

• 论 著 •

子宫内膜异位症患者血浆 miR-125a-3p、miR-140-5p 的水平变化及临床意义

曹作增,王梅,沈晓萍

(上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院妇产科,上海 202150)

摘 要:目的 探讨子宫内膜异位症患者血浆微小 RNA-125a-3p(miR-125a-3p)、微小 RNA-140-5p(miR-140-5p)的水平变化及临床意义。方法 选取该院收治的 60 例子宫内膜异位症患者作为研究组,选取同期体检健康女性 50 例作为对照组。比较两组 miR-125a-3p、miR-140-5p、糖类抗原 125(CA125)、血管内皮生长因子(VEGF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平;采用 Pearson 相关分析探讨研究组 miR-125a-3p、miR-140-5p 水平与 CA125、VEGF、TNF- α 、IL-1 β 水平的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析各指标对子宫内膜异位症的诊断价值。结果 研究组 miR-125a-3p、miR-140-5p、VEGF、CA125、TNF- α 、IL-1 β 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。miR-125a-3p、miR-140-5p 水平与 VEGF、CA125、TNF- α 、IL-1 β 水平均呈正相关($P<0.05$),miR-125a-3p 水平与 miR-140-5p 水平呈正相关($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,miR-125a-3p 诊断子宫内膜异位症的曲线下面积(AUC)为 0.862,灵敏度为 86.7%,特异度为 78.0%;miR-140-5p 诊断子宫内膜异位症的 AUC 为 0.759,灵敏度为 71.7%,特异度为 72.0%。结论 子宫内膜异位症患者存在血浆 miR-125a-3p、miR-140-5p 高表达,对子宫内膜异位症具有一定的诊断价值。

关键词:子宫内膜异位症; 微小 RNA-125a-3p; 微小 RNA-140-5p; 诊断价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.12.019 **中图法分类号:**R711.71

文章编号:1673-4130(2020)12-1487-04 **文献标识码:**A

Changes of plasma levels of miR-125a-3p and miR-140-5p in patients with endometriosis and its clinical significance

CAO Zuozeng, WANG Mei, SHEN Xiaoping

(Department of Obstetrics and Gynecology, Chongming Branch of Xinhua Hospital Affiliated to Medical School of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 202150, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of plasma microRNA-125a-3p (miR-125a-3p) and microRNA-140-5p (miR-140-5p) levels in patients with endometriosis and its clinical significance. **Methods** Sixty patients with endometriosis treated in the hospital were selected as the research group, and 50 healthy women who underwent medical examination during the same period were selected as the control group. The levels of miR-125a-3p, miR-140-5p, carbohydrate antigen 125 (CA125), vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were compared; Pearson correlation analysis was used to explore the correlation between the levels of miR-125a-3p, miR-140-5p and CA125, VEGF, TNF- α , IL-1 β in the research group; receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the diagnostic value of each index for endometriosis. **Results** The levels of miR-125a-3p, miR-140-5p, VEGF, CA125, TNF- α and IL-1 β in the research group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of miR-125a-3p and miR-140-5p were positively correlated with the levels of VEGF, CA125, TNF- α and IL-1 β ($P<0.05$), the level of miR-125a-3p was positively correlated with the level of miR-140-5p ($P<0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of miR-125a-3p in the diagnosis of endometriosis was 0.862, the sensitivity was 86.7%, and the specificity was 78.0%. The AUC of miR-140-5p in the diagnosis of endometriosis was 0.759, the sensitivity was 71.7%, and the specificity was 72.0%. **Conclusion** Patients with endometriosis have high expression of miR-125a-3p and miR-140-5p in plasma, which has certain diagnostic value for endometriosis.

Key words: endometriosis; microRNA-125a-3p; microRNA-140-5p; diagnostic value

作者简介:曹作增,男,主治医师,主要从事妇科肿瘤的临床研究。

本文引用格式:曹作增,王梅,沈晓萍. 子宫内膜异位症患者血浆 miR-125a-3p、miR-140-5p 的水平变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(12): 1487-1490.

子宫内膜异位症是指有活性的内膜组织(腺体和间质)种植在子宫内膜以外的位置而导致的一种女性常见妇科疾病^[1-2]。目前,该病的发病机制有多种学说,其中被普遍认可的是子宫内膜种植学说^[3-4],但其具体机制仍在不断研究中。微小 RNA(miRNA)是一类序列具有高度保守性的非编码单链 RNA,其长度一般为 18~30 个核苷酸,主要通过作用于靶基因 3' 端非编码区来抑制 mRNA 的翻译或导致 mRNA 降解,通过调节细胞增殖、分化、凋亡、迁移、信号转导等重要的生物学活动来参与多种疾病的病理、生理过程^[5-6]。已有研究发现,多种 miRNA 与子宫内膜异位症的发生、发展密切相关^[7-9]。但微小 RNA-125a-3p(miR-125a-3p)与微小 RNA-140-5p(miR-140-5p)是否与子宫内膜异位症相关目前尚不明确。本研究通过检测子宫内膜异位症患者血浆 miR-125a-3p 与 miR-140-5p 的表达水平,探讨其与子宫内膜异位症的关系,以期为临床诊断、治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 11 月至 2018 年 11 月本院妇科门诊收治的 60 例子宫内膜异位症患者为研究组,年龄 21~45 岁,平均(34.61±6.92)岁;体质量 52~65 kg,平均(58.43±6.49)kg。另选取同期体检健康女性 50 例为对照组,年龄 22~46 岁,平均(35.29±7.06)岁;体质量 51~63 kg,平均(57.23±6.35)kg。纳入标准:(1)研究组患者均经临床病理、影像学检查确诊为子宫内膜异位症;(2)月经周期正常者;(3)患者及家属同意加入本研究,并签署知情同意书。排除标准:(1)近期服用过激素类药物者;(2)伴有严重器质性疾病者;(3)合并其他妇科疾病者。两组年龄、体质量等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 miRNA 提取试剂盒购自北京全

式金生物技术有限公司;miRNA 反转录试剂盒、miRNA 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)试剂盒购自哈尔滨基生物科技有限公司;miR-125a-3p、miR-140-5p、U6(内参)引物购自上海生工生物工程有限公司;糖类抗原 125(CA125)、血管内皮生长因子(VEGF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) ELISA 试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;DNA 扩增仪(型号:Bio-Rad S1000)购自伯乐生命医学产品(上海)有限公司,qRT-PCR 仪(型号:ABI 7500)购自北京欣兴强森生物科技有限公司;全自动生化分析仪(型号:PUZS-300)购自北京佳康时代医疗器械有限公司;酶标仪(型号:CN61M/GF-M2000)购自上海迪奥生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有研究对象均于清晨空腹采集静脉血 5 mL,置于含乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)或柠檬酸钠抗凝剂的聚乙烯试管中,在常温 3 000 r/min 离心 15 min,吸取上层血浆并分装于无菌 EP 管中,于-80℃冰箱保存待测。

1.3.2 miR-125a-3p、miR-140-5p 水平检测 按照 miRNA 试剂盒说明书提取 miRNA,反转录及 qRT-PCR 操作步骤具体如下。反转录体系共 20 μ L:miRNA(100 ng/ μ L)6 μ L,4 $\times$ One step miRNA RT Solution 5 μ L,10 $\times$ miRNA RT Primer 2 μ L,RNase Free H₂O 7 μ L。反应条件:37℃ 60 min,95℃ 5 min。以 cDNA 为模板,采用 qRT-PCR 仪对 miRNA 进行扩增。qRT-PCR 反应体系共 20 μ L:5 $\times$ Golden HS SYBR Green qPCR Mix 4 μ L,正向引物(10 μ mol/L)0.5 μ L,反向引物(10 μ mol/L)0.5 μ L,cDNA 2 μ L,ddH₂O 13 μ L。反应条件分为两步:第一步 95℃ 15 min;第二步 95℃ 5 s,60℃ 30 s,30 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 对 miR-125a-3p、miR-140-5p 相对表达水平进行定量分析。qRT-PCR 引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

指标	正向引物(5'-3')	反向引物(3'-5')
miR-125a-3p	GGGACAGGTGAGGTTCTTG	GAGTTGGAGGTTGCGTTAGA
miR-140-5p	CAGUGGUUUUACCCU	TGGTGTCTGGAGTCG
U6	AACGAGACGACGACAGAC	GCAAATTCGTGAAGCGTTCCAA

1.3.3 CA125、VEGF、TNF- α 、IL-1 β 水平检测 采用 ELISA 检测 CA125、VEGF、TNF- α 、IL-1 β 水平,操作过程严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;相关性采用 Pearson 相关分析;采用受试

者工作特征曲线(ROC 曲线)评价 miR-125a-3p、miR-140-5p、CA125、VEGF、TNF- α 和 IL-1 β 对子宫内膜异位症的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组各指标水平比较 研究组 miR-125a-3p、miR-140-5p、VEGF、CA125、TNF- α 、IL-1 β 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组各指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-125a-3p	miR-140-5p	VEGF(ng/L)	CA125(U/mL)	TNF-α(pg/mL)	IL-1β(ng/L)
对照组	50	3.56±1.45	6.28±1.76	150.37±27.34	25.63±4.57	13.71±2.39	108.45±19.72
研究组	60	5.79±1.51	8.63±2.15	214.62±39.01	237.42±43.16	41.95±7.63	153.91±27.98
<i>t</i>		7.852	6.193	9.807	34.511	25.147	9.659
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 研究组 miR-125a-3p、miR-140-5p 与 CA125、VEGF、TNF-α、IL-1β 的相关性 Pearson 相关分析结果显示,miR-125a-3p 水平与 miR-140-5p 水平呈正相关($P<0.05$)。miR-125a-3p、miR-140-5p 水平与 VEGF、CA125、TNF-α、IL-1β 水平均呈正相关($P<0.05$)。见表 3。

表 3 研究组 miR-125a-3p、miR-140-5p 与 CA125、VEGF、TNF-α、IL-1β 的相关性(*r*)

指标	miR-125a-3p	VEGF	CA125	TNF-α	IL-1β
miR-125a-3p	—	0.609 *	0.563 *	0.462 *	0.580 *
miR-140-5p	0.703 *	0.548 *	0.607 *	0.589 *	0.490 *

注:—为无数据; * $P<0.05$ 。

2.3 各指标对子宫内膜异位症的诊断价值 ROC 曲线分析结果显示,CA125 诊断子宫内膜异位症的曲线下面积(AUC)最大,为 0.898,灵敏度为 80.0%,特

异度为 94.0%。其次为 miR-125a-3p,其 AUC 为 0.862,灵敏度为 86.7%,特异度为 78.0%。miR-140-5p 的 AUC 为 0.759,灵敏度为 71.7%,特异度为 72.0%。见图 2、表 4。

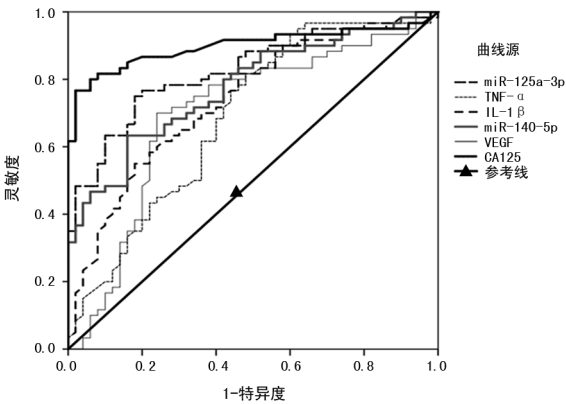


图 2 各指标诊断子宫内膜异位症的 ROC 曲线

表 4 各指标对子宫内膜异位症的诊断价值

指标	AUC	95%CI	截断值	灵敏度(%)	特异度(%)
miR-125a-3p	0.862	0.792~0.931	4.335	86.7	78.0
miR-140-5p	0.759	0.671~0.847	7.665	71.7	72.0
TNF-α	0.687	0.585~0.788	27.86 pg/mL	81.7	52.0
IL-1β	0.739	0.646~0.831	115.36 ng/L	80.8	54.0
VEGF	0.700	0.596~0.803	185.24 ng/L	70.0	76.0
CA125	0.898	0.835~0.962	106.52 U/mL	80.0	94.0

3 讨 论

子宫内膜异位症发病原因至今尚不明确,目前被广泛接受的理论学说是异位种植学说。该学说认为子宫内膜异位症是由于子宫内膜碎片随经血逆流,通过输卵管进入盆腔而种植于卵巢或盆腔其他部位所导致的^[3-4,10]。腹腔镜下病灶直视及病理检查是目前临床诊断子宫内膜异位症的“金标准”,但其均为有创性检查,对患者造成的创伤较大^[8]。CA125 属于糖蛋白,来源于胚胎体腔上皮,多见于子宫内膜异位症患者血清中,具有较高的灵敏度,为临床诊断常用指标^[11-12]。VEGF 作为一种糖基化细胞分裂素,表达于子宫内膜细胞,在子宫内膜异位症发生、发展过程中发挥着重要作用。TNF-α 是由巨噬细胞产生的关键炎症因子,可参与炎症反应、细胞分化及免疫调节等。

IL-1β 同样在炎症进展、免疫调节等方面发挥重要作用,与疾病引起的急性炎症反应存在密切联系。上述指标均对子宫内膜异位症具有一定的辅助诊断作用,但诊断的特异度低,效果不理想^[13]。因此,近年来关于寻找子宫内膜异位症特异性诊断标志物的研究成为热点。

miRNA 是近年来发现的具有调控基因表达功能的 RNA,可稳定存在于血清、血浆、尿液等体液中^[5-6]。目前已知有 2 000 余种 miRNA 参与调节机体各种疾病的病理、生理过程。miRNA 在子宫内膜异位症患者血清中存在差异性表达,可调控子宫内膜异位症细胞外间质形成、血管形成、组织修复、炎症发生等过程^[8,14]。纪娜等^[15]证实 miR-155 在异位内膜中高度表达,可能通过调控 Bax、Bcl-2、基质金属蛋白

酶(MMP)-2、MMP-9 的表达水平增强子宫内膜细胞增生、黏附、侵袭的能力。DAI 等^[16]发现 miR-199a 在异位内膜中表达水平下调,可作用于 HIF-1 α /VEGF-A 通路,从而提高子宫内膜间质细胞的血管生成潜能。此外,miR-125b-5p、miR-154b-5p、miR-451a、miR-122 等多种 miRNA 均参与子宫内膜异位症的发生、发展^[7]。miR-125a-3p、miR-140-5p 在肿瘤中也发挥着重要作用。万晓龙等^[17]研究发现,miR-125a-3p 不仅能够阻碍结肠癌细胞的增殖生长,而且还可以抑制结肠癌细胞的迁移与侵袭,其在结肠癌进展中发挥重要调控作用。丁建花等^[18]研究发现,miR-140-5p 在肝细胞癌组织中低表达,并且与肝细胞癌的恶性程度密切相关。但 miR-125a-3p、miR-140-5p 是否参与子宫内膜异位症的发生、发展,以及机制如何,目前尚不清楚。本研究结果显示,子宫内膜异位症患者血浆中 miR-125a-3p 与 miR-140-5p 水平均高于对照组($P < 0.05$),提示 miR-125a-3p 与 miR-140-5p 与子宫内膜异位症的发生、发展有关。

进一步研究发现,子宫内膜异位症患者 VEGF、CA125、TNF- α 、IL-1 β 水平均高于对照组($P < 0.05$),miR-125a-3p、miR-140-5p 水平与 VEGF、CA125、TNF- α 、IL-1 β 水平均呈正相关($P < 0.05$),提示 miR-125a-3p 与 miR-140-5p 可能通过调控 VEGF、CA125、TNF- α 、IL-1 β 的水平变化来参与子宫内膜异位症的发病过程。ROC 曲线分析结果显示,CA125 诊断子宫内膜异位症的价值最高,其次为 miR-125a-3p、miR-140-5p,提示 miR-125a-3p、miR-140-5p 对子宫内膜异位症具有一定的诊断价值,可作为临床辅助诊断指标。

4 结 论

综上所述,子宫内膜异位症患者血浆 miR-125a-3p、miR-140-5p 高表达,对子宫内膜异位症具有一定的诊断价值。后期将继续对 miR-125a-3p、miR-140-5p 在子宫内膜异位症中发挥作用的具体机制进行研究,进一步探讨其在疾病诊断、治疗、预后评估中的应用价值。

参考文献

- [1] 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症的诊治指南[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(3):161-169.
- [2] 庄翡翠. 子宫内膜异位症患者盆腔疼痛和病灶特点的相关性研究[J]. 中国医药科学, 2015, 5(14):81-83.
- [3] 周洋, 吴玉仙, 金志军. 子宫内膜异位症发病机制的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2017, 44(1):103-107.

- [4] 张若楠, 游存厚, 姜雯. 子宫内膜异位症病因学的研究进展[J]. 内蒙古医学杂志, 2018, 50(8):911-912.
- [5] CHEN X, JIANG Z C, XIE D, et al. A novel computational model based on super-disease and miRNA for potential miRNA-disease association prediction[J]. Mol Biosyst, 2017, 13(6):1202-1212.
- [6] PACAK A, KRUSZKA K, SWIDA-BARTECZKA A, et al. Developmental changes in barley microRNA expression profiles coupled with miRNA target analysis[J]. Acta Biochim Pol, 2016, 63(4):799-809.
- [7] 李雅洁, 高颖. miRNA 与子宫内膜异位症的最新研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2019, 28(4):428-434.
- [8] 郑玉丹, 尹香花. microRNAs 在子宫内膜异位症早期诊断中的研究进展[J/CD]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2018, 5(28):11-14.
- [9] MARÍ-ALEXANDRE J, SÁNCHEZ-IZQUIERDO D, GILABERT-ESTELLÉS J, et al. miRNAs regulation and its role as biomarkers in endometriosis[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(1):93-109.
- [10] 曹军民, 李娟芳, 崔宇红, 等. 子宫内膜异位症痛经发病机制及中西医治疗研究进展[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(2):117-119.
- [11] 宋建平. 子宫内膜异位症与卵巢癌相关性临床分析[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(10):1432-1434.
- [12] 银琪, 生秀杰. 子宫内膜异位症相关卵巢癌病因研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2016, 43(6):681-685.
- [13] 苏慧琳, 欧阳密霞, 蒋玉蓉, 等. 血清 VEGF、TNF- α 、IL-1 β 、CA125 联合检测在子宫内膜异位症诊断中的应用[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2017, 8(6):18-21.
- [14] REKKER K, SAARE M, ROOST A M, et al. Circulating miR-200—family micro-RNAs have altered plasma levels in patients with endometriosis and vary with blood collection time[J]. Fertil Steril, 2015, 104(4):938-946.
- [15] 纪娜, 赵莉, 冯忻, 等. miRNA-155 及其靶基因在子宫内膜异位症中的生物学作用及分子机制[J]. 海南医学院学报, 2015, 21(11):1463-1466.
- [16] DAI L, LOU W, ZHU J, et al. MiR-199a inhibits the angiogenic potential of endometrial stromal cells under hypoxia by targeting HIF-1 α /VEGF pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(5):4735-4744.
- [17] 万晓龙, 赵楠, 景鹏瑞, 等. miR-125a-3p 调控人结肠癌细胞浸润转移的作用及机制研究[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(7):1212-1216.
- [18] 丁建花, 熊叔晨, 刘莹莹, 等. miR-140-5p 在肝细胞癌中的表达及临床病理学意义[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(24):4018-4021.