

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.06.002

miR-421 和 miR-196b-3p 在胃癌癌前病变和早期胃癌 诊断中的潜在价值*

王文怡,余静恬,甘 程

武汉科技大学附属天佑医院检验科,湖北武汉 430000

摘 要:目的 研究血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 作为诊断胃癌癌前病变和早期胃癌新型潜在生物标志物的临床意义。方法 (1)发现集:于 2018 年 12 月 1 日至 12 月 31 日采集早期胃癌患者(早期胃癌组)、癌前病变患者(癌前病变组)和健康志愿者(NC 组)的血浆标本各 3 例,用作 miRNA 微阵列分析。借用 TCGA 数据证实候选 miRNA 在癌症组织中的表达。(2)验证集:于 2019 年 1 月 1 日至 2023 年 1 月 1 日共采集 90 例胃癌患者(胃癌组)、89 例癌前病变患者(癌前病变组)和 45 例健康志愿者(NC 组)的血浆标本。通过定量实时聚合酶链反应测定候选 miRNA 水平。比较各组候选 miRNA 及常规肿瘤标志物[铁蛋白、甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、CA211、CA50、CA125、CA199、CA153、CA242、CA724]水平;通过受试者工作特征(ROC)曲线分析比较候选 miRNA 与常规肿瘤标志物的诊断价值。结果 (1)发现集:通过 miRNA 微阵列筛选,与 NC 组相比,miR-421 和 miR-196b-3p 水平在早期胃癌组和癌前病变组明显上调($P<0.05$)。TCGA 数据证实,与正常胃黏膜相比,miR-421 在胃癌组织中呈高表达($P<0.001$)。(2)验证集:与 NC 组相比,癌前病变组和胃癌组血浆 miR-421、miR-196b-3p 水平明显上调($P<0.05$),且胃癌组血浆 miR-421、miR-196b-3p 水平高于癌前病变组($P<0.001$)。ROC 曲线分析结果显示,血浆 miR-421 对胃癌的诊断价值最高,曲线下面积(AUC)为 0.931(95%CI:0.889~0.972),高于 CEA、CA125、CA199、CA724、CA211、CA50 诊断胃癌的 AUC($P<0.05$);miR-196b-3p 诊断胃癌的 AUC[0.804(95%CI:0.733~0.875)]也高于 CEA、CA125、CA199 和 CA724 诊断胃癌的 AUC($P<0.05$);miR-421 和 miR-196b-3p 也可用于早期胃癌诊断,AUC 分别为 0.942(95%CI:0.886~0.997)和 0.809(95%CI:0.708~0.910);血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 诊断癌前病变的 AUC 分别为 0.788(95%CI:0.714~0.863)和 0.648(0.556~0.741),miR-421 诊断癌前病变的 AUC 均高于 miR-196b-3p、铁蛋白、CA50 诊断癌前病变的 AUC($P<0.05$)。血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 在胃癌 I 期病例中的水平与 II、III/IV 期相比,差异无统计学意义($P>0.05$),但在胃癌发病早期(I~II 期)的水平明显高于 NC 组和癌前病变组($P<0.05$)。结论 血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 在早期胃癌患者中过表达,有望成为诊断癌前病变和早期胃癌的新型生物标志物。

关键词:早期诊断; 癌前病变; miR-421; miR-196b-3p; miRNA 微阵列; 胃癌

中图分类号:R735.2;R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)06-0726-07

Potential value of miR-421 and miR-196b-3p in diagnosis of gastric precancerous lesions and early gastric cancers*

WANG Wenyi, YU Jingtian, GAN Cheng

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Tianyou Hospital, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: Objective To study the clinical significance of plasma miR-421 and miR-196b-3p as novel potential biomarkers for the diagnosis of precancerous lesions and early gastric cancer. **Methods** (1) Discovery set: each 3 plasma samples were collected from the patients with early gastric cancer (early gastric cancer group), the patients with precancerous lesions (precancerous lesions group) and 3 healthy volunteers (NC group) for conducting the miRNA microarray analysis from December 1 to December 31, 2018. The expression of candidate miRNA in cancer tissues was confirmed by using TCGA data. (2) Validation set: the plasma samples were collected from 90 patients with gastric cancer (gastric cancer group), 89 patients with precancerous lesions (precancerous lesions group) and 45 healthy volunteers (NC group) from January 1, 2019 to January 1, 2023. The candidate miRNA content was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction. The levels of candidate miRNAs and conventional tumor markers [ferritin, alpha fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), CA211, CA50, CA125, CA199, CA153, CA242, CA724] in each group were com-

* 基金项目:湖北省卫生健康委科研项目(WJ2019F164)。

作者简介:王文怡,女,主管技师,主要从事肿瘤分子生物方面的研究。

pared. The diagnostic value was analyzed and compared between the candidate miRNA and conventional tumor markers by the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** (1) In the discovery set; the miRNA microarray screening showed that compared with the NC group, the levels of miR-421 and miR-196b-3p were significantly up-regulated in the early gastric cancer group and precancerous lesion group ($P<0.05$). The TC-GA data confirmed that miR-421 in gastric cancer tissue was highly expressed compared to normal gastric mucosa ($P<0.001$). (2) In the validation set; compared with the NC group, the plasma miR-421 and miR-196b-3p levels in the precancerous and gastric cancer groups were significantly upregulated ($P<0.05$), moreover the plasma miR-421 and miR-196b-3p levels in the gastric cancer group were higher than those in the precancerous group ($P<0.001$). The ROC curve analysis showed that plasma miR-421 had the highest diagnostic value for gastric cancer, the area under the curve(AUC) was 0.931 (95%CI: 0.889—0.972), which was higher than that of CEA, CA125, CA199, CA724, CA211 and CA50 for diagnosing gastric cancer ($P<0.05$); AUC [0.804 (95%CI: 0.733—0.875)] of miR-196b-3p in diagnosing gastric cancer was also higher than that of CEA, CA125, CA199 and CA724 in diagnosing gastric cancer ($P<0.05$); miR-421 and miR-196b-3p could also be used for the diagnosis of early gastric cancer, AUC was 0.942 (95%CI: 0.886—0.997) and 0.809 (95%CI: 0.708—0.910), respectively; AUC of plasma miR-421 and miR-196b-3p for diagnosing precancerous lesions was 0.788 (95%CI: 0.714—0.863) and 0.648 (0.556—0.741), respectively. AUC of plasma miR-421 was higher than that of miR-196b-3p, ferritin and CA50 for diagnosing precancerous lesions ($P<0.05$). The levels of plasma miR-421 and miR-196b-3p in stage I gastric cancer cases were not statistically significant compared to stage II, III/IV ($P>0.05$), but in the early stages of gastric cancer (stages I—II), the levels were significantly higher than those in the NC group and precancerous lesion group ($P<0.05$). **Conclusion** Overexpression of plasma miR-421 and miR-196b-3p is expected to become the new biomarkers for the diagnosis of precancerous lesions and early gastric cancer.

Key words: early diagnosis; precancerous lesions; miR-421; miR-196b-3p; miRNA microarray; gastric cancer

胃癌是全球主要癌症之一^[1]。由于缺乏肿瘤标志物和特定的症状和体征,通常在诊断时已经转移^[2]。研究表明,晚期胃癌患者的预后较差,5年生存率低于25%^[3]。然而,如果在癌前病变或早期阶段进行干预和治疗,5年生存率将上升至85%以上^[4]。因此,寻找可靠且非侵入性的生物标志物用于胃癌的早期检测和大规模筛查具有重要的临床意义。微小RNA(miRNA)是不编码蛋白质的18~25个碱基的RNA。由于它们的稳定性和可重复性较高,已经成为某些癌症最具潜力的生物标志物之一^[5]。胃癌和各种miRNA之间的联系已在大量研究中被证实^[6-7]。然而,关于胃癌癌前病变中miRNA的表达尚未得到充分验证,也缺乏微阵列进行全面分析的报告。本研究使用血液标本进行了微阵列试验,重点筛查在慢性萎缩性胃炎(胃癌癌前病变)和早期胃癌患者中特征性表达的miRNA,并分析不同miRNA在胃癌癌前病变和早期胃癌诊断中的价值和意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究经本院医学伦理委员会批准(201810-017)。(1)发现集:于2018年12月1日至12月31日采集早期胃癌患者3例(早期胃癌组)的血浆标本,另外按照年龄和性别相匹配原则,签署知情同意书后,招募3例胃癌癌前病变患者(癌前病变组)和3例健康志愿者(NC组),采集血浆标本用作miRNA微阵列分析。(2)验证集:于2019年1月1日至2023年1月1日共采集90例胃癌患者(胃癌组)、89

例癌前病变患者(癌前病变组)的血浆标本。所有患者都接受了胃肠镜检查或其他检查(包括消化内镜、计算机断层扫描或内镜超声检查),并经活检标本的病理检查证实为癌前病变或胃癌。癌前病变组包括低度上皮内瘤变51例和中度上皮内瘤变38例。另外,根据国际癌症控制联盟(UICC)肿瘤-淋巴结转移(TNM)系统第8版^[8]确定胃癌分型和分期:I期16例,II期19例,III期31例和IV期24例。早期胃癌是指局限于胃黏膜层或黏膜下层的癌组织,不论其范围大小或是否有淋巴结转移,即TNM I/II期。接受手术、放疗或化疗的患者被排除在本研究之外。另外按照2:1和年龄、性别相匹配的原则纳入45例健康志愿者(NC组)。所有符合条件的受试者都同意参与本研究,并获得了有关年龄和性别的信息。将采集用于体检的血液标本残留(约2 mL)用于miRNA分析。

1.2 方法

1.2.1 血浆制备和储存 立即使用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管收集每个参与者静脉血4 mL,2 h内以3 000 r/min离心5 min,防止细胞核酸污染。将转移到无RNase/DNase试管中的上层血浆储存在-80℃直至分析。分离用于常规肿瘤标志物测定的血浆样品,保存在-20℃直至测定。

1.2.2 发现集血浆miRNA微阵列分析 采集发现集血浆每份各300 μL,使用3D-Gene RNA提取试剂提取总RNA。使用3D-Gene miRNA标记试剂盒和3D-Gene人类miRNA寡聚芯片进行全面的miRNA

表达分析,该芯片旨在检测在 miRBase Release 20 中注册的 2 555 个 miRNA 序列 (<http://www.mirbase.org/>)。如果微阵列信号($\bar{x} \pm 2s$)比阴性对照的信号更显著,并且分别去除了顶部和底部 5% 的信号强度,则认为 miRNA 被检测到。此时,需要从 miRNA 信号中减去阴性对照的平均信号,从阴性对照中去除顶部和底部 5% 的信号强度。对 miRNA 表达谱进行分位数标准化,以使不同微阵列之间的信号正常化,并应用 ComBat 方法消除批量效应。

1.2.3 来自公共数据库的癌症组织的 miRNA 表达数据 使用 TCGA 癌症数据集 (<https://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/>),比较了 95 例正常胃黏膜组织和 441 例胃癌组织中 miRNA 的表达。并从 Broad 研究所开发的 Firehose 软件中获得了基因和 miRNA 的单核苷酸多态性(SNP)阵列数据。使用 ASCAT 算法和 R 软件 3.3.2 版从 SNP 阵列数据计算 miRNA 的拷贝数。

1.2.4 验证集中提取 miRNA 和 qRT-PCR 检测 使用血液(血清/血浆)miRNA 提取和纯化试剂盒(离心柱,上海诺伦生物医药技术有限公司)从 200 μ L 血浆中分离 miRNA。使用 NanoQ 微量分光光度计(博奥生物集团有限公司)定量血浆 miRNA 水平。qRT-PCR 的初始模板为 2 μ L。使用一步法 Stemaim-it miR qRT-PCR 试剂盒定量(Taqman 探针,上海诺伦生物医药技术有限公司)测定循环 miRNA 表达,而 miR-16 作为参考 miRNA。在 ABI-7500 PCR 系统上检测靶 miRNA 水平,并使用 SDS 2.0 软件(美国应用生物系统)通过循环阈值(Ct)值计算。Ct 值大于 32 的样品被排除在外。miRNA 水平用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法标准化。

1.2.5 验证集常规肿瘤标志物检测 根据罗氏公司试剂盒和罗氏 E170 全自动免疫分析仪的标准程序,通过电化学发光免疫测定法对常规肿瘤标志物铁蛋白、甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、CA211、CA50、CA125、CA199、CA153、CA242、CA724 进行检测。

1.3 统计学处理 所有数据均使用 SPSS26.0 和 GraphPad Prism 7.0 进行分析。非正态分布的计量

资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,多组间两两比较采用 Mann-Whitney U 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估每种肿瘤标志物的诊断价值。最佳截断值使用最大约登指数确定。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 发现集 miRNA 微阵列分析结果 对发现集血浆标本进行了 miRNA 微阵列分析,在 $P < 0.05$ 和 $q < 0.2$ 条件下的分析结果显示,分别有 44 个、136 个和 45 个 miRNA 在 NC 组和癌前病变组、NC 组和早期胃癌组、癌前病变组和早期胃癌组间表现出差异表达($P < 0.05$)。其中,与 NC 组相比,miR-421[早期胃癌组:2.55(2.03,3.19),癌前病变组:1.67(1.14,2.45),NC 组:0.42(0.39,0.55)]和 miR-196b-3p[早期胃癌组:2.39(1.99,2.97),癌前病变组:1.65(1.16,2.18),NC 组:0.83(0.70,0.98)]在早期胃癌组和癌前病变组明显上调($P < 0.05$),且早期胃癌组 miR-421 和 miR-196b-3p 较癌前病变组上调更明显($P < 0.05$)。进一步利用 TCGA 数据库对组织标本中 miRNA 的表达进行了比较分析。结果显示,miR-421 在胃癌组织中呈高表达[0.098(0.072,0.146)],与在正常胃黏膜的表达[0.002(0.001,0.003)]相比,差异有统计学意义($P < 0.001$)。然而,miR-196b-3p 表达在胃癌组织和正常胃黏膜之间比较[0.011 0(0.000 1,0.047 0)*vs.* 0.009 0(0.000 1,0.042 0)],差异无统计学意义($P = 0.079$)。

2.2 验证集 miR-421、miR-196b-3p 和常规肿瘤标志物水平 在验证集中,与 NC 组相比,癌前病变组和胃癌组血浆 miR-421、miR-196b-3p 水平明显上调($P < 0.05$),且胃癌组血浆 miR-421、miR-196b-3p 水平高于癌前病变组($P < 0.001$)。此外,胃癌组 CEA、CA125、CA211 和 CA50 水平均明显高于 NC 组和癌前病变组($P < 0.05$),CA199 和 CA724 水平高于 NC 组($P < 0.05$)。癌前病变组血浆 miR-421、miR-196b-3p、AFP、铁蛋白、CA211、CA50 水平明显高于 NC 组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 验证集 NC 组、癌前病变组和胃癌组血浆中 miR-421、miR-196b-3p 和常规肿瘤标志物水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	<i>n</i>	miR-421	miR-196b-3p	AFP(ng/mL)	CEA(ng/mL)
NC 组	45	0.95(0.76,1.18)	0.97(0.75,1.24)	2.87(2.38,3.71)	1.49(1.23,2.24)
癌前病变组	89	1.57(0.99,3.15) ^a	1.41(0.98,2.28) ^a	3.27(2.83,4.37) ^a	1.55(0.85,1.91)
胃癌组	90	3.35(2.04,4.97) ^{ab}	2.24(1.00,3.37) ^{ab}	3.21(2.15,4.89)	2.78(1.66,4.53) ^{ab}
<i>H</i>		79.901	37.871	3.573	25.871
<i>P</i>		<0.001	<0.001	0.168	<0.001
组别	<i>n</i>	铁蛋白(ng/mL)	CA125(U/mL)	CA153(ng/mL)	CA199(U/mL)
NC 组	45	153.80(100.40,245.20)	9.29(7.07,13.29)	10.40(7.10,12.87)	9.67(5.94,12.38)
癌前病变组	89	179.50(110.90,333.90) ^a	11.78(7.07,14.85)	9.17(6.14,11.93)	13.90(11.59,17.84)
胃癌组	90	138.30(41.75,272.70)	13.94(6.77,61.62) ^{ab}	9.24(7.20,13.50)	14.70(9.63,28.44) ^a
<i>H</i>		3.895	10.130	0.426	12.845
<i>P</i>		0.143	0.006	0.808	0.002

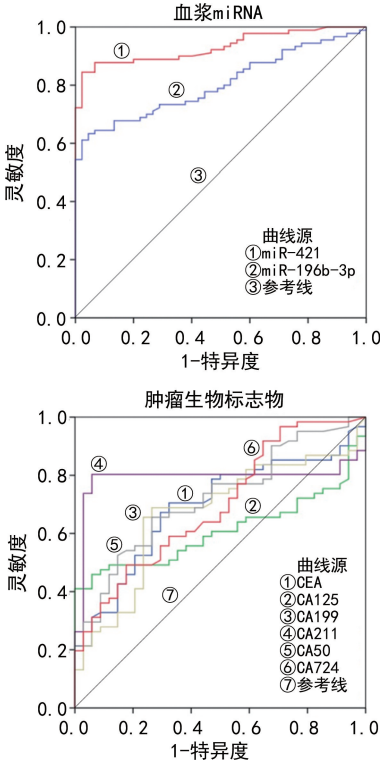
续表 1 验证集 NC 组、癌前病变组和胃癌组血浆中 miR-421、miR-196b-3p 和常规肿瘤标志物水平比较[M(P ₂₅ , P ₇₅)]					
组别	n	CA211(ng/mL)	CA242(U/mL)	CA50(ng/mL)	CA724(ng/mL)
NC 组	45	2.14(2.03,2.17)	3.89(1.01,7.67)	4.29(1.34,5.60)	1.97(0.86,2.80)
癌前病变组	89	2.82(2.50,3.45) ^a	3.60(1.17,5.75)	6.77(3.43,10.18) ^a	2.49(1.28,4.16)
胃癌组	90	3.31(2.52,4.80) ^{ab}	5.10(2.30,12.29)	8.17(4.35,18.98) ^{ab}	2.50(1.63,8.20) ^a
H		40.112	5.880	17.514	13.954
P		<0.001	0.053	<0.001	0.001

注：与 NC 组相比，^a*P*<0.05；与癌前病变组相比，^b*P*<0.05。

2.3 miR-421、miR-196b-3p 和肿瘤生物标志物对胃癌的诊断价值 将验证集中 NC 组和癌前病变组作为对照,根据 ROC 曲线评估,血浆 miR-421 对胃癌的诊断准确性最高, AUC 为 0.931(95%CI:0.889~0.972)。进一步将 miR-421、miR-196b-3p 与传统肿瘤标志物的诊断价值进行比较。结果显示 miR-421 的 AUC 高于 CEA、CA125、CA199、CA724、CA211、CA50 诊断胃癌的 AUC(*P*<0.05),同样 miR-196b-3p 诊断胃癌的 AUC 也高于 CEA、CA125、CA199、CA724 诊断胃癌的 AUC(*P*<0.05)。另外,miR-421 的假阴性率也低于所有常规肿瘤生物标志物。见表 2 和图 1。

2.4 血浆 miR-421、miR-196b-3p 对早期胃癌的诊断价值 进一步分析血浆 miR-421、miR-196b-3p 在早期(TNMⅠ期 16 例和Ⅱ期 19 例)胃癌患者中的诊断价值,将 NC 组和癌前病变组作为对照组。早期胃癌组血浆 miR-421 水平[3.50(2.19,5.22)]高于对照组[0.95(0.76,1.18)],差异有统计学意义(*Z*=6.751, *P*<0.001);早期胃癌组血浆 miR-196b-3p[1.88(1.16,2.73)]水平高于对照组[0.97(0.75,1.24)],差异有统计学意义(*Z*=4.723, *P*<0.001)。将 NC 组和癌前病变组作为对照,绘制 ROC 曲线分析血浆 miR-421、miR-196b-3p 对早期胃癌的诊断价值。结果显示:miR-421 诊断早期胃癌的 AUC 为 0.942(95%CI:0.886~0.997),灵敏度为 88.61%,特异度

为 93.36%;miR-196b-3p 诊断早期胃癌的 AUC 为 0.809(95%CI:0.708~0.910),灵敏度为 68.62%,特异度为 86.75%。见图 2。



注：以 NC 组和癌前病变组作为对照。

图 1 ROC 曲线分析血浆 miR-421、miR-196b-3p 和传统肿瘤生物标志物对胃癌的诊断价值

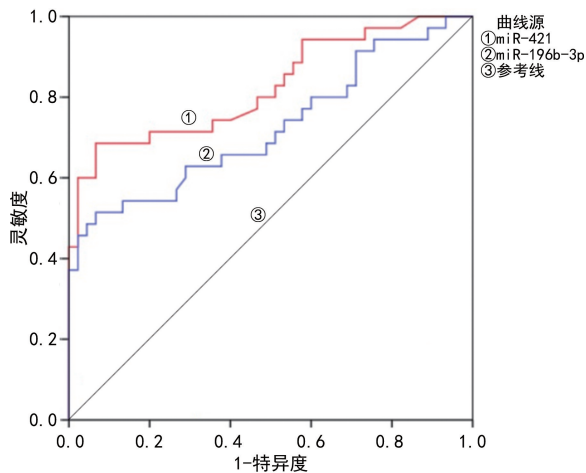
表 2 miR-421、miR-196b-3p 和肿瘤标志物对胃癌的诊断价值									
指标	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	假阳性率 (%)	假阴性率 (%)	准确性 (%)	约登指数 (%)	AUC(95%CI)	<i>P</i>
miR-421	1.76	84.37	97.83	4.44	3.33	96.30	82.22	0.931(0.889~0.972)	<0.001
miR-196b-3p	1.33	67.81	86.77	13.75	37.85	81.20	54.55	0.804(0.733~0.875)	<0.001
CEA	1.94 ng/mL	67.06	66.67	33.33	32.94	66.93	33.73	0.672(0.584~0.752)	<0.001
CA125	18.75 U/mL	45.59	100.00	0.00	54.41	67.26	45.59	0.645(0.549~0.732)	0.005
CA199	11.31 U/mL	68.66	62.22	37.78	31.34	66.07	30.88	0.702(0.586~0.818)	0.003
CA211	2.22 ng/mL	80.65	95.65	4.35	19.35	86.96	76.30	0.799(0.711~0.871)	<0.001
CA50	7.96 ng/mL	55.84	85.29	14.71	44.16	64.86	41.14	0.754(0.663~0.831)	<0.001
CA724	2.81 ng/mL	53.22	77.85	32.01	39.54	59.50	31.09	0.699(0.605~0.793)	<0.001

2.5 miR-421、miR-196b-3p 和肿瘤生物标志物对癌前病变的诊断价值 将 NC 组作为对照,根据表 1 结果绘制 ROC 曲线,血浆 miR-421 或 miR-196b-3p 水平上调可以很好地区分癌前病变患者和 NC 组。血

浆 miR-421 和 miR-196b-3p 诊断癌前病变的 AUC 分别为 0.788 和 0.648,miR-421 的 AUC 均高于 miR-196b-3p、铁蛋白、CA50 诊断癌前病变的 AUC($P<0.05$),但是略低于 CA211($P<0.05$)。见表 3 和图 3。

表 3 miR-421、miR-196b-3p 和肿瘤标志物对癌前病变的诊断价值

指标	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	假阳性率 (%)	假阴性率 (%)	准确性 (%)	最大约登指数 (%)	AUC(95%CI)	P
miR-421	1.43	62.93	91.15	4.44	33.71	76.37	54.01	0.788 (0.714~0.863)	<0.001
miR-196b-3p	1.40	39.38	91.15	13.75	37.85	81.20	30.45	0.648(0.556~0.741)	0.005
铁蛋白	11.81 ng/mL	72.00	60.00	40.00	28.00	66.32	32.00	0.630 (0.504~0.755)	0.048
CA211	2.2 ng/mL	85.00	95.56	4.44	15.00	90.56	80.56	0.844 (0.731~0.947)	<0.001
CA50	7.26 ng/mL	52.08	82.35	17.65	47.92	64.63	34.44	0.662 (0.539~0.786)	0.016



注:以 NC 组和癌前病变组作为对照。

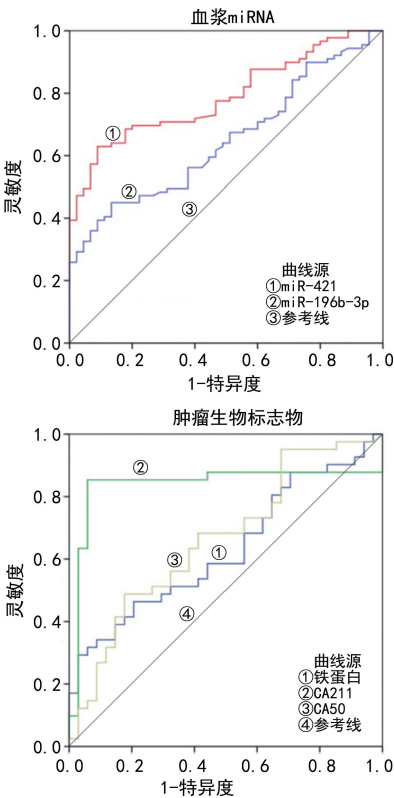
图 2 ROC 曲线分析血浆 miR-421、miR-196b-3p 对早期胃癌的诊断价值

2.6 验证集胃癌组不同分期、癌前病变组及 NC 组 miR-421 和 miR-196b-3p 水平比较 验证集癌前病变组与胃癌组 TNM I、II、III/IV 期之间 miR-421、miR-196b-3p 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。然而,胃癌 I 期、II 期和 III/IV 期病例之间血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 验证集胃癌组不同分期、癌前病变组及 NC 组 miR-421 和 miR-196b-3p 水平比较[M(P₂₅,P₇₅)]

分期和组别	n	血浆 miR-421	血浆 miR-196b-3p
NC 组	45	0.95(0.76,1.18)	0.97(0.75,1.24)
癌前病变组	89	1.57(0.99,3.15) ^a	1.41(0.98,2.28) ^a
胃癌 I 期	16	3.82(3.51,7.29) ^{ab}	2.50(0.94,5.03) ^{ab}
胃癌 II 期	19	2.34(1.55,3.59) ^{ab}	1.89(1.41,2.71) ^{ab}
胃癌 III/IV 期	55	3.76(2.07,4.99) ^{ab}	2.25(0.98,3.33) ^{ab}
H		84.711	38.295
P		<0.001	<0.001

注:与 NC 组相比,^a $P<0.05$;与癌前病变组相比,^b $P<0.05$ 。



注:以 NC 组为对照。

图 3 ROC 曲线分析血浆 miR-421、miR-196b-3p 和传统肿瘤生物标志物对癌前病变的诊断价值

3 讨 论

迄今为止,还没有可靠的无创性血液生物标志物用于诊断早期胃癌或癌前病变^[9]。本研究首先通过微阵列筛选,确定了癌前病变和早期胃癌患者血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 存在差异表达。进一步通过临床血浆标本证实了这两种 miRNA 对于癌前病变和胃癌患者有良好的诊断价值:早期胃癌和癌前病变患者血浆 miR-421、miR-196b-3p 水平明显高于 NC 组;ROC 曲线分析结果显示,miR-421 和 miR-196b-3p 在区分早期胃癌或癌前病变患者与 NC 组方面具有很高准确性。因此本研究结果表明,血浆 miR-421

和 miR-196b-3p 在诊断早期胃癌和癌前病变患者方面可能是有临床意义的生物标志物。

miR-421 定位在人类染色体 1p34.23 上,是 miR-200 家族的重要成员之一^[10]。据 KIM 等^[11]报道,胃癌组织和胃液中 miR-421 水平的升高可能对胃癌诊断有意义。这些结果与本研究的发现一致,即 miR-421 在胃癌患者中高表达,可能在胃癌中具有潜在的诊断价值。miR-196 基因家族(miR-196a-1、miR-196a-2、miR-196b)是从人类同源盒(HOX)基因簇区域中含有 3 个基因(ECRG4、RAD23B 和 HOXA10)的区域转录而来^[12]。miR-196a-1 和 miR-196a-2 具有相同的成熟核苷酸序列,但成熟 miR-196b 与成熟 miR-196a 仅相差 1 个核苷酸^[13]。在先前的研究中,miR-196b 的大量表达抑制了 ECRG4 和 RAD23B^[14]。此外,HOXA10 和 miR-196b 同时过表达的胃癌患者预后较差^[15]。因此,miR-196b 和 HOXA10 的过度表达可能介导因幽门螺杆菌引发慢性炎症所导致的癌症进展。但是目前关于 miR-196b-3p 在胃癌发病和进展中的临床证据不足。在本研究中,miR-421 和 miR-196b-3p 在区分胃癌患者与 NC 组及癌前病变组方面可以达到令人满意的诊断效能,AUC 分别为 0.931 和 0.804,尤其是 miR-421,其 AUC 高于所有的常规肿瘤生物标志物,同样 miR-196b-3p 的 AUC 也高于 CEA、CA125、CA199 和 CA724。总之,上述数据进一步阐明了这两种 miRNA 作为新型肿瘤标志物的诊断价值。

提高胃癌的早期诊断率对于及时治疗尤为重要。既往,研究人员已经阐明了几种 miRNA 在早期胃癌诊断中的潜在作用^[16-18]。尽管诸如 miR-101 之类的研究对胃癌的早期阶段具有很高的诊断价值,但该研究不包括癌前病变,并且 miRNA 的细微变化和性能没有进一步阐述。在本研究中,基于胃癌标本的详细 TNM 分期特征,笔者探讨了血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 在早期胃癌中的诊断价值,结果表明,miR-421 和 miR-196b-3p 都能较好地地区分早期胃癌与对照组(NC 组+癌前病变组),提示 miR-421 和 miR-196b-3p 在早期胃癌诊断中可能具有显著的临床价值。

癌前病变会使患胃癌的风险增加 6 倍以上^[19]。以前的研究报道称癌前病变受 miRNA 调节^[20]。由于缺乏胃肠化生和非典型增生的临床表现,临床缺乏有效的无创检测手段。几种循环 miRNA,特别是 miR-196a、miR-18a、miR-21、miR-125b 等,已被筛选出作为胃癌和癌前病变以及胃癌进展的早期标志物^[21-22]。然而,这些 miRNA 与传统肿瘤标志物在胃癌和癌前病变诊断中的比较价值尚未明确。最佳循环 miRNA 生物标志物应比传统肿瘤生物标志物具有更好的特异度和灵敏度。在本研究中发现血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 可以很好地地区分癌前病变和 NC

组,AUC 分别为 0.788 和 0.648。尤其是 miR-421 的诊断效能明显高于一些传统的肿瘤生物标志物,如铁蛋白和 CA50。

胃癌的发生和发展是一个多阶段的过程,miR-421、miR-196b-3p 可能与某个阶段或整个疾病过程有关^[22]。本研究最后进一步分析了 miRNA 随胃癌进展上调的趋势。结果表明,血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 水平在胃癌 I 期病例中的表达与 II、III/IV 期无差异,但在发病早期(I~II 期),已经能够有效地区分胃癌和癌前病变,表明 miR-421 和 miR-196b-3p 上调最初是发生在癌前病变和早期胃癌中的。因此,本研究推测这两种 miRNA 的上调可能是由致癌危险因素引发的,例如癌前慢性炎症或幽门螺杆菌感染,但这需要进行详细的调查。

综上所述,本研究结果表明,血浆 miR-421 和 miR-196b-3p 可能是癌前病变和早期胃癌的潜在标志物。这项研究为临床提供了关于这两种 miRNA 在胃癌发病中作用的新见解。这些结果可能为开发用于早期胃癌诊断的新型生物标志物铺平道路。这项研究的局限性在于样本量相对较小,为单中心研究,缺少多因素分析等。总之,miR-421 和 miR-196b-3p 作为早期血浆生物标志物在癌前病变和胃癌临床诊断中的确切用途应在使用较大样本量的研究和临床试验中进一步探索。

参考文献

- [1] NORWOOD D A, MONTALVAN -SANCHEZ E, DOMINGUEZ R L, et al. Gastric cancer: emerging trends in prevention, diagnosis, and treatment [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2022, 51(3): 501-518.
- [2] 杜彩妨, 李慧. 晚期胃癌中少见靶点的特征与治疗进展 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2021, 26(6): 569-574.
- [3] 赵虹琳, 李婷婷, 丁国武. 1990—2019 年中国居民胃癌疾病负担变化趋势分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2023, 34(3): 22-26.
- [4] 吴朝旭, 王寅, 栗泉杰, 等. 基于 SEER 数据库的老年晚期胃癌预后因素分析 [J]. 重庆医科大学学报, 2021, 46(10): 1224-1227.
- [5] MENON A, ABD-AZIZ N, KHALID K, et al. miRNA: a promising therapeutic target in cancer [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 11502.
- [6] 郑侠, 邵杰, 谷雨, 等. 基于癌症基因组图谱数据库探索 miR-217 在胃癌中的表达及其预后价值 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2022, 27(9): 788-793.
- [7] 陆鹏, 蒲嘉泽, 刘佩, 等. 长基因间非编码 RNA 1475 调控微小 RNA-423-5p 对胃癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2022, 27(4): 316-322.
- [8] SANO T K H, COIT D G, KIM H H, et al. Proposal of a new stage grouping of gastric cancer for TNM classification: International Gastric Cancer Association staging project [J]. Gastric Cancer, 2017, 20(2): 217-225.

[9] RÖCKEN C. Predictive biomarkers in gastric cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(1): 467-481.

[10] LIU H Y, GAO Y J, SONG D F, et al. Correlation between microRNA-421 expression level and prognosis of gastric cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11): 15128-15132.

[11] KIM Y J, JEONG S, JUNG W Y, et al. MiRNAs as potential biomarkers for the progression of gastric cancer inhibit CREBZF and regulate migration of gastric adenocarcinoma cells[J]. Int J Med Sci, 2020, 17(6): 693-701.

[12] POURDAVOUD P, PAKZAD B, MOSALLAEI M, et al. MiR-196: emerging of a new potential therapeutic target and biomarker in colorectal cancer[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(12): 9913-9920.

[13] YUAN C, XIE H, CHEN X, et al. Roles of miR-196a and miR-196b in zebrafish motor function[J]. Biomolecules, 2023, 13(3): 554-561.

[14] CHEN L, TANG H R, LIU G B, et al. MicroRNA-196b promotes gastric cancer progression by targeting ECRG4[J]. Anticancer Drugs, 2021, 32(2): 127-137.

[15] LIM J Y, YOON S O, SEOL S Y, et al. Overexpression of miR-196b and HOXA10 characterize a poor-prognosis gastric cancer subtype[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(41): 7078-7088.

[16] 娄智, 吉亚君, 王鑫, 等. miRNA-1 对胃癌细胞体外 EGFR-TKI 敏感性影响的实验研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2022, 27(2): 103-108.

[17] ZENG W W, ZHANG S X, YANG L, et al. Serum miR-101-3p combined with pepsinogen contributes to the early diagnosis of gastric cancer[J]. BMC Med Genet, 2020, 21(1): 28.

[18] SHI Y T, WANG Z H, ZHU X J, et al. Exosomal miR-1246 in serum as a potential biomarker for early diagnosis of gastric cancer[J]. Int J Clin Oncol, 2020, 25(1): 89-99.

[19] DOUDA L, CYRANY J, TACHECÍ I. Early gastric cancer[J]. Vnitr Lek, 2022, 68(6): 371-375.

[20] CHEN T H, CHIU C T, LEE C, et al. Circulating microRNA-22-3p predicts the malignant progression of precancerous gastric lesions from intestinal metaplasia to early adenocarcinoma[J]. Dig Dis Sci, 2018, 63(9): 2301-2308.

[21] ZHENG J H, JIANG X T, JIANG K L, et al. MiR-196a-5p correlates with chronic atrophic gastritis progression to gastric cancer and induces malignant biological behaviors of gastric cancer cells by targeting ACER2[J]. Mol Biotechnol, 2023, 65(8): 1306-1317.

[22] SALIMINEJAD K, MAHMOODZADEH H, SOLEYMANI F S, et al. A panel of circulating microRNAs as a potential biomarker for the early detection of gastric cancer[J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2022, 14(4): 278-286.

(收稿日期: 2023-11-06 修回日期: 2024-02-02)

(上接第 725 页)

[7] 胡雨晨, 郑怡然, 杜涛, 等. 2022 年糖尿病相关重要临床进展回顾[J]. 中国实用内科杂志, 2023, 43(5): 381-383.

[8] YANG C S, LUO P, ZENG Z S, et al. Vitamin E and cancer prevention: studies with different forms of tocopherols and tocotrienols[J]. Mol Carcinog, 2020, 59(4): 365-389.

[9] 段娟, 张松波. 维生素 E 在慢性病治疗中的研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(28): 178-181.

[10] 杨婷婷, 刘晓静. 矮小症患儿维生素 K₂ 水平与骨代谢之间关系的研究[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(17): 2393-2397.

[11] HAUGSGJERD T R, EGELAND G M, NYGÅRD O K, et al. Association of dietary vitamin K and risk of coronary heart disease in middle-age adults: the Hordaland health study cohort[J]. BMJ Open, 2020, 10(5): e035953.

[12] 王晶晶. 全自动荧光免疫分析仪在临床检验中的应用分析[J]. 中国医疗器械信息, 2023, 29(4): 106-109.

[13] 李思燃, 付志成, 张惠迪, 等. 液相色谱-串联质谱法和酶联免疫法检测人血清中 25-羟基维生素 D 的一致性评价[J]. 卫生研究, 2020, 49(3): 447-452.

[14] 易可可, 谢洁, 江游, 等. 液相色谱-串联质谱技术在临床检验中的应用研究进展[J]. 质谱学报, 2022, 43(6): 804-816.

[15] 童小平. 25-羟基维生素 D 检测方法综述[J]. 预防医学, 2018, 30(3): 278-280.

[16] ALEXANDRIDOU A, SCHORR P, STOKES C S, et al. Analysis of vitamin D metabolic markers by mass spectrometry: recent progress regarding the "gold standard" method and integration into clinical practice[J]. Mass Spectrom Rev, 2023, 42(5): 1647-1687.

[17] 陈敏纯, 张婧一, 郑洁, 等. LC-MS/MS 法测定人体血清中脂溶性维生素浓度[J]. 分析仪器, 2021(6): 135-139.

[18] 耿晓丽, 余红梅. 孕妇维生素 D 水平的影响因素分析[J]. 护理研究, 2023, 37(1): 34-39.

[19] 张若愚, 钟铭清, 何先知, 等. 维生素 A、E 缺乏对新生儿疾病患病情况的影响[J]. 预防医学论坛, 2022, 28(11): 816-818.

[20] 彭科军, 余三峰, 彭濡博, 等. 老年骨质疏松患者骨代谢指标与维生素 D 和维生素 K 水平的相关性[J]. 中国临床保健杂志, 2022, 25(4): 496-499.

[21] REDA H L, SOLIMAN S, GIRGUIS H, et al. A comparison between three different automated total 25-hydroxyvitamin D immunoassay methods and ultra performance liquid chromatography[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2020, 21(4): 1039-1044.

[22] LIU Y S, XIA Y, WU Q J, et al. Associations between serum vitamins and serum uric acid in a population of Shenyang, China[J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2021, 67(2): 77-83.

(收稿日期: 2023-08-30 修回日期: 2024-01-18)