

# 胰腺癌患者及大鼠血清中 microRNA-21 和 microRNA-155 的表达及其意义



林贤超, 文实, 潘誉, 滕天鸿, 陈飞, 黄鹤光

福建医科大学附属协和医院基本外科(福州 350001)

**【摘要】** 目的 探索胰腺癌患者和胰腺癌大鼠血清中 microRNA (miR)-21 和 microRNA-155 的表达水平及其用于胰腺癌诊断的价值。方法 前瞻性收集 2016 年 1 月至 2016 年 12 月期间福建医科大学附属协和医院收治的 18 例胰腺癌患者(胰腺癌组)及同期收治的 12 例胰腺良性疾病(胰腺良性疾病组)患者的临床资料和血清样本,采用实时荧光定量法检测血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平。同时建立 20 只由 7,12-二甲基苯并蒽(DMBA)诱导的胰腺癌大鼠模型,并设置对照(10 只空白对照组大鼠行假手术),采集胰腺癌大鼠组(建模成功的胰腺癌大鼠)和空白对照组大鼠的血清,同法检测血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平。结果 胰腺癌患者组血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的中位表达水平分别为 1.99 (1.43 ~ 5.30) 和 7.06 (4.98 ~ 21.48), 胰腺良性疾病患者组分别为 1.28 (0.58 ~ 2.01) 和 2.20 (1.76 ~ 3.02), 胰腺癌组患者的血清 miRNA-21 和 miRNA-155 表达水平均较高 ( $Z=15.000, P=0.009$ ;  $Z=27.000, P=0.001$ )。动物实验中,实验组建模成功并存活大鼠 11 只,空白对照组存活 9 只。胰腺癌大鼠组血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的中位表达水平分别为 2.12 (1.33 ~ 2.72) 和 16.45 (7.18 ~ 25.40), 空白对照组大鼠分别为 1.00 (0.45 ~ 1.60) 和 1.49 (1.25 ~ 1.97), 胰腺癌大鼠组血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平均较高 ( $Z=15.000, P=0.009$ ;  $Z=2.000, P<0.001$ )。血清 miRNA-21 表达水平的最佳临界值为 4.21, 此时其灵敏度和特异度分别为 75.0% 和 61.1%; 血清 miRNA-155 表达水平的最佳临界值为 4.67, 此时其灵敏度和特异度均为 83.3%。结论 胰腺癌患者及大鼠血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平均异常升高,血清 miRNA-155 水平在一定程度上有助于区分胰腺癌与胰腺良性疾病。

**【关键词】** 胰腺癌; 诊断; 血清标志物; microRNA-21; microRNA-155

## The expressions and significance of serum microRNA-21 and microRNA-155 level from patients and rats with pancreatic cancer

LIN Xianchao, WEN Shi, PAN Yu, TENG Tianhong, CHEN Fei, HUANG HEGUANG

Department of General Surgery, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou 350001, P. R. China

Corresponding author: HUANG HEGUANG, Email: heguanghuang2@163.com

**【Abstract】 Objectives** To evaluate the expressions of serum microRNA (miRNA-21)-21 and microRNA-155 (miRNA-155) level from patients and rats with pancreatic cancer, and to explore its value in the diagnosis of pancreatic cancer. **Methods** The clinical materials and the serum samples from 18 patients with pancreatic cancer (pancreatic cancer group) and 12 patients with benign pancreatic disease (benign pancreatic disease group) admitted to Fujian Medical University Union Hospital between January 2016 and December 2016 were collected prospectively. The real-time fluorescent quantitative PCR was performed to detect the levels of serum miRNA-21 and miRNA-155. 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA)-induced pancreatic cancer rat models ( $n=20$ ) and the models of the control group (sham operation,  $n=10$ ) were established and the serum samples from the pancreatic ductal adenocarcinoma group and the control group were measured by the real-time fluorescent quantitative PCR, to detect the levels of miRNA-21 and miRNA-155. **Results** The median expression levels of serum miRNA-21 and miRNA-155 were 1.99 (1.43-5.30) and

DOI: 10.7507/1007-9424.201804006

基金项目: 福建医科大学苗圃基金(项目编号: 2014MP024); 国家级临床重点专科建设项目及福建省临床重点专科建设项目[项目编号: 闽财指(2012)966号]

通信作者: 黄鹤光, Email: heguanghuang2@163.com

s7.06 (4.98–21.48) in the pancreatic cancer group, as well as 1.28 (0.58–2.01) and 2.20 (1.76–3.02) in the benign pancreatic disease group. The expression levels of serum miRNA-21 and miRNA-155 were significantly higher in the pancreatic cancer group ( $Z=15.000, P=0.009; Z=27.000, P=0.001$ ). In animal studies, the rat models of pancreatic cancer were successfully established and 11 rats with pancreatic cancer were acquired, as well as 9 rats in the control group were acquired. The median expression levels of serum miRNA-21 and miRNA-155 were 2.12 (1.33–2.72) and 16.45 (7.18–25.40) in the rat pancreatic cancer group, as well as 1.00 (0.45–1.60) and 1.49 (1.25–1.97) in the control group. The expression levels of serum miRNA-21 and miRNA-155 were significantly higher in the rat pancreatic cancer group ( $Z=15.000, P=0.009; Z=2.000, P<0.001$ ). The best cutoff value of serum miRNA-21 level was 4.21 and the sensitivity and specificity were 75.0% and 61.1% respectively. The best cutoff value of serum miRNA-155 level was 4.67 and the sensitivity and specificity were both were 83.3%. **Conclusions** The serum miRNA-21 and miRNA-155 levels are elevated both in patients and rats with pancreatic cancer. Detection of serum miRNA-155 will be helpful to some extent to distinguish pancreatic cancer from benign diseases.

**【Keywords】** pancreatic cancer; diagnosis; serum biomarker; microRNA-21; microRNA-155

胰腺癌是恶性程度最高、预后最差的消化系统恶性肿瘤, 5年生存率仅5%~8%, 手术切除是治疗胰腺癌最关键的措施, 但超过80%的患者就诊时已失去手术切除的机会<sup>[1-2]</sup>。因此, 研究胰腺癌发生、发展、侵袭和转移的机制, 对于胰腺癌的 diagnosis 和治疗有重要意义。近年来, 微小RNA (microRNA, miRNA) 和胰腺癌的相关性以及 miRNA 用于胰腺癌的 diagnosis 已成为研究的热点<sup>[3-5]</sup>, 其中血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平对于诊断胰腺癌显示出很大的潜力<sup>[6-7]</sup>。为了解胰腺癌的血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平的变化情况, 笔者分别对胰腺癌患者和胰腺癌大鼠模型的血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平进行了检测, 现报道如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 胰腺肿物患者的临床资料及血清标本采集

前瞻性收集 2016 年 1 月至 2016 年 12 月期间福建医科大学附属协和医院收治的胰腺肿物患者的临床资料及血清样本。胰腺癌组患者纳入标准: ① 年龄 18~75 岁; ② 初次就诊, 入院诊断为胰腺肿物; ③ 原发性胰腺病变或远处转移性病变经病理学诊断为胰腺癌; ④ 同意采集血清样本并签署知情同意书。胰腺良性疾病组患者的纳入标准: ① 年龄 18~75 岁; ② 初次就诊, 入院诊断为胰腺肿物; ③ 胰腺病变经病理学诊断为良性胰腺疾病; ④ 同意采集血清样本并签署知情同意书。2 组的排除标准一致: ① 既往有恶性肿瘤病史; ② 未获得明确的病理学诊断; ③ 合并感染性疾病; ④ 合并严重心血管及肺部疾病; ⑤ 合并严重肝和肾功能异常; ⑥ 合并血液系统或结缔组织病。

本研究胰腺癌组纳入 18 例患者, 胰腺良性疾病组纳入 12 例患者。所有患者的诊断均经病理学

检查证实。18 例胰腺癌患者中, 男 9 例, 女 9 例; 年龄 38~71 岁, 平均年龄为 61 岁; 10 例为胰头癌, 8 例为胰体尾癌; TNM 分期: I B 期 1 例, II A 期 5 例, II B 期 3 例, III 期 3 例, IV 期 6 例; 14 例 CA19-9 水平升高, 4 例 CA19-9 水平正常。12 例胰腺良性疾病患者归为胰腺良性疾病组, 其中男 6 例, 女 6 例; 年龄 36~67 岁, 平均年龄为 48 岁; 疾病类型: 胰腺浆液性囊腺瘤 4 例、胰腺黏液性囊腺瘤 4 例, 慢性胰腺炎 2 例, 胰腺实性假乳头状瘤 2 例。胰腺癌组和胰腺良性疾病组患者的性别和年龄比较差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。所有患者的采血时间为首次入院次日的清晨 (06:00–07:00)。以常规方法采集 5 mL 静脉血至无添加剂采血管中, 常温下静置 1 h 后离心 (4 °C, 10 000 r/min,  $r=8$  cm, 5 min), 移取上层 1 mL 血清转入 EP 管, 加入 1 mL TRIzol 溶液, 放入 -80 °C 超低温冰箱中备用。本研究获得福建医科大学附属协和医院伦理委员会审批, 患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

### 1.2 胰腺癌大鼠模型的建立及血清标本采集

将 30 只 SD 大鼠 (SPF 级, 5~6 周, 体质量 150~170 g, 购买于福建医科大学动物实验中心, 批号为 FDS20160319) 随机分为 2 组: 实验组 20 只和空白对照组 10 只。术前禁食 12 h, 不禁水。按 0.8 mL/100 g 剂量使用 5% 水合氯醛溶液行腹腔注射麻醉。实验组大鼠行胰腺体尾部的 7, 12-二甲基苯并蒽 (DMBA) 包埋, 过程如下: 消毒皮肤, 取左上腹横切口长约 2 cm 长, 逐层切开进腹, 显露胰体尾及脾脏, 展平胰体尾, 选取相对较厚实区域的胰腺, 以 6-0 缝线预置 1 个直径约 1 cm 大的荷包, 用镊子轻轻提起荷包中央处的胰腺被膜, 以眼科剪将被膜剪开一小口并做被膜下钝性分离, 形成胰腺被

膜下隧道,用小勺取 7 mg 的 DMBA 小心置入隧道内,收紧荷包并打结,完成 DMBA 的胰腺包埋。空白对照组大鼠行假手术,操作同实验组,但不埋入 DMBA。12 周后将大鼠处死:大鼠经异氟醚吸入麻醉后,暴露腹腔,经腹主动脉取血 5 mL 后处死。血液标本常温下静置 1 h 后离心(4 ℃, 10 000 r/min,  $r=8$  cm, 5 min),移取上层 1 mL 血清,加入 1 mL TRIzol 溶液,放入-80 ℃超低温冰箱中备用。切取大鼠胰体尾组织,经固定、包埋、切片、染色等步骤后行病理学检查,确定是否建模成功,根据病理学结果进行分组。

### 1.3 主要试剂及仪器

TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司,PCR 引物由上海吉玛公司设计并合成,各引物序列信息见表 1。使用实时荧光定量通用试剂为上海 GMRS-001 吉玛公司产品, MX3000P 实时荧光定量 PCR 仪为美国 Stratagene 公司产品。

### 1.4 PCR 法检测血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达

按照流程提取血清总 RNA。以 2 ng 总 RNA 进行逆转录后,用实时荧光定量体系检测血清 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平,反应条件:95 ℃ 3 min, 95 ℃ 12 s, 62 ℃ 40 s, 共 40 个循环。反应体系同试剂盒说明书。以 miRNA-16 为内参对照。每个样本每次实验设置 3 个样孔,目的基因的相对表达水平采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算<sup>[8]</sup>, Ct 值是每个样本达到阈值的最低循环数,  $\Delta Ct$  值为目标基因和内参基因 Ct 值的差值,  $\Delta\Delta Ct$  为目标基因  $\Delta Ct$  值和对照组平均  $\Delta Ct$  值之间的差值。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计软件进行分析,服从正态分布的计量资料的组间比较采用成组  $t$  检验,非正态分布的计量资料的组间比较采用两独立样本比较的秩和检验,计数资料的组间比较采用成组  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法。绘制 miRNAs 区别胰腺癌

和胰腺良性疾病的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,并计算曲线下面积(area under curve, AUC)以评价诊断效能。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 胰腺癌和胰腺良性疾病患者血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达情况

胰腺癌患者组血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的中位表达水平分别为 1.99 (1.43 ~ 5.30) 和 7.06 (4.98 ~ 21.48), 胰腺良性疾病患者组分别为 1.28 (0.58 ~ 2.01) 和 2.20 (1.76 ~ 3.02), 胰腺癌组患者的血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平均较高,差异均有统计学意义( $Z=15.000, P=0.009; Z=27.000, P=0.001$ )。

### 2.2 胰腺癌大鼠和空白对照组大鼠血清 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达情况

实验期间实验组的大鼠因麻醉意外死亡 1 只,余 19 只大鼠中有 11 只大鼠的病理学诊断为胰腺导管腺癌(图 1),其血清归入大鼠胰腺癌组;空白对照组的 10 只大鼠中因麻醉意外死亡 1 只,余 9 只大鼠的胰腺组织行病理学检查未见胰腺肿瘤,其血清归入大鼠空白对照组。

胰腺癌大鼠组血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的中位表达水平分别为 2.12 (1.33 ~ 2.72) 和 16.45 (7.18 ~ 25.40), 空白对照组大鼠血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的中位表达水平分别为 1.00 (0.45 ~ 1.60) 和 1.49 (1.25 ~ 1.97), 胰腺癌大鼠组血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平均较高,差异均有统计学意义( $Z=15.000, P=0.009; Z=2.000, P<0.001$ )。

### 2.3 血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平的诊断效能

绘制血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平的 ROC 曲线来评价两者对胰腺癌的诊断效能(图 2),结果表明,血清 miRNA-21 水平的最佳界值为 4.21,此时其灵敏度和特异度分别为 75.0% 和 61.1%,

表 1 各引物的序列及长度

引物名称	引物序列	长度(bp)
hsa-miRNA-16(内参)	上游: 5'-AAGCACCTAGCAGCACGTAAATA-3' 下游: 5'-TATGGTTTTGACGACTGTGTGAT-3'	67
hsa-miRNA-155	上游: 5'-ACGCTCAGTTAATGCTAATCGTGATA-3' 下游: 5'-TATGGTTTTGACGACTGTGTGAT-3'	68
hsa-miRNA-21	上游: 5'-ACGTTGTGTAGCTTATCAGACTG-3' 下游: 5'-AATGGTTGTTCTCCACACTCTC-3'	75
rno-miRNA-16(内参)	上游: 5'-AAGCACCTAGCAGCACGTAAATA-3' 下游: 5'-TATGGTTTTGACGACTGTGTGAT-3'	67
rno-miRNA-155	上游: 5'-CGGCGGTTAATGCTAATTGTGAT-3' 下游: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'	67
rno-miRNA-21	上游: 5'-ACGTTGTGTAGCTTATCAGACTG-3' 下游: 5'-AATGGTTGTTCTCCACACTCTC-3'	75

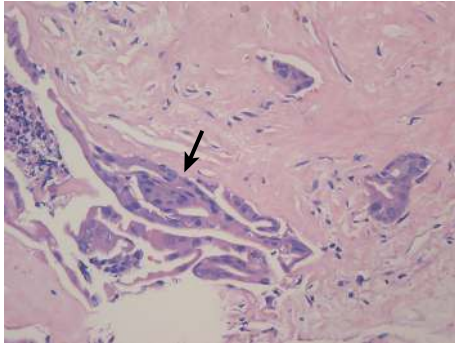


图1 病理学检查示大鼠胰腺导管腺癌(黑箭),见癌细胞不规则排列,纤维间质丰富(HE ×400)

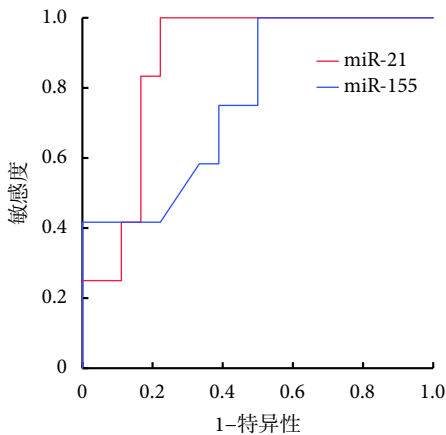


图2 示血清 miRNA-21 和 miRNA-155 表达水平诊断胰腺癌和胰腺良性疾病的 ROC 曲线

AUC 值为 0.764,  $P=0.016$ ; 血清 miRNA-155 水平的最佳界值为 4.67, 此时其灵敏度和特异度均为 83.3%, AUC 值为 0.875,  $P=0.001$ 。该结果提示, 血清 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平可以较好的区分胰腺癌和胰腺良性疾病。

### 3 讨论

胰腺癌的恶性程度高、进展迅速, 早期诊断是改善胰腺癌预后最关键的措施。目前 CT、MRI 等影像学方法对于胰腺癌的检出率受到肿瘤直径的影响<sup>[9-10]</sup>, 存在较大的局限性, 因此, 寻找敏感且特异的血清标志物仍然是早期诊断胰腺癌的热点。目前诊断胰腺癌最常用的血清标志物仍然是 CA19-9。CA19-9 与 Lewis 抗原有关, 有 5%~10% 的人群不表达 CA19-9<sup>[11]</sup>, 肿瘤直径小于 3 cm 的胰腺癌患者中血清 CA19-9 升高的比例仅为 50%<sup>[12]</sup>, 而且血清 CA19-9 水平在一些良性疾病和消化系统其他恶性肿瘤中也会升高<sup>[13]</sup>。因此, CA19-9 诊断胰腺癌的灵敏度和特异度均不够理想。Goonetilleke 等<sup>[14]</sup>对 26 项研究共计 2 283 例患者进行文献回顾性分析,

发现 CA19-9 诊断胰腺癌的灵敏度为 79% [95% CI 为 (70%, 90%)], 特异度为 82% [95% CI 为 (68%, 91%)]。本组胰腺癌患者中 CA19-9 水平升高的比例为 77.8% (14/18), 与文献报道<sup>[14]</sup>相近。虽然 CA19-9 是目前诊断胰腺癌最常用的指标, 但确实不够理想。

目前已有不少研究<sup>[15-16]</sup>表明, 胰腺癌患者血清中的 miRNAs 存在差异性表达, 一些单一 miRNA 或者 miRNA 组合已经显示出鉴别胰腺癌和健康对照/慢性胰腺炎的潜力。Kawaguchi 等<sup>[15]</sup>发现, 胰腺癌患者血清中的 miR-221 水平较健康对照组显著升高, 诊断胰腺癌的 AUC 值为 0.743。Schultz 等<sup>[16]</sup>研究了血液中 2 种 miRNAs 组合诊断胰腺癌的价值: 组合 1 (miR-145、miR-150、miR-223 及 miR-636) 的灵敏度为 85%, 特异度为 64%, AUC 值为 0.86; 组合 2 (miR-636、miR-26b、miR-223、miR-122、miR-150、miR-145、miR-505、miR-34a、miR-885.5p 及 miR-126) 的灵敏度和特异度均为 85%, AUC 值为 0.93。1 篇纳入 12 项研究的 meta 分析<sup>[17]</sup>纳入了 1 060 份胰腺癌患者和 935 份健康对照者的血样, 结果显示, miRNA 的合并灵敏度为 87% [95% CI 为 (0.85, 0.89)], 特异度为 92% [95% CI 为 (0.90, 0.94)], 显示了血液 miRNA 表达具备区分胰腺癌和非癌对照者的诊断价值。

既往研究<sup>[18-20]</sup>发现, 胰腺癌患者的血液 miRNA-21 水平显著升高, 这些研究中胰腺癌的对照一般为正常健康对照。本研究结果则显示, 胰腺癌患者血清中的 miRNA-21 水平高于胰腺良性疾病组, 更有利于对胰腺癌的鉴别诊断。本研究的动物实验结果也显示, 胰腺癌大鼠血清中的 miRNA-21 水平高于大鼠空白对照组, 人和大鼠胰腺癌血清 miRNA-21 水平的变化趋势是相同的。已有研究<sup>[21]</sup>证明, 早在癌前病变胰腺上皮内瘤变 (pancreatic Intraepithelial Neoplasia, PanIN) 阶段, 胰腺组织中 miRNA-21 的表达水平已异常升高。miRNA-21 的异常高表达是胰腺癌发生发展过程中的特征性改变之一, 检测血清中 miRNA-21 的表达水平对于胰腺癌的诊断具有重要意义。

相比于健康对照和慢性胰腺炎, 胰腺癌患者血清中的 miRNA-155 水平异常升高<sup>[22-23]</sup>。本研究也进一步证实了胰腺癌患者血清中的 miRNA-155 表达水平较胰腺良性疾病患者升高。在动物实验中, 本研究也表明, 胰腺癌大鼠血清中 miRNA-155 同样呈明显高表达。不同 miRNA 进入血循环的方式及机制尚未明确, 这与其在胰腺癌组织中表达位置的

不同可能有关。比如, miRNA-21 主要表达在胰腺癌细胞中, 而 miRNA-155 主要在间质中高表达<sup>[24]</sup>。在癌前病变 PanIN 阶段, miRNA-155 在 PanIN-2 组织中即存在异常高表达, 比 PanIN-3 阶段才异常表达的 miRNA-21 更早出现, 提示其在胰腺癌早期发生过程具有重要意义<sup>[25]</sup>, miRNA-155 有望在胰腺癌的诊断甚至早期诊断中体现出价值。

本研究结果显示, 血清 miRNA-21 和 miRNA-155 水平诊断胰腺癌的 AUC 值分别是 0.764 和 0.875, 其中 miRNA-155 的 AUC 值接近 0.9, 更为理想。血清 CA19-9 诊断胰腺癌的灵敏度和特异度约分别为 79% 和 82%<sup>[14]</sup>, 本研究中血清 miRNA-155 的灵敏度和特异度均达到了 83.3%, 略高于 CA19-9, 体现出了一定的诊断潜力。

综上所述, 胰腺癌患者血清中 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平均高于胰腺良性疾病组, 胰腺癌大鼠血清中的 miRNA-21 和 miRNA-155 的表达水平也较空白对照组异常升高。血清 miRNA-155 水平具有较高的灵敏度和特异度, 可以较好地区分胰腺癌和胰腺良性疾病。血清 miRNA 检测有望成为胰腺癌诊断方面的一个有效的新方法。

#### 参考文献

- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30.
- Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, *et al.* Pancreatic cancer. *Lancet*, 2016, 388(10039): 73-85.
- 姚汝斌, 郑军, 邢荣春. 微小 RNA 在胰腺癌中的研究进展. *中国普外基础与临床杂志*, 2012, 19(8): 911-915.
- Hernandez YG, Lucas AL. MicroRNA in pancreatic ductal adenocarcinoma and its precursor lesions. *World J Gastrointest Oncol*, 2016, 8(1): 18-29.
- Xu J, Cao Z, Liu W, *et al.* Plasma miRNAs effectively distinguish patients with pancreatic cancer from controls: a multicenter study. *Ann Surg*, 2016, 263(6): 1173-1179.
- Qu K, Zhang X, Lin T, *et al.* Circulating miRNA-21-5p as a diagnostic biomarker for pancreatic cancer: evidence from comprehensive miRNA expression profiling analysis and clinical validation. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1692.
- Duell EJ, Lujan-Barroso L, Sala N, *et al.* Plasma microRNAs as biomarkers of pancreatic cancer risk in a prospective cohort study. *Int J Cancer*, 2017, 141(5): 905-915.
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc*, 2008, 3(6): 1101-1108.
- de la Santa LG, Retortillo JA, Miguel AC, *et al.* Radiology of pancreatic neoplasms: an update. *World J Gastrointest Oncol*, 2014, 6(9): 330-343.
- Pietryga JA, Morgan DE. Imaging preoperatively for pancreatic adenocarcinoma. *J Gastrointest Oncol*, 2015, 6(4): 343-357.
- Ballehaninna UK, Chamberlain RS. The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: an evidence based appraisal. *J Gastrointest Oncol*, 2012, 3(2): 105-119.
- Decker GA, Batheja MJ, Collins JM, *et al.* Risk factors for pancreatic adenocarcinoma and prospects for screening. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 2010, 6(4): 246-254.
- Duffy MJ, Sturgeon C, Lamerz R, *et al.* Tumor markers in pancreatic cancer: a European Group on Tumor Markers (EGTM) status report. *Ann Oncol*, 2010, 21(3): 441-447.
- Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol*, 2007, 33(3): 266-270.
- Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, *et al.* Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 2013, 108(2): 361-369.
- Schultz NA, Dehlendorff C, Jensen BV, *et al.* MicroRNA biomarkers in whole blood for detection of pancreatic cancer. *JAMA*, 2014, 311(4): 392-404.
- Meng QC, Qiu WW, Wen ZQ, *et al.* Novel blood-based microRNA biomarkers for diagnosis of pancreatic cancer: a meta-analysis. *Tumori*, 2015, 101(2): 199-205.
- Liu R, Chen X, Du Y, *et al.* Serum microRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. *Clin Chem*, 2012, 58(3): 610-618.
- Frampton AE, Giovannetti E, Jamieson NB, *et al.* A microRNA meta-signature for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14(3): 267-271.
- Abue M, Yokoyama M, Shibuya R, *et al.* Circulating miR-483-3p and miR-21 is highly expressed in plasma of pancreatic cancer. *Int J Oncol*, 2015, 46(2): 539-547.
- du Rieu MC, Torrisani J, Selves J, *et al.* MicroRNA-21 is induced early in pancreatic ductal adenocarcinoma precursor lesions. *Clin Chem*, 2010, 56(4): 603-612.
- Wang J, Chen J, Chang P, *et al.* MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2009, 2(9): 807-813.
- Cote GA, Gore AJ, McElyea SD, *et al.* A pilot study to develop a diagnostic test for pancreatic ductal adenocarcinoma based on differential expression of select miRNA in plasma and bile. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109(12): 1942-1952.
- Sempere LF, Preis M, Yezefski T, *et al.* Fluorescence-based codetection with protein markers reveals distinct cellular compartments for altered MicroRNA expression in solid tumors. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(16): 4246-4255.
- Ryu JK, Hong SM, Karikari CA, *et al.* Aberrant microRNA-155 expression is an early event in the multistep progression of pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatol*, 2010, 10(1): 66-73.

收稿日期: 2018-04-02 修回日期: 2018-06-29

本文编辑: 罗云梅