

外周血循环核酸作为肿瘤标志物在胃癌中的应用现状

李琳 张连海 季加孚



张连海

【摘要】 肿瘤患者外周血含有一定量的循环核酸, 这些游离核酸携带了肿瘤特异的遗传信息, 是非侵入性肿瘤标志物的重要来源。可作为标志物的循环核酸主要是 DNA 和 micro RNA, 常见的遗传和表观遗传改变包括 DNA 突变、拷贝数变异、DNA 异常甲基化以及 micro RNA 失调。这些改变能反映肿瘤组织的分子特征, 为肿瘤的无创、实时和动态检测提供新的线索。本文总结了循环核酸中上述改变在胃癌早期诊断、疗效评估、复发监测及预后判断中的研究现状, 同时分析了它们作为肿瘤标志物的优势、检测技术和应用前景。

for noninvasive, real-time and monitoring test. In the present article, the main findings of research status related to the utility of circulating nucleic acids for early diagnosis, prognosis and monitoring of gastric cancer are reviewed. In addition, the advantage, the examination technique and the application prospect of circulating nucleic acids as tumor markers are also reviewed.

【Key words】 Stomach neoplasms; Circulating nucleic acids; Tumor markers; Diagnosis; Prognosis

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率居高不下, 大多数患者在发现时往往已经是晚期, 无法进行手术治疗。因此, 胃癌的早期诊断和治疗对于提高预后十分重要的意义。肿瘤标志物(tumor markers, TM)是恶性肿瘤发生和发展过程中, 由肿瘤细胞合成分泌或由机体对肿瘤细胞反应而产生的一类生物活性物质, 其表达水平或含量在一定程度上反应了肿瘤的存在和发展变化情况。传统的肿瘤标志物主要是血清中的糖蛋白、胚胎抗原和分泌型蛋白, 这些分子在正常人外周血中也可检测到, 在肿瘤患者体内多表现为含量的升高。目前, 常用的标志物如 CEA、CA72-4 或 CA19-9 在胃癌患者中的检出率均低于 30%, 在 I 期胃癌患者中的平均阳性率仅为 10% 左右^[1]。这些标志物敏感性低, 限制了其在早期诊断中的应用价值。

【关键词】 胃肿瘤; 循环核酸; 肿瘤标志物; 诊断; 预后

Application status of circulating nucleic acids as biomarkers in gastric cancer Li Lin, Zhang Lianhai, Ji Jiafu. Department of Gastrointestinal Cancer Surgery, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing 100142, China

Corresponding author: Zhang Lianhai, Email: zlhzh@hotmail.com

【Abstract】 Considerable concentrations of circulating nucleic acids have been reported in peripheral blood from cancer patients. These circulating nucleic acids bear a variety of tumor-specific information and potentially represent a stable source of non-invasive tumor biomarkers. The assessable genetic and epigenetic changes of circulating nucleic acids include DNA mutations, copy number alterations, abnormal methylation and disruption of microRNA. Such alterations reflecting molecular characteristics of tumor tissues, provide a new clue

肿瘤发生发展的早期阶段即有核酸释放入血, 这些游离核酸(circulating nucleic acids)被认为携带了肿瘤组织遗传学和表观遗传学的异常改变。随着标志物研究越来越深入, 循环核酸作为一种新兴肿瘤标志物日益受到人们的重视。借助分子生物学技术从外周血中提取循环核酸进行检测分析, 可以实现肿瘤的实时、无创和动态监测, 为胃癌的早期诊断、疗效评估、复发监测及预后判断提供重要信息。外周血游离 DNA 拷贝数检测、甲基化标志物以及 microRNA (miRNA, miR) 标志物是肿瘤标志物研究的热点。

一、循环核酸的特征

血液中的循环核酸包括 DNA、mRNA 和 miRNA 等。最早关于循环核酸的报道是在 1948 年, 当时并没有引起人们的关注; 直到 1994 年 Sorenson 从肿瘤患者外周血中检测到突变的 RAS 基因片段, 循环核酸才作为肿瘤标志物受到重视。关于循环核酸的来源和机制至今尚无定论。主要观点认为, 循环核酸来源于凋亡坏死细胞的主动分泌和循环细胞

DOI: 10.3760/ema.j.issn.1671-0274.2014.01.005

作者单位: 100142 北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所胃肠肿瘤外科 恶性肿瘤发生机制及转化研究教育部重点实验室

通信作者: 张连海, Email: zlhzh@hotmail.com

的裂解。

外周血游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 是存在于外周血循环中的 DNA。健康人外周血中存在低水平的 cfDNA, 浓度在 0~100 ng/ml 之间, 平均为 30 ng/ml^[2]。按照 1 个基因组 DNA 含量约 6.6 pg 计算, 相当于每毫升外周血中存在 5000 个基因组^[3]。由此可见, 外周血是含有大量遗传信息的“液体活检样本”。与健康人相比, 肿瘤患者 cfDNA 含量升高, 浓度范围从 0 到 1000 ng/ml, 平均 180 ng/ml^[4]。浓度水平不受肿瘤大小的影响而仅与恶性程度相关。这些游离 DNA 可以来自肿瘤原发灶、转移灶、循环肿瘤细胞以及正常组织, 多数以双链形式存在, 片段大小 0.18~21 kb 不等。一个肿瘤负荷为 100 g (细胞数 3×10^{10}) 的患者每天约有 3.3% 的肿瘤 DNA 释放入血^[5]。cfDNA 主要通过肝脏和肾脏代谢, 半衰期为 15~30 min 左右, 因此, cfDNA 动态反应了肿瘤组织基因组分子特征的平均状态。外周血能检测到的肿瘤相关改变包括突变、拷贝数变异、甲基化异常、微卫星不稳定和杂合性缺失等, 对这些变化进行定性定量分析, 将有助于肿瘤生物学特征判断。

除了 cfDNA, 外周血循环中还有一定水平的 miRNA, 它是一类高度保守的内源性非编码单链小分子 RNA, 广泛存在于真核生物中, 长度 18~26 nt。内源性成熟 miRNA 在外周血中多数与蛋白或脂蛋白结合形成微粒而存在, 具有高度的稳定性, 能耐受室温放置, 反复冻融、酸碱环境和 RNA 酶及 DNA 酶处理而不发生降解^[6]。不同组织和瘤种的 miRNA 表达谱具有明显的特异性, 这种特异性除了表现在表达数量和丰度上有所差别以外, 有些 miRNA 的表达具有明显的组织特异性, 为肿瘤的定性诊断提供了依据。这种稳定性和特异性决定了外周血 miRNA 作为肿瘤标志物的潜在价值。

二、外周血 DNA 拷贝数变异和突变检测

外周血突变基因的检测, 是 cfDNA 作为肿瘤标志物最早开始研究的领域。研究证实, 肿瘤特异的突变基因可以在患者外周血中检测到, 多种实体肿瘤中突变检测较为普遍的基因目前有 KRAS、EGFR、P53、APC 和 Bcl-2 等。但是, 突变检测自身存在的一些问题限制了它在临床中的应用。首先, 突变本身发生频率低, 外周血突变 DNA 含量很少, 对检测方法的灵敏性要求高; 其次, 基因突变往往发生在小片段游离 DNA 上, 在提取过程中很容易丢失, 这些都是造成检测假阴性率高的原因。因此, 很多组织里可检测的突变并不能作为外周血标志物。此外, 肿瘤基因组具有复杂性和高度变化倾向, 单一基因的突变用于临床诊疗的能力有限。从这个角度上讲, 基于 DNA 测序技术的外周血拷贝数变异检测可以更好地从总体水平全面了解肿瘤相关基因改变。

拷贝数变异 (copy number variation, CNV) 是指基因组上长度超过 1 kb 的 DNA 片段, 在不同个体间存在拷贝数增多或减少的差异。拷贝数变异在人类基因组中的分布非常普遍, 可影响基因组中超过 10% 的序列, 具有覆盖范围广和相对稳定的特点, 可作为遗传标志用于鉴定肿瘤易感基因

位点, 是目前遗传学研究的热点。拷贝数变异是肿瘤基因组常见的改变, 胃癌中常见的扩增区有 3q、7q、8q、13q 和 20q, 常见缺失区包括 4q、13p、5q、19p、17p 和 19p 等。这些存在拷贝数变异的区域很可能存在胃癌的驱动基因, 因而具有重要的研究价值。

目前, 临床上已将外周血拷贝数检测应用于产前检查, 从母亲外周血中获得胎儿游离 DNA 进行测序, 能筛查胎儿染色体异常。近年来, 细胞捕获技术和二代测序技术的发展, 使得单细胞测序成为一种重要的研究方法。目前对循环肿瘤细胞进行单细胞测序发现, 虽然个体循环肿瘤细胞有明显的异质性, 但是同一患者不同循环肿瘤细胞间的拷贝数变异有很高的可重复性, 不同患者循环肿瘤细胞在某些染色体区域也显示出高度重复的拷贝数变异, 这种变异有可能成为特定肿瘤的标志。

外周血拷贝数变异用于肿瘤诊断尚处于起步阶段。Leary 等^[7]对 10 例正常人、7 例结肠癌患者和 3 例乳腺癌患者的外周血 DNA 进行测序, 结果显示, 相比于正常人组, 肿瘤患者有明显的拷贝数增多或减少。Heitzer 等^[8]进行的研究首先测定了外周血游离 DNA 片段的分布规律, 发现 32 例 IV 期结直肠癌患者中有 34.4% 血浆 DNA 片段呈双峰分布, 这种分布的出现多伴随有游离 DNA 含量高、循环肿瘤细胞计数增多以及含突变基因的片段比例大。按照有无这种分布特征, 将患者分组进行外周血 DNA 测序发现, 有双峰特征的患者外周血拷贝数明显高于单峰患者和正常对照。该团队的另一项研究表明, 前列腺癌外周血测序也能够检测到肿瘤特异的拷贝数变异^[9]。

Chan 等^[10]研究以 16 例健康人的外周血样本作为拷贝数变异的基线, 然后用大规模并行测序 (massively parallel sequencing, MPS) 的方法分别对 4 例肝癌患者肿瘤组织以及术前外周血和术后外周血标本进行测序, 结果发现, 4 例患者肿瘤组织中典型的拷贝数变异同样出现在术前外周血标本中, 而术后外周血标本中这些改变几乎全部消失。提示, 肿瘤患者外周血可以检测到明显的拷贝数变异, 这种改变有可能成为肿瘤检测的标志物。

三、甲基化标志物

表观遗传学主要研究 DNA 序列不发生改变的情况下基因表达发生的可遗传改变。DNA 甲基化属于基因表观遗传范畴, 对于调控基因表达和维持基因组稳定性起着重要的作用。肿瘤中普遍存在 DNA 甲基化状态的改变, 其总体特征是基因组广泛低甲基化和局部高甲基化并存。甲基化异常在细胞癌变前就已经开始发挥作用并贯穿于细胞癌变的各个阶段, 具有组织特异性, 能够长期稳定存在。特定基因的甲基化异常可以作为早期诊断的标志物以及治疗敏感性和预后评估的指标。甲基化研究历史较长, 测定方法相对成熟可靠, 目前最常用的检测方法是甲基化特异性 PCR (methylation-specific PCR, MSP) 及其改进方法。这种方法相对快速便捷, 灵敏度和精确度可以满足临床需求, 为甲基化的研究和临床应用创造了条件。

1. 外周血甲基化与胃癌诊断: 肿瘤患者的 cfDNA 主要来自于肿瘤原发灶, cfDNA 的甲基化谱和肿瘤组织 DNA 甲基化谱有较好的一致性。Lee 等^[11]检测了 54 例胃癌患者癌组织和配对外周血中 DAP-kinase、E-cadherin、GSTP1、P15 及 P16 基因的甲基化情况, 发现这 5 个基因甲基化情况在组织中的检出率和在外周血中检出率有明显的相关性, 证明外周血甲基化能够很好地反应肿瘤患者肿瘤组织中异常甲基化状态。

外周血甲基化在胃癌的诊断、预后判断以及疗效评价方面有潜在的应用价值, 其中研究最多的是其诊断意义。RNF180 编码的环指蛋白 180 具有抑制细胞生长和促凋亡作用, 启动子区甲基化导致 RNF180 低表达与胃癌不良预后相关。Cheung 等^[12]进行的研究表明, 76% 的胃癌组织和 55% 的肠上皮化生组织可以检测到 RNF180 甲基化, 而正常胃组织、结肠癌和肝癌组织中均没有明显的甲基化现象, 说明 RNF180 诊断胃癌有一定特异性。对 32 例胃癌患者和 64 例正常人外周血进行 RNF180 甲基化检测, 其灵敏性和特异性分别为 63% 和 91%。由此提示, RNF180 可作为胃癌诊断的标志物。

P16 基因又称多肿瘤抑制基因, 其编码产物通过与细胞周期蛋白依赖激酶 CDK4 及 CDK6 结合而抑制细胞增殖。P16 基因高甲基化是胃癌早期事件, 并与肿瘤恶性程度相关。Abbaszadegan 等^[13]的研究表明, 存在组织 P16 甲基化异常的胃癌患者 60% 外周血中同样可检测到甲基化异常, 而正常对照组外周血均未检测到甲基化, 说明 P16 甲基化水平检测可能成为胃癌的一个诊断标志物。Bernal 等^[14]检测了 24 个基因在胃癌患者外周血中的甲基化情况, 发现有 7 个基因的甲基化情况与健康对照之间存在差异; 进一步在早期胃癌患者外周血中验证这 7 个基因, 其中 Reprimo 基因在 43 例胃癌组织、43 例胃癌患者外周血以及 31 例正常对照组中的甲基化检出率分别为 97.7% (42/43)、95.3% (41/43) 和 9.7% (3/31)。鉴于单个基因的甲基化诊断胃癌的价值有限, 联合检测多个基因甲基化状态是提高诊断效率的有效途径。研究发现, hMLH1 (41%)、APC (17%)、TIMP3 (17%) 和 E-cadherin (13%) 的组合用于外周血甲基化检测的敏感性为 55%, 特异性可达 86%^[15]。

2. 外周血甲基化与胃癌预后判断和疗效评价: 目前, 广泛认为抑癌基因的高甲基化和原癌基因的低甲基化均可作为预后不良的标志。已有一些研究报道了单拷贝基因甲基化作为分子标志物用于胃癌预后判断。CDH1 编码的蛋白 E-cadherin 是一跨膜糖蛋白, 在肿瘤侵袭转移方面起重要作用, 是公认的浸润转移抑制基因。Ikoma 等^[16]检查了 3 个抑癌基因 P16、CDH1 和 RAR β 在 96 例胃癌患者外周血中的甲基化状态并结合生存曲线进行了分析, 发现外周血 CDH1 高甲基化与预后不良相关。

RUNX3 编码的蛋白质是 TGF- β 信号转导通路下游的一个转录因子, 在 TGF- β 信号通路及 Smad 蛋白致癌作用中起重要作用。Sakakura 等^[17]检查 65 例胃癌患者外周血中

RUNX3 和 actin 基因的甲基化状态并将两者的比值定义为甲基化指数来评价甲基化程度, 研究发现, 胃癌术后 cfDNA 甲基化指数显著降低, 可作为评价手术治疗效果, 监测胃癌病情变化的指标。外周血甲基化标志物在胃癌中的研究情况见表 1。

表 1 外周血甲基化标志物在胃癌中的研究

意义	甲基化基因	相关性
诊断		
单一基因	RNF180	敏感性 63%, 特异性 91% ^[12]
	SLC19A3	阳性/阴性预测值均为 85% ^[18]
	P16	多项研究提示有诊断价值 ^[13]
	Reprimo	胃癌患者中检出率高 ^[14]
联合诊断	FAM5C、MYLK	敏感性 77.6%, 特异性 90% ^[19]
	MGMT、P15、hMLH1	敏感性 75%, 特异性 54% ^[20]
	hMLH1、APC、TIMP3、CDH1	敏感性 55%, 特异性 86% ^[15]
预后	CDH1	不良预后相关 ^[16]
	SOX17	总生存期相关 ^[21]
	XAF1	不良预后独立危险因素 ^[22]
疗效评价	RUNX3/actin	评价手术疗效, 监测病情 ^[17]

四、miRNA

miRNA 是表观遗传学领域中另一个研究热点, 人体中鉴定出的 miRNA 超过 900 种, 参与人类基因组 1/3 基因的表达调控, 起到类似“癌基因”或“抑癌基因”的功能。2002 年, miR-15 和 miR-16 与慢性淋巴细胞白血病关系的发现, 开启了 micro RNA 在肿瘤领域的研究序幕。目前, 关于 miRNA 的研究几乎覆盖了所有实体肿瘤, 内容涉及诊断、预后判断、疗效评价和治疗方案选择等方面。有文献报道的胃癌相关 miRNA 有上百种, 其中部分被证实参与关键基因的调控, 与细胞的增殖、生长、凋亡过程密切相关。miRNA 的检测技术相对成熟, 常用方法包括实时定量 PCR、微阵列分析、测序以及 Northern blot, 其中 Northern blot 是检测 miRNA 的“金标准”, 但样品用量大, 因此不适用于外周血的检测。实时定量 PCR 是最简单有效的方法, 可以对 miRNA 进行准确的定量分析。

1. miRNA 与胃癌诊断: 对于外周血 miRNA, 研究尚不及组织 miRNA 深入和广泛, 但更具有临床实用价值。将肿瘤组织和外周血中 miRNA 的表达谱进行比较, 多数研究得到的结论说明, 外周血 miRNA 能较好地反应组织 miRNA 改变, 但是也有部分研究产生相反结论, 个别 miRNA 在外周血和组织中表达趋势相反, 这方面机制不清, 有学者认为这与细胞选择性分泌某些 miRNA 有关。尽管如此, miRNA 作为肿瘤标志物的可行性还是得到广泛认同。针对胃癌, 目前还没有明确的 miRNA 表达谱, 研究证实与胃癌紧密相关的 miRNA 包括 miR-21、miR-625、miR-1、miR-20a 和 miR-378 等。部分研究发现, 外周血 miRNA 与胃癌淋巴结转移、术后复发和生存预后存在相关性。外周血 miRNA 在胃癌诊断中

的意义也有较多的研究。miR-199a-3p 诊断早期胃癌的准确性可达 75%, 敏感性 76%, 特异性 74%, 是理想的肿瘤标志物^[23]。Liu 等^[24]通过芯片和实时定量 PCR 筛选出了 3 个在胃癌患者外周血中高表达的 miRNA (miR-187、miR-371-5p 和 miR-378), 其中 miR-378 有较好的诊断效率, 敏感性和特异性分别为 87.5% 和 70.73%。

miRNA 对于胃癌的早期诊断有一定意义。Song 等^[25]的研究显示, miR-221、miR-376c 和 miR-744 诊断早期胃癌的敏感性为 82.4%, 特异性为 58.8%, 诊断正确率可达 73.3%, miRNA 的表达水平与分化程度呈负相关, 且随胃癌的进展呈增高趋势, 因而具有一定的风险评估价值。Liu 等^[26]对 164 例胃癌患者血清进行测序, 筛选出了 5 个高表达的 miRNA (miR-1、miR-20a、miR-27a、miR-34 和 miR-423-5p), 这 5 个 miRNA 的表达量与临床分期成正相关, 联合用于胃癌诊断其敏感性和特异性分别为 80% 和 81%, ROC 曲线下面积 0.879, 高于传统标志物 CEA (0.503) 和 CA19-9 (0.600)。

2. miRNA 与胃癌预后判断和疗效评价: 除了诊断意义, miRNA 同样具有疗效观察价值。Tsujiura 等^[27]发现, 胃癌患者外周血与健康对照相比, let-7a 明显下调, 而 miR-17-5p、miR-106a、miR-106b 及 miR-21 显著上调; 对比术前术后外周血 miRNA 表达, 可见上调的 miRNA 在术后明显下降。Zhou 等^[28]的研究同样表明, 胃癌患者外周血中高表达的 miR-17 和 miR-106a, 术后表达量下降; 此外他们还发现, 这两个 miRNA 的表达与循环肿瘤细胞个数相关, 可用于胃癌的诊断和病情监测。Tsai 等^[29]对 20 例胃癌患者外周血 miR-196a 进行监测发现, 术后 miR-196a 的表达较术前明显下降, 当患者出现复发转移时, 下调的 miR-196a 表达量再次上升。由此可见, miRNA 具有疗效评估和病情监测价值。外周血 miRNA 在预后判断方面同样具有重要作用, Wang 等^[30]对胃癌患者外周血中表达上调的两个 miRNA (miR-17-5p 和 miR-20a) 进行了研究, 发现术前 miR-17-5p/20a 含量与预后不良相关, 其中 miR-20a 可作为预后的独立危险因素。

五、标志物未来发展方向

最近 10 年, 新兴肿瘤标志物方面的研究呈指数增长, 其中外周血甲基化检测已逐步应用于肺癌和结肠癌的临床诊断, 但就现状而言, 能作为常规临床检测的还很少, 要真正把基础研究转化为临床医学还需要解决很多问题。

目前, 阻碍循环核酸标志物进入临床的最主要问题是, 实验结果的重复性差。究其原因主要有以下几方面: 首先, 研究对象基本来自特定人群, 且样本量较少, 不能涵盖所有肿瘤患者遗传及表观遗传特征, 需要大样本研究进行重复验证。第二, 实验方法不统一, 目前存在多种实验技术平台, 缺乏统一的检测标准。即使使用同一种检测技术, 其实验结果也受多方面的影响。第三, 外周血游离核酸表达含量低, 且存在来自正常组织 DNA 的干扰和血细胞的污染等, 这些也会影响检测结果的判断。因此, 以下几点将是未来外周血检测探索的方向: (1) 建立各类肿瘤特异的表达谱, 从基因

组水平上进行研究; (2) 开发敏感性高、操作简便并且成本低廉的检查方法, 为临床应用提供技术支持; (3) 单一标志物的诊断价值有限, 需要联合检测以提高诊断效率; (4) 需要实现检测方法的标准化, 诊断阈值和阳性判断指标的统一; (5) 标本收集的规范性, 外周血的采集时间, 采集后的处理都应满足质量控制的要求。

随着肿瘤标志物的研究越来越深入, 标志物的种类将不断增加, 可用于临床检测的标志物组合会越来越丰富。实验方法的改进和检测技术的提高, 必将推进肿瘤标志物的临床应用, 从而提高胃癌的早期诊断和病情监测, 最终使患者获益。

参 考 文 献

- [1] Shimada H, Noie T, Ohashi M, et al. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association [J]. *Gastric cancer*, 2013, In press.
- [2] Fleischhacker M, Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer—a survey [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1775: 181-232.
- [3] Pathak AK, Bhutani M, Kumar S, et al. Circulating cell-free DNA in plasma/serum of lung cancer patients as a potential screening and prognostic tool [J]. *Clin Chem*, 2006, 52: 1833-1842.
- [4] Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, et al. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy [J]. *Cancer Res*, 1977, 37: 646-650.
- [5] Gormally E, Caboux E, Vineis P, et al. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance [J]. *Mutat Res*, 2007, 635: 105-117.
- [6] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 10513-10518.
- [7] Leary RJ, Sausen M, Kinde I, et al. Detection of chromosomal alterations in the circulation of cancer patients with whole-genome sequencing [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 162ra154.
- [8] Heitzer E, Auer M, Hoffmann EM, et al. Establishment of tumor-specific copy number alterations from plasma DNA of patients with cancer [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133: 346-356.
- [9] Heitzer E, Ulz P, Belic J, et al. Tumor-associated copy number changes in the circulation of patients with prostate cancer identified through whole-genome sequencing [J]. *Genome Med*, 2013, 5: 30.
- [10] Chan KC, Jiang P, Zheng YW, et al. Cancer genome scanning in plasma: detection of tumor-associated copy number aberrations, single-nucleotide variants, and tumoral heterogeneity by massively parallel sequencing [J]. *Clin Chem*, 2013, 59: 211-224.
- [11] Lee TL, Leung WK, Chan MW, et al. Detection of gene

- promoter hypermethylation in the tumor and serum of patients with gastric carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8:1761-1766.
- [12] Cheung KF, Lam CN, Wu K, et al. Characterization of the gene structure, functional significance, and clinical application of RNF180, a novel gene in gastric cancer [J]. Cancer, 2012, 118:947-959.
- [13] Abbaszadegan MR, Moaven O, Sima HR, et al. p16 promoter hypermethylation; a useful serum marker for early detection of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14:2055-2060.
- [14] Bernal C, Aguayo F, Villarreal C, et al. Reprimo as a potential biomarker for early detection in gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14:6264-6269.
- [15] Leung WK, To KF, Chu ES, et al. Potential diagnostic and prognostic values of detecting promoter hypermethylation in the serum of patients with gastric cancer [J]. Br J Cancer, 2005, 92:2190-2194.
- [16] Ikoma H, Ichikawa D, Koike H, et al. Correlation between serum DNA methylation and prognosis in gastric cancer patients [J]. Anticancer Res, 2006, 26:2313-2316.
- [17] Sakakura C, Hamada T, Miyagawa K, et al. Quantitative analysis of tumor-derived methylated RUNX3 sequences in the serum of gastric cancer patients [J]. Anticancer Res, 2009, 29:2619-2625.
- [18] Ng EK, Leung CP, Shin VY, et al. Quantitative analysis and diagnostic significance of methylated SLC19A3 DNA in the plasma of breast and gastric cancer patients [J]. PLoS One, 2011, 6:e22233.
- [19] Chen L, Su L, Li J, et al. Hypermethylated FAM5C and MYLK in serum as diagnosis and pre-warning markers for gastric cancer[J]. Dis Markers, 2012, 32:195-202.
- [20] Kolesnikova EV, Tamkovich SN, Bryzgunova OE, et al. Circulating DNA in the blood of gastric cancer patients[J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1137:226-231.
- [21] Balgkouranidou I, Karayiannakis A, Matthaios D, et al. Assessment of SOX17 DNA methylation in cell free DNA from patients with operable gastric cancer. Association with prognostic variables and survival [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51:1505-1510.
- [22] Ling ZQ, Lv P, Lu XX, et al. Circulating Methylated DNA Indicates Poor Prognosis for Gastric Cancer [J]. PLoS One, 2013, 8:e67195.
- [23] Li C, Li JF, Cai Q, et al. MiRNA-199a-3p: A potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer [J]. J Surg Oncol, 2013, 108:89-92.
- [24] Liu H, Zhu L, Liu B, et al. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer [J]. Cancer Lett, 2012, 316:196-203.
- [25] Song MY, Pan KF, Su HJ, et al. Identification of serum microRNAs as novel non-invasive biomarkers for early detection of gastric cancer [J]. PLoS One, 2012, 7:e33608.
- [26] Liu R, Zhang C, Hu Z, et al. A five-microRNA signature identified from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis [J]. Eur J Cancer, 2011, 47:784-791.
- [27] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers [J]. Br J Cancer, 2010, 102:1174-1179.
- [28] Zhou H, Guo JM, Lou YR, et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker [J]. J Mol Med(Berl), 2010, 88:709-717.
- [29] Tsai KW, Liao YL, Wu CW, et al. Aberrant expression of miR-196a in gastric cancers and correlation with recurrence[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2012, 51:394-401.
- [30] Wang M, Gu H, Wang S, et al. Circulating miR-17-5p and miR-20a: molecular markers for gastric cancer [J]. Mol Med Rep, 2012, 5:1514-1520.

(收稿日期:2013-11-05)

·编者·作者·读者·

本刊 2014 年各重点期内容

第一期 转化医学

第二期 胃肿瘤

第三期 影像诊断与放射治疗

第四期 胃肠间质瘤

第五期 手术技术

第六期 结直肠肿瘤

第七期 胃肠手术与代谢性疾病

第八期 微创外科

第九期 食管外科

第十期 营养支持治疗

第十一期 胃肠道肿瘤综合治疗

第十二期 肛门良性疾病