

血清 miR-15b 诊断子宫内膜癌及预判淋巴结转移的价值分析

贾萌萌,王许艳,陈 健,郭 燕

(河南科技大学第一附属医院,河南 洛阳 471003)

摘 要: [目的] 探讨血清 miR-15b 用于诊断子宫内膜癌的价值及其对淋巴结转移的预判能力。[方法] 选取 21 例我院收治并诊断为子宫内膜癌及 13 例无生殖系统疾病的健康女性,采用酶联吸附法检测血清 CA125、HE4 水平,应用实时荧光定量技术对血清中 miR-15b 的水平进行相对定量。利用相关和回归分析对 miR-15b 指标与 CA125、HE4 做关联探讨;对子宫内膜癌患者淋巴结转移情况与 miR-15b 变量值进行 ROC 分析,寻找最佳的截断值。[结果] 子宫内膜癌患者的血清 CA125、HE4 和 miR-15b 含量均高于对照组,差异有统计学意义。CA125 与 HE4、HE4 与 miR-15b 之间存在线性正相关关系。CA125 在 FIGO 各期中比较无差异,HE4 和 miR-15b 在 FIGO 的各期均存在差异。当血清 miR-15b 水平相对于正常健康人群高出 3 倍,此时诊断淋巴转移的敏感度为 90.91%,特异性为 60%。[结论] 血清 HE4 与 miR-15b 可联合诊断子宫内膜癌,且 miR-15b 在子宫内膜癌的 FIGO 病理分期中存在差异,在判断肿瘤淋巴结转移方面有一定的价值。

关键词: 子宫内膜癌;淋巴结转移;HE4;CA125;miR-15b

中图分类号: R737.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)01-0043-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.01.B010

Value of Serum miR-15b in Diagnosis of Endometrial Carcinoma and Prediction of Lymphatic Metastasis

JIA Meng-meng, WANG Xu-yan, CHEN Jian, GUO Yan

(The First Affiliated Hospital, and College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: [Objective] To explore the value of serum miR-15b in the diagnosis of endometrial adenocarcinomas and prediction lymph node metastasis. [Methods] Twenty-one patients with endometrial adenocarcinoma admitted in the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology and 13 healthy women were enrolled in the study. Serum levels of carbohydrate antigen 125 (CA125) and human epididymis protein 4 (HE4) were detected by ELISA, serum miR-15b was detected by RT-qPCR. Correlation and regression analysis were used to explore the correlation of miR-15b and CA125 and HE4. ROC(receiver operating characteristic) analysis was applied to predict the lymphatic metastasis of patients with endometrial adenocarcinoma. [Results] The serum levels of CA125, HE4 and miR-15b in patients with endometrial adenocarcinoma were all higher than those in the control group ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that CA125 was positively correlated with HE4 and HE4 was positively correlated with miR-15b. CA125 showed no differences in each phase of FIGO, while HE4 and miR-15b showed differences in each phase of FIGO. When the serum miR-15b level was three times higher than that of healthy women (cut-off value = 3), the sensitivity to diagnose lymphatic metastasis was 90.91% and specificity was 60%. [Conclusion] Serum HE4 and miR-15b might be used as indicators for the diagnosis of endometrial adenocarcinoma, and the prediction of lymph node metastasis.

Subject words: endometrial adenocarcinoma; lymph node metastasis; HE4; CA125; miR-15b

子宫内膜癌(endometrial cancer, EC)是常见的

通信作者: 郭燕,住院医师,硕士;河南科技大学第一附属医院妇产科,河南省洛阳市涧西区景华路 24 号(471003);E-mail: guoyandoc@163.com

收稿日期: 2019-07-08;修回日期: 2019-08-09

妇科恶性肿瘤,发病率呈现增长态势^[1]。随着医学的进步,该疾病的整体预后趋于良好,但若子宫内膜癌病理高度恶性,诊断不及时,生存率低于 50%^[2]。目前,世界卫生组织对 EC 进行了分类:子宫内膜腺样癌

(80%)、黏液腺癌(1%~9%)、浆液性癌(<10%)、透明细胞癌(<5%)、神经内分泌癌、混合性癌和未分化和去分化的癌^[3]。寻找用于诊断子宫内膜腺癌临床预后和预测指标受到重视。临床病理评估结合影像学,为判断肿瘤是否浸润深部肌层、淋巴、血管,手术切除淋巴结提供依据^[4]。最新文献报道,血液中循环 mi-croRNAs 在子宫内膜腺癌的诊断中有较高的临床意义^[5]。其中,miR-15b 通过调控胰岛素生长因子 1 受体(insulin growth factor 1 receptor, IGF1R) 的表达,进而调控平滑肌细胞中基因表达和细胞增殖^[6]。本研究就子宫内膜腺癌患者血清 miR-15b 进行检测分析,探讨其与常规的肿瘤标志物血清人附睾分泌蛋白 4(human epididymis protein 4, HE4)是否存在一致性,以及其与子宫内膜腺癌的病理分级之间关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 10 月至 2018 年 5 月在河南科技大学第一附属医院收治的且病理证实为子宫内膜腺癌患者 21 例,年龄 44~69 岁,平均年龄 (56.52±12.62) 岁。对照组为同期体检中心 13 例无生殖系统疾病的健康女性,年龄 40~64 岁,平均年龄 (51.97±12.7) 岁。两组一般资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。入组对象均已经排除子宫以外其他部位肿瘤,且无其他重要脏器疾病。

1.2 血清 CA125、HE4 和 miR-15b 检测

血清样本均来自外周静脉血 4ml, 如下操作: 4℃离心 2000rpm/min, 15min 离心分离得上清, -80℃储存备用。血清成分糖类抗原 125(carbohydrate antigen 125, CA125)、人附睾分泌蛋白 4(HE4) 采用酶联免疫吸附实验测定, 试剂盒购于瑞典康乃格诊

断公司, 采用美国伯乐公司生产 CODA 全自动酶标仪分析。

采用 miRNA 提取试剂盒提取 miRNA, 试剂盒购买于北京天根生化公司。进一步 miR-15b 检测采用实时荧光定量 PCR, 技术和试剂耗材由上海盛元生物技术公司提供。

1.3 病理学检查

对手术病理样本按照 FIGO 的病理标准进行分期, 同时对其子宫肌层浸润程度、附件及淋巴结转移进行判断。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件, 定量资料以均数±标准差表示, 两组比较采用 t 检验, 三组及以上用单因素方差分析; 分类资料采用 χ^2 检验或精确概率法比较; 制作受试者工作曲线 ROC, 根据病理淋巴结转移与否作为金标准, 判断 miR-15b 最佳截断值。采用双变量相关分析, 双变量均为正态分布, 采用 Pearson 相关, 双变量非正态分布, 则采用 Spearman 相关。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

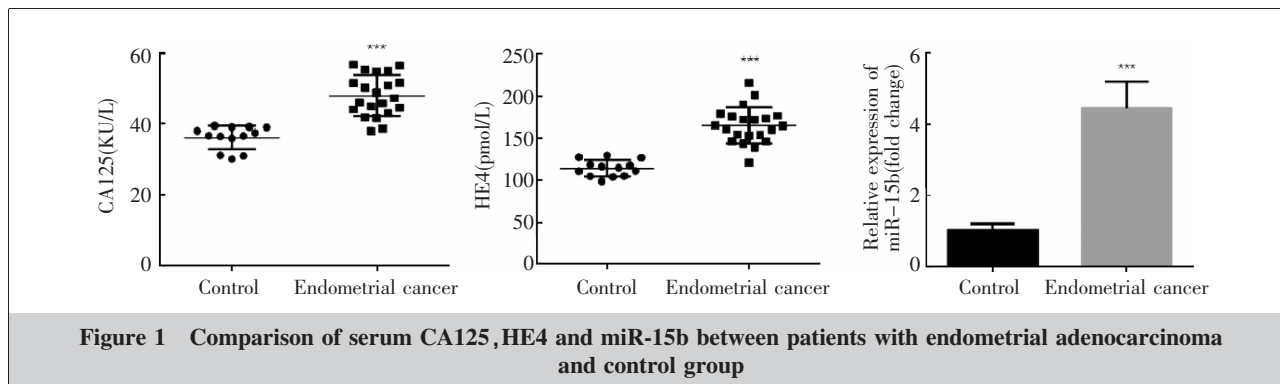
2 结果

2.1 子宫内膜腺癌与对照组血清成分比较

与对照组相比, 子宫内膜腺癌患者的血清中 CA125 (48.02±5.78KU/L)、HE4 (164.77±21.59)pmol/L 明显高于对照组 (CA125: 36.24±3.32KU/L; HE4: 113.98±9.77pmol/L), 差异有统计学意义 (P 均 < 0.01)。以对照组为基线, 子宫内膜腺癌患者血清中 miR-15b 约为对照组 4 倍 (4.45±0.76), 差异有统计学意义 ($t=19.87, P<0.001$) (Figure 1)。

2.2 CA125 与 HE4、HE4 与 miR-15b 相关性

CA125 与 HE4、HE4 与 miR-15b 呈一定的线性



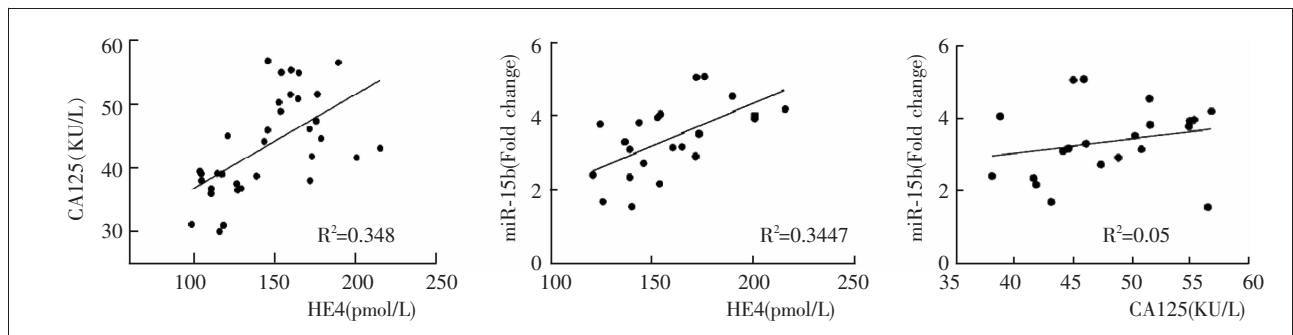


Figure 2 Correlation between CA125 and HE4, HE4 and miR-15b

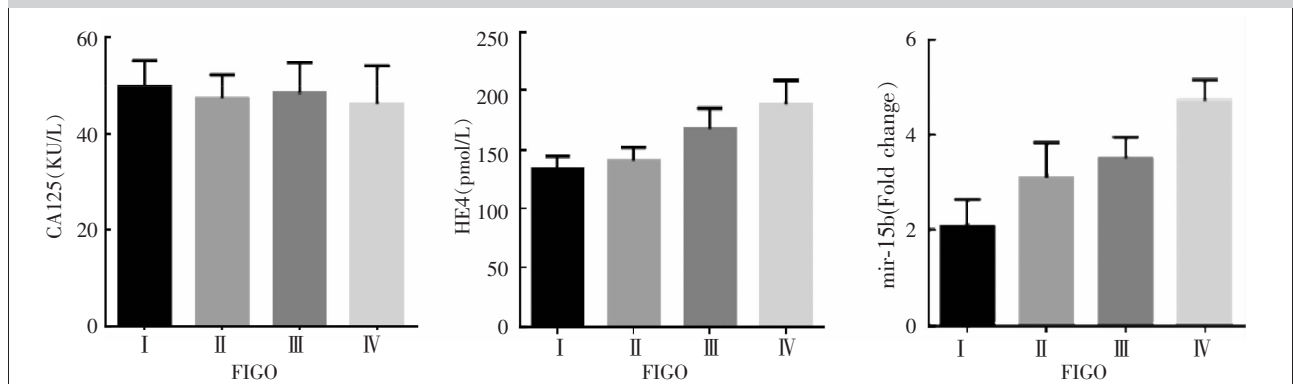


Figure 3 Serum CA125, HE4 and miR-15b in different stages of FIGO

相关,但是 CA125 与 miR-15b 之间无线性相关。如 Figure 2 所示,CA125 与 HE4 呈正相关 ($R^2=0.348$, $r=0.590$, $P<0.05$), HE4 与 miR-15b 之间呈正相关 ($R^2=0.3447$, $r=0.588$, $P<0.05$)。CA125 与 miR-15b 无统计学意义相关 ($R^2=0.05$, $P=0.3058$)。

2.3 血清 CA125、HE4 和 miR-15b 与 FIGO 病理分期

血清 CA125 含量在 FIGO 各期中无统计学差异 ($F=0.230$, $P=0.799$), HE4 在 FIGO 各期有统计学差异 ($F=9.149$, $P=0.009$), miR-15b 在 FIGO 各期中亦有统计学差异 ($F=10.079$, $P=0.007$) (Figure 3)。

2.4 ROC 分析 miR-15b 对子宫内膜腺癌的淋巴结转移最佳截断值

如 Figure 4 显示,当 miR-15b 高出 3 倍 (cut-off value=3),对淋巴结转移有较好预判,此时,ROC 曲线下面积 $AUC=0.8364$,敏感度为 90.91% (95%CI: 58.72%~99.77%),特异性为 60% (95%CI: 26.24%~87.84%)。

3 讨论

子宫内膜腺癌是子宫内膜癌常见肿瘤类型,根据国际妇产科联合会定义,Ⅰ级肿瘤几乎完全有腺体细胞构成,局限于宫体;Ⅱ级肿瘤则由 6%~50%实

体组织构成,侵犯宫颈,无宫体外蔓延;Ⅲ级则是肿瘤局部和(或)区域扩散;Ⅳ级则是累及膀胱和直肠黏膜,和(或)远处转移^[7]。尽管手术预后良好,但是基于 FIGO 分期的低级别肿瘤并不完全可靠^[8]。因此,尽快完善子宫内膜腺癌的临床特征评估指标尤为重要。

目前诊断方法主要是超声、MRI 和血清标志物。病理组织学检查依旧是子宫内膜癌的金标准。

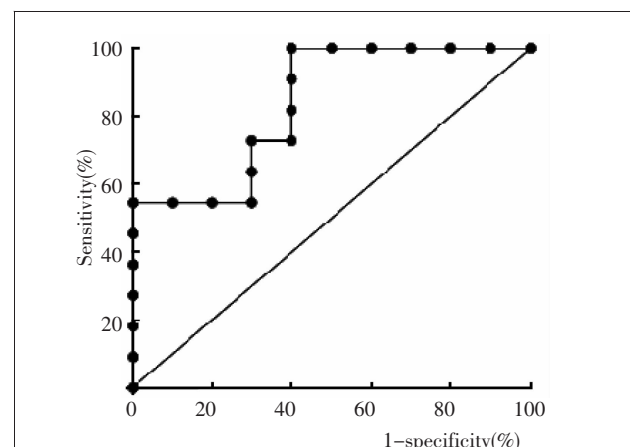


Figure 4 ROC analysis for the miR-15b in evaluating of lymph node metastasis

CA125, 作为子宫内膜癌血清标志物用于临床已经多年, 然而, 临床医生也逐渐意识到 CA125 在子宫内膜癌诊断预后方面存在较大误差。CA125 和 HE4 的联合应用, 显示出在子宫内膜癌的诊断方面有较大潜力^[9-10], 也不断发掘 CA125 与预后方面的联系, 例如与肿瘤级别、浸润深度、宫外转移等^[11]。以往研究证实 CA125 联合 HE4 在诊断方面价值更高^[12]。这与本研究结果一致, 子宫内膜腺癌患者的血清中 CA125 和 HE4 均高于对照组, 且两者存在正相关性。此外, 血清 miR-15b 在诊断子宫内膜腺癌显示出重要价值。

肿瘤患者血清 miRNAs 的标志物已经成为肿瘤领域的一个重要的研究方向。研究显示, 胞外游离的 miRNA 改变与许多肿瘤的病理和病程密切相关^[13,14]。基础研究证实, miR-205 能够负调控 PTEN 的表达, PTEN 在肿瘤抑制中发挥作用减弱, 那么过量表达 miR-205 会促进 BCL2 表达^[15], 抑制 TP53 表达, 进而抑制肿瘤细胞凋亡, 促进其增殖^[16]。在临床方面, 循环系统的 miRNAs 作为子宫内膜癌的非侵入性生物标志物, 已经证实高水平 miR-155 与癌症分期和淋巴结转移密切相关^[17]。亦有研究证实, miR-29b 表达降低与子宫内膜癌患者预后差相关^[18]。总而言之, 血清 miRNA 在子宫内膜癌的病程分期、临床结局以及肿瘤结局等均有着潜在的探索价值。本研究证实, 血清 miR-15b 与 HE4 结合对子宫内膜腺癌的精确诊断做出判断, 且在 FIGO 分期各组均能显示差异。同时, 根据 ROC 曲线分析, 诊断阈值为 3, 能用于判断该患者肿瘤在淋巴结转移的情况, 从而为患者手术切除范围提供一个参考依据。

综上所述, miR-15b 结合 HE4 用于早期非侵入性精准诊断子宫内膜癌有较高的价值, 也为进一步探索 miR-15b 的作用机制提供一个方向性思考。

参考文献:

- [1] Brooks RA, Fleming GF, Lastra RR, et al. Current recommendations and recent progress in endometrial cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(4):258-279.
- [2] Santaballa, Matías-Guiu AX, Redondo A, et al. SEOM clinical guidelines for endometrial cancer (2017)[J]. Clinical & Translational Oncology, 2018, 20(1):29-37.
- [3] Lax SF. New features in the 2014 WHO classification of uterine neoplasms[J]. Pathologie, 2016, 37(6):500-511.
- [4] Haldorsen IS, Salvesen HB. What is the best preoperative imaging for endometrial cancer?[J]. Current Oncology Reports, 2016, 18(4):25.
- [5] Wang L, Chen YJ, Xu K, et al. Circulating microRNAs as a fingerprint for endometrial endometrioid adenocarcinoma [J]. PLoS One, 2014, 9(10):e110767.
- [6] Sun Y, Gao Y, Song T, et al. MicroRNA-15b participates in the development of peripheral arterial disease by modulating the growth of vascular smooth muscle cells [J]. Exp Ther Med, 2019, 18(1):77-84.
- [7] Soslow RA, Tornos C, Park KJ, et al. Endometrial carcinoma diagnosis; use of FIGO grading and genomic subcategories in clinical practice; recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists [J]. Int J Gynecol Pathol, 2019, 38(Suppl 1):S64-S74.
- [8] Abdel Azim S, Sprung S, Mutz-Dehbalaie I, et al. L1CAM and HER2 expression in early endometrioid uterine cancer[J]. Int J Gynecol Pathol, 2017, 36(4):356-363.
- [9] Lu J, Zheng Z, Zhang Q, et al. Measurement of HE4 and CA125 and establishment of reference intervals for the ROMA index in the sera of pregnant women[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(5):e22368.
- [10] Ahmed AA, Abdou AM. Diagnostic accuracy of CA125 and HE4 in ovarian carcinoma patients and the effect of confounders on their serum levels[J]. Curr Probl Cancer, 2019, Jan 16.[Epub ahead of print]
- [11] Unsal M, Kimyon Comert G, Karalok A, et al. The preoperative serum CA125 can predict the lymph node metastasis in endometrioid-type endometrial cancer [J]. Ginek Pol, 2018, 89(11):599-606.
- [12] Xu XR, Wang X, Zhang H, et al. The clinical significance of the combined detection of serum Smac, HE4 and CA125 in endometriosis-associated ovarian cancer [J]. Cancer Biomark, 2018, 21(2):471-477.
- [13] Marcuello M, Vymetalkova V, Neves RPL, et al. Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer [J]. Mol Aspects Med, 2019 Jan 14.[Epub ahead of print]
- [14] Bellavia D, Salamanna F, Raimondi L, et al. Deregulated miRNAs in osteoporosis: effects in bone metastasis[J]. Cell Mol Life Sci, 2019 May 30.[Epub ahead of print]
- [15] Zhang X, Pan Y, Fu H, et al. microRNA-205 and microRNA-338-3p reduces cell apoptosis in prostate carcinoma tissue and LNCaP prostate carcinoma cells by directly targeting the B-Cell lymphoma 2 (Bcl-2) Gene [J]. Med Sci Monit, 2019, 25:1122-1132.
- [16] Zhang G, Hou X, Li Y, et al. MiR-205 inhibits cell apoptosis by targeting phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten in endometrial cancer ishikawa cells [J]. BMC Cancer, 2014, 14(1):440.
- [17] Chernyy V, Pustynnyak V, Kozlov V, et al. Increased expression of miR-155 and miR-222 is associated with lymph node positive status[J]. J Cancer, 2018, 9(1):135-140.
- [18] Wang H, Wang TT, Lv XP. Expression and prognostic value of miRNA-29b in peripheral blood for endometrial cancer[J]. Future Oncol, 2018, 14(14):1365-1376.