

宫颈癌患者血清 miR-101 的表达水平及其与临床病理参数的关系

刘首娟, 张娅
(聊城市人民医院妇产科, 山东 聊城 252000)

【摘要】目的: 探讨宫颈癌患者血清微小 RNA-101(miR-101)表达的水平及其与临床病理参数的关系。**方法:** 选取 76 例宫颈癌患者为宫颈癌组;50 例宫颈上皮内瘤变(CIN)患者为 CIN 组;50 例子宫良性病变患者为对照组。比较三组患者血清 miR-101 表达及一般资料;Logistic 回归模型分析宫颈癌发生的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-101 对宫颈癌的诊断效能及其与宫颈癌患者临床病理参数的关系。**结果:** 宫颈癌组患者血清 miR-101 相对表达量为(0.48 ± 0.14),相比 CIN 组(0.93 ± 0.17)或对照组(1.01 ± 0.19)降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示,HR-HPV 感染和血清 miR-101 水平是宫颈癌发生的影响因素($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 miR-101 诊断宫颈癌的曲线下面积(AUC)为 $0.886(95\%CI:0.829 \sim 0.929)$ 。血清 miR-101 与在宫颈癌患者不同年龄、绝经状态、肿瘤直径中的表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而在不同病理分期、淋巴结转移和血管浸润中的表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 miR-101 对宫颈癌病理分期($AUC = 0.792$)、淋巴结转移($AUC = 0.755$)、血管浸润($AUC = 0.730$)均有一定诊断价值。**结论:** miR-101 在宫颈癌患者血清中呈低表达,且与宫颈癌恶性程度相关,可作为宫颈癌的筛查标志物。

【关键词】 宫颈癌;miR-101;病理参数;诊断

【中图分类号】 R737.33 **【文献标志码】** A

The expression level of serum miR-101 in patients with cervical cancer and its relationship with clinicopathological parameters

LIU Shou-juan,ZHANG Ya
(Department of Obstetrics,Liaocheng People's Hospital,Liaocheng 252000,Shandong,China)

【Abstract】Objective: To investigate the expression level of serum microRNA (miR) -101 in the diagnosis of cervical cancer and its relationship with clinicopathological parameters. **Methods:** 76 patients with cervical cancer (cervical cancer group), 50 patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) (CIN group) and 50 patients with benign uterine lesions (control group) diagnosed were selected. The differences of serum miR-101 expression and general data among the three groups were compared. Logistic regression model was used to analyze the influencing factors of cervical cancer. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic efficacy of miR-101 for cervical cancer, and its relationship with different clinical pathological parameters in cervical cancer patients. **Results:** The relative expression of serum miR-101 in cervical cancer group was (0.48 ± 0.14), which was lower than that in CIN group (0.93 ± 0.17) or control group (1.01 ± 0.19), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that HR-HPV infection and serum miR-101 level were the influencing factors of cervical cancer ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum miR-101 for diagnosing cervical cancer was $0.886(95\%CI:0.829 \sim 0.929)$. There was no statistically significant difference in the expression levels of serum miR-101 among cervical cancer patients of different ages, menopausal status, and tumor diameter ($P > 0.05$), but there was a statistically significant difference in the expression levels among different pathological stages, lymph node metastasis, and vascular infiltration ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that serum miR-101 had certain diagnostic value for pathological stage ($AUC = 0.792$), lymph node metastasis ($AUC = 0.755$) and vascular invasion ($AUC = 0.730$) of cervical cancer. **Conclusion:** miR-101 is lowly expressed in the serum of patients with cervical cancer and is associated with the malignant degree of cervical cancer, which can be used as a screening marker for cervical cancer.

【Key words】 Cervical cancer;miR-101;Pathological parameters;Diagnosis

宫颈癌是威胁女性健康的常见恶性肿瘤之一,发病率在女性恶性肿瘤中居于第 2 位,是女性癌症相关死亡的首要原因^[1]。早期诊断和治疗是降低宫颈癌患者死亡率、延长患者生存期的关键。目前,宫颈活检为宫颈癌诊断的有效手段,但其为侵入性检查,不易被人群接受,且费用较高,不适合作为普查手段。故需探寻一种用于宫颈癌早期筛查的无创、可靠的检查手段。微小 RNA(miRNA)作为一种短链非编码 RNA,对细胞分化、生长代谢、增殖及肿瘤转移等多种生理病理过程均有调控作用^[2]。众多研究^[3-4]发现,miRNAs 参与着肿瘤的发生发展。还有研究^[5]表明,miRNA-101(miR-101)在宫颈癌细胞中低表达,促进了肿瘤细胞的侵袭、转移,且在乳腺癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤中存在异常表达^[6-7],提示可能是一种潜在的肿瘤标志物。目前,关于血清 miR-101 在宫颈癌中作用的研究尚缺乏。本研究旨在探讨宫颈癌患者血清 miR-101 表达的水平及其与临床病理参数的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2023 年 6 月聊城市人民医院收治的 76 例宫颈癌患者为宫颈癌组、50 例宫颈上皮内瘤变(CIN)患者为 CIN 组、50 例子宫良性病变患者为对照组。本研究通过本院伦理委员会审查。纳入标准:(1)术前均未接受治疗;(2)无其他子宫疾病。排除标准:其他类型恶性肿瘤。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集 包括患者年龄、体质量指数(BMI)、绝经状态、吸烟史、高危型人类乳头瘤病毒(HR-HPV)感染情况及有无其他性传播疾病。

1.2.2 血清 miR-101 检测 采集空腹静脉血 5 mL(宫颈癌组、CIN 组于入院 24 h 内,对照组于体检时)于促凝管中室温下静置 30 min 后,3 000 r/min 离心 15 min,血清放置在一 80 ℃ 下储存。使用 RNA

提取试剂盒对血清总 RNA 进行提取,然后对提取好的 RNA 使用 EvoM-MLV 逆转录试剂盒完成逆转录。反应体系:SYBR Green Mix 5.0 μL,miR-101 上游引物(CGATGAAGCTGAGCGTAGA)0.5 μL 和下游引物(TGCGAAGCTGAAGCGT-GAG),cDNA 1 μL,加双蒸水至 10 μL。反应条件:42 ℃ 15 min,85 ℃ 15 min,将得到的 cDNA 产物立即置于冰上,以使其冷却。使用 RT-qPCR 对 miR-101 表达量进行检测。反应条件:95 ℃ 15 s、95 ℃ 10 s、60 ℃ 30 s、72 ℃ 10 s,共进行 40 个循环。内参为 U6,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-101 相对表达量。

1.3 观察指标

(1)影响宫颈癌发生的单因素;(2)宫颈癌组、CIN 组、对照组患者血清 miR-101 水平;(3)影响因素宫颈癌发生的多因素;(4)血清 miR-101 对宫颈癌的诊断价值;(5)血清 miR-101 表达水平与宫颈癌患者不同临床病理参数的关系。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较,采用 SNK-*q* 检验,两组间比较行独立样本 *t* 检验;计数资料以[*n*(%)]表示,组间比较行独立样本 χ^2 检验;影响因素行多因素 Logistic 回归分析;诊断价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响宫颈癌发生的单因素

三组患者 HR-HPV 感染率、绝经率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),宫颈癌组 HR-HPV 感染率 $>$ CIN 组 $>$ 对照组,宫颈癌组、对照组绝经率高于 CIN 组($P < 0.05$)。三组患者性别、BMI、吸烟情况及其他性传播疾病比较,差异无统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 影响宫颈癌发生的单因素分析[$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

组别	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	HR-HPV 感染史	绝经史	吸烟史	其他性传播疾病史
宫颈癌组(<i>n</i> =76)	52.36±10.24	24.17±3.25	49(64.47) ^{①②}	19(25.00) ^②	6(7.89)	8(10.53)
CIN 组(<i>n</i> =50)	51.19±11.24	23.78±2.87	26(52.00) ^①	5(10.00) ^①	3(6.00)	5(10.00)
对照组(<i>n</i> =50)	50.41±9.78	23.94±2.67	9(18.00)	17(34.00)	4(8.00)	4(8.00)
<i>F</i> / χ^2 值	0.263	0.436	26.620	8.276	0.197	0.230
<i>P</i> 值	0.772	0.641	<0.001	0.016	0.906	0.891

① $P < 0.05$,与对照组比较;② $P < 0.05$,与 CIN 组比较。

2.2 三组患者血清 miR-101 水平比较

宫颈癌组、CIN 组及对照组患者血清 miR-101 水平分别为(0.48 ± 0.14)(0.93 ± 0.17)($1.01 \pm$

0.19)。三组患者血清 miR-101 水平比较,差异有统计学意义($F = 29.614, P < 0.001$),且宫颈癌组低于 CIN 组和对照组($P < 0.05$)。

2.3 影响宫颈癌发生的多因素分析

以是否患宫颈癌(是=1,否=0)作为因变量,年龄、HR-HPV 感染情况和血清 miR-101 水平等为自变量,多因素 Logistic 回归分析显示,HR-HPV 感染和血清 miR-101 水平是宫颈癌发生的危险因素($P<0.05$)。见表 2。

表 2 影响宫颈癌发生的多因素分析

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95%CI
年龄	0.487	0.269	3.278	0.071	1.627	0.961~2.141
BMI	0.394	0.211	3.487	0.063	1.483	0.981~2.242
HR-HPV 感染	1.511	0.589	6.581	0.011	4.531	1.428~14.374
绝经	1.025	0.569	3.245	0.072	2.787	0.914~8.501
吸烟	0.531	0.369	2.071	0.151	1.701	0.825~3.505
其他性传播疾病	0.589	0.312	3.564	0.060	1.802	0.978~3.322
血清 miR-101 水平	-0.432	0.175	6.094	0.014	0.649	0.461~0.915

2.4 血清 miR-101 对宫颈癌的诊断价值

ROC 曲线分析显示,血清 miR-101 诊断宫颈癌的曲线下面积(AUC)为 0.886(95%CI:0.829~0.929)。按最大约登指数得到诊断截点为 ≤ 0.61 。当 miR-101 相对表达量 ≤ 0.60 时,诊断的敏感度为 94.74%,特异度为 79.00%。

2.5 血清 miR-101 表达水平与宫颈癌患者不同临床病理参数的关系

血清 miR-101 表达水平在宫颈癌患者不同年龄、绝经状态、肿瘤直径中的表达量比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但在不同病理分期、淋巴结转移和血管浸润中的表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 血清 miR-101 表达量与宫颈癌患者临床病理参数的关系($\bar{x}\pm s$)

临床病理参数	miR-101	t 值	P 值
年龄		1.689	0.096
<50 岁($n=30$)	0.45±0.12		
≥50 岁($n=46$)	0.50±0.13		
绝经状态			
是($n=39$)	0.47±0.11	0.758	0.451
否($n=37$)	0.49±0.12		
肿瘤直径(cm)		1.804	0.075
≤4($n=31$)	0.51±0.10		
>4($n=45$)	0.46±0.13		
病理分期		2.464	0.016
I+II 期($n=22$)	0.53±0.09		
III+IV 期($n=54$)	0.46±0.12		
淋巴结转移		3.017	0.004
无($n=47$)	0.51±0.10		
有($n=29$)	0.43±0.13		
血管浸润		2.103	0.039
无($n=51$)	0.50±0.12		
有($n=25$)	0.44±0.11		

2.6 血清 miR-101 对宫颈癌临床病理特征的诊断价值

ROC 曲线分析显示,血清 miR-101 对宫颈癌病理分期、淋巴结转移、血管浸润均有一定诊断价值($P<0.05$)。见表 4。

表 4 血清 miR-101 对宫颈癌临床病理特征的诊断价值

临床病理特征	截断值	AUC 值	95%CI	P 值	敏感度(%)	特异度(%)
病理分期	<0.42	0.792	0.684~0.877	<0.001	68.52	72.73
淋巴结转移	<0.50	0.755	0.643~0.846	<0.001	55.17	93.62
血管浸润	<0.52	0.730	0.616~0.825	<0.001	52.00	88.20

3 讨论

宫颈癌近年发病率居高不下,是威胁女性健康的“重要杀手”。宫颈癌的形成需要漫长过程,由正常宫颈上皮转变为宫颈上皮瘤变,进而发展为原位癌。早发现、诊断并及时治疗是改善患者预后的关键。目前,临床上常使用癌胚抗原(CA125)、鳞状上皮细胞癌抗原(SCC-Ag)等对宫颈癌进行辅助诊断,但敏感度不强,特异性偏低^[8]。因此,探索新的宫颈癌血清标志物有着重要意义。

近年研究^[9]表明,miRNAs 在癌症的发生发展中有重要作用。肿瘤细胞的增殖、侵袭与细胞骨架蛋白重排有着密切关联,而 miRNAs 能够介导细胞骨架蛋白的表达,继而调控下游信号通路蛋白的表达,参与肿瘤细胞的增殖、侵袭^[10]。miR-101 是由 21 个核苷酸组成的短链 RNA,在不同物种中呈现出高度保守表达。miR-101 已被发现在肺癌、肝癌等多种恶性肿瘤中呈低表达^[11-12],提示其在恶性肿瘤中有着重要作用。在宫颈癌中,Wei 等^[13]研究发现,较之癌旁组织,宫颈癌组织 miR-101 表达明显下调,miR-101 的转染可使得肿瘤细胞 JAK2 表达下降,从而抑制肿瘤细胞增殖,促进肿瘤细胞凋亡。Shen 等^[14]研究表明,miR-101 可通过靶向调控 CX-CL16 而抑制宫颈癌的发生发展,并可能作为宫颈癌的潜在治疗靶点。Wang 等^[15]研究发现,miR-101 可通过介导 KPNA2 而参与宫颈癌的发生发展过程。以上研究提示 miR-101 有望作为宫颈癌等恶性肿瘤的潜在诊断标志物。本研究结果显示,相比 CIN 组和对照组,宫颈癌组血清 miR-101 表达下调($P<0.05$),与 miR-101 在其他恶性肿瘤中的表达下调相类似,提示 miR-101 的低表达可能参与了宫颈癌的发病。原因可能是由于 miR-101 在宫颈癌中发挥抑癌作用,其表达下调,肿瘤细胞增殖抑制减弱,从而导致疾病的发生。Logistic 回归分析显示,miR-101 水平是影响宫颈癌发生的因素($P<$

0.05),提示 miR-101 或许可作为宫颈癌筛查的生物标志物。ROC 曲线分析显示,miR-101 诊断宫颈癌的 AUC 为 0.886,说明其对宫颈癌有着较高诊断能力,可用于宫颈癌的筛查。

本研究还显示,宫颈癌病理分期高、有淋巴结转移、有血管浸润的患者血清 miR-101 相对表达量分别低于宫颈癌病理分期低、无淋巴结转移、无血管浸润的患者($P < 0.05$),提示血清 miR-101 与宫颈癌的恶性程度及不良预后指标相关。既往研究^[16]认为,miR-101 可能通过靶向调控 Rac1 基因表达,抑制宫颈癌的侵袭、转移。本研究未发现血清 miR-101 与肿瘤直径存在相关性($P > 0.05$),可能与入组样本量有限相关,有待进一步研究。ROC 曲线分析显示,血清 miR-101 诊断宫颈癌病理分期、淋巴结转移、血管浸润的 AUC 分别为 0.792、0.755、0.730,均有一定价值($P > 0.05$)。可能是由于 miR-101 的表达下降,导致其对肿瘤细胞 JAK2 表达抑制能力减弱,而使宫颈癌恶性行为增强,促进宫颈癌的发生发展,故 miR-101 表达水平与宫颈癌病理参数相关,可诊断病理分期、淋巴结转移及血管浸润等情况。另外,HR-HPV 感染是宫颈癌发生的危险因素($P > 0.05$),与既往报道^[17]相符。

综上,血清 miR-101 在宫颈癌患者中表达下调,且与宫颈癌病理分期、淋巴结转移、血管浸润具有相关性,在宫颈癌诊断中有一定价值,有望成为宫颈癌筛查的生物标志物。

参考文献

- [1] Cao W,Chen HD,Yu YW,*et al.* Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. Chinese Medical Journal, 2021,134(7):783—791.
- [2] Yoon YM,Go G,Yun CW,*et al.* Melatonin suppresses renal cortical fibrosis by inhibiting cytoskeleton reorganization and mitochondrial dysfunction through regulation of miR-4516[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (15): 5323.
- [3] Wang J,Yao S,Diao Y,*et al.* miR-15b enhances the proliferation and migration of lung adenocarcinoma by targeting BCL2 [J]. Thoracic Cancer, 2020,11(6):1396—1405.
- [4] Meredith H,Nham T. miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer[J]. Disease Models & Mechanisms, 2021,

14(4):dmm047662.

- [5] Lin C,Huang F,Zhang YJ,*et al.* Roles of miR-101 and its target gene Cox-2 in early diagnosis of cervical cancer in Uygur women[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014, 15(1):45—48.
- [6] Normann LS,Haugen MH,Aure MR,*et al.* miR-101-5p acts as a tumor suppressor in HER2-positive breast cancer cells and improves targeted therapy [J]. Breast Cancer, 2022, 14: 25—39.
- [7] Li Y,Li G,Wang X,*et al.* miR-101 inhibits proliferation and invasion abilities of SKOV-3 ovarian cancer cells[J]. Panminerva Medica, 2022,64(1):122—123.
- [8] 曹晓莉,申娟娟,张金业,等.长链非编码 RNA CCAT2 在宫颈癌患者血清中的表达及其意义[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(4):425—431.
- [9] 余昌敏,张丹,闵明,等.外泌体 miRNA 作为癌症早期诊断标志物的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36 (22): 2786—2790.
- [10] Zhang WW,Ming XL,Rong Y,*et al.* Diagnostic value investigation and bioinformatics analysis of miR-31 in patients with lymph node metastasis of colorectal cancer[J]. Analytical Cellular Pathology, 2019, 2019:9740475.
- [11] 郭雪茹,张其程,曹丽敏,等. miR-101 通过靶向 FGF2 抑制非小细胞肺癌的迁移和侵袭[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(9):984—991.
- [12] 张越婷,肖翰希,孙梁博,等.激活 miR-101-3p/EZH2 通路增敏索拉非尼抗肝癌 HepG2 细胞的效果[J]. 第三军医大学学报, 2020,42(22):2195—2201.
- [13] Wei H,He WR,Chen KM,*et al.* miR-101 affects proliferation and apoptosis of cervical cancer cells by inhibition of JAK2[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2021,25(8):3147.
- [14] Shen W,Xie XY,Liu MR,*et al.* microRNA-101-5p inhibits the growth and metastasis of cervical cancer cell by inhibiting CX-CL6[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019,23(5):1957—1968.
- [15] Wang H,Xiao R,Yang B. miR-101-3p suppresses progression of cervical squamous cell carcinoma by targeting and down-regulating KPNA2[J]. Technology in Cancer Research & Treatment, 2021,20:15330338211055948.
- [16] 木叶斯尔·买买提,聂磊,徐梦伟,等.子宫颈癌患者血清中 miR-101 的表达及其通过 Rac1 调控子宫颈癌细胞丝状伪足的形成[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022,38(7):783—788.
- [17] 李颖,王佩红,郭凤,等.宫颈癌及宫颈癌前病变组织中 DEP-DC1,miR-216a-5p 的表达及其与高危型 HPV 感染的相关性[J]. 海南医学, 2023,34(14):2020—2024.

(收稿日期:2024—12—16

修回日期:2025—04—01)