

肾细胞癌患者癌组织和血清微囊泡 miR-378 表达水平的临床应用价值研究

张明威^a, 陈 阳^a, 王 静^a, 葛京平^b, 张春妮^a, 汪俊军^a, 王 成^a

(中国人民解放军东部战区总医院 a. 检验科; b. 泌尿外科, 南京 210002)

摘要: **目的** 检测肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 患者癌组织和血清微囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 中微小核糖核酸 (micro ribonucleic acid, miR)-378 表达变化, 评估其对于 RCC 辅助诊断价值。**方法** 收集 2014 年 1 月~2018 年 12 月东部战区总医院泌尿外科初收的 RCC 患者癌组织和癌旁组织 40 对; 同时, 收集 RCC 患者及年龄、性别匹配的健康对照血清标本各 60 例。运用实时荧光定量聚合酶链反应技术 (real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测组织、血清 EVs 中 miR-378 表达水平变化, 评估 RCC 癌组织和患者血清 EVs 中 miR-378 表达水平测定对于患者辅助诊断价值, 进一步通过生物信息学分析 miR-378 参与 RCC 的生理病理功能。**结果** qRT-PCR 结果显示, 与癌旁正常组织 [0.134 (0.054, 0.546)] 相比, miR-378 在 RCC 组织中 [0.050 (0.016, 0.137)] 表达显著降低, 差异有统计学意义 ($Z = -3.481$, $P = 0.003$); 同时, RCC 患者血清 EVs 中 miR-378 水平 [8.295 (4.930, 15.60)] 与健康对照 [3.501 (2.005, 6.853)] 相比显著升高, 差异具有统计学意义 ($U = 850$, $P < 0.001$)。受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic, ROC) 分析结果显示, 组织中 miR-378 相对含量对于 RCC 患者诊断的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.665 (95% CI: 0.544 ~ 0.786); 血清 EVs 中 miR-378 水平对于 RCC 诊断的 AUC 为 0.764 (95% CI: 0.680 ~ 0.848)。生物信息学分析 miR-378 功能结果显示: miR-378 主要涉及的生物过程有分解代谢、细胞骨架蛋白调节和蛋白激酶活力调节。**结论** RCC 癌组织和血清 EVs 中 miR-378 表达测定对于 RCC 患者具有一定的辅助诊断价值, 其中血清 EVs miR-378 测定更具优势; miR-378 可通过调控多种生物学过程及功能参与 RCC 发生发展。

关键词: 肾细胞癌; 微小核糖核酸-378; 微囊泡

中图分类号: R737.11; R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 02-001-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.001

Clinical Value of miR-378 Expression Levels in Tumor Tissue and Serum Extracellular Vesicles for Renal Cell Carcinoma Patients and Its Function Prediction

ZHANG Ming-wei^a, CHEN Yang^a, WANG Jing^a, GE Jing-ping^b, ZHANG Chun-ni^a, WANG Jun-jun^a, WANG Cheng^a

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Urology, General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, China)

Abstract: Objective To evaluate the clinical value of miR-378 measurement in tumor tissue and serum extracellular vesicles (EVs) for renal cell carcinoma (RCC) patients, and further predict the biological functions of miR-378 that involved in RCC. **Methods** A total of 40 RCC tissues as well as 40 corresponding adjacent normal tissues were obtained from the Department of Urology, General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, between January 2014 and December 2018. In the meanwhile, serum samples from 60 RCC patients and 60 age-gender matched controls were also recruited from the department of clinical laboratory in the same hospital. Subsequently, TaqMan hydrolysis probe-based quantitative real-time PCR (RT-qPCR) was applied to determine the expression levels of miR-378 in the RCC tissues and serums, and the auxiliary diagnostic values of miR-378 for RCC were evaluated by multiple statistical methods. Moreover, the biological functions of miR-378 that involved in RCC were also predicted and analyzed by bioinformatics' tools. **Results** RT-qPCR results showed that the relative expression levels of miR-378 were declined in RCC tissues [0.050 (0.016, 0.137)] as compared with adjacent normal tissues [0.134 (0.054, 0.546)], the difference was statistically significant ($Z = -3.481$, $P = 0.003$). Nevertheless, the expression levels of miR-378 in serum EVs were markedly elevated in RCC patients when compared with control subjects [(8.295 (4.930, 15.60) vs 3.501 (2.005, 6.853)], the difference was statistically significant ($U = 850$, $P < 0.001$). Receiver operating characteristic curve (ROC)

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81772282)。

作者简介: 张明威 (1988-), 男, 本科, 检验技师, 主要从事临床检验诊断学工作及研究, E-mail: 13110381@qq.com。

通讯作者: 王成 (1985-), 男, 博士, 主管技师, 主要从事临床生物化学与分子生物学检验及研究工作, E-mail: wangchengnju@163.com。

analysis showed that the area under curve (AUC) for RCC discrimination was 0.665 (95% CI: 0.544 ~ 0.786) for tissue miR-378 and 0.764 (95% CI: 0.680 ~ 0.848) for serum EV miR-378, respectively. Further bioinformatic analysis revealed that miR-378 was mainly involved in transcriptional regulation, positive regulation of catabolic process, response to lipopolysaccharide, regulation of actin cytoskeleton, and regulation of protein kinase activity. **Conclusion** The dysregulated expression levels of miR-378 in RCC tissues and sera EV have the potential as non-invasive biomarker for RCC auxiliary diagnosis, and miR-378 may involve in RCC occurrence and development through regulating multiple biological process.

Keywords: renal cell carcinoma; miR-378; extracellular vesicles

肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 是一种原发于肾实质泌尿小管上皮系统的恶性肿瘤, 其发病率居于泌尿系统恶性肿瘤第二位, 死亡率居第一位, 且仍呈现出明显增长趋势, 防治形势极为严峻^[1]。RCC 的发病机制尚不明确, 临床亦缺乏有价值的血清学标志物, 因此, 寻找和鉴定有价值的血清学标志物仍是诊治亟需解决的重要临床问题^[2]。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 是一类长度约为 22 个核苷酸的非编码单链小分子核糖核酸, 与多种恶性肿瘤包括 RCC 密切相关, 在肿瘤的发生、发展中扮演着“原癌基因”和“抑癌基因”的双重角色。人外周血中也存在丰富、稳定表达的 miRNA, RCC 患者特定变化的 miRNA 具备作为 RCC 新型非侵入性分子标志物潜能。目前, 已鉴定出多种在 RCC 患者外周血中显著变化的 miRNA。miR-378 定位于人 5 号染色体 (5 号染色体: 149,732,825-149,732,890), 报道显示其在 RCC 患者外周血中显著变化, 但不同研究结果呈现出明显的不一致甚至相互矛盾, 因此其变化趋势及临床价值仍有待进一步证实和探讨^[3-6]。近年来研究显示, 外周血循环 miRNA 可包裹于细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs), 且 EVs miRNA 的检测较循环 miRNA 更具价值^[7], 但目前 RCC 患者外周血 EVs 中 miR-378 的变化及临床价值尚不清楚。同时, RCC 组织和 EVs 中 miR-378 的表达变化或可为前期研究结果不一致提供新的线索。因此, 本文针对 RCC 患者组织和外周血 EVs 中 miR-378 的表达变化进行检测和分析, 并对其功能进行生物信息学分析, 以期初步明确患者外周血及外周血 EVs 中 miR-378 变化、价值及潜在的生物学功能。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2014 年 1 月 ~ 2018 年 12 月在东部战区总医院泌尿外科初收并行肾癌根治术的 RCC 患者癌组织及对应的癌旁组织 40 对, 所有患者手术切除样本均进行病理学确诊并按照 Furrman 分级标准对肿瘤进行分级, 其中 I 级 8 例、I ~ II 级 5 例、II 级 16 例、II ~ III 级 2 例、III 级 3 例、IV 级 1 例及无法分级组织 5 例; 同时, 收集 RCC 患者 (男性 32 例, 女性 28 例, 年龄 57.4 ± 12.8 岁) 及年龄、性别匹配的健康对照 (男性 34 例, 女性

26 例, 年龄 59.6 ± 12.3 岁) 血清标本各 60 例, 所有患者均经病理学确诊, 排除肾囊肿、肾良性肿瘤及其他肾脏疾病。

1.2 仪器与试剂 Trizol 试剂 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 氯仿、异丙醇、无水乙醇 (上海化学试剂公司); 酸性酚 (美国 Sigma-Aldrich 公司); 3 mol/L (pH = 5.5) 醋酸钠 (美国 Ambion 公司); miRNA 检测探针及引物 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ExoQuick exosome 提取试剂盒 ExoQuick-TC (美国 SBI 公司); DEPC 水 (美国 Sigma-Aldrich 公司); PCR 试剂包括 5 × AMV buffer, 10 mmol/L dNTP, AMV 逆转录酶, 10 × PCR buffer, 25 mmol/L MgCl₂, rTaq DNA 聚合酶 (均购自大连 TAKARA 公司)。5418 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); Tissuelyser-48 全自动样品自动研磨仪 (上海净信科技公司); Nanodrop2000 超微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 2720 型 PCR 仪, 7300 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystem 公司)。

1.3 方法

1.3.1 组织 RNA 提取: 组织标本离体 30 min 内迅速冷冻于液氮, 后置于 -80 °C 保存, 避免反复冻融。取黄豆粒大小组织放入 1.5 ml 除酶 Eppendorf 管中, 然后加入 1.0 ml Trizol 试剂, 运用 Tissuelyser-48 充分研磨后加入 200 μl 氯仿, 并按照 Trizol 试剂说明书后续步骤提取组织 RNA。RNA 溶于 20 μl DEPC 水后用 Nanodrop 2000 超微量分光光度计测定浓度, 并调节浓度至 0.5 μg/μl 待用。

1.3.2 血清 EV 分离: RCC 患者及对照血清标本用真空生化管采集空腹静脉血 3 ~ 5 ml, 1 500 g 离心 10 min 后取上清置于 -80 °C 冰箱留存待用。血清 EVs 分离采用 ExoQuick exosome 提取试剂盒并按照试剂盒操作说明书, 从 100 μl 血清中分离 EVs 后重悬于 25 μl DEPC 水中待用。

1.3.3 EVs RNA 提取: 血清 EVs RNA 提取采用课题组前期建立的酸性酚/氯仿一步法进行, 提取的 RNA 溶于 20 μl DEPC 水后保存于 -80 °C 冰箱待用^[6]。

1.3.4 miRNA 水平检测: 组织和血清 EVs miRNA 水平检测采用基于 TaqMan 水解探针的 RT-qPCR

方法进行, miRNA 逆转录 PCR, RT-qPCR 反应体系和 PCR 参数设置参照课题组前期研究^[6]。组织 miRNA 的水平测定以 U6 为内参, 表达水平以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算, 其中 $\Delta Ct = Ct_{miR-378} - Ct_{U6}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{癌组织}} - \Delta Ct_{\text{癌旁正常组织}}$; 血清 EV miRNA 的水平测定以 miR-16 为内参, 表达水平以 $2^{-\Delta Ct}$ 方法进行计算, 其中 $\Delta Ct = Ct_{miR-378} - Ct_{miR-16}$ 。

1.3.5 miRNA 靶基因及功能预测: miRNA 靶基因预测采用在线软件 TargetScan7.2, miRPathDB 2.0, TarBase 7.0 和 miRDB 进行, 取四种软件预测靶基因交集后进一步采用在线软件 Metascope 分析 miRNA 靶基因参与的生物学功能、调控通路和分子调控网络。

1.4 统计学分析 数据统计、分析和绘图采用 Graphpad 8.0 软件。正态分布数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 非正态分布数据中位数 (四分位数间距) [M (P₂₅, P₇₅)] 表示, RCC 癌组织和对应的癌旁正常组织 miRNA 表达水平比较采用 wilcoxon 配对秩和检验, RCC 患者与健康对照血清 EVs miRNA 组间比较采用 M-U 检验。运用 ROC 曲线分析组织和血清 EVs miRNA 水平对于 RCC 的辅助诊断价值。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RCC 组织中 miR-378 表达变化 qRT-PCR 测定结果显示, 40 例患者组织中, 与对应的癌旁正常组织相比, miR-378 的表达水平在 31 例 RCC 组织中呈现降低趋势。miR-378 在 RCC 癌组织中相对含量为 0.050 (0.016, 0.137), 在癌旁正常组织为 0.134 (0.054, 0.546), 两组间比较差异有统计学意义 ($Z = -3.481$, $P = 0.003$)。

2.2 RCC 患者血清 EVs 中 miR-378 表达变化 qRT-PCR 测定结果显示, RCC 患者血清 EVs 中 miR-378 相对含量为 8.295 (4.930, 15.60), 健康对照相对含量为 3.501 (2.005, 6.853), RCC 患者 EVs miR-378 水平高于健康对照组, 差异有统计学意义 ($U = 850$, $P < 0.001$)。

2.3 组织和血清 EVs miR-378 诊断 RCC 的 ROC 曲线分析 见图 1。ROC 曲线分析结果显示, 组织和血清 EVs miR-378 诊断 RCC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.665 (95% CI: 0.544 ~ 0.786) 和 0.764 (95% CI: 0.680 ~ 0.848)。组织 miR-378 的最佳诊断临界值为 0.0714, 敏感度和特异度分别为 62.50%, 67.50%; 血清 EVs miR-378 的最佳诊断临界值为 5.137, 敏感度和特异度分别为 75.00%, 65.00%。

2.4 miR-378 靶基因及其调控通路生物信息学分析 见图 2。运用在线数据库 TargetScan7.2,

miRPathDB 2.0, TarBase 7.0 和 miRDB 预测 miR-378 可调控的靶基因数目分别为 5 497, 8 035, 388 和 653 种, 四种数据库预测 miR-378 共同靶基因为 35 种 (图 2A)。进一步通过 Metascope 数据库对 35 种共同预测靶基因进行功能注释和富集通路分析, 结果显示 miR-378 靶基因主要与基因转录、分解代谢、细胞骨架蛋白调节和蛋白激酶活力调节等 RCC 发生、发展密切相关的调控通路相关 (图 2B)。

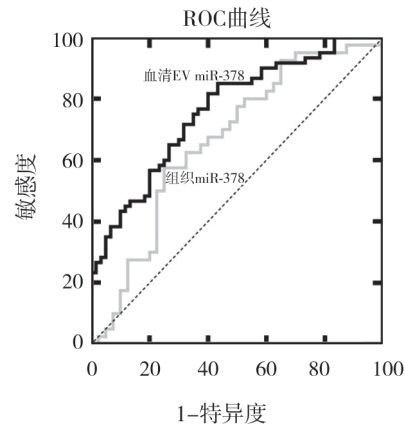
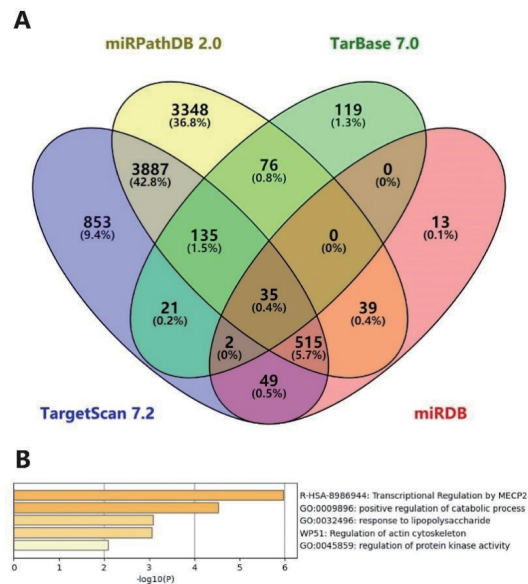


图1 RCC 癌组织和血清 EV miR-378 诊断 RCC 的 ROC 曲线



A. 靶基因预测; B. 调控通路

图2 miR-378 生物信息学分析

3 讨论

RCC 尚缺乏有价值的血清学分子诊断标志物, 而循环 miRNA 具备作为 RCC 非侵入性血清学分子标志物潜能, 其中循环 miR-378 在 RCC 患者外周血中变化报道较多, 但不同研究报道结果不一致, miR-378 作为 RCC 新型分子标志物价值有待进一步探讨。最新研究表明, 血清 EVs miRNA 可来源

于病变组织或细胞主动分泌,其对于疾病诊断更具价值。本研究针对 RCC 患者外周血 miR-378 变化报道不一致问题,通过对 RCC 组织中 miR-378 的变化和临床价值进行探讨,并对血清 EVs miR-378 水平进行测定,发现 miR-378 在 RCC 组织中表达降低,而在血清 EVs 中水平显著升高,组织和血清 EVs 中 miR-378 水平测定均可作为 RCC 辅助诊断分子标志物,其中血清 EVs miR-378 的测定更具价值。生物信息学分析结果显示,miR-378 可参与 RCC 发生、发展密切相关的通路调控。

循环 miR-378 具备成为 RCC 诊断标志物的潜能,但不同报道结果不一致。REDOVA 等^[3]和 FEDORKO 等^[4] 研究组发现,miR-378 在 RCC 患者血清中水平显著升高,可作为 RCC 诊断分子标志物。HAUSER 等^[5] 则发现血清 miR-378 的水平在 RCC 患者和对照组之间无统计学差异。本课题组前期研究结果发现,miR-378 在早期 RCC 患者血清中水平显著降低,是 RCC 早期辅助诊断潜在的新型分子标志物^[6]。报道显示,肿瘤患者特定循环 miRNA 主要来源于肿瘤组织和细胞,对肿瘤组织 miRNA 表达测定可为上述不一致结果提供实验依据^[8]。本研究针对 RCC 组织中测定结果显示,与癌旁正常组织相比,miR-378 在 RCC 组织中表达水平明显降低,与早期 RCC 患者血清中 miR-378 的变化一致。研究显示,RCC 组织中 miR-378 的表达与肿瘤分期密切相关,早期(T1期)RCC 组织中 miR-378 表达明显低于癌旁正常组织,而中晚期(T2/T3)RCC 组织中 miR-378 表达明显高于癌旁正常组织^[9]。结合课题组前期研究及本研究结果,我们推测 RCC 患者组织和血清中 miR-378 的表达与患者肿瘤分期密切相关,早期患者降低,中晚期患者升高,这可能是不同研究结果矛盾的潜在原因,也进一步提示组织和血清中降低的 miR-378 可作为早期 RCC 患者辅助诊断分子标志物。

血清 EVs miRNA 可来源于病变组织或细胞主动分泌,其水平变化可精准反映病变部位的动态病理变化,对于肿瘤的诊断较组织或循环 miRNA 更具价值^[10]。本研究针对 RCC 患者血清 EVs miR-378 的表达水平测定结果显示,与 RCC 组织中 miR-378 表达降低不同,RCC 患者血清 EVs miR-378 表达水平升高,其对于 RCC 诊断价值亦明显优于 RCC 组织 miR-378 测定。本研究结果显示,RCC 患者组织和血清 EVs 中 miR-378 变化不一致,但具体分子机制不清楚。既往报道显示,结肠癌患者 miRNA 变化存在类似的现象。结肠癌患者癌组织中 miR-200 家族显著降低,而分泌的 EVs 中 miR-200 家族则显示升高;分子机制研究显示,蛋白激

酶 C ζ (protein kinase C ζ , PKC ζ) 和 ADAR2 调控轴在癌组织和 EVs 中 miR-200 家族 miRNA 表达变化中发挥重要作用,癌组织中 PKC ζ 表达缺失导致 ADAR2 磷酸化水平降低,后者可促进肿瘤细胞 miR-200 家族由胞内以 EVs 形式释放至胞外,导致结肠癌组织和细胞中 miR-200 家族 miRNA 表达水平降低,而分泌的 EVs 中 miRNA 水平升高^[11]。因此,结合本研究结果,我们推测在 RCC 组织和细胞中 miR-378 也存在类似的分子调控机制,但是否由 PKC ζ /ADAR2 调控轴在此过程中发挥作用仍需后续深入研究。

本研究对于 miR-378 生物学功能生物信息学分析结果显示,miR-378 靶基因主要与基因转录、分解代谢、细胞骨架蛋白调节和蛋白激酶活力调节等肿瘤调控通路相关。研究显示,miR-378 的表达异常与食管鳞癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤密切相关,在肿瘤发生发展中扮演原癌基因或抑癌基因的作用^[12-13]。同时,大量研究显示,miR-378 在分解代谢过程中也发挥重要调节作用。KULYITÉ 等^[14] 证实,miR-378 可增强肿瘤恶液质患者脂解作用。SUN 等^[15] 发现,miR-378 可通过调节胆汁酸合成影响胆固醇脂代谢。事实上,分解代谢特别是脂代谢异常又与 RCC 尤其是肾透明细胞癌的发生发展密切相关^[16-17]。因此,推测 RCC 患者组织中 miR-378 的异常表达亦可通过对分解代谢的调节参与 RCC 的发生发展。另外,RCC 患者血清 EVs 中升高的 miR-378 生理病理功能尚不清楚。相关报道显示,血清 EVs miR-378 水平的升高与血管生成、肿瘤免疫逃逸密切相关,并可作为胃癌的潜在分子标志物^[18]。NAN 等^[19] 发现,脂肪来源于干细胞分泌携带 miR-378 的 EVs 可有效促进血管生成。BRIAND 等^[20] 发现,肿瘤细胞分泌的 EVs miR-378 可抑制自然杀伤细胞(NK)颗粒酶 B 的分泌,降低 NK 细胞对于肿瘤细胞杀伤毒性并导致化疗情况下肿瘤细胞免疫逃逸,RCC 患者血清 EVs 中升高的 miR-378 也可通过类似的作用机制发挥癌相关生物学功能参与 RCC 的发生发展。

本研究对于血清 EVs miR-378 作为 RCC 患者辅助诊断标志物研究结果进一步表明,EVs miRNA 是一类较组织 miRNA 更具价值和临床转化应用潜能的分子标志物,具有操作方便快捷、能反复获取、易于实时监控等优点^[21]。但是,EVs miRNA 研究仍面临许多问题。首先,血清 EVs 分离尚无统一方法。目前应用较多的包括经典的超速离心法、密度梯度离心法、超滤法、试剂盒法、免疫法等,不同方法各具优劣势^[22]。本研究采用的试剂盒应用较为方便,适合单样本血清水平操作,对于 EVs miRNA 临床转化应用较具优势,但分离的 EVs 纯

度可能低于离心法和超滤法。范维肖等^[23]通过比较不同 EVs 分离方法,发现超滤法适合 EVs 各方面研究,而膜亲和层析法则更适合 EVs 核酸研究,这对于后续 EVs miRNA 研究具有重要的指导作用。其次, EVs miRNA 的测定无合适的内参。不同研究对于 EVs miRNA 的归一化采用的方法各异,这对于 EVs miRNA 临床转化应用和推广造成了较大挑战,亦提示 EVs miRNA 合适内参及归一化方法仍是未来研究的重要方向。

本研究存在一定的局限性。研究发现 RCC 组织中 miR-378 的表达降低,推测其可能与 PKC ζ / ADAR2 调控轴作用相关,但具体分子机制仍需后续深入探讨。其次,由于 RCC miR-378 的表达变化可能与患者临床分期有关,但限于本研究样本纳入有限,且组织样本临床分期主要集中于早期 RCC,是否不同分期样本 RCC miR-378 表达存在统计学差异尚不确定。再次,本研究发现 EVs miR-378 的表达上调,但样本量相对较少,且来自于同一医院, EVs miR-378 的 RCC 诊断价值仍需多中心、大样本量研究证实。另外,后续研究中应注重同一患者 RCC 组织和血清 EVs 中 miR-378 表达变化研究,对于明确 miR-378 临床价值具有较为重要意义。

综上,本研究针对 RCC 患者血清中变化争议较大的 miR-378,对其在 RCC 组织和血清 EV 中的表达变化进行检测和临床价值分析,发现 miR-378 在 RCC 组织中降低,在血清 EVs 中表达升高, RCC 组织和血清 EVs 中 miR-378 水平测定可作为 RCC 患者辅助诊断分子标志物;生物信息学分析结果表明 miR-378 可通过调控基因转录、分解代谢、细胞骨架蛋白调节和蛋白激酶活力调节等肿瘤密切相关通路参与 RCC 发生发展,通过对组织、血清 EVs miR-378 表达变化分子机制及功能研究可为 RCC 诊治提供新的思路 and 理论依据。

参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA-A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] JONASCH E, WALKER C L, RATHMELL W K. Clear cell renal cell carcinoma ontogeny and mechanisms of lethality[J]. Nature Reviews Nephrology, 2021, 17(4): 245-261.
- [3] REDOVA M, POPRACH A, NEKVINDOVA J, et al. Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma[J]. Journal of Translational Medicine, 2012, 10: 55.
- [4] FEDORKO M, STANIK M, ILIEV R, et al. Combination of miR-378 and miR-210 serum levels enables sensitive detection of renal cell carcinoma[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(10): 23382-23389.
- [5] HAUSER S, WULFEN L M, HOLDENRIEDER S, et al. Analysis of serum microRNAs (miR-26a-2*, miR-191, miR-337-3p and miR-378) as potential biomarkers in renal cell carcinoma[J]. Cancer Epidemiology, 2012, 36(4): 391-394.
- [6] WANG Cheng, HU Jicheng, LU Meiling, et al. A panel of five serum miRNAs as a potential diagnostic tool for early-stage renal cell carcinoma[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 7610.
- [7] 蒲双双, 李金星. 外泌体在疾病实验诊断和临床治疗中的研究进展 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(4): 160-164.
- PU Shuangshuang, LI Jinxing. Research progress of exosome in the laboratory diagnosis and clinic treatment of disease [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(4): 160-164.
- [8] SUN Zhenqiang, SHI Ke, YANG Shuaixi, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications[J]. Molecular Cancer, 2018, 17(1): 147.
- [9] LI Hecheng, LI Jianping, WANG Ziming, et al. Identification of angiogenesis-related miRNAs in a population of patients with renal clear cell carcinoma[J]. Oncology Reports, 2014, 32(5): 2061-2069.
- [10] 胥劲, 何詠, 黄亨建. 液体活检技术在上尿路上皮癌精准诊治中的最新应用研究进展 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(4): 171-175.
- XU Jin, HE He, HUANG Hengjian. Advances in the application of liquid biopsy technique in the precise diagnosis and treatment of upper urothelial carcinoma[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(4): 171-175.
- [11] SHELTON P M, DURAN A, NAKANISHI Y, et al. The secretion of miR-200s by a PKC ζ /ADAR2 signaling axis promotes liver metastasis in colorectal cancer[J]. Cell Reports, 2018, 23(4): 1178-1191.
- [12] JIN Wei, WANG Lixin, CHENG Sujie, et al. Prognostic value of microRNA-378 in esophageal cancer and its regulatory effect on tumor progression[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2021, 22(1): 704.
- [13] WANG Juan, LI Yan, ZHOU Jinhua, et al. CircATRNL1 activates Smad4 signaling to inhibit angiogenesis and ovarian cancer metastasis via miR-378[J]. Molecular Oncology, 2021, 15(4): 1217-1233.
- [14] KULYTÉ A, LORENTE-CEBRIÁN S, GAO Hui, et al. MicroRNA profiling links miR-378 to enhanced adipocyte lipolysis in human cancer cachexia[J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2014, 306(3): E267-E274.
- [15] SUN Chao, LIU Wei, LU Zhiqiang, et al. Hepatic miR-378 modulates serum cholesterol levels by regulating hepatic bile acid synthesis[J]. Theranostics, 2021, 11(9): 4363-4380.
- [16] LIU Ren, FENG Yuanfa, DENG Yulin, et al. A HIF1 α - GPD1 feedforward loop inhibits the progression of renal clear cell carcinoma via mitochondrial function and lipid metabolism[J]. Journal of (下转第 11 页)