·论　　著·

血清 miR-155 联合组织 PTEN 检测对子宫内膜癌的诊断价值*

陈玉芬[1]，张秀俊[1]，苏海飞[2]，张　肖[1]，韩　敏[1]
（1. 邯郸市第一医院妇产科，河北 邯郸 056002；2. 馆陶县人民医院妇产科，河北 邯郸 057750）

摘　要：目的　探讨血清微小 RNA-155（miR-155）联合组织人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因（PTEN）检测对子宫内膜癌的诊断价值。**方法**　选取 2015 年 9 月至 2018 年 6 月邯郸市第一医院妇产科收治的子宫内膜癌 51 例、良性病变患者 52 例，采用荧光实时定量聚合酶链反应（Q-PCR）法检测研究对象血清中 miR-155 表达，免疫组织化学法检测各组子宫内膜组织中 PTEN 水平，并通过受试者工作特征（ROC）曲线评价 miR-155、PTEN 及二者联合对子宫内膜癌的诊断价值。**结果**　与良性病变组相比，子宫内膜癌组血清 miR-155 表达水平显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与良性病变组相比，子宫内膜癌组 PTEN 蛋白表达量显著降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）；ROC 曲线显示，血清 miR-155 水平预测患者子宫内膜癌发生的曲线下面积为 0.876，灵敏度为 96.3%，特异度为 94.2 %；子宫内组织 PTEN 水平预测患者子宫内膜癌发生的曲线下面积为 0.952，灵敏度为 94.1 %，特异性度为 92.3 %；二者联合检测诊断子宫内膜癌曲线下面积为 0.991，灵敏度为 99.2 %，特异度为 92.5 %。**结论**　血清 miR-155 联合组织 PTEN 检测可作为子宫内膜癌的诊断指标。

关键词：子宫内膜癌；　血清微小 RNA-155；　人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因；　血清；　诊断

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2020.01.010　　**中图法分类号：**R737.33

文章编号：1673-4130(2020)01-0037-04　　**文献标识码：**A

Diagnostic value of serum MiR-155 combined with tissue PTEN detection in endometrial carcinoma*

CHEN Yufen[1], *ZHANG Xiujun*[1], *SU Haifei*[2], *ZHANG Xiao*[1], *HAN Min*[1]
(1. *Department of Gynecology and Obstetrics, the First Hospital of Handan, Handan, Hebei* 056002, *China*; 2. *Department of Gynecology and Obstetrics, People's Hospital of Guantao county, Handan, Hebei* 057750, *China*)

Abstract: Objective　To explore the diagnostic value of serum microRNA-155 (miR-155) combined with tissue phosphatase and tensin homologous genes deleted on chromosome 10 (PTEN) detection in endometrial cancer. **Methods**　From September 2015 to June 2018, 51 cases of endometrial cancer and 52 cases of benign lesions were selected, the expression of miR-155 in serum was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR), PTEN level in endometrial tissues was detected by immunohistochemistry, the diagnostic values of miR-155, PTEN, and their combination in endometrial cancer were evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results**　Compared with benign lesion group, the expression of serum miR-155 in endometrial cancer group was significantly increased, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with benign lesion group, the expression of PTEN protein in endometrial cancer group was significantly decreased, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve showed that the area under the curve of miR-155 in predicting the occurrence of endometrial cancer was 0.876, the sensitivity was 96.3%, and the specificity was 94.2%. The area under the curve of PTEN level in predicting the occurrence of endometrial cancer was 0.952, the sensitivity was 94.1%, and the specificity was 92.3%. The area under the curve of combined detection was 0.991, the sensitivity was 99.2%, and the specificity was 92.5%. **Conclusion**　Serum miR-155 combined with tissue PTEN detection can be used as a diagnostic index for endometrial cancer.

---

*　**基金项目：**2016 年度河北省医学科学研究重点课题计划（20160332）。

作者简介：陈玉芬，女，副主任医师，主要从事妇科肿瘤方面的研究。

本文引用格式：陈玉芬，张秀俊，苏海飞，等. 血清 miR-155 联合组织 PTEN 检测对子宫内膜癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志，2020，41(1)：37-40.

Key words: endometrial cancer;　microRNA-155;　phosphatase and tensin homologous genes deleted on chromosome 10;　serum;　diagnosis

子宫内膜癌是发生于子宫内膜的一组上皮性恶性肿瘤，约占女性生殖道恶性肿瘤的 20%～30%，属于最常见的女性生殖系统肿瘤之一。近年来，子宫内膜癌发病率呈上升趋势，并有年轻化趋势，严重威胁着妇女生活质量和生命健康。在临床诊断中，常通过观察患者阴道排液增多或不规则出血等现象来判断子宫内膜癌发病，但诊断存在不准确性，大多数患者在诊断出患子宫内膜癌疾病时已是晚期阶段，预后效果极差，病死率高[1]。微小 RNA（miRNA）是一种非蛋白编码的小分子 RNA，通过调节靶基因的表达发挥作用[2]。有研究表明，miR-155 与子宫内膜癌的发病密切相关[3]。人第 10 号染色体缺失的磷酸酶（PTEN）是目前已知唯一具有脂质磷酸酶活性的抑癌基因且 PTEN 是子宫内膜癌中突变率最高的基因[4]。有研究表明 PTEN 是 miR-155 的靶基因，miR-155 通过调控 PTEN 表达参与肝癌、胃癌等恶性肿瘤中发生[5]。因此本研究通过观察子宫内膜癌患者血清 miR-155 表达、组织 PTEN 蛋白表达情况，探讨二者应用于早期预测子子宫内膜癌的可能性，为临床诊断、治疗子宫内膜癌提供理论基础。

1　资料与方法

1.1　一般资料　收集 2017 年 6 月至 2018 年 6 月邯郸市第一医院妇产科收治的子宫内膜癌患者 51 例，包括不典型增生 5 例，Ⅰ型子宫内膜癌 46 例，年龄 45～70 岁，平均（55.29±4.39）岁，纳入标准：均存在明确手术指征；经病理学检查明确诊。排除标准：Ⅱ型子宫内膜癌；临床资料不完整者。另选取同期良性病变患者 52 例，包括子宫内膜息肉 38 例，单纯性增生 9 例，复杂性增生 3 例，不规则增殖 2 例，年龄 48～71 岁，平均（56.21±5.12）岁，所有研究对象检查前均未经放化疗以及激素治疗。

1.2　方法

1.2.1　荧光实时定量聚合酶链反应（Q-PCR）法检测血清中 miR-155 表达量　入院后所有研究对象空腹采取静脉血 5 mL，避免溶血，4 ℃ 3 500 r/min 条件下冷冻离心 20 min，小心吸取上清液，贴好标签后－80 ℃贮藏备用，避免反复冻融。按照 Trizol 试剂盒说明书操作提取血清总 RNA，按照 miRNA 反转录试剂盒操作步骤将 2 μg RNA 反转录为 cDNA，按照 SYBR Green RCR master mix 试剂说明配反应体系并加样。完成后将其放入荧光定量 PCR 仪上进行反应，程序设定为：95 ℃ 15 s，60 ℃ 15 s，72 ℃ 15 s，共 40 个循环。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，引物设计见表 1。反应结束后收集数据，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法，以 U6 为内参基因，计算 miR-155 相对表达量。

表 1　Q-PCR 引物序列

基因	正向引物 5′-3′	反向引物 5′-3′
miR-155	ACG CTC AGT TAA TGC TAA TCG TGA TA	ATT CCA TGT TGT CCA CTG TCT CTG
U6	ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT	GGA ACG CTT CAC GAA TTT G

1.2.2　免疫组化法检测子宫内膜癌组织中 PTEN 蛋白表达　子宫内膜组织用石蜡包埋制作石蜡切片，切片厚 4 μm 并采用免疫组化 SP 法染色，严格按照试剂盒说明书进行操作，DAB（二氨基联苯氨）显色液进行显色反应，采用苏木素复染并将其在不同梯度乙醇中脱水，中性树脂进行封片，置于显微镜下进行观察。在 200 倍光镜下观察结果并从每个切片中选取 10 个高倍视野中随机挑选并对阳性染色细胞数量进行统计。PTEN 以细胞中出现棕黄色颗粒作为阳性表达，采用组织化学评分（H-Score）系统半定量分析，H-Score＝Σpii，式中 pi 表示阳性细胞数量占切片中所有细胞数量的百分数；i 代表着色强度。细胞中无黄色出现为 0 分，细胞中出现较浅的阳性染色但弱于间质细胞为 1 分，细胞中出现中等程度的阳性染色等于间质细胞为 2 分，细胞中出现强阳性染色强于间质细胞为 3 分。阳性细胞数少于 5%记 0 分；5%～25%记 1 分；＞26%～50%记 2 分；＞50%～75%记 3 分；＞75%记 4 分。总分 0～120 分。

1.3　统计学处理　采用统计学软件 SPSS17.0 对数据进行分析，计量资料符合正态分布的数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示，两组间比较采用 t 检验；采用 Binary logistic 回归分析法评估子宫内膜癌影响因素，得到 logistic 回归方程，并得到一组新变量 Pre-1；采用 ROC 曲线分析 miR-155、PTEN 及二者联合检测对子宫内膜癌的预测作用。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　　果

2.1　两组血清 miR-155 表达情况　与良性病变组相比，子宫内膜癌组血清 miR-155 表达水平显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 2。

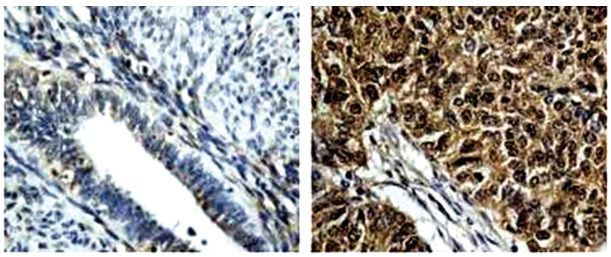
2.2　子宫内膜癌组织及良性病变组织中 PTEN 蛋白表达　免疫组化结果显示 PTEN 在细胞核、细胞质中均有表达，染色呈浅黄色、棕黄色、棕褐色，着色显著、

均匀。见图 1。与良性病变组相比，子宫内膜癌组 PTEN 蛋白表达量显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。

表 2　两组 miR-155 表达水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	miR-155/U6
良性病变组	52	1.03±0.21
子宫内膜癌组	51	3.16±0.74
t		19.955
P		0.000

2.3　血清 miR-155、组织 PTEN 表达水平对子宫内膜癌的诊断价值　ROC 曲线显示，血清 miR-155 水平预测患者子宫内膜癌发生的曲线下面积为 0.876，截断值为 2.06，灵敏度为 96.3%，特异度为 94.2%。组织 PTEN 水平预测患者子宫内膜癌发生的曲线下面积为 0.952，截断值为 53.00，灵敏度为 94.1%，特异度为 92.3 %。见图 2。



注：a 为 PTEN 阴性表达，b 为 PTEN 阳性表达。

图 1　子宫内膜癌组织及良性病变组织中 PTEN 蛋白表达情况（×200）

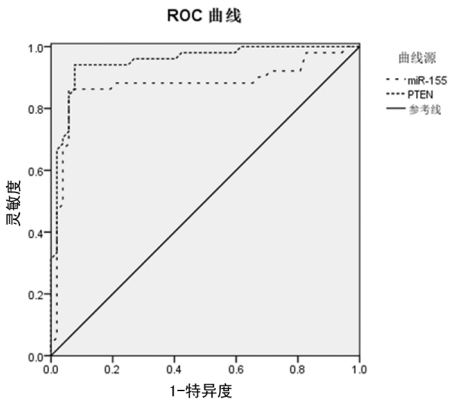


图 2　血清 miR-155、组织 PTEN 水平对子宫内膜癌的预测价值

表 3　联合检测 logistic 回归分析

指标	B	SE	$wald$	df	Sig	OR
miR-155	3.270	0.943	12.031	1	0.001	26.314
PTEN	0.069	0.020	12.288	1	0.000	1.071
联合预测	−13.968	3.903	12.805	1	0.000	0.000

2.4　血清 miR-155 联合组织 PTEN 检测对子宫内膜癌的预测作用　经 logistics 回归分析，设 X_1=miR-155，X_2=PTEN，得到子宫内膜癌预测概率值回归方程 $P=1/^{[1+]}$，在 SPSS 中生成预测值的新变量 Pre-1。ROC 曲线显示，二者联合检测诊断子宫内膜癌曲线下面积为 0.991，灵敏度为 99.2%，特异度为 92.5%。见表 3。

3　讨　论

临床按照病理组织学特点可将子宫内膜癌分为子宫内膜样癌（Ⅰ型）和非子宫内膜样癌（Ⅱ型），其中 80%～90%的病例属于子宫内膜样癌。多发生于围绝经期和绝经后妇女。在我国，随着社会的发展和经济条件的改善，子宫内膜癌的发病率逐年上升，目前仅次于宫颈癌，居女性生殖系统恶性肿瘤的第二位。阴道排液异常是子宫内膜癌发生的典型性状，早期可表现为稀薄的白色分泌物或少量血性白带，如果合并感染或癌灶坏死，可有脓性分泌物伴有异味，有时阴道排液中可伴有组织样物。但只依靠阴道排液诊断子宫内膜癌准确性低，大多数患者在诊断出患子宫内膜癌疾病时已是中晚期阶段，错过了治疗的最佳时期，因此寻求预测子宫内膜癌发生的有效标志物显得尤为重要。

miR-155 是一个典型的多功能 miRNA，位于非编码区基因 Bic 内，在恶性肿瘤的发生发展中发挥重要作用。研究表明 miR-155 在肺癌、乳腺癌和胰腺癌等组织和细胞中呈高表达[6-8]。YANOKURA 等[9]通过对正常子宫内膜、子宫内膜癌组织表达的 667 种 miRNA 进行基因筛选发现，子宫内膜癌与正常子宫内膜相比 miR-155 存在明显异常表达。高玲等[10]研究表明 miR-155 在子宫内膜癌组织中存在异常表达，上调子宫内膜癌患者 miR-155 表达能促进子宫内膜间质细胞增殖和削弱子宫内膜间质细胞的凋亡能力，推测在子宫内膜间质细胞中，miR-155 可能通过调控凋亡相关基因 Caspase3 对细胞增殖与凋亡产生影响。陈玉芬等[11]研究表明 miR-155 可作为辅助预测子宫内膜癌发生的标记物。本研究通过 qRT-PCR 技术得知，miR-155 在子宫内膜癌患者血清内表达显著高于子宫良性病变患者，与相关研究相符，猜测 miR-155 与子宫内膜癌的发生发展有关。ROC 曲线显示，血清 miR-155 水平对子宫内膜癌的早期诊断作用曲线下面积为 0.876，截断值为 1.46，表明当血清 miR-155 表达量高于 1.46 时，患子宫内膜癌风险增加，然而灵敏度、特异度一般，提示 miR-155 可作为子宫内膜癌的辅助检查，不能直接预测子宫内膜癌的发生。

PTEN 是一种抑癌基因，由在 1997 年原发性乳腺癌患者组织中首次获得，定位于人 10q 23.3 染色体上，含有 9 个外显子和 8 个内含子，可通过调控细胞分裂周期，阻止细胞过快生长、分裂[12]。有证据显示，PTEN 蛋白还有协助抑制肿瘤细胞转移、细胞与周围组织的黏附和血管发生等功能[13]。刘丙营[14]研究发现随着子宫内膜癌病情加重，PTEN 阳性表达率逐级

减少，提示 PTEN 阳性表达率与肿瘤的恶性程度密切相关。SHAFIEE 等[15]研究表明，PTEN 是 miR-155 的靶基因，miR-155 可调控 PTEN 参与细胞增殖、迁移过程。本研究中，经免疫组化半定量分析得知，PTEN 在子宫内膜癌患者癌组织内表达显著低于子宫良性病变患者，猜测 PTEN 可能与子宫内膜癌的发生发展有关。ROC 曲线显示，PTEN 水平对子宫内膜癌的诊断作用曲线下面积为 0.952，灵敏度为 94.1%，特异度为 92.3%，诊断价值较高，截断值为 135，提示患者 PTEN 水平低于 135 时发生子宫内膜癌的风险较高，且诊断价值较高，与相关研究相符[16-18]。此外本研究通过 Logistic 得到血清 miR-155、组织 PTEN 水平联合预测回归方程，得到一组新变量，即 $P=1/[1+]$，联合诊断子宫内膜癌曲线下面积为 0.991，灵敏度为 99.2%，特异度为 92.5%，灵敏度、特异度均高于血清 miR-155、组织 PTEN 水平单一检测，表明二者联合进一步提高诊断子宫内膜癌的灵敏度与特异度，有望成为子宫内膜癌的早期诊断指标。

4　结　论

血清 miR-155、组织 PTEN 联合检测对子宫内膜癌的诊断效率优于单独检测，有助于提高诊断的准确性与科学性。本研究也存在一定不足，样本数量过少，需进一步扩大样本量，相关机制也有待进一步研究。

参考文献

[1] GAO Y, LIU T, HUANG Y. MicroRNA-134 suppresses endometrial cancer stem cells by targeting POGLUT1 and Notch pathway proteins[J]. FEBS Lett, 2016, 589(2): 207-214.

[2] CINPOLAT O, UNAL Z N, ISMI O, et al. Comparison of microRNA profiles between benign and malignant salivary gland tumors in tissue, blood and saliva samples: a prospective, case-control study[J]. Braz J Otorhinolaryngol, 2016, 83(3): 276-284.

[3] CHOI C H, PARK Y A, CHOI J J, et al. Angiotensin Ⅱ type Ⅰ receptor and miR-155 in endometrial cancers: synergistic antiproliferative effects of anti-miR-155 and losartan on endometrial cancer cells[J]. Gynecol Oncol, 2012, 126(1): 124-131.

[4] CAI Y, HE T, LIANG L, et al. Upregulation of microRNAa337 promotes the proliferation of endometrial carcinoma cells via targeting PTEN[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 4827-4834.

[5] XUE P, ZHENG M, DIAO Z, et al. miR-155 mediates suppressive effect of PTEN 3′-untranslated region on AP-1/NF-κB pathway in HTR-8/SVneo cells[J]. Placenta, 2013, 34(8): 650-656.

[6] 朱海振，郑召鹏，江飞龙，等. 基于分子信标技术对活细胞内 miR-155 检测用于肺癌诊断[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版)，2016，9(4)：361-365.

[7] 陈淑如，黄宇康，吴楚成，等. miR-155 对乳腺癌细胞增殖、凋亡及耐药蛋白表达的调控作用研究[J]. 临床肿瘤学杂志，2015，20(2)：108-111.

[8] PANG W, SU J, WANG Y, et al. Pancreatic cancer-secreted miR-155 implicates in the conversion from normal fibroblasts to cancer-associated fibroblasts[J]. Cancer Sci, 2015, 106(10): 1362-1369.

[9] YANOKURA M, BANNO K, IIDA M, et al. MicroRNAS in endometrial cancer: recent advances and potential clinical applications[J]. EXCLI J, 2015, 14(5): 190-198.

[10] 高玲，袁明，邹清靖，等. miR-155 对子宫内膜间质细胞增殖和凋亡的影响[J]. 现代妇产科进展，2014，23(1)：22-24.

[11] 陈玉芬. 子宫内膜癌患者血清中 miR-155 的表达及其临床意义研究[J]. 中国医药导刊，2014，15(1)：160-161.

[12] ZHENG D, WU W, DONG N, et al. Mxd1 mediates hypoxia-induced cisplatin resistance in osteosarcoma cells by repression of the PTEN tumor suppressor gene[J]. Mol Carcinog, 2017, 56(10): 2234-2244.

[13] LAMPERT T J, KAMPRAD N, EDWARDS M, et al. Shear force-based genetic screen reveals negative regulators of cell adhesion and protrusive activity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(37): 7727-7736.

[14] 刘丙营. PTEN 基因与肿瘤抑制蛋白 p53 在子宫内膜癌组织中的表达及临床意义[J]. 中国当代医药，2016，23(8)：58-60.

[15] SHAFIEE M N, SEEDHOUSE C, MONGAN N, et al. Up-regulation of genes involved in the insulin signalling pathway (IGF1, PTEN and IGFBP1) in the endometrium may link polycystic ovarian syndrome and endometrial cancer[J]. Mol Cell Endocrinol, 2016, 424(1): 94-101.

[16] PHILIP C A, LASKOV I, BEAUCHAMP M C, et al. Inhibition of PI3K-AKT-mTOR pathway sensitizes endometrial cancer cell lines to PARP inhibitors[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 638.

[17] BIAN X, GAO J, LUO F, et al. PTEN deficiency sensitizes endometrioid endometrial cancer to compound PARP-PI3K inhibition but not PARP inhibition as monotherapy[J]. Oncogene, 2018, 37(3): 341-351.

[18] XIONG S, CHENG J C, KLAUSEN C, et al. TGF-β1 stimulates migration of type Ⅱ endometrial cancer cells by down-regulating PTEN via activation of SMAD and ERK1/2 signaling pathways[J]. Oncotarget, 2016, 7(38): 61262-61272.

（收稿日期：2019-04-02　修回日期：2019-09-19）