

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.04.014

结直肠癌患者血清 miR-106b-5p 水平及临床意义*

邱敏¹,李森娟¹,凌怡庭¹,沈桂鑫¹,曹鸿峰²

(1.浙江省嘉兴市第二医院肛肠科 314000;2.浙江省人民医院肛肠外科,杭州 310013)

[摘要] **目的** 探讨结直肠癌患者血清 miR-106b-5p 水平及其与结直肠癌临床病理特点的关系。**方法** 选择浙江省嘉兴市第二医院肛肠科 2015 年 1 月至 2017 年 12 月收治的 60 例结直肠癌患者作为结直肠癌组,同期 60 例健康体检者作为对照组。收集两组患者的临床资料,采用荧光定量聚合酶链反应(PCR)法测定血清 miR-106b-5p 水平。**结果** 结肠癌组和直肠癌组血清 miR-106b-5p、癌胚抗原(CEA)水平高于对照组($P < 0.05$)。结肠癌组和直肠癌组患者术后血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平均低于术前($P < 0.05$)。结肠癌组和直肠癌组手术前后血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。血清 miR-106b-5p 诊断结直肠癌的 ROC 曲线下面积为 0.845,最佳诊断阈值为 2.08,敏感度为 83.7%,特异度为 82.1%。血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌临床分期、淋巴结转移、远处转移有关($P < 0.05$),临床分期 III~IV 期、有淋巴结转移、远处转移者血清 miR-106b-5p 水平高;血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌患者年龄、性别、肿瘤直径、分化程度、浸润深度、位置无显著相关性($P > 0.05$)。**结论** 结直肠癌患者血清 miR-106b-5p 水平升高,血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌的临床分期及转移有关。

[关键词] 结直肠肿瘤;血清;miR-106b-5p

[中图分类号] R735.3+5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)04-0604-04

Serum miR-106b-5p level in patients with colorectal cancer and its clinical significance*

QIU Min¹, LI Senjuan¹, LING Yiting¹, SHEN Guixin¹, Cao Hongfeng²

(1. Department of Anorectal Surgery, Jiaxing Municipal Second Hospital, Jiaxing, Zhejiang 314000, China; 2. Department of Anorectal Surgery, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310013, China)

[Abstract] **Objective** To explore serum miR-106b-5p level in the patients with colorectal cancer and its relationship with the clinicopathological features of colorectal cancer. **Methods** Sixty patients with colorectal cancer were selected as the colorectal cancer group, and 60 healthy subjects were selected as the control group in the anorectal surgery department of the Jiaxing Municipal Second Hospital from January 2015 to December 2017 were selected as the colorectal cancer group. Sixty individuals undergoing the physical examination served as the control group. The clinical data of the two groups were collected. The serum miR-106b-5p level was determined by adopting the fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR). **Results** The serum miR-106b-5p and CEA levels in the colon cancer group and rectal cancer group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The serum miR-106b-5p and CEA levels after surgery in the colon cancer group and rectal cancer group were lower than those before surgery ($P < 0.05$). There were no statistically significant difference in the serum miR-106b-5p and CEA levels before and after operation between the colon cancer group and the rectal cancer group ($P > 0.05$). The area under the ROC curve of serum miR-106b-5p for diagnosing colorectal cancer was 0.845, the optimal diagnostic threshold was 2.08, the sensitivity was 83.7%, and the specificity was 82.1%. The serum miR-106b-5p level was associated with the clinical stage, lymph node metastasis and distant metastasis of colorectal cancer ($P < 0.05$). The patients with clinical stage III-IV, lymph node metastasis and distant metastasis had high serum miR-106b-5p level; there were no significant correlation between serum miR-106b-5p level with the age, gender, tumor diameter, differentiation degree, depth of invasion

* 基金项目:2015 年浙江省医药卫生一般研究计划(2015KYA015)。 作者简介:邱敏(1982-),主治医师,本科,主要从事肛肠外科方面的工作。

and position in the patients with colorectal cancer ($P>0.05$). **Conclusion** Serum miR-106b-5p level is elevated in the patients with colorectal cancer, and serum miR-106b-5p level is associated with the clinical stage and metastasis of colorectal cancer.

[Key words] colorectal neoplasms; serum; miR-106b-5p

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,发病率和病死率居高不下,早期结直肠癌大多没有明显临床症状,多数患者发现时已为晚期,术后 5 年生存率较低^[1]。结直肠癌的早期诊断缺少灵敏度和特异度较高的指标^[2]。miR-106b 是 miR-106b-25 家族成员,在肾癌、食管癌等多种恶性肿瘤中高表达,具有调控肿瘤细胞生长、转化、侵袭、迁移等功能^[3-4],但其在结直肠癌中的意义尚不十分清楚。本文对结直肠癌患者血清 miR-106b-5p 水平及其意义进行研究,为临床提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择浙江省嘉兴市第二医院肛肠科 2015 年 1 月至 2017 年 12 月收治的 60 例结直肠癌患者作为结直肠癌组,同期 60 例健康体检者作为对照组。60 例结直肠癌患者均进行手术治疗,手术前后均进行 miR-106b-5p 水平测定。纳入标准:结直肠癌患者均为行首次手术治疗,术前未进行放疗等其他治疗的初诊患者,均经病理学明确诊断为结直肠癌;对照组身体健康,无恶性肿瘤病史。排除标准:糖尿病、高血压、肝肾疾病、心脑血管疾病等慢性病史者,严重烟酒嗜好者。结直肠癌组结肠癌 24 例,直肠癌 36 例;肿瘤位于左半结肠 45 例,右半结肠 15 例;患者年龄(59.32 ± 4.35)岁;男 42 例,女 18 例;肿瘤直径小于或等于 5 cm 者 26 例,肿瘤直径大于 5 cm 者 34 例;临床分期:Ⅰ期 12 例,Ⅱ期 21 例,Ⅲ期 25 例,Ⅳ期 2 例;高分化 25 例,中分化 21 例,低分化 14 例;淋巴结转移 22 例;远处转移 5 例;浸润深度:T1 12 例,T2 14 例,T3 16 例,T4 18 例。对照组患者年龄(59.45 ± 4.16)岁;男 38 例,女 22 例,结直肠癌组和对照组年龄、性别比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 主要试剂 引物由上海欧易生物医学科技有限公司设计合成,实时荧光聚合酶链反应(PCR)仪器及相关试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.3 方法 收集患者性别、年龄、临床病理特点及血清癌胚抗原(CEA)水平等临床资料。对照组患者体检当日清晨抽取外周静脉血 4 mL,结直肠癌患者抽取术前及术后 1 周外周静脉血 4 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,提取血清中总 RNA,采用反转录试剂盒将 RNA 反转录合成 cDNA,反转录反应条件为 37 °C 60 min,95 °C 5 min,以 cDNA 为模板,采用荧光定量 PCR 法测定血清 miR-106b-5p 水平,miR-106b-

5p 引物序列为 5'-AAA GUG CUG ACA GUG CAG-3'。反应条件为 95 °C 3 min,95 °C 10 s,60 °C 30 s,共 50 个循环,选 U6 为内参基因,U6 snRNA 引物序列为 5'-TTC GTG AAG CGT TCC ATA TTT T-3'。血清 miR-106b-5p 相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平比较 结肠癌组和直肠癌组血清 miR-106b-5p、CEA 水平高于对照组($P<0.05$),结肠癌组和直肠癌组血清 miR-106b-5p、CEA 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 各组患者血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-106b-5p 相对表达量	CEA(ng/mL)
结肠癌组	24	3.64±0.63	13.24±3.64
直肠癌组	36	3.58±0.47	12.73±3.41
对照组	60	1.08±0.22 ^{ab}	1.98±0.51 ^{ab}
<i>F</i>		567.230	289.933
<i>P</i>		<0.01	<0.01

^a: $P<0.05$,与结肠癌组比较;^b: $P<0.05$,与直肠癌组比较

2.2 结肠癌组和直肠癌组患者手术前后血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平比较 结肠癌组和直肠癌组患者手术后血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平均低于手术前($P<0.05$)。结肠癌组和直肠癌组之间手术前后血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.3 血清 miR-106b-5p 诊断结直肠癌的 ROC 曲线分析 血清 miR-106b-5p 诊断结直肠癌的 ROC 曲线下面积为 0.845(95%CI:0.771~0.954; $P<0.01$),血清 miR-106b-5p 对结直肠癌的最佳诊断阈值为 2.08,敏感度为 83.7%,特异度为 82.1%,见图 1。

2.4 血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌临床病理特点的关系 血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌临床分期、淋巴结转移、远处转移有关($P<0.05$),临床分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移、远处转移者血清 miR-106b-5p 水平高;血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌患者年龄、性别、肿瘤直径、分化程度、浸润深度、位置无显著相关性($P>0.05$),见表 3。

表 2 结肠癌组和直肠癌组患者手术前后血清 miR-106b-5p 和 CEA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

时间	miR-106b-5p				CEA(ng/mL)			
	结肠癌组(n=24)	直肠癌组(n=36)	t	P	结肠癌组(n=24)	直肠癌组(n=36)	t	P
手术前	3.64±0.63	3.58±0.47	0.422	0.675	13.24±3.64	12.73±3.41	0.552	0.583
手术后	1.53±0.36	1.61±0.42	0.706	0.483	2.15±0.74	2.22±0.81	0.339	0.736
t	14.246	17.783			14.627	17.992		
P	<0.01	<0.01			<0.01	<0.01		

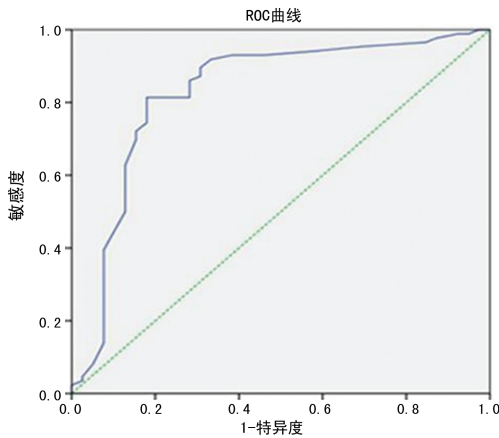


图 1 血清 miR-106b-5p 诊断结直肠癌的 ROC 曲线

表 3 血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌临床病理特点的关系

项目	n	miR-106b-5p 相对表达量	t	P
年龄(岁)			1.007	0.318
≤60	39	3.53±0.51		
>60	21	3.68±0.62		
性别			0.416	0.679
男	42	3.66±0.62		
女	18	3.59±0.54		
肿瘤直径(cm)			0.862	0.392
≤5	26	3.57±0.64		
>5	34	3.71±0.61		
临床分期			6.274	<0.01
I~II	33	3.12±0.56		
III~IV	27	4.19±0.76		
分化程度			0.762	0.449
高	25	3.55±0.69		
中、低	35	3.69±0.71		
淋巴结转移			9.466	<0.01
是	22	4.41±0.74		
否	38	2.92±0.48		
远处转移			8.304	<0.01
是	5	4.58±0.61		
否	55	2.82±0.44		
浸润深度			1.016	0.314

续表 3 血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌临床病理特点的关系

肿瘤类型	n	血清 miR-106b-5p 水平	t	P
T1~T2	26	3.54±0.52		
T3~T4	34	3.69±0.60		
肿瘤类型			0.422	0.675
结肠癌	24	3.64±0.63		
直肠癌	36	3.58±0.47		
肿瘤位置			0.696	0.489
左半	45	3.56±0.51		
右半	15	3.67±0.59		

3 讨论

随着生活水平的提高,结直肠癌的发病率有上升趋势,尽管结直肠癌的手术技术不断提高、治疗方法不断进步,仍有不少结直肠癌患者转移和复发,严重影响患者预后,因此寻找结直肠癌有效的早期诊断指标具有重要意义^[5]。血清癌胚抗原水平是最早发现的结直肠癌患者的血清标志物,但癌胚抗原特异性比较低,在多数恶性肿瘤中具有不同程度升高,对结直肠癌的诊断价值不大,因此寻找敏感度和特异度比较高的结直肠癌诊断标志物是提高结直肠癌早期诊断水平的重要手段之一^[6-7]。近年来,随着对 miRNA 研究的深入,发现循环血中 miRNA 在结直肠癌的早期诊断及预后评估等方面具有重要作用^[8-9]。

miR-106b 位于人类 7q22 染色体上,可与靶 mRNA 的 3'非翻译区结合,通过抑制 mRNA 翻译或诱导 mRNA 降解调节基因表达^[10-11];miR-106b 在多种肿瘤中表达水平升高,和恶性肿瘤的细胞生存、肿瘤生长、新生血管生成等关系密切^[12-14],如刘俊丽等^[15]研究发现鼻咽癌组织中 miR-106b 水平高表达,与鼻咽癌病灶内细胞周期和侵袭关系密切;肖长艳等^[16]研究发现 miR-106b 在食管鳞癌中呈高表达,与食管鳞癌的淋巴结转移和不良预后关系密切,可作为食管鳞癌诊断和预后的标志物;邵琳等^[17]研究发现 miR-106b 在卵巢浆液性癌组织中高表达,miR-106b 在卵巢浆液性癌的发生发展中具有重要作用,可促进卵巢癌细胞的增殖和侵袭。上述研究表明 miR-106b 在多种恶性肿瘤中高表达。miR-106b 可通过与其靶基因结合

调控细胞的增殖、分化及凋亡等过程,如桂连等^[18]研究发现 miR-106b 可通过调控胰岛素分泌细胞(IPCs)诱导分化过程中 Ngn3 的表达;史文博等^[19]研究发现 miR-106b 可通过靶向调节 BTG3 的表达调控非小细胞肺癌细胞的增殖和凋亡。结直肠癌为常见的消化道恶性肿瘤,miR-106b 与结直肠癌的关系如何尚不十分清楚,本文对结直肠癌患者血清 miR-106b-5p 水平进行研究,发现结直肠癌患者血清 miR-106b-5p 水平升高,结直肠癌患者治疗后血清 miR-106b-5p 水平下降;血清 miR-106b-5p 诊断结直肠癌的 ROC 曲线下面积为 0.845,敏感度为 83.7%,特异度为 82.1%;血清 miR-106b-5p 水平与结直肠癌的临床分期和转移关系密切。miR-106b-5p 水平与结直肠癌的临床分期和转移关系密切,考虑可能为 miR-106b-5p 与其相关的靶基因结合调控结直肠癌细胞的增殖、凋亡、侵袭,从而在结直肠癌的临床分期和转移中发挥重要作用。至于 miR-106b-5p 通过与哪种靶基因结合调控结直肠癌细胞生长和侵袭,以及通过哪种途径参与结直肠癌细胞的生长和侵袭过程尚需今后在体内外细胞实验中深入研究。

综上所述,miR-106b-5p 参与结直肠癌的发生发展,miR-106b-5p 有望成为结直肠癌早期诊断的标志物。

参考文献

- [1] HARALDSDOTTIR S, EINARSDOTTIR H M, SMARADOTTIR A, et al. Colorectal cancer-review[J]. Laeknabladid, 2014, 100(2): 75-82.
- [2] FAKIH M G. Metastatic colorectal cancer; current state and future directions[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(16): 1809-1824.
- [3] ZHENG R H, PAN L X, GAO J, et al. Prognostic value of miR-106b-5p expression in breast cancer patients[J]. J Surg Res, 2015, 195(1): 158-165.
- [4] 胡悦东. 甲状腺癌中 miR-106b-5p 负性调控 FAM129A 基因表达的作用及机制[J]. 解剖科学进展, 2016, 22(3): 328-330.
- [5] SAGAERT X. Prognostic biomarkers in colorectal cancer: where do we stand? [J]. Virchows Arch, 2014, 464(3): 379-391.
- [6] YA G, WANG H J, MA Y, et al. Serum miR-129 functions as a biomarker for colorectal cancer by targeting estrogen receptor (ER) β [J]. Pharmazie, 2017, 72(2): 107-112.
- [7] O'BRIEN S J, CARTER J V, BURTON J F, et al. The role of the miR-200 family in epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer; a systematic review[J]. Intern J Cancer, 2018, 142(12): 2501-2511.
- [8] WANG X K, WU X D. The role of MicroRNA-1207-5p in colorectal cancer[J]. Clin Lab, 2017, 63(11): 1875-1882.
- [9] THOMAS J, OHTSUKA M, PICHLER M, et al. MicroRNAs; clinical relevance in colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(12): 28063-28076.
- [10] NI X J, XIA T S, ZHAO Y C, et al. Downregulation of miR-106b-5p induced breast cancer cell invasion and motility in association with overexpression of matrix metalloproteinase 2[J]. Cancer Sci, 2014, 105(1): 18-25.
- [11] ZENG Q G, JIN C H, CHEN W H, et al. Downregulation of serum miR-17 and miR-106b-5p levels in gastric cancer and benign gastric diseases[J]. Chinese J Cancer Res, 2014, 26(6): 711-716.
- [12] 陶令之, 李一帆, 金露, 等. MicroRNA-106b 在肾细胞癌中的表达及临床意义[J]. 临床泌尿外科杂志, 2015, 30(10): 888-892.
- [13] YEN C S, SU Z R, LEE Y P, et al. miR-106b-5p promotes cancer progression in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(22): 5183-5192.
- [14] ZHANG R P, GUO Y, MA Z C, et al. Long non-coding RNA PTENP1 functions as a ceRNA to modulate PTEN level by decoying miR-106b-5p and miR-93 in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(16): 26079-26089.
- [15] 刘俊丽, 蔡晓. 鼻咽癌中 miR-106b-5p 与病灶内细胞周期进程、细胞的侵袭的相关性[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(11): 1124-1127.
- [16] 肖长艳, 郭子健, 曹磊, 等. miR-106b-5p 表达与食管鳞状细胞癌的关系[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(12): 1667-1671.
- [17] 邵琳, 原银萍. miR-106b-5p 在卵巢浆液性癌发生发展中的作用[J]. 现代妇产科进展, 2015, 24(9): 685-687.
- [18] 桂连, 张倩倩, 蔡燕, 等. miR-106b 及 EZH2 对 HepG2 细胞生长的影响及机制[J]. 热带医学杂志, 2017, 17(10): 1279-1284.
- [19] 史文博, 王雪, 陈智伟. MiR-106b 通过靶向 BTG3 调控非小细胞肺癌的增殖与细胞凋亡[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(4): 431-436.

(收稿日期: 2018-09-14 修回日期: 2018-12-04)