

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.07.027

网络首发 [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20191227.1326.002.html\(2019-12-27\)](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20191227.1326.002.html(2019-12-27))

膀胱癌患者血清 miR-144 水平及其临床意义分析

陈铁定, 张 鹏

(浙江省宁波市医疗中心李惠利东部医院泌尿外科 315040)

[摘要] **目的** 探讨膀胱癌患者血清 miR-144 水平及其临床意义。**方法** 选择该院 2014 年 1 月至 2015 年 12 月膀胱癌患者 140 例作为观察组, 同期体检健康者 140 例作为对照组, 测定两组血清 miR-144、CA125 水平。**结果** 观察组患者血清 miR-144 低于对照组 ($P < 0.05$), CA125 水平高于对照组 ($P < 0.05$)。膀胱癌患者血清 miR-144 水平与肿瘤分期、淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), 与性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤分级无明显相关 ($P > 0.05$)。血清 miR-144、CA125 水平及二者联合诊断膀胱癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.829、0.781、0.851。miR-144 低表达组 3 年总生存率低于 miR-144 高表达组 ($\chi^2 = 5.347, P = 0.007$)。**结论** 膀胱癌患者血清 miR-144 水平降低, 其在膀胱癌严重程度和预后评估中具有一定价值, 可提高 CA125 诊断膀胱癌的准确性。

[关键词] 膀胱肿瘤; miR-144; 诊断; 预后**[中图分类号]** R737.14**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)07-1145-04

Serum miR-144 and its clinical significance in patients with bladder cancer

CHEN Tieding, ZHANG Peng

(Department of Urology, Li Huili Eastern Hospital of Ningbo Medical Center, Ningbo, Zhejiang 315040, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the level of serum miR-144 in patients with bladder cancer and its clinical significance. **Methods** A total of 140 patients with bladder cancer were selected as the observation group and 140 healthy patients underwent physical examination were selected as the control group from January 2014 to December 2015 in the hospital. The levels of serum miR-144 and CA125 were detected. **Results** The level of serum miR-144 in the observation group was lower than that in the control group ($P < 0.05$), and the level of serum CA125 was higher than that in the control group ($P < 0.05$). The level of serum miR-144 were closely related to tumor stage and lymph node metastasis in bladder cancer patients ($P < 0.05$), and had no significant correlation with gender, age, tumor size and tumor grade ($P > 0.05$). The area under the ROC curve of serum miR-144, CA125 levels and combination of them for diagnosis of bladder cancer were 0.829, 0.781 and 0.851, respectively. The 3-year overall survival rate of the miR-144 low-expression group was lower than that of the miR-144 high-expression group ($\chi^2 = 5.347, P = 0.007$). **Conclusion** Serum miR-144 decreased in patient with bladder cancer, which has a certain value in the assessment of severity and prognosis for bladder cancer, and it could improve the accuracy of CA125 in the diagnosis of bladder cancer.

[Key words] urinary bladder neoplasms; miR-144; diagnosis; prognosis

膀胱癌的诊断主要依赖病理活检, 但病理活检具有创伤性而在临床应用中受到一定限制。血清标志物在膀胱癌的诊断中有一定价值, 但目前常用的血清标志物灵敏度和特异度有限, 因此选择有价值的新的生物标志物在膀胱癌诊治中具有重要意义。miR-144 在多种恶性肿瘤中表达异常, 参与多种恶性肿瘤的发生、发展^[1], 但 miR-144 的研究主要集中在组织中水

平研究, 考虑 miRNA 在血清中具有高稳定性, 且血清取材方便, 故本文对膀胱癌患者血清 miR-144 水平进行研究, 探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择本院 2014 年 1 月至 2015 年 12 月收治的膀胱癌患者 140 例作为观察组, 男 83 例, 女 57 例, 平均

年龄(62.49±9.18)岁,平均肿瘤直径(3.21±1.24)cm;Ta期21例、T1期32例、T2期28例、T3期52例、T4期7例;低级别69例、高级别71例;有淋巴结转移61例、无淋巴结转移79例。纳入标准:患者均为首次诊断,经术后病理确诊为膀胱癌;术前均未进行放化疗及生物靶向治疗等;术后随访3年,病理及随访资料完整。排除标准:其他恶性肿瘤;严重肝、肾等脏器功能异常;全身免疫性疾病;血液系统疾病;近1个月内接受过免疫制剂及激素治疗;资料不全。选取同期体检健康者140例作为对照组,男77例,女63例,平均年龄(62.38±9.61)岁。两组年龄、性别差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准,研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

收集观察组术前和对照组体检当天外周静脉血4 mL,3 000×g离心10 min,取血清,采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定血清miR-144水平。将患者血清中加入RNA酶,采用酚-氯仿法提取总RNA,并逆转录为cDNA,进行PCR实验,PCR反应条件为95℃10 min;95℃15 s,58℃20 s,70℃10 s,共38个循环。以U6为内参照。miR-144的扩增效率为98%,U6的扩增效率为99%。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示血清miR-144水平。RT-qPCR试剂盒及仪器购自美国Ambion公司。采用微粒子酶免疫分析技术检测两组血清CA125水平,仪器及试剂购自美国Abbt Ax-sym公司。

1.3 统计学处理

采用SPSS20.0统计软件进行分析。血清miR-144和CA125经正态性检验呈非正态分布,以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用Mann-Whitney U ,受试者工作特征曲线(ROC曲线)下面积分析诊断价值,Kaplan-Meier分析生存状态,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清miR-144和CA125水平比较

观察组患者血清miR-144水平低于对照组($P<0.05$),CA125水平高于对照组($P<0.05$),见表1。

2.2 血清miR-144水平与膀胱癌临床病例特点的关系

膀胱癌患者血清miR-144水平与肿瘤分期、淋巴

结转移相关($P<0.05$),与性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤分级无明显相关性($P>0.05$),见表2。

2.3 血清miR-144、CA125水平对膀胱癌的诊断价值

血清miR-144、CA125水平诊断膀胱癌的ROC曲线下面积分别为0.829和0.781,miR-144对膀胱癌的诊断灵敏度虽高于CA125,但其特异度较低;二者联合诊断膀胱癌的ROC曲线下面积为0.851,见表3、图1~3。

表1 两组血清miR-144和CA125水平比较
[$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	<i>n</i>	miR-144	CA125(U/mL)
观察组	140	0.46(0.21,0.97)	44.59(18.97,82.16)
对照组	140	1.00(0.45,1.34)	27.54(14.52,49.76)
<i>Z</i>		-0.584	-0.612
<i>P</i>		0.000	0.000

表2 血清miR-144水平与膀胱癌临床病例特点的关系[$M(P_{25}, P_{75})$]

项目	<i>n</i>	miR-144	<i>Z</i>	<i>P</i>
性别			1.385	0.167
男	83	0.48(0.19,1.02)		
女	57	0.51(0.22,0.95)		
年龄(岁)			1.516	0.128
≥65	78	0.44(0.17,0.92)		
<65	62	0.53(0.23,1.04)		
肿瘤大小(cm)			1.726	0.097
≥3	73	0.41(0.19,0.87)		
<3	67	0.52(0.20,0.94)		
肿瘤分期			5.284	0.000
T ₀ ~T ₁	53	0.65(0.29,1.24)		
T ₂ ~T ₄	87	0.32(0.16,0.81)		
肿瘤分级			1.812	0.085
低	69	0.55(0.26,1.07)		
高	71	0.41(0.23,0.92)		
淋巴结转移			6.273	0.000
有	61	0.29(0.15,0.67)		
无	79	0.68(0.31,1.18)		

表3 血清miR-144、CA125水平对膀胱癌的诊断价值

指标	临界点	ROC曲线下面积	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)
miR-144	0.370	0.829	0.826~0.832	90.32	77.61
CA125	36.820	0.781	0.778~0.784	74.37	82.54
miR-144+CA125		0.851	0.848~0.854	92.28	83.75

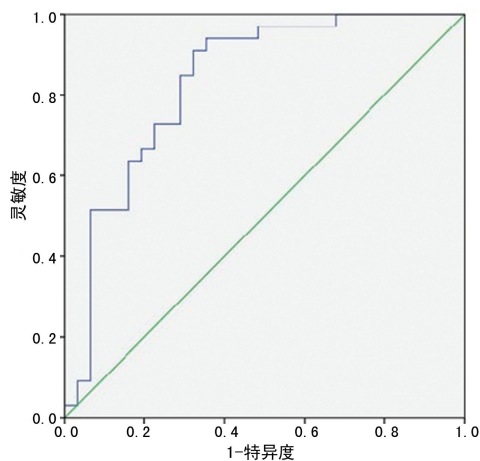


图 1 血清 miR-144 水平诊断膀胱癌的 ROC 曲线

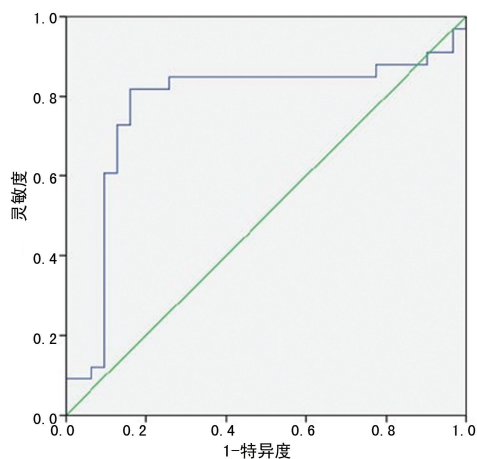


图 2 血清 CA125 水平诊断膀胱癌的 ROC 曲线

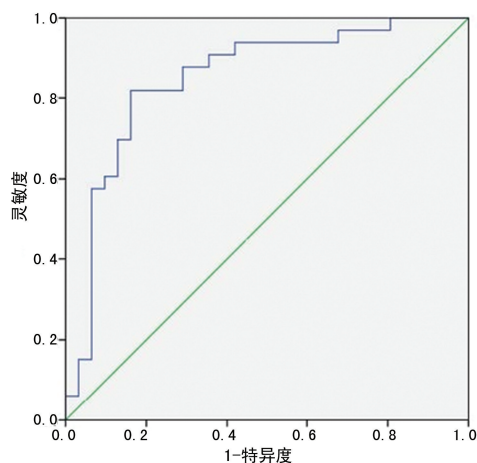


图 3 血清 miR-144+CA125 水平诊断膀胱癌的 ROC 曲线

2.4 血清 miR-144 水平与膀胱癌预后的关系 所有膀胱癌患者随访 3 年,共死亡 31 例,术后 3 年总生存率为 77.86%(109/140),其中以血清 miR-144 中位数为界分为低表达组和高表达组,低表达组死亡 22 例,总生存率为 68.57%(48/70),高表达组死亡 9 例,总生存率为 79.22%(61/70),Kaplan-Meier 生存分析显示 miR-144 低表达组 3 年总生存率低于 miR-144 高表达组($\chi^2=5.347, P=0.007$)。

3 讨论

膀胱癌的发生和发展是多因素、多基因、多阶段

共同作用的结果,膀胱癌早期诊断比较困难,大部分膀胱癌患者确诊时已为中晚期,错过最佳手术时机,导致膀胱癌术后复发率比较高,严重影响患者预后^[2],因此选择膀胱癌诊断及预后评估指标具有重要意义。目前诊断膀胱癌主要依靠膀胱镜和尿脱落细胞检查,但膀胱镜检查具有创伤性,尿脱落细胞检查虽特异度比较高、但灵敏度低。因此寻找操作简单、创伤小、灵敏度和特异度比较高的肿瘤标志物在膀胱癌的诊治中具有重要价值。

随着对恶性肿瘤标志物研究的不断深入,miRNA 受到广大学者的关注,成为恶性肿瘤标志物研究的新领域。miRNA 为近年来发现的长 18~24 个核苷酸的小 RNA,其可在转录后调控靶基因表达情况,从而对细胞的增殖、凋亡、分化、转移等过程进行调控^[3]。研究发现多种 miRNA 在膀胱癌中发挥重要作用,和膀胱癌的发生、发展及预后关系密切^[4-5]。miRNA 在血清中也可以检测到,并具有高稳定性;循环中 miRNA 起源于膀胱癌等恶性肿瘤组织,且可以作为膀胱癌等恶性肿瘤诊断和预后预测的潜在标志物。循环中 miRNA 水平丰富,且在室温多次冻融和长时间孵育过程中内源性 miRNA 仍具有高稳定性,且血清比较容易获得,具有高重现性和可以连续体外检测的优点,因此血清 miRNA 逐渐成为恶性肿瘤诊断和监测的重要潜在标志物。

miR-144 为新发现的一种 miRNA,近年来其在恶性肿瘤中的作用不断受到大家关注^[6]。研究发现 miR-144 参与多种恶性肿瘤的发生、发展,如 miR-144 可抑制宫颈癌细胞的生长和转移^[7];miR-144 通过抑制中心体相关蛋白 55(CEP55)抑制乳腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移^[8];miR-144 通过靶向 CEP55 抑制去势抵抗性前列腺癌的细胞增殖并促进细胞凋亡^[9];miR-144 通过自噬调节人未分化甲状腺癌细胞对顺铂敏感性的影响^[10];miR-144 通过靶向环加氧酶-2 抑制胃癌的发生、发展^[11]。组织中 miR-144 水平在恶性肿瘤诊断和预后评价中也具有重要价值,如乳腺癌组织中 miR-144-3p 水平降低,其与乳腺癌肿瘤大小、TNM 分期、核分级、淋巴结转移关系密切,与乳腺癌的预后关系也比较密切^[12];miR-144-3p 在口腔鳞癌组织中水平升高,和口腔鳞癌的 TNM 分期、淋巴结转移和肿瘤分化程度有关,在预后评价中也具有重要价值^[13]。

miR-144 在膀胱癌中的作用也引起大家关注,GUO 等^[14]研究发现膀胱癌组织和膀胱癌细胞中 miR-144 水平降低,miR-144 下调可通过 Wnt/ β -连环蛋白信号传导促进膀胱癌细胞增殖;MATSUSHITA 等^[15]研究发现 miR-144-5p 具有抑制膀胱癌细胞增殖的作用。但上述研究主要对膀胱癌组织和细胞进行研究,对于血清 miR-144 在膀胱癌中的价值尚不清楚。考虑 miRNA 在血清中具有高稳定性,且血液标

本取材方便,本文对膀胱癌患者血清 miR-144 水平进行研究,发现膀胱癌患者血清 miR-144 水平降低,其与膀胱癌的肿瘤分期和淋巴结转移关系密切,与膀胱癌预后关系也比较密切,表明 miR-144 在膀胱癌严重程度和预后预测中具有一定价值。

理想的肿瘤标志物应具有较高的灵敏度和特异度,CA125 为膀胱癌常用的血清标记物^[16],本研究发现 CA125 在膀胱癌患者血清中高表达,其诊断膀胱癌的 ROC 曲线下面积为 0.781。而本文中血清 miR-144 诊断膀胱癌的 ROC 曲线下面积为 0.829,高于 CA125,但考虑 miR-144 诊断膀胱癌的特异度低,故将其与 CA125 联合,发现其可提高 CA125 对膀胱癌的诊断灵敏度和特异度,ROC 曲线下面积为 0.851。

综上所述,膀胱癌患者血清 miR-144 水平降低,检测血清 miR-144 水平对评估膀胱癌的严重程度及预后具有一定价值,可提高 CA125 对膀胱癌的诊断效能。

参考文献

- [1] TIAN Q G, TIAN R C, LIU Y, et al. The role of miR-144/GSPT1 axis in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(13): 4138-4145.
- [2] SMITH A B, JAEGER B, PINHEIRO L C, et al. Impact of bladder cancer on health-related quality of Life[J]. *BJU Int*, 2018, 121(4): 549-557.
- [3] YU Q F, LIU P, LI Z Y, et al. MiR-103/107 induces tumorigenicity in bladder cancer cell by suppressing PTEN[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(24): 8616-8623.
- [4] XU T, DU X W, HU J B, et al. Anticancer effect of miR-96 inhibitor in bladder cancer cell lines[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 3814-3819.
- [5] ZHU Y D, LIANG S S, PAN H F, et al. Inhibition of miR-1247 on cell proliferation and invasion in bladder cancer through its downstream target of RAB36[J]. *J Biosci*, 2018, 43(2): 365-373.
- [6] KIA V, BEIGLI M S, HOSSEINI V, et al. Is miR-144 an effective inhibitor of PTEN mRNA: a controversy in breast cancer[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2018, 54(9): 621-628.
- [7] TAO P P, WEN H, YANG B L, et al. miR-144

inhibits growth and metastasis of cervical cancer cells by targeting VEGFA and VEGFC[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(1): 562-568.

- [8] YIN Y, CAI J, MENG F, et al. MiR-144 suppresses proliferation, invasion, and migration of breast cancer cells through inhibiting CEP55[J]. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19(4): 306-315.
- [9] YOU B, ZHANG K C. MicroRNA-144-3p inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in castration-resistant prostate cancer by targeting CEP55[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(22): 7660-7670.
- [10] LIU J, FENG L G, ZHANG H T, et al. Effects of miR-144 on the sensitivity of human anaplastic thyroid carcinoma cells to cisplatin by autophagy regulation[J]. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19(6): 484-496.
- [11] YAO Q, GU A X, WANG Z Z, et al. MicroRNA-144 functions as a tumor suppressor in gastric cancer by targeting cyclooxygenase-2[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(3): 3088-3095.
- [12] 许发功, 杨立. 乳腺癌组织中 miR-144-3p 和 SGK3 的表达水平及临床意义[J]. *中国临床研究*, 2019, 32(2): 173-178.
- [13] 颜孟雄, 华炜, 高桂林. miR-144-3p 和 SGK3 在口腔鳞癌中的表达水平及临床意义[J]. *河北医学*, 2019, 25(2): 177-182.
- [14] GUO Y W, YING L, TIAN Y, et al. MiR-144 downregulation increases bladder cancer cell proliferation by targeting EZH2 and regulating Wnt signaling[J]. *FEBS J*, 2013, 280(18): 4531-4538.
- [15] MATSUSHITA R, SEKI N, CHIYOMARU T, et al. Tumour-suppressive microRNA-144-5p directly targets CCNE1/2 as potential prognostic markers in bladder cancer[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(2): 282-289.
- [16] BAZARGANI S T, CLIFFORD T G, DJALADAT H A, et al. Association between precystectomy epithelial tumor marker response to neoadjuvant chemotherapy and oncological outcomes in urothelial bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2019, 37(1): 1-11.