DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20230512.001
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20230512.1522.002.html

MicroRNA-29c表达与胃癌临床病理特征的关系研究

张永芳[1],李京城[2],解 娜[1,3],陈 艳[1],陈俊明[1],黄幼生[1]✉
(1.海南医学院第一附属医院病理科,海南 海口 570100;2.海南医学院第一附属医院检验科,海南 海口 570100;3.海南医学院口腔组织病理学教研室,海南 海口 570100)

[摘要] **目的**:探讨miR-29c的表达与胃癌临床病理特征之间的关系,预测miR-29c靶基因生物学功能。**方法**:从癌症基因组图谱(TCGA)数据库下载胃癌微小RNA表达及临床数据,分析miR-29c在胃癌及正常胃黏膜组织中的表达情况。收集胃癌及正常组织石蜡标本,制作成组织芯片,使用miRNAscope技术检测miR-29c在胃癌及正常组织中的表达情况,通过卡方检验分析miR-29c表达与胃癌临床病理特征的关系。TargetScan、Pictar、miRTarbase和Starbase数据库预测miR-29c的靶基因,并对潜在靶基因进行富集分析。**结果**:TCGA数据分析显示,与正常组织相比(n=41),miR-29c在胃癌组织(n=434)中表达显著下调(P<0.001)。miRNAscope检测结果显示,与正常组织相比,miR-29c在胃癌组织中表达下调(P<0.001),其表达水平与胃癌患者TNM分期、淋巴结转移、组织学分型显著相关(P<0.05)。数据库预测得到18个潜在靶基因,主要富集在DNA甲基化转移酶活性等生物学功能,以及癌症相关miRNAs等信号通路。**结论**:miR-29c在胃癌组织中低表达,与胃癌患者TNM分期、淋巴结转移、组织学分型相关,有望成为判断胃癌预后的潜在标记物及分子治疗的新靶点。

[关键词] 胃癌;microRNA-29c;miRNAscope;TCGA分析
[中图分类号] R735.2 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2023)13-0968-07

Relationship between microRNA-29c expression and clinicopathological features of gastric cancer

ZHANG Yong-fang[1], LI Jing-cheng[2], XIE Na[1,3], CHEN Yan[1], CHEN Jun-ming[1], HUANG You-sheng[1]✉
(1. *Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou* 570100, *China*; 2. *Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou* 570100, *China*; 3. *Department of Oral Histopathology, Hainan Medical College, Haikou* 570100, *China*)
[*Foundation Project*]: *National Natural Science Foundation of China* (82060437)
[*Author*]: *ZHANG Yong-fang, E-mail: zyfxqhn2020@163.com.*
[*Correspondence to*]: *HUANG You-sheng, Chief Physician, E-mail: hys768811@163.com.*
Received: 2023-02-17 *Revised*: 2023-05-11 *JHMU*, 2023;29(13):968-974

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective**: To explore the relationship between the expression of miR-29c and clinicopathological characteristics of gastric cancer and predict the biological functions of target genes of miR-29c. **Methods**: The expression and clinical data of microRNA of gastric cancer were downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA) to analyze the expression of miR-29c in gastric cancer tissues and normal gastric mucosal tissues. Paraffin specimens of gastric cancer and normal tissues were collected to make tissue microarray. The expression of miR-29c in gastric cancer tissues and normal tissues were detected by miRNAscope technique. The relationship between the expression of miR-29c and clinicopathological characteristics of gastric cancer was ana-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82060437)
[作者简介] 张永芳,E-mail:zyfxqhn2020@163.com。
[通讯作者] 黄幼生,主任医师,E-mail:hys768811@163.com。
[收稿日期] 2023-02-17 [修回日期] 2023-05-11 网络出版时间:2023-05-15 08:54:42

lyzed by *chi*-square test. Target genes of miR-29c were predicted by TargetScan, Pictar, miRTarbase and Starbase databases, and enrichment analysis were performed on potential target genens. **Results**: TCGA analysis showed that the expression of miR-29c was significantly lower in gastric cancer tissue (n=434) than normal tissues (n=41, P<0.001). miRNAscope analysis showed that the expression of miR-29c was significantly lower in gastric cancer tissue than normal tissues(P<0.001), and was significantly associated with TNM staging, lymph node metastasis and histological type of gastric cancer patients(P<0.05). Database predicted 18 potential target genes that were enriched in DNA methyltransferase activity and cancer-associated miRNA signal pathways. **Conclusion**: miR-29c was expressed at a low level in gastric cancer tissue and associated with TNM staging, lymph node metastasis and histological type, and could become a potential prognosis marker of gastric cancer and a new target of molecular treatment.

[**KEYWORDS**] Stomach cancer; microRNA-29c; miRNAscope; TCGA analysis

在2020年全球癌症统计中,胃癌居全球癌症发病率的第5位及死亡率的第4位。当前,中国胃癌新发病例和致死病例均高于世界平均水平[1]。胃癌的发展涉及各种遗传和表观遗传学改变,探究胃癌发展的分子机制有助于为临床寻找有效治疗手段的生物标志物。根据近年研究结果,微小RNA(microRNA,miRNA)参与肿瘤的发生、进展,是癌症表观遗传变化的关键因素[2],成为有前景的诊断及预后标志物和潜在的治疗靶点[3]。

miRNA属于非编码RNA,在RNA层面行使其生物学功能,不直接编码蛋白质,其发挥作用主要通过与其靶基因的完全或不完全结合,介导靶mRNA降解或抑制靶mRNA翻译,从而负调节基因表达[4]。miR-29c和miR-29a、miR-29b同属于miR-29家族,既往研究表明miR-29c在大部分人类癌症中表达下调,包括鼻咽癌[5]、肺癌[6,7]、胃癌[8,9]、宫颈癌[10]、肝细胞癌[11]等。Yoshimasa等[12]发现miR-29c的下调与胃癌的进展有关,并且在晚期胃癌中比在胃腺瘤和早期胃癌中更为突出。然而有研究结果表明miR-29c表达水平与临床病理参数没有任何相关性[13],Han等[9]对113例胃癌FFEP组织进行了分析,认为miR-29c表达的丧失是胃癌发生的早期事件。由此可见胃癌miR-29c表达与临床病理特征的关系尚不明晰,在不同的研究中,研究对象和研究方法的不同可能是导致结果不一致的原因,在以往的相关研究中,多采用新鲜组织和石蜡组织,但新鲜组织难以获取,石蜡组织中RNA降解较快,本研究采用的miRNAscope技术则很好地解决了这个问题,其独特的探针设计极大提高了在石蜡组织中检测RNA的灵敏度和特异性,并可以同时观察组织形态和信号表达。

据此,本研究首先利用TCGA数据库分析miR-29c在胃癌和正常组织中的表达情况,其次通过miRNAscope技术对生信分析的结果进行验证,并进一步分析miR-29c的表达与胃癌临床特征间的关系,为阐明胃癌发生发展的分子机制及开发新的胃癌靶向药奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 一般资料

基于癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)数据库,获取胃癌miRNA表达数据及临床数据,得到434例胃癌miRNA表达数据,其中有41例有配对正常组织表达数据。排除标本重复、非原发性胃癌、有术前放化疗病史等病例后,总共有372例胃癌标本纳入临床特征相关分析,生存分析仅去除生存资料不完整的样本,共405例。

收集2020年1月~2022年6月在海南医学院第一附属医院外科手术切除的胃癌标本,包括73例原发性胃癌组织及71例正常组织,其中71例胃癌组织有配对的正常组织,均经中性福尔马林固定制成石蜡标本。纳入的病例在术前均未进行放、化疗,并经病理检查确诊,根据美国癌症联合委员会(AJCC,第8版)的标准进行TNM分期。表1总结了73例胃癌患者的临床因素,包括年龄、性别、组织学分型和淋巴结转移等。本研究标本使用经过海南医学院第一附属医院伦理委员会讨论通过,参加本研究的所有胃癌患者均签署了书面知情同意书。

1.2 主要试剂

miRNAScopeTM miR-29c探针(货号:1058391),miRNAscope®H_2O_2 and Protease试剂盒(货号:322381),miRNAscopeTM HD检测试剂盒(红色,货号:324510)均购自美国ACD公司。

1.3 生物信息学分析

1.3.1 miR-29c差异分析 根据胃癌组织和正常胃组织的分组,使用"edgeR"包进行差异表达分析,设置显著性阈值为差异倍数的绝对值≥1,且错误发现率<0.05,对其中配对的胃癌、正常组织进行配对秩和检验,P<0.05有统计学差异。

1.3.2 miR-29c临床特征与预后分析 根据"survival"包计算miR-29c的最优cutoff值,将样本分为

miR-29c高表达和miR-29c低表达组，并分析各临床因素（肿瘤部位、浸润深度、淋巴结转移等）在此分组间的统计学差异。Kaplan-Meier法对生存资料进行描述，Log-rank检验评估miR-29c高、低表达组间总生存期的统计学差异。

1.3.3　miR-29c靶基因预测及富集分析　在mirtarbase[14]在线网站预测miR-29c的下游基因，下载有至少2个证据支持的miR-29c靶基因。同时，使用TargetScan[15]、PicTar[16]和Starbase[17]在线软件预测miR-29c可能调控的下游基因，并通过TargetScan查找其与miR-29c的结合位点，将在线网站（https://bioinformatics. psb. ugent. be/webtools/Venn/）筛选的4重叠的靶标基因作为miR-29c候选靶标基因。将候选靶标基因输入DAVID（The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery）在线网站进行富集分析，包括GO功能注释和KEGG通路分析，探索miR-29c可能涉及的生物学功能。

1.4　实验方法

1.4.1　组织芯片制作　将胃癌及正常FFPE标本制成HE切片，显微镜下选择代表性的组织（癌旁正常胃黏膜组织距离癌组织＞5 cm），然后应用空芯针制备组织芯片。从每个组织蜡块的代表性区域戳出直径约1.4 mm的圆柱体，并嵌入已钻孔的空白蜡块中，蜡块置于模具上，表面淋热蜡封边，在烤箱（60 ℃）放置1 *h*，使石蜡稍融化以封闭组织块，室温放置冷却，再放入4 ℃冰箱1 *h*后脱模。

1.4.2　miRNAscope原位杂交法检测miR-29c表达　将厚度为3.5 um的组织芯片在60 ℃下烘烤1.5 h，在新鲜二甲苯中脱蜡，在新鲜乙醇中脱水，然后用12%甲醛室温下固定2 h，用过氧化氢阻断内源性过氧化物酶，然后将组织切片在靶标修复液中保持在沸点（98 ℃～102 ℃）下孵育15 min，用Immedge™疏水笔画疏水圈，用蛋白酶Ⅲ覆盖组织，在HybEZ二代杂交炉中40 ℃处理30 min，用miRNAScope™ miR-29c探针覆盖组织，杂交2 h。使用miRNAscope™ HD检测试剂盒进行信号检测，Amp1-Amp6依次放大杂交信号，将Fast-RED溶液A和B（60∶1）混合对组织进行显色，最后经苏木精复染，在通风橱干燥后用中性树胶封片，Hs-RNU6为阳性对照，Sramble为阴性对照，在标准光学显微镜下观察miRNAscope结果。

1.5　结果判读

miRNAscope结果分为4个级别：0分（平均每个细胞染色点为0或≤1个点/每10个细胞，40倍视野），1分（2个～10个点/细胞，没有或很少细胞簇，40倍视野），2分（11个～20个点/细胞和或＜25%的阳性细胞有点状团簇，20～40倍视野），3分（＞20个点/细胞和或＞25%的阳性细胞有点状团簇，20倍视野），其中0分和1分为低表达，2分和3分为高表达。

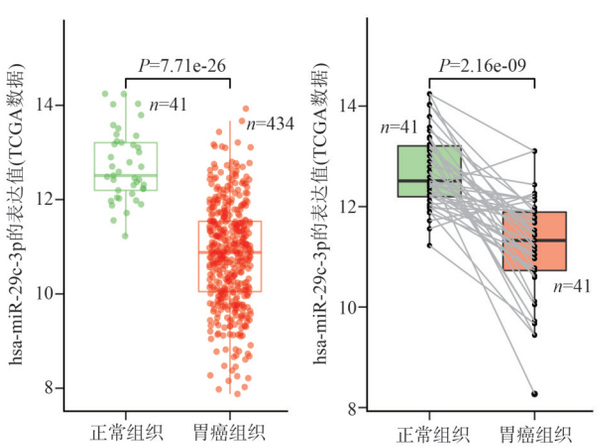
1.6　统计学处理

用R4.0.3及SPSS 26.0统计软件，分类变量比较使用卡方检验，配对的连续性变量比较使用配对秩和检验，生存分析使用Log-rank检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　TCGA数据库中miR-29c差异分析

结果显示，与正常胃黏膜组织相比（中位表达值12.510 54，$n=41$），miR-29c在胃癌组织（中位表达值10.879 42，$n=434$）中的表达显著下调（$P<0.001$）；在配对的41例组织中，miR-29c在胃癌组织的表达同样显著下调（$P<0.001$）。见图1。



A：TCGA数据库中miR-29c在胃癌组织和正常组织中的表达情况；B：TCGA数据库中miR-29c在配对胃癌组织和正常组织中的表达情况。

图1　TCGA数据中miR-29c-3p的表达图

Fig 1　Expression diagram of miR-29c-3p in TCGA data

2.2　TCGA数据库中miR-29c表达与临床病理特征及预后的关系

miR-29c的表达与胃癌患者年龄、性别、部位、分级、TNM分期、T分期、N分期无明显相关（$P>0.05$），对miR-29c表达与胃癌患者总生存期的分析显示，miR-29c高表达组生存率高于低表达组，但差异没有显著性（$P=0.141$）。

表1 miR-29c表达与胃癌患者临床病理特征的关系

Tab 1 Relationship between expression of miR-29c and clinicopathological features in gastric cancer patients

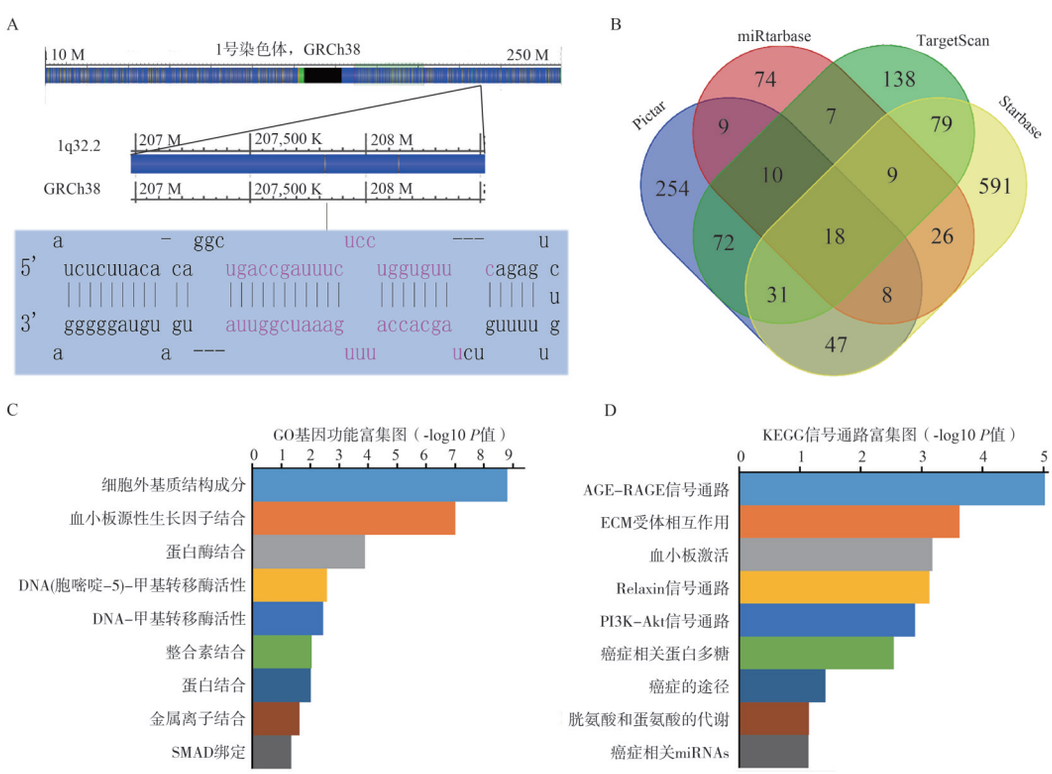
临床病理特征	n	miR-29c		χ^2	P
		低表达	高表达		
性别				0.005	0.944
男	50	30	20		
女	23	14	9		
年龄				0.000	1.000
＜50岁	9	5	4		
≥50岁	64	39	25		
部位				0.869	0.351
胃窦	43	24	19		
其他	30	20	10		
浸润深度				0.222	0.637
T1+T2	18	10	8		
T3+T4	55	34	21		
病理分期				9.694	0.002
Ⅰ、Ⅱ期	34	14	20		
Ⅲ、Ⅳ期	39	30	9		
淋巴结转移				5.170	0.023
无	24	10	14		
有	49	34	15		
Lanren分型				4.484	0.034
肠型	27	12	15		
其他	46	32	14		
脉管侵犯				0.002	0.968
无	43	26	17		
有	30	18	12		

2.3 miR-29c靶基因预测及富集分析

为了进一步探讨miR-29c(图2A)的生物学功能,本项目通过在线数据库预测miR-29c调控的下游基因,miRNA预测阈值设定如下:Pictar得分大于2分,得到449个候选靶基因;TargetScan保守性结合位点数＞0且总评分值＜－0.4,得到365个候选靶基因;Starbase CLIP Data数≥3,Pan-Cancer数≥10,得到809个候选靶基因。另外从mirtarbase网站下载了242个已被证实的miR-29c的下游mRNA,其中有2个及以上证据支撑的有161个,使用在线网站对预测结果取交集,得到18个候选靶基因(图2B)。GO功能注释结果显示(图2C),18个潜在的靶基因主要注释主要包括细胞外基质结构成分、DNA甲基化转移酶活性、蛋白结合等生物学功能;KEGG通路主要富集在癌症相关miRNAs、肿瘤相关信号途径、PI3K-AKT、ECM受体相互作用等信号通路上(图2D)。

2.4 胃癌组织中miR-29c表达及其与患者临床病理特征关系的验证

为了进一步证实TCGA数据分析结果,本项目应用miRNAscope技术检测miR-29c的表达水平,结果显示73例胃癌组织中miR-29c高表达组29例,

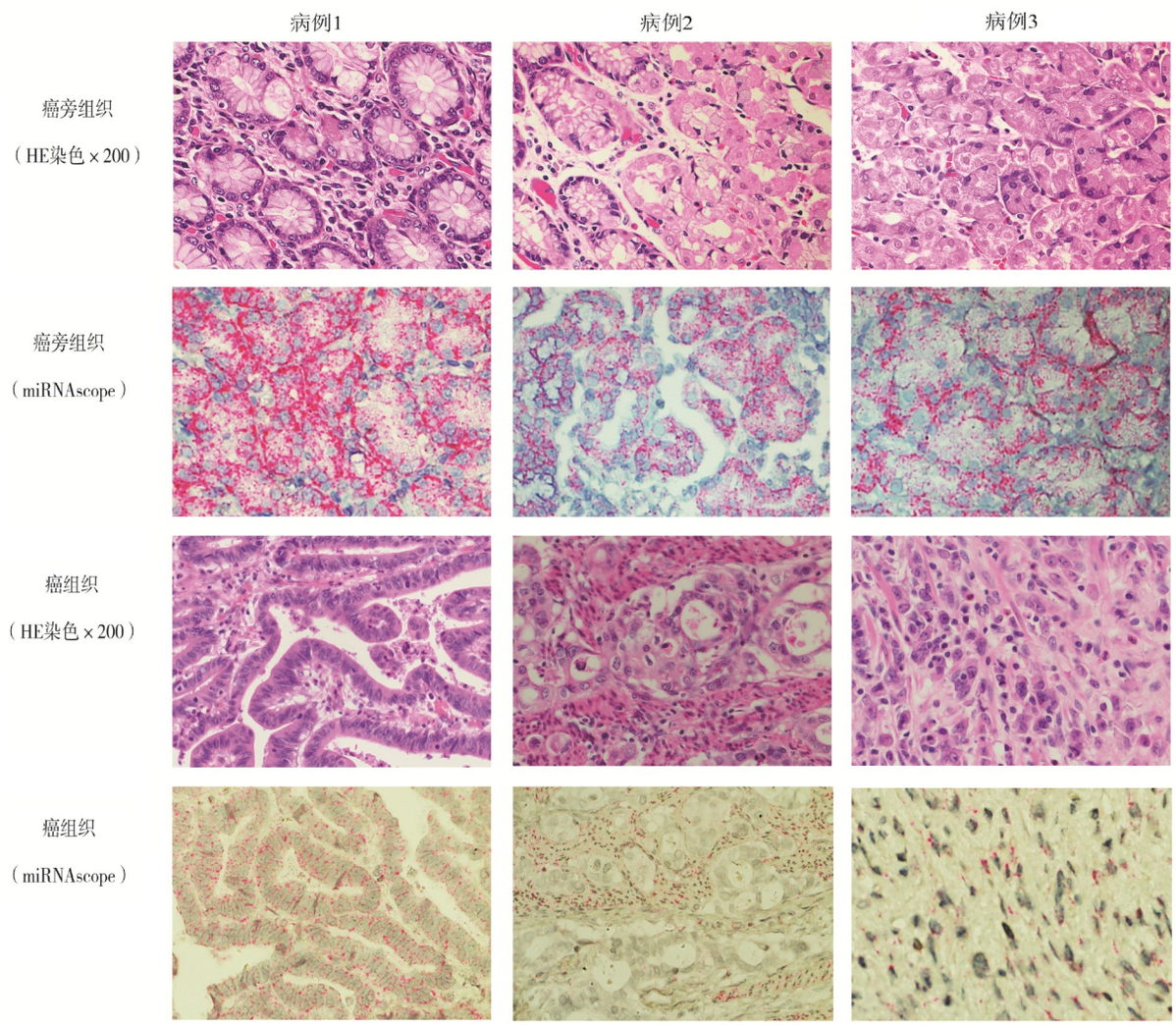


A:miR-29c在基因组的位置及颈环结构图;B:miR-29c靶标基因预测bioVenn交集图;C:DAVID在线分析miR-29c靶标GO基因功能富集图;D:DAVID在线分析miR-29c靶标KEGG信号通路富集图

图2 miR-29c靶基因预测及富集分析

Fig 2 Target genes prediction and enrichment analysis of miR-29c

低表达组44例，高表达率为39.7%（29/73）；71例正常组织中miR-29c高表达组64例，低表达组7例，高表达率为90.14%（64/71）。与正常组织相比，miR-29c在胃癌组织中表达明显下调（$\chi^2=39.995$，$P<0.001$）。见图3。对73例胃癌患者miR-29c的表达及临床病理特征相关性进行分析，结果显示miR-29c的表达水平与胃癌患者TNM分期、淋巴结转移、组织学分型有关（P均<0.05），与年龄、性别、部位、浸润深度、脉管侵犯均无关。见表1。



病例1为肠型胃癌，miR-29c中等强度弥漫表达；病例2及病例3为非肠型胃癌，miR-29c表达缺失或低强度表达；对应的正常胃粘膜固有层细胞均呈强表达。

图3　miR-29c在胃癌及正常组织中的表达（200×）

Fig 3　Expression of miR-29c in gastric cancer and normal tissues（200×）

3　讨论

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一，内镜切除已成为早期胃癌有效的治疗策略，但由于常常发现较晚，缺乏有效的治疗方案，导致其生存率普遍较低，给人类生命健康造成了严重的威胁及巨大的经济负担。近年来，肿瘤靶向治疗得到快速发展，例如，靶向*HER2*基因的赫赛丁治疗能提高乳腺癌及胃癌患者生存率[18,19]。然而，靶向药物仍有适用人群窄、容易耐药等缺陷，因而探索新的、更精确的生物标记物是当前研究重点。

miRNAs作为表观遗传学变化的关键因素，是多种靶基因的内源性沉默子，在多种恶性肿瘤中存在异常表达[20]。前期研究显示，多种miRNA包括miR-29c在胃癌组织中异常表达，参与调控癌细胞黏附、迁移、基因表达等功能活动，与AKT、MAPK、p53等信号通路活化相关[21]。有研究证明miR-29c

通过RhoA/ROCK信号通路参与调控胃癌细胞的迁移和凋亡[22]，Li等[23]对60例胃癌患者的新鲜组织样本分析结果显示，miR-29c在不同肿瘤分期组间差异有统计学意义（$P=0.049$），Han等[9]发现miR-29c在胃癌组织中的表达下调，但未发现与胃癌临床病理特征有直接关系，其结果是提取石蜡组织RNA进行qPCR分析而得出，然而石蜡组织中的RNA降解严重，且miR-29c在癌组织中的丰度非常低，因而采取这种方法得出的结论可能欠准确。本项目也采取过提取石蜡组织RNA分析miR-29c表达，仅有部分组织能检测出miR-29c表达，且CT值均在32以上，熔解曲线不理想（资料未发表）。

为了提高miR-29c在胃癌组织中表达的检出率，本项目采用了ACD公司推出的miRNAscope技术。MiRNAscope技术是一种专门为石蜡组织开发的原位杂交技术，与其他RNA原位杂交方法相比，由于其独特的双Z探针设计，信号放大倍数可达400倍，并且同时进行背景噪声抑制[24]。应用这种方法使miR-29c检出率显著提高，特异性更强，可以同时观察组织形态和信号表达。

本项目通过miRNAscope技术对胃癌患者miR-29c的检测及与临床因素的关系分析，发现miR-29c在胃癌组织中的表达显著低于正常组织（$P<0.001$），与TCGA数据库分析结果相同，其表达的降低与胃癌患者病理分期、淋巴结转移、组织学分型显著相关（P值均<0.001），与其他研究者的结论一致[25]，这些研究结果表明miR-29c有可能成为胃癌的诊断、预后生物标志物及治疗靶点。本研究通过对miR-29c的潜在靶基因进行富集分析，发现miR-29c可能具有DNA甲基化活化、干扰相关蛋白合成等生物学功能，参与PI3K-AKT等信号通路的激活。miR-29c参与的这些细胞功能及信号通路已有许多得到了文献证实[6,26-28]，但是本研究仍有部分局限性，仅从组织学层面证明miR-29c表达与临床病理特征的密切关系，未能从细胞层面进一步探讨其作用机制。

总之，miRNAscope技术能更灵敏地检测石蜡组织中的微量miRNA的表达，miR-29c在胃癌组织中低表达，与患者TNM分期、淋巴结转移、组织学分型显著相关，miR-29c可能参与胃癌发生发展，进一步的深入研究或能证实miR-29c可成为胃癌患者诊断、预后的标记物及潜在的分子治疗靶点。

作者贡献度说明：

黄幼生：设计研究思路，张永芳：完成实验，撰写论文，李京城：分析数据，解娜：参与研究思路和稿件撰写，黄幼生、陈艳、陈俊明：帮助修改文章。

所有作者不存在利益冲突。

参考文献

1 刘宗超，李哲轩，张阳等. 2020全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志，2021，7(2)：1-14.

2 Link A，Kupcinskas J. MicroRNAs as non-invasive diagnostic biomarkers for gastric cancer：Current insights and future perspectives[J]. World J Gastroenterol，2018，24(30)：3313-3329.

3 Jiang H，Liu ZN，Cheng XH，et al. MiR-29c suppresses cell invasion and migration by directly targeting CDK6 in gastric carcinoma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2019，23(18)：7920-7928.

4 Paliouras AR，Monteverde T，Garofalo M. Oncogene-induced regulation of microRNA expression：Implications for cancer initiation，progression and therapy[J]. Cancer Lett，2018，421：152-160.

5 Liu N，Tang LL，Sun Y，et al. MiR-29c suppresses invasion and metastasis by targeting TIAM1 in nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Lett，2013，329(2)：181-188.

6 Li Y，Liu Y，Jin K，et al. Negatively regulated by miR-29c-3p，MTFR1 promotes the progression and glycolysis in lung adenocarcinoma *via* the AMPK/mTOR signalling pathway[J]. Front Cell Dev Biol，2021，9：771824.

7 Mao Z，Xu B，He L，et al. PVT1 promotes angiogenesis by regulating miR-29c/vascular endothelial growth factor（VEGF）signaling pathway in non-small-cell lung cancer（NSCLC）[J]. Med Sci Monit，2019，25：5418-5425.

8 Yu B，Chen X，Li J，et al. MicroRNA-29c inhibits cell proliferation by targeting NASP in human gastric cancer[J]. BMC Cancer，2017，17(1)：109.

9 Han TS，Hur K，Xu G，et al. MicroRNA-29c mediates initiation of gastric carcinogenesis by directly targeting ITGB1[J]. Gut，2015，64(2)：203-214.

10 Zou T，Gao Y，Qie M. MiR-29c-3p inhibits epithelial-mesenchymal transition to inhibit the proliferation，invasion and metastasis of cervical cancer cells by targeting SPARC[J]. Ann Transl Med，2021，9(2)：125.

11 Wu H，Zhang W，Wu Z，et al. MiR-29c-3p regulates DNMT3B and LATS1 methylation to inhibit tumor pro-

gression in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2): 48.

12 Saito Y, Suzuki H, Imaeda H, et al. The tumor suppressor microRNA-29c is downregulated and restored by celecoxib in human gastric cancer cells[J]. Int J Cancer, 2013, 132(8): 1751-1760.

13 Yu B, Chen X, Li J, et al. MicroRNA-29c inhibits cell proliferation by targeting NASP in human gastric cancer [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 109.

14 Huang HY, Lin YC, Cui S, et al. MiRTarBase update 2022: An informative resource for experimentally validated miRNA-target interactions[J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(D1): D222-d230.

15 Mcgeary SE, Lin KS, Shi CY, et al. The biochemical basis of microRNA targeting efficacy [J]. Science, 2019, 366(6472):1741.

16 Krek A, Gründ, Poy MN, et al. Combinatorial microRNA target predictions[J]. Nat Genet, 2005, 37(5): 495-500.

17 Li JH, Liu S, Zhou H, et al. StarBase v2. 0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Database issue): D92-97.

18 Andikopoulou A, Zografos E, Liontos M, et al. Trastuzumab deruxtecan (DS-8201a): The latest research and advances in breast cancer[J]. Clin Breast Cancer, 2021, 21(3): e212-e219.

19 Hackshaw MD, Bui CL, Ladner A, et al. Review of survival, safety, and clinical outcomes in HER2+ metastatic gastric cancer following the administration of trastuzumab [J]. Cancer Treat Res Commun, 2020, 24: 100189.

20 Katona BW, Rustgi AK. Gastric cancer genomics: Advances and future directions[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2017, 3(2): 211-217.

21 黄幼生, 解娜, 张艺馨等. 胃癌组织microRNA表达谱检测及生物信息学分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(6): 591-595.

22 Cai M, Wang L, Xu B, et al. MiR-29c expression predicts poor prognosis in patients with gastric cancer and its role in ROCK-I expression and cell apoptosis[J]. Int J Clin Exp Med, 2019, 12(9): 11132-11140.

23 Liu L, Bi N, Wu L, et al. MicroRNA-29c functions as a tumor suppressor by targeting VEGFA in lung adenocarcinoma[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 50.

24 Wang F, FlanaganL J, Su N, et al. RNAscope: A novel in situ RNA analysis platform for formalin-fixed, paraffin-embedded tissues[J]. J Mol Diagn, 2012, 14(1): 22-29.

25 张靖, 李伟, 田戬等. MiRNA-29c表达水平与胃癌生物学特征的关系[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(17): 2431-2432,2434.

26 Pole E, Zhang J, Nwachukwu C, et al. Molecular subtype-specific expression of microRNA-29c in breast cancer is associated with CpG dinucleotide methylation of the promoter [J]. PLoS One, 2015, 10 (11): e0142224.

27 Feng W, Xie H, Li J, et al. MiR-29c inhibits renal interstitial fibrotic proliferative properties through PI3K-AKT pathway [J]. Appl Bionics Biomech, 2022, 2022: 6382323.

28 Tan M, Wu J, Cai Y. Suppression of Wnt signaling by the miR-29 family is mediated by demethylation of WIF-1 in non-small-cell lung cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 438(4): 673-679.

[本文编辑] 宋睿璞 谭贝加 朱 昊