

论著·临床研究

血清 microRNA-224-3p 在结直肠癌中的表达及临床研究*

朱莹^{1,2}, 王亚南^{1,3△}

(1. 苏州市立医院检验科, 江苏苏州 215000; 2. 苏州市第九人民医院病理科, 江苏苏州 215000;
3. 南京医科大学附属苏州医院检验科, 江苏苏州 215002)

摘要:目的 探讨 microRNA-224-3p (miR-224-3p) 在结直肠癌患者血清中的表达及临床意义。方法 采用荧光定量 PCR (SYBR Green 法) 检测 miR-224-3p 在 50 例结直肠癌患者和 44 例健康者 (健康对照组) 血清中的表达量。结果 血清 miR-224-3p 在健康对照组中的相对表达量中位数 (四分位数) 为 1.04 (0.80~1.40), 在结直肠癌组中相对表达量为 2.01 (0.92~3.05), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对结直肠癌患者的病理参数进行进一步分析发现, 血清 miR-224-3p 在癌胚抗原 (CEA) < 10 ng/mL 的分组中相对表达量中位数 (四分位数) 为 1.47 (0.84~2.56), 在 CEA > 10 ng/mL 的分组中相对表达量为 2.96 (2.22~3.39), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), miR-224-3p 和 CEA 联合检测, 可以提高诊断的准确性。血清 miR-224-3p 在不同预后情况以及 CEA 表达水平中差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示血清 miR-224-3p 可用于结直肠癌患者的预后判断。结论 在结直肠癌患者的血清中, miR-224-3p 的表达量高于健康者, 与 CEA 联合检测, 有望用于结直肠癌的辅助诊断, 也可用于结直肠癌的预后判断。

关键词: 结直肠癌; microRNA-224-3p; 荧光定量 PCR

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.13.004

中图分类号: R735.3, R73.43

文章编号: 1673-4130(2019)13-1548-04

文献标识码: A

Expression level of serum microRNA-224-3p in colorectal cancer and its clinical value*

ZHU Ying^{1,2}, WANG Yanan^{1,3△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Jiangsu 215000, China; 2. Department of Pathology, Suzhou Ninth People's Hospital, Suzhou, Jiangsu 215000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Suzhou Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu 215002, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of microRNA-224-3p (miRNA-224-3p) in serum of patients with colorectal cancer and its clinical significance. **Methods** Fluorescence quantitative PCR (SYBR Green method) was used to detect the expression of miRNA-224-3p in serum of 50 patients with colorectal cancer and 44 healthy persons (healthy control group). **Results** The relative expression of serum miRNA-224-3p was 1.04 (0.80-1.40) in healthy control group and 2.01 (0.92-3.05) in colorectal cancer group, with significant difference ($P < 0.05$). Further analysis of the pathological parameters of colorectal cancer group showed that the relative expression of serum miR-224-3p was 1.47 (0.84-2.56) in the group of CEA < 10 ng/mL and 2.96 (2.22-3.39) in the group of CEA > 10 ng/mL, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The combined detection of miR-224-3p and CEA could improve the accuracy of diagnosis. Serum miR-224-3p had significant difference in the different prognosis group and CEA expression level ($P < 0.05$), suggesting that serum microRNA-224-3p could be used to predict the prognosis of colorectal cancer patients. **Conclusion** In the serum of patients with colorectal cancer, the expression of miRNA-224-3p is higher than that of healthy people, so the combined detection of miR-224-3p and CEA was expected to be used for assistant diagnosis of colorectal cancer. Serum miR-224-3p can also be used to judge the prognosis of colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; miRNA-224-3p; fluorescent quantitative PCR

结直肠癌在世界范围内的发病率一直处于增高状态, 过去几年的研究数据显示, 结直肠癌的发病率

在我国也一直居高不下^[1], 是威胁全世界人民身体健康和生命安全的恶性肿瘤之一。我国人民生活水平

* 基金项目: 苏州市“科教兴卫”青年科技项目 (KJXW2014017)。

作者简介: 朱莹, 女, 初级技师, 主要从事临床分子病理研究。△ 通信作者: E-mail: wangyn1980@163.com。

本文引用格式: 朱莹, 王亚南. 血清 microRNA-224-3p 在结直肠癌中的表达及临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(13): 1548-1552.

的提高、饮食结构的改变、环境的恶化等原因使得结直肠癌的发病率逐年上升。由于研究者不停地对分子生物学进行深入研究,新近发现了许多 microRNA (miRNA) 与多种肿瘤性疾病的发生、发展、病情恶化有密切的关系。miRNA 是一类小的、非编码的、内源性 RNA 片段(18~24 个氨基酸的长度),通过调节基因表达参与多种细胞内过程,在进化程度上高度保守,广泛存在于动植物中。miRNA 可直接靶向 mRNA,1 个 miRNA 可调控多个 mRNA,相对的,1 个 mRNA 也可被多个 miRNA 调控。miRNA 的作用机制为成熟的单链 miRNA 可通过碱基互补配对的方式与靶基因的 mRNA 的 3'UTR 端结合,若二者可以完全互补时,miRNA 可将 mRNA 互补区特异性降解从而改变基因的表达,若二者不可以完全互补时,miRNA 可通过与靶基因的 mRNA 3'UTR 碱基互补配对,来阻止 mRNA 转录后翻译过程^[2],进而影响基因调控的表达,这二者的机制也可以相互融合,当完全互补时,直接切割掉 mRNA,影响其表达。自 1993 年 LEE 等^[3]在分析秀丽隐线虫的遗传学信息时发现第一个 miRNA,并将其命名为 Lin-4 开始,截至 2013 年 6 月,已先后发现 30 424 个成熟的 miRNAs(数据来源于 miRBASE20 版,截止时间为 2013 年 6 月)。而在人类基因组中已发现约 1 000 个 miRNAs^[4]。查阅文献可知,miRNAs 与结直肠癌的发生、发展密切相关^[5],在文献中初步得知,miR-224-3p 的表达量与结直肠癌的发生、发展有关^[6],本实验就 miR-224-3p 的表达通过荧光定量 PCR(SYBR Green 法)来检测,并研究其表达量与结直肠癌的临床病理关系。

1 材料与方法

1.1 材料 选择苏州市立医院本部结直肠癌患者的住院血清标本共 50 例,其中男性标本 29 例,女性标本 21 例,临床病理资料见表 1。健康人血清标本 44 例(健康对照组),来源为苏州市立医院本部体检健康者的标本。本研究通过苏州市立医院医学伦理委员会的批准,患者签定知情同意书。采血容器是一次性真空采血管,保证使用统一的采血方法采集样本,在结直肠癌患者手术前空腹抽取 5 mL 静脉血,体检健康者也空腹抽取 5 mL 静脉血,将抽取的血清 10 000 r/min 离心处理 10 min,移取上清液至另一新的离心管中,在-80 °C 下存储。组织标本离体后在 10 min 内放在液氮罐内快速冷冻后置-80 °C 冻存。

1.2 诊断、纳入和排除标准 诊断标准:所有患者依据肿瘤病理诊断规范(结直肠癌)^[7],经 2 名主治以上的病理科医生诊断为结直肠癌。纳入标准:(1)均按照 WHO 病理分期对其进行病理学检查后确定为结肠癌的患者,其临床病理分期采用 TNM 分期;(2)患者之前均未进行手术及放射性治疗;(3)本研究通过医院医学伦理委员会的批准,患者签定知情同意书;(4)临床病理参数及随访资料完整的患者。排除标

准:(1)术后病理提示良性肿瘤的患者;(2)结直肠有溃疡或结肠炎患者;(3)有其他恶性肿瘤病史的患者;(4)临床病理资料缺失以及失访者。

1.3 仪器与试剂 本实验所采用的主要试剂为 Trizol 试剂、总 RNA 提取试剂、RNase Free ddH₂O、miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒、miRcute miRNA 荧光定量 PCR(SYBR Green)检测试剂盒,均购自天根公司,下游引物是由 miR-cute miRNA 荧光定量 PCR 检测试剂盒配套的,miR-224-3p 上游引物的目录号为 CD201-0306,miR-16 上游引物的目录号为 CD-0235,均购自天根公司。本实验所采用的仪器 PCR System7500 扩增仪购自美国 ABI 公司,Eppendorf 高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司,超低温冰箱及生物安全柜均购自上海瑞仰公司。

表 1 结直肠癌患者的临床病理资料

项目	组别	n
性别	男	29
	女	21
年龄(岁)	<60	12
	60~70	17
	>70	21
肿块直径大小(cm)	≤4	38
	>4	12
淋巴结转移	有	25
	无	25
TNM 分期	I~II	25
	III	18
	IV	7
	低	9
分化程度	中、高	41
	好	41
预后	差	9
	≤10	35
癌胚抗原(ng/mL)	>10	15

1.4 标本总 RNA 的提取 取 30 mg 组织样本加入 1 mL Trizol(天根公司),进行匀浆处理,按说明书中的操作步骤提取 RNA。血清 250.0 μL 加入 Trizol 750.0 μL 并放在震荡仪上混匀,再按照说明书的操作步骤提取 RNA。选用总 RNA 吸光度(A_{260/280nm})比值在 1.8~2.2 的标本。

1.5 miRNA 3'末端加 Poly(A)处理和逆转录反应 根据天根公司提供的 miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒说明书对 miRNA 3'末端进行 Poly(A)加尾处理。反应的总体积共 20.0 μL,各组分成分分别为 Total RAN 2.0 μL、E. coli Poly(A) Polymerase (5 U/μL) 0.4 μL、10×Polymerase buffer 2.0 μL、5×rATP Solution 4.0 μL、RNase-Free ddH₂O 11.6 μL。轻轻混匀后,进行短暂离心,在 37 °C 反应 60 min。再根据天根

公司提供的说明书对加尾处理后的 miRNA 进行逆转录反应。反应总体积为 20.0 μ L, 各组组成成分分别为 Poly(A) 反应液 2.0 μ L、10 \times RT Primer 2.0 μ L、10 \times RT Buffer 2.0 μ L、Super Pure dNTPs (2.5 mmol/L each) 1.0 μ L、RNasin (40 U/ μ L) 1.0 μ L、Quant RTase 0.5 μ L、RNase-Free ddH₂O 11.5 μ L, 轻摇使之混合后, 进行短时间的离心, 在 37 $^{\circ}$ C 的条件下反应 60 min, 随后将合成的 cDNA 反应液保存于一 20 $^{\circ}$ C 的条件下。

1.6 荧光定量 PCR 按照 miRcute miRNA 荧光定量 PCR 检测试剂盒的说明书进行 miRcute miRNA 荧光定量 PCR 检测试剂的配制, 反应总体积共 20.0 μ L, 各组分分别为 2 \times miRcute miRNA Premix (含 SYBR, 含 ROX) 10.0 μ L、Forward Primer 0.4 μ L (10 μ mol/L)、Reverse Primer (10 μ mol/L) 0.4 μ L、miRNA 第一链 cDNA 2.0 μ L、50 \times ROX Reference Dye 2.0 μ L、ddH₂O 5.2 μ L, 在 PCR System7500 扩增仪上进行循环扩增, 扩增的循环参数为 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 94 $^{\circ}$ C 20 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 共 43 个循环。扩增结束后, 将每个反应管中标本的荧光信道达到阈值时所对应的循环数(Ct 值)记录下列, 用 miR-16 作为内参物^[8]。通过归一化处理目标基因, 以确保样品量与目标基因量的一致性。其结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法^[9] 进行计算分析。用 25 g/L 琼脂糖凝胶对 10.0 μ L 扩增产物进行电泳, 观察电泳效果并拍摄结果。

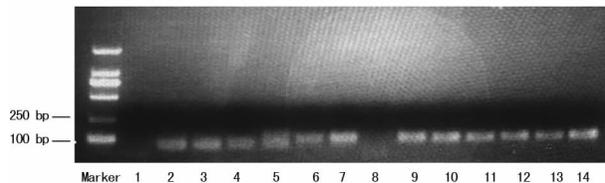
1.7 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计分析。使用单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验法进行正态分布检验, 如果实验数据符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用成组设计的两样本 *t* 检验; 如果实验数据不符合正态性分布, 以中位数和四分位数 [$M(P_{25} \sim P_{75})$] 来表达, 进行非参数 Wilcoxon 秩和检验。当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 Graphpad Prism 软件进行数据分析和作图。

2 结 果

2.1 溶解曲线 miR-16 和 miR-224-3p 的溶解曲线均为尖锐的单峰, 出现峰值的温度分为 78.05 $^{\circ}$ C 和 77.91 $^{\circ}$ C。此结果说明该引物具有特异性, 数据可用。

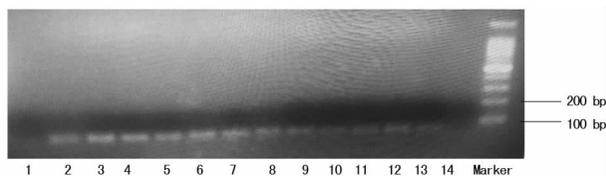
2.2 电泳图 组织和血清中的 miR-16 和 miR-224-3p 经 PCR 扩增仪扩增后的产物在 2.5% 的琼脂糖凝胶中进行电泳, 结果均见到清晰的电泳条带, 表示扩增有结果。miR-16 作为内参分子, 其相对分子质量大小为 79 bp, miR-224-3p 的相对分子质量大小为 80 bp, 大小符合, 见图 1、2。

2.3 miR-16 的 PCR 扩增结果 健康对照组血清 miR-16 的 Ct 值为 30.32 \pm 0.66, 结直肠癌组 miR-16 的 Ct 值为 29.83 \pm 0.59, 符合正态分布, miR-16 在两组中稳定表达, 可作为定量检测 miRNA 的内参基因。



注: 1 表示 miR-224-3p 阴性对照, 2~7 表示 miR-224-3p, 8 表示 miR-16 阴性对照, 9~14 表示 miR-16

图 1 组织中 miR-16 和 miR-224-3p 的电泳图



注: 1 表示 miR-224-3p 阴性对照, 2~7 表示 miR-224-3p, 8~13 表示 miR-16, 14 表示 miR-16 阴性对照

图 2 血清中 miR-16 和 miR-224-3p 电泳图

2.4 血清 miR-224-3p 的相对表达量 健康对照组中血清 miR-224-3p 的 Ct 值为 37.19 \pm 0.97, 结直肠癌组中血清 miR-224-3p 的 Ct 值为 32.97 \pm 0.68, 血清 miR-224-3p 在结直肠癌组中的相对表达量确实增长。对其结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行计算分析, 用 [$M(P_{25} \sim P_{75})$] 来表达血清 miR-224-3p 的相对表达水平, 进行非参数 Wilcoxon 秩和检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 血清 miR-224-3p 在结直肠癌组和健康对照组中的表达有差异。见表 2、图 3。

表 2 血清 miR-224-3p 在健康对照组和结直肠癌组中相对表达量的比较 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	n	相对表达水平	P
健康对照组	44	1.04(0.80~1.40)	<0.05
结直肠癌组	50	2.01(0.92~3.05)	

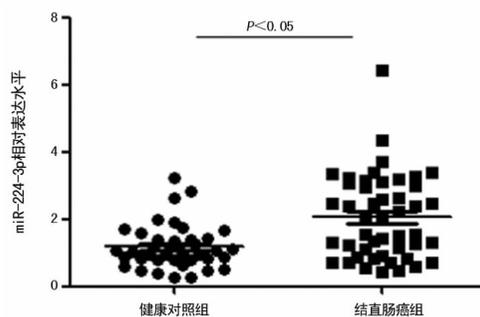


图 3 血清 miR-224-3p 在健康对照组和结直肠癌中相对表达水平的比较散点图

2.5 血清 miR-224-3p 的相对表达水平与结直肠癌患者各临床病理学的关系 血清 miR-224-3p 的相对表达水平在结直肠癌患者的性别、年龄、肿块大小、淋巴结是否转移、TNM 分期、癌症的分化程度中, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 即血清 miR-224-3p 的相对表达水平与结直肠癌患者的性别、年龄、肿块大小、淋巴结是否转移、TNM 分期、癌症的分化程度没有关

系。而在不同预后情况以及与癌胚抗原表达水平中, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 血清 miR-224-3p 的相对表达水平与各临床病理学的关系 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

项目	组别	相对表达水平	P
性别	男	2.22(0.82~3.10)	>0.05
	女	1.77(1.26~2.99)	
年龄(岁)	<60	2.38(1.30~3.05)	>0.05
	60~70	2.34(1.15~3.18)	
	>70	1.39(0.75~2.56)	
肿块直径大小	≤4	2.13(0.97~3.13)	>0.05
	>4	1.53(0.83~2.96)	
淋巴结转移	有	2.38(0.72~3.10)	>0.05
	无	1.53(1.13~2.91)	
TNM 分期	I~II	1.53(1.13~2.91)	>0.05
	III	2.46(1.01~3.19)	
	IV	1.47(0.68~2.59)	
分化程度	低	1.52(1.04~2.22)	>0.05
	中高	2.30(0.83~3.12)	
预后	好	2.38(1.15~3.16)	<0.05
	差	1.04(0.60~2.18)	
癌胚抗原(ng/mL)	≤10	1.47(0.84~2.56)	<0.05
	>10	2.96(2.22~3.39)	

3 讨 论

癌胚抗原检测、粪便隐血试验在临床上广泛用于消化道肿瘤的诊断,但其存在灵敏度低、易受其他非特异性疾病影响等缺点,其检测灵敏度和特异度均低。而结肠镜检测虽然是结肠癌检测的金标准,但患者承受的痛苦大,普遍接受度低,难以广泛开展,血清检测 miRNA 是一种新型的非侵入筛查试验,对于检测结肠癌具有显著意义^[10]。有大量研究表明,抑癌基因的抑制和癌基因的激活对结肠癌的发生、发展有密切关系,而血清 miR-224-3p 在结肠癌患者中所扮演的角色是充当癌基因的作用,能促进结肠癌的发生、发展^[11]。查阅文献可知,高表达的 miR-224 通过抑制 PHLPP1 和 PHLPP2 来促进细胞的增殖和肿瘤的生长^[12]。miR-224 可以与 PHLPP1 和 PHLPP2 基因的 mRNA 的 3' UTR 结合,从而抑制 PHLPP1 和 PHLPP2 基因的表达,由于高表达的 PHLPP1 和 PHLPP2 对 miR-224 介导的磷酸化的 AKT 和 FOXO3a 通路可产生抑制,同时阻止 miR-224 对细胞周期调控因子 P21、P27 以及细胞周期蛋白 D1 的调控^[13-14],因此,miR-224 抑制了 PHLPP1 和 PHLPP2 基因的表达,调控细胞周期,使细胞发生癌变。Maspin 基因在肿瘤转移中起抑制作用,但 miR-224 可以抑制 Maspin 基因来促进肿瘤细胞的转移^[13]。miR-224 也可以通过促进 KRAS 基因^[14]、抑制 SMAD4 基因^[15]来促进肿瘤细胞的生长。因此,miR-224 可促进肿瘤细胞的生长、发育、繁殖和转移。

本实验采用荧光定量 PCR 检测苏州市立医院本部结肠癌患者的住院血清标本共 50 例,健康者血清共 44 例,研究发现血清 miR-224-3p 的相对表达水平在健康对照组和结肠癌组差异有统计学意义($P < 0.05$),在结肠癌血清中的表达水平约为健康对照组的 2 倍,提示 miR-224-3p 在结肠癌患者的血清中呈高表达,这与 LI 等^[16]报道相符。miR-224-3p 在结肠癌患者的表达水平高于健康对照组,提示今后可通过检测血清 miR-224-3p 的表达水平对结肠癌患者进行辅助诊断。

对结肠癌患者的具体病理参数进行进一步分析发现,miR-224-3p 在结肠癌患者中的表达水平与性别、年龄、肿块大小、淋巴结是否转移、TNM 分期和分化程度均无关,与患者癌胚抗原水平有关。本实验中发现,在不同的癌胚抗原水平组中,血清 miR-224-3p 的表达水平有差异($P < 0.05$),患者癌胚抗原水平高,其血清 miR-224-3p 的表达水平也高,所以,可将 miR-224-3p 和癌胚抗原联合检测,弥补癌胚抗原检测时的缺陷,以提高诊断的准确性。miR-224-3p 有望成为评估结肠癌的重要指标。

本实验研究还发现,血清 miR-224-3p 在不同预后组中的表达有显著性差异($P < 0.05$),miR-224-3p 在预后好的相对表达水平是预后差的 2 倍多,但是查阅文献均得知 miR-224-3p 相当于癌基因的作用^[6],其表达上调^[17],与本实验在不同预后组中表达水平相反,推测原因可能是预后差的结肠癌患者血清中有干扰 miR-224-3p 活性的物质。因此,在下一步课题研究中,笔者将进一步扩大样本量,探讨 miR-224-3p 在结肠癌患者预后判断中的作用。在本研究中并未涉及 miR-224-3p 的调控机制,在之后的实验中有待更深入的研究。

4 结 论

本研究发现,血清 miR-224-3p 在结肠癌患者的血清中呈高表达,可用于结肠癌患者的辅助诊断,减少患者筛查结肠癌的痛苦,与癌胚抗原联合检测,可弥补癌胚抗原筛查结肠癌时的灵敏度低和特异度低的缺陷,以提高诊断结肠癌的准确性。同时,血清 miR-224-3p 可用于结肠癌患者的预后判断。

参考文献

- [1] 王锡山. 中美结肠癌流行病学特征及防治策略的对比分析[J/CD]. 中华结肠疾病电子杂志, 2017, 6(6): 447-453.
- [2] LI X, ZHAO C, SU C, et al. Epidemiological study of HER-2 mutations among EGFR wild-type lung adenocarcinoma patients in China[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 828.
- [3] LEE R C, FEINBAUM R L, AMBROS V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with anti-

sense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993, 75 (5): 843.

[4] SLATTERY M L, HERRICK J S, MULLANY L E, et al. An evaluation and replication of miRNA s with disease stage and colorectal cancer-specific mortality [J]. Int J Cancer, 2015, 137(2): 428-438.

[5] 赖晓宁, 左新. 结直肠癌中 miRNA 功能及临床价值研究进展 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(8): 975-978.

[6] GAO S, ZHAO Z Y, WU R, et al. Prognostic value of microRNAs in colorectal cancer: a meta-analysis [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10(10): 907-929.

[7] 韩安家, 黄艳, 来茂德. 肿瘤病理诊断规范 (结直肠癌) [J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(12): 822-824.

[8] YORUKER E E, TERZIOGLU D, TEKSOZ S, et al. MicroRNA expression profiles in papillary thyroid carcinoma, benign thyroid nodules and healthy controls [J]. J Cancer, 2016, 7(7): 803-809.

[9] MAHANTY A, PUROHIT G K, MOHANTY S, et al. Suitable reference gene for quantitative real-time PCR analysis of gene expression in gonadal tissues of minnow *Puntius sophore* under high-temperature stress [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 617.

[10] 尹杰, 白志刚, 蔡军, 等. 结直肠癌转移相关 microRNA 探讨 [J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(24): 2017-2021.

[11] TONG F, YING Y, PAN H, et al. MicroRNA-466 (miR-466) functions as a tumor suppressor and prognostic fac-

tor in colorectal cancer (CRC) [J]. Bosn J Basic Med Sci, 2018, 18(3): 252-259.

[12] LIAO W T, LI T T, WANG Z G, et al. MicroRNA-224 promotes cell proliferation and tumor growth in human colorectal cancer by repressing PHLPP1 and PHLPP2 [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(17): 4662-4672.

[13] 胡秀秀, 孙慧玲, 潘玉琴. microRNA 在结直肠癌诊断、治疗及预后中的研究进展 [J]. 临床检验杂志, 2017, 35(8): 624-627.

[14] AMANKWATIA E B, CHAKRAVARTY P, CAREY F A, et al. MicroRNA-224 is associated with colorectal cancer progression and response to 5-fluorouracil-based chemotherapy by KRAS-dependent and-independent mechanisms [J]. Br J Cancer, 2015, 112(9): 1480-1490.

[15] CHANGHAO T S, BEHREN A, CEBON J, et al. The role of circulating microRNA in hepatocellular carcinoma [J]. Front Biosci, 2015, 20(1): 78-104.

[16] LI T, LAI Q, WANG S, et al. MicroRNA-224 sustains Wnt/ β -catenin signaling and promotes aggressive phenotype of colorectal cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35(1): 1-11.

[17] 骆成玉, 杨盛, 季晓昕, 等. 结直肠癌肝转移特定基因 miRNA 芯片甄别 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(15): 1165-1167.

(收稿日期: 2018-12-26 修回日期: 2019-03-04)

(上接第 1547 页)

dictors of poor coronary collateral development in patients with stable coronary artery disease: neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelets [J]. Anatol J Cardiol, 2015, 15 (3): 218-223.

[2] KURTUL S, SARLI B, BAKTIR A O, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio predicts SYNTAX score in patients with non-ST segment elevation myocardial infarction [J]. Int Heart J, 2015, 56(1): 18-21.

[3] CHO H, HUR H W, KIM S W, et al. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio is elevated in epithelial ovarian cancer and predicts survival after treatment [J]. Cancer Immunol Immunother, 2009, 58(1): 15-23.

[4] OKYAY G U, INAL S, ONEC K, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio in evaluation of inflammation in patients with chronic kidney disease [J]. Ren Fail, 2013, 35(1): 29-36.

[5] AZAB B, DAOUD J, NAEEM FB, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictor of worsening renal function in diabetic patients (3-year follow-up study) [J]. Ren Fail, 2012, 34(5): 571-576.

[6] KOCYIGIT I, EROGLU E, UNAL A, et al. Role of neutrophil/lymphocyte ratio in prediction of disease progression in patients with stage-4 chronic kidney disease [J]. J Nephrol, 2013, 26(2): 358-365.

[7] 张耀平. 尿清蛋白排泄率和肾小球滤过率在早期糖尿病肾病的诊断价值 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2006, 33

(11): 1294-1295.

[8] 赵锐, 孟祥东, 靳蕊霞. 中性粒细胞/淋巴细胞比值与 2 型糖尿病肾病的相关性探讨 [J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(19): 101-105.

[9] 敖小凤. 中性粒细胞与淋巴细胞绝对值比值和糖尿病肾病合并肾功能损伤的相关性研究 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 25(9): 708-711.

[10] 刘志红, 黎磊石. 糖尿病肾病发病机理 [J]. 中华肾脏病杂志, 1999, 15(2): 51-54.

[11] 黄婉静, 刘清杏, 廖永康, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值在早期糖尿病肾病患者中的变化及意义 [J]. 天津医药, 2015, 43(2): 214-216.

[12] 刘曙艳, 陈洁, 史云霞. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值与 MAL、ACR 联合检测 2 型糖尿病肾病患者的临床意义 [J]. 实用临床医学, 2017, 18(9): 4-6.

[13] 任焕欣, 刘佳, 吴晓明, 等. 外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值与 2 型糖尿病肾病的相关性研究 [J]. 中国医学创新, 2015, 12(35): 9-12.

[14] 冯然, 刘涛, 刘静芹. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值与糖尿病肾病的关系 [J]. 山西医科大学学报, 2016, 47(4): 356-359.

[15] 徐小群, 钟兴, 潘天荣. 中性粒细胞/淋巴细胞比值与新诊断早期糖尿病肾病的相关性研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(7): 598-600.

(收稿日期: 2019-01-22 修回日期: 2019-03-30)