

## • 短篇论著 •

## 胰液中黏蛋白 1 水平对胰腺良恶性疾病的诊断价值

陶友江, 崔 萧, 张 翼, 黄 斌<sup>△</sup>

宜宾市第二人民医院肝胆胰脾科, 四川宜宾 644000

**摘要:**目的 评价胰液中黏蛋白 1(MUC1)水平对胰腺良恶性疾病的诊断价值。方法 选取 2014 年 10 月至 2017 年 1 月该院肝胆胰脾科收治的 70 例胰腺疾病患者作为研究对象。其中恶性胰腺疾病患者 39 例, 包括 PDAC 34 例(PDAC 组)和 IPMC 5 例(IPMC 组); 良性胰腺疾病患者 31 例, 包括 IPMN 19 例(IPMN 组)和胰腺炎性病变 12 例(炎性病变组)。各组均进行胰液细胞学检查(PJC)和胰液 MUC1 水平测定, 分析 PJC 和 MUC1 联合检测对胰腺良恶性疾病的诊断价值。结果 PDAC 组和 IPMN 组患者胰液中 MUC1 水平均高于炎性病变组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。受试者工作特征(ROC)曲线分析显示, PJC、MUC1 联合诊断胰腺良恶性疾病的灵敏度、特异度和准确度分别为 97.4%、96.8%、97.1%。结论 胰液中 MUC1 水平对 PDAC 诊断的准确度较高, MUC1 水平与 PJC 联合检测可有效提高胰腺良恶性疾病的诊断效能。

**关键词:**黏蛋白 1; 胰腺癌; 导管内乳头状黏液癌; 胰液细胞学

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.16.027

**中图法分类号:**R576; R735.9

**文章编号:**1673-4130(2022)16-2043-04

**文献标志码:**A

胰腺癌是癌症相关死亡的第五大原因, 是患者存活率最低的实体肿瘤之一, 胰腺导管腺癌(PDAC)患者的 5 年生存率大多低于 3.5%<sup>[1]</sup>。胰腺炎性病变如慢性胰腺炎、自身免疫性胰腺炎等疾病的预后相对较好<sup>[2]</sup>。内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)是最常用的诊断检查手段, 用于评估通过导管获得的胰液成分<sup>[3]</sup>。胰液细胞学检查(PJC)被认为是诊断导管内乳头状黏液癌(IPMC)较准确的诊断方法<sup>[4]</sup>。然而, PJC 对 PDAC 和 IPMC 诊断的准确度并不令人满意, 需要联合其他方式来提高诊断效能<sup>[5]</sup>。黏蛋白 1(MUC1)是一种膜相关黏蛋白, 根据不同的糖形式有多种类型, 在胃肠道组织中广泛表达<sup>[6]</sup>。研究表明, MUC1 在胃肠道肿瘤组织中的异常表达具有重要意义, 与肿瘤细胞的侵袭和转移密切相关<sup>[7]</sup>。INAGAKI 等<sup>[8]</sup>发现, MUC1 可有效地用于诊断导管内乳头状黏液性肿瘤(IPMN), 几乎所有 PDAC 标本的免疫组化检测 MUC1 均呈阳性。本研究分析胰腺疾病患者胰液中 MUC1 的表达水平, 以及 PJC 和胰液中 MUC1 水平检测对胰腺疾病的诊断价值, 以期为此类患者的有效诊断提供更多依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 10 月至 2017 年 1 月本院肝胆胰脾科收治的 70 例胰腺疾病患者作为研究对象, 男 42 例、女 28 例, 年龄 35~83 岁、中位年龄 70.2 岁。纳入标准: (1)均接受 PJC 及胰液中 MUC1 水平检测。 (2)均接收病理学检查。入选的 70 例胰腺疾病患者中, 恶性胰腺疾病患者 39 例, 包括 PDAC 34 例(PDAC 组)和 IPMC 5 例(IPMC 组); 良性胰腺疾

病患者 31 例, 包括 IPMN 19 例(IPMN 组)和胰腺炎性病变 12 例(炎性病变组)。本研究获得所有受试者的知情同意, 并经本院伦理委员会批准通过。

## 1.2 方法

**1.2.1 PJC 及 MUC1 水平检测** 患者取仰卧位, 在十二指肠镜引导下找到乳头开口, 通过导丝, 导管被推入主胰管, 拔出导丝, 用注射器收集胰液, 见清亮液体为胰液, 黄色则提示混有胆汁, 应重新插管。约 5 min 后停止吸引, 将导管拔出。胰液收集完成后, 尽快在 4℃、3 000 r/min 条件下离心 20 min, 分别收集上清与沉淀, 保存于 -80℃ 冰箱。取上述沉淀用 Papanicolaou's 法进行 PJC, 取上清液 10 μL 进行 MUC1 水平检测。采用 PICOLUMI MUC1 试剂盒(日本东京 EIDIA 公司)一式两份重复测定 MUC1 水平, 取平均值。

**1.2.2 免疫组化检测** 手术获取胰腺组织, 用 10% 中性缓冲甲醛溶液处理后, 常规石蜡包埋, 4 μm 切片, 脱蜡, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸泡除去内源性的过氧化氢酶, 血清封闭后与 MUC1 单克隆抗体(稀释 1:2 000)共同孵育过夜, 磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后加入二抗, 加上链霉亲和素-生物素复合物(SABC), 然后置于 37℃ 温箱中 0.5 h。二氨基联苯胺(DAB)显色, 复染, 脱水, 封片, 显微镜下观察, 出现棕黄色颗粒为阳性。

**1.2.3 诊断结果判定** 最终诊断根据 PJC 结果、临床随访和手术病理确定。对胰腺无恶性病变的患者(不包括慢性胰腺炎、自身免疫胰腺炎和 IPMN)进行影像学随访。密切观察所有患者的即时或延迟性并

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: taoyoujianghwy@163.com。

发症。根据 Cotton 等的标准判断 ERCP 后胰腺炎的严重程度。所有接受 PJC 的患者信息均已在检查前输入数据库中。记录的数据包括病变的位置、类型、大小和内镜特征、充分性、细胞学结果、最终诊断等资料。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 和 GraphPad Prism 5.0 软件进行数据处理,符合正态分布且方差不齐的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步比较采用 SNK- $q$  检验;偏态分布或方差不齐的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,两组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis  $H$  检验。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 PJC 和(或)胰液 MUC1 水平检测对

胰腺疾病的诊断价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者基本临床资料** 患者基本临床资料见表 1。各组患者年龄及肿瘤最大径比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );PDAC 组和 IPMC 组患者胰液癌胚抗原 (CEA) 和糖类抗原 19-9 (CA19-9)、Span-1、DU-PAN-2、白细胞介素 6 (IL-6) 水平明显高于炎症病变组和 IPMN 组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。对合并良性主胰管狭窄的 IPMN 组患者进行超声或 CT 随访,随访时间 13~27 个月,中位时间 18.7 个月,无一例发现恶性病变。

表 1 各组患者基本临床资料 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

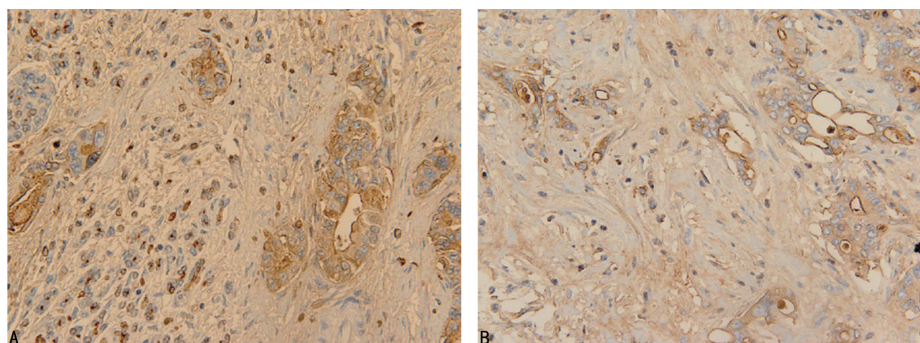
项目	良性胰腺疾病患者 ( $n=31$ )		恶性胰腺疾病患者 ( $n=39$ )	
	炎症病变组 ( $n=12$ )	IPMN 组 ( $n=19$ )	IPMC 组 ( $n=5$ )	PDAC 组 ( $n=34$ )
年龄(岁)	65.7(42.3, 75.8)	71.2(55.6, 78.2)	79.8(74.8, 82.4)	69.6(45.4, 77.8)
肿瘤最大径(mm)	—	30.0(17.5, 53.2)	28.5(15.4, 42.6)	31.8(18.5, 55.6)
CEA(ng/mL)	2.2(1.8, 3.6)	2.9(2.2, 4.3)	3.7(2.9, 4.7) <sup>ab</sup>	21.7(12.8, 36.4) <sup>ab</sup>
CA19-9(U/mL)	10.5(6.8, 15.1)	9.4(6.5, 16.4)	17.8(12.4, 29.6) <sup>ab</sup>	1 536.5(1 256.5, 1 842.6) <sup>ab</sup>
Span-1(U/mL)	7.2(4.2, 13.5)	12.6(7.4, 19.7)	38.7(22.6, 49.2) <sup>ab</sup>	936.5(576.4, 1 365.8) <sup>ab</sup>
DU-PAN-2(U/mL)	33.5(24.6, 56.4)	53.2(38.4, 72.6)	59.2(42.6, 79.8) <sup>ab</sup>	2 411.8(1 642.5, 3 265.8) <sup>ab</sup>
IL-6(ng/mL)	248.6(189.8, 320.9)	268.4(173.2, 400.8)	296.8(187.5, 413.8) <sup>ab</sup>	426.1(303.1, 672.8) <sup>ab</sup>

注:与炎症病变组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IPMN 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.2 各组患者胰液中 MUC1 水平比较** PDAC 组 [167.7(125.6, 286.5) U/mL] 和 IPMC 组 [(86.9 ± 21.1) U/mL] 患者胰液中 MUC1 水平明显高于炎症病变组 [17.5(11.6, 22.8) U/mL], 差异有统计学意义 ( $P = 0.034$ ); IPMC 组 [167.7(125.6, 286.5) U/mL] 患者胰液中 MUC1 水平明显高于 IPMN 组

[(14.4 ± 2.0) U/mL], 差异有统计学意义 ( $P = 0.026$ )。

**2.3 免疫组化检测 PDAC 组及 IPMC 组胰腺组织中 MUC1 的表达** 免疫组化检测结果显示, MUC1 主要定位于 PDAC 组和 IPMC 组胰腺组织的细胞质, 在细胞膜上也有少量表达。见图 1。



注:A 为 PDAC 组患者胰腺组织 MUC1 表达;B 为 IPMC 组患者胰腺组织 MUC1 表达。

图 1 免疫组化染色检测胰腺组织中 MUC1 表达 ( $\times 100$ )

**2.4 MUC1 鉴别胰腺良恶性疾病的 ROC 曲线** ROC 曲线分析显示, MUC1 水平鉴别胰腺良性疾病 (炎症病变和 IPMN)、恶性疾病 (PDAC 和 IPMC) 的临界值为 16 U/mL, 曲线下面积 (AUC) 为 0.752。见

图 2。

**2.5 PJC 及 MUC1 水平单独及联合检测对良恶性疾病的诊断效能** MUC1 水平、胰液 PJC 单独及联合检测诊断良、恶性疾病的灵敏度、特异度、阳性预测值、

阴性预测值和准确度见表 2。本研究中, PJC 未确诊的 7 例患者中, 6 例(85.7%)胰液中检测到 MUC1 水平异常, 最终诊断为 PDAC 和 IPMC; 10 例患者(14.3%)在 PJC 后出现并发症, 均为轻度胰腺炎。所有患者均经保守治疗后痊愈。

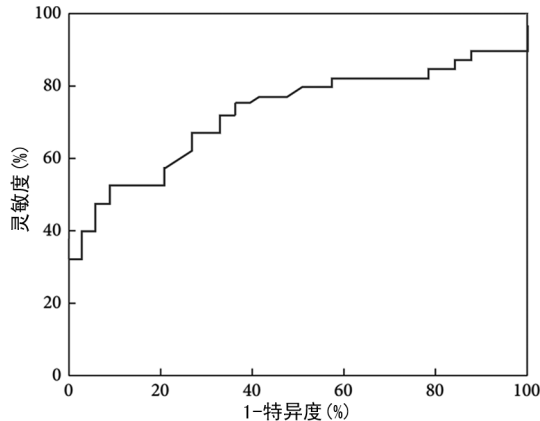


图 2 MUC1 鉴别胰腺良、恶性疾病的 ROC 曲线

表 2 胰液 PJC、MUC1 对不同胰腺病变的诊断价值(%)

项目	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确度
MUC1	79.5	64.5	73.8	71.4	72.9
PJC	82.1	96.8	97.0	81.1	88.6
联合检测	97.4	96.8	97.4	96.8	97.1

3 讨 论

MUC1 在炎症和癌症中具有多种功能, 有研究显示, MUC1 可通过细胞外基质促进肿瘤侵袭, 有助于早期肠道肿瘤的形成, 以及在肠癌和胃癌中调控促结缔组织增生反应<sup>[9]</sup>。MUC1 可在肺损伤模型中控制促结缔组织增生反应和趋化因子的释放, 在胰腺炎症中诱导腺泡细胞凋亡<sup>[10]</sup>。各种肿瘤标志物, 如 CEA、CA19-9、Span-1 和 DU-PAN-2 已被广泛用于检测 PDAC 和 IPMC<sup>[11]</sup>。有研究者报道, 44% 的胰腺癌患者血清 MUC1、PJC 标本的 MUC1 水平可测得, 而已发表报道包括了相对较少的 PDAC 和 IPMC 患者<sup>[12]</sup>。

本研究中, PDAC 和 IPMC 患者有较高的 MUC1 水平, 联合 MUC1 水平检测可明显提高 PJC 诊断 PDAC 和 IPMC 的灵敏度和准确度。PJC 结果不确定或阴性的 7 例患者中, 6 例患者胰液中 MUC1 水平升高, 最终诊断为 PDAC 和 IPMC。此外, 胰液中 MUC1 水平有助于鉴别 IPMC 和 IPMN, 当根据临床病程或影像学表现怀疑 IPMN 时, 胰液中 MUC1 水平可能有助于排除 IPMN。

MUC1 水平的测定不会影响 PJC 的诊断能力, 因为 MUC1 水平是用胰液检测的, PJC 是从胰液中取出细胞团进行的检测。有研究表明, PJC 对胰腺癌的灵敏度为 33.3%~67.0%, 特异度为 100.0%, 准确度为 46.7%~94.0%<sup>[13]</sup>。HASEGAWA 等<sup>[14]</sup>的研究

表明, PJC 对胰管狭窄诊断的灵敏度为 71.4%~93.0%, 特异度为 100.0%, 阳性预测值为 100.0%, 阴性预测值为 75.0%~84.4%, 准确度为 88.8%~94.0%。有研究显示, PJC 对胰腺恶性肿瘤表现出极好的诊断能力<sup>[15]</sup>。在本研究中, 10 例(14.3%)患者在 PJC 后发生轻度胰腺炎, 与文献<sup>[16]</sup>研究结果相近。因此, 建议将 PJC 限制在内镜超声引导下细针穿刺活检无法获得证据时。

本研究结果发现, 胰液中 MUC1 水平与 PJC 联合检测可有效提高胰腺良恶性疾病的诊断效能。但本研究样本量尚小, 未来有待实施更大样本量的研究, 以得出更具说服力的证据。

参考文献

[1] 邢瑞青, 彭道荣. 血清 CA19-9、PIVKA-II、VEGF 联合检测对胰腺癌的诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(5): 554-557.

[2] 李勃, 丁秀文, 时霄寒, 等. 肿瘤内坏死与胰腺导管腺癌预后相关性研究[J]. 腹部外科, 2020, 33(5): 351-354.

[3] 刘飞, 刘波, 祁春春, 等. 内镜逆行胰胆管造影诊治高龄高危 IPMN[J]. 肝胆胰外科杂志, 2019, 31(8): 496-498.

[4] CHRISTENSON E S, JAFFEE E, AZAD N S. Current and emerging therapies for patients with advanced pancreatic ductal adenocarcinoma: a bright future[J]. Lancet Oncol, 2020, 21(3): e135-e145.

[5] 卢家俊, 袁周. DNA 甲基化在胰腺癌早期诊断及治疗中的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2019, 27(1): 13-19.

[6] JING X, LIANG H, HAO C, et al. Overexpression of MUC1 predicts poor prognosis in patients with breast cancer[J]. Oncol Rep, 2019, 41(2): 801-810.

[7] LI N, ZONG S, ZHANG Y, et al. A SERS-colorimetric dual-mode aptasensor for the detection of cancer biomarker MUC1[J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412(23): 5707-5718.

[8] INAGAKI Y, XU H, NAKATA M, et al. Clinicopathology of sialomucin, MUC1, particularly KL-6 mucin, in gastrointestinal, hepatic and pancreatic cancers [J]. Biosci Trends, 2009, 3(6): 220-232.

[9] OLINGER E, HOFMANN P, KIDD K, et al. Clinical and genetic spectra of autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease due to mutations in UMOD and MUC1 [J]. Kidney International, 2020, 98(3): 717-731.

[10] JIANG Z B, HUANG J M, XIE Y J, et al. Evodiamine suppresses non-small cell lung cancer by elevating CD8<sup>+</sup> T cells and downregulating the MUC1-C/PD-L1 axis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 249.

[11] 张雁, 李非, 方育, 等. 肿瘤免疫营养指标对预测胰腺癌可切除性的价值探讨[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2020, 27(6): 703-707.

[12] BEATSON R, TAJADURA-ORTEGA V, ACHKOVA D, et al. The mucin MUC1 modulates the tumor immunological microenvironment through engagement of the

- lectin Siglec-9[J]. *Nature Immunol*, 2016, 17(11): 1273-1281.
- [13] OLOU A A, KING R J, YU F, et al. MUC1 oncoprotein mitigates ER stress via CDA-mediated reprogramming of pyrimidine metabolism [J]. *Oncogene*, 2020, 39 (16): 3381-3395.
- [14] HASEGAWA M, TAKAHASHI H, RAJABI H, et al. Functional interactions of the cystine/glutamate antiporter, CD44v and MUC1-C oncoprotein in triple-negative breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 11756.
- [15] MATSUMOTO K, TAKEDA Y, HARADA K, et al. Effect of pancreatic juice cytology and/or endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for pancreatic tumor [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29 (1): 223-227.
- [16] YAMAGUCHI T, SHIRAI Y, NAKAMURA N, et al. Usefulness of brush cytology combined with pancreatic juice cytology in the diagnosis of pancreatic cancer: significance of pancreatic juice cytology after brushing[J]. *Pancreas*, 2012, 41(8): 1225-1229.
- (收稿日期: 2021-09-02 修回日期: 2022-07-14)

## • 短篇论著 •

# 精液中 miR-34b、miR-122、miR-429 联合检测对男性不育症的诊断价值

陈雨晴<sup>1</sup>, 李 剑<sup>2</sup>, 靖小珍<sup>1</sup>, 姚文瑛<sup>1△</sup>

上海交通大学医学院附属第九人民医院: 1. 检验科; 2. 实验中心, 上海 201901

**摘要:**目的 探讨男性不育症患者精液中 miRNA 表达水平的差异, 分析相关 miRNA 的表达水平对男性不育症的诊断价值。方法 纳入 2019 年 4 月至 2021 年 4 月该院收治的 168 例男性不育症患者, 其中 20 例通过高通量测序分析其精液中 miRNA 表达水平, 另外 148 例作为研究组; 同时纳入 168 例男性健康志愿者, 其中 20 例通过高通量测序分析其精液中 miRNA 表达水平, 另外 148 例作为对照组。检测并比较两组受试者精液中 miR-34b、miR-122、miR-429 的相对表达量。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析精液中 miR-34b、miR-122、miR-429 检测对男性不育症的诊断价值。结果 高通量测序发现, 20 例健康志愿者与 20 例男性不育症患者精液中多种 miRNA 的表达水平具有差异, 其中表达上调的 miRNA 有 58 个, 表达下调的 miRNA 有 22 个。选取表达差异最大的 3 个 miRNA(miR-34b、miR-122、miR-429)进行表达水平的验证和诊断价值的分析。实时荧光定量 PCR 发现, 两组精液中 miR-34b、miR-122、miR-429 的相对表达量比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。ROC 曲线分析显示, miR-34b、miR-122、miR-429 诊断男性不育症的灵敏度分别为 91.89%、93.92%、92.57%, 特异度分别为 93.24%、94.59%、93.24%; 精液中 miR-34b、miR-122、miR-429 联合检测诊断男性不育症的灵敏度为 96.62%, 特异度为 91.22%, 准确度为 93.92%。结论 精液中 miR-34b、miR-122、miR-429 可作为男性不育症的潜在生物标志物。

**关键词:** 精液; miR-34b; miR-122; miR-429; 男性; 不孕不育

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.16.028

**中图法分类号:** R698+.2

**文章编号:** 1673-4130(2022)16-2046-03

**文献标志码:** A

有研究显示, 大约 15% 的夫妇在无保护措施性交 1 年后无法受孕<sup>[1]</sup>。在 20% 的不孕夫妇中, 男性因素是唯一的原因, 在另外 30%~40% 的不孕夫妇中, 男性因素是促成因素<sup>[2]</sup>。基本的男性不育症评估需要全面的病史和精液分析, 仅其中一项不能准确区分不明原因的男性不育症, 因此, 分子无创检测可以为医生提供有价值的信息, 进一步对不明原因的男性不育症进行评估和诊断<sup>[3]</sup>。此外, 仅通过组织学工作评估睾丸组织标本的传统测试, 在检测和分类精子生成障碍方面的准确性和敏感性都不高<sup>[4]</sup>。miRNA 是一类短(20~23 个核苷酸)的单链非编码核苷酸, 能够通过 mRNA 降解或翻译抑制来调节基因表达<sup>[5]</sup>。miRNA 参与了各种生物过程, 如增殖、分化、发育和凋亡<sup>[6]</sup>。有报道显示, miRNA 表达模式的改变与不同

的人类睾丸组织病理学模式、生精功能障碍有关<sup>[7]</sup>。因此, 精液 miRNA 可以作为评估人类男性生育状况的特定生物标志物。基于此, 本研究通过高通量测序检测精液中 miRNA 表达水平, 探讨精液中 miRNA 表达水平对男性不育症的诊断价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 纳入 2019 年 4 月至 2021 年 4 月本院收治的 168 例男性不育症患者, 其中 20 例通过高通量测序分析其精液中 miRNA 表达水平, 年龄 23~39 岁, 平均(32.45±6.23)岁; 另外 148 例为研究组, 年龄 22~41 岁, 平均(32.54±5.29)岁。排除标准: (1)采集精液前接受任何治疗的患者; (2)肿瘤患者; (3)全身性自身免疫性疾病患者; (4)严重心、肝、肾功能损害者; (5)长期使用皮质类固醇激素及免疫抑制

△ 通信作者, E-mail: ynjafnmusf@163.com。