

论著·临床研究

卵巢上皮癌患者血清中 miR-221 的表达及其诊断价值*

刘培红¹, 汤 菲¹, 刘 咏²

(解放军白求恩国际和平医院:1. 检验科;2. 妇科, 河北石家庄 050000)

摘 要:目的 研究卵巢上皮癌患者血清中 miR-221 的表达及其诊断价值。方法 选择 2015 年 2 月至 2018 年 2 月该院收治的卵巢上皮癌患者 60 例作为卵巢上皮癌组,同期于该院接受诊治的卵巢良性肿瘤患者 60 例作为卵巢良性肿瘤组,选择同期进行体检的健康者 60 例作为健康对照组。分别采用荧光定量聚合酶链反应与电化学发光法检测血清 miR-221 与糖链抗原 125(CA125)表达水平,并分析血清 miR-221 表达与卵巢上皮癌患者病理特征的关系。此外,以病理组织检查为金标准,对比血清 CA125、血清 miR-221 及两项指标联合检测诊断卵巢上皮癌的灵敏度、特异度以及准确度。结果 卵巢上皮癌组患者血清 miR-221、CA125 水平均高于卵巢良性肿瘤组与健康对照组,而卵巢良性肿瘤组血清 CA125 水平高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。国际妇科联盟(FIGO)手术病理分期为 I ~ II 期与无淋巴结转移患者的血清 miR-221 表达水平分别为 (5.33 ± 1.58) 、 (5.26 ± 1.64) ,均低于 FIGO 分期为 III ~ IV 期与有淋巴结转移患者的 (7.99 ± 2.56) 、 (8.02 ± 2.61) ,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。联合组诊断卵巢上皮癌的灵敏度、特异度、准确度分别为 96.67%、95.00%、95.83%,均高于 CA125 组与 miR-221 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 卵巢上皮癌患者血清中 miR-221 存在明显高表达,且与临床分期以及淋巴结转移密切相关,临床工作中可通过联合检测血清 miR-221 与 CA125 表达水平,从而提高对卵巢上皮癌的诊断价值。

关键词: 卵巢上皮癌; miR-221; 血清标志物; 病理特征

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.009

中图法分类号: R737.31

文章编号: 1673-4130(2019)20-2471-04

文献标识码: A

Expression of serum miR-221 in patients with ovarian epithelial cancer and its diagnostic value*

LIU Peihong¹, TANG Fei¹, LIU Yong²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Gynaecology, Bethune International Peace Hospital of PLA, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of miR-221 in serum of patients with ovarian epithelial cancer and its diagnostic value. **Methods** A total of 60 patients with ovarian epithelial cancer admitted to the hospital from February 2015 to February 2018 were selected as the ovarian epithelial cancer group, 60 patients with benign ovarian cancer treated in the hospital during the same period were selected as the benign ovarian cancer group, and 60 healthy persons who underwent physical examination during the same period were selected as the healthy control group. The expression levels of serum miR-221 and carbohydrate chain antigen 125 (CA125) were detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction (q-PCR) and electrochemiluminescence (ECL), respectively, and the relationship between the expression of serum miR-221 and the pathological characteristics of patients with ovarian epithelial cancer was analyzed. In addition, the sensitivity, specificity and accuracy of combined detection of serum CA125, serum miR-221 and two indicators in the diagnosis of ovarian epithelial cancer were compared according to the gold standard of pathological examination. **Results** The levels of serum miR-221 and CA125 in patients with ovarian epithelial cancer group were higher than those in patients with benign ovarian cancer group and healthy control group, while the levels of serum CA125 in patients with benign ovarian cancer group were higher than those in healthy control group ($P < 0.05$). The expression levels of serum miR-221 in patients with FIGO stage I - II and without lymph node metastasis were (5.33 ± 1.58) , (5.26 ± 1.64) respectively, lower than those in patients with FIGO stage III - IV and with

* 基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(20151034)。

作者简介: 刘培红, 女, 主管技师, 主要从事临床免疫方向的研究。

本文引用格式: 刘培红, 汤菲, 刘咏. 卵巢上皮癌患者血清中 miR-221 的表达及其诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(20): 2471-

lymph node metastasis (7.99 ± 2.56), (8.02 ± 2.61). The differences were statistically significant (all $P < 0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy of combined group in diagnosis of ovarian epithelial cancer were 96.67%, 95.00% and 95.83% respectively, which were higher than those of CA125 group and miR-221 group, with statistical significance (all $P < 0.05$). **Conclusion** The expression of serum miR-221 in patients with ovarian epithelial cancer is significantly high, which is closely related to clinical stage and lymph node metastasis. In clinical work, the expression levels of serum miR-221 and CA125 can be detected jointly to improve the diagnostic value of ovarian epithelial cancer.

Key words: ovarian epithelial cancer; miR-221; serum markers; pathological features

卵巢上皮癌是临床最为常见的女性生殖系统恶性肿瘤疾病之一。根据统计我国每年新发卵巢癌病例超过 19 万例,死亡人数高达 11.4 万,卵巢癌对广大女性的生命健康安全具有极大的威胁^[1]。有报道显示,卵巢上皮性癌发病早期缺乏典型症状,具有较强的隐匿性,因此绝大部分患者一经确诊便已是中晚期,丧失了手术根治的机会^[2]。因此,寻找一种有效的手段对卵巢上皮癌进行早期诊断显得尤为重要。微小 RNA(miRNA)是一类长度为 20~22 个核苷酸的非编码小 RNA 分子,与个体发育、细胞增殖分化有密切关系^[3]。近年来相关研究的逐渐深入,学者发现 miRNA 与肿瘤发生、发展和预后密切相关,由于 miRNA 可存在与机体血液以及体液中,具有性质稳定的优点^[4]。因此其可能成为肿瘤诊断、预后的一类新型生物学标志物。鉴于此,本文通过研究卵巢上皮癌患者血清中 miR-221 的表达及其诊断价值,旨在为卵巢上皮癌的早期诊断提供一种有效方式,现作以下报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2015 年 2 月至 2018 年 2 月本院收治的卵巢上皮癌患者 60 例为研究对象,记为卵巢上皮癌组。年龄 23~77 岁,平均(57.32 ± 10.52)岁;肿瘤直径 2~8cm,平均(4.32 ± 1.58)cm;根据 2014 年国际妇科联盟(FIGO)手术病理分期:I~II 期 31 例,III~IV 期 29 例;分化程度:低分化 42 例,中高分化 18 例;发生淋巴结转移 25 例,未发生淋巴结转移 35 例。另取同期于本院接受诊治的卵巢良性肿瘤患者 60 例记为卵巢良性肿瘤组,年龄 22~72 岁,平均(57.17 ± 10.48)岁。再取同期于本院进行体检的健康者 60 例记为健康对照组,年龄 23~76 岁,平均(57.22 ± 10.56)岁。3 组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明组间存在可比性。纳入标准^[4]:(1)所有卵巢上皮癌与卵巢良性肿瘤患者均经影像学检查以及术后病理组织检查确诊;(2)均为初治病例;(3)年龄 >20 岁;(4)临床病历资料完整;(5)入院前未接受放化疗或免疫治疗等相关抗肿瘤治疗。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)合并心、肝、肾等脏器功能严重障碍者;(3)存在内分泌系统疾病者;(4)近期有手术史、外伤史以及严重感染性疾病者;(5)妊娠期或哺乳期妇女。两组患者及其家属均

签署了知情同意书并经过本院伦理委员会批准。

1.2 研究方法 (1)血清标本采集:3 组人员入院后均采集空腹静脉血 5 mL 保存于促凝管(10 mL $\times$ 13 mm $\times$ 100 mm,江苏宇力医疗器械有限公司)中,在室温条件下以 16 00 $\times$ g 离心 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 16 000 $\times$ g 离心 10 min,取血清保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中点检。(2)RNA 提取与逆转录反应:取血清 200 μL 加入 1 pmol 的 miRNA 检测外参照,严格根据血清/血浆 miRNA 提取分离试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司)说明书进行 RNA 提取相关操作,采用核酸蛋白测定仪(赛默飞 NanoDrop One)检测浓度,并吸取光度,选取吸光度在 1.8~2.1 的 RNA 样本用于后续实验。严格根据 miRcute 增强型 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒(上海康朗生物科技有限公司)说明书将 RNA 逆转录成 cDNA,并将样本保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,使用前将其已无菌 ddH₂O 稀释 100 倍。(3)在 ABI 7900 型荧光定量 PCR 检测仪上建立实时荧光定量 PCR 检测:其中 PCR 反应体系包括 2 $\times$ miRcute Plus miRNA Premix 10 μL ,10 $\mu\text{mol/L}$ 的上游引物与下游引物各 0.4 μL ,已被稀释完成的 cDNA 1 μL ,50 $\times$ ROX Reference Dye 2 μL ,ddH₂O 6.2 μL 。PCR 反应参数如下:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 15 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 20 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s,40 个循环。于 60 $^{\circ}\text{C}$ 时采集荧光信号,以 miRNA 检测外参照为对照组,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 miR-221 相对表达量,每份样本均连续测定 3 次,取平均值。(4)血清糖链抗原 125(CA125)检测:采用全自动化学发光仪(德国罗氏公司 cobas e 601)与配套试剂盒进行检测,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 观察指标 对比 3 组研究对象 miR-221 以及 CA125 表达水平,分析血清 miR-221 表达与卵巢上皮癌患者病理特征关系。

1.4 统计学处理 本研究数据均采用 SPSS20.0 软件进行检测分析,采用 χ^2 检验、 t 检验,用 [$n(\%)$] 表示计数资料,用 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料均数标准差。多组间对比采用单因素方差予以分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清 miR-221 及 CA125 表达水平比较 卵巢上皮癌组患者血清 miR-221、CA125 水平均高于卵巢良性肿瘤组与健康对照组,而卵巢良性肿瘤

组血清 CA125 水平高于健康对照组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组患者血清 miR-221 及 CA125 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-221 相对表达量	CA125(U/mL)
卵巢上皮癌组	60	7.04±2.38 ^{#*}	177.38±56.49 ^{#*}
卵巢良性肿瘤组	60	3.01±0.85 [#]	82.47±31.52 [#]
健康对照组	60	2.37±0.66	22.05±8.38
<i>F</i>		11.593	22.752
<i>P</i>		0.000	0.000

注:与健康对照组相比,[#] $P<0.05$;与卵巢良性肿瘤组相比,^{*} $P<0.05$

2.2 血清 miR-221 表达与卵巢上皮癌患者病理特征关系分析 FIGO 分期为 I~II 期患者的血清 miR-221 表达水平均低于 FIGO 分期为 III~IV 期患者,有淋巴结转移患者的血清 miR-221 表达水平显著高于无淋巴结转移患者,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 血清 miR-221 表达与卵巢上皮癌患者病理特征关系分析($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-221 相对表达量	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)				
<60	28	6.93±2.19	0.251	0.803
≥60	32	7.08±2.41		
肿瘤大小(cm)				
<5	39	7.01±2.36	0.093	0.927
≥5	21	7.07±2.45		
FIGO 分期				
I~II 期	31	5.33±1.58	4.878	0.000
III~IV 期	29	7.99±2.56		
分化程度				
低分化	42	6.87±2.33	0.519	0.606
中高分化	18	7.22±2.54		
淋巴结转移				
有	25	8.02±2.61	5.027	0.000
无	35	5.26±1.64		

表 3 不同方式诊断卵巢上皮癌的结果对比[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	真阳性	假阴性	真阴性	假阳性
病理	120	60(100.00)	0(0.00)	60(100.00)	0(0.00)
CA125 组	120	49(81.67)	11(18.33)	44(73.33)	16(26.67)
miR-221 组	120	51(85.00)	9(15.00)	48(80.00)	12(20.00)
联合组	120	58(96.67) ^{*#}	2(3.33) ^{*#}	57(95.00) ^{*#}	3(5.00) ^{*#}
χ^2		8.314	10.226		
<i>P</i>		0.000	0.000		

注:与 CA125 组相比,^{*} $P<0.05$;与 miR-221 组相比,[#] $P<0.05$

2.3 不同方式诊断卵巢上皮癌的结果对比 联合组诊断卵巢上皮癌的灵敏度、特异度、准确度分别为 96.67%、95.00%、95.83%,均高于 CA125 组与 miR-

221 组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 3、4。

表 4 不同方式诊断卵巢上皮癌的灵敏度、特异度、准确度对比(%)

组别	灵敏度	特异度	准确度
病理	100.00	100.00	100.00
CA125 组	81.67	73.33	77.50
miR-221 组	85.00	80.00	82.50
联合组	96.67 ^{*#}	95.00 ^{*#}	95.83 ^{*#}
<i>F</i>	8.314	10.226	14.392
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000

注:与 CA125 组相比,^{*} $P<0.05$;与 miR-221 组相比,[#] $P<0.05$

3 讨论

近年来,随着人们生活水平的不断提高以及生活方式的逐渐改变,卵巢上皮性癌的发病率呈逐年上升趋势^[6]。且由于该病早期具有极强的隐匿性,临床早期诊断难度较大,从而使得治疗效果不理想,病死率在所有妇科恶性肿瘤中位居首位,严重影响着妇女的健康安全^[7-8]。由此,寻找一种可早期有效诊断卵巢上皮癌的手段显得尤为重要。既往,临床上主要是通过影像学检查以及病理组织活检等对卵巢上皮癌进行诊断。然而影像学检查存在一定的漏检率以及误检率;而病理组织活检属于创伤性诊断技术,会对患者造成一定的损伤,两者均存在一定的局限性^[9-10]。血清学标志物由于具有标本采集容易,对患者无创伤性等优势开始受到广大医务人员的重视。且有研究报道显示,miR-221 作为一种新近发现的 miRNA,其在多种恶性肿瘤细胞中存在明显高表达,可能成为临床上恶性肿瘤疾病诊断的新型生物学指标之一^[11-12]。

本研究通过对本院接受诊治的卵巢良性肿瘤患者、卵巢良性肿瘤患者和体检健康者比较发现,卵巢上皮癌组患者血清 miR-221、CA125 水平均高于卵巢良性肿瘤组与健康对照组,这符合郁超等^[13]和雷磊等^[14]研究报道,说明了卵巢上皮癌患者血清 miR-221 与 CA125 水平均存在明显高表达,两者可能成为临床诊断卵巢上皮癌的有效生物学指标。分析原因,主要可能与 miR-221 及 CA125 在卵巢上皮癌患者机体中的作用机制等因素有关。其中 miR-221 主要作用机制是通过对 p27、p57 等基因进行调控,进一步参与肿瘤的发生、发展,且临床上已有不少研究报道证实 miR-221 在肝癌、喉癌、卵巢癌及结肠癌等多种肿瘤中均存在明显高表达^[15-16]。CA125 则是临床上传统的卵巢癌诊断标志物之一。然而,本文结果显示卵巢良性肿瘤组血清 CA125 水平高于健康对照组,这表明了 CA125 可能在多种卵巢良性肿瘤疾病中存在不同程度的升高,因此其应用于卵巢上皮癌的诊断中存在一定的局限性。此外,FIGO 分期为 I~II 期与无淋巴结转移患者的血清 miR-221 表达水平均低于 FI-

GO 分期为Ⅲ~Ⅳ期与有淋巴结转移患者,这表明了血清 miR-221 在卵巢上皮癌患者中的表达与病情严重程度及淋巴结转移存在密切相关,且血清 miR-221 水平越高,患者病情越严重,发生淋巴结转移风险越高^[17-18]。分析原因,笔者认为可能与 miR-221 可通过对前凋亡因子 Bim、c-kit 及 Bmf 等基因进行调控,发挥抑制细胞凋亡、促进细胞生长的作用,从而在肿瘤的发生、发展过程中发挥重要作用等因素有关。另外,联合组诊断卵巢上皮癌的灵敏度、特异度、准确度分别为 96.67%、95.00%、95.83%,均高于 CA125 组与 miR-221 组,这提示了联合检测血清 miR-221 与 CA125 表达水平,有效提高卵巢上皮癌的检出率,可能成为临床上诊断卵巢上皮癌的一种新手段。

4 结 论

卵巢上皮癌患者血清中 miR-221 存在明显高表达,且与临床分期以及淋巴结转移密切相关,目前对于 miR-221 与 CA125 联合检验开展较少,临床工作中可通过联合检测血清 miR-221 与 CA125 表达水平,从而提高对卵巢上皮癌的诊断价值,值得临床推广应用。

参考文献

[1] 陶锋,肖传宇,谢强,等.糖类抗原 CA125 与 CA19-9 联合检测在子宫内膜异位诊断中的临床价值[J].海南医学院学报,2014,20(11):1577-1579.

[2] 赵丹,田海梅,李艳芬,等.血清 MIC-1 和 CA125 在卵巢上皮癌诊断及预后中的应用研究[J].癌症进展,2015,22(6):618-622.

[3] 邓小斌,孙圣荣. MicroRNA-221 在恶性肿瘤中的研究进展[J].武汉大学学报(医学版),2016,37(6):925-928.

[4] 南钰,刘宗谕,柳杨,等.肿瘤循环细胞在卵巢上皮癌预后评估的价值和前景[J].中华医学杂志,2016,96(35):2842-2845.

[5] 李轲,谢付静.联合检测 HE4、CA125 和 CEA 在卵巢上皮癌中的诊断意义[J].现代妇产科进展,2016,25(9):691-692.

[6] LIU X,LIANG Y,SONG R,et al. Long non-coding RNA

NEAT1-modulated abnormal lipolysis via ATGL drives hepatocellular carcinoma proliferation[J]. Mol Cancer, 2018,17(1):90.

[7] 陈莹,汪俊红,邱忠君,等.超声评分联合血清 CA125 鉴别卵巢良恶性肿瘤的价值研究[J].河北医科大学学报,2015,36(9):1030-1032.

[8] 马赞,肖立志,龚颖萍,等. CT 联合血清 CA125 和人附睾蛋白 4 对卵巢上皮性癌的诊断价值[J].中国医师杂志,2013,15(2):197-199.

[9] 吴展陵,钟敏华. MicroRNA-221 对非小细胞肺癌 NCI-H1299 细胞生长的影响及其机制研究[J].解放军医药杂志,2016,28(6):36-40.

[10] 于飞飞,田雨溪,刘晓冬,等. 宫颈鳞状细胞癌组织中 miRNA 差异性表达及其靶基因作为诊断标志物的意义[J].吉林大学学报(医学版),2016,42(1):85-88.

[11] CHEN SF,LIU Z,CHAURASIYA S,et al. Identification of core aberrantly expressed microRNAs in serous ovarian carcinoma[J]. Oncotarget,2018,9(29):20451-20466.

[12] 李锋,宋文娜,张秋月,等. 探究 miR-221 在甲状腺乳头状癌中的表达及其与患者临床资料和预后的关系[J]. 养生保健指南,2017,22(34):49.

[13] 郁超,段义农,陈相,等. miR-221 在卵巢上皮癌患者中的表达及意义[J]. 临床检验杂志,2018,36(2):110-112.

[14] 雷磊,王艳丽,梁静,等. 卵巢上皮癌差异表达 microRNAs 的筛选研究[J]. 现代肿瘤医学,2013,21(2):398-402.

[15] 王伟,王臻,黄康榕,等. 子宫内膜癌干细胞分化过程中 microRNA 表达谱的鉴定及分析[J]. 西安交通大学学报(医学版),2018,39(2):221-226.

[16] 胡金龙,韩倩,杨红杰,等. 卵巢上皮癌原发耐药相关 microRNA 的初步研究[J]. 癌症进展,2017,15(8):886-890.

[17] 毕学成,刘久敏,蒲小勇,等. 微小 RNA-221 通过靶基因细胞因子信号抑制因子 1 表达水平调控前列腺癌细胞的侵袭力[J]. 中华实验外科杂志,2017,34(10):1664-1666.

[18] 周宁. microRNA-221 在恶性肿瘤中的研究进展[J/CD]. 妇产与遗传(电子版),2016,6(1):51-55.

(收稿日期:2019-02-18 修回日期:2019-07-23)

(上接第 2470 页)

[10] 崔燕红,赵一琳,蒋廷旺,等. 2017—2018 年区域性暴发流感病毒流行病学与临床特征分析[J]. 检验医学与临床 2018,15(24),3741-3744.

[11] 杨郝亮,郭楠,李宝萍,等. 908 例呼吸道感染患者病原体的 IgM 抗体检测结果分析[J]. 标记免疫分析与临床,2017,24(11),1212-1215.

[12] 李云,王澜,胡挺松,等. 855 例呼吸道感染患者九种病原体 IgM 抗体检测结果分析[J]. 云南师范大学学报(自然科学版),2016,36(6),50-53.

[13] 姚瑶,李爱华,宋文琪. 2016—2018 年北京地区儿童急性呼吸道感染病原体流行特征分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2019,39(2),88-93.

[14] 唐学良. 郑州地区 1 304 例呼吸道感染病原体检测结果分析[J]. 中国实用医药,2015,10(2):96-97.

[15] 廖冰洁,周迎春,李翠,等. 呼吸道病原体 IgM 抗体联合检测在呼吸道感染诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(10):1339-1340.

(收稿日期:2019-03-28 修回日期:2019-06-22)