

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.12.011

· 临床研究 ·

非小细胞肺癌患者外周血清 miR-22 和 miR-126 的检测及其临床意义

张玉洁¹, 商安全^{2,3}, 王微微⁴, 魏军¹ (1. 宁夏医科大学临床医学院, 宁夏 银川 750000; 2. 同济大学医学院附属同济医院检验科, 上海 200065; 3. 盐城市第六人民医院检验医学科, 江苏 盐城 224005; 4. 盐城市第一人民医院病理科, 江苏 盐城 224001)

[摘要] **目的:** 探讨液体活检外周血清 miR-22 和 miR-126 的表达在非小细胞肺癌(NSCLC)发生和转移中的作用。**方法:** 收集盐城市第六人民医院2013年5月至2015年5月期间确诊的127例NSCLC患者, 设健康对照112例, 采用qRT-PCR检测患者血清中 miR-22 和 miR-126 的相对表达水平、Logistic 回归分析及 ROC 曲线分析 miR-22 和 miR-126 在 NSCLC 发展与转移预测中的敏感性 & 特异性。**结果:** 病例组血清 miR-22 水平显著高于对照组, 而血清 miR-126 水平低于对照组(均 $P < 0.05$); 与腺癌患者相比, 鳞状细胞癌患者的血清 miR-22 水平显著升高($P < 0.05$)、血清 miR-126 显著降低($P < 0.01$); 与 I + II 期患者相比, III + IV 期患者血清 miR-22 水平升高, miR-126 水平相对降低(均 $P < 0.01$); 与未转移患者相比, 转移患者血清 miR-22 水平升高, 而血清 miR-126 水平降低(均 $P < 0.01$); 有家族遗传史的患者与没有家族遗传史的患者相比, 血清 miR-22 水平升高但 miR-126 水平降低(均 $P < 0.01$)。血清 miR-22 与 miR-126 水平对 NSCLC 预测的特异性与敏感性分别为 99.11% 和 84.30%、82.68% 和 96.40%。血清 miR-22 与 miR-126 水平对 NSCLC 转移的特异性与敏感性分别为 59.74% 和 96.00%、84.00% 和 62.30%。**结论:** 在 NSCLC 患者体内血清中, miR-22 呈高表达而 miR-126 呈低表达, 液体活检 miR-22 和 miR-126 可作为预测 NSCLC 的发生及转移的一个生物学指标。

[关键词] 非小细胞肺癌; microRNA-22; microRNA-126; 外周血; 液体活检

[中图分类号] R735.3; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)012-1405-05

microRNA-22 and microRNA-126 expression in serum of patients with non-small cell lung cancer and its clinical significance

ZHANG Yujie¹, SHANG Anquan^{2,3}, WANG Weiwei⁴, WEI Jun¹ (1. Clinical Medicine School, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai, China; 3. Departments of Laboratory Medicine, The Sixth People's Hospital of Yancheng City, Yancheng, Jiangsu, China; 4. Departments of Pathology, The First People's Hospital of Yancheng City, Yancheng, Jiangsu, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression of microRNA-22 (miR-22) and miR-126 in peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and explore their role in the occurrence and metastasis of NSCLC. **Methods:** A total of 127 NSCLC patients who were diagnosed at the Sixth People's Hospital during May 2013 till May 2015 were selected in this study, meanwhile another 112 healthy individuals were selected as the control subjects. The qRT-PCR was performed to detect the serum miR-22 and miR-126 levels. Logistic regression analysis was conducted to analyze the independent factors influencing NSCLC metastasis, and receiver operating charac-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81460247); 宁夏医科大学临床医学一流学科建设项目(No. YXW2017014); 2017年宁夏“研究生教育创新计划”学位点建设项目(No. YXW2017014); 宁夏医科大学2015研究生教育创新计划(No. NXYC201511); 盐城市医学科技发展计划项目(No. YK2016074)。Project supported by the Immunoregulatory Role Of Placenta-Derived Cd200 Mesenchymal Stemcell Microvesicle Micromas In Acute Lung Injury(No. 81460247), the First-class Discipline Construction of Clinical Medicine of Ningxia Medical University(No. YXW2017014), the Plan of Postgraduate Education Innovation, Discipline Construction Project of Ningxia (2017) (No. YXW2017014), the 2015 Postgraduate Education Innovation Program of Ningxia Medical University (No. NXYC201511), and the 2016 Medical Science and Technology Development Program of Yancheng City(No. 81460247)

[作者简介] 张玉洁(1991-), 女, 研究生, 主要从事肿瘤免疫与干细胞应用相关研究, E-mail: qianjinmei1244@163.com

[通信作者] 商安全(1986-), 博士生, 主要从事微生物与肿瘤机制的研究, E-mail: tjmd_shang@126.com

teristic (ROC) curve was drawn to analyze the sensitivity and specificity of serum miR-22 and miR-126 levels in predicting NSCLC developments and metastasis. **Results:** The serum miR-22 level was significantly higher in the case group than that in the control group, while the serum miR-126 level was lower in the case group as compared with that in the control group (all $P < 0.05$). Compared with squamous cell carcinoma patients, serum miR-22 level significantly increased ($P < 0.05$), while serum miR-126 level decreased in patients with adenocarcinoma ($P < 0.01$). Patients at III+IV stage showed increased serum miR-22 level and decreased serum miR-126 level as compared to patients at I+II stage (all $P < 0.01$). In comparison to those without metastasis, patients with metastasis showed elevated serum miR-22 and decreased miR-126 level (all $P < 0.01$). Compared with patients with familial inheritance, those without familial inheritance had increased serum miR-22 level but decreased serum miR-126 level (all $P < 0.01$). The specificity and sensitivity of serum miR-22 and miR-126 levels in predicting NSCLC occurrence were 99.11% and 84.30%, 82.68% and 96.40%, respectively. The specificity and sensitivity of serum miR-22 and miR-126 levels in predicting NSCLC metastasis were 59.74% and 96.00%, 84.00% and 62.30%, respectively. **Conclusion:** miR-22 was high expressed while miR-126 was low expressed in the serum of NSCLC patients; they may be used as the predicative biomarkers for NSCLC development and metastasis.

[Key words] non-small cell lung cancer; miRNA-22; miRNA-126; peripheral blood; liquid biopsy

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(12): 1405-1410. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.12.011]

肺癌是全世界癌症死亡的主要原因之一^[1]。尽管在放射治疗、外科手术以及化疗方面已经取得了一定的发展,但癌症患者的长期生存率依然保持在较低水平^[2]。诊断时病灶处于原位的患者,5年生存率大约50%,但是有淋巴结参与的或者淋巴结转移的生存率就会大大降低^[3]。基因组学与蛋白质组学的发展为临床诊断提供了大量新的具有潜在价值的生物标志物,尤其是可以通过实时荧光定量PCR法定量检测基因的表达^[4-5]。近年来,microRNA的发现为癌症的诊断与治疗效果的预测提供了新的方法^[6-7]。

miR-22的编码序列存在于人17号染色体上的癌症相关基因区(17p13.3),可以定位到C17或f19基因的外显子上^[8]。miR-22在人内皮细胞以及衰老的成纤维细胞中表达上调,但在许多癌症细胞系中是下调的;同时,过表达miR-22可以诱导正常细胞衰老抑制癌细胞生长^[9]。miR-126的编码序列存在于表皮生长因子结构域7的内含子7内部。表皮生长因子结构域7是一种内皮细胞生长因子结构域基因,在血管丰富的组织以及内皮细胞中高表达,在血管生成的过程中起关键作用^[10]。有研究^[11-12]发现miR-21和miR-205与非小细胞肺癌细胞(NSCLC)的生长、转移以及对放疗化疗敏感性相关。但是,几乎没有研究涉及血清miR-22和miR-126水平对NSCLC发展和转移的影响。本研究探讨血清miR-22和miR-126水平在NSCLC发展和转移上的预测价值,以便通过液体活检为NSCLC患者的诊断及治疗提供一个新的方向。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集盐城市第六人民医院2013年5月至2015年5月期间接受治疗的127名NSCLC患者均被选为病例组,并根据细胞病理和组织病理学确诊为原发性NSCLC初诊病例。其中有82名男性和45名女性,年龄40~70岁,根据病理类型,有71例腺癌和56例鳞状细胞癌。根据国际抗癌联盟公布的淋巴结转移肿瘤TNM分期标准(2009年国际抗癌联盟第7版)^[18],29例处于I期(22.83%)、21例处于II期(16.54%)、64例处于III期(50.39%)、13例处于IV期(10.24%);其中有50位患者出现转移,77位患者没有出现转移。共有112位健康个体(来自于体检结果正常个体)被选为对照组,其中包括63位男性和49位女性,年龄40~70岁。对照组与病理组之间性别与年龄没有统计学差异。NSCLC患者入选标准:没有接受过化疗或放疗的患者;没有肿瘤相关疾病史的患者;患者通过术后病理学检查诊断为NSCLC。健康个体的入选标准:通过胸部CT、胸部X射线、血液检查以及其他常规身体检查没有肿瘤相关疾病。

1.2 材料

EDTA抗凝管购自美国BD公司;TRIzol购自Invitrogen;氯仿购自江苏奥赛康药业股份有限公司;miRNA提取试剂盒miRNeasy mini kit购自北京天根生化科技有限公司;无酶双蒸水(美国加利福尼亚Thermo Fisher Scientific公司);反转录cDNA合成试剂盒购自北京天根生化科技有限公司;Taqman qPCR反应试剂盒购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.3 实时荧光定量PCR检测血清中miR-22和miR-126的水平

所有患者在入院第二天均采集了外周血样,使

用乙二胺四乙酸(EDTA)-K₂抗凝剂并离心分离血浆,将血浆分装至500 μl 试管-80 °C保存以备后续实验使用。收集在低温保存的500 μl 体积的血浆样本,并与3倍于血浆的TRIzol 试剂充分混合(冰上操作)。然后室温下反应15 min,加入0.5 ml 氯仿震荡混匀,室温下静置5 min。将混合液在4°C条件下14 000 r/min 离心15 min,将上层水相液体转移至新管中,然后混入1.5倍体积的无水乙醇。根据miRNA 提取试剂盒说明书操作,采用吸附柱提取RNA。将提取的RNA 溶解于500 μl 无酶双蒸水中,通过紫外分光光度法检测RNA 的浓度和纯度,并通过3%琼脂糖凝胶电泳观察RNA 的完整性。根据专用逆转录cDNA 合成试剂盒说明书,使用3'末端多聚A尾和逆转录酶处理miR 分子,然后以合成的cDNA 为模板,使用Taqman qRT-PCR 反应试剂盒进行实时荧光定量PCR。同时,miR-16 作为内部参照(引物序列见表1)。反应条件如下:95 °C 预变性1 min,95 °C 变性15 s,60 °C 退火45 s,72 °C 延伸40 s,共进行40个循环。在qRT-PCR 实验中,进行重复与阴性对照实验,其中每个样品在定量实验中重复3次,在阴性对照实验中不加入cDNA 模板。miR-22 和 miR-126 的相对表达量用2^{-ΔΔCt}法计算。在每个样本中,ΔCt=Ct_{靶基因}-Ct_{内参基因},ΔΔCt=ΔCt_{实验组}-ΔCt_{对照组}。Ct 值代表的是热循环仪在反应中检测到的荧光强度值。为了检测PCR 扩增的完整性,使用3%的琼脂糖凝胶电泳来分析和验证PCR 产物的特异性。

表1 引物序列
Tab. 1 Primer sequence

Target	Sequence
miR-22	F:5'-GCCTGAAGCTGCCAGTTGA-3' R:5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'
miR-126	F:5'-CGCTGGCGACGGGACATTATTAC-3' R:5'-TGCCGTGGACGGCGCATTATTAC-3'
miR-16	F:5'-GCGGATCCAGCACATCATGGTTTACA-3' R:5'-GCGTCGACAAAAATGTTACCTTAAAGGG-3'

F: Forward; R: Reverse

1.4 统计学处理

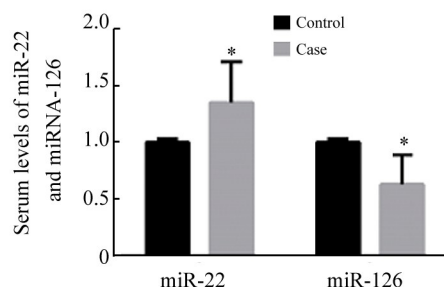
使用SPSS 21.0 软件进行统计分析,计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间的比较采用双边t 检验,对影响NSCLC 转移的独立因素采用Logistic 回归分析法,采用ROC 曲线分析血清miR-22 和miR-126 水平对NSCLC 发生和转移预测的敏感性和特异性。以P<0.05 或P<0.01 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 病例与健康对照者血清miR-22 和miR-

126 水平比较

病例组血清miR-22 水平显著高于对照组(P<0.05)(图1),而血清miR-126 水平明显低于对照组(P<0.05)。



*P<0.05 vs control group

图1 血清miR-22、miR-126在NSCLC患者和健康组中的表达量($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Expression levels of miR-22 and miR-126 in serum of patients with NSCLC and healthy controls($\bar{x} \pm s$)

2.2 NSCLC 患者血清miR-22 和miR-126 水平与临床特征的关系

在不同病理类型、TNM 分期、有无转移以及有无家族遗传病史的患者中,血清miR-22 和miR-126 水平均有显著差异(P<0.05)。与腺癌患者相比,鳞状细胞癌患者的血清miR-22 水平显著增高(P<0.05)、血清miR-126 显著降低(P<0.01);与I+II 期患者相比,III+IV 期患者血清miR-22 水平升高而血清miR-126 水平相对降低(均P<0.01);转移患者与非转移患者相比,血清miR-22 水平升高,而血清miR-126 水平相对降低(均P<0.01);有家族遗传史的患者较没有家族遗传史的患者血清miR-22 水平升高但血清miR-126 水平降低(均P<0.01)。同时,在不同年龄、性别、阻塞性肺炎和吸烟史组中,miR-22 和miR-126 水平没有显著性差异(均P>0.05,表2)。

2.3 血清miR-22 和miR-126 水平是NSCLC 转移的独立影响因素

对50 例转移患者与70 例非转移患者血清miR-22 和miR-126 水平与其基本信息进行了单因素Logistic 回归分析,基本信息包括患者的年龄、性别、吸烟史、家族遗传史、病理分型以及TNM 分期。结果(表3)表明,在不同家族遗传史、病理类型、TNM 分期的患者中,血清miR-22 和miR-126 水平存在显著性差异。术后的复发和转移作为单因素分析的重要因素因变量与自变量而被纳入多因素Logistic 回归分析,比如不同NSCLC 的TNM 分期和病理类型中,血清miR-22 和miR-126 水平可以作为预测NSCLC 转移的预测因素(P<0.05)。

表2 NSCLC 患者血清 miR-22、miR-126 水平与不同临床特征的关系(±s)
 Tab.2 Relationship between the expression level of miR-22 or miR-126 in serum of patients with NSCLC and the clinical features(±s)

Group	n	miR-22			miR-126		
		Expression	t	P	Expression	t	P
Age(t/a)							
<60	85	1.35±0.33	0.00	0.999	0.63±0.26	0.403	0.688
≥60	42	1.35±0.41			0.61±0.27		
Gender							
Male	82	1.35±0.37	0.153	0.879	0.64±0.24	0.625	0.533
Female	45	1.34±0.32			0.61±0.29		
Pathological type							
Adenocarcinoma	71	1.40±0.40	2.085	0.039	0.57±0.23	2.652	0.009
Squamouscarcinoma	56	1.27±0.27			0.69±0.28		
TNM							
I+II	50	1.10±0.30	7.679	<0.01	0.75±0.27	4.572	<0.01
III+IV	77	1.51±0.29			0.55±0.22		
Metastasis							
Yes	50	1.52±0.23	4.847	<0.01	0.49±0.18	5.073	<0.01
No	77	1.23±0.38			0.71±0.27		
Obstructive pneumonia							
Yes	62	1.38±0.34	0.950	0.344	0.61±0.28	0.866	0.388
No	65	1.32±0.37			0.65±0.24		
Family inheritance							
Yes	15	1.75±0.29	4.031	<0.01	0.47±0.22	3.194	0.002
No	112	1.29±0.33			0.66±0.26		
Smoking history							
Yes	91	1.34±0.32	0.284	0.777	0.63±0.26	0.260	0.819
No	36	1.36±0.44			0.63±0.26		

表3 NSCLC 患者病灶转移的 Logistic 回归分析
 Tab.3 Logistic regression analysis of the metastasis of patients with NSCLC

Variable	B	S.E.	Wald	Sig.	Exp(B)	95% CI for EXP(B)	
						Lower	Upper
Family inheritance	-2.291	0.847	7.313	0.007	0.101	0.019	0.532
Pathological type	-2.491	0.735	11.488	<0.001	0.083	0.020	0.350
TNM	-1.913	0.865	4.889	0.027	0.148	0.027	0.805
miR-22	2.930	1.129	6.733	0.009	18.723	2.048	171.161
miR-126	-3.596	1.196	9.046	0.003	0.027	0.003	0.286

B: Partial regression coefficient; S.E.: Standard Error; Sig.: significance; OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

2.4 血清 miR-22 和 miR-126 水平对 NSCLC 发展和转移的预测价值

通过对比 127 例 NSCLC 患者与 112 例健康参与者绘制了预测 NSCLC 发展和转移的血清 miR-22 和 miR-126 水平的 ROC 曲线。血清 miR-22 和 miR-126 浓度的曲线下面积分别为 0.916 (95% CI:0.872~0.960, P<0.001) 和 0.874 (95% CI:0.820~0.927, P<0.001)。当血清 miR-22 和 miR-126 的相对表达水平

在最佳 cutoff 值时对 NSCLC 诊断的特异性与敏感性分别为 99.11%、84.3%、82.68% 和 96.4%，miR-22 和 miR-126 的相对表达水平是 1.07 和 0.95 (图 2A、B)。基于对 50 例转移的 NSCLC 患者与 77 例无转移的 NSCLC 患者进行比较绘制 ROC 曲线。miR-22 和 miR-126 浓度的曲线下面积分别为 0.788 (95% CI:0.710~0.865) 和 0.746 (95% CI:0.661~0.831)。当血清 miR-22 与 miR-126 的相对水平为 1.30 和 0.63 时, 处于

最佳 cutoff 值的血清水平 miR-22 和 miR-126 对 NSCLC 诊断的特异性与敏感性分别为 59.74%、

96.00%、84.00%和 62.30%(图 2C、D)。

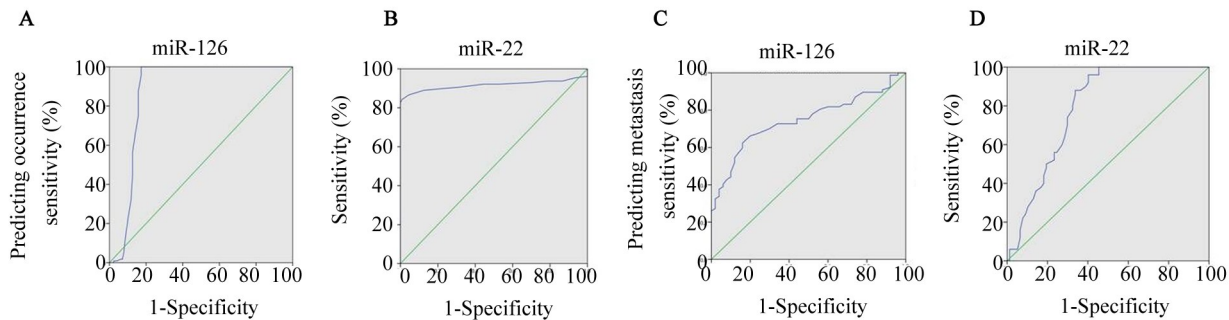


图2 miR-126、miR-22预测NSCLC发生与转移的ROC曲线

Fig.2 ROC curve of miR-126 and miR-22 predicting the occurrence and metastasis of NSCLC

3 讨论

约 65% 的 NSCLC 患者会出现诊断困难,同时大部分的患者因没有症状而难以被及时检测,尤其是处于 III 期的患者^[14]。早期检测可以有效降低 NSCLC 的病死率^[15]。因此,找到特异性好、敏感性高的 NSCLC 诊断新方法或生物标志物十分必要。本研究分析了患者外周血清 miR-22 水平联合血清 miR-126 水平在 NSCLC 发展和转移中的预测价值,以便为 NSCLC 的诊断与治疗提供新方法。

本研究发现,NSCLC 患者的血清 miR-22 水平是升高的。之前有研究^[16]提出 miR-22 在多种细胞活动中发挥作用,包括增殖、衰老、分化以及凋亡过程,miR-22 的失调是人类癌症的一个特征。NSCLC 耐药及转移与上皮细胞间充质转化有关^[17]。因此,有人认在 NSCLC 中 miR-22 是高表达的,这也在 Ling^[18] 的研究中被证实。

另外,本研究发现 NSCLC 患者的血清 miR-126 水平较健康人群显著降低。miR-126 是一种内皮细胞特有的 miRNA^[19]。前期的报道^[15,20-21]显示 miR-126 通过靶向内皮细胞生长因子样结构域 7、血管内皮生长因子 A 或产生生长优势的 *SLC7A5* 基因来发挥肿瘤抑制作用。与此一致的是,有相关研究已经证实肺部、子宫颈、胃和前列腺癌症与非癌症组织的 miR-126 表达下调^[14,23-26]。

关于血清 miR-22 水平联合血清 miR-126 水平应用于 NSCLC 诊断与预后判断的报道较少,本研究发,血清 miR-22 水平联合血清 miR-126 水平在这些包括病理组织类型、TNM 分期、转移和家族遗传史等临床特征不同的人群中存在显著性差异。同时,目前的研究已经证实 miR-22 能够作为一个早期非小细胞肺癌患者后续监测的良好生物指标,也可以用

于健康长期吸烟人群的早期非小细胞肺癌诊断生物指标^[27],而 miR-126 是一个独立的且与 NSCLC 呈高度负相关的预测因素,并且其预测作用主要与淋巴结状态、组织有关^[28]。因此,血清 miR-22 水平联合和血清 miR-126 水平可能成为 NSCLC 患者分子诊断与预后的生物标志之一。

综上,血清 miR-22 联合血清 miR-126 在预测 NSCLC 发生和转移中具有高度的敏感性与特异性,为临床对 NSCLC 的诊断及治疗提供了新的选择,随着对 miR-22 与 miR-126 机制的进一步研究,液体活检血清 miR-22 联合血清 miR-126 有望成为 NSCLC 诊断及判断预后的重要指标之一。

[参考文献]

- [1] 于筱舟,魏枫,闫帆,等.非小细胞肺癌组织中低表达 microRNA 表达谱[J].中国肿瘤临床,2014,41(05):291-295. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.20131531.
- [2] 王亚南,史进方,吴元健,等.microRNA 在非小细胞肺癌组织中的表达及其临床应用研究[J].临床检验杂志,2011,29(7):516-519.
- [3] 王菁菁,白云,侯安继,等.非小细胞肺癌外周血有核细胞 miRNA 表达特点研究[J].复旦学报(自然科学版),2011,50(3):302-312+250.
- [4] 刘换新,郭琳琅. microRNA 在肺癌早期诊断及预后中的应用[J].临床与实验病理学杂志,2013,29(11):1232-1234.
- [5] TSAO M S, SAKURADA A, CUTZ J C, et al. Erlotinib in lung cancer-molecular and clinical predictors of outcome[J]. N Engl J Med, 2005, 353(2): 133-144.
- [6] ESQUELA-KERSCHER A, SLACK F J. Oncomirs- microRNAs with a role in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(4): 259-269.
- [7] 别志欣,李琳. MicroRNA 在非小细胞肺癌中的研究进展[J].肿瘤防治研究,2012,39(6):739-743.
- [8] XIONG J, YU D, WEI N, et al. An estrogen receptor alpha suppressor, microRNA-22, is downregulated in estrogen receptor alpha-positive human breast cancer cell lines and clinical samples[J]. FEBS J, 2010, 277(7): 1684-1694. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2010.07594.x.

- [9] XU D, TAKESHITA F, HINO Y, et al. miR-22 represses cancer progression by inducing cellular senescence[J]. *J Cell Biol*, 2011, 193(2): 409-424. DOI: 10.1083/jcb.201010100.
- [10] SAITO Y, FRIEDMAN J M, CHIHARA Y, et al. Epigenetic therapy upregulates the tumor suppressor microRNA-126 and its host gene EGFL7 in human cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(3): 726-731. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.12.098.
- [11] 刘新莉, 王慧, 田雪, 等. 非小细胞肺癌组织 miRNA-142-3p 表达及预后的相关性[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(7): 1051-1053.
- [12] LEI L, HUANG Y, GONG W. miR-205 promotes the growth, metastasis and chemoresistance of NSCLC cells by targeting PTEN[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(6): 2897-2902. DOI: 10.3892/or.2013.2755.
- [13] YOSHIDA Y, MURAYAMA T, SATO Y, et al. Validation of 7th TNM staging system for lung cancer, based on surgical outcomes [J]. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 2013, 21(6): 693-699. DOI: 10.1177/0218492312470670.
- [14] 张滩, 张振华, 王辉, 等. 非小细胞肺癌组织 miRNA-203 表达及其与预后的关系[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(11): 1728-1731.
- [15] ULIVI P, MERCATALI L, CASONI G L, et al. Multiple marker detection in peripheral blood for NSCLC diagnosis[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e57401[2017-09-02]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0057401>. DOI:10.1371/journal.pone.0057401.
- [16] LING B, WANG G X, LONG G, et al. Tumor suppressor miR-22 suppresses lung cancer cell progression through post-transcriptional regulation of ErbB3[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(8): 1355-1361. DOI: 10.1007/s00432-012-1194-2.
- [17] NEEL D S, BIVONA T G. Secrets of drug resistance in NSCLC exposed by new molecular definition of EMT[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(1): 3-5. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3232.
- [18] ZUO Q F, CAO L Y, YU T, et al. MicroRNA-22 inhibits tumor growth and metastasis in gastric cancer by directly targeting MMP14 and Snail[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e2000[2017-09-02]. <http://www.nature.com/cddis/journal/v6/n11/full/cddis2015297a.html?foxtrotcallback=true>. DOI: 10.1038/cddis.2015.297.
- [19] CHEN J J, ZHOU S H. Mesenchymal stem cells overexpressing miR-126 enhance ischemic angiogenesis via the AKT/ERK-related pathway[J]. *Cardiol J*, 2011, 18(6): 675-681. DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.01.010.
- [20] LIU B, PENG X C, ZHENG X L, et al. miR-126 restoration down-regulate VEGF and inhibit the growth of lung cancer cell lines in vitro and in vivo[J]. *Lung Cancer*, 2009, 66(2): 169-175. DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.01.010.
- [21] MIKO E, MARGITAI Z, CZIMMERER Z, et al. miR-126 inhibits proliferation of small cell lung cancer cells by targeting SLC7A5 [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(8): 1191-1196. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.03.039.
- [22] CRAWFORD M, BRAWNER E, BATTE K, et al. microRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(4): 607-612. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.090.
- [23] YANAIHARA N, CAPLEN N, BOWMAN E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(3):189-198.
- [24] 刘思文, 曹海霞, 吴建中, 等. 吉非替尼敏感性不同的非小细胞肺癌中 miRNA-7 表达的差异及临床意义[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2015, 7(2): 74-78. DOI:10.1016/j.ccr.2006.01.025.
- [25] WANG X, TANG S, LE S Y, et al. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth[J/OL]. *PLoS One*, 2008, 3: e2557 [2017-08-22]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002557>. DOI: 10.1371/journal.pone.0002557.
- [26] FENG R, CHEN X, YU Y, et al. miR-126 functions as a tumour suppressor in human gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2010, 298(1): 50-63. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.06.004.
- [27] 谭晓刚, 支修益. MicroRNA 与非小细胞肺癌[J]. *首都医科大学学报*, 2015, 36(4): 519-524. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2015.04.001.
- [28] 赵强, 毛伟敏. miRNA 与非小细胞肺癌的研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2011, 17(9): 641-644.

[收稿日期] 2017-07-05

[修回日期] 2017-11-03

[本文编辑] 黄静怡