

• 论 著 •

HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a、miR-92a 的表达及其与预后的关系*

玛依拉·艾尼瓦尔, 汤新乐, 张裕祥[△]

新疆医科大学第六附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830002

摘要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 的表达,以及二者与预后的关系。方法 以该院收治的 79 例 HPV 阳性宫颈癌患者为观察组,79 例 HPV 阳性宫颈上皮内瘤变患者为对照组。比较两组研究对象血清 miR-18a 及 miR-92a 水平。比较不同特征 HPV 阳性宫颈癌患者 miR-18a 及 miR-92a 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-18a 及 miR-92a 对 HPV 阳性宫颈癌的诊断效能。随访 1 年,根据 HPV 阳性宫颈癌患者存活情况分为存活组和死亡组,比较两组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平,采用 ROC 曲线分析 miR-18a 及 miR-92a 在评估患者预后中的临床价值。结果 观察组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。HPV 阳性宫颈癌患者中,与临床分期为 I~II 期、无淋巴结转移、血管浸润阴性的患者比较,临床分期 III 期、有淋巴结转移、血管浸润阳性患者的 miR-18a 及 miR-92a 水平更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,血清 miR-18a 及 miR-92a 诊断 HPV 阳性宫颈癌的 AUC 分别为 0.849、0.827($P<0.05$)。与存活组比较,死亡组 miR-18a 及 miR-92a 水平更高,且 miR-18a 及 miR-92a 在预测患者预后中的 AUC 为 0.766、0.790($P<0.05$)。结论 HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 水平明显上升,且二者在 HPV 阳性宫颈癌的诊断及预后评估中具有一定临床价值。

关键词:人乳头瘤状病毒; 宫颈癌; miR-18a; miR-92a; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.24.014

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2021)24-3004-05

文献标志码:A

Expression of serum miR-18a and miR-92a in HPV-positive cervical cancer patients and their relationships with prognosis*

Mayila · Ainiwaer, TANG Xinle, ZHANG Yuxiang[△]

Department of Clinical Laboratory, the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830002, China

Abstract: Objective To investigate the expression of serum miR-18a and miR-92a in patients with human papillomavirus (HPV)-positive cervical cancer and their relationships with prognosis. **Methods** A total of 79 cases of HPV-positive cervical cancer patients were selected as the observation group, 79 HPV-positive cervical epithelial neoplasia patients were selected as the control group. The serum miR-18a and miR-92a expression in the two groups were compared. The observation group was divided into different subgroups according to different characteristics, and the index levels of each group were compared. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic significance of serum miR-18a and miR-92a in the diagnosis of HPV-positive cervical cancer. Followed up for 1 year, according to the survival status of HPV-positive cervical cancer patients, they were divided into survival group and death group, serum levels of miR-18a and miR-92a were compared between the two groups. ROC curve was used to evaluate the clinical value of miR-18a and miR-92a in prognosis. **Results** Compared with those in control group, the expression of serum miR-18a and miR-92a in observation group increased significantly ($P<0.05$). In the HPV-positive cervical cancer patients, the expression of miR-18a and miR-92a in patients with stage III, lymph node metastasis and positive vascular

* 基金项目:2019 年新疆维吾尔自治区卫生健康系统科研课题(LHGJ20191415)。

作者简介:玛依拉·艾尼瓦尔,女,主管技师,主要从事临床检验研究。 [△] 通信作者, E-mail:cmyl123456@163.com。

本文引用格式:玛依拉·艾尼瓦尔,汤新乐,张裕祥. HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a、miR-92a 的表达及其与预后的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(24): 3004-3008.

infiltration were higher than those in patients with clinical stage I — II ,no lymph node metastasis and negative vascular infiltration ($P<0.05$). ROC curve showed that the AUC of serum miR-18a and miR-92a in the diagnosis of HPV-positive cervical cancer were 0.849 and 0.827 ($P<0.05$). Compared with survival group, death group had higher expression of miR-18a and miR-92a,and the AUC of miR-18a and miR-92a in predicting the prognosis of patients were 0.766 and 0.790 ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of miR-18a and miR-92a in patients with HPV-positive cervical cancer increase significantly. miR-18a and miR-92a have certain clinical value in the diagnosis of HPV-positive cervical cancer and assessment of prognosis.

Key words: human papillomavirus; cervical cancer; miR-18a; miR-92a; prognosis

人乳头瘤病毒(HPV)的主要传播方式为性传播,多数女性在感染 HPV 后可自行清除,仍有部分患者无法完全清除,而当高危型 HPV 在机体长期处于高载量时,将会导致宫颈上皮内瘤变(CIN)或宫颈癌^[1]。流行病学资料显示,2012 年全球范围内约有 52.76 万例新发宫颈癌患者及 26.57 万因宫颈癌死亡患者,且随着社会的发展,宫颈癌呈年轻化、高发病率的趋势^[2-4]。近年来,手术、化疗、放疗等的综合治疗已成为早期宫颈癌的主要治疗方式,宫颈癌患者 5 年生存率可达 90%,但对于晚期及复发性宫颈癌患者 5 年生存率仍不足 20%和 5%^[5]。因此,探讨一种可用于指示宫颈癌发生及转归的特异性指标具有十分重要的意义。microRNA(miRNA)是一类长度为 19~25 个核苷酸的内源性非编码 RNA,在转录后负性调控靶基因的表达,并在肿瘤的发生、发展及侵袭中具有一定的调控作用^[6-7]。有研究表明,miR-18a 及 miR-92a 在多种实体瘤中呈过表达,提示其可作为新型肿瘤标志物用于肿瘤诊断及预后评价^[8-10]。宫颈癌作为实体瘤之一,是否这一类患者也存在血清 miR-18a、miR-92a 过表达,二者对 HPV 阳性宫颈癌诊断及评估预后的临床价值如何是笔者关注的重点之一。基于此,本研究拟分析 HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 的表达,以及二者与预后的关系,旨在为临床上诊治 HPV 阳性宫颈癌患者提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 3 月至 2019 年 3 月本院收治的 79 例 HPV 阳性宫颈癌患者为观察组,79 例 HPV 阳性宫颈上皮内瘤变患者为对照组。观察组纳入标准:(1)经病理检查诊断为宫颈癌;(2)HPV 检测为阳性,分型为 HPV16 型或 18 型;(3)未接受放射治疗、化疗及生物免疫治疗;(4)不存在其他恶性肿瘤或其他感染性疾病。对照组纳入标准:(1)HPV 检测为阳性,分型为 HPV16 型或 18 型;(2)经病理检查诊断为宫颈上皮内瘤变;(3)近 3 个月内未接受过抗菌药物治疗;(4)近 1 周内无性生活史。两组排除标准:(1)合并免疫、内分泌等其他系统严重疾病;(2)处于经期或阴道不规则出血;(3)妊娠期或哺乳期女性;(4)依从性差,不能配合完成本研究;(5)既往有子宫

手术史;(6)合并阴道炎或其他炎症性疾病;(7)近 1 年内接受过放疗、化疗及生物免疫治疗。所有纳入研究对象及其家属对本研究知情且同意,并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 检测方法 所有研究对象于入组次日清晨空腹抽取静脉血 5 mL。血液标本以 3 000 r/min 离心 15 min,分离血清后提取总 mRNA,采用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法(Takara PCR 试剂盒,日本 Takara 公司)检测各组 miR-18a 及 miR-92a 水平。引物设计及合成均由北京鼎国生物科技有限公司提供,引物序列见表 1。miR-18a 及 miR-92a 下游通用引物来自 Mir-XTM miRNA First Strand 反转录试剂盒(日本 Takara 公司)。根据反转录试剂盒进行反转录反应,根据 SYBR RT-PCR 试剂盒(日本 Takara 公司)说明书进行 RT-PCR。反应体系:95 ℃ 预变性 30 s,95 ℃ 变性 5 s,60 ℃ 退火 30 s,循环 35 次。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法检测各组 miR-18a 和 U6 基因相对表达量,内参为 U6,每份标本重复检测 3 次,取平均值。

表 1 引物序列	
引物名称	序列
miR-18a 上游引物	5'-TAAGTGTGCGCATCGTGAGCGATAG -3'
miR-92a 上游引物	5'-GCTGAGTATTGCACTTGTCCCG -3'
snRNA U6 上游引物	5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'
snRNA U6 下游引物	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

1.3 观察指标 收集两组研究对象基线资料,并比较两组 miR-18a 及 miR-92a 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-18a 及 miR-92a 在诊断 HPV 阳性宫颈癌中的效能。比较不同年龄、病理类型、分化程度、肿瘤最大径、血管浸润、淋巴结转移、临床分期情况宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 水平。随访 1 年,观察组根据存活情况分为存活组和死亡组,比较两组 miR-18a 及 miR-92a 水平。分析 miR-18a 及 miR-92a 评估患者预后的效能。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 ROC 曲

线分析血清 miR-18a 及 miR-92a 水平在诊断 HPV 阳性宫颈癌及评估预后中的临床价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 观察组与对照组基线资料比较 观察组与对照组年龄、产次等基线资料比较,差异均无统计学意义

($P>0.05$)。见表 2。

2.2 观察组与对照组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平比较 与对照组比较,观察组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 观察组与对照组基线资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	产次(<i>n</i>)				婚姻状态(<i>n</i>)				绝经(<i>n</i>)		体质量指数 ($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)
			0 次	1 次	2 次	3 次	已婚	离异	丧偶	未婚	是	否	
观察组	79	42.2±3.7	2	38	34	5	64	12	3	0	2	77	23.2±3.3
对照组	79	41.7±3.2	1	36	35	7	66	11	1	1	2	77	23.5±3.1
<i>t</i> / χ^2		1.142			0.735			0.207			—		0.589
<i>P</i>		0.256			0.865			0.557			—		0.557

注:—因为两组数据一样,未进行比较。

2.3 不同特征 HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 水平比较 HPV 阳性宫颈癌患者中,与临床分期为Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移、血管浸润阴性的患者比较,临床分期Ⅲ期、有淋巴结转移、血管浸润阳性的患者 miR-18a 及 miR-92a 水平更高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 3 观察组与对照组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-18a	miR-92a
观察组	79	4.83±1.37	2.78±0.95
对照组	79	2.91±1.44	1.71±1.25
<i>t</i>		8.586	6.057
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 4 不同特征 HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 水平比较

特征	<i>n</i>	miR-18a			miR-92a		
		水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>	水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)						0.298	0.766
≤40	18	4.95±1.27	0.510	0.612	2.74±1.02		
>40	61	4.79±1.14			2.81±0.83		
病理类型						0.077	0.939
鳞癌	60	4.86±1.42	0.245	0.807	2.77±0.98		
腺癌	19	4.77±1.31			2.79±1.01		
分化程度						0.423	0.673
中高分化	59	4.81±1.32	0.231	0.818	2.72±1.03		
低分化	20	4.89±1.39			2.83±0.92		
肿瘤最大径(cm)						0.270	0.788
<4	60	4.80±1.34	0.192	0.848	2.74±1.01		
≥4	19	4.87±1.52			2.81±0.89		
淋巴结转移						2.028	0.045
有	22	5.27±1.39	2.155	0.033	3.03±0.84		
无	57	4.74±1.21			2.69±0.93		
血管浸润						3.304	0.001
阳性	52	5.27±1.44	2.350	0.021	3.23±1.05		
阴性	27	4.45±1.53			2.44±0.92		
临床分期						3.663	<0.001
Ⅰ~Ⅱ期	45	4.49±1.34	2.501	0.015	2.34±0.93		
Ⅲ期	34	5.23±1.25			3.10±0.89		

2.4 miR-18a 及 miR-92a 水平对 HPV 阳性宫颈癌的诊断效能 当 miR-18a 截断值为 3.161 时,诊断 HPV 阳性宫颈癌的 AUC 为 0.849 ($P<0.05$);当 miR-92a 截断值为 1.665 时,诊断 HPV 阳性宫颈癌的 AUC 为 0.827 ($P<0.05$)。见表 5、图 1。

表 5 miR-18a 及 miR-92a 水平对 HPV 阳性宫颈癌的诊断效能						
指标	截断值	AUC	95%CI	灵敏度	特异度	P
miR-18a	3.161	0.849	0.782~0.916	0.949	0.747	<0.001
miR-92a	1.665	0.827	0.751~0.913	0.937	0.772	<0.001

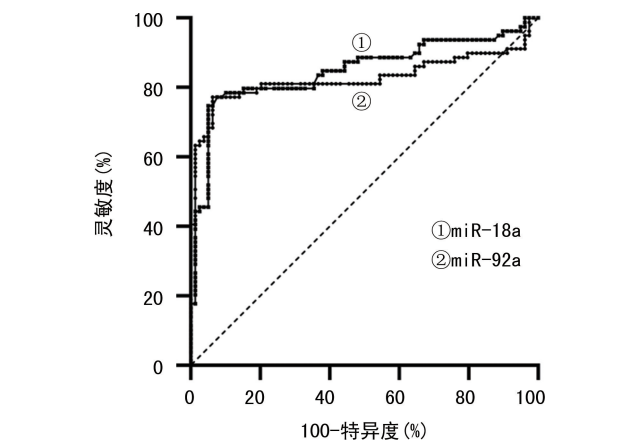


图 1 miR-18a 及 miR-92a 水平诊断 HPV 阳性宫颈癌的 ROC 曲线

2.5 存活组与死亡组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平比较 与存活组比较,死亡组 miR-18a 及 miR-92a 水平更高,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 6。

表 6 存活组与死亡组血清 miR-18a 及 miR-92a 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	miR-18a	miR-92a
死亡组	18	5.93±1.77	3.51±0.92
存活组	61	4.54±1.02	2.54±0.81
t		6.048	7.034
P		<0.001	<0.001

2.6 miR-18a 及 miR-92a 水平评估 HPV 阳性宫颈癌预后的效能 当 miR-18a 截断值为 5.334 时,评估 HPV 阳性宫颈癌预后的 AUC 为 0.766 ($P<0.05$);当 miR-92a 截断值为 2.361 时,评估 HPV 阳性宫颈癌预后的 AUC 为 0.790 ($P<0.05$)。见表 7、图 2。

表 7 miR-18a 及 miR-92a 水平评估 HPV 阳性宫颈癌预后的效能						
指标	截断值	AUC	95%CI	灵敏度	特异度	P
miR-18a	5.334	0.766	0.629~0.903	0.778	0.803	<0.001
miR-92a	2.361	0.790	0.684~0.896	0.944	0.59	<0.001

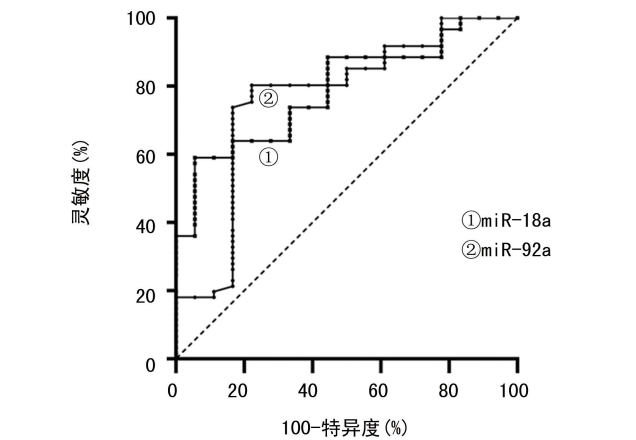


图 2 miR-18a 及 miR-92a 水平评估 HPV 阳性宫颈癌预后的 ROC 曲线

3 讨论

宫颈癌的发生、发展与 HPV 感染、核苷酸多态性变化、染色体突变等因素密切相关^[11-13]。随着医学的发展,对宫颈癌的分子生物学机制也有了深入研究。miRNA 作为基因调控网络中的关键因素,其参与多个信号通路的调控。已有研究证实,miRNA 与多种肿瘤细胞的增殖、分化、迁移等生物学行为密切相关,并参与肿瘤的发生、发展过程^[14-15]。在一项多因素分析研究中,HPV 感染,以及 miR-18a、miR-92a 水平的上升均为宫颈癌发生的独立危险因素^[16]。但根据现有临床经验,HPV 一过性感染比例较高,因此,通过 HPV 感染诊断宫颈癌的特异度较低。而 miRNA 以稳定、丰富的形式存在于血液中,因此,以血清为生物学标本,无创、操作简便,更易提高患者的依从性。

miR-18a 属于 miR-17-92 基因簇成员,有研究表明,miR-18a 可作为抑癌基因,通过调控其下游的靶基因进而抑制肿瘤细胞体外增殖,并诱导 G₁ 期阻滞,促进肿瘤细胞的凋亡^[17-18]。但有研究发现,在乳腺癌、胶质母细胞瘤等多种肿瘤中,miR-18a 的表达有所上升^[19]。因此,miR-18 在 HPV 阳性宫颈癌患者中是否表达异常是笔者探讨的重点之一。miR-92a 作为 miRNA 家族成员之一,其参与多种肿瘤细胞的发生、发展,并与肿瘤恶性程度呈正相关^[9]。本研究结果显示,相较于 HPV 阳性宫颈上皮内瘤变患者,HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92 水平均明显上升,这与既往研究结果一致,说明 miR-18a 及 miR-92 水平异常与 HPV 阳性宫颈癌发生关系密切。同时,本研究还发现,相较于临床分期为 I~II 期患者、无淋巴结转移、血管浸润阴性的患者,临床分期为 III 期、有淋巴结转移、血管浸润阳性的患者 miR-18a 及 miR-92a 水平更高,这也说明血清 miR-18a 及 miR-92a 水平在一定程度上可反映宫颈癌恶性程度。本研究进一步通过 ROC 曲线分析了 miR-18a 及 miR-92a 水平在诊断 HPV 阳性宫颈癌患者中的临床价值,结

果显示,当 miR-18a 截断值为 3.161 时,诊断 HPV 阳性宫颈癌的 AUC 为 0.849($P<0.05$);当 miR-92a 截断值为 1.665 时,诊断 HPV 阳性宫颈癌的 AUC 为 0.827($P<0.05$),说明 miR-18a 及 miR-92a 在诊断 HPV 阳性宫颈癌中均具有一定临床价值,血清 miR-18a 及 miR-92a 检测有望成为 HPV 阳性宫颈癌筛查的生物学标志物。目前,宫颈癌的发病率及病死率仍居高不下,且患者的预后较差,因此,探讨其预后指标对于临床上评估患者治疗措施的效果具有重要的临床意义。随访 1 年结果显示在 HPV 阳性宫颈癌患者中,死亡组血清 miR-18a 及 miR-92a 均明显高于存活组。ROC 曲线结果显示:当 miR-18a 截断值为 5.334 时,评估 HPV 阳性宫颈癌预后的 AUC 为 0.766($P<0.05$);当 miR-92a 截断值为 2.361 时,评估 HPV 阳性宫颈癌预后的 AUC 为 0.790($P<0.05$)。提示血清 miR-18a 及 miR-92a 可作为评估 HPV 阳性宫颈癌患者预后的辅助指标。

综上所述,HPV 阳性宫颈癌患者血清 miR-18a 及 miR-92a 水平明显上升,并在 HPV 阳性宫颈癌的诊断及预后评估中具有一定临床价值。

参考文献

[1] 刘曼曼,李静,王金铭,等.高危型 HPV 阳性患者血清 miRNA-26a 表达水平对宫颈癌的预测价值[J]. 郑州大学学报(医学版),2019,54(5):696-699.

[2] POIRSON J,BIQUAND E,STRAUB M L,et al. Mapping the interactome of HPV E6 and E7 oncoproteins with the ubiquitin proteasome system[J]. FEBS J,2017,284(19):3171-3201.

[3] 叶金锋,何宇婷,吴立红,等.外周血 NLR、PLR 及血小板参数对宫颈癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(12):1445-1447.

[4] 沈洁,高丽丽,张月,等.北京市宫颈癌筛查妇女中高危型 HPV 感染情况及在宫颈癌前病变中的分布[J]. 中华预防医学杂志,2018,52(5):493-497.

[5] SNOEK B C,VERLAAT W,BABION I,et al. Genome-wide microRNA analysis of HPV-positive self-samples yields novel triage markers for early detection of cervical cancer[J]. Int J Cancer,2019,144(2):372-379.

[6] CAUSIN R L,PESSÓA-PEREIRA D,SOUZA K C B,et al. Identification and performance evaluation of house-keeping genes for microRNA expression normalization by reverse transcription-quantitative PCR using liquid-based cervical cytology samples[J]. Oncol Lett,2019,18(5):4753-4761.

[7] KARAKAS M,SCHULTE C,APPELBAUM S,et al. Circulating microRNAs strongly predict cardiovascular death in pa-

tients with coronary artery disease-results from the large AtheroGene study[J]. Eur Heart J,2017,38(7):516-523.

[8] LIANG Q D,ZHANG G J,WANG J,et al. Diagnostic value of microRNA-18a for gastric cancer:a Meta-Analysis[J]. Clin Lab,2018,64(1):177-184.

[9] HE Z,LIAO Z,CHEN S,et al. Downregulated miR-17,miR-29c,miR-92a and miR-214 may be related to BCL11B over-expression in T cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Asia Pac J Clin Oncol,2018,14(5):e259-e265.

[10] 黄少芬,曾志伟,温琪,等.血清 miRNA-92a 在 2 型糖尿病患者不同疾病阶段的表达研究[J]. 现代预防医学,2019,46(4):756.

[11] WANG P,ZHANG L,ZHANG J,et al. microRNA-124-3p inhibits cell growth and metastasis in cervical cancer by targeting IGF2BP1[J]. Exp Ther Med,2018,15(2):1385-1393.

[12] ZHANG H,YAN T,LIU Z,et al. microRNA-137 is negatively associated with clinical outcome and regulates tumor development through EZH2 in cervical cancer[J]. J Cell Biochem,2018,119(1):938-947.

[13] MEI J,WANG D H,WANG L L,et al. microRNA-200c suppressed cervical cancer cell metastasis and growth via targeting MAP4K4 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(3):623-631.

[14] LIU L,WANG D,QU Y,et al. Overexpression of microRNA-15 increases the chemosensitivity of colon cancer cells to 5-fluorouracil and oxaliplatin by inhibiting the nuclear factor- κ B signalling pathway and inducing apoptosis [J]. Exp Ther Med,2018,15(3):2655-2660.

[15] WANG Q,TENG Y,WANG R,et al. The long non-coding RNA SNHG14 inhibits cell proliferation and invasion and promotes apoptosis by sponging miR-92a-3p in glioma[J]. Oncotarget,2018,9(15):12112-12124.

[16] 孙明霞,蒋鹏程,于峰,等.经阴道彩色多普勒超声联合血清 miRNA-18a 和 miRNA-92a 诊断宫颈癌的价值研究[J]. 中国全科医学,2019,22(12):1436-1441.

[17] HE Y,DENG F,YANG S,et al. Exosomal microRNA:a novel biomarker for breast cancer [J]. Biomark Med,2018,12(2):177-188.

[18] LIAN C,TAO T,SU P,et al. Targeting miR-18a sensitizes chondrocytes to anticytokine therapy to prevent osteoarthritis progression[J]. Cell Death & Disease,2020,11(11):947-949.

[19] QI B,DONG Y,QIAO X L,et al. Effects of miR-18a on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by regulating RUNX1[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(19):9957-9964.