

· 循证医学 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.19.016

MiRNAs 作为胆管癌诊断标志物的 Meta 分析

金巍, 韩涛, 洪欣, 孙大军, 赵浩民[△]

(吉林大学中日联谊医院血管外科, 长春 130033)

[摘要] **目的** 全面客观地评价微 RNAs(miRNAs)在胆管癌早期诊断中的价值。**方法** 采用 Meta 分析的方法, 定量综合统计, 利用计算机检索 Pubmed、Web of Science、Cochrane Library、中国知网、万方和维普等数据库所有有关 miRNAs 对胆管癌诊断价值研究的文章, 对符合纳入、排除标准的文章, 提取数据, 使用 Stata12.0 和 Meta-Disc1.4 软件进行统计分析。**结果** 11 篇文章纳入本次研究, 共包括 819 例研究对象, 病例组 439 例, 对照组 380 例。结果显示, miRNAs 诊断胆管癌的合并灵敏度和特异度分别为 0.83[95%CI(0.80, 0.87)]和 0.85[95%CI(0.81, 0.89)], 合并的阳性似然比和阴性似然比分别为 4.86[95%CI(3.23, 7.31)]和 0.22[95%CI(0.16, 0.29)], 诊断比值比为 27.49[95%CI(15.30, 49.38)], AUC 值为 0.908 2。**结论** MiRNAs 诊断胆管癌具有较高的灵敏度和特异度, 在胆管癌的早期诊断方面具有较高价值。

[关键词] 胆管肿瘤; 微小 RNAs; 诊断; Meta 分析

[中图分类号] R735.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)19-2586-04

Meta analysis of miRNAs as a diagnostic marker for cholangiocarcinoma

JIN Wei, HAN Tao, HONG Xin, SUN Dajun, ZHAO Haomin[△]

(Department of Vascular Surgery, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130033, China)

[Abstract] **Objective** To comprehensively and objectively evaluate the diagnostic value of microRNAs (miRNAs) for cholangiocarcinoma. **Methods** The meta analysis method and quantitative comprehensive statistics were adopted. All the articles on the diagnostic value of miRNAs for cholangiocarcinoma were retrieved from PubMed, Web of science, Cochrane Library, CNKI, Wanfang and Vip databases by computer. Then the data were extracted from the articles conforming to the inclusion and exclusion criteria. The Stata 12.0 and Meta-Disk1.4 software were used to conduct the statistics. **Results** Eleven articles were included in this research, including 439 research subjects, 439 cases in the case group and 380 cases in the control group. The results showed that the pooled sensitivity and specificity of miRNAs for diagnosing cholangiocarcinoma were 0.83[95%CI(0.80, 0.87)] and 0.85[95%CI(0.81, 0.89)], and the pooled positive likelihood ratio and negative likelihood ratio were 4.86[95%CI(3.23, 7.31)] and 0.22[95%CI(0.16, 0.29)], and the pooled diagnostic odds ratio was 27.49[95%CI(15.30, 49.38)]. In addition, the area under the ROC curve (AUC) was 0.908 2. **Conclusion** MiRNAs has a relatively high sensitivity and specificity for diagnosing cholangiocarcinoma and possesses a higher diagnostic value in early diagnosis of cholangiocarcinoma.

[Key words] bile duct neoplasms; microRNAs; diagnosis; Meta-analysis

胆管癌在肝胆系统肿瘤中发病率仅次于肝细胞癌, 目前根治性切除术是其首要治疗方法, 但因早期缺乏有效的诊断方法, 症状体征不明显, 大部分患者初次就诊时肿瘤就已发生转移而失去手术机会, 预后差、病死率高, 5 年生存率仅 5%~10%^[1-2]。微 RNAs (miRNAs) 是一类广泛存在于真核生物的小分子 RNA, 其在肿瘤的发生、发展过程中发挥重要调控作用。目前已有较多文献报道, miRNAs 对胆管癌的早期诊断具有潜在价值, 但因多数研究样本量较小且样品的来源、检测方法不同而导致研究结果不完全一致。为此, 采用 Meta 分析的方法, 定量综合统计, 以

全面客观地评价 miRNAs 在胆管癌早期诊断中的价值。

1 材料与方法

1.1 检索策略 系统全面地检索了 Pubmed、Web of Science、Cochrane Library、中国知网、万方和维普等数据库, 检索语言为中、英文, 收集所有关于 miRNA 表达与胆管癌诊断相关的文献, 且不限文献发表时间。中文检索关键词为“胆管癌”“微小 RNA”“microRNA”和“诊断”; 英文检索词为“cholangiocarcinoma”“microRNA”和“diagnosis”。此外, 为避免检索不全面, 手动检索相关文章的参考文献。

1.2 文献的纳入和排除标准 纳入标准:(1)文献为原始研究;(2)研究内容涉及 miRNA 表达对胆管癌的诊断价值;(3)文中有充分的数据能够直接或间接获得 miRNA 诊断胆管癌的灵敏度和特异度;(4)当存在来自同一人群的研究时,选择纳入人群最多或时间最近的文章。排除标准:(1)综述、会议报道、评论、动物实验;(2)无法得到完整数据,不能构建诊断分析的 2×2 表格;(3)语言非中、英文。

1.3 数据提取 根据事先制订好的纳入排除标准,两名研究者各自独立地筛选符合标准的相关文献,若有分歧,则由第 3 位研究者评估后做出决断。确定纳入文献后,两名研究者各自独立地分别从每一篇参考文献中提取以下信息:第一作者姓名、文章发表年份、国家、种族、样本类型、检测方法、病例组和对照组的样本量、灵敏度和特异度。

1.4 质量评价 根据诊断试验文献质量评价标准的 14 个条目(QUADAS)^[3],对纳入的每篇文献进行质量评价。每个条目的评价标准均包含“是”“否”和“不清楚”。“是”表示达到此条目标准,记 1 分;“否”表示未达到此条目标准,不得分,记 0 分;“不清楚”表示无法从原文献中获得此条目足够信息,记 0.5 分。

1.5 统计学处理 本篇文章采用 Meta-Disc 1.4 和 Stata 12.0 软件进行统计分析。作为诊断型的 Meta 分析,本文的评价指标有合并的灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比、诊断比值比及其相应的 95% 置信区间,同时绘制合并受试者工作特征(SROC)曲线并计算曲线下面积(AUC),AUC 值越接近 1,说明诊断的效能越高。纳入的文献中各研究间存在较大的异质性是 Meta 分析中较常见的问题,而异质性检验

包括阈值效应和非阈值效应检验。通过绘制 SROC 曲线,以及计算灵敏度、1-特异度对数的 Spearman 相关系数来检验本研究是否存在阈值效应。若异质性是由非阈值效应引起的,则通过 I^2 来评估异质性的来源。同时,通过做 Deek's 漏斗图不对称检验,来判断和评估本研究是否存在发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索情况 初步检索共筛出 392 篇文献,其中在 Pubmed 数据库检索出 161 篇,在 Web of Science 数据库检索到 129 篇,在 Cochrane Library 检出 2 篇,中国知网检出 29 篇,万方数据库检出 44 篇,维普数据库检索到 27 篇,合计 392 篇,复筛后共纳入 11 篇文献,其中英文 9 篇,中文 2 篇。文献检索流程见图 1。

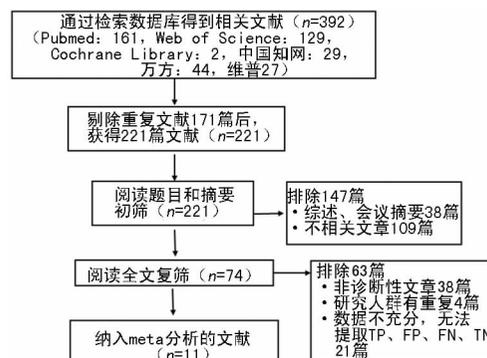


图 1 文献检索流程图

表 1 纳入文献的基本信息和质量评价

作者	发表年度	病例组例数	对照组例数	真阳性值	假阳性值	真阴性值	假阴性值	MiRNA 类型	样本来源	国家	种族	QUADAS 评分
SELARU 等 ^[4]	2009	23	17	22	0	1	17	miR-21	组织	美国	白种人	11
SHIGEHARA 等 ^[5]	2011	8	10	8	1	0	9	miR-9	胆汁	日本	黄种人	8
HE 等 ^[6]	2013	18	18	17	0	1	18	miR-22	组织	中国	黄种人	10
SILAKIT 等 ^[7]	2014	51	32	38	9	13	23	miR-192	组织	泰国	黄种人	11
CHENG 等 ^[8]	2015	103	20	84	3	19	17	miR-106a	血清	中国	黄种人	12
WANG 等 ^[9]	2015	66	66	56	12	10	54	miR-26a	血清	中国	黄种人	11
SILAKIT 等 ^[10]	2017	22	21	18	6	4	15	miR-192,-21	尿液	泰国	黄种人	11
VOIGTLANDER 等 ^[11]	2015	31	40	21	3	10	37	miR-126	血清	德国	白种人	10
VOIGTLANDER 等 ^[11]	2015	12	52	8	5	4	47	miR-1537	胆汁	德国	白种人	10
WANG 等 ^[12]	2015	74	74	65	7	9	67	miR-21	血清	中国	黄种人	12
王守立 ^[13]	2015	15	15	14	7	1	8	miR-150	血浆	中国	黄种人	10
郭平 ^[14]	2016	16	15	15	3	1	12	miR-92a,-204-5p,-186-5p	血浆	中国	黄种人	11

2.2 纳入文献的基本信息和质量评价 纳入文献的基本特征和质量评价结果见表 1。11 篇文献共包括 819 例研究对象,其中病例组共 439 例,对照组共 380 例。

2.3 发表偏倚评估 Deek's 检验用于评估本研究是否存在发表偏倚,在本研究中,漏斗图斜率系数为 0.59, $P=0.570$,本篇 Meta 分析纳入的文献不存在发表偏倚,见图 2。

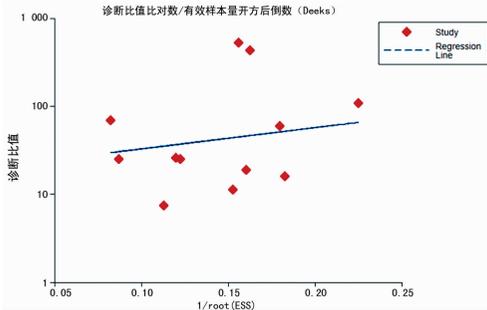


图 2 纳入文献的 Deek's 漏斗图

2.4 阈值效应 本篇 Meta 分析通过绘制 SROC 曲线,以及计算灵敏度、1-特异度对数的 Spearman 相关系数来检验本研究是否存在阈值效应,SROC 曲线不成肩臂状分布;Spearman 相关系数为 -0.025 , $P=0.940$,不存在阈值效应(图 3)。

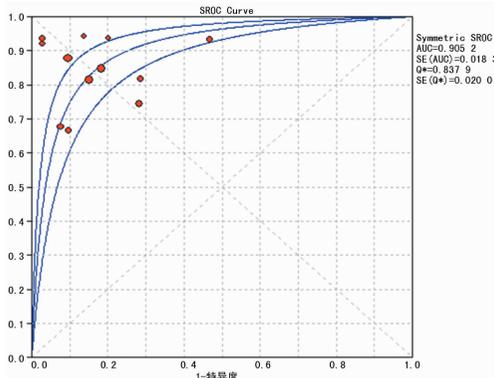


图 3 MiRNAs 诊断胆管癌的 SROC 曲线

2.5 合并分析结果 初步合并灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比和诊断比值比,上述指标的 I^2 值分别为 49.6%、66.0%、60.1%、41.0%和 40.1%,同时每项研究的估计值与合并效应值不呈同一条直线,纳入本篇 Meta 分析的各研究间存在着非阈值效应引起的异质性,故采用随机效应模型进行 Meta 分析。分析结果显示 miRNAs 诊断胆管癌的灵敏度为 0.86 [95%CI(0.80,0.87)],特异度为 0.85[95%CI(0.81,0.89)],阳性似然比为 4.83[95%CI(3.23,7.31)],阴性似然比为 0.22[95%CI(0.16,0.29)],诊断比值比为 27.49[95%CI(15.30,49.38)],见图 4~8。SROC 曲线结果显示,本研究的 AUC 值为 0.908 2。

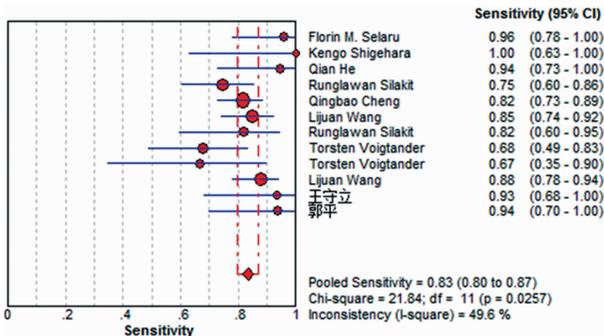


图 4 MiRNAs 对胆管癌的诊断灵敏度森林图

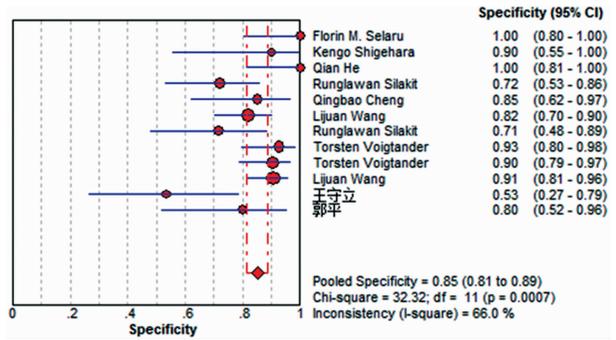


图 5 MiRNAs 对胆管癌的诊断特异度森林图

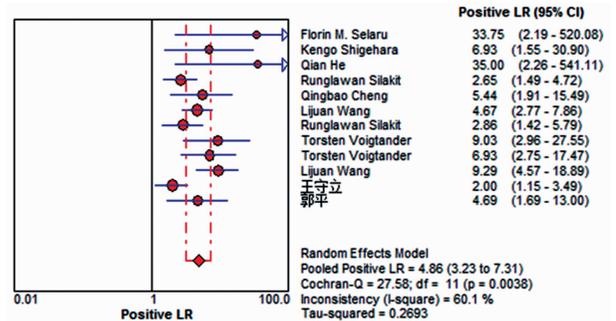


图 6 MiRNAs 对胆管癌诊断的阳性似然比森林图

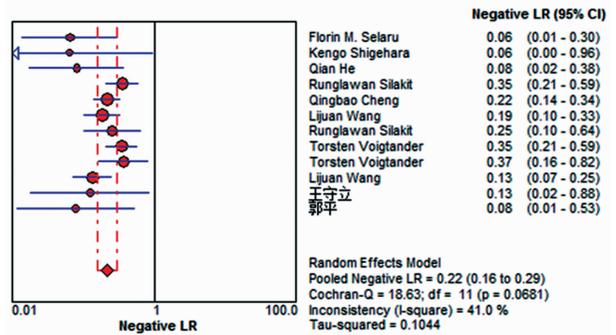


图 7 MiRNAs 对胆管癌诊断的阴性似然比森林图

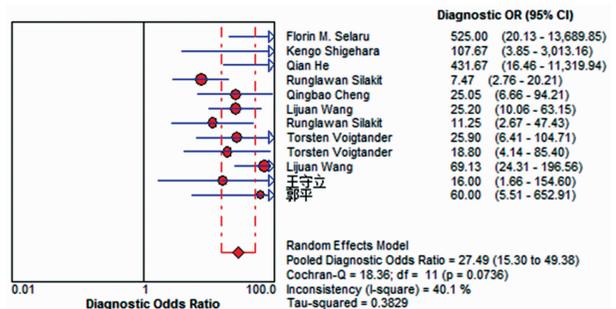


图 8 MiRNAs 对胆管癌诊断比值比森林图

2.6 亚组分析 由于纳入的研究间存在由非阈值效应引起的异质性,进一步按不同种族和标本类型进行分组做亚组分析。按种族分组,其中 2 篇文章^[4,11]中的 3 个研究的实施地点和研究人群分别来自美国、德国,属于白色人种(高加索人种),其余 9 个研究^[5-10,12-14]分别来自中国、日本和泰国,属于黄色人种。采用随机效应模型进行 Meta 分析,不同种族的各诊断指标合并值见表 2。按标本类型分组,其中 4 个研究^[8-9,11-12]的样本来自血清,2 个研究^[13-14]的样本来自

表 2 亚组分析结果

项目	灵敏度	特异度	阳性似然比	阴性似然比	诊断比值比	诊断比值比 I^2 (%)
种族						
白种人	0.773(0.653,0.867)	0.927(0.860,0.968)	8.479(4.258,16.883)	0.266(0.123,0.572)	35.503(8.812,143.03)	42.3
黄种人	0.845(0.804,0.880)	0.823(0.772,0.866)	4.201(2.718,6.493)	0.198(0.143,0.274)	26.318(13.176,52.571)	45.1
样本类型						
血清	0.825(0.775,0.868)	0.875(0.821,0.917)	6.150(4.256,8.889)	0.213(0.145,0.313)	33.802(19.298,59.206)	0
血浆	0.935(0.786,0.992)	0.667(0.472,0.827)	2.784(1.153,6.721)	0.098(0.025,0.386)	29.956(5.786,155.09)	0
胆汁	0.800(0.563,0.943)	0.903(0.801,0.964)	6.931(3.157,15.216)	0.238(0.049,1.160)	25.340(6.388,100.52)	0
组织	0.837(0.745,0.906)	0.866(0.760,0.937)	11.610(0.914,147.488)	0.141(0.034,0.582)	89.595(3.120,2572.6)	81.8

血浆,1 个研究^[10]的样本来自尿液,2 个研究^[5,11]的样本来自胆汁,3 个研究^[4,6-7]的样本是组织来源。采用随机效应模型进行 Meta 分析,不同样本类型的各诊断指标合并值见表 2。

3 讨 论

胆管癌起病隐匿,恶性程度高,一旦发现多为中晚期,转移早、手术切除率低,且预后差。糖蛋白抗原 CA19-9 是目前诊断胆管癌常用的血清学指标,但其特异性和灵敏度欠佳^[8]。因此,如何早期发现、早期诊断和治疗已成为胆管癌研究的重点。近些年来的研究发现,miRNA 广泛存在于正常人和患者的体液、组织中,且不同类型的肿瘤,miRNAs 的表达谱亦有特异性变化^[15]。目前,已有 Meta 分析系统研究了 miRNAs 对胰腺癌、乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌等的诊断价值,但尚无 miRNAs 对胆管癌诊断价值的 Meta 分析。本研究笔者全面系统地检索相关文献,采用 Meta 分析的方法评估了 miRNAs 对胆管癌的诊断价值。

本篇文章共纳入 9 篇英文和 2 篇中文,胆管癌患者共 439 例,对照组共 380 例。经分析发现,miRNAs 对胆管癌诊断的合并灵敏度和特异度分别为 0.83 [95% CI (0.80, 0.87)] 和 0.85 [95% CI (0.81, 0.89)],合并后的诊断比值比为 27.49 [95% CI (15.30, 49.38)],AUC 值为 0.908 2,以上结果显示 miRNAs 诊断胆管癌的灵敏度和特异度均大于 0.80,且 AUC 值大于 0.90,提示 miRNAs 作为胆管癌早期诊断的生物标志物具有较高的性能。经检验,本研究不存在阈值效应,但存在由非阈值效应引起的异质性,为进一步分析异质性来源,分别以种族和检测样本类型为分组依据,对纳入的 11 篇文献进行了亚组分析。亚组分析结果显示,miRNAs 对白种人胆管癌诊断的灵敏度为 0.773,低于黄种人(0.845),但特异度为 0.927,高于黄种人(0.823),诊断比值比为 35.503,高于黄种人(26.318),提示 miRNAs 检测白种人胆管癌的早期诊断价值高于黄种人。样本类型的亚组分析结果显示,组织来源的诊断比值比最高,为 89.595,提示 miRNAs 作为胆管癌的生物标志物时,组织的诊断价值优于血清(33.802)、血浆(29.

956)、胆汁(25.340),但在亚组分析结果中,组织来源的 3 个研究合并诊断比值比的 I^2 高达 81.8%,其他样本来源的研究诊断比值比 I^2 均为 0,结果表明,在本研究中,由非阈值效应引起的异质性主要来源于以组织标本为研究对象的 3 篇文章^[4,6-7],提示组织中 miRNAs 检测的稳定性较差。同时,考虑临床操作的复杂性、有无创伤性和患者的痛苦程度,认为检测人体血液标本中 miRNAs 的表达水平更具有实际意义。

本研究力求严谨、无误,但仍存在以下不足和缺陷:(1) 由于语言限制,本研究检索的文章仅限于中、英文,且纳入的中文文献仅 2 篇,虽然发表偏倚检验显示本研究不存在发表偏倚,但由于能力有限,未检索其他语言类型的文章,导致纳入文献尚不全面;(2) 由于单个 miRNA 对胆管癌诊断价值的原始研究数量较少,本篇 Meta 分析纳入的 11 篇文章中,miRNAs 的类型较分散,不存在针对某个特异性的 miRNA 对胆管癌诊断价值的 3 个及 3 个以上研究,因而无法对某一个 miRNA 的诊断效能下结论,也就无法给出某个特定 miRNA 对胆管癌的诊断价值结果。因而进一步的大样本研究和寻找某个特异性的 miRNA 将是未来研究的方向和重点。

综上所述,miRNAs 诊断胆管癌具有较高的灵敏度和特异度,其对白种人的诊断价值高于黄种人,就临床意义而言,血液标本中的 miRNAs 在胆管癌的早期诊断方面更具临床应用前景。

参考文献

- [1] 郭婧澜,谭蓓蓓,叶婷.血清 microRNA-17-5p 在胆管癌患者中的表达及其临床意义[J].中国现代医学杂志,2016,26(19):42-46.
- [2] VITERBO D,GAUSMAN V,GONDA T. Diagnostic and therapeutic biomarkers in pancreaticobiliary malignancy [J]. World J Gastrointest Endosc,2016,8(3):128-142.
- [3] WHITING P F, WESWOOD M E, RUTJES A W, 等. QUADAS 评价:一种用于诊断性研究的质量评价工具(修订版)[J]. 中国循证医学杂志,2007,7(7):531-536.
- [4] SELARU F M,OLARU A V,KAN T,(下转第 2593 页)

- [3] 王民. 男性孕前优生健康状况的不良影响因素调查分析[J]. 中国医药导报, 2013, 10(31): 141-143.
- [4] 李建微. 10 014 对夫妇孕前优生健康检查的高风险人群回顾性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(6): 79-80.
- [5] 刘俊, 陈庆, 李杰, 等. 2013 年重庆市计划妊娠夫妇乙型肝炎血清流行病学调查[J]. 中华临床感染病杂志, 2014, 7(6): 506-510.
- [6] 牛萍. 宁夏银川地区孕前检查 1600 例结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(30): 5161-5163.
- [7] 杨小伍, 肖琴, 黄柏林, 等. 铜陵市 2011~2013 年孕前优生检查结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(30): 5238-5240.
- [8] 冯文霄, 金瑛, 韩维田. 辽宁省孕前健康检查高风险人群结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(26): 4429-4430.
- [9] 蓝少华, 杨彩珍, 吴爱荣, 等. 16626 例孕前实验室检查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 35(23): 3378-3379, 3382.
- [10] 赵连三, 刘晓松, 张智翔. 乙型肝炎病毒感染经精子传播的可能性研究[J]. 中华传染病杂志, 1998, 16(3): 154-157.
- [11] 邹怀宾, 陈煜, 张华, 等. 乙型肝炎病毒母婴传播及其阻断研究的现状与存在问题[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(7): 556-558.
- [12] 中华预防医学会. 中国疾病预防控制中心免疫规划中心. 中国成人乙型肝炎免疫预防技术指南[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 12(32): 1199-1203.
- [13] FELDMAN H, JOHANNES C B, DERBY C A, et al. Erectile dysfunction and coronary risk factors, prospective results from the Massachusetts male aging study[J]. *Prev Med*, 2000, 30(4): 328-338.
- [14] BACON C G, MITTLEMAN M, KAWACHI I, et al. Sexual function in men older than 50 years of age: results from the health professionals follow-up study[J]. *Ann Intern Med*, 2003, 139(3): 161-168.
- [15] 崔雪薇, 张春东, 翟玲玲. 肥胖对男性生殖功能影响的研究进展[J]. 中国当代医药, 2010(18): 17-18.
- [16] 汤允怡, 马艳华. 肥胖与男性不育关系的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(4): 338-341.
- [17] 白双勇, 王剑松, 赵庆华. 肥胖男性不育患者精子线粒体膜电位、游离脂肪酸、活性氧的关系[J]. 中国医科大学学报, 2015, 44(7): 653-656.
- [18] 贾艳飞, 郭颖, 杨镒缸, 等. 肥胖对男性生殖功能影响的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(1): 88-92.
- [19] 王东伟, 史桂霞, 夏小明. 高血压及抗高血压药物对勃起功能的影响与研究进展[J]. 心血管病学进展, 2006, 27(5): 592-595.
- [20] 胡礼泉. 勃起功能障碍研究的历史、进展和展望[J]. 中国男科学杂志, 2002, 16(2): 75-79.
- [21] KUBIN M, WAGNER G, FUGL-MEGER A R. Epidemiology of erectile dysfunction[J]. *Int J Impot Res*, 2003, 15(1): 63-71.
- [22] 赵锋, 马瑞新, 林欣, 等. 高血压患者性功能状况[J]. 中华高血压杂志, 2013, 24(10): 938-943.

(收稿日期: 2017-09-17 修回日期: 2017-12-16)

(上接第 2589 页)

- et al. MicroRNA-21 is overexpressed in human cholangiocarcinoma and regulates programmed cell death 4 and tissue inhibitor of metalloproteinase 3 [J]. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1595-1601.
- [5] SHIGEHARA K, YOKOMURO S, ISHIBASHI O, et al. Real-time PCR-based analysis of the human bile microRNAome identifies miR-9 as a potential diagnostic biomarker for biliary tract cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23584.
- [6] HE Q, CAI L, SHUAI L, et al. Ars2 is overexpressed in human cholangiocarcinomas and its depletion increases PTEN and PDCD4 by decreasing microRNA-21 [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(4): 286-296.
- [7] SILAKIT R, LOILOME W, YONGVANIT P A, et al. Circulating miR-192 in liver fluke-associated cholangiocarcinoma patients: a prospective prognostic indicator [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2014, 21(12): 864-872.
- [8] CHENG Q B, FENG F L, ZHU LM, et al. Circulating miR-106a is a novel prognostic and lymph node metastasis indicator for cholangiocarcinoma [J]. *Sci Rep*, 2015(5): 16103.
- [9] WANG L J, ZHANG K L, ZHANG N, et al. Serum miR-26a as a diagnostic and prognostic biomarker in cholangiocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(21): 18631-18640.
- [10] SILAKIT R, LOILOME W, YONGVANIT P A, et al. Urinary microRNA-192 and microRNA-21 as potential indicators for liver fluke-associated cholangiocarcinoma risk group [J]. *Parasitol Int*, 2017, 66(4): 479-485.
- [11] VOIGTLANDER T, GUPTA S K, THUM S, et al. MicroRNAs in serum and bile of patients with primary sclerosing cholangitis and/or cholangiocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): S795-S796.
- [12] WANG L J, HE C C, SUI X, et al. MiR-21 promotes intrahepatic cholangiocarcinoma proliferation and growth in vitro and in vivo by targeting PTPN14 and PTEN [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 5932-5946.
- [13] 王守立. microRNA-150 在胆管细胞性肝癌患者中的表达及其临床意义 [D]. 西安: 第四军医大学, 2015.
- [14] 郭平. 血浆 microRNA 在胆管癌诊断中的作用研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [15] GULINO R, FORTE S, PARENTI R, et al. MicroRNA and pediatric tumors: future perspectives [J]. *Acta Histochem*, 2015, 117(4/5): 339-354.

(收稿日期: 2017-10-18 修回日期: 2018-01-21)