

- [7] 张时民,李顺义. 粪类圆线虫感染一例及资料复习(含视频资料)[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2014, 3(2): 628-630.
- [8] 周兴武,周红梅,杨亚明,等. 云南省 10 州(市)消除疟疾考核评估镜检和血片复核结果分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(5): 543-545.
- [9] 沈燕,梁皎,王军,等. “一带一路”倡议下中国西部地区寄生虫病输入性风险研究[J]. 传染病信息, 2020, 33(4): 297-300.
- [10] 王成彬. 我国检验学科 70 年的发展变化与展望[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(8): 590-594.
- [11] 丛玉隆. 血细胞分析仪形态学分析技术与镜检筛选[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(1): 5-8.
- [12] 丛玉隆. 与时俱进不断提高血细胞学诊断水平[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(5): 385-388.
- [13] 刘劲松,夏吉荣,赖利华,等. 加强细胞形态学培训有效提高检验人员专业素质的研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(19): 2441-2442.
- [14] 谭家成. 对显微镜形态学室间质评现状的思考及几点建议[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(5): 395-396.
- [15] 孙新,陈晓宁. 人体寄生虫学[M]. 北京:人民军医出版社, 2013: 203.
- (收稿日期:2020-02-02 修回日期:2020-07-12)
- 短篇论著 •

血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测对早期结直肠癌的诊断价值

杨章元,周正菊[△]

(荆州市第一人民医院检验科,湖北荆州 434000)

摘要:目的 探讨血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测对早期结直肠癌的诊断价值。方法 纳入 2018 年 10 月至 2020 年 3 月该院收治的早期结直肠癌患者 120 例为肿瘤组,结直肠良性疾病患者 120 例为良性组,体检健康者 120 例为对照组。通过实时荧光定量 PCR 检测患者血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的相对表达量。用受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)分析 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 在早期结直肠癌中的诊断价值。结果 肿瘤组、良性组和对照组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的相对表达量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。肿瘤组与良性组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 诊断的灵敏度分别为 92%、92%、91%,特异度分别为 92%、91%、92%。肿瘤组与对照组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 诊断的灵敏度分别为 99%、99%、97%,特异度分别为 92%、93%、94%。血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测诊断早期结直肠癌的灵敏度为 95%,特异度为 92%,准确度为 93%。结论 血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 检测可作为诊断早期结直肠癌的潜在标志物。

关键词:血清外泌体; miR-125a-3p; miR-192miR-223; 结直肠癌; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.24.029

中图法分类号:R735.3

文章编号:1673-4130(2020)24-3059-03

文献标识码:B

结直肠癌的预后取决于确诊时的疾病阶段,在早期时确诊,患者 5 年生存率达 90%,当确诊时已发生远处转移的患者 5 年生存率不到 10%^[1]。结直肠癌的早期诊断并不容易,因为常规的体格检查不能提供灵活的结肠镜检查^[2]。另外,柔性结肠镜检查是侵入性的,体验感差^[3]。血清肿瘤标志物糖类抗原(CA)19-9 和癌胚抗原(CEA)可用于检测结直肠癌,但特异度较低^[4]。因此,迫切需要找到快速和高度灵敏的结直肠癌筛查的最佳标志物。WANG 等^[5]发现血清外泌体中 miR-125a-3p 是早期结直肠癌的潜在标志物。

HOSSEINI 等^[6]发现,miR-192 和 miR-223 可作为新型非侵入性生物标志物用于结直肠癌患者的早期发现和风险评估。但是,对于血清外泌体 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合诊断早期结直肠癌的诊断效能相关研究鲜见报道。基于此,本研究旨在探讨血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测对早期结直肠癌的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2018 年 10 月至 2020 年 3 月本院收治的早期结直肠癌患者 120 例作为肿瘤组,其中男 63 例,女 57 例;平均年龄(51.34±22.50)岁。选

[△] 通信作者, E-mail: 472285943@qq.com。

取结直肠良性疾病患者 120 例作为良性组,其中男 59 例,女 61 例;平均年龄(53.51±20.06)岁。本研究纳入的早期结直肠癌患者均按照《中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)》^[7]明确诊断。排除标准:(1)经过相应的药物治疗者;(2)心、肝、肾功能严重受损者;(3)长期使用皮质类固醇激素及免疫抑制剂者;(4)精神疾病者;(5)同时患有其他癌症者。良性组包括结肠慢运输型便秘 40 例,直肠肛管周围脓肿 31 例,脾曲综合征 28 例,乙状结肠冗长症 21 例。纳入 2018 年 10 月至 2020 年 3 月本院接受体检的体检健康者 120 例作为对照组,其中男 60 例,女 60 例;平均年龄(55.03±21.47)岁。各组一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究获本院伦理委员会批准,且受试者均签署知情同意书。

1.2 血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的测定 采集早期结直肠癌患者、结直肠良性疾病患者和体检健康者的肘前静脉血 15 mL。通过北京普利莱基因技术有限公司的体液外泌体提取试剂(货号:C1273-10)抽取血清外泌体。通过北京百灵克生物科技有限责任公司 RNA 小量提取试剂盒(货号:R2052)抽取外泌体中的总 RNA。通过广州市齐云生物技术有限公司的反转录试剂盒(货号:205111)进行 cDNA 第一链的合成。通过北京伊诺凯科技有限公司的 SYBR(货号:S5193-20RXN-20RXN)进行实时荧光定量 PCR。

1.3 统计学处理 采用 PRISM7.0 软件进行数据处理及统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。应用受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)分析血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 检测早期结直肠癌的临床诊断价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组受试者血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的相对表达量 血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的相对表达量在肿瘤组、良性组和对照组中比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 组受试者血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的相对表达量($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	miR-125a-3p	miR-192	miR-223
肿瘤组	120	2.41±0.47	1.38±0.30	1.73±0.29
良性组	120	1.05±0.21	0.54±0.15	0.63±0.20
对照组	120	0.42±0.11	0.12±0.02	0.22±0.07

2.2 肿瘤组与良性组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的诊断价值 miR-125a-3p 的 AUC 为 0.91(95%CI:0.873 1~0.954 4),miR-

125a-3p 的截断值为 1.601 时,其诊断灵敏度为 92%,特异度为 92%;miR-192 的 AUC 为 0.90(95%CI:0.860 7~0.949 6),miR-192 的截断值为 0.851 2 时,其诊断灵敏度为 92%,特异度为 91%;miR-223 的 AUC 为 0.91(95%CI:0.864 7~0.951 4),miR-223 的截断值为 1.134 时,其诊断灵敏度为 91%,特异度为 92%。

2.3 肿瘤组与对照组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的诊断价值 miR-125a-3p 的 AUC 为 0.96(95%CI:0.928 7~0.987 1),miR-125a-3p 的截断值为 1.140 时,其诊断灵敏度为 99%,特异度为 92%;miR-192 的 AUC 为 0.95(95%CI:0.918 9~0.985 4),miR-192 的截断值为 0.530 7 时,其诊断灵敏度为 99%,特异度为 93%;miR-223 的 AUC 为 0.98(95%CI:0.955 4~0.998 9),miR-223 的截断值为 0.552 8 时,其诊断灵敏度为 97%,特异度为 94%。

2.4 血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测诊断早期结直肠癌 患早期结直肠癌者为真阳性,未患早期结直肠癌者为真阴性,以 miR-125a-3p 的截断值为 1.601、miR-192 的截断值为 0.851、miR-223 的截断值为 1.134 为诊断界限,三者均满足则为联合诊断阳性,反之则为联合诊断阴性。血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测对早期结直肠癌的诊断灵敏度为 95%(114/120),特异度为 92%(221/240),准确度为 93%(335/360)。见表 2。

表 2 血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测诊断早期结直肠癌(<i>n</i>)			
联合诊断	病理结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	114	19	133
阴性	6	221	227
合计	120	240	360

3 讨 论

结直肠癌是全球范围内与癌症死亡相关的主要原因之一^[1]。诊断病理状况的系统方法可能有助于结直肠癌早期患者的检出,从而降低病死率。粪便潜血试验和柔性乙状结肠镜检查可在一定程度上降低结直肠癌的病死率^[8]。但是,这些技术具有固有的局限性。粪便潜血试验的检测灵敏度相当低,柔性乙状结肠镜检查对患者是侵入性的,让患者感到非常不舒服。CA19-9 和 CEA 作为肿瘤标志物,已被广泛用于检测多种癌症,包括结肠癌、肝癌、胰腺癌和胃癌^[9]。但是,这些标志物对结直肠癌检测的灵敏度较低,尤其是在疾病的早期阶段。因此,需要找到用于结直肠

癌的特异性诊断标志物,以便快速、非侵入性和高度灵敏地筛选出患者。在本研究中,对受试者血清外泌体中总 RNA 进行提取,通过实时荧光定量 PCR 法和 ROC 曲线分析发现,血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 联合检测诊断早期结直肠癌的灵敏度为 95%,特异度为 92%,准确度为 93%。

血清中的外泌体是多囊体与细胞膜融合后释放到细胞外环境中的小膜囊泡(30~100 nm)^[10]。据报道,外泌体含有从亲本细胞中选择性富集的蛋白质和 RNA(特别是小的非编码 RNA)^[11]。外泌体外膜可防止 RNA 在体内循环时被降解,因此,外泌体 RNA 有可能被用作癌症的预后和预测性生物标志物^[12]。研究者逐渐发现血浆中的许多外泌体 RNA 可作为各种肿瘤类型的诊断、预后甚至是治疗性的生物标志物^[13-14]。在本研究中,肿瘤组、良性组和对照组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 的相对表达量比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤组与良性组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 诊断的灵敏度分别为 92%、92%、91%,特异度分别为 92%、91%、92%。肿瘤组与对照组血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 诊断的灵敏度分别为 99%、99%、97%,特异度分别为 92%、93%、94%。因此,血清中的 miRNA,尤其是包裹有外泌体的 miRNA,可能有助于结直肠癌的诊断。据报道,与外泌体无关的血清或血浆 miRNA 对核糖核酸酶 A 的治疗显示出不同的稳定性^[15]。这表明外泌体 miRNA 更适合作为诊断性生物标志物,因为它们在血清或血浆中的稳定性较高。

综上所述,血清外泌体中 miR-125a-3p、miR-192、miR-223 检测可作为诊断早期结直肠癌的潜在标志物。

参考文献

- [1] DING C, HE J, ZHAO J, et al. β -catenin regulates IRF3-mediated innate immune signalling in colorectal cancer[J]. Cell proliferation, 2018, 51(5): e12464.
- [2] VENKATESWARAN N, CONACCI-SORRELL M. Kynurenine: an oncometabolite in colon cancer[J]. Cell Stress, 2020, 4(1): 24-28.
- [3] GARRETT W S. The gut microbiota and colon cancer[J]. Science, 2019, 364(6446): 1133-1135.
- [4] VENKATESWARAN N, LAFITA-NAVARRO M C, HAO Y H, et al. MYC promotes tryptophan uptake and

- metabolism by the kynurenine pathway in colon cancer[J]. Gen Develop, 2019, 33(17/18): 1236-1251.
- [5] WANG J, YAN F, ZHAO Q, et al. Circulating exosomal miR-125a-3p as a novel biomarker for early-stage colon cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1-9.
- [6] HOSSEINI M, KHATAMIANFAR S, MAHDI HASSANIAN S, et al. Exosome-encapsulated microRNAs as potential circulating biomarkers in colon cancer[J]. Curr Pharm Design, 2017, 23(11): 1705-1709.
- [7] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)[J]. 中华外科杂志, 2018, 56(4): 241-258.
- [8] VASAIKAR S, HUANG C, WANG X, et al. Proteogenomic analysis of human colon cancer reveals new therapeutic opportunities[J]. Cell, 2019, 177(4): 1035-1049.
- [9] MIZUKOSHI K, OKAZAWA Y, HAENO H, et al. Metastatic seeding of human colon cancer cell clusters expressing the hybrid epithelial/mesenchymal state[J]. Int J Cancer, 2020, 146(9): 2547-2562.
- [10] LAN J, SUN L, XU F, et al. M2 macrophage-derived exosomes promote cell migration and invasion in colon cancer[J]. Cancer Res, 2019, 79(1): 146-158.
- [11] YOSHII S, HAYASHI Y, IJIMA H, et al. Exosomal microRNAs derived from colon cancer cells promote tumor progression by suppressing fibroblast TP53 expression[J]. Cancer Sci, 2019, 110(8): 2396.
- [12] HWANG W L, LAN H Y, CHENG W C, et al. Tumor stem-like cell-derived exosomal RNAs prime neutrophils for facilitating tumorigenesis of colon cancer[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 10-14.
- [13] GAO T, WEN T, GE Y, et al. Disruption of Core 1-mediated O-glycosylation oppositely regulates CD44 expression in human colon cancer cells and tumor-derived exosomes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521(2): 514-520.
- [14] REN R, SUN H, MA C, et al. Colon cancer cells secrete exosomes to promote self-proliferation by shortening mitosis duration and activation of STAT3 in a hypoxic environment[J]. Cell Biosci, 2019, 9(1): 1-9.
- [15] KÖBERLE V, PLELI T, SCHMITHALS C, et al. Differential stability of cell-free circulating microRNAs: implications for their utilization as biomarkers[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75184.

(收稿日期: 2020-04-28 修回日期: 2020-08-10)