

• 临床研究 •

circRNAs 作为胃癌诊断标记物可行性的 meta 分析*

潘志宏,程臻,闻立伟,曲韬,杜志娜[△]

200041 上海,上海市静安区江宁路街道社区卫生服务中心 外科(潘志宏、程臻、闻立伟);200126 上海,上海市浦东新区杨思医院 消化科(曲韬、杜志娜)

[摘要] 目的:评价环状 RNAs 作为胃癌诊断标记物的价值。方法:检索 PubMed、Web of science 外文数据库和中国知网、万方中文数据库 2015 年 1 月至 2018 年 11 月之间发表的相关文献,应用诊断试验质量评价系统(QUADAS-2)对每项研究方法合理性进行评价,采用 Stata 15.0 软件分析环状 RNAs 与胃癌诊断相关性以评估诊断价值,采用 stata15.0 软件分析参考文献是否存在发表偏倚。结果:13 篇参考文献纳入研究,包含 1 394 名患者。环状 RNAs 作为胃癌诊断标记物的合并敏感度是 0.70(95% CI: 0.66~0.75),合并特异度是 0.72(95% CI: 0.68~0.75),合并阳性似然比 2.5(95% CI: 2.2~2.8),合并阴性似然比 0.41(95% CI: 0.36~0.48),合并诊断优势比是 6(95% CI: 5~8),曲线下面积(area under the curve,AUC)0.77(95% CI: 0.73~0.80),其中环状 RNA Hsa_circ_00001649(AUC:0.83)和 hsa_circ_0000096(AUC:0.82)表现出了较高的诊断效率。结论:环状 RNAs 具有作为胃癌诊断标记物的潜力。

[关键词] 环状 RNAs;胃癌;诊断标记物;meta 分析

[中图分类号] R735.2; R730.49 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2019.08.004

引文格式:Pan ZH, Chen L, Wen LW, et al. Applicability of circular RNAs as a diagnostic biomarker for gastric cancer: A Meta-Analysis [J]. J Cancer Control Treat, 2019, 32(8):675-681. [潘志宏,程臻,闻立伟,等. circRNAs 作为胃癌诊断标记物可行性的 meta 分析 [J]. 肿瘤预防与治疗,2019,32(8):675-681.]

Applicability of Circular RNAs as a Diagnostic Biomarker for Gastric Cancer: A Meta-Analysis

Pan Zhihong, Cheng Liu, Wen Liwei, Qu Tao, Du Zhina

Department of Surgery, Community Health Service Center in Jiangning Road, Jing'an District, Shanghai, Shanghai 200041, China (Pan Zhihong, Cheng Liu, Wen Liwei); Department of Gastroenterology, Yangsi Hospital in Pudong New Area, Shanghai, Shanghai 200126, China (Qu Tao, Du Zhina)

Corresponding author: Du Zhina, E-mail: 1533734192@qq.com

This study was supported by grants from the Shanghai Science and Technology Committee (NO. QKY2018-11).

[Abstract] **Objective:** To evaluate the value of circular RNAs (circRNAs) as diagnostic biomarkers for gastric cancer. **Methods:** We searched relevant articles, published from January 2015 to November 2018, from PubMed, Web of Science, Wanfang Database and CNKI Database. The rationality of each study was assessed by QUADAS-2, a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. STATA (version 15.0) was used to evaluate the diagnostic value of circRNAs for gastric cancer and publication bias. **Results:** This meta-analysis included 1394 patients from 13 articles. Pooled sensitivity, pooled specificity, pooled positive likelihood ratios, pooled negative likelihood ratios, and pooled diagnostic odds ratio were 0.70 (95% CI: 0.66-0.75), 0.72 (95% CI: 0.68-0.75), 2.50 (95% CI: 2.20-2.80), 0.41 (95% CI: 0.36-0.48), 6.00 (95% CI: 5.00-8.00), respectively, and area under the curve (AUC) was 0.77. CircRNAs hsa_circ_00001649 (AUC: 0.83) and hsa_circ_0000096 (AUC: 0.82) were more diagnostically effective. **Conclusion:** CircRNAs might be suitable for diagnostic biomarkers of gastric

[收稿日期] 2019-04-12 **[修回日期]** 2019-07-23

[基金项目] *上海市科学技术委员会面上项目(编号: QKY2018-11)

[通讯作者] [△]杜志娜,E-mail: 1533734192@qq.com

0.36-0.48), 6.00 (95% CI: 5.00-8.00), respectively, and area under the curve (AUC) was 0.77. CircRNAs hsa_circ_00001649 (AUC: 0.83) and hsa_circ_0000096 (AUC: 0.82) were more diagnostically effective. **Conclusion:** CircRNAs might be suitable for diagnostic biomarkers of gastric

cancer.

[Key words] Circular RNAs; Gastric cancer; Diagnostic biomarker; Meta-analysis

作为全球第 5 大常见癌症及第 3 大癌性相关死亡原因,胃癌严重影响着人们的健康^[1]。2015 年统计结果显示,新发浸润型恶性肿瘤中胃癌仅次于肺癌,约 67.9 万例^[2]。早期胃癌的 10 年生存率可高达 90%,而晚期胃癌的 5 年生存率低于 30%,这意味着早期诊断有助于提升胃癌患者的总体预后^[3]。目前,胃癌的早期诊断和预防主要依赖于胃镜下组织活检^[4],过程复杂且病人感受痛苦,在临床应用上受到很大局限^[5]。目前较为常用的胃癌早期诊断的肿瘤指标包括 CEA、CA199 及 CA125,但其对胃癌的诊断灵敏度和特异度均较低,在胃癌早期诊断方面应用价值有限,因而,进一步深入研究新型胃癌特异性生物标记物具有重要的意义^[6]。

近几年随着测序技术的进步,环状 RNA(circular RNAs, circRNAs)在肿瘤发生发展中的作用逐渐受到越来越广泛的关注。circRNAs 是一种首先在 RNA 病毒中鉴定的非编码 RNA,是通过将 3' 和 5' 末端共价键连接而产生^[7-8]。近几年测序技术发展,使得 circRNAs 成为研究热点^[9]。circRNAs 发挥生物学作用方式多样:(1)吸附 miRNA;(2)吸附蛋白;(3)调节转录;(4)选择性剪接;(5)调节细胞周期;(6)调节亲本基因翻译等^[10-11]。有研究提示,在肿瘤组织中存在 circRNAs 的异常表达,并在肿瘤细胞生长、凋亡、侵袭、转移、耐药方面发挥着重要作用。circRNAs 具有独特的分子结构和多样的生物学性能,circRNAs 表达稳定,不易被降解,其较长的半衰期有利于 circRNAs 在人体内的富集,检测结果更加真实准确,这也为利用 circRNAs 作为诊断标记物带来优势。Wang 等^[12]对 circRNAs 在肝癌中诊断敏感性和特异性进行 meta 分析,结果提示 circRNAs 在肝癌诊断方面具有潜在应用价值。许多研究表明,circRNAs 在胃癌组织及癌旁组织中存在表达差异,与肿瘤的 TNM 分期具有相关性,在胃癌的发生发展中发挥着一定的作用。但是,目前尚没有 circRNAs 作为胃癌诊断标记物的 meta 分析。本文旨在对 circRNAs 表达差异与胃癌诊断准确性的关系进行 meta 分析,评估 circRNAs 作为胃癌诊断标记物的临床价值,为胃癌的诊断提供有力参考。

1 材料与方法

1.1 文献检索

1.1.1 外文数据库 包括 PubMed, Web of Science

等数据库,中文数据库包括万方、中国知网等数据库。

1.1.2 检索关键词 中文检索词为“环状 RNAs”、“胃癌”,英文检索词为“circular RNAs”、“gastric cancer”。

1.1.3 检索年限 2015 年 1 月至 2018 年 11 月的中英文文献。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 ①研究分析 circRNAs 表达与胃癌的关系;②从原始数据中提取到 circRNAs 表达差异对胃癌诊断准确性的灵敏度、特异度和曲线下面积值(area under the curve, AUC);③检测对象为胃癌组织和癌旁或正常组织中提取的 circRNAs;④文献已在专业期刊发表。

1.2.2 排除标准 ①研究对象不是患者;②没有对照研究;③文献类型为综述、meta 分析;④检索对象为体液中的 circRNAs;⑤重复的文献。

1.3 文献筛选、资料提取及质量评价

由两名工作人员根据既定检索策略以及纳入和排除标准,筛选相关文献,提取相关数据,主要包括第一作者、发表年份、样本数量、灵敏度、特异度、AUC,计算 tp、fp、fn、tn,如遇分歧讨论解决。应用 QUADAS-2 系统对最终纳入 meta 分析的文献进行质量评价。

1.4 统计学处理

1.5 应用 Stata 15.0 软件分析 circRNAs 差异性表达与胃癌诊断的关系,计算合并灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比、诊断优势比,根据接受者操作特性(receiver operating characteristic, ROC)曲线计算 AUC,应用 Deek's 漏斗图评价发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索结果

检索流程如图 1 所示,最终共纳入 13 篇文献^[11,13-24],包括 1 394 名患者。

2.2 纳入文献基本特征

总结 13 篇被纳入文献基本特征,包括第一作者、发表年份、国家、样本量、诊断指标(敏感度、特异度、AUC)、样本类型、检测方法、circRNAs 表达,详细见表 1。应用 QUADAS-2 评分系统评价文献质量。结果提示所纳入的研究具有较好的方法学质

量,发生偏倚的可能性较低,见图 2。

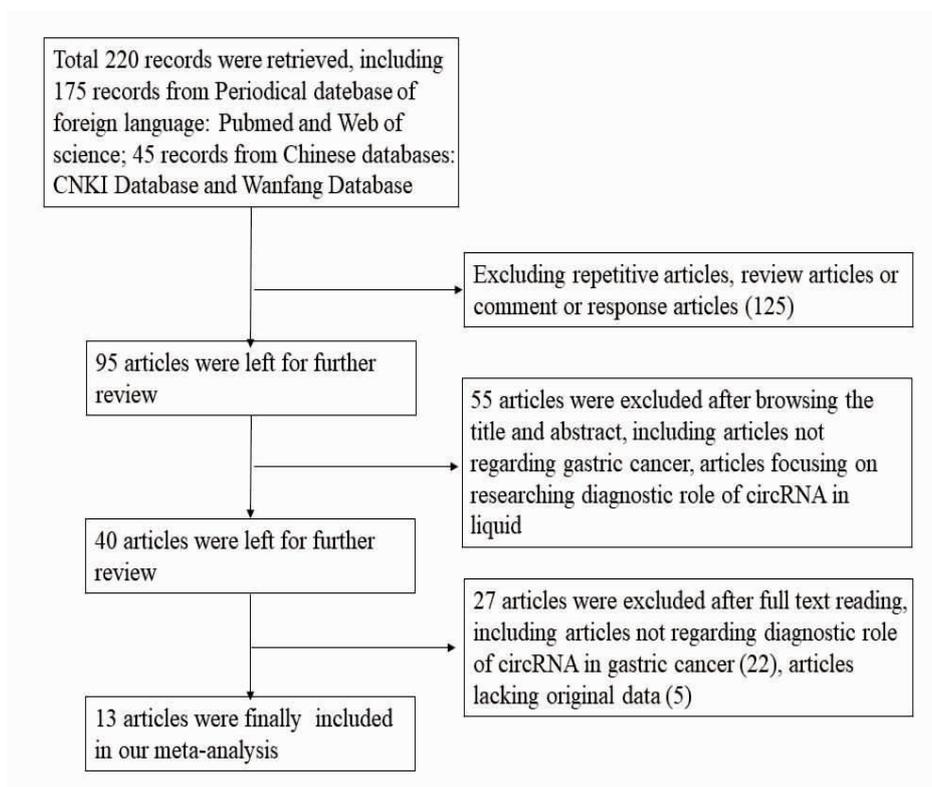


图 1 Meta 分析文献检索流程图

Figure 1. Flow Chart of Document Retrieval for Meta-Analysis

表 1 13 篇被纳入文献基本特征

Table 1. Characteristics of 13 Included Articles

CircRNA	First author	Year	Sample size		Sensitivity	Specificity	AUC	Cutoff value
			Cancer tissue	Control tissue				
Hsa_circ_0000745	Mei Huang	2017	60	60	0.855	0.45	0.683	-
Hsa_circ_0000190	Shijun Chen	2017	104	104	0.721	0.683	0.75	6.83
Hsa_circ_0074362	Yi Xie	2017	127	127	0.843	0.362	0.63	12.17
Hsa_circ_0003159	Mengqian Tian	2017	108	108	0.852	0.525	0.75	12.31
Hsa_circ_0001895	Yongfu Shao	2017	96	65	0.678	0.857	0.792	9.53
Hsa_circ_0000520	Handong Sun	2018	56	56	0.536	0.857	0.613	-
CircPVRL3	Handong Sun	2018	62	62	0.903	0.564	0.763	-
Hsa_circ_0006633	Guoliang Ye	2017	96	96	0.601	0.813	0.741	8.17
Hsa_circ_00001649	Wenhan Li	2017	76	76	0.711	0.816	0.834	0.22
Hsa_circ_0000096	Peifei Li	2017	101	101	0.88	0.56	0.82	12.9
Hsa_circ_0000705	Yongfu Shao	2017	311	311	0.646	0.698	0.719	9.125
Hsa_circ_002059	Peifei Li	2015	101	101	0.81	0.62	0.73	12.9
Hsa_circ_0014717	Yongfu Shao	2017	96	96	0.594	0.813	0.696	12.14

AUC: area under the curve.

2.3 Meta 分析结果

2.3.1 合并效应量 circRNAs 作为胃癌诊断标记物的合并敏感度、合并特异度、合并阳性似然比、合并阴性似然比、合并诊断优势比及各自的 95% 可信

区间分别为 0.70(95% CI 0.66 ~ 0.75)、0.72(95% CI 0.68 ~ 0.75)(图 3)、2.52(95% CI 2.16 ~ 2.94)、0.39(95% CI 0.31 ~ 0.49)(图 4)、6.46(95% CI 5.22 ~ 7.89)(图 5), 合并诊断性能 AUC 及 95% 可

信区间为 0.77 (95% CI 0.73 ~ 0.80) (图 6)。

2.3.2 纳入文献的异质性检验 如图 7, 13 篇文献 11 篇位于中心区域, 2 篇位于区域外, 提示研究间异质性较小。

2.4 发表偏倚分析

Deek's 漏斗图 (图 8) 斜率系数 P 值为 0.028 ($P < 0.10$), 提示发表偏倚存在的可能性极小。

	Risk of Bias				Applicability Concerns		
	Patient Selection	Index Test	Reference Standard	Flow and Timing	Patient Selection	Index Test	Reference Standard
Handong Sun 2018	?	?	+	+	+	+	+
Han-Dong Sun 2018	?	?	+	?	+	+	+
Mei Huang 2017	?	?	+	+	+	+	+
Mengqian Tian 2017	?	?	+	+	+	+	+
Peifei Li 2015	?	?	+	+	+	+	+
Peifei Li 2017	?	?	+	+	+	+	+
Qianfu Zhao 2017	?	?	+	+	+	+	+
Rongdan Lu 2017	?	?	+	+	+	+	+
Shijun Chen 2017	?	?	+	+	+	+	+
Tianwen Li 2018	?	+	+	+	+	+	+
Wen-han Li 2017	+	+	+	+	+	+	+
Yi Xie 2017	?	?	+	+	+	+	+
Yongfu Shao 2017	?	+	+	+	+	+	+

● High ? Unclear + Low

图 2 文献质量评价 (QUADAS-2 评分系统)

Figure 2. Literature Evaluation (QUADAS-2 Scoring System)

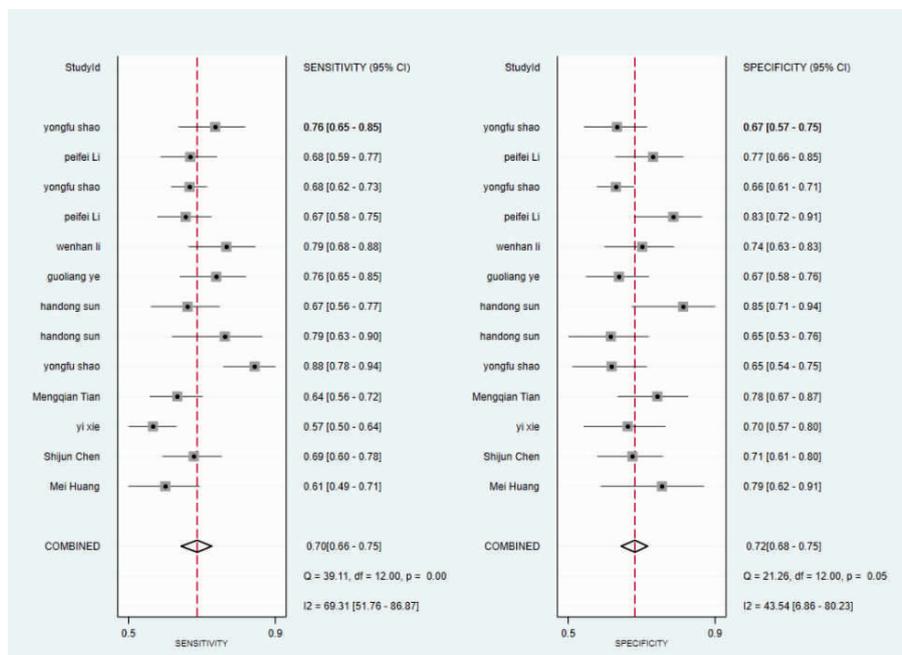


图 3 环状 RNAs 作为胃癌诊断标记物的合并灵敏度及特异度的分析

Figure 3. Pooled Sensitivity and Specificity of Circular RNAs as Diagnostic Markers for Gastric Cancer

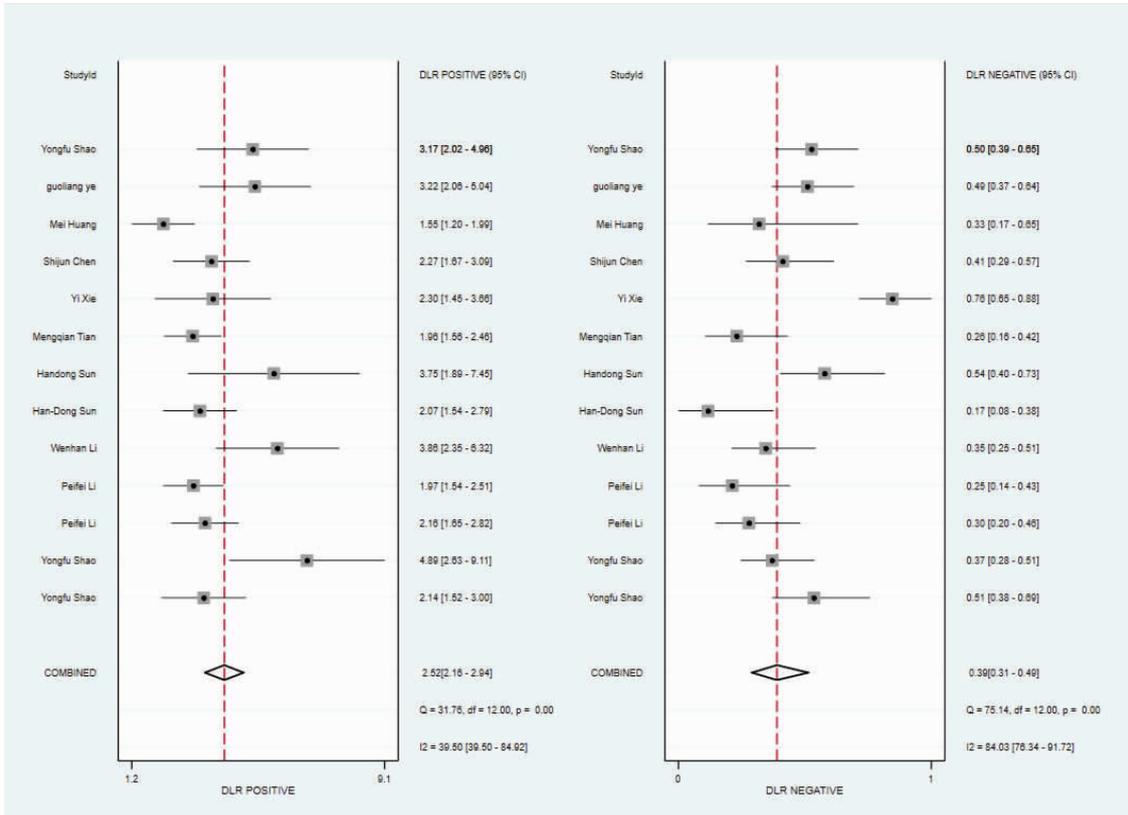


图 4 环状 RNAs 作为胃癌诊断标记物的合并似然比的分析

Figure 4. Pooled Likelihood Ratio of Circular RNAs as Diagnostic Markers for Gastric Cancer

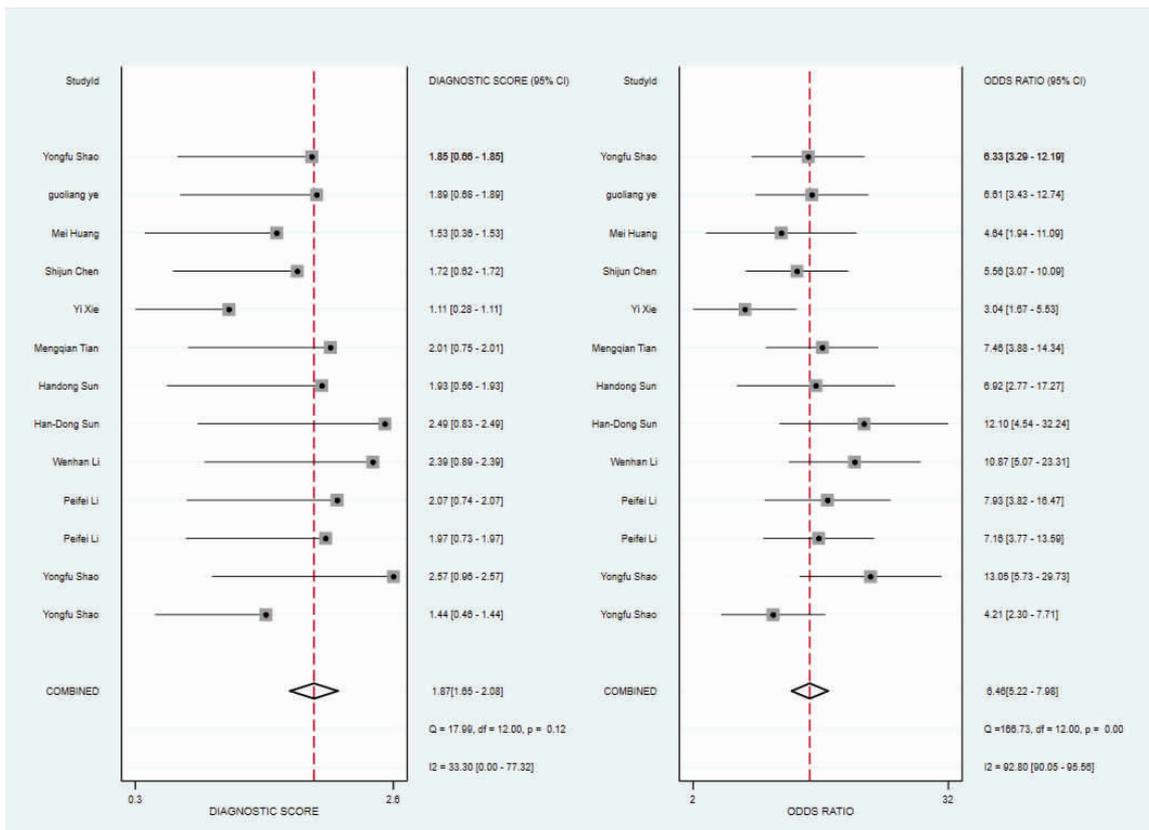


图 5 环状 RNAs 作为胃癌诊断标记物的诊断比值比分析

Figure 5. Diagnostic Odds Ratio of Circular RNAs as Diagnostic Markers for Gastric Cancer

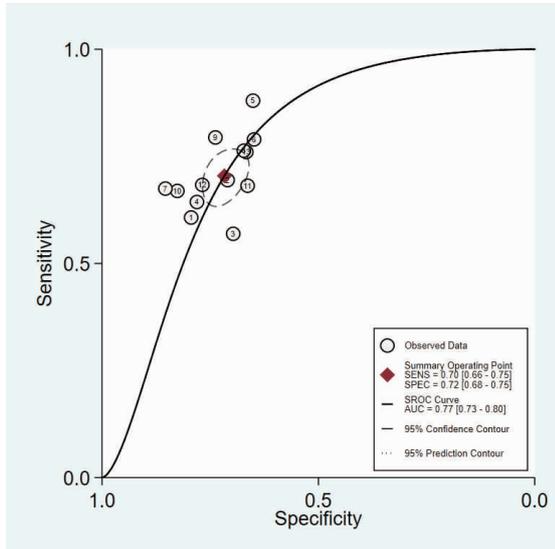


图 6 环状 RNAs 作为胃癌诊断标记物的 ROC 曲线
Figure 6. Receiver Operating Characteristic Curve of Circular RNAs as Diagnostic Markers for Gastric Cancer

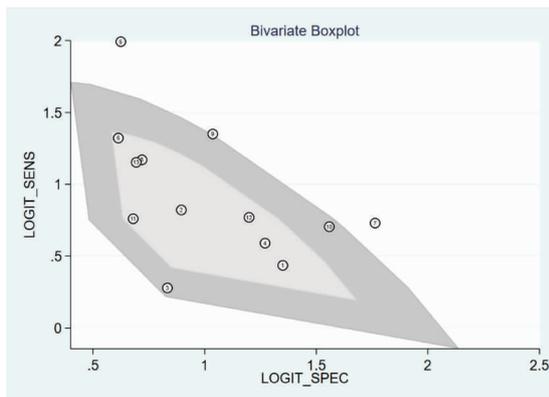


图 7 纳入 13 篇文献的异质性检验
Figure 7. Heterogeneity Test of 13 Articles

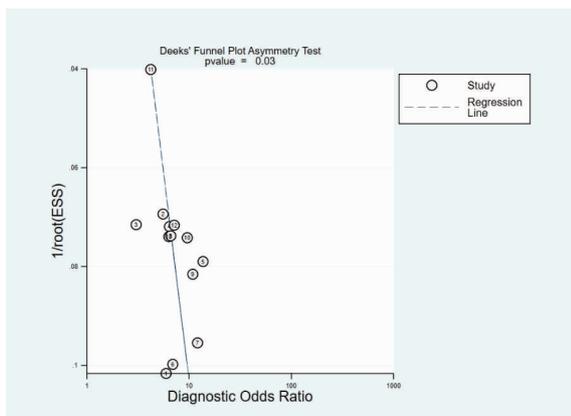


图 8 纳入 13 篇文献的 Deek's 漏斗图分析
Figure 8. Deek's Funnel Plot Asymmetry Test of 13 Articles

3 讨论

近年来,胃癌的诊疗手段有了一定程度的丰富,但

进展期胃癌患者的总体预后仍然较差。而胃癌早期发现是提高患者预后的重要举措。因而研究用于胃癌诊断的特异性 marker,具有重要的临床应用价值^[25]。

近年来的科学研究发现, circRNAs 在肿瘤发生发展中也扮演着一定的角色,并且因其特有的环状结构而拥有较好的稳定性,可在人体内蓄积,具有作为肿瘤诊断标记物的价值。目前,已有几项研究探索了外周血找特定 circRNAs 用于胃癌诊断效能的研究,初步提示了 circRNAs 在胃癌诊断方面的潜在应用价值^[26]。进一步的,关于 circRNAs 在胃癌诊断效能方面的 meta 分析尚未见报道。

本研究通过检索文献,并经过入、排标准筛选后,共纳入 13 篇研究 circRNAs 在胃癌诊断价值的文章。文献检索、纳入、排除和数据的提取分别由两名研究者进行,避免选择偏倚。所纳入的文献依据 QUADAS-2 评分系统进行质量评价,结果提示所纳入的研究具有较好的方法学质量,发生偏倚的可能性较低。纳入文献异质性分析结果提示所纳入的研究间异质性较小。发表偏倚分析结果也提示各研究间存在发表偏倚的可能性较低。

我们对这 13 篇文献中 circRNAs 作为生物标记物对胃癌诊断效率进行了分析,其合并敏感度、合并特异度、合并阳性似然比、合并阴性似然比、合并诊断优势比及各自的 95% 可信区间分别为 0.70(95% CI: 0.66 ~ 0.75)、0.72(95% CI: 0.68 ~ 0.75)、2.52(95% CI: 2.16 ~ 2.94)、0.39(95% CI: 0.31 ~ 0.49)、6.46(95% CI: 5.22 ~ 7.89),合并诊断效能 AUC 及 95% 可信区间为 0.77(95% CI: 0.73 ~ 0.80),结果提示 circRNAs 适合作为胃癌诊断性生物标记物。在入选的文献中, circRNAs Hsa_circ_00001649(AUC:0.83;敏感度:0.71;特异度:0.82)和 hsa_circ_0000096(AUC:0.82;敏感度:0.88;特异度:0.56)表现出了较高的诊断效率。 circRNAs 可作为胃癌诊断性生物标记物, circRNAs 差异表达的检测具有早期诊断胃癌的发展潜力,且无创、无放射风险, circRNAs 作为胃癌预后诊断标记物的价值值得进一步研究。

然而,本研究尚有一些不足之处:(1)缺乏无病者对比数据;(2)样本量有限,需要进一步扩大样本量以增加准确性;(3)由于检测方法不同或为提高准确性,我们排除了一些实验研究。随着 RNA 检测技术不断成熟,不久的将来,快速、准确、廉价的 circRNAs 检测技术即有可能应用于胃癌的临床早期诊断。

作者声明: 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端: 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议: 经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权: 本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

[1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.

[2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016,66(2):115-132.

[3] Jeong SH, An J, Kwon KA, et al. Predictive risk factors associated with synchronous multiple early gastric cancer[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(26):e7088.

[4] Pasechnikov V, Chukov S, Fedorov E, et al. Gastric cancer: prevention, screening and early diagnosis[J]. World J Gastroenterol, 2014,20(38):13842-13862.

[5] 李道娟, 梁迪, 靳晶, 等. 上消化道恶性肿瘤流行病学趋势[J]. 肿瘤预防与治疗, 2018,31(1):62-68.

[6] 沈艺, 郭旭东, 丁元杰, 等. 环状 RNAs 作为肿瘤标志物的系统综述[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(33):2992-2999.

[7] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, 73(11):3852-3856.

[8] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013, 495(7441):384-388.

[9] Li J, Yang J, Zhou P, et al. Circular RNAs in cancer: novel insights into origins, properties, functions and implications[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(2):472-480.

[10] Meng S, Zhou H, Feng Z, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1):94.

[11] Chen S, Li T, Zhao Q, et al. Using circular RNA hsa_circ_

0000190 as a new biomarker in the diagnosis of gastric cancer [J]. Clin Chim Acta, 2017, 466:167-171.

[12] Wang M, Yang Y, Xu J, et al. CircRNAs as biomarkers of cancer: a meta-analysis[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1):303.

[13] Huang M, He Y R, Liang L C, et al. Circular RNA hsa_circ_0000745 may serve as a diagnostic marker for gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(34):6330-6338.

[14] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2015, 444:132-136.

[15] Shao Y, Li J, Lu R, et al. Global circular RNA expression profile of human gastric cancer and its clinical significance[J]. Cancer Med, 2017, 6(6):1173-1180.

[16] Tian M, Chen R, Li T, et al. Reduced expression of circRNA hsa_circ_0003159 in gastric cancer and its clinical significance[J]. J Clin Lab Anal, 2018,32(3).

[17] Li P, Chen H, Chen S, et al. Circular RNA 0000096 affects cell growth and migration in gastric cancer[J]. Br J Cancer, 2017, 116(5):626-633.

[18] Lu R, Shao Y, Ye G, et al. Low expression of hsa_circ_0006633 in human gastric cancer and its clinical significances[J]. Tumour Biol, 2017,39(6):1010428317704175.

[19] Li WH, Song YC, Zhang H, et al. Decreased Expression of Hsa_circ_00001649 in Gastric Cancer and Its Clinical Significance [J]. Dis Markers, 2017, 2017:4587698.

[20] Shao Y, Chen L, Lu R, et al. Decreased expression of hsa_circ_0001895 in human gastric cancer and its clinical significances [J]. Tumour Biol, 2017, 39(4):1010428317699125.

[21] Sun H, Tang W, Rong D, et al. Hsa_circ_0000520, a potential new circular RNA biomarker, is involved in gastric carcinoma [J]. Cancer Biomark, 2018, 21(2):299-306.

[22] Sun HD, Xu ZP, Sun ZQ, et al. Down-regulation of circPVRL3 promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells [J]. Sci Rep, 2018, 8(1):10111.

[23] Xie Y, Shao Y, Sun W, et al. Downregulated expression of hsa_circ_0074362 in gastric cancer and its potential diagnostic values [J]. Biomark Med, 2018, 12(1):11-20.

[24] Shao YF, Yang YB, Lu RD, et al. Identification of tissue-specific circRNA hsa_circ_0000705 as an indicator for human gastric cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2017, 10(3):3151-3156.

[25] 温阳, 宋兴勃, 应斌武. miRNA 和 lncRNA 在胃癌中的研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2018,31(6):438-443.

[26] 周轶冰. microRNA-26a 和 microRNA-199a 在胃癌患者血清中的表达检测及其临床意义[J]. 中国现代医生, 2018,56(23):22-24.