

# Relationship between Circulating miR-155 and Inflammatory Factors in Gastric Carcinoma and Its Significance in the Diagnosis of Gastric Cancer

Honghai Hong, Jintao Chen, Liying Lin\*

Department of Clinical Laboratory, Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou Guangdong  
Email: [gaolaosao@126.com](mailto:gaolaosao@126.com)

Received: Jun. 8<sup>th</sup>, 2017; accepted: Jun. 24<sup>th</sup>, 2017; published: Jun. 27<sup>th</sup>, 2017

## Abstract

**Objective:** To investigate the correlation between miR-155 and inflammatory factors in gastric cancer and its significance in the diagnosis of gastric cancer. **Methods:** The relative expression of miR-155 in serum of patients with gastric cancer detected by qRT-PCR; ELISA analysis the secretion of inflammatory cytokines including IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 in gastric cancer cell line SGC-7901, silencing miR-155 by small molecule interference. **Results:** The level of miR-155 in serum of patients with gastric cancer was significantly higher than that in healthy people, and ROC curve analysis showed that the serum miR-155 had a better diagnostic value in the diagnosis of gastric cancer. In addition, inflammatory cytokines IL-6, IL-8 levels were positively correlated with serum miR-155 level in serum of patients with gastric cancer; silencing of miR-155 inhibited inflammatory factor IL-1beta, IL-6, IL-8 secretion in gastric cancer cells. **Conclusion:** The level of miR-155 in serum is of significance in the diagnosis of gastric cancer, and it can regulate the secretion of inflammatory factors IL-1beta, IL-6 and IL-8 in gastric cancer.

## Keywords

Gastric Cancer, miR-155, Inflammatory Factor

# 循环miR-155与胃癌炎症因子相关性分析及在胃癌诊断中意义研究

洪宏海, 陈金桃, 林丽英\*

广州医科大学附属第三医院检验科, 广东 广州  
\*通讯作者。

**文章引用:** 洪宏海, 陈金桃, 林丽英. 循环 miR-155 与胃癌炎症因子相关性分析及在胃癌诊断中意义研究[J]. 世界肿瘤研究, 2017, 7(3): 69-74. <https://doi.org/10.12677/wjcr.2017.73011>

Email: gaolaosao@126.com

收稿日期: 2017年6月8日; 录用日期: 2017年6月24日; 发布日期: 2017年6月27日

## 摘要

**目的:** 血中miR-155与胃癌炎症因子相关性分析及其在胃癌诊断中意义研究。**方法:** qRT-PCR检测胃癌病人血清中miR-155相对表达; 小分子干扰RNA干扰miR-155后研究其对胃癌细胞株SGC-7901炎症因子分泌作用; ELISA检测炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8水平。**结果:** 胃癌病人血清中miR-155水平明显高于健康人血清中miR-155水平, 且ROC曲线分析表明血清中miR-155对胃癌诊断具有较好的诊断价值。此外, 胃癌病人血清中miR-155水平与炎症因子IL-6、IL-8水平呈正相关; 在胃癌细胞中SGC-7901干扰miR-155后明显抑制胃癌细胞SGC-7901炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8分泌。**结论:** 血清中miR-155水平对胃癌具有诊断意义, 且其调控胃癌炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8分泌。

## 关键词

胃癌, miR-155, 炎症因子

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

胃癌是常见的肿瘤, 胃癌发病率在全球恶性肿瘤的排4位, 死亡率高, 仅次于肺癌[1]。近年来, 胃癌发病率呈逐年上升趋势。胃癌发生、发展和转移分子机制研究很多, 其中炎症反应是胃癌重要发病机制之一[2]。以外科手术为主的综合治疗是目前胃癌治疗最有效的手段, 但是有一部分病人在切除原位癌之后仍会复发或转移[3]。研究表明, 胃癌早期诊断和手术对胃癌预后和复发至关重要[3]。但是, 目前并没有有效的胃癌筛选标志物。因此, 寻找有效的、无创的胃癌标志物尤为重要。

微小RNA (MicroRNAs, miRs)是近年来在真核生物中发现的一类内源性非编码小分子单链RNA, 其长度约22个核苷酸, 其通过与靶mRNA 3'非编码区(3'untranslated regions, 3'-UTR)结合, 导致靶mRNA降解和翻译抑制, 从而调控靶基因的表达[4]。微小RNA参与许多生理过程中, 比如肿瘤发生和转移、细胞凋亡和增殖等[4]。最近研究表明微小RNA也可以分泌到血液或是体液中, 在疾病诊断中起着重要作用[5]。但是, 血液中微小RNA在胃癌中诊断价值及功能作用尚未清楚。miR-155在许多肿瘤中表达异常, 研究表明其参与到肿瘤转移、老年痴呆免疫调节、炎症疾病等过程[6][7]。但是, 血液中miR-155在胃癌中诊断意义以及在胃癌炎症中调控尚未清楚。在本论文中, 我们将研究胃癌病人血液中miR-155的表达及其在胃癌诊断意义。此外, 也研究胃癌病人血液中miR-155与炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8相关性分析及其对炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8的分泌影响。

## 2. 材料与方法

### 1) 标本收集

胃癌病人血清和健康人血清来自广州医科大学附属第三医院检验科。所有病人资料和标本收集都严

格按照广州医科大学伦理委员会相关规定。

## 2) 试剂和耗材

IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$  ELISA 检测试剂盒购自 BD 公司。用于荧光定量 PCR 的 SYBER Green 试剂盒来自 Takara 公司。miR-155 小分子干扰片段购自锐博公司。转染试剂 Lipo2000 购自 Invitrogen 公司。SGC-7901 细胞培养液购 Hyclone 公司。细胞培养皿购自康宁公司。RNA 提取试剂盒购自康为世纪。

## 3) 微小 miR-155 干扰实验

miR-155 小分子干扰片段购自锐博公司。

miR-155 干扰实验具体方案如下：SGC-7901 细胞种植于六孔板中，待其融合度为 50%~60%时候，用 Lipo2000 转染试剂转染 miR-155 小分子干扰片段，48 小时后收集细胞培养上清，用 ELISA 试剂盒检测炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 水平。

## 4) qRT-PCR 实验

qRT-PCR 用来检测血清中 miR-155 相对表达水平。具体实验如下：收集健康人和胃癌病人血清标本各 30 例，3000 转离心后，取 500  $\mu$ l 血清提取 RNA，逆转录为 cDNA，用 Takara 公司的 SYBER green 试剂盒进行实时荧光 PCR 实验。PCR 条件为：95 $^{\circ}$ C 30 s，1 个循环；PCR 反应，95 $^{\circ}$ C 5 s，60 $^{\circ}$ C 15 s，45 个循环；溶解，95 $^{\circ}$ C 0 s，65 $^{\circ}$ C 20 s，95 $^{\circ}$ C 0 s，1 个循环。PCR 结束后，根据反应得到的 Cp 值，使用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法的分析计算相对表达水平，以标准曲线进行校正。参照基因为合成的 cel-miR-39 (*C. elegans* miR-39 miRNA mimic: 5'-UCACCGGGUGUAAAUCAGCUUG-3')，最后计算出样品中各 mRNA 的相对浓度。

## 5) 统计学分析

采用 SPSS17.0 软件进行统计学处理。计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示。胃癌病人和健康人血清中 miR-155 相对表达水平和胃癌细胞 SGC-7901 分泌炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 水平采用 t 检验。ROC 曲线分析用来判断血清中 miR-155 对胃癌诊断价值。 $P < 0.05$  表示具有统计学意义。

# 3. 实验结果

## 1) 胃癌病人血清中 miR-155 水平升高且具有诊断价值

为了检测胃癌病人血清中 miR-155 水平，我们收集了 30 例胃癌病人血清和 30 例健康人血清，用 qRT-PCR 检测 miR-155 水平。结果显示，与健康人相比，胃癌病人血清中 miR-155 水平明显高于健康人水平(图 1(a))。此外，为了验证血清中 miR-155 水平对胃癌病人的诊断价值，我们也进行了 ROC 曲线分析。结果显示，AUC 面积为 0.935，表明血清中 miR-155 水平对胃癌诊断具有较好价值(图 1(b))。同时 ROC 曲线分析表明血清中 miR-155 对胃癌诊断敏感性和特异性分别为 93.3%和 83.3%；95%置信区间为 0.874-0.996 (图 1(c))。

## 2) 胃癌病人血清中 miR-155 水平和血清中炎症因子 IL-6、IL-8 水平呈正相关

为了进一步研究血清 miR-155 与胃癌病人炎症的关系，我们首先收集胃癌病人血清，检测胃癌病人血清中炎症因子 L-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 水平，然后用 miR-155 与胃癌血清炎症因子进行相关性分析。相关性分析发现，胃癌病人血清 miR-155 与胃癌患者血清炎症因子 IL-6 和 IL-8 呈正相关，但是，胃癌病人血清 miR-155 与 IL-1 $\beta$  没有相关性(图 2(a)~(c))。表明胃癌病人血清 miR-155 与胃癌病人炎症密切联系，可能调控胃癌炎症反应。

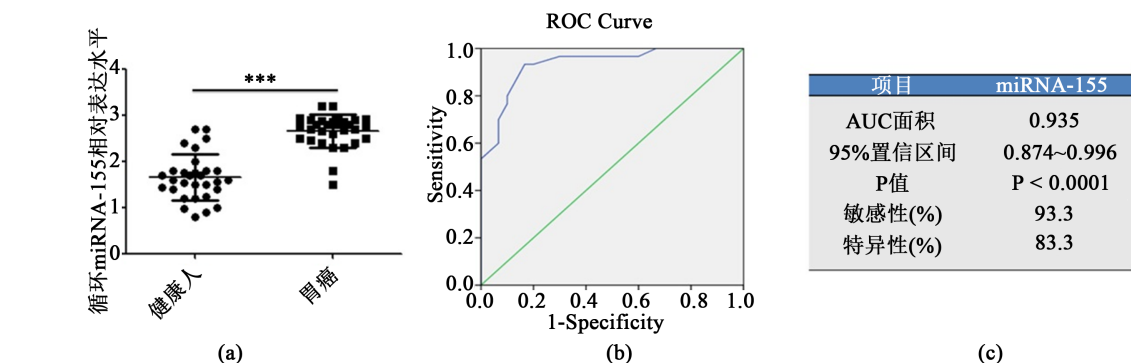
## 3) 胃癌细胞 SGC-7901 中干扰 miR-155 后炎症因子分泌减少

上面结果提示了血清 miR-155 水平与胃癌病人血清炎症因子密切相关，我们进一步研究 miR-155 对胃癌细胞炎症因子分泌的作用。我们在胃癌细胞 SGC-7901 中干扰 miR-155 后收集细胞培养上清，检测炎症因子 L-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-8 水平。我们发现炎症因子 L-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-8 分泌水平明显上调(图 3(a)~(c))，

表明微小 miR-155 参与胃癌炎症反应，调控炎症因子的分泌。

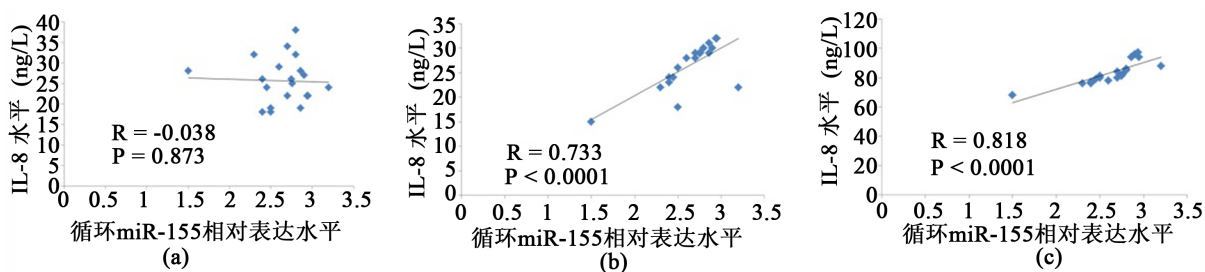
#### 4. 讨论

胃癌是常见的肿瘤，胃癌发病率在全球恶性肿瘤排名前列[1]。虽然随着技术和药物发展，胃癌病人预后和生活状态得到很大改善，但是，胃癌术后 5 年生存率仍然不到 30% [8]。研究表明胃癌及早诊断和



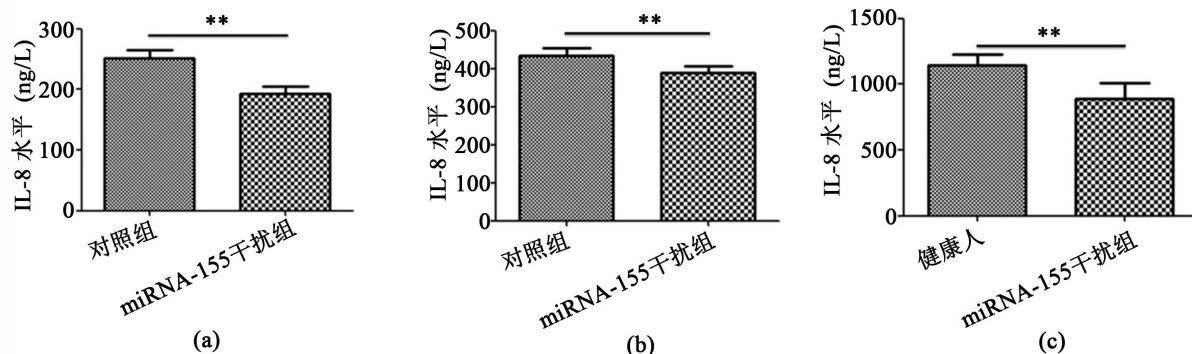
(a) 胃癌病人血清中 miR-155 相对表达水平 (n = 30)。\*\*\* < 0.001。(b) ROC 曲线分析血清 miR-155 对胃癌的诊断价值。(c) ROC 曲线分析血清 miR-155 对胃癌诊断的相关指标。

**Figure 1.** miR-155 expression and ROC curve analysis in gastric cancer patients  
**图 1.** 胃癌病人血清 miR-155 相对表达和 ROC 曲线分析



(a) 胃癌病人血清 miR-155 水平和血清中炎症因子 IL-1 $\beta$  无相关性 (P = 0.873)。(b) 胃癌病人血清 miR-155 水平和血清中炎症因子 IL-6 呈正相关 (P < 0.0001)。(c) 胃癌病人血清 miR-155 水平和血清中炎症因子 IL-8 呈正相关 (P < 0.0001)。

**Figure 2.** Correlation analysis of serum miR-155 levels and levels of inflammatory cytokines in patients with gastric cancer  
**图 2.** 胃癌病人血清 miR-155 水平和血清中炎症因子水平相关性分析



(a) 干扰 miR-155 后胃癌细胞 SGC-7901 炎症因子 L-1 $\beta$  的分泌。\*\* < 0.01。(b) 干扰 miR-155 后胃癌细胞 SGC-7901 炎症因子 IL-6 的分泌。\*\* < 0.01。(c) 干扰 miR-155 后胃癌细胞 SGC-7901 炎症因子 IL-8 的分泌。\*\* < 0.01。

**Figure 3.** Secretion of inflammatory cytokines in gastric cancer cell line SGC-7901 after interfering with miR-155  
**图 3.** 胃癌细胞 SGC-7901 中干扰 miR-155 后炎症因子的表达和分泌

治疗明显改善胃癌病人预后和延长其生存期[9]。因此,寻找有效的、无创的胃癌诊断标志物极为重要。在本论文中,我们发现胃癌病人血清中微小 miR-155 水平明显升高,且对胃癌的诊断具有较好的价值,进一步研究表明 miR-155 可调控胃癌炎症因子的分泌,提示着 miR-155 不仅在胃癌诊断中具有意义,也在胃癌炎症反应中起着重要作用。

微小 RNA 是一类内源性非编码小分子单链 RNA,其长度约 22 个核苷酸,通过与靶 mRNA 非编码区结合,导致靶 mRNA 降解,从而调控靶基因的表达[4]。微小 RNA 参与到许多疾病过程中,比如肿瘤发生和转移、细胞凋亡和增殖等[4]。最近研究表明微小 RNA 也可以分泌到血液或是体液中,是疾病诊断的重要标志物之一[5]。胃癌血液中微小 RNA 研究尚少,且其功能尚未清楚。miR-155 参与许多疾病过程中,比如肿瘤转移、老年痴呆免疫调节、炎症疾病等过程[6] [7]。最近研究 miR-155 也存在于血清中,是乳腺癌诊断的潜在标志物[10]。我们研究发现胃癌血清中同样存在微小 miR-155,其表达水平明显高于健康人血清水平,结果类似于乳腺癌病人血清水平[10]。为了进一步研究血清 miR-155 在胃癌诊断中的意义,我们进行了 ROC 曲线分析。我们发现血清 miR-155 对胃癌诊断具有较好的价值(AUC = 0.935),这些结果提示着血清 miR-155 可能成为诊断胃癌的潜在标志物之一,具有重要的临床意义。胃癌的发病机制尚未完全阐明,其发生、发展是一个多因素、多阶段、多步骤的过程,是遗传因素、环境因素和生物因素共同作用的结果[11]。越来越多的研究表明炎症反应和炎症因子在胃癌发生发展起着关键作用,如 IL-1 $\beta$  调控免疫功能促进胃癌转移、IL-6 通过其受体促进胃癌增殖等[12] [13]。研究表明 miR-155 参与许多疾病的炎症反应中,在炎症反应中起着重要作用。为了研究 miR-155 与胃癌炎症反应,我们首先检测胃癌病人血清中炎症因子 L-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-8 水平,然后与胃癌病人血清 miR-155 水平进行相关性分析。我们发现胃癌病人血清 miR-155 水平与炎症因子 IL-6 和 IL-8 水平正相关,表明其与胃癌炎症反应密切联系,可能调控胃癌炎症反应。但是,胃癌病人血清 miR-155 水平与 IL-1 $\beta$  水平没有相关性,可能是因为我们收集胃癌病例数太少的原由,具体原因还待进一步分析。此外,为了更进一步研究 miR-155 与胃癌炎症反应的关系,我们在胃癌细胞株 SGC-7901 上干扰 miR-155,然后检测炎症因子 L-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-8 分泌水平。我们发现干扰 miR-155 后,抑制了胃癌细胞 SGC-7901 炎症因子 L-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-8 分泌,表明 miR-155 参与胃癌炎症反应中,可能在胃癌转移和增殖中起着重要作用。但是,在动物模型和细胞水平上,miR-155 胃癌转移和增殖作用 and 具体分子机制还待进一步研究。

总之,在这篇论文中,我们实验结果证明胃癌病人血清 miR-155 表达升高,且对胃癌诊断具有较好价值;此外,胃癌病人血清 miR-155 水平和炎症因子呈正相关,干扰 miR-155 后抑制炎症因子的分泌。此研究为胃癌诊断提供了新的标志物和阐明 miR-155 对胃癌炎症因子调控作用,具有一定的临床意义。

## 参考文献 (References)

- [1] Zhang, T., *et al.* (2013) Overexpression of Methionine Adenosyltransferase II Alpha (MAT2A) in Gastric Cancer and Induction of Cell Cycle Arrest and Apoptosis in SGC-7901 Cells by shRNA-Mediated Silencing of MAT2A Gene. *Acta Histochemica*, **115**, 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2012.03.006>
- [2] Nathan, C. and Ding, A. (2010) Nonresolving Inflammation. *Cell*, **140**, 871-882. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029>
- [3] Narita, Y. and Muro, K. (2017) Challenges in Molecular Targeted Therapy for Gastric Cancer: Considerations for Efficacy and Safety. *Expert Opinion on Drug Safety*, **16**, 319-327. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1273348>
- [4] Guo, H., *et al.* (2010) Mammalian microRNAs Predominantly Act to Decrease Target mRNA Levels. *Nature*, **466**, 835-840. <https://doi.org/10.1038/nature09267>
- [5] Baulande, S., Criqui, A. and Duthieuw, M. (2014) Circulating miRNAs as a New Class of Biomedical Markers. *Med Sci (Paris)*, **30**, 289-296. <https://doi.org/10.1051/medsci/20143003017>
- [6] Hessam, S., *et al.* (2017) Expression of miRNA-155, miRNA-223, miRNA-31, miRNA-21, miRNA-125b, and miRNA-146a in the Inflammatory Pathway of Hidradenitis Suppurativa. *Inflammation*, **40**, 464-472. <https://doi.org/10.1007/s10753-016-0492-2>

- [7] Song, J. and Lee, J.E. (2015) miR-155 Is Involved in Alzheimer's Disease by Regulating T Lymphocyte Function. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **7**, 61. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00061>
- [8] Chung, H.W. and Lim, J.B. (2014) Role of the Tumor Microenvironment in the Pathogenesis of Gastric Carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, **20**, 1667-1680. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i7.1667>
- [9] Harada, K., *et al.* (2017) Global Chemotherapy Development for Gastric Cancer. *Gastric Cancer*, **20**, 92-101. <https://doi.org/10.1007/s10120-016-0655-8>
- [10] Shaker, O., *et al.* (2015) Role of microRNAs-29b-2, -155, -197 and -205 as Diagnostic Biomarkers in Serum of Breast Cancer Females. *Gene*, **560**, 77-82. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.01.062>
- [11] Strand, M.S., Lockhart, A.C. and Fields, R.C. (2017) Genetics of Gastric Cancer. *Surgical Clinics of North America*, **97**, 345-370. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2016.11.009>
- [12] Fettelschoss, A., *et al.* (2011) Inflammasome Activation and IL-1beta Target IL-1alpha for Secretion as Opposed to Surface Expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **108**, 18055-18060. <https://doi.org/10.1073/pnas.1109176108>
- [13] Lukaszewicz-Zajac, M., Mroczko, B. and Szmikowski, M. (2010) The Role of Interleukin-6 and C-Reactive Protein in Gastric Cancer. *Polski Merkurusz Lekarski*, **29**, 382-386.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [wjcr@hanspub.org](mailto:wjcr@hanspub.org)