

· 论 著 ·

血清 miR-141 联合 PSA、NTx 检测对前列腺癌骨转移的诊断价值

李绍武,李志霞,肖 华,卓 芬,黄娟娟[△]
(海南省第三人民医院检验科,海南三亚 572000)

摘 要:目的 探究血清微小 RNA-141(miR-141)联合游离前列腺特异性抗原(PSA)、I 型胶原氨基末端肽(NTx)检测对前列腺癌(PCa)骨转移的诊断价值。方法 选择 2015 年 3 月至 2019 年 6 月该院收治的 136 例 PCa 患者,根据 CT 及 MRI 检查结果分为骨转移组(62 例)和非骨转移组(74 例),另选取体检健康者 80 例为对照组,采用实时定量 PCR(qPCR)检测血清 miR-141 水平,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 PSA、NTx 水平,绘制受试者工作特征曲线,分析三者对 PCa 骨转移的诊断价值,采用 Logistic 回归进一步分析其与 PCa 骨转移的关系。结果 骨转移组血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平高于非骨转移组和对照组,非骨转移组高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。血清 miR-141、PSA 及 NTx 单独检测诊断 PCa 骨转移的曲线下面积(AUC)分别为 0.840、0.763、0.820,当截断值分别为 2.152、31.769 ng/mL、195.46 mg/L 时,灵敏度分别为 80.61%、64.52%、51.61%,特异度分别为 83.78%、100.00%、100.00%。PSA、NTx 二者联合检测诊断 PCa 骨转移的 AUC 为 0.830,灵敏度、特异度分别为 64.52%、100.00%,三者联合诊断 PCa 骨转移的 AUC 为 0.946,灵敏度、特异度分别为 85.48%、97.30%。Logistic 回归分析结果显示,血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平升高均是 PCa 骨转移发生的独立危险因素($P<0.05$)。结论 血清 miR-141、PSA、NTx 水平升高与 PCa 骨转移有关,三者联合检测对 PCa 骨转移早期诊断及病情评估的临床应用价值更高。

关键词:前列腺癌; 骨转移; 微小 RNA-141; 前列腺特异性抗原; I 型胶原氨基末端肽

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.24.024

中图法分类号:R730.4

文章编号:1673-4130(2020)24-3041-04

文献标识码:A

Diagnostic value of serum miR-141 combined with PSA and NTx in prostate cancer with bone metastasis

LI Shaowu, LI Zhixia, XIAO Hua, ZHUO Fen, HUANG Juanjuan[△]

(Department of Clinical Laboratory, the Third People's Hospital of Hainan, Sanya, Hainan 572000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the values of serum microRNA-141 (miR-141), prostate-specific antigen (PSA) and N-terminal type I collagen telopeptide (NTx) in the diagnosis of prostate cancer (PCa) bone metastasis. **Methods** A total of 136 PCa patients admitted to the hospital from March 2015 to June 2019 were selected and divided into bone metastasis group (62 cases) and non-bone metastasis group (74 cases) according to the results of CT and MRI examination. In addition, serum specimens from 80 healthy subjects were collected as control group. The level of serum miR-141 was detected by real-time quantitative PCR (qPCR), the levels of serum PSA and NTx were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the diagnostic value of the three in PCa bone metastasis was analyzed by receiver operating characteristic curve, and Logistic regression was used to further analyze the relationship between PCa and bone metastasis. **Results** Serum miR-141, PSA and NTx levels in bone metastasis group were higher than those in the non-bone metastasis group and the control group, and those in the non-bone metastasis group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The AUCs of serum miR-141, PSA and NTx in the diagnosis of PCa bone metastasis were 0.840, 0.763 and 0.820, respectively, and when the cut-off value was 2.152, 31.769 ng/mL and 195.46 g/L respectively, the sensitivity was 80.61%, 64.52%, 51.61%, and the specificity was 83.78%, 100.00% and 100.00%, respectively. The AUC of PSA and NTx combined in the diagnosis of PCa bone metastasis was 0.830, the sensitivity and specificity were 64.52% and 100.00%, respectively, and the AUC of miR-141, PSA and NTx combined in the diagnosis of PCa bone metastasis was 0.946, the sensitivity and specificity were 85.48% and 97.30%, respectively. Logistic regression a-

作者简介:李绍武,男,主管技师,主要从事临床检验医学方向的研究。 [△] **通信作者,** E-mail:537522864@qq.com。

本文引用格式:李绍武,李志霞,肖华,等.血清 miR-141 联合 PSA、NTx 检测对前列腺癌骨转移的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2020,41(24):3041-3044.

analysis showed that the increases of serum miR-141, PSA and NTx levels were independent risk factors for PCa bone metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion** The increase of serum miR-141, PSA and NTx levels is related to the bone metastasis of PCa, and the combined detection of the three has a higher clinical value in the early diagnosis and condition evaluation of PCa bone metastasis.

Key words: prostate cancer; bone metastasis; microRNA-141; prostate-specific antigen; N-terminal type I collagen telopeptide

前列腺癌(PCa)是一种发生在前列腺上皮的恶性肿瘤,其中前列腺腺癌占 95%以上,随年龄增长,尤其 55 岁以后男性发病率逐渐升高,在男性恶性肿瘤发病率中排第 6 位,严重威胁男性健康^[1-2]。PCa 发病隐匿,早期无明显症状,常以骨转移为最早、最常见就诊病因,PCa 合并骨转移可引起骨痛、脊髓压迫、病理性骨折等骨相关事件,严重影响患者生活质量及预后^[3-5],因此,早期诊断 PCa 骨转移至关重要。目前,临床常用前列腺特异性抗原(PSA)筛查诊断高危人群,但对于早期 PCa 患者存在一定局限,良性前列腺增生、前列腺炎患者血清 PSA 水平亦可升高,易造成假阳性,且不能区分侵袭性及非侵袭性癌症。骨组织代谢十分活跃,I 型胶原氨基末端肽(NTx)是骨组织特异性溶解终产物,是目前理想评价早期转移性骨肿瘤的灵敏、特异性指标^[6]。微小 RNA(miRNA)与多种癌症发生、发展密切相关,血清 miRNA 作为疾病诊断标志物成为近来研究的热点,其中 miR-141 可抑制 PCa 细胞的增殖和迁移,并通过靶向 RUNX1 诱导细胞凋亡,与 PCa 发生、发展密切相关^[7]。因此,本研究拟探讨血清 miR-141 联合 PSA、NTx 对 PCa 骨转移的诊断价值,以期临床 PCa 骨转移早期诊断提供新的参考价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 3 月至 2019 年 6 月本院收治的 136 例 PCa 患者,根据 Gleason 评分系统进行病理分级,低分化 51 例,中分化 63 例,高分化 22 例。纳入标准:(1)符合转移性 PCa 诊断标准^[8],且均经病理或细胞学确诊;(2)年龄 51~85 岁;(3)临床资料完整;(4)血液标本采集前未接受任何治疗。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)有严重感染、内分泌及血液系统疾病或传染性疾病;(3)近期服用激素等药物。根据 CT 及 MRI 检查结果将 PCa 患者分为两组,骨转移组 62 例,平均年龄(77.21 ± 5.64)岁;非骨转移组 74 例,平均年龄(72.94 ± 3.28)岁。另匹配本院体检健康者 80 例作为对照组,平均年龄(73.46 ± 5.68)岁。收集患者治疗前和健康者清晨空腹外周静脉血血清标本($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存)及年龄、病理分级等相关资料,所有资料收集均取得患者及其家属知情同意并签字确认。本研究已通过本院伦理委员会批准。

1.2 血清 miR-141 水平检测 采用 Trizol 提取血清总 RNA,用紫外分光光度计检测其浓度及纯度。反转录得到 cDNA,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。采用实时定量 PCR(qPCR)扩增 miR-141。miR-141 上游引物序

列(5'-3')为:ACCCAGTGC GATTGTGCA,下游引物序列(5'-3')为:ACTGTACTGGAAGATGGACC。内参 U6 上游引物序列(5'-3')为:GCTTCGGCAG-CACATATACTAAAAT,下游引物序列(5'-3')为:CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$,30 s;95 $^{\circ}\text{C}$,5 s;60 $^{\circ}\text{C}$,34 s,40 个循环。具体操作参照试剂盒说明书进行。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析 miR-141 相对表达水平。

1.3 血清 PSA、NTx 水平检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 PSA、NTx 水平,ELISA 试剂盒购自英国 Abcam 公司,货号分别为 ab188388、ab109414,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件进行统计学处理。符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK- q 检验;非正态分布计量资料以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较用 Mann-Whitney U 检验或 Wilcoxon 符号秩检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,根据曲线下面积(AUC)比较血清 miR-141、PSA、NTx 单独及联合检测对 PCa 骨转移的诊断价值。采用 Logistic 回归模型进一步分析血清 miR-141、PSA、NTx 与 PCa 骨转移的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 miR-141、PSA、NTx 水平比较 骨转移组血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平高于非骨转移组和对照组,非骨转移组高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 血清 miR-141、PSA 及 NTx 对 PCa 骨转移的诊断价值 以血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平为检验变量,以是否发生骨转移为状态变量(非骨转移=0,骨转移=1)绘制 ROC 曲线,结果显示,miR-141、PSA、NTx 单独检测诊断 PCa 骨转移的 AUC 分别为 0.840、0.763、0.820,截断值分别为 2.152、31.769 ng/mL、195.46 mg/L,灵敏度分别为 80.61%、64.52%、51.61%,特异度分别为 83.78%、100.00%、100.00%。见表 2、图 1。

2.3 血清 miR-141 联合 PSA、NTx 对 PCa 骨转移的诊断价值 将 PSA、NTx 通过 Logistic 回归模型建立方程,二者联合检测诊断 PCa 骨转移的 AUC 为 0.830,灵敏度、特异度分别为 64.52%、100.00%。将 miR-141、PSA、NTx 通过 Logistic 回归模型建立方程,三者联合诊断 PCa 骨转移的 AUC 为 0.946,灵敏度、特异度分别为 85.48%、97.30%。见表 2、图 2。

表 1 3 组血清 miR-141、PSA、NTx 水平比较

组别	<i>n</i>	miR-141($\bar{x}\pm s$)	PSA[$M(P_{25}\sim P_{75})$, ng/mL]	NTx[$M(P_{25}\sim P_{75})$, mg/L]
对照组	80	0.46±0.05	4.97(1.26~8.87)	14.95(4.62~31.28)
非骨转移组	74	1.02±0.11 ^a	11.80(5.81~16.09) ^a	70.08(22.17~107.24) ^a
骨转移组	62	3.65±0.29 ^{ab}	38.43(7.14~60.96) ^{ab}	176.48(77.75~363.19) ^{ab}
<i>F/H</i>		6 673.521	85.643	130.681
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与非骨转移组比较,^b*P*<0.05。

表 2 血清 miR-141、PSA 及 NTx 对 PCa 骨转移的诊断价值

变量	AUC(95%CI)	截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值	阴性预测值
miR-141	0.840(0.770~0.911)	2.152	80.61	83.78	0.806	0.838
PSA	0.763(0.672~0.855)	31.769 ng/mL	64.52	100.00	1.000	0.771
NTx	0.820(0.750~0.890)	195.46 mg/L	51.61	100.00	1.000	0.712
PSA+NTx	0.830(0.758~0.903)	—	64.52	100.00	1.000	0.771
miR-141+PSA+NTx	0.946(0.903~0.989)	—	85.48	97.30	0.964	0.889

注:—表示无数据。

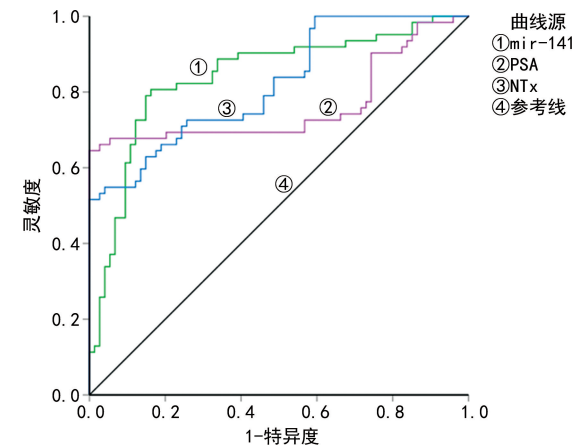


图 1 血清 miR-141、PSA 及 NTx 单独诊断 PCa 骨转移的 ROC 曲线

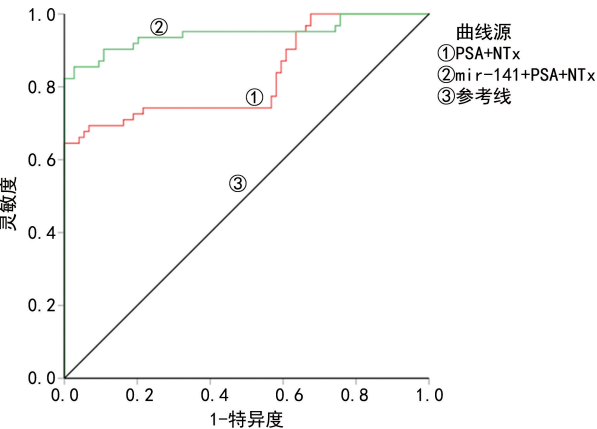


图 2 PSA、NTx 联合及 miR-141、PSA、NTx 三者联合诊断 PCa 骨转移的 ROC 曲线

2.4 Logistic 回归分析血清 miR-141、PSA 及 NTx 与 PCa 骨转移的关系 以是否发生骨转移为因变量(非骨转移=0,骨转移=1),以 PCa 患者血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示,血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平升高

均是 PCa 骨转移发生的独立危险因素(*P*<0.05),见表 3。

表 3 Logistic 回归分析血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平与 PCa 骨转移的关系

自变量	β	Wald χ^2	SE	OR	95%CI	<i>P</i>
miR-141	0.883	14.117	0.235	2.418	1.526~3.833	0.000 2
PSA	0.831	6.911	0.316	2.295	1.235~4.264	0.009 0
NTx	0.780	4.941	0.351	2.182	1.097~4.341	0.026 0

3 讨 论

PSA 与 PCa 转移及预后有关,但与 PCa 骨转移状态无直接相关,尽管 PSA 是诊断 PCa 的血清学生物标志物,但它并不总是与疾病的严重程度一致。有研究显示,PSA 联合影像学检查可提高 PCa 骨转移的早期诊断效能^[9]。但因骨组织代谢活跃,X 射线检测骨转移需持续观察 1~3 个月,全身核素骨显像检查虽灵敏度高,但特异度低,且存在放射性,诊断较滞后,均具有一定局限性,因此,急需寻找灵敏度、特异度高且便捷的血清学指标^[10]。另有研究报道,血清 PSA 联合尿 NTx 和血清 I 型胶原羧基末端肽(CTX)检测对乳腺癌骨转移患者早期诊断、疗效监测及判断骨相关事件发生具有重要意义^[11]。虽然有研究发现,血清 miR-141 可作为非侵入性诊断 PCa 的潜在标志物,但需要联合其他指标增加诊断准确性^[12],目前关于 miR-141、PSA 及 NTx 三者联合诊断 PCa 骨转移的研究很少,因此,本研究探讨血清 miR-141 联合 PSA、NTx 对 PCa 骨转移的诊断价值,以期临床 PCa 骨转移诊断提供新方案。

研究报道,PCa 患者血清中 miR-141 水平明显高于对照组,且与总 PSA 水平呈正相关^[13],还可通过调节成骨细胞活性促进前列腺癌成骨细胞转移^[14]。而另有研究结果显示,miR-141 在 PCa 组织中水平较

低,其水平升高可通过靶向抑制 RUNT 相关转录因子 1 抑制 PCa 细胞增殖、迁移,并抑制其凋亡^[7]。本研究结果显示,与健康者比较,PCa 患者血清 miR-141 水平明显升高,其中与非骨转移组比较,骨转移组血清 miR-141、PSA 水平明显升高,与上述文献报道结果不完全一致,推测其原因可能与研究对象选取及 PCa 发展阶段不同有关,提示血清 miR-141、PSA 水平升高可能与 PCa 发生及骨转移有关。胶原蛋白简称胶原,是一种含糖蛋白质,共有 4 种类型,主要分布于结缔组织,其中骨组织主要含 I 型胶原,由两端非三股螺旋区部分及中间连续三重体螺旋区构成,其中两端非三股螺旋区部分为末端肽,由氨基构成的称 NTx,由羧基构成的称之为 CTx。PCa 骨转移多数表现为成骨型,少数表现为溶骨性,而两个过程一定条件下可相互转化,溶骨发生时可产生 NTx 及 CTx,NTx 是近来发现的骨转移标志物,对 PCa 骨转移早期诊断具有重要价值^[15]。本研究结果显示,与健康者比较,PCa 患者血清 NTx 水平明显升高,其中与非骨转移组比较,骨转移组血清 NTx 水平明显升高,提示 NTx 水平升高可能与 PCa 骨转移有关。

本研究 ROC 曲线结果显示,血清 miR-141、PSA 及 NTx 单独检测诊断 PCa 骨转移的 AUC 分别为 0.840、0.763、0.820,当截断值分别为 2.152、31.769 ng/mL、195.46 mg/L,灵敏度分别为 80.61%、64.52%、51.61%,特异度分别为 83.78%、100.00%、100.00%。PSA、NTx 二者联合检测诊断 PCa 骨转移的 AUC 为 0.830,灵敏度、特异度分别为 64.52%、100.00%。三者联合诊断 PCa 骨转移的 AUC 为 0.946,灵敏度、特异度分别为 85.48%、97.30%。提示,血清 miR-141 联合 PSA、NTx 诊断 PCa 骨转移的效能最佳,可能更具有临床应用价值。本研究进一步分析血清 miR-141、PSA 及 NTx 与 PCa 骨转移的关系发现,三者水平升高均是 PCa 骨转移发生的独立危险因素,提示监测血清 miR-141、PSA 及 NTx 水平可能对 PCa 骨转移诊断及病情进展评估具有一定参考价值。

4 结 论

综上所述,血清 miR-141、PSA、NTx 水平升高与 PCa 骨转移有关,三者联合检测对 PCa 骨转移早期诊断及病情评估的临床应用价值更高。但本研究尚存在一定局限性,关于血清 miR-141、PSA、NTx 诊断 PCa 骨转移的最佳截断值及对 PCa 骨转移的作用机制有待进一步深入探究。

参考文献

[1] LUO J F, XU J, ZHENG J Z. Long non-coding RNA TTN-AS1 promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis in prostatic cancer by sponging miR-193a-5p[J].

Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(18): 7816-7825.
[2] ZHANG S, ZHAO S, FU X. Intensity modulated radiotherapy in combination with endocrinotherapy in the treatment of middle and advanced prostatic cancer[J]. Pak J Med Sci, 2019, 35(5): 1264-1269.
[3] 缪绍维, 卢婷婷, 汪永红. ECT 骨显像联合血清 PSA 检测诊断前列腺癌骨转移的临床效果[J]. 中国医药指南, 2018, 16(20): 144-145.
[4] 郭津津, 李英杰, 辛璐璐. 前列腺癌骨转移患者血清白细胞介素-6、-10、转铁蛋白及转移灶中骨形成蛋白的表达变化及意义[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(1): 109-111.
[5] 董世强, 柳青, 徐子寒, 等. 前列腺癌骨转移的治疗进展及疗效评价[J]. 肿瘤, 2019, 39(7): 573-581.
[6] LOUREIRO H, CARRASQUINHA E, ALHO I, et al. Modelling cancer outcomes of bone metastatic patients: combining survival data with N-Telopeptide of type I collagen (NTX) dynamics through joint models[J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2019, 19(1): 13-24.
[7] XU S, GE J, ZHANG Z, et al. miR-141 inhibits prostatic cancer cell proliferation and migration, and induces cell apoptosis via targeting of RUNX1[J]. Oncol Rep, 2018, 39(3): 1454-1460.
[8] 中国抗癌协会泌尿男生殖系肿瘤专业委员会. 2018 版转移性前列腺癌诊治中国专家共识[J]. 中华外科杂志, 2018, 56(9): 646-652.
[9] PIANOU N K, STAVROU P Z, VLONTZOU E, et al. More advantages in detecting bone and soft tissue metastases from prostate cancer using 18F-PSMA PET/CT[J]. Hell J Nucl Med, 2019, 22(1): 6-9.
[10] 陈勇杰, 许春. 血清骨膜素联合 PSA 检测对前列腺癌的诊断价值分析[J]. 国际泌尿系统杂志, 2018, 38(3): 375-379.
[11] 吴春娇, 马丽霞, 朱晶, 等. 联合检测乳腺癌骨转移患者中尿 I 型胶原氨基末端肽和 I 型胶原羧基末端肽的临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2016, 38(9): 693-697.
[12] PORZYCKI P, CISZKOWICZ E, SEMIK M, et al. Combination of three miRNA (miR-141, miR-21, and miR-375) as potential diagnostic tool for prostate cancer recognition[J]. Int Urol Nephrol, 2018, 50(9): 1619-1626.
[13] 崔莹莹, 袁学华, 李柯, 等. 五苓胶囊对前列腺癌循环 miRNA-141 表达的影响[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(11): 2140-2143.
[14] YE Y, LI S L, MA Y Y, et al. Exosomal miR-141-3p regulates osteoblast activity to promote the osteoblastic metastasis of prostate cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(55): 94834-94849.
[15] HILTON J F, CLEMONS M, POND G, et al. Effects on bone resorption markers of continuing pamidronate or switching to zoledronic acid in patients with high risk bone metastases from breast cancer[J]. J Bone Oncol, 2017, 10(1): 6-13.