

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.07.004

miR-218-5p 在胃癌细胞和胃癌组织中表达的 临床意义及生物信息学分析*

杜正平^{1,2}, 李海龙^{1,2}, 刘春萍³, 王转兄^{1,2}, 张雪燕⁴, 顾 静⁵, 徐 燕^{6△}

1. 甘肃中医药大学临床医学院, 甘肃兰州 730030; 2. 甘肃省中医方药挖掘与创新转化重点实验室, 甘肃兰州 730030; 3. 甘肃省酒泉市第二人民医院检验科, 甘肃酒泉 735000; 4. 甘肃省卫生职业学院医学检验系, 甘肃兰州 730030; 5. 甘肃中医药大学基础医学院生理教研室, 甘肃兰州 730030; 6. 甘肃中医药大学学报编辑部, 甘肃兰州 730030

摘 要:目的 分析 miR-218-5p 在胃癌细胞和胃癌组织中的表达, 采用生物信息学方法, 预测其靶基因并对其进行信号通路进行富集分析, 并利用 OncomiR 数据库对 miR-218-5p 在胃癌中的表达与预后关系进行生存分析。方法 通过实时荧光定量 PCR 检测 miR-218-5p 在不同分化程度的胃癌细胞和正常细胞、胃癌组织和癌旁组织中的表达, 分析其临床意义。在 miRecords 网站数据库选择 3 个以上软件在线预测其靶基因, 取其交集, 运用 DAVID6.7 数据库, 对其靶基因参与的信号通路进行富集分析。采用 OncomiR 数据库分析 miR-218-5p 在胃癌组织相对于癌旁组织中的表达, 并利用 OncomiR 和 cBioportal 数据库分别进行 miR-218-5p 在胃癌组织中的表达与预后生存期的分析。结果 miR-218-5p 在不同分化程度的胃癌细胞中表达下调。相对于癌旁组织, miR-218-5p 在胃癌组织中也明显下调, miR-218-5p 的下调与胃癌淋巴结转移 ($P < 0.001$) 及 TNM 分期 ($P < 0.001$) 具有相关性。生物信息学分析显示, miR-218-5p 的靶基因富集在与肿瘤相关的多个信号通路中, 且其在胃癌中的表达与胃癌患者预后具有一定相关性 ($P = 0.016\ 32$)。结论 miR-218-5p 在胃癌中表达下调, 起到潜在的抑癌作用, 可能成为新的治疗靶点和预后标志物。

关键词: miR-218-5p; 胃癌; 生物信息学分析

中图法分类号: R735.2; R730.231

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)07-0876-05

Clinical significance and bioinformatics analysis of the depression of miR-218-5p in gastric cancer cells and gastric cancer tissue*

DU Zhengping^{1,2}, LI Hailong^{1,2}, LIU Chunping³,

WANG Zhuanxiong^{1,2}, ZHANG Xueyan⁴, GU Jing⁵, XU yan^{6△}

1. Clinical Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730030, China; 2. Gansu Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Exploitation and Innovation, Lanzhou, Gansu 730030, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Jiuquan, Jiuquan, Gansu 735000, China; 4. Laboratory Medicine, Gansu Healthy Vocational College, Lanzhou, Gansu 730030, China; 5. Department of Physiology, Basic Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730030, China; 6. Department of Editorial, Journal of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730030, China

Abstract: Objective To analyze the expression of miR-218-5p in gastric cancer cells and gastric cancer tissues, and to predict its target genes and enrich the signal pathways by bioinformatics method, and to analyze the relationship between expression of miR-218-5p and prognosis in gastric cancer using OncomiR database. **Methods** Real-time fluorescence-determined PCR was used to detect the expression of miR-218-5p in gastric cancer cells and normal gastric cancer cells with different degrees of differentiation, as well as the expression levels in gastric cancer tissues and adjacent tissues. Its clinical significance was analyze. Three or more software were selected in the miRecords website database to predict their target genes online, and the intersections were taken. The DAVID6.7 database was used to enrich the signal pathways involved in the target genes. Expression of miR-218-5p in gastric cancer tissues was compared with normal tissues by OncomiR database, and expression of miR-218-5p in gastric cancer tissues and prognosis survival were analyzed by OncomiR and cBio-

* 基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(17JR5RA173); 甘肃省高等学校科研项目(甘财教[2014]63-15); 甘肃中医药大学研究生创新基金(CX2019-26)。

作者简介: 杜正平, 女, 在读硕士, 主要从事肿瘤分子机制和中药抗肿瘤方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: xybj78@163.com。

portal databases, respectively. **Results** The expression of miR-218-5p was down-regulated in gastric cancer cells with different degrees of differentiation. Compared with precancerous tissues, miR-218-5p was down-regulated in gastric cancer tissues. The down-regulated expression of miR-218-5p was associated with lymph node metastasis ($P < 0.001$) and TNM stage ($P < 0.001$) of gastric cancer. Informatics analysis revealed that the target gene of miR-218-5p was enriched in multiple signaling pathways associated with tumors, and its expression in gastric cancer was significantly correlated with the prognosis of patients with gastric cancer ($P = 0.016\ 32$). **Conclusion** The expression of miR-218-5p is down-regulated in gastric cancer, which has potential anti-cancer effects and may become a new therapeutic target and prognostic marker.

Key words: miR-218-5p; gastric cancer; bioinformatics analysis

微小 RNA(miRNA)是近年来发现的内源性小型非编码 RNA 分子,其长度约为 22 个核苷酸,可通过直接诱导信使 RNA(mRNA)降解或通过靶 mRNA 3'-非翻译区(3'-UTR)中的互补位点碱基配对而在动物和植物中发挥重要的基因调节作用^[1]。miRNA 参与细胞的发育、分化、增殖、迁移和应激反应等多种生理过程^[2],其在体内的异常表达对肿瘤的发生、发展起着至关重要的作用。

miR-218 是由 miR-218-1 和 miR-218-2 基因编码的内含子 miRNA,位于肿瘤抑制基因 SLIT2 和 SLIT3 的内含子中^[3]。ZARE 等^[4]发现,miR-218 在胃癌中的表达呈现出缺失或者下调的状态;通过调节 Robo1 表达水平,miR-218 可抑制肺癌细胞的迁移和侵袭^[5];过表达 miR-218 可促进胆囊癌细胞的凋亡,恢复对吉西他滨的敏感性^[6]。GUAN 等^[7]研究表明,miR-218 在前列腺癌中低表达,过表达 miR-218 后可抑制肿瘤的迁移、上皮-间质转化和癌症干细胞特性。AHMADINEJAD 等^[8]通过计算机基因本体论和信号通路富集分析,阐明 miR-218 在人乳腺癌中的低表达与淋巴结转移和不良预后相关。虽有研究已阐明 miR-218 在胃癌细胞中的调控机制^[9-10],但对其在不同分化程度细胞中的表达以及其调控的靶基因和对预后的影响进行系统研究的报道较少。因此,本研究将通过检测 miR-218-5p 在胃癌细胞和胃癌组织中的表达,分析其临床意义,并采用生物信息学方法,以明确其表达和意义,为胃癌的进一步研究提供线索。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 胃癌细胞 AGS、SGC-7901、MKN-45、MGC-803、BCG-823、HGC-27 和正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 购自中国科学院上海细胞库、北京协和肿瘤研究所细胞库和上海和元生物公司。

1.1.2 组织标本 选取 2009 年 10 月至 2010 年 4 月甘肃省武威肿瘤医院接受手术治疗的 37 例胃癌患者作为研究对象,其中男 21 例,女 16 例;年龄 35~76 岁,中位年龄 56 岁。取胃癌及其周围组织标本(距离癌灶 5 cm 以上,且经 HE 染色证实均无癌细胞)进行研究,其中癌组织标本 37 例,癌旁组织标本 37 例。取材后,立即放入液氮中并转入-80℃长期保存。以上患者均有完整的临床资料,包括姓名、性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤部位、分化程度、浸润深度、TNM 分期

及淋巴结转移情况等。所有患者术前均未接受过放、化疗。

1.2 仪器与试剂 高糖 DMED 培养基(GE Healthcare Life sciences 公司),胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司),RNA 裂解液 RNAiso Plus(Takara Bio 公司),反转录试剂盒(All-in-One™ miRNA First-Strand cDNA Synthesis Kit,广州复能基因公司),内参照 U6 特异引物(美国 GeneCopoeia™ 公司,序列编号 HmiRQP9001),通用引物(Takara Bio 公司,编号 D350A),miR-218 特异引物(美国 GeneCopoeia™ 公司,序列编号 HmiRQP0327),超微量分光光度计(P100+,Putton 公司),实时定量 PCR 仪(LightCycler 9600,罗氏公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 细胞在 DMEM 培养基中培养,补充 10%胎牛血清和 1%青霉素/链霉素,并在 37℃、5%CO₂ 中温育。细胞换液间隔时间为 2~3 d,当细胞覆盖率达到培养皿底部的 70%~80%时进行胰酶消化后传代。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 根据制造商的说明,用 Trizol 试剂从培养的细胞和组织中提取总 RNA,用反转录试剂盒合成 cDNA。反转录过程在 37℃ 60 min,85℃ 5 min 这一条件下完成,将吸光度(A_{260/280})为 1.8~2.2 的标本置于-80℃冰箱,用于后续试验。PCR 循环参数:预变性 95℃ 10 s,变性 95℃ 10 s,退火 60℃ 20 s,共 40 个循环。完成扩增后进行熔解曲线分析,内参基因为 U6,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算各组间 miRNA 水平的表达差异,试验重复 3 次。

1.3.3 miR-218-5p 的靶基因和靶基因富集信号通路分析 运用 miRecords 网站(<http://cl. accuracy-science.com/miRecords/index.php>)中的生物信息学软件对 miR-218-5p 潜在的靶基因进行预测,取其交集,使用 DAVID6.7 数据库对所获得的靶基因进行 KEGG Pathway 通路富集分析。

1.3.4 miR-218-5p 胃癌组织的表达和生存期分析 基于 OncomiR 数据库,分析 miR-218-5p 在胃癌细胞和正常胃黏膜上皮细胞中的表达,并利用 cBioportal 网站对其进行预后分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件对数据进行分析。对计量资料进行正态性和方差齐性分析,符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用

独立样本 t 检验;不符合正态分布的计量资料采用中位数和四分位数间距 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,组间比较采用非参数检验。富集聚类分析采用 Fisher 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 胃癌细胞与正常胃黏膜上皮细胞中 miR-218-5p 水平的比较 正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 中 miR-218-5p 水平为 1.00 ± 0.03 ,miR-218-5p 在不同分化程度的胃癌细胞 MKN-45、SGC-7901、MGC-803、BCG-823、HGC-27、AGS 表达水平分别为 0.15 ± 0.04 、 0.34 ± 0.03 、 0.26 ± 0.06 、 0.10 ± 0.01 、 0.23 ± 0.05 、 0.03 ± 0.02 ,低于正常胃黏膜上皮细胞,差异均有统计学意义($t=30.611$ 、 27.344 、 18.963 、 52.713 、 21.878 、 46.982 , $P<0.01$)。

2.2 胃癌组织和癌旁组织中 miR-218-5p 的表达 与癌旁组织比较,有 2 例患者胃癌组织中 miR-218-5p 表达上调,35 例表达下调,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。进一步进行临床病理参数分析发现,miR-218-5p 在胃癌组织中的表达与淋巴结转移($P<0.001$)和 TNM 分期($P<0.001$)有关,而与年龄、性别、癌细胞分化程度、淋巴管转移、静脉转移、Borrmann 分型、浸润深度无关,见表 1。

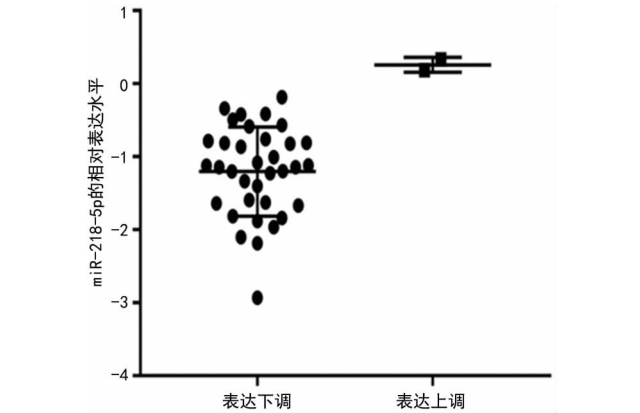


图 1 miR-218-5p 在胃癌组织相对于癌旁组织中的表达情况

表 1 miR-218 -5p 在胃癌组织中的表达与临床病理参数的关系[$M(P_{25}, P_{75})$]				
参数	<i>n</i>	miR-218-5p 水平	<i>Z</i>	<i>P</i>
年龄(岁)			-0.644	0.534
<59	21	0.08(0.03,0.22)		
≥59	16	0.07(0.01,0.24)		
性别			0.429	0.683
男	21	0.08(0.02,0.22)		
女	16	0.07(0.02,0.30)		
分化程度			-0.371	0.725
中/高分化	15	0.07(0.02,0.17)		
未/低分化	22	0.12(0.02,0.26)		
TNM 分期			-3.731	<0.001
I ~ II 期	12	0.22(0.16,0.60)		

续表 1 miR-218 -5p 在胃癌组织中的表达与临床病理参数的关系[$M(P_{25}, P_{75})$]				
参数	<i>n</i>	miR-218-5p 水平	<i>Z</i>	<i>P</i>
Ⅲ ~ Ⅳ 期	25	0.06(0.01,0.08)		
淋巴结转移			3.335	<0.001
阳性	23	0.06(0.02,0.08)		
阴性	14	0.22(0.12,0.46)		
淋巴管转移			0.400	0.714
阳性	32	0.12(0.04,0.38)		
阴性	5	0.16(0.07,0.90)		
静脉转移			0.529	0.616
阳性	3	0.07(0.01,0.22)		
阴性	34	0.08(0.02,0.26)		
浸润深度			-1.828	0.070
黏膜、黏膜下层、肌层、浆膜下层	11	0.16(0.05,0.46)		
穿透浆膜和毗邻结构	26	0.07(0.02,0.15)		
Borrmann 分型			0.125	0.914
I + II	23	0.08(0.04,0.38)		
Ⅲ + Ⅳ	14	0.07(0.04,0.16)		

2.3 miR-218-5p 的靶基因预测和靶基因富集的生物信息学分析 生物信息学分析结果可见,miR-218-5p 的预测靶基因富集在 60 个信号通路中,其中与肿瘤密切相关的有 30 个,涉及多种肿瘤凋亡、细胞周期、增殖、代谢、侵袭转移以及多个关键的信号通路,见表 2。

表 2 miR-218-5p 预测靶基因富集信号通路分析			
与肿瘤密切相关的信号通路	<i>P</i>	富集倍数	Fisher 检验统计量
cGMP-PKG 信号通路	1.80×10^{-7}	2.1	7.00×10^{-8}
癌症信号通路	1.60×10^{-7}	1.7	8.70×10^{-8}
AMPK 信号通路	6.10×10^{-6}	2.1	2.30×10^{-6}
甲状腺癌	1.70×10^{-5}	3.5	2.80×10^{-6}
Rapl 信号通路	6.10×10^{-6}	1.8	2.90×10^{-6}
cAMP 信号通路	1.00×10^{-5}	1.8	4.70×10^{-6}
非小细胞肺癌	1.90×10^{-5}	2.7	5.10×10^{-6}
癌症中的蛋白多糖	1.40×10^{-5}	1.8	6.40×10^{-6}
FoxO 信号通路	2.50×10^{-5}	2.0	1.00×10^{-5}
Hippo 信号通路	3.80×10^{-5}	1.9	1.70×10^{-5}
PI3K-Akt 信号通路	3.10×10^{-5}	1.6	1.80×10^{-5}
前列腺癌	8.60×10^{-5}	2.2	3.10×10^{-5}
急性髓性白血病	2.20×10^{-4}	2.4	6.90×10^{-5}
子宫内膜癌	2.50×10^{-4}	2.5	7.30×10^{-5}
胶质瘤	2.30×10^{-4}	2.3	7.80×10^{-5}
慢性粒细胞白血病	4.10×10^{-4}	2.2	1.50×10^{-4}
黑色素瘤	2.20×10^{-3}	2.0	8.90×10^{-4}
Ras 信号通路	7.60×10^{-4}	1.6	4.30×10^{-4}
ErbB 信号通路	1.20×10^{-3}	2.0	4.90×10^{-4}
小细胞肺癌	1.90×10^{-3}	1.9	8.30×10^{-4}
Wnt 信号通路	4.50×10^{-3}	1.6	2.40×10^{-3}
结直肠癌	6.20×10^{-3}	2.0	2.60×10^{-3}

续表 2	miR-218-5p 预测靶基因富集信号通路分析		
与肿瘤密切相关的信号通路	P	富集倍数	Fisher 检验统计量
mTOR 信号通路	7.40×10^{-3}	2.0	2.60×10^{-5}
癌症中的中枢碳代谢	8.80×10^{-3}	1.9	3.70×10^{-3}
肾细胞癌	1.00×10^{-2}	1.9	4.50×10^{-3}
MAPK 信号通路	1.00×10^{-3}	1.4	6.80×10^{-3}
癌症中的胆碱代谢	1.80×10^{-2}	1.6	9.50×10^{-3}
胰腺癌	4.50×10^{-2}	1.7	2.20×10^{-2}
膀胱癌	6.70×10^{-2}	1.8	3.00×10^{-2}
癌症中的转录失调	6.60×10^{-2}	1.3	4.40×10^{-2}

2.4 基于 OncomiR 数据库对 miR-218-5p 在胃癌中的表达及预后的生存分析 经 OncomiR 数据库(<http://www.oncomir.org>)检索发现,miR-218-5p 在胃癌组织中的表达显著低于癌旁组织中的表达($P = 3.10 \times 10^{-3}$),见图 2。为分析 miR-218-5p 在胃癌中的表达与预后之间的关系,本研究使用此数据库进一步分析了 miR-218-5p 在胃癌中的表达与生存期的关系。结果发现,miR-218-5p 低表达患者其生存期显著短于表达正常患者($P = 0.016\ 32$),见图 2。使用 cBioportal(<http://cbioportal.org>)工具并对其进行 Kaplan-Meier 分析,结果显示,黏液腺癌($n = 72$)、乳头状腺癌($n = 22$)和弥漫型腺癌($n = 8$)患者中,低表达组的总生存期(OS)短于对照组($P = 0.048$),见图 3。

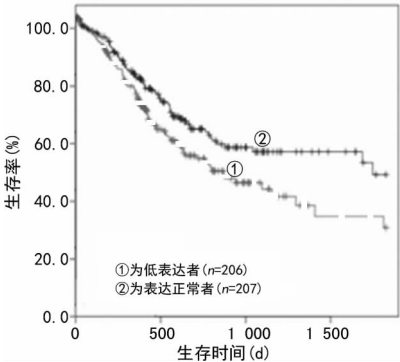


图 2 利用 OncomiR 数据库分析 miR-218-5p 在胃癌中的表达与预后的关系

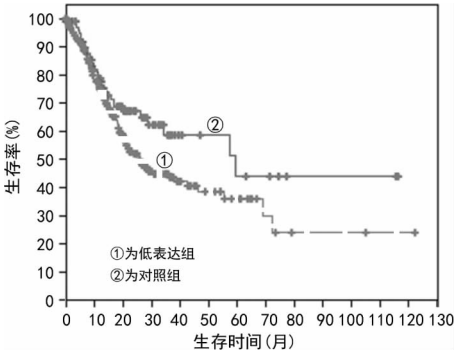


图 3 利用 cBioportal 工具分析 miR-218-5p 表达与预后的关系

3 讨 论

近年来,通过研究 miRNA 在癌症中的表达及作

用,越来越多的人对基因调控有了全新的认知^[11]。miRNA 在肿瘤的发生、发展中发挥作用,是一种重要的调节因子^[12]。大量研究表明,不同类型癌症中异常表达的 miRNA 在肿瘤的发生、发展、侵袭和转移等生物过程发挥重要作用,可作为肿瘤患者预后分析的生物标志物^[13-16]。

miR-218 可以作为肿瘤抑制因子,在体内表达下调。多项报道指出,miR-218 可抑制食管癌^[17]、宫颈癌^[18]、神经胶质瘤^[19]、膀胱癌^[20]、卵巢癌^[21]和胃癌^[22]等癌细胞的增殖、侵袭、迁移、上皮细胞-间充质转化、淋巴结转移和自我更新。此外,miR-218 在一些造血系统疾病,如急性早幼粒细胞白血病(APL)中也表达下调,且其差异表达与 APL 的临床特征密切相关^[23]。成熟的 miR-218 被剪切成 miR-218-5p 和 miR-218-3p,miR-218-3p 有两个亚型,分别为 miR-218-1-3p 和 miR-218-2-3p。在本研究中,miR-218-5p 在不同分化程度胃癌细胞中的表达明显低于正常胃黏膜 GES-1 细胞,此外,PCR 显示,miR-218-5p 在胃癌组织中的表达水平明显低于胃癌旁组织,这与较多报道结果一致^[24-26],也与 OncomiR 数据库 miR-218-5p 的表达结果一致。临床病理参数分析发现,miR-218-5p 在胃癌中的低表达,与肿瘤的淋巴结转移、TNM 分期有关($P < 0.001$),而与年龄、性别、分化程度、静脉转移及 Borrmann 分型无相关性($P > 0.05$)。有研究表明,甘肃省武威地区为胃癌高发地区^[27],且本研究标本来源于武威地区的患者,代表性强。部分研究表明,miR-218-5p 通过靶向调控 ROBO1、LASP1、WASF3、血管生成素-2 等调节胃癌细胞的增殖、分化以及凋亡^[28-30]。然而,还有更多的靶基因尚未得到验证,因此,本研究通过在 miRecords 网站上预测其靶基因并进行信号通路富集分析,结果显示,60 个信号通路中,与肿瘤相关的信号通路有 30 个,包括 PI3K-Akt、ErbB、Wnt、mTOR 等涉及多种肿瘤细胞凋亡、增殖、代谢、侵袭、转移以及多个关键的信号通路。此外,为分析 miR-218-5p 和 miR-218-3p 两个亚型在胃癌中的表达与其预后之间的关系,本研究使用了 OncomiR 数据库和 cBioportal 工具对其进行预后分析,结果显示 miR-218-5p 在胃癌中的表达与胃癌患者 OS 具有显著相关性,miR-218-5p 低表达患者其生存期时间显著短于表达正常患者($P = 0.016\ 32$)。且在黏液腺癌、乳头状腺癌和弥漫型腺癌患者中,低表达组的 OS 短于对照组($P = 0.048$)。本研究结果为 miR-218-5p 的功能研究提供了新的思路,该标志物可能成为胃癌新的治疗靶点和预后标志物。

参考文献

[1] SUN X,DONGOL S,QIU C,et al. miR-652 Promotes Tumor Proliferation and Metastasis by Targeting RORA in Endometrial Cancer [J]. Mol Cancer Res, 2018, 16 (12):1927-1939.
[2] LU X,LIU Y,LUO F,et al. MicroRNA-21 activation of

- Akt via PTEN is involved in the epithelial-mesenchymal transition and malignant transformation of human keratinocytes induced by arsenite[J]. *Toxicol Res*, 2016, 5(4): 1140-1147.
- [3] DENG M, ZENG C, LU X, et al. miR-218 suppresses gastric cancer cell cycle progression through the CDK6/Cyclin D1/E2F1 axis in a feedback loop[J]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 175-185.
 - [4] ZARE A, AHADI A, LARKI P, et al. The clinical significance of miR-335, miR-124, miR-218 and miR-484 down-regulation in gastric cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(6): 1587-1595.
 - [5] 陈平, 赵云龙, 李英杰. MiR-218 通过抑制 Robo1 的表达影响肺癌细胞迁移侵袭[J]. *中国肺癌杂志*, 2017, 20(7): 452-458.
 - [6] WANG H, ZHAN M, XU S W, et al. miR-218-5p restores sensitivity to gemcitabine through PRKCE/MDR1 axis in gallbladder cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2770.
 - [7] GUAN B, MU L, ZHANG L, et al. MicroRNA-218 inhibits the migration, epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell properties of prostate cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 1821-1826.
 - [8] AHMADINEJAD F, MOWLA S J, HONARDOOST M A, et al. Lower expression of miR-218 in human breast cancer is associated with lymph node metastases, higher grades, and poorer prognosis[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(8): 1010428317698362.
 - [9] GAO C, ZHANG Z, LIU W, et al. Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer[J]. *Cancer*, 2010, 116(1): 41-49.
 - [10] RUAN Q, FANG Z Y, CUI S Z, et al. Thermo-chemotherapy Induced miR-218 upregulation inhibits the invasion of gastric cancer via targeting Gli2 and E-cadherin[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(8): 5807-5814.
 - [11] HAYES J, PERUZZI P P, LAWLER S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460-469.
 - [12] DUAN F, WANG K, DAI L, et al. Prognostic significance of low microRNA-218 expression in patients with different types of cancer: evidence from published studies[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(37): e4773.
 - [13] MISKA E A. How microRNAs control cell division, differentiation and death[J]. *Curre Opin Genet Dev*, 2005, 15(5): 563-568.
 - [14] GARZON R, MARCUCCI G, CROCE C M. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges[J]. *Nature Rev Drug Dis*, 2010, 9(10): 775-789.
 - [15] LI X, YU Z, LI Y, et al. The tumor suppressor miR-124 inhibits cell proliferation by targeting STAT3 and functions as a prognostic marker for postoperative NSCLC patients[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(2): 798-808.
 - [16] ZHENG Z, DING M, NI J, et al. MiR-142 acts as a tumor suppressor in osteosarcoma cell lines by targeting Rac1[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(3): 1291-1299.
 - [17] LIN J, WANG W, XU Q, et al. MiR-218 increases sensitivity to cisplatin in esophageal cancer cells via targeting survivin expression[J]. *Open Med (Wars)*, 2016, 11(1): 31-35.
 - [18] JIANG Z, SONG Q, ZENG R, et al. MicroRNA-218 inhibits EMT, migration and invasion by targeting SFMBT1 and DCUN1D1 in cervical cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(29): 45622-45636.
 - [19] TU Y, GAO X, LI G, et al. MicroRNA-218 inhibits glioma invasion, migration, proliferation, and cancer stem-like cell self-renewal by targeting the polycomb group gene Bmi1[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(19): 6046-6055.
 - [20] CHENG Y, YANG X, DENG X, et al. MicroRNA-218 inhibits bladder cancer cell proliferation, migration, and invasion by targeting BMI-1[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(10): 8015-8023.
 - [21] LI N, WANG L, TAN G, et al. MicroRNA-218 inhibits proliferation and invasion in ovarian cancer by targeting Runx2[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53): 91530-91541.
 - [22] WANG G, FU Y, LIU G, et al. miR-218 Inhibits Proliferation, Migration, and EMT of Gastric Cancer Cells by Targeting WASF3[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(3): 355-364.
 - [23] WANG Y, SUN H H, SUI M H, et al. miR-218 inhibits acute promyelocytic leukemia cell growth by targeting BMI-1[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6): 8078-8083.
 - [24] WANG X X, GE S J, WANG X L, et al. miR-218 tissue expression level is associated with aggressive progression of gastric cancer[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2): gmr. 15027521.
 - [25] XIN S Y, FENG X S, ZHOU L Q, et al. Reduced expression of circulating microRNA-218 in gastric cancer and correlation with tumor invasion and prognosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(22): 6906-6011.
 - [26] KIM M, KIM J H, BAEK S J, et al. Specific expression and methylation of SLIT1, SLIT2, SLIT3, and miR-218 in gastric cancer subtypes[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(6): 2497-2507.
 - [27] 罗好曾, 米登海, 景天忠, 等. 武威市胃癌危险因素流行病学研究[J]. *实用肿瘤杂志*, 2004, 19(6): 540-543.
 - [28] ZHANG X, DONG J, HE Y, et al. miR-218 inhibited tumor angiogenesis by targeting ROBO1 in gastric cancer[J]. *Gene*, 2017, 615: 42-49.
 - [29] WANG L L, WANG L, WANG X Y, et al. MicroRNA-218 inhibits the proliferation, migration, and invasion and promotes apoptosis of gastric cancer cells by targeting LASP1[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(11): 15241-15252.
 - [30] TANG S, WANG D, ZHANG Q, et al. miR-218 suppresses gastric cancer cell proliferation and invasion via regulation of angiopoietin-2[J]. *Experi Therap Med*, 2016, 12(6): 3837-3842.