

<0.01)。由此可见,解毒凉血方既发挥了中医的治疗特点又避免了大量应用激素引起的不良反应,并能提高本病的临床疗效。

参考文献

- 1 杨静霞,黄松明,吴红梅,等. 儿童紫癜性肾炎 180 例临床与病理分析[J]. 中国实用儿科杂志,2009,24(5):390-392
- 2 李莎,董丽群,王峥. 尿常规正常过敏性紫癜患儿临床与病理及预后探讨[J]. 四川医学,2010,31(4):496-497
- 3 李秋月,杨柳,张莉,等. 76 例过敏性紫癜性肾炎的临床病理分析[J]. 华中科技大学学报·医学版,2009,38(3):417-418
- 4 黄松明,朱春华. 紫癜性肾炎的诊断和治疗[J]. 实用儿科临床杂志,2009,24(5):326-329
- 5 刘颖,姜奕. 80 例过敏性紫癜肾炎的临床病理分析[J]. 中国医科

- 大学学报,2011,40(7):649-654
- 6 孙良忠,Juma I,Emma P,等. 白蛋白刺激肾小管上皮细胞表达基质金属蛋白酶 2 和 9[J]. 中华肾脏病杂志,2007,23(8):519-523
 - 7 王军仓,王文功. 解毒活血愈肾汤治疗慢性紫癜性肾炎 40 例临床观察[J]. 中国中医药科技,2012,19(4):356-357
 - 8 赵晋元. 脱敏消斑汤联合西药治疗紫癜性肾炎 60 例临床观察[J]. 实用中医内科杂志,2013,27(1):89-90
 - 9 张建良,卢芳国. 清热解毒中药免疫调节作用的研究进展[J]. 中医药导报,2012,18(12):87-89
 - 10 郭晶,江蔚新,范明松. 马勃化学成分及药理作用研究进展[J]. 现代医药卫生,2013,29(3):386-389

(收稿日期:2013-04-15)

(修回日期:2013-05-02)

Hedgehog 信号通路及 EMT 在进展期胃癌中的作用及意义

王栈山 李继坤

摘要 **目的** 探讨 Hedgehog 信号通路与上皮-间质转化相关分子在进展期胃癌组织中的表达及其对预后的影响。**方法** 采用免疫组化的方法检测 121 例进展期胃癌组织及对应正常胃黏膜组织中 Gli-1 (Hedgehog 信号通路下游转录因子)及 Snail、E-cadherin (上皮-间质转化相关因子)的表达情况,与临床病理资料及术后生存情况作对照分析。**结果** (1) Gli-1、Snail 及 E-cadherin 在胃癌组织中的阳性表达率分别为 79.3%、76.0%、36.4%;在正常胃黏膜组织则为 29.8%、29.8%、100%。3 种蛋白在胃癌组织和正常胃黏膜组织中的表达差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。(2) Gli-1 的过度表达与肿瘤的浸润深度、有无淋巴结转移及 pTNM 分期有关 ($P < 0.05$);Snail 的过度表达和 E-cadherin 的表达缺失则与组织学类型、浸润深度、淋巴结转移及 pTNM 分期有关 ($P < 0.05$)。(3) 在胃癌组织中 Gli-1 的异常表达与 Snail 蛋白的表达呈正相关 ($P < 0.05$),与 E-cadherin 的表达呈负相关 ($P < 0.05$)。(4) Gli-1 及 Snail 阳性表达的患者均较阴性患者表现出更差的预后和更低的生存率 ($P < 0.05$);而 E-cadherin 表达的患者则较不表达的患者表现出更好的预后 ($P < 0.05$)。E-cadherin 的表达情况与组织学分类、有无淋巴结转移为影响胃癌患者预后的独立因素 ($P < 0.05$)。而 Gli-1 与 Snail 的表达情况则不是影响胃癌患者预后的独立因素 ($P > 0.05$)。**结论** 在进展期胃癌中,Hedgehog 信号通路的异常激活与上皮-间质转化的发生之间存在相关性,并且两者的发生对进展期胃癌患者的预后情况产生影响。

关键词 胃癌 Hedgehog 信号通路 上皮-间质转化预后 预后

Hedgehog Signal Pathway and EMT in Advanced Gastric Cancer and Its Significance. Wang Zhanshan, Li Jikun. Department of General Surgery, Shanghai Jiaotong University Affiliated First People's Hospital, Shanghai 200080, China

Abstract **Objective** To investigate the Hedgehog (Hh) signal pathway and Epithelial-mesenchymal transition (EMT) in advanced gastric cancer and the value of its clinical-pathological and prognosis significance. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of Gli-1, Snail and E-cadherin proteins in 121 cases of advanced gastric cancer tissues and corresponding normal gastric mucosa tissues. The correlation of Gli-1, Snail and E-cadherin expression with the clinicopathologic features and prognostic survivals was analyzed. **Results** (1) The positive rate of Gli-1, Snail and E-cadherin expression was 79.3%, 76.0% and 36.4% in GC tissues, 29.8%, 29.8% and 100% in corresponding normal gastric mucosa tissues, with a statistical significance between GC tissues and corresponding normal gastric mucosa tissues ($P < 0.05$). (2) Excessive expression of Gli-1 was related to the depth of invasion, lymph node metastasis and pTNM staging ($P < 0.05$). Snail excessive expression and E-cadherin lack expression were related to the his-

tological type, depth of invasion, lymph node metastasis and pTNM staging ($P < 0.05$). (3) The expression of Gli-1 in GC was positively correlated with the expression of Snail ($P < 0.05$) and negatively correlated with the expression of E-cadherin ($P < 0.05$). (4) The patients with either Gli-1 or Snail positive expression showed more poor prognosis and lower survival rate than the negative patients ($P < 0.05$). While the patients with E-cadherin negative expression showed better after operation ($P < 0.05$). Only the E-cadherin with histological type, with or without lymph node metastasis was the independent influencing factor of GC patients after operation ($P < 0.05$). Gli-1 and Snail were not independent influencing factors of GC patients after operation ($P > 0.05$). **Conclusion** In advanced gastric cancer, the abnormal activation of Hedgehog signaling pathway has correlation with Epithelial-mesenchymal transition phenomenon happening. In addition, both have an effect on the prognosis in patients with advanced gastric cancer.

Key words Gastric cancer; Hedgehog signaling pathway; Epithelial-mesenchymal transition; Prognosis

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,是世界第2大致死的癌症,在我国,胃癌是第3位最常见的恶性肿瘤^[1]。虽然近年来由于早期内镜诊断技术的进步,胃癌相关的病死率在近几十年中已经有明显下降^[2],但胃癌依然存在早期症状不典型、大多数胃癌患者就诊时病程偏晚、根治性手术切除率低等情况,特别是进展期胃癌,其5年生存率只有20%。因此,更好的了解胃癌侵袭转移的确切机制,对于识别新的诊断和预后标记、设计新的靶向治疗方法是至关重要的。

Hedgehog(Hh)信号通路是胚胎发育过程中重要的调控信号,其对胚胎组织细胞的生长分化、干细胞的维持都是必不可少的。但Hh信号通路的异常激活则会引起细胞的过度增殖,可以引起多种肿瘤的发生。同时,Hh信号通路也被证实是参与多种肿瘤侵袭转移的重要信号通路之一^[3]。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是一种基本的生理病理现象,近年研究表明EMT在肿瘤侵袭转移过程中发挥重要作用,其主要特征是上皮细胞暂时失去细胞极性,表达间质细胞特征,使肿瘤细胞丧失细胞-细胞间连接,运动能力增加,从而更具侵袭性和转移能力。当肿瘤细胞转移至特定的靶器官后,为了适应周围的基质环境,经过间质上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET),再次表现出上皮细胞的特性,重新获得增殖能力,形成转移灶^[4]。

Hh信号通路作为肿瘤发生、发展和侵袭的重要相关因素,近来也被证实参与了上皮-间质转的调控。包括在乳腺癌^[5]、胰腺癌^[6]、胆管癌^[7]及子宫内膜癌^[8]等多种肿瘤中,发现Hh信号通路的异常激活与EMT的发生存在关联,但有关Hh信号通路与进展期胃癌EMT之间的是否存在关联尚不清楚。Gli-1蛋白是Hh信号通路中关键性转录因子,是Hh信号跨膜传递后,转换成胞内信号的早期转录靶标。E-钙黏蛋白(E-cadherin)则是上皮结构中的重组

成分,E-cadherin的表达缺失是EMT的标志性变化之一,而Snail已被证实是调控E-cadherin表达的上游调控因子之一。本研究通过检测进展期胃癌患者肿瘤组织及对应正常胃黏膜组织中Gli-1、Snail及E-cadherin的表达,以及相关临床病理资料、预后情况等,分析Hh信号通路与EMT发生之间的关系、对患者生存情况的影响,从而探讨两者在进展期胃癌侵袭与转移中的作用和临床意义。

材料与方法

1. 病例选择:所有的121例胃癌病例均收集于2005年10月~2007年7月间在上海交通大学附属第一人民医院普外科接受手术治疗的患者,全组病例均行标准的D₂胃癌根治术。所有患者的临床及病理学报告均经检查并记录,包括年龄、性别、组织学类型、浸润深度、是否有淋巴结浸润及pTNM分期[采用2010年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UICC/AJCC)TNM分期标准]^[9]。所有患者术前均未接受过任何化疗或放疗。患者确诊时年龄范围46~83岁(中位年龄63岁)。后续随访资料包括患者结局、从手术至患者死亡或肿瘤复发之间的时间。失访数据与因非胃癌原因死亡患者作为生存分析中的截尾数据。患者随访时间5~60个月(平均时间30.57个月)。病理学检查按Lauren分型,分为肠型与弥漫型胃癌。

2. 免疫组化:选取每例患者胃癌原发癌灶组织。所有样本经10%甲醛溶液固定,石蜡包埋后切片3 μ m。所有的切片标本分别与购得的相关抗体进行EnVision免疫组化染色:Gli-1[1:200稀释,购自美国Santa Cruz公司(sc20687)],Snail[1:200稀释,购自英国Abcam公司(ab53519)],E-cadherin[1:100稀释,购自上海长岛生物技术有限公司(M0536)]。按照说明书进行操作。以公司提供阳性对照片为阳性对照,以PBS代替一抗作为阴性对照。

3. 结果判断:采用双盲法。根据出现着色的癌细胞占全部癌细胞的比率来评估免疫组化结果^[10-12]。以胞核或细胞质中出现棕黄色或棕褐色颗粒为着色细胞,且其着色强度高于背景非特异性染色。每例切片随机选取10个高倍视野,着色癌细胞百分比 $\geq 10\%$ 认为是阳性。

4. 统计学方法:Gli-1、Snail、E-cadherin蛋白表达与临床病理资料之间的关系评估采用 χ^2 检验。Gli-1与EMT标

记蛋白之间的相关性分析采用 *Spearman* 非参数检验。患者总生存期评估采用 *Kaplan - Meier* 法,不同因素对生存率影响的差异比较采用 *log - rand* 检验。多因素分析采用 *Cox* 回归。所有的统计分析处理采用 *SPSS 16.0* 软件包(*SPSS: Chicago, IL, USA, 2008*)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. *Gli - 1*、*Snail*、*E - cadherin* 在胃癌组织及对应正常胃黏膜组织中的表达:免疫组织化学染色显示,*Gli - 1* 主要在细胞胞膜上、胞质内或胞核表达,本研究中有 79.3% (96/121) 的胃癌标本呈 *Gli - 1* 染色阳性,显著高于正常胃黏膜组织中的 29.8% (36/121)

的阳性率($P < 0.05$)。*Snail* 主要在细胞胞质内或胞核表达,本研究中 *Snail* 在胃癌组织中的表达阳性率为 76.0% (92/121),而正常胃黏膜组织中的表达阳性率为 29.8% (36/121),两者之间存在统计学差异($P < 0.05$)。*E - cadherin* 表达主要位于细胞胞膜或胞质内,正常胃黏膜组织呈 100% (121/121) 阳性表达,而本研究中有仅有 36.4% (44/121) 的胃癌标本出现了 *E - cadherin* 的阳性表达,两者之间也存在统计学差异($P < 0.05$)。图 1、图 2 显示了部分免疫组织化学染色的结果。

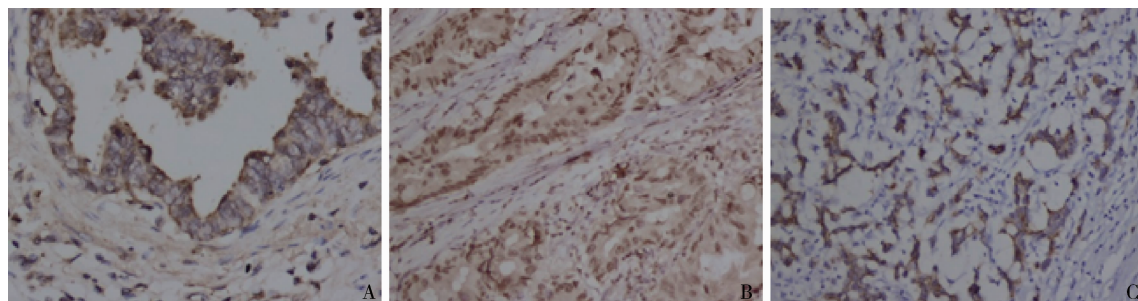


图 1 胃癌组织阳性染色 (×200)

A. *Gli - 1*; B. *Snail*; C. *E - cadherin*

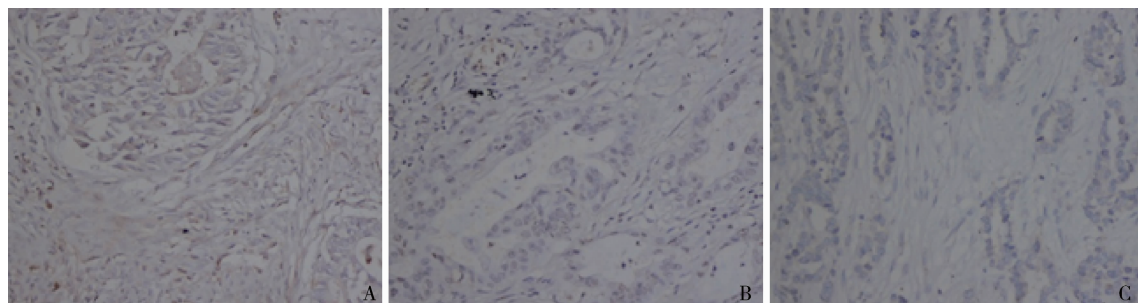


图 2 胃癌组织阴性染色 (×200)

A. *Gli - 1*; B. *Snail*; C. *E - cadherin*

2. 胃癌组织中 *Gli1*、*Snail* 和 *E - cadherin* 表达与临床病理学指标间的关系:胃癌组织中 *Gli - 1*、*Snail* 及 *E - cadherin* 表达情况与临床病理指标之间的关系详见表 1。结果显示, *Gli - 1* 的过度表达与肿瘤的浸润深度、有无淋巴结转移及 *pTNM* 分期有关($P < 0.05$),但与性别、年龄及组织学类型无关($P > 0.05$)。*Snail* 的过度表达和 *E - cadherin* 的表达缺失则与组织学类型、浸润深度、淋巴结转移及 *pTNM* 分期有关($P < 0.05$),与性别和年龄无关($P > 0.05$)。

3. 胃癌组织中 *Gli1* 表达与 *Snail*/*E - cadherin* 表达的关系:本研究发现,在胃癌组织中 *Hh* 信号通路

中的 *Gli - 1* 蛋白异常表达与 EMT 中的相关蛋白 *Snail* 及 *E - cadherin* 的异常表达均存在相关性。其中 *Gli - 1* 的异常表达与 *Snail* 蛋白的表达呈正相关($r = 0.274, P = 0.002$),而与 *E - cadherin* 的表达呈负相关($r = -0.293, P = 0.001$)(表 2)。

4. *Gli - 1*、*Snail*/*E - cadherin* 的表达结果对胃癌术后生存情况的影响:*Gli - 1* 和 *Snail* 阳性表达的患者均较阴性表达患者表现出更差的预后和更低的生存率(图 3)。而 *E - cadherin* 表达的患者则较不表达的患者表现出更好的预后和更高的生存率(图 3)。但在总体生存率的多因素分析中,仅 *E - cadherin* 的

表 1 胃癌组织中 Gli - 1、Snail、E - cadherin 蛋白表达与临床病理学特征的关系				
临床病理特征	n	蛋白阳性表达 [n (%)]		
		Gli - 1	Snail	E - cadherin
性别				
男性	92	72 (78.3)	70 (76.1)	35 (38.0)
女性	29	24 (82.8)	21 (72.4)	9 (31.0)
年龄 (岁)				
< 60	45	34 (75.6)	34 (75.6)	14 (31.1)
≥ 60	76	62 (81.6)	57 (75.0)	30 (39.5)
组织学分类				
肠型	73	57 (78.1)	50 (68.5) *	38 (52.1) *
弥漫型	48	39 (81.3)	41 (85.4) *	6 (12.5) *
浸润深度				
T ₂	21	13 (61.9) *	10 (47.6) *	13 (61.9) *
T ₃ /T ₄	100	83 (83.0) *	81 (81.0) *	31 (31.0) *
淋巴结转移				
有	86	73 (84.9) *	71 (82.6) *	26 (30.2) *
无	35	23 (65.7) *	20 (57.1) *	18 (51.4) *
pTNM 分期				
Ⅱ 期	18	11 (61.1) *	9 (50.0) *	11 (61.1) *
Ⅲ / Ⅳ 期	103	85 (82.5) *	82 (79.6) *	33 (32.0) *

* P < 0.05

表 2 胃癌组织中 Gli - 1 与 Snail、E - cadherin 蛋白表达的关系					
EMT	n	Gli - 1			
		阴性	阳性	r	P
Snail					
阴性	30	12	18	0. 274	0. 002
阳性	91	13	78		
E - cadherin					
阴性	77	9	68	- 0. 293	0. 001
阳性	44	16	28		

表达情况与组织学分类、有无淋巴结转移为影响胃癌患者预后的独立因素($P = 0. 028, P = 0. 022, P = 0. 015$)。而 Gli - 1 与 Snail 的表达情况则不是影响胃癌患者预后的独立因素($P = 0. 100, P = 0. 961$) (表 3)。

讨 论

Hedgehog 信号通路自 1980 年被发现以来,其作用逐渐被人们认识。作为来自内胚层的信号分子之一, Hh 信号通路在胚胎发育、成熟器官形成及形态维

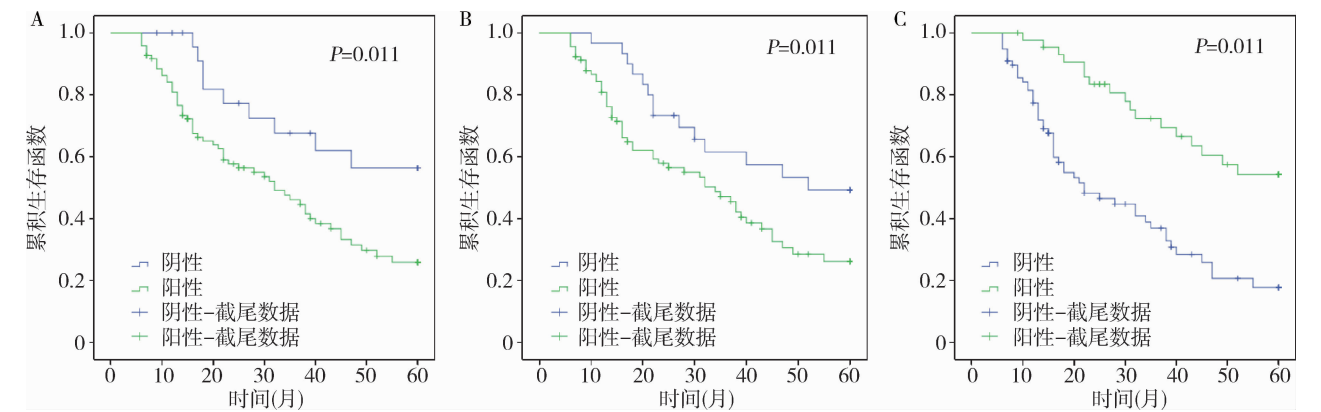


图 3 胃癌患者 Gli - 1、Snail 及 E - cadherin 免疫组化结果的生存分析
A. Gli - 1 表达结果的生存分析; B. Snail 表达结果的生存分析; C. E - cadherin 表达结果的生存分析

表 3 总体生存率的多因素分析		
参数	多因素分析	
	P	RR (95% 置信区间)
性别(男性 vs 女性)	0. 372	1. 345 (0. 701 ~ 2. 577)
年龄(< 60 岁 vs ≥ 60 岁)	0. 097	1. 577 (0. 922 ~ 2. 700)
组织学分类(肠型 vs 弥漫型)	0. 022	0. 488 (0. 264 ~ 0. 902)
浸润深度(T ₁ /T ₂ vs T ₃ /T ₄)	0. 791	1. 109 (0. 517 ~ 2. 376)
淋巴结转移(有 vs 无)	0. 015	0. 425 (0. 213 ~ 0. 850)
pTNM 分期(Ⅰ / Ⅱ vs Ⅲ / Ⅳ)	0. 487	0. 757 (0. 346 ~ 1. 657)
Gli - 1 (阳性 vs 阴性)	0. 100	0. 537 (0. 256 ~ 1. 127)
Snail (阳性 vs 阴性)	0. 961	1. 017 (0. 517 ~ 2. 001)
E - cadherin (阳性 vs 阴性)	0. 028	2. 074 (1. 081 ~ 3. 980)

持中扮演重要角色^[13],在胚胎发育成熟后则进入失活状态,仅在特定部位表达。而近年来的研究发现 Hh 信号通路的异常激活在多种肿瘤中存在,并且还与肿瘤的增殖分化、细胞凋亡、血管新生、侵袭及转移有关^[3]。研究已证实实在包括髓母细胞瘤、脑膜瘤、神经外胚瘤、乳腺癌、食管癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、肝细胞癌等多种肿瘤中存在 Hh 信号通路的异常激活。最新的研究显示胃癌的发生发展也与 Hh 信号通路异常激活相关。上皮间质转化是一种基本的生理病理现象,参与胚胎发育、组织重建和肿瘤转移,上皮细胞表型的缺失及间质特性的获得是其主要特征。

E-cadherin 往往被认为是上皮细胞的标志物,其表达下调则成为了 EMT 的重要标志,多种肿瘤的侵袭转移均与其上皮 E-cadherin 表达减弱有关。越来越多的证据表明上皮-间质转化是许多肿瘤侵袭和转移早期的一个重要过程,这个过程在多种上皮细胞来源的恶性肿瘤侵袭转移过程中发挥了重要作用。现在研究已证实,E-cadherin 表达减弱与侵袭转移在肝癌、胃癌等多种肿瘤中存在相关^[14]。

本研究结果显示,Hh 信号通路中的关键性转录因子 Gli-1 在胃癌组织中的表达较正常胃黏膜组织明显上升,而 EMT 中的 E-cadherin 在胃癌组织中的表达则较正常胃黏膜组织明显下降,其上游调节因子 Snail 的表达则是明显上升。提示在进展期胃癌中,存在 Hh 信号通路的异常激活和 EMT 的发生。而其中 EMT 的发生则提示其可能参与了进展期胃癌的侵袭和转移。

本研究结果显示,Gli-1 的表达与临床病理资料中的胃癌肿瘤浸润深度、淋巴结转移及 pTNM 分期密切相关,而 E-cadherin 及其上游调节因子 Snail 的表达则与胃癌肿瘤的组织学分类、浸润深度、淋巴结转移及 pTNM 分期密切相关。提示 Hh 信号通路的异常激活及 EMT 的发生均与进展期胃癌的浸润、转移等恶性行为密切相关,可能是胃癌恶性行为发生的重要原因之一。而在不同的胃癌类型中,EMT 发生与否则是不尽相同的。

以 E-cadherin 下调为标志的上皮间质转化过程受多种生长因子、转录因子及信号通路的调控。除已知的 Snail 等调节因子外,作为与肿瘤发生、发展和侵袭密切相关的 Hedgehog 信号通路的异常激活,近年来也被证实参与了 EMT 的调控。现有研究证实,在乳腺癌、胰腺癌、胆管癌及子宫内膜癌等多种肿瘤中,Hh 信号通路的异常激活与上皮-间质转化的发生存在关联,并且 Hh 信号通路是 EMT 的上游调控信号^[5-8]。Katoh 等^[15]发现 Hh 信号激活通过 FGF 直接导致 EMT 的发生。Ohta 等通过芯片和反转录技术研究发现 Hh-EMT 信号通路在弥漫性胃癌侵袭、转移过程中起到重要作用,其中 SIP-1 为关键分子,是 Hh 通路的靶基因,参与调控与 EMT 发生有关的分子 TWIST2 和 SNAI2 的表达。本研究结果显示 Hh 信号通路中的 Gli-1 蛋白表达与 EMT 中的 E-cadherin 的上游调控因子 Snail 呈正相关,而与 E-cadherin 本身呈负相关,提示在进展期胃癌中,Hh 信号通路与 EMT 之间存在相关性,由于 Hh 信号通路的异常激活

而下调了 E-cadherin 的表达,进而直接参与 EMT 的发生。

许多研究证实,Hh 信号通路的异常激活及 EMT 的发生均与肿瘤的预后相关。Saze 等发现 Hh 信号通路相关因子的表达与胃癌的预后有关,相关因子的过度表达往往提示预后不良。而 Kim 等也在胃癌患者中发现 EMT 相关蛋白的表达异常与胃癌的预后相关。本研究结果显示,出现 Gli-1、Snail 及 E-cadherin 异常表达的胃癌患者预后均较未出现蛋白异常表达的患者差,提示在进展期胃癌中,Hh 信号通路的异常激活与 EMT 的发生对胃癌患者的预后产生影响,但在多因素分析中仅 E-cadherin 与组织学分类及有无淋巴结转移是影响胃癌患者预后的独立因素,而 Gli-1 及 Snail 则不是影响预后的独立因素,提示在影响胃癌患者预后的众多因素中,Hh 信号通路的异常激活并不是独立发挥作用,而 Snail 作为调节 E-cadherin 表达的上游调节因子,在调节 E-cadherin 表达并对胃癌患者预后的影响中也不是独立发挥作用的。

参考文献

- 1 Lin Y, Ueda J, Kikuchi S, *et al.* Comparative epidemiology of gastric cancer between Japan and China[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17: 4421-4428
- 2 Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence[J]. *Gastric Cancer*, 2007, 10: 75-83
- 3 Yoo YA, Kang MH, Kim JS, *et al.* Sonic hedgehog signaling promotes motility and invasiveness of gastric cancer cells through TGF-beta-mediated activation of the ALK5-Smad3 pathway[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(3): 480-490
- 4 Hugo H, Ackland ML, Blick T, *et al.* Epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions in carcinoma progression[J]. *J Cell Physiol*, 2007, 213(2): 374-383
- 5 Takebe N, Warren RQ, Ivy SP. Breast cancer growth and metastasis: interplay between cancer stem cells, embryonic signaling pathways and epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(3): 211
- 6 Haque I, De A, Majumder M, *et al.* The matricellular protein CCN1/Cyr61 is a critical regulator of sonic hedgehog in pancreatic carcinogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(46): 38569-38579
- 7 ElKhatib M, Kalnytska A, Palagani V, *et al.* Inhibition of hedgehog signaling attenuates carcinogenesis in vitro and increases necrosis of cholangiocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 57(3): 1035-1045
- 8 Wik E, Røder MB, Krakstad C, *et al.* Lack of estrogen receptor- α is associated with epithelial-mesenchymal transition and PI3K alterations in endometrial carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(5): 1094-1105

- 9 Edge SB, Byrd DR, Carolyn CC, *et al.* AJCC Cancer Staging Manual [J]. 7th ed. Chicago, IL: Springer, 2010:117-126
- 10 Ohno T, Aihara R, Kamiyama Y, *et al.* Prognostic significance of combined expression of MUC1 and adhesion molecules in advanced gastric cancer[J]. Eur J cancer. 2006, 42(2):256-263
- 11 Yoshikawa R, Nakano Y, Tao L, *et al.* Hedgehog signal activation in oesophageal cancer patients undergoing neoadjuvantchemoradiotherapy [J]. Br J Cancer, 2008, 98:1670-1674
- 12 Rosivatz E, Becker I, Specht, *et al.* Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP-1, and twist in gastric cancer[J]. Am J Pathol, 2002, 161(5):1881-1891
- 13 Dessaud E, McMahon AP, Briscoe J. Pattern formation in the vertebrate neural tube: a sonic hedgehog morphogen-regulated transcriptional network[J]. Development, 2008, 135(15):2489-2503
- 14 Matsumura T, Makino R, Mitamura K, *et al.* Frequent down-regulation of E-cadherin by genetic and epigenetic changes in the malignant progress of hepatocellular carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(3):594-599
- 15 Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling, epithelial-to-mesenchymal transition and miRNA (review) [J]. Int J Mol Med, 2008, 22(3):271-275

(收稿日期:2013-04-12)

(修回日期:2013-04-23)

血清 miR-21 在良恶性结直肠疾病患者的表达变化研究

宋 燕 何美林 邵东华 赵 媛 梁国威

摘 要 **目的** 探讨血清 miR-21 是否可成为结直肠癌患者的肿瘤标志物。**方法** 以 miR-16 为内参,采用实时荧光定量 PCR 的方法检测 miR-21 在 40 例结直肠癌患者、29 例良性结直肠疾病患者和 27 例健康体检者血清中的相对表达水平。**结果** 与健康体检者比较,血清 miR-21 在良性结直肠疾病时表达量无显著升高 ($P > 0.05$);与健康体检者和良性结直肠疾病患者比较,血清 miR-21 在结直肠癌患者血清中表达量皆显著升高 ($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 miR-21 诊断结直肠癌的曲线下面积为 0.761,特异性为 69.3% 时,敏感度为 75%。进一步分析显示,血清 miR-21 表达量与患者性别、肿瘤发生部位、肿瘤分期、肿瘤分化程度、肿瘤是否发生淋巴结转移和远端转移等无显著相关性 ($P > 0.05$)。**结论** 血清 miR-21 在结直肠癌患者的表达量显著升高,具有肿瘤特异性;血清 miR-21 有望成为结直肠癌的肿瘤分子标志物。

关键词 miR-21 结直肠癌 血清 实时荧光定量 PCR

Expression of Serum miR-21 in Malignant and Benign Colorectal Diseases. Song Yan, He Meilin, Shao Donghua, Zhao Yuan, Liang Guowei. Department of Clinical Laboratory, Aerospace Central Hospital, Beijing 100049, China

Abstract Objective To explore the possibility of serum miR-21 as a novel biomarker for colorectal cancer. **Methods** miR-16 was chosen as normalization control and relative expression of serum miR-21 in 40 CRC, 29 benign colorectal diseases and 27 healthy controls was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. **Results** Relative expression of serum miR-21 showed equal value in benign cases and healthy controls ($P > 0.05$), but significantly elevated in CRC patients compared with other two groups ($P < 0.05$). The square under ROC curve was 0.761. Diagnosis specificity and sensitivity were 69.3% and 75%, respectively. Furthermore, no relationship between serum miR-21 and patients' gender, tumor location, tumor differentiation, tumor stage, status of lymphoid metastasis and distant metastasis were observed. **Conclusion** Serum miR-21 in CRC patients elevated significantly, indicating its tumor specificity. Serum miR-21 seems a candidate tumor biomarker for CRC patients.

Key words miR-21; Colorectal cancer; Serum; Real-time PCR

目前结直肠癌已经是世界范围内第 3 常见肿瘤^[1],但近年来,结直肠癌的发生率和病死率上升趋势都有所下降,主要归因于肿瘤的早期筛查诊断和早期治疗^[2]。作为肿瘤筛查手段,血清肿瘤标志物由

于取样容易,操作简单,肿瘤早期和复发早期即可显著升高等优点更易于临床应用,但是目前临床上使用的结直肠癌肿瘤标志物如 CEA、CA72-4 等普遍存在敏感度低、特异性差等问题^[2]。大量基础研究显示 miR-21 在结直肠癌组织中表达量显著升高,有望成为新的结直肠癌筛查指标^[3-5],但是关于 miR-21 在结直肠癌患者血清中表达情况的相关文献报道

基金项目:航天中心医院院内课题(KY-201021)

作者单位:100049 北京,航天中心医院检验科

通讯作者:梁国威,电子信箱:lgw721@163.com