

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.22.018

## 血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平检测 在诊断子宫腺肌病中的应用

陈新元, 黄 胜, 王同利

(浙江省温州市中心医院检验科 325000)

**[摘要]** **目的** 探讨血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平检测在诊断子宫腺肌病中的应用。

**方法** 将 2017 年 2 月至 2018 年 2 月该院收治的子宫腺肌病患者 216 例纳入观察组,同时招募同时间于该院体检的 60 名健康者作对照组。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测所有受试者血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平,采用子宫肌瘤症状及健康相关生活质量问卷(UFS-QOL),对子宫腺肌患者痛经现象进行疼痛程度评分,应用受试者工作曲线(ROC 曲线)判断血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平对子宫腺肌病的诊断效能,分析血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平与患者痛经程度的关系。**结果** 与对照组比较,观察组血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平均显著升高( $P < 0.05$ );血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平与痛经程度呈正相关( $r = 0.57, 0.64, P = 0.032, 0.014$ );hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 的 AUC 分别为 0.866(95%CI:0.820~0.911),0.920(95%CI:0.886~0.954)。**结论** 血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平对于子宫腺肌病有一定的诊断效能,可作为其潜在血清标记物。

**[关键词]** hsa-miR-22-3p; hsa-miR-103a-3p; 子宫腺肌病; 诊断

**[中图分类号]** R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)22-3852-04

### Application of detection of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p levels in diagnosis of adenomyosis

CHEN Xinyuan, HUANG Sheng, WANG Tongli

(Department of Clinical Laboratory, Wenzhou Municipal Central Hospital,  
Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the application of the detection for serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p levels in the diagnosis of adenomyosis. **Methods** A total of 216 patients with adenomyosis admitted to the hospital from February 2017 to February 2018 were included in the observation group. Meanwhile 60 subjects undergoing the healthy physical examination in the hospital were recruited as the control group. The quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was adopted to detect the levels of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p in all subjects. The Uterine Fibroid Symptom and Health-Related Quality of Life (UFS-QOL) was adopted to score the pain degree of dysmenorrhea phenomenon in the patients with adenomyosis. The receiver operating characteristic(ROC) curve was used to judge the diagnostic efficiency of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p levels for adenomyosis. The relationship of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p levels with dysmenorrhea degree was analyzed. **Results** Compared with the control group, levels of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p in the observation group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). The levels of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p were positively correlated with the dysmenorrhea degree. The area under the curve(AUC) of hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p were 0.866 (95%CI: 0.820—0.911) and 0.920 (95%CI:0.886—0.954), respectively. **Conclusion** The level of serum hsa-miR-22-3p and hsa-miR-103a-3p has a certain diagnostic efficiency for adenomyosis, and can be used as potential serum markers.

**[Key words]** hsa-miR-22-3p; hsa-miR-103a-3p; adenomyosis; diagnosis

子宫腺肌病是由于子宫内膜腺体、间质等侵入子宫肌层导致的,是 30~50 岁经产妇的常见疾病类型,虽然子宫腺肌病不会导致患者死亡,但患病过程中会有不同程度的痛经,严重影响患者生理及心理健康<sup>[1]</sup>。临床上子宫腺肌病的诊断主要依赖于超声、CT 等影像学检测手段,但上述方法均存在一定的局限性,且子宫腺肌病常被误诊为子宫肌瘤,仍需要手术后病理检测确诊。因此,寻求早期、灵敏、高效的血清标记物应用于临床检测,对于子宫腺肌患者有十分重大的意义<sup>[2]</sup>。近几年,随着血清 miRNA 的研究发展,发现血清 miRNA 可用于分子诊断<sup>[3]</sup>,本研究旨在评估血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平检测在子宫腺肌病中的诊断效能,并分析血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平与痛经程度的关系,现报道如下。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 将 2017 年 2 月至 2018 年 2 月本院收治的子宫腺肌病患者 216 例纳入观察组,同时招募同时间于本院体检的 60 名健康者作对照组。观察组年龄 35~49 岁,平均(43.62±9.41)岁;体质量指数(21.56±2.37)kg/m<sup>2</sup>;孕次(1.69±0.52)次;月经周期(30.54±3.62)d。对照组年龄 34~50 岁,平均(42.74±10.21)岁,体质量指数(22.17±2.69)kg/m<sup>2</sup>;孕次(2.15±0.68)次;月经周期(29.75±4.16)d。两组受试者一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经本院伦理委员会审核批准。

**1.2 纳入标准与排除标准** 纳入标准:子宫肌腺患者术后经病理检测确诊;年龄大于或等于 30 岁;依从性好;签署知情同意书;对照组受试者身体健康,实验室检查各项指标均正常。排除标准:心、肝、肾等器质性病变;严重感染;合并糖尿病、甲状腺功能亢进等内分泌疾病;先天性免疫疾病;血液系统疾病;就诊前接受抗感染治疗、激素治疗;精神障碍。

**1.3 试剂与仪器** Trizol 试剂购买于日本 Takara 公司,逆转率试剂盒、荧光染料 SYBR Green Mix、荧光定量 PCR 试剂盒购买于美国 Sigma 公司,PCR 引物由苏州金唯智生物科技有限公司提供,荧光定量 PCR 仪购买于美国 BioRad 公司。

**1.4 qRT-PCR 检测血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平** 于清晨空腹抽血 5 mL,收集上层血清,采用 Trizol 试剂盒提取血清中总 RNA,经逆转率为 cDNA 模板,采用实时荧光定量 PCR 仪扩增血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p。程序设置条件为:95 °C 预变性 90 s,95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 20 s,共 40 个循环。采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法进行半

定量分析,以 GAPDH 为内参,计算 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 的表达,其引物序列<sup>[4-5]</sup>见表 1。上述检验均由金域医学检验中心检测完成。

表 1 引物序列表

基因	引物序列
U6	上游:5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3'
	下游:5'-AAC GCT TCA CGA AT TTG CGT-3'
hsa-miR-22-3p	上游:5'-ATT CAG CCA GTC TCC ACG TGA-3'
	下游:5'-GCT TCC AGT GAT ACG GCC TGT AAC G-3'
hsa-miR-103a-3p	上游:5'-GGG AGC AGC ATT GTA CAG GG-3'
	下游:5'-CAG TGC GTG TCG TGG AGT-3'

**1.5 方法** 比较两组受试者血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 的表达,分析 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 表达与子宫腺肌患者临床病理参数的关系,并观察 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 诊断子宫腺肌病的诊断效能。

**1.6 痛经评分** 参照子宫肌瘤症状及健康相关生活质量问卷(UFS-QOL)<sup>[6]</sup>,对子宫腺肌患者痛经现象进行疼痛程度评分,分值 1~5 分,完全不痛计为 1 分,偶尔痛计为 2 分,比较痛、偶尔口服药物计为 3 分,非常痛、经常口服药物计为 4 分,极度痛计为 5 分。

**1.7 统计学处理** 采用 SPSS21.0 统计学软件进行分析。计数资料用率表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用  $t$  检验;采用受试者工作曲线(ROC 曲线)分析诊断效能,采用 Pearson 进行相关性描述,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 两组血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 表达的比较** 与对照组比较,子宫肌腺患者血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 的表达均显著增高( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 两组血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 表达的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	hsa-miR-22-3p	hsa-miR-103a-3p
对照组	60	0.70±0.34	1.80±0.51
观察组	216	1.35±0.48	3.22±0.89
<i>t</i>		7.246	9.078
<i>P</i>		0.000	0.000

**2.2 血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平诊断子宫腺肌的临床价值** ROC 曲线如图 1 所示,血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平可有效区分分子

子宫腺肌患者和健康者,当血清 hsa-miR-22-3p/U6  $\geq 1.17$  时,诊断子宫腺肌的灵敏度为 93.3%,特异度为 64.8% ( $P < 0.05$ );当血清 hsa-miR-103a-3p/U6  $\geq 2.46$  时,诊断子宫腺肌的灵敏度为 93.3%,特异度为 77.8% ( $P < 0.05$ )。见表 3。

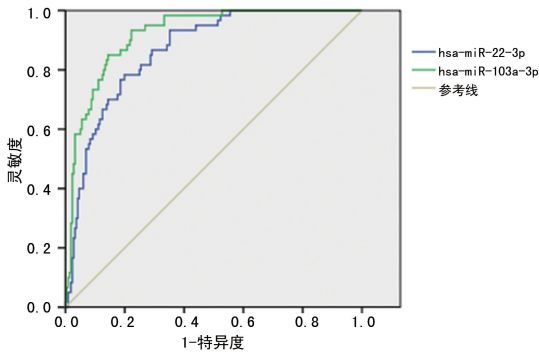


图 1 血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平对子宫腺肌诊断的 ROC 曲线分析

表 3 ROC 效能评价

指标	AUC	灵敏度	特异度	95%CI
hsa-miR-22-3p	0.866	93.3%	64.8%	0.820~0.911
hsa-miR-103a-3p	0.920	93.3%	77.8%	0.886~0.954

**2.3 血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平与痛经程度的相关性分析** Pearson 相关分析显示,血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平分别与子宫腺肌患者痛经程度呈正相关,相关系数为  $r = 0.57$ 、 $0.64$ ,  $P = 0.032$ 、 $0.014$ 。

### 3 讨论

子宫腺肌病病理变化表现为子宫内膜腺体、间质的移位,且伴随着周围细胞的增殖<sup>[7]</sup>。子宫腺肌病多发于产后、人工流产后,具体发病机制尚不明确;临床表现继发性痛经,月经过多,慢性盆腔痛等,多采用保守性治疗,但其复发率极高,手术切除子宫仍是最有效的根治手段,但对于仍有生育需求的女性来说是不能接受的<sup>[8]</sup>。但子宫腺肌病早期并无明显的病症,确诊时病情已经开始进展,因此早期诊断子宫腺肌意义重大<sup>[9]</sup>。目前主要应用影像学检测诊断子宫腺肌病,但仍有一定的漏诊、误诊概率<sup>[10]</sup>。因此,开发检测灵敏度、特异度高的子宫腺肌标志物,辅助其他诊断方法提高子宫腺肌病的确诊率成为研究热点。

mi RNAs 是一类内源基因编码的小分子非编码单链 RNA 分子,大多数以单拷贝、多拷贝或基因簇的形式存在于基因组中,参与调节体内多种基因<sup>[11]</sup>。mi RNAs 广泛存在于人体血清及组织中,其序列具有高度的保守性,据报道,mi RNAs 介导多种分子途径参与肿瘤的发生、发展过程,且不同的肿瘤类型其表

达谱不同<sup>[12-13]</sup>,故 mi RNAs 的不同表达可能对疾病的病理表征有一定的区分作用,此外,血清 mi RNAs 适用于常规检测,有成为血清标志物的潜能。研究发现,mi RNA 可能参与子宫内膜异位症的发生、发展,子宫内膜异位症是指子宫内膜组织种植与子宫内膜以外的位置<sup>[14]</sup>。尽管子宫腺肌病和子宫内膜异位症是两种不同的妇科疾病,但二者在主要症状和病理机制等方面有相似之处,但 mi RNAs 与子宫腺肌病的相关研究鲜少报道,故本研究拟探究血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平检测在诊断子宫腺肌病中的应用。

研究表明,血清中检测到的 mi RNA 有两种来源:一种是直接由细胞分泌的,另一种是机体选择性包裹 mi RNA 在外泌体、微小体等膜性结构中,运输至胞外后进入血液循环,提示细胞生长的不同阶段会分泌不同的 mi RNA,可能产生不同的功能和作用<sup>[15]</sup>。血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平应用于子宫腺肌病诊断研究较少,但在其他疾病中研究较多。孙月玲等<sup>[16]</sup>研究显示外周血 miR-22-3p 在重症急性胰腺炎患者中呈高表达,其诊断重症急性胰腺炎的 AUC 为 0.729,灵敏度为 57.41%,特异度为 83.70%,且与重症急性胰腺炎的 CT 分级、胸水情况等病理参数有关。张亚珍等<sup>[17]</sup>研究显示 miR-103a-3p 在乳腺癌组织和血清中呈低表达,可能通过调控 PDK4 下调机体糖酵解过程,从而抑制乳腺癌细胞的增殖。

本研究通过实时荧光定量 PCR 检测子宫腺肌患者与健康者血清中 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平,发现子宫腺肌患者血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平显著高于健康者,表明 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 可能参与调控子宫腺肌病的发生、发展。ROC 曲线显示,hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 对子宫腺肌病诊断的 AUC 分别为 0.866、0.920,表明通过检测血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平可以有效区分子宫腺肌患者和健康者,能较准确的诊断,且 hsa-miR-103a-3p 的诊断价值更高,与徐爱云等<sup>[18]</sup>报道一致。80%的子宫腺肌患者均存在痛经的症状,本研究通过 Pearson 相关分析显示,血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平分别与子宫腺肌患者痛经程度呈正相关,表明血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 水平还可一定程度上预测子宫腺肌病的严重程度。然而 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 参与子宫腺肌病的发生、发展的具体分子机制还有待研究。

综上所述,血清 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p

在子宫腺肌患者血清中高表达,且对子宫腺肌病有较高的诊断价值,且与子宫腺肌患者痛经程度呈正相关,可作为子宫腺肌病潜在的血清标志物,应用于子宫腺肌病的早期诊断。后期还需要扩大样本量作进一步验证,此外,还可继续探讨 hsa-miR-22-3p、hsa-miR-103a-3p 参与子宫腺肌病的发生、发展过程的分子途径,使得研究结果更加完善。

## 参考文献

- [1] AGOSTINHO L, CRUZ R, OSÀRIO F, et al. MRI for adenomyosis: a pictorial review[J]. *Insights Imag*, 2017, 8(6): 549-556.
- [2] 刘伟伟, 张路平, 闫晓静, 等. 腔内超声及超声弹性成像鉴别诊断子宫肌瘤与子宫腺肌瘤[J]. *中国超声医学杂志*, 2017, 33(11): 1010-1012.
- [3] HUANG Q, WANG C J, HOU Z M, et al. Serum microRNA-376 family as diagnostic and prognostic markers in human gliomas[J]. *Cancer Biomark*, 2017, 19(2): 137-144.
- [4] DONG H X, WANG R, JIN X Y, et al. LncRNA DGCR5 promotes lung adenocarcinoma (LUAD) progression via inhibiting hsa-mir-22-3p[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 4126-4136.
- [5] FASIHI A, M SOLTANI B, ATASHI A, et al. Introduction of hsa-miR-103a and hsa-miR-1827 and hsa-miR-137 as new regulators of Wnt signaling pathway and their relation to colorectal carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 5104-5117.
- [6] 王慧玲, 秦瑞英, 王世进, 等. 海扶刀与子宫切除术治疗子宫肌瘤疗效比较[J]. *重庆医学*, 2015, 44(15): 2060-2061, 2064.
- [7] NIE J, LIU X. Quercetin alleviates generalized hyperalgesia in mice with induced adenomyosis[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 5370-5376.
- [8] 郎景和. 子宫腺肌病的若干问题[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(2): 129-133.
- [9] AN M, LI D, YUAN M, et al. Interaction of macrophages and endometrial cells induces epithelial-mesenchymal transition-like processes in adenomyosis[J]. *Biol Reprod*, 2017, 96(1): 46-57.
- [10] 潘宁宁, 马彩虹, 宋雪凌, 等. 宫腔镜在子宫腺肌病合并不孕妇女子宫内膜病变诊断中的价值[J]. *中国微创外科杂志*, 2017, 17(5): 385-387, 392.
- [11] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-221.
- [12] TIAN X, ZHANG G W, ZHAO H, et al. Long non-coding RNA NEAT1 contributes to docetaxel resistance of prostate cancer through inducing RET expression by sponging miR-34a[J]. *RSC Adv*, 2017, 7(68): 42986-42996.
- [13] QIAO D D, YANG J, LEI X F, et al. Expression of microRNA-122 and microRNA-22 in HBV-related liver cancer and the correlation with clinical features[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(4): 742-747.
- [14] CHO S, MUTLU L, GRECHUKHINA O, et al. Circulating microRNAs as potential biomarkers for endometriosis[J]. *Fertil Steril*, 2015, 103(5): 1252-1260.
- [15] ZHU J J, LIU Y F, ZHANG Y P, et al. VAMP3 and SNAP23 mediate the disturbed flow-induced endothelial microRNA secretion and smooth muscle hyperplasia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(31): 8271-8276.
- [16] 孙月玲, 关万涛, 邓武兴, 等. 重症急性胰腺炎患者外周血 miR-22-3p 和 miR-324-5p 水平及其对重症急性胰腺炎相关性急性肺损伤的诊断价值分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(15): 35-39.
- [17] 张亚珍, 何贵省, 吴晓明, 等. miR-103a-3p 在乳腺癌组织和血清中的表达及通过下调 PDK4 抑制乳腺癌细胞的有氧糖酵解及增殖[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(5): 56-62.
- [18] 徐爱云, 桂涛, 黄美华, 等. 血清 microRNAs 作为生物标志物用于子宫腺肌病分子诊断中的可行性[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(14): 14-17.

(收稿日期: 2019-03-12 修回日期: 2019-07-08)