

· 循证医学 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.17.030

血液中 microRNA-21 对肺癌诊断价值的 Meta 分析

陈 劼

(湖北汉川仙女山医院检验科 431600)

[摘要] **目的** 通过 Meta 分析已报道文献中的微小 RNA-21 (microRNA-21, miR-21) 对肺癌的诊断价值,探讨血液中的 miR-21 对肺癌的诊断价值。**方法** 检索中国知网、维普、万方、PubMed 和 Embase 等数据库,按照已定的纳入和排出标准筛选文献。采用 Quadas 量表评估纳入文献质量。通过 Stata12 和 Meta-Disc 软件合并纳入文献的诊断值并检测评估异质性和发表偏倚。**结果** 共检出 994 篇相关文献,通过筛选,7 篇文献(含 1 088 例样本)纳入本次 Meta 分析。通过合并文献得出,miR-21 对肺癌的诊断灵敏度、特异度、阳性似然比、和阴性似然比分别为 0.68(95%CI:0.55~0.79),0.82(95%CI:0.76~0.86),3.70(95%CI:2.60~5.25)和 0.39(95%CI:0.27~0.58);综合诊断指标综合曲线下面积(SROC)和诊断比值比(DOR)分别为 0.84(95%CI:0.80~0.87)和 9.90(95%CI:4.75~20.63)。**结论** 目前研究证据表明,miR-21 对肺癌具有较好诊断价值,可作为肺癌诊断的潜在指标。

[关键词] 微 RNA-21; 肺肿瘤; 诊断, 鉴别; Meta 分析

[中图分类号] R446

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)17-2389-03

A Meta-analysis about the diagnosis value of microRNA-21 on lung cancer in patient serum

Chen Jie

(Department of Laboratory Medicine, Mount Fairy Hospital, Hanchuan, Hubei 431600, China)

[Abstract] **Objective** To explore the clinical diagnostic value of microRNA-21 in lung cancer through a Meta-analysis. **Methods** China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Technology of Chongqing (VIP), Wan Fang, PubMed and Embase databases were searched to identify studies in English and Chinese that assessed the diagnostic value of serum miR-21 for lung cancer. Two independent investigators identified and extracted the study characteristics from all articles according to defined inclusion and exclusion criteria. Quality assessment of diagnostic accuracy studies (QUADAS) was used to score the quality of the eligible studies. Stata12 and Meta-DiSc software were used to test the heterogeneity and to perform the Meta-analysis. **Results** Our search returned 994 articles, of which seven fulfilled the inclusion criteria, accounting for 588 patients and 500 controls. Using random-effect model analysis, the summary assessments revealed that the mean sensitivity was 0.68 (95%CI:0.55 to 0.79) and specificity was 0.82 (95%CI:0.76 to 0.86). The area under the receiver operating characteristic curve was 0.84 (95%CI:0.80 to 0.87). **Conclusion** The current evidence suggests that serum miR-21 have moderate sensitivity and specificity for lung cancer diagnostic, and can be a potential diagnostic marker for lung cancer.

[Key words] microRNA-21; lung neoplasms; diagnosis, differential; Metaanalysis

肺癌是全球常见的恶性肿瘤之一^[1],目前肺癌病死率约是 40 年前的 10 倍,已成为病死率最高的肿瘤性疾病,其中非小细胞肺癌的 5 年存活率只有 10%~15%^[2]。然而,对肺癌的诊断,目前尚缺乏理想的方法。随着人们对微小 RNA (microRNA, miR) 研究的深入,已有大量文献报道 miR-21 可作为肺癌诊断的标志物,但其诊断价值评估高低不一。本文拟对 miR-21 诊断肺癌的文献进行 Meta 分析,以明确其对肺癌是否具有潜在的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 检索策略 通过中文检索词“miR-21”或“microRNA-21”或“Hsa-mir-21”、肺癌、血液或血浆或血清,英文检索词 miR-21 or microRNA-21 or Hsa-mir-21、lung、cancer or carcinoma or tumor or neoplasm or cancers、serum or sera or serums or blood or plasma,于 2014 年 1 月 10 日检索中国知网、维普、万方、PubMed 和 Embase 等数据库,并对纳入文献及相关综述的参考文献进行检索,以防止漏检^[3]。限制检索文献语种为中文和英文,不限制文献发表时间。

1.2 文献的纳入排除标准 文献纳入标准:(1) 文献报道为血液中(包括血浆和血清)的 miR-21 对肺癌的诊断,而非其他体液或组织;(2) 肺癌诊断的金标准能够明确的区分出肺癌患者和非肺癌的参照者;(3) 有明确的阈值或 cut-off 值;(4) 能够从文献报道中直接获得或者计算出诊断性试验的四格表。排除标准:(1) 重复发表的文献,对于同一作者相近年份发表的文章,选取最新发表或病例数最多的一篇;(2) 不能得到阈值(cut-off 值)和诊断性试验四格表的文献,包括向通讯作者写信索取未果或不能通过文中数据推算的文献;(3) 小样本(小于 30 例)研究报告;(4) 排出动物试验、综述、系统评价和会议报道。

1.3 数据提取和文献质量评估 对可能符合标准的文献进行资料提取和质量评估。提取基本信息包括:标题、作者、发表年份、实验组和对照组病例数、灵敏度、特异度、RNA 检测的内参、RNA 提取试剂盒和检测探针。通过 Quadas 对纳入文献进行评估。

1.4 统计学处理 Stata12.0 和 Meta-DiSc 用于纳入文献诊

断值的合并,并通过 Spearman 模型、敏感度分析和 Meta 回归判断是否存在异质性及异质性的来源,Deek, Egger's, Bagg's 检验用于发表偏倚判断和评估,以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检索结果和纳入文献的一般情况 从数据库和相关参考文献中共检出 994 篇文献,通过筛选,有 7 篇文献(含 1 088 例样本)符合本次 Meta 分析的纳入标准,纳入流程图见图 1^[4-10]。纳入文献的基本信息和 Quadas 质量评估得分情况如表 1 所示。纳入文献的 588 例肺癌患者的确诊实验为组织切片病理学检测。miR-21 的检测方法均为 qRT-RCR,但不同文献所选的内参、RNA 提取试剂和探针不同,其中内参主要分为保守的内源性 miRNA(miRNA-16、small nuclear U6B RNA 和 miRNA SNORD68)和合成的非内源性 miRNA(Cel-miR-39)^[11]。Quadas 评估最高得分为 13 分,因未有文献描述金标准组织切片病理学检测和待评价试验(miR-21 的 qRT-RCR 试验检测)

的间隔时间,该时间间隔需足够短,以避免疾病病情变化引起检测结果的偏移。

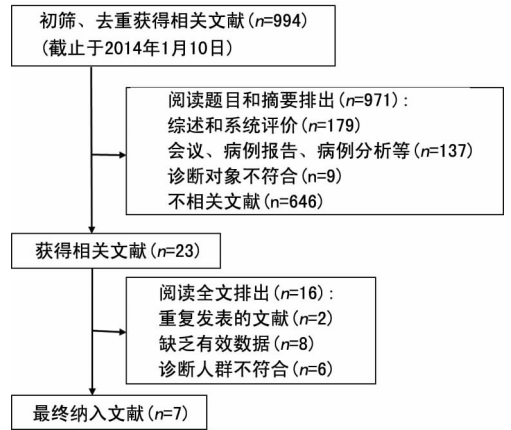


图 1 文献筛选流程图

表 1 纳入文献的基本信息和 QUADAS 质量评估得分情况

作者	时间(年)	阈值(2 ^{-ΔΔct})	Quadas 得分(分)	实验组/对照组(n)	灵敏度(%)	特异度(%)	检测方法	内参	提取 RNA 试剂	探针
Shen 等 ^[7]	2011	5.3941	12	108/142	61.03	67.92	qRT-RCR	miRNA-16	miRNA 提取试剂盒	TaqMan
Tang 等 ^[4]	2013	1.31 ^a	13	96/122	50	72	qRT-RCR	small nuclear U6B RNA	—	TaqMan
Wang 等 ^[10]	2012	3.63	13	31/30	87.1	74.4	qRT-RCR	miRNA-16	TRIzol	SYBR
Wei 等 ^[5]	2011	1.63	13	77/36	61.04	83.33	qRT-RCR	Cel-miR-39	miRNA 提取试剂盒	SYBR
Abd-El-Fattah 等 ^[6]	2013	2.441 ^b	13	65/37	85.7	86.5	qRT-RCR	miRNA SNORD68	miRNA 提取试剂盒	SYBR
Le 等 ^[8]	2012	1.68	13	82/50	46.3	92	qRT-RCR	miRNA-16	miRNA 提取试剂盒	TaqMan
张辉 ^[9]	2012	1.101	13	129/83	77.5	85.5	qRT-RCR	Cel-miR-39	TRIzol	SYBR

^a: 未标明 RT-qPCR 阈值所得的具体方法是 2^{-ΔΔct} 还是 Δct 法; ^b: RT-qPCR 阈值计算采用 Δct 法; —: 此项无数据。

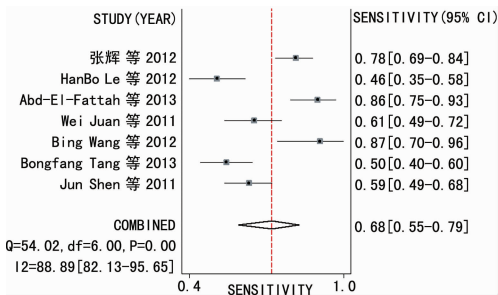


图 2 miR-21 诊断肺癌的灵敏度森林图

2.2 异质性分析和诊断价值的评估 合并 7 篇纳入文献的诊断值,灵敏度和特异度森林图及 I^2 (81.2%) 均表明存在异质性。Spearman 相关系数为 0.107 ($P=0.819$),表明该异质性并非由纳入文献的阈值效应引起;敏感度分析表明纳入文献没有明显的离群值存在;Meta 回归分析纳入文献中的 miR-21 检测方法的不同是否引起异质性,结果如表 1 所示,RT-qPCR 检测的关键因素内参 (RDOR=0.35, $P=0.4366$)、提取 RNA 试剂 (RDOR=0.81, $P=0.6777$) 和检测探针 (RDOR=9.08, $P=0.2437$) 的不同均不是该 Meta 分析异质性产生的原因,因此,应用随机效应模型合并纳入文献,以最大限度降低异质性

对结果的影响。通过合并得出,miR-21 对肺癌的诊断灵敏度为 0.68 (95% CI: 0.55~0.79),见图 2;特异度为 0.82 (95% CI: 0.76~0.86),见图 3,阳性似然比 3.70 (95% CI: 2.60~5.25) 和阴性似然比 0.39 (95% CI: 0.27~0.58),表明血液中的 miR-21 对肺癌有中度的诊断能力和较高的排出其他疾病的能力;综合曲线下面积 (SROC) 为 0.84 (95% CI: 0.80~0.87) 和诊断比值比 (DOR) 为 9.90 (95% CI: 4.75~20.63),见图 4;表明 miR-21 对肺癌有较好的诊断价值。

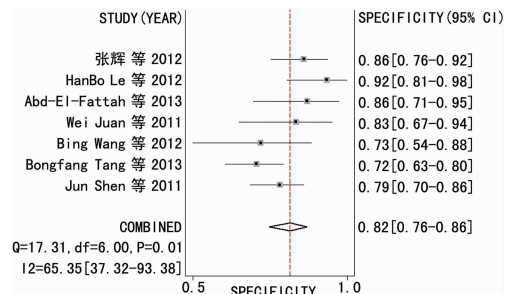


图 3 miR-21 诊断肺癌的特异度森林图

2.3 发表偏倚 Deek, Begg's 和 Egger's 检验评估纳入文献是否具有发表偏倚。Deek 检验 $P=0.227$, 纳入文献基本对

称;同时,Begg's 和 Egger's 检验结果分别为 $P=0.764$ 和 $P=0.446$,均表明本次 miR-21 对肺癌诊断价值的 Meta 分析纳入文献不存在发表偏倚。

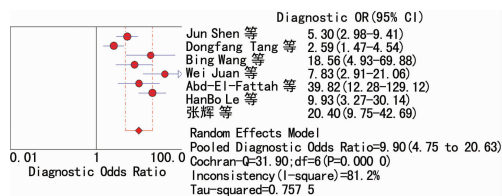


图 4 miR-21 诊断肺癌的 DOR

3 讨论

miR 是长度约为 19~25 bp 的非编码基因的大家族,在基因表达中起着调控作用,其表达量随肿瘤疾病的发生发展而变化,已有研究报道与多种肿瘤疾病相关,如肺癌^[12]、胃癌^[13]等。肿瘤相关 miR 在肿瘤疾病发生发展过程中稳定存在于血液中,因而可用于肿瘤疾病的诊断,其中是 miR-21 对肺癌疾病的诊断价值,已引起人们的广泛关注。目前已报道的 miR-21 对肺癌的诊断价值不一,需 Meta 分析整合已报道的结果,为进一步研究提供依据。

通过筛选,7 篇高质量的文献纳入本次 Meta 分析,Quadas 评分 12~13,因没有文献具体描述病理学检测与 qRT-PCR 检测血液中 miR-21 之间的时间间隔,从而忽略了可能会因病程进展引起检测结果偏移的情况。异质性是 Meta 分析能否进行资料合并的重要参考因素,阈值效应是诊断性 Meta 分析异质性的首要考虑因素,本文通过 Spearman 模型得其相关系数明确 7 篇文献的不同阈值不是引起异质性的原因;但可视化的森林图及 I^2 均表明异质性的存在,因此采用了敏感度分析和 Meta 回归分析判断引起异质性的可能原因。敏感度分析结果未发现离群结果;Meta 回归分析了方法设计因素的不同可能引起的异质性,结果如表 2 所示,方法设计的重要因素内参 ($P=0.436 6$)、提取 RNA 的不同试剂 ($P=0.677 7$)、探针的种类不同 ($P=0.243 7$) 均未引起异质性。因此,已存在的异质性来源不确定,最终采用随机效应模型合并 7 篇纳入文献诊断值,以最大限度消除异质性的影响。

总之,通过合并得出 miR-21 对肺癌的诊断价值指标:诊断灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比以及综合诊断价值的指标综合曲线下面积和诊断比值比均表明 miR-21 对肺癌有较好的诊断价值。在肺癌确诊尚无理想方案的情况下,可以考虑将 miR-21 作为一个参考指标。当然,在此之前,需要更多的研究以确定 miR-21 在肺癌发生发展中变化的机制,并尽可能标准化检测方案和参考范围。

参考文献

[1] Siegel R, Ma JM, Zou ZH, et al. Cancer statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1):9-29.
 [2] Ettinger DS, Akerley W, Borghaei H, et al. Non-small cell

lung cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2012, 10(10): 1236-1271.
 [3] Yang XR, Huang H, Zeng ZY, et al. Diagnostic value of bladder tumor fibronectin in patients with bladder tumor: a systematic review with Meta-analysis[J]. Clin Biochem, 2013, 46(15):1377-1382.
 [4] Tang D, Shen Y, Wang M, et al. Identification of plasma microRNAs as novel noninvasive biomarkers for early detection of lung cancer[J]. Eur J Cancer Prev, 2013, 22(6):540-548.
 [5] Wei J, Liu LK, Gao W, et al. Reduction of plasma MicroRNA-21 is associated with chemotherapeutic response in patients with non-small cell lung cancer[J]. Chin J Cancer Res, 2011, 23(2):123-128.
 [6] Abd-El-Fattah AA, Sadik N, Shaker OG, et al. Differential microRNAs expression in serum of patients with lung cancer, pulmonary tuberculosis, and pneumonia[J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 67(3):875-884.
 [7] Shen J, Liu ZL, Todd NW, et al. Diagnosis of lung cancer in individuals with solitary pulmonary nodules by plasma microRNA biomarkers[J]. BMC Cancer, 2011, 11(1): 374.
 [8] Le HB, Zhu WY, Chen DD, et al. Evaluation of dynamic change of serum miR-21 and miR-24 in pre-and post-operative lung carcinoma patients[J]. Med Oncol, 2012, 29(5):3190-3197.
 [9] 张辉. 血浆 miR-145、miR-20a、miR-21 和 miR-223 对 I 期和 II 期非小细胞肺癌诊断价值的研究[D]. 苏州:苏州大学, 2012.
 [10] Wang B, Zhang QY. The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(10):1659-1666.
 [11] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(30):10513-10518.
 [12] 张洪川,徐艳梅,周璞,等. 血浆检测 microRNA-125a-3p、IGF-2 在监测 NSCLC 侵袭转移中的价值[J]. 重庆医学, 2014, 43(14):1700-1702,1706.
 [13] 金锦莲,吴发明,周海燕,等. microRNA-219-2-3p 在胃癌中的表达及其作用机制初探[J]. 重庆医学, 2014, 43(14):1729-1731.

(收稿日期:2014-12-10 修回日期:2015-03-26)

参数与统计量

描述总体特征的数值为参数,通常是未知的,一般用希腊字母表示,如 μ, σ, π 等。描述样本特征的数值为统计量,是已知的或可计算获得的,用英文字母表述,如 S, P 等。从总体中随机抽样可获得样本,以样本为基础、通过统计推断(参数估计、假设检验)可获得对总体的认识。