肿瘤精准医学与转化研究

DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003782

循环外泌体源性微RNA用于胃癌早期诊断的筛选和鉴定

李　燕[1]，杨　柳[1]，张　勇[2]，刘泳渝[1]，李宗鑫[1]，韩宏艳[1]，邓　昆[1]
（1.重庆医科大学附属第三医院检验科，重庆　401120；
2.重庆大学生物工程学院生物流变科学与技术教育部重点实验室，重庆　400044）

【摘　要】目的：通过筛查外周血中肿瘤特异性来源的外泌体中的微RNA，建立一种新的胃癌早期诊断方法。**方法：**从基因表达综合数据库中下载胃癌外泌体数据集GSE148334和GSE130654，以logFC>1或logFC<−1，P<0.05为标准筛选差异RNAs；通过TargetScan和ENCORI数据库预测mRNA−miRNA−lncRNA之间的调控关系，用Cytoscape软件绘制ceRNA网络并筛选Hub基因进行验证。纳入27例早期胃癌患者、25例健康对照和25例其他癌症患者为研究对象，通过超速离心法分离血清外泌体。提取血清和外泌体样本中的RNA进行实时荧光定量聚合酶链式反应（real−time quantitative polymerase chain reaction，RT−qPCR）试验，分析Hub基因在各组的表达情况。**结果：**通过生物信息学方法筛选出3个Hub基因*hsa−miR−105−5p*、*hsa−miR−219b−3p*和*hsa−miR−889−3p*，RT−qPCR结果显示*hsa−miR−219b−3p*在胃癌组血清和外泌体样本中的表达均明显高于健康对照组和其他癌组（血清：4.050 ± 2.697，1.357 ± 0.857，1.934 ± 2.434；外泌体：2.525 ± 1.518，0.774 ± 0.559，1.259 ± 2.127），差异有统计学意义（P<0.05），而*hsa−miR−105−5p*和*hsa−miR−889−3p*在胃癌组和其他两组之间表达差异无统计学意义（P>0.05）。外泌体hsa−miR−219b−3p的受试者工作特征曲线下面积为0.896（95%CI=0.800~0.993），明显优于传统肿瘤标志物癌胚抗原（P=0.015）、糖类抗原19−9（P=0.021）和糖类抗原72−4（P=0.005），所以外泌体hsa−miR−219b−3p在胃癌患者中具有更优的诊断效能。**结论：**血清外泌体来源的hsa−miR−219b−3p有作为早期胃癌诊断标志物的潜力。

【关键词】胃癌；外泌体；生物信息学；微RNA；hsa−miR−219b−3p
【中图分类号】R735.2　　**【文献标志码】**A

Identification and validation of circulating exosome−derived microRNAs for the early diagnosis of gastric cancer

Li Yan[1]，*Yang Liu*[1]，*Zhang Yong*[2]，*Liu Yongyu*[1]，*Li Zongxin*[1]，*Han Hongyan*[1]，*Deng Kun*[1]
（*1.Department of Laboratory Medicine，The Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University；*
2.Key Laboratory of Ministry of Education for Biorheological Science and Technology，School of Bioengineering，Chongqing University）

【Abstract】*Objective*： To establish a novel method for the early diagnosis of gastric cancer（GC）by screening for the microRNAs within tumor−specific exosomes in peripheral blood. ***Methods*：** The gene expression omnibus database was used to download the GSE148334 and GSE130654 datasets of GC exosomes，and differentially expressed RNAs were obtained according to logFC>1 or logFC<−1 and P<0.05. TargetScan and ENCORI databases were used to predict the regulatory relationship between mRNA，miRNA，and lncRNA，and Cytoscape software was used to construct a ceRNA network and identify hub genes for validation. A total of 27 patients with early−stage GC，25 healthy controls，and 25 patients with other types of cancer were enrolled，and the ultracentrifugation method was used to isolate exosomes in serum. RT−qPCR was performed for RNA in serum and exosome samples to analyze the expression of hub genes in each group. ***Results*：** Three hub genes were identified by the bioinformatics method，namely *hsa−miR−105−5p*，*hsa−miR−219b−3p*，and *hsa−miR−889−3p*，and RT−qPCR showed that the GC group had a significantly higher expression level of *hsa−miR−219b−3p* in serum and exosome samples than the healthy control group and the other cancer group（serum：4.050 ± 2.697 vs. 1.357 ± 0.857/1.934 ± 2.434，P<0.05；exosomes：2.525 ± 1.518 vs. 0.774 ± 0.559/1.259 ± 2.127，P<0.05），while there were no significant differences in the expression levels of *hsa−miR−889−3p* and *hsa−miR−105−5p* between the GC group and the other two groups（P>0.05）. The receiver operating characteristic（ROC）curve showed that hsa−miR−

作者介绍：李　燕，Email：yanli@hospital.cqmu.edu.cn，研究方向：肿瘤诊断标志物，外泌体，非编码RNA。
通信作者：邓　昆，Email：dengkun@hospital.cqmu.edu.cn。

基金项目：重庆市教育科学“十四五”规划资助项目（编号：2021−GX−010）；重庆市教育委员会科学技术研究资助项目（编号：KJQN202100427）；临空创新人才重点资助项目［2022（农社）27］。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250226.1631.006（2025−02−27）

219b-3p in serum-derived exosomes had an area under the ROC curve of 0.896（95%CI=0.800-0.993），which was significantly better than the traditional tumor markers of carcinoembryonic antigen（*P*=0.015），CA19-9（*P*=0.021），and CA72-4（*P*=0.005），and therefore，exosomal hsa-miR-219b-3p showed a better diagnostic efficacy in GC patients. ***Conclusion***：This study shows that hsa-miR-219b-3p in serum-derived exosomes can be used as a potential marker for the early diagnosis of GC in clinical practice.

【Key words】gastric cancer；exosome；bioinformatics；microRNA；hsa-miR-219b-3p

胃癌（gastric cancer，GC）是世界上最常见的恶性肿瘤之一，在世界癌症中发病率居第5位、死亡率居第4位[1]。目前，胃癌患者的主要治疗方法是手术和化疗[2]，但5年生存率不理想：在欧洲5年生存率为25%，转移后仅有4%[3]。因此，早期诊断对胃癌的预后起着至关重要的作用。内镜结合病理检查是目前癌症诊断的常用技术，但因其具有侵入性的缺点而阻碍了在常规筛查中的应用；传统的血清肿瘤标志物，包括癌胚抗原（carcinoembryonic antigen，CEA）、糖类抗原19-9（carbohydrate antigen 19-9，CA19-9）和糖类抗原72-4（carbohydrate antigen 72-4，CA72-4），由于缺乏组织特异性，在胃癌诊断中的应用也受到了限制[4]。因此，为了达到早期诊断并指导治疗的目的，迫切需要寻找新的胃癌诊断生物标志物。

微RNA（microRNA，miRNA）是一类长度为18~24个核苷酸的小非编码RNA[5]，在基因表达中起着重要的调节作用。有证据表明，miRNAs可在不同疾病人群的血清和组织中呈特异性和稳定表达，通过表观遗传调控对癌细胞的进展和转移起着关键作用[6]但其机制仍不明确。竞争性内源性RNA（competitive endogenous RNA，ceRNA）假说的提出可以帮助探索miRNAs影响肿瘤发生和发展的机制[7]。根据这个假说，miRNAs可以通过5′端与目标RNA的miRNA响应元件（miRNA response elements，MREs）结合，来调控其表达[8-9]。MREs通常存在于编码序列中，特别是存在于各种类型RNA的3′非翻译区中，例如环状RNAs、信使RNAs（mRNAs）、长链非编码RNAs（lncRNAs）和转录的假基因[10]。ceRNA网络假说提供了一种系统性的视角，来探索miRNAs与其他RNAs之间的相互作用关系，通过共享MREs形成大规模的调控网络[11]。大量研究证实了ceRNA网络，尤其是其中的miRNAs，在不同类型的肿瘤致癌途径中发挥了显著的作用[12-13]。然而，miRNAs在体液中容易降解这个特性[14]限制了它们作为疾病生物标志物的应用。

外泌体是一种直径40到160纳米的小内吞体囊泡[15]，因携带着与癌症关键过程相关的miRNAs而引起了研究人员的兴趣[16]。因为外泌体能将miRNAs封装在内从而避免RNA酶的降解[17]，所以它可以作为细胞间miRNAs转移的工具，常被称为“瓶子中的信息”[18]。因此，外泌体miRNAs有潜力成为一类新的非侵入性肿瘤标志物[19-22]。

基于外泌体miRNA在癌症中的潜在作用，本研究旨在通过系统地整合包括miRNAs、lncRNAs和mRNAs在内的基因表达谱，构建基于ceRNA理论的mRNA-miRNA-lncRNA网络，寻找可能的miRNAs作为胃癌早期诊断的生物标志物，并可能为胃癌的分子机制研究提供更多的见解。

1 材料与方法

1.1 数据检索与基因差异表达分析

NCBI-GEO（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/）数据库是一个开放的微阵列/基因图谱公共数据库，本课题组在GEO数据库中下载了2个与胃癌相关的外泌体数据集（GSE148334和GSE130654），获得了胃癌组和对照组的基因表达数据，其中GSE148334包含了lncRNAs和mRNAs表达数据，GSE130654包含了miRNAs表达数据（表1）。通过NetworkAnalyst在线工具（https://www.networkanalyst.ca/）分析GSE130654数据集中胃癌组和对照组的差异表达RNAs（differentially expressed RNAs，DE-RNAs），利用GEO数据库在线工具GEO2R（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/）分析GSE148334数据集的DE-RNAs，DE-RNAs的筛选标准以logFC>1或logFC<-1，*P*<0.05为阈值。

1.2 构建竞争性内源性RNA网络

通过ENCORI数据库（https://starbase.sysu.edu.cn/）预测lncRNAs和miRNAs之间的相互作用，TargetScan数据库（https://www.targetscan.org/vert_80/）检索miRNAs靶向的

表1 本研究中数据集的基本信息

数据集	平台	技术	标本类型	总样本数	癌样本数	对照样本数	标志物
GSE148334	GPL22120	芯片	外泌体	5	4	1	lncRNA/mRNA
GSE130654	GPL11154	测序	外泌体	48	36	12	miRNA

mRNAs。然后构建ceRNA网络，使用Cytoscape软件（https://cytoscape.org/）可视化，并通过插件CytoHubba鉴定hub基因。

1.3 患者信息

将2022年2月至2023年10月重庆医科大学附属第三医院普通外科或消化内科收治的27例早期胃癌住院患者纳入本研究的胃癌组，25名在我院体检的健康人纳入健康对照组，25例其他癌症患者纳入其他癌组。胃癌组年龄45~81岁，中位年龄为68岁，男性16例（59%），健康对照组年龄47~80岁，中位年龄为67岁，男性14例（56%），其他癌组年龄51~82岁，中位年龄为65岁，男性15例（60%）。在患者未接受治疗前抽取外周血并离心，收集上清液并储存在-80 ℃冰箱保存。胃癌组的纳入标准为：经病理检查诊断为胃腺癌Ⅰ/Ⅱ期（TNM第8版分期标准）且患者未接受抗肿瘤治疗；这项研究获本院伦理委员会的批准，伦理批件号为：2022年科伦审第（7）号，并取得了所有患者的知情同意。胃癌组的排除标准为：患有其他肿瘤类型、妊娠或哺乳期、高血压、糖尿病、心血管疾病和其他慢性疾病的患者。

1.4 外泌体分离和鉴定

超速离心法是分离外泌体的常用方法。先将血清样本在4 ℃、1 000 *g*离心30 min去除细胞碎片，然后取2.5 mL去除细胞碎片后的样本用PBS稀释，在4 ℃、120 000 *g*离心2 h（贝克曼，美国），弃上清液，再次在4 ℃、120 000 *g*离心2 h[23-24]，得到的外泌体沉淀以250 μL PBS重悬。

使用ZetaView粒子追踪分析仪（Particle Metrix，德国）对外泌体样本进行纳米粒子追踪分析（nanoparticle tracking analysis，NTA），表征外泌体的大小分布和浓度。操作步骤为将外泌体样本在PBS中适当稀释后进行分析，然后使用OriginPro软件绘制粒子浓度和尺寸分布曲线。

采用透射电子显微镜（transmission electron microscope，TEM）观察外泌体的形态。将20 μL外泌体样品滴加到带有支持膜的铜网上，并在室温下放置10 min后，滴加2%的磷钨酸溶液进行负染色3 min，用滤纸去除剩余液体，使用JEM1400透射电子显微镜观察。

用蛋白免疫印迹（Western blotting，WB）检测外泌体表面标记蛋白TSG101和CD63阳性表达情况。取含20 μg左右蛋白质的外泌体样品，进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，转移到固相载体聚偏氟乙烯膜（Merck Millipore，德国）上；用5%脱脂奶粉封闭，分别与一抗CD63、TSG101（ABclonal，中国）在4 ℃下孵育过夜后，加入辣根过氧化物酶标记的二抗（Beyotime，中国）在室温下孵育1 h；目标蛋白质在化学发光图像分析系统（Tanon，中国）上进行可视化分析。

1.5 RNA提取和qRT-PCR试验

购买RNAliquid超速全血总RNA提取试剂盒（北京艾德莱）提取血清和外泌体样本中的总RNA，然后用RT/qPCR Detection kit（北京艾德莱）进行cDNA合成和PCR反应体系配制。每个反应配制3个复孔，U6 snRNA作为内参，miRNA的下游引物使用试剂盒自带的通用引物，其他引物由上海生工合成（序列见表2），在ABI QuantStudio DX荧光定量PCR仪进行实时荧光定量PCR反应，使用$2^{-\Delta\Delta ct}$分析数据。

1.6 传统肿瘤标志物浓度检测

使用电化学发光免疫分析试剂盒（Cobas，Roche，德国）按照制造商的说明，对血清肿瘤标志物CEA、CA19-9、CA72-4的浓度进行定量。采用试剂盒推荐的cut-off值判断阳性结果（CEA：0-5 ng/mL，CA19-9：0-37 U/mL，CA72-4：0-6.9 U/mL）。

1.7 统计学方法

使用GraphPad Prism软件（版本9.4.1）对PCR数据进行统计分析，采用ANOVA检验比较胃癌组、健康对照组和其他癌组之间的表达差异，采用*t*检验分析胃癌组不同性别之间表达差异，结果以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示；采用Pearson进行胃癌组年龄与RNA表达之间的相关性分析；使用MedCalc软件（版本20.218）计算接受者操作特征曲线下面积，通过*Z*检验比较外泌体miRNA、血清miRNA和传统肿瘤标志物之间诊断效能的差异。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 差异表达RNAs的筛选和ceRNA网络构建

为了鉴定胃癌和健康个体之间的差异基因，本课题组从GEO数据库下载了数据集GSE148334和GSE130654，鉴定出了804个DE-mRNAs，1 090个DE-lncRNAs和25个DE-miRNAs（表3）。

为了探索miRNA的调控作用，本课题组用TargetScan和ENCORI在线软件预测了上述25个DE-miRNAs和804个

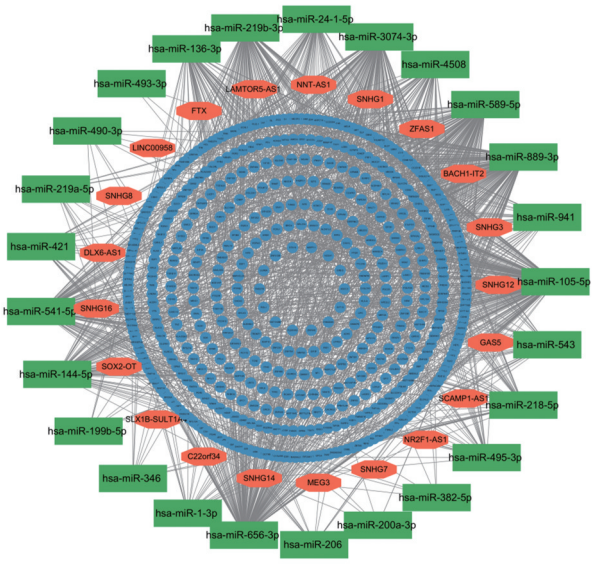
表2 PCR引物

基因	上游引物	下游引物
miR-105-5p	GGGTCAAATGCTCAGACTCC	-
miR-889-3p	AGGGCGTTAATATCGGACAAC	-
miR-219b-3p	GAGGAGAATTGCGTTTGGACA	-
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCGT

表3 2个数据集中DE-RNAs统计

数据集	类型	总DE-RNAs	上调DE-RNAs	下调DE-RNAs
GSE148334	mRNA	804	219	585
	lncRNA	1 090	120	970
GSE130654	miRNA	25	8	17

DE-mRNAs，1 090 个 DE-lncRNAs 之间的调控关系，然后使用 Cytoscape 软件构建了 ceRNA 调控网络（图 1）。使用 cytoHubba 擦件从该网络中选出评分最高的前 3 种 RNAs（*hsa-miR-105-5p*、*hsa-miR-889-3p*、*hsa-miR-219b-3p*），这些基因被确定为 Hub 基因，下一步将对 Hub 基因进行验证。



注：蓝色、红色、绿色节点分别表示 mRNA、lncRNA、miRNA

图 1　胃癌相关 ceRNA 网络

2.2　血清外泌体分离及鉴定

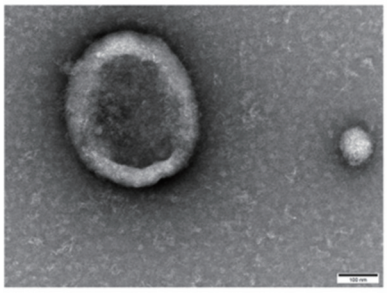
本研究采集了胃癌组、健康对照组和其他癌组患者的血清样本，利用超速离心法分离外泌体，并通过 TEM、NTA 和 WB 分析来鉴定收获的外泌体。如图 2A 所示，TEM 观察到在每个组中都有典型的外泌体形态（杯状的小囊泡）；NTA 结果显示外泌体的大小分布呈现为 1 个在 100 nm 左右的单峰（图 2B）；WB 结果显示，分离出的外泌体表达了 CD63 和 TSG101 2 个标志物（图 2C）。总之，上述实验证实了本研究成功提取了外泌体。

2.3　Hub 基因在血清及血清外泌体中的验证

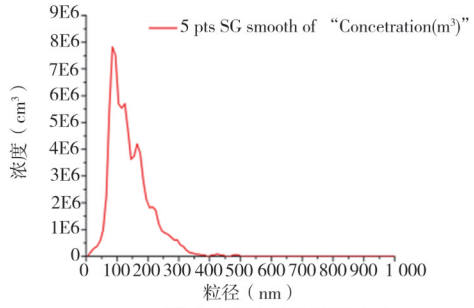
通过 RT-qPCR 实验检测了 3 个 Hub 基因的表达水平。如表 4 所示，在血清和外泌体样本中，*hsa-miR-889-3p* 和 *hsa-miR-105-5p* 在 3 组间（胃癌组、健康对照组、其他癌组）的表达差异无统计学意义（$P>0.05$），而 *hsa-miR-219b-3p* 在胃癌组血清和外泌体中的表达均明显高于其他 2 组（$P<0.05$），*hsa-miR-219b-3p* 在胃癌组中的异常表达表明其可能在胃癌发生发展中起着重要作用。胃癌组内不同性别之间外泌体 *hsa-miR-219b-3p* 表达差异无统计学意义（男：2.493 ± 1.745，女：2.550 ± 1.426，$P=0.945$），且年龄与外泌体 *hsa-miR-219b-3p* 表达无相关性（$r=0.087$，$P=0.750$）。

2.4　MiRNA 和传统肿瘤标志物的诊断效能分析

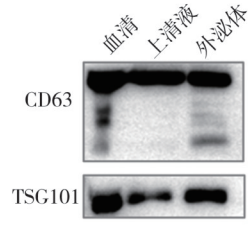
为评估血清和外泌体中 hsa-miR-219b-3p 的诊断效能，本课题组绘制了传统肿瘤标志物和 hsa-miR-219b-3p 的 ROC 曲线，并计算了曲线下面积（AUC）。结果如图 3 所示，传统肿瘤标志物 CEA、CA19-9 和 CA72-4 的 AUC 小于 0.7（0.677，95%CI=0.522~0.832；0.685，95%CI=0.531~0.839；0.630，95%CI=0.465~0.794），外泌体 hsa-miR-219b-3p 的 AUC 为 0.896（95%CI=0.800~0.993），通过 Z 检验发现外泌体来源的 hsa-miR-219b-3p 的 AUC 明显高于传统肿瘤标志物，差异有统计学意义（$Z=2.422$，$Z=2.304$，$Z=2.794$，均 $P<0.05$），而血清



A. 透射电镜下外泌体呈杯状形态



B. NTA显示外泌体的浓度和大小



C. WB结果显示分离出的外泌体表达了CD63和TSG101这2种外泌体标记物

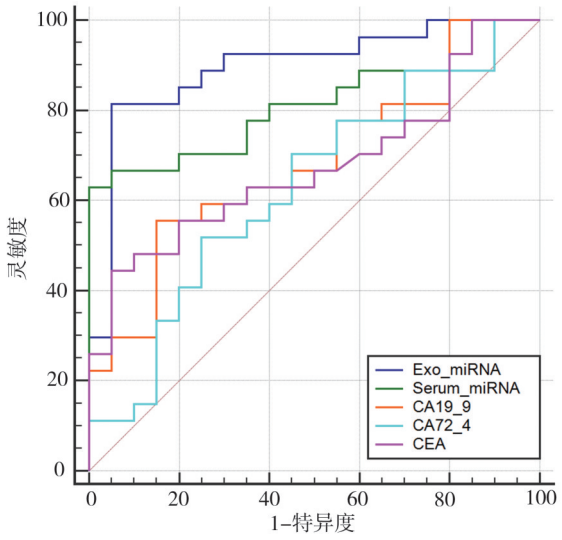
图 2　血清外泌体鉴定

表 4　DE-RNAs 在 3 个组中的表达（$\bar{x} \pm s$）

DE-RNAs	标本类型	相对表达水平		
		胃癌组	健康对照组	其他癌组
hsa-miR-105-5p	血清	1.822 ± 1.708	1.596 ± 1.697	2.522 ± 4.837
	外泌体	3.738 ± 2.900	2.426 ± 2.714	4.697 ± 4.382
hsa-miR-219b-3p	血清	4.050 ± 2.697[ab]	1.357 ± 0.857	1.934 ± 2.434
	外泌体	2.525 ± 1.518[cd]	0.774 ± 0.559	1.259 ± 2.127
hsa-miR-889-3p	血清	1.751 ± 1.641	1.574 ± 1.556	2.954 ± 3.526
	外泌体	1.131 ± 0.845	1.254 ± 0.593	1.609 ± 2.111

注：a，与健康对照组比较，$P<0.001$；b，与其他癌组比较，$P<0.01$；c，与健康对照组比较，$P<0.01$；d，与其他癌组比较，$P<0.05$

hsa-miR-219b-3p 的 AUC 为 0.807（95%CI=0.680~0.935），与其他指标的 AUC 差异无统计学意义（P>0.05）。这些结果表明，血清外泌体来源的 hsa-miR-219b-3p 在区分胃癌和健康个体方面具有更高的诊断价值。



注：Exo_miRNA 表示血清来源的外泌体 hsa-miR-219b-3p；Serum_miRNA 表示血清 hsa-miR-219b-3p

图 3　各指标在胃癌诊断中的 ROC 曲线

3　讨　论

胃癌是全球范围内的多发癌症。随着化疗技术和外科手术以及其他治疗方法的发展，胃癌的死亡率已经逐渐降低了，但是 5 年生存率仍然很低（早期胃癌的 5 年生存率超过 90%，而晚期 GC 的 5 年生存率仅约为 10%[25]）。因此，胃癌的早期识别显得非常重要。目前，在临床上用于早期诊断胃癌的最常用肿瘤标志物包括 CEA、CA19-9、CA72-4 等[26]。然而，这些传统血清肿瘤标志物的特异性和敏感性都很差。本研究检测了 27 例胃癌患者和 25 名对照组中的肿瘤标志物，结果显示 CEA、CA19-9 和 CA72-4 的 AUC 分别为 0.677（95%CI=0.522~0.832）、0.685（95%CI=0.531~0.839）、0.630（95%CI=0.465~0.794）（图 3），与其他团队的研究结果相比，差别不大[27]。因此，开发改进目前的检测方法对胃癌早期诊断显得尤为重要。

在过去的 20 年中，miRNA 的研究成果逐渐成为癌症生物学领域的重要发展，这一领域的知识爆炸性增长给癌症带来了新的诊断和治疗机会。大量 miRNA 作为潜在的癌症诊断生物标志物已经得到广泛研究[28-29]。此外，研究人员还将注意力集中到了外泌体 miRNA 上，因为外泌体能将 miRNAs 封装到囊泡内，进而帮助 miRNA 逃避 RNA 酶的降解，提供保护效果。有研究团队发现血浆中外泌体 miR-142-3p 上调与非小细胞肺癌的侵袭性相关[30]。也有团队报告了血清外泌体 miR-590-5p 的表达水平可能是早期检测和预测胃癌的生物标志物[31]。本研究旨在鉴定在胃癌组织中表达发生失调的 miRNA，同时分析了血清和血清来源的外泌体中的 miRNAs 水平，证实了外泌体样本中的 miRNAs 比血清具有更高的诊断效能，从而证实了外泌体可以用于早期胃癌的无创筛查。

ceRNA 网络假说提出 lncRNAs、mRNAs 以及其他类型的 RNAs 可通过共享 MREs 竞争性地与 miRNAs 结合，从而实现对它们表达的调控[32]。Taheri M 等[33]通过 ceRNA 网络分析确定了 19 个具有早期诊断前列腺癌潜在价值的 Hub 基因。细胞水平的研究表明，LncRNA-CDC6 对乳腺癌的发展起到促进作用，主要机制为它在 ceRNA 网络中，可抑制 *miRNA-215* 与 *CDC6* 基因的结合[34]。在本研究中，本课题组通过构建 ceRNA 网络，鉴定出了 3 个 Hub 基因（*hsa-miR-219b-3p*、*hsa-miR-105-5p*、*hsa-miR-889-3p*）。经过 RT-qPCR 实验证实，*hsa-miR-219b-3p* 在胃癌患者的血清和外泌体样本中均高于健康对照组和其他癌组，而且结果与本课题组的生物信息学分析一致（GSE130654 数据集中 *hsa-miR-219-3p* 的表达上调）。

目前，关于 *hsa-miR-219b-3p* 与癌症之间的相关性的研究还很少。本研究通过检测血清外泌体中 *hsa-miR-219b-3p* 的表达水平，为其在早期胃癌诊断中的应用提供了数据支持。本研究还证明外泌体来源的 *hsa-miR-219b-3p* 作为胃癌诊断标志物的诊断效能优于传统肿瘤标志物。然而，本研究纳入的患者数量较少，缺乏大样本、多中心的研究，因此需要扩大样本规模和种类以进一步验证其诊断能力。

总的来说，本研究证实了 hsa-miR-219b-3p 的表达在胃癌患者的血清和血清来源的外泌体中均明显上调，且在外泌体样本中具有优异的诊断效能。结果表明 hsa-miR-219b-3p 可能在胃癌的发展中起着关键作用，并且具有作为新的胃癌诊断生物标志物的巨大潜力，且有助于进一步深入了解胃癌的分子病理机制。

参　考　文　献

[1]　Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020:

GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 264-279.

[3] Bouriez D, Giraud J, Gronnier C, et al. Efficiency of all-trans retinoic acid on gastric cancer: a narrative literature review[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3388.

[4] Guo X, Peng YH, Song QY, et al. A liquid biopsy signature for the early detection of gastric cancer in patients[J]. Gastroenterology, 2023, 165(2): 402-413.

[5] Pietrykowska H, Sierocka I, Zielezinski A, et al. Biogenesis, conservation, and function of miRNA in liverworts[J]. J Exp Bot, 2022, 73(13): 4528-4545.

[6] Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(3): 203-222.

[7] Shen JZ, Liang CH, Su XM, et al. Dysfunction and *CeRNA* network of the tumor suppressor miR-637 in cancer development and prognosis [J]. Biomark Res, 2022, 10(1): 72.

[8] Qi X, Lin YX, Chen JJ, et al. Decoding competing endogenous RNA networks for cancer biomarker discovery[J]. Brief Bioinform, 2020, 21(2): 441-457.

[9] Akhbari MH, Zafari Z, Sheykhhasan M. Competing endogenous RNAs (ceRNAs) in colorectal cancer: a review[J]. Expert Rev Mol Med, 2022, 24: e27.

[10] Zhao ML, Feng JG, Tang LL. Competing endogenous RNAs in lung cancer[J]. Cancer Biol Med, 2021, 18(1): 1-20.

[11] Xu JC, Xu J, Liu XY, et al. The role of lncRNA-mediated *CeRNA* regulatory networks in pancreatic cancer[J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1): 287.

[12] Fan QW, Liu BR. Comprehensive analysis of a long noncoding RNA-associated competing endogenous RNA network in colorectal cancer[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 2453-2466.

[13] Hussen BM, Hidayat HJ, Salihi A, et al. MicroRNA: A signature for cancer progression[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 138: 111528.

[14] Paterson E, Blenkiron C, Danielson K, et al. Recommendations for extracellular vesicle miRNA biomarker research in the endometrial cancer context[J]. Transl Oncol, 2022, 23: 101478.

[15] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. Science, 2020, 367(6478): eaau6977.

[16] Preethi KA, Selvakumar SC, Ross K, et al. Liquid biopsy: Exosomal microRNAs as novel diagnostic and prognostic biomarkers in cancer[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 54.

[17] Yoshimura A, Sawada K, Nakamura K, et al. Exosomal miR-99a-5p is elevated in sera of ovarian cancer patients and promotes cancer cell invasion by increasing fibronectin and vitronectin expression in neighboring peritoneal mesothelial cells[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 1065.

[18] Shen SJ, Song Y, Zhao B, et al. Cancer-derived exosomal miR-7641 promotes breast cancer progression and metastasis[J]. Cell Commun Signal, 2021, 19(1): 20.

[19] Li ZG, Chen JH, Zhao SB, et al. Discovery and validation of novel biomarkers for detection of cervical cancer[J]. Cancer Med, 2021, 10(6): 2063-2074.

[20] Qian XQ, Xie F, Wei HB, et al. Identification of key circulating exosomal microRNAs in gastric cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11: 693360.

[21] Lu X, Lu JX, Wang SQ, et al. Circulating serum exosomal *miR-92a-3p* as a novel biomarker for early diagnosis of gastric cancer[J]. Future Oncol, 2021, 17(8): 907-919.

[22] Shi YT, Wang ZH, Zhu XJ, et al. Exosomal miR-1246 in serum as a potential biomarker for early diagnosis of gastric cancer[J]. Int J Clin Oncol, 2020, 25(1): 89-99.

[23] Domenyuk V, Zhong ZY, Stark A, et al. Plasma exosome profiling of cancer patients by a next generation systems biology approach[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42741.

[24] Wang M, Ji S, Shao G, et al. Effect of exosome biomarkers for diagnosis and prognosis of breast cancer patients[J]. Clin Transl Oncol, 2018, 20(7): 906-911.

[25] Machlowska J, Maciejewski R, Sitarz R. The pattern of signatures in gastric cancer prognosis[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6): 1658.

[26] Necula L, Matei L, Dragu D, et al. Recent advances in gastric cancer early diagnosis[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(17): 2029-2044.

[27] Wang HP, Jin WB, Wan CQ, et al. Diagnostic value of combined detection of CA72-4, CA19-9, and carcinoembryonic antigen comparing to CA72-4 alone in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Transl Cancer Res, 2022, 11(4): 848-856.

[28] He BX, Zhao ZY, Cai QD, et al. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(14): 2628-2647.

[29] Sun ZQ, Shi K, Yang SX, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 147.

[30] Lawson J, Dickman C, Towle R, et al. Extracellular vesicle secretion of miR-142-3p from lung adenocarcinoma cells induces tumor promoting changes in the stroma through cell-cell communication[J]. Mol Carcinog, 2019, 58(3): 376-387.

[31] Zheng GD, Xu ZY, Hu C, et al. Exosomal miR-590-5p in serum as a biomarker for the diagnosis and prognosis of gastric cancer[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 636566.

[32] Yang XZ, Li F, Ma J, et al. Study on the relationship between the miRNA-centered *CeRNA* regulatory network and fatigue[J]. J Mol Neurosci, 2021, 71(10): 1967-1974.

[33] Taheri M, Safarzadeh A, Hussen BM, et al. LncRNA/miRNA/mRNA network introduces novel biomarkers in prostate cancer[J]. Cells, 2022, 11(23): 3776.

[34] Kong XL, Duan Y, Sang YT, et al. LncRNA-CDC6 promotes breast cancer progression and function as *CeRNA* to target CDC6 by sponging microRNA-215[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 9105-9117.

（收稿：2023-11-03；修回：2024-03-16；录用：2024-03-19）

（责任编辑：李青颖）

本文引用格式：

李　燕，杨　柳，张　勇，等. 循环外泌体源性微RNA用于胃癌早期诊断的筛选和鉴定[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(9)：1236-1241.