

• 论 著 •

血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 表达水平对胃癌诊断和预后评估的临床价值

白菊芳, 许国彩[△], 刘芝兰, 薛晓红

青海省人民医院消化内科, 青海西宁 810000

摘要:目的 探讨血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 表达水平对胃癌诊断和预后评估的临床价值。方法 选取该院 2014 年 3 月至 2019 年 3 月收治且经病理证实的胃癌患者 198 例为胃癌组, 198 例胃良性疾病患者为胃病组, 198 例体检健康者为对照组, 采用 RT-qPCR 法检测血清中 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平。分析不同组及不同特征胃癌患者血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 表达水平差异, 采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 对胃癌的诊断价值。结果 胃癌组和胃病组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平高于对照组($P < 0.05$); 胃癌组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平高于胃病组($P < 0.05$)。miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与胃癌患者性别、年龄无关($P > 0.05$); 与肿瘤最大径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移和复发有关, 且肿瘤最大径 ≥ 5 cm、TNM 分期越高、浸润深度越深、有淋巴结转移、有复发, miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 高表达率越高($P < 0.05$)。miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 高表达组总生存率及生存期明显低于 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 低表达组($P < 0.05$)。miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 联合检测诊断胃癌的灵敏度、特异度、准确度、曲线下面积(AUC)均高于 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 单独检测($P < 0.05$)。结论 胃癌患者血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 表达水平升高, miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 与胃癌患者临床病理特征、预后有关; miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 联合检测诊断胃癌具有较高的灵敏度、特异度, 可在临床上应用。

关键词:血清 miR-296-5p; 胃蛋白酶原 mRNA; 胃癌; 诊断价值
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.025 **中图法分类号:**R735.2
文章编号:1673-4130(2022)06-0754-05 **文献标志码:**A

The clinical value of serum miR-296-5p and pepsinogen mRNA in the diagnosis and prognosis evaluation of gastric cancer

BAI Jufang, XU Guocai[△], LIU Zhilan, XUE Xiaohong

Department of Gastroenterology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, Qinghai 810000, China

Abstract: Objective To investigate the clinical value of serum microRNA-296-5p (miR-296-5p) and pepsinogen mRNA expression level in the diagnosis and prognosis evaluation of gastric cancer. **Methods** A total of 198 patients with gastric cancer confirmed by pathology in our hospital from March 2014 to March 2019 were selected as the gastric cancer group, 198 patients with benign gastric diseases were selected as the gastric disease group, and 198 healthy subjects were selected as the control group. The RT-qPCR method was used to detect serum miR-296-5p and pepsinogen mRNA expression level. The differences in serum miR-296-5p and pepsinogen mRNA levels in different groups and patients with different characteristics of gastric cancer were analyzed, and ROC curve was used to analyze the diagnostic value of serum miR-296-5p and pepsinogen mRNA in gastric cancer. **Results** The expression levels of miR-296-5p and pepsinogen mRNA in the gastric cancer group and gastric disease group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the expression levels of miR-296-5p and pepsinogen mRNA in the gastric cancer group were higher than those in the gastric disease group ($P < 0.05$). The expression of miR-296-5p and pepsinogen mRNA were not significantly correlated with the gender and age of gastric cancer patients ($P > 0.05$), and they were significantly correlated with the largest tumor diameter, TNM stage, depth of invasion, lymph node metastasis, recurrence, and the largest

作者简介:白菊芳,女,主治医师,主要从事消化道内镜方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: baijufang@126.com。
本文引用格式:白菊芳,许国彩,刘芝兰,等. 血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 表达水平对胃癌诊断和预后评估的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(6): 754-758.

tumor diameter ≥ 5 cm, the higher the TNM stage, the deeper the depth of invasion, lymph node metastasis, and recurrence, the higher the positive expression rates of miR-296-5p and pepsinogen mRNA ($P < 0.05$). The AUC, sensitivity, specificity and accuracy of miR-296-5p combined with pepsinogen mRNA in diagnosing gastric cancer were significantly higher than miR-296-5p and pepsinogen mRNA detecting alone ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum miR-296-5p and pepsinogen mRNA are elevated in patients with gastric cancer. MiR-296-5p and pepsinogen mRNA are related to the clinicopathological characteristics and prognosis of patients with gastric cancer. Detection of miR-296-5p combined with pepsinogen mRNA in diagnosing gastric cancer has a higher rate of sensitivity and specificity screening, which can be used in clinical practice.

Key words: serum microRNA-296-5p; pepsinogen mRNA; gastric cancer; diagnostic value

胃癌是全球第五大常见恶性肿瘤,也是全球癌症相关死亡的第三大原因。2018 年,全球新发生胃癌约 100 万人,78.3 万人死亡^[1-2]。早期胃癌仅限于黏膜和黏膜下层,其症状与良性消化性溃疡无法鉴别。对这部分胃癌患者进行筛查可提高早期胃癌的检出率,从而提高其预后。微小 RNA(miRNAs)是高度保守的、小的(长度为 19~25 个核苷酸)单链 RNA,其显著特征是不编码蛋白质^[3]。研究表明,miRNAs 在多种肿瘤组织基因组中异常表达并在血液中保持稳定。此外,miRNAs 参与各种生物学过程,如增殖、分化和转移。miRNAs 参与胃癌的发生和进展,这表明 miRNAs 可以作为诊断治疗胃癌的标志物^[4-5]。miR-296-5p 是一种多功能 miRNA,在不同的癌症中具有不同的功能。miR-296-5p 的致肿瘤作用已在前列腺癌、肺癌、肝癌、鼻咽癌和结直肠癌中得到证实^[6-7]。胃蛋白酶原属于天冬氨酸蛋白酶家族,在病理条件下,胃蛋白酶原表达水平发生显著变化;在浅表性胃炎、萎缩性胃炎、胃癌的动态变化过程中,胃黏膜中胃蛋白酶原的原位表达明显升高,说明胃蛋白酶原是比较理想的诊断胃癌的标志物^[8]。本研究拟探讨血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 在胃癌诊断和预后评估中的临床价值,为胃癌的诊断治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 3 月至 2019 年 3 月在本院经病理证实的胃癌患者 198 例为胃癌组,其中男 102 例,女 96 例;年龄 47~74 岁,平均(58.73 $\pm$ 5.56 岁)。选择 198 例胃部良性疾病患者为胃病组,其中胃溃疡 95 例,胃炎 103 例;男 106 例,女 92 例;年龄 48~72 岁,平均(58.21 $\pm$ 5.73 岁);选择同期 198 例健康体检者作为对照组,其中男 105 例,女 93 例;年龄 49~75 岁,平均(58.85 $\pm$ 5.68)岁。所有患者术前均未接受过相关治疗。手术治疗切除癌组织后,标本固定在甲醇中进行病理分析。本研究已获得本院医学伦理机构审查委员会的批准,所有患者均签署知情同意书。根据美国癌症联合委员会(AJCC)分期对肿

瘤进行分类。

1.2 方法

1.2.1 血清中 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平检测 采集所有研究对象静脉血标本 5 mL,在 4℃ 下以 3 000 $\times$ g 离心 15 min,将上清液转移到 1.5 mL 无 RNase 管中,并在-80℃ 下储存待用。

使用 TRIzol 试剂(Invitrogen, Carlsbad, CA, 批号:CV-5986.69)从血清中提取总 RNA,并用 DNase I(Promega, Madison, WI, 批号:BC-74856.69)消化基因组 DNA。使用 ImProm-II™ 逆转录系统(Promega, DC-56963.63)逆转录 11 g RNA 为 cDNA,逆转录条件为 42℃ 60 min,85℃ 10 min。使用 SYBR GREEN qPCR Super Mix(Invitrogen)和 Applied Biosystems 7500 系统(Applied Biosystems, Foster City, CA)进行 RT-PCR,条件如下:95℃ 变性 10 min,95℃ 15 s,65℃ 32 s,40 个循环。miR-296-5p、胃蛋白酶原、GAPDH 引物由武汉金开瑞生物科技公司合成。引物序列如下:miR-296-5p 正向,5'-TCA CGT AGC TAG CTA GCT AGC TGA TCG ATC GAT GCT AG-3';反向 5'-TGC GAT CGA TCG TAG CTA GTC GAT GCT AGC TAG CTA GTG-3'。胃蛋白酶原正向,5'-TGT GTA GTC GAT CGT AGC TAG CTG ATC GAT GCT AGC TAG CTC G-3';反向 5'-TGT GTC GTA GCT AGT CGA TGC TAG GAT GCT AGT CGA TCG ATG CT-3';GAPDH 正向,5'-TGT GCT GAT GCT AGC TAG TCG ATC GAT GCT AGC TAG TCG ATG CAG T-3';反向 5'-TGT GCA TGC TAG CTA GTC GAT GCT AGT GTG ATG CGA GTC GAT GTC-3'。使用改良 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 方法计算 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 的相对表达水平,并以 GAPDH 作为内参进行归一化。

1.2.2 随访 随访方式为电话随访,内容主要为术后生活质量,随访开始日期为出院日期,结束日期为 2021 年 5 月 1 日。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组

间比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;非正态分布的计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平对胃癌的诊断价值;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平比较 胃癌组和胃病组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平高于对照组 ($P < 0.05$);胃癌组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平高于胃病组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-296-5p mRNA	胃蛋白酶原 mRNA
对照组	198	0.96±0.38	1.45±0.39
胃病组	198	2.32±0.65 ^a	3.29±0.89 ^a
胃癌组	198	4.14±2.33 ^{ab}	6.99±2.28 ^{ab}
<i>F</i>		13.698	15.698
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与胃病组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与临

床病理特征的关系 以胃癌组 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 均值 4.14、6.99 为界值,≤4.14、≤6.99 分别为 miR-296-5p 低表达组、胃蛋白酶原 mRNA 水平低表达组;>4.14、>6.99 分别为 miR-296-5p 高表达组、胃蛋白酶原 mRNA 水平高表达组。

结果显示,miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与性别、年龄无关 ($P > 0.05$);与肿瘤最大径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移和复发有关,且肿瘤最大径≥5 cm、TNM 分期越高、浸润深度越深、有淋巴结转移、有复发的胃癌患者其 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 高表达率越高 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平的胃癌患者预后比较 所有胃癌患者自出院后至随访结束存活时间 4~60 个月,5 年生存率为 45.4% (90/198)。miR-296-5p 高表达组、胃蛋白酶原 mRNA 高表达组 5 年生存率及生存期明显低于 miR-296-5p 和胃蛋白酶原 mRNA 低表达组 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 诊断胃癌的临床价值 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 联合检测诊断胃癌的曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度、准确度均高于 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 单独检测 ($P < 0.05$);见表 4。

表 2 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与胃癌临床病理特征的关系[*n*(%)]

临床特征	<i>n</i>	miR-296-5p		χ^2	<i>P</i>	胃蛋白酶原 mRNA		χ^2	<i>P</i>
		高表达组(<i>n</i> =99)	低表达组(<i>n</i> =99)			高表达组(<i>n</i> =99)	低表达组(<i>n</i> =99)		
年龄(岁)									
<50	78	32(41.0)	46(59.0)	1.213	0.521	36(46.1)	42(53.9)	0.954	0.701
≥50	120	67(55.8)	53(45.2)			63(52.5)	57(47.5)		
性别									
男	102	50(49.0)	52(51.0)	1.126	0.653	46(45.1)	56(54.9)	0.902	0.724
女	96	48(50.0)	48(50.0)			53(55.2)	43(44.8)		
肿瘤最大径(cm)									
<5	96	24(25.0)	72(75.0)	13.487	<0.001	28(29.1)	68(71.9)	12.549	<0.001
≥5	102	75(73.5)	27(26.5)			71(69.6)	31(31.4)		
TNM 分期									
I ~ II	74	30(40.5)	44(59.5)	15.841	<0.001	34(45.9)	40(54.1)	12.359	<0.001
III ~ IV	124	69(55.6)	55(44.4)			65(52.4)	59(47.6)		
浸润深度									
无浸润	44	12(24.2)	32(75.8)	16.456	<0.001	10(22.7)	34(77.3)	9.289	<0.001
浸润<6 cm	102	45(44.1)	57(55.9)			48(47.0)	54(53.0)		
浸润≥6 cm	52	42(80.7)	10(19.3)			41(78.8)	10(21.2)		
淋巴结转移									
无	126	39(30.9)	87(69.1)	13.548	<0.001	46(36.5)	80(63.5)	12.269	<0.001
有	72	60(83.3)	12(16.7)			53(73.6)	19(26.4)		

续表 2miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与胃癌临床病理特征的关系[n(%)]

临床特征	n	miR-296-5p		χ^2	P	胃蛋白酶原 mRNA		χ^2	P
		高表达组(n=99)	低表达组(n=99)			高表达组(n=99)	低表达组(n=99)		
复发									
无	100	37(37.0)	63(63.0)	12.659	13.158	40(40.0)	60(60.0)	13.158	<0.001
有	98	62(63.2)	36(36.8)			59(59.1)	39(40.9)		

表 3不同 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平的胃癌患者预后比较

组别	n	5 年生存率[n(%)]	χ^2	P	生存期[月, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	Z	P
miR-296-5p 高表达组	99	20(20.2)	26.954	<0.001	18.7(16.7, 27.9)	17.967	<0.001
miR-296-5p 低表达组	99	70(70.7)			35.3(28.7, 39.5)		
胃蛋白酶原 mRNA 高表达组	99	24(24.0)	19.512	<0.001	19.4(15.6, 28.4)	18.239	<0.001
胃蛋白酶原 mRNA 低表达组	99	66(66.7)			39.9(31.5, 48.7)		

表 4miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 诊断胃癌的临床价值分析

指标	灵敏度[% (n/n)]	特异度[% (n/n)]	准确度[% (n/n)]	AUC	95%CI
miR-296-5p	78.7(156/198)*	79.5(315/396)*	79.3(471/594)*	0.806*	0.728~0.863
胃蛋白酶原 mRNA	76.2(151/198)*	78.2(310/396)*	77.6(461/594)*	0.793*	0.730~0.856
miR-296-5p+胃蛋白酶原 mRNA	91.4(181/198)	88.1(349/396)	89.2(530/594)	0.854	0.803~0.904

注:与 miR-296-5p+胃蛋白酶原 mRNA 比较, * P<0.05。

3 讨 论

癌症在分子水平上表现出显著的复杂性,与多个基因、蛋白质、通路和调节相互关联。近年来,多项研究表明 miRNAs 可能是包括胃癌在内的多种癌症诊断和预后的生物标志物^[4-5]。据报道,miR-1236-3p 的表达在胃癌组织中明显降低,这表明该 miRNA 可以作为胃癌的诊断和预后生物标志物;胃癌患者血清 miR-25 水平明显上调,因此,miR-25 可用作胃癌诊断和预后的标志物^[6]。miR-296-5p 是 miR-296 家族成员,在恶性肿瘤中高表达并作为经典的癌基因参与癌变^[7-8]。既往研究报告了循环 miR-296-5p 在恶性肿瘤中的表达水平上调,如非小细胞肺癌(NSCLC),以及宫颈癌、肝癌、结直肠癌和前列腺癌^[9]。DONG 等^[10]通过筛选恶性肿瘤患者的循环 miRNA 表达谱鉴定了 5 种血清 miRNA(miR-1、miR-20a、miR-27a、miR-34 和 miR-296-5p)在肝癌诊断中具有潜力。同时,有研究者报道,血清 miRNA 诊断乳腺癌的 AUC 明显高于经典生物标志物,如癌胚抗原(0.503)和糖类抗原 19-9(0.600)^[11]。研究报道,miR-296-5p 可能通过靶向调节核因子(NF)-κB 抑制剂来促进 NF-κB 信号通路和下游靶标 livin 和 survivin 的激活进而参与肝癌的进展^[12]。miR-296-5p 在多种癌症中起着至关重要的作用^[13];miR-296-5p 促进了胶质母细胞瘤细胞的侵袭,并表明 miR-296-5p 可能是胶质母细胞瘤的治疗靶标;与正常肠黏膜相比,miR-296-5p 表达

水平在结直肠癌组织中明显升高^[14]。已有研究证明,miR-296-5p 在结直肠癌组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织,miR-296-5p 是影响结直肠癌患者 5 年生存期的独立预后因素^[15]。

本研究结果显示,胃癌组 miR-296-5p 表达水平高于胃病组与对照组(P<0.05);miR-296-5p 与胃癌患者肿瘤最大径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移和复发有关,且肿瘤最大径≥5 cm、TNM 分期越高、浸润深度越深、有淋巴结转移、有复发,miR-296-5p 高表达率越高(P<0.05)。miR-296-5p 高表达组胃癌患者 5 年生存率及生存期明显低于 miR-296-5p 低表达组(P<0.05)。这说明胃癌患者血清 miR-296-5p 表达水平升高,miR-296-5p 与胃癌患者临床病理特征、预后有关。

胃蛋白酶原是胃细胞成熟的标志物,其变化可反映胃部病变程度。研究发现,胃蛋白酶原抗原在不同胃病中表达水平不同,胃蛋白酶原在正常胃黏膜中的高表达率为 15.0%,在胃癌中为 65.9%;在不同疾病中,胃蛋白酶原高表达率从低到高依次为良性病变、癌前病变和胃癌^[16]。临床流行病学研究发现,血清胃蛋白酶原异常的成年居民具有更高的胃黏膜癌前病变(肠上皮化生和上皮异常增生)发生风险^[17]。本研究发现,胃癌患者血清胃蛋白酶原 mRNA 表达水平升高,胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与胃癌患者临床病理特征、预后有关,这与上述研究结论一致。

血清胃蛋白酶原可以反映胃黏膜的组织学状况,对胃癌具有潜在的诊断价值。有研究显示,miR-92a 与胃蛋白酶原联合检测对胃癌诊断的灵敏度和特异度分别为 86.49% 和 89.32%^[18]。本研究中,miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 联合检测诊断胃癌的灵敏度、特异度、准确度、AUC 均高于 miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 单独检测($P<0.05$)。这说明,miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 联合检测筛查胃癌具有较高的灵敏度、特异度,可在临床上应用。

综上所述,胃癌患者血清 miR-296-5p 及胃蛋白酶原 mRNA 表达水平升高,miR-296-5p、胃蛋白酶原 mRNA 表达水平与胃癌患者临床病理特征、预后有关;miR-296-5p、胃蛋白酶原联合检测诊断胃癌具有较高的灵敏度、特异度,可在临床上推广应用。

参考文献

[1] DUH M, WIKOFF D, LIPWORTH L, et al. Hexavalent chromium and stomach cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Crit Rev Toxicol, 2019, 49(2):140-159.

[2] ETEMADI A, SAFIRI S, SEPANLOU S G, et al. The global, regional, and national burden of stomach cancer in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2017[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2020, 5(1):42-54.

[3] ZHANG B, TIAN L, XIE J, et al. Targeting miRNAs by natural products: a new way for cancer therapy[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 130:110546.

[4] WANG Y, LIN Z, SONG J, et al. MicroRNA-451a targets caveolin-1 in stomach cancer cells [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(10):2524-2533.

[5] BHAT S A, MAJID S, REHMAN M U. Scenario and future prospects of microRNAs in gastric cancer: a review [J]. Iran J Basic Med Sci, 2019, 22(4):345-352.

[6] RONG D, LU C, ZHANG B, et al. CircPSMC3 suppresses the proliferation and metastasis of gastric cancer by acting as a competitive endogenous RNA through sponging miR-296-5p[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1):25.

[7] LEE K H, LIN F C, HSU T I, et al. MicroRNA-296-5p (miR-296-5p) functions as a tumor suppressor in prostate cancer by directly targeting Pin1 [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843(9):2055-2066.

[8] YUAN L, ZHAO J B, ZHOU Y L, et al. Type I and type II Helicobacter pylori infection status and their im-

pact on gastrin and Pepsinogen mRNA; level in a gastric cancer prevalent area[J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(25):3673-3685.

[9] KONG Y, YANG LU, WEI W, et al. CircPLK1 sponges miR-296-5p to facilitate triple-negative breast cancer progression[J]. Epigenomics, 2019, 11(10):1163-1176.

[10] DONG Y, XU T, ZHONG S, et al. Circ0076305 regulates cisplatin resistance of non-small cell lung cancer via positively modulating STAT3 by sponging miR-296-5p[J]. Life Sci, 2019, 239:116984.

[11] SAVI F, FORNO I, FAVERSANI A, et al. miR-296/Scribble axis is deregulated in human breast cancer and miR-296 restoration reduces tumour growth in vivo[J]. Clin Sci, 2014, 127(4):233-242.

[12] CHEN Y, GAO H, LI Y. Inhibition of LncRNA FOXD3-AS1 suppresses the aggressive biological behaviors of thyroid cancer via elevating miR-296-5p and inactivating TGF- β 1/Smads signaling pathway[J]. Mol Cell Endocrinol, 2020, 500:110634.

[13] LI T, LU Y Y, ZHAO X D, et al. MicroRNA-296-5p increases proliferation in gastric cancer through repression of Caudal-related homeobox 1 [J]. Oncogene, 2014, 33(6):783-793.

[14] MA W, SHI S, CHEN L, et al. SP1-induced lncRNA FOXD3-AS1 contributes to tumorigenesis of cervical cancer by modulating the miR-296-5p/HMGA1 pathway[J]. J Cell Biochem, 2021, 122(2):235-248.

[15] MAIA D, DE CARVALHO A C, HORST M A, et al. Expression of miR-296-5p as predictive marker for radiotherapy resistance in early-stage laryngeal carcinoma[J]. J Transl Med, 2015, 13:262.

[16] NAZEMROAYA S, NEMATOLLAHI M A, YAZDAN-PARAST R, et al. Pepsinogen mRNA; expression during larval development of a Persian Gulf Sparid, Sobaity[J]. Aquaculture, 2020, 523:735131.

[17] CHEN X, WANG R, HUANG X, et al. The level of serum pepsinogen mRNA; in diagnosing and evaluating the severity of subacute combined degeneration due to vitamin B12 deficiency[J]. Front Neurol, 2021, 12:604523.

[18] RE V D, ZORZI M D, CAGGIARI L, et al. Polymorphisms in pepsinogen mRNA; C and miRNA genes associate with high serum pepsinogen mRNA; II in gastric cancer patients[J]. Microorganisms, 2021, 9(1):126.