

## 鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 的表达水平及临床价值

薛玉峰<sup>a</sup>, 张会平<sup>a</sup>, 王芳<sup>b</sup>, 郝宗生<sup>a</sup>(涿州市医院 a. 耳鼻喉科; b. 药剂科, 河北涿州 072750)

**摘要:** 目的 探讨鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 的表达水平及临床价值。方法 选取 2016 年 1 月~2020 年 7 月涿州市医院收治的 106 例鼻咽癌患者和 50 例健康对照组作为研究对象, 采用实时定量 PCR 法检测 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 miR-144-3p 及 miR-151-3p 诊断鼻咽癌的价值。Pearson 相关分析鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 与 miR-151-3p 表达水平的相关性。结果 鼻咽癌组血清 miR-144-3p ( $2.36 \pm 1.05$  vs  $0.82 \pm 0.27$ ) 及 miR-151-3p ( $3.58 \pm 1.73$  vs  $0.97 \pm 0.36$ ) 表达水平均明显高于对照组, 差异有统计学意义 (均  $P < 0.001$ )。鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平升高与临床分期高、分化程度低、淋巴结转移及远处转移有关 ( $t=5.824\sim 19.307$ , 均  $P < 0.01$ )。ROC 曲线显示, miR-144-3p 为 1.61 及 miR-151-3p 为 2.25 是诊断鼻咽癌的最佳截断值, 二者联合诊断鼻咽癌的曲线下面积 (0.937, 95%CI: 0.875~0.99) 最大, 其敏感度和特异度为 95.3% 和 87.0%。鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 表达水平与 miR-151-3p 呈正相关 ( $r=0.872$ ,  $P < 0.001$ )。结论 鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平明显升高, 二者联合诊断鼻咽癌的价值较高。

**关键词:** 鼻咽癌; 微小核糖核酸 -144-3p; 微小核糖核酸 -151-3p

中图分类号: R739.63; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 05-065-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.015

### Expression and Clinical Value of Serum miR-144-3p and miR-151-3p Levels in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma

XUE Yu-feng<sup>a</sup>, ZHANG Hui-ping<sup>a</sup>, WANG Fang<sup>b</sup>, HAO Zong-sheng<sup>a</sup> (a. Department of Otolaryngology; b. Department of Pharmacy, Zhuozhou City Hospital, Hebei Zhuozhou 072750, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression level and clinical value of miR-144-3p and miR-151-3p in patients with nasopharyngeal carcinoma. **Methods** The 106 patients with nasopharyngeal carcinoma and 50 healthy controls who were admitted to Zhuozhou City Hospital from January 2016 to July 2020 were selected as the research subjects. The expression levels of miR-144-3p and miR-151-3p were detected by real-time quantitative PCR. The levels of miR-144-3p and miR-151-3p in the patients was analyzed by ROC curve in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between serum miR-144-3p expression level and miR-151-3p level in patients with nasopharyngeal carcinoma. **Results** The expression levels of serum miR-144-3p ( $2.36 \pm 1.05$  vs  $0.82 \pm 0.27$ ) and miR-151-3p ( $3.58 \pm 1.73$  vs  $0.97 \pm 0.36$ ) in nasopharyngeal carcinoma group were significantly higher than those in control group, the differences were statistically significant (all  $P < 0.001$ ). The increased expression levels of serum miR-144-3p and miR-151-3p were associated with high clinical stage, low differentiation, lymph node metastasis and distant metastasis ( $t=5.824\sim 19.307$ , all  $P < 0.01$ ). ROC curve showed that the best cut-off values of miR-144-3p and miR-151-3p in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma were 1.61 and 2.25, respectively. The area under the curve (0.937, 95% CI: 0.875~0.99) was the largest for the two combined diagnosis of nasopharyngeal carcinoma, and the sensitivity and specificity were 95.3% and 87.0%, respectively. The expression levels of serum miR-144-3p was positively correlated with miR-151-3p ( $r=0.872$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusion** The expression levels of serum miR-144-3p and miR-151-3p in nasopharyngeal carcinoma patients were significantly increased, and the two combined diagnosis value of nasopharyngeal carcinoma was relatively high.

**Keywords:** nasopharyngeal carcinoma; miR-144-3p; miR-151-3p

鼻咽癌是一种起源于鼻咽部上皮细胞的恶性肿瘤, 其进展隐匿, 有很高的恶性程度, 多数患者发展到临床晚期才发现, 致使其预后较差, 5 年生存率较低<sup>[1]</sup>。因此, 寻找一种对鼻咽癌早期诊断的生

物标志物显得非常重要。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 是一类单链、进化高度保守的小分子非编码 RNA, 参与鼻咽癌的发生发展过程<sup>[2-3]</sup>。研究发现, 鼻咽癌中 miR-144-3p 及 miR-151-3p 存在异常表达,

基金项目: 保定市科学计划与发展指导计划项目 (18ZF146)。

作者简介: 薛玉峰 (1980-), 男, 主治医师, 本科, 主要从事临床耳鼻喉疾病研究。E-mail: xueyufeng2020@163.com。

其通过调控多种靶基因的生物学功能参与鼻咽癌的发生发展,有望作为诊断鼻咽癌的潜在标志物<sup>[4-5]</sup>。但关于 miR-144-3p 及 miR-151-3p 在鼻咽癌中的临床诊断价值尚未阐明。因此,本研究通过检测鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平,分析其与鼻咽癌病理特征的关系及诊断鼻咽癌的价值,为临床提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取涿州市医院 2016 年 1 月~2020 年 7 月收治鼻咽癌患者 106 例,男性 63 例,女性 43 例,年龄 36~78(59.20±12.75)岁。依据临床分期:Ⅰ期 12 例,Ⅱ期 19 例,Ⅲ期 50 例,Ⅳ期 25 例;淋巴结转移:颈部伴淋巴结转移 51 例,无淋巴结转移 55 例。纳入标准:首次确诊鼻咽癌,经鼻咽部组织活检病理学检查确诊。排除标准:既往已接受放疗、化疗或其他抗肿瘤治疗者,并发其他恶性肿瘤者。另选取同期正常者 50 例作为对照组,男性 32 例,女性 18 例,年龄 38~75(60.28±10.53)岁。两组年龄、性别比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究与患者签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),PCR 试剂盒购自上海吉凯基因化学技术有限公司,RNeasy 试剂盒、miRNA Easy 试剂盒和 TRIzol 试剂盒均购自美国 Qiagen 公司,离心机为美国 ABI 公司产品。生化分析仪为日立 7600 型全自动生化分析仪。

1.3 方法 所有研究对象均采集空腹静脉血 3ml,离心分离血清,在 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪上检测 miR-144-3p 及 miR-151-3p。PCR 总反应体系为 20  $\mu$ l: 1  $\mu$ l 引物及探针 Mix (20 $\times$ ), 10  $\mu$ l TaqMan 通用混合物溶液 (2 $\times$ ), 1.33  $\mu$ l 反向转录脱氧核糖核酸, 7.67  $\mu$ l 双蒸馏水;反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 进行 45 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miR-144-3p 及 miR-151-3p 水平。

1.4 统计学分析 采用 SPSS22.0 统计软件分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用  $t$  检验。应用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析 miR-144-3p 及 miR-151-3p 诊断鼻咽癌的价值。采用 Pearson 法进行相关分析。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组 miR-144-3p 及 miR-151-3p 水平比较 鼻咽癌组血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平分别为  $2.36\pm 1.05$  和  $3.58\pm 1.73$ ,均明显高于正常对照组( $0.82\pm 0.27$  和  $0.97\pm 0.36$ ),差异有统计学意义(均  $P<0.001$ )。

2.2 miR-144-3p 及 miR-151-3p 与鼻咽癌临床病理特征的关系 见表 1。鼻咽癌患者血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平升高与临床分期高、分化程度低、淋巴结转移及远处转移有关,差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ )。

表 1 miR-144-3p 及 miR-151-3p 与鼻咽癌临床病理特征的关系 ( $n=106, \bar{x}\pm s$ )

类别	$n$	miR-144-3p	$t$ 值	$P$ 值	miR-151-3p	$t$ 值	$P$ 值
病理类型							
鳞状细胞癌	49	$2.32\pm 1.05$			$3.50\pm 1.66$		
非角化型	40	$2.39\pm 0.97$	0.871	0.375	$3.62\pm 1.74$	1.173	0.245
未分化型	17	$2.44\pm 1.08$			$3.70\pm 1.78$		
临床分期							
Ⅰ~Ⅱ期	31	$1.68\pm 0.57$	12.153	<0.001	$2.30\pm 1.06$	16.375	<0.001
Ⅲ~Ⅳ期	75	$3.05\pm 1.20$			$4.72\pm 2.18$		
分化程度							
中高分化	63	$1.94\pm 0.73$	5.824	0.002	$2.66\pm 1.17$	10.726	<0.001
低分化	43	$2.80\pm 1.10$			$4.45\pm 1.96$		
淋巴结转移							
有	51	$3.27\pm 1.28$	14.285	<0.001	$4.93\pm 2.25$	19.307	<0.001
无	55	$1.60\pm 0.54$			$2.18\pm 1.03$		
远处转移							
有	37	$3.35\pm 1.31$	16.170	<0.001	$5.15\pm 2.30$	21.286	<0.001
无	69	$1.56\pm 0.50$			$2.04\pm 1.03$		

2.3 miR-144-3p 及 miR-151-3p 诊断鼻咽癌的价值 见表 2 和图 1。血清 miR-144-3p 及 miR-151-3p 表达水平诊断鼻咽癌的最佳截断值分别为 1.61 和 2.25,二者联合诊断鼻咽癌的曲线下面积(0.937, 95%CI: 0.875~0.996)明显高于单项 miR-144-

3p (0.820, 95%CI: 0.762~0.881) 和 miR-151-3p (0.858, 95%CI: 0.797~0.915),差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其敏感度为 95.3%,特异度为 87.0%。

表2 miR-144-3p及miR-151-3p诊断鼻咽癌的价值

项目	最佳截断值	AUC (95%CI)	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
miR-144-3p	1.61	0.820 (0.762 ~ 0.881)	84.0	77.0	80.5	81.2
miR-151-3p	2.25	0.858 (0.797 ~ 0.915)	82.7	86.5	83.6	87.0
二者联合	-	0.937 (0.875 ~ 0.996)	95.3	87.0	90.4	92.5

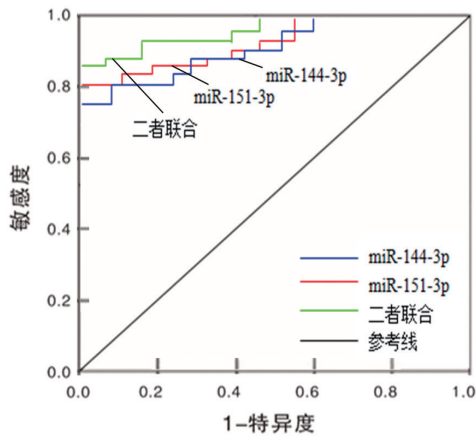


图1 miR-144-3p及miR-151-3p诊断鼻咽癌的ROC曲线

2.4 miR-144-3p表达水平与miR-151-3p的相关性 见图2。相关分析显示,鼻咽癌患者血清miR-144-3p表达水平与miR-151-3p呈正相关( $r=0.872$ ,  $P<0.001$ )。

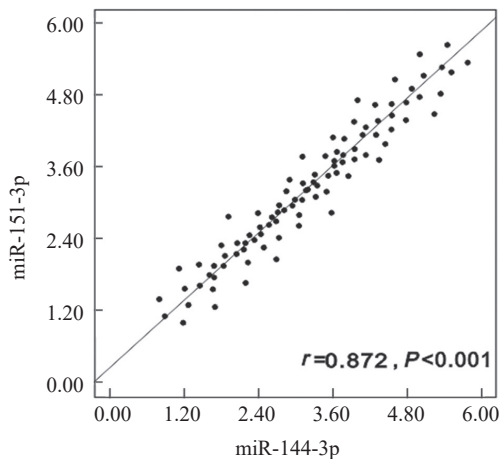


图2 血清miR-144-3p表达水平与miR-151-3p的相关性

### 3 讨论

鼻咽癌是常见的头颈部恶性肿瘤,其发病部位隐蔽,早期无典型症状,且个体疗效差异较大,故寻找高特异度和高敏感度的生物标志物,对鼻咽癌的早期诊断和预后判断具有重要的临床意义。近年来研究表明,miRNA在鼻咽癌的发病过程中起到重要的作用,并可为鼻咽癌诊断及靶向治疗提供新的思路<sup>[6-7]</sup>。有研究指出,miR-144-3p在恶性肿瘤患者中存在异常表达,对肿瘤细胞的分化、增殖起到重要的调控作用,有望成为恶性肿瘤早期诊断、疗效监测及靶向基因治疗的新型标志物<sup>[8]</sup>。另有研

究认为,miR-151-3p通过调节多种信号通路,影响肿瘤细胞增殖、迁移与侵袭,与鼻咽癌的发生和发展相关,可能作为恶性肿瘤诊断及疗效预测的生物标志物<sup>[9]</sup>。

本研究显示,miR-144-3p及miR-151-3p在鼻咽癌组中的表达水平明显高于对照组,提示鼻咽癌存在miR-144-3p及miR-151-3p的异常高表达,具有癌基因作用,可参与鼻咽癌的发生。SONG等<sup>[10]</sup>研究发现,miR-144-3p在鼻咽癌组织中明显高表达,其通过直接靶向磷酸酶与张力蛋白同源物基因促进鼻咽癌细胞增殖和侵袭,诱导鼻咽癌上皮间质转化,促进鼻咽癌的进展。LIU等<sup>[11]</sup>研究表明,鼻咽癌组织中miR-151a-3p水平明显高于癌旁组织,miR-151a-3p促进鼻咽癌细胞增殖、迁移和侵袭,与鼻咽癌发病密切相关。本研究中Ⅲ~Ⅳ期鼻咽癌患者血清miR-144-3p及miR-151-3p表达水平明显高于Ⅰ~Ⅱ期,miR-144-3p及miR-151-3p表达水平在低分化和有淋巴结转移的鼻咽癌患者中均明显升高,提示miR-144-3p及miR-151-3p的高表达可促进鼻咽癌的发生发展。既往研究认为,鼻咽癌组织中miRNA的表达水平显著高于癌旁组织,有远处转移的患者miRNA的表达水平明显高于无远处转移患者,而且miRNA高表达患者预后较差,提示miRNA可能在鼻咽癌远处转移中起重要作用,对预后具有重要影响<sup>[12]</sup>。本研究ROC曲线显示,miR-144-3p为1.61及miR-151-3p为2.25是诊断鼻咽癌的最佳截断值,二者联合诊断鼻咽癌的效能较高。本研究相关性显示,miR-144-3p与miR-151-3p在鼻咽癌中呈正相关。这说明miR-144-3p及miR-151-3p可作为诊断鼻咽癌的生物标志物,二者联合检测诊断鼻咽癌的价值最大。LI等<sup>[13]</sup>研究显示,miRNA在Ⅰ期鼻咽癌中表达异常,参与肿瘤形成和发展相关的通路,为鼻咽癌的早期发现和治疗提供了依据。WEN等<sup>[14]</sup>研究发现,与传统的血清标志物相比,miRNA对鼻咽癌的诊断敏感度和特异度较高,可能是鼻咽癌新的血清学标志物和潜在的治疗靶点,具有广阔的应用前景。另有研究表明,miRNA能调控多种靶基因的生物学功能,是一种有前途的鼻咽癌非侵袭性生物标志物,为鼻咽癌的诊断和治疗提供了一个新的方向<sup>[15]</sup>。

综上所述,miR-144-3p及miR-151-3p在鼻咽

癌中呈高表达, 且与鼻咽癌的发生发展密切相关, 二者联合检测有助于提高鼻咽癌的诊断价值, 能够为临床治疗提供新的思路。

#### 参考文献:

- [1] WU Sangang, ZHANG Wenwen, WANG Jun, et al. The 1-year mortality after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: a population-based analysis[J]. *Future Oncology* (London, England), 2019, 15(29): 3357-3365.
- [2] TAN Luping, TAN G W, SIVANESAN V M, et al. Systematic comparison of plasma EBV DNA, anti-EBV antibodies and miRNA levels for early detection and prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *International Journal of Cancer*, 2020, 146(8): 2336-2347.
- [3] WANG Tianyu, WU Jian, WU Yun, et al. A novel microRNA-based signature predicts prognosis among nasopharyngeal cancer patients[J]. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.), 2021, 246(1): 72-83.
- [4] LIU Dan, GONG Hao, TAO Zezhang, et al. LncRNA IUR downregulates miR-144 to regulate PTEN in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 2020, 126: 1-6.
- [5] YUE Chaochi, CHEN Xiaochao, LI Jun, et al. miR-151-3p inhibits proliferation and invasion of colon cancer cell by targeting close homolog of L1[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2020, 16(6): 876-884.
- [6] WU Lirong, ZHENG Kexiao, YAN Cheng, et al. Genome-wide study of salivary microRNAs as potential noninvasive biomarkers for detection of nasopharyngeal carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 843.
- [7] TSIAMBAS E, MASTRONIKOLIS N S, FOTIADES P P, et al. Epstein-Barr virus microRNAs in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Pathology Oncology Research*, 2020, 26(2): 1347-1348.
- [8] LOU Ning, RUAN Anming, QIU Bin, et al. miR-144-3p as a novel plasma diagnostic biomarker for clear cell renal cell carcinoma[J]. *Urologic Oncology*, 2017, 35(1): 36.e7-36.e14.
- [9] LI Xia, LIU Yi, ZHANG Xiangxin, et al. Circular RNA hsa\_circ\_0000073 contributes to osteosarcoma cell proliferation, migration, invasion and methotrexate resistance by sponging miR-145-5p and miR-151-3p and upregulating NRAS[J]. *Aging*, 2020, 12(14): 14157-14173.
- [10] SONG Li, CHEN Lijie, LUAN Qiang, et al. miR-144-3p facilitates nasopharyngeal carcinoma via crosstalk with PTEN[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(10): 17912-17924.
- [11] LIU Haibin, CHENG Yin, XU Yaping, et al. The inhibition of tumor protein p53 by microRNA-151a-3p induced cell proliferation, migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Bioscience Reports*, 2019, 39(10): BSR20191357.
- [12] LIAN Junsheng, LI Yujie, YU Min. MicroRNA-183 and microRNA-141 are potential risk factors for poor prognosis in patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncology Letters*, 2019, 17(1): 1172-1176.
- [13] LI Shuna, HANG Lihua, MA Yongming, et al. Distinctive microRNA expression in early stage nasopharyngeal carcinoma patients[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2016, 20(12): 2259-2268.
- [14] WEN Wen, MAI Shijuan, LIN Huanxin, et al. Identification of two microRNA signatures in whole blood as novel biomarkers for diagnosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2019, 17(1): 186.
- [15] ZHANG Huo, ZOU Xuan, WU Lirong, et al. Identification of a 7-microRNA signature in plasma as promising biomarker for nasopharyngeal carcinoma detection[J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9(3): 1230-1241.

收稿日期: 2020-12-30

修回日期: 2021-05-04

(上接第57页)

- [14] ZHENG Yi, LIU Songqiao, SUN Qin, et al. Plasma microRNAs levels are different between pulmonary and extrapulmonary ARDS patients: a clinical observational study[J]. *Annals of Intensive Care*, 2018, 8(1): 1-13.
- [15] MARTUCCI G, ARCADIPANE A, TUZZOLINO F, et al. Identification of a circulating miRNA signature to stratify acute respiratory distress syndrome patients[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2020, 11(1): 15.
- [16] LEE L K, MEDZIKOVIC L, EGHBALI M, et al. The role of microRNAs in acute respiratory distress syndrome and sepsis, from targets to therapies: a narrative review[J]. *Anesthesia and Analgesia*, 2020, 131(5): 1471-1484.
- [17] ZHANG F Y, YANG N, RAO Y F, et al. Profiling of miRNAs in neonatal cloned bovines with collapsed lungs and respiratory distress[J]. *Reprod Domest Anim*, 2018, 53(2): 550-555.
- [18] 王来成. 呼吸窘迫综合征患儿炎性因子水平变化及相关性分析[J]. *安徽医药*, 2019, 23(2): 324-325.
- WANG Laicheng. Analysis on the inflammatory cytokines levels and their correlation in children with respiratory distress syndrome [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2019, 23 (2): 324-325.
- [19] 杜晓华, 代泽兰, 杨为民. 炎性标记物在ALI/ARDS中的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(11): 860-865.
- DU Xiaohua, DAI Zelan, YANG Weimin. Role of inflammatory markers in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. *International Journal of Respiration*, 2018, 38 (11): 860-865.
- [20] LI H F, LIU J Y. Effects of MiR-26a on respiratory distress syndrome in neonatal rats via the wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(6): 2525-2531.

收稿日期: 2020-07-12

修回日期: 2021-02-26