

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.09.011

外周血 miR-17-92 基因簇对于早期胃癌的诊断及预测价值*

刘彩芳¹ 孙妮娜¹ 石 森¹ 陈 升² 韩 川^{2,3} 吴 琼² 倪 阵² 袁 挺²
张 剑² 陆文全⁴ 时永全^{1,2Δ}

(1 西安医学院 陕西 西安 710021; 2 空军军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032;

3 火箭军峨眉疗养院 四川 峨眉 614200; 4 郑州大学第一附属医院消化内科 河南 郑州 450000)

摘要 目的:探讨外周血 miR-17-92 簇对早期胃癌的诊断价值,为胃癌的早期诊断及治疗提供参考依据。**方法:**收集胃癌 125 例(I 期 35 例,II 期 28 例,III 期 39 例,IV 期 23 例)和癌前病变 24 例(包括肠化生及上皮内瘤变),同时选择 65 例慢性胃炎作为对照组。采用实时荧光定量 PCR 技术(Real-time quantitative PCR, RT-qPCR)检测患者血清中的 miR-17-92 基因簇的表达水平。通过受试者工作曲线(Receiver Operating Curve, ROC)及曲线下的面积(Area Under the Curve, AUC)评估 miR-17-92 基因簇表达水平诊断早期胃癌的敏感性和特异性。**结果:**(1)慢性胃炎与癌前病变 miR-17-92 基因簇表达比较无显著差异($P>0.05$);(2)早期胃癌及进展期胃癌 miR-17-5p 表达明显高于慢性胃炎 ($P<0.05$),miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p 和 miR-92a-3p 表达则显著低于慢性胃炎及进展期胃癌($P<0.05$);(3)miR-17-5p 诊断早期胃癌的曲线下面积较 miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 及 CEA 更高;(4)miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 高低表达组与在胃癌的浸润深度间有显著性差异($P<0.05$),miR-19b-3p 高低表达组在胃癌的临床分期间有显著性差异($P<0.05$);(5)miR-17-5p、miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 诊断早期胃癌的阳性率较 CEA、CA199 高。**结论:**外周血 miR-17-92 基因簇对于早期胃癌的诊断价值明显优于 CEA 和 CA199,这可能为胃癌的早诊早治提供新的策略。

关键词:早期胃癌;miR-17-92 基因簇;血清;诊断;预测**中图分类号:**R-33;R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)09-1653-07

Diagnostic and Predictive Value of miR-17-92 Cluster in Peripheral Blood of Early Gastric Cancer*

LIU Cai-fang¹, SUN Ni-na¹, SHI Miao¹, CHEN Sheng², HAN Chuan^{2,3}, WU Qiong², NI Zhen², YUAN Ting²,
ZHANG Jian², LU Wen-quan⁴, SHI Yong-quan^{1,2Δ}

(1 Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710021, China; 2 State Key Laboratory of Cancer Biology & Xijing Hospital of Digestive Diseases, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 3 Rocket Army Emei Sanatorium, Sichuan, Emei, 614200, China; 4 Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the diagnostic value of miR-17-92 cluster in the peripheral blood of early gastric cancer and provide references for the early diagnosis and treatment of gastric cancer. **Methods:** A total of 125 cases with gastric cancer(stage I, 35 cases, stage II, 28 cases, stage III, 39 cases, stage IV, 23 cases) and 24 cases with precancerous lesion (including intestinal metaplasia and intraepithelial neoplasia)were collected in this experiment. Meanwhile, 65 cases with chronic gastritis was selected as the control group. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of miR-17-92 cluster in the serum. The receiver operating curve (ROC) and area under the curve (AUC) were used to assess the sensitivity and specificity of the expression of miR-17-92 cluster in the diagnosis of early gastric cancer. **Results:** (1)The expression of miR-17-92 cluster was not significantly different between chronic gastritis and precancerous lesion ($P>0.05$); (2)The expression of miR-17-5p in early gastric cancer and advanced gastric cancer was higher than that of chronic gastritis ($P<0.05$). The level of miR-19a-3p, miR-19b-3p, miR-20a-5p and miR-92a-3p were significantly lower than those of chronic gastritis and advanced gastric cancer ($P<0.05$); (3)The AUC of miR-17-5p is higher than miR-19a-3p, miR-19b-3p, miR-20a-5p and miR-92a-3p in early gastric cancer; (4)High and low expression of miR-19a-3p, miR-19b-3p, miR-20a-5p, miR-92a-3p is associated with invasive depth of gastric cancer($P<0.05$) and low expression of miR-19b-3p was related to clinical stage of gastric cancer($P<0.05$); (5)The positive rate of miR-17-5p, miR-19a-3p, miR-19b-3p, miR-20a-5p, miR-92a-3p are higher than CEA and CA199 in the diagnosis of early gastric cancer. **Conclusion:** The diagnostic value of miR-17-92 cluster in the peripheral blood is better than CEA

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470805, 81873554, 2018TD-003)

作者简介:刘彩芳(1992-),女,硕士研究生,主要从事消化系统肿瘤的生物学行为及早癌防治研究,

电话:15229042827, E-mail: liucaifang0515@163.com

Δ 通讯作者:时永全(1973-),男,主任医师,博士生导师,主要从事消化系统肿瘤的生物学行为及早癌防治研究, E-mail: shiyquan@fimmu.edu.cn

(收稿日期:2019-01-02 接受日期:2019-01-24)

and CA199 for the early gastric cancer, which may provide a new strategy for the early diagnosis and treatment of gastric cancer.

Key words: Early gastric cancer; miR-17-92 cluster; Serum; Diagnosis; Prediction

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)09-1653-07

前言

中国是胃癌高发的国家,早期胃癌患者常无特异症状,随着病情进展出现类似胃炎的症状。尽管在全球范围内胃癌的发病率及死亡率整体有下降趋势,而且针对胃癌的流行病学、病理学、分子机制及治疗选择和策略都有重大进展,但80%以上的胃癌患者被确诊时仍到了中晚期,5年生存率下降至20%^[1],当发生转移时,中位生存期在1年左右^[2],其结果远不能让人满意。目前血清学肿瘤标志物已被用于胃癌的检测,如CEA、CA19-9、CA125、CA724等,但临床指南中并未提供一致的证据表明其可用于早期胃癌的诊断^[3,4],因此,我们需要一种新型生物标志物,可以通过非侵入性方法诊断早期胃癌。研究显示miR-17-92参与了胃癌的发生与进展^[5-7],且其外周血中稳定存在,可作为肿瘤标志物诊断胃癌,但目前miR-17-92用于早期胃癌诊断的价值尚不完全明确。因此,本研究主要探讨了外周血miR-17-92簇对早期胃癌的诊断价值,以期对胃癌的早期诊断及治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2018年4月至9月来西京医院消化病院门诊收治的214例患者。纳入标准:1)早期胃癌血清学标本经术前提取,均经术后病理学检查确诊;2)均未行放疗、化疗等治疗;3)年龄小于70岁且病例资料完整可获取。排除标准:1)合并其他恶性肿瘤;2)因其他疾病曾接受过胃切除手术者;3)术前接受放化疗及

其他辅助治疗者;4)伴有感染或严重肝肾功能不全者。本研究得到西京医院伦理委员会的审核并批准。

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取 血清样本收集后立即以16,000×g速度在4℃离心机离心10分钟,清除细胞碎片,后将其冷冻至-80℃冰箱直到RNA提取。秀丽隐杆线虫miR-39(ce1-miR-39)作为外参加入到200μL血清中,并加入QIAzol试剂,使用血清miRNA提取试剂盒(QIAGEN,荷兰)提取血清总RNA。使用紫外分光光度仪nanodrop 2000(Thermo,美国)测定RNA浓度和纯度。

1.2.2 反转录-定量聚合酶链反应(RT-qPCR) 将miR-17-92基因簇7个成员的反转录引物设计呈茎环结构,引物序列来自Takara公司(Takara,日本),用于此试验的正向引物见表1,反向引物来自于QIAGEN公司(QIAGEN,荷兰),反转录20μL反应体系:5×miScript Hispect Buffer 4μL,10×miScript Nucleics Mix 2μL;miScript Reverse Transcriptase Mix 2μL;无酶水7μL;RNA模板5μL(QIAGEN,荷兰),反转录体系的反应条件为:37℃60min,95℃5min,反应结束后-20℃保存。

Realtime-PCR试剂盒来自Takara公司(Takara,日本),实时定量PCR仪使用7500Fast(Applied Biosystems公司,美国),20μL反应体系:2×TB Green Premix Ex Taq II 10μL,ROX Reference Dye 0.4μL,miRNA正向引物0.8μL,通用的反向引物0.8μL,反转录产物(1:3稀释)2μL,无酶水6μL;反应条件:95℃34s,95℃3s,60℃30s,40个循环,每个样品做3个复孔,反应结束后记录各反应管Ct值,本实验采用ce1-miR-39作为外参,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算miR-17-92基因簇的相对表达量。

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

Gene	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')
miR-17-3p	GCAGTGAAGGCACTTGTAG	From QIAgen
miR-17-5p	AAGTGCTTACAGTGCAGGTAG	
miR-18a-5p	TGGTGCATCTAGTGCAGATAG	
miR-19a-3p	GTGCAAACTCTATGCAAACTGA	
miR-19b-3p	GTGCAAAATCCATGCAAACTGA	
miR-20a-5p	AAAGTGCTTATAGTGCAGGTAG	
miR-92a-3p	TGCACTTGTCCCGGCCTGT	

1.3 统计学分析

数据分析及图表的绘制均使用SPSS软件23.0(IBM,US-A)以及Graphpad7软件(GraphPad Software Inc,USA)。符合正态分布的计量资料使用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。将miR-17-92基因簇成员表达水平根据中位数分成高表达与低表达两组,使用 χ^2 检验比较两组计数与临床病理学资料之间的差异。使用单因素方差分析进行组间的多重比较,用Levene检验对多总体

方差进行齐性检验,若方差齐性,采用LSD-t检验,若方差不齐,则采用Tamhane's T2检验。使用ROC和AUC评估miR-17-92基因簇诊断早期胃癌的敏感性和特异性。使用McNemar检验进行miR-17-92基因簇及CEA诊断早期胃癌的一致性检验。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃炎组、癌前病变组、胃癌组 miR-17-92 基因簇的表达比较

与慢性胃炎相比,胃癌组 miR-17-5p 的表达显著升高($P < 0.05$),而 miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-92a-3p 表达显著下降($P < 0.05$)。与癌前病变相比,胃癌组 miR-17-5p 表达显著上升

($P < 0.05$),而 miR-20a-5p、miR-92a-3p 表达显著下降($P < 0.05$)。胃炎组、癌前病变组、胃癌组 miR-17-3p 与 miR-18a-5p 的表达比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),慢性胃炎与癌前病变组 miR-17-92 基因簇表达比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图1。

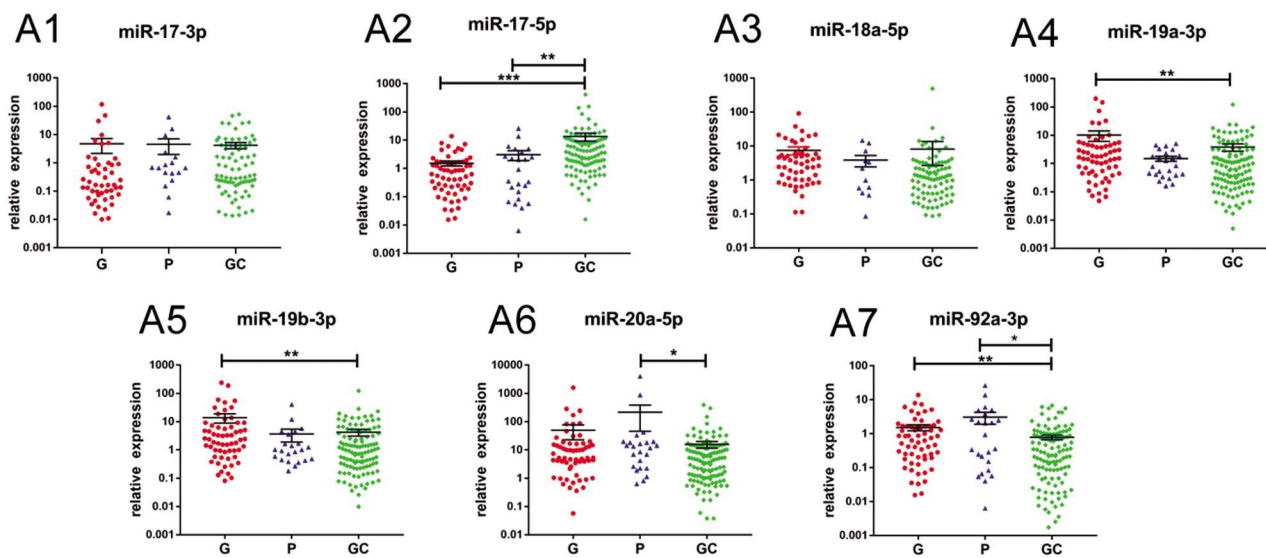


图1 胃炎、癌前病变、胃癌组 miR-17-92 基因簇的表达比较

Fig.1 Comparison of the expression of miR-17-92 cluster between gastritis, precancerous lesion and gastric cancers groups

Note: gastritis(G), precancerous lesions(P) and gastric cancers(GC)(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

2.2 慢性胃炎、早期胃癌、进展期组 miR-17-92 基因簇的表达比较

为了明确不同分期胃癌 miR-17-5p、miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 的表达差异,我们将胃癌分为2组,其中早期胃癌包括I、II期胃癌63例,进展期胃癌包括III、IV期胃癌62例。与慢性胃炎组比较,早期胃癌组及进

展期胃癌组 miR-17-5p 的表达均显著上调($P < 0.05$),但早期胃癌组及进展期胃癌组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);早期胃癌组 miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-92a-3p、miR-20a-5p 的表达显著低于慢性胃炎组及进展期胃癌组($P < 0.05$),而慢性胃炎组与进展期胃癌组之间比较无显著差异($P > 0.05$)。见图2。

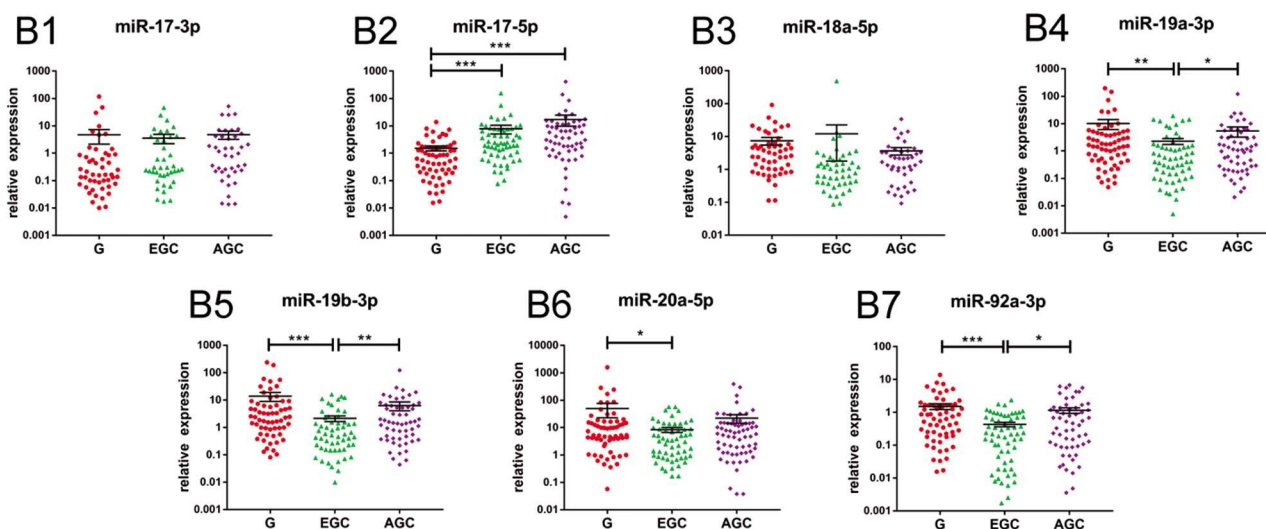


图2 胃炎、早期胃癌、进展期胃癌组 miR-17-92 基因簇的表达比较

Fig.2 Comparison of the expression of miR-17-92 gene cluster between gastritis, early gastric cancer and advanced gastric cancer groups

Note:gastritis (G), early gastric cancer (EGC), advanced gastric cancer (AGC)(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

2.3 miR-17-92 基因簇及血清肿瘤标志物识别早期胃癌的敏感性与特异性

基于以上实验结果,我们使用 GraphPad 绘制 ROC 曲线。ROC 曲线显示 miR-17-5p、miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、

miR-92a-3p 均具有一定的区分慢性胃炎与早期胃癌的价值 ($P < 0.05$),其中 miR-17-5p 曲线下面积最大,AUC 达 0.75[95% CI (0.66-0.83)],敏感性、特异性分别为 65 %、76 %,CEA、CA199、CA125 对早期胃癌诊断没有意义($P > 0.05$)。见图3、表2。

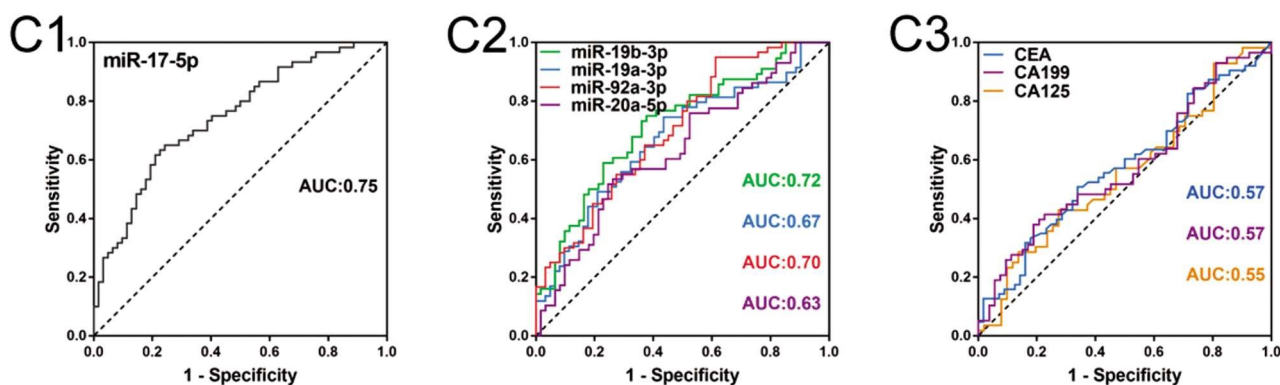


图3 miR-17-92 基因簇及 CEA、CA199、CA125 诊断早期胃癌的 ROC 曲线

Fig.3 ROC curve of miR-17-92 cluster and CEA, CA199, CA125 in the diagnosis of early gastric cancer

Note: C1 ROC of miR-17-5p; C2 ROC of miR-19a-3p, miR-19b-3p, miR-20a-5p, miR-92a-3p; C3 ROC of CEA, CA199, CA125.

表 2 miR-17-92 基因簇的曲线下面积、敏感性、特异性的对比

Table 2 The comparison of AUC, sensitivity, specificity of miR-17-92 cluster

Parameters	AUC	95 %CI*	Sensitivity	Specificity	Youden index*	P 值
miR-17-5p	0.7465	0.6605-0.8325	0.65	0.7581	0.4081	<0.0001
miR-19a-3p	0.6695	0.5728 - 0.7662	0.7458	0.5645	0.3103	0.0013
miR-19b-3p	0.7178	0.6252 - 0.8104	0.75	0.623	0.373	<0.0001
miR-20a-5p	0.6331	0.5333-0.733	0.5345	0.7377	0.2722	0.0123
miR-92a-3p	0.7024	0.6115-0.7934	0.95	0.371	0.321	0.0001
CEA*	0.5743	0.4714 - 0.6771	0.5079	0.6607	0.1686	0.1631
CA199*	0.5748	0.468 - 0.6816	0.3793	0.8113	0.1906	0.1745
CA125*	0.5537	0.4442 - 0.6633	0.4286	0.7255	0.1541	0.3383

*Note: 95 %CI: 95 %Confidence interval; Youden index:sensitivity+specificity-1; CEA: carcinoembryonic antigen; CA199: cancer antigen19-9; CA125: cancer antigen125.

2.4 不同表达水平的 miR-17-92 基因簇部分成员与胃癌患者临床特征的关系

将 miR-17-5p, miR-19a-3p, miR-19b-3p, miR-92a-3p 根据中位数分为高表达与低表达组, 比较其不同年龄、性别、胃癌部位、分化程度、浸润深度(T)、淋巴结转移(N)、远处转移(M)的

表达差异。其中, miR-17-5p 高低表达组在上述组之间均没有显著差异。miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 高低表达组与在胃癌的浸润深度间有显著性差异 ($P<0.05$), miR-19b-3p 高低表达组在胃癌的临床分期间有显著性差异 ($P<0.05$), 提示 miR-17-92 基因簇参与了胃癌的进展。见表 3。

表 3 miR-17-92 基因簇的表达与胃癌患者临床病理因素的关系(例)

Table 3 The relationship between the expression of miR-17-92 cluster and clinicopathological factors of patients with gastric cancer (n)

Clinicopathologic Factors		miR-17-5p levels		P	miR-19a-3p		P	miR-19b-3p		P
		High	Low		High	Low		High	Low	
year	≤ 50y	18	10	0.081	17	10	0.124	20	8	0.009*
	> 50y	38	46		41	48		38	50	
sex	Male	43	42	0.825	46	45	0.821	46	45	0.821
	Female	13	14		12	13		12	13	
location	Antrum	11	10	0.899	11	10	0.977	11	10	0.959
	Cardia	10	10		13	12		11	13	
	Body	4	3		6	5		6	5	
	Others	4	6		6	4		5	5	
Differentiation	Low	14	18	0.546	15	17	0.815	16	17	0.425
	Middle	29	24		28	26		29	23	
	High	7	9		9	7		6	10	

Depth of invasion	T1	10	13	0.269	14	7	0.001*	11	10	0.015*
	T2	7	13		3	20		5	18	
	T3	10	6		10	7		10	9	
	T4	27	21		29	20		30	18	
Lymph node metastasis	No	33	34	0.639	38	31	0.161	39	29	0.060
	Yes	20	17		16	23		15	24	
Distant metastasis	M0	43	47	0.341	47	46	0.816	46	47	
	M1	13	9		11	12		12	11	
Clinical stage*	Early stage	25	31	0.257	26	33	0.194	24	35	0.041*
	Advanced stage	31	25		32	25		34	23	
Clinico-pathologic Factors		miR-20a-5p		P	miR92a-3p		P			
		High	Low		High	Low				
year	≤ 50y	18	9	0.042*	20	8	0.11			
	> 50y	39	49		40	51				
sex	Male	43	46	0.620	47	46	0.961			
	Female	14	12		13	13				
location	Antrum	13	9	0.748	12	16	0.501			
	Cardia	13	12		13	7				
	Body	4	6		5	4				
	Others	4	5		7	7				
Differentiation	Low	16	13	0.436	17	18	0.862			
	Middle	29	25		26	27				
	High	5	9		9	7				
Depth of invasion	T1	14	9	0.014*	11	11	0.042*			
	T2	5	17		7	15				
	T3	8	9		8	12				
	T4	30	18		32	17				
Lymph node metastasis	No	21	18	0.702	16	24	0.130			
	Yes	34	34		39	32				
Distant metastasis	M0	44	49	0.320	50	47	0.606			
	M1	13	9		10	12				
Clinical stage	Early stage	25	33	0.162	27	33	0.233			
	Advanced stage	32	25		33	26				

*Note: Clinical staging from AJCC eighth edition (2017); P<0.05.

2.5 miR-17-92 基因簇与传统肿瘤标志物诊断早期胃癌中的阳性结果比较

我们通过检测血清中 miRNA-17-92 基因簇表达水平及肿瘤学标志物来判断这两种方法检验的阳性结果,得出两者一致性

较差($P<0.05$),CEA、CA199、CA125 诊断早期胃癌的阳性率分别为是 14.3 %、2%、0,但 miR-17-5p、miR-19a-3p、miR-19b-p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 诊断早期胃癌的阳性率分别是 53%、47%、41 %、47 %、51 %,较 CEA、CA199 显著升高。见表 4。

表 4 miR-17-92 基因簇与 CEA 诊断在早期胃癌阳性例数比较

Table 4 The comprasion of number of positive cases between miR-17-92 cluster and CEA in diagnosis of early gastric cancer

miR-17-92 基因簇		CEA			CA199			CA125		
		(-)	(+)	P*	(-)	(+)	P*	(-)	(+)	P*
		n=42	n=7		n=48	n=1		n=49	n=0	
miR-17-5p	High	21	2	0.002	23	0	0.000	23	0	-
	Low	21	5		25	1		26	0	
miR-19a-3p	High	21	2	0.000	23	0	0.000	23	0	-
	Low	21	5		25	1		26	0	
miR-19b-3p	High	19	1	0.000	20	0	0.000	29	0	-
	Low	23	6		28	1		20	0	
miR-20a-5p	High	20	3	0.000	23	0	0.000	23	0	-
	Low	22	4		25	1		26	0	
miR-92a-3p	High	23	2	0.000	25	0	0.000	25	0	-
	Low	19	5		23	1		24	0	

*Note: McNemar test, $P<0.05$.

3 讨论

目前用于胃癌诊断的血清学标志物有 CEA、CA19-9、CA72-4 等,但其诊断早期胃癌缺乏足够的敏感性和特异性^[3,4,8],而作为金标准的内镜检查是侵入性的,检查过程会让患者觉得较痛苦,许多患者因畏惧检查而导致错过最佳治疗时机。因此,探索新型生物标志物,通过非侵入性方法诊断早期胃癌仍具有十分重要的临床意义。

微小 RNA(miRNA)是由茎环结构的转录前体加工而成的大小约 18-25 核苷酸的内源性非编码小分子 RNA,它主要通过转录后对靶基因的表达水平进行调控^[9,10]。miRNA 可能作为胃癌的原癌基因与抑癌基因参与广泛的生理过程及生物过程,包括细胞增殖、分化、凋亡、代谢等^[11,12]。越来越多的研究证明 miRNA 因可在外周循环血中稳定存在,在肿瘤诊断中起重要作用^[13-15],可以通过结合某些蛋白质如 Argonaute2 和高密度脂蛋白^[16,17]或者被某些种类的分泌颗粒包括凋亡小体和外泌体包装^[18,19]表现出对内源性核糖核酸酶活性的抗性,从而免于被降解。

miR-17-92 基因簇是迄今为止研究最为深入的一组高度保守的基因簇,也称为 oncomiR-I,转录前体包括 7 个串联的茎环发卡结构,最终生成 miR-17-3p-5p、miR-17-5p、miR-18-5p、miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p 和 miR-92a-3p 7 个成熟的 miRNA,它们都具有特定的功能,在癌症的诊断和预后方面表现出很大的前景^[20,21]。有研究表明血浆 miR-18a 在食管癌、胰腺、肝细胞癌、结直肠癌和其他类型癌症的表达远远高于健康志愿者^[22]。Farran Batoul^[23]等通过分析由 68 个血浆衍生的 microRNA 组成的小组在前列腺癌患者中的表达模式,并进行了生物信息学分析,确定了相互作用的 miRNA (mir-17/mir-192)在鉴别侵袭性与非侵袭性前列腺癌中的作用,

从而为前列腺癌的危险分层提供了有效的策略。也有研究者通过微阵列分析及检测 100 个直肠癌血浆中候选 miRNA 的差异表达发现 miR-17-92 簇的上调与肿瘤复发的高风险相关^[24]。Tsujiura M^[25]等通过检测 10 例术前术后配对的胃癌患者的血浆,发现 miR-17-5p 的表达水平在术后显著下降,且他们检测了 69 例胃癌患者与 30 例正常人的血浆,发现 miR-17-5p 在胃癌中的表达水平显著高于正常患者,可能的机制是 miR-17-5p 通过转录后水平抑制靶基因的表达,加速胃癌细胞周期进程和抑制细胞凋亡促胃癌细胞增殖。Wu^[26]等报道了 miR-19b/20a/92a 的高表达能够促进胃癌干细胞的自我更新和胃癌细胞的增殖。张^[27]等发现 miR-19a/b 促进胃癌细胞的增殖、抑制胃癌细胞的凋亡,且与胃癌的 TMN 分期、淋巴结转移呈负相关。Fan B^[28]等通过检测晚期胃癌患者接受奥沙利铂/卡培他滨 (XELOX)化疗的血浆 mir-17-92 簇水平,结果显示晚期胃癌患者的 mir-17-92 血浆水平升高,化疗后血浆水平下降。这些证据表明 miR-17-92 基因簇在肿瘤发生和进展过程中发挥着作用。

本研究结果显示与慢性胃炎相比,癌前病变中 miR-17-92 基因簇的表达水平均无显著差异,提示其在识别慢性胃炎及癌前病变中存在局限性。尽管我们不能在慢性胃炎中识别癌前病变,但与慢性胃炎相比,miR-17-5p 在早期胃癌中的表达显著升高,miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-92a-3p、miR-20a-5p 的表达水平则显著降低,而在进展期胃癌中,这四个分子表达都显著升高,提示都参与了从胃炎转变为早期胃癌的进程。miR-17-5p 曲线下面积最大,可达 0.75[95%CI(0.66-0.83)],敏感性、特异性分别为 65%、76%,对早期胃癌诊断具有一定的参考价值。在其与临床病理因素的相关分析中,miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-92a-3p 的表达与肿瘤浸润深度 (T 分期) 相关,且 miR-19b-3p 表达与年龄、分期有关,提示三者参与了胃癌的进

展。miR-17-5p 与患者年龄、性别、分化程度、TNM 分期及分级无关,提示 miR-17-5p 作为分期分级诊断指标具有局限性。miR-17-5p、miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-92a-3p 在慢性胃炎与早期胃癌中的差异表达,以及与 CEA、CA199 对比,其显著提高了早期胃癌的阳性率,提示四者有望成为临床诊断早期胃癌的分子标志物。当然,要应用到临床工作中还有待我们进一步验证。

miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 与 miR-17-5p 在早期胃癌呈现不同的表达趋势,可能是因为每个分子都有特定的转录因子,通过激活和抑制相关通路来调节细胞周期,加速细胞的增殖或者凋亡,导致其在胃癌进展中的表达水平不一致^[29]。另一方面,也有研究报道 miRNA 可能存在逃脱肿瘤细胞的可能性,即使在已经被传递物递送至肿瘤细胞时,也可能出现这种情况^[30]。因此,我们仍然需要进一步追踪 miRNA 表达谱的肿瘤学特征,深入的探讨其在胃癌中发生发展的规律。

综上所述,miRNA 分子作为基因表达的调节剂,影响着多条分子信号通路的表达,且由于其时空表达特异性及其与众多靶基因错综复杂的关系,导致自身在合成、加工、发挥生物学作用的过程中可能受多方面影响,在肿瘤的发生与进展中起着不可忽视的作用。血清中 miR-17-92 基因簇在早期胃癌中表达水平的差异及它们与临床病理特征之间的相关性,提示我们 miR-17-92 基因簇有可能将来成为诊断早期胃癌的分子生物学标志物。

参考文献(References)

- [1] Chen Wan-qing, Zheng Rong-shou, Baade Peter D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [2] Van Cutsem Eric, Sagaert Xavier, Topal Baki, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2016, 388(10060): 2654-2664
- [3] Xiao Shuao, Feng Fan, Sun Li, et al. Blood type AB predicts promising prognosis in gastric cancer patients with positive preoperative serum CEA[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(47): e8496
- [4] Shen Minghui, Wang Hui, Wei Kongyuan, et al. Five common tumor biomarkers and CEA for diagnosing early gastric cancer: A protocol for a network meta-analysis of diagnostic test accuracy [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(19): e0577
- [5] Bobbili Madhusudhan Reddy, Mader Robert M, Grillari Johannes, et al. OncomiR-17-5p: alarm signal in cancer?[J]. Oncotarget, 2017, 8(41): 71206-71222
- [6] Wu Q, Yang Z, An Y, et al. MiR-19a/b modulate the metastasis of gastric cancer cells by targeting the tumour suppressor MXD1 [J]. Cell Death Dis, 2014, 5(3): e1144
- [7] Bahari F, Emadi-Baygi M, Nikpour P. miR-17-92 host gene, underexpressed in gastric cancer and its expression was negatively correlated with the metastasis[J]. Indian J Cancer, 2015, 52(1): 22-25
- [8] Shimada Hideaki, Noie Tamaki, Ohashi Manabu, et al. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association[J]. Gastric Cancer, 2014, 17(1): 26-33
- [9] Ha Minju, Kim V Narry. Regulation of microRNA biogenesis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(8): 509-524
- [10] Lytle J Robin, Yario Therese A, Steitz Joan A. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR[J]. Proc Natl Acad Sci U.S.A., 2007, 104(23): 9667-9672
- [11] Liu Fei, Cheng Li, Xu Jingjing et al. miR-17-92 functions as an oncogene and modulates NF- κ B signaling by targeting TRAF3 in MGC-803 human gastric cancer cells [J]. Int J Oncol, 2018, 53(5): 2241-2257
- [12] Ameres Stefan L, Zamore Phillip D. Diversifying microRNA sequence and function[J]. Nat Rev. Mol Cell Biol, 2013, 14(8): 475-88
- [13] Shin Vivian Yvonne, Chu Kent-Man. MiRNA as potential biomarkers and therapeutic targets for gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(30): 10432-10439
- [14] Liu Han-Shao, Xiao Hua-Sheng. MicroRNAs as potential biomarkers for gastric cancer[J]. World J. Gastroenterol, 2014, 20(34): 12007-12017
- [15] MacLellan Sara A, MacAulay Calum, Lam Stephen, et al. Pre-profiling factors influencing serum microRNA levels[J]. BMC Clin Pathol, 2014, 14: 27
- [16] Arroyo Jason D, Chevillet John R, Kroh Evan M, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma [J]. Proc Natl Acad Sci. U.S.A., 2011, 108(12): 5003-5008
- [17] Vickers Kasey C, Palmisano Brian T, Shoucri Bassem M, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(4): 423-433
- [18] Turchinovich Andrey, Weiz Ludmila, Langheinz Anne, et al. Characterization of extracellular circulating microRNA [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(16): 7223-7233
- [19] Santonocito Manuela, Vento Marilena, Guglielmino Maria Rosa, et al. Molecular characterization of exosomes and their microRNA cargo in human follicular fluid: bioinformatic analysis reveals that exosomal microRNAs control pathways involved in follicular maturation [J]. Fertil Steril, 2014, 102(6): 1751-1761.e1
- [20] Kral Jan, Korenkova Vlasta, Novosadova Vendula, et al. Expression profile of miR-17/92 cluster is predictive of treatment response in rectal cancer[J]. Carcinogenesis, 2018, 39(11): 1359-1367
- [21] Fuziwara Cesar Seigi, Kimura Edna Teruko. Insights into Regulation of the miR-17-92 Cluster of miRNAs in Cancer [J]. Front Med (Lausanne), 2015, 2: 64
- [22] Komatsu Shuhei, Ichikawa Daisuke, Takeshita Hiroki, et al. Circulating miR-18a: a sensitive cancer screening biomarker in human cancer[J]. In Vivo, 2014, 28(3): 293-297
- [23] Farran Batoul, Dyson Gregory, Craig Douglas, et al. A study of circulating microRNAs identifies a new potential biomarker panel to distinguish aggressive prostate cancer [J]. Carcinogenesis, 2018, 39(4): 556-561
- [24] Peng Wei, Liu Ya-nan, Zhu Si-qiang, et al. The correlation of circulating pro-angiogenic miRNAs' expressions with disease risk, clinicopathological features, and survival profiles in gastric cancer[J]. Cancer Med, 2018, 7(8): 3773-3791
- [25] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers [J]. Br J Cancer, 2010, 102(7): 1174-1179
- [26] Wu Qiong, Yang Zhi-ping, Wang Fang, et al. MiR-19b/20a/92a regulates the self-renewal and proliferation of gastric cancer stem cells[J]. J Cell Sci, 2013, 126: 4220-4229

例数较少,其次是由于装置的引入时间较短,缺乏长期随访,对患者的远期预后影响尚不得而知,而这也是目前射频消融治疗的主要缺点,既往有 meta 分析表明射频消融治疗对 LES 压力的提高效果并不显著^[21]。

综上所述,国产的内镜下射频消融设备对 GERD 患者是一种安全、有效的治疗选择,能显著改善反流症状,减少 PPI 药物使用,提高生活质量,短期应用效果令人满意。

参考文献(References)

- [1] 郑永杰,王志洋,曹岐新,等.柴胡疏肝散治疗胃食管反流病伴抑郁临床观察[J].转化医学电子杂志,2016,3(8): 49-50
- [2] 黄勇,刘丽珍,金忠芹,等.奥美拉唑联合多潘立酮治疗小儿胃食管反流病的疗效观察[J].现代生物医学进展,2017,17(10): 1859-1862
- [3] Fockens P, Cohen L, Edmundowicz S A, et al. Prospective randomized controlled trial of an injectable esophageal prosthesis versus a sham procedure for endoscopic treatment of gastroesophageal reflux disease [J]. Surg Endosc, 2010, 24(6): 1387-1397
- [4] Hong JK, Kwon CI, Kessler WR, et al. Long-term follow-up results of endoscopic treatment of gastroesophageal reflux disease with the MUSE™ endoscopic stapling device [J]. Surg Endosc, 2016, 30(8): 1-7
- [5] Inoue H, Ito H, Ikeda H, et al. Anti-reflux mucosectomy for gastroesophageal reflux disease in the absence of hiatus hernia: A pilot study [J]. Ann Gastroenterol, 2014, 27(4): 1-6
- [6] 王志,张成,王俭,等.GerdQ 量表在胃食管反流病诊断中的应用[J].中华胃食管反流病电子杂志,2014, (1): 36-38
- [7] 朱清,裴小红,黄重发,等.SF-36 量表在胃食管反流病患者生存质量评价中的应用[J].疑难病杂志,2010,9(3): 188-190
- [8] 赫飞飞,董晓秋,邵小慧等.基于三维彩色血管能量成像的子宫肌瘤射频消融的临床研究 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(36): 7058-7062
- [9] 李晶,赵武,刘影,等.数字 X 线评价低温射频消融术治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的临床疗效[J].现代生物医学进展,2016,16(16): 3083-3085
- [10] 双剑博,王渭滨.甲状腺良性结节微创治疗进展[J].转化医学电子杂志,2017,4(4): 83-86
- [11] Hummel K, Richards W. Endoscopic treatment of gastroesophageal reflux disease[J]. Surg Clin North Am, 2015, 95 (3): 653-667
- [12] Auyang ED, Carter P, Rauth T, et al. SAGES clinical spotlight review: endoluminal treatments for gastroesophageal reflux disease (GERD)[J]. Surg Endosc, 2013, 27(8): 2658-2672
- [13] Arts J, Bisschops R, Blondeau K, et al. A double-blind sham-controlled study of the effect of radiofrequency energy on symptoms and distensibility of the gastroesophageal junction in GERD [J]. Am J Gastroenterol, 2012, 107(2): 222-230
- [14] 刘海峰,屈亚威,陈晓光,等.微量射频技术治疗胃食管反流病 5 年随访研究[J].武警医学,2015, 26(12): 1193-1195, 1198
- [15] Liang WT, Wu JM, Wang F, et al. Stretta radiofrequency for gastroesophageal reflux disease-related respiratory symptoms: a prospective 5-year study[J]. Minerva Chir, 2014, 69(5): 293-299
- [16] Noar M, Squires P, Noar E, et al. Long-term maintenance effect of radiofrequency energy delivery for refractory GERD: a decade later [J]. Surg Endosc, 2014, 28(8): 2323-2333
- [17] Aziz AM, El-Khayat HR, Sadek A, et al. A prospective randomized trial of sham, single-dose Stretta, and double-dose Stretta for the treatment of gastroesophageal reflux disease[J]. Surg Endosc, 2010, 24(4): 818-825
- [18] Meier PN, Nietzschmann T, Akin I, et al. Improvement of objective GERD parameters after radiofrequency energy delivery: a European study[J]. Scand J Gastroenterol, 2007, 42(8): 911-916
- [19] Dughera L, Rotondano G, De Cento M, et al. Durability of Stretta radiofrequency treatment for GERD: results of an 8-year follow-up [J]. Gastroenterol Res Pract, 2014, 2014: 531907
- [20] Fass R, Cahn F, Scotti DJ, et al. Systematic review and meta-analysis of controlled and prospective cohort efficacy studies of endoscopic radiofrequency for treatment of gastroesophageal reflux disease [J]. Surg Endosc. 2017, 31(12): 4865-4882
- [21] Perry K, Banerjee A, Melvin WS, et al. Radiofrequency energy delivered to lower esophageal sphincter reduces esophageal acid exposure and improves GERD symptoms: a systematic review and meta-analysis [J]. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech, 2012, 22(4): 283-288
- (上接第 1659 页)
- [27] 张智勇,常虎林,郑伟,张煜,刘阳.hsa-miR-19a-3p 下调靶基因 SE-MA4C 抑制胃癌细胞增殖、侵袭能力[J].现代肿瘤医学,2017, 25(16): 2609-2615
- [28] Fan Baohua, Shen Cunfang, Wu Milu, et al. miR-17-92 cluster is connected with disease progression and oxaliplatin/capecitabine chemotherapy efficacy in advanced gastric cancer patients: A preliminary study[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(35): e12007
- [29] Li Yulin, Choi Peter S, Casey Stephanie C, et al. MYC through miR-17-92 suppresses specific target genes to maintain survival, autonomous proliferation, and a neoplastic state [J]. Cancer Cell, 2014, 26(2): 262-272
- [30] Arroyo Jason D, Chevillet John R, Kroh Evan M, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma [J]. Proc Natl Acad. Sci. U.S.A, 2011, 108(12): 5003-5008