

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.07.014

血清 miRNA-210 和 miRNA-21 联合检测对 NSCLC 的临床应用价值

周金林^{1,2}, 邓述恺^{1△}

(1. 西南医科大学研究生院临床医学系, 四川泸州 646000; 2. 四川省巴中市中心医院呼吸内科 636000)

[摘要] **目的** 探讨血清 miRNA-210 和 miRNA-21 联合检测对非小细胞肺癌(NSCLC)的临床应用价值。**方法** 选择四川省巴中市中心医院确诊的 NSCLC 患者 48 例(NSCLC 组),另选择肺良性病变患者 40 例、健康体检者 40 例作为对照研究,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测血清 miRNA-210 和 miRNA-21 水平。**结果** NSCLC 患者血清 miRNA-210 和 miRNA-21 水平明显高于肺良性病变和健康体检者($P < 0.05$);血清 miRNA-210 在腺癌、 T_{3-4} 期患者高表达($P < 0.05$),miRNA-21 在腺癌、 T_{3-4} 期、吸烟患者高表达($P < 0.05$);血清 miRNA-210、miRNA-21 诊断 NSCLC 的受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)分别为 0.845、0.725,二者联合 AUC 为 0.928($P = 0.021$);COX 多因素回归分析显示,血清 miRNA-210($RR: 1.977, 95\% CI: 0.985 \sim 3.018, P = 0.009$)和 miRNA-21($RR: 1.853, 95\% CI: 0.921 \sim 2.776, P = 0.018$)对 NSCLC 患者预后有一定预测价值。**结论** miRNA-210 和 miRNA-21 在 NSCLC 患者血清高表达,二者联合检测可能对 NSCLC 有一定诊断效能,并对预后有一定提示作用。

[关键词] 癌,非小细胞肺;微 RNA;血清**[中图分类号]** R734.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)07-0908-05

Clinical application value of combined detection of serum miRNA-210 and miRNA-21 in non small cell lung cancer

Zhou Jinlin^{1,2}, Deng Shukai^{1△}

(1. Faculty of Clinical Medicine, Graduate School, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Department of Respiration, Bazhong Municipal Central Hospital, Bazhong, Sichuan 636000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical value of combined detection of serum miRNA-210 and miRNA-21 in non small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Forty-eight patients with NSCLC in the Bazhong Municipal Central Hospital were selected as the research subjects. Forty patients with benign lung diseases and 40 individuals undergoing healthy physical examination were selected as the control groups. The levels of serum miRNA-210 and miRNA-21 were detected by RT-qPCR. **Results** The levels of serum miRNA-210 and miRNA-21 in the patients with NSCLC were significantly higher than those in the patients with benign lung diseases and healthy controls ($P < 0.05$); serum miRNA-210 was highly expressed in adenocarcinoma and T_{3-4} stage patients ($P < 0.05$) and miRNA-210 was highly expressed in adenocarcinoma, T_{3-4} stage and smoking patients ($P < 0.05$); the area under the ROC curve (AUC) of miRNA-210 and miRNA-21 for diagnosing NSCLC was 0.845 and 0.725 respectively, but AUC of their combination was 0.928 ($P = 0.021$); COX multivariate regression analysis showed that serum miRNA-210 ($RR: 1.977, 95\% CI: 0.985 - 3.018, P = 0.009$) and miRNA-21 ($RR: 1.853, 95\% CI: 0.921 - 2.776, P = 0.018$) had some predictive value for the prognosis in the patients with NSCLC. **Conclusion** miRNA-210 and miRNA-21 are highly expressed in serum of the patients with NSCLC. Their combined detection can have a certain diagnostic efficiency for NSCLC and have a certain prompt action on the prognosis.

[Key words] carcinoma, non-small-cell lung; microRNA; serum

肺癌是常见恶性肿瘤,其发病率和病死率在世界范围内呈逐年增加的趋势,已成为威胁人类生命健康的主要疾病之一。肺癌按照病理分型可分为小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC),而 NSCLC 占肺癌总发病的 80% 左右^[1]。NSCLC 发病隐匿、早期症状不明显,多数患者发现时已经进展至中、晚期,加之病情复杂、进展快,虽然近年来的治疗手段越来越多样化,但是其 5 年生存率并不理想,仅有 15%~20%^[2]。提高 NSCLC 的诊断效率对治疗、预后有积极意义^[1-3]。常用诊断 NSCLC 的方法有影像学、细胞学、肿瘤标志物检查等,病理活检是肺癌诊断的金标准,但是通过纤支镜或胸壁针取得组织标本是一个有创过程,容易引起组织损伤或癌细胞沿穿刺针道扩散,一般只在高度怀疑的情况下做确诊使用^[4]。目前提倡对肿瘤患者通过高效、无创的检查手段进行诊断和预后判断,微 RNA(microRNA, miRNA)血清学检测正是这样一种经济、简单、有效的诊断方法。恶性肿瘤的发生、进展被认为与 miRNA

表达失衡有关^[5],最初的研究认为 miRNA 仅在肿瘤组织异常表达,发挥促癌或抑癌作用,但是随着研究的深入,发现 miRNA 失衡表达在外周循环血也有体现,并且可以此作为肿瘤诊断的生物标志物^[6]。本研究对 48 例 NSCLC 患者进行血清 miRNA-210 和 miRNA-21 水平检测,分析其与 NSCLC 发病的关系、诊断价值和预后判断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择四川省巴中市中心医院呼吸内科 2012 年 1 月至 2014 年 1 月确诊的 NSCLC 患者 48 例(NSCLC 组),其中男 28 例,女 20 例;年龄 37~69 岁,中位 56 岁;参考 WHO 制定的细胞分类法:腺癌 33 例,鳞癌 15 例;临床分期: T_{1-2} 期 30 例, T_{3-4} 期 18 例。纳入标准:(1)所有病例均经病理学诊断确诊为 NSCLC;(2)具备完整的临床诊断、治疗资料;(3)取得待测标本前患者均未经过放疗、化疗及生物制剂等治疗。排除标准:(1)患者出现呼吸困难等可能导致体内缺氧的症状;(2)

作者简介:周金林(1985—),主治医师,在读硕士研究生,主要从事肺癌的发病机制和临床治疗研究。△ 通信作者,E-mail:dsk_lan@163.com。

患者患严重心、肝、肾及代谢性疾病,或出现严重恶病质。另选择肺良性病变患者 40 例(良性病变组),其中男 25 例,女 15 例;年龄 40~72 岁,中位 58 岁;肺大疱者 18 例,结核瘤 12 例,炎性假瘤 10 例。健康体检者 40 例(对照组),其中男 25 例,女 15 例;年龄 35~68 岁,中位 56 岁。3 组对象在性别、年龄等比较中差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究通过医院伦理委员会审批,所有患者均知晓本研究目的、过程和意义,并同意参与,签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂与仪器 ABI-7300 荧光定量 PCR 仪(ABI 公司,美国)、血清 RNA 提取试剂盒(Applied Biosyste 公司,美国)、荧光定量 PCR 试剂盒(北京艾德莱生物)、引物设计与合成(上海生工)。

1.2.2 标本采集 采集 NSCLC 患者入院第 2 天、未行任何放疗、化疗及生物制剂等治疗前,以及肺良性病变患者、健康体检者,清晨空腹静脉血 5 mL,室温静置 15~30 min,4 ℃、3 500 r/min 离心 10 min,取血清于洁净 1.5 mL 离心管,-80 ℃冰箱保存待测。

1.2.3 cDNA 合成 严格按照血清 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA,分光光度仪检测 260/280 吸光度,1.8~2.2 为合格标本,可进行下一步逆转录。逆转录反应体系:1 μg RNA,5×RT 缓冲液 5 μL,10 mmol/L dNTP 0.75 μL,40 U/μL RNA 酶抑制剂 0.25 μL,200 U/μL 逆转录酶 0.2 μL,其余以去离子水补足至 20 μL。PCR 仪设置逆转录条件:16 ℃ 30 min,42 ℃ 30 min,75 ℃ 15 min,待转录结束后置于-20 ℃冰箱备用。

1.2.4 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 以定量荧光 PCR 仪使用 miRNA Real-time PCR 实时荧光定量反应试剂盒进行扩增反应,以 U6 为内参检测目的基因相对表达水平,U6、miRNA-210、miRNA-21 引物序列见表 1。反应体系:cDNA 产物 1.0 μL,2×miRNA qPCR Mix10 μL,Forward primer 0.4 μL,Reverse primer 0.4 μL,余用双蒸水(ddH₂O)水补齐至 20 μL。扩增条件:94 ℃预变性 3 min,94 ℃变性 20 s,60 ℃退火 20 s,72 ℃延伸 40 s,共 40 个循环,所有反应设立 3 个复孔。根据各样品 RT-qPCR 曲线得到 Ct 值,Ct 值表示荧光达到阈值所需要的循环数。血清 miRNA 水平采用相对表达量 $2^{-\Delta Ct}$ 描述, $\Delta Ct=Ct\ miRNA-Ct\ U6$,表示目的基因相对于内参基因表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件统计包进行统计学分析,正态性分布检验显示 miRNA 水平 $2^{-\Delta Ct}$ 呈非正态分布,所以采用中位数及四分位数(25%分位数~75%分位数)描述。NSCLC 患者、肺良性病变患者、健康体检者组间血清 miRNA 水平采用 Wilcoxon 符号秩和检验;NSCLC 患者病理特征与血清 miRNA 水平的关系采用 Mann Whitney U 检验;血清 miRNA 对 NSCLC 诊断效能采用受试者工作特征(ROC)曲线分析;采用 Kaplan-Meier 法分析患者疾病无进展生存时间

(PFS);采用 COX 比例风险回归模型进行多因素生存分析;均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组间血清 miRNA 表达水平比较 NSCLC 组患者血清 miRNA-210 相对表达水平为 1.68(0.92~1.94),良性病变组患者相对表达水平为 0.93(0.38~1.31),对照组相对表达水平为 1.02(0.40~1.29),NSCLC 组患者表达水平明显升高($P<0.05$),良性病变组与对照组组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。在血清 miRNA-21 相对表达水平比较中,NSCLC 组患者为 9.23(5.17~14.02),良性病变组患者为 4.17(1.39~7.21),对照组为 3.83(1.22~6.88),NSCLC 组患者表达水平明显高于良性病变和对照组($P<0.01$),而良性病变与对照组组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1。

表 1 引物序列

基因	序列	5'-3'
U6	正向	GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA AAA T
	反向	CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT
miRNA-210	正向	GGA GAT CTG ACC AGG TCA TTT GCA TAC
	反向	GGG AAT TCG ATA TGA CCA CAC CTG TG
miRNA-21	正向	TTT CTT GCC GTT CTG TAA GTG
	反向	TGG ATA TGG ATG GTC AGA TGA A

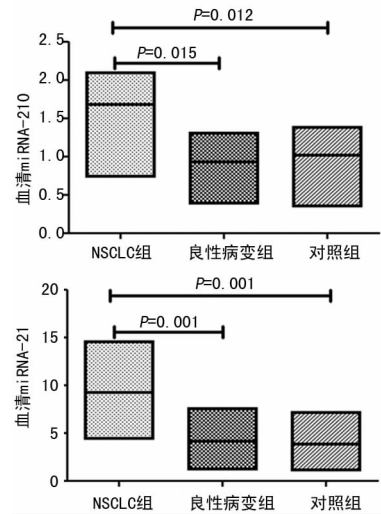


图 1 3 组对象血清 miRNA-210、miRNA-21 水平比较

2.2 NSCLC 患者临床特征与血清 miRNA 水平的关系 血清 miRNA-210 在腺癌、T₃₋₄ 期高表达($P<0.05$),而与年龄、性别及是否吸烟无明显关系($P>0.05$);血清 miRNA-21 在腺癌、T₃₋₄ 期、吸烟患者高表达($P<0.05$),而与年龄、性别无明显关系($P>0.05$),见表 2。

表 2 不同临床特征 NSCLS 患者血清 miRNA 水平比较

特征	n	miRNA-210			miRNA-21		
		表达水平 $2^{-\Delta Ct}$	Z	P	表达水平 $2^{-\Delta Ct}$	Z	P
年龄(岁)							
≤60	34	1.651(0.782~1.945)	-1.291	0.127	9.079(5.208~13.861)	-1.305	0.102
>60	14	1.738(0.818~2.033)			9.373(5.197~14.222)		

This is trial version
www.adultpdf.com

续表 2 不同临床特征 NSCLS 患者血清 miRNA 水平比较

特征	n	miRNA-210			miRNA-21		
		表达水平 $2^{-\Delta Ct}$	Z	P	表达水平 $2^{-\Delta Ct}$	Z	P
性别							
男	28	1.674(0.801~2.012)	-1.103	0.152	9.728(5.206~14.071)	-1.571	0.079
女	20	1.729(0.783~1.994)			8.982(5.023~14.343)		
组织类型							
鳞癌	15	1.543(0.671~1.711)	-2.983	0.021	8.309(4.867~13.215)	-3.624	0.010
腺癌	33	1.786(0.881~2.032)			10.089(5.321~14.578)		
T 分期							
T _{1~2}	30	1.368(0.687~1.581)	-3.977	0.006	7.991(4.872~14.056)	-4.982	0.001
T _{3~4}	18	1.815(0.709~2.052)			10.451(5.682~15.156)		
吸烟							
是	26	1.703(0.747~2.009)	0.926	0.291	10.212(5.022~14.578)	2.852	0.025
否	22	1.664(0.699~1.989)			8.643(4.621~13.9289)		

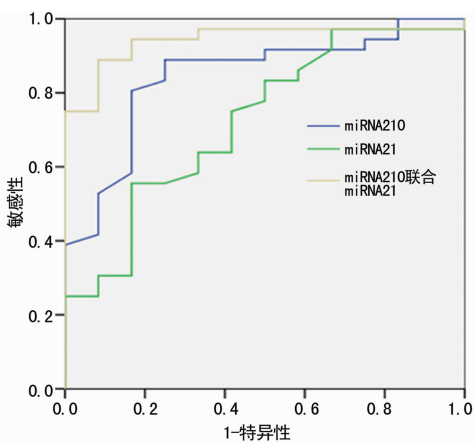


图 2 miRNA 对 NSCLC 诊断的 ROC 曲线分析

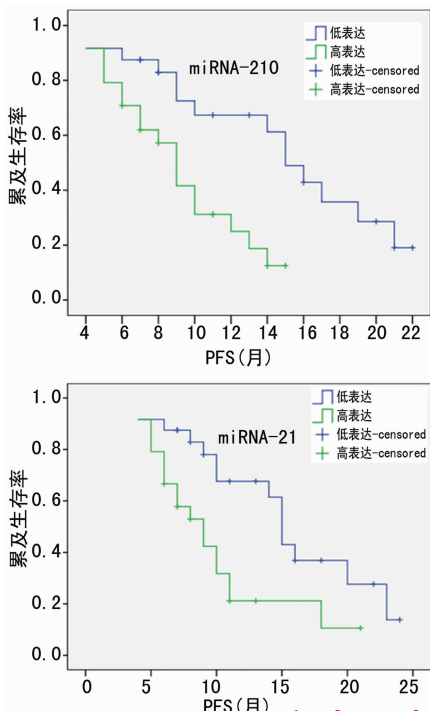


图 3 PFS 生存曲线分析

2.3 miRNA 联合检测对 NSCLC 的诊断效能 通过 ROC 曲线分析显示,血清 miRNA-210 的曲线下面积 (AUC) 为 0.855,

敏感性为 74.10%,特异性为 78.20%;miRNA-21 的 AUC 为 0.725,敏感性为 69.70%,特异性为 77.60%;而 miRNA-210、miRNA-21 联合检测 AUC 为 0.928,敏感性为 82.40%,特异性为 80.50%。提示血清 miRNA-210 和 miRNA-21 对 NSCLC 均有一定诊断效能,而二者联合检测对 NSCLC 诊断效能更佳 ($P=0.021$),见图 2。

2.4 PFS 生存曲线分析 根据 ROC 曲线最大约登指数得出血清 miRNA-210 最佳诊断临界值 $2^{\Delta Ct}$ 为 1.60,miRNA-21 最佳诊断临界值 $2^{\Delta Ct}$ 为 10.01,以此分为高表达组与低表达组。结果显示 miRNA-210 高表达患者中位 PFS 为 9.20 月,低表达患者中位 PFS 为 14.80 月,两组比较差异有统计学意义 ($P=0.031$);miRNA-21 高表达患者中位 PFS 为 10.00 月,低表达患者中位 PFS 为 15.30 月,两组比较差异有统计学意义 ($P=0.028$),见图 3。

2.5 患者预后因素分析 对患者 PFS 进行 COX 多因素回归分析,结果显示血清 miRNA-210 和 miRNA-21 表达、组织类型、T 分期均与患者中位 PFS 显著相关,血清 miRNA-210 ($RR:1.977,95\%CI:0.985\sim3.018,P=0.009$) 和 miRNA-21 ($RR:1.853,95\%CI:0.921\sim2.776,P=0.018$) 可能是 NSCLC 患者预后的独立危险因素,见表 3。

表 3 NSCLC 患者预后多因素分析

因素	β	SE	Wald	P	RR	95%CI
性别	0.289	0.532	1.125	0.253	1.292	0.485~2.065
年龄	0.385	0.453	1.314	0.141	0.895	0.412~1.571
吸烟	0.851	0.571	2.248	0.126	1.165	0.724~1.997
组织类型	0.721	0.431	3.135	0.039	1.753	0.718~2.349
T 分期	0.215	0.396	3.892	0.032	1.401	0.653~1.728
miRNA-210	1.125	0.738	6.184	0.009	1.977	0.985~3.018
miRNA-21	1.271	0.875	5.483	0.018	1.853	0.921~2.776

3 讨论

miRNA 是一类广泛存在于真核细胞、进化保守、长度约为 20~22 个核苷酸的单链非编码小分子 RNA,可以抑制 RNA 翻译或者导致序列特异性 mRNA 降解,以调控分化、增殖、凋亡等细胞生物学行为^[7]。研究显示,占比不到人类基因组 3% 的 miRNA 却参与了多达 30% 的基因调控,超过 50% 的

miRNA 位于恶性肿瘤相关基因调控区域内,体内 miRNA 失衡可能是肿瘤发生的重要机制之一^[5]。NSCLC 发病机制复杂,miRNA 可能通过多种途径影响其发生与进展,如 miRNA-449a 在 NSCLC 低表达^[8],可能发挥抑癌作用,miRNA-214 在 NSCLC 高表达^[9],可能扮演促癌的角色,而 miRNA-125b 可能与 NSCLC 耐铂类药物化疗相关^[10]。外周循环血存在大量 miRNAs,其稳定性高、轻易不被降解,多数来自循环肿瘤细胞或肿瘤组织,常常提示相关基因的异常表达,对肿瘤早期诊断、分期、预后有一定预见作用。Chen 等^[11]通过 RT-PCR 对 400 例 NSCLC 患者和 220 例健康对照者血清 miRNA 水平检测,在 2 个阶段的选择、验证分析后,证实 miRNA-20a、miRNA-24、miRNA-25 等 10 个 miRNA 与健康对照者存在显著差异性表达。表明血清 miRNA 检测可以作为 NSCLC 无创诊断的潜在生物标志物。

本研究选择 miRNA-210 和 miRNA-21 作为 NSCLC 诊断的目标 miRNA,既往研究多以肺癌组织两种 miRNA 表达失衡为研究切入点,而两种 miRNA 在 NSCLC 患者血清学水平联合检测的价值则鲜见报道。miRNA-210 受缺氧诱导因子 1 (HIF-1)调节,在细胞对缺氧的应答过程中发挥重要作用,如血管生成、细胞周期调节、DNA 修复等,在肿瘤发生、发展过程中具有多面性,既可以表现为促癌作用,也可以抑制肿瘤进展^[12]。Osugi 等^[13]对 80 例通过外科手术治疗的 NSCLC 患者 miRNA-210 表达进行分析,证实 miRNA-210 在肿瘤组织高表达,并且和淋巴结转移、临床分期等相关,在腺癌组织过表达尤其显著,提示 miRNA-210 可能在 NSCLC 发病过程起到促癌基因作用。miRNA-21 失衡表达也与 NSCLC 发病关系密切,Xie 等^[14]从 NSCLC 患者痰液中提取 miRNA-21 进行定量分析,发现 miRNA-21 表达明显升高。Wang 等^[15]通过实验发现,在沉默 miRNA-21 后可以阻断肺癌 A549 细胞周期进程,降低细胞增殖能力,表明 miRNA-21 可能与肺癌进展相关;其团队对 NSCLC 肿瘤组织检测后证实,miRNA-21 显著高表达,并且与淋巴结转移、不良状态和危险预后呈正相关。本研究结果显示,NSCLC 组患者血清 miRNA-210 和 miRNA-21 水平明显高于良性病变组和对照组($P < 0.05$),而良性病变组和对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),提示 miRNA-210 和 miRNA-21 可能作为促癌基因在 NSCLC 发挥作用,其血清水平过表达可能是 NSCLC 诊断的潜在生物标志物。进一步分析发现,NSCLC 患者 miRNA-210 和 miRNA-21 血清水平与临床病例特征相关:血清 miRNA-210 在腺癌、T₃₋₄期患者表达明显升高($P < 0.05$),而 miRNA-21 则在腺癌、T₃₋₄期、吸烟患者呈高表达状态($P < 0.05$)。以上结果表明,miRNA-210、miRNA-21 不但参与 NSCLC 发病,并且可能还与肿瘤细胞转移、侵袭等有一定关系,对临床分期、组织分型有一定提示作用^[13,15]。

本研究将 miRNA-210 和 miRNA-21 血清水平作为 NSCLC 诊断标志物,通过 ROC 曲线分析其诊断效能,结果显示 miRNA-210、miRNA-21 可能对 NSCLC 有一定诊断价值,而二者联合应用可能有更佳诊断效能。Zhao 等^[16]的研究显示,血清 miRNA-21 诊断 NSCLC 的 AUC 为 0.812,敏感性 73.8%,特异性 71.1%。Zhu 等^[17]对 112 例 NSCLC 患者多种 miRNA 血清水平诊断价值进行研究,发现 miRNA-210 对 NSCLC 患者早期有较好的诊断价值,而其联合 miRNA-182、miRNA-183、miRNA-126 检测时 AUC 可以达到 0.965,敏感性为 81.3%,特异性为 100%,其诊断价值明显高于癌胚抗原

(CEA)。本研究结果与其类似,也提示单独一种 miRNA 用于诊断 NSCLC 能力有限,而多种 miRNA 联合检测则可以明显提升诊断效率。

miRNA 具有调控细胞生物学行为的能力,其失衡表达可以通过对细胞行为的改变而表现出机体不适应性。对恶性肿瘤而言,miRNA 失衡表达可能会影响患者预后。Wang 等^[18]对 16 篇报道文献的 7 种不同恶性肿瘤 miRNA-210 表达与预后关系进行 Meta 分析,发现 miRNA-210 高表达对乳腺癌、膀胱癌等生存时间有明显负性影响。miRNA-21 在食管鳞状细胞癌患者高表达被认为与 PFS、总生存时间缩短有明显关系^[19]。既往研究认为 miRNA-210 和 miRNA-21 可能与 I 期 NSCLC 复发相关^[20]。Donnem 等^[21]从 335 例 NSCLC 石蜡埋样标本选取 10 例长生存期和 10 例短生存期标本做 miRNA 分析,发现 miRNA-210 和 miRNA-21 在短生存期患者明显高表达,这可能与二者是肿瘤血管生成 miRNA 有关。本研究以 ROC 曲线得出临界值,证实 miRNA-210、miRNA-21 血清高表达患者中位 PFS 均显著低于低表达患者($P < 0.05$),显示 miRNA-210、miRNA-21 与疾病进展可能存在一定关系。对 PFS 进行 COX 多因素回归分析发现,血清 miRNA-210($RR: 1.977, 95\%CI: 0.985 \sim 3.018, P = 0.009$)和 miRNA-21($RR: 1.853, 95\%CI: 0.921 \sim 2.776, P = 0.018$)均是预测 NSCLC 患者 PFS 的独立危险因素。进一步证实 miRNA-210、miRNA-21 可能与疾病进展有关,可能是 NSCLC 患者预后的独立危险因素。

综上所述,NSCLC 患者血清 miRNA-210 和 miRNA-21 水平呈高表达状态,与临床特征有一定关系,二者联合检测可能对 NSCLC 的诊断有一定价值。miRNA-210、miRNA-21 可能是 NSCLC 患者预后的独立危险因素。本研究存在标本量小、无基础机制研究等缺陷,结果存在一定局限性,但是对血清 miRNA 用于 NSCLC 诊断、治疗和预后评估具有积极的探索意义,而血清 miRNA 检测用于 NSCLC 诊断还需要大样本量的数据支持,有待进一步深入研究和探讨。

参考文献

- [1] Hirsch FR, Bunn PA. Adjuvant TKIs in NSCLC: what can we learn from RADIANT? [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(12):689-690.
- [2] Stolz AJ, Harustiak T, Simonek J, et al. Pneumonectomy for non-small cell lung cancer: predictors of early mortality and morbidity[J]. *Acta Chir Belg*, 2014, 14(1):25-30.
- [3] Stolz A, Pafko P, Harustiak T, et al. Risk factor analysis for early mortality and morbidity following pneumonectomy for non-small cell lung cancer[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2011, 112(4):165-169.
- [4] Toshiyuki N, Kimura T, Suzumura T, et al. The Macroscopic appearance of computed tomography-guided needle biopsy specimens correlates with tumor metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *Osaka City Med J*, 2015, 61(2): 105-112.
- [5] Li R, Pu X, Chang JY, et al. MiRNA-related genetic variations associated with radiotherapy-induced toxicities in patients with locally advanced non-small cell lung cancer [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0150467.
- [6] Gillis AJ, Ruffarscan MA, Eini R, et al. Targeted serum

- miRNA (TSmiR) test for diagnosis and follow-up of (testicular) germ cell cancer patients; a proof of principle [J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(6):1083-1092.
- [7] Xu J, Li Y, Li X, et al. Dissection of the potential characteristic of miRNA-miRNA functional synergistic regulations[J]. *Mol Biosyst*, 2013, 9(2):217-224.
- [8] Luo W, Huang B, Li Z, et al. MicroRNA-449a is downregulated in non-small cell lung cancer and inhibits migration and invasion by targeting c-Met[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e64759.
- [9] Salim H, Akbar NS, Zong D, et al. miRNA-214 modulates radiotherapy response of non-small cell lung cancer cells through regulation of p38MAPK, apoptosis and senescence[J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(8):1361-1373.
- [10] Cui EH, Li HJ, Hua F, et al. Serum microRNA 125b as a diagnostic or prognostic biomarker for advanced NSCLC patients receiving cisplatin-based chemotherapy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(2):309-313.
- [11] Chen X, Hu Z, Wang W, et al. Identification of ten serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as novel noninvasive biomarkers for non-small cell lung cancer diagnosis[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(7):1620-1628.
- [12] Colleoni F, Padmanabhan N, Yung HW, et al. Suppression of mitochondrial electron transport chain function in the hypoxic human placenta; a role for miRNA-210 and protein synthesis inhibition [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e55194.
- [13] Osugi J, Kimura Y, Owada Y, et al. Prognostic Impact of Hypoxia-Inducible miRNA-210 in Patients with Lung Adenocarcinoma[J]. *J Oncol*, 2015(2015):316745.
- [14] Xie Y, Todd NW, Liu Z, et al. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2010, 67(2):170-176.
- [15] Wang XC, Wang W, Zhang ZB, et al. Overexpression of miRNA-21 promotes radiation-resistance of non-small cell lung cancer[J]. *Radiat Oncol*, 2013, 8(1):1-9.
- [16] Zhao W, Zhao JJ, Zhang L, et al. Serum miR-21 level: a potential diagnostic and prognostic biomarker for non-small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9):14759-14763.
- [17] 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.
- [18] Wang J, Zhao J, Shi M, et al. Elevated expression of miR-210 predicts poor survival of cancer patients; a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e89223.
- [19] Li BX, Yu Q, Shi ZL, et al. Circulating microRNAs in esophageal squamous cell carcinoma; association with locoregional staging and survival[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5):7241-7250.
- [20] Duncavage E, Goodgame B, Sezhiyan A, et al. Use of microRNA expression levels to predict outcomes in resected stage I non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(11):1755-1763.
- [21] Donnem T, Fenton CG, Lonvik K, et al. MicroRNA signatures in tumor tissue related to angiogenesis in non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e29671.

(收稿日期:2016-08-26 修回日期:2016-11-11)

(上接第 907 页)

- [8] 闵锐,汪琼,张霄艳,等.我国现代医院管理制度的保障机制研究[J].*中国医院管理*, 2014, 34(10):10-12.
- [9] Resar R, Pronovost P, Haraden C, et al. Using a bundle approach to improve ventilator care processes and reduce ventilator-associated pneumonia[J]. *Jt Comm J Qual Patient Saf*, 2005, 31(5):243-248.
- [10] Löw M, Jaschinski U. Intrahospital transport of critically ill patients[J]. *Anaesthetist*, 2009, 58(1):95-105.
- [11] Choi HK, Shin SD, Ro YS, et al. A before- and after-intervention trial for reducing unexpected events during the intrahospital transport of emergency patients[J]. *Am J Emerg Med*, 2012, 30(8):1433-1440.
- [12] Fanara B, Manzon C, Barbot O, et al. Recommendations for the intra-hospital transport of critically ill patients [J]. *Crit Care*, 2010, 14(3):1-10.
- [13] Jarden RJ, Quirke S. Improving safety and documentation in intrahospital transport; development of an intrahospital transport tool for critically ill patients[J]. *Intensive Crit Care Nurs*, 2010, 26(2):101-107.
- [14] Pope BB. Provide safe passage for patients[J]. *Nurs Manage*, 2003, 34(9):41-46.
- [15] Roland D, Howes C, Stickles M, et al. Safe intrahospital transport of critically ill obese patients[J]. *Bariatric Nurs Surg Patient Care*, 2010, 5(1):65-70.
- [16] Hales BM, Pronovost PJ. The checklist—a tool for error management and performance improvement [J]. *J Crit Care*, 2006, 21(3):231-235.
- [17] Markakis C, Dalezios M, Chatzicostas C, et al. Evaluation of a risk score for interhospital transport of critically ill patients[J]. *Emerg Med J*, 2006, 23(4):313-317.
- [18] Warren J, Fromm RE, Orr RA, et al. Guidelines for the inter- and intrahospital transport of critically ill patients [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(1):256-262.
- [19] Alamanou DG, Brokalaki H. Intrahospital transport policies; The contribution of the nurse[J]. *Curr Health Sci J*, 2014, 40(1):166-174.

(收稿日期:2016-07-14 修回日期:2016-11-20)