

多发性骨髓瘤患者血清 miR-1246 和 miR-4449 的表达及临床意义

于 艳, 何 萌, 杨 晶, 王莉莉 (涿州市医院检验科, 河北涿州 072750)

摘要: 目的 探讨多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 患者血清 miR-1246 及 miR-4449 的表达及其临床意义。方法 选取 2017 年 1 月~2020 年 10 月涿州市医院收治的 85 例 MM 患者, 依据国际分期系统分为 I 期 ($n=17$), II 期 ($n=27$) 和 III 期 ($n=41$), 按照 MM 的诊疗情况分为初诊组 ($n=68$) 和复发组 ($n=17$)。另选取同期 50 例正常者作为对照组。检测各组血清 miR-1246, miR-4449 及 $\beta 2$ -微球蛋白 ($\beta 2$ -MG) 水平。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 miR-1246, miR-4449 及 $\beta 2$ -MG 水平诊断 MM 的价值。结果 MM 组血清 miR-1246 (1.95 ± 0.86), miR-4449 (2.50 ± 1.08) 及 $\beta 2$ -MG (6.30 ± 2.42 mg/L) 水平均明显高于对照组 (0.42 ± 0.07 , 0.73 ± 0.16 , 1.85 ± 0.64 mg/L), 差异有统计学意义 ($t=13.348, 14.365, 12.910$, 均 $P<0.001$)。MM 患者 III 期血清 miR-1246 (3.05 ± 1.37), miR-4449 (3.96 ± 1.87) 及 $\beta 2$ -MG (9.37 ± 4.10 mg/L) 水平均明显高于 I 期 (0.86 ± 0.25 , 1.07 ± 0.34 , 3.52 ± 1.05 mg/L) 和 II 期 (1.84 ± 0.81 , 2.28 ± 1.05 , 5.40 ± 1.61 mg/L), 差异有统计学意义 (均 $P<0.001$), 且 II 期血清 miR-1246, miR-4449 及 $\beta 2$ -MG 水平均明显高于 I 期, 差异有统计学意义 ($P<0.001$)。复发组血清 miR-1246 (2.61 ± 1.13), miR-4449 (3.18 ± 1.64) 及 $\beta 2$ -MG (8.04 ± 3.27 mg/L) 水平均明显高于初诊组 (1.55 ± 0.62 , 1.92 ± 0.95 , 4.96 ± 1.85 mg/L), 差异均有统计学意义 ($t=10.217, 12.116, 8.530$, 均 $P<0.001$)。ROC 曲线分析显示, miR-1246, miR-4449 及 $\beta 2$ -MG 三项联合诊断 MM 的曲线下面积 (0.950, 95%CI: 0.887~0.995) 最大, 其灵敏度和特异度为 98.2% 和 85.0%。结论 MM 患者血清 miR-1246 及 miR-4449 表达水平明显升高, 且随着 MM 病情分期进展呈升高趋势, 联合 $\beta 2$ -MG 检测有助于提高 MM 诊断的灵敏度。

关键词: 多发性骨髓瘤; 微小核糖核酸 -1246; 微小核糖核酸 -4449

中图分类号: R733.3; R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 02-085-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.018

Expression and Clinical Significance of Serum miR-1246 and miR-4449 in Patients with Multiple Myeloma

YU Yan, HE Meng, YANG Jing, WANG Li-li

(Department of Clinical Laboratory, Zhuozhou City Hospital, Hebei Zhuozhou 072750, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of serum miR-1246 and miR-4449 in patients with multiple myeloma (MM). **Methods** The 85 patients with MM admitted to Zhuozhou Hospital from January 2017 to July 2020 were divided into stage I ($n=17$), stage II ($n=27$) and stage III ($n=41$) according to the international staging system. According to the diagnosis and treatment of MM, they were divided into initial diagnosis group ($n=68$) and recurrence group ($n=17$). Another 50 normal persons in the same period were selected as the control group. The levels of serum miR-1246, miR-4449 and $\beta 2$ -MG were measured in each group. The diagnostic value of serum miR-1246, miR-4449 and $\beta 2$ -MG in MM were analyzed by ROC curve. **Results** The levels of serum miR-1246 (1.95 ± 0.86), miR-4449 (2.50 ± 1.08) and $\beta 2$ -MG (6.30 ± 2.42 mg/L) in MM group were significantly higher than those in control group (0.42 ± 0.07 , 0.73 ± 0.16 , 1.85 ± 0.64 mg/L), the differences were statistically significant ($t=13.348, 14.365, 12.910$, all $P<0.001$). The levels of serum miR-1246 (3.05 ± 1.37), miR-4449 (3.96 ± 1.87) and $\beta 2$ -MG (9.37 ± 4.10 mg/L) in MM patients at stage III were significantly higher than those at stage I (0.86 ± 0.25 , 1.07 ± 0.34 , 3.52 ± 1.05 mg/L) and II (1.84 ± 0.81 , 2.28 ± 1.05 , 5.40 ± 1.61 mg/L), the differences were statistically significant ($P<0.001$). The levels of serum miR-1246, miR-4449 and $\beta 2$ -MG in phase II were significantly higher than those in phase I, the differences were statistically significant (all $P<0.001$), respectively. The serum levels of miR-1246 (2.61 ± 1.13), miR-4449 (3.18 ± 1.64) and $\beta 2$ -MG (8.04 ± 3.27 mg/L) in the recurrence group (1.55 ± 0.62 , 1.92 ± 0.95 , 4.96 ± 1.85 mg/L) were significantly higher than those in the initial diagnosis group, the differences were statistically significant ($t=10.217, 12.116, 8.530$, all $P<0.001$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (0.950, 95%CI: 0.887~0.995) of miR-1246, miR-4449 and $\beta 2$ -MG combined diagnosis MM was the largest, and its sensitivity and specificity were 98.2%

基金项目: 保定市科学计划与发展指导计划项目 (18ZF602)。

作者简介: 于艳 (1989-), 女, 本科, 主管技师, 主要从事临床血液病检验诊断研究, E-mail: y1101761393@163.com。

and 85.0%, respectively. **Conclusion** The levels of serum miR-1246 and miR-4449 in MM patients were significantly increased, and showed an upward trend with the progression of MM stage. The detection of miR-1246 and miR-4449 combined with β 2-MG can improve the sensitivity of MM diagnosis.

Keywords: multiple myeloma; miR-1246; miR-4449

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是常见的恶性血液疾病, 可造成骨损伤、肾脏病变及相关并发症等, 严重影响患者的预后及生活质量^[1]。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 是近年来广泛应用于临床的一类非编码 RNA, 参与调控 MM 的生物学过程, 在 MM 的发病中起到极为关键的作用^[2-3]。有研究发现, miR-1246 及 miR-4449 参与基因转录后水平表达调控, 其表达失调在 MM 的发生、发展中起着重大的影响, 有望成为 MM 诊断和治疗的潜在靶点^[4-5]。然而, 目前关于 miR-1246 及 miR-4449 能否作为 MM 诊断的生物标志物尚未清楚。本研究通过检测 MM 患者血清 miR-1246 及 miR-4449 表达水平, 分析 miR-1246 及 miR-4449 对 MM 的诊断价值, 以期对 MM 的诊疗提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取涿州市医院 2017 年 1 月 ~ 2020 年 10 月收治的 85 例 MM 患者, 男性 52 例, 女性 33 例, 年龄 42~84 (62.40 ± 11.58) 岁。依据 MM 的国际分期系统 (International Staging System, ISS)^[6] 标准分为: I 期 17 例, II 期 27 例, III 期 41 例。按照 MM 患者的诊疗情况分为初诊 68 例和复发 17 例。纳入标准: ① MM 的诊断及疗效评价参照《中国多发性骨髓瘤诊治指南》^[7]; ②能配合研究。排除标准: ①并发其他血液系统疾病及自身免疫性疾病者; ②妊娠期、哺乳期。另选取体检正常者 50 例作为对照组, 其中男性 28 例、女性 22 例, 年龄 45~72 (60.52 ± 9.70) 岁。各组的年龄、性别等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 仪器和试剂 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司), PCR 试剂相关试剂盒均购自上海吉凯基因化学技术有限公司。生化分析仪为贝克曼全自动生化分析仪。

1.3 方法 研究对象采集空腹静脉血 3 ml, 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清, 使用荧光定量 PCR 仪检测 miR-1246 及 miR-4449。反应体系为 20 μ l: 1 μ l 引物及探针 Mix (20 \times), 1.33 μ l 反向转录脱氧核糖核酸, 10 μ l TaqMan 通用混合物溶液 (2 \times), 7.67 μ l 双蒸馏水。反应条件: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火及延伸 30 s, 共 45 个循环。另使用罗氏全自动生化分析仪检测血清 β 2-微球蛋白 (β 2-MG) 水平。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用 t 检验。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平诊断 MM 的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MM 组和对照组血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平比较 与对照组 (0.42 \pm 0.07, 0.73 \pm 0.16, 1.85 \pm 0.64 mg/L) 比较, MM 组血清 miR-1246 (1.95 \pm 0.86), miR-4449 (2.50 \pm 1.08) 及 β 2-MG (6.30 \pm 2.42 mg/L) 水平均明显升高, 差异有统计学意义 ($t = 13.348, 14.365, 12.910$, 均 $P < 0.001$)。

2.2 MM 患者不同分期血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平比较 见表 1。MM 患者 III 期血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平均明显高于 I 期和 II 期 ($P < 0.001$), II 期血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平均明显高于 I 期, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.001$)。

表 1 MM 患者不同分期血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	I 期 (n=17)	II 期 (n=27)	III 期 (n=41)	F	P
miR-1246	0.86 \pm 0.25	1.84 \pm 0.81	3.05 \pm 1.37	11.285	<0.001
miR-4449	1.07 \pm 0.34	2.28 \pm 1.05	3.96 \pm 1.87	13.846	<0.001
β 2-MG (mg/L)	3.52 \pm 1.05	5.40 \pm 1.61	9.37 \pm 4.10	10.508	<0.001

2.3 复发组和初诊组血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平比较 复发组血清 miR-1246 (2.61 \pm 1.13), miR-4449 (3.18 \pm 1.64) 及 β 2-MG (8.04 \pm 3.27 mg/L) 水平均明显高于初诊组 (1.55 \pm 0.62, 1.92 \pm 0.95, 4.96 \pm 1.85 mg/L), 差异有统计学意义 ($t = 10.217, 12.116, 8.530$, 均 $P < 0.001$)。

2.4 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 单项及联合检测诊断 MM 的价值 见表 2 和图 1。血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平诊断 MM 的最佳截断值分别为 1.30, 1.73 和 4.06 mg/L, 三项联合检测诊断 MM 的曲线下面积 [AUC (95%CI)] 明显高于 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 单项检测, 其灵敏度和特异度分别为 98.2% 和 85.0%。

3 讨论

MM 是一种浆细胞异常增殖的恶性血液病, 其

发病机制与遗传学的改变、细胞因子和骨髓微环境的相互作用以及原癌基因的活化等有关。多数的研究表明,miRNA 作为一类高度保守的单链非编码小分子 RNA,在 MM 的发病过程中起到重要的作用,并可能作为 MM 患者基因治疗的新策略^[8-9]。有研究指出,MM 患者细胞系和血浆中 miRNA 显著升高,miRNA 在 MM 细胞中的下调抑制增殖,

促进细胞凋亡,其通过直接靶向 SOX6 在 MM 进展中起着致癌作用,提示 miRNA 可能是 MM 防治的潜在治疗靶点^[10]。另有研究认为,miRNA 不仅具有显著的肿瘤相关性和组织特异性,还具有良好的稳定性及易于检测等优点,有望成为 MM 早期诊断、疗效监测、靶向基因治疗的新型分子生物学标志物^[11]。

表 2 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 单项及联合检测诊断 MM 的价值

项目	最佳截数值	AUC (95%CI)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
miR-1246	1.30	0.828 (0.771 ~ 0.887)	84.0	76.3	79.5	81.6
miR-4449	1.73	0.857 (0.796 ~ 0.918)	79.7	86.5	84.0	82.7
β 2-MG	4.06 mg/L	0.796 (0.738 ~ 0.853)	81.4	75.2	78.0	79.0
三项联合	-	0.950 (0.887 ~ 0.995)	98.2	85.0	91.4	92.6

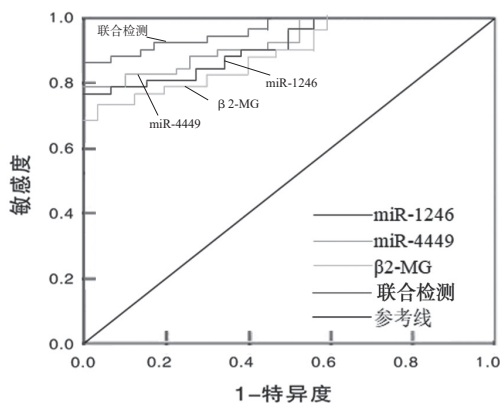


图 1 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 单项及联合检测诊断 MM 的 ROC 曲线

本研究中血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平在 MM 组均明显高于对照组,提示 miR-1246 及 miR-4449 在 MM 中异常高表达,其可能通过发挥癌基因的作用来参与 MM 发病。MANIER 等^[12]研究指出,miRNA 能调控多种靶基因的生物学功能,miRNA 表达谱及基因调控网络与 MM 发生机制密切相关,可能为 MM 早期诊断、靶向治疗和预后判断提供帮助。本研究中随着 MM 患者 ISS 分期的增加,血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平逐渐升高,即 III 期 > II 期 > I 期,提示血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平升高与 MM 患者的病情进展有关,可能参与 MM 的发生发展过程。吴晓颖等^[13]研究发现, β 2-MG 水平在 MM 患者 III 期 > II 期 > I 期 > 健康对照组, β 2-MG 水平升高与 MM 患者疾病进展及预后相关,可为 MM 的临床治疗提供指导。LIU 等^[14]研究表明,miRNA 的高表达可能会促进 MM 细胞的增值、转移及耐药,是评估肿瘤细胞增殖及迁移活力的重要辅助指标,为 MM 的诊断和治疗提供了一个新的潜在分子靶点。本研中复发组血清 miR-1246, miR-4449 及 β 2-MG 水平均明显高于初诊组,提示检测血清

miR-1246 及 miR-4449 水平有助于了解 MM 患者的复发情况。

应用 ROC 曲线分析,发现 miR-1246 及 miR-4449 单项指标诊断 MM 的 AUC 均大于 0.825,三项联合诊断 MM 的 AUC 最大,其灵敏度较高。说明 miR-1246 及 miR-4449 可能是 MM 的生物学标志物,联合 β 2-MG 检测有助于提高 MM 的诊断效能。张煜等^[15]研究显示,血清 miRNA 表达水平诊断 MM 的曲线下面积为 0.853,高于 β 2-MG,miRNA 可作为 MM 诊断的非侵入性生物学指标,将其与 β 2-MG 联合应用可提高 MM 的诊断效能,具有广阔的应用前景。REN 等^[16]研究发现,MM 患者 miR-1246 的表达水平显著增高,其高表达与无进展生存期缩短相关,miR-1246 在 MM 的发生发展中起促进作用,可作为 MM 的诊断、疗效评价和预后指标,同时对了解患者个体化治疗行为及评价治疗策略具有重要价值。另有研究表明,MM 患者血清 miR-4449 的相对表达水平显著高于健康对照组,并与 β 2-MG 水平显著相关,血清 miR-4449 和 β 2-MG 联合诊断 MM 的灵敏度高于单独使用 miR-4449 或 β 2-MG,提示 miR-4449 在 MM 的辅助诊断中具有重要意义^[17]。

综上所述,血清 miR-1246 及 miR-4449 表达水平在 MM 患者中明显升高,且随着 MM 病情分期进展呈升高趋势,miR-1246 及 miR-4449 联合 β 2-MG 检测有助于提高 MM 诊断的灵敏度,可为 MM 的早期筛查提供帮助。但本研究样本量较少,仍需更多的研究证实 miR-1246 及 miR-4449 在 MM 中的临床价值。

参考文献:

- [1] 张蓉,李国辉,刘小五,等. 初诊多发性骨髓瘤患者外周血淋巴细胞绝对值/单核细胞绝对值比值在预测临床预后的价值研究[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(1):101-104. (下转第 92 页)