

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.12.006

文章编号: 1005-8982 (2018) 12-0036-07

乳腺癌患者血清中 miRNA-21、miRNA-210、 miRNA-1246 的表达及临床意义 *

舒耀, 吴斌, 宋俊

(西南医科大学附属医院 乳腺外科, 四川 泸州 646000)

摘要: 目的 研究血清 miRNA 在乳腺癌 (BC) 患者及正常人群血清中的表达情况及临床诊断中的价值。**方法** 收集 BC 患者及健康体检者血清, 通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测各组 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 的表达情况。分析单个血清 miRNA 及多个血清 miRNA 联合检测对 BC 的诊断价值。**结果** 与健康体检者比较, BC 患者血清中 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 表达均增加 (均 $P=0.000$), 且 3 者在 BC III 期患者或有淋巴结转移的患者中高表达 ($P<0.05$)。血清 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 诊断 BC 患者的受试者工作特征曲线下面积 (AUC) 分别为 0.936 (95%CI: 0.866, 0.976)、0.980 (95%CI: 0.928, 0.998)、0.737 (95%CI: 0.638, 0.822), 特异性为 0.854 (95%CI: 0.722, 0.939)、0.917 (95%CI: 0.857, 0.995)、0.583 (95%CI: 0.432, 0.724)。且 miRNA-210 和 miRNA-1246 联合检测, miRNA-21、miRNA-210 和 miRNA-1246 联合检测的诊断效能并不优于 miRNA-210 单独检测。Fisher 判别分析建立 BC 的最佳诊断模型, 该模型排除非患者的能力较好, 而发现患者的能力相对较弱 (敏感性为 62.5%; 特异性为 100.0%)。**结论** miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 在 BC 患者血清中高表达, miRNA-210 单独诊断效能较好, 血清 miRNA-210 可能是一种理想的 BC 诊断标志物。

关键词: 乳腺癌; miRNA-21; miRNA-210; miRNA-1246; 诊断

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

Expression and diagnostic significance of miRNA-21, miRNA-210 and miRNA-1246 in breast cancer*

Yao Shu, Bin Wu, Jun Song

(Department of Breast Surgery, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University,
Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of miRNA in breast cancer (BC) patients and potential as diagnostic biomarkers. **Methods** Totally 48 BC patients as well as healthy volunteers were involved in this study. The levels of serum miRNA-21, miRNA-210 and miRNA-1246 were detected by RT-PCR. Diagnostic capability of miRNA were analyzed. **Results** Compared with normal subjects, levels of serum miRNA-21, miRNA-210 and miRNA-1246 were increased significantly in BC patients ($P=0.000$), especially in patients on stage III or patients with lymph node metastasis ($P<0.05$). ROC curve analyses indicated that AUC value of miRNA-21, miRNA-210 and miRNA-1246 was 0.936 (95% CI: 0.866, 0.976), 0.980 (95% CI: 0.928, 0.998) and 0.737 (95% CI: 0.638, 0.822), respectively. The specificity of miRNA-21, miRNA-210 and miRNA-1246 was 0.854 (95% CI: 0.722, 0.939), 0.917 (95% CI: 0.800, 0.977) and 0.583 (95% CI: 0.432, 0.724), respectively. Further analyses showed that, in terms of

收稿日期: 2017-07-11

* 基金项目: 2015 年泸州市人民政府 - 四川医科大学科技战略合作项目 (No: 2015sx-0023)

[通信作者] 吴斌, E-mail: wwbb129@sina.com

diagnostic capability, combination of miRNA-210 and miRNA-1246 or combination of miRNA-21, miRNA-210, and miRNA-1246 is not superior to miRNA-210 only. Fisher discriminant analysis established the best diagnostic model for BC, whose specificity is 100.0%. **Conclusion** miRNA-21, miRNA-210 and miRNA-1246 are highly expressed in breast cancer patients. Serum miR-210 may be an ideal diagnostic biomarker for BC.

Keywords: breast cancer; miRNA-21; miRNA-210; miRNA-1246; diagnosis

乳腺癌 (breast cancer, BC) 是全球妇女中最常见的癌症, BC 的早期诊断对于提高患者的生存率及生活质量至关重要。乳腺钼靶和超声成像被广泛用于 BC 的筛查, 但乳腺摄影术中乳房密度增加会降低检查的敏感性, 钼靶的阳性检出率并不高^[1]。两种基于血清的肿瘤生物标志物 (CA15-3 和 CEA) 用于检测 BC, 但敏感性和特异性有限^[2]。因此新型和更准确的无创生物诊断标志物引起人们的关注。到目前为止, 研究已经证明微小 RNA (miRNA) 不仅在肿瘤组织中异常表达, 也会在外周血中稳定存在, 其可作为肿瘤诊断的生物标志物^[3]。本研究对 48 例 BC 患者进行血清 miRNA-210、miRNA-21 和 miRNA-1246 水平检测, 分析其与 BC 发病的关系及诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 3 月-2017 年 6 月西南医科大学附属医院乳腺外科确诊的女性 BC 患者 48 例 (BC 组)。年龄 34 ~ 69 岁, 中位 52 岁; 绝经前患者 20 例 (41.7%), 绝经后 28 例 (58.3%); 非浸润性癌 6 例 (12.5%), 浸润性癌 42 例 (87.5%); 肿瘤直径小于 2 cm 者 15 例 (31.3%), 直径 2~5 cm 者 33 例 (68.7%); 有淋巴结转移者 13 例 (27.1%), 无淋巴结转移者 35 例 (72.9%); TNM 分期 (UICC 第 7 版): 0 期 15 例 (31.3%), I 期 9 例 (18.8%), II 期 14 例 (29.2%), III 期 10 例 (20.8%)。入选标准: ①所有病例均经病理学诊断为 BC; ②具备完整的临床资料; ③取得标本前均未接受过新辅助治疗; ④既往无肿瘤病史且无其他部位转移的 BC 患者。

正常对照组为同一时期进行年度体检的健康女性 48 例 (对照组)。年龄 37 ~ 68 岁, 中位 53 岁。两组患者在年龄、体重指数、哺乳史及月经史等方面比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究通过医院伦理委员会审批, 所有患者均知晓本研究目的、过程和意义, 并同意参与, 签署知情同意书。

1.2 材料与试剂

1.2.1 标本采集 BC 患者于手术前 1 天抽取清晨空

腹静脉血 6 ml、对照组受试者体检的当日 (空腹 10 h 以上) 采集其肘静脉血 6 ml (含促凝剂的真空采血管), 室温静置 30 min ~ 1 h, 血液凝固后取上清于洁净 1.5 ml EP 管, 置入 -80°C 冰箱保存待测。

1.2.2 试剂 血清 miRNA 提取试剂 (10% PEG 试剂、lysis buffer), 探针及引物设计 (美国 Applied Biosystem 公司), Rever Tra Ace qRT-PCR Kit, THUNDERBIRD Probe qPCR Mix (东洋坊上海科技生物有限公司)。

1.2.3 仪器与设备 ABI-7500 荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司、美国), 离心机 (Eppendorf、德国), 37°C 水浴锅、 95°C 金属浴锅 (北京田园奥瑞生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 RNA 的提取 将血清样本置入离心机中 4°C 5 000 r/min 离心 30 min, 取 400 μl 上层血清于洁净 1.5 ml EP 管中, 加入 44 μl 10% PEG 试剂, 于 4°C 冰箱静置沉淀 2 h, 再于离心机 4°C 5 000 r/min 离心 10 min, 得到的沉淀用 400 μl 柠檬酸钠缓冲液 (0.1 mol/L、pH=4.5) 冲洗 3 次, 再次于离心机中 4°C 5 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 往剩余的沉淀中加入 20 μl lysis buffer 溶液。

1.3.2 cDNA 合成 严格按照 Rever Tra ACE qRT-PCR 试剂盒说明书进行逆转录反应。反应体系: RNA 模板 5 μl , 引物 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246、U6 各 1 μl , Enzyme Mix 1 μl 、5 \times Buffer 4 μl 、DEPC 水 6 μl 。逆转录条件: 37°C 水浴箱中 2 h, 待转录结束后再置于 95°C 金属浴中 5 min, 然后立即置于冰盒上。

1.3.3 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 以荧光定量 PCR 仪使用 THUNDERBIRD Probe qPCR Mix 试剂盒进行扩增反应, 以 U6 为内参检测目的基因相对表达水平, U6、miRNA-21、miRNA-210 和 miRNA-1246 引物序列见表 1。反应体系: cDNA 产物 2 μl , 2 \times miRNA qPCR Mix 10 μl , 20 \times 引物各 1 μl , 余用 MQ 水补齐至 20 μl 。扩增条件: 95°C 预变性 1 min, 95°C 变性 15 s, 60°C 退火延伸 60 s, 共 40 个循环, 所有反应设立 2 个复孔。根据各样品 qRT-PCR 曲线得到 Ct

值, Ct 值表示荧光达到阈值所需要的循环数。miR-21/210/1246 在乳腺癌患者血清中的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 描述, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{miR-21/210/1246} - Ct_{U6}) - (Ct_{miR-21/210/1246} - Ct_{U6})_{\text{对照组}}$ 。

表 1 引物序列

| 基因 | 引物序列 |
|------------|------------------------------|
| U6 | 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGCAT-3' |
| miRNA-21 | 5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3' |
| miRNA-210 | 5'-CUGUGCGUGUGACAGCGGCUA-3' |
| miRNA-1246 | 5'-AAUGGAUUUUUGGAGCAGG-3' |

1.4 评判标准

ROC 曲线下面积值 1.0~0.5。在 AUC>0.5 的情况下, AUC 越接近于 1, 说明诊断效果越好。0.5<AUC<0.7 时有较低准确性; 0.7 ≤ AUC ≤ 0.9 时有一定准确性, AUC>0.9 以上时有较高准确性。AUC=0.5 时, 说明诊断方法完全不起作用, 无诊断价值。约登指数 (youden index, YI) 表示诊断试验 (或某一种检测方法) 发现真正的患者与非患者的总能力; 约登指数 = 敏感性 + 特异性 - 1, 其值于 0 ~ 1 之间波动, 其值愈大, 说明该诊断试验 (检测方法) 的真实性越好且更稳定, 其诊断价值越高。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 和 MedCalc 统计软件, 定性资料用频数及百分率表示, 定量资料用中位数及其四分位数间距表示, 采用秩和检验, 利用 ROC 曲线确定不同指标对 BC 的诊断价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。BC 的最佳诊断模型由 Fisher 判别分析建立。

2 结果

2.1 两组 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 的表达水平

BC 组患者血清 miRNA-21 的相对表达水平为 0.591 (0.340, 1.022), 对照组相对表达水平为 0.145 (0.078, 0.193) ($Z = -7.108, P = 0.001$)。BC 组患者血清 miRNA-210 的相对表达水平为 1.187 (0.411, 2.043), 对照组相对表达水平为 0.060 (0.032, 0.100) ($Z = -8.112, P = 0.000$)。BC 组患者血清 miRNA-1246 的相对表达水平为 109.758 (33.201, 282.513), 对照组相对表达水平为 36.383 (18.777, 65.918) ($Z = -4.008, P = 0.000$)。miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 3 者

在 BC 组患者血清中的表达水平均升高。

2.2 血清 miRNA-210、miRNA-1246、miRNA-21 水平与 BC 患者临床特征的关系

血清 miRNA-210、miRNA-1246、miRNA-21 在 III 期 BC 患者或有淋巴结转移的患者中高表达 ($P < 0.05$), 而与绝经状况、肿瘤大小及病理类型无关系 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 血清 miRNA 在 BC 诊断中的 ROC 曲线分析

通过 ROC 曲线分析显示, miRNA-210 曲线下面积 (AUC) 为 0.980 (95%CI: 0.928, 0.998), 敏感性为 95.80% (95%CI: 0.857, 0.995), 特异性为 91.70% (95%CI: 0.800, 0.977), 约登指数为 0.875; miRNA-21 的 AUC 为 0.936 (95%CI: 0.866, 0.976), 敏感性为 89.60% (95%CI: 0.773, 0.965), 特异性为 85.40% (95%CI: 0.722, 0.939), 约登指数为 0.750; miRNA-1246 的 AUC 为 0.737 (95%CI: 0.638, 0.822), 敏感性为 58.30% (95%CI: 0.432, 0.724), 特异性为 89.60% (95%CI: 0.773, 0.965), 约登指数为 0.479。提示 miRNA-210、miRNA-21、miRNA-1246 对 BC

表 2 BC 患者血清 miRNA-210、miRNA-1246、miRNA-21 表达水平与临床特征的关系

| 变量 | miRNA-210 表达水平 | 95%CI | | Z 值 | P 值 |
|--------|-------------------|-------|-------|--------|-------|
| | | 下限 | 上限 | | |
| 绝经情况 | | | | | |
| 绝经前 | 0.674 | 0.379 | 1.478 | -1.527 | 0.127 |
| 绝经后 | 1.338 | 0.627 | 2.448 | | |
| 病理类型 | | | | | |
| 非浸润性癌 | 0.973 | 0.265 | 1.501 | -0.748 | 0.454 |
| 浸润性癌 | 1.224 | 0.417 | 2.073 | | |
| 肿瘤大小 | | | | | |
| <2 cm | 0.770 | 0.373 | 1.53 | -1.123 | 0.261 |
| 2~5 cm | 1.312 | 0.472 | 2.116 | | |
| 临床分期 | | | | | |
| 0 期 | 0.408 | 0.198 | 0.778 | 21.367 | 0.000 |
| I 期 | 0.770 | 0.209 | 1.430 | | |
| II 期 | 1.452 | 0.748 | 2.282 | | |
| III 期 | 2.655 | 1.351 | 4.709 | | |
| 淋巴结转移 | | | | | |
| 无 | 0.778 | 0.373 | 1.532 | -2.703 | 0.007 |
| 有 | 1.873 | 1.224 | 4.220 | | |

续表 2

| 变量 | miRNA-1246 表达水平 | 95%CI | | Z 值 | P 值 | miRNA-21 表达水平 | 95%CI | | Z 值 | P 值 |
|--------|--------------------|---------|---------|--------|-------|------------------|-------|-------|--------|-------|
| | | 下限 | 上限 | | | | 下限 | 上限 | | |
| 绝经情况 | | | | | | | | | | |
| 绝经前 | 81.686 | 22.466 | 270.707 | -1.234 | 0.217 | 0.600 | 0.374 | 0.962 | -0.136 | 0.892 |
| 绝经后 | 139.865 | 50.466 | 282.513 | | | 0.608 | 0.351 | 1.179 | | |
| 病理类型 | | | | | | | | | | |
| 非浸润性癌 | 109.758 | 79.790 | 207.794 | -0.156 | 0.876 | 0.461 | 0.305 | 1.436 | -0.623 | 0.533 |
| 浸润性癌 | 108.541 | 30.863 | 298.166 | | | 0.617 | 0.389 | 1.039 | | |
| 肿瘤大小 | | | | | | | | | | |
| <2 cm | 61.711 | 19.279 | 184.626 | -1.613 | 0.107 | 0.617 | 0.411 | 1.024 | -0.078 | 0.938 |
| 2~5 cm | 133.987 | 42.877 | 301.847 | | | 0.599 | 0.349 | 1.049 | | |
| 临床分期 | | | | | | | | | | |
| 0 期 | 32.627 | 14.517 | 133.987 | 12.437 | 0.006 | 0.411 | 0.244 | 0.617 | 14.444 | 0.002 |
| 1 期 | 50.830 | 37.075 | 185.598 | | | 0.550 | 0.236 | 0.960 | | |
| 2 期 | 109.270 | 48.271 | 371.905 | | | 0.591 | 0.458 | 1.069 | | |
| 3 期 | 268.903 | 149.670 | 353.868 | | | 1.054 | 0.753 | 1.579 | | |
| 淋巴结转移 | | | | | | | | | | |
| 无 | 92.680 | 29.373 | 186.571 | -2.053 | 0.040 | 0.522 | 0.321 | 0.744 | -2.540 | 0.011 |
| 有 | 182.273 | 76.939 | 456.536 | | | 0.911 | 0.657 | 1.276 | | |

均有一定诊断效能。而 $AUC_{miRNA-21+miRNA-210+miRNA-1246} > AUC_{miRNA-210+miRNA-1246} > AUC_{miRNA-21+miRNA-210} > AUC_{miRNA-21+miRNA-1246}$ 。 $AUC_{miRNA-210+miRNA-1246}$ vs $AUC_{miRNA-210}$, 差异无统计学意义 ($Z = 1.332, P = 0.183$), 也就是说 $miRNA-210+miRNA-1246$ 联合检测、 $miRNA-21+miRNA-210+miRNA-1246$ 联合检测的诊断效能并不优于 $miRNA-210$ 单独检测。见表 3 和图 1。

2.4 BC 诊断模型的建立

Fisher 判别分析用于建立 BC 的最佳诊断模型, 其中进入 $F = 3.84$, 移除 $F = 2.71$, 得到: $miRNA-21(a_1)$ 、 $miRNA-210(a_2)$ 、 $miRNA-1246(a_3)$ 的判别方程系数, 见表 4 和图 2。

$$Q_{1(对照组)} = 0.698X_{a1} - 0.466X_{a2} + 0.004X_{a3} - 0.836 ;$$

$$Q_{2(病例组)} = 2.031X_{a1} + 0.611X_{a2} + 0.004X_{a3} - 2.384。$$

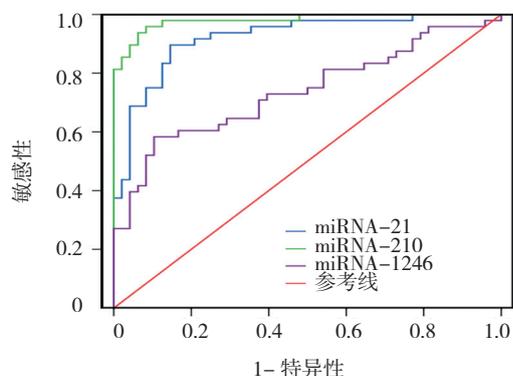
表 3 不同指标或指标组合的诊断价值比较 (n=48)

| 诊断组合 | AUC | 95% CI | | 临界值 | 敏感性 | 95% CI | | 特异性 | 95% CI | | 尤登指数 |
|-------------------------------|-------|--------|-------|--------------------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | | 下限 | 上限 | | | 下限 | 上限 | | 下限 | 上限 | |
| miRNA-21 | 0.936 | 0.866 | 0.976 | 0.235 | 0.896 | 0.773 | 0.965 | 0.854 | 0.722 | 0.939 | 0.750 |
| miRNA-210 | 0.980 | 0.928 | 0.998 | 0.169 | 0.958 | 0.857 | 0.995 | 0.917 | 0.800 | 0.977 | 0.875 |
| miRNA-1246 | 0.737 | 0.638 | 0.822 | 92.526 | 0.583 | 0.432 | 0.724 | 0.896 | 0.773 | 0.965 | 0.479 |
| miRNA-21+miRNA-210+miRNA-1246 | 0.989 | 0.942 | 1.000 | 0.236 ^a | 0.979 | 0.889 | 0.999 | 0.917 | 0.800 | 0.977 | 0.896 |
| miRNA-21+miRNA-210 | 0.982 | 0.931 | 0.998 | 0.446 ^a | 0.938 | 0.828 | 0.987 | 0.958 | 0.857 | 0.995 | 0.896 |
| miRNA-21+miRNA-1246 | 0.934 | 0.864 | 0.974 | 0.401 ^a | 0.854 | 0.722 | 0.939 | 0.875 | 0.748 | 0.953 | 0.729 |
| miRNA-210+miRNA-1246 | 0.989 | 0.943 | 1.000 | 0.249 ^a | 0.979 | 0.889 | 0.999 | 0.917 | 0.800 | 0.977 | 0.896 |

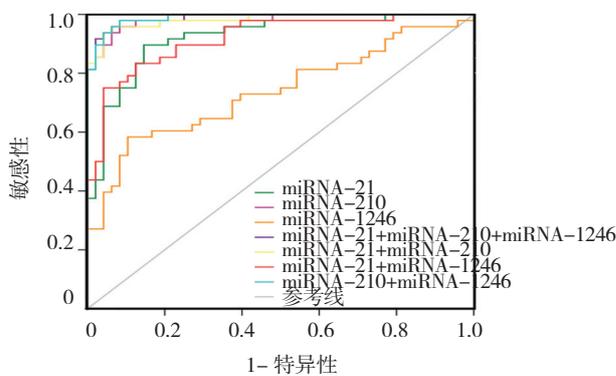
注: † 表中各组合诊断的临界值均为经 Logistic 回归方程计算所得的预测

即，当将患者上述参数（a1~a3）分别带入方程 Q1、Q2，当 Q1>Q2 时，认为该患者应归为对照组（正常组）；当 Q1<Q2 时，认为该患者应归为病例组，应对该患者做进一步的筛查与核实。

应用该模型对本样本进行回代判别，结果显示：本判别模型的敏感性为 62.5%；特异性为 100.0%，即该模型排除非患者的能力较好，而发现患者的能力相对较弱，见表 5。



A 不同指标的单独诊断



B 不同指标或指标组合的联合诊断

图 1 不同指标的单独或联合诊断价值比较

表 4 分类函数系数（未标准化）

| 组别 | miRNA-21 | miRNA-210 | miRNA-1246 | 常量 |
|-----|----------|-----------|------------|--------|
| 对照组 | 0.698 | -0.466 | 0.004 | -0.836 |
| 病例组 | 2.031 | 0.611 | 0.004 | -2.384 |

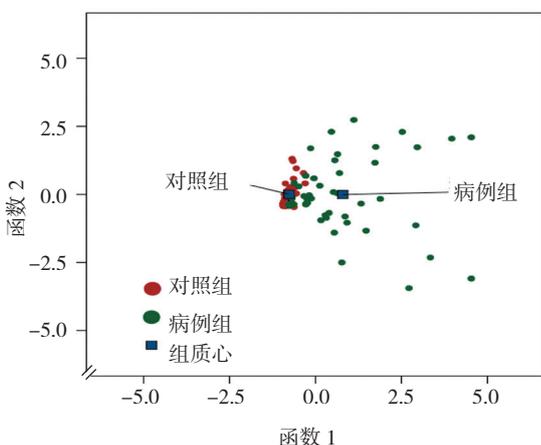


图 2 判别分析对 BC 诊断的效果图

表 5 判别模型分类结果

| 组别 | 预测结果 | | 总计 |
|-----|------------|-----------|----|
| | 病例组 | 对照组 | |
| 病例组 | 48 (100.0) | 0 (0.0) | 48 |
| 对照组 | 18 (37.5) | 30 (62.5) | 48 |
| 总计 | 66 | 30 | |

3 讨论

miRNA 是 21 ~ 25 个核苷酸组成的非编码 RNA，其在转录后水平上以序列特异性方式负调节基因表达。每个 miRNA 通过与靶 mRNA 的 3'-非翻译区结合以诱导信号降解或抑制翻译来控制多个靶基因的表达。miRNA 表达可以对细胞表型和功能产生重要的影响^[4]。许多研究发现，miRNA 与肿瘤的发展，侵袭，转移和其他特征密切相关，表明 miRNA 有可能成为癌症治疗新策略的基础^[5]。CHEN 等^[6-7]将各种来源的血清 miRNA 在恶劣条件下进行处理，发现煮沸、低/高 pH，RNA 降解酶、反复冻融或延长储存时间等方法均不会造成 miRNA 的损失，进一步证实血清 miRNA 的稳定性，其具备作为疾病分子生物标志物的许多优点。几项研究已经评估血清或血浆 miRNA 作为不同类型癌症的生物标志物的潜在用途，如肺癌、结直肠癌、卵巢癌、肾细胞癌、舌鳞状细胞癌及成胶质细胞瘤^[8-13]。

miRNA-21 在大多数人类肿瘤中表达，已被证明是致癌过程中的关键调节因子，在肿瘤形成和进展中起重要作用。IORIO 等^[14]报道 miRNA-21 在 BC 组织中过表达，可能是 BC 有用标记。WANG 等^[15]使用 qRT-PCR 测定结直肠癌组织或细胞系中 miRNA-1246 的 miRNA 表达水平，发现 miRNA-1246 在肿瘤组织中的表达水平高于成对的相邻组织。此外，SW620、SW480、HCT116、HT29 和 LOVO 细胞系中 miRNA-1246 的表达水平也比正常肠上皮细胞高，结果提示 miRNA-1246 可能参与结直肠癌的形成和进展，其可能具有促癌基

因的作用。位于染色体 11p15.5 上的 miRNA-210 在许多人类癌症中过表达^[16-18]。miRNA-210 过度表达, 特别是在缺氧条件下, 影响涉及肿瘤发展的许多过程, 包括促进血管生成和 DNA 修复能力的降低^[17, 19]。尿路上皮细胞癌 (UTUC) 组织中 miRNA-210 表达高于非癌性尿路上皮细胞, 且 miRNA-210 表达水平与肿瘤分期和组织学分级正相关, 这提示 miRNA-210 可能是 UTUC 的重要致癌因子^[20]。本研究均证明, 恶性肿瘤的发生、进展与 miRNA 表达失衡有关。但是通过活检或手术取得标本是 1 个有创过程, 容易引起邻近组织损伤或癌症转移。

YING 等^[21] 研究证实 miRNA-210 过表达促进癌细胞的侵袭和转移。ROTKRUA 等^[22] 发现, miRNA-210 的血清水平在弥漫性胃癌的小鼠模型中高于对照组。YU 等^[23] 提出 miRNA-210 可能是早期检测胃癌的可靠标志物。HENEGHAN 等^[24] 发现在 148 例 BC 患者的循环血中, miRNA-195 和 let-7a 的水平较正常对照组高, 肿瘤切除后降低至与对照组相当的水平。上述研究表明, 血清 miRNA 的检测可以作为癌症无创诊断的潜在生物标志物。本研究结果显示, BC 组患者的水平高于对照组 ($P < 0.001$), 提示 3 者在 BC 患者中可能发挥促癌基因的作用, 其血清水平过表达可能是 BC 诊断的潜在生物标志物。进一步分析发现, BC 患者 miRNA-21、miRNA-210 和 miRNA-1246 血清水平与临床特征相关, 3 者在 BC III 期患者、有淋巴结转移的患者高表达 ($P < 0.05$)。以上结果表明, miRNA-21、miRNA-210 和 miRNA-1246 不但参与 BC 发病, 还可能与肿瘤细胞转移、临床分期有关。WANG 等^[25] 发现 miRNA-21 在 BC 患者血清中增高 ($P < 0.001$)。CHEN 等^[26] 提出 BC 患者血清 miRNA-21 高表达不仅与 BC 的发生有关, 而且与淋巴结转移有关。YAN 等^[27] 研究表明, miRNA-21 的过表达与临床分期、淋巴结转移和预后差相关。上述 3 个研究结论与本文结果一致。

为进一步评估血清 miRNA-21、miRNA-210、miRNA-1246 对 BC 诊断的价值, 本研究分别对 3 者做 ROC 曲线分析, 结果显示, miRNA-210+miRNA-1246 联合检测、miRNA-21+miRNA-210+miRNA-1246 联合检测的诊断效果并不优于 miRNA-210 单独检测。Fisher 判别分析用于建立 BC 的最佳诊断模型, 该模型的敏感性为 62.5%; 特异性为 100.0%, 即排除非患者的能力较好, 而发现患者的能力相对较弱。故

miRNA-210 可能是一种理想的 BC 诊断标志物。

综上所述, BC 患者血清 miRNA-21、miRNA-210 和 miRNA-1246 水平呈高表达状态, 对 BC 有一定的诊断价值, miRNA-210 对 BC 的诊断价值可能最高。3 者与肿瘤分期和淋巴结转移有关系。本研究存在样本量小, 仅对比 BC 患者和健康组血清 miRNA 的表达水平, 未深入研究多种因素如手术、化疗等对血清中 miRNA 的影响。将在后续的研究中开展相应的工作。

参 考 文 献:

- [1] CHECKA C M, CHUN J E, SCHNABEL F R, et al. The relationship of mammographic density and age: implications for breast cancer screening[J]. AJR Am J Roentgenol, 2012, 198(3): W292-295.
- [2] GAO J, ZHANG Q, XU J, et al. Clinical significance of serum miR-21 in breast cancer compared with CA153 and CEA[J]. Chin J Cancer Res, 2013, 25(6): 743-748.
- [3] GILLIS A J, RIJLAARSDAM M A, EINI R, et al. Targeted serum miRNA (TSmiR) test for diagnosis and follow-up of (testicular) germ cell cancer patients: a proof of principle[J]. Mol Oncol, 2013, 7(6): 1083-1092.
- [4] SOON P S, KIARIS H: MicroRNAs in the tumor microenvironment: big role for small players[J]. Endocr Relat Cancer 2013, 20(5): R257-R267.
- [5] CHOU J, SHAHI P, WERB Z, et al. microRNA-mediated regulation of the tumor micro environment[J]. Cell Cycle 2013(12): 3262-3271.
- [6] CHEN X, BA Y, MA L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997-1006.
- [7] BOERI M, VERRI C, CONTE D, et al. MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(9): 3713-3718.
- [8] CHEN X, BA Y, MA L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997-1006.
- [9] NG E K, CHONG W W, JIN H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening[J]. Gut, 2009, 58(10): 1375-1381.
- [10] RESNICK K E, ALDER H, HAGAN J P, et al. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real time PCR platform[J]. Gynecol Oncol, 2009, 112(1): 55-59.
- [11] FENG G, LI G, GENTIL-PERRET A, et al. Elevated serum-circulating RNA in patients with conventional renal cell cancer[J]. Anticancer Res, 2008, 28(1A): 321-326.
- [12] WONG T S, LIU X B, WONG B Y, et al. Mature miR-184 as

- potential oncogenic microRNA of squamous cell carcinoma of tongue[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(9): 2588-2592.
- [13] SKOG J, WÜRDINGER T, VAN RIJN S, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(12): 1470-1476.
- [14] IORIO M V, FERRACIN M, LIU C G, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. *Cancer Res* 2005(65): 7065-7070.
- [15] WANG S, ZENG Y, ZHOU J M, et al. MicroRNA-1246 promotes growth and metastasis of colorectal cancer cells involving CCNG2 reduction[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1): 273-280.
- [16] VALERA V A, WALTER B A, LINEHAN W M, et al. Regulatory effects of microRNA-92 (miR-92) on VHL gene expression and the hypoxic activation of miR-210 in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2011(2): 515-526.
- [17] YU P, FAN S, HUANG L, et al. MIR210 as a potential molecular target to block invasion and metastasis of gastric cancer[J]. *Med Hypotheses*, 2015, 84(3): 209-212.
- [18] HO A S, HUANG X, CAO H, et al. Circulating miR-210 as a novel hypoxia marker in pancreatic cancer[J]. *Transl Oncol*, 2010, 3(2): 109-113.
- [19] IVAN M, HUANG X. MiR-210: fine-tuning the hypoxic response[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014(772): 205-227.
- [20] KE H L, LI W M, LIN H H, et al. Hypoxia-regulated microRNA-210 overexpression is associated with tumor development and progression in upper tract urothelial carcinoma[J]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(6): 578-584.
- [21] YING Q, LIANG L, GUO W, et al. Hypoxia-inducible microRNA-210 augments the metastatic potential of tumor cells by targeting vacuole membrane protein 1 in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology* 2011, 54(6): 2064-2075.
- [22] ROTKRUA P, SHIMADA S, MOGUSHI K, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for early detection of diffuse-type gastric cancer using a mouse model[J]. *Br J Cancer* 2013, 108(4): 932-940.
- [23] P, FAN S, HUANG L, et al. MIR210 as a potential molecular target to block invasion and metastasis of gastric cancer[J]. *Med Hypotheses*, 2015, 84(3): 209-212.
- [24] HENEGHAN H M, MILLER N, LOWERY A J, et al. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer[J]. *Ann Surg*, 2010, 251(3): 499-505.
- [25] WANG B, ZHANG Q. The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(10): 1659-1666.
- [26] 陈崇, 周桃玉, 温旺荣, 等. 家族性和三阴性乳腺癌血清中 miR-21 的表达 [J]. 暨南大学学报 (自然科学与医学版), 2015, 36(1): 50-55.
- [27] YAN L X, HUANG X F, SHAO Q, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis[J]. *RNA*, 2008, 14(11): 2348-2360.

(王荣兵 编辑)