

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 19. 010

唾液 miRNA-205 检测在喉鳞状细胞癌中的诊断价值

罗彬瑞¹, 郭天虹², 黄远帅^{1△}

(西南医科大学附属医院输血科, 四川泸州 646000)

摘要:目的 初步探讨唾液 miRNA-205 检测在喉鳞状细胞癌中的诊断价值。方法 收集了于该院就诊的 15 例喉鳞状细胞癌患者、10 例喉息肉患者、10 例健康者的唾液标本,使用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)定量检测并比较唾液 miRNA-205 的相对表达情况。结果 喉鳞状细胞癌患者的唾液中 miRNA-205 的表达水平较健康对照者显著上调($P=0.036$)。受试者工作特征(ROC)曲线分析 miRNA-205 对喉鳞状细胞癌的诊断价值发现,唾液中 miRNA-205 的 ROC 曲线下面积为 0.753 0(95%CI:0.546 0~0.961 0, $P=0.036$)。结论 喉鳞状细胞癌患者唾液中的 miRNA-205 存在高表达,有望作为早期诊断喉鳞状细胞癌的指标。检测 miRNA-205 在唾液中的表达,将来有望开启喉鳞状细胞癌早期诊断的无创时代。

关键词: miRNA-205; 唾液; 喉鳞状细胞癌

中图法分类号:R739.65

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)19-2876-05

Diagnostic value of salivary microRNA-205 in laryngeal squamous cell carcinoma

LUO Binrui¹, GUO Tianhong², HUANG Yuanshuai^{1△}

(Department of Blood Transfusion, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To preliminarily explore the diagnostic value of salivary miRNA-205 in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC). **Methods** The saliva samples were collected from 15 cases of LSCC, 10 cases of laryngeal polyp and 10 healthy controls. The real-time quantitative reverse transcription PCR(RT-PCR) was employed to quantitatively detect and compare the relative expression levels of miRNA-205. **Results** The expression level of salivary miRNA-205 in the patients with laryngeal squamous cell carcinoma was significantly up-regulated compared with healthy controls ($P=0.036$). The analysis of miRNA205 for diagnosing LSCC by using the ROC curve found that the area under the ROC curve (AUC) of salivary miRNA-205 was 0.753 0 (95%CI:0.546-0.961, $P=0.036$). **Conclusion** miRNA-205 is highly expressed in saliva of the patients with laryngeal squamous cell carcinoma, and is expected to serve as indicator for diagnosing LSCC. Detecting saliva miRNA-205 expression is likely to open the non-invasive era of LSCC early diagnosis in the future.

Key words: miRNA-205; saliva; laryngeal squamous cell carcinoma

头颈癌是全世界第六大常见肿瘤,其中喉癌是头颈部最常见的恶性肿瘤之一,而喉鳞状细胞癌(LSCC)是喉癌中最常见的组织学类型^[1-2]。目前喉癌的治疗方法主要包括外科手术切除、放疗和化疗,这些治疗方法对早期喉癌患者效果较好,但对晚期患者的治疗效果欠佳,因此,其 5 年生存率也不理想^[3]。因此,发现喉癌的早期诊断标志物显得尤为重要。微小核糖核酸(miRNA)参与了人体细胞多种重要的调节过程^[4],而 miRNA 的异常表达与肿瘤发生、发展的关系已成为目前研究的热点。miRNA-205 作为 miRNA 家族中重要的一员已被发现在许多类型的肿瘤中

呈异常表达,包括前列腺癌、膀胱癌和头颈部癌(口咽癌、鼻咽癌、喉癌等)等^[5-7]。

目前,已有多项研究发现 LSCC 患者中有特别的 miRNA 表达谱(包括 miRNA-205)^[7-9],并能提示 LSCC 的诊断,但这些研究都是基于患者的组织或血液标本(血清或血浆)。组织和血液标本都不是适合广泛筛查的标本类型:首先肿瘤组织标本的收集是侵入性、有创性的操作,且肿瘤组织的出现说明患者已出现了癌变,不适用于广泛人群的早期大规模的普查;其次,血液标本的收集繁琐,且也属于有创性操作,并有感染的风险,对于普查项目而言大众接受度

作者简介:罗彬瑞,女,在读硕士,主要从事 miRNA 的研究。△ 通信作者,E-mail:hys@live.cn。

不高。因此,找到一种合适、方便易获取、无创的标本类型作为筛查项目显得尤为重要。目前有研究发现,miRNA 存在于多种体液中^[10],包括血液、尿、乳汁、泪液、唾液等 12 种人体体液,其中唾液是所有体液中 miRNA 含量最为丰富的组织,且很多血液中的 miRNA 也同样存在于唾液中。人体每天都要分泌大量唾液,唾液标本收集方便且为非侵入性,对于 LSCC 患者,唾液比血液更邻近病变组织。因此,以唾液 miRNA 作为生物标志物对 LSCC 的诊断和预后判断是非常值得探讨的^[11]。目前唾液 miRNA 在头颈部鳞癌中的研究仍是热点,其中口咽癌、食管癌等都有单独的研究并发现有特征的唾液 miRNA 变化谱^[12-13],而单独的 miRNA 在 LSCC 患者唾液中的表达水平以及其对早期 LSCC 的诊断价值如何,国内外鲜见报道。本研究初步探讨唾液 miRNA-205 对 LSCC 早期诊断的临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究的患者唾液取自本院初诊的 15 例 LSCC 患者、10 例喉声带息肉(VCP)患者及 10 例体检中心的健康体检者。LSCC 患者均为男性,汉族,平均年龄(60.40±8.39)岁,纳入 LSCC 组。所有 LSCC、VCP 患者入院后均经病理活检(金标准)证实,且无伴发其他慢性病、传染性疾病、口腔疾病,如糖尿病、结核、口腔溃疡等。LSCC 患者手术前均未接受放疗等治疗。以年龄、性别(均为男性)、种族(均为汉族)匹配且无其他疾病的 VCP 患者、健康体检者分别纳入 VCP 组、健康对照组,每组 10 例。所有纳入的研究个体均签署了知情同意书。

1.2 仪器与试剂 miRNA-205 引物委托上海生物工程技术有限公司合成(F:5'-AGCGTAGCTTAT-CAGACTGATGTTGA-3';外参引物包含在德国凯杰公司的 miRNeasy Serum/Plasma 试剂盒中);提取试剂选择德国凯杰公司的 miRNeasy Serum/Plasma 试剂盒(规格型号:217184);外参是德国凯杰公司的 miRNeasy Serum/Plasma Spike-In Control(cel-39)(规格型号:219610);反转录为德国凯杰公司的 miScript II RT 试剂盒(规格型号:218161);扩增选择德国凯杰公司 miScript SYBR Green PCR 试剂盒(规格型号:218073)。PCR 扩增仪选用 ABI-7500 荧光定量 PCR 仪;凝胶成像系统采用 GBOX-CHemi-XR5(英国 Syngene 公司)。

1.3 方法

1.3.1 唾液采集 唾液收集前,所有研究个体需禁食、禁饮 2 h 以上。收集时使用 50 mL 无菌无酶离心管,采用非刺激性的收集方法使唾液自然流出,收集量需达 3 mL。唾液收集完后,4 °C、1 900 r/min 离心

10 min 取上清液至 1.5 mL EP 管,再以 4 °C、16 000 r/min 离心 10 min 后再弃沉淀取上清液,将所获上清液至 1.5 mL EP 管置-80 °C 保存。标本收集好后需 2 h 内作出上述处理。LSCC 患者手术前和手术后 6 个月各采集 1 次唾液标本;VCP 患者术前采集 1 次唾液标本;健康体检者采集 1 次唾液标本。

1.3.2 临床资料收集 收集 LSCC 患者的临床资料,包括性别、年龄、个人史(吸烟、饮酒史)、肿瘤生长部位、分化程度、临床病理分期。肿瘤临床分期根据肿瘤的生长范围及扩散程度,按 2002 年国际抗癌联盟(UICC)喉癌 TNM 分期方案分为 I~IV 期。

1.3.3 RNA 提取及反转录 按照试剂盒说明书提取 RNA;取唾液上清液 200 μL,加入 1 mL QIAzol 混匀孵育后,加入 1 mL 氯仿进行萃取,离心后,上清液经离心柱过柱,洗脱获得 miRNA。加入氯仿前加入 3.5 μL 德国凯杰公司的 miRNeasy Serum/Plasma Spike-In Control(cel-39)作为外参。使用 Nanodrop ND-1000 检测提取总 RNA 的质量,总 RNA 的 A₂₆₀/A₂₈₀ 值在 1.8~2.1 为合格的 RNA 样品(说明样品 RNA 制备较纯,无蛋白质污染),可进行下一步操作。

取 12 μL 提取合格的 RNA 按照试剂盒说明进行反转录。反应体系组成:2 μL miScript Reverse Transcriptase Mix(一种经优化的 poly(A)聚合酶和反转录酶混合物)、2 μL 10× miScript Nucleics Mix(包括 dNTPs、rATP、oligo-dT 引物等)、4 μL 5× miScript HiSpec Buffer、12 μL miRNA,然后进行反转录。反应条件为 37 °C 60 min,95 °C 5 min。反转录反应完成后 cDNA 用无酶水以 1:10 稀释后置-20 °C 保存。

1.3.4 运用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测唾液中 miRNA-205 的相对表达量 反转录产物使用德国凯杰公司 miScript SYBR Green PCR 试剂盒联合 miRNA 特异性前向引物进行 RT-PCR 检测,以 Cel-miRNA-39 作为外参 miRNA。反应体系组成:2.5 μL RT 产物、2.5 μL 特异前向引物、2.5 μL 通用的反向引物、12.5 μL 2× QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix、5 μL 无酶水。反应条件:95 °C 15 min 后,94 °C 15 s,55 °C 30 s,70 °C 30 s,40 个循环。同时做溶解曲线判断基因扩增的特异性。RT-PCR 检测在 ABI-7500 荧光定量 PCR 仪上完成,试验结果使用 2^{-ΔΔCt} 法对目的基因进行相对定量。

1.4 统计学处理 数据使用 SPSS20.0 软件进行统计分析,GraphPad Prism 5.0 进行作图。miRNA-205 的相对表达水平以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同组间 miRNA-205 表达水平的差异采用 Mann Whitney U 检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miRNA-205 在 LSCC 中的诊断效能。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组唾液中 miRNA-205 的相对表达水平 采用 RT-PCR 定量检测 15 例 LSCC 患者和 10 例 VCP 患者以及 10 例健康者唾液中的 miRNA-205 表达水平,发现与健康对照组(2.33±0.97)相比,LSCC 组患者(11.73±4.53)及 VCP 组患者(9.72±5.12)唾液中 miRNA-205 的表达水平均上调,LSCC 组患者上调更明显,且差异有统计学意义($P=0.036$)。10 例 VCP 患者唾液中的 miRNA-205 的表达水平相比于健康对照组也呈上调趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1。

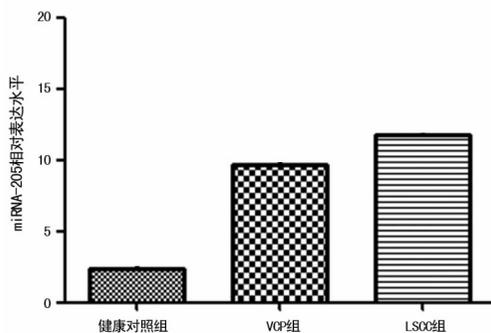


图 1 3 组唾液中的 miRNA-205 表达水平

表 1 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 的相对表达水平与临床参数的相关性

临床参数	n	miRNA-205 的相对表达水平	P
年龄(岁)			
<60	7	10.25±7.76	0.613
≥60	8	13.03±5.56	
分化程度			
高分化	7	4.47±1.14	0.945
中分化	8	12.72±5.56	
肿瘤部位			
声门型	12	11.36±5.10	0.633
声门上型	3	13.24±11.86	
TNM 分期			
I~II 期	12	11.43±5.09	0.536
III~IV 期	3	12.96±4.01	
吸烟指数(SI)			
≤200	5	10.16±6.71	0.440
≥400	10	12.52±6.12	
饮酒			
经常	8	19.55±7.60	0.336
无或偶尔	7	2.79±0.42	

注:吸烟指数(SI)=每日吸烟支数×吸烟年数;SI<200 为轻度吸烟,200~400 为中度吸烟,>400 为重度吸烟;本研究中无中度吸烟者

2.2 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 的相对表达水平与临床参数的相关性 采用 Mann Whitney U 检验

分析发现,肿瘤中分化者较肿瘤高分化者唾液中 miRNA-205 的相对表达量高,III~IV 期的 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 的相对表达量也高于 I~II 期的患者,但差异均无统计学意义($P=0.945,0.536$)。其他临床参数(患者年龄、吸烟史、饮酒史、肿瘤的生长部位)与 miRNA-205 的表达水平均无关。见表 1。

2.3 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 对 LSCC 的诊断价值 采用 ROC 曲线分析 miRNA-205 对 LSCC 的诊断价值发现,唾液中 miRNA-205 区分 LSCC 患者与健康者的曲线下面积(AUC)为 0.753 0(95%CI: 0.546 0~0.961 0, $P=0.036$),截断值取 1.617 4 时,灵敏度与特异度分别为 86.7% 与 70.0%。说明唾液中的 miRNA-205 检测可作为 LSCC 诊断的生物标志物。见图 2。

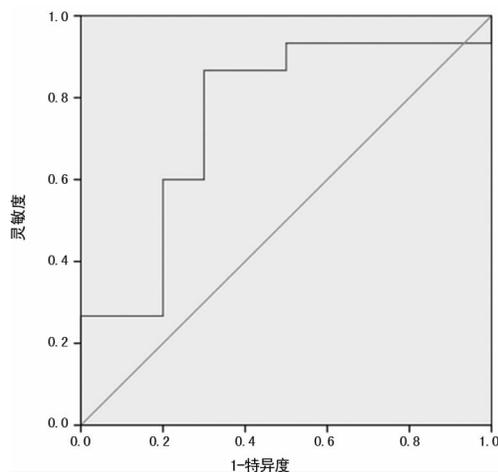


图 2 ROC 曲线

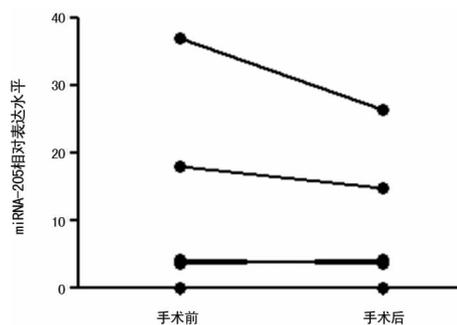


图 3 LSCC 患者术前、术后唾液中的 miRNA-205 表达水平

2.4 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 术前、术后的变化 为了评价 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 术前、术后的动态变化,监测了 5 例 LSCC 患者手术前和手术后 6 个月的 miRNA-205 的变化,这 5 例患者手术后的 miRNA-205 相对表达水平(9.75±4.82)较手术前(12.53±6.83)有下降的趋势,但差异无统计学意义($P=0.841$)。研究再比较了手术后与健康对照组的 miRNA-205 的表达量发现,手术切除肿瘤组织后,miRNA-205 的表达水平与健康对照组差异无统计学

意义($P=0.440$)。见图 3~4。

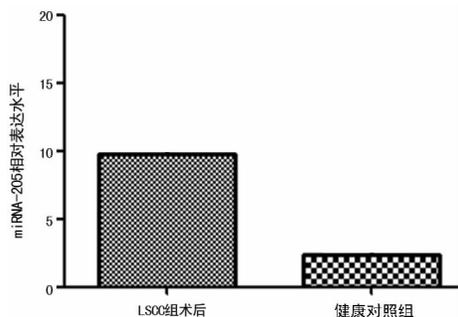


图 4 LSCC 患者术后与健康对照者唾液中的 miRNA-205 表达水平

3 讨 论

miRNA 的发现为肿瘤的诊断、发生和发展机制, 以及治疗的研究开启了新的方向。近年来, 越来越多的研究发现 miRNA 在肿瘤中的表达量有异常改变, 这使得 miRNA 可能成为肿瘤诊断的新的生物学标志和治疗药物作用的靶标。CAO 等^[7]应用 miRNA 芯片的方式筛选了 6 对 LSCC 及其邻近正常组织中差异性表达的 miRNA, 发现了 29 个差异表达的 miRNA(包括 26 种上调的和 3 种下调的 miRNA), 如上调的 miRNA-21、miRNA-93、miRNA-205, 以及下调的 miRNA-708、miRNA-125b、miRNA-145 等。这些差异表达的 miRNA 可能在 LSCC 的发生和发展中起到关键作用, 这也为进一步研究 miRNA 的功能提供了一个新的视角。AYAZ 等^[9]采用高通量实时定量聚合酶链反应筛选 LSCC 患者与健康对照者血浆中差异表达的 miRNA, 发现了 17 种上调的 miRNA 和 9 种下调的 miRNA, 其中有 5 种 miRNA 是从未在其他疾病中发现的, 属于 LSCC 特异性的 miRNA(miRNA-603、miRNA-1303、miRNA-660-5p、miRNA-331-3p 和 miRNA-212-3p)。唾液作为血液循环的末端产物, 与血液中的很多物质都有相同的表达谱, 这使其成为很多疾病早期诊断和治疗的特异性生物标志物^[11-14]。

本研究以 LSCC 患者和 VCP 患者、健康者的唾液为出发点, 检测唾液中的 miRNA-205 的表达情况, 探讨其对 LSCC 早期诊断的临床价值发现: LSCC 患者的唾液中 miRNA-205 的表达水平相比健康者显著上调, 而与 LSCC 早期症状相似的 VCP 患者唾液中 miRNA-205 的表达水平相比健康者也有上调, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。同时本研究采用了 ROC 曲线分析了唾液中 miRNA-205 的诊断效能, 结果显示其 AUC 为 0.753 0, 截断值取 1.617 4 时, 灵敏度与特异度分别为 86.7% 与 70.0%, 这说明了唾液中的 miRNA-205 检测可作为 LSCC 诊断的生物标志物且诊断性能良好。同时, 本研究中 LSCC 患者唾

液中 miRNA-205 的显著上调的变化趋势与之前研究提示的肿瘤组织中的 miRNA-205 的变化趋势一致^[6], 这说明了唾液中的 miRNA-205 可能是肿瘤组织细胞的释放, 这与目前许多研究者认为的循环中核酸起源的假设一致^[15]。但其真正的来源与机制还需要进一步的研究。

本研究还比较了 5 例 LSCC 患者手术前和手术后唾液中 miRNA-205 的动态变化, 发现 LSCC 患者手术后唾液 miRNA-205 的水平有下降趋势, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。同时分析了一些基本临床参数与 miRNA-205 表达水平的关系, 虽然结果显示肿瘤中分化者较肿瘤高分化者唾液中 miRNA-205 的相对表达量高, III~IV 期的 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 的相对表达量也高于 I~II 期的患者, 但差异均无统计学意义($P>0.05$)。这可能与本研究所纳入的研究样本较少、组间差异大有关, 其中的相关性尚需进一步深层次的研究。

综上所述, 本研究检测了 LSCC 患者唾液中 miRNA-205 的表达水平, 并发现唾液中 miRNA-205 存在高表达, 可作为 LSCC 早期诊断的标志物。miRNA-205 作为 miRNA 家族的成员, 其在恶性肿瘤组织和细胞中的表达对指导肿瘤的早期诊断和及早干预、治疗都有着重大的意义^[6,16-17]。如果唾液中的 miRNA-205 能够成为一种无创、可行性高、方便的检测手段, 将对 miRNA 的临床应用有重大意义。本研究由于是初步的探讨性研究, 样本数量较少, 且可能由于地域差异, 于本院就诊的 LSCC 患者均为男性, 因此结果存在一定的局限, 所以更多样本、不同的地域的研究将是下一步要做的工作。

参考文献

- [1] MAO L, HONG W K, PAPANIMITRAKOPOULOU V A. Focus on head and neck cancer[J]. Cancer Cell, 2004, 5(4): 311-316.
- [2] LICITRA L, BERNIER J, GRANDI C, et al. Cancer of the larynx[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2003, 47(1): 65-80.
- [3] MACNEIL S D, LIU K, SHARIFF S Z, et al. Secular trends in the survival of patients with laryngeal carcinoma, 1995-2007[J]. Curr Oncol, 2015, 22(2): e85-e99.
- [4] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [5] Osipov I D, Zaporozhchenko I A, Bondar A A, et al. Cell-Free miRNA-141 and miRNA-205 as prostate cancer biomarkers[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 924(1): 9-12.
- [6] FANG Z, DAI W, WANG X, et al. Circulating miR-205: a promising biomarker for the detection and prognosis evaluation of bladder cancer[J]. Tumor Biol, 2016, 37(6): 8075-8082.

(如脓毒症)、自身免疫性疾病等相似,缺乏一定的特异性,疾病进展迅速、病死率高,早期识别对预后有很大的意义。综上所述,除 sCD25 外,sCD163 也是诊断 HLH 的灵敏及特异的指标,IL-12 亦有较高的诊断价值。

参考文献

[1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007;254-256.

[2] KAREN P, ANNELEEN A, ELLEN B, et al. Cytokines in systemic juvenile idiopathic arthritis and haemophagocytic lymphohistiocytosis; tipping the balance between interleukin-18 and interferon- γ [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2015, 54(8):1507-1517.

[3] BLEESING J, PRADA A, SIEGEL D M, et al. The diagnostic significance of soluble CD163 and soluble interleukin-2 receptor alpha-chain in macrophageactivation syndrome and untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(3):965-971.

[4] 刘冬杰,王颖超,朱桂英,等. 可溶性 CD163 和 CD25 在儿童噬血细胞性淋巴组织细胞增生症诊治中的意义[J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(11):824-829.

[5] AL-HERZ W, BOUSFIHA A, CASANOVA J L, et al. Primary immunodeficiency diseases; an update on the

classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency[J]. *Front Immunol*, 2014, 5(1):162-180.

[6] HE M, JIA J, ZHANG J, et al. Pregnancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to NK/T cells lymphoma: a case report and literature review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(47):e8628.

[7] MANISHA M, SNEHAL S, DESAI M. Current Updates on classification, diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis(HLH)[J]. *Indian J Pediatr*, 83(5):434-443.

[8] 徐晓军,汤永民. 噬血细胞综合征诊治研究进展[J]. *中华儿科杂志*, 2011, 49(9):712-716.

[9] SHEILA W. Approach to hemophagocytic syndromes[J]. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, 2011(6):178-183.

[10] MØLLER H J. Soluble CD163[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2012, 72(1):1-13.

[11] YASUTOMI M, OKAZAKI S, HATA I, et al. Cytokine profiles in Mycoplasma pneumoniae infection-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2016, 49(5):813-816.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-05-25)

(上接第 2879 页)

[7] CAO P Y, ZHOU L, ZHANG J, et al. Comprehensive expression profiling of microRNAs in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Head Neck*, 2013, 35(5):720-728.

[8] WANG Y, CHEN M T, TAO Z Z, et al. Identification of predictive biomarkers for early diagnosis of larynx carcinoma based on microRNA expression data[J]. *Cancer Genet*, 2013, 206(9/10):340-346.

[9] AYAZ L, GORUR A, YAROGLU H Y, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with laryngeal squamous cell carcinoma; potential early detection markers for laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(9):1499-1506.

[10] WEBER J A, BAXTER D H, ZHANG SHI-LE, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(11):1733-1741.

[11] WONG D T. Salivary diagnostics[J]. *Oper Dent*, 2012, 37(6):562-570.

[12] PARK J, ZHOU H, ELASHOFF D, et al. Salivary microRNA: iscovery, characterization, and clinical utility for oral cancer etection[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(17):

5473-5477.

[13] CAI E H, GAO Y X, WEI Z Z, et al. Serum miR-21 expression in human esophageal squamous cell carcinomas [J]. *Asian Pacific J Cancer Prevent*, 2012, 13(4):1563-1567.

[14] DENNY P, HAGEN F K, HARDT M, et al. The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions[J]. *J Proteome Res*, 2008, 7(5):1994-2006.

[15] SCHWARZENBACH H, HOON D S, PANTEL K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(6):426-433.

[16] WILCZYNSKI M, DANIELSKA J, DZIENIECKA M, et al. The role of miRNA in endometrial cancer in the context of miRNA 205[J]. *Ginekol Pol*, 2015, 86(11):856-862.

[17] CHEN Z, TANG Z Y, HE Y, et al. miRNA-205 is a candidate tumor suppressor that targets ZEB2 in renal cell carcinoma[J]. *Oncol Res Treat*, 2014, 37(11):658-664.

(收稿日期:2018-01-22 修回日期:2018-05-21)