

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.12.021

胃癌黏膜组织 miR-127、PALB2 表达与临床特征及预后的相关性研究

陆霞娟, 蒋海峰, 马晶晶

上海市杨浦区控江医院消化内科, 上海 200093

摘要:目的 探讨胃癌黏膜组织中微小 RNA-127(miR-127)、乳腺癌易感基因相关蛋白 2(PALB2)的表达与临床特征及预后的相关性。方法 选取 2013 年 3 月至 2015 年 7 月于该院收治且已确诊为胃癌患者 120 例作为研究对象。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测研究对象胃癌黏膜组织、癌旁黏膜组织中 miR-127 和 PALB2 相对表达水平,对两者与胃癌临床特征的关系进行分析。采用 Kaplan-Meier 曲线进行生存分析,以及 COX 生存回归分析影响胃癌患者预后的因素。结果 癌旁黏膜组织中 miR-127 相对表达水平高于胃癌黏膜组织,而 PALB2 相对表达水平则低于胃癌黏膜组织,差异有统计学意义($P<0.05$);miR-127 高表达组生存率为 30.00%,miR-127 低表达组生存率为 10.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素分析发现,淋巴结转移、TNM 分期、浸润程度、PALB2 高表达和 miR-127 低表达均是影响预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 胃癌黏膜组织 miR-127、PALB2 表达与临床特征及预后密切相关,可作为胃癌患者早期检测和预后的监测指标。

关键词: 胃癌; 黏膜组织; 微小 RNA-127; 乳腺癌易感基因相关蛋白 2; 预后

中图法分类号:R735.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)12-1738-05

Correlation between expression of miR-127, PALB2 and clinical features, prognosis in gastric cancer mucosa

LU Xiajuan, JIANG Haifeng, MA Jingjing

Department of Gastroenterology, Kongjiang Hospital of Yangpu District, Shanghai 200093, China

Abstract: Objective To investigate the expression of microRNA-127 (miR-127) and breast cancer partner and localizer of BRCA2 (PALB2) in gastric cancer mucosa and their correlation with clinical features and prognosis. **Methods** A total of 120 patients with gastric cancer who were admitted to a hospital from March 2013 to July 2015 were selected as the research subjects. Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the relative expression levels of miR-127 and PALB2 in the mucosal tissues and adjacent mucosal tissues of gastric cancer subjects, and to analyze the relationship between the two and the clinical characteristics of gastric cancer. Kaplan-Meier survival curve analysis and COX survival regression analysis were used to analyze the factors affecting the prognosis of gastric cancer patients. **Results** The relative expression level of miR-127 in adjacent mucosal tissues was significantly higher than that in gastric cancer tissues, while the relative expression level of PALB2 was significantly lower than that in gastric cancer tissues, with statistical significance ($P<0.05$). The survival rate of the group with high miR-127 expression was 30.00%, and that of the group with low miR-127 expression was 10.00%, with statistical significance ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that lymph node metastasis, TNM stage, degree of invasion, high expression of PALB2 and low expression of miR-127 were all independent risk factors affecting prognosis and survival ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of miR-127 and PALB2 in gastric cancer mucosa tissues are closely related to clinical features and prognosis, and can be used as monitoring indexes for early detection and prognosis survival of gastric cancer patients.

Key words: gastric cancer; mucosal tissue; microRNA-127; breast cancer partner and localizer of BRCA2; prognosis

胃癌是现今世界上最常见的癌症之一,起源于胃部黏膜上皮的恶性肿瘤,具有高发病率、高病死率和

预后差等特点,浸润程度、淋巴结转移等因素都是其致死因素。有研究发现,胃癌患者中有 10% 以上的病

作者简介:陆霞娟,女,副主任医师,主要从事胃肠病及消化内镜方面研究。

本文引用格式:陆霞娟,蒋海峰,马晶晶. 胃癌黏膜组织 miR-127、PALB2 表达与临床特征及预后的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(12):1738-1742.

例显示出家族遗传史,人们至今仍为研究其潜在的机制及寻找生物标志物和治疗靶点而努力^[1-2]。胃癌患者因多为晚期确诊,通常表现为预后不佳,因此,找到胃癌的诊断生物标志物及随访复查至关重要。越来越多的证据表明,微小 RNA(miRNAs)在胃癌等各类癌症发生中具有重要作用,许多 miRNAs 已被作为治疗胃癌的潜在靶点^[3-4]。近期有研究报道微小 RNA-127(miR-127)可作为肿瘤抑制剂,抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移^[5]。还有研究发现,miR-127 可抑制胃癌的转移和侵袭^[6]。乳腺癌易感基因相关蛋白 2(PALB2)是一种乳腺癌基因,自 2015 年以来有多项研究为 PALB2 及其他参与同源重组 DNA 修复的基因在胃癌风险中的作用提供依据^[7-8]。但关于 miR-127 和 PALB2 在胃癌黏膜组织中的表达水平与临床特征及预后相关性的研究鲜少报道。因此,本研究旨在探讨胃癌黏膜组织中 miR-127、PALB2 的表达与临床特征及预后的相关性,以期胃癌的病情发展及预后监测提供有效依据,为进一步探讨胃癌的发生机制提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 3 月至 2015 年 7 月本院收治且已确诊为胃癌患者 120 例作为研究对象,其中男 67 例、女 53 例,年龄 34~82 岁。纳入标准:(1)患者经镜检、活检等手段检查确诊(患者均为胃体部发生溃疡、结节隆起病变,少数表现为糜烂、菜花样肿物)^[9],临床资料完整;(2)全部患者均进行手术切除治疗,术前未进行其他辅助性治疗。排除标准:(1)经

内镜及活检确诊为食管胃交界部腺癌、原发性恶性淋巴瘤、胃肉瘤患者^[9-10];(2)在近期进行过化疗或手术等治疗的胃癌患者;(3)患有其他免疫系统疾病患者。本研究通过本院伦理委员会批准,经患者和家属知情并签署同意书。

1.2 仪器与试剂 高速低温离心机(JW-3021HR)购自嘉文设备有限公司;荧光定量 PCR 仪(LightCycler®96)购自上海罗氏诊断产品有限公司;全自动酶标仪(RT2100C)购自德国 IFP 公司。UltraSYBR Mixture(Low ROX)[货号:(CW0956)]购自康为世纪公司;RNA 提取试剂盒(货号:DP441)购自北京天根生化有限公司;PrimeScript™ RT Master Mix(货号:RR047AA)购自日本 Takara 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及保存 在手术中取研究对象胃癌黏膜组织和癌旁黏膜组织(>5 cm),用生理盐水清理干净,放入-80℃冰箱备用。

1.3.2 胃癌黏膜组织和癌旁黏膜组织中 miR-127、PALB2 相对表达水平检测 使用 RNA 提取试剂盒(天根)提取出胃癌黏膜组织和癌旁黏膜组织总 RNA 后反转录成 cDNA。以此为模板,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测标本中 miR-127、PALB2 相对表达水平。用 U6、β-actin 作为内参对 mRNA 标准化,通过 2^{-ΔΔCt} 计算 miR-127、PALB2 相对表达水平。用 Primer 6.0 和 Oligo 7 软件设计引物,引物长度为 18~22 bp,扩增长度 100~300 bp,见表 1,送华大基因进行合成,经 10 倍稀释备用。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物(5'-3')

基因	上游引物	下游引物
miR-127	GGA AGA TCT GTA GTC CTG TCT GTT GGT CAG	CCC AAG CTT CCT GAA GAA CTG CTT CCG CC
PALB2	CTC ACA CAA ATA TCA GCA CGA AAA	GGA ATC CTC TTT TTG ATG ACG ACT
U6	ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT	GGA ACG CTT CAC GAA TTT G
β-actin	CTC CAT CCT GGC CTC GCT GT	GCT GTC ACC TTC ACC GTT CC

1.4 随访 对出院患者进行为期 5 年的随访,以电话或复查形式记录患者预后生存情况。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或率表示,两样本之间比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 曲线分析 miR-127、PALB2 相对表达水平与预后的关系,使用单因素和多因素分析进行 COX 生存回归分析,*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌旁黏膜组织和胃癌黏膜组织中 miR-127、PALB2 相对表达水平比较 癌旁黏膜组织中 miR-

127 相对表达水平高于胃癌黏膜组织,而 PALB2 相对表达水平则低于胃癌黏膜组织,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

表 2 癌旁黏膜组织和胃癌黏膜组织中 miR-127、PALB2 相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	miR-127	PALB2
癌旁黏膜组织	120	1.51±0.25	1.68±0.15
胃癌黏膜组织	120	0.23±0.05	2.08±0.69
<i>t</i>		54.998	6.205
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.2 miR-127、PALB2 相对表达水平与胃癌临床病

理参数的关系 miR-127 和 PALB2 相对表达水平分别以中位数 0.23 和 2.02 为标准,大于中位数为高表达组,低于或等于中位数为低表达组。由表 3 可知,两组胃癌黏膜组织中 miR-127 和 PALB2 相对表达水平在不同性别、分化程度、年龄和肿瘤大小间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),在淋巴结转移、浸润程度和 TNM 分期间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 3 miR-127、PALB2 相对表达水平与胃癌临床病理参数的关系(n)

项目	n	miR-127		t/χ^2	P	PALB2		t/χ^2	P
		高表达组(n=60)	低表达组(n=60)			高表达组(n=60)	低表达组(n=60)		
性别				0.135	0.713			2.163	0.141
男	67	32	35			29	38		
女	53	28	25			31	22		
年龄				0.309	0.579			0.001	0.977
<60 岁	50	23	27			25	25		
≥60 岁	70	37	33			35	35		
肿瘤大小				0.033	0.855			0.837	0.360
<5 cm	64	33	31			29	35		
≥5 cm	56	27	29			31	25		
淋巴结转移				10.035	0.002			15.313	<0.001
有	72	27	45			47	25		
无	48	33	15			13	35		
分化程度				0.909	0.653			1.196	0.550
高	53	29	24			25	28		
中	40	18	22			19	21		
低	27	13	14			16	11		
浸润程度				14.497	<0.001			46.971	<0.001
T1~T2	77	28	49			20	57		
T3~T4	43	32	11			40	3		
TNM 分期				15.120	<0.001			5.794	0.016
I~II 期	70	24	46			28	42		
III~IV 期	50	36	14			32	18		

2.3 miR-127、PALB2 相对表达水平与胃癌患者预后的关系 miR-127、PALB2 相对表达水平与胃癌患者生存状况的关系见图 1、2。经过 5 年随访后,120 例患者 24 例生存,96 例死亡,生存率为 20.00%。miR-127 高表达组生存率为 30.00%,miR-127 低表达组生存率为 10.00%,差异有统计学意义($P<0.05$); PALB2 低表达组生存率为 31.67%,而 PALB2 高表达组生存率为 8.33%,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 COX 生存回归分析影响胃癌患者预后的因素 将淋巴结转移、TNM 分期、浸润程度、PALB2 相对表达水平和 miR-127 相对表达水平进行单因素 COX 生存回归分析,发现以上 5 个因素均对患者预后存在影响($P<0.05$)。多因素分析发现,淋巴结转移、TNM 分期、浸润程度、PALB2 高表达和 miR-127

低表达均是影响胃癌患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表 4。

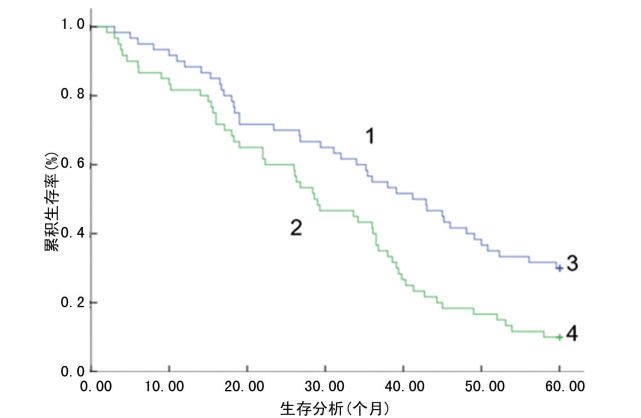
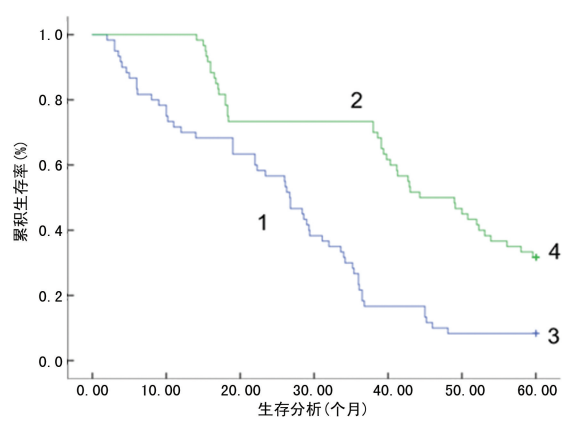


图 1 miR-127 相对表达水平与胃癌患者预后的关系

表 4 胃癌患者预后的 COX 生存回归分析

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
淋巴结转移	2.131	1.293~3.513	0.018	2.090	1.604~2.723	<0.001
TNM 分期	2.945	1.195~7.255	0.019	2.811	2.157~3.662	<0.001
浸润程度	0.587	1.356~2.968	0.037	0.601	1.461~2.783	<0.001
PALB2 相对表达水平	1.983	1.057~3.707	0.033	2.005	1.539~2.612	<0.001
miR-127 相对表达水平	1.882	1.005~3.524	0.048	1.981	1.520~2.581	<0.001

注:HR 为风险比。



注:1 为高表达组;2 为低表达组;3 为高表达组-检测后;4 为低表达组-检测后。

图 2 PALB2 相对表达水平与胃癌患者预后的关系

3 讨 论

胃癌是除了肝癌和肺癌之外的第三大致命性癌症,因大多数患者患病晚期才得到确诊,导致预后不佳,因此病死率较高^[11-12]。在解剖学上,胃癌分为胃腺癌和胃食管交界处腺癌,在组织学上可分为弥散型和肠型^[11]。胃癌的患病风险因素有病毒感染、性别、年龄、饮酒史等,现今也有大量关于胃癌遗传性的研究,以期在胃癌预防和治疗方面取得突破性的进展^[13]。张潇怡^[14]在关于胃癌易感性和预后相关基因的研究中发现 MSH6、MLH11 和 MUTHY 等基因与胃癌的发生有关。

miRNAs 是一种非编码的单链小分子 RNA,在真核生物细胞中广泛存在,可在转录后水平调节基因表达,其表达异常可导致细胞异常分化和过度增殖,从而引发癌变^[15]。彭洪等^[16]研究表明,miR-127-5p 高表达对结直肠癌细胞增殖起抑制作用,其在癌变组织中的表达水平低于正常组织。还有研究表明胃癌发生与 miR-127 的表达异常有关,通过蛋白印迹分析 miR-127 的表达发现,胃癌组织中其表达水平低于正常组织^[17]。本研究结果发现,与癌旁黏膜组织相比,胃癌黏膜组织中 miR-127 相对表达水平降低,与上述研究结果一致。这表明 miR-127 可对胃癌的癌细胞起抑制作用,其表达降低可导致肿瘤细胞增殖^[16]。此外,本研究还发现,胃癌黏膜组织中 miR-127 相对表

达水平在性别、分化程度、年龄和肿瘤大小间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),在淋巴结转移、浸润程度和 TNM 分期间比较差异有统计学意义($P<0.05$),这表明 miR-127 可影响胃癌的发生、发展。miR-127 高表达组生存率为 30.00%,miR-127 低表达组生存率为 10.00%,差异有统计学意义($P<0.05$),且 miR-127 低表达是预后不良的独立危险因素。这表明 miR-127 可作为预后监测指标用以跟踪病情发展状况。

PALB2 是一种乳腺癌基因,其突变可增加患乳腺癌的风险^[18-19]。还有研究表明 PALB2 会增加患胃癌的风险,是一种癌症易感基因^[8]。本研究结果发现,与癌旁黏膜组织相比,胃癌黏膜组织中 PALB2 相对表达水平增加,并且 PALB2 相对表达水平在淋巴结转移、浸润程度和 TNM 分期间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。这表明其相对表达水平增加可致使肿瘤的发生。PALB2 低表达组生存率为 31.67%,而 PALB2 高表达组生存率为 8.33%,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素分析发现,PALB2 高表达是影响预后的独立危险因素。以上结果表明,PALB2 作为新的家族性胃癌基因,可对胃癌的治疗和预防重要作用。

综上所述,本研究发现胃癌黏膜组织 miR-127 低表达、PALB2 高表达,二者与临床特征密切相关,且 PALB2 高表达和 miR-127 低表达均是影响胃癌患者预后的独立危险因素。以上结果表明,miR-127、PALB2 具有作为胃癌患者预后不良生物标志物的潜在能力,但两者在胃癌中的详细作用机制还需进一步研究。

参考文献

[1] LOK B H,CARLEY A C,TCHANG B,et al. RAD52 inactivation is synthetically lethal with deficiencies in BRCA1 and PALB2 in addition to BRCA2 through RAD51-mediated homologous recombination[J]. Onco-gene,2017,152(5):983-986.

[2] GUO L H,LI H,WANG F,et al. The tumor suppressor roles of miR-433 and miR-127 in gastric cancer[J]. Int J Mol Sci,2013,14(7):14171-14184.

- [3] KOHLHAPP F J, MITRA A K, LENGUEL E, et al. MicroRNAs as mediators and communicators between cancer cells and the tumor microenvironment[J]. *Oncogene*, 2015, 34(48):5857-5868.
- [4] FLATMARK K, HØYE E, FROMM B. microRNAs as cancer biomarkers[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2016, 76(245):80-83.
- [5] ZHANG J, HOU W, CHAI M, et al. MicroRNA-127-3p inhibits proliferation and invasion by targeting SETD8 in human osteosarcoma cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(4):1006-1011.
- [6] WANG L, WANG X, JIANG X. MiR-127 suppresses gastric cancer cell migration and invasion via targeting Wnt7a [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3):3219-3226.
- [7] HUANG K L, MASHI R J, WU Y, et al. Pathogenic germline variants in 10389 adult cancers[J]. *Cell*, 2018, 173(2):355-370.
- [8] SAHASRABUDHE R, LOTT P, BOHORQUEZ M, et al. Germline mutations in PALB2, BRCA1, and RAD51C, which regulate DNA recombination repair, in patients with gastric cancer[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(5):983-986.
- [9] 国家卫生健康委员会. 胃癌诊疗规范(2018 年版)[J/CD]. *中华消化病与影像杂志(电子版)*, 2019, 9(3):118-144.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 胃癌规范化诊疗指南(试行)[J/CD]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2013, 5(8):29-36.
- [11] VAN C E, SAGAERT X, TOPAL B, et al. Gastric cancer [J]. *Lancet*, 2016, 57(1):2654-2664.
- [12] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):359-386.
- [13] LOTT P C, CARVAJAL-CARMONA L G. Resolving gastric cancer aetiology: an update in genetic predisposition[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2018, 3(12):874-883.
- [14] 张潇怡. 胃癌易感基因以及预后相关基因的生物信息学分析[D]. 北京:北京协和医学院, 2017.
- [15] AMBROS V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing[J]. *Cell*, 2003, 113(6):673-676.
- [16] 彭洪, 彭明沙, 冯雪雅, 等. miR-127-5p 对结直肠癌细胞增殖的影响及其作用机制[J]. *成都医学院学报*, 2020, 15(1):28-32.
- [17] WANG S, LI H, WANG J, et al. Prognostic and biological significance of microRNA-127 expression in human breast cancer[J]. *Dis Markers*, 2014, 20(14):401986-401998.
- [18] 蒋威华, 张明帅, 李涌涛, 等. 三阴性乳腺癌 PALB2 与雄激素受体表达关系及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(9):24-27.
- [19] CARVAJAL-CARMONA L G. PALB2 as a familial gastric cancer gene: is the wait over[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2018, 3(7):451-452.

(收稿日期:2020-09-30 修回日期:2021-05-18)

(上接第 1737 页)

- [3] SHOHAB D, AYUB R, ALAM M U, et al. Effect of body mass index on operative time, hospital stay, stone clearance, postoperative complications, and postoperative analgesic requirement in patients undergoing percutaneous nephrolithotomy[J]. *Turk J Urol*, 2015, 41(4):177-180.
- [4] SIMSEK A, ÖZGÖR F, AKBULUT M F, et al. Does body mass index effect the success of percutaneous nephrolithotomy[J]. *Turk J Urol*, 2014, 40(2):104-109.
- [5] KEHEILA M, LEAVITT D, GALLI R, et al. Percutaneous nephrolithotomy in super obese patients (body mass index ≥ 50 kg/m²): overcoming the challenges[J]. *BJU Int*, 2016, 117(2):300-306.
- [6] DAUW C A, BOROFSKY M S, YORK N, et al. Percutaneous nephrolithotomy in the superobese: a comparison of outcomes based on body mass index [J]. *J Endourol*, 2016, 30(9):987-991.
- [7] TOMASZEWSKI J J, SMALDONE M C, SCHUSTER T, et al. Outcomes of percutaneous nephrolithotomy stratified by body mass index[J]. *J Endourol*, 2010, 24(4):547-550.
- [8] ALYAMI F A, SKINNER T A, NORMAN R W. Impact of body mass index on clinical outcomes associated with percutaneous nephrolithotomy [J]. *Can Urol Assoc J*, 2013, 7(3/4):197-201.
- [9] JIN W, SONG Y, FEI X. Does body mass index impact the outcomes of ultrasound-guided percutaneous nephrolithotomy[J]. *Urol Int*, 2019, 103(2):149-155.
- [10] BAYNE D B, USAWACHINTACHIT M, TZOU D, et al. Increasing body mass index steepens the learning curve for ultrasound-guided percutaneous nephrolithotomy[J]. *Urology*, 2018, 120(1):68-73.
- [11] SKOLARIKOS A, ROSETTE J. Prevention and treatment of complications following percutaneous nephrolithotomy[J]. *Curr Opin Urol*, 2008, 18(2):229-234.
- [12] 王勇, 高晓秋, 马武华. 微创经皮肾镜取石术中并发肺气胸 1 例[J]. *广东医学*, 2010, 31(5):663.
- [13] KURTULUS F O. A study of risk factors that influence bleeding in percutaneous nephrolithotomy [J]. *J Urol*, 2009, 181(4):626-629.
- [14] 徐桂彬, 李逊, 何朝辉, 等. 微创经皮肾镜取石术出血量影响因素的分析[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2007, 28(7):456-459.

(收稿日期:2020-10-19 修回日期:2021-05-16)