hepatic and mesenteric artery bypassing, in patients with chronic mesenteric ischemia and extensive aortic disease—a case report and review of the literature[J]. Ann Vasc Surg, 2017, 39: 292.e9-292.e15.
[6] LIM S, HALANDRAS P M, BECHARA C, et al. Contemporary management of acute mesenteric ischemia in the endovascular era[J]. Vasc Endovascular Surg, 2019, 53(1): 42-50.
[7] SCHERMERHORN M L, GILES K A, HAMDAN A D, et al. Mesenteric revascularization: Management and outcomes in the United States, 1988-2006[J]. J Vasc Surg, 2009, 50(2): 341-348,e1.
[8] DHAMNASKAR S S, SAWARKAR P C, MANDAL S, et al. Predictors of mortality in acute mesenteric vascular ischemia with bowel gangrene[J]. Int Surg J ,2016,3:1996-2002.
[9] BEAULIEU R J, ARNAOUTAKIS K D, ABULARRAGE C J, et al. Comparison of open and endovascular treatment of acute mesenteric ischemia[J]. J Vasc Surg, 2014, 59(1): 159-164.

收稿日期：2024-02-22
（本文编辑：钟美春）

胃癌患者 miR-34a、同源盒蛋白 D9 的表达及对预后的影响

龙钰，张育

【关键词】 胃癌；miR-34a；HOXD9；临床病理特征；预后；临床价值
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.06.026
【中图分类号】 R735.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2024)06-0794-04

胃癌的发病机制与环境因素、遗传因素有关，其中基因表达异常为主要致病因素，研究发现多种基因表达异常与胃癌病情及预后密切相关[1-2]。miR-34a 可通过多个信号传导通路抑制恶性肿瘤细胞迁移、侵袭及上皮间质转化，在胃癌等多种恶性肿瘤中表达下调，为预后不良的标志物[3-4]。同源盒蛋白 D9（homeobox D9，HOXD9）可通过多种信号通路促进肿瘤细胞增殖、迁移及及侵袭，在胃癌中表达上调[5-6]。目前关于胃癌患者 miR-34a、HOXD9 的表达水平变化及对其预后的影响报道不多。本研究探讨胃癌患者 miR-34a、HOXD9 表达水平的变化，并分析上述指标对预后的影响，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1 月至 2018 年 1 月杭州市中医院收治的 96 例胃癌患者为研究对象（GCC 组），纳入标准：（1）经病理组织学检查确诊；（2）首次确诊，既往无胃癌病史，未行手术、放化疗、免疫治疗、靶向治疗等；（3）均经增强 CT、MRI 或超声内镜明确 TNM 分期，临床病理资料完整；（4）排除合并其它良恶性肿瘤、严重心脑肺血管病及其它肿瘤胃转移等，排除合并精神神经疾病。另选取同期 50 例胃良性疾病患者（胃炎、胃息肉、良性胃溃疡等）为对照组。两组性别、年龄、卡氏评分、体表面积、糖尿病史、高血压史及幽门螺旋杆菌感染差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$），见表 1。本研究经杭州市中医院科研伦理委员会批准，免除签署知情同意书。

1.2 方法 GCC 组取肿瘤组织及癌旁组织，对照组取胃镜下活检组织。采用实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测组织标本 miR-34a 及 HOXD9 表达。miR-34a 上游引物序列 5’-TCTGTCTCTCTTGGCAGTGTCTTA-3’，下游引物序列 5’-GAACATGTCTGCGTATCTC-3’；HOXD9 上游引物序列 5’-GCAGCAACTTGACCCAAACAA-3’，下游引物序列 5’-CCAGCTCAAGCGTCTGGTAT-3’，检测试剂购自上海碧云天公司。反应体系 25 μl，反应条件为：94 ℃预变性 8 min；95 ℃下 15 s，60 ℃退火 1 min，61 ℃延伸扩增 40 s，共计 35 个循环，最后一轮 72 ℃反应 10 min。miR-34a 选择 U6 为内参，HOXD9 选择 GAPDH 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta ct}$ 计算 miR-34a、HOXD9 的相对表达量。

1.3 观察指标 收集 GCC 组临床资料，包括临床病理资料、TNM 分期等。GCC 组每 3 个月随访 1

作者单位： 310007 杭州，杭州市中医院
通信作者： 龙钰，Email：longqyl007@163.com

表 1　GCC 组及对照组研究对象临床资料比较

组别	例数	性别（男/女，例）	年龄（岁）	卡氏评分（分）	体表面积（m^2）	糖尿病史（有/无，例）	高血压史（有/无，例）	幽门螺旋杆菌感染（有/无，例）
GCC 组	96	50/46	63.5±8.2	92.8±6.7	2.2±0.5	18/78	20/76	71/25
对照组	50	27/23	63.2±8.5	93.1±6.5	2.2±0.4	8/42	9/41	37/13

次，随访时间至 2023 年 12 月，随访内容包括影像学检查、肿瘤标志物等，统计患者预后状况（生存、死亡），其中随访 2 年时出现死亡、肿瘤复发进展、严重并发症（肠梗阻、恶病质）等定义为预后不良。

1.4　统计方法　采用 SPSS 22.0 统计软件行统计学分析。计量资料以均数±标准差表示，采用方差分析或 t 检验；计数资料采用 χ^2 检验。采用多因素 Logistic 回归分析胃癌死亡的危险因素。采用受试者工作特征（ROC）曲线分析 miR-34a、HOXD9 预测胃癌 2 年预后不良的敏感度及特异度。Kaplan-Meier 法分析 miR-34a、HOXD9 表达与生存期的关系。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　各组 miR-34a、HOXD9 表达水平比较　GCC 组肿瘤组织 miR-34a 表达低于癌旁组织和对照组，HOXD9 表达高于癌旁组织和对照组（均 $P < 0.05$）。GCC 组癌旁组织与对照组 miR-34a、HOXD9 表达水平差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$），见表 2。

2.2　不同预后患者的临床病理特征比较　根据患者 2 年的预后情况，分成预后良好组（69 例）和预后不良组（27 例）。两组性别、年龄及病理类型差异无统计学意义（均 $P > 0.05$）；两组肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$），见表 3。

2.3　miR-34a 联合 HOXD9 检测预测胃癌 2 年预后不良效能　HOXD9 联合 miR-34a 预测预测胃癌 2 年预后不良敏感度、特异度及曲线下面积（*AUC*）均高于肿瘤分化程度、肿瘤最大径、肿瘤浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期（均 $P < 0.05$），见表 4。

2.4　胃癌死亡危险因素分析　以肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、肿瘤最大径、淋巴结转移、TNM 分期、HOXD9 及 miR-34a 为自变量，预后状况（死亡）为因变量行多因素 Logistics 回归分析，变量赋值见表 5。结果显示 miR-34a（≤0.54）、HOXD9（≥0.96）、低分化、肿瘤最大径（＞ 6 cm）、肿瘤浸润深度（T3 ～ T4）、淋巴结转移及 TNM 分期（III ～ IV 期）为胃癌死亡的独立危险因素（均 $P < 0.05$），见表 6。

2.5　miR-34a、HOXD9 表达与胃癌患者生存期关系　GCC 组（miR-34a≤0.54 且 HOXD9≥0.96）患者中位生存期显著低于其它患者（miR-34a ＞ 0.54 或 HOXD9 ＜ 0.96）[（25.9±5.2）个月 *vs*（33.6±6.7）个月，*Log Rank*=18.81，$P < 0.05$]，见图 1。

3　讨论

胃癌的发病机制与各种诱因导致基因表达异常有关，其中 miRNA 在胃癌发生、发展及转归中扮演重要角色，具体机制包括调控细胞周期、凋亡迁移侵袭及肿瘤免疫微环境等[7]。研究发现 miRNA 贯穿胃癌的整个病程，与病情严重程度及生存期相关，可作为胃癌病情及预后评估的标志物，检测 miRNA 变化能为胃癌临床诊疗提供客观证据[8]。miR-34a 具有调控细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭及上皮间质转化等

表 2　各组 miR-34a、HOXD9 表达水平比较

组别	例数	miR-34a	HOXD9
肿瘤组织	96	0.54±0.06	0.96±0.12
癌旁组织	96	0.82±0.07	0.48±0.06
对照组	50	0.81±0.07	0.49±0.05
F 值		505.74	858.03
P 值		＜ 0.05	＜ 0.05

注：HOXD9 为同源盒蛋白 D9

表 3　不同预后患者的临床病理特征比较

病理因素		预后良好组（n=69）	预后不良组（n=27）	χ^2（t）值	P 值
性别	男	35	15	0.18	＞ 0.05
	女	34	12		
年龄（岁）		63.9±7.7	63.1±8.5	（0.45）	＞ 0.05
病理类型	腺癌	61	24	0.08	＞ 0.05
	其他	8	3		
肿瘤分化程度	低分化	27	18	5.91	＜ 0.05
	中-高分	42	9		
肿瘤最大径（cm）		3.8±1.2	4.6±1.5	（2.48）	＜ 0.05
肿瘤浸润深度	T1 ～ T2	21	3	3.87	＜ 0.05
	T3 ～ T4	48	24		
淋巴结转移	无	19	2	4.60	＜ 0.05
	有	50	25		
TNM 分期	I ～ II 期	25	4	4.22	＜ 0.05
	III ～ IV 期	44	22		

表 4　miR-34a 联合 HOXD9 的预测效能

指标	敏感度	特异度	*P* 值	*AUC*	*SE* 值	95%*CI*	约登指数
miR-34a	0.819	0.801	＜0.05	0.795	0.056	0.544 ～ 1.028	0.620
HOXD9	0.802	0.795	＜0.05	0.774	0.044	0.499 ～ 1.122	0.597
肿瘤分化程度	0.625	0.611	＜0.05	0.631	0.061	0.517 ～ 1.026	0.236
肿瘤最大径	0.619	0.621	＜0.05	0.616	0.045	0.513 ～ 0.937	0.240
肿瘤浸润深度	0.642	0.627	＜0.05	0.643	0.052	0.524 ～ 1.135	0.269
淋巴结转移	0.611	0.652	＜0.05	0.632	0.049	0.489 ～ 1.022	0.263
TNM 分期	0.657	0.634	＜0.05	0.659	0.053	0.602 ～ 1.156	0.291
miR-34a 联合 HOXD9	0.911	0.908	＜0.05	0.918	0.067	0.594 ～ 1.273	0.819

注：HOXD9 为同源盒蛋白 D9

表 5　Logistic 回归分析变量赋值

变量	赋值	变量	赋值
肿瘤分化程度	中-高分化=0，低分化=1	肿瘤浸润深度	T1 ～ T2=0，T3 ～ T4=1
肿瘤最大径	＜6 cm=0，≥6 cm=1	淋巴结转移	无=0，有=1
TNM 分期	Ⅰ～Ⅱ期=0，Ⅲ-Ⅳ期=1	miR-34a 表达	＞0.54=0，≤0.54=1
HOXD9 表达	＜0.96=0，≥0.96=1	预后状况	存活=0，死亡=1

注：HOXD9 为同源盒蛋白 D9

表 6　胃癌死亡的多因素 Logistic 回归分析

指标	*β*值	*SE* 值	Waldχ^2 值	*OR* 值	95%*CI*	*P* 值
miR-34a（≤0.54）	1.569	0.244	6.561	4.802	0.891 ～ 5.892	＜0.05
HOXD9（≥0.92）	1.511	0.187	6.149	4.531	0.962 ～ 6.621	＜0.05
低分化	0.685	0.059	5.756	1.984	0.855 ～ 5.978	＜0.05
肿瘤最大径（≥6 cm）	0.782	0.059	5.912	2.186	1.023 ～ 6.155	＜0.05
浸润深度（T3 ～ T4）	0.803	0.061	6.466	2.232	0.893 ～ 5.677	＜0.05
淋巴结转移	0.795	0.069	5.762	2.214	0.694 ～ 5.451	＜0.05
TNM 分期（Ⅲ ～ Ⅳ 期）	0.947	0.095	6.629	2.578	0.789 ～ 5.923	＜0.05

注：HOXD9 为同源盒蛋白 D9

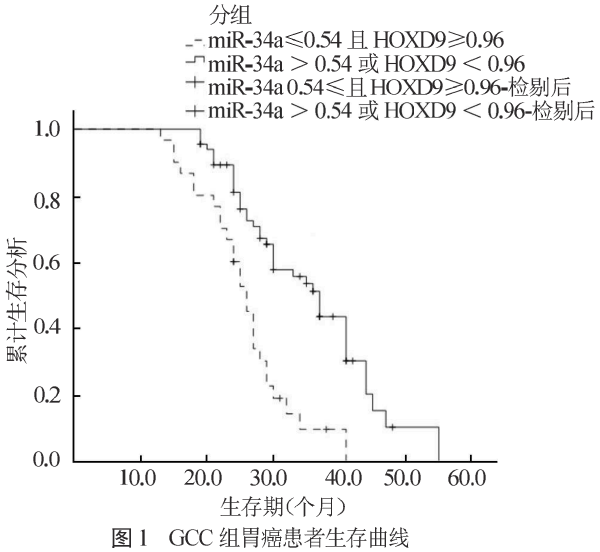


图 1　GCC 组胃癌患者生存曲线

功能，与恶性肿瘤发病机制及预后相关，miR-34a 表达降低为预后不良的危险因素 [9]。研究显示靶向 miR-34a/LRPPRC/MDR1 轴可破坏 P53 非活动性结直肠癌的化疗耐药性 [10]。Jiang 等 [11] 体外实验发现 miR-34a 可通过下调 CDC25A 表达而抑制宫颈癌细胞增殖及迁移。Hong 等[12]发现沉默长链非编码 RNA LINC01106 通过靶向 miR-34a-5p/MYCN 轴抑制胃癌细胞的恶性行为。研究发现胃癌中 miR-34a 表达下调，可作为胃癌诊断的标志物[13]。本研究中 GCC 组胃癌患者 miR-34a 表达均低于癌旁组织和对照组，进一步研究发现低分化、肿瘤最大径≥6 cm、T3 ～ T4、有淋巴结转移及 III ～ IV 期患者 miR-34a 表达显著降低，miR-34a≤0.54 为胃癌死亡的独立危险因素（*P* ＜ 0.05），这表明 miR-34a 表达与胃癌病情及预后相关。

HOXD9 对肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭及迁移具有调控作用，在多种恶性肿瘤中可检测到 HOXD9 表达异常，为潜在的病情及预后评估标志物[14]。研究发现 HOXD9 基因与胃癌的发病机制相关，HOXD9 可通过多种信号传导通路参与胃癌恶性生物学行为[15]。Zhu 等[16]发现 HOXD9 通过转录激活 RUFY3 促进胃癌细胞的生长、侵袭和转移。Xiong 等[6]发现 HOXD9 通过激活 TGF-β/Smad 信号通路促进胃癌发生及发展。基于目前的研究进展，推测 HOXD9 在胃癌中具有促癌作用。本研究中 GCC 组胃癌患者 HOXD9

表达均高于癌旁组织和对照组，进一步研究发现低分化、肿瘤最大径≥6 cm、T3～T4、有淋巴结转移及III～IV期患者miR-34a表达显著升高，HOXD9≥0.96为胃癌死亡的独立危险因素（$P<0.05$），表明HOXD9表达与胃癌病情及预后相关。

目前胃癌临床病理特征及预后评估标志物的检测多采用肿瘤标志物及TNM分期，其中前者存在敏感度及特异度低的缺点而后者极易受影像科医生经验的影响[17]。随着胃癌发病机制的深入研究及基因检测技术提高，miRNA等基因水平标志物在胃癌临床病理特征及预后评估中更具有临床价值，但单个基因水平的检测指标因其缺乏组织特异性而导致其敏感度及特异性低，临床上可通过多项指标联合检测以提高敏感度及特异度[18]。本研究中，miR-34a、HOXD9预测胃癌2年预后不良敏感度、特异度、AUC均高于单指标，且miR-34a和HOXD9联合检测时其敏感度、特异度及AUC均显著提高，这些证据表明miR-34a、HOXD9预测胃癌预后不良效能高于传统的检测指标，miR-34a和HOXD9联合检测可显著提高敏感度及特异度，提示在胃癌临床诊疗时应联合监测miR-34a及HOXD9表达以提高疗效。

综上所述，胃癌患者miR-34a表达显著降低而HOXD9表达显著升高，与肿瘤分化程度、肿瘤最大径、肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM分期及生存期密切相关，在胃癌临床病理特征及预后评估中具有重要临床价值，两者联合检测时可提高预测胃癌预后的敏感度及特异度。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] SINNARASAN V S P, PAUL D, DAS R, et al. Gastric cancer biomarker candidates identified by machine learning and integrative bioinformatics: Toward personalized medicine[J]. OMICS, 2023, 27(6): 260-272.

[2] HUANG Z L, ZHAO X, HU J Y, et al. Single-nanoparticle differential immunoassay for multiplexed gastric cancer biomarker monitoring[J]. Anal Chem, 2022, 94(37): 12899-12906.

[3] KONG J, WANG W. A systemic review on the regulatory roles of miR-34a in gastrointestinal cancer[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 2855-2872.

[4] YONG H M, FU J, GAO G Y, et al. MiR-34a suppresses the proliferation and invasion of gastric cancer by modulating PDL1 in the immune microenvironment[J]. Mol Cell Probes, 2020, 53: 101601.

[5] LI J Y, PEI M M, XIAO W S, et al. The HOXD9-mediated PAXIP1-AS1 regulates gastric cancer progression through PABPC1/PAK1 modulation[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(5): 341.

[6] XIONG R, YIN T, GAO J L, et al. HOXD9 activates the TGF-β/smad signaling pathway to promote gastric cancer[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 2163-2172.

[7] CHUNG K Y, QUEK J M, NEO S H, et al. Polymer-based precipitation of extracellular vesicular miRNAs from serum improve gastric cancer miRNA biomarker performance[J]. J Mol Diagn, 2020, 22(5): 610-618.

[8] LOPES C, CHAVES J, ORTIG O R, et al. Gastric cancer detection by non-blood-based liquid biopsies: A systematic review looking into the last decade of research[J]. United European Gastroenterol J, 2023, 11(1): 114-130.

[9] XU Y Z, GUO B Y, LIU X Y, et al. MiR-34a inhibits melanoma growth by targeting ZEB1[J]. Aging, 2021, 13(11): 15538-15547.

[10] 王闯,周晓华,姚金科,等.微小RNA-21促进胰腺癌细胞侵袭的研究[J].中华实验外科杂志,2023,40(9):1773-1776.

[11] JIANG T, CHENG H. MiR-34a-5p blocks cervical cancer growth and migration by downregulating CDC25A[J]. J BUON, 2021, 26(5): 1768-1774.

[12] HONG S, LI Q X, YANG Y, et al. Silencing of long non-coding RNA LINC01106 represses malignant behaviors of gastric cancer cells by targeting miR-34a-5p/MYCN axis[J]. Mol Biotechnol, 2022, 64(2): 144-155.

[13] 吴海玲,袁冲.MiR-21、miR-204、miR-34a联合检测在胃癌临床诊断中的价值[J].中国癌症防治杂志,2020,12(5):555-560.

[14] WEN D, WANG L, TAN S H, et al. HOXD9 aggravates the development of cervical cancer by transcriptionally activating HMCN1[J]. Panminerva Med, 2022, 64(4): 532-536.

[15] 朱惠琼.HOXD9转录调控RUFY3促进胃癌增殖、侵袭和转移的机制研究[D].广州:南方医科大学,2019.

[16] ZHU H Q, DAI W Y, LI J Y, et al. HOXD9 promotes the growth, invasion and metastasis of gastric cancer cells by transcriptional activation of RUFY3[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 412.

[17] 戴立欢,尹进学,钟熹,等.基于CT征象联合血清肿瘤标志物的列线图对胃癌淋巴结转移风险的预测价值[J].中国中西医结合影像学杂志,2023,21(6):620-624,645.

[18] 王源媛,周妮,王达,等.生物标志物EHD3与胃癌中免疫细胞浸润的相关性研究[J].西安交通大学学报(医学版),2023,44(3):374-382.

收稿日期：2024-01-17

（本文编辑：吴迪汉）