

食管癌和良性食管疾病患者血浆 miRNA-21 和 miRNA-143 检测的临床应用研究^{*}

肖小平¹, 张 熊^{2a}, 秦光明^{2b} (1. 西安市第八医院检验科, 西安 710061;
2. 咸阳市第一人民医院 a. 检验科; b. 消化内科, 陕西咸阳 712000)

摘要:目的 探讨血浆微小 RNA(microRNA, miRNA)-21, miRNA-143 水平在鉴别早期食管癌和良性食管疾病中的临床应用。方法 收集 27 例早期食管癌患者(食管癌组)和 25 例良性食管疾病患者(良性食管疾病组)的血液及临床资料, 并设立健康对照组, 采用实时荧光定量 PCR(real-time-PCR, RT-PCR)技术检测研究对象血浆 miRNA-21, miRNA-143 水平的表达, 采用电化学发光技术检测血浆 CEA 和 CA72-4 水平, 探讨两标志物的变化与食管癌和良性食管疾病之间的关系。结果 食管癌组血浆 miRNA-21, miRNA-143 的表达量分别为 0.93 ± 0.17 和 0.27 ± 0.05 ; 两标志物在良性食管疾病组的表达量分别为 0.25 ± 0.03 和 0.99 ± 0.15 ; 两标志物在对照组的表达量分别为 0.23 ± 0.03 和 1.02 ± 0.15 。食管癌组 miRNA-21, miRNA-143 表达量分别与良性食管疾病组比较呈现上调、下调, 差异有统计学意义($t=10.87, 11.55$, 均 $P<0.01$), 与对照组比较呈现上调、下调, 差异有统计学意义($t=9.20, 9.07$, 均 $P<0.01$)。良性食管疾病组血浆 miRNA-21, miRNA-143 表达量与对照组比较差异则无统计学意义($t=1.39, 1.19$, 均 $P>0.05$)。血浆 miRNA-21, miRNA-143 分别在食管癌组、良性食管疾病组和对照组的阳性率分别为 81.5%(22/27), 4.0%(1/25), 0(0/24); 85.2%(23/27), 4.0%(1/25), 0(0/24)。食管癌组 miRNA-21, miRNA-143 阳性率分别与良性食管疾病组和对照组比较增高, 差异有统计学意义($\chi^2=31.59, 34.39$, 均 $P<0.01$; $\chi^2=34.42, 37.23$, 均 $P<0.01$), 良性食管疾病组两标志物水平与对照组比较差异则无统计学意义($\chi^2=0.980, 0.980$, 均 $P<0.01$)。血浆 miRNA-21, miRNA-143 诊断早期食管癌的敏感度及特异度分别为 81.4%, 97.9%; 85.1%, 97.9%。食管癌组 miRNA-21, miRNA-143 的灵敏度分别与 CEA 和 CA72-4 比较明显增高, 差异有统计学意义($\chi^2=12.79, P<0.01$; $\chi^2=5.33, P<0.05$; $\chi^2=15.03, P<0.01$; $\chi^2=6.95, P<0.05$)。食管癌组 miRNA-21, miRNA-143 的特异度分别与 CEA 和 CA72-4 比较, 差异无统计学意义($\chi^2=1.043, 0.000$, 均 $P>0.05$, $\chi^2=1.043, 0.000$, 均 $P>0.05$)。采用 Spearman 相关性分析显示, 在食管癌组中, 血浆 miRNA-21, miRNA-143 表达量呈负相关($r=-0.658, P<0.01$)。在该组中 miRNA-21, miRNA-143 表达量分别与 CEA 和 CA72-4 水平也具有相关性($r=0.607, -0.623$, 均 $P<0.01$; $r=0.579, -0.610$, 均 $P<0.01$)。结论 通过检测 miRNA-21, miRNA-143 水平在早期食管癌和良性食管疾病患者血浆中的表达, 为早期食管癌的病理诊断提供新的思路。

关键词: 食管癌; 良性食管疾病; 实时荧光定量 PCR(RT-PCR); miRNA-21; miRNA-143

中图分类号: R735.1; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2017)04-072-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.020

Clinical Research of Detecting Plasma MiRNA-21 and MiRNA-143 for Identifying Early Esophageal Cancer and Benign Esophageal Diseases

XIAO Xiao-ping¹, ZHANG Xiong^{2a}, QIN Guang-ming^{2b}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Eighth Hospital of Xi'an City, Xi'an 710061, China;

2a. Department of Clinical Laboratory, 2b. Department of Gastroenterology,
the First People's Hospital of Xianyang City, Shaanxi Xianyang 712000, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical significance of detection of plasma microRNA-21, -143 in identifying early esophageal cancer and esophageal non-tumor diseases. **Methods** The expression of plasma microRNA-21, -143 in 27 cases of patients with early esophageal cancer (esophagus cancer group), 25 cases of patients with non-esophageal tumor (non-esophageal tumor group) and in the healthy controls were detected by RT-PCR, and detected the levels of plasma CEA and CA72-4 by the electrochemical luminescence technology, which of changes were analysed to observe the relationship between the changes and the esophageal cancer, the benign esophageal diseases for the two markers. **Results** The expression of plasma microRNA-21, -143 in the esophagus cancer group were 0.93 ± 0.17 , 0.27 ± 0.05 , which of ones in the non-esophagus cancer group were 0.25 ± 0.03 , 0.99 ± 0.15 , and with those in the control group were 0.23 ± 0.03 , 1.02 ± 0.15 . Compared with those in the non-esophagus cancer group, the expression of plasma microRNA-21, -143 were obviously up or down-regulated with significant differences ($t=10.87, 11.55, P<0.01$). Compared with those in the control group, which of ones were obviously up or down-regulated with significant differences ($t=9.20, 9.07, P<0.01$), and with no statistical significances in

^{*} 作者简介: 肖小平(1968—), 男, 本科学历, 主管检验师, 研究方向: 肿瘤标志物的检测, E-mail: 418079040@qq.com。

通讯作者: 张 熊(1968—), 男, 本科学历, 副主任检验师, 研究方向: 食管疾病的诊断, E-mail: 407205950@qq.com。

comparison between the esophagus cancer group and the control group ($t=1.39, 1.19, P>0.05$). The positive rate of plasma microRNA-21, -143 in the esophageal cancer, non-esophagus cancer group and the control group were, 81.4% (22/27), 4.0% (1/25) and 0 (0/24); 85.1% (23/27), 4.0% (1/25), and 0 (0/24), respectively. The positive rate of microRNA-21, -143 in the esophageal group respectively in comparison with those in the non-esophagus cancer group and the control group were significantly higher, the differences had statistical significances ($\chi^2=31.59, 34.39, P<0.01$; $\chi^2=34.42, 37.23, P<0.01$). The expression of two markers in the esophagus cancer group were no statistically significant differences compared with control group ($\chi^2=0.980, 0.980, P>0.05$). The sensitivity and specificity of microRNA-21, -143 in early diagnosis on the esophageal cancer were 81.4%, 97.9% and 85.1%, 97.9%. The sensitivity of microRNA-21, -143 in the esophageal group were significantly higher compared with those of CEA and CA72-4, the differences were statistically significant ($\chi^2=12.79, P<0.01$; $\chi^2=5.33, P<0.05$; $\chi^2=15.03, P<0.01$; $\chi^2=6.95, P<0.05$). The specificity of microRNA-21, -143 in the esophageal cancer group were no statistically significant differences in comparison with those of CEA and CA72-4 ($\chi^2=1.043, 0.000, P>0.05$) and ($\chi^2=1.043, 0.000, P>0.05$), respectively. The analysis results from the spearman correlation test showed that in the esophageal cancer group, the expression of plasma microRNA-21, -143 had a negative correlation ($r=0.658, P<0.01$). Which of ones respectively associated with the levels of CEA and CA72-4 ($r=0.607, 0.623, P<0.01$ and $r=0.579, 0.610, P<0.01$). **Conclusion** The detection of expression of plasma miRNA-21, miRNA-143 in the patients with the early esophageal cancer and non-esophageal tumor can provide a new train of thought for pathologic diagnosis of early esophageal cancer.

Keywords: the early esophageal cancer; the benign esophageal diseases; RT-PCR; miRNA-21; miRNA-143

食管癌为我国常见恶性肿瘤之一。其早期症状不明显,主要症状为胸骨后不适、烧灼感、针刺样痛或牵拉样痛,进食通过缓慢并有滞留的感觉。而一些良性食管疾病患者如贲门失弛缓症、胃食管反流病等均有吞咽困难和胸痛等症状^[1]。因此食管癌与一些良性食管疾病的鉴别诊断常受到临床的关注。miRNAs是长约18~24个核苷酸的非编码单链RNA分子,通过与靶mRNA结合或直接降解mRNA来抑制靶基因的翻译,从而干扰编码蛋白基因的表达^[2]。研究表明miRNA广泛参与肿瘤的各个方面,例如肿瘤的血管生成、侵袭和转移等^[3]。本研究通过实时逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术分析食管癌与一些良性食管疾病患者的血浆miRNA-21, miRNA-143的表达状况,探讨这两种标志物与相关病理因素间的关系,旨在为食管癌的早期诊断提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2013年9月~2016年9月在本院收治的27例食管癌患者血液标本及临床资料,其中男性19例,女性8例,均为汉族,年龄46~77岁,平均年龄 59.8 ± 13.5 岁。另外选取25例同期良性食管疾病患者(包括反流性食管炎14例,贲门失弛缓症9例,食管憩室2例),男性12例,女性为13例,均为汉族,年龄45~79岁,平均年龄 37.7 ± 12.9 岁。再选取24例同期无任何肿瘤病史的健康体检者作为对照组,男性13例,女性11例,均为汉族,年龄43~79岁,平均年龄 47.3 ± 13.7 岁。所有食管癌患者经消化内镜活检病理证实,均为鳞状细胞癌(I期14例,II期13例)。所有病例术前均未接受过任何放疗或化疗并且无伴有其他系统器质性、传染性疾病和口腔疾病,如肝

炎、糖尿病或口腔溃疡等。食管病例病理分期均为pT1NO的早期食管鳞癌根治病例,手术时均未发现淋巴结及远处转移。贲门失弛缓症患者症状为近3个月出现反复发作或持续性的吞咽困难;行胃镜检查,食管造影或其他相关影像学检查排除食管占位性病变和炎性狭窄,并经高分辨食管压力地形图技术^[4]确诊为贲门失弛缓症。反流性食管炎患者均行胃镜检查确诊。食管憩室患者均行吞钡X线检查确诊,同时作食管镜检排除癌变。本研究经本院伦理委员会批准,所有研究标本的收集均获得患者知情同意,所有病理切片均经病理医师再次阅片复诊。

1.2 试剂和仪器 RNA提取miRNA-21, miRNA-143的检测采用miRVana PARIS Kit(Ambion)试剂盒。lightCycler荧光PCR仪和全自动化学发光分析仪采用德国Roche公司产品。

1.3 研究方法

1.3.1 血浆样本的收集:采集4 ml外周静脉血,采用EDTA抗凝。4℃, 3 000 r/min离心15 min后取上清液1.5 ml存至离心管,再在4℃,以12 000 r/min离心10 min后弃沉淀取上清液置-80℃保存。

1.3.2 检测方法:采用实时逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术研究食管疾病患者血浆miRNA-21, miRNA-143的表达状况,应用电化学发光技术检测食管疾病患者血浆CEA和CA72-4水平。

1.3.3 RNA提取:采用Trizol法提取血浆中的RNA。取1.5 ml样本,按照试剂盒的操作说明抽提总RNA,使用30 μ l无核酸酶水溶解RNA置-80℃保存。

1.3.4 PCR扩增:用pfimer5软件设计引物,RT-

PCR引物序列如下:miRNA-21:上游5'-AACCUGAUCGCGUCUGAGAUUGG-3',下游5'-CCGGAUCAAGAUUAGUUCGGUU-3',扩增产物为320bp;miRNA-143:上游5'-TGTTAGTTTCGAGTTAGTGTCGCGC-3',下游5'-CCTACGATCGAAAACGACCCGAACG-3',扩增产物为355bp;内参采用 β -actin:上游5'-AGCGGGTCTGACGTAAAGCGA-3',下游5'-GTGGACGGGAGAGGACTGG-3',扩增产物为630bp。取2 μ l RNA,加入2 μ l的RT Primer和7 μ l的无核酸酶水。70℃反应10 min后立即冰浴2 min。然后在上述混合物中加入5 μ l RT buffer,2 μ l dNTP(2.5 mmol/L),0.5 μ l RT 酶(200 U/ μ l),6 μ l ddH₂O,然后继续进行逆转录,反应条件为42℃ 60 min,70℃ 10 min,4℃保存。放入12 g/dl 琼脂糖凝胶电泳,电泳条件为120 V,100 mA,30 min后,用花青素染色,使用扫描仪扫描并保存结果。

1.3.5 基因片段序列测定和分析:使用测序仪对PCR产物进行序列测定。将测序结果通过BLAST应用软件和GenBank中的已知序列进行同源性比较。miRNA-21,miRNA-143表达量用Ct值变化(Δ Ct)表示。 Δ Ct=XnCt- β -actinCt, β -actinCt是内参的Ct值,XnCt表示试验组的Ct平均值。miRNA-21,miRNA-143的相对表达量为 $2^{-\Delta$ Ct}。

1.4 统计学分析 应用SPSS 21统计软件进行数据分析。计数资料比较采用卡方检验,计量资料以均数±标准差(\bar{x} ±s)表示,采用t检验,相关性分析采用Pearson法,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肿瘤标志物水平比较 见表1。

表1 各组血浆CEA和CA72-4阳性率比较[% (n)]

组别	n	CEA	CA72-4
对照组	24	4.1(1)	0(0)
良性食管疾病组	25	8.0(2) ^a	4.0(1) ^a
食管癌组	27	33.3(9) ^{bc}	51.8(14) ^{bc}

注:CEA:癌胚抗原;CA72-4:糖类抗原-72-4;与对照组比较,^a $\chi^2=0.319,0.980, P>0.05$; ^b $\chi^2=3.59,12.24, P<0.05, 0.01$; ^c与良性食管疾病组比较, $\chi^2=5.13,14.64, P<0.05, 0.01$ 。

食管癌组血浆CEA和CA72-4水平分别与良性食管疾病组和对照组比较显著增高,差异有统计学意义(P<0.05或P<0.01)。良性食管疾病组两指标水平与对照组比较差异无统计学意义(均P>0.05)。

2.2 各组血浆miRNA-21,miRNA-143表达量比较 见表2。

食管癌组miRNA-21,miRNA-143表达量分别与良性食管疾病组和对照组比较明显上调、下调,差异有统计学意义($t=9.20,9.07, P<0.01$; $t=10.87,11.55, P<0.01$)。良性食管疾病组和对照组miRNA-21,miRNA-143表达量比较,差异无统计学意义($t=1.39,1.19, P>0.05$)。

表2 各组血浆miRNA-21,miRNA-143表达量比较(\bar{x} ±s)

组别	n	miRNA-21	miRNA-143
对照组	24	0.23±0.03	1.02±0.15
良性食管疾病组	25	0.25±0.03	0.99±0.15
食管癌组	27	0.93±0.17	0.27±0.05

2.3 各组血浆miRNA-21,miRNA-143阳性率比较 食管癌组miRNA-21,miRNA-143阳性率(81.4%,85.1%)分别与良性食管疾病组(4.0%,4.0%)和对照组(0%,0%)比较显著增高,差异有统计学意义($\chi^2=34.39,37.23, P<0.01$; $\chi^2=31.59,34.42, P<0.01$)。良性食管疾病组两标志物水平与对照组比较差异则无统计学意义($\chi^2=0.980,0.980, P>0.05$)。

2.4 各组miRNA-21,miRNA-143与肿瘤标志物灵敏度和特异度比较 食管癌组miRNA-21,miRNA-143的灵敏度(81.4%,85.1%)分别与CEA和CA72-4的灵敏度(33.3%,51.8%)比较明显增高,差异有统计学意义($\chi^2=12.79, P<0.01$; $\chi^2=5.33, P<0.05$; $\chi^2=15.03, P<0.01$; $\chi^2=6.95, P<0.05$)。食管癌组miRNA-21,miRNA-143的特异度(97.9%,97.9%)分别与CEA和CA72-4的特异度(93.8%,97.9%)比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.043,0.000, P>0.05$; $\chi^2=1.043,0.000, P>0.05$)。

2.5 血浆miRNA-21,miRNA-143表达量的相关性分析 采用Spearman相关性分析显示,在食管癌组中,血浆miRNA-21,miRNA-143表达量呈负相关($r=-0.658, P=0.000$)。在该组中miRNA-21,miRNA-143表达量分别与CEA和CA72-4水平也具有相关性($r=0.607, -0.623, P<0.01$; $r=0.579, -0.610, P<0.01$)。

3 讨论 大量的研究表明,miRNAs不仅与食管癌的病因学有着广泛的联系,还可广泛用于食管癌的早期诊断、组织学分类、临床预后评估及基因治疗。近年来的研究发现^[5],miRNA-21是人类发现较早的microRNAs之一,在多种肿瘤组织和细胞中呈现过量表达,且与肿瘤的发生、转移和治疗耐药等密切相关。有研究^[6]采用RT-PCR技术分析60例食管鳞癌患者组织miRNA-21的表达水平,研究其与食管鳞癌的临床病理特征、放疗疗效及预后的相关性。结果显示其与肿瘤大小、淋巴结和远处转移明显相关,且miRNA-21的表达水平

与食管癌的放疗敏感性呈现负相关,因此推测组织中过量表达的 miRNA-21 对食管癌的放疗可能产生抵抗作用。Komatsu 等^[7]检测食管鳞状细胞癌患者的血浆 miRNAs 水平,通过多因素分析发现血浆 miRNA-21 水平高表达,miRNA-375 水平低表达是疾病预后的独立影响因素。推测 miRNA-21 可应用于食管鳞状细胞癌的早期监测。本研究通过 RT-PCR 技术研究显示食管鳞状细胞癌患者血浆 miRNA-21 的表达水平显著高于良性食管疾病组和对照组患者($P<0.01$),而该标志物在良性食管疾病组和对照组中的差异则无统计学意义($P>0.05$)。进一步提示 miRNA-21 在早期食管鳞癌和良性食管疾病的诊断中起着重要作用,可作为鉴别这两类疾病的重要分子标记物。

miRNA-21 作为一种癌基因参与了食管癌的发生、发展,它将作为一个新的分子标志物为食管癌的早期诊断和治疗提供重要的价值。但是 miRNA-21 调控食管癌发生和发展的分子机制尚不明确,有待于进一步研究证实。因此,研究调控食管癌的相关靶基因及其相关的分子信号通路将是我们下一步的研究重点方向。

目前,据许多文献报道^[8],miRNA-143 的异常表达(主要是低表达)在多种肿瘤中得以描述,推测其可能是普遍的肿瘤相关 miRNA。有研究通过高通量芯片技术筛选出在胃癌原发灶与肝转移灶中有显著差异表达的 miRNAs,并在体外细胞实验中观察它们对胃癌转移的抑制作用,结果发现 miRNA-143 和 miRNA-145 在胃癌组织中的表达明显低于癌旁正常组织,在转移灶中的表达明显低于原发灶^[8]。Michaei 等^[9]在 2003 年报道 miR-143 和 miR-145 在结直肠癌组织中表达明显降低。随后,多项研究证实 miRNA-143 和 miRNA-145 在食管癌、胃癌和结直肠癌组织中呈现表达下调^[10~15]。Ni 等^[16]研究发现 miRNA-143 和 miRNA-145 在食管鳞癌组织中表达显著降低,其和肿瘤浸润及淋巴结转移呈负相关,显示其在食管癌发生过程中起抑癌基因的作用。食管癌患者血浆中的 miRNA-143 表达也基本印证了上述的观点。本研究显示食管癌组血浆 miRNA-143 的表达水平显著低于良性食管疾病组和对照组患者($P<0.01$)。提示 miRNA-143 在早期食管鳞状细胞癌中的表达受到抑制,显示其可作为诊断早期食管鳞状细胞癌的较好的分子生物学标志物。

综上所述,miRNA-143 在多数恶性肿瘤中是低表达的,提示其具有抑癌样 miRNAs 的作用。这些都充分证明,miRNA-143 通过对靶基因的调控参与细胞的分化、增殖、凋亡和转移^[8]。由于

miRNAs 在各种肿瘤中的作用靶基因并不相同,因此进一步在分子水平研究 miRNA-143 的生物学功能,作用靶分子及其信号通路,将更有助于我们深入地了解其在食管鳞癌中的作用机制,促进其有效地应用于临床诊断和治疗。

本文通过 Pearson 相关性分析显示食管癌组 miRNA-21 与 miRNA-143 表达有负相关性($P<0.01$),该组中两标志物的表达与 CEA 和 CA72-4 水平也具有相关性($P<0.01$),提示上述分子标志物与食管癌的病理变化密切相关,在该病变的鉴别诊断中有一定的临床意义。有研究^[17]通过构建 ROC 曲线分析显示,联合检测血清 miRNA-141, miRNA-143 在诊断非小细胞性肺癌中的灵敏度和特异度分别为 95% 和 85%。还有报道^[18]认为血浆 miRNA-21 在诊断早期食管癌中的灵敏度和特异度分别为 97% 和 56%。本研究结果显示,两标志物检测早期食管癌的灵敏度高于良性食管疾病($P<0.01$),且其也明显高于 CEA 和 CA72-4 检测早期食管癌的灵敏度($P<0.01$)。因此,检测血浆 miRNA-21 与 miRNA-143 水平可增加早期食管鳞癌的检出率,并且为早期食管鳞癌和良性食管疾病的鉴别诊断提供新的思路。

参考文献:

- [1] 葛均波,徐永健.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:360-362.
Ge JB, Xu YJ. Internal medicine[M]. 8th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013:360-362.
- [2] 刘冲,唐浩,邓霖,等.血清 miRNA-186, miRNA-30c 在肝细胞性癌中诊断价值的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6): 44-47.
Liu C, Tang H, Deng L, et al. Research of diagnostic application of serum miRNA-186 and miRNA-30c in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(6): 44-47.
- [3] 黄辰,刘利英,倪磊,等.肿瘤 miRNAs 调控机制的研究进展与展望[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 36(4): 429-434.
Huang C, Liu LY, Ni L, et al. Outlook and advances in research on miRNA in cancer[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University(Medical Sciences), 2015, 36(4): 429-434.
- [4] Fox MR, Bredenoord AJ. Oesophageal high-resolution manometry: moving from research into clinical practice[J]. Gut, 2008, 57(3): 405-423.
- [5] Nouraei N, Van Roosbroeck K, Vasei M, et al. Expression, tissue distribution and function of miR-21 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e73009.
- [6] 王光,陆业婷,石志来. microRNA-21 预测食管癌放疗敏感性和预后的意义[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(22): 3259-3261.
Wang G, Liu YT, Shi ZL. Predictive value of microRNA-21 in radio sensitivity and prognosis of esophageal cancer[J]. Journal of Modern Oncology, 2015, 23(22): 3259-3261.

(下转 139 页)

- [7] Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, et al. Prognostic impact of circulating miR-21 and miR-375 in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12(Suppl 1): S53-S59.
- [8] 邢晓芳, 李子禹. miR-143 和 miR-145 在胃癌中的表达及功能研究[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2015, 18(1): 50-53.
Xing XF, Li ZY. Expression in miR-143 and miR-145 and their functional study in gastric carcinoma[J]. *Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2015, 18(1): 50-53.
- [9] Michael MZ, O'Connor SM, Van Holst Pellekaan NG, et al. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(12): 882-891.
- [10] Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, et al. Decreased expression of microRNA-143 and-145 in human gastric cancers[J]. *Oncology*, 2009, 77(1): 12-21.
- [11] Chen X, Guo X, Zhang H, et al. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2009, 28(10): 1385-1392.
- [12] Borralho PM, Simoes AE, Gomes SE, et al. Mir-143 overexpression impairs growth of human colon carcinoma xenografts in mice with induction of apoptosis and inhibition of proliferation[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23787.
- [13] Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNAs 143 and 145 are possible common on eo-microRNAs in human cancers[J]. *Oncol Rep*, 2006, 16(4): 845-850.
- [14] Kano M, Seki N, Kikkawa N, et al. miR-145, miR-133a and miR-133b: Tumor suppressive miRNAs target FSCN1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2804-2814.
- [15] Bandres E, Cubedo E, Agirre X, et al. Identification by real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues[J]. *Mol Cancer*, 2006(5): 29.
- [16] Ni Y, Meng L, Wang L, et al. MicroRNA-143 functions as a tumor suppressor in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Gene*, 2012, 517(2): 197-204.
- [17] 王雨涵, 王洁, 张洪为, 等. 血清 miR-141 和 miR-143 联合检测非小细胞性肺癌的诊断价值[J]. *重庆医学*, 2015, 44(7): 904-906.
Wang YH, Wang J, Zhang HW, et al. Serum miR-141 and miR-143 as biomarkers for detection of non-small cell lung cancer[J]. *Chongqing Medicine*, 2015, 44(7): 904-906.
- [18] 叶敏华, 叶鹏辉, 张伟珠, 等. 唾液与血浆微小 RNA-21 对早期食管癌的诊断价值[J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(6): 885-889.
Ye MH, Ye PH, Zhang WZ, et al. Diagnostic value of salivary versus plasma microRNA-21 for early esophageal cancer[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2014, 34(6): 885-889.