

- 理杂志, 2019, 35(11):1966-1973.
- [8] LI L, LIU M, ZHANG T, et al. Indomethacin down-regulating HMGB1 and TNF- α to prevent pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography [J]. Scand J Gastroenterol, 2019, 54(6):793-799.
- [9] 尹志辉, 周志伟, 刘继勇, 等. 乳腺癌患者组织多项组化标记物与血清 CA153, CA125, CEA, 25-OH-D₃ 水平关联性分析模型建立及在预后判断的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3):47-50.
- [10] 李欣荣, 朱均权, 童竹月. 地黄饮子联合耳针对肾虚髓减型内分泌治疗期绝经后乳腺癌患者认知水平及激素水平、血脂、维生素 D3 水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1):246-249.
- [11] 中华医学会风湿病学分会. 系统性红斑狼疮诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(5):342-346.
- [12] SWERDLOW S H, CAMPO E, HARRIS N L, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissue[M]. Lyon: IARC, 2008.
- [13] 杨晨萌, 方美云. 风湿免疫病与淋巴瘤的相关性[J]. 中华血液学杂志, 2019, 40(10):880-883.
- [14] BJORNADAL L, LOFSTROM B, YIN L, et al. Increased cancer incidence in a Swedish cohort of patients with systemic lupus erythematosus[J]. Scand J Rheumatol, 2002, 31(2):66-71.
- [15] 方芳, 韩路, 方开峰. 超声参数联合血清 VEGF、IL-17、sIL-2R 对甲状腺癌的诊断效能及与病理特征的关联[J]. 中国临床研究, 2020, 33(8):1027-1031.
- [16] 臧荣发, 顾盼瑾, 尤建良. 联合检测血清 galectin-3、sIL-2R、CCL11 表达水平在评估结肠癌患者预后中的价值研究[J]. 河北医药, 2019, 41(10):1460-1463.
- [17] 魏伟, 赵黎. 甲状腺癌患者血清 IL-17、sIL-2R 及 TG 水平及其临床意义分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020, 17(2):24-27.
- [18] SHAN H, ZHANG X, LIN Z M, et al. Effects of mild hypothermia on serum HMGB1 of brain-dead donors and its impact on kidney transplantation recipients[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(22):e20425.
- [19] 赵东霞, 王丽芳, 卢安. HMGB1 在消化系统恶性肿瘤中的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2019, 25(10):910-915.
- [20] 张静娇, 邓春青. 与疾病相关的 HMGB1 基因多态性研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志, 2019, 42(4):357-361.
- [21] KARAKIKE E, ADAMI M E, LADA M, et al. Late peaks of HMGB1 and sepsis outcome: evidence for synergy with chronic inflammatory disorders[J]. Shock, 2019, 52(3):334-339.
- [22] MOHAMMADZADEH I, DARVISH S, QUJEQ D, et al. Association of serum 25-OH vitamin D₃ with serum IgE and the pediatric asthma severity score in patients with pediatric asthma[J]. Allergy Asthma Proc, 2020, 41(2):126-133.
- [23] 白娜, 杜萍萍. 血清 25(OH)维生素 D 水平与原发肝癌的相关性分析[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(21):2988-2990.
- [24] 张鹏程, 罗琴, 杨芳. 血清甲状腺激素和 25-(OH)D₃ 对急性白血病患者化疗疗效的影响[J]. 中国处方药, 2019, 17(6):164-165.

(收稿日期:2021-01-12 修回日期:2022-05-28)

miR-181a 在子宫内膜癌中的诊断价值*

贡继尧¹, 宋梓萌¹, 陈媛¹, 曾美迪¹, 李世宝^{1,2 Δ}

1. 徐州医科大学医学技术学院, 江苏徐州 221000; 2. 徐州医科大学附属医院检验科, 江苏徐州 221000

摘要:目的 探讨血清 miR-181a 在子宫内膜癌(EC)诊断中的价值及其临床意义。方法 应用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)的方法检测 47 例 EC 患者(EC 组)和 25 例体检健康者(对照组)血清 miR-181a 水平, 比较两组血清 miR-181a 水平, 采用受试者工作特征(ROC)曲线评价其对 EC 的临床诊断价值, 比较不同 miR-181a 水平 EC 患者的临床病例特征。结果 EC 组血清 miR-181a 水平明显高于对照组($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果显示, 血清 miR-181a 诊断 EC 的曲线下面积为 0.8898, 灵敏度为 91.49%, 特异度为 72.00%。miR-181a 高表达且肌层浸润深度 ≥ 2 cm 的 EC 患者比例高于 miR-181a 低表达的患者($P < 0.05$)。结论 miR-181a 在 EC 患者中水平明显增高, 提示 miR-181a 在 EC 诊断中具有潜在价值。

关键词: miR-181a; 子宫内膜癌; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.22.024

中图法分类号: R737.33

文章编号: 1673-4130(2022)22-2805-04

文献标志码: A

子宫内膜癌(EC)是目前全球女性中最常见的恶性肿瘤之一^[1], 在中国仅次于宫颈癌, 居女性生殖系

* 基金项目:江苏省高等学校大学生实践创新训练计划项目(202110313082Y)。

Δ 通信作者, E-mail: sdjnsjhlb@xzhmu.edu.cn。

统恶性肿瘤第二位,而在发达国家居于首位^[2],好发于围绝经期和绝经后女性。近年来,EC 在世界范围内的发病率持续上升,平均发病年龄也越来越小^[3],但其具体病因尚不清楚。2019 年国家癌症中心统计称在我国 EC 的发病率为 10.28/10 万,死亡率为 1.9/10 万^[4]。2020 年,全球共有 417 367 例新诊断病例,由 EC 导致的死亡人数高达 97 370 人^[5]。目前临床较为常见的诊断标志物是人卵巢癌抗原(CA125)^[6],但其诊断 EC 的灵敏度和特异度不佳^[7],使血清肿瘤标志物在临床上受到极大的限制。而诊断性刮宫术作为其早期诊断的金标准具有侵袭性,因此,亟须发现一种灵敏度高且易获得的 EC 诊断标志物来提高 EC 的诊断效率。

miR-181a 是一种微小 RNA(miRNA),广泛分布于人类细胞中,发挥着调控细胞发育和分化的作用^[8]。相关研究证实,miR-181a 在 EC 患者的肿瘤组织中表达水平上升^[9],提示 miR-181a 具备作为 EC 标志物的潜能。但组织标本获取的侵入性限制了其临床应用,而血清标本获取相对简单,并且 miRNA 在血清中也较为稳定^[10],可以为诊断提供了一种无创的、经济的方法。因此,本研究拟通过检测 EC 患者血清 miR-181a 水平,探讨 miR-181a 在 EC 诊断中的价值及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2021 年 8 月至 2022 年 3 月在徐州医科大学附属医院确诊的 EC 患者血清标本 47 份(EC 组),女性体检健康者血清标本 25 份(对照组)。EC 组患者年龄 45~74 岁,平均(58.0±7.6)岁;对照组年龄 47~68 岁,平均(57.4±6.2)岁。纳入标准:所有患者经诊断性刮宫检查证实为 EC;纳入本研究前未经任何手术、放疗、化疗等治疗。排除标准:其他肿瘤患者;心、肺、肾、神经系统等疾病患者;严重精神类疾病患者。本研究获得徐州医科大学附属医院伦理委员会批准,所有患者及健康者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器 miR-181a 及 U6 引物、反转录试剂盒、PCR 试剂盒均购自中国北京天根生化有限公司。TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂购自 Life technologies 公司,PCR 扩增仪购自 Bio-Rad 公司,ABI 7500 实时定量 PCR 仪购自 Applied Biosystems 公司。

1.3 总 RNA 的提取与实时荧光定量 PCR(qPCR) 将存放于-80℃的血清标本在室温下融解,取 200 μL 血清置于无核酶 Ep 管中,按照 Trnzol Universal 总 RNA 提取试剂说明书提取血清总 RNA。使用分光光度计检测提取 RNA 的纯度和浓度,用于后续实

验。以 260 nm 和 280 nm 处的吸光度比值(A_{260}/A_{280})在 1.8~2.0 为最佳。按照反转录试剂盒说明书配制反应体系(总体系 20 μL)将提取的 RNA 在荧光定量 PCR 扩增仪上反转录为 cDNA,反转录程序:42℃ 60 min,95℃ 3 min,之后保持 10℃。得到的 cDNA 标本保存在-20℃冰箱中备用。以 1 μL cDNA 为模板,按照 PCR 试剂盒配制反应体系 20 μL,PCR 条件:95℃ 孵育 15 min,95℃ 15 s,60℃ 30 s,共 40 个循环。采用相对定量法,以 U6 作为内参,每个实验标本设置 3 个复孔。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血清 miR-181a 的相对表达水平。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism8.0 分析软件进行数据分析。计量资料呈非正态分布,两组间比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验;计数资料以例数、率表示,组间比较采 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,分析血清 miR-181a 对 EC 的临床诊断价值,并计算曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EC 组和对照组血清 miR-181a 水平比较 qPCR 法检测 miR-181a 水平,试验过程中血清标本未被污染,且未出现引物二聚体或非特异性扩增,结果较可靠。EC 组血清 miR-181a 水平明显高于对照($P<0.05$),见图 1。

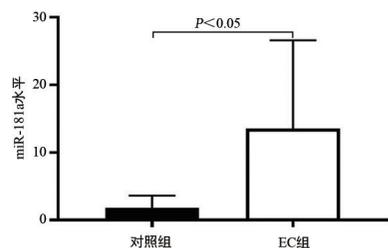


图 1 对照组与 EC 组血清 miR-181a 水平比较

2.2 miR-181a 对 EC 的诊断价值 ROC 曲线分析结果显示,血清 miR-181a 诊断 EC 的 AUC 为 0.8898 (95% CI: 0.8165~0.9631, $P<0.05$),灵敏度为 91.49%,特异度为 72.00%,见图 2。

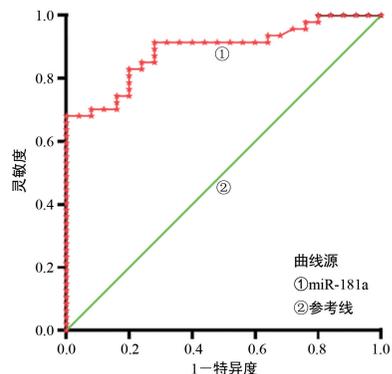


图 2 血清 miR-181a 诊断 EC 的 ROC 曲线

2.3 EC 患者血清 miR-181 水平与临床病理特征的关系 以血清 miR-181a 的中位数(8.386)为界, miR-181 ≥ 8.36 的 EC 患者为高表达组(24 例), miR-181a < 8.386 的 EC 患者为低表达组(23 例)。高表达组肌层浸润深度 ≥ 2 cm 的患者比例高于低表达组($P < 0.05$), 而两组年龄、分化程度、免疫组化及有淋巴结转移、炎性改变、癌累及其他部位比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 EC 血清 miR-181a 表达水平与临床病理特征的关系[n(%)]

病理特征	高表达组 (n=24)	低表达组 (n=23)	χ^2	P
年龄			1.023	0.312
≤ 57 岁	15(62.50)	11(47.83)		
> 57 岁	9(37.50)	12(52.17)		
淋巴结转移			0.865	0.353
是	2(8.33)	4(17.39)		
否	22(91.67)	19(82.61)		
分化程度			0.016	0.900
高分化	14(58.33)	13(56.52)		
中、低分化	10(41.67)	10(43.48)		
炎性改变			0.561	0.454
是	12(50.00)	9(39.13)		
否	12(50.00)	14(60.87)		
肌层浸润深度			4.063	0.044
≥ 2 cm	12(50.00)	5(21.74)		
< 2 cm	12(50.00)	18(78.26)		
癌累及其他部位			1.084	0.298
是	6(25.00)	3(13.04)		
否	18(75.00)	20(86.96)		
免疫组化			0.622	0.430
ER/PR(+)	4(16.67)	6(26.09)		
ER/PR(-)	20(83.33)	17(73.91)		

3 讨 论

miRNA 是近年来用于肿瘤诊断的新型标志物。miRNA 与细胞的增殖、分化、凋亡和代谢密切相关, 对机体生理状态的维持和细胞发育起重要作用^[11]。现有不少研究证明, miRNA 是影响 EC 发生、发展的重要因素^[12]。BOREN 等^[13]研究了与 EC 发生相关的 miRNA 及其靶信使 RNA, 发现在正常子宫内膜演变为子宫内膜非典型增生过程中, 有 13 种 miRNA 存在不同程度的差异性表达, 提示 miRNA 在 EC 中可能发挥了促癌基因和抑癌基因的功能。此外, miRNA 在疾病中特异性表达, 且在血清中稳定存在, 不易被血液中的核糖核酸酶降解^[14]。这些结果提示, 血清

miRNA 作为肿瘤标志物在 EC 的发生、发展, 早期诊断, 以及预后预测方面具有十分重要的意义。

miR-181a 位于人 9 号染色体上, 不少研究发现 miR-181a 的差异化表达与肿瘤的发生密切相关^[15], 在许多恶性肿瘤中均表达失调。华佳叶等^[16]研究发现, miR-181a 在急性髓细胞性白血病中高表达, 其通过促进 HL-60 细胞株的增殖来发挥促癌作用。YANG 等^[17]推测 miR-181a 在口腔鳞状细胞癌中发挥了癌基因调控作用。此外, 有研究表明, 胃癌患者血清中 miR-181a 表达量明显上调, 可以作为肿瘤标志物进一步研究^[18]。国内外均有关于 miR-181a 对 EC 影响的报道, 但重点均放在了研究 miR-181a 对 EC 组织细胞的作用上。有研究人员发现, miR-181a 在 EC 患者的新鲜冰冻组织标本中表达上调, 认为 miR-181a 可能通过抑制其靶基因 PR 的表达进而调节 EC 的发生、发展^[19]。但是目前关于 miR-181a 在 EC 血清中的表达及临床意义的研究较少。

本研究运用 qPCR 检测发现在 EC 组血清中 miR-181a 水平明显高于对照组($P < 0.05$), 表明 miR-181a 可能在 EC 的发生机制中起促癌基因作用。

本课题组认为, 在 EC 发病和进展过程中, 因 EC 组织中肿瘤细胞逃逸或死亡, 释放基因组 DNA 入血, 导致外周血中 miR-181a 水平升高, miR-181a 的这种特异性变化可作为 EC 诊疗的无创性分子标记物, 对其进行检测, 将有助于 EC 检出和治疗效果的监控, 但其具体调控机制仍需进一步研究。

综上所述, miR-181a 在 EC 患者血清中水平升高, 其可能参与了 EC 的发生、发展, 提示 miR-181a 是一个潜在的诊断 EC 的标志物。

参考文献

- [1] MUTLU L, HAROLD J, TYMON-ROSARIO J, et al. Immune checkpoint inhibitors for recurrent endometrial cancer[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2022, 22(3): 249-258.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [4] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫内膜癌诊断与治疗指南: 2021 年版[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(6): 501-512.
- [5] TUNG H J, HUANG H J, LAI C H. Adjuvant and post-surgical treatment in endometrial cancer[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2022, 78: 52-63.
- [6] JIANG T, HUANG L, ZHANG S. Preoperative serum CA125: a useful marker for surgical management of endometrial cancer[J]. BMC Cancer, 2015, 15: 396.
- [7] 要迎春, 栗河舟, 吴娟, 等. 超声诊断联(下转第 2813 页)

身研究课题丰富教学内容,又可充分发挥学员的主体作用,对学员思维进行启迪。本教学组因材施教,合理选择与把握教学内容,通过引入 LBL 结合 PBL 的教学模式充分调动学员学习的主观能动性,规范并提升了学员实验操作技能,提高了分子诊断学人才培养质量,为培养高素质的应用型检验技术人才提供了新的教育思路。

参考文献

- [1] 郭胜男,张越时,王晔,等.虚拟仿真实验在“分子诊断学”实验教学的应用探索[J].中国医学教育技术,2021,35(4):485-489.
- [2] 张小艳,萧闵.医学检验专业实验教学模式改革思考[J].现代医学与健康研究电子杂志,2018,2(13):187.
- [3] 张倩,尹美玲,王慧妍,等.导师制联合 PBL 教学模式在医学检验技术专业实习生带教中的应用[J].国际检验医学杂志,2022,43(10):1279-1280.
- [4] 毛百萍,王美玲,范逸雯,等.PBL、TBL 和 CBL 三种教学模式在医学检验专业课教学中应用的比较[J].教书育人(高教论坛),2021,8(9):105-107.
- [5] SCHMIDT H, ROTGANS J, YEW E. The process of problem-based learning: what works and why[J]. Med Educ, 2011, 45(8):792-806.
- [6] 李琼.分子诊断学技术在检验医学中的应用及挑战[J].

中国继续医学教育,2018,10(34):2.

- [7] 黄洋.如何发挥分子诊断学的优势[J].幸福家庭,2021,10(7):159.
- [8] 杨华,廖国玲,李元,等.医学检验专业线上教学情况调研分析及优化对策[J].中国医学教育技术,2022,36(4):61-62.
- [9] 潘晓琼,林华镇,王雯雯,等.LBL、PBL、TBL 融合教学法在中医全科医学概论课程中的应用[J].中国中医药现代远程教育,2022,20(11):26-28.
- [10] 孙兴红,张琳菡,吴毅娟,等.PBL 教学法在中医外科临床教学中的应用[J].中国中医药现代远程教育,2022,20(7):41-43.
- [11] LI X D, XIE F, LI X Q, et al. Development, application and evaluation of a problem-based learning method in clinical laboratory education[J]. Clin Chim Acta, 2020, 510:681-684.
- [12] LEPILLER Q, SOLIS M, VELAY A, et al. Problem-based learning in laboratory medicine resident education: a satisfaction survey[J]. Ann Biol Clin, 2017, 75(2):181-192.
- [13] 谌章舟.高校《分子诊断学》课程教学模式创新研究[J].湖北开放职业学院学报,2022,35(5):11-12.

(收稿日期:2022-90-30 修回日期:2022-10-12)

(上接第 2807 页)

- 合血清 CA125,hs-CRP 水平评定子宫内膜癌的价值[J].实用癌症杂志,2021,36(9):1486-1489.
- [8] SEOUDI A M, LASHINE Y A, ABDELAZIZ A I. MicroRNA-181a-a tale of discrepancies[J]. Expert Rev Mol Med, 2012, 14:e5.
- [9] 何淑明,曾淑梅,陈秀卿,等.Hsa-miR-181a 在子宫内膜癌变过程中的表达及意义[J].实用医学杂志,2014,30(12):1895-1897.
- [10] 吕一峰,高文玉,李志红.miR-181a-5p 和 miR-451a 在胃癌诊断和预后评估中的临床价值[J].检验医学与临床,2021,18(8):1059-1063.
- [11] CHEN C Z. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors[J]. 2005, 353(17):1768-1771.
- [12] 丁丽娟,薛德彬,滕晓东,等.p130、cullin-1 和 p53 在子宫浆液性腺癌中的表达[J].中国现代医生,2012,50(3):40-41.
- [13] BOREN T, XIONG Y, HAKAM A, et al. MicroRNAs and their target messenger RNAs associated with endometrial carcinogenesis[J]. Gynecol Oncol, 2008, 110(2):206-215.
- [14] CHEN X, BA Y, MA L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis

of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10):997-1006.

- [15] 雷振伟,张瑜,张旭.miR-181a 在人类恶性肿瘤中作用机制的研究进展[J].解放军医学院学报,2016,37(11):1204-1207.
- [16] 华佳叶,冯莹,庞纓,等.miR-181a 靶向抑制 ATM 表达促进急性髓系白血病细胞增殖[J].中国实验血液学杂志,2016,24(2):347-351.
- [17] YANG C C, HUNG P S, WANG P W, et al. MiR-181 as a putative biomarker for lymph-node metastasis of oral squamous cell carcinoma[J]. J Oral Pathol Med, 2011, 40(5):397-404.
- [18] 周艺,聂玉强,林泳,等.miR-181a 及其靶基因 Atg5 在胃癌中的表达及临床意义[J].胃肠病学和肝病杂志,2016,25(3):276-278.
- [19] HAREKRUSHNA P, TSAI-DER C, LUO X, et al. Endometrial miR-181a and miR-98 expression is altered during transition from normal into cancerous state and target PGR, PGRMC1, CYP19A1, DDX3X and TIMP3[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(7):1316-1326.

(收稿日期:2022-05-19 修回日期:2022-10-13)