

• 短篇论著 •

子宫内膜癌患者血清 LncRNA ROR 与 miR-29 的 差异性表达及二者的诊断价值研究

陈 佳, 许贇兴

(南通大学附属海安医院输血科, 江苏海安 226600)

摘要:目的 探究血清长链非编码 RNA ROR (lncRNA ROR)与微小 RNA 29(miR-29)在子宫内膜癌患者与健康女性血清中的差异性表达及二者与子宫内膜癌患者临床病理特征之间的关系。分析二者联合诊断对子宫内膜癌的早期诊断及发病风险预测价值。方法 取 2013 年 2 月至 2017 年 2 月在该院确诊的子宫内膜癌患者共 230 例为病例组,取同期在该院行常规体检的健康女性 250 例为对照组,检测两组研究对象的血清 LncRNA ROR 与 miR-29 水平,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 LncRNA ROR 与 miR-29 鉴别诊断子宫内膜癌的临床价值,二元 Logistic 回归计算二者对子宫内膜癌的发病风险评估价值。结果 子宫内膜癌患者血清 LncRNA ROR 与 miR-29 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ROC 曲线结果显示,联合血清 LncRNA ROR 与 miR-29 在区分子宫内膜癌和健康人群的曲线下面积(AUC)为 0.907(95% CI: 0.812~0.961, $P < 0.001$),灵敏度 83.7%,特异度 92.8%。此外,血清 LncRNA ROR 和 miR-29 水平与子宫内膜癌患者的 TNM 分期相关,二者在 I~II 期患者中的增高最为明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。二元 Logistic 回归显示,血清高 LncRNA ROR 与 miR-29 水平是子宫内膜癌发病的独立危险因素。结论 子宫内膜癌患者的血清 LncRNA ROR 与 miR-29 水平显著高于正常女性,且二者在 TNM I-II 期患者中的增高最为显著。二者联合诊断对子宫内膜癌具有较高的早期诊断及发病风险预测价值。

关键词:子宫内膜癌; 长链非编码 RNA; 微小 RNA; 诊断价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.04.027

中图法分类号:R446.11+9;R737.33

文章编号:1673-4130(2019)04-0484-04

文献标识码:B

子宫内膜癌好发于围绝经期和绝经后女性^[1],是最常见的女性生殖系统肿瘤之一。每年有近 200 000 的新发子宫内膜癌病例,是常见妇科恶性肿瘤病死率仅次于卵巢癌和宫颈癌的第三位^[2]。目前子宫内膜癌早期临床表现不典型,导致许多患者就诊时病情已发展到中晚期。此外,子宫内膜癌的诊断主要依靠诊断性刮宫,该操作为有创性检查,会给患者造成一定的痛苦,不宜在人群中普及,严重影响患者预后^[3]。寻找有效、稳定的生物学标志物无疑可为子宫内膜癌的治疗赢得时间,对提高患者生存率,改善其生存质量具有重要意义。

研究发现,长链非编码 RNA ROR (lncRNA ROR)与微小 RNA 29(miR-29)可通过表观遗传调控参与各种生理病理过程,并与肿瘤的发生、发展及转移密切相关^[4-5]。本次实验通过比较分析子宫内膜癌患者与健康女性血清 LncRNA ROR 和 miR-29 水平,分析二者与子宫内膜癌的临床病理特征之间的关系及对子宫内膜癌的诊断及发病风险预测价值。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 2 月至 2017 年 2 月在

本院经病理学/细胞学确诊的子宫内膜癌患者 230 例作为病例组。其中子宫内膜样腺癌 149 例,黏液性腺癌 45 例,浆液性腺癌 26 例,透明细胞性腺癌 10 例;TNM 分期 I~II 期 87 例,III~IV 期 143 例。子宫内膜癌的组织学类型和分期参照 FIGO2009 年手术病理分期^[6]。同期收取 250 例于本院健康体检者作为对照组。两组研究对象的年龄、BMI、吸烟史、饮酒史和生育史等一般资料差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究的开展经医院伦理委员会批准。

表 1 两组研究对象一般资料比较

组别	病例组 (n=230)	对照组 (n=250)	t/ χ^2	P
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	57.2 ± 18.6	55.6 ± 15.2	1.108	0.533
BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	27.0 ± 1.5	26.2 ± 1.6	1.216	0.497
吸烟史[n(%)]	36(15.7)	40(16.0)	2.107	0.324
饮酒史[n(%)]	58(25.2)	62(24.8)	1.602	0.544
生育史[n(%)]	202(87.8)	206(82.4)	2.372	0.072

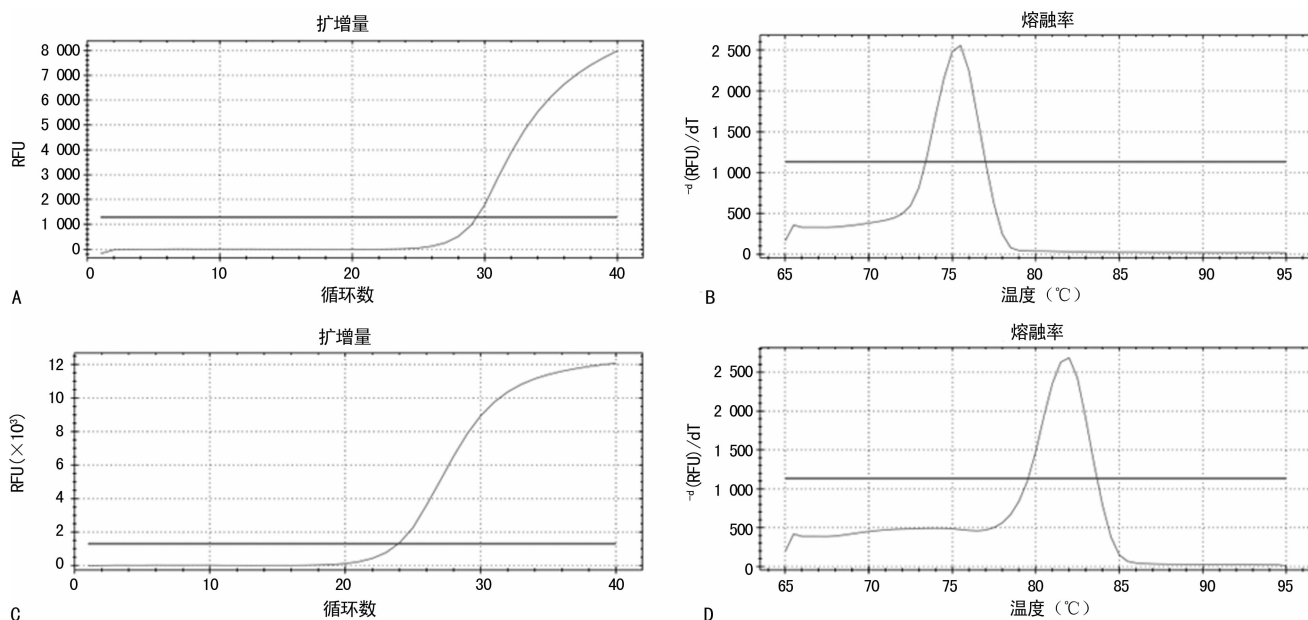
1.2 血清 LncRNA ROR 与 miR-29 水平检测 受试

者禁食 10 h 以上,次日清晨由专业医护人员使用含促凝剂采血管抽取静脉血 10 mL,血液标本在 1 h 内于 4 ℃ 条件下以 12 000 g 离心力离心 15 min,收集血清进行相关指标检测。血清总 RNA 的提取按照血液 RNA 提取试剂盒(中国 Biotেকে 公司)说明书步骤进行。取上述提取的 RNA,使用去除基因组逆转录试剂盒(中国 Takara 公司)逆转录为 cDNA。采用实时

荧光定量 PCR (RT-PCR) 法检测血清 LncRNA ROR、miR-29 及内参基因 GAPDH 表达水平。检测过程中所用引物序列。见表 2。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量, ΔCt 值 = 目的基因 Ct 值 - GAPDH Ct 值。血清 LncRNA ROR 与 miR-29 基因扩增曲线和熔解曲线峰型单一,说明引物没有非特异性扩增,如图 1。

表 2 引物序列

基因	上游引物	下游引物
LncRNA ROR	5'-AGTCTGTTTCATCTCCAGT-3'	5'-ACTGGGGTCCATCTCTCCGT-3'
miR-29	5'-TACAACCACTGCACTACCTG-3'	5'-TGGAATGCTTGAAGGCTGCT-3'
GAPDH	5'-GGGAGCCAAAAGGGTCAT-3'	5'-GAGTCCTTCCACGATACCAA-3'



注:A 图为 LncRNA ROR 扩增曲线;B 图为 LncRNA ROR 熔解曲线;C 图为 miR-29 扩增曲线;D 图为 miR-29 熔解曲线

图 1 LncRNA ROR 和 miR-29 基因扩增曲线和熔解曲线峰型

1.3 统计学处理 本研究应用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。对于正态分布资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正态分布数据两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。率的比较采用卡方检验,相关性分析采用 Spearman 相关性分析。ROC 曲线计算血清 LncRNA ROR、miR-29 判别子宫内膜癌的曲线下面积(AUC)及 95%置信区间(95%CI)。二元 Logistic 回归分析计算血清 LncRNA ROR、miR-29 预测子宫内膜癌风险的比值比(OR)值和 95%CI。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象血清 LncRNA ROR、miR-29 水平比较 病例组的血清 LncRNA ROR、miR-29 水平明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。如表 3。

表 3 两组研究对象血清 LncRNA ROR、miR-29 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	病例组 (n=230)	对照组 (n=250)	t	P
LncRNA ROR(-log)	1.8±0.2	1.0±0.1	3.086	0.022
miR-29(-log)	12.8±2.1	6.3±1.4	3.702	<0.001

2.2 血清 LncRNA ROR、miR-29 水平与子宫内膜癌患者临床病理特征之间的关系 血清 LncRNA ROR、miR-29 水平与子宫内膜癌患者的年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、生育史、组织学类型等因素差异无统计学意义($P > 0.05$),而不同子宫内膜癌的 TNM 分期差异有统计学意义($P < 0.05$),在 I ~ II 期患者中差异有统计学意义($P < 0.05$)。如表 4。

表 4 血清 LncRNA ROR、miR-29 水平与子宫内膜癌患者临床病理特征的关系

指标	n	LncRNA ROR(-log)			miR-29(-log)		
		$\bar{x} \pm s$	t/F	P	$\bar{x} \pm s$	t/F	P
年龄(岁)							
<50	76	1.8±0.1	-1.101	0.966	12.0±1.2	-0.245	0.237
≥50	154	1.8±0.1			13.1±1.1		
吸烟史							
有	36	1.7±0.1	-1.278	0.354	12.9±1.3	1.375	0.227
无	194	1.8±0.1			12.6±1.1		
饮酒史							
有	58	1.8±0.1	1.217	0.564	12.7±1.2	-1.425	0.337
无	172	1.7±0.2			12.8±1.4		
生育史							
有	202	1.7±0.1	-1.156	0.697	-	-	-
无	28	1.9±0.2			-		
BMI							
<28.0	51	1.7±0.2	-1.156	0.697	12.3±1.1	-2.125	0.478
≥28.0	179	1.9±0.1			13.0±1.5		
TNM 分期							
I~II 期	87	2.5±0.2	-2.528	0.007	15.7±1.1	-3.646	0.004
III~IV 期	143	1.6±0.1			12.0±1.1		
组织学类型							
子宫内膜样腺癌	149	1.8±0.3	1.317	0.614	12.2±1.2	1.464	0.242
黏液性腺癌	45	1.7±0.1			12.0±1.2		
浆液性腺癌	26	1.6±0.1			12.6±1.1		
透明细胞性腺癌	10	2.3±0.3			13.1±1.3		

注：-表示无数据

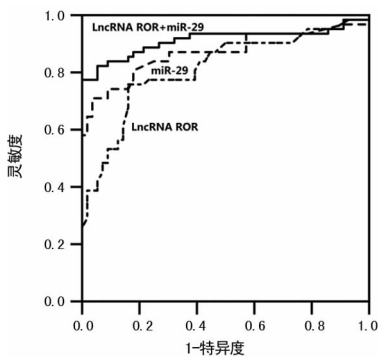


图 2 血清 LncRNA ROR 与 miR-29 对子宫内膜癌鉴别诊断的 ROC 曲线分析

2.3 血清 LncRNA ROR 与 miR-29 对子宫内膜癌的鉴别诊断价值 血清 LncRNA ROR 和 miR-29 区分子宫内膜癌和健康人群的 AUC 分别为:0.791(95% CI:0.730~0.921, $P < 0.001$) 和 0.861(95% CI:0.800~0.922, $P < 0.001$), 对应的灵敏度/特异度分别为:77.9%/82.6%、85.3%/68.5%。联合血清 LncRNA ROR 和 miR-29 区分子宫内膜癌和健康人群

的 AUC 为 0.907(95% CI:0.812~0.961, $P < 0.001$), 灵敏度为 83.7%, 特异性 92.8%。联合检测时, 鉴别子宫内膜癌的特异性显著提高, 见图 2。

2.4 风险评估 单因素分析显示, 血清高 LncRNA ROR 和 miR-29 水平是子宫内膜癌发病的危险因素; 多因素分析显示, 校正年龄、BMI、吸烟史、饮酒史和生育史等因素影响后, 血清高 LncRNA ROR 和 miR-29 水平是子宫内膜癌发病的独立危险因素, 见表 5。

表 5 血清 LncRNA ROR 和 miR-29 水平对子宫内膜癌的发病风险预测价值

	单因素分析		多因素分析	
	OR(95%CI)	P	OR(95%CI)	P
LncRNA ROR	4.51(2.08~7.43)	<0.001	3.31(1.59~5.62)	0.002
miR-29	2.35(1.23~4.06)	0.006	1.78(1.10~3.08)	0.013

注:多因素分析已校正年龄、BMI、吸烟史、饮酒史和生育史等因素

3 讨论

子宫内膜癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 具有发病率高、侵袭性强以及预后差等特点, 是威胁人群

健康的主要疾病之一^[2]。生物标志物是血液、尿液或者组织中能检测疾病状态的分子指标,可用于疾病的检测与评估^[7]。生物标志物在体液中的浓度变化可以为临床提供疾病的进展情况,理想情况下,生物标志物应具有检测早期小块肿瘤的高灵敏度、高特异度,并且在非肿瘤患者体内不会增加。目前,对于子宫内膜癌的诊断仍然缺乏有效指标,导致这类患者预后较差^[8],而生物标志物的早期检测可显著提高子宫内膜癌患者的生存率。CA125 是子宫内膜癌的辅助诊断指标之一,但由于 CA125 在非生殖系统肿瘤如淋巴瘤与子宫内膜异位症等良性疾病中也可出现增高,导致其灵敏度不足,特异度较低,限制了该指标在临床上的应用^[9-10]。ZHOU 等^[11]的研究发现,利用酶联免疫吸附法检测血清 CA125 在区分子宫内膜癌患者与健康人群中的灵敏度/特异度仅有 63.2%/69.4%,此种情况下,寻找其他更可靠的生物学标志物对子宫内膜异位症的早期干预及预后的提高具有重要意义。

LncRNA ROR 与 miR-29 已被报道参与了多种肿瘤的发病过程^[4-5]。研究发现,LncRNA ROR 可通过抑制 miRNA-145 介导的子宫内膜干细胞分化过程而促进子宫内膜癌的发生^[12],而 miR-29 则可诱导子宫内膜癌组织新生血管形成,增加癌组织血供,以促进肿瘤的生长及转移^[13],而目前尚无关于二者应用于子宫内膜癌诊断的相关报道。本研究发现子宫内膜癌患者的血清 LncRNA ROR 和 miR-29 水平显著高于正常女性,且在疾病早期即出现明显增高,提示二者对子宫内膜癌具有早期诊断价值。ROC 分析结果表明,血清 LncRNA ROR 和 miR-29 鉴别诊断子宫内膜癌的灵敏度与特异度均显著高于 CA125,而联合检测二者时,特异度显著优于单项指标检测的特异度。此外,血清高 LncRNA ROR 与 miR-29 水平,均是子宫内膜癌发病的独立危险因素,该结果提示二者不仅对子宫内膜癌的早期诊断有重要意义,对该疾病的发病风险评估亦具有潜在价值。

本研究存在以下不足之处:(1)收集的病例数有限,未来仍需更多中心大样本研究来验证本次研究的结果;(2)未对 LncRNA ROR 与 miR-29 参与子宫内膜癌发病的潜在机制进行深入探究,未来可设计相应的细胞及动物实验进行深入挖掘。

本次研究首次对子宫内膜癌患者血清 LncRNA ROR 与 miR-29 的差异性表达及二者的诊断、发病风险预测价值进行探究,并发现联合检测二者对子宫内

膜癌具有较高的早期诊断与风险预测价值。

参考文献

- [1] 张京京,王玉. 认知护理干预对经 TC 化疗的子宫内膜癌患者生命质量及疼痛程度的影响[J]. 检验医学与临床, 2016,13(1):35-37.
- [2] 赵娅丽. 子宫内膜癌中 SATB1 的表达及临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2017,24(8):908-910.
- [3] LIM S, KIM YH, LEE KB, et al. The influence of hormone therapy with drospirenone-estradiol on endometrioid type endometrial cancer patients [J]. J Gynecol Oncol, 2018,29(5):72.
- [4] LUSARZ A, PULAKAT L. The two faces of miR-29 [J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2015,16(7):480-490.
- [5] PAN Y, LI C, CHEN J, et al. The Emerging Roles of Long Noncoding RNA ROR (lincRNA-ROR) and its Possible Mechanisms in Human Cancers [J]. Cell Physiol Biochem, 2016,40(1-2):219-229.
- [6] 赵轩宇,孔为民,商若天,等. 子宫内膜癌 1971 年临床分期与 FIGO2009 年手术病理分期比较[J]. 肿瘤学杂志, 2019,25(1):47-50.
- [7] 王婷,高友鹤. 几种肿瘤生物标志物研究方法及其结果的比较[J]. 生命科学研究, 2018,22(4):320-325.
- [8] 开丽曼·阿不都巴热,普拉提·努尔别克,杨杰. 影响子宫内膜癌患者术后放疗效果的相关因素分析[J]. 实用癌症杂志, 2017,32(2):332-334.
- [9] 胡敏,符才波,陈瑜,等. 血清 CEA、CA125、LDH 及 β_2 -MG 变化与淋巴瘤患者病情和预后的相关性研究[J]. 临床误诊误治, 2018,31(10):21-25.
- [10] 魏蔚,刘守燕. VEGF、CA125 和 HE4 联合检测对子宫内膜异位症的诊断价值[J]. 广东化工, 2018,45(14):1-2.
- [11] ZHOU X, WANG H, WANG X. Preoperative CA125 and fibrinogen in patients with endometrial cancer: a risk model for predicting lymphovascular space invasion[J]. J Gynecol Oncol. 2017,28(2):11.
- [12] ZHOU X, GAO Q, WANG J, et al. Linc-RNA-RoR acts as a "sponge" against mediation of the differentiation of endometrial cancer stem cells by microRNA-145[J]. Gynecol Oncol. 2014,133(2):333-339.
- [13] 陈红霞. miR-29b 靶向 VEGFA 调控 MAPK/ERK 和 PI3K/Akt 信号通路在子宫内膜癌血管新生中的作用[D]. 南昌大学, 2017.

(收稿日期:2018-08-10 修回日期:2018-10-21)