

子宫内膜腺癌中piR-34377的表达及其临床病理意义

施平平, 王成海*

扬州大学医学院, 病理学教研室, 江苏 扬州

收稿日期: 2025年5月11日; 录用日期: 2025年6月3日; 发布日期: 2025年6月11日

摘要

目的: 探讨piR-34377在子宫内膜腺癌及癌旁正常组织中的表达、临床病理意义和预后价值。方法: 通过piRNA表达谱芯片筛选出子宫内膜腺癌及癌旁正常组织差异表达的piR-34377; 选择69例子宫内膜腺癌通过qRT-PCR实验进行验证; 分析piR-34377表达与子宫内膜腺癌患者临床病理特征和预后之间的关联。结果: piRNA表达谱测序结果得到包含piR-34377在内的2个piRNA表达水平下降。qRT-PCR实验验证结果表明, piR-34377 (1.962 ± 0.1152)表达水平明显低于癌旁正常组织(4.337 ± 0.2228), $t = 8.976$, $P < 0.05$ 。子宫内膜腺癌组织中, piR-34377表达与淋巴结转移和分期密切相关(均 $P < 0.05$)。并且piR-34377阴性表达组5年生存率低于正常或高表达组。单因素和多因素分析得出淋巴结转移和piR-34377表达水平可能是影响子宫内膜腺癌预后的独立危险因素($P < 0.05$)。结论: piR-34377在子宫内膜腺癌组织中表达水平下调, piR-34377表达与淋巴结转移和分期密切相关和不良预后密切相关。

关键词

子宫内膜腺癌, piR-34377, 临床病理意义, 预后

Expression of piR-34377 in Endometrial Adenocarcinoma and Its Clinicopathological Significance

Pingping Shi, Chenghai Wang*

Department of Pathology, School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu

Received: May 11th, 2025; accepted: Jun. 3rd, 2025; published: Jun. 11th, 2025

*通讯作者。

Abstract

Objective: To investigate the expression, clinicopathological significance and prognostic value of piR-34377 in endometrial adenocarcinoma and adjacent normal tissues. **Methods:** piR-34377 differentially expressed in endometrial adenocarcinoma and adjacent normal tissues was screened by piRNA expression profile chip. Sixty-nine cases of endometrial adenocarcinoma were selected and verified by qRT-PCR. The correlation between piR-34377 expression and clinicopathological features and prognosis of patients with endometrial adenocarcinoma was analyzed. **Results:** The results of piRNA expression profile sequencing showed that the expression level of 2 piRNAs, including piR-34377, was decreased. qRT-PCR results showed that the expression level of piR-34377 (1.962 ± 0.1152) was significantly lower than that of adjacent normal tissues (4.337 ± 0.2228), $t = 8.976$, $P < 0.05$. In endometrial adenocarcinoma, piR-34377 expression was closely related to lymph node metastasis and stage ($P < 0.05$). The 5-year survival rate of piR-34377 negative expression group was lower than that of normal or high expression group. Univariate and multivariate analysis showed that lymph node metastasis and piR-34377 expression may be independent risk factors for the prognosis of endometrial adenocarcinoma ($P < 0.05$). **Conclusions:** The expression of piR-34377 is down-regulated in endometrial adenocarcinoma tissues. piR-34377 expression is closely related to lymph node metastasis, stage and poor prognosis.

Keywords

Endometrial Adenocarcinoma, piR-34377, Clinicopathological Significance, Prognosis

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

子宫内膜癌是女性生殖道最常见的恶性肿瘤,也是发达国家影响女性人群的第四大恶性肿瘤[1][2]。子宫内膜腺癌是最常见的子宫内膜癌,占有病例的80%,由子宫内膜样组织肿瘤组成。Shermann等[3]提出子宫内膜癌是在富含雌激素的状态中从增生的腺上皮发展而来。宫腔镜诊断子宫内膜增生或腺癌的敏感性为86.4%左右,最终需要组织病理学证实[4]。因此,确定新的潜在的生物标志物至关重要。

PIWI 相互作用 RNA (piRNA)是睾丸生殖细胞中特异性结合 PIWI 家族蛋白的小非编码 RNA [5],长度约为30个nt左右。piRNA在正常体细胞和癌细胞中均有效表达[6]。piRNA可以通过调控基因转录和转录后水平,影响癌细胞的凋亡、增殖、迁移和侵袭等多种过程[7]-[9]。本文通过piRNA表达谱测序得到子宫内膜癌中低表达水平的piR-34377,进一步分析piR-34377在69例子宫内膜癌组织中的表达以及与临床病理特征和生存预后的关系。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

本研究选取了2018年1月至2020年3月期间,在扬州大学附属医院接受手术治疗的69例子宫内膜腺癌患者作为研究对象。收集子宫内膜癌组织及癌旁正常组织和临床病理资料。纳入标准:①临床资料完整,病理诊断为子宫内膜腺癌;②术前未接受化疗、放疗和免疫治疗;③患者同意并能进行随访。

排除标准：① 合并其他恶性肿瘤患者；② 血液类系统疾病以及免疫类系统疾病患者。本研究已获得扬州大学医学伦理委员会的批准(YXYLL2021-158)。本研究获得患者及其家属知情并同意。

2.2. 人 piRNA 表达谱测序

提取 3 例胃癌组织和癌旁正常组织的总 RNA，将提取的 RNA 提交给上海康成生物工程技术有限公司(中国上海)进行 Arraystar piRNA 微阵列筛选和表达谱分析。人类 Arraystar piRNA 阵列(Arraystar, Rockville, MD)用于本研究，该阵列设计用于分析 23,000 个人类 piRNA。数据分析和图像采集由上海康成生物科技有限公司提供。

2.3. 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)实验

首先使用 Trizol 法萃取子宫内膜癌组织的总 RNA，测定 RNA 浓度并记录保存。使用 cDNA 合成试剂盒将上述提取的总 RNA 反转录为 cDNA。反应管内容物：试剂盒混合液 Mix 2 μ L + 总 RNA 0.5 μ g，然后用 ddH₂O 加满置 10 μ L，反应条件：37 $^{\circ}$ C 15 min，85 $^{\circ}$ C 5 s，得到 cDNA。使用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 反应(Vazyme 生物公司，南京)。每个反应管内容物：2 $\times$ ChamQ SYBR qPCR Master Mix 10 μ L + Primer 1 (10 μ M) 0.4 μ L + Primer 2 (10 μ M) 0.4 μ L + 50 $\times$ ROX Reference Dye 1 0.4 μ L + Template DNA/cDNA 1 μ L + ddH₂O 7.8 μ L 共计 20 μ L。同样重复的反应管 3 个。qRT-PCR 实验条件：预变性 95 $^{\circ}$ C，30 秒；然后 95 $^{\circ}$ C 5 秒 $\rightarrow$ 60 $^{\circ}$ C 30 秒，共计 40 个 PCR 扩增循环，内参为 U6。所得实验数据均与内参对比后再进行统计分析。

2.4. 随访

对 69 例患者以门诊或者电话等方式进行随访。随访时间从患者住院接受手术之日起，至死亡或 2024 年 12 月末次终止。随访的病例无失访，其中 61 例存活、8 例死亡。

2.5. 统计学处理

统计分析使用的是 SPSS 22.0 和 Graph Pad 8.0 软件。分类资料采用[例(%)]表示，两组间比较采用 Pearson's χ^2 检验。生存分析则通过 Kaplan-Meier 生存曲线统计。*， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. piRNA 表达谱测序结果

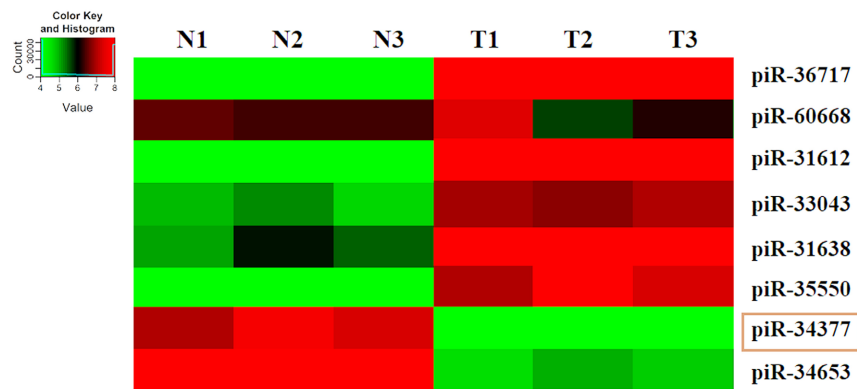


Figure 1. piRNA expression profile sequencing results
图 1. piRNA 表达谱测序结果

利用 Arraystar nrStarTM piRNA PCR Arrays 芯片检测 3 例子宫内膜癌组织及其癌旁正常组织中 piRNAs 的差异性表达。候选 piRNAs 的选择标准包括: I) 在癌症组织中 piRNAs 表达强度 >1500; II) 其在癌症组织中的表达倍数高于邻近正常组织 2.4 倍以上; III) $P < 0.05$ 。在该选择之后, 由此得到八个差异性表达的 piRNAs, 其中高表达水平包括 piR-36717, piR-60668, piR-31612, piR-33043, piR-31638 和 piR-35550, 低表达水平包括 piR-34377 和 piR-34653 (图 1)。本文选择 2 个低表达水平的 piRNA 进行验证。

6 个 piRNAs 表达水平升高、2 个 piRNAs 表达水平下降。

3.2. 69 例子宫内膜癌组织中 piR-34377 的表达水平

对于 piRNA 表达谱测序结果中 2 个低表达的 piRNA, 我们在 69 例子宫内膜腺癌组织中进行了 qRT-PCR 验证, 实验结果如图 2 所示, piR-34377 (1.962 ± 0.1152) 表达水平明显低于癌旁正常组织 (4.337 ± 0.2228), $t = 8.976$, $P < 0.0001$ 。piR-34653 (3.034 ± 0.2210) 表达水平与癌旁正常组织 (3.597 ± 0.2318) 相比无统计学差异, $t = 1.575$, $P > 0.05$ 。该实验提示 piR-34377 在子宫内膜腺癌中发挥肿瘤抑制基因的作用。

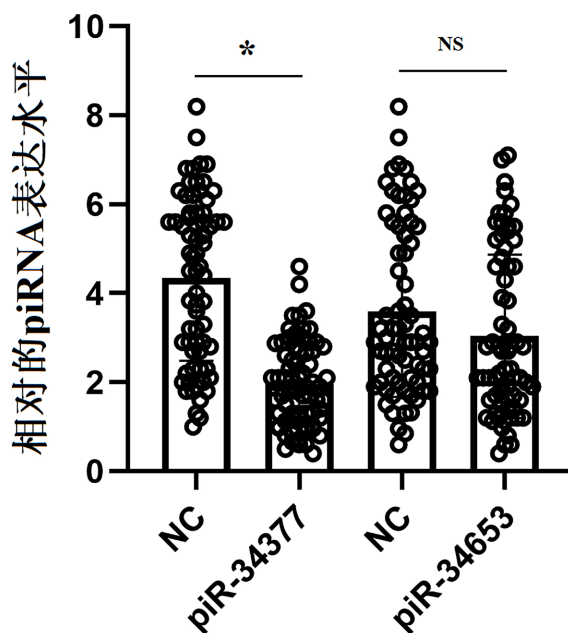


Figure 2. piR-34377 expression levels in 69 cases of endometrial carcinoma
图 2. 69 例子宫内膜癌组织中 piR-34377 的表达水平

在 69 例胃腺癌中 piR-34377 表达水平明显低于癌旁正常组织; piR-34377 表达水平与癌旁正常组织无统计学差异。* $P < 0.05$, NS $P > 0.05$ 。

3.3. piR-34377 表达与患者临床病理特征的关联

根据 piR-34377 在 69 例子宫内膜腺癌组织中 RNA 表达水平, 将病例分为低表达组(表达水平低于对照组) 50 例和正常表达或高表达组(表达水平等于或高于对照组) 19 例, 四格交叉表统计结果(表 1)表明 piR-34377 表达与淋巴结转移、临床病理分期相关(均 $P < 0.05$), 与年龄、肌层浸润深度、分化程度等无关($P > 0.05$)。

Table 1. Correlation analysis between piR-34377 and clinicopathological data of patients with endometrial cancer
表 1. piR-34377 与子宫内膜癌患者临床病理资料相关性分析

病理参数		piR-34377 低表达(n = 50)	piR-34377 正常表达或高表达(n = 19)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)	<50	12	7	1.138	0.286
	≥50	38	12		
肌层浸润深度	≤50%	22	8	0.020	0.887
	>50%	28	12		
分化	高	23	12	1.622	0.203
	中 - 低	17	7		
淋巴结转移	有	33	6	6.638	0.010*
	无	17	13		
TNM 分期	I + II	16	13	7.496	0.006*
	III + IV	34	6		

注: * $P < 0.05$ 。

3.4. piR-34377 表达与患者生存预后关系

69 例患者中, 随访时间 10~84 个月, piR-34377 低表达患者中, 生存 16 例, 失访 1 例, 死亡 33 例, 5 年生存率为 47.06%; piR-34377 正常或高表达患者中 5 年内生存 13 例, 死亡 6 例, 5 年生存率为 68.42%, piR-34377 低表达患者 5 年生存率显著低于 piR-34377 正常或高表达患者($P < 0.05$) (图 3)。

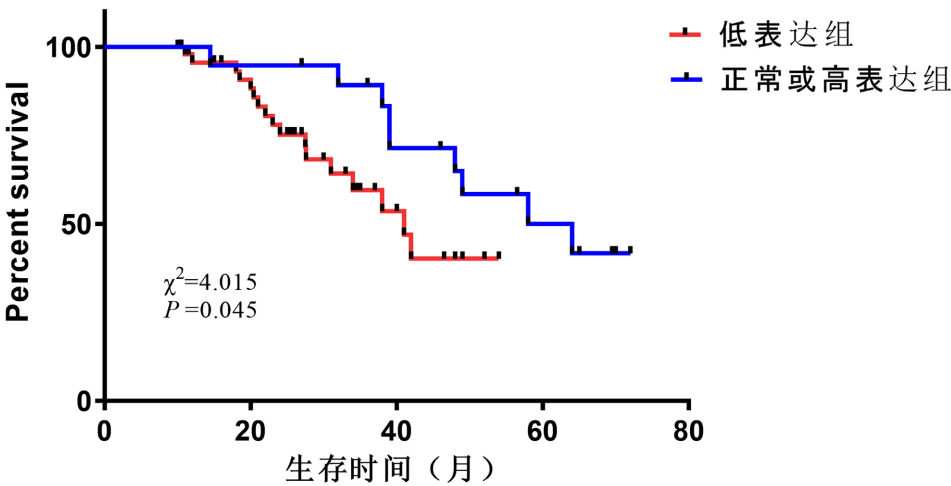


Figure 3. Curve of piR-34377 expression and postoperative survival
图 3. piR-34377 表达与患者术后生存曲线图

3.5. Cox 回归分析影响子宫内膜癌患者预后的危险因素

单因素分析结果显示, 淋巴结转移、临床病理分期、piR-34377 表达水平可能影响到患者预后(均 $P < 0.05$); 将单因素中具有统计学意义的纳入多因素 Cox 回归分析, 结果显示, 淋巴结转移和 piR-34377 表达水平可能是影响子宫内膜腺癌预后的独立危险因素($P < 0.05$) (表 2)。

Table 2. Univariate and multivariate analysis of prognostic factors in patients with endometrial cancer
表 2. 单因素和多因素分析子宫内膜癌患者预后影响因素

变量	单因素分析				多因素分析			
	SE	HR	95% CI	P	SE	HR	95% CI	P
年龄	0.661	0.942	0.258~3.433	0.927				
肌层浸润深度	0.563	0.329	0.112~0.985	0.059				
淋巴结转移	0.599	0.275	0.089~0.881	0.030	0.601	0.398	0.110~1.412	0.041
分化程度	0.656	0.618	0.169~2.298	0.473				
临床病例分期	0.592	0.316	0.097~0.992	0.038				
piR-34377	0.814	0.188	0.036~0.952	0.041	0.799	0.178	0.031~0.941	0.021

4. 讨论

piRNA 是长度为 24~32 个核苷酸的非编码调控 RNA。piRNA 在胚胎发育过程中至关重要, 可以保持生殖细胞系 DNA 的完整性, 沉默可转座元件的转录, 诱导异染色质, 生育力和性别决定[10][11]。最近研究发现 piRNA 水平的改变与多种恶性肿瘤的发生发展有关, 如乳腺癌、结直肠癌、胃癌、肺癌和膀胱癌等。piRNA 既可以作为肿瘤抑制因子, 也可以作为肿瘤促进因子[12]-[15]。piRNA 作为癌症诊断工具、治疗靶点和预后标志物的临床意义也有报道[16][17], 这些发现表明 piRNA 通路可能参与了癌症发展的机制。子宫内膜癌是一种常见的女性生殖系统恶性肿瘤[1]。当前, 该癌症的主要治疗方法包括手术、化疗和放疗等[18]。然而术后复发和转移是患者的死亡原因[19]。因此, 探索新的生物标志物以改善子宫内膜癌的诊断和预后评估显得尤为重要。

本研究通过 piRNA 表达谱基因芯片得到子宫内膜腺癌中表达水平下调的 piR-34377 并在 69 例子宫内膜腺癌中得到了证实, 表明 piR-34377 在子宫内膜腺癌中发挥肿瘤抑制基因的作用。分析 piR-34377 表达与临床病理资料的相关性分析发现子宫内膜癌中 piR-34377 表达水平越高, 肿瘤不容易出现淋巴结转移, 且临床分期较好, 且患者的生存预后时间较长; 多因素 Cox 回归分析显示淋巴结转移和 piR-34377 表达水平可能是影响子宫内膜腺癌预后的独立危险因素。以上研究表明 piR-34377 可能是淋巴结转移和预后判断的分子指标, 也可以认为是治疗子宫内膜癌临床治疗提供潜在分子靶点。

综上所述, 在组织中 piR-34377 表达水平下调, 发挥抑癌基因的作用, piR-34377 表达与淋巴结转移和分期和不良预后密切相关。本研究为临床提供了子宫内膜腺癌潜在的预后评估指标, 为制定个体化治疗提供了策略。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Giaquinto, A.N. and Jemal, A. (2024) Cancer Statistics, 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **74**, 12-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21820>
- [2] Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Soerjomataram, I., et al. (2024) Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **74**, 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- [3] Sherman, M.E. (2000) Theories of Endometrial Carcinogenesis: A Multidisciplinary Approach. *Modern Pathology*, **13**, 295-308. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3880051>
- [4] Crosbie, E.J., Kitson, S.J., McAlpine, J.N., Mukhopadhyay, A., Powell, M.E. and Singh, N. (2022) Endometrial Cancer. *The Lancet*, **399**, 1412-1428. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(22\)00323-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)00323-3)
- [5] Ninova, M. and Fejes Tóth, K. (2020) New Players on the piRNA Field. *Nature Structural & Molecular Biology*, **27**, 777-779. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0484-7>

-
- [6] Liu, Y., Dou, M., Song, X., Dong, Y., Liu, S., Liu, H., *et al.* (2019) The Emerging Role of the piRNA/PIWI Complex in Cancer. *Molecular Cancer*, **18**, Article No. 123. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1052-9>
- [7] Guo, B., Li, D., Du, L. and Zhu, X. (2020) PiRNAs: Biogenesis and Their Potential Roles in Cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, **39**, 567-575. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09863-0>
- [8] Vinasco-Sandoval, T., Moreira, F.C., F. Vidal, A., Pinto, P., Ribeiro-dos-Santos, A.M., Cruz, R.L.S., *et al.* (2020) Global Analyses of Expressed PIWI-Interacting RNAs in Gastric Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 7656. <https://doi.org/10.3390/ijms21207656>
- [9] Zhong, Q., Lu, M., Yuan, W., Cui, Y., Ouyang, H., Fan, Y., *et al.* (2021) Eight-lncRNA Signature of Cervical Cancer Were Identified by Integrating DNA Methylation, Copy Number Variation and Transcriptome Data. *Journal of Translational Medicine*, **19**, Article No. 58. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02705-9>
- [10] Zhou, J., Xie, H., Liu, J., Huang, R., Xiang, Y., Tian, D., *et al.* (2023) PIWI-Interacting RNAs: Critical Roles and Therapeutic Targets in Cancer. *Cancer Letters*, **562**, Article ID: 216189. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216189>
- [11] Zhang, Q., Zhu, Y., Cao, X., Tan, W., Yu, J., Lu, Y., *et al.* (2023) The Epigenetic Regulatory Mechanism of PIWI/piRNAs in Human Cancers. *Molecular Cancer*, **22**, Article No. 45. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01749-3>
- [12] Fonseca Cabral, G., Azevedo dos Santos Pinheiro, J., Vidal, A.F., Santos, S. and Ribeiro-dos-Santos, Á. (2020) PiRNAs in Gastric Cancer: A New Approach Towards Translational Research. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 2126. <https://doi.org/10.3390/ijms21062126>
- [13] Iyer, D.N., Wan, T.M., Man, J.H., Sin, R.W., Li, X., Lo, O.S., *et al.* (2020) Small RNA Profiling of PiRNAs in Colorectal Cancer Identifies Consistent Overexpression of piR-24000 That Correlates Clinically with an Aggressive Disease Phenotype. *Cancers*, **12**, Article 188. <https://doi.org/10.3390/cancers12010188>
- [14] Jia, D., Jiang, H., Zhang, Y., Zhang, Y., Qian, L. and Zhang, Y. (2022) The Regulatory Function of PiRNA/PIWI Complex in Cancer and Other Human Diseases: The Role of DNA Methylation. *International Journal of Biological Sciences*, **18**, 3358-3373. <https://doi.org/10.7150/ijbs.68221>
- [15] Jian, Z., Han, Y. and Li, H. (2022) Potential Roles of PIWI-Interacting RNAs in Lung Cancer. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article 944403. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.944403>
- [16] Hanusek, K., Poletajew, S., Kryst, P., Piekietko-Witkowska, A. and Bogusławska, J. (2022) PiRNAs and PIWI Proteins as Diagnostic and Prognostic Markers of Genitourinary Cancers. *Biomolecules*, **12**, Article 186. <https://doi.org/10.3390/biom12020186>
- [17] Ray, S.K. and Mukherjee, S. (2023) PIWI-Interacting RNAs (piRNAs) and Colorectal Carcinoma: Emerging Non-Invasive Diagnostic Biomarkers with Potential Therapeutic Target Based Clinical Implications. *Current Molecular Medicine*, **23**, 300-311. <https://doi.org/10.2174/1566524022666220124102616>
- [18] Chepkemol, L., Ajayi, O., Anabaraonye, N. and Balogun, O.D. (2022) Combining Concurrent Radiotherapy and Immunotherapy for Synergistic Effects in Recurrent Endometrial Cancer—A Case Report. *Gynecologic Oncology Reports*, **44**, Article ID: 101090. <https://doi.org/10.1016/j.gore.2022.101090>
- [19] Zhang, J., Zhang, D., Yan, X. and Jiang, F. (2021) The Expression Level and Prognostic Value of MicroRNA-15a-5p in Endometrial Carcinoma. *Translational Cancer Research*, **10**, 4838-4844. <https://doi.org/10.21037/tcr-21-2079>