

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.001

· 专家论坛 ·

外周血 miRNA 应用于肿瘤早期诊断的研究进展

刘洪璐, 王熙才(昆明医科大学第三附属医院暨云南省肿瘤医院 肿瘤研究所 云南省肿瘤分子标志研究中心 詹启敏院士工作站, 云南昆明 650118)

[摘要] 微小RNA(microRNA, miRNA)是由20~25个核苷酸组成的非编码RNA分子,其在肿瘤的发生发展过程中起着重要的调节作用,包括癌细胞的增殖、分化、凋亡等,直接影响肿瘤的进展。外周血 miRNA 相对稳定,比组织 miRNA 容易获取和检测,是肿瘤早期发现、早期诊断的新一代生物标志物,也是精准医学研究应用的主要发展方向之一。外周血 miRNA 常用的检测方法主要有逆转录实时荧光定量PCR,电化学检测、NanoString 数字化基因检测、基因芯片和高通量测序等。外周血多种 miRNA 是非小细胞肺癌、食管鳞癌、胰腺癌、头颈鳞状细胞癌、卵巢癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌和血液肿瘤的早期诊断标志物,多个外周血 miRNA 联合检测以及肿瘤特异性 miRNA 与血清学、影像学等辅助手段联合检测,均可提高肿瘤早期诊断的灵敏度和特异性。

[关键词] 肿瘤;微小RNA;标志物;早期诊断

[中图分类号] R730.43 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)02-0109-09

Advances in research of peripheral blood miRNAs in early diagnosis of tumors

LIU Honglu, WANG Xicai (Yunnan Tumor Research Institute, Yunnan Tumor Molecular Biomarker Research Center, ZHAN Qimin Academician Workstation, Tumor Hospital of Yunnan Province & The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650118, Yunnan, China)

[Abstract] MicroRNA (miRNA) is non-coding RNA molecule consisting of 20-25 nucleotides. It plays an important role in regulation of tumorigenesis and progression, including proliferation, differentiation and apoptosis of cancer cells, which directly affect the progress of tumors. Peripheral blood miRNA is relatively more stable, and easier to acquired and detected than tissue miRNA. It is a new generation biomarker for early detection and early diagnosis of tumors. It is also one of the main development directions of research and application in precision medicine. Methods commonly used in peripheral blood miRNA detection are RT-PCR, electrochemical detection, NanoString Technologies, genechip and high-throughput sequencing *etc.* Multiple miRNAs in peripheral blood are the early diagnostic markers for non-small cell lung cancer, esophageal squamous cell carcinoma, pancreatic cancer, squamous cell carcinoma of the head and neck, ovarian cancer, colorectal cancer, breast cancer, prostate cancer and hematological malignancies. Combined detection of multiple peripheral blood miRNAs, as well as combined detection of tumor-specific miRNA and serological, imaging and other auxiliary methods, can improve the sensitivity and specificity of tumor diagnosis at early stage.



王熙才 教授,博士生导师,现任昆明医科大学第三附属医院(云南省肿瘤医院)云南省肿瘤研究所副所长,昆明医科大学医学实验技术专业主任,云南省肿瘤分子标志研究中心主任,肿瘤分子生物学及分子靶向治疗和抗肿瘤药物研究室主任,中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会常委,云南省抗癌协会肿瘤标志专业委员会主任委员,中华医学免疫学会学术委员会副主任委员。主要从事恶性肿瘤生物免疫、分子靶向治疗的临床、科研和教学工作,主持和参与国家级基金项目6项、省级基金项目8项,发表学术论文80余篇(SCI 10篇),出版专著6部。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81560380, 81460358, 81060177);云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项资助项目(No.2014FB066);云南省卫生科技项目(No.2014NS023, 2014NS024);云南省卫生计生委医学学科带头人培养计划项目(No.D-201601);詹启敏院士工作站基金(No.2015IC002)。Project supported by National Natural Science Foundation of China (No.81560380, 81460358, 81060177), Joint Special Fund from Yunnan Provincial Science and Technology Department-Kunming Medical University for Applied and Basic Research (No. 2014FB066), Project of Medical and Health Technology Development Program of Yunnan Province (No.2014NS023, 2014NS024), Academic Leaders Training Program of Yunnan Provincial Health and Family Planning Commission (No.D-201601), and the ZHAN Qimin Academician Workstation Project Fund (No.2015IC002)

[作者简介] 刘洪璐(1989-),女,硕士生,主要从事肿瘤靶向治疗相关的基础研究,E-mail:772427306@qq.com

[通信作者] 王熙才(WANG Xicai, corresponding author),E-mail: wangxc2005323@126.com

[Key words] tumor; microRNA; marker; early diagnosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(2): 109-117. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.001]

近年来,我国恶性肿瘤发病率、病死率逐年上升,肿瘤的早期诊断对肿瘤的治疗具有重要意义。病理学诊断依旧是肿瘤诊断的金标准,但创伤性大,组织获取不易。影像学、血清学等方法只能作为辅助检查,其灵敏度和特异性都有待进一步提高。目前常用的肿瘤标记物,如AFP、CEA、糖类抗原(CA)125、CA15-3、CA19-9等,只在部分肿瘤中具有相对高的灵敏度和特异性,但在早期检测的灵敏度尚不够。“精准医疗”要求对疾病的诊治需更具有针对性、靶向性和特异性。因此,需要寻找高灵敏度、高特异性、无创、易于获取并能减轻患者经济负担的生物标志物应用于肿瘤的早期诊断。外周血容易采集,许多生物标志物存在于体循环中,可反映肿瘤患者的全身状况,因此外周血微小RNA(microRNA, miRNA)的检测,已成为诊断人类癌症液体活检的新一代生物标志物^[1-2]。笔者前期研究^[3-4]也证实了外周血miR-19、miR-200、miR-20、miR-370等在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的诊断价值及临床意义。在众多的miRNA中,已经找到了在多种不同类型肿瘤中表达的miRNA^[5-8],这些特异性较高的miRNA,可作为肿瘤早期诊断的参考标志物,对于早期甄别肿瘤患者具有重要的临床意义。本文综述目前最新发现的一些可用于肿瘤早期诊断的外周血miRNA,归纳外周血miRNA应用于肿瘤诊断的新思路,为外周血miRNA检测应用于临床肿瘤早期诊断提供依据。

1 miRNA的生物学特性

miRNA是长度约为20~25个核苷酸组成的非编码小分子RNA,自2002年被发现至今,在文献中有记录或描述的大约已有2 000多种^[9]。miRNA通过调控mRNA降解或抑制其翻译参与和调控多种正常细胞生理功能,如增殖、分化和凋亡。同样,miRNA也可以调节异常或恶性细胞的相应功能,从而参与肿瘤的发生和发展^[10-11]。

miRNA最显著特点是其在细胞内外环境中的高度稳定及组织细胞来源的特异性^[12]。大多数RNA不稳定且容易被降解,外周血miRNA则不同,它序列相对较短且非常稳定,经历多次反复冻融、强酸强碱环境、长期保存甚至煮沸的情况下miRNA也不容易降解^[13-14]。miRNA具有高度的保守性、时序性和组织特异性,在特定的时间和组织会表达不同的miRNA,因此对不同组织类型的肿瘤具有较好的诊断意义。除组织、细胞来源的miRNA外,体液(如血清、血浆、唾

液、尿液和脑脊髓液)中也可以稳定地检测到miRNA^[15-17]。因此,miRNA可作为肿瘤早期筛查、早期发现的肿瘤生物标志物和液体活检的重要研究对象。

2 外周血miRNA的来源

外周血miRNA包括循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)等血液中有形细胞的miRNA,也包括血清、血浆和血细胞中的miRNA^[18]。关于细胞以外的miRNA,其来源、释放或分泌方式,目前认为:(1)受损的细胞或器官渗出,包括血液中CTC渗出的miRNA,CTC可以反映单个细胞类型的异质肿瘤组成,显示肿瘤基因组的情况,目前其收集及检测方法还有待进一步研究和提高^[19]。(2)通过细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)和凋亡体分泌。EV包括微囊泡(microvesicles, MVs)和外泌体(exosomes, EXO),都是由细胞分泌的脂质双分子层纳米级的微颗粒,可保护体液中的miRNA免受RNA结合蛋白的结合或细胞衰老降解等影响^[20]。相较于CTC, EV反映了体内整个肿瘤的复杂异质性,更能适合治疗效果及预后的评估。血浆富含血小板不断分泌的膜颗粒^[20-21],血小板被认为是血液EV的主要储存库,能产生RNA、miRNA和其他非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)^[22],以待其他受体细胞捕获,因此血小板也是外周血RNA的主要储存库^[23]。EV中还可能包含了细胞内环境中肿瘤特异性miRNA^[24-26],反映原始组织的miRNA谱^[12]。(3)从包含高密度脂蛋白2(high density lipoprotein, HDL)或RNA结合蛋白(argonaute 2, AGO2)的复合物中释放^[27]。miRNA和HDL形成的无细胞复合物是逆向胆固醇转运途径的一个组成部分,可作为ncRNA通信途径的细胞间介质。血浆中还含有核糖核蛋白,即miRNA/AGO2复合物,也是miRNA的重要来源。

3 外周血miRNA的检测方法

目前外周血miRNA常用的检测方法主要有逆转录实时荧光定量PCR(RT-qPCR)、电化学检测、NanoString数字化基因检测、基因芯片、高通量测序等。RT-qPCR通过扩增,不需要太多的样本就可对miRNA定量检测,并且具有高灵敏度和特异性,其缺点是不能同时检测多个miRNA。电化学检测是利用可指示杂交信号的电活性物质(电子-离子混合导体),通过杂交,检测电极在待测溶液中电化学信号的变化,以定量靶miRNA的浓度^[28]。NanoString技术采用彩色条码标记不同探针,与目标miRNA杂交,无需扩增,可一次进行多种miRNA定量检测^[29]。类似

的还有基因芯片,也同样可以根据需要同时检测多个miRNA,此方法更多用于初步筛选。高通量测序除了能检测外周血miRNA的表达情况外,更重要的是能发现新的miRNA种类,检测miRNA的变异情况^[30]。在确定适合的外周血miRNA分子标志物后,针对患者不同需求进行筛查、诊断或评价疗效和预测预后。通过进一步的完善和改进,以上这些外周血miRNA检测方法将为今后临床应用提供支持。

4 单个外周血miRNA检测应用于肿瘤的早期诊断

在早期外周血miRNA研究中,大部分研究通过RT-qPCR发现了很多miRNA在肿瘤中高表达或低表达,后来逐渐将这些指标量化,确定了cut-off值作为标准,与传统肿瘤标志物进行比较,发现一部分miRNA对于肿瘤的诊断优于传统肿瘤标志物。

4.1 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)的诊断

Bhattacharya等^[31]使用70个血清样品、肝活检样品测量miRNA表达水平,结果显示,与健康志愿者相比,HCC患者血清中的miR-30e和miR-223表达水平显著降低($P<0.001$),且低于慢性肝病患者,认为血清miR-30e和miR-223是HCC早期诊断的生物标志物,与病因无关。杨晓敏等^[32]研究发现,外周血miR-152在HCC中低表达,且与乙型肝炎病毒(HBV)阳性HCC的进展和分化程度密切相关($P<0.01$),其诊断效能(0.933)显著高于AFP($P<0.01$)。上述提及的外周血miRNAs中,miR-223也是NSCLC、食管腺癌、胰腺癌(pancreatic cancer,PC)、头颈部鳞状细胞癌等肿瘤的早期诊断标志物^[33-37]。miR-152还是NSCLC、卵巢癌、结直肠癌(colorectal cancer,CRC)、乳腺癌(breast cancer,BC)等肿瘤的早期诊断标志物^[38-40]。有研究^[41]表明,miR-152在区分良恶性卵巢肿瘤、胃癌等多种疾病中发挥作用,上调miR-152的表达水平,不仅可以明显减少癌细胞的增殖、迁移和侵袭,还可以诱导细胞凋亡。因此miR-223、miR-152可用于筛查肿瘤患者,或监测HCC疾病进展。miR-30e还需在其他肿瘤中进一步验证。消化系统肿瘤中许多外周血miRNA可通用,可考虑按系统分类筛查。

4.2 CRC的诊断

有研究^[42]检测了原发性CRC、结肠直肠息肉和健康对照者的血清miR-135a-5p、CEA和CA199,发现CRC患者血清miR-135a-5p水平明显高于其他两种标志物,且表达水平与CA199无相关性。miR-135a-5p(cut-off 1.760)诊断CRC的灵敏度、特异性和准确率分别为76.67%、88.00%和81.82%,均高于CEA和CA199。因此,血清miR-135a-5p对CRC具有早期诊

断价值。有研究^[43]评估了CRC局部转移、肝转移和远处转移患者血清中靶miRNA的表达,发现miR-141和miR-21在肝转移和远处转移患者中表达显著上调,miR-126表达下调。血清miR-141的灵敏度为86.11%、特异性为76.11%,miR-21灵敏度为73.61%、特异性为66.38%,miR-126的灵敏度为77.78%、特异性为68.97%,提示血清miR-126、miR-141和miR-21可监测早期CRC肝转移。Ogata-Kawata等^[44]也报道,原发性CRC患者的血清外泌体中miR-23a和miR-1246表达降低,对I期CRC患者显示出95%和90%的高敏感性,而CA19-9和CEA敏感性仅为10%和15%。在以上提及的miRNAs中,miR-126在NSCLC、唾液腺肿瘤、HCC、PC、食管癌、胆管癌呈现出表达上调,可作为早期诊断的分子标志物^[45-50]。已有大量文献^[5-8,40]证实miR-21在NSCLC、肾细胞癌、卵巢癌、胃癌、CRC、BC等大多数肿瘤中均可作为早期诊断标志物。综上,miR-135a-5p、miR-23a和miR-1246可作为CRC早期诊断指标,miR-141可用于监测CRC早期转移。miR-21、miR-141可用于早期筛查肿瘤患者。

4.3 其他类型肿瘤的诊断

研究^[51]发现,慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia,CLL)、急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia,AML)和原发性巨球蛋白血症患者血清EV中miR-155水平显著升高。高表达的miR-155与AML患者的高白细胞计数相关。研究^[52]表明,外周血miR-155、miR-19a、miR-24和miR-181b能够早期监测BC进展。与低风险组相比,这些miRNAs的表达在高风险组中显著增加,其中miR-155还可作为NSCLC、HCC、喉鳞状细胞癌的早期诊断标志物^[53-56]。在一项纳入了17个涉及各种癌症研究的Meta分析中也表明miR-155有可能用作多种癌症的筛选的标志物^[57]。Meta分析^[58]显示,循环miR-21检测前列腺癌患者的灵敏度为0.81、特异性为0.75、曲线下面积(area under the curve,AUC)为0.77。另外的7项研究中,miR-141检测前列腺癌的敏感性和特异性分别为0.61和0.75,AUC为0.75。有研究^[59]总结了miR-200c可以调节卵巢癌转移酶,在上皮间质转化中发挥潜在作用。另有20多项研究也指出,循环miR-200c具有肿瘤诊断潜力。miR-200家族包括miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141和miR-429^[60],也是一个在肿瘤中广泛表达的miRNAs家族,是肿瘤早期诊断的生物标志物。因此,通过对外周血miRNA的研究,寻找到其中表达差异最大,且应用最广泛的miRNA作为肿瘤早期筛查的指标,有利于推广到健康人群的体检中去,便于早期发现肿瘤患者。

表1 单个外周血 miRNA 检测应用于肿瘤的早期诊断

miRNA	来源	肿瘤类型	表达	灵敏度(%)	特异性(%)	AUC 值	参考文献
miR-30e	血清	HCC	↓	91.7	70.6	0.931	[31]
miR-223	血清	HCC	↓	97.2	94.1	0.994	
miR-152	血清	HCC	↓	-	-	0.933	[32]
miR-135a-5p	血清	HCC	↑	76.7	88.0	0.875	[42]
miR-126	血清	CRC	↓	77.8	68.9	0.756	[43]
miR-141	血清	CRC	↑	86.1	76.1	0.828	
miR-21	血清	CRC	↑	73.6	66.4	0.748	
miR-23a	血清 EXO	CRC	↑	95.0	-	-	[44]
miR-1246	血清 EXO	CRC	↑	90.0	-	-	
miR-155	血清 EV	CLL	↑	78.0	87.5	0.847	[51]
		AML	↑	72.7	87.5	0.780	
miR-21	全血	PC	↑	81.0	75.0	0.770	[58]
miR-141	全血	PC	↑	61.0	75.0	0.750	

5 多个外周血 miRNAs 联合检测应用于肿瘤的早期诊断

单独的 miRNA 指标在癌症的早期诊断中发挥了重要的作用,但肿瘤具有异质性,单一的外周血 miRNA 不能全面反应肿瘤的进展情况。此外,某些单一的 miRNA 在疾病诊断中虽未显示出优越性,但多个 miRNA 联合检测后,显示出比传统肿瘤标志物更高的灵敏度和特异性,因此多个外周血 miRNA 联合检测在肿瘤的早期诊断中发挥了重要作用。

5.1 NSCLC

研究^[61]显示,一组6个外周血 miRNAs(miR-429、miR-205、miR-200b、miR-203、miR-125b 和 miR-34b)联合可区分早期 NSCLC 患者、慢性阻塞性肺疾病患者和健康体检者,诊断 NSCLC 患者的 AUC 值为 0.89。有研究^[33]发现早期 NSCLC 样品中一组4个 miRNAs(miR-145、miR-20a、miR-21 和 miR-223)的表达显著增加,表达改变为肿瘤起源的,诊断 AUC 值为 0.897,灵敏度和特异性分别为 81.80% 和 90.10%。上述两组指标中 miR-200b、miR-21、miR-223 均可单独用于肿瘤患者筛选。第一组6个指标除诊断 NSCLC 外还对慢性阻塞性肺疾病患者加以甄别,故联合 miRNA 数量较多;第二组4个指标诊断效能更高。因此,选择合适的外周血 miRNA 指标联合检测有利于帮助肺癌患者的早期诊断和鉴别诊断。

5.2 HCC

HCC 晚期预后很差,除了上文提及的单个 miRNA 指标外,很多研究也发现了一些成组的检测指标。有研究^[62]评估了包括健康组、无活性 HBsAg 携带者、

慢性 HBV 感染者、HBV 相关性肝硬化患者和 HCC 患者的 1 416 份血清样品,筛选了一组共 7 个 miRNAs(miR-29a、miR-29c、miR-133a、miR-143、miR-145、miR-192 和 miR-505)作为检测 HCC 的分子标志物,诊断 HCC 的灵敏度(70.4%~75.7%)高于 AFP20(40.7%~69.4%),特异性(80.0%~91.1%)与 AFP(84.9%~100.0%)无明显差异。随后又进行了嵌套病例对照研究,评估 miRNAs 在 HBV 患者中诊断临床前 HCC 的能力。患者确诊前 12 个月,7 个 miRNAs 检测到 8 例(30%)HCC,而 AFP 仅检出 2 例(7%)^[63]。有研究^[64]分析了 HCC 患者和健康对照者血清中差异表达的 miRNA,并通过 Logistic 回归分析最终确定了一组 3 个 miRNAs(miR-92a-3p、miR-107 和 miR-3126-5p)作为 HCC 的有价值的诊断标志物,特别是对早期患者(AUC=0.975)和低 AFP 水平 HCC 患者(AUC=0.971),其准确率更高。在筛选诊断 HCC 的 miRNA 组合时,纳入的对照组越多,需要的指标越多。因此,需要明确各种鉴别诊断之间特异性表达的 miRNA,最后根据患者病史及病情进展筛选适合的 miRNA 组合指标。

5.3 CRC

研究^[65]发现,一组6个 miRNAs(miR-203、let-7g、miR-31、miR-92a、miR-181b 和 miR-21)可有效区分 CRC 患者与健康人群,且比 CA19-9 和 CEA 诊断 CRC 具有更高的准确性,6 个 miRNAs 的 AUC 为 0.923,显著高于 CEA(0.649)和 CA19-9(0.598)。还有研究^[66]显示,miR-409-3p、miR-7 和 miR-93 联合检测更有助于区分转移性和非转移性 CRC。由于目前 miRNAs 联合诊断 CRC 目前指标过多,因此,需要去除部分非 CRC 特异性指标,确诊后可用后面 3 个指标联合监测肿瘤的早期转移。

5.4 其他类型癌症

还有许多研究评估了不同miRNAs组合用于癌症早期诊断的价值。使用miRNA芯片和RT-qPCR来发现和验证BC患者外周血miRNA生物标志物,发现一组3个miRNAs(miR-29a、miR-652和miR-181a)显著降低^[67]。有研究^[68]鉴定出一组5个血浆miRNAs(miR-486-5p、miR-16、miR-25、miR-92a和miR-451)有早期诊断胃非贲门腺癌(gastric non cardia adenocarcinoma,GNCA)的潜力。

除联合多个miRNA诊断癌症外,也可利用不同miRNA的比率作为癌症早期诊断的指标。Sharova等^[69]研究局部PC和良性前列腺增生时发现,外周血miR-106a/miR-130b和miR-106a/miR-223比率在诊断PC时,比前列腺特异抗原(PSA)具有更高的敏感性和特异性,其AUC分别为0.81和0.77。Ying等^[64]也评估了miR-92a-3p/miR-3126-5p比率在诊断HCC时的诊断效力,其AUC为0.883略高于AFP(0.848)。

另一项研究^[70]建立了E-钙黏蛋白/p53双重条件敲除DCKO小鼠,在形态和分子上重现人弥漫性胃癌(diffuse gastric cancer,DGC),且筛选出DCKO小鼠一组3个miRNAs(miR-103、miR-107和miR-194)用于诊断DGC。Oze等^[71]试图在50例DGC患者中验证这组miRNAs是否可用于人类,结论却与预期不一致,这组血浆miRNAs在DGC中不改变,不适合人类DGC筛选。所以在筛选肿瘤早期诊断的miRNAs时,不能仅以动物模型为基础,miRNA的表达在物种间存在差异^[72-73],应回归人类本身,直接从患者外周血开始研究,才具有实际价值。

在这些miRNAs联合指标中,可发现其中某一个或某几个miRNA在多种不同类型的肿瘤中均可作为早期诊断指标,提示可以以这些广泛表达的miRNAs为基础,选择其中1~2个,再联合某种肿瘤特异性指标共同检测,也许可提高肿瘤早期诊断的灵敏度和特异性。

表2 外周血多个miRNAs联合检测应用于肿瘤的早期诊断

miRNA的联合	来源	肿瘤类型	灵敏度(%)	特异性(%)	AUC	参考文献
6个miRNAs(miR-429、miR-205、miR-200b、miR-203、miR-125b和miR-34b)	血清	NSCLC	88.0	71.0	0.890	[61]
4个miRNAs(miR-145、miR-20a、miR-21和miR-223)	血浆	NSCLC	81.8	90.1	0.897	[33]
7个miRNAs(miR-29a、miR-29c、miR-133a、miR-143、miR-145、miR-192和miR-505)	血清	HCC	70.4~85.7	80.0~91.1	0.826	[62]
3个miRNAs(miR-92a-3p、miR-107和miR-3126-5p)	血清	HCC	-	-	0.969	[64]
6个miRNAs(miR-203、let-7g、miR-31、miR-92a、miR-181b和miR-21)	血清	CRC	96.4	88.1	0.923	[65]
3个miRNAs(miR-409-3p、miR-7和miR-93)	血浆	CRC	82.0	89.0	0.897	[66]
3个miRNAs(miR-29a、miR-652和miR-181a)	全血	BC luminal A	77.0	74.0	0.800	[67]
5个miRNA(miR-486-5p、miR-16、miR-25、miR-92a和miR-451)	血浆	GNCA	72.9	89.2	0.812	[68]
miR-106a/miR-130b	血浆	PC	87.0	72.0	0.810	[69]
miR-106a/miR-223	血浆	PC	65.0	81.0	0.770	[69]
miR-92a-3p/miR-3126-5p	血清	HCC	-	-	0.883	[64]

6 外周血miRNA与其他指标或手段联合检测在肿瘤早期诊断中的应用

在外周血miRNA的研究中,也有学者把肿瘤特异

性的miRNA与血清学、影像学等辅助检查指标联合检测,其肿瘤早期诊断的灵敏度和特异性都有所提高。

有研究^[74]使用单个miRNA与单个传统肿瘤标志物联合诊断,对病理证实的BC患者、良性乳腺肿瘤患

者和健康志愿者,检测了血浆miR-127-3p和HE4水平,两者表达水平无显著相关性;在BC诊断中,miR-127-3p(cut-off 3.471)和HE4(63.21 pmol/L)灵敏度分别为78.2%和64.6%,特异性为79.1%和69.3%,准确率分别为73.2%和65.1%,miR-127-3p均高于HE4。而miR-127-3p和HE4联合诊断的AUC为0.825,灵敏度为87.4%,联合检测提高了BC诊断的敏感性。

也有研究^[42]使用单个miRNA与多个传统肿瘤标志物联合检测。与结肠直肠癌患者相比CRC患者血清miR-135a-5p、CEA和CA199联合检测的灵敏度为95.0%、特异性为47.5%、准确率为76.0%,阳性预测值73.1%和阴性预测值为86.4%,其灵敏度和阴性预测值均高于单独指标,也高于两两组合。上述数据显示miR-135a-5p、CEA和CA199的联合可用于诊断良恶性结直肠疾病。

也有研究^[64]使用一组miRNAs与传统标志物联合检测。一组3个miRNAs(miR-92a-3p、miR-107和miR-3126-5p)和AFP联合可有效区分早期HCC患者(AUC=0.988)和低AFP的HCC患者(AUC=0.989)。有研究^[32]也发现,外周血miR-152与AFP联合诊断HCC的诊断效能高于AFP($P<0.01$),联合检测具有更高的灵敏度和特异性,有望成为HBV阳性HCC的生物标志物。

除了与传统标志物联合检测之外,还有研究尝试使用外周血miRNA与影像学方法联合。如乳腺X线摄影和一组3个miRNAs(miR-652、miR-181a和miR-29a)联合可以增加BC特异性亚型检测的准确性,其AUC为0.800^[67]。这个研究扩大了外周血miRNA可联合的指标范围,为今后外周血miRNA诊断方面的临床应用提供了更多的依据。

7 结 语

综上所述,miRNA作为一类新型的生物标志物,在肿瘤患者外周血中广泛而特异地表达,如miR-21、miR-200、miR-152、miR-126等,可作为NSCLC、肾细胞癌、卵巢癌、GC、CRC、BC等肿瘤的早期筛查、早期发现和早期诊断的参考指标。联合现有的常规检测方法及影像检查手段可提高肿瘤的早期诊断效率,为精准医疗提供科学依据。同一种肿瘤存在多个miRNA标志物,如何筛选出联合最少的检测指标、使用更低的检测成本、提高肿瘤早期诊断的灵敏度和特异性,还需要不断的探索。miRNA在不同肿瘤中cut-off值不同,同一肿瘤的miRNA也可能因为地域、种族而有不同的cut-off值,所以还需要进一步研究确定肿瘤早期诊断的cut-off值,并形成行业标准,才能为临床应用提供科学依据。外周血miRNA检测

具有广阔的临床应用前景,不断研究和发现新的更具特异性和灵敏度的外周血miRNA还需要继续努力,也是精准医疗对肿瘤早期检测、早期发现、早期诊断和早期治疗的要求。

[参 考 文 献]

- [1] MOTAWI T K, RIZK S M, IBRAHIM T M, et al. Circulating microRNAs, miR-92a, miR-100 and miR-143, as non-invasive biomarkers for bladder cancer diagnosis[J]. *Cell Biochem Funct*, 2016, 34(3): 142-148. DOI:10.1002/cbf.3171.
- [2] BERTOLI G, CAVA C, CASTIGLIONI I. MicroRNAs: new biomarkers for diagnosis, prognosis, therapy prediction and therapeutic tools for breast cancer[J]. *Theranostics*, 2015, 5(10): 1122-1143. DOI:10.7150/thno.11543.
- [3] 罗露. Has-miR-200、Has-miR-19的表达水平与非小细胞肺癌的相关性研究[D]. 昆明医科大学, 2016: 123-127.
- [4] 向敏. Has-miR-205-5p的表达水平与非小细胞肺癌的相关性研究[D]. 昆明医科大学, 2015: 220-229.
- [5] SUN M, SONG J, ZHOU Z, et al. Comparison of serum microRNA21 and tumor markers in diagnosis of early non-small cell lung cancer [J/OL]. *Dis Markers*, 2016, 2016: 3823121[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC46880855/>. DOI:10.1155/2016/3823121.
- [6] CAO Y, XU R, XU X, et al. Downregulation of lncRNA CASC2 by microRNA-21 increases the proliferation and migration of renal cell carcinoma cells[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(1): 1019-1025. DOI: 10.3892/mmr.2016.5337.
- [7] ZHANG H, LI J, LI G, et al. Effects of celastrol on enhancing apoptosis of ovarian cancer cells via the downregulation of microRNA21 and the suppression of the PI3K/Akt/NFkappaB signaling pathway in an in vitro model of ovarian carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(6): 5363-5368. DOI:10.3892/mmr.2016.5894.
- [8] SUN H, WANG P, ZHANG Q, et al. MicroRNA21 expression is associated with the clinical features of patients with gastric carcinoma and affects the proliferation, invasion and migration of gastric cancer cells by regulating Noxa[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 2701-2707. DOI:10.3892/mmr.2016.4863.
- [9] FLOYD D, PUROW B. Micro-masters of glioblastoma biology and therapy: increasingly recognized roles for microRNAs[J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(5): 622-627. DOI:10.1093/neuonc/nou049.
- [10] FKIH M'HAMED I, PRIVAT M, PONELLE F, et al. Identification of miR-10b, miR-26a, miR-146a and miR-153 as potential triple-negative breast cancer biomarkers[J]. *Cellular Oncol (Dordrecht)*, 2015, 38(6): 433-442. DOI:10.1007/s13402-015-0239-3.
- [11] TAUCHER V, MANGGE H, HAYBAECK J. Non-coding RNAs in pancreatic cancer: challenges and opportunities for clinical application[J]. *Cellular Oncol (Dordrecht)*, 2016, 39(4): 295-318. DOI:10.1007/s13402-016-0275-7.
- [12] TUMILSON C A, LEA R W, ALDER J E, et al. Circulating microRNA biomarkers for glioma and predicting response to therapy[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 50(2): 545-558. DOI:10.1007/s12035-014-8679-8.
- [13] CHEVILLET J R, LEE I, BRIGGS H A, et al. Issues and prospects of microRNA-based biomarkers in blood and other body fluids[J].

- Molecules, 2014, 19(5): 6080-6105. DOI: 10.3390/molecules19056080.
- [14] KAHRAMAN M, LAUFER T, BACKES C, et al. Technical stability and biological variability in microRNAs from dried blood spots: a lung cancer therapy-monitoring showcase[J]. *Clin Chem*, 2017, 63(9): 1476-1488. DOI: 10.1373/clinchem.2017.271619.
- [15] ORTIZ-QUINTERO B. Cell-free microRNAs in blood and other body fluids, as cancer biomarkers[J]. *Cell Prolif*, 2016, 49(3): 281-303. DOI:10.1111/cpr.12262.
- [16] VITIELLO M, TUCCOLI A, POLISENO L. Erratum to: long non-coding RNAs in cancer: implications for personalized therapy[J]. *Cell Oncol (Dordrecht)*, 2015, 38(1): 91-98. DOI:10.1007/s13402-014-0202-8.
- [17] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases [J]. *Nat Rev Drug Dis*, 2017, 16(3): 203-22. DOI:10.1038/nrd.2016.246.
- [18] SAVELYEVA A V, KULIGINA E V, BARIKIN D N, et al. Variety of RNAs in peripheral blood cells, plasma, and plasma fractions[J/OL]. *Bio Med Res Int*, 2017, 2017:7404912[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/Bio.7404912>. DOI:10.1155/2017/7404912.
- [19] WESTPHAL M, LAMSZUS K. Circulating biomarkers for gliomas [J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(10): 556-566. DOI:10.1038/nrneuro.2015.171
- [20] YANEZ-MO M, SILJANDER P R, ANDREU Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions[J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 27066[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4637071/>. DOI:10.3402/jev.v4.27066.
- [21] ARRAUD N, LINARES R, TAN S, et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration[J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(5): 614-627. DOI:10.1111/jth.12554.
- [22] DUCHEZ A C, BOUDREAU L H, NAIKA G S, et al. Platelet microparticles are internalized in neutrophils via the concerted activity of 12-lipoxygenase and secreted phospholipase A2-IIA[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(27): 3564-3573. DOI:10.1073/pnas.1507905112.
- [23] LAFFONT B, CORDUAN A, PLE H, et al. Activated platelets can deliver mRNA regulatory ago microRNA complexes to endothelial cells via microparticles[J]. *Blood*, 2013, 122(2): 253-261. DOI:10.1182/blood-2013-03-492801.
- [24] DESROCHERS L M, ANTONYAK M A, CERIONE R A. Extracellular vesicles: satellites of information transfer in cancer and stem cell biology[J]. *Develop Cell*, 2016, 37(4): 301-309. DOI:10.1016/j.devcel.2016.04.019.
- [25] DE LUCA L, TRINO S, LAURENZANA I, et al. MiRNAs and piRNAs from bone marrow mesenchymal stem cell extracellular vesicles induce cell survival and inhibit cell differentiation of cord blood hematopoietic stem cells: a new insight in transplantation[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(6): 6676-6692. DOI:10.18632/oncotarget.6791.
- [26] RAIMONDO S, CORRADO C, RAIMONDI L, et al. Role of extracellular vesicles in hematological malignancies[J/OL]. *Bio Med Res Int*, 2015, 2015: 821613[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4637071/>. DOI:10.1155/2015/821613.
- [27] ZHAO Y, SONG Y, YAO L, et al. Circulating microRNAs: promising biomarkers involved in several cancers and other diseases[J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(2): 77-94. DOI:10.1089/dna.2016.3426.
- [28] 马雯, 吕微风, 郑磊. 电化学生物传感器在 microRNA 检测中的应用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2015, 7(2): 114-121. DOI:10.3969/j.issn.1674-6929.2015.02.010
- [29] LEUENBERGER N, SAUGY M. Circulating microRNAs: The future of biomarkers in anti-doping field[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 888(6): 401-408. DOI:10.1007/978-3-319-22671-2_20.
- [30] FRIEDLÄNDER M R, LIZANO E, HOUBEN A J, et al. Evidence for the biogenesis of more than 1,000 novel human microRNAs[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(4): 57-65. DOI:10.1186/gb-2014-15-4-r57.
- [31] BHATTACHARYA S, STEELE R, SHRIVASTAVA S, et al. Serum miR-30e and miR-223 as novel noninvasive biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(2): 242-247. DOI:10.1016/j.ajpath.2015.10.003.
- [32] 杨晓敏, 任浩, 魏冉, 等. 循环 microRNA-152 在 HBV 阳性肝细胞癌中的表达及临床应用[J]. *中国现代普通外科进展*, 2016, 11(5): 343-6. DOI:10.3969/j.issn.1009-9905.2016.05.003.
- [33] HUI Z, FENG M, SHEN T, et al. Plasma miR-145, miR-20a, miR-21 and miR-223 as novel biomarkers for screening early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(2): 669-676. DOI:10.3892/ol.2016.5462.
- [34] WARNECKE-EBERZ U, CHON S H, HOLSCHER A H, et al. Exosomal onco-miRs from serum of patients with adenocarcinoma of the esophagus: comparison of miRNA profiles of exosomes and matching tumor [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(6): 4643-4653. DOI:10.1007/s13277-015-3112-0.
- [35] HE D, HUANG C, ZHOU Q, et al. HnRNPK/miR-223/FBXW7 feedback cascade promotes pancreatic cancer cell growth and invasion[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 20165-20178. DOI:10.18632/oncotarget.15529.
- [36] KOMATSU S, ICHIKAWA D, MIYAMAE M, et al. Malignant potential in pancreatic neoplasm; new insights provided by circulating miR-223 in plasma[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(6): 773-785. DOI:10.1517/14712598.2015.1029914.
- [37] HOU B, ISHINAGA H, MIDORIKAWA K, et al. Circulating microRNAs as novel prognosis biomarkers for head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(7): 1042-1046. DOI:10.1080/15384047.2015.1045692.
- [38] HUANG M X. Down-expression of circulating micro ribonucleic acid (miRNA)-148/152 family in plasma samples of non-small cell lung cancer patients[J]. *J Cancer Res Ther*, 2016, 12(2): 671-675. DOI:10.4103/0973-1482.150420.
- [39] LANGHE R, NORRIS L, SAADEH F A, et al. A novel serum microRNA panel to discriminate benign from malignant ovarian disease[J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2 Pt B): 628-636. DOI:10.1016/j.canlet.2014.10.010.
- [40] CHEN H, LIU H, ZOU H, et al. Evaluation of plasma miR-21 and miR-152 as diagnostic biomarkers for common types of human cancers[J]. *J Cancer*, 2016, 7(5): 490-499. DOI:10.7150/jca.12351.
- [41] 蒯君, 秦咏梅, 郭晓鹤, 等. miRNA-24 通过靶向 CARMA3 基因调控胃癌 AGS 细胞的增殖和凋亡[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(10): 1093-1100. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.10.009.
- [42] Wang Q, Zhang H, Shen X, et al. Serum microRNA-135a-5p as an auxiliary diagnostic biomarker for colorectal cancer[J]. *Ann Clin*

- Biochem, 2017, 54(1): 76-85. DOI:10.1177/0004563216638108.
- [43] 张红, 刘念, 李征, 等. miRNA-93 在膀胱癌中的表达及其对 T24 细胞生物学特性的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(27): 139-144. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.007.
- [44] OGATA-KAWATA H, IZUMIYA M, KURIOKA D, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e92921[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3976275/>. DOI:10.1371/journal.pone.0092921.
- [45] SHANG A Q, XIE Y N, WANG J, et al. Predicative values of serum microRNA-22 and microRNA-126 levels for non-small cell lung cancer development and metastasis: a case-control study[J]. *Neoplasma*, 2017, 64(3): 453-459. DOI:10.4149/neo_2017_317.
- [46] CINPOLAT O, UNAL Z N, ISMI O, et al. Comparison of microRNA profiles between benign and malignant salivary gland tumors in tissue, blood and saliva samples: a prospective, case-control study [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2017, 83(3): 276-284. DOI: 10.1016/j.bjorl.2016.03.013.
- [47] KHAIRY A, HAMZA I, SHAKER O, et al. Serum miRNA panel in egyptian patients with chronic hepatitis c related hepatocellular carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(5): 2699-2703.
- [48] PERMUTH-WEY J, CHEN Y A, FISHER K, et al. A genome-wide investigation of microRNA expression identifies biologically-meaningful microRNAs that distinguish between high-risk and low-risk intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116869[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC425607666/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0116869.
- [49] WARNECKE-EBERZ U, CHON S H, HÖLSCHER A H, et al. Exosomal onco-miRs from serum of patients with adenocarcinoma of the esophagus: comparison of miRNA profiles of exosomes and matching tumor[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(6): 4643-4653. DOI:10.1007/s13277-015-3112-0.
- [50] VOIGTLÄNDER T, GUPTA S K, THUM S, et al. MicroRNAs in serum and bile of patients with primary sclerosing cholangitis and/or cholangiocarcinoma[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139305 [2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC40139305/>. DOI:10.1371/journal.pone.0139305.
- [51] CAIVANO A, LA ROCCA F, SIMEON V, et al. MicroRNA-155 in serum-derived extracellular vesicles as a potential biomarker for hematologic malignancies - a short report[J]. *Cell oncol (Dordrecht)*, 2017, 40(1): 97-103. DOI:10.1007/s13402-016-0300-x
- [52] SOCHOR M, BASOVA P, PESTA M, et al. Oncogenic microRNAs: miR-155, miR-19a, miR-181b, and miR-24 enable monitoring of early breast cancer in serum[J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 448 [2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC424938880/>. DOI:10.1186/1471-2407-14-448.
- [53] DEVHARE P B, STEELE R, BISCEGLIE A M, et al. Differential expression of microRNAs in hepatitis C virus mediated liver disease between african americans and caucasians: implications for racial health disparities[J]. *Gene Expression*, 2017, 17(2): 89-98. DOI: 10.3727/1052216x693594.
- [54] LAI X, FRIEDMAN A. Exosomal miRs in lung cancer: a mathematical model[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0167706[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5176278/>. DOI:10.1371/journal.pone.0167706.
- [55] WANG J L, WANG X, YANG D, et al. The expression of microRNA-155 in plasma and tissue is matched in human laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(2): 298-305. DOI: 10.3349/ymj.2016.57.2.298.
- [56] KONG X, LIU F, GAO J. MiR-155 promotes epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells through the activation of PI3K/SKG3/ β -catenin signaling pathways[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 66051-66060. DOI:10.18632/oncotarget.11800.
- [57] WU C, LIU Q, LIU B. MicroRNA-155 hallmarks promising accuracy for the diagnosis of various carcinomas: results from a meta-analysis[J/OL]. *Dis Markers*, 2015, 2015: 327287[2017-09-23]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4397007/>. DOI: 10.1155/2015/327287.
- [58] YIN C, FANG C, WENG H, et al. Circulating microRNAs as novel biomarkers in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int Urol Nephrol*, 2016, 48(7): 1087-1095. DOI:10.1007/s11255-016-1281-4.
- [59] SULAIMAN S A, AB MUTALIB N S, JAMAL R. miR-200c regulation of metastases in ovarian cancer: potential role in epithelial and mesenchymal transition[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 271 [2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4993756/>. DOI:10.3389/fphar.2016.00271
- [60] MA T, XUE Y, NEUROBIOLOGY D O. Study of the mechanism of miRNA-200b induced an increase in blood-tumor barrier permeability[J]. *J Modern Oncol*, 2017, 16(4): 277-285.
- [61] HALVORSEN A R, BJAANAES M, LEBLANC M, et al. A unique set of 6 circulating microRNAs for early detection of non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 37250-37259. DOI:10.18632/oncotarget.9363.
- [62] LIN X J, CHONG Y, GUO Z W, et al. A serum microRNA classifier for early detection of hepatocellular carcinoma: a multicentre, retrospective, longitudinal biomarker identification study with a nested case-control study[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(7): 804-809. DOI:10.1016/S1470-2045(15)00048-0.
- [63] FORNER A. Hepatocellular carcinoma surveillance with miRNAs [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(7): 743-745. DOI:10.1016/s1470-2045(15)00014-5.
- [64] ZHANG Y, LI T, QIU Y, et al. Serum microRNA panel for early diagnosis of the onset of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Medicine*, 2017, 96(2): e5642[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC428079796/>. DOI:10.1097/MD.0000000000005642.
- [65] WANG J, HUANG S K, ZHAO M, et al. Identification of a circulating microRNA signature for colorectal cancer detection[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e87451[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC424709885/>. DOI:10.1371/journal.pone.0087451.
- [66] WANG S, XIANG J, LI Z, et al. A plasma microRNA panel for early detection of colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(1): 152-161. DOI:10.1002/ijc.28136.
- [67] MCDERMOTT A M, MILLER N, WALL D, et al. Identification and validation of oncologic miRNA biomarkers for luminal A-like breast cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87032[2017-09-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC424498016/>. DOI:10.1371/journal.pone.0087032.
- [68] ZHU C, REN C, HAN J, et al. A five-microRNA panel in plasma was identified as potential biomarker for early detection of gastric

- cancer[J]. Brit J Cancer, 2014, 110(9): 2291-2299. DOI:10.1038/bjc.2014.119.
- [69] SHAROVA E, GRASSI A, MARCER A, et al. A circulating miRNA assay as a first-line test for prostate cancer screening[J]. Brit J Cancer, 2016, 114(12): 1362-1366. DOI:10.1038/bjc.2016.151.
- [70] ROTKRUA P, SHIMADA S, MOGUSHI K, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for early detection of diffuse-type gastric cancer using a mouse model[J]. Brit J Cancer, 2013, 108(4): 932-940. DOI:10.1038/bjc.2013.30.
- [71] OZE I, SHIMADA S, NAGASAKI H, et al. Plasma microRNA-103, microRNA-107, and microRNA-194 levels are not biomarkers for human diffuse gastric cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2017, 143(3): 551-554. DOI:10.1007/s00432-016-2316-z.
- [72] 蒯君, 秦咏梅, 郭晓鹤, 等. miRNA-24 通过靶向 CARMA3 基因调控胃癌 AGS 细胞的增殖和凋亡[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(10): 1093-1100. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.10.009.
- [73] 冯世鹏, 刘梦佳. 8 种模式生物的 miRNA 比较分析[J]. 生物技术通讯, 2016, 27(5): 629-633. DOI:10.3969/j.issn.1009-0002. 2016.05.006.
- [74] LU M, JU S, SHEN X, et al. Combined detection of plasma miR-127-3p and HE4 improves the diagnostic efficacy of breast cancer [J]. Cancer Biomark, 2017, 18(2): 143-148. DOI: 10.3233/cbm-160024.
- [收稿日期] 2017-12-10 [修回日期] 2018-01-14
[本文编辑] 王映红

· 读者·作者·编者·

常见参考文献著录格式示例

1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页—止页.

- [1] ABRAMS W B, BEERS M H, BERKOW R. 默克老年病手册[M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页—止页.

- [1] WEINSTEIN L, SWARTZ M N. Pathogenic properties of invading microorganisms[M]//SODERMAN W A Jr, SODEMAN W A. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页—止页. 数字对象唯一标识符.

- [1] NOBLES K N, GUAN Z, XIAO K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and-2[J]. J Biol Chem, 2007, 282 (29): 21370-21381. DOI: 10.1074/jbc.M611483200.

4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK). 其制备方法及其用途: 中国, 2010101496839[P]. 2010-10-14.

5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系[D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页—止页(更新或修改日期)[引用日期]. 获取和访问路径. 数字对象唯一标识符.

- [1] KALOS M, LEVINE B L, PORTER D L, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia[J/OL]. Sci Transl Med, 2011, 3: 95ra73[2016-06-08]. <http://stm.sciencemag.org/content/3/95/95ra73.long>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002842.
- [2] HOPKINSON A. UNIMARC and metadata: Dublin core[EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.