

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.19.022

miR-139-5p 在前列腺癌患者外周血中的表达及临床意义 *

王秀新¹ 罗茂华¹ 贾洪涛¹ 孙 涛¹ 杨 华¹ 李玉琼^{2Δ}

(1 湖北医药学院附属人民医院泌尿外科 湖北 十堰 442000; 2 湖北医药学院附属人民医院妇产科 湖北 十堰 442000)

摘要 目的:研究 miR-139-5p 在前列腺癌患者外周血中的表达及临床意义。**方法:**收集 2015 年 4 月至 2016 年 9 月于我院进行诊治的 65 例前列腺疾病患者和 20 例男性健康志愿者外周血样本,使用 RT-qPCR 方法检测各组 miR-139-5 相对表达量,统计分析前列腺癌患者外周血 miR-139-5p 水平与临床特征相关性,使用 ROC 曲线分析外周血 miR-139-5p 诊断前列腺癌的临床价值。**结果:**与良性增生组(n=15)患者和对照组(n=20)健康志愿者相比,前列腺癌组(n=50)患者外周血中 miR-139-5p 相对表达量均显著升高(P 均 <0.05)。中高分化、转移癌、Gleason 评分高危前列腺癌患者外周血 miR-139-5p 相对表达量显著高于低分化、原位癌和 Gleason 评分中危的前列腺癌患者(P 均 <0.05)。外周血 miR-139-5p 在区分前列腺癌和良性前列腺增生或健康人中特异性和敏感性均较高,ROC 曲线下面积为 0.942(95%CI:0.0.785~0.971)。**结论:**miR-139-5p 在 50 例前列腺癌患者外周血中呈高表达,或可作为非侵入性前列腺癌诊断标志物。

关键词:miR-139-5p; 前列腺癌; 外周血清; 肿瘤标志物

中图分类号:R737.25 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)19-3690-03

Expression and Clinical Significance of miR-139-5p in Peripheral Blood of Patients with Prostate Cancer*

WANG Xiu-xin¹, LUO Mao-hua¹, JIA Hong-tao¹, SUN Tao¹, YANG Hua¹, LI Yu-qiong^{2Δ}

(1 Department of Urology Surgery, The Affiliated People's Hospital of Hubei Medical College, Shiyan, Hubei, 442000, China;

2 Department of gynaecology and obstetrics, The Affiliated People's Hospital of Hubei Medical College, Shiyan, Hubei, 442000, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression and clinical significance of miR-139-5p in peripheral blood of patients with prostate cancer. **Methods:** Patients of prostate disease (n=65) and cases of male healthy volunteers (n=20) from April 2015 to September 2015 were included in the study. RT-qPCR method was used to detect the relative expression of miR-139-5p in peripheral blood of all the cases. The ROC curve was used to analyze the clinical value of peripheral blood miR-139-5p in the diagnosis of prostate cancer. **Results:** Compared with the hyperplasia of prostate group (n=15) and the control group (n=20), relative expression miR-139-5p in the peripheral blood of prostate cancer group (n=50) was significantly higher (P<0.05). The miR-139-5p relative expression levels in peripheral blood of prostate cancer patients with high differentiation, metastatic carcinoma and Gleason score at high risk for were significantly higher than those with low differentiation, in situ cancer and Gleason scores (P<0.05). The peripheral blood miR-139-5p had higher specificity and sensitivity in distinguishing prostate cancer from benign prostatic hyperplasia and healthy people. **Conclusion:** miR-139-5p in peripheral blood of patients with prostate cancer was highly expressed and could be used as a noninvasive diagnostic markers of prostate cancer.

Key words: miR-139-5p; Prostate cancer; Peripheral blood; Tumor markers

Chinese Library Classification(CLC): R737.25 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)19-3690-03

前言

前列腺癌是男性生殖系统发生率最高的恶性肿瘤之一^[1],死亡率高,且老年患者前列腺癌发生率明显升高,其中前列腺远处转移癌、局部浸润癌和原位癌的生存率极低。前列腺癌的早期诊断对于提高患者生存率降低死亡率具有重要意义。目前临床工作中对前列腺癌检查手段以穿刺活检、检测前列腺癌特异抗原标志物 PSA 为主^[2],但由于良性前列腺增生和急性前列

腺炎患者血清中 PSA 亦可见升高,PSA 特异性表现不佳,且 PSA 检测无法评估肿瘤分级以及远处转移。近年来研究显示微小 RNA(microRNA, miRNA)在转录后水平负调控基因表达^[3],在肿瘤发生、发展、转移和侵袭中均具有重要意义。既往研究表明 microRNA-139-5p(miR-139-5p)在结直肠癌等肿瘤组织中存在高表达^[4]。近期 Pang C^[5]等人研究显示 microRNA-139-5p 在 45 例前列腺癌患者外周血中含量显著高于良性前列腺增生患者和健康人。为了研究 miR-139-5p 在前列腺癌患者外周血中

* 基金项目:湖北省青年科技人才基金资助项目(QJX2008-38)

作者简介:王秀新(1974-),副主任医师,硕士,研究方向:泌尿外科结石、肿瘤

Δ 通讯作者:李玉琼,电话:18671177675

(收稿日期:2016-12-27 接受日期:2017-01-23)

的表达及临床意义,本研究收集 2015 年 4 月-2016 年 9 月于我院进行诊治的 65 例前列腺疾病患者外周血样本,使用 RT-qPCR 方法检测其 miR-139-5 的相对表达量进行统计分析,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2015 年 4 月至 2016 年 9 月于我院进行诊治的 65 例前列腺疾病患者和 20 例男性健康志愿者外周血样本。外周静脉血 EDTA 采血管中静置 20-30 min 后 1500 rpm 离心 10 min 取上清,置于 -80℃ 备用。全部 65 例患者年龄 55-75 岁,平均年龄(64.3±4.3)岁;健康志愿者年龄 54-70 岁,平均年龄(63.2±5.1)岁。其中经穿刺活检确诊为前列腺腺癌患者 50 例,良性前列腺增生患者 15 例分别纳入前列腺腺癌组和良性增生组;20 例健康志愿者纳入对照组。各组年龄均无统计学差异(均 $P > 0.05$)。前列腺腺癌患者中 Gleason 评分中危(6-7 分)31 例,高危(8-9 分)19 例;远处转移患者 21 例,原位癌患者 29 例。本研究通过我院临床实验伦理委员会批准,所有患者均对研究知情同意,并签署知情同意书。

1.2 提取血浆总 RNA

65 例血浆样本每份各取 400 μ L,使用 Qiagen RNeasy lipid mini kit 提取血浆总 RNA,具体提取方法按照试剂盒说明书进行。提取总 RNA 使用无 RNA 酶水瞬时离心。分光光度计测量血浆 RNA 浓度,判定 RNA 质量。置于 -80℃ 备用。

1.3 RT-qPCR 方法

进行 cDNA 逆转录。65 例血浆样本每份各取 2 μ L,用 miR-139-5p 特异序列引物和 Taqman miRNA 逆转录试剂盒进行逆转录合成 cDNA。反应条件如下:16℃ 30 min、42℃ 30 min、85℃ 5 min,产物于 -4℃ 保存。

荧光定量 Real-time PCR 检测。取 cDNA 2 μ L,使用 ABI7500 荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 Real-time PCR 检测。反应条件如下:95℃ 预变性 10 min,95℃ 变性 10 s,60℃ 退火 20 s,72℃ 延伸 34 s,扩增 40 cycle,使用 U6 作为内参。检测各模板的 Ct 值,评定 miRNA 相对表达量。

1.4 统计学分析

所有统计数据应用 SPSS 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。不服从正态分布的计量资料采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料用 χ^2 检验。相关分析采用 Spearman 等级法。应用 ROC 曲线评价外周血 miR-139-5p 在前列腺癌诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有意义。

2 结果

2.1 miR-139-5p 在各组外周血中的表达

RT-qPCR 检测各组外周血 miR-139-5p 相对表达量,结果如表 1、图 1 所示。与良性增生组($n=15$)患者和对照组($n=20$)健康志愿者相比,前列腺腺癌组($n=50$)患者外周血中 miR-139-5p 相对表达量均显著升高(P 均 < 0.05),良性增生组患者外周血中 miR-139-5p 相对表达量显著高于对照组健康志愿者($P < 0.05$)。

2.2 前列腺癌患者外周血 miR-139-5p 水平与临床特征的相关性

50 例前列腺癌患者外周血中 miR-139-5p 水平与临床特征相关分析结果如表 2 所示,前列腺癌患者外周血中 miR-139-5p 水平与年龄无明显相关性($P > 0.05$)。在中高分化、转移癌、Gleason 评分高危患者中,外周血 miR-139-5p 相对表达量显著高于低分化、原位癌和 Gleason 评分中危的前列腺癌患者(P 均 < 0.05)。

表 1 miR-139-5p 在各组外周血中的相对表达

Table 1 The relative expression of miR-139-5p in peripheral blood between different groups group

Groups	Relative expression of mRNA miR-139-5p
Prostate cancer group($n=50$)	5.96 ± 1.32 ^{##}
Benign hyperplasia group($n=15$)	1.67 ± 0.28 [#]
Control group($n=20$)	1.02 ± 0.07

Note: * $P < 0.05$ vs. Benign hyperplasia group; [#] $P < 0.05$ vs. control group.

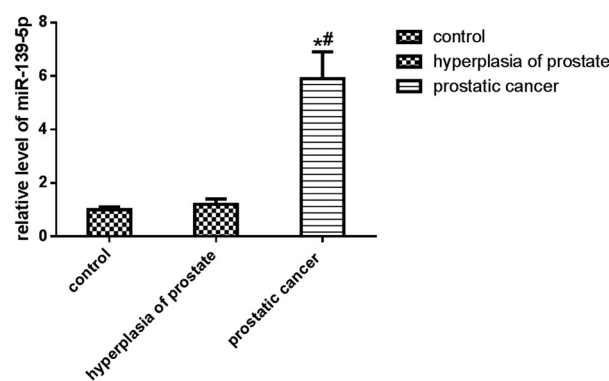


图 1 miR-139-5p 在各组外周血中的表达

Fig.1 Expression of miR-139-5p in peripheral blood of each group

2.3 外周血 miR-139-5p 诊断前列腺癌的临床价值

外周血 miR-139-5p 在区分前列腺癌和良性前列腺增生或健康人中的诊断价值 ROC 曲线如图 2 所示。miR-139-5p 的 ROC 曲线下面积为 0.942 (95%CI:0.0785~0.971)。外周血 miR-139-5p 在区分前列腺癌和良性前列腺增生或健康人中特异性和敏感性均较高。

3 讨论

前列腺癌是男性生殖系统发生率最高的恶性肿瘤之一^[7],死亡率高,且老年患者前列腺癌发生率明显升高,其中前列腺远处转移癌、局部浸润癌和原位癌的生存率极低^[8]。前列腺癌的早期诊断对于提高患者生存率降低死亡率具有重要意义。目前,临床工作中对前列腺癌检查手段以穿刺活检、检测前列腺癌特异抗原标志物 PSA 为主,但由于良性前列腺增生和急性前列腺炎患者血清中 PSA 亦可见升高,PSA 特异性表现不佳^[9],且 PSA 检测无法评估肿瘤分级以及远处转移。近年来研究显示 miRNA 在转录后水平负调控基因表达^[9,10],在肿瘤发生、发展、转移和侵袭中均具有重要意义^[11,12]。既往研究表明 miR-139-5p 在结直肠癌和前列腺癌等肿瘤组织中均存在高表达,但其具体诊断价值尚不清楚。

为了研究 miR-139-5p 在前列腺癌患者外周血中的表达及临床意义,本研究收集 2015 年 4 月-2016 年 9 月于我院进行

表 2 前列腺癌患者外周血 miR-139-5p 水平与临床特征的相关性

Table 2 Correlation of miR-139-5p level in peripheral blood with the clinical features of patients with prostate cancer

Groups	Cases	Relative expression of miR-139-5p	P
Age			P > 0.05
>60 years old	44	1.01 ± 0.51	
≤ 60 years old	6	1.2 ± 0.78	
Degree of differentiation			P < 0.05
Poorly differentiated	19	1.01 ± 0.93	
Middle and high differentiation	31	3.12 ± 2.16	
Have or no transfer			P < 0.05
Cancer in situ	29	1.02 ± 0.53	
Carcinoma metastaticum	21	2.31 ± 2.84	
Gleason score			P < 0.05
In danger(6-7branch)	31	1.01 ± 0.42	
High-risk(8-9branch)	19	2.54 ± 1.73	

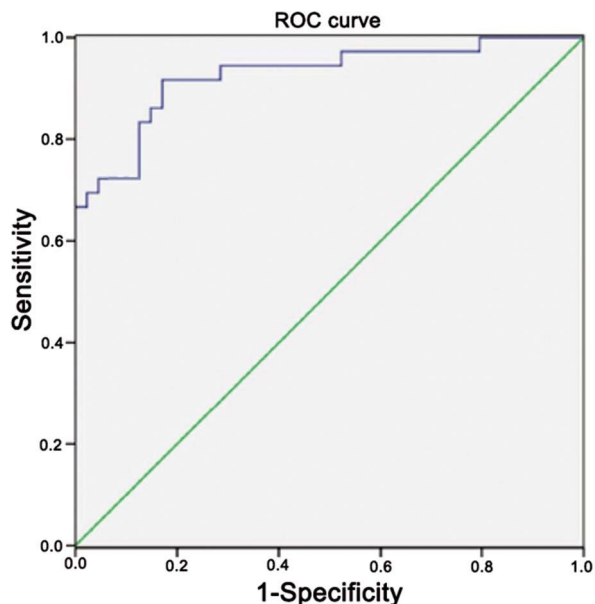


图 2 ROC 曲线分析

Fig.2 ROC curve analysis

The miR-139-5p in peripheral blood can distinguish prostatic cancer patients from hyperplasia of prostate patients and healthy control. (AUC: 0.942; 95% CI: 0.0.785 ~ 0.971). ROC, receiver operating characteristic; AUC, area under the curve; CI, confidence interval.

诊治的 65 例前列腺疾病患者外周血样本,使用 RT-qPCR 方法检测各组 miR-139-5 相对表达量,统计分析前列腺癌患者外周血 miR-139-5p 水平与临床特征相关性,使用 ROC 曲线分析外周血 miR-139-5p 在前列腺癌诊断价值。结果显示:前列腺癌患者外周血中 miR-139-5p 相对表达量显著高于良性增生患者和健康志愿者,其中高分化、转移癌、Gleason 评分高危前列腺癌患者外周相对表达量显著高于低分化、原位癌和 Gleason 评分中危的前列腺癌患者,表明 miR-139-5p 在前列腺癌的发生发展过程中具有重要的作用。

外周血肿瘤标志物与穿刺活检、胸腹腔积液等诊断方法相比更易获得,且对患者损伤较小,作为非侵入性诊断方法具有显著的优点^[13]。既往研究中,胃癌、结直肠癌、食道癌、宫颈癌等

肿瘤患者组织或外周血中均有显著特异性 miRNA 高表达^[14,15]。本组研究结果显示 miR-139-5p 的 ROC 曲线下面积为 0.942 (95%CI:0.0.785~0.971),外周血 miR-139-5p 在区分前列腺癌和良性前列腺增生或健康人中特异性和敏感性均较高,具有作为前列腺癌肿瘤标志物潜在能力。

综上所述,miR-139-5p 在 50 例前列腺癌患者外周血中呈高表达,或可作为非侵入性前列腺癌诊断标志物,但其具体应用仍有待扩大样本量进行进一步验证。

参考文献(References)

- [1] Heidenreich A, Bastian P J, Bellmunt J, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013 [J]. European Urology, 2014, 65 (1): 124-137
- [2] 尹玉,李明,李昊,等. 6 种 microRNAs 在前列腺癌组织中的表达[J]. 中华男科学杂志, 2010, 07: 599-605
Yin Yu, Li Ming, Li Hao, et al. Expression of 6 microRNAs in prostate cancer [J]. National Journal of Andrology, 2010, 07: 599-605
- [3] Bartel D P. MicroRNA Target Recognition and Regulatory Functions [J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233
- [4] Slattery M L, Herrick J S, Mullany L E, et al. An evaluation and replication of miRNAs with disease stage and colorectal cancer-specific mortality: Replication of mi-RNA with survival[J]. International Journal of Cancer, 2015, 137(2): 428-438
- [5] Pang C, Liu M, Fang W, et al. MiR-139-5p is Increased in the Peripheral Blood of Patients with Prostate Cancer[J]. Cellular Physiology & Biochemistry International Journal of Experimental Cellular Physiology Biochemistry & Pharmacology, 2016, 39(3): 1111-1117
- [6] Haas G P, Delongchamps N B, Jones R F, et al. Needle biopsies on autopsy prostates: sensitivity of cancer detection based on true prevalence [J]. Journal of the National Cancer Institute, 2007, 99 (19): 1484-1489
- [7] 姜训圳,赵科,何向辉. miRNA-21, miRNA-135b, miRNA-141 在结肠癌中的表达及其意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 10: 1367-1372

(下转第 3655 页)

- [23] Higuchi T, Kamijima K, Nakagome K, et al. A randomized, double-blinded, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of venlafaxine extended release and a long-term extension study for patients with major depressive disorder in Japan [J]. *Int Clin Psychopharmacol*, 2016, 31(1): 8-19
- [24] Qu W, Gu S, Luo H, et al. Effects of olanzapine-fluoxetine combination treatment of major depressive disorders on the quality of life during acute treatment period [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(3): 1799-1802
- [25] Detke HC, DelBello MP, Landry J, et al. Olanzapine/Fluoxetine combination in children and adolescents with bipolar I depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2015, 54(3): 217-224
- [26] Lazowski LK, Townsend B, Hawken ER, et al. Sleep architecture and cognitive changes in olanzapine-treated patients with depression: a double blind randomized placebo controlled trial [J]. *BMC Psychiatry*, 2014, 14: 202
- [27] 聂利珞.文拉法辛联合认知行为干预治疗帕金森症合并抑郁、认知功能障碍的临床疗效 [J]. *中国医药科学*, 2015, 5(6): 165-167
Nie Li-luo. Clinical efficacy of venlafaxine combined with cognitive behavioral intervention for Parkinson's disease with depression and cognitive dysfunction[J]. *China Medicine And Pharmacy*, 2015, 5(6): 165-167
- [28] 高代林,徐佳军,毕建强,等.文拉法辛联合治疗方案对难治性抑郁症疗效的随机对照研究 [J]. *中华精神科杂志*, 2009, 42(3): 146-148
Gao Dai-lin, Xu Jia-jun, Bi Jian-qiang, et al. Randomized study of combination therapy of venlafaxine in the treatment of refractory depression[J]. *Chinese Journal of Psychiatry*, 2009, 42(3): 146-148
- [29] Davies J, Lloyd KR, Jones IK, et al. Changes in regional cerebral blood flow with venlafaxine in the treatment of major depression[J]. *Am Psychiatry*, 2003, 160: 374-376
- [30] Thase ME, Friedman ES, Howland RH. Management of treatment-resistant depression : psychotherapeutic perspectives [J]. *Clin Psychiatry*, 2001, 62Suppl: 18-24
- [31] 李敏,李春文.综合放松训练对缓解患者心理应激水平及免疫功能影响的研究进展[J]. *中国民康医学*, 2010, 45(5): 405-408
Li Min, Li Chun-wen. Research Progress of Comprehensive Relaxation Training on Relieving the Psychological Stress Level and Immune Function of Patients [J]. *Medical Journal of Chinese People's Health*, 2010, 45(5): 405-408
- [32] Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA. Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression [J]. *Am Psychiatry*, 1999, 156: 837-841
- [33] Lourenço J, Bacci A. Human-Specific Cortical Synaptic Connections and Their Plasticity: Is That What Makes Us Human? [J]. *PLoS Biol*, 2017, 15(1): e2001378

(上接第 3692 页)

- Jiang Xun-zhen, Zhao Ke, He Xiang-hui. Expressions of mi RNA-21, mi RNA-135b and mi R-141 in colon cancer and the significance[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2014, 10: 1367-1372
- [8] Prensner J R, Rubin M A, Wei J T, et al. Beyond PSA: the next generation of prostate cancer biomarkers [J]. *Science Translational Medicine*, 2012, 4(127): 2600-2604
- [9] Zhang H D, Jiang L H, Sun D W, et al. MiR-139-5p: promising biomarker for cancer [J]. *Tumour Biology the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology & Medicine*, 2015, 36(3): 1355-1365
- [10] 朱陵君,陈志鹏,王美林,等.结直肠癌中 miRNA 基因及其靶基因多态性位点的研究进展[J]. *肿瘤防治研究*, 2014, 01: 69-73
Zhu Ling-jun, Chen Zhi-peng, Wang Mei-lin, et al. Study Advancement of Micro RNA and Its Target Gene Polymorphism and Colorectal Tumorigenesis [J]. *Cancer Research on Prevention and Treatment*, 2014, 01: 69-73
- [11] Shen K, Mao R, Ma L, et al. A Post-Transcriptional Regulation of Tumor Suppressor MiR-139-5p and A Network of MiR-139-5p Mediated mRNAs Interactions in Colorectal Cancer[J]. *Febs Journal*, 2014, 281(16): 3609-3624
- [12] Zhao G, Zhou X, Fang T, et al. Hyaluronic acid promotes the expression of progesterone receptor membrane component 1 via epigenetic silencing of miR-139-5p in human and rat granulosa cells[J]. *Biology of Reproduction*, 2014, 91(5): 116
- [13] 曾康康,莫祥兰,刘斐,等.宫颈癌及癌前病变组织中 microRNAs 的差异表达[J]. *肿瘤防治研究*, 2014, 07: 789-793
Zeng Kang-kang, Mo Xiang-lan, Liu Fei, et al. Differential Expression of microRNAs in Cervical Cancer and Cervical Precancerous Lesions[J]. *Cancer Res Prev Treat*, 2014, 07: 789-793
- [14] Liu R, Yang M, Meng Y, et al. Tumor-Suppressive Function of miR-139-5p in Esophageal Squamous Cell Carcinoma [J]. *Plos One*, 2013, 8(10): 65
- [15] Amin M, Lam K Y. Current perspectives of mi-RNA in oesophageal adenocarcinoma: Roles in predicting carcinogenesis, progression and values in clinical management [J]. *Experimental & Molecular Pathology*, 2015, 98(3): 411-418