,平均年龄(60.35±3.49)岁;临床分期:103例

分化程度:88例低分化,62例中分化,50例高分化。

1.2 方法 200例患者均于术中取其癌组织、癌旁正常组织,以免疫组织化学法测定PD-1、PD-L1阳性率,步骤如下:首先运用10%甲醇溶液将不同组织标本进行24h的固定,石蜡包埋,将其制为4 μ m切片;修复抗原,将3%过氧化氢溶液滴入,开展15min的孵育,结束后运用磷酸缓冲盐溶液(PBS)清洗;以10%山羊血清进行30min封闭,将一抗滴入,第2d再运用PBS清洗,滴入二抗,开展30min的孵育,最后染色、脱水、封片、镜检。阳性评估依据:①染色强度:不着色为0分;淡黄色为1分;棕黄色为2分;深褐色为3分。②阳性表达率:1%-10%为1分;11%-50%为2分;>50%为3分。染色强度、阳性表达率相乘得分>3分者判定为阳性,反之为阴性。另以实时荧光定量-聚合酶链反应法(qRT-PCR)测定不同标本内的let-7a1、let-7c相对表达量,步骤如下:运用血浆RNA提取试剂盒取得不同标本中的总RNA,开展逆转录反应获得cDNA;之后对逆转录产物扩增;以U6作为内参,采取2- $\Delta\Delta$ Ct法计算let-7a1、let-7c相对表达量。同时,以let-7a1、let-7c相对表达量平均值当成分界线,高表达为>平均值,反之为低表达。

1.3 观察指标 (1)不同标本内PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达对比:比较分析癌组织、癌旁正常组织内各项指标的差异。(2)PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达与NSCLC患者临床病理特征的关系。

1.4 统计学方法 选用SPSS 20.0分析数据,计数资料“n(%)”表达,以 χ^2 检验;计量资料“ $\bar{x}\pm s$ ”表达,以t检验;以 $P<0.05$

【第一作者】 钱宇清,女,副主任检验技师,主要研究方向:临床生物化学及分子生物学。E-mail: WRY0000@126.com

【通讯作者】 于俊才,男,检验师,主要研究方向:生物化学及分子生物学。E-mail: yujuncai112@126.com

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同标本内PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达对比

癌组织内的PD-1、PD-L1阳性率高于癌旁正常组织，let-7a1、let-

7c相对表达量低于癌旁正常组织($P < 0.05$)，见表1。

2.2 PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达与NSCLC患者临床病理特征的关系

PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达与NSCLC患者的临床分期、淋巴结转移、分化程度有关($P < 0.05$)，见表2。

表1 不同标本内PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达对比

组别	PD-1阳性率(%)	PD-L1阳性率(%)	let-7a1相对表达量	let-7c相对表达量
癌旁正常组织(n=200)	20(10.00)	29(14.50)	1.26±0.38	1.59±0.38
癌组织(n=200)	58(29.00)	64(32.00)	0.91±0.25	1.14±0.34
χ^2/t	22.997	17.162	10.882	12.481
P	0.000	0.000	0.000	0.000

表2 PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c表达与NSCLC患者临床病理特征的关系n(%)

临床病理特征	PD-1		χ^2	P	PD-L1		χ^2	P
	阳性表达(n=58)	阴性表达(n=142)			阳性表达(n=64)	阴性表达(n=136)		
年龄			1.625	0.202			0.045	0.832
≥60岁(n=124)	34(58.62)	90(63.38)			39(60.94)	85(62.50)		
<60岁(n=76)	24(41.38)	42(29.58)			25(39.06)	51(37.50)		
性别			2.594	0.107			0.862	0.353
男(n=134)	34(58.62)	100(70.42)			40(62.50)	94(69.12)		
女(n=66)	24(41.38)	42(29.58)			24(37.50)	42(30.88)		
临床分期			34.619	0.000			44.364	0.000
I-II期(n=103)	11(18.97)	92(64.79)			11(17.19)	92(67.65)		
III-IV期(n=97)	47(81.03)	50(35.21)			53(82.81)	44(32.35)		
淋巴结转移			26.038	0.000			39.103	0.000
有(n=92)	43(74.14)	49(34.51)			50(78.13)	42(30.88)		
无(n=108)	15(25.86)	93(65.49)			14(21.87)	94(69.12)		
分化程度			30.113	0.000			72.279	0.000
低分化(n=88)	43(74.14)	45(31.69)			56(87.50)	32(23.53)		
中高分化(n=112)	15(25.86)	97(68.31)			8(12.50)	104(76.47)		

续表2

临床病理特征	let-7a1		t	P	let-7c		t	P
	高表达(n=111)	低表达(n=89)			高表达(n=107)	低表达(n=93)		
年龄			0.408	0.523			0.153	0.696
≥60岁(n=124)	71(63.96)	53(59.55)			65(60.75)	59(63.44)		
<60岁(n=76)	40(36.04)	36(40.45)			42(39.25)	34(36.56)		
性别			1.749	0.186			0.037	0.847
男(n=134)	70(63.06)	64(71.91)			67(62.62)	57(61.29)		
女(n=66)	41(36.94)	25(28.09)			40(37.38)	36(38.71)		
临床分期			55.489	0.000			72.928	0.000
I-II期(n=103)	31(27.93)	72(80.90)			25(23.36)	78(83.87)		
III-IV期(n=97)	80(72.07)	17(19.10)			82(76.64)	15(16.13)		
淋巴结转移			46.710	0.000			76.657	0.000
有(n=92)	75(67.57)	17(19.10)			80(74.77)	12(12.90)		
无(n=108)	36(32.43)	72(80.90)			27(25.23)	81(87.10)		
分化程度			52.011	0.000			39.193	0.000
低分化(n=88)	74(66.67)	14(15.73)			69(64.49)	19(20.43)		
中高分化(n=112)	37(33.33)	75(84.27)			38(35.51)	74(79.57)		

3 讨论

NSCLC为肺癌的常见类型，大概占据全部肺癌的85%左右，近年该病的发病人数有所增加^[7-8]。NSCLC的发病机制复杂多样，临床并未完全明晰，通常认为与遗传、环境等多种因素联系紧密^[9-10]。因该病发病初期缺少典型症状，故容易延误病情，影响患者预后^[11-12]。因此，对此类患者做到早期诊断与有效治疗是降低死亡率的重点。靶向、免疫治疗为肺癌研究的重点，但依然有一部分的患者无明确靶点，且免疫治疗亦存在一定的不良反应^[13]。因此，进一步的明确NSCLC发展过程内的分子机制，提升治疗的有效性，对于确保患者获得良好的预后十分重要。

本研究结果显示，癌组织内的PD-1、PD-L1阳性率高于癌旁正常组织，let-7a1、let-7c相对表达量低于癌旁正常组织；且四者表达与NSCLC患者的临床分期、淋巴结转移、分化程度有关。提示，在NSCLC患者体内，PD-1、PD-L1呈高表达，let-7a1、let-7c呈低表达，几者参与该病的发生、发展进程。分析原因认为，PD-1、PD-L1是负性共刺激分子免疫球蛋白家族成员，前者通常出现于各种细胞中，后者则分布在内皮、B细胞中，PD-L1/PD-1信号主要负责调解T细胞免疫应答，由此形成负性肿瘤环境，最终诱发肿瘤免疫逃逸，导致疾病进展，加重病情^[14-15]。

(下转第49页)

均高于对照组,提示相较于阿帕替尼联合替吉奥,安罗替尼联合替吉奥治疗更能提高患者生活质量。安罗替尼是临床抗癌谱较广的靶向药物,靶点多,且同时具有抑制肿瘤细胞生成和抗肿瘤血管生成的特点,临床常用于食管鳞癌、肺癌等疾病的后线治疗中^[16]。陈国华等^[17]研究指出,安罗替尼对于VEGFR2的半抑制浓度更低,与其作用靶点的亲和力更高,对于阿帕替尼用药疾病进展的晚期肺癌患者更换为安罗替尼后病情可得以控制,提高了患者生活质量,进一步说明在控制疾病发展,改善生活质量方面,安罗替尼较于阿帕替尼而言作用更明显。此外,本研究结果还发现,两组不良反应总发生率差异无统计学意义,且均可耐受,说明安罗替尼联合替吉奥在治疗晚期食管癌患者中不会产生严重毒副作用,安全性良好。

综上所述,安罗替尼与阿帕替尼分别联合替吉奥治疗晚期食管癌均有一定疗效,但相较于阿帕替尼联合替吉奥,安罗替尼联合替吉奥治疗临床效果更优,在延长无进展生存期、中位总生存期、提高患者生活质量等方面更显著,且安全性良好,值得临床推广。

参考文献

[1] Li S, Chen H, Man J, et al. Changing trends in the disease burden of esophageal cancer in China from 1990 to 2017 and its predicted level in 25 years[J]. Cancer Med, 2021, 10 (5): 1889-1899.
 [2] Watanabe M, Otake R, Kozuki R, et al. Recent progress in multidisciplinary treatment for patients with esophageal cancer[J]. Surg Today, 2020, 50 (1): 12-20.
 [3] Pan Y, Wang R, Hu D, et al. Comparative safety and efficacy of molecular-targeted drugs, immune checkpoint inhibitors, hepatic arterial infusion chemotherapy and their combinations in advanced hepatocellular carcinoma: findings from advances in landmark trials[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2021, 26 (10): 873-881.
 [4] 张晓智. 盐酸安罗替尼或甲磺酸阿帕替尼治疗晚期实体恶性肿瘤疗效及对患者凝血功能的影响[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50 (7): 871-874.
 [5] 孙魏, 邹玺, 张微, 等. 安罗替尼联合替吉奥二线治疗复发转移性食管鳞癌的临床疗

效[J]. 南方医科大学学报, 2021, 41 (2): 250-255.
 [6] 陈金虹, 张燕, 鲁小敏. 阿帕替尼联合替吉奥治疗晚期食管癌的有效性和安全性分析[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35 (9): 1475-1477.
 [7] Armato SG 3rd, Nowak AK. Revised modified response evaluation criteria in solid tumors for assessment of response in malignant pleural mesothelioma (Version 1.1) [J]. J Thorac Oncol, 2018, 13 (7): 1012-1021.
 [8] Hsieh HY, Hsu CP, Yeh HL, et al. Definite intensity-modulated radiotherapy with concurrent chemotherapy more than 4 cycles improved survival for patients with locally-advanced or inoperable esophageal squamous cell carcinoma[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2018, 34 (5): 281-289.
 [9] Noordman BJ, Verdam MGE, Lagarde SM, et al. Impact of neoadjuvant chemoradiotherapy on health-related quality of life in long-term survivors of esophageal or junctional cancer: results from the randomized CROSS trial[J]. Ann Oncol, 2018, 29 (2): 445-451.
 [10] Uhlenhopp DJ, Then EO, Sunkara T, et al. Epidemiology of esophageal cancer: update in global trends, etiology and risk factors[J]. Clin J Gastroenterol, 2020, 13 (6): 1010-1021.
 [11] Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities[J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77 (9): 1745-1770.
 [12] Qin S, Li Q, Gu S, et al. Apatinib as second-line or later therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma (AHELP): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2021, 6 (7): 559-568.
 [13] Song F, Hu B, Cheng JW, et al. Anlotinib suppresses tumor progression via blocking the VEGFR2/PI3K/AKT cascade in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Cell Death Dis, 2020, 11 (7): 573.
 [14] 刘艳华, 张有为, 李劲松, 等. 安罗替尼治疗无敏感突变型晚期肺鳞癌一例[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41 (6): 447-448.
 [15] Gao Y, Liu P, Shi R. Anlotinib as a molecular targeted therapy for tumors [J]. Oncol Lett, 2020, 20 (2): 1001-1014.
 [16] Li D, Chi Y, Chen X, et al. Anlotinib in locally advanced or metastatic medullary thyroid carcinoma: A randomized, double-blind phase IIB trial [J]. Clin Cancer Res, 2021, 27 (13): 3567-3575.
 [17] 陈国华, 杨鑫, 李宁, 等. 安罗替尼治疗阿帕替尼用药进展后的晚期肺癌一例[J]. 国际医药卫生导报, 2019, 25 (15): 2561-2562.

(收稿日期: 2023-05-25)

(校对编辑: 赵望淇)



(上接第41页)

let-7为人体内第一个被发现的miRNA, let-7a1、let-7c属于其成员之一, 临床研究发现, let-7在多种肿瘤细胞内均呈异常低表达状态, 其可作为癌基因或者是抑癌基因参与肿瘤的发生与发展。但本研究结果所纳入的样本量较少, 临床还需扩充样本量, 开展更深入的分析, 由此更全面的明晰PD-1、PD-L1、let-7a1、let-7c在NSCLC患者体内的表达意义, 为临床提供更加良好的参考, 保障患者可取得良好的预后。

综上所述, PD-1、PD-L1在NSCLC患者体内呈高表达, let-7a1、let-7c呈低表达, 四者与肿瘤的发生、发展、转移存在紧密联系。

参考文献

[1] 梁飞扬, 牛文霞, 吴胤琪, 等. PD-L1、MDM2在EGFR罕见突变NSCLC患者中的表达及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31 (6): 1061-1068.
 [2] Wang J, Tian Y, Yu M, et al. Overexpression of the long noncoding RNA HIF2POT inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion through HIF-2α pathway[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2023, 38 (5): 275-281.
 [3] 刘越, 姜文容, 缪应新, 等. 老年非小细胞肺癌患者中EGFR突变、PD-L1、Ki-67表达及其与临床特征的相关性[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45 (3): 234-239.
 [4] Anvarnia A, Panahizadeh R, Zarredar H, et al. Down-regulation and clinic-pathological correlation of SIK-1 and SIK-1-LNC in non-small cell lung cancer patients[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2023, 24 (4): 1407-1411.
 [5] 梁乐乐, 王鹏, 刘俊霞, 等. 非小细胞肺癌组织中T细胞免疫球蛋白区黏蛋白-3、程序性死亡因子-1及程序性因子配体1的表达分析[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50 (10): 1227-1230.
 [6] 伍锦凤, 何杰. 非小细胞肺癌中EGFR、ALK、ROS1基因突变和PD-L1表达及临床意义

[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38 (9): 1133-1136.
 [7] 王星, 李小忠, 宁峰, 等. 非小细胞肺癌组织中NF-κB p65与PD-1、PD-L1表达的相关性以及对预后的预测价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23 (2): 313-317.
 [8] 李洁, 伍锦凤, 叶庆, 等. 非小细胞肺癌中EGFR、ALK、KRAS基因突变及PD-L1表达的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37 (9): 1108-1112.
 [9] 邓晓旭, 杨向红. 非小细胞肺癌组织中PD-1/PD-L1的表达与EGFR突变的关系及其对预后的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31 (21): 3963-3967.
 [10] 周转, 陶旭秀, 周沛军, 等. PD-L1联合Ki67对非小细胞肺癌不同基因突变情况下分期、预后的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39 (4): 804-808.
 [11] Liu KX, Sierra-Davidson K, Tyan K, et al. Surgical complications and clinical outcomes after dose-escalated trimodality therapy for non-small cell lung cancer in the era of intensity-modulated radiotherapy[J]. Radiother Oncol, 2021, 165: 44-51.
 [12] 张砾, 邵佳康, 闫文姬, 等. PD-L1抑制剂治疗小细胞肺癌的有效性和安全性分析[J]. 解放军医学院学报, 2022, 43 (5): 524-530.
 [13] 张栋伟, 张亚玲, 于立杰. 血浆外泌体PD-L1监测非小细胞肺癌新辅助免疫治疗联合化疗疗效的临床研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2023, 36 (6): 467-475.
 [14] 李殿明, 柳兆飞, 宁国兰. let-7a1和let-7c在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46 (3): 285-290.
 [15] 杨佳, 李娅娴, 王莹莹, 等. 云南汉族人群 miRNA-149、miRNA-219、miRNA-let-7基因多态性与非小细胞肺癌发生和发展的相关性[J]. 昆明医科大学学报, 2021, 42 (10): 22-28.

(收稿日期: 2024-04-25)

(校对编辑: 赵望淇)