

论著·临床研究

前列腺癌患者血清中 miR-27a 的表达和临床意义

王秀珍

(重庆市黔江民族医院检验科, 重庆 409000)

摘要:目的 分析 miR-27a 在前列腺癌患者血清中的表达水平及临床意义。方法 收集 2012 年 2 月至 2016 年 3 月该院泌尿外科确诊的前列腺癌患者 39 例, 前列腺良性增生患者 42 例, 并选取同期体检健康者 68 例作为健康对照组, 分析各组血清中 miR-27a 的表达水平及与前列腺癌活检评分分级系统(Gleason 分级)的相关性, 并采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)对 miR-27a 在前列腺癌诊断中的统计学指标进行评价。结果 前列腺癌组患者血清中 miR-27a 的表达水平明显高于健康对照组和前列腺良性增生组患者($P < 0.05$), 而前列腺良性增生组和健康对照组之间, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 前列腺癌患者血清中 miR-27a 的表达水平与 Gleason 评分及前列腺特异抗原(PSA)均存在显著正相关关系($P < 0.05$)。miR-27a 诊断前列腺癌的 ROC 曲线下面积为 0.908, 最佳临界值为 5.15, 其诊断灵敏度为 85%, 特异度为 85%。结论 miR-27a 可能通过复杂的调控机制参与前列腺癌的发病过程, 为我国早期诊断前列腺癌和判断病程提供实验依据。

关键词: 前列腺癌; miR-27a; Gleason 评分**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.21.017**中图法分类号:** R394; R737.25**文章编号:** 1673-4130(2018)21-2662-04**文献标识码:** A

Expression and clinical significance of miR-27a in serum of patients with prostate cancer

WANG Xiuzhen

(Department of Clinical Laboratory, Qianjiang Nationalities Hospital, Chongqing 409000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the expression level of miR-27a in blood serum of patients with prostate cancer and its clinical significance. **Methods** From February 2012 to March 2016, 39 patients with prostate cancer and 42 patients with benign prostatic hyperplasia were enrolled in this study. 68 healthy subjects were selected as healthy control group. The relationship between the expression of miRNA-27a in serum and the grading system (Gleason grading) of prostate cancer biopsy was analyzed. ROC curve was used to evaluate the statistical indices of miR-27a in the diagnosis of prostate cancer. **Results** The expression level of serum miRNA-27a in prostate cancer patients was significantly higher than that in healthy control group and benign prostatic hyperplasia group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between benign prostatic hyperplasia group and healthy control group ($P > 0.05$). There was significant positive correlation between the expression of miRNA-27a and Gleason score and PSA ($P < 0.05$). The area under ROC curve of miRNA-27a was 0.908 and the optimal threshold was 5.15. The sensitivity and specificity of miRNA-27a were 85% and 85% respectively. **Conclusion** miR-27a may be involved in prostate cancer by regulating the complex process of the occurrence, invasion and prognosis, providing experimental basis for early diagnosis and progression of prostate cancer judgment.

Key words: prostate cancer; miR-27a; Gleason grading

前列腺癌是男性生殖系统常患的恶性肿瘤之一, 在欧美, 它属于男性最常罹患癌症的范畴^[1], 在我国其发病率也有逐年升高的趋势, 严重威胁到患者的生命, 影响患者的生活质量。因此, 前列腺癌的早期诊断成为目前临床上关注的焦点。

微小 RNA(microRNA)是长 19~25 nt 的内生性

RNA^[2], 是真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA, 它特异度结合靶信使 RNA 上的 3'非翻译区(3'UTR), 调节靶基因的表达。大量研究证明其参与了肿瘤的发病和进展^[3]。近年来, 在患者血清中发现了稳定存在的 microRNA, 在多数肿瘤中特异性地表达, 如结肠癌、胰腺癌、慢性淋巴细胞白血

作者简介: 王秀珍, 女, 主管技师, 主要从事泌尿系统肿瘤诊疗方面的研究。

本文引用格式: 王秀珍. 前列腺癌患者血清中 miR-27a 的表达和临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(21): 2662-2665.

病、肺癌、神经母细胞瘤、食管癌等。作为新的肿瘤标志物,血清 microRNA 拥有快捷、方便和准确性高等优势,尤其能区分在临床上不容易诊断的早期肿瘤,如胃癌、胰腺癌和非小细胞肺癌等^[4-6]。新的研究发现,雄性激素会增加 microRNA 27a(miR-27a)的数量,并证实 miR-27a 对癌细胞生长具有极大的刺激作用^[1],推断 miR-27a 很可能是雄激素依赖性前列腺癌发生发展中一个重要的媒介和标志物。然而,目前这方面的研究多限于实验室阶段,相关的临床研究却极少,NIKOLIC 等^[7]发现塞尔维亚人群中 miR-27a 和罹患前列腺癌的风险有关,然而到目前未止尚未见我国人群的相关报道。本研究通过检测三类人群(前列腺癌患者、良性前列腺病变及体检健康者)血清中的 miR-27a 的表达水平,探讨其在前列腺癌发生发展过程中的作用,为我国前列腺癌的早期诊断及病程的判断提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 2 月至 2016 年 3 月本院泌尿外科收治的前列腺癌患者 39 例,前列腺良性增生患者 42 例。患者年龄 45~84 岁,平均(70.6±8.9)岁;入选前所有患者均未进行放疗和化疗治疗,疾病均通过超声引导下组织病理活检确诊,根据前列腺癌活检评分分级系统(Gleason 分级)进行组织学分级。另选取同期体检健康者 68 例静脉血作为健康对照组[游离前列腺特异抗原(tPSA),总前列腺特异抗原(fPSA),前列腺彩超,直肠指征],健康对照组年龄 42~71 岁,平均(65.4±7.1)岁。经统计学分析,两组患者的性别、年龄、病程等基线资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 电泳仪、DU-730 及 PRISM7300 RT-PCR 仪均购自美国。RecoverAll™总核酸提取试剂盒、TaqMan 逆转录试剂盒、TaqMan microRNA 试剂盒、PCR Master Mix 均购自 Applied 美国 Bio-systems 公司。

1.3 方法

1.3.1 血清样本的制备 采集空腹患者静脉血 6 mL(清晨时)并室温促凝 2 h,于 4℃条件下,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液保存于小无酶 EP 管,-80℃条件下保存备用。

1.3.2 提取总 RNA 取以上上清液在室温溶解,4℃条件下离心 15 min,取其中 150 μL 移入 1.5 mL EP 管,加入 1 mL Trizol 液振荡 15 s,加入无水氯仿 200 μL 充分混匀后离心 15 min(12 000×g),取上清加入异丙醇 500 μL 充分混匀后离心 15 min(12 000×g),取上清无水乙醇洗涤沉淀后 20 μL DEPC 水溶解。上机检测 RNA 浓度及 RNA 纯度,吸光度 A_{260}/A_{280} 值在 1.8~2.0 方可用于后续实验。

1.3.3 逆转录反应 冰上融化 TaqMan 逆转录试剂盒,配制反应体系 15.00 μL:1.50 μL RT buffer、0.15 μL dNTP Mix、0.19 μL RNase Inhibitor、1.00 μL Multiscribe™ RT enzyme、4.16 μL 无酶水、3 μL 引物、5 μL RNA。上机设制反应条件:70℃ 5 min,37℃ 5 min,37℃ 60 min,70℃ 10 min,4℃ 保存。

1.3.4 PCR 反应 配制反应体系 20.00 μL:1.00 μL 20×TaqMan microRNA 试剂(miR-27a)、1.33 μL 1 稀释 RT 产物、10.00 μL 2×PCR Master Mix、7.67 μL 无酶水,上机设制反应条件:94℃ 5 min,95℃ 30 min,54℃ 30 s 进行 30 个循环,最后 72℃ 8 min。以 U6 为内参进行相对定量,计算 miR-27a 的相对表达量。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件对资料进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两独立样本均数比较采用 Student's *t* 检验,多组间均数比较采用 *F* 检验,计数资料采用百分比(%)表示,组间比较采取 χ^2 检验,相关性分析采用 χ^2 检验,采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)计算曲线下面积(AUC),获得不同 miR-27a 切值下的灵敏度及特异度指标。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

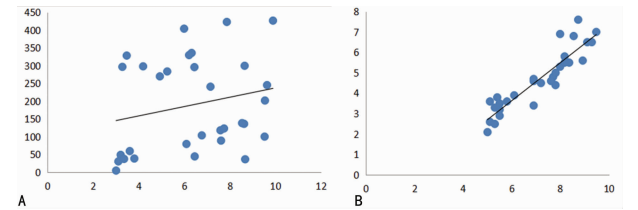
2 结果

2.1 3 组血清中 miR-27a 的表达水平 分别与健康对照组及前列腺良性增生组患者相比,前列腺癌组患者中 miR-27a 的表达水平均显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$),而健康对照组和前列腺良性增生组之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 3 组血清 miR-27a 的相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	相对表达量
健康对照组	68	0.22±0.07*
前列腺良性增生组	42	0.45±0.09 [#]
前列腺癌组	39	1.76±0.74* [#]

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$;与前列腺良性增生组比较,[#] $P<0.05$



注: A 表示 miR-27a 与血清 PSA 的相关性分析; B 表示 miR-27a 与 Gleason 评分的相关性分析

图 1 前列腺癌患者血清 miR-27a 的表达水平与血清 PSA、Gleason 评分相关性分析

2.2 miR-27a 表达水平与血清 PSA、Gleason 评分相关性分析 前列腺癌患者 miR-27a 的表达水平分别与血清 PSA、Gleason 评分行相关性分析,结果提示均

存在显著正相关性 ($r=0.359, 0.412, P<0.05$), 见图 1。

2.3 利用 ROC 曲线分析 miR-27a 在前列腺癌诊断中的临床价值 根据 miR-27a 检测结果及前列腺癌诊断结果建立 miR-27a 用于前列腺癌诊断的 ROC 曲线, miR-27a 诊断前列腺癌的 ROC 曲线 AUC 为 0.908(95%CI:0.814~1.001), 最佳临界值为 5.15, 灵敏度为 85%, 特异度为 85%。见图 2。

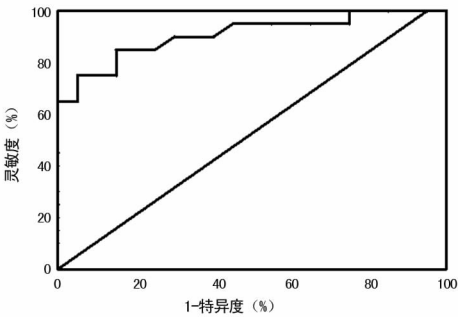


图 2 miR-27a 用于诊断前列腺癌的 ROC 曲线

3 讨论

我国前列腺癌的发病率近几年增高明显, 早期前列腺癌没有任何症状, 很难被发现, 我国临床发现时往往是晚期病例, 严重危及患者的生命。因此, 早期前列腺癌的诊断有非常重要的临床价值。miRNA 在肿瘤组织中的异常表达, 与肿瘤的发生、发展及预后有关, 可调控肿瘤发生。miRNA 可能作为致癌基因或抑癌基因, 在肿瘤形成过程中通过细胞的增殖或凋亡直接参与肿瘤形成, 或通过调节靶基因的表达变化对肿瘤的发展进程进行调控^[3]。miR-27a 很可能是雄激素依赖性前列腺癌发生发展中一个重要的媒介和标志物。本研究结果显示, 与健康对照组和前列腺良性增生组患者相比, 前列腺癌患者血清中 miR-27a 的表达水平显著增高 ($P<0.05$), 进一步研究发现, 其与 Gleason 评分也存在显著正相关性, 表明血清 miR-27a 的表达水平与前列腺癌的病理分期有关, 预示血清 miR-27a 的水平可作为预测前列腺癌进展的生物标志物。

PSA 是公认的早期发现及临床甄选前列腺癌的最有价值的肿瘤标志物^[8-11], 因其受多种因素影响, 且和良性前列腺增生患者之间存在重叠区域, 导致它的灵敏度和特异度受到一定的限制, 特别是在 PSA 灰区 (4~10 ng/mL)^[12], 其诊断前列腺癌的特异度只有 30%~35%, 导致临床上很多不必要的穿刺发生, 加重了患者的经济及精神负担。为提高 PSA 诊断在灰区的特异度和灵敏度^[13], 相关专家引入 PSA 相关概念, 如前列腺特异度抗原密度 (PSAD)、前列腺移行带特异度抗原密度 (PSADTZ) 和游离 PSA 与总 PSA 的比值等, 但目前相关研究结果互相矛盾, 无法在临床

实施。本研究发现, 前列腺癌患者血清中显著增高的 miR-27a 的表达水平与血清 PSA 水平也存在正相关关系 ($P<0.05$), 提示 miR-27a 或可以替代 PSA, 成为新的肿瘤标志物。miR-27a 诊断前列腺癌的 ROC 曲线 AUC 为 0.908, 最佳临界值为 5.15, 灵敏度为 85%, 特异度为 85%, 能较为准确、敏感地筛查和诊断前列腺癌。因此, miR-27a 对前列腺癌的诊断有一定的临床价值。

虽然研究发现, 多种肿瘤中 miR-27a 表达升高, 具有促进肿瘤的作用, 本研究也表明前列腺癌的 miR-27a 表达也是升高的, 但其作用机制仍不明确。PAN 等^[14]研究发现 MAP2K4 是 miR-27a 的功能靶基因, 抑制骨肉瘤细胞中的 miR-27a 可以提高 MAP2K4 的蛋白表达水平, 通过激活 JNK/p38 信号通路抑制骨肉瘤细胞 MG63 的增殖、迁移和侵袭能力。而 LI 等^[15]认为 MAPK10 是 miR-27a 下游的调控基因, miR-27a 可直接抑制 MAPK10 的 3'UTR, 从而调节 MAPK10 蛋白的表达。而 MAP2K4 和 MAPK10 均属于丝裂原活化蛋白激酶 (MAPKs) 信号通路成员之一, MAPKs 是细胞内的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 在细胞增殖、分化、转化及凋亡等的过程中具有至关重要的作用。因此, 笔者认为 miR-27a 在前列腺癌中的作用机制也和 MAPK 信号通路有关, 具体机制需要进一步研究。

当然, 实验也有局限性, 健康者在现阶段的背景下为对照进行前列腺穿刺活检病理“金标准”定性是很困难的, 只能尽量通过完善的临床相关检查排除假阴性, 因此, 在更长期和更大样本量的检查中, 扩大试验对象, 减少实验误差。

4 结论

本研究通过分析前列腺癌患者、良性前列腺增生患者及体检健康人群血清中的 miR-27a 的表达水平及其临床意义, 发现前列腺癌患者血清中 miR-27a 的表达水平明显升高, 且均与患者的 PSA、病理分期之间呈正相关, 提示 miR-27a 可能通过复杂的调控机制参与前列腺癌的发病过程。

参考文献

[1] FLETCHER C E, DART D A, SITA-LUMSDEN A A, et al. Androgen-regulated processing of the oncomir miR-27a, which targets prohibitin in prostate cancer[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(14):3112-3127.

[2] PETROVIC N, ERGUN S, ISENOVIC E R. Levels of microRNA heterogeneity in cancer biology[J]. Mol Diagn Ther, 2017, 21(5):511-523.

[3] SALIM A, AMJESH R, CHANDRA S. An approach to forecast human cancer by profiling microRNA expressions from NGS data[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1):77.

- [4] KAUSHIK M, CHAUDHARY S, MAHENDRU S, et al. MicroRNA: a multi-Facet biological target for cancer and other diseases[J]. Clin Cancer Drugs, 2017, 4(1): 2-9.
- [5] 包庆泉, 冯素银, 邵君飞. 慢病毒介导的 miR-27a 下调对 U87 胶质瘤细胞的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2012, 57(3): 320-324.
- [6] CHEN S, SUN Y Y, ZHANG Z X, et al. Transcriptional suppression of microRNA-27a contributes to laryngeal cancer differentiation via GSK-3 beta-involved wnt/beta-catenin pathway [J]. Oncotarget, 2017, 8(9): 14708-14718.
- [7] NIKOLIC Z, SAVIC PAVICEVIC D, VUCIC N, et al. Assessment of association between genetic variants in microRNA genes hsa-miR-499, hsa-miR-196a2 and hsa-miR-27a and prostate cancer risk in serbian population[J]. Exp Mol Pathol, 2015, 99(1): 145-150.
- [8] WILT T J, BRAWER M K, JONES K M, et al. Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2012, 367(3): 203-213.
- [9] NISHIDA S, HIROHASHI Y, TORIGOE T A, et al. Gene expression profiles of prostate cancer stem cells isolated by aldehyde dehydrogenase activity assay [J]. J Urol, 2012, 188(1): 294-299.
- [10] GALICIA-VZQUEZ G, CENCIC R, ROBERT F, et al. A cellular response linking eIF4A I activity to eIF4A II transcription[J]. RNA, 2012, 18(7): 1373-1384.
- [11] TRUONG M, YANG B, WAGNER J, et al. Even-skipped homeobox 1 is frequently hypermethylated in prostate cancer and predicts PSA recurrence [J]. Br J Cancer, 2012, 107(1): 100-107.
- [12] DEN R B, NOWAK K, BUZUROVIC I, et al. Implanted dosimeters identify radiation overdoses during IMRT for prostate cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2012, 83(3): E371-376.
- [13] MALEK A, NUNEZ L E, MAGISTRI M, et al. Modulation of the activity of Sp transcription factors by mithramycin analogues as a new strategy for treatment of metastatic prostate cancer[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35130.
- [14] PAN W, WANG H, JIANWEI R, et al. MicroRNA-27a promotes proliferation, migration and invasion by targeting MAP2K4 in human osteosarcoma cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 33(2): 402-412.
- [15] LI L H, LUO Z H. Dysregulated miR-27a-3p promotes nasopharyngeal carcinoma cell proliferation and migration by targeting Mapk10[J]. Oncol Rep, 2017, 37(5): 2679-2687.

(收稿日期: 2018-01-30 修回日期: 2018-05-06)

(上接第 2661 页)

- [11] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 14(5): 401-410.
- [12] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2015 年 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(6): 685-694.
- [13] 沈继录, 潘亚萍, 徐元宏, 等. 2005—2014 年 CHINET 大肠埃希菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(2): 129-140.
- [14] 汤瑾, 李卿, 蒋燕群. 对肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶的研究进展[J]. 检验医学, 2010, 25(1): 63-66.
- [15] 徐静, 阴晴, 陶真. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的耐药分子机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(16): 2351-2352.
- [16] 金亮, 王启, 王术艺. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌基因检测及多位点序列分析[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(24): 4156-4160.
- [17] 刘婧娴, 渝静, 陈峰, 等. 产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌的检测及传播途径初探[J]. 中华临床感染病杂志, 2015, 8(4): 210-306.
- [18] 胡付品, 朱德妹. 碳青霉烯酶型碳青霉烯酶研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(1): 76-80.
- [19] 陈济超, 陈凯丽. 肺炎克雷伯菌 101 株临床分布与的耐药性分析[J]. 中华临床医师杂志, 2013, 7(6): 111-113.
- [20] 王莲慧, 魏丹丹. 血流感染中肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(1): 27-33.
- [21] ROSSOLINI G M, MANTENGOLI E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant Pseudomonas aeruginosa[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(Suppl 4): S17-32.
- [22] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [23] 张震露, 肖永红. 医院获得性肺炎预后及鲍氏不动杆菌感染危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(14): 3154-3157.
- [24] 杨秋, 陆文婷, 芮勇宇. 耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌耐药机制及分子流行病学研究[J]. 实用医学杂志, 2015, 31(24): 4129-4132.
- [25] 谭云芳, 卓超. 耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌耐药机制研究进展[J]. 广东医学, 2015, 36(12): 1799-1802.
- [26] 张辉, 张小江, 徐英春, 等. 2005—2014 年 CHINET 不动杆菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(4): 429-436.

(收稿日期: 2018-02-24 修回日期: 2018-05-24)