

引用本文:王新征,侯永强,汲权威.血清长链非编码RNA-尿路上皮癌相关分子1对甲状腺乳头状癌的鉴别诊断价值[J].安徽医药,2022,26(5):1004-1007.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.036.

◇临床医学◇



血清长链非编码RNA-尿路上皮癌相关分子1 对甲状腺乳头状癌的鉴别诊断价值

王新征,侯永强,汲权威

作者单位:河南科技大学临床医学院、河南科技大学第一附属医院普外三科,河南 洛阳 471003

摘要: **目的** 检测甲状腺良性结节和甲状腺乳头状癌病人血清长链非编码RNA-尿路上皮癌相关分子1(LncRNA UCA1)水平,并探讨其对甲状腺乳头状癌的鉴别诊断价值。**方法** 选取2018年1月至2020年1月河南科技大学第一附属医院住院治疗的甲状腺乳头状癌病人48例(甲状腺乳头状癌组)和甲状腺良性结节病人32例(良性结节组)为研究对象(均为术后病理确诊);同期选取甲状腺功能正常的49例健康体检人群为健康对照组。采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测血清中LncRNA UCA1水平;分析血清LncRNA UCA1表达水平与甲状腺乳头状癌病人临床病理特征的关系;采用受试者工作特性曲线(ROC曲线)分析血清中LncRNA UCA1水平对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值。**结果** 甲状腺乳头状癌组LncRNA UCA1水平(2.13 ± 0.49)高于健康对照组(1.00 ± 0.24)和良性结节组(1.48 ± 0.30),良性结节组LncRNA UCA1水平高于健康对照组,均差异有统计学意义($P < 0.05$);LncRNA UCA1高表达组多发病灶、肿瘤大小 > 10 mm、有淋巴结转移、TNM分期为Ⅲ~Ⅳ期的病人比例高于LncRNA UCA1低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$);血清LncRNA UCA1水平诊断甲状腺良性结节的曲线下面积(AUC)为0.899,截断值为1.194,特异度为81.6%,灵敏度为81.3%;血清LncRNA UCA1水平诊断甲状腺癌的AUC为0.891,截断值为1.837,特异性为96.9%,敏感度为77.1%。**结论** 血清LncRNA UCA1水平可能对甲状腺乳头状癌有一定的鉴别诊断价值,同时能估计甲状腺乳头状癌病情的发展状况,可为甲状腺乳头状癌的早期干预提供一定的参考依据。

关键词: 甲状腺肿瘤; 甲状腺结节; 癌,乳头状; 血清; 长链非编码RNA-尿路上皮癌相关分子1; 诊断

Value of detection of LncRNA UCA1 in the differential diagnosis of thyroid nodules

WANG Xinzhen, HOU Yongqiang, JI Quanwei

Author Affiliation: Three Branches of General Surgery, The First Affiliated Hospital, and College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China

Abstract: **Objective** To detect the level of serum long non-coding RNA urothelial carcinoma associated molecule 1 (LncRNA UCA1) in patients with thyroid benign nodules and thyroid cancer, and to explore its value in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. **Methods** Forty-eight patients with papillary thyroid cancer (papillary thyroid cancer group) and 32 patients with benign thyroid nodules (benign nodule group) who were treated and hospitalized in the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology from January 2018 to January 2020 were selected as the research objects (All are pathologically diagnosed after surgery); at the same time, 49 healthy people with normal thyroid function were selected as the control group. The level of serum LncRNA UCA1 was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR); the relationship between the expression level of serum LncRNA UCA1 and the clinicopathological characteristics of papillary thyroid cancer patients was analyzed; and the value of serum LncRNA UCA1 level in differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** In the results of this study, the level of LncRNA UCA1 in papillary thyroid cancer group (2.13 ± 0.49) was higher than that in control group (1.00 ± 0.24) and benign nodule group (1.48 ± 0.30), and the level of LncRNA UCA1 in benign nodule group was higher than that in normal control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$); the proportions of patients with multiple lesions, tumor size > 10 mm, lymph node metastasis TNM staging Ⅲ - Ⅳ in the LncRNA UCA1 high expression group was higher than that in the LncRNA UCA1 low expression group ($P < 0.05$); the area under curve (AUC) of serum LncRNA UCA1 in the diagnosis of benign thyroid nodules was 0.899, the cutoff value was 1.194, the specificity was 81.6%, and the sensitivity was 81.3%; the AUC of serum LncRNA UCA1 in the diagnosis of thyroid cancer was 0.891, the cutoff value was 1.837, the specificity was 96.9%, and the sensitivity was 77.1%. **Conclusion** The level of serum LncRNA UCA1 may have a certain value in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules, and it can also estimate the development of papillary thyroid cancer, which can provide some reference for the early intervention of papillary thyroid cancer.

Key words: Thyroid neoplasms; Thyroid nodule; Carcinoma, papillary; Serum; long non-coding RNA urothelial cancer related molecule 1; Diagnosis

甲状腺结节是一种常见的甲状腺病,甲状腺上的结节可能是结节性甲状腺肿、甲状腺瘤、甲状腺癌等病因,未明确性质前统称为甲状腺结节^[1]。因术前甲状腺结节确诊较为困难,造成国内外对甲状腺结节存在普遍过度治疗^[2]。早期发现甲状腺肿瘤并进行良恶性区分,对临床后期治疗和预后评估有至关重要的作用。长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA)是一类长度大于200核苷酸的非编码RNA的总称, LncRNA虽不编码蛋白质,但可通过调控基因表达在肿瘤发生、发展中发挥重要作用^[3]。研究表明, LncRNA-尿路上皮癌相关分子1(LncRNA urothelial carcinoma associated 1, LncRNA UCA1)在胃癌、前列腺癌、肝癌、非小细胞肺癌等恶性肿瘤中高表达,并发挥致癌基因的作用^[4-5],然而关于LncRNA UCA1在甲状腺结节性质鉴别诊断中的研究较少。本研究通过检测甲状腺结节病人术前血清LncRNA UCA1水平,初步探讨LncRNA UCA1水平对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值,以期对甲状腺癌的早期干预和预后评估提供重要依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月至2020年1月于河南科技大学第一附属医院住院治疗的甲状腺乳头状癌病人48例(甲状腺乳头状癌组)和甲状腺良性结节病人32例(良性结节组)为研究对象(均为术后病理确诊),两组病人均无临床症状,由病人偶尔或体检时发现。同期选取甲状腺功能正常的49例健康体检人群为健康对照组。三组性别、年龄、单发或多发、结节大小比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。

纳入标准:①病人符合甲状腺乳头状癌及甲状腺良性结节诊断标准^[6],并经超声、病理活检确诊;②病历资料完整者;③既往无颈部手术史;④既往无恶性肿瘤史,且未接受放化疗者。排除标准:①患有慢性炎症性疾病、急性感染性疾病者;②伴有肝炎、肾病、糖尿病、结核病等其他内科疾病者;③精神异常者;④严重的肝肾功能不全者;⑤妊娠或

哺乳期妇女。本研究经本院临床研究伦理委员会批准,符合伦理学标准(伦理批号20171209),所有受试对象均由专业人员详细告知研究内容并自愿参加,同时签署手术知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器 RNA提取试剂盒,购自北京天漠科技发展有限公司;反转录试剂盒,购自北京百奥莱博科技有限公司;miScript SYBR® Green Mix,购自上海齐一生物科技有限公司。qRT-PCR仪(型号7500),购自美国Applied Biosystems公司。

1.3 研究方法

1.3.1 样品采集及保存 抽取健康体检者体检时及两组病人术前清晨空腹静脉血样5 mL, 3 000 r/min离心15 min后收集血清,置于-80℃保存待测。

1.3.2 qRT-PCR法检测血清中LncRNA UCA1水平 采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)法检测三组受试者血清中LncRNA UCA1表达水平。采用RNA提取试剂盒提取血清总RNA,反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。采用qRT-PCR仪对LncRNA UCA1及其内参GAPDH基因进行扩增。qRT-PCR反应体系共20 μL: cDNA(50 ng/μL)2 μL, miScript SYBR® Green Mix 10 μL,上下游引物(10 μM)各0.8 μL, ddH₂O 6.4 μL。反应条件:95℃预变性5 min;95℃变性30 s, 58℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 40个循环。LncRNA UCA1及内参GAPDH基因的引物序列见表2,引物由上海生物工程股份有限公司合成。每份样品均设3个重复孔,采用2^{-ΔΔCt}法计算血清中LncRNA UCA1相对表达量。

1.4 统计学方法 利用SPSS 23.0对数据进行统计学分析,计量资料符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-*q*检验;计数资料以例(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;采用受试者工作特性曲线(receiver operator characteristic curve, ROC曲线)分析血清中LncRNA UCA1水平对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 甲状腺乳头状癌、甲状腺良性结节及健康对照一般资料结果比较

组别	例数	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	性别/例		单发或多发/例		结节大小/(mm, $\bar{x} \pm s$)
			男	女	单发	多发	
健康对照组	49	45.86±13.76	10	39	0	0	无
良性结节组	32	45.84±13.64	4	28	15	17	10.46±4.31
甲状腺乳头状癌组	48	45.43±13.71	8	40	22	26	10.81±5.36
$t(\chi^2)[F]$ 值		[0.00]	(0.86)		(0.01)		0.31
<i>P</i> 值		0.996	0.649		0.927		0.758

表2 qRT-PCR引物序列

基因	正向引物 5'-3'	反向引物 5'-3'
LncRNA UCA1	AGTGTGTCCTGTTCTCCAGT	TGGGGGAATCTTTTCGCATT
GAPDH	AGAAGGCTGGGGCTCATTG	GCAGGAGGCATTGCTGATGAT

2 结果

2.1 健康对照组、良性结节组及甲状腺乳头状癌组血清 LncRNA UCA1 水平比较 甲状腺乳头状癌组 LncRNA UCA1 水平高于健康对照组和良性结节组, 良性结节组 LncRNA UCA1 水平高于健康对照组, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表3 健康对照组、良性结节组及甲状腺乳头状癌组血清 LncRNA UCA1 水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	LncRNA UCA1
健康对照组	49	1.00±0.24
良性结节组	32	1.48±0.30 ^①
甲状腺乳头状癌组	48	2.13±0.49 ^{①②}
<i>F</i> 值		116.40
<i>P</i> 值		0.000

注: ①与健康对照组比较, $P < 0.05$ 。②与良性结节组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 血清 LncRNA UCA1 水平对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值 以血清 LncRNA UCA1 水平为检验变量绘制 ROC 曲线, 结果显示, 血清 LncRNA UCA1 水平诊断甲状腺良性结节的曲线下面积 (AUC) 为 0.899 (95%CI: 0.835~0.963), 截断值为 1.194, 特异度为 81.6%, 灵敏度为 81.3%; 血清 LncRNA UCA1 水平诊断甲状腺乳头状癌的 AUC 为 0.891 (95%CI: 0.817~0.966), 截断值为 1.837, 特异度为 96.9%, 灵敏度为 77.1%。见图 1, 2。

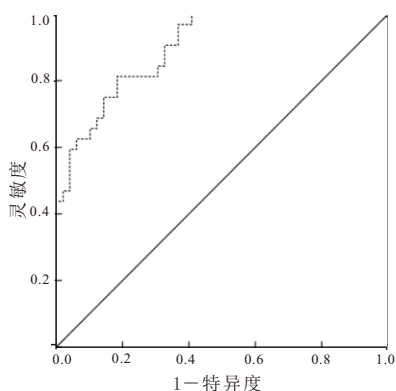


图1 血清 LncRNA UCA1 水平对甲状腺良性结节诊断的 ROC 曲线

2.3 LncRNA UCA1 表达水平与甲状腺乳头状癌病人临床病理特征的关系 根据甲状腺乳头状癌病人血清 LncRNA UCA1 水平平均值 (2.13), 24 例高于平均值病人为 LncRNA UCA1 高表达组, 24 例低于平均值病人为 LncRNA UCA1 低表达组。两组年

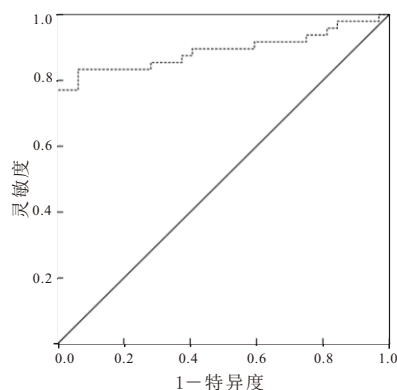


图2 血清 LncRNA UCA1 水平对甲状腺癌诊断的 ROC 曲线

龄、性别比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。LncRNA UCA1 高表达组多发病灶、肿瘤大小 > 10 mm、有淋巴结转移、TNM 分期为 III~IV 期的病人比例高于 LncRNA UCA1 低表达组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表4 LncRNA UCA1 表达水平与甲状腺乳头状癌病人临床病理特征的关系/例 (%)

临床病理特征	例数	LncRNA UCA1 低表达组 ($n=24$)	LncRNA UCA1 高表达组 ($n=24$)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄				0.75	0.386
≥ 45 岁	23	10 (43.48)	13 (56.52)		
< 45 岁	25	14 (56.00)	11 (44.00)		
性别				2.40	0.121
女性	40	22 (55.00)	18 (45.00)		
男性	8	2 (25.00)	6 (75.00)		
多发病灶				8.39	0.004
是	26	8 (30.77)	18 (69.23)		
否	22	16 (72.73)	6 (27.27)		
肿瘤大小				6.76	0.009
≤ 10.0 mm	25	17 (68.00)	8 (32.00)		
> 10.0 mm	23	7 (30.43)	16 (69.57)		
淋巴结转移				8.57	0.003
有	28	9 (32.14)	19 (67.86)		
无	20	15 (75.00)	5 (25.00)		
TNM 分期				5.37	0.020
I~II 期	22	15 (63.64)	7 (36.36)		
III~IV 期	26	9 (38.46)	17 (61.54)		

3 讨论

甲状腺结节属于内分泌系统最为常见的疾病, 在不同的地区其发病率有较大差别^[7]。但临床上甲

甲状腺腺瘤或结节性甲状腺肿与甲状腺癌有时不易鉴别,造成甲状腺癌临床确诊困难,存在较高的误诊和漏诊情况,以至于导致病人治疗不及时、预后较差、平均存活时间较短等情况发生^[9]。因此,临床上急需有效的高特异度、灵敏度的生物标志物,用于早期鉴别诊断甲状腺结节良恶性,改善预后。

LncRNA 是由 RNA 聚合酶 II 对其进行转录、聚腺苷酸化和剪接而成的 RNA, LncRNA 的表达与肿瘤的进展、转移、预后均存在非常重要的关联,是肿瘤预防、治疗、预后的突破口^[10-11]。LncRNA 可通过调节基因表达、影响蛋白在细胞中的定位等多种方式在肿瘤的发生、发展中发挥作用^[12]。LncRNA UCA1 提取自人膀胱移行癌细胞株,广泛参与多种肿瘤的发生、发展。宋小青等^[13]研究表明, LncRNA UCA1 的异常高表达与肿瘤大小、分期、淋巴结转移等临床病理特征及病人预后密切相关。本研究结果中,甲状腺乳头状癌组 LncRNA UCA1 水平高于健康对照组和良性结节组,与 Liu 等^[14]研究结果中 LncRNA UCA1 的表达趋势一致。提示 LncRNA UCA1 的高表达可能与甲状腺结节由良性发展为恶性有重要联系,推测其可能机制为: LncRNA UCA1 作为内源竞争性 RNA, 其高表达可负性调节下游与甲状腺癌相关的 miRNA 的表达水平,消除 miRNA 对靶标转录物的内源性抑制作用,从而促进甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,进而加重病人病情,使病人由甲状腺良性结节发展为甲状腺乳头状癌。本研究结果中,血清 LncRNA UCA1 水平诊断甲状腺良性结节及甲状腺乳头状癌的 AUC 分别为 0.899、0.891,截断值分别为 1.194、1.837,特异度分别为 81.6%、96.9%,灵敏度分别为 81.3%、77.1%。提示血清 LncRNA UCA1 的表达水平可对甲状腺结节的良恶性有一定的鉴别诊断价值,且其诊断特异性较高,当 LncRNA UCA1 水平大于 1.194 且小于 1.837,甲状腺结节病人为良性的可能性更高,当 LncRNA UCA1 水平大于 1.837 时,甲状腺结节为甲状腺癌的概率更大,对临床诊断有一定的参考作用。此外,本研究中 LncRNA UCA1 高表达病人多发病灶、肿瘤大小 >10 mm、有淋巴结转移、TNM 分期为 III~IV 期的病人比例高于 LncRNA UCA1 低表达病人。进一步提示 LncRNA UCA1 的高表达与甲状腺乳头状癌的发生、发展有密切联系,临床中密切监测 LncRNA UCA1 水平变化,可能对甲状腺乳头状癌临床后期治疗和预后评估有重要意义。

综上所述,血清 LncRNA UCA1 在甲状腺乳头状癌病人血清中呈高表达,且对鉴别诊断甲状腺结节的良恶性有一定的价值,同时与甲状腺癌的临床病

理特征有一定的相关性。本研究为鉴别诊断甲状腺结节的良恶性提供了新的思路和方向,同时为甲状腺癌的早期干预及治疗提供了一定的理论依据。但作为回顾性研究,本研究样本数量有限,且样本受区域限制,因此后续将扩大样本量,进一步深入研究其具体作用机制及临床应用价值。

参考文献

- [1] KURU B, KEFELI M. Risk factors associated with malignancy and with triage to surgery in thyroid nodules classified as Bethesda category IV (FN/SFN) [J]. *Diagn Cytopathol*, 2018, 46 (6) : 489-494.
- [2] 胡林. 超声检查诊断与鉴别诊断甲状腺结节临床评价[J]. *影像研究与医学应用*, 2018, 2(10):73-74.
- [3] XIAO JN, YAN TH, YU RM, et al. Long non-coding RNA UCA1 regulates the expression of Snail2 by miR-203 to promote hepatocellular carcinoma progression [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(6):981-990.
- [4] ZUO ZK, GONG Y, CHEN XH, et al. TGFβ1-induced LncRNA UCA1 upregulation promotes gastric cancer invasion and migration [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(2):159-167.
- [5] 杨雁, 刘行仁, 金钊. 干扰 UCA1 及抑制 miR-185-5p 对非小细胞肺癌 β-Catenin 通路的活化、自噬和存活影响 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2019, 50(2):157-163.
- [6] 张玉, 吴秋良, 云径平. 2017 年第四版世界卫生组织甲状腺肿瘤病理新分类解读 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 53(9):718-720.
- [7] 李国芳. 超声弹性成像与高频超声在微小良恶性甲状腺结节鉴别诊断中应用分析 [J]. *实用医学影像杂志*, 2019, 20(1):89-90.
- [8] 劳兰玉, 唐妍, 谢许萍. 二维及彩色多普勒超声在囊实性甲状腺癌与结节性甲状腺肿囊性变鉴别诊断中的应用价值 [J]. *陕西医学杂志*, 2019, 48(7):927-929.
- [9] ZHAO YJ, WANG H, WU CJ, et al. Construction and investigation of lncRNA-associated ceRNA regulatory network in papillary thyroid cancer [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3):1197-1206.
- [10] 王海玲, 李东霞. LncRNA 与恶性肿瘤侵袭转移研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(13):2114-2117.
- [11] 孙雅恺. Hippo 通路和相关长链非编码 RNA (LncRNA) 与肿瘤关系的研究进展 [J/CD]. *临床医药文献电子杂志*, 2018, 5(64):118. DOI:10.3877/j.issn.2095-8242.2018.64.100.
- [12] ZHANG M, ZHAO Y, ZHANG Y, et al. LncRNA UCA1 promotes migration and invasion in pancreatic cancer cells via the Hippo pathway [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(5 Pt A):1770-1782.
- [13] 宋小青, 王革玲. 血清长链非编码 RNA H19、ATB 和 UCA1 在宫颈癌的差异表达及相关性分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(12):1480-1485.
- [14] LIU HY, LI R, JIANG T, et al. Knockdown of lncRNA UCA1 inhibits proliferation and invasion of papillary thyroid carcinoma through regulating miR-204/IGFBP5 axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:7197-7204.

(收稿日期:2020-06-17,修回日期:2020-07-23)