

• 论 著 •

粪便 miR-92a 联合血清 CEA、CA199、VEGF 检测在结肠癌诊断中的价值分析

陈健康¹, 苗 杰^{2△}1. 空军军医大学第一附属医院检验科, 陕西西安 710032; 2 联勤保障部队第九七〇医院
威海医疗区检验科, 山东威海 264299

摘要:目的 探讨粪便微小 RNA-92a(miR-92a)与血清癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)和血管内皮生长因子(VEGF)对结肠癌患者的诊断价值。方法 选取 2020 年 1 月至 2022 年 8 月空军军医大学第一附属医院收治的结肠癌患者 77 例为结肠癌组,选取其中 19 例经腹腔镜根治术治疗的结肠癌患者于术后 6 个月门诊随访,另选取 70 例体检健康者为对照组及 81 例其他消化系统肿瘤患者为其他消化系统肿瘤组,采用实时荧光定量 PCR 检测患者粪便 miR-92a 水平,电化学发光法检测血清 CEA、CA199 水平,化学发光法检测血清 VEGF 水平,受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-92a、CEA、CA199、VEGF 对结肠癌的诊断价值。结果 结肠癌组粪便 miR-92a 阳性率与其他消化系统肿瘤组及对照组比较,差异有统计学意义($P<0.001$)。结肠癌组血清 CEA、CA199 和 VEGF 水平明显高于对照组($P<0.05$)。相较于术前,结肠癌患者 miR-92a 阳性率及血清 CEA、CA199、VEGF 水平在术后 6 个月均明显降低($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,CEA、CA199、VEGF、miR-92a 联合检测的曲线下面积(AUC)最大,为 0.901,灵敏度为 77.9%,特异度为 91.3%。miR-92a+CEA 联合检测时,AUC 为 0.899,灵敏度为 77.9%,特异度 92.8%。结论 miR-92a、CEA、CA199、VEGF 检测均对结肠癌的诊断具有重要价值,miR-92a 与 CEA 联合检测能够提高结肠癌诊断的灵敏度和特异度,并且对患者预后具有一定价值。

关键词:微小 RNA-92a; 癌胚抗原; 糖类抗原 199; 血管内皮生长因子; 结肠癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.19.017

中图法分类号:R735.3

文章编号:1673-4130(2024)19-2392-04

文献标志码:A

Analysis of the value of fecal miR-92a combined with serum CEA, CA199 and VEGF detection in the diagnosis of colon cancer

CHEN Jiankang¹, MIAO Jie^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated to Medical Support Center, 970 Hospital of the People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Weihai, Shandong 264200, China

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value of fecal microRNA-92a (miR-92a) and serum carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 199 (CA199) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with colon cancer. **Methods** A total of 77 patients with colon cancer admitted to the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University from January 2020 to August 2022 were selected as the colon cancer group, including 19 patients who underwent laparoscopic radical resection of colon cancer and were followed up for 6 months after surgery. Another 70 healthy subjects were selected as the control group and 81 patients with other digestive system tumors were selected as the other digestive system tumors group. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the level of fecal miR-92a, electrochemiluminescence was used to detect the levels of serum CEA and CA199, and chemiluminescence was used to detect the level of serum VEGF. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of miR-92a, CEA, CA199 and VEGF in colon cancer. **Results** The positive rate of fecal miR-92a in colon cancer group was significantly higher than that in other digestive system tumors group and control group ($P<0.001$). The serum levels of CEA, CA199 and VEGF in colon cancer group were significantly higher than those in control group ($P<0.05$). The positive rate of miR-92a and the levels of serum CEA, CA199 and VEGF in colon cancer patients were significantly lower at 6 months after surgery than those before surgery

($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the combined detection of CEA, CA199, VEGF and miR-92a had the largest area under the curve (AUC, 0.901), sensitivity (77.9%) and specificity (91.3%). When miR-92a + CEA was combined, the AUC was 0.899, the sensitivity was 77.9%, and the specificity was 92.8%.

Conclusion The detection of miR-92a, CEA, CA199 and VEGF has important value in the diagnosis of colon cancer. The combined detection of miR-92a and CEA can improve the sensitivity and specificity of the diagnosis of colon cancer, and has a certain value in the prognosis of patients with colon cancer.

Key words: microRNA-92a; carcinoembryonic antigen; carbohydrate antigen 199; vascular endothelial growth factor; colon cancer

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,随着人民生活水平的提高及饮食结构的改变,其发病率呈逐年上升的趋势,且男性多于女性^[1]。结肠癌好发于直肠及直肠与乙状结肠交界处,患者早期症状不明显,常有腹胀、不适,消化不良症状,而后出现排便习惯的改变,常易被忽视,不受重视^[2-3]。多数患者在出现典型症状时已经处于中晚期。目前诊断结肠癌的金标准仍是结肠镜及病理检查^[4],因其患者对结肠镜检查耐受不同及排斥心理,造成疾病不能够被及时发现^[5]。早期结肠癌的治疗与预后较为良好,早发现、早诊断显得尤为必要,寻找良好的肿瘤标志物极为重要。

目前常规的有关结肠癌的血清肿瘤标志物有癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)及血管内皮生长因子(VEGF)等,但单一指标检测存在灵敏度或特异度低等问题,不能够很好地指导临床,也会造成临床医师的烦恼。微小 RNA(miRNA)是一类不编码蛋白质的单链小 RNA,miRNA 在细胞分化、增殖和凋亡中具有重要作用^[6],近年来,miRNA 在结肠癌的发生发展中的作用受到越来越多的关注。本研究分析结肠癌患者粪便 miR-92a 及检测血清中 CEA、CA199、VEGF 水平,以期对结肠癌的诊断提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用回顾性分析,选取 2020 年 1 月至 2022 年 8 月空军军医大学第一附属医院收治的结肠癌患者 77 例为结肠癌组,平均年龄(58.74 ± 11.43)岁,其中男 53 例,女 24 例。纳入标准:所有入选病例经结肠镜检查及病理学检查,确诊为结肠癌,且在这之前未经抗癌治疗如手术、化学治疗及放射治疗等。选取其中 19 例经腹腔镜根治术治疗的结肠癌患者,并于术后 6 个月门诊随访。选取同时期在空军军医大学第一附属医院体检中心进行体检的体检健康者 70 例为对照组,平均年龄(46.53 ± 10.81)岁,其中男 39 例,女 31 例。其他消化系统肿瘤患者 81 例为其他消化系统肿瘤组,平均年龄(58.21 ± 8.31)岁,其中男 52 例,女 29 例;贲门癌 18 例,食管癌 26 例,胃癌 37 例。3 组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经空军军医大学第一附属医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 粪便 miR-92a 检测 所有被检者留取少量大

便于干净容器中,注意避免与水 and 尿液混合。利用 miR-92a 检测试剂盒(实时荧光定量 PCR 法,深圳市晋百慧生物有限公司,国械注准 20183400108)及配套的核酸提取试剂进行 miR-92a 的检测。

1.2.2 血清 CEA、CA199、VEGF 检测 所有被检者于清晨空腹采集静脉血 3 mL,将取得的标本经 3 000 r/min,离心 10 min 中后,取上清液进行各指标的检测。利用罗氏 E801 电化学发光免疫分析仪及罗氏诊断公司 CEA 测定试剂盒(电化学发光法,国械注进 20183402661)和罗氏诊断公司 CA199 测定试剂盒(电化学发光法,国械注进 20143405201)检测;VEGF 试剂盒为威海威高生物科技有限公司(鲁械注准 20142400165)研制,以及采用厦门天中达 TZD-CL-200S 化学发光免疫分析仪检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理和分析,不呈正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估各指标单独及联合诊断结肠癌的价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组粪便 miR-92a 及血清 CEA、CA199、VEGF 水平比较 3 组粪便 miR-92a 阳性率及血清 CEA、CA199、VEGF 水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。进一步进行两两比较,结肠癌组粪便 miR-92a 阳性率与其他消化系统肿瘤组及对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$),结肠癌组血清 CEA、CA199 和 VEGF 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 患者手术前后粪便 miR-92a 及血清 CEA、CA199、VEGF 水平比较 收集 19 例经腹腔镜根治术治疗的结肠癌患者,分析术前与术后 6 个月粪便 miR-92a 阳性率及血清 CEA、CA199、VEGF 水平变化,相较术前,术后 miR-92a 阳性率为 15.8%(3/19),明显低于手术前的 73.7%(14/19),差异有统计学意义($P < 0.05$)。另外,血清 CEA、CA199、VEGF 水平在术后也都有明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 各个指标单独与联合检测对结肠癌的诊断效能 通过 ROC 曲线分析,结果显示,CEA、CA199、

VEGF、miR-92a 检测结肠癌的曲线下面积(AUC)分别为 0.764、0.630、0.673、0.753;CEA、CA199、VEGF、miR-92a 联合检测的 AUC 最大,为 0.901,灵

敏度为 77.9%,特异度为 91.3%;miR-92a+CEA 联合检测时,AUC 为 0.899,灵敏度为 77.9%,特异度 92.8%。见表 3。

表 1 3 组粪便 miR-92a 及血清 CEA、CA199、VEGF 水平比较[n(%)或 M(P₂₅,P₇₅)]

项目	结肠癌组(n=77)	其他消化系统肿瘤组(n=81)	对照组(n=70)	P
miR-92a				<0.001
阴性	49(63.6)	60(74.1)	61(87.1)	
阳性	28(36.4) ^{ab}	21(25.9) ^a	9(12.9)	
CEA(ng/mL)	3.37(1.96,10.77) ^a	2.91(1.79,6.35) ^a	1.84(1.22,2.56)	<0.001
CA199(U/mL)	11.80(7.45,21.80) ^a	10.69(5.22,22.80)	9.92(6.65,13.43)	0.031
VEGF (pg/mL)	102.38(67.11,164.36) ^a	104.49(68.08,164.40) ^a	66.75(46.83,103.15)	<0.001

注:与对照组比较,^aP<0.05;与其他消化系统肿瘤组比较,^bP<0.05。

表 2 患者手术前后粪便 miR-92a 及血清 CEA、CA199、VEGF 水平比较[n(%)或 M(P₂₅,P₇₅)]

项目	手术前	手术后	χ ² /Z	P
miR-92a			-3.05	0.002
阴性	5(26.3)	16(84.2)		
阳性	14(73.7)	3(15.8)		
CEA(ng/mL)	3.25(1.30,7.72)	1.70(1.06,2.85)	-3.06	0.002
CA199(U/mL)	11.80(7.97,22.30)	8.95(7.33,13.30)	-2.21	0.027
VEGF(pg/mL)	96.18(76.79,141.19)	94.36(37.55,117.30)	-2.29	0.022

表 3 各个指标单独与联合检测对结肠癌的诊断效能

项目	AUC	95%CI	最佳临界值	灵敏度(%)	特异度(%)
CEA	0.764	0.686~0.841	2.59 ng/mL	71.4	78.3
CA199	0.630	0.540~0.720	16.78 U/mL	39.0	91.3
VEGF	0.673	0.585~0.760	66.55 pg/mL	77.9	50.7
miR-92a	0.753	0.672~0.833	—	63.6	87.0
miR-92a+CEA	0.899	0.847~0.951	—	77.9	92.8
miR-92a+CA199	0.828	0.759~0.897	—	81.8	79.7
miR-92a+VEGF	0.813	0.742~0.884	—	68.8	87.0
CEA+CA199+VEGF	0.793	0.719~0.867	—	54.5	97.1
miR-92a+CEA+CA199+VEGF	0.901	0.850~0.952	—	77.9	91.3

注:—为此项无数据。

3 讨 论

肿瘤标志物是一类反映肿瘤存在和生长的物质,主要由肿瘤细胞分泌产生,人体对肿瘤细胞的异质性反应也可产生,通过检测肿瘤标志物水平,能够在早期筛查、辅助诊断及预后判断等方面发挥重要作用^[7-8]。

miR-92a 位于人基因组第 13 号染色体上,是由高度保守的 miRNA-17-92 基因簇编码的一种 miRNA,其在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[9]。已有研究发现 miR-92a 在乳腺、胰腺及胃等恶性疾病中异常表达^[10-11]。相较于血液标本检测,粪便相关检测对于肠道疾病的诊断及预后具有重要价值,在粪便中检测脱落细胞中 miRNA 水平具有重要意义。研究检测粪便中 miR-92a 水平,具有非侵入性,能较直观反映肠

道疾病的变化优势,但也存在些不足,例如采样不易保存等问题。本研究结果显示,结肠癌组粪便 miR-92a 阳性率高于其他消化系统肿瘤组及对照组,差异有统计学意义(P<0.001)。

CEA 是一种单体糖蛋白,属于在胚胎期产生的胎儿癌性抗原组,其主要来源于胎儿的胃、肠道和血清^[12-13]。在健康成人的肠道、胰腺和肝组织中也少量存在。研究报道 CEA 水平在结肠癌患者中升高^[14-15]。与既往研究一致,本研究中结肠癌组及其他消化系统肿瘤组 CEA 水平明显高于对照组,差异有统计学意义(P<0.001)。CA199 主要是指唾液酸化的 LewisA 血型抗原,主要分布于胰腺、肝脏、肠等器官中,在血清中主要以黏蛋白形式存在,是消化道肿瘤的常用生物标志物^[16],本研究发现,结肠癌组

CA199 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$)。VEGF 是一种主要作用于内皮细胞的多功能因子,在促进血管通透性增加及血管形成等方面具有重要作用^[17]。目前有报道称 VEGF 的表达与结肠癌的发生发展密切相关^[18-19],如 VEGF 在结肠癌患者肠黏膜新生血管中的水平明显升高,也有研究发现结肠癌患者 VEGF 水平明显升高,且与恶性程度相关^[20]。本研究中结肠癌组及其他消化系统肿瘤组血清 VEGF 水平明显高于对照组 ($P < 0.001$)。

再者,本研究通过收集 19 例患者手术前后 miR-92a、CEA、CA199、VEGF 检测结果,发现术后 miR-92a 的阳性率明显低于术前 ($P < 0.05$)。相较于术前,血清 CEA、CA199、VEGF 水平在术后也都有明显降低 ($P < 0.05$)。研究结果提示各项指标在对于疾病的预后也有较好的价值,临床可应用多种指标来辅助判断预后。

最后,本研究通过 ROC 曲线分析发现,CEA、CA199、VEGF、miR-92a 检测结肠癌组 AUC 分别为 0.764、0.630、0.673、0.753,CEA、CA199、VEGF、miR-92a 联合检测的 AUC 最大,为 0.901,灵敏度为 77.9%,特异度为 91.3%;另外,miR-92a 与 CEA 联合检测时,AUC 也可达 0.899,灵敏度为 77.9%,特异度 92.8%。因此,联合检测 miR-92a+CEA 即可达到较高的灵敏度和特异度,但这一方面仍需大样本的验证,miR-92a+CEA 有望成为一种新的判断结肠癌的肿瘤标志物组合。本研究也存在不足,如所收集的样本量偏小,对于检验效能的进一步确证,还需要大样本及多中心的研究,但本研究从侧面反映了粪便 miR-92a 对于结肠癌术后评估具有重要作用。

综上所述,miR-92a、CEA、CA199、VEGF 及联合检测对于结肠癌患者诊断具有重要价值,且对于结肠癌术后评估具有重要作用。miR-92a 与 CEA 联合检测能够提高结肠癌诊断的灵敏度和特异度,为临床诊断与预后提供有价值的信息。

参考文献

- [1] WADHWANI N, DIWAKAR D K. Localised perforation of locally advanced transverse colon cancer with spontaneous colocolic fistula formation: a clinical challenge [J]. BMJ Case Rep, 2018, 2018: bcr2018224668.
- [2] READ B, SYLLA P. Aggressive colorectal cancer in the young [J]. Clin Colon Rectal Surg, 2020, 33(5): 298-304.
- [3] 王能一. 肿瘤标志物联合检测在消化道恶性肿瘤诊断中的价值 [J]. 实用检验医师杂志, 2022, 14(2): 113-116.
- [4] 徐增豪, 杨金华, 李其龙, 等. 肠镜检查对结直肠癌发病风险影响的前瞻性评价研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(10): 1662-1667.
- [5] 徐龙, 代登攀. 结肠镜检查患者肠道准备失败发生现状及危险因素分析 [J]. 中国肛肠病杂志, 2024, 44(1): 11-14.

- [6] HRABAR J, TRUMBIC Z, BOCINA I, et al. Interplay between proinflammatory cytokines, miRNA, and tissue lesions in anisakis-infected sprague-dawley rats [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2019, 13(5): e7397.
- [7] 聂勇战. 生物标志物应用于胃癌诊治的热点及难点 [J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(11): 1261-1262.
- [8] 骆丹婷, 赵兵. 不同肿瘤标志物在结肠癌患者诊断及预后预测中的价值 [J]. 中国基层医药, 2022, 29(6): 900-904.
- [9] LIU P J, YE Y X, WANG Y X, et al. MiRNA-92a promotes cell proliferation and invasion through binding to KLF4 in glioma [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(15): 6612-6620.
- [10] WANG W, WANG J, YAN M, et al. MiRNA-92a protects pancreatic B-cell function by targeting KLF2 in diabetes mellitus [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 500(3): 577-582.
- [11] 艾世宜, 李佳娜, 李星. miRNA-126 和 miRNA-92a 在冠心病患者血清中的表达水平及临床意义 [J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(4): 443-446.
- [12] HAO C, ZHANG G, ZHANG L. Serum CEA levels in 49 different types of cancer and noncancer diseases [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019, 162: 213-227.
- [13] 夏军, 张显利. 多层螺旋 CT 增强扫描联合癌胚抗原、糖类抗原 24-2、糖类抗原 72-4 检测对大肠癌术前分期诊断的价值研究 [J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(12): 1517-1520.
- [14] JUNG Y J, WOO J S, HWANG S H, et al. Effect of IL-10-producing B cells in peripheral blood and tumor tissue on gastric cancer [J]. Cell Commun Signal, 2023; 21(1): 320
- [15] 廖玮浩, 张雷, 杜建飞, 等. 肿瘤 4 项联合 NLR、CEA 在结肠癌中的诊断价值及与临床分期的相关性 [J]. 检验医学与临床, 2021, 18(2): 165-167.
- [16] CHENG T, CHEN J, YING P, et al. Clinical risk factors of carbohydrate antigen-125, cytokeratin fragment 19, and neuron-specific enolase in liver metastases from elderly lung cancer patients [J]. Front Genet, 2022, 13: 1013253.
- [17] 王辉, 李峰, 刘龙飞, 等. 结肠癌组织 NRP-1 和 VEGF 表达及其与预后相关性 [J]. 中华肿瘤杂志, 2020, 27(6): 445-450.
- [18] GERSHTEIN E S, KOROTKOVA E A, PETROSYAN A P, et al. Prognostic significance of VEGF signaling system components and matrix metalloproteinases in blood serum of gastric cancer patients [J]. Klin Lab Diagn, 2021, 66(11): 650-654.
- [19] 杨小冬, 慕竹青, 孟娜娜, 等. 结直肠癌患者血清 CRP/ALB、GDF-15、VEGF、IL-37 水平与预后的关联 [J]. 郑州大学学报(医学版), 2023, 58(5): 703-708.
- [20] 蓝宇萍, 何圣清, 陈利芬, 等. 结肠癌组织及血清中 IL-8、VEGF 和 MMP-7 的表达及其与肿瘤分期的相关性 [J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2021, 35(4): 302-306.