

论著·临床研究

## 尿核基质蛋白 22 和细胞角蛋白 20 mRNA 联合监测在膀胱肿瘤复发中的意义\*

朱峰<sup>1</sup>, 张艳<sup>3</sup>, 李军<sup>2</sup>, 贾安奎<sup>1</sup>, 艾芳<sup>1</sup>, 刘沛<sup>1</sup>, 张会清<sup>1△</sup>

(1. 新乡医学院第一附属医院泌尿外科, 河南卫辉 453100; 2. 新乡医学院第三附属医院泌尿外科, 河南新乡 453001; 3. 新乡医学院生理学教研室, 河南新乡 453001)

**摘要:**目的 通过检测尿核基质蛋白 22(NMP22) 和细胞角蛋白 20(CK20) mRNA 的表达, 探讨联合检测 NMP22 和 CK20 mRNA 在膀胱肿瘤复发中的临床价值。方法 分别采用酶联免疫吸附实验(ELISA)和巢式 RT-PCR 法检测 NMP22 和 CK20 mRNA 在 46 例膀胱肿瘤复发患者(复发组)、66 例未复发患者(未复发组)及 40 例健康志愿者(健康对照组)尿中的表达。结果 健康对照组尿中 NMP22 和 CK20 mRNA 表达均为阴性, 复发组尿中 NMP22 和 CK20 mRNA 的阳性表达率[78.3%(36/46)、80.4%(37/46)]与未复发组[6.1%(4/62)、6.1%(4/62)]及健康对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 未复发组与健康对照组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。随肿瘤病理学分级、临床分期的增高, 尿 NMP22 阳性表达率明显上升( $P < 0.05$ )。随肿瘤数目的增多, CK20 mRNA 的阳性表达率明显升高( $P < 0.05$ )。检测膀胱肿瘤复发 NMP22 的敏感度和特异度分别为 78.3%、93.9%, CK20 mRNA 的敏感度和特异度分别为 80.4%、93.9%, 联合检测二者的敏感度和特异度分别为 95.7%、92.4%, 联合检测与单一检测相比敏感度差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 特异度差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 CK20 mRNA 阳性提示复发可能为多发, 尿中 NMP22 和 CK20 mRNA 联合检测明显提高了临床监测膀胱肿瘤复发的敏感度和特异度。

**关键词:**膀胱肿瘤; 尿路上皮癌; 复发; 核基质蛋白 22; 细胞角蛋白 20

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.14.008

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)14-1703-04

### Clinical significance of combined detection with urinary nuclear matrix protein 22 and cytokeratin 20 mRNA in the monitoring of bladder tumor recurrence\*

Zhu Feng<sup>1</sup>, Zhang Yan<sup>3</sup>, Li Jun<sup>2</sup>, Jia Ankui<sup>1</sup>, Ai Fang<sup>1</sup>, Liu Pei<sup>1</sup>, Zhang Huiqing<sup>1△</sup>

(1. Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui, Henan 453100, China; 2. Department of Urology, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453001, China; 3. Physiology Department of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453001, China)

**Abstract: Objective** To detect the expression of urinary nuclear matrix protein 22(NMP22) and cytokeratin 20(CK20) mRNA in the monitoring of bladder tumor recurrence, and to explore the clinical value of combined detection of urinary NMP22 and CK20 mRNA in the monitoring of bladder tumor recurrence. **Methods** Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and nested reverse transcriptase polymerase chain reaction(Nested RT-PCR) were used to detect the expression of NMP22 and CK20 mRNA in the urine of 46 patients with recurrent bladder cancer tumor (recurrent group), 66 patients without recurrent tumor (no-recurrent group) and 40 healthy volunteers(control group) respectively. **Results** The expression of NMP22 and CK20 mRNA in the urine of control group were negative. There was statistically significant difference between the positive expression rate of NMP22 and CK20 mRNA in the urines of the recurrent group[78.3%(36/46), 80.4%(37/46)] and that of the no-recurrent group[6.1%(4/62), 6.1%(4/62)] and the control group respectively( $P < 0.01$ ). There was no statistically significant difference between the no-recurrent group and the control group( $P > 0.05$ ). The expression level of NMP22 in recurrent tumor increased obviously along with the progression of the pathological grade and clinical classification of tumor( $P < 0.05$ ). The positive rate of CK20 mRNA expression in the recurrent group increased obviously along with the increase of the tumor number( $P < 0.05$ ). The sensitivity and specificity of NMP22 for monitoring bladder cancer recurrence were 78.3% and 93.9%, of CK20 mRNA were 80.4% and 93.9%. Combined detection of both sensitivity and specificity were 95.7% and 92.4%. Statistical significance was observed between combined sensitivity and that of single detection( $P < 0.05$ ). No significant difference was observed between combined specificity and that of single detection( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The positive expression of CK20 mRNA may also indicate tumor multiplicity. Combined detection of NMP22 and CK20 mRNA significantly increases the sensitivity and specificity in clinical detection.

**Key words:** urinary bladder neoplasms; urothelial carcinoma; recurrence; NMP22; CK20

膀胱肿瘤是泌尿外科最常见的肿瘤, 高发率是其特征之一<sup>[1]</sup>, 术后监测为其有效治疗、改善预后和提高长期生存率的重要环节。目前, 膀胱镜检查及尿细胞学检查仍是长期随访

的金标准<sup>[2]</sup>。尿细胞学检查虽为无创且特异度较好, 但敏感度较低, 尤其是对低分级分期的肿瘤。膀胱镜检查目前诊断效能最佳, 但其缺点为侵入性检查, 具有一定痛苦, 患者长期依从性

\* 基金项目: 河南省教育厅基金资助项目(2006320042)。 作者简介: 朱峰(1978—), 主治医师, 硕士, 主要从事泌尿系统肿瘤的病理生理学。 △ 通讯作者, Tel:13782538780; E-mail: zfdmb@163.com。

差。因此,寻找非侵入性、特异度和敏感度均佳的膀胱肿瘤标志物,对肿瘤复发监测具有重要的临床价值。作者通过联合检测尿核基质蛋白 22(nuclear matrix protein 22, NMP22)和细胞角蛋白 20(cytokeratin 20, CK20),探讨二者在膀胱肿瘤复发监测中的临床应用价值,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

在排除合并泌尿系感染、结石、异物、肠道代膀胱、其他泌尿系肿瘤及近 2 周内曾行泌尿系器械操作和膀胱灌注患者<sup>[3]</sup>后,将新乡医学院第一附属医院 2007 年 9 月至 2009 年 8 月常规复查的膀胱尿路上皮癌术后复查患者 112 例纳入研究,以膀胱镜检及病理学检查为金标准,分成复发组和未复发组。(1)复发组:46 例,男 38 例,女 8 例,年龄 21~91 岁,平均 61.8 岁。确诊为复发后均行手术治疗,术后经病理科核实为膀胱尿路上皮癌。病理分级按照 WHO 标准:G<sub>1</sub> 24 例, G<sub>2</sub> 15 例, G<sub>3</sub> 7 例;临床分期按国际抗癌联盟 TNM 标准:Tis~T<sub>1</sub> 31 例, T<sub>2</sub>~T<sub>4</sub> 15 例。(2)未复发组:66 例,男 54 例,女 12 例,年龄 23~81 岁,平均 60.4 岁。(3)另将健康志愿者 40 名作为健康对照组纳入研究。

### 1.2 试剂与仪器

#### 1.2.1 主要试剂

NMP22 试剂盒(R&D),总 RNA 提取试剂盒及 PCR 试剂盒(TransGen),RNA later 保存液(Ambion)。采用 Primer Premier 软件自行设计引物,引物序列如下:CK20 外引物,正向引物:5'-TCT TTG ATG ACC TAA CCC TAC-3';反向引物:5'-TTT CTT CCA CCT CTT TGA CT-3',产物大小 732 bp;内引物,正向引物:5'-TCC CAG AGC CTT GAG ATA GA-3';反向引物:5'-GAC TTC AGA TGA CAC GAC CTT-3',产物大小 375 bp;β-actin 引物,正向引物:5'-CTG GGA CGA CAT GGA GAA AA-3';反向引物:5'-AAG GAA GGC TGG AAG AGT GC-3',产物大小 564 bp。

#### 1.2.2 主要仪器

全波长扫描酶标仪(美国 Thermo Scientific Multiskan Spectrum 型),高速低温离心机(美国 Thermo Scientific CL31R 型),PCR 仪(美国 Applied Biosystems),电泳仪(中国北京市六一仪器厂 DYY-6C 型)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 标本收集与保存

收集膀胱镜检前复查患者和健康志愿者清洁中段晨尿约 200 mL,分为 2 份。5 mL 离心(1 000 r/min,10 min),取上清液 1 mL 置于 1.5 mL EP 管中,迅速置入-80 °C 冰箱中保存,用酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测 NMP22;其余尿液低温离心(4 °C,3 000 r/min,20 min)得到尿脱落细胞,RNA later 保存液悬起后转入 2 mL 冻存管,置室温 1 h 后保存于-20 °C 冰箱中(仍保持液态),用于检测 CK20 mRNA 的表达。

#### 1.3.2 NMP22 检测

采用 ELISA 法定量检测尿 NMP22,实验步骤完全按照试剂盒说明书进行,建立标准曲线(图 1)计算出对应的 NMP22 含量,以 6 U/L 为诊断肿瘤复发的临界值。

#### 1.3.3 CK20 mRNA 检测

将 RNA later 保存液低温离心后,留取沉淀,提取总 RNA。用紫外分光光度计测定总 RNA 深度和纯度,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.6~2.0 之间,并用 0.8% 琼脂糖凝胶检测其完整性,清楚地显示出 3 条 28、18、5 s 的条带。取总 RNA 8 μL,按试剂盒中说明配成 20 μL 体系。短暂离心后放 PCR 仪上 42 °C 孵育 30 min,85 °C 加热 5 min 得 cDNA。取 2 μL cDNA 进行后续巢式 PCR 反应,第一次 PCR 反应体系为 50 μL;引物为 CK20 外引物;反应条件为 94 °C 预变性 2 min;94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 2 min,共

20 个循环;72 °C 总延伸 6 min。第二次 PCR 及内参 PCR 的反应体系及反应条件基本同第一次,引物分别为 CK20 内引物、β-actin 引物,共 30 个循环。取 5 μL 扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳,电压 4~10 V/cm,电泳 20~30 min,在紫外线投射仪下观察电泳条带并照相。

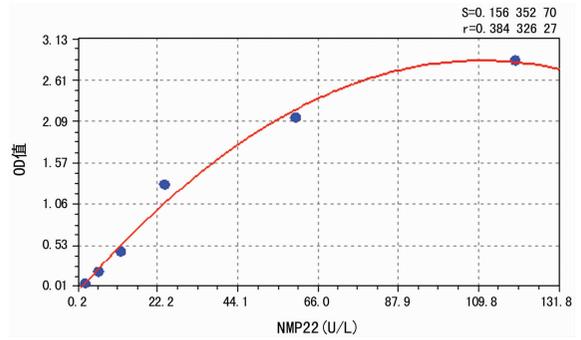


图 1 NMP22 ELISA 检测标准曲线

### 1.4 结果判断

尿 NMP22 临界值为 6 U/L,小于 6 U/L 为阴性表达,反之为阳性表达。尿脱落细胞 RNA 检测以内参 β-actin 电泳出现 564 bp 条带证明上皮细胞的存在和 RNA 的稳定性;以同时出现 375 bp 条带和 564 bp 内参电泳条带为 CK20 mRNA 阳性,仅出现 564 bp 内参电泳条带为 CK20 mRNA 阴性,两条带均不出现者视为 RNA 降解,弃去不用。联合检测 CK20 mRNA 与 NMP22 时一项或两项为阳性时计为阳性,两项同时阴性时计为阴性。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理,率的比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法检验分析。NMP22、CK20 单独、联合二者检测与病理诊断进行一致性检验(Kappa 值),同时考查其敏感度、特异度、阳性预测率、阴性预测率和 Youden 指数。检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NMP22 和 CK20 mRNA 在复发组、未复发组及健康对照组中的表达

健康对照组尿中 NMP22 和 CK20 mRNA 表达均为阴性,复发组尿中 NMP22 和 CK20 mRNA 的阳性表达率分别为 78.3% (36/46)、80.4% (37/46),未复发组 NMP22 和 CK20 mRNA 的阳性表达率均为 6.1% (4/62),复发组阳性表达率明显高于未复发组,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );未复发组与健康对照组比较,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

### 2.2 NMP22 和 CK20 mRNA 在复发膀胱肿瘤尿液中的表达与临床病理特征之间的关系

NMP22 的表达与病理学分级和临床分期有关 ( $P<0.05$ ),而与年龄、性别、肿瘤直径、肿瘤数目无关 ( $P>0.05$ )。CK20 mRNA 的表达与肿瘤数目有关 ( $P<0.05$ ),而与年龄、性别、肿瘤直径、病理学分级和临床分期无关 ( $P>0.05$ ),见表 1。

### 2.3 NMP22、CK20 mRNA 单独检测与联合检测在膀胱肿瘤复发中的意义

NMP22 监测膀胱肿瘤复发的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数与临床诊断一致性检验的 Kappa 值为 0.75 ( $P<0.05$ );CK20 mRNA 监测膀胱肿瘤复发的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数与临床诊断一致性检验的 Kappa 值为 0.77 ( $P<0.05$ );联合 CK20 与 NMP22 监测膀胱肿瘤复发的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数与临床诊断一致性检验的 Kappa 值为 0.88 ( $P<0.05$ )。NMP22、CK20 mRNA 单独检测与联合检测灵敏度比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),见

表 2。

表 1 尿 CK20 mRNA、NMP22 在复发膀胱肿瘤中的表达与临床病理特征之间的关系

临床病理特征	n	CK20 mRNA			NMP22		
		阳性 (n)	阴性 (n)	阳性率 (%)	阳性 (n)	阴性 (n)	阳性率 (%)
年龄							
≥60 岁	27	22	5	81.5	23	4	85.2
<60 岁	19	15	4	78.9	13	6	68.4
性别							
男	38	31	7	81.6	29	9	76.3
女	8	6	2	75.0	1	7	87.5
组织学分级							
I 级	26	21	5	80.8	17	9	61.5 <sup>b</sup>
II 级	13	10	3	76.9	11	2	84.6
III 级	7	6	1	85.7	7	0	100
临床分期							
Tis~T <sub>1</sub>	31	24	7	77.4	21	10	67.7 <sup>c</sup>
T <sub>2</sub> ~T <sub>4</sub>	15	13	2	86.7	15	0	100
肿瘤直径							
≥3 cm	19	17	2	89.5	15	4	78.9
<3 cm	27	20	7	74.1	21	6	77.8
肿瘤数目							
单发	21	17	4	66.7 <sup>a</sup>	16	5	76.2
多发	25	23	2	92.0	20	5	80.0

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与多发比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 II、III 级比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 T<sub>2</sub>~T<sub>4</sub> 比较。

表 2 NMP22、CK20 mRNA 单独监测与联合监测膀胱肿瘤复发的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数 (%)

项目	CK20	NMP22	联合检测
敏感度	80.4 <sup>a</sup>	78.3 <sup>b</sup>	95.7
特异度	93.9	93.9	92.4
阳性预测值	90.2	90.0	89.8
阴性预测值	87.3	86.1	92.4
Youden 指数	75.3	73.2	88.1

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与联合检测比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与联合检测比较。

### 3 讨 论

**3.1 NMP22 检测在膀胱肿瘤复发监测中的价值** 人上皮细胞中发现的 NMP22 属于核基质蛋白家族中的一种, 于 1980 年由 Lydersen 等<sup>[4]</sup>首次发现并命名, 其主要功能为协调细胞增殖核有丝分裂期间遗传物质正确、均等地分配到子代细胞。NMP22 多分布于细胞有丝分裂较为活跃的组织, 而恶变时细胞有丝分裂极度活跃。国外研究发现, NMP22 检测在膀胱肿瘤的检测中具有高效、快捷等优点, 且具有较高的敏感及特异度<sup>[5-6]</sup>; Kehinde 等<sup>[7]</sup>认为 NMP22 监测可作为膀胱肿瘤或高度怀疑膀胱肿瘤患者早期监测的金标准。研究发现, NMP22 在

膀胱复发肿瘤中的检测相对于尿脱落细胞学检测具有较高的敏感度及特异度, 且对于膀胱肿瘤复发的预测具有明显优势<sup>[8]</sup>。Smrkolj 等<sup>[9]</sup>研究认为, NMP22 的检测相对尿细胞学检测具有较高的敏感度, 但特异度稍低, 不能作为替代膀胱肿瘤患者术后的膀胱镜检查。Shariat 等<sup>[10]</sup>研究认为, NMP22 监测不能替代膀胱镜检查, 但可以帮助判断哪些患者需要行膀胱镜检查, 有效地减少膀胱镜检查次数。另有研究表明, 膀胱肿瘤术后随访膀胱镜检查阴性而尿 NMP22 检测阳性的患者, 有高发复发风险, 应加强术后监测随访<sup>[11]</sup>。本研究表明, NMP22 在复发组中的表达率明显高于未复发组及健康对照组 ( $P < 0.05$ ); 在复发膀胱肿瘤尿液中, NMP22 表达率与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤数目无关 ( $P > 0.05$ ), 与肿瘤细胞的分化和进展程度有密切关系。从低级别、非浸润性肿瘤到高级别、浸润性肿瘤的发展中, NMP22 的表达逐渐增强。

**3.2 CK20 mRNA 检测在膀胱肿瘤复发监测中的价值** CK 由角蛋白基因编码、分布于外胚层起源细胞中, 是上皮细胞发生、分化、成熟过程中逐渐形成的, 是所有哺乳类动物细胞骨架的中间丝之一, 参与构成细胞骨架。CK20 由 Keesee 等<sup>[12]</sup>于 1990 年发现, 含 424 个氨基酸, 相对分子质量为  $48.5 \times 10^3$ , 等电点为 5.66, 属酸性 CK。CK20 的分布特点和表达方式, 使其应用于膀胱肿瘤的病理分型、组织来源鉴别和转移的监测<sup>[13]</sup>。本研究显示, CK20 mRNA 在监测肿瘤复发中有较高的敏感度和特异度, 可以作为膀胱肿瘤复发的指标, 而且其敏感度在低级别非浸润性复发肿瘤与高级别浸润性复发之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 有利于复发肿瘤的早期检出, CK20 mRNA 阳性还提示复发肿瘤为多发的可能性, 在膀胱镜检查中应注意观察, 减少漏诊概率, 这与 Eissa 等<sup>[14-15]</sup>研究结论一致。

**3.3 联合检测 NMP22 与 CK20 mRNA 在膀胱肿瘤复发监测中的价值** 随着新型膀胱肿瘤标志物的不断出现, 几种肿瘤标志物的合理联合应用成为诊断膀胱肿瘤的有效工具<sup>[16]</sup>。本课题考虑到 CK20 mRNA 位于完整脱落细胞内, 可通过尿液离心获得尿脱落细胞, 而 NMP22 是脱落细胞凋亡后细胞核裂解释放于尿液中的可溶性蛋白, 可直接检测尿液。这样既检测了完整的脱落细胞, 又检测了凋亡的脱落细胞, 二者联合应用具有互补性。本研究显示, 联合检测 NMP22 与 CK20 mRNA 在未明显降低特异度的基础上, 大大提高了诊断的敏感度。其特异度与尿细胞学检测相差较小, 而敏感度却远高于尿细胞学检测, 因而联合检测较单一指标的检测对膀胱肿瘤复发监测具有更高的诊断价值。其次, NMP22 检测方法简单, 可以在一般实验室里进行, 而 RT-PCR 检测也是实验室常用的方法。因此, 作者认为, 联合检测 NMP22 与 CK20 mRNA 因其无创且敏感度、特异度较高, 可用于膀胱肿瘤复发监测, 阴性患者继续观察, 阳性患者再行膀胱镜检查, 减轻患者痛苦。但联合检测 NMP22 与 CK20 mRNA 仍不能完全替代膀胱镜检查, 需要进一步研究以寻求更为理想的膀胱肿瘤标志物。

### 参考文献:

[1] Akaza H, Kurth KH, Williams R, et al. Intravesical chemotherapy and immunotherapy for superficial tumors Basic mechanism of action and future direction[J]. Urol Oncol, 2011, 4(4/5): 121-129.

[2] Dey P. Urinary markers of bladder carcinoma[J]. Clin Chim Acta, 2004, 340(1): 57-65.

[3] Sharma S, Zippe CD, Pandrangi L, et al. Exclusion criteria

- enhance the specificity and positive predictive value of NMP22 and BTA stat[J]. *Urology*, 1999, 162(1): 53-57.
- [4] Lydersen BK, Pettijohn DE. Human-specific nuclear protein that associates with the polar region of the mitotic apparatus: distribution in a human/hamster hybrid cell [J]. *Cell*, 1980, 22(2 Pt 2): 489-499.
- [5] Lotan Y, Capitanio U, Shariat SF, et al. Impact of clinical factors, including a point-of-care nuclear matrix protein-22 assay and cytology, on bladder cancer detection[J]. *BJU Int*, 2009, 103(10): 1368-1374.
- [6] Kundal VK, Pandith AA, Hamid A, et al. Role of NMP22 bladder check test in early detection of bladder cancer with recurrence[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11(5): 1279-1282.
- [7] Kehinde EO, Al-Mulla F, Kapila K, et al. Comparison of the sensitivity and specificity of urine cytology, urinary nuclear matrix protein-22 and multitarget fluorescence in situ hybridization assay in the detection of bladder Cancer [J]. *Scand J Urol Nephrol*, 2011, 45(2): 113-121.
- [8] Kibar Y, Goktas S, Kilic S, et al. Prognostic value of cytology, nuclear matrix protein 22(NMP22) test, and urinary bladder Cancer II (UBC II) test in early recurrent transitional cell carcinoma of the bladder [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2006, 36(1): 31-38.
- [9] Smrkolj T, Mihelic M, Sedlar A, et al. Performance of nuclear matrix protein 22 urine marker and voided urine cytology in the detection of urinary bladder tumors[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49(2): 311-316.
- [10] Shariat SF, Savage C, Chromecki TF, et al. Assessing the clinical benefit of nuclear matrix protein 22 in the surveillance of patients with nonmuscle-invasive bladder cancer and negative cytology; a decision-curve analysis[J]. *Cancer*, 2011, 117(13): 2892-2897.
- [11] Saint F, Quintens H, Roupret M, et al. Diagnostic test for bladder Cancer: the NMP22 [J]. *Prog Urol*, 2011, 21(4): 245-249.
- [12] Keese SK, Briggman JV, Thill G, et al. Utilization of nuclear matrix proteins for Cancer diagnosis [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 1996, 6(2/3): 189-214.
- [13] Ribal MJ, Mengual L, Marin M, et al. Molecular staging of bladder cancer with RT-PCR assay for CK20 in peripheral blood, bone marrow and lymph nodes: comparison with standard histological staging [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1A): 411-419.
- [14] Eissa S, Zohny SF, Swellam M, et al. Comparison of CD44 and cytokeratin 20 mRNA in voided urine samples as diagnostic tools for bladder cancer [J]. *Clin Biochem*, 2008, 41(16/17): 1335-1341.
- [15] Eissa S, Swellam M, Amin A, et al. The clinical relevance of urine-based markers for diagnosis of bladder cancer [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(2): 513-518.
- [16] Bryan RT, Zeegers MP, James ND, et al. Biomarkers in bladder Cancer [J]. *BJU Int*, 2010, 105(5): 608-613.

(收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2014-02-13)

(上接第 1702 页)

- [3] Ulivi P, Foschi G, Mengozzi M, et al. Peripheral blood miR-328 expression as a potential biomarker for the early diagnosis of NSCLC [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(5): 10332-10342.
- [4] Roth C, Kasimir-Bauer S, Pantel K, et al. Screening for circulating nucleic acids and caspase activity in the peripheral blood as potential diagnostic tools in lung cancer [J]. *Mol Oncol*, 2011, 5(3): 281-291.
- [5] Jiang LL, Huang Q, Zhang SY, et al. Hsa-miR-125a-3p and hsa-miR-125a-5p are downregulated in non-small cell lung cancer and have inverse effects on invasion and migration of lung cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10(1): 1-13.
- [6] 杨季红, 程树杰. IGF-2 和 H19 与肿瘤关系的研究进展 [J]. *河北医药*, 2011, 18(18): 2836-2839.
- [7] Du L, Pertsemliadis A. microRNAs and lung cancer; tumors and 22-mers [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(1): 109-122.
- [8] Wang G, Mao W, Zheng S. MicroRNA-183 regulates Ezrin expression in lung Cancer cells [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(25/26): 3663-3668.
- [9] Garofalo M, Di Leva G, Romano G, et al. miR-221&-222 regulate TRAIL resistance and enhance tumorigenicity through PTEN and TIMP3 downregulation [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(6): 498-509.
- [10] Hashiguchi Y, Nishida N, Mimori K, et al. Downregulation of miR-125a-3p in human gastric Cancer and its clinicopathological significance [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(5): 1477-1482.
- [11] Ninio-Many L, Grossman H, Shomron N, et al. microRNA-125a-3p reduces cell proliferation and migration by targeting Fyn [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 13): 2867-2876.
- [12] 鲁为山, 李书军, 周清华. 不同转移潜能人大细胞肺癌细胞株转移相关 microRNAs 的筛选研究 [J]. *中国肺癌杂志*, 2011, 11(14): 835-837.
- [13] 廖永德, 赵金平, 周晟, 等. IGF1 和 IGF2 表达与非小细胞肺癌淋巴结转移的相关性 [J]. *肿瘤防治研究*, 2006, 33(12): 868-871.
- [14] Izycki T, Chyczewska E, Naumnik W, et al. Serum levels of IGF-I and IGF-II in patients with lung Cancer during chemotherapy [J]. *Exp Oncol*, 2004, 26(4): 316-319.

(收稿日期: 2013-11-23 修回日期: 2014-01-14)