



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.05.012

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.05.012>

· 论著 ·

胃癌患者微小 RNA-150 表达水平与术前新辅助化疗效果的关系

王珏 徐晓燕 孙岩岩 韩震 李卉

【摘要】 目的 探讨胃癌患者外周血微小 RNA-150(miR-150)表达水平与术前新辅助化疗效果的关系。**方法** 选取 2016 年 1 月~2018 年 5 月于我院拟实施胃癌根治性手术的 90 例患者作为研究对象,所有患者术前均接受奥沙利铂+替吉奥新辅助化疗方案。根据 WHO 实体瘤化疗标准将 90 例患者分为有效组(64 例)和无效组(26 例),收集两组患者的一般资料(性别、年龄)和临床资料[国际抗癌联盟及美国肿瘤联合会胃癌肿瘤淋巴结转移(TNM)分期、淋巴结转移情况、病灶直径及肿瘤分化程度]并比较。采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time PCR)检测两组患者术前新辅助化疗前外周血 miR-150 的表达水平,采用 logistic 多因素回归分析探讨术前新辅助化疗效果的影响因素。**结果** 两组患者的 TNM 分期、淋巴结转移情况、肿瘤分化程度比较差异均有统计学意义,有效组患者外周血 miR-150 的表达水平明显高于无效组($P<0.05$)。Logistic 回归分析结果显示,TNM 分期增高、分化程度降低、发生淋巴结转移是术胃癌患者术前新辅助化疗效果不佳的独立危险因素,外周血 miR-150 表达水平升高是胃癌患者术前新辅助化疗效果不佳的独立保护因素($P<0.05$)。**结论** 胃癌患者外周血 miR-150 表达下调可能与术前新辅助化疗效果不佳有关。

【关键词】 微小 RNA-150; 胃癌; 新辅助化疗; 效果

胃癌是一种常见的消化系统恶性肿瘤,发病较为隐匿,发病率和死亡率均较高。虽然根治性手术是治疗胃癌的一种有效方法,但仍存在局部复发和远处转移的风险。因此,寻找一种相对安全的治疗方法以减缓胃癌的进展尤为重要^[1]。有关文献指出,新辅助化疗已广泛应用于消化系统恶性肿瘤的治疗,可有效提高患者术后的生存率^[2-3]。多种分子在胃癌耐药性的发展中起着调节作用,其中微小 RNA(miRNA)起重要作用。miRNA 是一类内源性小分子单链非编码 RNA,其是参与调节基因的转录过程,使靶基因的表达受到抑制,从而发挥调节作用^[4]。miRNA 可参与组织器官的发育和形成过程,与疾病的发展密切相关,与细胞增殖、分化和凋亡有关^[5]。miR-150 是近期发现的一种 miRNA,对恶性肿瘤起重要调节作用^[6]。本研究选择于我院接受胃癌根治性手术的 90 例患者作为对象,旨在探讨其外周血 miR-150 表达与胃癌术前新辅助化疗效果的关系。

对象与方法

1. 对象:2016 年 1 月~2018 年 5 月于我院拟实施

胃癌根治性手术的 90 例患者。胃癌的诊断标准参考 2015 年美国国家综合癌症网络(NCCN)胃癌临床实践指南。纳入标准:(1)在我院由同一组医护人员实施手术操作;(2)为首诊患者且化疗前均通过胃镜取活组织病理检查证实;(3)愿意接受 3 个周期的术前新辅助化疗。排除标准:(1)胃肠道穿孔、梗阻、腹腔内广泛感染;(2)伴有其他部位恶性肿瘤或已发生远处转移;(3)伴有严重的心脑血管疾病、血友病、血管性血友病、维生素 K 缺乏等;(5)伴有其他类型禁忌证,如上消化道大出血、梗阻等。90 例胃癌患者中男 47 例,女 43 例,年龄 38~75 岁,平均年龄(56.3 ± 10.6)岁。本研究通过我院医学伦理委员会审核批准[院(2015)74 号],所有患者均知情同意。

2. 方法

(1)患者一般资料和临床资料收集:收集所有患者的一般资料(性别、年龄)和临床资料[国际抗癌联盟及美国肿瘤联合会胃癌肿瘤淋巴结转移(TNM)分期、淋巴结转移情况、病灶直径及肿瘤分化程度]。根据 TNM 分期系统(第 8 版)^[7]对所有患者进行 TNM 分期,所有患者均于术前 1 周内行超声造影检查测量肿瘤直径,根据胃癌诊疗规范(2018 年版)^[8]中的肿瘤分化程度标准判断所有患者的肿瘤分化程度。

(2)术前化疗方案:所有患者于第 1~14 日每日 2 次餐后服用替吉奥($80\text{mg}/\text{m}^2$);于第 1 日将奥沙利铂($130\text{mg}/\text{m}^2$)溶于 500 ml 5% 葡萄糖溶液中持续 2 h 静脉滴注。以 21 天为 1 个周期,连续治疗 3 个周期^[9]。

(3)疗效评价标准:参照 WHO 实体瘤疗效评价标准分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD)。有效 = CR + PR,无效 = SD + PD。根据疗效将 90 例胃癌患者分为有效组(64 例)和无效组(26 例),两组患者的年龄、性别比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

(4)实时荧光定量聚合酶链反应(real-time PCR)检测 miR-150 表达水平:取患者空腹静脉血,加入适量体积的红细胞裂解液,在室温下混匀放置 10 min,以 10 000 r/min 离心 1 min,丢弃上清,将沉淀的白细胞加入 1 ml TRIzol 中裂解 5 min,于 4℃ 下以 12 000 r/min 离心 10 min,取其上清,离心、干燥,再加入 40 μl 无 RNA 酶的水,用枪反复吹打混匀,使其完全溶解,获得总 RNA 溶液。逆转录参数:取 5 μl RNA 模板,加入上下游引物、逆转录酶,总体积 10 μl ,于 37℃ 水浴 60 min 后,将其逆转录为 cDNA。根据逆转录试剂盒(北京全式金生物科技有限公司)说明书操作。以 U6snRNA 为内参照基因,加入上下游引物、SYBR Green、Taq 聚合酶进行 real-time PCR,循环参数:95℃ 变性 5 min;然后 95℃、60℃ 20 s,72℃ 20 s,78℃ 20 s,共 40 个循环,检测其荧光信号,以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示 miR-150 的相对水平。

3. 统计学处理:应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验。计数资料以例和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。影响因素分析采用 logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 有效组与无效组患者的临床资料比较:所有患

者中,Ⅰ期 19 例,Ⅱ期 38 例,Ⅲ期 26 例,Ⅳ期 7 例;淋巴结转移者 41 例;高分化 22 例,中分化 32 例,低分化 32 例,未分化 4 例;肿瘤直径 $\geq 3.0\text{ cm}$ 33 例, $< 3.0\text{ cm}$ 31 例。两组患者的 TNM 分期、淋巴结转移情况、肿瘤分化程度比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);两组患者的年龄、性别、病灶直径比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2. 有效组和无效组患者外周血 miR-150 表达水平比较:有效组患者外周血 miR-150 表达水平明显高于无效组(0.504 ± 0.113 比 0.227 ± 0.086),差异有统计学意义($t = 11.233, P < 0.001$)。见图 1。

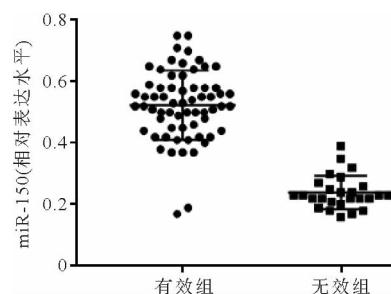


图 1 有效组与无效组患者的外周血 miR-150 水平分布图

3. 胃癌患者术前新辅助化疗效果影响因素的 logistic 回归分析:结果显示, TNM 分期增高、分化程度降低、发生淋巴结转移是胃癌患者术前新辅助化疗效果不佳的独立危险因素($P < 0.05$)。外周血 miR-150 表达水平升高是胃癌患者术前新辅助化疗效果不佳的独立保护因素($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 胃癌患者术前新辅助化疗效果的多因素分析结果

参数	B 值	S. E.	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
TNM 分期	0.928	0.317	8.570	0.007	2.529	1.359 ~ 4.708
淋巴结转移	0.447	0.189	5.594	1.007	1.564	1.080 ~ 2.265
肿瘤分化程度	0.718	0.264	7.397	2.007	2.050	1.222 ~ 3.440
miR-150 表达水平	-1.202	0.520	5.343	3.007	0.301	0.108 ~ 0.833
常数项	1.774	0.920	3.718	4.007	5.894	0.971 ~ 35.773

表 1 有效组和无效组患者的临床资料比较[例, (%)]

组别	例数	性别		年龄(岁)		TNM 分期	
		男	女	>55 岁	≤55 岁	Ⅰ期 + Ⅱ期	Ⅲ期 + Ⅳ期
有效组	64	30(46.88)	34(53.13)	36(56.25)	28(43.75)	46(71.88)	18(28.13)
无效组	26	17(65.38)	9(34.62)	12(46.15)	14(53.85)	11(42.31)	15(57.69)
χ^2 值		2.539		0.757		6.960	
P 值		0.111		0.384		0.008	
组别	例数	淋巴结转移		病灶直径		肿瘤分化程度	
		是	否	>3.0 cm	≤3.0 cm	高分化 + 中分化	低分化 + 未分化
有效组	64	22(34.38)	42(65.63)	33(51.56)	31(48.44)	44(68.75)	20(31.25)
无效组	26	19(73.08)	7(26.92)	18(69.23)	8(30.77)	10(38.46)	16(61.54)
χ^2 值		11.166		2.350		7.067	
P 值		0.001		0.125		0.008	

讨 论

胃癌早期临床症状不明显,大多患者发病时已经处于晚期,采取单一的根治疗法难以达到较好的治疗效果。除了与淋巴结清扫和手术切除是否完全相关外,肿瘤转移和复发还与微转移病变的存在及其进一步的增殖和生长有关;理论上化疗时期越早,产生的耐药细胞越少^[10],因此术前新辅助化疗能有效控制胃癌的转移和复发。动物实验表明,在小鼠肿瘤切除后机体会分泌某些促进肿瘤细胞增殖的物质,如生长刺激因子等,这些因子可加速转移性病变的生长,并诱导癌细胞产生耐药性^[11]。术前新辅助化疗可降低肿瘤分期,减少肿瘤细胞数量,抑制增殖刺激因子的出现,并消除潜在的微转移。术前新辅助化疗方案是晚期胃癌患者综合治疗的主要方法^[12]。

以 5-氟尿嘧啶为主的化疗药物可提高患者生存率,但会引起强烈的不良反应,预后较差。奥沙利铂是第三代铂类化疗药物,可发生烷基化,生成的结合物可抑制 DNA 合成,从而发挥抗细胞毒性和抗肿瘤作用^[13-14]。替吉奥属于 5-氟尿嘧啶衍生物,是一种口服抗癌剂,抗癌机制与 5-氟尿嘧啶基本相同。5-氟尿嘧啶产生水衍生物,然后作用于 DNA 以抑制其复制和合成,进而发挥抗细胞和肿瘤毒性作用^[15]。此外,5-氟尿嘧啶毒性较小,水溶性较高,不会损伤患者的消化道,也不会产生交叉耐药,对肾脏无不良反应,可配合奥沙利铂治疗恶性肿瘤^[16]。

miR-150 是 RNA 家族中的单链小分子,长度约为 22 个核苷酸,可直接参与肺癌、乳腺癌、脑肿瘤、肝癌和淋巴瘤等多种肿瘤的发展^[17]。miR-150 在肿瘤细胞中的表达特征为肿瘤组织中低表达和癌旁组织中高表达,这种差异表达与肿瘤的发生、发展密切相关,从而揭示了 miR-150 对肿瘤抑制作用的机制是通过调控特定靶基因的表达来调节肿瘤的发展^[18]。

本研究结果显示,有效组患者外周血 miR-150 水平明显高于无效组,表明 miR-150 表达缺失的原因可能是肿瘤对化疗药物耐药,但具体机制应通过进一步的体外和体内实验来证实。有效组与化疗无效组患者的年龄、性别、病灶直径比较差异均无统计学意义,但两组患者 TNM 分期、淋巴结转移和肿瘤分化程度比较差异显著,表明术前新辅助化疗的效果仅与患者的临床分期、是否有淋巴结转移及肿瘤分化程度有关,与患者的年龄、性别和病灶的大小无关。胃癌患者术前新辅助化疗效果影响因素的 logistic 回归分析结果显示,

TNM 分期增高、分化程度降低、发生淋巴结转移是其术前新辅助化疗效果不佳的独立危险因素,而外周血 miR-150 表达水平升高是胃癌患者术前新辅助化疗效果不佳的保护因素。

综上所述,胃癌患者外周血 miR-150 表达水平下调可能与患者术前新辅助化疗效果不佳有关,临床上可通过检测外周血 miR-150 表达水平来预测胃癌患者的术前新辅助化疗效果。

参 考 文 献

- [1] 唐华臻,张军. 胃癌全胃切除术后并发症的现况与进展[J]. 国际外科学杂志,2018,45(4):284-287.
- [2] 郭萍,张军鹏,贺继东. 胃癌患者原发病灶的组织学评价与新辅助化疗预后的相关性[J]. 国际肿瘤学杂志,2018,45(10):588-592.
- [3] 阮圣辉,罗斌,陈华斌,等. 术前放射治疗联合新辅助化疗对进展期胃癌患者手术情况及病灶内癌基因表达的影响[J]. 中国医药,2019,14(5):747-750.
- [4] 鞠芳,卢琳,李绪彤,等. 血清 miRNA 检测对直肠癌患者新辅助放化疗效果的预测价值[J]. 山东医药,2017,57(5):89-91.
- [5] 檀碧波,李勇,范立侨,等. 胃癌组织对奥沙利铂化疗敏感性及其与微小 RNA-150 表达的关系[J]. 中华实验外科杂志,2018,35(10):1934-1936.
- [6] 谢小缺,王华,顾康生. 胃癌中长链非编码 RNA 和微小 RNA 的相关研究进展[J]. 安徽医科大学学报,2017,52(2):301-303.
- [7] 陕飞,李子禹,张连海,等. 国际抗癌联盟及美国肿瘤联合会胃癌 TNM 分期系统(第 8 版)简介及解读[J]. 中国实用外科杂志,2017,(1):15-17.
- [8] 国家卫生健康委员会. 胃癌诊疗规范(2018 年版)[J]. 中华消化病与影像杂志(电子版),2019,9(3):118-144.
- [9] 陈媛,省新元,刘文峰. 替吉奥联合奥沙利铂方案联合紫杉醇腹腔和静脉双途径化疗治疗晚期胃癌合并腹水患者的疗效观察[J]. 临床内科杂志,2018,35(2):114-116.
- [10] 金红艳,王晓凤,何为,等. 培美曲塞维持治疗与延迟治疗晚期非小细胞肺癌的疗效比较[J]. 临床内科杂志,2015,32(12):829-830.
- [11] Kodera Y. Neoadjuvant chemotherapy for gastric adenocarcinoma in Japan[J]. Surgery Today,2017,47(8):1-9.
- [12] Mueller TC, Schirren R, Kehl V, et al. Parenteral nutrition during neoadjuvant chemotherapy for patients with non-metastatic gastric or esophago-gastric cancer to reduce postoperative morbidity (PERCOG): study protocol for a randomized controlled trial[J]. Trials,2017,18(1):621-622.
- [13] 马维雄,李华,曹波. mFOLFOX6 方案与奥沙利铂联合替吉奥治疗胃癌肝转移疗效对比[J]. 国际外科学杂志,2017,44(5):311-315.
- [14] 张晓飞,魏亚强. 曲妥珠单抗联合奥沙利铂治疗人类表皮生长因子受体 2 阳性胃癌患者的临床效果[J]. 中国医药,2018,13(1):96-99.
- [15] 张伟,谭睿. 替吉奥或卡培他滨联合奥沙利铂一线治疗中晚期胃癌的疗效对比研究[J]. 实用医院临床杂志,2017,14(3):31-34.
- [16] 曲建军,翟升永,邓国鹏,等. 奥沙利铂联合替吉奥方案新辅助化疗对进展期Ⅲ期胃癌患者围手术期影响研究[J]. 中国实用外科杂志,2018,38(8):933-937.
- [17] Peng L, Chen G, Zhu Z, et al. Circular RNA ZNF609 functions as a competitive endogenous RNA to regulate AKT3 expression by sponging miR-150-5p in Hirschsprung's disease[J]. Oncotarget,2017,8(1):808-810.
- [18] Koshizuka K, Nohata N, Hanazawa T, et al. Deep sequencing-based microRNA expression signatures in head and neck squamous cell carcinoma: dual strands of pre-miR-150 as antitumor miRNAs[J]. Oncotarget,2017,8(18):30288-30304.

(收稿日期:2019-11-21)

(本文编辑:余晓曼)