

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 06. 025

miRNA-203 联合 TSGF、CEA 检测在胃癌诊断中的应用

殷立奎¹, 徐广晓², 朱新兴¹, 李守勇¹

(山东省东营市人民医院:1. 检验科;2. 手术室 257091)

摘要:目的 分析微小核糖核酸-203(miRNA-203)联合肿瘤生长因子(TSGF)、癌胚抗原(CEA)检测在胃癌诊断中的应用。方法 选择 2015 年 7 月至 2016 年 7 月来该院就诊的 40 例胃癌患者为观察组,选择同期 30 例健康志愿者为对照组,分析研究对象的外周血清 CEA、miRNA-203、TSGF 水平。结果 观察组患者 miRNA-203 相对表达量为 (0.26 ± 0.16) U/mL,明显低于对照组的 (0.84 ± 0.09) U/mL($P < 0.05$);观察组 TSGF、CEA 表达水平及阳性率明显高于对照组($P < 0.05$)。miRNA-203 相对表达量随分期递增而减少($F = 5.60, P = 0.0075$)。TSGF、CEA 表达水平随分期递增而增加($P < 0.05$);不同分期 CEA 阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而不同分期 TSGF 阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)。miRNA-203 联合 TSGF、CEA 检测的敏感度为 95.00%,明显高于单项检测或者 2 项指标联合检测结果,差异有统计学意义($P < 0.05$)。miRNA-203 联合 TSGF、CEA 检测的诊断符合率为 97.50%,特异度为 90.00%,优于单项或者两项联合结果($P < 0.05$)。结论 采用 miRNA-203 联合 TSGF、CEA 检测,可以及时准确诊断胃癌,具有较高的特异度与诊断符合率,在临床上有较高的诊断价值。

关键词:微小核糖核酸-203; 肿瘤生长因子; 癌胚抗原; 胃癌

中图分类号:R735.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)06-0821-04

Application of miRNA-203 combined with TSGF and CEA detection in diagnosis of gastric cancer

YIN Likui¹, XU Guangxiao², ZHU Xinxing¹, LI Shouyong¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Operation Room, Dongying Municipal People's Hospital, Dongying, Shandong 257091, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application of miRNA-203 combined with TSGF and CEA detection in the diagnosis of gastric cancer. **Methods** Forty patients with gastric cancer treated in this hospital from July 2015 to July 2016 were selected as the observation group and contemporaneous 30 healthy volunteers were selected as the control group. The peripheral serum CEA, miRNA-203 and TSGF in the study subjects were analyzed. **Results** The relative expression level of miRNA-203 in the observation group was (0.26 ± 0.16) U/mL, which was significantly lower than (0.84 ± 0.09) U/mL in the control group ($P < 0.05$). The expression levels and positive rates of TSGF and CEA were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The relative expression level of miRNA-203 was decreased with the stage increase ($F = 5.60, P = 0.0075$). The expression levels of TSGF and CEA were increased with the stage increase ($P < 0.05$); the CEA positive rate had statistical difference among different stages ($P < 0.05$), while the positive rate of TSGF had no statistical difference among different stages ($P > 0.05$). The sensitivity of miRNA-203 combined with TSGF and CEA detection was 95.00%, which was significantly higher than that of single index or combined 2-index combined detection, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The diagnosis coincidence rate of miRNA-203 combined with TSGF and CEA detection was 97.50% and the specificity was 90.00%, which were better than those in single index detection or two-index combined detection ($P < 0.05$). **Conclusion** Adopting miRNA-203 combined with TSGF and CEA detection can timely and accurately diagnose gastric cancer with higher specificity and diagnostic coincidence rate and has higher diagnostic value in clinic.

Key words: miRNA-203; TSGF; CEA; gastric cancer

胃癌的发病率与病死率在全球范围内居于第 3 位,表现为三高(发病率高、复发转移率高、病死率高)

与三低(早诊率低、根治切除率低、5 年生存率低)的特点,成为最为常见的消化道恶性肿瘤^[1-2]。胃癌的发现及治疗效果,均可以通过肿瘤标志物(TM)来快速诊断。随着细胞分子生物学的进步, TM 的检测使早发现、早诊断肿瘤成为了可能。血清 TM 的异常通常早于影像学。胃癌早期患者无明显的临床症状,任何一项特异和敏感的 TM 出现异常都有一定指导价值^[3-4]。但单一 TM 检测对胃癌诊断存在一定的局限性。故本文针对性地选择肿瘤生长因子(TSGF)、微小核糖核酸(miRNA)-203、癌胚抗原(CEA)3 种具有较高特异度与敏感度的 TM 来检测胃癌患者与健康人群血清中的表达情况,通过比较 3 种 TM 对胃癌检测及预后的诊断价值,以期为临床提供一定的参考指标。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 7 月至 2016 年 7 月来本院就诊的胃癌患者 40 例纳入观察组,以上患者均未进行放化疗与免疫治疗,且经病理学检查证实。观察组男 23 例,女 17 例;平均年龄(48.37±4.78)岁;依据 2010 版国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(IUICC/AJCC)制定的肿瘤(TNM)分期标准,分为Ⅰ~Ⅳ期,其中Ⅰ期 8 例,Ⅱ期 12 例,Ⅲ期 12 例,Ⅳ期 8 例。同时选择同期健康志愿者 30 例为对照组,男 20 例,女 10 例,平均年龄(46.79±5.46)岁。两组研究对象性别、年龄等一般性资料对比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 仪器为德国罗氏公司生产的全自动电化学发光免疫分析仪 E-170,测定试剂盒及质控品为仪器配套;日本 Hitachi 公司生产的全自动生化分析仪 7080;湖南新大陆公司生产 TSGF、CEA 定量测定试剂盒与质控品。

1.3 方法 单核细胞分离提取:采集研究对象 2 mL 空腹静脉血(采入乙二胺四乙酸抗凝管),3 h 后使用 Ficoll 液分离,洗涤离心 5 次,弃上清液,保存于一 80 ℃冰箱中备用。血浆 RNA 提取:依照 Trizol 试剂盒标准严格实施每一步,经所得 RNA A260/280 调节在 1.8~2.1。实时荧光定量聚合酶链反应(RT-

PCR):依照 Access RT-PCR System 严格操作,并依据 GenBank 设计对应序列引物(a 为正义引物,b 为反义引物):miR-203-Fa GTG AAA TGT TTA GGA CCA CTA GAA,miR-203-Rb GCT GTC AAC GAT ACG CTA CGT,U6 RNA-Fa CGC TTC GGC AGC ACA TAT AC,U6 RNA-Rb TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT。其中,总反应体系为 50 μL:28 μL 无核酸酶水,10 μL AMV /Tfl 5X 反应缓冲液,1 μL dNTP 混合液(10 mmol/ L),1 μL 下游引物,1 μL 上游引物,2 μL 25 mmol/L 硫酸镁,1 μL AMV 反转录酶,1 μL Tfl DNA 聚合物,5 μL RNA。反应条件:45 ℃ 45 min,94 ℃ 2 min,94 ℃ 30 s,60 ℃ 1 min,68 ℃ 2 min,68 ℃ 7 min,4 ℃ ∞。以上循环进行 40 次。血清 CEA 水平、miRNA-203 相对表达量、TSGF 水平检测均严格按照操作说明书进行。参考值 CEA 为 0.00~5.00 ng/mL,TSGF 为 0.00~64.00 U/mL。

1.4 统计学处理 采用 RQ Manager Version1.3 软件,记录数据结果 Ct 值,其相对表达量为 $2^{-\Delta Ct} = 2^{-(Ct_{miRNA-203}-Ct_{U6RNA})}$ 。采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或 F 检验,计数资料以率表示,组间比较用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-203 相对表达量,TSGF、CEA 表达水平及阳性率比较 观察组患者 miRNA-203 相对表达量为(0.26±0.16)U/mL,明显低于对照组($P<0.05$);观察组 TSGF、CEA 表达水平及阳性率明显高于对照组($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同分期胃癌患者 miRNA-203 相对表达量,TSGF、CEA 表达水平及阳性率比较 miRNA-203 相对表达量随分期递增而降低($F=5.60,P=0.0075$)。TSGF、CEA 表达水平及阳性率随分期递增而增加,不同分期的 TSGF、CEA 水平差异有统计学意义($P<0.05$);不同分期 CEA 阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),而不同分期 TSGF 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 两组 miRNA-203 相对表达量,TSGF、CEA 表达水平及阳性率比较

组别	n	miRNA-203 相对 表达量($\bar{x} \pm s$,U/mL)	TSGF		CEA	
			水平($\bar{x} \pm s$,U/mL)	阳性[n(%)]	水平($\bar{x} \pm s$,U/mL)	阳性[n(%)]
观察组	40	0.26±0.16	76.21±11.24	34(85.00)	45.31±30.45	12(30.00)
对照组	30	0.84±0.09	54.18±10.14	1(3.33)	3.23±1.13	1(3.33)
t/χ^2		17.831 6	8.457 7	35.108 6	7.551 4	4.910 0
P		0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.026 7

2.3 miRNA-203、TSGF、CEA 对胃癌患者的诊断价值 miRNA-203 + TSGF + CEA 检测的敏感度为 95.00%,明显高于 miRNA-203、TSGF、CEA 单项或者 miRNA-203 + CEA、TSGF + CEA、miRNA-203 +

CEA 的敏感度,差异有统计学意义($P<0.05$);miRNA-203 + TSGF + CEA 检测的诊断符合率为 97.50%,特异度为 90.00%,优于单项或者两项指标联合检测结果($P<0.05$)。见表 3。

表 2 不同分期胃癌患者 miRNA-203 相对表达量,TSGF、CEA 表达水平及阳性率比较

胃癌分期	n	miRNA-203 相对	TSGF		CEA	
		表达量($\bar{x}\pm s$,U/mL)	水平($\bar{x}\pm s$,U/mL)	阳性[n(%)]	水平($\bar{x}\pm s$,U/mL)	阳性[n(%)]
I 期+II 期	20	0.44±0.12	63.32±9.41	16(80.00)	40.52±27.34	4(20.00)
III 期	12	0.31±0.15	72.18±11.22	10(83.33)	55.45±30.62	3(25.00)
IV 期	8	0.20±0.06	84.23±16.25	7(87.50)	73.25±35.43	5(62.50)
F		5.60	9.67	0.2309	3.55	6.5204
P		0.007 5	0.000 4	0.891 0	0.039 0	0.038 4

表 3 miRNA-203、TSGF、CEA 对胃癌患者的诊断价值比较[(%)n/n]

指标	敏感度	特异度	诊断符合率
miRNA-203	85.00(34/40)	70.00(28/40)	80.00(32/40)
TSGF	75.00(30/40)	65.00(26/40)	62.50(25/40)
CEA	57.5(23/40)	80.00(32/40)	75.00(30/40)
miRNA-203+CEA	87.50(35/40)	87.50(35/40)	87.50(35/40)
TSGF+CEA	85.00(34/40)	82.50(33/40)	85.00(34/40)
miRNA-203+CEA	90.00(36/40)	87.50(35/40)	90.00(36/40)
miRNA-203+TSGF+CEA	95.00(38/40)	90.00(36/40)	97.50(39/40)

3 讨 论

胃癌是恶性肿瘤中最为常见的一种,其发病率在不同地区和国家存在较大差异,其中芬兰、日本是高发国家,而新西兰、澳大利亚等国家的发病率较低^[5]。在我国,胃癌占城市病死率的第 2 位,其中中南与西南地区最低,内蒙古自治区及东北较高,西北地区最高,占农村病死率的第 1 位。据有关调查显示,每年胃癌死亡人数约 17 万,与此同时每年有超过 2 万患者被确诊为胃癌。胃癌已经成为严重危害人类生命健康的疾病之一,也是各大医疗机构重点攻克的主题^[6-7],尽早诊治有着重要临床价值。

多数胃癌患者在发现时已经是中晚期,严重影响患者的康复。为了提高胃癌的早发现率,提高患者生存率,找到行之有效的 TM 极为关键。TM 主要指机体对新生物发生应激反应进入到体液、组织的物质,或者是癌细胞异常分泌或脱落的物质。随着细胞基因水平的发展,胃癌患者采用 TM 诊断使早发现、早诊断肿瘤在临床成为可能^[8]。TM 检测异常血清指标变化也为临床预估患者病情程度提供了指导。不同种类的癌症其 TM 会产生不同类型的癌细胞,而同一种癌细胞也会产生多种 TM^[9]。

近年来,临床较多把 TM 用来检测多种类型肿瘤,但单一 TM 检测存在特异度或敏感度较低的问题,故临床上逐渐采用多种 TM 联合检测来诊断癌症。最新研究报道显示,miRNA-203 和胃癌的发生存在显著的相关性^[10]。随着肿瘤患者病情的进展,血清 miRNA-203 出现明显的异常表达。miRNA-203 为 19~22 碱基长度的内源性非编码 RNA,几乎参与机体全部的基本信号传输路径,并调控约 1/3 的人类基因水平表达,对许多基因的调控发挥关键作用。同时,miRNA-203 还能够调节细胞增殖、分化、凋亡及一些肿瘤相关基因表达等代谢过程^[11-12]。CEA 也是广谱性 TM,主要成分是多糖蛋白复合物,在内胚叶起源的胃癌、胰腺癌等消化系统肿瘤中大量存在。TSGF 是与癌细胞增殖过程相关的多种糖类物质和代谢产物的总称,主要是恶性癌细胞与组织附近毛细血管发生大量增生而关联的内皮生长因子^[13]。本研究结果显示,miRNA 联合 TSGF、CEA 检测的敏感度为 95.00%,明显高于 miRNA-203、TSGF、CEA 单项或者 miRNA-203 + CEA、TSGF + CEA 及 miRNA-203 + CEA 的敏感度,差异有统计学意义($P>0.05$);miRNA-203 联合 TSGF、CEA 检测的诊断符合率为 97.50%,特异度为 90.00%,优于单项或者两项指标联合检测结果。这是由于 CEA 自身特异度低,而敏感度较高,对肿瘤早期诊断有明显辅助作用。同时 TSCF 为广谱血清 TM,其指标变化仅对肿瘤增生有明显反应,对非恶性血管增生几乎不会出现变化,故 TSGF 对胃癌患者血清指标变化有明显的高度特异性。而 miRNA-203 可以作为特异性的 TM,可以提高胃癌的准确诊断性。这也表明多种 TM 联合检测不仅能够增强诊断的敏感度,也对早期诊断与病情监测有指导作用,为临床胃癌诊断标准提供方向^[14-15]。

在肿瘤细胞的生长进程中,miRNA-203 可以调

控肿瘤的发生、发展。有研究报道显示,miRNA-203 可对肿瘤进行诊断、分期,不同程度的 miRNA-203 相对表达量和胃癌有明确联系^[16]。本研究结果显示,miRNA-203 相对表达量随分期递增而增加,可以推测其在胃癌诊断及转归预测中的作用。而 TSGF、CEA 表达水平及阳性率随分期递增而增加。大多数患者肿瘤分泌血清 CEA 位于胃肠道、泌尿道等空腔脏器。在一般情况下,血清 CEA 通过胃肠道进行代谢,发生肿瘤时,CEA 会通过循环系统进入血液和淋巴中,导致机体血清 CEA 出现异常上升。而患者机体肿瘤的分期与 CEA 水平高低相一致,这就为肿瘤的诊断与病情预判提供了价值。通常,肿瘤分期越晚或发生远处转移、复发等情况,血清 CEA 检测的敏感度就越高。患者胃癌的预后、进展以及分化程度与血清 CEA 水平密切相关,同时其也和肿瘤大小、转移以及浸润情况紧密相关,故可以结合其他指标来预估胃癌患者的放化疗治疗效果。若血清 CEA 水平降幅大于 50%,抑或低于正常水平且维持时间大于 4 周,可以认为治疗是有效的;若出现治疗后 CEA 水平持续上升,则表明预后效果不良。

进一步分析显示,胃癌患者血清 miRNA-203 相对表达量为 (0.26 ± 0.16) U/mL,明显低于健康人群;TSGF、CEA 表达水平及阳性率明显高于健康人群。这也表明以上 3 种 TM 对于诊断胃癌有较高的特异度与敏感度,在临床检测中有较高的指导价值^[17]。进一步揭示联合以上指标检测可显著提高胃癌诊断准确度,也显示多种 TM 联合检测具有互补性,可弥补单项 TM 诊断存在阳性率降低的缺点,为胃癌诊断与预后提供指导价值。

综上所述,采用 miRNA-203 联合 TSGF、CEA 检测,可以及时、准确诊断胃癌,具有较高的特异度与诊断符合率,在临床上有较高的诊断价值。

参考文献

- [1] 步召德,季加孚,曾红梅.早期胃癌诊断及治疗争议性问题浅议[J].中国普通外科杂志,2015,24(10):1351-1353.
- [2] WANG G, QIN Y, ZHANG J, et al. Nipple discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a new biomarker panel for breast cancer[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(6): 9546-9565.
- [3] 赵连爽,云科,董西华.胃癌患者血清中 CA72-4、CEA 和 CA19-9 水平及其与病理特征的相关性[J].中国医科大学学报,2014,43(3):259-262.
- [4] 马玉,马雅静,李旭哲,等.健康体检人群肿瘤标志物的异

常状态:分子水平肿瘤早期筛查的临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2017,33(1):12-17.

- [5] 庞再林,白鍊,温泽霖,等.两种方法冲洗胃癌腹腔网膜囊囊壁组织的病理诊断检出率对比[J].第三军医大学学报,2014,36(14):1515-1518.
- [6] 梁佳,董稚明,李宏,等. MicroRNA-203 在人食管鳞癌组织和细胞中的表达及其基因的甲基化状态[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2014,21(4):376-382.
- [7] CHEN Y, GAO S G, CHEN J M, et al. Serum CA242, CA199, CA125, CEA, and TSGF are biomarkers for the Efficacy and prognosis of cryoablation in pancreatic cancer patients[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 71(3): 1287-1291.
- [8] 谢海涛.肿瘤标志物 CA724、CA199、CA242、CEA 联合检测在老年胃癌诊断中的应用[J].中国老年学杂志,2017,37(1):127-129.
- [9] 蒋显勇,易艳军,梁庄严,等.血清 HER-2/neu、TPS、CA15-3 和 TSGF 联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J].实用医学杂志,2016,32(24):4115-4117.
- [10] ARNER P, KULYT A. MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity[J]. Nat Rev Endocrinol, 2015, 11(5): 276-288.
- [11] 宋雅琴,温旺荣.胃癌患者血清 miR-101 与 miR-25 的动态变化及其诊断价值[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2016,37(3):259-266.
- [12] 张志栋,李勇,檀碧波,等.胃癌患者癌组织膜联蛋白 A2 的表达与血清膜联蛋白 A2 及癌胚抗原水平测定[J].郑州大学学报(医学版),2016,51(1):76-79.
- [13] ZHAO F L, DOU Y C, WANG X F, et al. Serum microRNA-195 is down-regulated in breast cancer: a potential marker for the diagnosis of breast cancer[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(9): 5913-5922.
- [14] 程鹏.胃癌诊断中肿瘤标志物 CEA、CA19-9、CA125 的水平变化及临床意义[J].中国老年学杂志,2014,34(20): 5679-5681.
- [15] 覃仕锋.血清肿瘤标志物联合检测在老年食管癌早期诊断中的价值[J].中国老年学杂志,2014,34(4):930-931.
- [16] YIN L K, SUN X Q, MOU D Z. Value of combined detection of serum CEA, CA72-4, CA19-9 and TSGF in the diagnosis of gastric cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(9): 3867-3870.
- [17] MACHA M A, SESHACHARYULU P, KRISHN S R, et al. MicroRNAs(miRNAs) as biomarker(s) for prognosis and diagnosis of gastrointestinal (GI) cancers[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(33): 5287-5297.

(收稿日期:2017-08-19 修回日期:2017-12-05)