

论著·临床研究

血清 miR-210 和 miR-375 在非小细胞肺癌患者中的表达变化情况*

肖 洒¹, 蔡 宙², 钟欣超³, 李玉婵⁴, 吴科锋¹, 孙 杰², 李文德⁵, 黄 韧⁵, 邓少嫦^{5△}

(1. 广东医科大学广东天然药物研究与开发重点实验室, 广东湛江 524023; 2. 广东医科大学附属医院呼吸内科, 广东湛江 524023; 3. 广州市外显子生物技术有限公司, 广东广州 510663; 4. 广东省第二人民医院肿瘤二科, 广东广州 510663; 5. 广东省实验动物监测所/广东省实验动物重点实验室, 广东广州 510663)

摘要:目的 探讨血清 miR-210 和 miR-375 在非小细胞肺癌(NSCLC)患者中的表达变化情况。方法 以 25 例 NSCLC 患者(NSCLC 组)和 14 例健康志愿者(对照组)为研究对象, 随机抽取 6 例 NSCLC 组和 6 例对照组的血液标本组成筛选实验, 应用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 9 种 miRNA (miR-182、miR-126、miR-31、miR-21、miR-221、miR-200b、miR-183、miR-210、miR-375)的表达水平, 筛选出表达异常的 miRNA 为目标 miRNA 后, 继续检测其在剩余标本中的表达水平, 并采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价其诊断效能。**结果** 筛选实验发现, miR-210 和 miR-375 在 NSCLC 组血清中的相对表达均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其他 7 种 miRNA 表达量趋势与已报道文献不符, 选择 miR-210 和 miR-375 继续验证剩余标本, 发现 NSCLC 患者中的肺腺癌组 miR-210 相对表达量较对照组升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 肺鳞癌组与对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); miR-375 在肺鳞癌和肺腺癌组中的相对表达量与对照组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。根据血清 miR-210 表达水平绘制 ROC 曲线, 曲线下面积为 0.737 5 (95% CI: 0.498 3~0.976 7, $P = 0.091 4$), 诊断准确性中等。**结论** miR-210 在肺腺癌组高表达, 可能成为诊断肺腺癌的新型肿瘤标志物; miR-375 在辅助诊断肺癌的价值仍待进一步探讨。

关键词: 非小细胞肺癌; 血清; 微小 RNA; 诊断价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.02.008

中图法分类号: R734.2

文章编号: 1673-4130(2019)02-0156-06

文献标识码: A

Expression levels of serum miR-210 and miR-375 in patients with non-small cell lung cancer*

XIAO Sa¹, CAI Zhou², ZHONG Xinchao³, LI Yuchan⁴, WU Kefeng¹,
SUN Jie², LI Wende⁵, HUANG Ren⁵, DENG Shaochang^{5△}

(1. Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 3. Guangzhou Exon Biological Technology Co., Ltd, Guangzhou, Guangdong 510663, China; 4. Department of Tumor, Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou, Guangdong 510663, China; 5. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute/Guangdong Provincial Key Laboratory of Laboratory Animals, Guangzhou, Guangdong 510663, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression levels of serum miR-210 and miR-375 in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** A total of 25 NSCLC patients (NSCLC group) and 14 healthy volunteers (control group) were enrolled in this study. The relative expression levels of 9 miRNAs (miR-182, miR-126, miR-31, miR-21, miR-221, miR-200b, miR-183, miR-210 and miR-375) in 6 NSCLC patients and 6 healthy volunteers were measured by RT-qPCR. The dysregulated miRNAs will be selected as candidate miRNAs. The diagnostic value were evaluated by ROC curve. **Results** Compared with control group, 2 (miR-210 and miR-375) out of 9 miRNAs were up-regulated in NSCLC group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), while the other 7 miRNAs were not consistent with the reported literatures. Therefore, miR-210 and miR-375 were selected as candidate miRNAs. We found that the relative expression level of miR-

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31772549); 广东省省级科技计划项目(2016A040403064、2017A070702001、2017B030314171、2018B030317001)。

作者简介: 肖洒, 女, 在读硕士研究生, 主要从事药理学研究。△ 通信作者, E-mail: 350885398@qq.com。

本文引用格式: 肖洒, 蔡宙, 钟欣超, 等. 血清 miR-210 和 miR-375 在非小细胞肺癌患者中的表达变化情况[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(2): 156-161.

210 in the lung adenocarcinoma group was significantly different from control group ($P < 0.05$), while there was no significant difference between the squamous cell carcinoma group and the control group ($P > 0.05$). There was no significantly statistical difference in the relative expression level of miR-375 between lung squamous cell carcinoma group, lung adenocarcinoma group and the control group ($P > 0.05$). The AUC of serum miR-210 of lung adenocarcinoma group was 0.737 5 (95%CI: 0.498 3—0.976 7, $P = 0.091 4$) with a medium diagnostic value. **Conclusion** MiR-210 is highly expressed in the serum of patients with lung adenocarcinoma, suggesting that miR-210 may be a novel tumor marker for the diagnosis of lung adenocarcinoma. The value of miR-375 in the diagnosis of lung cancer still needs to be further explored.

Key words: non-small cell lung cancer; serum; microRNA; diagnostic value

肺癌已成为全球肿瘤死亡的主要原因之一^[1]。据中国癌症统计数据报告,截至 2015 年,中国共出现有 430 万癌症病例,且死亡病例数超过 281 万,其中,肺癌的死亡人数超过所有死亡人数的 21%^[2]。非小细胞肺癌(NSCLC)约占肺癌总数的 85%,主要包括腺癌、鳞癌和大细胞未分化癌^[3]。NSCLC 的癌细胞生长分裂较慢,且扩散转移也比较晚,大部分肺癌患者确诊时已为中晚期。因此,寻找有效的早期诊断标志物是降低肺癌患者死亡率的关键^[4-5]。

微小 RNA(miRNA)是真核生物中一类长度约为 22 nt 的非编码小分子单链 RNA。研究表明,miRNA 通过与靶 mRNA 3'非编码区(3'UTR)完全或不完全结合,抑制其靶 mRNA 翻译或直接诱导其降解,在转录或转录后水平发挥调控作用^[6-7]。大量研究表明,miRNA 参与机体多种生理和病理过程^[8-10],且可通过调控其靶基因参与信号通路调控,并参与肺癌的发生、侵袭、转移等过程^[11-13]。

miRNA 广泛存在于各种体液中,血清就是其中之一。MOTAWI 等^[14]报道,循环 miRNA 在多种肿瘤发生、发展和预后判断中起重要调节作用,可成为早期诊断标志物。但是,循环 miRNA 在肺癌发生、侵袭、转移等过程中的作用还有待于深入研究。朱利群等^[15]报道,NSCLC 患者血清 miRNA-200b 表达水平显著上升,有可能成为新型的肺癌标志物,作为无创早期诊断 NSCLC 的指标之一。SUN 等^[16]通过对比 60 例 NSCLC 患者和 30 例健康人的血清 miRNA 发现,miR-210 表达升高可作为 NSCLC 诊断依据,且通过 36 例接受过 3 次左右铂类化疗的 NSCLC 晚期患者的疗效发现,稳定疾病进展组比局部缓解组患者血清 miR-210 表达更高,提示 miR-210 可在肺癌治疗中起到治疗反馈作用。HALVORSEN 等^[17]通过联合 6 个外周血 miRNA(miR-429、miR-205、miR-200b、miR-203、miR-125b 和 miR-34b)可区分早期 NSCLC 患者、慢性阻塞性肺疾病患者和健康体检者,且它们诊断 NSCLC 患者的曲线下面积(AUC)为 0.89。因此多个 miRNA 联合检测有助于提高肺癌的灵敏度和早期诊断率。本研究选取 9 个已经报道过在肺癌患者血清中差异表达的 miRNA(miR-182、miR-126、miR-31、miR-21、miR-221、miR-200b、miR-183、miR-

210、miR-375),作为研究目标,通过初筛和进一步确认发现,miR-210 在肺腺癌中显著上调,可作为肺腺癌早期诊断的生物标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择广东医科大学附属医院和广东省第二人民医院呼吸内科 2016 年 3—12 月确诊的 NSCLC 患者 25 例(NSCLC 组),其中男 14 例,女 11 例;年龄 39~83 岁,平均 66.0 岁;肺腺癌 13 例(肺腺癌组),鳞癌 12 例(肺鳞癌组);临床分期:Ⅰ、Ⅱ期 3 例,Ⅲ、Ⅳ期 22 例。纳入标准:(1)NSCLC 均经病理学确诊,符合美国胸科医生学会(ACCP)肺癌诊治标准^[18];(2)按美国联合癌症分类委员会(AJCC)和国际癌症研究协会(IASLC)2009 年制定的 TNM 分期标准(第 7 版)进行分期^[19];(3)具备完整的临床诊断、治疗资料;(4)获得标本前患者未经过放疗、化疗等治疗;(5)吸烟者定义为吸烟总数超过 100 支。以上患者均按照世界卫生组织(WHO)肺癌分类标准进行诊断。另选择健康志愿者 14 例作为对照组,其中男 10 例,女 4 例;年龄 17~71 岁,平均 53.5 岁;无高血压、高血脂、糖尿病等基础性疾病。所有标本采集均获得患者及主管医生同意,且所有参与者均签订知情同意书。

1.2 仪器与试剂 Applied Biosystems 7500 荧光定量 PCR 仪购自 ABI 公司;Trizol 试剂购自 Life Technology 公司;RTase M-MLV(RNase H-)试剂购自 TAKARA 公司;荧光定量 PCR 试剂盒购自 Vazyme 公司;引物设计与合成由上海生工生物工程股份有限公司完成。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 空腹抽取 1~3 mL 外周静脉血置于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,在室温条件下,4 000 r/min 离心 5 min,取最上层 0.2~0.5 mL 血清至无菌冻存管。

1.3.2 血清总 RNA 提取 采用 Trizol 法提取血清总 RNA。使用超微量紫外分光光度计测定 RNA 的 A_{260}/A_{280} 及 RNA 浓度。RNA 的 A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.1 时,判断其纯度合格。

1.3.3 miRNA 逆转录 miRNA 逆转录参照 RTase M-MLV(RNase H-)试剂说明书进行。反应体系:

RNA 1.0 μg , Olig(dT)18 0.5 μL , 随机引物 0.5 μL 加入 RNase free ddH₂O 至 12 μL , 70 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 后迅速冷却 1 min; 然后加入 10 mmol/L dNTP Mixture 0.5 μL , RNase inhibitor (40 U/ μL) 0.25 μL 、5 $\times$ M-MLV buffer 4.0 μL 、RTase M-MLV (RNase H-) 0.5 μL , 加入 RNase free ddH₂O 至 20 μL , 混匀后 42 $^{\circ}\text{C}$ 恒温

60 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 灭活 15 min, 最后 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。
1.3.4 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 反应体系 (20 μL): cDNA 2 μL , 正、反向引物各 0.5 μL , AceQTM qPCR SYBR[®] Green Master Mix 10 μL , ddH₂O 7 μL 。循环参数: 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 59 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 共 40 个循环。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

miRNA		序列(5'→3')
U6(内参)	上游引物	CATCCGATAA AATTGGAACGA
	下游引物	TTTGTGCGTGTCATCCTTGCG
miR-126	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACCGCATT
	上游引物	ATGGTTCGTGGGTCTGACCGTGAGTAAT
miR-221	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACGAAACCCA
	上游引物	ATGGTTCGTGGGAGCTACATTGTCTGCT
miR-375	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACTCACGCGA
	上游引物	ATGGTTCGTGGGTTTGTTCGTTCGGCTCG
miR-200b	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACTCATCAT
	上游引物	ATGGTTCGTGGGTAATACTGCCTGGTAAT
miR-210	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACCAGTGTG
	上游引物	ATGGTTCGTGGGAGCCCTGCCACCGCA
miR-182	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACAGTGTGAGT
	上游引物	ATGGTTCGTGGGTTTGGCAATGGTAGAACTC
miR-31	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACAGCTATGC
	上游引物	ATGGTTCGTGGGAGGCAAGATGCTGGCAT
miR-183	逆转录引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACAGTGAAT
	上游引物	ATGGTTCGTGGGTATGGCACTGGTAGAAT
miR-21	逆转录引物	CTCAACTGGTGTCTGTGGAGTCGCAATTTCAGTTGAGTCAACATCA
	上游引物	ACACTCCAGCTGGGTAGCTTATCAGACTGAT
		通用引物 GTGCAGGGTCCGAGGT

1.4 统计学处理 使用 ViiA7TM System 软件进行溶解曲线分析。采用 Applied Biosystems ViiA 7TM Real-Time PCR System 检测各个基因的 Ct 值, 所有反应均设 3 个复孔。 $\Delta\Delta\text{Ct}=(\text{Ct 基因}-\text{Ct U6})_{\text{目标}}-(\text{Ct 基因}-\text{Ct U6})_{\text{对照}}$, 利用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算各个基因相对表达量; 采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行数据统计分析, 实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两组 miRNA 表达差异比较采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 分析 miRNA 的诊断价值。

2 结 果

2.1 血清中与肺癌相关的 miRNA 通过 PubMed、万方和知网等文献搜索引擎, 共发现 9 个在肺癌患者血清中差异表达的 miRNA, 将这 9 个 miRNA 作为研究目标, 探讨其对肺癌的临床诊断价值。见表 2。

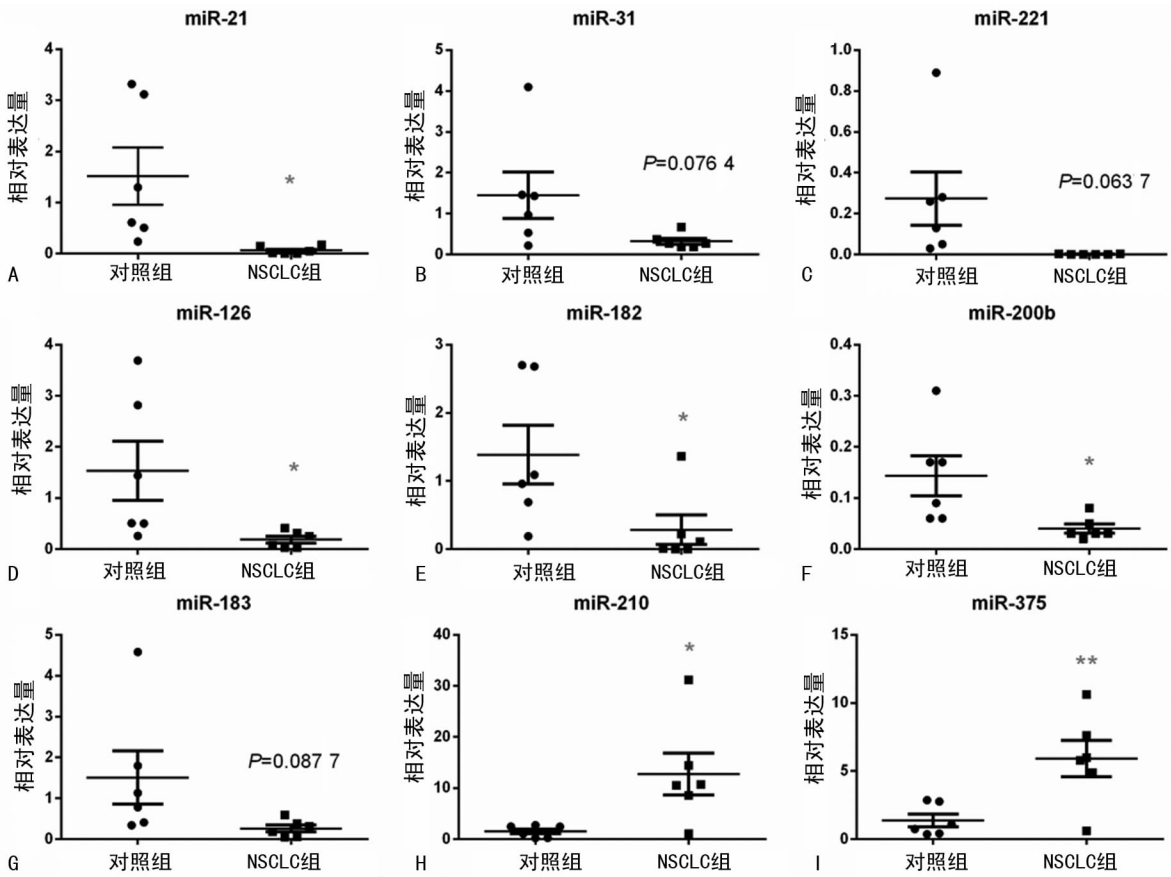
2.2 血清中总 RNA 分析 采用 Trizol 法提取血清

中总 RNA, 其 A_{260}/A_{280} 值均在合格范围内, RNA 质量浓度符合 RT-qPCR 的要求, 见表 3。

表 2 血清中与肺癌相关的 miRNA

血清 miRNA	表达变化	意义	参考文献
miR-182	↑	肺原位癌总生存率降低	[20]
miR-126	↓	肺腺癌患者检测	[21]
miR-31	↑	NSCLC 检测	[22]
miR-21	↑	NSCLC 诊断	[23]
miR-375	↑	肺腺癌早期诊断	[24]
miR-221	↑	SCLC 的肿瘤分期、对化疗的敏感性和生存期相关诊断	[25]
miR-210	↑	NSCLC 诊断依据; 较短的无进展生存期 (PFS)	[20]
miR-200b	↑	肺腺癌早期诊断	[26]
miR-183	↑	肺原位癌总生存率低	[20, 27]

注: SCLC 为小细胞肺癌; ↓ 表示 miRNA 表达下调; ↑ 表示 miRNA 表达上调



注：A~I 分别为 miR-21、miR-31、miR-221、miR-126、miR-182、miR-200b、miR-183、miR-210、miR-375 在血清中的相对表达情况

图 1 各 miRNA 在 NSCLC 组和对照组血清中的相对表达水平

表 3 血清中总 RNA 分析

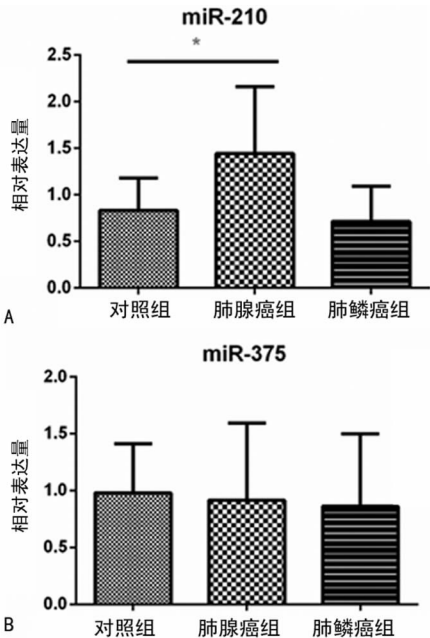
样本编号	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	质量浓度(ng/μL)	体积(μL)	质量(ng)
N1	1.78	112.57	40	4 502.8
N2	1.86	105.33	40	4 213.2
N3	1.92	132.11	40	5 284.4
N4	1.79	123.65	40	4 946.0
N5	1.81	110.45	40	4 418.0
N6	1.87	107.56	40	4 302.4
Ca1	1.85	106.3	40	4 252.0
Ca2	1.76	105.49	40	4 219.6
Ca3	1.93	119.89	40	4 795.6

注：N1~N6 为健康人血清标本；Ca1~Ca3 为肺癌患者血清标本

2.3 miRNA PCR 引物特异性验证 9 种 miRNA 及内参 U6 在内共 10 种基因均成功扩增出产物,且溶解曲线均为单峰,提示产物具有良好的特异性,引物设计成功。

2.4 筛选实验结果 血清 miR-210 和 miR-375 在 NSCLC 组相对表达量较对照组显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$),与文献报道一致;而其余 7 种血清 miRNA(miR-182、miR-126、miR-31、miR-21、miR-221、miR-200b、miR-183)相对表达量在 NSCLC 组与对照组的差异与文献报道不符,见图 1。故选择

miR-210 和 miR-375 进行进一步研究。



注：A 为各组 miR-210 在血清中的相对表达水平,B 为各组 miR-375 在血清中的相对表达水平

图 2 miR-210 和 miR-375 分别在各组血清中的相对表达水平

2.5 各组血清 miR-210 和 miR-375 的表达情况及其对于 NSCLC 的诊断价值 检测 19 例 NSCLC 组患

者(10 例肺鳞癌和 9 例肺腺癌)与 8 例对照组血清中 2 种目标 miRNA(miR-210 和 miR-375)相对表达情况,见图 2。NSCLC 组患者中,肺腺癌组血清中 miR-210 的表达明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);肺鳞癌组患者血清 miR-210 较对照组有减少趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);miR-375 在肺鳞癌组和肺腺癌组患者血清中表达无差异,其原因需要进一步探究。采用 ROC 曲线评价 miR-210 在肺腺癌诊断效能,其 AUC 为 0.737 5(95%CI:0.498 3~0.976 7, $P=0.091 4$),见图 3。

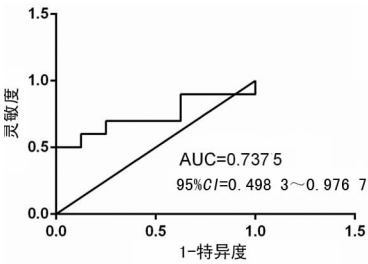


图 3 miR-210 对肺腺癌诊断的 ROC 曲线分析

3 讨 论

由于肺癌存在高转移、高复发和对化疗不敏感等特点,导致多数患者诊断时已属于晚期并有转移,错过了最佳手术时机,已成为严重危害人类健康的疾病^[28-29]。近年来,虽然肺癌诊断治疗技术不断提高,但是仍缺乏对肺癌早期诊断、治疗、评估、预后判断有效的生物学标志^[30]。因此,寻找新的、高灵敏度的肺癌早期诊断指标具有重要临床意义。

有研究表明,人体体液如血浆或血清中的循环 miRNA 可稳定存在,获得含有循环血 miRNA 的临床标本是简单非侵入的过程,且可通过实时定量 PCR 检测其表达水平^[27];检测到的血清或血浆循环 miRNAs 的表达谱中有许多种 miRNA,可排除只检测一种指标而判定为假阳性的干扰,从而提高肺癌诊断的特异度、灵敏度和可信度。因此,循环血 miRNA 可为有临床价值的生物标志物。

本研究在目标 miRNA 的筛选过程中发现,7 种与肺癌相关的 miRNA 表达水平与文献报道结果不一致^[31-32],分析可能存在以下 2 种可能:(1)筛选实验的样本数较少,不能完全反映出这 7 种 miRNA 在总体中的真实表达水平;(2)血清中 miRNA 来源复杂,miRNA 组织特异性较差,且可能由其他组织释放入血清导致这 7 种 miRNA 在血清中的真实表达情况被掩盖了。

本研究结果显示,血清 miR-210 的表达水平在肺腺癌患者中显著上调,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。然而,血清 miR-210 在肺鳞癌患者和对照组中表达差异无统计学意义($P>0.05$),具体原因还需进一步研究。与对照组相比,血清 miR-375 在肺腺癌和肺鳞癌中的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究引入 ROC 曲线评价 miR-210 对肺腺

癌患者的诊断效果,结果显示,其 AUC 为 0.737 5(95%CI:0.498 3~0.976 7),说明其对肺腺癌的诊断具有中等效果。因此可推断,血清 miR-210 有可能作为肺腺癌早期诊断的一个较好的辅助诊断指标。

本研究也存在一些缺陷,比如标本量小,未进行进一步的分子机制研究等,实验结果可能具有一定局限性,但是该研究丰富了血清 miR-210 用于肺腺癌患者诊断、治疗和预后的认知。血清 miR-210 检测用肺腺癌患者诊断需要扩大样本量,再进行深入探讨,以期对肺腺癌的诊断、监测及治疗发挥积极作用。

4 结 论

miR-210 在肺腺癌患者中呈高表达,可成为诊断肺腺癌的新型肿瘤标志物。对于如何探索检测 miR-210 更精确的方法,做好质量控制,以及将血清 miR-210 运用于临床肺腺癌的早期诊断,使其具有更高的准确性等方面需要进行更深入的研究。

参考文献

[1] PRABHAKAR B, SHENDE P, AUGUSTINE S. Current trends and emerging diagnostic techniques for lung cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 1586-1599.

[2] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[3] OSMANI L, ASKIN F, GABRIELSON E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): moving from targeted therapy to immunotherapy [J]. Semin Cancer Biol, 2018, 52(Pt 1): 103-109.

[4] MACDONALD I K, PARSY-KOWALSKA C B, CHAPMAN C J. Autoantibodies: opportunities for early cancer detection [J]. Trends Cancer, 2017, 3(3): 198-213.

[5] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.

[6] KUANG X Y, WEI C M, ZHANG T, et al. miR-378 inhibits cell growth and enhances apoptosis in human myelodysplastic syndromes [J]. Int J Oncol, 2016, 49(5): 1921-1930.

[7] LENG Q X, WANG Y, JIANG F. A direct plasma miRNA assay for early detection and histological classification of lung cancer [J]. Transl Oncol, 2018, 11(4): 883-889.

[8] LI W D, LIU Y J, YANG W N, et al. MicroRNA-378 enhances radiation response in ectopic and orthotopic implantation models of glioblastoma [J]. J Neurooncol, 2018, 136(1): 63-71.

[9] SHISHODIA G, VERMA G, DAS B C, et al. miRNA as viral transcription tuners in HPV-mediated cervical carcinogenesis [J]. Front Biosci (Schol Ed), 2018, 10(1): 21-47.

[10] LI J H, SUN S S, FU C J, et al. Diagnostic and prognostic value of microRNA-628 for cancers [J]. J Cancer, 2018, 9(9): 1623-1634.

- [11] HO C S, NOOR S M, NAGOOR N H. MiR-378 and MiR-1827 regulate tumor invasion, migration and angiogenesis in human lung adenocarcinoma by targeting RBX1 and CRKL, respectively[J]. *J Cancer*, 2018, 9(2): 331-345.
- [12] WU Y, ZHANG J, HONG Y, et al. Effects of kanglaite injection on serum miRNA-21 in patients with advanced lung cancer[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 2901-2906.
- [13] XU J, XIAO X, YANG D. In vitro methods for analyzing miRNA roles in cancer cell proliferation, invasion, and metastasis[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1733: 159-171.
- [14] 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.
- [15] 朱利群, 王纯, 陈菊香. 血清 miRNA-200b 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2017, 32(7): 1059-1061.
- [16] SUN Y L, HAWKINS P G, BI N, et al. Serum microRNA signature predicts response to high-dose radiation therapy in locally advanced non-small cell lung cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2018, 100(1): 107-114.
- [17] 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.
- [18] CASTILLO-LARA R A, SORIA-RUIZ M, MARTINEZ-CARRERA O. American college of chest physicians/society of critical care medicine consensus conference; definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis[J]. *Crit Care Med*, 1992, 20(6): 864-874.
- [19] DETTERBECK F C, BOFFA D J, TANOUE L T. The new lung cancer staging system[J]. *Chest*, 2009, 136(1): 260-271.
- [20] ZHU W, ZHOU K, ZHA Y, et al. Diagnostic value of serum miR-182, miR-183, miR-210, and miR-126 levels in patients with early-stage non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153046.
- [21] GRIMOLIZZI F, MONACO F, LEONI F, et al. Exosomal miR-126 as a circulating biomarker in non-small-cell lung cancer regulating cancer progression[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15277.
- [22] MATHE Y G, FOGEL P, MARTIN L S, et al. 60P circulating miR-31 as a predictive marker of EGFR TKI treatment efficacy in squamous cell lung cancer(SCC): a sub-analysis of the LUX-Lung 8 trial[J]. *J Thorac Oncol*, 2018, 13(4): 31-32.
- [23] YANG Y, CHEN K, ZHOU Y, et al. Application of serum microRNA-9-5p, 21-5p, and 223-3p combined with tumor markers in the diagnosis of non-small-cell lung cancer in Yunnan in southwestern China[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 587-597.
- [24] ARAB A, KARIMPOOR M, IRANI S, et al. Potential circulating miRNA signature for early detection of NSCLC[J]. *Cancer Genet*, 2017(216/217): 150-158.
- [25] ZHOU X, WEN W, SHAN X, et al. A six-microRNA panel in plasma was identified as a potential biomarker for lung adenocarcinoma diagnosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 6513-6525.
- [26] 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.
- [27] ZAPOROZHCHENKO I A, MOROZKIN E S, SKVORT SOVA T E, et al. Plasma miR-19b and miR-183 as potential biomarkers of lung cancer[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0165261.
- [28] RAMALINGAM S S, YANG J C, LEE C K, et al. Osimertinib as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(9): 841-849.
- [29] MASAOUTIS C, MIHAILIDOU C, TSOUROUFLIS G, et al. Exosomes in lung cancer diagnosis and treatment. From the translating research into future clinical practice[J]. *Biochimie*, 2018, 151: 27-36.
- [30] LUO H, GE H, CUI Y, et al. Systemic inflammation biomarkers predict survival in patients of early stage non-small cell lung cancer treated with stereotactic ablative radiotherapy: a single center experience[J]. *J Cancer*, 2018, 9(1): 182-188.
- [31] GARCÍA-GIMÉNEZ J L, RUBIO-BELMAR P A, PEIRÓ-CHOVA L, et al. Circulating miRNAs as diagnostic biomarkers for adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2646.
- [32] LOPEZ-SANTILLAN M, LARRABEITI-ETXEBARRIA A, ARZUAGA-MENDEZ J, et al. Circulating miRNAs as biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a systematic review[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(32): 22850-22861.

(收稿日期: 2018-07-20 修回日期: 2018-09-10)

(上接第 155 页)

- [13] 马延敏, 吴连方, 黄醒华, 等. 孕妇 B 族溶血性链球菌带菌与母婴预后的关系[J]. *中华妇产科杂志*, 2000, 35(1): 31-34.
- [14] 何建维, 张燕, 陈敏, 等. 重庆地区不同育龄围产期女性 B 族溶血性链球菌的研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(19): 2784-2786.

- [15] BARCAITE E, BARTUSEVICIUS A, TAMELIENE R, et al. Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2008, 87(3): 260-271.

(收稿日期: 2018-06-10 修回日期: 2018-09-21)