

• 短篇论著 •

## miRNA-182 与 miRNA-187 联合检测对前列腺癌诊断的价值\*

史浩天<sup>1</sup>, 范学武<sup>2</sup>, 田 龙<sup>1△</sup>, 胡逸民<sup>3</sup>

1. 河北北方学院附属第一医院检验科, 河北张家口 075000; 2. 河北省人民医院心血管内科导管室, 河北石家庄 050000; 3. 中国医学科学院肿瘤医院放疗科, 北京 100021

**摘要:**目的 探讨微小 RNA(miRNA)-182 与 miRNA-187 联合检测对前列腺癌(PCa)的临床诊断价值。方法 选取河北北方学院附属第一医院 2019 年 12 月至 2020 年 12 月收治的 PCa 患者 33 例为试验组, 前列腺增生(BPH)患者 30 例为对照组。采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测前列腺影像学异常区域(IAA)组织中 miRNA-182 和 miRNA-187 表达水平。分析 miRNA-182 和 miRNA-187 表达水平与试验组各项临床资料间的关系及对 PCa 的诊断效能。结果 试验组 IAA 组织中 miRNA-182 表达水平明显高于对照组( $P=0.002$ ), miRNA-187 表达水平明显低于对照组( $P<0.001$ )。miRNA-187 表达水平同血清前列腺特异性抗原水平、远端转移、IAA 大小相关( $P<0.05$ ); 与年龄、Gleason 评分、临床分期无关( $P>0.05$ )。IAA 组织中 miRNA-182 与 miRNA-187 联合检测诊断 PCa 的效能最高( $AUC=0.822, 95\%CI: 0.771\sim 0.839, P<0.001$ )。结论 IAA 组织中 miRNA-182 与 miRNA-187 联合检测可提高 PCa 诊断效能, 具有一定临床应用价值。

**关键词:**前列腺癌; 微小 RNA-182; 微小 RNA-187; 诊断; 试验**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.026**中图法分类号:**R115;R812**文章编号:**1673-4130(2022)06-0759-04**文献标志码:**A

前列腺癌(PCa)粗发病率位居中国男性恶性肿瘤第 6 位, 且仍在升高<sup>[1]</sup>。局限性或区域性扩散的 PCa 患者 5 年相对生存率可达 100.0%, 但存在远端转移的 PCa 患者仅为 30.2%<sup>[2]</sup>。因此, 早期筛查确诊 PCa 并发现转移灶将会极大改善患者预后, 具有重要的临床意义。

PCa 早期筛查方法以血清前列腺特异性抗原(PSA)检验为主。PCa 发病率随着 PSA 水平升高而升高<sup>[3-6]</sup>。然而一些良性病变, 如前列腺增生(BPH)也会导致 PSA 升高。因此, 单独检测 PSA 对 PCa 的诊断特异度较低。目前, 生物基因组标志物已经开始应用于多种肿瘤的筛查和治疗<sup>[7]</sup>。其中有关参与细胞转录后基因表达调控, 长度约为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子微小 RNA(miRNA)相关研究较多。miRNA 可作为致癌基因或抑癌基因在 PCa 中异常表达, 对 PCa 的发生、发展和转移具有较大影响<sup>[8]</sup>。因此, 在前列腺肿瘤组织, 尿液和血清标本中检测特定 miRNA 表达水平可能对提高 PCa 诊断准确率具有重大意义, 但目前相关研究较少。

为了明确 miRNA 对 PCa 的诊断意义, 本研究检测了前列腺疾病患者前列腺影像学异常区域(IAA)组织中 miRNA-182 和 miRNA-187 表达水平并统计

分析其与 PCa 各项临床资料间的关系和对 PCa 的诊断效能。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取河北北方学院附属第一医院 2019 年 12 月至 2020 年 12 月收治的 33 例 PCa 患者为试验组。纳入标准: (1) 体质量指数在 18~25 kg/m<sup>2</sup>; (2) 患者接受多参数磁共振成像并确定 IAA 大小; (3) 患者接受经直肠超声引导穿刺活检; (4) 各项临床资料完整。排除标准: (1) 前列腺存在严重钙化、肥大或感染; (2) 合并直肠息肉或痔疮; (3) 接受过前列腺按摩; (4) 接受过其他针对前列腺疾病的治疗(手术、放化疗、激素治疗等)。患者年龄 52~73 岁, 平均(65.2±7.8)岁; 年龄≥60 岁患者 26 例, <60 岁 7 例; 6 例为 Gleason 评分(GS 评分)≤6 分的高分化腺癌患者, 7 例为 GS 评分=7 分的中分化腺癌患者, 20 例为 GS 评分≥8 分的低分化腺癌患者; 患者 PSA 水平在 0~<10 ng/mL 的有 5 例, 10~<20 ng/mL 的有 7 例, ≥20 ng/mL 的有 21 例; 肿瘤分期在 T<sub>1</sub>~T<sub>2</sub> 期有 14 例, T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期有 19 例; 全身骨扫描发生远端转移患者 17 例, 未发生转移者 16 例; 前列腺 IAA≥1 cm 者 9 例, <1 cm 者 24 例。选取同期收治的前列腺增生(BPH)患者 30 例为对照组。本研究通

\* 基金项目: 张家口市重点研发计划项目(1921002B)。

△ 通信作者, E-mail: 1277473912@qq.com。

本文引用格式: 史浩天, 范学武, 田龙, 等. miRNA-182 与 miRNA-187 联合检测对前列腺癌诊断的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43

过该院医学伦理委员会批准(伦理编号:W2021)。所有患者均签署知情同意书。

**1.2 试剂和仪器** Trizon Reagent 试剂盒和低温高速离心机均购自美国赛默飞世尔公司。逆转录试剂盒,实时荧光定量 PCR 仪和试剂盒均购自日本 Takara 公司。生物组织研磨器购自法国 Bertin 公司。miRNA-182、miRNA-187、U6 逆转录引物、PCR 上下游引物均由美国 Sigma 生物科技公司提供,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')
U6	
上游序列	GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT
下游序列	CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA
miRNA-182	
上游序列	ACTTGGAATGGTAGACTCAC
下游序列	GTGCAGGTCCGAGGT
miRNA-187	
上游序列	TCGTGTTGTTGTTGCAGC
下游序列	GTGCAGGTCCGAGT

**1.3 方法**

**1.3.1 IAA 组织标本的获取** 对所有患者进行经直肠超声引导穿刺活检,所有活检标本取自多参数磁共振影像确定的 IAA。将活检标本置于研磨器中,Trizol 充分裂解后加入氯仿进行离心。之后将上层水相抽至新的微量离心管中,加入同体积冷异丙醇以沉淀 RNA。之后离心并丢弃上清液,使用 75% 预冷乙醇洗涤包含 RNA 的沉淀物,离心并丢弃上清液。最后,于 RNA 提取试剂盒中加 DEPC 处理水溶解标本。采用紫外分光光度法检测总 RNA 浓度及纯度,取吸光度比值为 1.8~2.1 的样品用于后续试验。

**1.3.2 miRNA 表达水平的测定** 以 U6 为内参,将样本逆转录为 cDNA,并利用 SYBR Premix ExTaq 荧光定量 PCR 试剂盒、miRNA-182/187 引物和 SYBRGreen 荧光染料,严格按照试剂盒说明书进行操作,进行实时定量逆转录。通过 RT-qPCR 曲线获得荧光达到阈值的循环数,即 Ct 值,miRNA 相对表达水平计算公式为  $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。不符合正态分布的计量资料采用  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,组间比较采用秩和检验。根据受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)评估 miRNA 对 PCa 的诊断效能。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组 miRNA 表达水平比较** 试验组 IAA 组织

中 miRNA-182 表达水平明显高于对照组 ( $P = 0.002$ );miRNA-187 表达水平明显低于对照组 ( $P < 0.001$ ),见表 2。

表 2 两组 miRNA 表达水平的比较 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

组别	n	miRNA-182	miRNA-187
试验组	33	4.99(1.36,7.58)	1.67(1.31,2.28)
对照组	30	3.17(0.10,8.34)	4.60(0.11,10.51)
Z		3.819	4.032
P		0.002	<0.001

**2.2 PCa 患者 miRNA 表达水平与临床资料的关系** 结果显示,PCa 患者 miRNA-182 表达水平与所有临床资料无关;miRNA-187 表达水平与血清 PSA 水平、远端转移、IAA 大小存在一定关系,PSA  $\geq 10$  ng/mL、存在远端转移、IAA  $\geq 1$  cm 时,miRNA-187 表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。但 miRNA-187 表达水平与年龄、GS 评分、临床分期无关 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

**2.3 miRNA 的诊断效能** 单独检测 miRNA-182 诊断 PCa 的 AUC 为 0.638 (95% CI: 0.522~0.711,  $P < 0.01$ );单独检测 miRNA-187 诊断 PCa 的 AUC 为 0.741 (95% CI: 0.652~0.799,  $P < 0.01$ );miRNA-182 与 miRNA-187 联合检测诊断 PCa 的效能最高, AUC 为 0.822 (95% CI: 0.771~0.839,  $P < 0.01$ )。

表 3 miRNA 表达水平与各临床资料的关系 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

临床资料	n	miRNA-182 表达水平	miRNA-187 表达水平
年龄(岁)			
<60	7	3.43(2.81,3.94)	1.48(0.93,1.85)
$\geq 60$	26	4.15(3.48,5.01)	1.82(1.11,2.20)
Z		-1.006	2.219
P		0.312	0.104
GS 评分(分)			
$\leq 7$	13	4.64(3.88,5.18)	1.93(1.75,2.32)
$> 7$	20	4.35(3.65,4.61)	1.52(0.85,1.99)
Z		-2.852	-2.301
P		0.228	0.081
PSA(ng/mL)			
<10	5	4.58(3.88,4.90)	2.09(1.57,2.58)
$\geq 10$	28	4.19(3.66,4.51)	1.14(0.52,1.63)
Z		-2.167	-3.022
P		0.302	0.002
TNM 分期			
T <sub>1</sub> ~T <sub>2</sub> 期	14	4.01(3.69,4.44)	1.52(0.84,1.94)
T <sub>3</sub> ~T <sub>4</sub> 期	19	5.09(4.46,5.60)	1.84(1.31,2.15)
Z		2.432	1.897

续表 3 miRNA 表达水平与各临床资料的关系  
[M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

临床资料	n	miRNA-182 表达水平	miRNA-187 表达水平
P		0.186	0.386
远端转移			
无	16	4.59(3.89, 4.98)	2.47(1.99, 2.86)
有	17	4.32(3.76, 4.58)	0.67(0.09, 0.92)
Z		-1.897	-3.471
P		0.091	<0.001
IAA 大小(cm)			
<1	24	4.99(4.26, 5.12)	1.95(1.42, 2.38)
≥1	9	3.26(2.55, 3.57)	1.07(0.51, 1.49)
Z		1.168	-2.791
P		0.167	0.031

### 3 讨 论

miRNA 通过参与细胞转录后影响基因表达调控,即调节从 DNA 到蛋白质的过程,影响细胞分化、增殖和凋亡等过程<sup>[9]</sup>。50%以上的 miRNA 位点在肿瘤相关区域<sup>[10]</sup>,其异常表达是肿瘤发生和进展的重要原因之一<sup>[11]</sup>。miRNA 对 PCa 的影响极为复杂,可分为表达水平升高而发挥“促癌”作用的 miRNA-21、miRNA-34b 等,以及表达水平降低而发挥“抑癌”作用的 miRNA-15a、miRNA-206 等<sup>[12]</sup>。随着研究进展,同 PCa 密切相关的 miRNA 不断被发现,其作用机制也逐渐清晰。

本研究发现,试验组 IAA 组织中 miRNA-182 表达水平明显高于对照组(P=0.002);miRNA-187 表达水平明显低于对照组(P<0.001)。刘云等<sup>[13]</sup>研究发现,miRNA-182 在 PCa 组织中的表达水平明显高于癌旁组织,且在 PCa 细胞系 PC-3、LNCaP 和 DU145 中的表达均高于前列腺正常上皮细胞 RW-PE-1;miRNA-182 可上调 PCa 细胞雄激素非依赖性生长,并通过干预多个抑癌基因表达来迟滞肿瘤细胞凋亡程序的启动;成功下调 miRNA-182 表达后,PCa 细胞的增殖能力明显受到抑制,细胞凋亡能力明显增强,FOXO1 表达水平明显升高,VEGF 和 p53 的表达明显降低,从而降低了“促癌”作用。HU 等<sup>[14]</sup>研究中发现 miRNA-187 在 PCa 组织中的表达明显低于癌旁组织,而 CD276 表达水平明显升高。miRNA-187 通过诱导 CD276 抑制 PCa 细胞增殖、侵袭、迁移和血管生成,促进其凋亡。成功上调 miRNA-187 表达后,CD276 表达降低,JAK3-STAT3-Slug 信号通路受到抑制,从而降低了“抑癌”作用<sup>[15-16]</sup>。

本研究结果显示,单独检测 miRNA-182 诊断 PCa 的 AUC 为 0.638,单独检测 miRNA-187 诊断 PCa 的 AUC 为 0.741,miRNA-182 与 miRNA-187 联合检测诊断 PCa 的效能最高,AUC 为 0.822。郑

兴明等<sup>[17]</sup>研究了 miRNA-34b 联合 PSA 检测对 PCa 的诊断价值,结果显示,联合检测的诊断价值最高。未来研究中可以联合直肠指检、经直肠超声和多参数磁共振等临床资料进行诊断,可能会进一步提高诊断效能。

综上所述,IAA 组织中 miRNA-182 和 miRNA-187 的联合检测对 PCa 诊断具有一定临床价值,值得临床推广应用。

### 参考文献

- [1] 严彬,杨欣,魏元宝,等.中国泌尿外科医师对前列腺癌认知与诊疗行为 3 年变迁的调查[J].中华男科学杂志,2021,27(1):81-86.
- [2] 孙殿钦,曹毛毛,李贺,等.全球前列腺癌筛查指南质量评价[J].中华流行病学杂志,2021,42(2):227-233.
- [3] HEIDENREICH A, BASTIAN P J, BELLMUNT J, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer[J]. Eur Urol, 2014, 65(2): 467-479.
- [4] National Cancer Institute. Browse the SEER cancer statistics review 1975—2017[DB/OL]. (2020-04-15)[2020-05-05]. [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2017/browse\\_csr.php?sectionSEL=23&pageSEL=sect\\_23\\_table\\_082019](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2017/browse_csr.php?sectionSEL=23&pageSEL=sect_23_table_082019).
- [5] National Comprehensive Cancer Network. Prostate cancer early detection[DB/OL]. (2019-05-31)[2020-04-02]. [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/default.aspx#detection](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx#detection).
- [6] 中国抗癌协会泌尿男生殖系统肿瘤专业委员会前列腺癌学组.前列腺癌筛查专家共识[J].中华外科杂志,2017,55(5):340-342.
- [7] CUCCHIARA V, COOPERBERG M R, DALL'ERA M, et al. Genomic markers in prostate cancer decision making[J]. Eur Urol, 2018, 73(4): 572-582.
- [8] CASANOVA-SALAS I, RUBIO-BRIONES J, FERNANDEZ-SERRA A, et al. miRNAs as biomarkers in prostate cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2012, 14(11): 803-811.
- [9] HUA W, ZHANG M, WANG Y, et al. Mechanical stretch regulates microRNA expression profile via NF-κB activation in C2C12 myoblasts[J]. Mol Medi Rep, 2016, 14(6): 5084-5092.
- [10] YANG B, LIU Z, NING H, et al. MicroRNA-21 in peripheral blood mononuclear cells as a novel biomarker in the diagnosis and prognosis of prostate cancer[J]. Cancer Biomark, 2016, 17(2): 223-230.
- [11] GUSTAFSON D, TYRYSHKIN K, RENWICK N. miRNA-guided diagnostics in clinical samples[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2016, 30(5): 563-575.
- [12] REN D, WANG M, GUO W, et al. Double-negative feedback loop between ZEB2 and miR-145 regulates epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties in prostate cancer cells[J]. Cell Tissue Res, 2014, 358(3): 763-778.

- [13] 刘云,甘为,张正龙,等. miR-182 在前列腺癌组织中的表达及其对前列腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(9):1674-1678.
- [14] HU C, CHEN J, YOU P, et al. Suppression of cell migration and invasion by bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-187 in prostate cancer [EB/OL]. (2020-07-23) [2020-08-09]. [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3582709](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3582709).
- [15] CASANOVA-SALAS I, RUBIO-BRIONES J, CALATRAVA A, et al. Identification of miR-187 and miR-182 as biomarkers of early diagnosis and prognosis in pa-

tients with prostate cancer treated with radical prostatectomy[J]. J Urol, 2014, 192(1):252-259.

- [16] FUSE M, KOJIMA S, ENOKIDA H, et al. Tumor suppressive microRNAs (miR-222 and miR-31) regulate molecular pathways based on microRNA expression signature in prostate cancer [J]. J Hum Genet, 2012, 57(11):691-699.
- [17] 郑兴明,唐起来,牟建,等. miRNA-34b 联合 PSA 检测对前列腺癌的诊断价值[J]. 中国性科学, 2020, 29(6):1-4.

(收稿日期:2021-09-01 修回日期:2021-12-08)

• 短篇论著 •

## 1 例凝血因子 XI 缺乏症基因突变及临床表现分析

张婷婷<sup>1</sup>, 薛卫斌<sup>1</sup>, 蒋一澜<sup>1</sup>, 杨霞<sup>1</sup>, 王浩园<sup>2</sup>, 罗福康<sup>1△</sup>

1. 重庆市第九人民医院医学检验科, 重庆 400700; 2. 西南大学医学研究院, 重庆 400700

**摘要:**目的 对 1 例凝血因子 XI (FXI) 缺乏症患者进行基因突变检测, 结合临床表现初步探讨其发病机制, 丰富 FXI 缺乏症数据库。方法 检测患者凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、凝血酶时间 (TT)、血浆纤维蛋白原水平 (Fbg), 完善 APTT 纠正试验及凝血因子 II 活性 (FII : C)、凝血因子 V 活性 (FV : C)、凝血因子 VII 活性 (FVII : C)、凝血因子 VIII 活性 (FVIII : C)、凝血因子 IX 活性 (FIX : C)、凝血因子 X 活性 (FX : C)、凝血因子 XI 活性 (FXI : C)、凝血因子 XII 活性 (FXII : C) 检测; 采用基于二代测序技术检测 FXI 相关基因的变异, 再用一代测序验证突变位点; 采用生物信息学工具预测突变位点致病的可能性及突变后对蛋白质功能的影响。结果 患者 APTT 明显延长, APTT 纠正试验显示可以纠正, FXI : C 明显下降; 基因测序结果发现与 FXI 相关的基因 F11 变异, 变异位点为 c. 1550C>A/p. Thr 517Asn, 序列信息上传至 NCBI (SRA Accession: PRJNA763306)。生物信息学分析预测该突变是有害的, 可能是患者出现凝血功能异常的原因。结论 该研究发现遗传性 FXI 缺乏症致病突变位点, 可能有助于今后该病的诊断和治疗。

**关键词:**凝血因子 XI 缺乏症; 基因突变; 二代测序技术; 生物信息学分析

**DOI:**10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 06. 027

**中图法分类号:**R554+. 1

**文章编号:**1673-4130(2022)06-0762-05

**文献标志码:**A

凝血因子 XI (FXI) 又称血浆凝血酶原前质 (PTA), 是由肝脏和巨核细胞所产生的一种丝氨酸蛋白酶原。早期凝血理论认为 FXI 是内源性凝血途径的重要因子, 由 FXIa 激活参与凝血过程; 修正后的凝血理论则认为 FXI 更重要的作用在于放大凝血级联反应, 促进凝血酶的持续生成, 抑制纤溶, 稳定血凝块<sup>[1]</sup>。FXI 缺乏症首次报道是在 1953 年, 相关学者发现该病是一种有别于抗血友病球蛋白 (AHG) 缺乏 (血友病 A) 和血浆凝血活酶成分 (PTC) 缺乏 (血友病 B) 的出血性疾病, 称为 PTA 缺乏病 (血友病 C)<sup>[2]</sup>; 该病的遗传方式为常染色体不完全隐性遗传, 与血友病 X 染色体连锁的隐性遗传方式不同, 故被剔除, 现普遍称为 FXI 缺乏症。FXI 缺乏症在人群中较罕见, 发病率仅为 1/10<sup>6</sup> ~ 1/10<sup>5</sup><sup>[3]</sup>。迄今为止, 人类基因突变数据库 [HGMD<sup>®</sup> gene result (cf. ac. uk)] 报道了 FXI 基因的 280 多个

突变个体。本研究通过基因测序技术, 对 1 例 FXI 缺乏症患者进行 FXI 基因的全外显子扩增并测序, 确定其基因的突变位点, 同时利用生物信息学工具分析该突变的致病可能性, 初步探讨该病例的发病机制。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 患者, 女, 汉族, 30 岁, 停经 52 d, 要求终止妊娠, 术前检查发现凝血功能异常。进一步完善活化部分凝血活酶时间 (APTT) 纠正试验和凝血因子活性检查确诊为 FXI 缺乏症。肝功能、血常规等检查均无明显异常。该患者身体健康, 无出血及血栓倾向, 月经规律, 量中, 无痛经。适龄结婚, 孕 3 产 2, 顺产 2 女, 丈夫及女儿均体健。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集及处理** 采集 2 管患者静脉血标本 2.7 mL, 以 3.2% 枸橼酸钠 1 : 9 抗凝, 1 管在规定的

△ 通信作者, E-mail: 2860788276@qq.com。

本文引用格式: 张婷婷, 薛卫斌, 蒋一澜, 等. 1 例凝血因子 XI 缺乏症基因突变及临床表现分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(6): 762-