

论著·临床研究

血浆检测 microRNA-125a-3p、IGF-2 在监测 NSCLC 侵袭转移中的价值*

张洪川,徐艳梅,周璞,孙建国,陈正堂[△]

(第三军医大学附属新桥医院全军肿瘤研究所,重庆 400037)

摘要:目的 探讨血浆检测 microRNA-125a-3p(miR-125a-3p)、胰岛素样生长因子 2(IGF-2)在监测非小细胞肺癌(NSCLC)侵袭转移中的价值,研究二者表达之间的相关性。方法 应用实时定量-PCR(qRT-PCR)检测方法及 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析法检测 20 例健康者、73 例 NSCLC 患者血浆中 miR-125a-3p 水平,酶联免疫吸附实验(ELISA)检测血浆中 IGF-2 水平。结果 Ⅲ/Ⅳ期 miR-125a-3p 水平较 I/Ⅱ期、健康组低($P=0.001$ 、 $P=0.005$); I/Ⅱ期与健康组比较差异无统计学意义($P=0.776$); miR-125a-3p 表达与淋巴结转移相关,有淋巴结转移组呈低表达($P=0.003$)。I/Ⅱ期、Ⅲ/Ⅳ期 IGF-2 水平较健康组高表达($P=0.036$ 、 $P=0.011$); I/Ⅱ期与Ⅲ/Ⅳ期比较差异无统计学意义($P=0.451$); IGF-2 水平与淋巴结转移相关,有淋巴结转移组呈高表达($P=0.037$)。血浆中 miR-125a-3p 水平与 IGF-2 水平呈负相关($r=-0.280$, $P=0.007$)。结论 血浆中 miR-125a-3p 低表达、IGF-2 高表达可能与 NSCLC 的侵袭转移相关,miR-125a-3p 可能对 IGF-2 起负调控作用。

关键词:癌,非小细胞肺;miR-125a-3p;IGF-2;转移

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.14.007

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)14-1700-03

The value of detecting plasma microRNA-125a-3p, IGF-2 on monitoring invasion and metastasis in NSCLC*

Zhang Hongchuan, Xu Yanmei, Zhou Pu, Sun Jianguo, Chen Zhengtang[△]

(Institute of Cancer, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the value of detecting plasma microRNA-125a-3p(miRNA-125a-3p), IGF-2 on monitoring invasion and metastasis in NSCLC, and to study the correlation between miR-125a-3p and IGF-2. **Methods** miR-125a-3p transcripts of 20 controls, 73 NSCLC were performed in plasma by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction(qRT-PCR) and PCR data was analyzed by the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. The expression of IGF-2 in plasma was detected by ELISA. **Results** The expression of miR-125a-3p in stage Ⅲ/Ⅳ was lower than stage I/Ⅱ and the controls($P=0.001$, $P=0.005$). There was no statistical difference between the stage I/Ⅱ patients and the controls($P=0.776$). The expression of miR-125a-3p was related with lymph node metastas, lower expression in positive lymph node metastasis ($P=0.003$). The expression of IGF-2 in stage I/Ⅱ, stage Ⅲ/Ⅳ was higher than the controls($P=0.036$, $P=0.011$). There was no statistical difference between the stage I/Ⅱ and stage Ⅲ/Ⅳ ($P=0.451$). The expression of IGF-2 was related with lymph node metastas, higher expression in positive lymph node metastasis($P=0.037$). The results showed a negative correlation between miR-125a-3p expression and IGF-2 in plasma($r=-0.280$, $P=0.007$). **Conclusion** Low expression of miR-125a-3p and high expression of IGF-2 in plasma may play a role in invasion and metastasis of NSCLC. miR-125a-3p may play a negative regulatory role on IGF-2.

Key words: carcinoma, non-small-cell lung; miR-125a-3p; IGF-2; metastasis

在世界范围内,肺癌为恶性肿瘤死亡的首要原因,非小细胞肺癌(NSCLC)占有所有肺癌的 80%^[1]。肺癌的病死率高主要原因是诊断时大部分肺癌已经是晚期^[2],临床诊断的时候,高达 75% 的肺癌已经局部晚期和(或)远处转移^[3]。远处转移是晚期 NSCLC 治疗失败最常见的原因之一,大部分患者是死于转移灶引起的相关并发症。因此,找到一种简便、可靠的方法去监测转移是非常重要的。microRNA(miRNA)的发现打开了分子标志物的一个新领域。2008 年首次发现外周血中富含大量的稳定 miRNA,这使在血浆中寻找肿瘤生物信号成为可能。miRNA 可以以一个被保护的状态存在于血浆中,因此可以直接从血浆中检测到。Roth 等^[4] 研究报道,肺癌患者血浆 microRNA-141(miR-141)和 miR-155 明显高于良性患者,高水平 miR-10b 预示着淋巴结的转移。这些数据显示,某些血浆 miRNA 能够预测肺癌的发展和预后。已有报道血尿中 miR-125a-3p 在健康人与系统性红斑狼疮(SLE)、乳腺癌等之间存在差异表达,然而在肺癌患者外周血中的表达情况还不清楚。

用 3 种常用的生物信息学软件 TargetScan、PicTar 和 miRanda 预测 miR-125a-3p 的靶基因,发现胰岛素样生长因子 2(insulin-like growth factors 2, IGF2)在 3 种软件中都能够被预测到,而且,miR-125a-3p 在 IGF2 的 3'非编码区(3'UTRs)有 2 个结合位点,因此,IGF2 可能为 miR-125a-3p 的靶基因^[5]。IGF2 是一种重要的促胚胎细胞生长因子,也是一种促有丝分裂肽,具有促进细胞有丝分裂、胚胎形成、产后生长发育等作用,生理条件下对胚胎的正常生长发育有重要作用,病理条件下能刺激肿瘤细胞的增殖。目前,IGF2 被认为是多种肿瘤重要的自分泌生长因子,其过度表达已被证实具有促进细胞增殖及恶性转化的作用^[6]。本研究主要检测血浆中 miR-125a-3p、IGF-2 的表达水平,探讨其在 NSCLC 侵袭转移中的价值,研究二者表达之间的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 93 例血浆标本其中 20 例健康成人(健康对照组),男 12 例,女 8 例;年龄 27~75 岁,中位年龄 59 岁。

* 基金项目:军队临床高新技术重大基金资助项目(2010gxjs070)。作者简介:张洪川(1986-),在读硕士,主要从事 miRNA 与肺癌方面的研究。△ 通讯作者, Tel: (023)68755625; E-mail: zhengtangchen@yahoo.com.cn。

73 例 NSCLC 患者,均为初诊患者,经病理科诊断为 NSCLC 后入组,根据影像学资料进行 TNM 分期。I / II 期组 33 例,男 18 例,女 15 例;年龄 36~78 岁,中位年龄 62 岁;鳞癌 15 例,腺癌 18 例;其中, I 期 19 例, II 期 14 例。 III / IV 期组 40 例,男 21 例,女 19 例;年龄 37~82 岁,中位年龄 60 岁;鳞癌 14 例,腺癌 26 例;其中, III 期 13 例, IV 期 27 例。分期根据肿瘤分期系统(2009)。所有的血液标本采用 5 mL 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管收集,均在患者做手术和治疗前收集。在 2 h 内将收集的血液标本在 4 ℃ 离心机中 3 000 r/min 离心 15 min。收集上清液立即储存于 -80 ℃ 保存。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 在 <http://www.mirbase.org> 网站查找人-miR-125a-3p,线虫-miR-39 序列并设计引物,引物合成由广州锐博生物科技有限公司完成。

1.2.2 总 RNA 的提取 应用 Ambion mirVana PARIS 试剂盒(Foster City,CA)提取 600 μL 血浆样品中的总 RNA,首先加入 600 μL 的 10% 十二烷基硫酸钠(SDS)混匀在 4 ℃ 条件下孵育 1 h 对血浆样品进行预处理,为了控制样本间提取效率的差异,在样品加入变性液后加入 25 fmol 人工合成的 cel-miR-39 进行校正。随后的总 RNA 提取步骤按试剂盒说明书进行。最后用 30 μL 无酶水洗脱离心柱得到总 RNA。应用分光光度计对 RNA 的纯度和浓度进行检测。

1.2.3 cDNA 合成 取 10 μL 总 RNA 使用 PrimeScript RT reagent Kit Perfect Real time 试剂盒(RR037A)进行 cDNA 的合成。20 μL 反应体系如下:10.0 μL 总 RNA,5×PrimeScript Buffer(for real time)4.0 μL,人-miR-125a-3P RT-prime 0.5 μL,线虫-miR-39RT-prime 0.5 μL,无 RNA 酶水 4.0 μL,PrimeScript Enzyme Mix I 1 μL。反应条件为:42 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,之后保存于 4 ℃。

1.2.4 实时定量-PCR(qRT-PCR)反应 采用 Applied Biosystems(ABI7500 高通量实时荧光定量 PCR 系统),按照用户手册进行操作。采用 20 μL 的反应体系,具体操作参照 SYBR Premix Ex Taq™ II 的使用说明。最终确定的反应体系为 20 μL,包括 cDNA 合成步骤的产物 2.0 μL,SYBR Premix Ex Taq™ II 10.0 μL,ROX Reference Dye II 0.4 μL,正向、反向引物各 0.8 μL(10 μmol/L),无 RNA 酶水 6 μL。反应过程具体为:95 ℃ 预变性 30 s;95 ℃ 变性 5 s,60 ℃ 退火及延伸 34 s,扩增 40 个循环;结束后通过 95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,85 ℃ 15 s,60 ℃ 15 s 制作溶解曲线。每管设 3 个复孔,冰上避光操作。反应结束后,系统自动得出溶解曲线。各个组之间的 miR-125a-3p 表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.2.5 酶联免疫吸附实验(ELISA) 优尔生公司 SEA051Hu 96T 测定血浆 IGF-2 水平,严格按操作说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析。标准化对于 miRNA 的准确定量是必不可少的,评估所有的 miR-125a-3p 的表达通过线虫 miR-39 来标准化,应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法。根据 Q-Q 图、偏峰度计算推断数据不符合正态分布,数据均采用非参数检验,数据以中位数(25%百分位数至 75%百分位数)表示。miR-125a-3p,IGF-2 在 2 个独立样本组间表达差异使用 Mann-Whitney U 检验,在 3 个独立样本组间使用 Kruskal-Wallis 检验,应用 Spearman 相关分析法分析 miR-125a-3p 与 IGF-2 的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

从 20 例健康对照组、33 例 I / II 期、40 例 III / IV 期 NSCLC

患者血浆中检测了 miR-125a-3p,IGF-2 的表达水平,本实验中得到的溶解曲线(图 1)表明 qRT-PCR 产物均具有特异性。

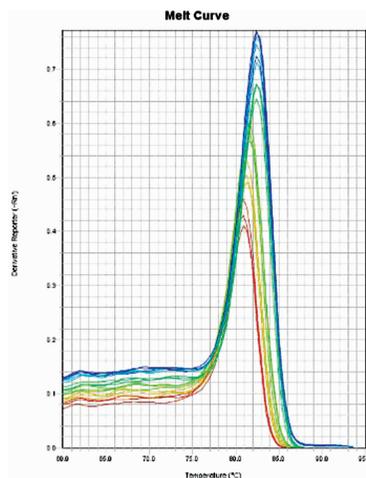


图 1 部分样本的溶解曲线

表 1 血浆 miR-125a-3p 水平与 NSCLC 临床病理特征的关系

项目	n	相对表达值* (ng/mL)	P
年龄			0.175
≤60 岁	37	1.052(0.489~1.878)	
>60 岁	36	0.804(0.541~1.190)	
性别			0.707
男	39	1.024(0.517~1.452)	
女	34	0.904(0.563~1.382)	
分化程度			0.615
高	18	0.734(0.449~1.237)	
中	30	0.919(0.548~1.633)	
低	25	0.776(0.462~1.372)	
病理类型			0.875
鳞癌	29	0.935(0.511~1.464)	
腺癌	44	0.830(0.525~1.423)	
淋巴结转移			0.003
有	41	0.727(0.415~1.153)	
无	32	1.150(0.751~2.005)	
TNM 分期			0.001
I / II 期	33	1.231(0.756~1.957)	
III / IV 期	40	0.666(0.407~1.098)	

* miR-125a-3p 相对表达值中位数,括号中表示 25% 及 75% 百分位数。

表 2 血浆 IGF-2 水平与 NSCLC 临床病理特征的关系

项目	n	表达值* (ng/mL)	P
年龄			0.787
≤60 岁	37	986.712(812.132~1 134.286)	
>60 岁	36	983.673(819.366~1 155.115)	
性别			0.092
男	39	901.800(791.540~1 088.041)	

续表 2 血浆 IGF-2 水平与 NSCLC 临床病理特征的关系

项目	n	表达值* (ng/mL)	P
女	34	1 016.919(858.576~1 169.423)	
分化程度			0.204
高	18	1 090.077(857.892~1 200.531)	
中	30	995.388(851.737~1 105.237)	
低	25	885.207(789.915~1 111.147)	
病理类型			0.318
鳞癌	29	994.897(837.588~1 204.933)	
腺癌	44	978.196(796.292~1 109.317)	
淋巴结转移			0.037
有	41	1 037.212(814.740~1 199.876)	
无	32	901.800(797.820~1 018.698)	
TNM 分期			0.451
I/II 期	33	969.680(837.558~1 066.264)	
III/IV 期	40	1 014.501(813.720~1 172.469)	

* IGF-2 的相对表达值中位数, 括号中表示 25% 及 75% 百分位数。

2.1 血浆 miR-125a-3p、IGF-2 的表达与 NSCLC 临床病理特征的关系 NSCLC 血浆 miR-125a-3p 的表达与临床分期、淋巴结转移状况差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与年龄、性别、分化程度、病理类型差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。NSCLC 血浆 IGF-2 与淋巴结转移状况有关 ($P < 0.05$), 与年龄、性别、分化程度、病理类型、临床分期无关 ($P > 0.05$), 见表 1、2。

2.2 比较健康对照组、I/II 期患者、III/IV 期患者血浆中 miR-125a-3p 水平 Kruskal-Wallis 检验发现 3 组存在差异 ($\chi^2 = 13.449, P = 0.001$), 见图 2。进一步比较两两之间的差异, 发现健康对照组 1.276(0.742~2.396)ng/mL 较 I/II 期组 1.231(0.756~1.957)ng/mL 表达差异无统计学意义 ($P = 0.776$)。III/IV 期组 0.666(0.407~1.098)ng/mL 较健康对照组 1.276(0.742~2.396)ng/mL 低, 差异有统计学意义 ($P = 0.005$)。III/IV 期组 0.666(0.407~1.098)ng/mL 较 I/II 期患者组 1.231(0.756~1.957)ng/mL 低, 差异有统计学意义 ($P = 0.001$)。

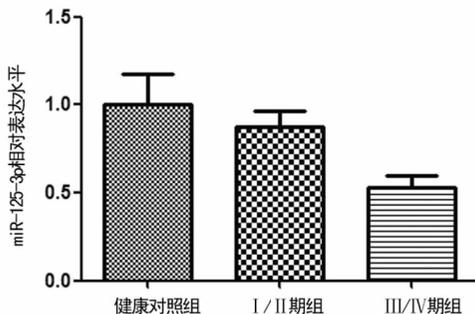


图 2 miR-125a-3p 的表对表达水平

2.3 比较血浆中 IGF-2 水平在健康对照组、I/II 期组、IV 期组之间的差异 Kruskal-Wallis 检验发现 3 组间存在差异 ($\chi^2 = 7.147, P = 0.028$)。进一步比较两两之间的差异, I/II 期组 IGF-2 水平 969.680(837.558~1 066.264)ng/mL、III/IV 期组 1 014.501(813.720~1 172.469)ng/mL 较健康对照组 779.191(696.856~906.369)ng/mL 高 ($P = 0.036, P = 0.011$)。I/II 期组与 III/IV 期组差异无统计学意义 ($P = 0.451$)。

2.4 血浆 miR-125a-3p 与 IGF-2 相关性分析 血浆中 miR-125a-3p 表达与 IGF-2 表达呈负相关 ($r = -0.280, P = 0.007$)。

3 讨论

miRNA 在转录后水平调节基因表达。原发肿瘤通过播散侵袭进入周围组织, 以及转移灶的生长都需要一系列协调事件, 包括原发肿瘤灶肿瘤细胞的分裂, 进入循环系统和远处病灶细胞的增殖。侵袭转移需要的一系列步骤涉及许多基因表达的改变^[7]。关于 miRNA 已有研究证实有几个 miRNA 具有促进或抑制肿瘤转移的潜能。如 miRNA-183 可以抑制肺癌细胞的迁移和侵袭能力, 可能为一种肿瘤转移抑制因子^[8]。miR-221、miR-222 通过活化 AKT 通路促进细胞的迁移^[9]。目前, 对 miR-125a 的研究主要集中在 miR-125a-5p, 大量的研究表明 miR-125a-5p 在肺癌中低表达, 并且可抑制细胞侵袭转移的作用, 现有报道表明 miR-125a 的另一成熟体 miR-125a-3p 在肿瘤中的作用也不容忽视^[10]。已有研究证实 miR-125a-5p、miR-125a-3p 都与 NSCLC 侵袭转移密切相关。miR-125a-3p 的表达与临床分期及淋巴结转移呈负相关, miR-125a-3p 在分期越晚、有淋巴结转移的肺癌组织越低。在肺癌细胞株中的体外研究揭示 miR-125a-3p 可抑制细胞侵袭转移^[8]。miR-125a-3p 在胃癌组织比正常组织表达低, 与转移、预后密切相关。有淋巴结转移及远处转移的胃癌组织较没有转移的胃癌组织 miR-125a-3p 表达更低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。体外研究证实 miR-125a-3p 具有抑制胃癌侵袭转移的作用^[10]。最近的报道显示, miR-125-3p 通过靶向 Fyn 减少细胞扩增和迁移。miR-125a-3p 过表达降低了 FAK、paxillin 和 Akt 的活性, 阻断了细胞周期, 破坏了细胞的生存和迁移能力^[11]。miR-125a-3p 在高转移人肺大细胞癌细胞株 L9981 中的表达水平明显低于在低转移人肺大细胞癌细胞株 NL9980, 提示 miR-125a-3p 可能具有抑制肿瘤转移的作用^[12]。总之, 越来越多的证据表明 miR-125a-3p 具有抑制肿瘤侵袭转移的能力。

本文对 miR-125a-3p 及其潜在的靶基因产物 IGF-2 的表达进行探索。miR-125a-3p 在 NSCLC 外周血中的表达健康对照组与 I/II 期组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明 miR-125a-3p 不能作为 NSCLC 的早期筛查指标; 但在 TMN 分期、淋巴结转移情况中发现了统计学差异, 这可能与 miR-125a-3p 的功能相关, miR-125a-3p 主要抑制细胞的迁移能力, 抑制肿瘤的侵袭转移, 过表达 miR-125a-3p 可以抑制细胞的侵袭迁移能力, 低表达的 miR-125a-3p 可能作为肺癌侵袭转移的一个潜在标志物。有研究已证实 IGF-2 高表达与前列腺癌、直肠癌等多种肿瘤的发生发展密切相关, IGF-2 在 NSCLC 组织中高表达, 而且与淋巴结转移相关^[13]。血清 IGF-2 在 NSCLC 及小细胞肺癌中较健康对照组高表达^[14]。本研究发现 IGF-2 在 NSCLC 患者血浆中高表达, 而且与淋巴结转移状况相关。miR-125a-3p 可能负调控 IGF-2 的表达, 具体机制还不明确, 本研究发现了这一相关性, 需后期的细胞实验去进一步验证。

参考文献:

- [1] Li Y, Jiang Q, Xia N, et al. Decreased expression of microRNA-375 in nonsmall cell lung cancer and its clinical significance[J]. J Int Med Res, 2012, 40(5):1662-1669.
- [2] Lin Q, Mao W, Shu Y, et al. A cluster of specified microRNAs in peripheral blood as biomarkers for metastatic non-small-cell lung cancer by stem-loop RT-PCR[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(1):85-93. (下转第 1706 页)

- 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)