

· 论 著 ·

探讨血清 lncRNA 联合检测 CEA、CA724、CA199 在胃癌诊断中的临床意义*

吴雯婷, 陈 惠, 刘 毅, 荣婷婷, 沈立松[△]

上海交通大学医学院附属新华医院检验科, 上海 200092

摘要:目的 探讨血清长链非编码 RNA (lncRNA) FOXD2-AS1、含铜胺氧化酶 4 的假基因 (AOC4P) 的相对表达水平, 以及与肿瘤标志物癌胚抗原 (CEA)、糖类抗原 (CA) 199、CA724 的联合检测在胃癌 (GC) 诊断中的临床应用价值。**方法** 收集该院 80 例 GC 患者和 85 例年龄相仿的体检健康者的血清以及 16 组 GC 组织与癌旁组织。利用 TCGA 数据库分析 FOXD2-AS1 在 GC 及癌旁组织中的表达; 应用实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 方法检测组织 AOC4P, 以及血清 FOXD2-AS1、AOC4P 的相对表达量; 化学发光法检测血清 CEA、CA199、CA724 的水平。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线评价 FOXD2-AS1、AOC4P 单独诊断以及其与 CEA、CA199、CA724 联合检测对 GC 的诊断效能。**结果** 初诊 GC 患者血清 FOXD2-AS1、AOC4P 相对表达量升高, 且显著高于健康对照者, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。ROC 曲线分析结果显示, FOXD2-AS1、AOC4P、CEA、CA199 和 CA724 的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.879、0.856、0.699、0.654 和 0.626, 其灵敏度分别为 90.38%、84.62%、40.38%、32.69% 和 67.31%, 特异度分别为 74.51%、76.47%、80.39%、96.08% 和 56.86%。血清 FOXD2-AS1、AOC4P 分别与 CEA、CA199、CA724 联合诊断 GC 时的 AUC 为 0.917 和 0.876; 其灵敏度分别为 94.23% 和 74.51%; 特异度分别为 75.00% 和 84.31%。**结论** 血清 FOXD2-AS1、AOC4P 在 GC 患者血清中高表达, 可作为 GC 辅助诊断的一项潜在检测指标, 且 FOXD2-AS1 与 CEA、CA199 和 CA724 联合检测可提高对 GC 的诊断效能。

关键词: 胃癌; 长链非编码 RNA; 肿瘤标志物; 联合检测**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.05.004**中图法分类号:** R735.2**文章编号:** 1673-4130(2022)05-0528-06**文献标志码:** A

The clinical significance of serum long noncoding RNA joint detection of CEA, CA724 and CA199 in the diagnosis of gastric cancer*

WU Wenting, CHEN Hui, LIU Yi, RONG Tingting, SHEN Lisong[△]Department of Clinical Laboratory, Xinhua Hospital Affiliated to Medical College
of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200092, China

Abstract: Objective To investigate the clinical application value of long non-coding RNA (lncRNA) FOXD2-AS1, AOC4P and combined detection of tumor marker carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen (CA) 199 and CA724 in gastric cancer (GC) diagnosis. **Methods** Collected 16 pairs of GC and adjacent tissues and 80 serum samples from patients with GC and 85 serum samples from healthy persons of similar age at Xinhua Hospital Affiliated with Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. The expression of FOXD2-AS1 in GC and adjacent tissues was analyzed by TCGA array library; the relative expression of tissue AOC4P were detected by real-time quantitative PCR; the relative expression of serum FOXD2-AS1 and AOC4P was detected by real-time quantitative PCR; the levels of serum CEA, CA199, and CA724 were detected by chemical luminescence method. The results of FOXD2-AS1, AOC4P diagnosis and their joint detection with CEA, CA199 and CA724 were evaluated by using the receiver operating characteristic (ROC) curve to evaluate the diagnostic efficacy of stomach cancer. **Results** The relative expression of serum FOXD2-AS1 and AOC4P in patients with primary GC increased and was significantly higher than that of healthy control, the

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81874152)。

作者简介: 吴雯婷, 女, 主管技师, 主要从事分子病毒方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: lisongshen@hotmail.com。

本文引用格式: 吴雯婷, 陈惠, 刘毅, 等. 探讨血清 lncRNA 联合检测 CEA、CA724、CA199 在胃癌诊断中的临床意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(5): 528-533.

difference was statistically significant ($P < 0.01$). The results of ROC curve analysis show that the area under the curve (AUC) of FOXD2-AS1, AOC4P, CEA, CA199 and CA724 were 0.879, 0.856, 0.699, 0.654 and 0.626; the sensitivity were 90.38%, 84.62%, 40.38%, 32.69% and 67.31%; the specificity were 74.51%, 76.47%, 80.39%, 96.08% and 56.86%. The AUC of serum FOXD2-AS1 and AOC4P combined with CEA, CA199 and CA724 to diagnose GC were 0.917 and 0.876; the sensitivity were 94.23% and 75.41%; the specificity were 74.51% and 84.31%. **Conclusion** Serum FOXD2-AS1 and AOC4P are highly expressed in the serum of GC patients and can be used as a potential detection index for GC-assisted diagnosis, and FOXD2-AS1 combined testing with CEA, CA199 and CA724 can improve the diagnostic efficiency of GC.

Key words: gastric cancer; long non-coding RNA; tumor marker; combined detection

胃癌(GC)是消化道最常见的恶性肿瘤之一。近期,世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)发布的全球最新癌症数据显示,2020 年全球恶性肿瘤发病率 GC 排名第五,死亡率排名第四^[1]。在我国,GC 的发病率与死亡率仅次于肺癌,位居第二^[2]。目前,GC 的诊断依赖于内窥镜检查、病理检查和血清肿瘤标志物,主要包括癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA)199、CA724、CA50 等检测。内窥镜和病理检查虽然是 GC 诊断的金标准,但是由于其取材困难和患者痛苦较大,且血清肿瘤标志物的灵敏度与特异度不高,因此需要优化 GC 的诊断策略与检测手段。

长链非编码 RNA(lncRNA)为不编码蛋白质的 RNA,其长度超过 200 个核苷酸^[3]。通过大量研究发现,lncRNA 在 GC、肝癌、乳腺癌、宫颈癌等多种肿瘤中都有表达失调的现象^[4-6]。有研究报道,FOXD2-AS1、含铜胺氧化酶 4 的假基因(AOC4P)在多种癌症中如鼻咽癌(NC)、肝细胞癌(HCC)、GC 等都可以升高。目前尚鲜见有关其在 GC 血清中表达的报道。本实验通过检测 GC 患者和健康对照者血清 FOXD2-AS1、AOC4P 以及肿瘤标志物 CEA、CA199、CA724 的表达水平,比较其差异,探讨血清 FOXD2-AS1、AOC4P 及其与 CEA、CA199、CA724 联合检测对 GC 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 12 月至 2020 年 5 月在本院住院治疗的经组织病理学确诊的 GC 患者 80 例作为研究对象,其中男 46 例,女 34 例,平均年龄(63.56±11.60)岁,并根据 AJCC 第八版进行 TNM 分期。纳入标准:(1)GC 患者经病理确诊;(2)入院时为初诊 GC 患者,且术前均未接受放、化疗治疗。另外选取在本院进行健康体检的体检健康者 85 例作为对照者,其中男 42 例,女 43 例,平均年龄(56.68±12.15)岁。

1.2 仪器与试剂 血清总 RNA 提取试剂(德国 QIAGEN 公司);逆转录试剂(Takara 公司);PCR 扩增试剂(上海 YEASEN 公司)。QuantStudio™ Dx 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);NanoDrop 2000 分光光度计(美国 THERMO 公司);Cobas 8000 全自

动化学发光仪(瑞士 Roche 公司);细胞培养箱(Revco);无菌超净台(Labconco);细胞培养液(DMEM, Hyclone, USA);胎牛血清(FBS, Gibco, USA)。

1.3 方法 标本的采集及处理:采集所有研究对象外周静脉血 3 mL,4 000 r/min 离心 5 min,将血清置于 RNase-free 的 Eppendorf 管中,-80 °C 冻存备用。

血清 RNA 的抽提:使用血清总 RNA 提取试剂(德国 QIAGEN 公司)提取血清 RNA,使用 NanoDrop 2000 分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度,选取(A)值(A_{260}/A_{280})在 1.68~2.00 的样本用于后续实验。

RNA 的逆转录反应:根据逆转录试剂(Takara 公司)说明书配置 20 μL 的反应体系进行逆转录反应,反应条件为 37 °C 15 min,85 °C 5 s。合成的 cDNA 放-80 °C 冰箱冻存。

引物设计与合成:lncRNA RNU1 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物由生工生物工程(上海)股份有限公司进行合成。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

lncRNA	引物序列(5'-3')
RNU1	上游引物: TAC TTA CCT GGC AGG GGA GAT AC 下游引物: GAA CGC AGT CCC CCA CTA C
GAPDH	上游引物: GAC AGT CAG CCG CAT CTT CT 下游引物: GCG CCC AAT ACG ACC AAA TC
FOXD2-AS1	上游引物: TGC ATC CTG TGT CCT GTG TC 下游引物: CAG TCA CAG ACC CTC AAC CC
AOC4P	上游引物: AGT TTC AGA GCA CAC CCT GG 下游引物: CTC TGC CAG GAT GCC TTA CC

实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR):使用 QuantStudio™ Dx 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增,按照 Hieff qPCR SYBR Green Master Mix (High Rox Plus)(上海 YEASEN 公司)试剂说明书进行反应体系的配置。反应体系如下:SYBER Green Master Mix 5 μL,上、下游引物(10 μmol/L)0.2 μL,cDNA 模板 1 μL,无菌超净水 3.8 μL,共 10 μL。反应条件如下:95 °C 30 s;95 °C 5 s;60 °C 34 s,40 个循

环。所有实验重复 3 次,结果取其均值。通过熔解曲线评估扩增产物的特异度。应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算血清 lncRNA 相对表达量。

血清 CEA、CA199、CA724 检测:使用 Cobas 8000 全自动电化学发光分析仪(瑞士 Roche 公司)及其配套试剂对入组 GC 患者及健康对照者血清检测 CEA、CA199、CA724 的水平。

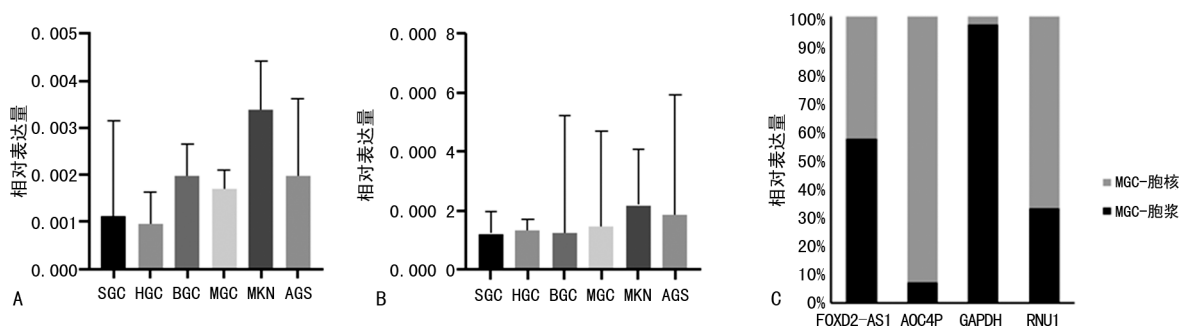
1.4 统计学处理 使用 SPSS21.0、Medcalc Version 15.22 和 Graphpad Prism 8.0 统计学软件进行数据分析。正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较使用独立样本 *t* 检验;非正态分布的资料采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,两组间比较用 Mann-Whitney *U* 检验。通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估各指标单独及联合诊断 GC 的效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FOXD2-AS1、AOC4P 在细胞株中的表达及定位情况 FOXD2-AS1、AOC4P 在 6 种不同 GC 细胞株中 (BGC-823、SGC-7901、MGC-803、HGC-27、

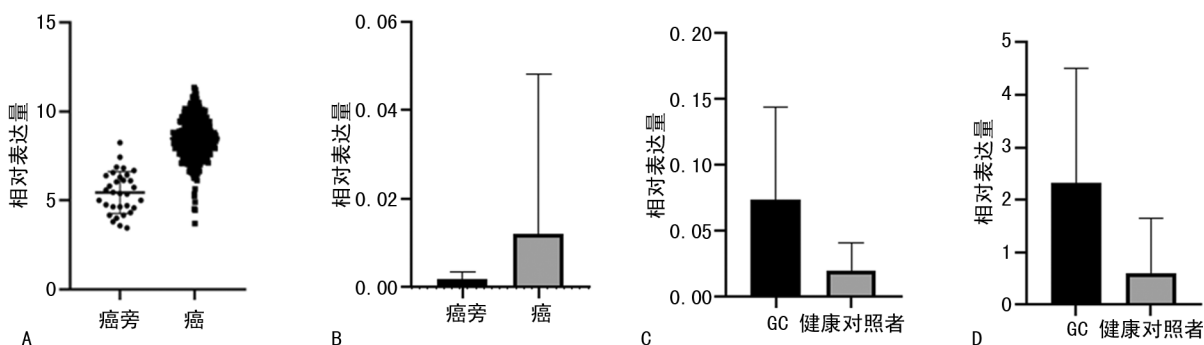
MKN-45、AGS) 中均有表达,表明 FOXD2-AS1、AOC4P 可以作为 GC 诊断的潜在生物学标志。同时本研究进一步检测了这两种 lncRNA 在 GC 细胞株 MGC-803 的定位情况,实验发现 FOXD2-AS1 更多是在细胞质中表达,而 AOC4P 更多是在细胞核中。见图 1。

2.2 GC 组织与癌旁组织、GC 患者与健康对照者 lncRNA 的表达差异 TCGA 数据库显示,FOXD2-AS1 在 GC 中明显增高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 4。另对 16 组 GC 组织及癌旁组织的 AOC4P 进行检测,结果显示 AOC4P 在 GC 中明显增高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。对 52 例初诊 GC 患者、51 例健康对照者血清 FOXD2-AS1、AOC4P 进行检测,FOXD2-AS1 的相对表达量分别为 0.054 (0.033~0.085)和 0.015 (0.005~0.027);AOC4P 的相对表达量分别为 1.470 (0.987~3.472)和 0.093 (0.030~0.677)。GC 初诊患者血清 FOXD2-AS1 ($Z = -6.636, P < 0.01$)、AOC4P ($Z = -6.227, P < 0.01$)的相对表达量明显高于健康对照者。见图 2。



注:A为 FOXD2-AS1 在不同细胞株中的表达;B为 AOC4P 在不同细胞株中的表达;C为 FOXD2-AS1、AOC4P 在细胞质和细胞核中的表达。

图 1 FOXD2-AS1、AOC4P 在细胞株中的表达及定位情况



注:A为 TCGA 中 FOXD2-AS1 在 GC 组织及癌旁组织中的表达;B为 AOC4P 在 GC 组织及癌旁组织中的表达;C为 FOXD2-AS1 在 GC 及健康对照者中的表达;D为 AOC4P 在 GC 及健康对照者中的表达。

图 2 GC 组织与癌旁组织、GC 患者与健康对照者 lncRNA 的表达差异

2.3 GC 患者和健康对照者 CEA、CA199 和 CA724 的表达差异 对 52 例初诊 GC 患者、83 例健康对照者血清肿瘤标志物进行检测,发现差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

2.4 血清 FOXD2-AS1、AOC4P 的相对表达量对 GC

的诊断效能 ROC 曲线分析结果显示,FOXD2-AS1、AOC4P、CEA、CA199 和 CA724 的曲线下面积 (AUC) 别为 0.879、0.856、0.699、0.654 和 0.626;其灵敏度分别为 90.38%、84.62%、40.38%、32.69% 和 67.31%,特异度分别为 74.51%、76.47%、80.39%、

96.08%和 56.86%。见图 3。

2.5 血清 FOXD2-AS1、AOC4P 相对表达量与 CEA、CA199、CA724 联合诊断对 GC 的诊断效能
 通过检测初诊 GC 患者血清 FOXD2-AS1、AOC4P 的相对表达量和 CEA、CA199、CA724 的浓度,分别计算 FOXD2-AS1、AOC4P 与 CEA、CA199、CA724 联合诊断的 GC 的灵敏度、特异度。用多元 Logistic 回归模型预测 FOXD2-AS1、CEA、CA199 和 CA724 联合检测诊断 GC 时的 AUC 最高为 0.917,灵敏度和特异度分别为 94.23%和 74.51%,见表 3 及图 4。

表 3 FODX2-AS1、AOC4P、CEA、CA199 及 CA724 的单独或联合诊断效能

项目	AUC	95%CI	临界值	灵敏度(%)	特异度(%)
FODX2-AS1	0.879	0.800~0.935	0.021	90.38	74.51
AOC4P	0.856	0.773~0.917	0.677	84.62	76.47
CEA	0.620	0.519~0.714	2.86 (ng/mL)	40.38	80.39
CA199	0.595	0.493~0.690	21.6 (U/L)	32.69	96.06
CA724	0.634	0.533~0.714	2.1 (U/L)	67.31	56.86
FODX2-AS1+CEA+CA199+CA724	0.917	0.846~0.962	—	94.23	74.51
AOC4P+CEA+CA199+CA724	0.876	0.796~0.932	—	75.00	84.31

注:—表示无数据。

2.6 GC 患者血清 FOXD2-AS1、AOC4P 表达水平与临床病理特征的关系
 分析 GC 患者血清 FOXD2-AS1、AOC4P 的表达与临床病理特征的关系,发现其与年龄、TNM 分期、淋巴结转移均无明显相关性 ($P>0.05$)。结果见表 4 与表 5。

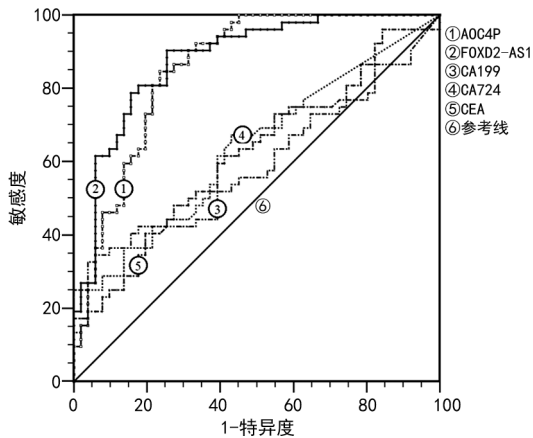


图 3 GC 患者血清 FOXD2、CEA、CA199、CA724 的单独 ROC 曲线分析

表 4 GC 患者 FOXD2-AS1 表达水平与病理特征的关系

临床病理特征	n	FOXD2-AS1 [M(P ₂₅ ~P ₇₅)]	检验值	P
年龄(岁)			-0.456	0.684
<60	15	0.053(0.032~0.071)		

表 2 GC 患者和健康对照者 CEA、CA199 和 CA724 的表达差异

肿瘤标志物	M(P ₂₅ ~P ₇₅)	P
CEA(ng/mL)	2.585(1.655~3.418)*	0.002
	1.850(1.240~3.418)**	
CA199(U/L)	11.050(6.598~27.980)*	0.038
	9.390(6.325~13.250)**	
CA724(U/L)	2.625(1.523~6.298)*	0.011
	1.850(1.500~3.143)**	

注:*为 GC 患者,**为健康对照者。

续表 4 GC 患者 FOXD2-AS1 表达水平与病理特征的关系

临床病理特征	n	FOXD2-AS1 [M(P ₂₅ ~P ₇₅)]	检验值	P
≥60	37	0.054(0.038~0.086)		
TNM 分期			-0.150	0.880
I~II	32	0.053(0.038~0.080)		
III~IV	20	0.060(0.022~0.097)		
淋巴结转移			-0.416	0.677
无	16	0.056(0.040~0.070)		
有	36	0.054(0.032~0.086)		

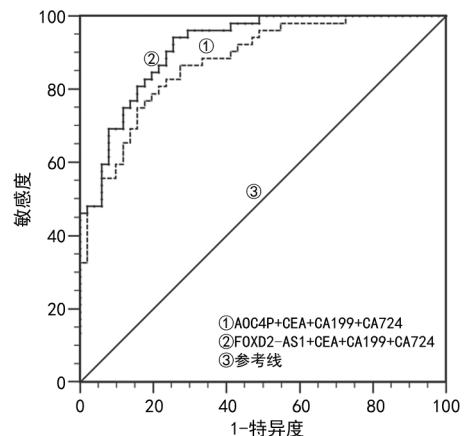


图 4 FOXD2-AS1、AOC4P 与 CEA、CA199、CA724 联合诊断的 ROC 曲线

表 5 GC 患者 AOC4P 表达水平与病理特征的关系

临床病理特征	n	FOXD2-AS1 [M(P ₂₅ ~P ₇₅)]	检验值	P
年龄(岁)			-0.838	0.402
<60	15	1.288(0.625~3.610)		
≥60	37	2.005(1.010~3.407)		
TNM 分期			-1.464	0.143
I~II	32	1.449(0.862~2.387)		
III~IV	20	2.181(1.028~4.704)		
淋巴结转移			-0.040	0.968
无	16	1.726(1.120~2.442)		
有	36	1.471(0.966~3.693)		

3 讨 论

GC 是起源于胃黏膜上皮细胞的恶性肿瘤,由于 GC 早期症状隐匿,缺乏比较可靠的早期诊断标志物。目前我国临床诊断 GC 仍依赖于内窥镜、病理检查以及血清肿瘤标志物的检测,但血清肿瘤标志物灵敏度和特异度不高,内窥镜筛查率低,导致多数患者在确诊时已经处于中晚期,其 5 年存活率仅 25.00%^[7]。因此,深入研究 GC 的发病机制和探索新型分子生物学标志物对 GC 的早期诊断及治疗有重要意义。

有研究发现,lncRNA 可以通过调控肿瘤相关基因的产生、转录水平和转录后水平等方面,最终影响 GC 细胞的增殖、分化、凋亡、侵袭和转移等^[8]。血液样本因其易获得且低侵袭性等优点被视为更理想的检测样本,可用于检测各项指标从而能够早期发现癌症并对患者进行预后预测^[9-10]。有报道证实,外周血中 lncRNAs 性质稳定,表达水平不受外源性 RNA 酶和温度改变的影响^[11-12]。

AOC4P 是长度为 2 073 bp 的 lnc RNA,目前为止 AOC4P 的功能只在结肠癌和肝细胞癌中进行了研究^[13-14]。在结肠癌中,AOC4P(也称为 UPAT)在高致肿瘤结肠癌细胞中通过调节蛋白质的普及和降解参与癌细胞的表观遗传调节^[14]。在肝癌中,AOC4P 表达降低是疾病预后不良的因素之一,可以作为肝癌的独立预后因子^[15]。目前尚未见 AOC4P 在血清中的表达与 GC 相关性的研究。而本研究通过实验发现 AOC4P 在不同 GC 细胞株中均可表达,表明 AOC4P 可以作为 GC 诊断的潜在生物学标志物。本研究还通过实验发现 AOC4P 大多是在细胞核中表达,但是血清中 AOC4P 的表达并不低。AOC4P 可能通过外泌体释放入细胞外和体液中。有研究发现,外泌体可以帮助细胞核中的 lncRNA 释放入外周循环^[16]。转移是一个多步骤的过程,包括肿瘤细胞侵入原肿瘤部位的局部组织,侵入血液和淋巴血管,以及转移地点的适应和增殖。有证据表明,外泌体参与所有转移过程^[17]。

FOXD2-AS1 位于 1p33 染色体,与癌症的恶化和进展有关。有研究报道,FOXD2-AS1 在几种癌症中如鼻咽癌(NC)、肝细胞癌(HCC)、GC 等都可以升高^[18-20]。然而,FOXD2-AS1 表达与癌症临床病理特征之间的关联仍然具有争议性。XU 等^[20]发现 FOXD2-AS1 表达与肿瘤大小、TNM 阶段和淋巴转移有关,但与性别、年龄的差异无关。SU 等^[21]报告说,高 FOXD2-AS1 表达与淋巴结转移和分化无关。本实验结果显示 FOXD2-AS1 与年龄、TNM 分期和淋巴结转移无关,与上述研究结果相符。但是本课题研究的是血清中的 FOXD2-AS1 的表达,与组织中的 FOXD2-AS1 研究结果可能不一致。并且由于标本量小,因此需要扩大标本量深入探讨 FOXD2-AS1 和 AOC4P 与临床病理特征之间的关系。

本研究发现,GC 初诊患者血清中 FOXD2-AS1 和 AOC4P 的相对表达量明显高于健康对照者,说明二者对诊断 GC 有明显的临床价值。

另外,本研究通过 ROC 曲线分析,结果显示 FOXD2-AS1 和 AOC4P 的曲线下面积 AUC 别为 0.879 和 0.856,而单独检测 CEA、CA199、CA724 的曲线下面积仅为 0.620、0.595 和 0.634,说明 lncRNA 相比较传统的肿瘤标志物能更好地作为区别 GC 患者与健康人群及对照人群的指标。本研究还分别分析了 FOXD2-AS1 与 AOC4P 与 CEA、CA19-9、CA724 联合检测的诊断价值,结果发现 FOXD2-AS1 与 CEA、CA199、CA724 联合检测时 AUC(0.917)、灵敏度(94.23%)最高,并且与单独检测各项目 AUC 相比差异有统计学意义。

本研究结果显示血清中 FOXD2-AS1、AOC4P 的表达水平可作为辅助 GC 诊断的良好指标,且 FOXD2-AS1 与 CEA、CA199 和 CA724 联合检测可提高对 GC 的诊断效能。但由于其致病机制尚不明确,且本研究病例数量较少,因此需要更大临床样本研究进一步证明。

参考文献

- [1] WHO. World cancer report: cancer research for cancer prevention[S]. World Health Organization, 2020.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] WANG D, LI T, YE G, et al. Overexpression of the Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) is associated with poor prognosis in gastric cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122697.
- [4] BHAN A, SOLEIMANI M, MANDAL S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. Cancer Res, 2017, 77(15): 3965-3981.

- [5] QU X, ALSAGER S, ZHUO Y, et al. HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) in cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 454: 90-97.
- [6] 周青, 张瑞金, 刘帅妹, 等. 宫颈癌发生相关 LncRNA 的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(19): 42-45.
- [7] HAMASHIMA C. Current issues and future perspectives of gastric cancer screening [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(38): 13767-13774.
- [8] SUN W, YANG Y, XU C, et al. Roles of long noncoding RNAs in gastric cancer and their clinical applications [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142(11): 2231-2237.
- [9] 唐锦莉, 严枫, 王晓明, 等. 血浆 miR-199a-5p 与 miR-200c-3p 在胃癌瘤中的临床应用 [J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(6): 402-406.
- [10] 卢美红, 施维, 丛辉, 等. 乳腺癌患者血浆中 miR-127-3p 表达的临床价值 [J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(10): 682-685.
- [11] TONG Y S, WANG X W, ZHOU X L, et al. Identification of the long non-coding RNA POU3F3 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 3.
- [12] ZHOU X, YIN C, DANG Y, et al. Identification of the long non-coding RNA H19 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11516.
- [13] WANG T H, LIN Y S, CHEN Y, et al. Long non-coding RNA AOC4P suppresses hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing vimentin degradation and inhibiting epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 23342-23357.
- [14] TANIUE K, KURIMOTO A, SUGIMASA H, et al. Long noncoding RNA UPAT promotes colon tumorigenesis by inhibiting degradation of UHRF1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(5): 1273-1278.
- [15] SCHMITZ S U, GROTE P, HERRMANN B G. Mechanisms of long noncoding RNA function in development and disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(13): 2491-509.
- [16] CHEN C, LUO Y, HE W, et al. Exosomal long noncoding RNA LNMAT2 promotes lymphatic metastasis in bladder cancer [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(1): 404-421.
- [17] BECKER A, THAKUR B K, WEISS J M, et al. Extracellular vesicles in cancer: cell-to-cell mediators of metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(6): 836-848.
- [18] CHEN G, SUN W, HUA X, et al. Long non-coding RNA FOXD2-AS1 aggravates nasopharyngeal carcinoma carcinogenesis by modulating miR-363-5p/S100A1 pathway [J]. *Gene*, 2018, 645: 76-84.
- [19] CHANG Y, ZHANG J, ZHOU C, et al. Long non-coding RNA FOXD2-AS1 plays an oncogenic role in hepatocellular carcinoma by targeting miR 206 [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3625-3634.
- [20] XU T P, WANG W Y, MA P, et al. Upregulation of the long noncoding RNA FOXD2-AS1 promotes carcinogenesis by epigenetically silencing EphB3 through EZH2 and LSD1, and predicts poor prognosis in gastric cancer [J]. *Oncogene*, 2018, 37(36): 5020-5036.
- [21] SU F, HE W, CHEN C, et al. The long non-coding RNA FOXD2-AS1 promotes bladder cancer progression and recurrence through a positive feedback loop with Akt and E2F1 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 233.

(收稿日期: 2021-04-06 修回日期: 2021-11-08)

(上接第 527 页)

- [2] RULE G S, CLARK Z D, YUE B, et al. Correction for isotopic interferences between analyte and internal standard in quantitative mass spectrometry by a nonlinear calibration function [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(8): 3879-3885.
- [3] MEIJA J, PAGLIANO E, MESTER Z. Coordinate swapping in standard addition graphs for analytical chemistry: a simplified path for uncertainty calculation in linear and nonlinear plots [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(17): 8563-8567.
- [4] DE MAN F M, GOEY AKL, VAN S R, et al. Individualization of irinotecan treatment: a review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2018, 57(10): 1229-1254.
- [5] PAGLIANO E, MESTER Z, MEIJA J. Calibration graphs in isotope dilution mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 896: 63-67.
- [6] 中国药理学学会治疗药物监测研究专业委员会. 治疗药物监测工作规范专家共识(2019 版) [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2019, 19(8): 897-898.
- [7] 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证 [J]. *检验医学*, 2019, 34(3): 189-196.
- [8] SAVOIE N, BOOTH B P, BRADLEY T, et al. The 2nd Calibration and Validation Group workshop on recent issues in good laboratory practice bioanalysis [J]. *Bioanalysis*, 2009, 1(1): 19-30.
- [9] 中华医学会检验医学分会, 卫生计生委临床检验中心. 液相色谱-质谱临床应用建议 [J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 40(10): 770-779.
- [10] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(13): 3019-3030.
- [11] SCHOELLER D A. A review of the statistical considerations involved in the treatment of isotope dilution calibration data [J]. *Mass Spectrom*, 1976, 3: 265e271.

(收稿日期: 2021-08-17 修回日期: 2021-11-23)