doi:10.11659/jjssx.10E022011

·临床研究·

胃癌血清miR-375和CHSY1表达与幽门螺杆菌感染的相关性研究

蔡沾焕,陈 升,王艳良 (儋州市人民医院/海南医学院附属儋州医院普通外科,海南 儋州 571700)

[摘 要] **目的** 探讨胃癌血清miR-375和硫酸软骨素酶1(CHSY1)表达水平与幽门螺杆菌(Hp)感染的相关性。**方法** 选取2018年6月至2021年6月我院收治的胃癌患者96例设为胃癌组,另选取同期在我院就诊的慢性浅表性胃炎患者68例设为对照组。采用^{13}C呼气试验检测Hp感染情况,根据Hp的感染密度将患者分为Hp轻度组(25例)、Hp中度组(30例)、Hp重度组(26例)。采用qPT-PCR测定血清中miR-375和CHSY1 mRNA表达水平。*Spearman*相关性分析血清中miR-375和CHSY1表达水平与胃癌患者Hp感染的相关性。**结果** 与对照组相比,胃癌组Hp感染阳性率显著较高($P<0.05$),Hp阴性及Hp阳性患者血清中miR-375表达水平均显著降低($P<0.05$),CHSY1 mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$)。胃癌组及对照组Hp阳性患者血清中miR-375表达水平低于Hp阴性患者,CHSY1 mRNA表达水平高于Hp阴性患者($P<0.05$)。随着Hp的感染程度增加,miR-375的表达水平呈降低趋势($P<0.05$),CHSY1 mRNA的表达水平呈升高趋势($P<0.05$)。*Spearman*相关性分析结果显示,血清中miR-375表达水平与胃癌患者Hp感染呈负相关($r=-0.648$,$P<0.001$),CHSY1 mRNA表达水平与胃癌患者Hp感染呈正相关($r=0.534$,$P<0.001$)。**结论** 胃癌患者血清中miR-375表达水平降低,CHSY1表达水平升高,且与Hp感染密切相关。

[关键词] 幽门螺杆菌;胃癌;miR-375;硫酸软骨素酶1
[中图分类号] R446;R573.3+2 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-10-08

Correlation between serum miR-375 and CHSY1 expression and helicobacter pylori infection in gastric cancer

CAI Zhan-huan, CHEN Sheng, WANG Yan-liang (Department of General Surgery, Danzhou People's Hospital/Danzhou Hospital Affiliated to Hainan Medical College, Danzhou Hainan 571700, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between serum miR-375 and chondroitin sulfate synthase 1 (CHSY1) expression levels and helicobacter pylori (Hp) infection in gastric cancer. **Methods** A total of 96 patients with gastric cancer admitted to our hospital from June 2018 to June 2021 were selected as the gastric cancer group, and 68 patients with chronic superficial gastritis admitted to our hospital during the same period were selected as the control group. The ^{13}C breath test was performed to detect the Hp infection. According to the Hp infection density, patients were divided into the Hp mild group (25 cases), the Hp moderate group (30 cases), and the Hp severe group (26 cases). The expression levels of miR-375 and CHSY1 mRNA in serum were determined by qPT-PCR. *Spearman* correlation was applied to analyze the correlation between the expression levels of miR-375 and CHSY1 in serum and Hp infection in patients with gastric cancer. **Results** Compared with the control group, the positive rate of Hp infection in the gastric cancer group was significantly higher ($P<0.05$), the expression levels of miR-375 in serum of HP-negative and HP-positive patients were significantly decreased ($P<0.05$), and the expression levels of CHSY1 mRNA were significantly increased ($P<0.05$). The expression levels of miR-375 in serum of Hp-positive patients in the gastric cancer group and the control group were lower than that of Hp-negative patients ($P<0.05$), and the expression levels of CHSY1 mRNA were higher than that of Hp-negative patients ($P<0.05$). With the increase of the degree of Hp infection, the expression level of miR-375 decreased and the expression level of CHSY1 mRNA increased ($P<0.05$). The results of *Spearman* correlation analysis showed that the expression level of miR-375 in serum was negatively correlated with Hp infection in patients with gastric cancer ($r=-0.648$, $P<0.001$), and the expression level of CHSY1 mRNA was positively correlated with Hp infection in patients with gastric cancer ($r=0.534$, $P<0.001$). **Conclusion** The expression level of miR-375 in serum of patients with gastric cancer decreases, and the expression level of CHSY increases, both of which are closely related to Hp infection.

Keywords: helicobacter pylori; gastric cancer; miR-375; chondroitin sulfate synthase 1

幽门螺杆菌(helicobacter pylori,Hp)可以触发胃部的体液和细胞免疫反应[1]。Hp感染与胃癌发病密切相关,因此寻找与Hp感染相关的指标对指导胃癌的治疗具有重要意义。有研究证实,miRNA表达水平的变化会引起胃癌发生,与胃黏膜细胞相比,胃癌细胞中miR-375表达较低,且Hp感染后miR-375表达下调,表明miR-375在Hp感染胃癌中起重要作用[2-3]。研究表明,下调miR-375可促进胃癌细胞的增殖[4]。硫酸

[基金项目] 2022海南省自然科学基金立项项目(822RC876)
[通信作者] 王艳良,E-mail:svbri08@163.com

软骨素酶1(chondroitin sulfate synthase 1,CHSY1)参与胃癌的发生发展[5]。临床组织样本的免疫组化分析和公共数据库的数据挖掘显示,CHSY1在胃癌中显著上调,且与肿瘤分期较晚、预后较差相关[6]。然而,目前对于胃癌患者miR-375和CHSY1表达与Hp感染的关系还未完全阐明,本研究通过分析胃癌患者血清中miR-375和CHSY1的表达水平,探讨二者与Hp感染的相关性,以期为胃癌患者的早期诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年6月至2021年6月我院收治的胃癌患者96例设为胃癌组,另选取同期在我院就诊的慢性浅表性胃炎患者68例设为对照组。2组患者一般资料无显著差异(P>0.05),具有可比性。胃癌患者纳入标准:①符合《胃癌:诊断和治疗方案的选择》[7]的标准;②首次确诊为胃癌。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②近3个月有外科手术、放射治疗或内窥镜手术史;③具有炎症性疾病或免疫性疾病;④近6个月服用过抗生素或抗炎、胃黏膜保护类药物。本研究已经通过我院医学伦理委员会审核批准(18-00516),所有患者均签署知情同意书。

1.2 Hp感染检测

采用^{13}C呼气试验测定清晨空腹状态下所有患者Hp感染情况。空腹服用^{13}C尿素胶囊30 min后通过红外光谱仪进行呼气,呼出气体中^{13}C原子峰大于基线5%时即为Hp阳性感染[8]。

Hp感染密度检测[9]:在术中取适量胃癌患者距离幽门2 cm的胃黏膜组织,光学显微镜下进行病理诊断,油镜下根据Hp的感染密度将患者分为Hp轻度组(轻度Hp感染,密度≤1/3)、Hp中度组(中度Hp感染,密度>1/3~<2/3)、Hp重度组(重度Hp感染,密度≥2/3)。

1.3 miR-375和CHSY1 mRNA表达水平检测

分别采集胃癌组患者入院后第2天清晨和对照组患者就诊当日清晨空腹静脉血3 mL,离心,分离上清,将血清储存于-80 ℃,避免反复冻融。利用TRIzol试剂提取血清总RNA。利用PrimeScript RT试剂盒合成cDNA。qRT-PCR分析miR-375和CHSY1 mRNA的表达水平,采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法进行分析。反应体系共12 μL:miScript SYBR® Green Mix 6 μL,cDNA 1 μL,上下引物各0.8 μL,ddH_2O 3.4 μL。反应条件:95 ℃ 90 s,95 ℃ 30 s,63 ℃ 30 s,72 ℃ 15 s,40个循环。分别以U6、GAPDH为内参。本研究引物由北京擎科生物公司合成,引物序列见表1。

表1 引物序列

基因	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)
miR-375	GGCTCTAGAGGGACGAAGC	GGCAAGCTTTTTCCACACCTCAGCCTTG
CHSY1	GTTACATGCTCAGCCGCAAG	TCACGCGTCTGTAGCCATAC
U6	GCTTCACGAATTTGCGTGT	GCTTCGGCAGCACATATAC
GAPDH	ACAGCAACAGGGTGGTGGAC	TTTGAGGGTGCAGCGAACTT

1.4 统计学处理

采用SPSS 25.0统计软件处理数据,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验,组内比较采用配对样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用*SNK-q*检验。计数资料以率(%)表示,组间比较采用χ^2检验。*Spearman*相关性分析血清中miR-375和CHSY1表达水平与胃癌患者Hp感染的相关性。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Hp感染检测结果

胃癌组96例患者中,Hp阳性81例(84.38%);对照组68例患者中,Hp阳性30例(44.12%)。胃癌组Hp感染阳性率显著高于对照组(χ^2=29.493,P<0.001)。

2.2 miR-375和CHSY1 mRNA表达水平比较

胃癌组Hp阴性及Hp阳性患者血清中miR-375表达水平低于对照组(P<0.05),CHSY1 mRNA表达水平均高于对照组(P<0.001)。胃癌组及对照组Hp阳性患者血清中miR-375表达水平低于Hp阴性患者(P<0.05),CHSY1 mRNA表达水平高于Hp阴性患者(P<0.05),见表2。

表2 miR-375和CHSY1 mRNA表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Hp阴性		Hp阳性	
		miR-375	CHSY1	miR-375	CHSY1
胃癌组	96	0.88±0.12	1.25±0.13	0.76±0.08*	1.48±0.24#
对照组	68	0.95±0.08	1.12±0.06	0.85±0.15*	1.26±0.12#
t		2.476	5.007	4.074	4.794
P		0.017	<0.001	<0.001	<0.001

*:与Hp阴性miR-375比较,P<0.05;#:与Hp阴性CHSY1比较,P<0.05

2.3 不同Hp感染患者血清中miR-375和CHSY1 mRNA表达水平

油镜结果显示,8例Hp阳性感染胃癌患者Hp轻度感染25例,Hp中度感染30例,Hp重度感染26例。

Hp阳性患者随着Hp的感染程度增加，miR-375的表达水平呈降低趋势（$P<0.05$），CHSY1 mRNA的表达水平呈升高趋势（$P<0.05$），见表3。

表3 不同Hp感染患者血清中miR-375和CHSY1 mRNA表达水平（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	miR-375	CHSY1
Hp轻度组	25	0.86±0.09	1.26±0.24
Hp中度组	30	0.75±0.08*	1.48±0.24*
Hp重度组	26	0.66±0.07*#	1.68±0.23*#
F		39.662	20.046
P		<0.001	<0.001

*：与Hp轻度组比较，$P<0.05$；#：与Hp中度组比较，$P<0.05$

2.4 胃癌患者Hp感染与血清miR-375和CHSY1表达水平的相关性分析

*Spearman*相关性分析结果显示，血清中miR-375表达水平与胃癌患者Hp感染呈负相关（$r=-0.648$，$P<0.001$），血清中CHSY1表达水平与胃癌患者Hp感染呈正相关（$r=0.534$，$P<0.001$）。

3 讨论

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一，进展快，预后差。全世界约有40亿人感染Hp，其在复杂的胃环境中定居可破坏胃黏膜，导致宿主胃部炎症反应，引起消化性溃疡和慢性胃炎甚至是胃癌[10-11]。因此，寻找与胃癌患者Hp感染有关的生物标志物，对于胃癌的早期临床治疗和预防具有重要的意义。

胃癌中miR-375的表达较胃炎下调，且Hp感染下的胃上皮细胞和胃癌细胞中miR-375表达下调[4,12]。miR-375已被证明可通过JAK2-STAT3信号通路调控胃癌组织中PD-L1的表达，从而调控癌症转移[13]。本研究结果显示，胃癌组Hp阴性及Hp阳性患者血清中miR-375表达水平显著低于对照组，且胃癌组及对照组Hp阳性患者血清中miR-375表达水平低于Hp阴性患者，与以往研究结果一致[12]，提示miR-375表达水平对Hp感染胃癌患者的评估具有重要意义。同时，本研究*Spearman*相关性分析显示胃癌患者血清中miR-375表达水平与Hp感染呈负相关，提示miR-375水平与Hp感染密切相关，检测miR-375表达水平有助于预测Hp感染的发生，从而可对Hp感染胃癌患者进行早期预防及治疗。

CHSY1是一种介导硫酸软骨素聚合步骤的酶[14]。有研究表明，CHSY1基因敲除可抑制结直肠癌细胞增殖、集落形成、迁移，并促进细胞凋亡[5]。CHSY1基因敲除的胃癌细胞在体内的成瘤性降低，肿瘤生长减慢[15]。CHSY1对于胃癌的发生具有促进作用，可作为判断患者预后的新指标，以及胃癌治疗的新靶点[7,16]。有研究发现，CHSY1在肝细胞癌中频繁上调，可增强细胞生长、迁移、侵袭和上皮-间质转化[17]。本研究结果显示，胃癌组Hp阴性及Hp阳性患者血清CHSY1表达水平均显著高于对照组，且胃癌组及对照组Hp阳性患者血清中CHSY1表达水平高于Hp阴性患者，推测CHSY1可能发生促癌作用，且其表达与胃癌患者Hp感染有关。同时，本研究*Spearman*相关性分析显示血清中CHSY1表达水平与胃癌患者Hp感染呈正相关，表明胃癌患者Hp感染与CHSY1表达水平有关，其有望成为胃癌患者Hp感染相关的生物学指标。

综上所述，在胃癌患者血清中miR-375表达水平降低，CHSY1表达水平升高，miR-375表达与胃癌患者Hp感染严重程度呈负相关，CHSY1表达与Hp感染严重程度呈正相关。但由于本研究样本量较少，研究结果有待更多研究来证实。

［参考文献］

［1］吴登攀，丁春慧，石 韦. 抗幽门螺旋杆菌卵黄抗体治疗胃幽门螺旋杆菌感染的体内实验研究[J]. 世界临床药物，2021，42(5)：350-354. doi：10.13683/j.wph.2021.05.006.

［2］丁立贤，刘 明，李国东. 长链非编码RNA-MALAT1在胃癌中的研究进展[J]. 肿瘤学杂志，2020，26(8)：665-668. doi：10.11735/j.issn.1671-170X.2020.08.B001.

［3］何 萌. miR-375在幽门螺旋杆菌诱导胃癌上皮间质转化中的调控机制研究[D]. 银川：宁夏医科大学，2021. doi：10.27258/d.cnki.gnxyc.2021.000466.

［4］李凤山，王振勇，柴 伟，等. miR-375靶向调控JAK2表达抑制胃癌细胞增殖、侵袭与迁移[J]. 中国现代普通外科进展，2020，23(9)：673-678. doi：10.3969/j.issn.1009-9905.2020.09.001.

［5］Zeng L, Qian J, Luo X, et al. CHSY1 promoted proliferation and suppressed apoptosis in colorectal cancer through regulation of the NF-κB and/or caspase-3/7 signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2018, 16(5): 6140-6146. doi:10.3892/ol.2018.9385.

［6］Jing T, Ling L, Mohammad S, et al. Loss of CHSY1, a secreted FRINGE enzyme, causes syndromic brachydactyly in humans via increased NOTCH signaling[J]. Am J Hum Genet, 2021, 87(6): 768-778. doi：10.1016/j.ajhg.2010.11.005.

［7］Layke JC, Lopez PP. Gastric cancer: diagnosis and treatment options[J]. Am Fam Physician, 2004, 69(5): 1133-1140.

［8］饶向东，刘振宇，汤红亮，等. 胃癌患者血清miR-181b和PDCD4水平表达与幽门螺杆菌感染的关系[J]. 现代检验医学杂志，2021，361(4)：1-4. doi：10.3969/j.issn.1671-7414.2021.04.001.

［9］路娜娜，马龙飞，李 俊，等. 2型糖尿病并发Hp感染患者胃溃疡易感性与白细胞介素8和核因子κB1基因多态性[J]. 中华医院感染学杂志，2021，31(10)：1537-1541. doi：10.11816/cn.ni.2021-203257.

［10］刘 慧，米 杰，修方睿，等. 不同Hp感染情况的慢性肾脏病胃肠功能紊乱患者血清TNF-α，IL-6水平观察[J]. 山东医药，2021，61(20)：68-71. doi：10.3969/j.issn.1002-266X.2021.20.017.