

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.08.011  
文章编号: 1005-8982 (2019) 08-0054-04

## MicroRNA-7 对膀胱癌诊断和复发的作用机制研究\*

欧阳波, 武明瑞, 李家兵

[绵阳市第三人民医院(四川省精神卫生中心)泌尿外科, 四川 绵阳 621000]

**摘要: 目的** 探讨 microRNA-7 (miR-7) 对膀胱癌患者诊断和复发的作用及意义。**方法** 选取 2014 年 12 月—2015 年 12 月绵阳市第三人民医院收治的 90 例膀胱癌(膀胱癌组)、30 例正常(正常组)、30 例泌尿结石(泌尿结石组)及 30 例泌尿感染患者(泌尿感染组)病例资料,采集患者血清和晨尿,采用实时聚合酶链反应检测患者血清和晨尿 miR-7 含量,分析其诊断价值,以及与肿瘤预后及复发的关系。**结果** 与正常组比较,膀胱癌组血清 miR-7 mRNA 表达下降 ( $P < 0.05$ );正常组、泌尿结石组及泌尿感染组尿沉渣 miR-7 mRNA 表达比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );与正常组比较,膀胱癌组尿沉渣 miR-7 mRNA 表达下降 ( $P < 0.05$ );膀胱癌组尿沉渣 miR-7 诊断价值优于血清 miR-7 ( $P < 0.05$ );随着膀胱癌患者 TNM 分期加重,膀胱癌患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 下降 ( $P < 0.05$ );对 90 例膀胱癌患者进行术后随访,随访时间 ( $1.36 \pm 0.59$ ) 年,其中 25 例出现术后复发,复发性膀胱癌患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达较未复发膀胱癌患者下降 ( $P < 0.05$ )。**结论** 血清和尿沉渣 miR-7 可作为膀胱癌诊断、预后及随访的生物学肿瘤标志物。

**关键词:** 膀胱肿瘤;血清;预后;复发

**中图分类号:** R737.14

**文献标识码:** A

## Mechanism of miR-7 in the diagnosis and recurrence of bladder cancer patients\*

Bo Ou-yang, Ming-rui Wu, Jia-bing Li

[Department of Urology, the Third People's Hospital of Mianyang City (Sichuan Mental Health Center), Mianyang, Sichuan 621000, China]

**Abstract: Objective** To investigate the effect and significance of miR-7 in the diagnosis and recurrence of bladder cancer patients. **Methods** Ninety patients with bladder cancer and 90 non-tumor subjects (30 in normal group, 30 in urinary stone group, 30 in urinary infection group) were enrolled in our hospital from 2014.12 to 2015.12. Serum and morning urine were detected by Real-Time PCR. The levels of miR-7 were analyzed for diagnostic value and relationship between prognosis and recurrence. **Results** Compared with the normal group, the expression of serum miR-7 mRNA in bladder cancer patients was decreased ( $P < 0.05$ ). There was no difference in the expression of miR-7 mRNA in urine sediments among normal group, urinary stone group and urinary infection group ( $P > 0.05$ ). Compared with the normal group, the expression of miR-7 mRNA in urine sediments of bladder cancer patients was decreased ( $P < 0.05$ ). The diagnostic value of urine sediment miR-7 was greater than that of serum miR-7 ( $P < 0.05$ ). With the aggravation of TNM staging in bladder cancer patients, the expression of miR-7 mRNA in serum and urine

收稿日期: 2018-10-19

\* 基金项目: 四川省绵阳市卫计委科研课题 (No: 201601)

[通信作者] 李家兵, E-mail: 190021304@qq.com

sediment of bladder cancer patients decreased ( $P < 0.05$ ). Postoperative follow-up was performed on 90 patients with bladder cancer. The follow-up time was  $(1.36 \pm 0.59)$  years, and 25 of them had postoperative recurrence. The expression of miR-7 mRNA in serum and urine sediment of patients with recurrent bladder cancer was decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Serum and urinary sediment miR-7 can be used as a biological tumor marker for the diagnosis, prognosis and follow-up of bladder cancer.

**Keywords:** urinary bladder neoplasms; serum; prognosis; recurrence

膀胱癌具有易复发、易转移等特点, 容易发生局部进展和远处转移。提高膀胱癌的诊疗水平, 对其早期诊断和及时随访具有重大意义<sup>[1-5]</sup>。MicroRNA-7 (miR-7) 作为肿瘤研究的热点因子, 抑制受体激酶插入嵌合受体 (kinase insert domain-containing receptor, *KDR*)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, *VEGF*) 及胰岛素样生长因子 (insulin like growth factor, *IGF*) 等基因表达, 在肿瘤发生、发展中 miRNA 发挥抑癌基因作用, 其可调控多种肿瘤<sup>[6-7]</sup>。本研究旨在探讨血清和尿沉渣 miR-7 用于膀胱癌诊断、预后及随访的临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2014 年 12 月—2015 年 12 月绵阳市第三人民医院收治的 90 例膀胱癌 (膀胱癌组)、30 例正常 (正常组)、30 例泌尿结石 (泌尿结石组) 及 30 例泌尿感染患者 (泌尿感染组) 病例资料。膀胱癌患者经病理组织学确诊, 均行诊断性电切或膀胱切除术, 术后常规灌注吡柔比星或表柔比星, 膀胱镜检 1 次 / 3 个月。膀胱癌组: 男性 62 例, 女性 28 例; 平均发病年龄  $(49.53 \pm 12.30)$  岁; TNM 分期, I、II 期 35 例, III、IV 期 55 例。正常组: 男性 15 例, 女性 15 例; 平均年龄  $(46.59 \pm 12.96)$  岁。泌尿结石组: 男性 20 例, 女性 10 例; 平均发病年龄  $(51.33 \pm 11.92)$  岁。泌尿感染组: 男性 19 例, 女性 11 例; 平均发病年龄  $(50.66 \pm 10.35)$  岁。本研究通过本院伦理委员会批准, 患者及家属签署知情同意书。

### 1.2 样品收集

分别于入院当日、治疗后第 2 天及随访时采血。清晨空腹采集膀胱癌患者、正常、泌尿结石及泌尿感染患者静脉血 10 ml, 2 000 r/min 离心 15 min, 弃去血浆留取血清待检。收集膀胱癌、正常、泌尿结石及泌尿感染患者晨起中段尿 150 ml, 2 000 r/min 离心

15 min, 吸掉上清留取尿沉渣用于提取 RNA。

### 1.3 实时聚合酶链反应

采用 Trizol 法提取血液和尿液内总 RNA。用含有 gDNA 橡皮擦功能的 PrimeScript RT 试剂盒进行逆转录, 合成 cDNA 进行扩增, 用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒按照说明书操作, 进行实时聚合酶链反应 (日本 TaKaRa 公司, 大连宝生生物技术有限公司)。每个实验重复  $\geq 3$  次, 通过计算 miR-7 基因的相对表达量。

### 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 4 组患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 水平比较

4 组患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 水平比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与正常组比较, 膀胱癌组患者血清和尿沉渣 miR-7 mRNA 表达下降 ( $P < 0.05$ )。其他 3 组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 4 组患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	血清	尿沉渣
正常组	30	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
泌尿结石组	30	0.96 $\pm$ 0.16	0.94 $\pm$ 0.12
泌尿感染组	30	1.02 $\pm$ 0.12	1.01 $\pm$ 0.16
膀胱癌组	90	0.61 $\pm$ 0.07	0.74 $\pm$ 0.10
<i>F</i> 值		71.510	37.820
<i>P</i> 值		0.000	0.000

## 2.2 血清及尿沉渣 miR-7 的诊断价值

膀胱癌患者血清 miR-7 AUC 曲线下面积为 0.82, 敏感性为 72.00%, 特异性为 80.00%; 尿沉渣 miR-7 AUC 曲线下面积为 0.89, 敏感性为 83.33%, 特异性为 86.67%。膀胱癌患者尿沉渣 miR-7 诊断价值优于血清 miR-7 ( $P=0.001$ )。见表 2。

表 2 血清及尿沉渣 miR-7 诊断价值分析

组别	AUC	95% CI		敏感性	特异性
		下限	上限		
血清 miR-7	0.82	0.75	0.86	72.00	80.00
尿沉渣 miR-7	0.89	0.85	0.94	83.33	86.67

## 2.3 膀胱癌患者不同分期血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达水平比较

膀胱癌患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达水平比较, 采用  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), TNM I、II 期膀胱癌患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达高于 TNM III、IV 期患者, 即随着膀胱癌患者 TNM 分期而加重。见表 3。

表 3 不同分期膀胱癌患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分期	$n$	血清 miR-7 mRNA	尿沉渣 miR-7 mRNA
I、II 期	35	1.42 ± 0.13	1.75 ± 0.14
III、IV 期	55	1.20 ± 0.10	1.16 ± 0.11
$t$ 值		7.347	18.272
$P$ 值		0.000	0.000

## 2.4 膀胱癌未复发与复发患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达水平比较

对 90 膀胱癌患者进行术后随访, 随访时间 ( $1.36 \pm 0.59$ ) 年, 其中 25 例出现术后复发。膀胱癌未复发与复发患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达水平比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 膀胱癌复发患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达较未复发患者下降。见表 4。

表 4 膀胱癌未复发与复发患者血清及尿沉渣 miR-7 mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	血清 miR-7 mRNA	尿沉渣 miR-7 mRNA
未复发	65	1.37 ± 0.11	1.51 ± 0.14
复发	25	1.04 ± 0.09	1.11 ± 0.10
$t$ 值		12.720	13.360
$P$ 值		0.000	0.000

## 3 讨论

目前诊断膀胱癌主要包括 CT、MRI 及 B 超等影像学检查和膀胱镜检查、组织活检及尿脱落细胞学检查等<sup>[8-9]</sup>。B 超作为膀胱癌筛选的主要手段, 能检测直径  $\geq 0.5$  cm 的膀胱肿瘤, 但极易受膀胱周围组织的影响; CT 和 MRI 价格昂贵, 临床多用于浸润性膀胱癌的检测, 而对原位癌及微小肿瘤的检测效果不佳, 常导致肿瘤诊断的延误治疗甚至漏诊; 膀胱镜检查及组织活检是临床诊断的金标准, 但具有创伤性, 患者创口较大易感染, 虽然尿脱落细胞学检查特异性的较高, 但其敏感性太差<sup>[10-11]</sup>。因此, 寻找一种高效、方便、快捷的肿瘤标记物成为现如今膀胱癌早期诊断的重点。

miR-7 其序列位于人类第 9 号染色体异源核糖核蛋白 K 基因的内含子区域, 成熟 miR-7 产物序列高度的保守, 可在不同调控网状系统中及肿瘤内传递稳定<sup>[12-13]</sup>。研究表明, 高表达的 miR-7 能抑制 *Pak1*、*VEGF* 及 *IGF1R* 等基因, 而在人类乳腺癌、施万细胞瘤、胶质瘤及舌鳞癌等多种肿瘤组织中呈低表达, 说明其可调节起到多种肿瘤的发生发展, 产生抑癌基因的功能<sup>[14]</sup>。miR-7 是新近发现的 miRNA 家族成员, 其在多种恶性肿瘤中呈低表达, 在抑制肿瘤细胞生长、侵袭、转移中发挥重要作用。miR-7 能够通过作用于 FAK 基因的 3' UTR 区的特定位点对其表达进行负性调节, 而影响肿瘤细胞迁移及侵袭。本研究结果表明, 血清和尿沉渣 miR-7 在诊断的特异性及敏感性方面有优势, 并与膀胱癌 TNM 分期相关, 这预示血清和尿沉渣 miR-7 可能作为判断膀胱癌预后的无创诊断指标。血清和尿沉渣 miR-7 作为微创诊断指标, 膀胱癌患者尿沉渣 miR-7 诊断价值优于血清 miR-7, 与膀胱癌术后复发相关, 可用于指导术后膀胱镜检查的随访方案的制定。

综上所述, 血清和尿沉渣 miR-7 可用于作为诊断膀胱癌诊断、预后及随访的生物学肿瘤标志物, 但血清及尿沉渣 miRNA 用于膀胱癌的临床诊断尚需要进一步大样本的前瞻性研究。

## 参 考 文 献:

- [1] 徐海波, 熊异平, 余恒勇. 膀胱癌组织中 MMP-2, MMP-9, Survivin, Livin 和 VEGF 表达的临床意义分析 [J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(1): 51-54.
- [2] 周商言, 张曼. AG490 在人膀胱癌细胞株 Pumc-91 中 STAT3 的

- 抑制作用 [J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 4(23), 451-454.
- [3] 余婧, 孙丽. 中老年体检人群 CCL18 和 CEA 表达水平检测在膀胱癌的应用价值 [J]. 检验医学与临床, 2017, 7(14), 1006-1008.
- [4] 李芬, 王美英, 张振. 长链非编码 RNA 与膀胱癌的研究进展 [J]. 检验医学与临床, 2016, 5(13), 703-706.
- [5] 郑曦, 张青, 郭宏骞. 热灌注化疗治疗非肌层浸润性膀胱癌的研究进展 [J]. 东南大学学报 (医学版), 2016, 35(4): 617-621.
- [6] 王忆勤, 姚俊, 王照凡, 等. HOLBT 和 TURBT 治疗表浅层膀胱癌的术后肿瘤恶性程度, 机体创伤程度评估 [J]. 海南医学院学报, 2016, 22(13): 1406-1409.
- [7] 史金虎, 王刚, 郭留雄, 等. mir-92a, mir-100 及 mir-143 在膀胱癌患者血清的表达及临床意义 [J]. 现代泌尿外科杂志, 2018, 23(5): 336-339.
- [8] 李小辉, 韩兴涛, 杨金辉, 等. miR-503-5p 通过干扰 Rb/E2F 信号通路抑制膀胱癌 T24 和 EJ 细胞的增殖 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(10): 1360-1364.
- [9] 吕梦欣, 陈俊霞. 抑制 miR-130b-3p 通过上调 PTEN 和灭活 PI3K-AKT 及整合素  $\beta$ 1/FAK 信号通路抑制膀胱癌细胞增殖 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2017, 33(2): 150-159.
- [10] 林立国, 汤兰花, 吴国忠, 等. MicroRNA-153 在膀胱癌组织中的表达及对膀胱癌细胞生物学特性的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(6): 533-536.
- [11] 王晓东, 王元林, 石华, 等. 腹腔镜与开放手术方式根治性膀胱切除术治疗膀胱癌的临床研究 [J]. 中国内镜杂志, 2016, 22(2): 42-45.
- [12] CAO Q, MAO Z D, SHI Y J, et al. MicroRNA-7 inhibits cell proliferation, migration and invasion in human non-small cell lung cancer cells by targeting FAK through ERK/MAPK signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47): 77468-77481.
- [13] HUA K, JIN J, ZHANG H, et al. MicroRNA-7 inhibits proliferation, migration and invasion of thyroid papillary cancer cells via targeting CKS2 [J]. *International Journal of Oncology*, 2016, 49(4): 1531.
- [14] GILES K M, BROWN R A M, CLARISSA G, et al. microRNA-7-5p inhibits melanoma cell proliferation and metastasis by suppressing RelA/NF- $\kappa$ B [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22): 31663-31680.

(唐勇 编辑)