

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.18.005
文章编号: 1005-8982 (2019) 18-0025-05

脑胶质瘤患者血清 microRNA-375 的表达水平及临床意义

白晓斌¹, 霍龙伟², 谢万福¹, 徐高峰¹, 王茂德¹

(1. 西安交通大学第一附属医院 神经外科, 陕西 西安 710061; 2. 榆林市第一医院 神经外科, 陕西 榆林 719000)

摘要: 目的 探讨脑胶质瘤患者血清 microRNA-375 (miRNA-375) 水平及其临床意义。**方法** 选择 2012 年 1 月—2013 年 12 月西安交通大学第一附属医院神经外科收治的脑胶质瘤患者 120 例作为脑胶质瘤组, 选取同期该院健康体检群众 120 例作为对照组。逆转录聚合酶链反应测定患者血清 miRNA-375 水平, 对两组患者的临床资料进行比较分析。**结果** 脑胶质瘤组 miRNA-375 相对表达量低于对照组 ($P < 0.05$)。术前 KPS 评分 ≥ 80 分、病理分级 III 和 IV 级患者血清 miRNA-375 水平低于术前 KPS 评分 < 80 分、病理分级 I 和 II 级患者 ($P < 0.05$)。Logistics 回归分析显示, 血清 miRNA-375 水平与脑胶质瘤术前 KPS 评分 [$\hat{OR} = 8.794$ (95 CI: 2.016, 18.426), $P = 0.000$] 和病理分级 [$\hat{OR} = 9.314$ (95 CI: 2.413, 20.319), $P = 0.000$] 相关。低表达 miRNA-375 患者总生存时间、无进展生存时间低于高表达 miRNA-375 患者 ($P < 0.05$)。**结论** 脑胶质瘤患者血清 miRNA-375 水平降低, 血清 miRNA-375 水平与脑胶质瘤 KPS 评分和病理分级有关, 有望成为脑胶质瘤诊断和预后判断的潜在标志物。

关键词: 微 RNAs; 脑胶质瘤 / 肿瘤; 预后

中图分类号: R739.41

文献标识码: A

Serum miRNA-375 levels in patients with glioma and its relationship with clinical case characteristics and prognosis

Xiao-bin Bai¹, Long-wei Huo², Wan-fu Xie¹, Gao-feng Xu¹, Mao-de Wang¹

(1. Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Department of Neurosurgery, the First Hospital of Yulin, Yulin, Shaanxi 719000, China)

Abstract: Objective To investigate the serum miRNA-375 level in patients with glioma and its clinical significance. **Methods** A total of 120 patients with neurosurgical glioma were selected as glioma group and 120 healthy were selected as control group from January 2012 to November 2013 in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University. The serum miRNA-375 levels were determined by real-time fluorescent quantitative reverse transcriptase chain reaction (RT-qPCR). **Results** The serum miRNA-375 levels in glioma group (0.48 ± 0.09) was lower than those in control group (1.00 ± 0.05) ($t = 55.327$, $P = 0.000$). The serum miRNA-375 levels of patients of preoperative KPS score ≥ 80 and pathological grade III-IV were lower than those of patients of preoperative KPS score < 80 and pathological grade I-II ($P < 0.05$). Logistics results showed that serum miRNA-375 levels were significantly associated with preoperative KPS scores [$\hat{OR} = 8.794$ (95 CI: 2.016, 18.426), $P = 0.000$] and pathologic

grades [OR = 9.314 (95 CI: 2.413, 20.319), $P = 0.000$] of gliomas. The overall survival time and progression-free survival time of patients with low expression of miRNA-375 were lower than those of patients with high expression of miRNA-375 ($P = 0.011, 0.009$). **Conclusion** Serum miRNA-375 levels are decreased in patients with glioma. The serum miRNA-375 levels are associated with glioma KPS scores and pathological grades, and are expected to be potential markers for glioma diagnosis and prognosis.

Key words: microRNAs; glioma; prognosis

脑胶质瘤的发病机制复杂, 主要为抑癌基因失活和原癌基因激活产生的一系列动态演变和基因异常的结果^[1]。MicroRNA (miRNA) 为一种新的非编码 RNA, miRNA 参与多种病理生理过程, 为恶性肿瘤的诊断和治疗提供了新思路^[2]。血清 miRNA 水平比较稳定, 检测血清 miRNA 水平在恶性肿瘤的诊治及预后评估中具有重要价值^[3]。miRNA-375 在多种恶性肿瘤中异常表达, 其表达水平在多种恶性肿瘤诊治中具有重要意义^[4-7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 1 月—2013 年 12 月西安交通大学第一附属医院神经外科收治的脑胶质瘤患者 120 例作为脑胶质瘤组, 选取同期本院健康体检群众 120 例作为对照组。脑胶质瘤组患者中男性 64 例, 女性 56 例; 年龄 (53.46 ± 6.14) 岁; 脑叶部 53 例, 脑干和小脑部 67 例; 肿瘤直径 (3.14 ± 0.61) cm, 术前 KPS 评分 (86.37 ± 11.25) 分; 世界卫生组织病理分级 I 级 28 例, II 级 34 例, III 级 45 例, IV 级 13 例。对照组男性 62 例, 女性 58 例; 年龄 (54.13 ± 5.78) 岁。纳入标准: 脑胶质瘤患者病理确诊为脑胶质瘤, 术前卡氏评分 (Kanofsky performance score, KPS) >50 分, 术前未接受放化疗及生物免疫治疗等相关治疗, 进行脑胶质瘤手术治疗。排除标准: 精神意识障碍无法沟通, 自身免疫性疾病, 其他恶性肿瘤, 严重心、肺、肝及肾等重要脏器疾病, 未正规随访或失访者。本研究经本院伦理委员会审批通过, 患者均签署知情同意书。

1.2 方法

逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 测定血清 miRNA-375 水平。取患者外周静脉血, 分离血清, 加入 RNA 酶混匀, 采用酚-氯仿法进行裂解, 提取总 RNA, 逆转录为 cDNA, 采用 RT-PCR 测定血清 miRNA-375 水平, PCR 反应条件: 95°C 预变性 20 s, 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 20 s, 70°C 延伸 10 s, 共 42 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血清 miRNA-375 水平。

RT-PCR 仪器和相应试剂盒均购自美国 Sigma 公司。

1.3 随访

术后电话或门诊随访, 手术结束时间为随访开始时间, 术后死亡时间或随访截止时间为随访结束时间, 随访截止时间为 2018 年 12 月 31 日。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验; Kaplan-Meier 法绘制 ROC 曲线, 比较用 Log-rank χ^2 检验; 影响因素的分析用多因素 Logistic 回归模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清 miRNA-375 相对表达量比较

脑胶质瘤组 miRNA-375 相对表达量为 (0.48 ± 0.09), 对照组为 (1.00 ± 0.05), 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t = 55.327, P = 0.000$), 脑胶质瘤组低于对照组。见图 1。

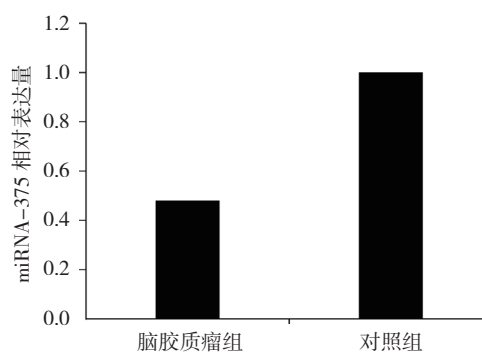


图 1 两组患者血清 miRNA-375 相对表达量比较 ($n = 120, \bar{x} \pm s$)

2.2 不同因素患者血清 miRNA-375 水平比较

不同术前 KPS 评分、病理分级患者血清 miRNA-375 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 术前 KPS 评分 ≥ 80 分、病理分级 III 和 IV 级患者血清 miRNA-375 水平低于术前 KPS 评分 < 80 分、病理分级 I 和 II 级患者。不同性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤直径患者的 miRNA-375 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同因素患者血清 miRNA-375 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

因素	n	miRNA-375	t 值	P 值
性别				
男	64	0.49 ± 0.11	1.555	0.123
女	56	0.46 ± 0.10		
年龄				
≥ 55 岁	49	0.50 ± 0.12	1.415	0.160
<55 岁	71	0.47 ± 0.11		
肿瘤部位				
脑叶	53	0.50 ± 0.15	1.506	0.135
脑干和小脑	67	0.46 ± 0.14		
肿瘤直径				
≥ 3 cm	66	0.46 ± 0.14	1.825	0.071
<3 cm	54	0.51 ± 0.16		
术前 KPS 评分				
≥ 80 分	45	0.41 ± 0.08	10.259	0.000
<80 分	75	0.59 ± 0.10		
病理分级				
I、II 级	62	0.61 ± 0.11	12.457	0.000
III、IV 级	58	0.39 ± 0.08		

2.3 血清 miRNA-375 水平与脑胶质瘤临床病理特征的 Logistics 回归分析

以血清 miRNA-375 水平作为因变量, 以性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤直径、术前 KPS 评分及病理分级作为自变量, 采用二分类 Logistics 回归分析, 结果显示, 血清 miRNA-375 水平与脑胶质瘤术前 KPS 评分和病理分级相关 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 血清 miRNA-375 对脑胶质瘤的诊断价值

血清 miRNA-375 诊断脑胶质瘤的 ROC 曲线下面积为 0.871, 血清 miRNA-375 截断值(临界值)为 0.547, 敏感性为 89.36% (95% CI : 0.468, 0.964), 特异性为 90.13% (95% CI : 0.493, 0.978)。见图 2。

2.5 血清 miRNA-375 与脑胶质瘤预后的关系

以血清 miRNA-375 0.547 为界, 分为低表达 miRNA-375 和高表达 miRNA-375 患者。低表达 miRNA-375 患者总生存时间为 (25.37 ± 9.02) 个月, 无进展生存时间为 (15.21 ± 4.02) 个月, 高表达 miRNA-375 患者总生存时间为 (35.19 ± 9.16) 个月, 无进展生存时间为 (19.25 ± 3.43) 个月, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.937$ 和 7.318, $P = 0.011$ 和 0.009), 低表达 miRNA-375 患者均低于高表达 miRNA-375 患者。见图 3、4。

表 2 血清 miRNA-375 水平与脑胶质瘤临床病理特征的 Logistics 回归分析参数

自变量	b	S _b	Wald χ^2	P 值	OR	95% CI	
						下限	上限
性别	0.692	0.422	1.756	0.635	1.142	0.251	1.768
年龄	0.731	0.335	1.953	0.741	1.109	0.227	1.823
肿瘤部位	0.697	0.365	1.823	0.618	1.115	0.334	1.823
肿瘤直径	0.812	0.403	2.534	0.176	1.416	0.517	4.761
术前 KPS 评分	1.640	0.364	4.751	0.000	8.794	2.016	18.426
病理分级	1.579	0.384	4.375	0.000	9.314	2.413	20.319

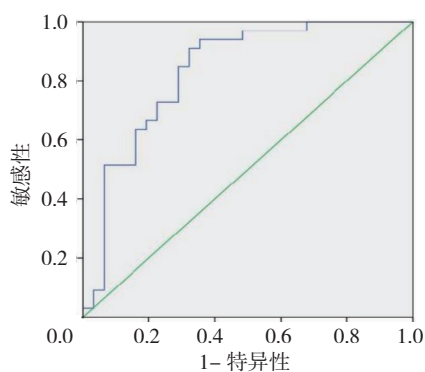


图 2 血清 miRNA-375 诊断脑胶质瘤的 ROC 曲线

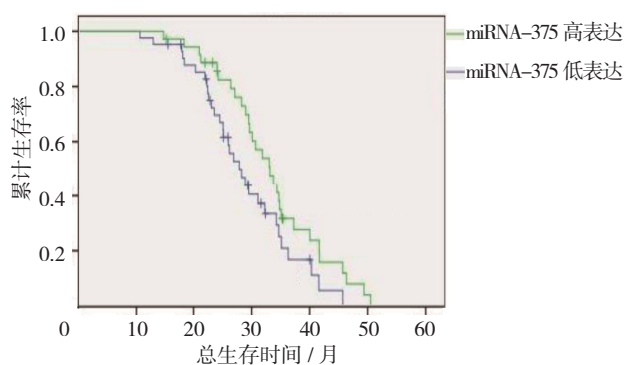


图 3 两组患者总生存时间的生存曲线

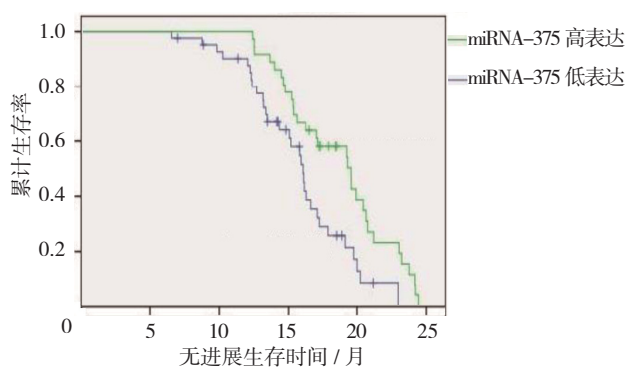


图 4 两组患者无进展生存时间的生存曲线

3 讨论

脑胶质瘤在成年人中多见，中青年是脑胶质瘤的高发年龄，脑胶质瘤常用的治疗方法为手术治疗、放射治疗和化学治疗。以手术为主的综合治疗在个别早期胶质瘤患者中取得了较好的疗效，但大部分胶质瘤、特别是高级别脑胶质瘤的死亡率仍比较高^[8]。除手术治疗、放射治疗和化学治疗外，其他治疗方法尚处在实验阶段，没有在临床上推广。目前最准确的诊断脑胶质瘤的方法为组织病理学检测，但该方法需要外科手术获得标本，为有创性操作，因此探索操作方便、敏感性和特异性较高的胶质瘤治疗方法具有重要价值^[9]。

miRNA 为含有 19 ~ 25 个核苷酸的一种单链核糖核酸，在多种病理生理过程中发挥作用。研究发现，miRNA 在多种恶性肿瘤的发生、发展中具有重要的调控作用，在恶性肿瘤细胞的增殖、凋亡及侵袭等过程中也发挥重要的调节作用^[10]。有研究发现多种 miRNA 和脑胶质瘤的关系也比较密切，在脑胶质瘤的增殖、侵袭转移及脑胶质瘤的诊断及预后判断中具有重要价值^[11]。

miRNA-375 的生物学功能比较强大，可调控一系列基因的转录，参与葡萄糖有关的胰岛素分泌，参与细胞生长和增殖的调控；在多种恶性肿瘤中表达异常，与多种恶性肿瘤的转移和预后关系密切，如 miRNA 375 可调节非小细胞肺癌细胞的存活和凋亡^[12]；miRNA 375 在食管癌组织中呈低表达，与食管癌的分化程度、淋巴结转移和 TNM 分期关系密切，参与食管癌的发生、发展^[13]；上调 miRNA-375 可增加人胃癌细胞的顺铂敏感性^[14]。ZHANG 等^[15]研究发现，miRNA-375 在脑胶质瘤中的表达也存在异常，脑胶质瘤患者的肿瘤组织中 miRNA-375 水平降低，过表达

miRNA-375 可抑制脑胶质瘤细胞的发展。

血浆和血清中 miRNA 比较稳定，在不同疾病中具有特异性，并且可以直接检测出来。胶质瘤血清中多种 miRNA 存在异常，多种血清 miRNA 可作为胶质瘤诊断和预测进展的标志物^[16-17]。在多种恶性肿瘤血清中 miRNA-375 也存在异常，如前列腺癌、乳腺癌及原发性肝癌患者血清中 miRNA-375 水平均存在异常，与患者预后关系密切，可作为预后判断的生物标志物^[18-20]。本文对脑胶质瘤患者血清 miRNA-375 水平进行研究，发现脑胶质瘤患者血清 miRNA-375 水平降低，血清 miRNA-375 水平与脑胶质瘤的术前 KPS 评分和病理分级关系密切，其诊断脑胶质瘤的 ROC 曲线下面积为 0.871，敏感性为 89.36%，特异性为 90.13%；低表达 miRNA-375 患者总生存时间和无进展生存时间均低于高表达 miRNA-375 患者，表明血清 miRNA-375 在脑胶质瘤的诊断和预后预测中具有重要价值。

综上所述，脑胶质瘤患者血清 miRNA-375 水平降低，血清 miRNA-375 有望成为脑胶质瘤诊断和预后判断的潜在生物标志物。

参考文献：

- [1] WESSELING P, CAPPER D. Who 2016 classification of gliomas[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44(2): 139-150.
- [2] YANG L, MA Y, XIN Y, et al. Role of the microrna 181 family in glioma development[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 322-329.
- [3] YU X, LI Z. Serum microRNAs as potential noninvasive biomarkers for glioma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(2): 1407-1410.
- [4] WU S, CHEN H. Anti-Condyloma acuminata mechanism of micrnas-375 modulates HPV in cervical cancer cells via the UBE3A and IGF-1R pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 3241-3247.
- [5] 秦海霞, 李少平, 张全华, 等. miRNA-375 靶向磷脂酰肌醇激酶-3 催化亚单位 α 对宫颈癌细胞增殖和迁移的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(33): 29-34.
- [6] MAHMOUDIAN-SANI M R, MEHRI-GHAHFARROKHI A, ASADI-SAMANI M, et al. Serum mirnas as biomarkers for the diagnosis and prognosis of thyroid cancer: a comprehensive review of the literature[J]. *Eur Thyroid J*, 2017, 6(4): 171-177.
- [7] LIU R S C, OLKHOV-MITSEL E, JEYAPALA R, et al. Assessment of serum microRNA biomarkers to predict reclassification of prostate cancer in patients on active surveillance[J]. *J Urol*, 2018, 199(6): 1475-1481.
- [8] CAHILL D, TURCAN S. Origin of gliomas[J]. *Semin Neurol*, 2018, 38(1): 5-10.
- [9] DAVIS M E. Epidemiology and overview of gliomas[J]. *Semin*

- Oncol Nurs, 2018, 34(5): 420-429.
- [10] XIONG W, RAN J, JIANG R, et al. miRNA-320a inhibits glioma cell invasion and migration by directly targeting aquaporin 4[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(4): 1939-1947.
- [11] ZHOU Q, LIU J, QUAN J, et al. MicroRNAs as potential biomarkers for the diagnosis of glioma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(9): 2651-2659.
- [12] CHENG L, ZHAN B, LUO P, et al. miRNA-375 regulates the cell survival and apoptosis of human non-small cell carcinoma by targeting HER2[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(3): 1387-1392.
- [13] 张雪梅, 田浩, 魏微微, 等. 食管癌组织中 miRNA-375 表达及其甲基化与肿瘤发生发展的关系 [J]. *山东医药*, 2019, 59(1): 9-12.
- [14] ZHOU N, QU Y, XU C, et al. Upregulation of microRNA-375 increases the cisplatin-sensitivity of human gastric cancer cells by regulating ERBB2[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(2): 625-630.
- [15] ZHANG L X, JIN W, ZHENG J, et al. MicroRNA-375 regulates proliferation and apoptosis of glioma cancer cells by inhibiting CTGF-EGFR signaling pathway[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2018, 119(1): 17-21.
- [16] HUANG Q, WANG C, HOU Z, et al. Serum microRNA-376 family as diagnostic and prognostic markers in human gliomas[J]. *Cancer Biomark*, 2017, 19(2): 137-144.
- [17] LAN F, QING Q, PAN Q, et al. Serum exosomal miR-301a as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2018, 41(1): 25-33.
- [18] 尤泊森, 柳清. 前列腺癌患者血清和病理组织中 miRNA-375 的表达及意义 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2017, 24(4): 428-431.
- [19] ALI O S, SHABAYEK M I, SELEEM M M, et al. MicroRNAs 182 and 375 sera expression as prognostic biochemical markers in breast cancer[J]. *Clin Breast Cancer*, 2018, 18(6): e1373-e1379.
- [20] 安阳, 赵文超, 夏念信, 等. miR-375 在原发性肝癌血清中的表达与患者预后的关系 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(1): 10-12.

(李科 编辑)