

论著·临床研究

循环微小 RNA-25-3P 在骨肉瘤诊断和预后评估中的应用价值<sup>▲</sup>郭 钧<sup>1</sup> 刘 铨<sup>2</sup> 周 举<sup>2</sup> 倪 昱<sup>1</sup> 罗 睿<sup>1</sup> 江 宁<sup>2</sup> 隋加红<sup>2</sup>

(1 清华大学第一附属医院骨科,北京市 100016,电子邮箱:yxbjb0052@163.com;

2 中国人民解放军总医院第五医学中心南院区骨科,北京市 100039)

**【摘要】 目的** 探讨循环微小 RNA-25-3P 在骨肉瘤诊断和预后评估中的临床价值。**方法** 选择 74 例骨肉瘤患者作为研究组,57 例健康受试者作为对照组。检测两组研究对象的血清微小 RNA-25-3P 表达水平。采用受试者特征工作曲线评价血清微小 RNA-25-3P 水平诊断骨肉瘤的效能,采用多因素 Cox 回归模型分析骨肉瘤患者预后的影响因素。**结果** 研究组血清微小 RNA-25-3P 相对表达水平为  $1.29 \pm 0.62$ , 低于对照组的  $4.46 \pm 1.37 (P < 0.05)$ 。血清微小 RNA-25-3P 诊断骨肉瘤的最佳截断值为 2.56, 其灵敏度、特异性分别为 0.905、0.982, 曲线下面积为 0.977 ( $P < 0.05$ )。血清微小 RNA-25-3P 相对表达水平是骨肉瘤患者预后的独立影响因素之一, 其  $\geq 1.56$  为骨肉瘤患者术后生存的保护因素 ( $P < 0.05$ )。**结论** 血清微小 RNA-25-3P 水平对骨肉瘤的诊断和预后评估均有一定临床价值, 有望成为诊断骨肉瘤和评估其预后的新标志物。

**【关键词】** 骨肉瘤; 微小核糖核酸; 诊断; 预后; 评估价值**【中图分类号】** R 738.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2019)22-2825-05**DOI:**10.11675/j.issn.0253-4304.2019.22.02**Value of circulating microRNA-25-3P applied to diagnosis and prognostic assessment of osteosarcoma**GUO Jun<sup>1</sup>, LIU Cheng<sup>2</sup>, ZHOU Ju<sup>2</sup>, NI Yu<sup>1</sup>, LUO Rui<sup>1</sup>, JIANG Ning<sup>2</sup>, SUI Jia-hong<sup>2</sup>

(1 Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Tsinghua University, Beijing 100016, China; 2 Department of Orthopedics, South District of the Fifth Medical Center of Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100039, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the clinical value of circulating microRNA(miR)-25-3P in the diagnosis and prognostic assessment of osteosarcoma. **Methods** Seventy-four patients with osteosarcoma were selected as study group, and 57 healthy subjects as control group. The serum miR-25-3P expression level was detected in the subjects of both groups. Receiver operating characteristic curve was applied to evaluating the diagnostic efficacy of serum miR-25-3P level for osteosarcoma, and the influencing factors for prognosis in the osteosarcoma patients was analyzed by multivariate Cox regression model. **Results** The relative expression level of serum miR-25-3P in the study group was lower than that in the control group ( $1.29 \pm 0.62$  vs.  $4.46 \pm 1.37, P < 0.05$ ). For diagnosis of osteosarcoma, the optimal cut-off value of the serum miR-25-3P was 2.56 with sensitivity of 0.905, specificity of 0.982, and the area under curve of 0.977 ( $P < 0.05$ ). The serum miR-25-3P expression level was one of the independent influencing factors for prognosis in the osteosarcoma patients ( $P < 0.05$ ), and the expression level  $\geq 1.56$  was the protective factor for postoperative survival in the osteosarcoma patients. **Conclusion** The serum miR-25-3P level obtains a certain clinical value in the diagnosis and prognostic assessment of osteosarcoma, and is expected to be a new marker for diagnosis and prognostic assessment of osteosarcoma.

**【Key words】** Osteosarcoma, Micro ribonucleic acid, Diagnosis, Prognosis, Assessment value

骨肉瘤是最常见的骨原发性恶性肿瘤,常发生于长骨干骺端和膝盖,多发于青少年,骨肉瘤恶性程度高,早期易发生远处转移<sup>[1]</sup>。随着手术结合新辅助或辅助化疗方案的应用,骨肉瘤 5 年生存率维持在

60%~80%,但局部复发或转移的患者预后较差,5 年生存率不足 30%<sup>[2-3]</sup>,因此,寻找到可靠的评估预后的指标,对指导治疗方案的制订和预测疗效具有重要意义。X 线、CT、正电子发射断层扫描、磁共振

<sup>▲</sup>基金项目:国家自然科学基金(3167080224)

作者简介:郭钧(1971~),男,博士,副主任医师,研究方向:脊柱外科、骨肿瘤、骨创伤。

成像等影像学检查,是诊断骨肉瘤和评估其治疗效果的重要方式,但由于价格昂贵,一般用于疾病的确诊,不用于疾病早期的筛查。AKP 是骨肉瘤已知的血清标志物,但在青少年尤其是儿童中,血清 AKP 水平普遍升高,且器官损伤后也影响其水平,易产生假阳性结果<sup>[4]</sup>,因此,寻找高灵敏度、特异性和微创的骨肉瘤生物标记物,对指导骨肉瘤的治疗具有重要价值<sup>[5]</sup>。近年来,有研究显示,微小 RNA 表达异常是导致恶性肿瘤细胞增殖、分化、凋亡、侵袭和转移的重要因素,活跃的肿瘤细胞可分泌微小 RNA 入血,分析患者血液循环中微小 RNA 水平为癌症筛查或监测提供了新的方式<sup>[6]</sup>。目前,对于骨肉瘤,尚无一致的循环微小 RNA 标志物。本研究通过检测骨肉瘤患者血清微小 RNA-25-3P 的表达水平,初步探讨其对骨肉瘤诊断和预后评估的临床价值。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2013 年 1 月至 2016 年 11 月在中国人民解放军总医院第五医学中心南院区及清华大学第一附属医院就诊的 74 例骨肉瘤患者作为研究组,纳入标准:(1)病理组织学检查确诊为骨肉瘤;(2)发病部位为四肢,首次诊断,既往未行过放疗、化疗等抗肿瘤治疗;(3)患者对研究知情并签署知情同意书。排除标准:(1)合并其他部位恶性肿瘤者;(2)合并严重心、肝、肾功能障碍者;(3)妊娠期、哺乳期女性;(4)合并自体免疫性疾病或接受糖皮质激素治疗者。选取同期在我院接受健康查体的 57 例健康者作为对照组。两组性别、年龄、体质指数等一般资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表 1。本研究通过医院伦理审查批准,患者对本研究知情并签署知情同意书。

表 1 两组一般资料比较

组别	<i>n</i>	男性/女性 ( <i>n</i> )	年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	体质指数 ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )
研究组	74	43/31	18.51 ± 6.32	22.02 ± 2.97
对照组	57	35/22	18.03 ± 7.18	22.42 ± 3.14
$\chi^2(t)$ 值		0.145	0.327	0.189
<i>P</i> 值		0.703	0.681	0.745

1.2 主要仪器和试剂 PCR 基因扩增仪购自西安天隆科技有限公司(型号:DTC 3G plus),荧光定量 PCR 仪购自上海宏石医疗科技有限公司(型号:SLAN-96P),-80℃ 冰箱购自青岛海尔公司(型号:DW-86L388J),台式高速离心机购自上海珂准仪器有限公司(型号:Eppendorf 5427R)。PrimeScript RT reagent kit 购自宝日生物技术(北京)有限公司(批号:RR037A),

TaqMan® MicroRNA Assays 购自美国应用生物系统公司(批号:4365409),LightCycler® 480 Probes Master 购自瑞士罗氏公司(批号:04 707 494 001),Invitrogen™ TRIzol™ LS 试剂盒购自上海恒斐生物科技有限公司(批号:10296010)。

1.3 循环微小 RNA-25-3P 表达水平的检测 抽取两组研究对象清晨空腹静脉血 2 mL,其中研究组在接受术前辅助化疗之前采集标本。使用乙二醇四乙酸二钠进行抗凝,室温下静置 1 h,3 500 r/min 离心 5 min,吸取上层血清置于干燥洁净 EP 管中,-80℃ 低温保存,使用 Invitrogen TRIzol™ LS 试剂盒提取总 RNA,严格按照试剂盒说明书进行操作。采用 PrimeScript RT reagent kit 将提取的 RNA 反转录为 cDNA,严格按照试剂盒说明书进行操作。20 μL 反应体系包括 4.0 μL 总 RNA、2.0 μL 微小 RNA-39 反转录引物、10 μL 反转录缓冲液、1 μL 反转录酶和 3 μL 焦碳酸二乙酯水;反应条件为 37℃ 15 min,85℃ 5 s。以 miR-39 作为内参进行 PCR 实验。微小 RNA-25-3p 上游引物:5'-CAUUGCACUUGUCUCGGGUCUGAAG-3',下游引物:3'-GAGCAACGUGAACAGAGACAGACU-5';内参微小 RNA-39 上游引物:5'-AGUGGCCACAUUUAGUCGAAC-3',下游引物:3'-UCACCGGUGUAAAUCAGCUUG-5'。引物均由上海生工生物工程股份有限公司设计合成。10 μL 定量 PCR 反应体系包括 LightCycler® 480 Probes Master (2 ×) 5 μL、TaqMan® MicroRNA Assays (20 ×) 0.5 μL、cDNA 1 μL、Nuclease-free H<sub>2</sub>O 3.5 μL;反应条件为 95℃ 预变性 10 min,95℃ 10 s,60℃ 30 s 共 40 循环,40℃ 10 s 冷却。所有样品设置 3 个副孔,反应结束后获得溶解曲线及循环阈值,取其平均 Ct 值,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算目的基因相对表达量。

1.4 治疗方法 74 例患者中,最终接受保肢手术 43 例,截肢手术 31 例。所有患者手术前后均接受辅助化疗,术前化疗主要药物有氨甲蝶呤、阿霉素、顺铂、环磷酰胺,术后根据患者情况调整用药,化疗时间为 6~12 个月。患者出院后,通过微信、QQ、电话、复查等方式进行定期随访。以研究对象入组时间为观察起始时间,患者因原发疾病死亡为终点事件,研究结束时患者存活、死于其他原因或研究期间失访为截尾事件。

1.5 临床资料的收集 记录患者的一般资料及临床资料,包括年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤大小、Enneking 外科分期、是否合并病理性骨折、手术方式、辅助化疗次数、远处转移情况等。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 23.0 进行统计分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较采用 *t* 检验;计数资料

以例数或百分比表示,比较采用 $\chi^2$ 检验;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估循环微小 RNA-25-3P 诊断骨肉瘤的效能;采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线及计算生存率;采用 log-rank 检验进行单因素分析,将  $P < 0.1$  的变量纳入多因素分析,采用 Cox 风险回归模型进行多因素分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组研究对象循环微小 RNA-25-3P 表达水平及其对骨肉瘤的诊断价值 研究组血清微小 RNA-25-3P 相对表达水平为  $1.29 \pm 0.62$ , 低于对照组的  $4.46 \pm 1.37$  ( $t = -16.227, P < 0.001$ )。ROC 曲线分析结果显示,血清微小 RNA-25-3P 相对表达水平诊断骨肉瘤的最佳截断值为 2.56, 其灵敏度、特异性分别为 0.905、0.982, 曲线下面积为 0.977 ( $P < 0.001, 95\% \text{ CI}: 0.956 \sim 0.998$ ), 见图 1。

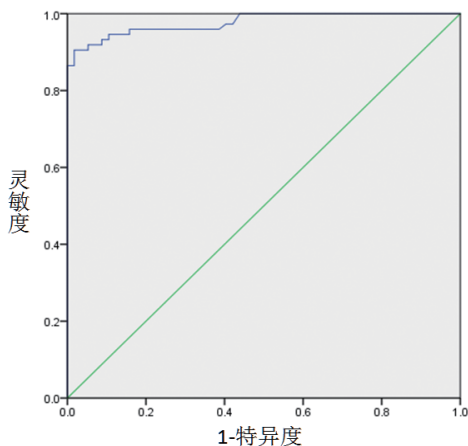


图1 循环微小 RNA-25-3P 相对表达水平诊断骨肉瘤的 ROC 曲线

2.2 74 例骨肉瘤患者预后情况 末次随访截止时间为 2018 年 11 月 30 日, 74 例骨肉瘤患者均完成随访, 随访率 100%, 随访时间 5 ~ 80 个月, 中位随访时间 39 个月, 患者 1 年、3 年生存率分别为 83.51% 和 43.98%, 见图 2。

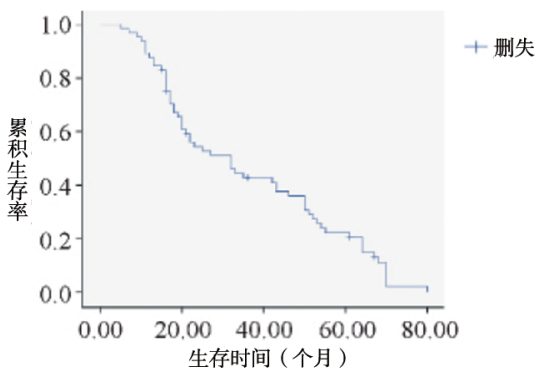


图2 74 例骨肉瘤患者总生存曲线

2.3 影响骨肉瘤患者预后的单因素和多因素分析 单因素分析结果显示, 不同年龄组、性别、肿瘤大小、Enneking 外科分期、辅助化疗次数、远处转移情况、循环微小 RNA-25-3P 表达水平的患者之间, 生存曲线比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.1$ ), 见表 2。以单因素分析中有统计学意义的变量为自变量, 以术后生存情况为因变量, 进行多因素 Cox 回归模型分析, 变量赋值见表 3。多因素 Cox 回归分析结果显示, 辅助化疗次数、远处转移情况、循环微小 RNA-25-3P 表达水平是骨肉瘤患者生存的独立影响因素(均  $P < 0.05$ ), 其中未远处转移及循环微小 RNA-25-3P 相对表达水平  $\geq 1.56$  为骨肉瘤患者术后生存的保护因素, 辅助化疗次数  $< 6$  次为其生存的危险因素, 见表 4。

表2 影响骨肉瘤患者术后生存的单因素分析

因素	n	$\chi^2$ 值	P 值
年龄			
< 20 岁	39	12.700	< 0.001
$\geq 20$ 岁	35		
性别			
男性	43	3.918	0.048
女性	31		
肿瘤位置			
上肢	13	1.832	0.176
下肢	61		
肿瘤大小			
< 10 cm	42	7.316	0.007
$\geq 10$ cm	32		
Enneking 外科分期			
II 期	52	10.029	0.002
III 期	22		
病理性骨折			
是	48	1.616	0.204
否	26		
手术方式			
保肢	43	1.064	0.302
截肢	31		
辅助化疗次数			
< 6 次	24	13.290	< 0.001
$\geq 6$ 次	50		
远处转移			
是	18	18.888	< 0.001
否	56		
循环微小 RNA-25-3P 相对表达水平*			
$\geq 1.56$	32	7.645	0.002
< 1.56	42		

注: \* 通过绘制 ROC 曲线, 以循环微小 RNA-25-3P 水平预测患者 3 年生存的截断值作为循环微小 RNA-25-3P 的分界值。

表3 多因素分析自变量赋值表

变量	赋值
年龄	<20岁=0, ≥20岁=1
性别	男性=0, 女性=1
肿瘤大小	<10cm=0, ≥10cm=1
Enneking 外科分期	Ⅱ期=0, Ⅲ期=1
远处转移	是=0, 否=1
辅助化疗次数	辅助化疗≥6次=0, 辅助化疗<6次=1
循环微小 RNA-25-3P 相对表达水平	<1.56=0, ≥1.56=1

表4 影响骨肉瘤患者术后生存的多因素分析

变量	b 值	SE 值	Wald $\chi^2$ 值	P 值	RR 值(95% CI)
远处转移	-1.782	1.242	17.083	<0.001	0.324(0.170~0.965)
辅助化疗次数	1.082	2.243	9.745	0.002	3.472(2.449~6.485)
循环微小 RNA-25-3P 相对表达水平	-0.903	0.630	8.158	0.004	0.613(0.399~0.987)

### 3 讨论

微小 RNA 是一种不编码蛋白质的内源性单链小分子 RNA,在维持调节细胞功能中具有必不可少的作用。近年来,有研究表明,微小 RNA 与细胞的增殖、分化、凋亡等密切相关,其发生异常可导致基因缺失、突变、基因调控的异常,进而参与肿瘤的发生发展<sup>[7]</sup>。与信使 RNA 或小核 RNA 相比,循环中微小 RNA 在血液和细胞培养基中具有良好的稳定性,在恶性肿瘤患者外周血中稳定表达<sup>[8]</sup>。目前,在乳腺癌<sup>[9]</sup>、肺癌<sup>[10]</sup>、胃癌<sup>[11]</sup>、肝癌<sup>[12]</sup>、肾癌<sup>[13]</sup>、膀胱癌<sup>[14]</sup>及其他多种癌症患者中,均发现循环微小 RNA 的差异表达,这为肿瘤生物学特性研究和治疗干预的监测提供了新的思路。

目前,已经有研究结果显示,骨肉瘤患者血液中微小 RNA 表达异常,其外周血中单个核细胞的微小 RNA-21 水平<sup>[3]</sup>、血浆微小 RNA-181b 水平<sup>[15]</sup>、循环微小 RNA-34b 水平<sup>[16]</sup>均升高。但多数研究主要关注骨肉瘤患者血液中微小 RNA 的表达水平,而非循环中的微小 RNA 表达水平是否能客观反映肿瘤组织中微小 RNA 表达情况的存在争议。Pigati 等<sup>[17]</sup>指出,循环微小 RNA 虽被评估为乳腺癌或其他癌症的生物标志物,但当细胞选择性释放或保留微小 RNA 时,循环微小 RNA 水平可受到影响,从而会对诊断结论产生干扰。Chan 等<sup>[18]</sup>发现,在乳腺癌患者的肿瘤组织中有 20 种微小 RNA 异常表达,在血清中仅有 7 种微小 RNA 表达上调。因此,循环微小 RNA 水平并不能完全反映肿瘤微小 RNA 的表达情况,需要进一步筛选骨肉瘤的循环微小 RNA。

牛敏等<sup>[19]</sup>研究发现,血清中微小 RNA-25 的表达下调与骨肉瘤的肺部转移显著相关,可作为预测骨肉瘤肺部转移的指标。Li 等<sup>[20]</sup>发现,骨肉瘤患者血清循环微小 RNA-25-3P 水平明显低于健康对照组,其可作为诊断和预测骨肉瘤的生物学标志物。本研究在该研究的基础上进一步通过平衡各种临床因素,分析循环微小 RNA-25-3P 与骨肉瘤预后相关性。结果显示,骨肉瘤患者血清循环微小 RNA-25-3P 相对表达水平低于对照组 ( $P < 0.05$ ),且血清微小 RNA-25-3P 相对水平为 2.56 时诊断骨肉瘤的曲线下面积达 0.977 ( $P < 0.05$ ),提示其对骨肉瘤具有较高的诊断价值,这与 Li 等<sup>[20]</sup>的研究结果相似。进一步采用多因素 Cox 回归模型分析骨肉瘤患者预后的影响因素,结果显示,血清微小 RNA-25-3P 水平是影响骨肉瘤患者生存情况的因素之一,血清微小 RNA-25-3P 相对表达水平  $\geq 1.56$  的骨肉瘤患者术后死亡风险降低。

综上所述,循环微小 RNA-25-3P 水平对骨肉瘤的诊断和预后评估均有一定临床价值,有望成为诊断骨肉瘤和评估基预后新的标志物,但所得研究结果值得进一步研究探讨。

### 参 考 文 献

- [1] 卢金昌,王晋,雍碧城,等. 趋化因子 CXCL14 在骨肉瘤中的表达及其与预后的关系[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(6): 798-803.
- [2] Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program[J]. Cancer, 2009, 115(7): 1531-1543.

(下转第 2832 页)

饮食保健,2018,5(35):42-43.

- [4] Khalil A, Maiz N, Garcia-Mandujano R, et al. Longitudinal changes in maternal soluble endoglin and angiotensin-2 in women at risk for pre-eclampsia [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014, 44(4):402-410.
- [5] 李琳, 黄桦, 柳汝明, 等. 口服硝苯地平与静脉注射拉贝洛尔治疗妊娠高血压急症有效性及安全性比较的系统评价[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2018, 18(2):160-164.
- [6] Gyselaers W, Staelens A, Mesens T, et al. Maternal venous Doppler characteristics are abnormal in pre-eclampsia but not in gestational hypertension [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(4):421-426.
- [7] 乔远. 拉贝洛尔联合硝苯地平治疗重症妊娠高血压的随机对照研究[J]. *实用药物与临床*, 2017, 20(11):1288-1290.
- [8] 张海霞. 硫酸镁分别联合硝苯地平与拉贝洛尔治疗妊娠高血压疗效对比[J]. *现代诊断与治疗*, 2018, 29(8):1228-1230.
- [9] 邵秀兰, 张锋英, 王巧岭, 等. 血浆凝血参数及尿  $\gamma$ -GT、NAG 在妊高症中的临床诊断价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2017, 24(2):207-209.
- [10] Lai CW, Yung SS, Ng EH. Endometrial vascularity is lower in pregnancies with pregnancy-induced hypertension or small-for-gestational-Age fetus in live birth after in-vitro fertilization [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014, 44(4):455-460.
- [11] 史丹丹, 王勇, 郭君君, 等. 拉贝洛尔与硝苯地平治疗重度子痫前期对血压及孕产妇和围产儿结局的影响[J]. *河北医药*, 2018, 40(5):673-676, 680.
- [12] Carolan M. Diabetes nurse educators' experiences of providing care for women, with gestational diabetes mellitus, from disadvantaged backgrounds [J]. *J Clin Nurs*, 2014, 23(9/10):1374-1384.
- [13] Gyselaers W, Staelens A, Mesens T, et al. Re: maternal venous Doppler characteristics are abnormal in pre-eclampsia but not in gestational hypertension [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(4):421-426.

(收稿日期:2019-07-05 修回日期:2019-09-30)

(上接第 2828 页)

- [3] 宋魏, 张建波, 马杰, 等. 骨肉瘤患者外周血单个核细胞 microRNA-21 与骨肉瘤组织中 Ki-67 表达水平检测及其临床价值[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2017, 26(3):262-267.
- [4] 任仰光, 尤建宇, 张宁, 等. 肿瘤标志物在骨肉瘤中的研究[J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(11):1983-1985.
- [5] 李宏波, 旦锋, 阮文辉, 等. MRI 结合血清 ALP, LDH 检测在骨肉瘤早期诊断及预后评估的临床价值[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2018, 16(12):133-135.
- [6] Mu Y, Zhang H, Che L, et al. Clinical significance of microRNA-183/Ezrin axis in judging the prognosis of patients with osteosarcoma [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(2):821.
- [7] 肖文峰, 罗伟, 肖凯, 等. microRNA-125b 在骨肉瘤患者血清中的表达及增殖抑制作用[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2016, 8(8):49-52.
- [8] Schwarzenbach H, Nishida N, Calin GA, et al. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11(3):145-156.
- [9] 杜俊泽, 范林军, 齐晓伟, 等. MicroRNA-206 可能通过调控 Cx43 表达调节人乳腺癌细胞的转移能力[J]. *第三军医大学学报*, 2014, 36(2):115-120.
- [10] 陈飞燕, 毕蕾, 钱磊, 等. 丹酚酸 A 逆转肺癌多药耐药基因 MDRI 相关 microRNA 的筛选与鉴定[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(17):3279-3284.
- [11] 毛玉娣, 丁西平, 王华. 微小 RNA 与胃癌关系的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(6):756-760.
- [12] 孙海榕, 王璐瑜, 王忠鑫. 白藜芦醇苷通过抑制 microRNA-21 表达抑制肝癌细胞增殖和迁移[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(11):1220-1226.
- [13] 陈俊泳, 韩耕宇, 徐雅, 等. 微小 RNA-502-3p 在肾癌组织中的表达及对肾癌细胞迁移, 增殖的影响[J]. *江苏医药*, 2018, 44(9):999-1003.
- [14] 刘益民, 杜鲁涛, 王丽丽, 等. 膀胱癌患者血清 microRNA 检测中内参基因的筛选及验证[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2014, 52(5):86-91.
- [15] 陆斌, 李建武, 杨艳. 骨肉瘤患者血浆中 microRNA-181b 水平的检测[J]. *昆明医科大学学报*, 2015, 36(9):54-57.
- [16] Tian Q, Jia J, Ling S, et al. A causal role for circulating miR-34b in osteosarcoma [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2014, 40(1):67-72.
- [17] Pigati L, Yaddanapudi SC, Iyengar R, et al. Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13515.
- [18] Chan M, Liaw CS, Ji SM, et al. Identification of circulating microRNA signatures for breast cancer detection [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(16):4477-4487.
- [19] 牛敏, 吉亚红, 李晓利, 等. miR-219-5p、miR-19b-1 和 miR-25 在骨肉瘤患者血清中的表达以及与肺转移的关系[J]. *成都医学院学报*, 2019, 14(1):77-81.
- [20] Li H, Zhang K, Liu LH, et al. MicroRNA screening identifies circulating microRNAs as potential biomarkers for osteosarcoma [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(3):1662-1668.

(收稿日期:2019-07-22 修回日期:2019-10-20)