

· 论著 ·

MiRNA21的表达变化在胃癌患者诊断中的意义*

北京大学深圳医院消化内科 (广东 深圳 518035)

杨 安 李 曦

【摘要】目的 通过研究胃癌患者血清和组织中miRNA21的表达情况,了解其在胃癌发病过程中的意义。方法 选取胃癌患者及正常健康对照组各20例,采用原位杂交的方法检测和实时定量PCR检测miRNA21的水平。结果 胃癌组组织和血清中的miRNA21表达水平均较正常组升高,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 胃癌患者组织和血清中的miRNA21表达升高,可能为胃癌的诊断以及治疗提供新的方向。

【关键词】胃癌; miRNA21

【中图分类号】R735.2

【文献标识码】A

【基金项目】广东省深圳市卫生计生系统科研项目(201507019)

DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2018.05.027

The Significance of MiRNA21 Expression in the Diagnosis of Gastric Cancer*

YANG An, LI Xi. Department of Digestive Internal Medicine, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518035, Guangdong Province, China

【Abstract】Objective To investigate the significance of the detection of miRNA21 expression in the serum and tissues of the patients with gastric cancer. Methods 20 patients with gastric cancer and 20 healthy controls were detected. And the expression of miRNA21 was evaluated by using the method of in situ hybridization and realtime quantitative polymerase chain reaction(PCR). Results miRNA21 in the serum and tissues of patients with gastric cancer was higher than that in the healthy control group, the difference had statistical significance ($P < 0.05$). Conclusion The up-regulated expression of miRNA21 in the serum and tissues of the patients with gastric cancer might provide a new direction of diagnosis and therapy for gastric cancer.

【Key words】Gastric Cancer; miRNA21

胃癌(gastric cancer)是一种来源于胃粘膜上皮细胞,且危害性极大的恶性肿瘤。作为全球和中国最常见的恶性肿瘤之一,其死亡率和发病率居各种恶性肿瘤的前列^[1]。目前胃癌的发病机制并未完全明确,已知与幽门螺旋杆菌感染,生活饮食、遗传等因素有密切相关^[2]。近年来,随着生物分子信息技术的发展,miRNA与肿瘤的关系越来越受到关注。研究表明miRNA与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡密切相关,且参与肿瘤发生,发展的全过程^[3]。现今,miRNA与胃癌的关系已成为胃癌领域的研究热点之一。本研究通过检测胃癌患者组织和血清中miRNA21的表达水平,与正常对照组的表达水平相比较,从而探究miRNA21表达在胃癌发病及发展中发挥的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2013.1至2014.12年在我院行内镜检查,内镜下诊断胃癌并且最终经过病理诊断

明确的20名患者作为研究对象;20名经内镜下观察发现粘膜正常,并且没有糜烂,萎缩,溃疡或肠化等其他表现者(活检结果与最终病理诊断相符合)作为对照组。平均年龄胃癌组为(47.7±12.5)岁,平均年龄对照组为(38.6±9.6)岁。在选取研究对象时,使研究组和对照组男女人数比例1:1。提取患者和健康对照组内镜下取得的组织标本和血清各5ml备用检测,相关实验均已经获得伦理委员会的批准和患者的知情同意。

1.2 原位杂交检测方法 探针为Exiqon公司产品,地高辛抗体,BCIP/NBT为Roche公司产品,将标本组织本进行脱蜡和水化:在二甲苯中进行2次脱蜡,每次10分钟,依次经过浓度梯度为100%、95%、80%、75%的乙醇和DEPC-H₂O各一次,每次5分钟;经0.2M HCL处理5分钟;PBS冲洗3次,每次5分钟;在蛋白酶K(浓度为40 μg/ml)室温中孵育20分钟;再用含0.2%甘氨酸的PBS液冲洗3次,每次5分钟;将标本固定在4%多聚甲醛10分钟;PBS冲洗2次,每次5分钟;醋酸

作者简介:杨 安,女,消化内科专业,主管护师,主要研究方向:消化道肿瘤,炎症性肠病

通讯作者:李 曦

酞和三乙醇胺溶液室温孵育10分钟; 49.5℃预杂交2小时, 在50℃杂交过夜; 在37℃用5XSSC冲洗2次, 每次20分钟; 在温度50℃以50%去离子甲酰胺/2XSSC冲洗3次, 每次20分钟; TBST冲洗5次, 每次5分钟; 室温封闭1小时; 抗地高辛抗体(1:1000)4℃孵育过夜; TBST冲洗4次, 10分钟; BCIP/NBT染色缓冲液冲洗2次, 每次10分钟; BCIP/NBT暗处染色4-48小时。TE洗两次终止反应; 水洗残液; 核固红复染。结果通过Image-pro Plus 6.0成像系统分析。

1.3 实时定量PCR 将取得的患者血液标本放置一直到血液凝固后析出血清, 然后吸取处于上层的液体和抗凝血液样本, 5000r/min, 离心半径10cm, 离心15min, 提取上清液。主要包括以下步骤: 进行总RNA的提取, 并且依据RNA提取试剂盒完成; 总RNA完整性及纯度的检测; 逆转录; 定量PCR。

1.4 统计学方法 采用SPSS 19.0软件进行t检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

胃癌组组织中miRNA21的表达水平为(0.516 ± 0.165)。正常对照组组织中miRNA21的表达水平为(0.343 ± 0.130)。胃癌组组织中miRNA21的表达水平较对照组升高明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。胃癌组患者血清中miRNA21表达水平为(1.57 ± 0.140)。正常对照组血清中miRNA21的表达水平为(1.134 ± 0.120)。胃癌组血清中miRNA21的表达水平较正常组升高($P < 0.05$)。

3 讨论

胃癌在得到病理诊断后, 可以通过内镜手术, 外科手术等治疗手段来进行治疗。但是, 中晚期的胃癌患者预后并不理想, 因此早期发现和诊断胃癌十分重要。目前来说, 通过内镜下活检是早期诊断发现早期胃癌的重要手段, 但是胃镜在活检取材存在缺陷, 有时候未能取到合适部位, 因此造成误诊, 且胃镜痛苦较大, 许多人难以接受。因此, 发现一种胃癌的特异性血清标志物对早期发现胃癌具有一定意义。

微小RNA(miRNA)属于真核生物中的一类非编码小分子RNA, 属于内源性RNA, 由18-24个核苷酸单位组成^[4]。调节相关人类基因mRNA的表达和翻译, 因此具有调控细胞周期、调节细胞的分化及诱导和抑制细胞凋亡的功能。许多研究表明一些miRNA其异常改变可能与肿瘤的发生和发展密切相关^[5]。miRNA21是

其中被发现比较早、关注相对较多的miRNA, 主要位于17q23.2染色体上。越来越多研究表明miRNA21在多种肿瘤细胞包括肠癌、宫颈癌、肺癌中高表达, 参与多种基因的调控, 与肿瘤发病机制密切相关^[6-8]。本实验通过检测胃癌患者和健康对照组组织及血清miRNA21表达情况, 结果胃癌组miRNA21的水平较正常组有明显升高, 证实了miRNA21可能在胃癌的发展过程中发挥促进作用。这和国内外众多学者的研究结果相符合^[9-10]。并且有研究证明, 敲除恶性神经细胞胶质瘤中的miRNA21后, caspases 途径被激活, 恶性胶质瘤细胞发生凋亡, 进一步表明了miRNA21的促癌作用^[11]。探讨miRNA21的表达水平与胃癌发生发展的关系, 对明确胃癌的发病机制具有重要的作用。本研究提示miRNA21有望成为胃癌的潜在血清学肿瘤标志物, 将来联合胃镜检查及其它血清肿瘤标志物检测, 可能有希望提高早期胃癌的发现率, 为胃癌的早期诊断提供一个新的方向。

参考文献

- [1] Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(1): 17-20.
- [2] 孙洋, 黄晓俊, 陈鹭. 胃癌相关危险因素的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(30): 4831-4837.
- [3] Calin GA, Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale[J]. Cancer Res, 2006, 66(15): 7390-7394.
- [4] Molnar A, Schwach F, Studholme DJ, et al. miRNAs control gene expression in the single-cell alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Nature, 2007, 447: 1126-1129.
- [5] Servin-Gonzalez LS, Granados-Lopez AJ, Lopez JA. Families of microRNAs Expressed in Clusters Regulate Cell Signaling in Cervical Cancer[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(6): 12773-12790.
- [6] Shibuya H, Iinuma H, Shimada R, et al. Clinicopathological and prognostic value of microRNA-21 and microRNA-155 in colorectal cancer[J]. Oncology, 2010, 79(3-4): 313-320.
- [7] 沈蓉, 高建武, 李妍雨. 宫颈癌组织中miRNA-21含量检测及其下游靶分子的初步分析[J]. 海南医学院学报, 2015, 21(11): 1536-1541.
- [8] Ma XL, Liu L, Liu XX. Prognostic role of microRNA-21 in non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(5): 2329-2334.
- [9] 凌萌智, 黄治国, 刘扬河. microRNA-21在胃癌患者血浆中的表达及其与外周血Th1与Th2细胞关系[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(16): 4475-4476.
- [10] Chan SH, Wu CW, Li AF, et al. miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association[J]. Anticancer Res, 2008, 28(2A): 907-911.
- [11] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells[J]. Cancer Research, 2005, 65: 6029-6033.

【收稿日期】2017-06-03