

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 09. 014

血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 在结直肠癌患者中的表达及临床意义

陈 杰,吴 勇[△]

重庆市丰都县人民医院检验科,重庆 408200

摘 要:**目的** 探讨血清微小核糖核酸-23a(miR-23a)、内皮细胞特异性分子-1(ESM-1)、糖类抗原 199(CA-199)在结直肠癌患者中的表达,分析其诊断价值及与患者临床病理特征的关系。**方法** 回顾性选取 2020 年 1—12 月该院收治的结直肠癌患者 128 例作为癌症组、结直肠腺瘤患者 100 例作为腺瘤组,另选取同期该院体检健康者 100 例作为对照组。比较血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 在各组间的表达。采用受试者工作特征曲线评估血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 对结直肠癌的诊断价值。比较血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 在结直肠癌不同病理特征患者中的表达,并分析其与患者临床病理特征的相关性。**结果** 癌症组血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平明显高于腺瘤组和对照组($P<0.05$)。3 项指标联合检测结直肠癌的曲线下面积为 0.900,灵敏度和特异度为 84.2%、90.8%。血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平在 TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期、有淋巴结转移及有远处转移的患者中明显高于Ⅰ+Ⅱ期、无淋巴结转移及无远处转移的患者($P<0.05$)。Spearman 相关分析结果显示,血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平与 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移呈正相关($P<0.05$)。**结论** 血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平在结直肠癌患者中明显升高,联合检测有助于结直肠癌的早期诊断及病情评估。

关键词:结直肠癌患者; 微小核糖核酸-23a; 内皮细胞特异性分子-1; 糖类抗原 199

中图法分类号:R735.3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)09-1240-04

Expressions and clinical significance of serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 in patients with colorectal cancer

CHEN Jie,WU Yong[△]

Department of Clinical Laboratory,Chongqing Fengdu County People's Hospital,Chongqing 408200,China

Abstract: Objective To investigate the expressions of serum miR-23a,endothelial cell-specific molecule-1(ESM-1) and carbohydrate antigen 199(CA-199) in patients with colorectal cancer,and to analyze their diagnostic value and their relationship with clinicopathological features.**Methods** Totally 128 patients with colorectal cancer admitted to the hospital from January to December 2020,were retrospectively collected as the cancer group,100 patients with colorectal adenoma as the adenoma group,and 100 healthy subjects,who underwent physical examination in the hospital during the same period,were collected as the control group. The expression differences of serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 in each group were compared. The receiver operating characteristic curve was employed to evaluate the diagnostic value of serum miR-23a,ESM-1 and CA-199. The expression differences of serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 in patients with different pathological features of colorectal cancer were compared,and the correlation between serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 and clinicopathological features was analyzed.**Results** The levels of serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 in the cancer group were significantly higher than those in the adenoma group and the control group ($P<0.05$). The area under the curve of combined detection of serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 was 0.900,and the sensitivity and specificity were 84.2% and 90.8% respectively. Compared with the patients with TNM stageⅠ+Ⅱ,non-lymphnode metastasis and non-distant metastasis,serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 levels in patients with TNM stageⅢ+Ⅳ,lymph node metastasis and distant metastasis were significantly increased ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 levels were positively correlated with TNM stage,lymph node metastasis and distant metastasis ($P<0.05$).**Conclusion** Serum miR-23a,ESM-1 and CA-199 levels are significantly elevated in patients with colorectal cancer,and combined detection is helpful for early diagnosis and disease evaluation of colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer patients; miR-23a; endothelial cell-specific molecule-1; carbohydrate antigen 199

结直肠癌是临床上常见的消化道恶性肿瘤之一，是全球第三大常见肿瘤，也是第二大常见肿瘤死因^[1]。结直肠癌患者起病隐匿，早期无明显症状，加上缺乏早期有效的检测手段，导致大多数患者就诊时已处于晚期，5 年生存率不足 12%^[2]。因此，寻找有效的生物标志物对结直肠癌患者的早期诊断、病情评估、生存率提高具有重要意义。微小核糖核酸-23a (miR-23a) 是一种促癌基因，可在结直肠癌中异常表达^[3]，内皮细胞特异性分子-1 (ESM-1) 是肿瘤内皮组织血管侵袭的生物标志物^[4]，糖类抗原-199 (CA-199) 是最常用的消化道恶性肿瘤的早期诊断指标^[5]。目前临床上对结直肠癌的针对性检测指标较少，主要以癌胚抗原、CA199 为主，均缺乏一定特异性。本研究主要探讨血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 在结直肠癌患者中的表达差异，首次利用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 分析其诊断价值，并分析其与患者临床病理特征的关系，以期对结直肠癌患者的早期诊断及病情评估提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选取 2020 年 1—12 月本院收治的结直肠癌患者 128 例作为癌症组，其中男 70 例、女 58 例，平均年龄 (62.6±9.5) 岁。纳入标准：(1) 初次确诊，病历完整，且符合《中国结直肠癌诊疗规范 (2020 版)》^[6] 的诊疗标准；(2) 均经术后病理切片检查证实为结直肠癌。排除标准：(1) 重要脏器功能障碍；(2) 合并其他恶性肿瘤；(3) 合并肠梗阻、肠穿孔等其他肠道疾病；(4) 妊娠期或哺乳期妇女。选取同期本院收治的结直肠腺瘤患者 100 例作为腺瘤组，其中男 55 例、女 45 例，平均年龄 (62.0±9.2) 岁，均经术后病理切片结果确认。术后定期随访，每月复查 1 次，通过增强 CT 或磁共振成像观察是否出现淋巴结转移及远处转移：发生淋巴结转移 38 例，发生远处转移 28 例，其中肝转移 15 例，约占 53.6%；肺转移 8 例，约占 28.6%；盆腔转移 4 例，约占 14.3%；广泛性转移 1 例，约占 3.5%。另选取同期本院 100 例体检健康者作为对照组，其中男 55 例、女 45 例，平均年龄 (61.9±10.0) 岁。3 组研究对象的一般资料比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$)，具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准同意，符合伦理学标准。

1.2 方法 采集所有入组研究对象空腹静脉血 3 mL，负压注入无添加剂真空干燥管，颠倒混匀数次。静置 30 min 后以 3 000 r/min 离心 10 min，取上清液保存于-80℃的超低温冰箱中待测。所有操作严格按照试剂盒说明书进行，阴阳对照、室内质控均在控。

1.2.1 miR-23a 的检测 miR-23a 水平采用实时荧光定量聚合酶链反应 (PCR) 进行检测，仪器为 ABI7500 型 PCR 仪。吸取 200 μL 保存的上清液，加入 1 mL Trizol 裂解液，在室温下裂解 5 min。再加入

200 μL 氯仿，静置 15 min 后以 12 000 r/min 的转速在 4℃条件下离心 15 min，吸取上清液后加入等体积异丙醇，过夜沉淀 12 h。再次离心后弃去上清液用 75%乙醇洗涤沉淀物，再以 8 000 r/min 的转速在 4℃条件下离心 5 min，重复操作 2 次后晾干沉淀物。用适量的 75%乙醇处理水溶解的 RNA。反转录试剂盒由 TAKARA 公司提供，反转录后得到模板单链的 cDNA。miR-23a 正向引物为 5'-CCGCCGGGATC-CACGGCGG-3'，反向引物为 5'-CCGCCGAAGCT-TCAGAGCTCAGGGTCGGTTGG-3'。

采用 U6 作为内参，U6 的正向引物是 5'-GCT-TCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'，反向引物是 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'。配制 10 μL 的体系，反应条件：90℃ 30 s，60℃ 30 min，94℃ 1 min，连续 40 个循环，再 72℃ 1 min 后收集荧光信号，测量 3 次。

1.2.2 ESM-1 的检测 ESM-1 水平采用酶联免疫吸附试验进行检测，试剂盒由上海酶联生物科技有限公司提供，酶标仪由美国公司 BioTek 公司生产。

1.2.3 CA-199 的检测 CA-199 水平采用贝克曼 DXI-800 全自动免疫分析仪及其配套试剂进行检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析，采用 Shapiro-Wilk 检验对两组计量资料进行正态性检验，符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用 t 检验；计数资料以例数或百分率表示，组间比较采用 χ^2 检验；绘制 ROC 曲线评估血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 诊断结直肠癌的效能；采用 Spearman 相关分析各个指标与结直肠癌患者病理特征的关系。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组研究对象血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平比较 癌症组患者的 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平明显高于腺瘤组和对照组，腺瘤组明显高于对照组，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 组研究对象血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-23a	ESM-1 (pg/mL)	CA-199 (U/mL)
癌症组	128	2.89±0.74	72.78±19.04	105.28±21.07
腺瘤组	100	1.32±0.35 ^a	23.49±5.75 ^a	46.97±11.98 ^a
对照组	100	0.73±0.18 ^{ab}	15.46±3.21 ^{ab}	15.22±3.72 ^{ab}
<i>F</i>		23.544	28.433	29.571
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注：与癌症组比较，^a $P<0.05$ ；与腺瘤组比较，^b $P<0.05$ 。

2.2 血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 对结直肠癌的诊断价值 ROC 曲线分析结果显示，血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 联合诊断结直肠癌的曲线下面积 (AUC) 为 0.900，灵敏度和特异度分别为 84.2%、90.8%，均高于

血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 单项检测。见表 2、图 1。 $(P<0.05)$ 。见表 3。

表 2 血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 单项及联合诊断 结直肠癌的效能				
项目	AUC	95%CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)
miR-23a	0.875	0.725~0.921	85.1	80.0
ESM-1	0.802	0.685~0.899	80.0	75.2
CA-199	0.700	0.525~0.818	74.3	65.0
miR-23a+ESM-1+CA-199	0.900	0.785~0.946	84.2	90.8

2.3 不同临床病理特征结直肠癌患者中血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平比较 血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平在 TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期、有淋巴结转移及有远处转移的患者中明显高于Ⅰ+Ⅱ期、无淋巴结转移及无远处转移的患者，差异均有统计学意义

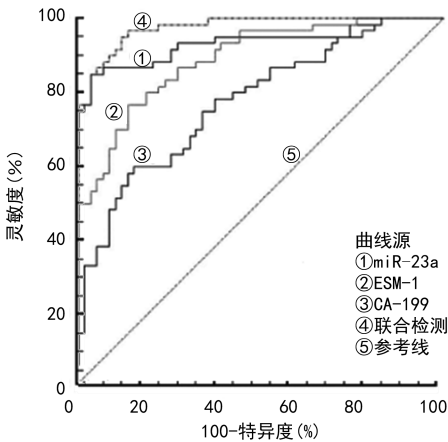


图 1 miR-23a、ESM-1、CA-199 单项及联合诊断结直肠癌的 ROC 曲线

表 3 不同临床病理特征结直肠癌患者中血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平比较($\bar{x}\pm s$)										
临床病理特征	n	miR-23a			ESM-1			CA-199(U/mL)		
		水平	t	P	水平(pg/mL)	t	P	水平(U/mL)	t	P
年龄			6.002	0.611		6.943	0.676		8.065	0.732
<60 岁	72	2.85±0.66			72.70±18.95			104.03±20.11		
≥60 岁	56	2.94±0.82			72.88±19.31			106.89±21.87		
性别			7.335	0.442		8.132	0.491		7.875	0.516
男	70	2.91±0.81			72.80±19.25			106.82±21.12		
女	58	2.86±0.70			72.51±19.04			103.42±20.88		
肿瘤最大径			7.996	0.068		8.322	0.071		8.712	0.089
<5 cm	75	2.84±0.64			71.24±19.04			104.08±21.07		
≥5 cm	53	2.95±0.85			74.96±19.04			107.08±21.07		
TNM 分期			24.335	0.003		25.268	0.004		39.341	0.009
Ⅰ+Ⅱ期	88	2.82±0.74			68.22±15.67			97.10±18.59		
Ⅲ+Ⅳ期	40	3.02±0.74			77.30±20.03			123.28±22.37		
淋巴结转移			20.669	<0.001		22.85	<0.001		28.783	<0.001
有	38	3.21±0.90			79.78±20.35			122.27±21.03		
无	90	2.75±0.61			69.82±17.39			98.11±19.08		
远处转移			26.445	<0.001		28.509	<0.001		31.002	<0.001
有	28	3.29±0.94			80.01±21.05			125.02±26.11		
无	100	2.78±0.61			70.75±17.60			99.75±17.98		

2.4 血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 与临床病理特征的相关性分析 Spearman 相关分析结果显示，血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平与 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移呈正相关($P<0.05$)。见表 4。

表 4 血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 与临床病理特征的相关性分析						
临床病理特征	miR-23a		ESM-1		CA-199	
	r	P	r	P	r	P
TNM 分期	0.576	0.002	0.498	0.003	0.699	0.008
淋巴结转移	0.603	0.001	0.417	0.001	0.505	0.003
远处转移	0.662	<0.001	0.498	1.000	0.571	0.001

3 讨 论 结直肠癌是全球第三大常见癌症，每年新增病例超过 130 万，而死亡病例则超过了 60 万，已严重威胁人类生命健康^[7]。早期结直肠癌无明显症状，只有约 5% 的早期患者可得到确诊，大多数患者就诊时已处于中晚期^[8]。结直肠镜是结直肠癌早期诊断的重要方式，但因其需要彻底的肠道准备，且为侵入性操作，导致患者依从性较低。粪便潜血试验是目前临床上比较常用的筛查手段，但灵敏度和特异度均存在一定不足，易漏诊误诊。血清学检查具有无创、安全、简便等特点而广泛应用于肿瘤的筛查和监测。

微小核糖核酸是一种小分子的单链非编码

RNA,一般由 22 个碱基组成,在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用,包括调节肿瘤细胞增殖、血管生成、侵袭及转移等,miR-23a 在结直肠癌患者中异常表达^[9-10]。ESM-1 属于硫酸皮肤素蛋白聚糖,大部分由激活的内皮细胞分泌,内皮功能正常时含量正常,当新生血管形成或内皮细胞受到损伤时其合成会增加^[11]。ESM-1 表达于肿瘤内皮细胞中,可加快细胞增殖,加速血管产生,诱发免疫抑制反应等促进肿瘤发生发展^[12]。本研究结果显示,ESM-1 水平在结直肠癌患者中明显升高。CA-199 是一种糖类抗原,在血清中以唾液黏蛋白的形式存在,在消化系统的正常组织中可检测到,水平升高时往往预示疾病恶化,可用于结直肠癌的监测^[13]。本研究结果显示,结直肠癌患者中血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平明显升高。首次利用 ROC 曲线对 3 个指标对结直肠癌的诊断效能进行分析,结果发现 3 个指标联合检测的 AUC 为 0.900,优于 3 个指标单项检测,提示联合检测对结直肠癌具有较高的诊断价值,该结果对临床诊断工作具有一定指导意义。

根据不同临床病理特征对结直肠癌患者进行分组,结果发现,TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期、有淋巴结转移及有远处转移患者的血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平明显高于高于Ⅰ+Ⅱ期、无淋巴结转移及无远处转移患者($P<0.05$),表明上述 3 个指标与肿瘤负荷有关,肿瘤负荷越大,肿瘤细胞释放的血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 越多,故其在结直肠癌的发生和发展中发挥重要作用。TNM 分期能反映肿瘤的恶性程度,肿瘤标志物的水平往往与 TNM 分期进展相关^[14]。淋巴结转移是结直肠癌转移的主要途径之一,是影响患者预后的重要因素^[15]。侵袭性转移是恶性肿瘤的重要生物学特征,发生远处转移的肿瘤患者一般已进展至中晚期,病情严重,预后也较差^[16]。本研究 Spearman 相关分析结果显示,血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平与 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移呈正相关($P<0.05$)。

综上所述,血清 miR-23a、ESM-1、CA-199 水平在结直肠癌患者中明显升高,联合检测有助于患者的早期诊断及病情评估。本研究也存在一定不足之处,未对患者进行长期跟踪回访,对其长期预后效果尚不明确,这也将是未来的研究重点。

参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of

incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

- [2] KOW A W C. Hepatic metastasis from colorectal cancer[J]. J Gastrointest Oncol, 2019, 10(6): 1274-1298.
- [3] 吴一峰, 张亚, 樊书荣, 等. 结肠癌组织 miR-192 和 miR-23a 水平的变化及其临床意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2019, 22(6): 426-431.
- [4] 刘松鸽, 王军凯, 李晓娜, 等. 甲状腺癌组织中 IL17RD、LIN52、ESM-1 表达及其与临床病理特征和预后的关系[J]. 实验与检验医学, 2021, 39(2): 479-482.
- [5] 高楠, 刘羨伟, 黄蕾, 等. miR-107、SHI、CA19-9 在结直肠癌中的表达及与临床病理特征的关系[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(5): 582-585.
- [6] 中华人民共和国健康管理委员会. 中国结直肠癌诊疗规范(2020 年版)[J]. 中国实用外科杂志, 2020, 40(6): 601-625.
- [7] 刘丹, 严苏, 张代义, 等. 定量粪便隐血试验在体检人群结直肠癌筛查中的应用[J]. 中华健康管理学杂志, 2021, 15(2): 158-162.
- [8] 王裴, 崔曼莉, 张明鑫. 非编码 RNA 在结直肠癌早期诊断中的应用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2021, 48(8): 502-506.
- [9] 胡鑫, 朱娜, 王琴. NSCLC 患者血清 miR-23a 和 miR-29a 水平表达对靶向治疗效果的预测价值[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(2): 61-65.
- [10] 丁银蓉, 刘扬, 黄秀芹, 等. miR-23a-3p、miR-376c-3p 在结直肠癌患者血清中的表达水平及与预后的关系[J]. 国际消化病杂志, 2020, 40(5): 323-329.
- [11] 曹巧红, 马聪. 妊娠期高血压疾病血清内皮细胞特异分子-1 水平及临床意义[J]. 中国医师进修杂志, 2021, 44(2): 145-148.
- [12] 潘岩, 李润浦, 徐洋涛, 等. 血清糖类抗原 19-9、内皮细胞特异性分子 1 及 C 反应蛋白与白蛋白比率对结直肠癌患者的诊断与预后的价值[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(3): 95-100.
- [13] 马琛茹, 关泉林, 郝建鹏, 等. 血清 Hcy、CEA、CA199 对结直肠癌诊断价值及其分期的相关性研究[J]. 西部医学, 2019, 31(10): 1549-1553.
- [14] 于斌, 朱蔚远, 彭文斌, 等. 胃癌患者 Hp 感染与 TNM 分期及肿瘤恶性程度的关系分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2020, 28(9): 663-667.
- [15] 王景林, 刘雪影, 李珀, 等. 不同分期结直肠癌间质病理特征与预后及淋巴结转移的相关性[J]. 肿瘤, 2021, 41(1): 45-56.
- [16] 赵晓慧, 李爽. SEPT9 基因甲基化、生长分化因子 15、糖类抗原 199 与结直肠癌患者临床病理特征和预后的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(24): 52-56.

(收稿日期: 2022-05-16 修回日期: 2022-12-11)