

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.02.036

miR-200 家族作为卵巢癌预后标志物的 meta 分析 *

朱晓南¹ 宗利丽^{2Δ} 付文博³ 郝 双¹ 管雁丞⁴ 张宸铭⁵

(1 南方医科大学珠江医院 广东 广州 510282; 2 南方医科大学中西医结合医院 广东 广州 510515;

3 石河子大学第一附属医院 新疆 石河子 832008; 4 深圳市中医院 广东 深圳 518033; 5 广州中医药大学 广东 广州 510405)

摘要 目的:系统评价 miR-200 家族(miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141、miR-429)的表达与卵巢癌预后之间的关系。**方法:**仔细检索美国国立图书馆(PubMed), 荷兰医学文摘(EMBASE)以及 ISI Web of Science、CNKI、万方等数据库, 与 miR-200 家族相关的卵巢癌预后的文献。检索日期为数据库的建库时间至 2013 年 9 月 20 日。提取与 miR-200 家族相关卵巢癌预后的相应数据, 应用 Stata11.0 软件进行 Meta 分析。**结果:**共有 7 篇研究符合入选标准, 累积肿瘤组织 577 例。Meta 分析显示, miR-200 家族低表达组的合并优势比是高表达组的 1.347 倍 (95%CI: 1.052, 1.725)。miR-200a、miR-200c、miR-141 的亚组分析结果分别为 1.091 (95%CI: 0.718, 1.659)、1.285 (95%CI: 0.765, 2.161)、1.122 (95%CI: 1.043-1.208)。miR-200 家族、miR-141 与卵巢癌的预后之间的关系有统计学意义($P = 0.018$, $P = 0.002$)。**结论:**miR-200 家族在卵巢癌的预后判断中可能起到预后标记物的作用。

关键词:miR-200 家族; 卵巢癌; 预后; 肿瘤标记; Meta 分析

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)02-343-04

Prognostic Role of miR-200 Family in Ovarian Cancer: a Meta-analysis*

ZHU Xiao-nan¹, ZONG Li-li^{2Δ}, FU Wen-bo³, HAO Shuang¹, GUAN Yan-cheng⁴, ZHANG Chen-ming⁵

(1 Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou Guangdong, 510282, China;

2 TCM-Integrated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China;

3 First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, 832008, China;

4 Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong, 518033, China;

5 Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, 510405, China)

ABSTRACT Objective: To systemically evaluate the relationship between miR-200 family and the prognosis of ovarian cancer.

Methods: A computer-based retrieval of PubMed, EMBASE, Web of Science, CNKI and Wanfang Database was performed for correlative literature to aggregate the survival results from their establishment to September 2013. Relevant data were extracted from studies investigating the relationship between miR-200 family expression and survival in ovarian cancer patients. The data were analyzed with meta analysis using Stata v11.0 software. **Results:** Seven studies were identified, involving 577 cases with ovarian cancer. Meta-analysis results showed that, the combined hazard ratio (HR) for miR-200 family in ovarian cancer was 1.347 (95%CI: 1.052, 1.725). Subgroup of miR-200a, miR-200c and miR-141 subjects for survival were 1.091 (95%CI: 0.718, 1.659), 1.285 (95%CI: 0.765, 2.161), and 1.122 (95%CI: 1.043, 1.208), respectively. The risk of miR-200 family, miR-141 for prognosis in ovarian cancer patients was significant ($P = 0.018$, $P = 0.002$). **Conclusions:** miR-200 family may act as a prognostic biomarker.

Key words: miR-200 family; Ovarian cancer; Prognosis; Tumor markers; Meta analysis

Chinese Library Classification(CLC): R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)02-343-04

前言

microRNA 是一类长度约 21~25 个核苷酸左右的小分子非编码 RNA, 以转录后调节的方式调节靶基因的表达水平^[1]。Calin 等人研究表明, 超过 50% miRNA 位于脆弱基因位点和与肿瘤相关的基因组区域^[2], 提示 miRNA 可能在人类肿瘤的发

病机制中起着至关重要的作用。近年来, 有关卵巢癌与 miRNA 的研究十分活跃, 来自多家研究机构的数据显示 miR-200 家族可作为卵巢癌的预后预测指标, 参与卵巢癌患者的预后判断, 然而不同研究之间结果差异较大^[3-7]。因此, 有必要进行荟萃分析, 以评估 miR-200 家族在卵巢癌预后中的整体风险, 以及 miR-200 家族是否可作为卵巢癌的预后标志物。

* 基金项目: 广东省人口和计划生育委员会科研项目(20110272)

作者简介: 朱晓南(1987-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 不孕症、卵巢肿瘤的临床与基础研究,

电话: 020-61650476, E-mail: zhuxiaonan200602@126.com

Δ 通讯作者: 宗利丽, 女, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向: 子宫内膜异位症、不孕症的临床与基础研究,

E-mail: zonglili2002@yahoo.com.cn

(收稿日期: 2014-04-14 接受日期: 2014-05-12)

1 材料和方法

本篇 meta 分析遵循由 Stroup 等人发布的 MOOSE (Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology) 指南^[8]以及 Moher 等人发布的 PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) 准则^[9]。

1.1 文献检索

仔细搜索美国国立图书馆(PubMed), 荷兰医学文摘(EMBASE), 中国万方医学网和中国期刊全文数据库(CNKI), 并辅以文献追溯的方法, 收集国内外发表的相关文献。搜索关键词为 miR-200 family / microRNA-200 family / miR-200a / miR-200b / miR-200c / miR-141 / miR-429 / ovarian cancer / ovarian carcinoma / ovarian tumor / 卵巢癌 / 卵巢肿瘤 / 癌症和 prognos* / surviv* / 预后 / 生存。检索日期为数据库的建库时间至 2013 年 9 月 20 日。同时追查已纳入文献的参考文献, 手工检索相关会议论文集, 以获取未检索到的相关信息。由两位评审者独立评估获得的文献。文献纳入的标准: 1. 研究领域限于卵巢癌患者的预后。2. 文献语言限于英文和中文。3. 测量了组织或血清中 miRNA 的表达。4. 探究了 miR-200 家族的表达和卵巢癌预后的关系。排除标准: 1. 综述、进展类文献等。2. 实验研究。3. 研究了一组 miRNA 的表达, 但没有单独研究 miR-200 家族。4. 未包含预后数据即风险比 (HR) 和 95% 的可信区间 (CI) 及相关信息。若两位评审者纳入意见发生冲突则引入第三位评审者。由于目前对于预后研究的 meta 分析文献质量评分并未获得广泛的统一意见, 评分的必要性及可信性存在争议, 因而我们并没有对获取的文献进行评分^[10]。

1.2 数据提取

由两位评审者独立提取纳入文献的数据。所提取的数据包含以下几个方面: 第一作者, 发表年份, 研究对象的来源, 研究对象的例数, 研究设计的类型, 肿瘤的分期, 检测 miRNA 的方法、样本类型、随访时间、风险比(HR) 及 95% 的可信区间。Hu^[3]、Marchini^[11] 等人的研究未包含风险比和 95% 的可信区间则通过向作者发送邮件的方式获取, 或者根据研究纳入的研究人数及 KM 生存曲线中进行提取^[12-14]。

1.3 数据分析

采用 DerSimonian 的 DL 法计算集合风险比及 95% 的可信区间^[15], 根据 I² 的统计结果评估文献内部的异质性而采用不同的计算模型, 无异质性则采用固定效应模型, 存在异质性则采用随机效应模型以减小文献异质性带来的误差^[16]。通常情况下实验组相对于对照组风险比大于 1 表示实验组预后不良, 小于 1 且 95% 的可信区间不包含 1 时则有保护意义, 同时 P < 0.05 有统计学意义^[17]。发表偏倚通过 Begg's 漏斗图及 Egger's 检验进行评估, 以 P < 0.05 为有统计学意义^[18]。采用 STATA v11.0 (Stata Corp., College Station, TX) 软件分析所有的数据^[19]。

2 结果

检索结束共得到相关文献 277 篇, 阅读文题和摘要, 排除明显不符合纳入标准的文献 264 篇, 对剩余的 13 篇文献进一步阅读全文排除无风险比及 95% 可信区间的文献 3 篇, 无关肿瘤患者预后 3 篇, 共得到 7 篇^[1,3,4,11-14] 文献符合标准, 纳入文献的基本特征见表 1。

表 1 meta 分析纳入文献的基本特征

Table 1 Basic characteristics of meta analysis included papers

Study	Population	Study design	N	Stage	miRNA assay	Sample
Hu (2009)	USA	R	55	III-IV	PCR	tissue
Marchini (2011)	Italy	R	144	I	PCR	tissue
Nam E J (2008)	Korea	R	20	I-IV	PCR	tissue, serum
Chao A (2012)	Taiwan	R	176	I-IV	PCR	tissue
李林霞 (2011)	China	R	80	I-IV	PCR	tissue
李晓翠 (2012)	China	R	45	I-IV	PCR	serum
Leskela (2011)	Spain	R	57	III-IV	PCR	tissue

7 篇文献研究, 研究类型均为回顾性研究, 且 miRNA 检测方法均为 RT-PCR, 除 Nam 采用肿瘤组织和血清^[14], 李晓翠^[12]采用血清外其他研究均采用肿瘤组织, 入选病例数为 577 例。本研究对 7 篇文献的风险比及 95% 可信区间进行集合分析, 结果显示 miR-200 家族表达下调与卵巢癌不良预后相关 [HR=1.347, 95% CI (1.052, 1.725), P=0.018]。亚组分析中 miR-200a、miR-200c 的表达与卵巢癌预后的关系无统计学意义, HR 分别为 1.091 (95% CI: 0.718, 1.659)、1.285 (95% CI: 0.765, 2.161)。miR-141 的表达下调与卵巢癌不良预后相关 [HR=1.122, 95% CI (1.043- 1.208), P=0.002]。亚组分析中 miR-200c 有明显的异质性, 因而采用随机效应模型计算集合

数据, 其余亚组分析无明显异质性, 采用固定效应模型计算集合数据。对全部研究及亚组分析进行发表偏倚检验, Begg's 漏斗和 Egger's 检验均未发现明显偏倚, 结果见表 2 和图 1。

3 讨论

卵巢癌是妇科常见的恶性肿瘤之一, 由于早期无明显症状, 缺乏有效的筛查及早期诊断方法, 70% 以上患者就诊时已届晚期, 5 年存活率低于 30%, 死亡率居所有女性生殖道恶性肿瘤的首位^[20]。卵巢癌预后通常认为只与患者就诊时临床分期、减灭手术状态、化疗药物敏感性等密切相关^[21], 然而, 近年来有不少研究表明, miRNA 可作为一种独立的预后预测指标,

表 2 met 分析的结果

Table 2 Results of meta analysis

Classification	HR	CI	P	X ²	I ² %	Begg's test/P	Egger's test/P
All study	1.347	1.052-1.725	0.018	21.23	38.8	0.155	0.128
miR-200a subgroup	1.091	0.718-1.659	0.683	4.62	13.4	0.221	0.376
miR-200c subgroup	1.285	0.765-2.161	0.343	11.61	74.2	0.308	0.383
miR-141 subgroup	1.122	1.043-1.208	0.002	2.93	31.8	0.296	0.643

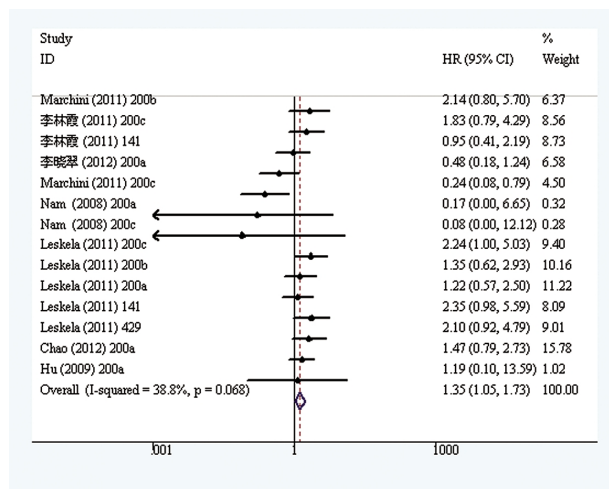


图 1 miR-200 家族表达降低对卵巢癌预后风险作用的森林图

Fig. 1 Forest plots of studies evaluating HR of survivals comparing low and high miR-200 family expression

参与卵巢癌患者的预后判断。miR-200 家族是与卵巢癌关联较多的一个家族,该家族共有 5 个成员,其中 miR-200a/b 和 miR-429 位于 1 号染色体,miR-200c 及 miR-141 位于 12 号染色体^[2]。

本篇 meta 分析显示 miR-200 家族表达下调与卵巢癌患者的不良预后相关。亚组分析显示,miR-200a、miR-200c 的表达和卵巢癌预后的关系无统计学意义。miR-141 表达下调与卵巢癌预后不良相关。但是本研究的结论基于以下原因有所欠缺。首先,尽管 miR-200 家族、miR-141 亚组的表达与卵巢癌预后的关系有统计学意义,但不是显著相关。从经验上来说,HR > 2 被认为有强烈的预测预后的意义^[23];其次,研究 miR-141 与卵巢癌预后关系的文献只有 4 篇,相对偏少,且 HR 接近于 1;第三,由于方法学的限制,尽管本篇文献显示 miR-200 家族、miR-141 的表达与卵巢癌预后之间的关系有统计学意义,但仍不能单靠现有的统计分析定论 miRNA 对卵巢癌预后的预测意义。Meta 分析由于缺乏其他标记物的独立的 HR 数据资料,因此很难排除混杂因素的影响。本研究的 meta 分析存在一定的局限性,首先 miR-200c 亚组存在显著的异质性。人群的异质性主要源于病人基线特征的差异(年龄,肿瘤分期,种族或国籍)、界值、随访的时间等。研究中存在的这些差异,可能有残余的混杂因素的影响,我们用随机效应模型试图最小化因此带来的影响,但仍不能排除。第二,虽然进行了相对全面的检索,但所用资料均为已发表文献,缺乏灰色文献的收集,可能会漏掉阴性

结果的研究而产生发表偏倚。

在过去的五年,由于 miRNA 具有在肿瘤组织和正常组织中差异表达、化学性质稳定及易于通过 PCR 方法进行检测这些特点,被认为可以作为癌症预后的潜在标记物。我们的 meta 分析亦显示,miR-200 家族有可能成为卵巢癌预后的潜在标记^[20]。然而,其临床应用还需考虑以下这些因素:1. 应该用组织还是血清检测 miRNA 的水平。现今,组织被更广泛的应用于 miRNA 的研究,然而相比较而言,外周血血清较易获得和检测,术前即可得到,且病人一生中都可以检测。本篇 meta 分析中有一例研究是用血清检测 miRNA,未来应该有更多的研究来评价血清中 miRNA 的表达与肿瘤预后的关系。2. 是单个还是一组 miRNA 标记物更适合 miRNA 的临床应用? 不同患者的多样性可能导致只用一种血清 miRNA 来判断肿瘤预后显得不够可靠。近来,有些学者提出应该用一组 miRNA 而非单个 miRNA 来增强 miRNA 的预测效力。Karin 等发现了一个由 miR-410 和 miR-645 组成的 miRNA 生存期标签 (miRNA survival signature, MiSS) 与晚期浆液性卵巢癌患者的总生存期显著负相关,而且这种 miRNA 生存期标签独立于临床上两种重要的预后影响指标,即肿瘤分期和肿瘤细胞减灭术状况^[24]。李等发现包含 7 个 miRNA 的胃癌标记物,多变量分析显示,此标记物可以作为 OS、RFS 的独立标记^[25]。他们的数据显示,一组 miRNA 较单个 miRNA 有更强的预测效能。如果此结论成立,那么可将多种 miRNA 组合使用,然而寻找和验证特异性肿瘤预后标志物是目前首先要解决的问题。对于 miRNA 的临床应用,以上这些问题都需要得到解决。

综上所述,miR-200 家族表达下调与卵巢癌不良预后相关,但其能否作为卵巢癌预后的可靠指标尚不确定,需要进行更多设计严谨、细致的高质量临床研究来进一步证实。

参考文献(References)

- [1] Chao A, Lin CY, Lee YS, et al. Regulation of ovarian cancer progression by microRNA-187 through targeting Disabled homolog-2 [J]. *Oncogene*, 2012, 31(6): 764-775
- [2] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(9): 2999-3004
- [3] Hu X, Macdonald DM, Huettner PC, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114(3): 457-464
- [4] Leskela S, Leandro-Garcia LJ, Mendiola M, et al. The miR-200 family

- controls beta-tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free survival in ovarian cancer patients[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2011, 18(1): 85-95
- [5] Li S D, Zhang JR, Wang YQ, et al. The role of microRNAs in ovarian cancer initiation and progression [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(9): 2240-2249
- [6] Mateescu B, Batista L, Cardon M, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response[J]. *Nat Med*, 2011, 17(12): 1627-1635
- [7] Torres A, Torres K, Maciejewski R, et al. MicroRNAs and their role in gynecological tumors[J]. *Med Res Rev*, 2011, 31(6): 895-923
- [8] Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group[J]. *JAMA*, 2000, 283(15): 2008-2012
- [9] Knobloch K, Yoon U, Vogt PM. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) statement and publication bias[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2011, 39(2): 91-92
- [10] Zhang L, Riethdorf S, Wu G, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(20): 5701-5710
- [11] Marchini S, Cavalieri D, Fruscio R, et al. Association between miR-200c and the survival of patients with stage I epithelial ovarian cancer: a retrospective study of two independent tumour tissue collections[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(3): 273-285
- [12] 李晓翠, 严沁, 万菁, 等. miR-200a 在卵巢癌患者血清中的表达及临床意义[J]. *现代妇产科进展*, 2012, 21(12): 953-956
- Li Xiao-cui, Yan Qin, Wan Jing, et al. Expression of miR-200a in serum of ovarian epithelial carcinoma and its clinical significance. [J]. *Progress in Obstetrics and Gynecology*, 2012, 21(12): 953-956
- [13] 李林霞, 李双弟, 杨懿霞, 等. miRNA-200c 在上皮性卵巢癌细胞株及肿瘤组织中的表达变化及意义[J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32(6): 612-616
- Li Lin-xia, Li Shuang-di, Yang Yi-xia, et al. Change of miRNA-200c expression in ovarian cancer and its clinical significance [J]. *Academic Journal of Second Military Medical University*, 2011, 32(6): 612-616
- [14] Nam EJ, Yoon H, Kim SW, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(9): 2690-2695
- [15] Dersimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials [J]. *Control Clin Trials*, 1986, 7(3): 177-188
- [16] Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses[J]. *BMJ*, 2003, 327(7414): 557-560
- [17] Gould RB, Bracken MB, Rimm DL. Tissue biomarkers for prognosis in cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(7): 452-474
- [18] Egger M, Davey SG, Schneider M, et al. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test[J]. *BMJ*, 1997, 315(7109): 629-634
- [19] Lin S, Pan L, Guo S, et al. Prognostic role of microRNA-181a/b in hematological malignancies: a meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59532
- [20] 程妮, 朱耀魁, 张磊, 等. 微 RNA 在卵巢上皮性癌发生发展中作用及其临床意义[J]. *生命科学*, 2012, 24(5): 428-432
- Cheng Ni, Zhu Yao-kui, Zhang Lei, et al. The roles of miRNAs in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer and its clinical significance [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2012, 24(5): 428-432
- [21] Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors[J]. *Semin Surg Oncol*, 2000, 19(1): 3-10
- [22] van Jaarsveld MT, Helleman J, Berns EM, et al. MicroRNAs in ovarian cancer biology and therapy resistance [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(8): 1282-1290
- [23] Hayes DF, Isaacs C, Stearns V. Prognostic factors in breast cancer: current and new predictors of metastasis [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2001, 6(4): 375-392
- [24] Shih KK, Qin LX, Tanner EJ, et al. A microRNA survival signature (MiSS) for advanced ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(3): 444-450
- [25] Li X, Zhang Y, Zhang Y, et al. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature[J]. *Gut*, 2010, 59(5): 579-585

(上接第 367 页)

- [16] Prosenjit Saha, Suvra Mandal, Ashes Das, et al. Evaluation of the Anticarcinogenic Activity of *Swertia chirata* Buch.Ham, an Indian Medicinal Plant, on DMBA-induced Mouse Skin Carcinogenesis Model[J]. *Phytotherapy Research*, 2004, 18: 373-378
- [17] Prosenjit Saha, Suvra Mandal, Ashes Das, et al. Amarogentin can reduce hyperproliferation by downregulation of Cox-II and upregulation of apoptosis in mouse skin carcinogenesis model [J]. *Cancer Letters*, 2006, 244: 252-259
- [18] Swapna Medda, Sibabrata Mukhopadhyay, Mukul Kumar Basu. Evaluation of the in-vivo activity and toxicity of amarogentin, an antileishmanial agent, in both liposomal and niosomal forms [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1999, 44: 791-794
- [19] Satyendra Suryawanshi, R. K. Asthana, R. C. Gupta. Assessment of Systemic Interaction between *Swertia chirata* Extract and its Bioactive Constituents in Rabbits [J]. *Phytotherapy Research*, 2009, 23: 1036-1038
- [20] Satyendra Suryawanshi, Nitin Mehrotra, R. K. Asthana, et al. Liquid chromatography/tandem mass spectrometric study and analysis of xanthone and secoiridoid glycoside composition of *Swertia chirata*, a potent antidiabetic [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, 20: 3761-3768