

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.04.005

miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 在类风湿关节炎患者外周血中检测的临床意义^{*}

钟丽红¹, 丘创华^{2△}, 彭紫元², 余吉佳²

广东省深圳市第二人民医院:1. 干部保健科;2. 检验科, 广东深圳 518000

摘 要:目的 研究 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 在类风湿关节炎(RA)患者外周血中的表达水平与健康人群的差异,探讨这 3 项指标的临床意义。方法 收集 68 例 RA 确诊患者(RA 组)及 20 例健康志愿者(健康对照组)的空腹静脉血,采用实时荧光定量 PCR 技术检测研究对象外周血中 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平;比较 RA 患者与健康志愿者外周血中 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平差异,Pearson 分析 RA 患者血清这 3 项指标与类风湿因子(RF)、C 反应蛋白(CRP)、DAS28 评分的相关性;构建 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的 ROC 曲线并计算曲线下面积(AUC),进而比较各指标单独及联合检测的灵敏度和特异度。结果 RA 组患者外周血中 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平显著高于健康对照组($P < 0.05$)。根据 DAS28 评分,进一步将 RA 患者分为缓解组和活动组,发现活动组患者外周血中 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 相对表达水平高于缓解组和健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。miRNA-16 的表达水平与 CRP、DAS28 呈正相关($r = 0.470, 0.446, P < 0.05$),miRNA-146a 的表达水平与 CRP、DAS28 呈正相关($r = 0.408, 0.407, P < 0.05$)。miRNA-223 的表达水平与 RF、CRP 呈正相关($r = 0.527, 0.518, P < 0.05$)。miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的 AUC 分别为 0.63、0.75、0.89,灵敏度分别为 68.70%、85.24%、87.63%,特异度分别为 55.39%、63.57%、90.35%。三者联合使用作为 RA 标志物作 ROC 曲线,得到 AUC 为 0.91,灵敏度为 89.34%,特异度为 91.56%。结论 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 与 RA 发生、发展存在密切关系,联合检测具有更高的灵敏度和特异度,适用于临床早期诊断 RA。

关键词: 类风湿关节炎; 外周血; miRNA-16; miRNA-146a; miRNA-223

中图法分类号: R593.22

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)04-0447-05

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Clinical significance of peripheral blood miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 detection among patients with rheumatoid arthritis^{*}

ZHONG Lihong¹, QIU Chuanghua^{2△}, PENG Ziyuan², SHE Jijia²

1. Department of Cadre Health Care; 2. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Municipal Second People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China

Abstract: Objective To study the difference of expression levels of miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 in peripheral blood between the patients with rheumatoid arthritis (RA) and healthy population and to explore their clinical significance. **Methods** The fasting venous blood samples were collected from 68 patients definitely diagnosed as RA (RA group) and 20 healthy volunteers (HC group). The relative expression levels of peripheral blood miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 in the study subjects were detected by adopting RT-PCR. The differences in the relative expression levels of peripheral blood miRNA-16, miRNA-146a, miRNA-223 were compared between the RA group and HC group. The correlation between three serum indexes with the rheumatoid factor (RF), DAS28 score and C-reactive protein (CRP) was analyzed by Pearson. The receiver operating characteristic (ROC) curves of miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 were constructed, and the area under the curve (AUC) was calculated, thus the sensitivity and specificity were compared among the single detection of each indicator and their combined detection. **Results** The relative expression lev-

^{*} 基金项目: 广东省深圳市科技创新委员会科技计划项目(JCYJ2016042510332307)。

作者简介: 钟丽红, 女, 主治医师, 主要从事慢性病的管理、预防和健康教育研究。 △ 通信作者, E-mail: 8758259@qq.com。

els of peripheral blood miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 in the RA group were significantly higher than those in the HC group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The RA patients were further divided into the remission group and activity group according to the DAS28 scores. It was found that the relative expression levels of peripheral blood miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 in the activity group were higher than those in the remission group and HC group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression level of miRNA-16 was positively correlated with CRP and DAS28 ($r = 0.470, r = 0.446, P < 0.05$), and the expression level of miRNA-146a was positively correlated with CRP and DAS28 ($r = 0.408, r = 0.407, P < 0.05$). The expression level of miRNA-223 was positively correlated with RF and CRP ($r = 0.527, r = 0.518, P < 0.05$). AUC of miRNA-16, miRNA-146a, and miRNA-223 were 0.63, 0.75, and 0.89 respectively, the sensitivities were 68.70%, 85.24% and 87.63% respectively, and the specificities were 55.39%, 63.57% and 90.35% respectively. The three indicators combined use served as the marker of RA, the ROC curve was drawn, the obtained AUC was 0.91, the sensitivity was 89.34% and the specificity was 91.56%. **Conclusion** miRNA-16, miRNA-146a, and miRNA-223 have close relationship with the occurrence and development of RA. Their combined detection has higher sensitivity and specificity, which is suitable for clinically early diagnosis of RA.

Key words: rheumatoid arthritis; peripheral blood; miRNA-16; miRNA-146a; miRNA-223

类风湿关节炎(RA)是一种常见的全身性自身免疫性疾病,主要特点为对称性、慢性的滑膜关节炎和关节病变。目前,RA发病机制尚未明确,主要认为是由外界环境因素(感染因素)与自身内在因素(遗传、内分泌因素)导致自身免疫功能紊乱而引起的^[1]。同时,RA缺乏有效的治疗手段,只能缓解炎症,延缓病情发展,所以早期的诊断和治疗十分重要。2010版RA诊断标准虽然能够诊断出更多不典型的RA,但由于存在血清学指标不灵敏的对称性关节炎、自限性关节炎和影像学表现不显著的关节炎,误诊和漏诊现象仍然存在。因此,寻找有诊断价值的新分子标志物刻不容缓。

miRNA是一种内源性非编码RNA,长约22个核苷酸,是人体内重要的调节器,能调节细胞周期、免疫功能及新陈代谢等生物过程。近年来,miRNA在人类疾病中的作用引起了广泛的关注,已有研究表明,miRNA的异常提示自身性免疫疾病的发生,miRNA的表达能调控炎症因子的分泌,研究者认为他们可能参与RA新的调控机制^[2],但迄今尚无大量研究证实。miRNA几乎存在于人体的所有体液中,如血清、血浆^[3],目前发现miRNA能够在血液循环中稳定存在,不会被核糖核酸酶(RNase)降解,并且可被计量。故miRNA很有潜力成为一种稳定的、敏感分子标志物,可能对RA诊断有一定的价值。为了验证miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223在RA诊断中的作用,本研究通过实时荧光定量PCR检测RA患者外周血中的miRNA-16、miRNA-146a和miRNA-223的相对表达量,观察这3项指标在RA患者和健康人群之间的差异性;并且与目前临床上常规应用的

RA诊断指标[28处关节疾病活动度评估(DAS28)、类风湿因子(RF)、C反应蛋白(CRP)]进行相关性分析,构建受试者工作特征曲线(ROC曲线),通过分析曲线下面积(AUC)进而比较miRNA-16、miRNA-146a和miRNA-223单独及三者联合检测诊断RA的灵敏度和特异度,为RA的发病机制研究和临床诊断提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 68例RA确诊患者来自2017年4月至2018年10月深圳市第二人民医院风湿科门诊以及住院患者,其中男17例、女51例,年龄28~65岁、中位年龄46.5岁。健康对照组为同期体检健康志愿者20例,其中男7例、女13例,年龄25~64岁、中位年龄44.54岁。以上参与者均排除其他自身免疫性疾病和重要器官系统疾病,同时未使用过糖皮质激素及其他免疫抑制剂药物治疗。

1.2 主要材料与试剂 反转录试剂盒(丹麦,Exiqon公司),实时荧光定量PCR仪(美国,ABI公司),全自动生化分析仪(意大利,Vital Diagnosis公司),微量核酸蛋白仪(美国,Thermo Scientific公司),低温高速离心机(美国,Sigma公司)。

1.3 方法

1.3.1 实时荧光定量PCR测定miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 mRNA表达水平 采集RA患者、健康志愿者的空腹静脉血5 mL于EDTA抗凝管中,以3 000 r/min离心5 min后取血浆。根据试剂盒说明书,提取血浆总RNA,利用微量核酸蛋白仪测定RNA纯度判断是否符合实验要求,RNA经过反转录取得cDNA,cDNA作为模板进行荧光定量PCR

检测。以 U6 小核 RNA 作为内参,根据引物序列进行设计。在实时荧光 PCR 仪进行定量检测。数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 表达相对值, $\Delta\Delta Ct_{\text{目的基因}} = \Delta Ct_{\text{目的基因}} - \Delta Ct_{U6}$ 。U6 snRNA 上游检测引物为 TTC GTG AAG CG TCC ATA TTT T ACA CTC; miRNA-146a 上游检测引物为 CAG CTG GGT GAG AAC TGA ATT CCA TGG GT; miRNA-223 上游检测引物为 ACA CTC CAG CTG GGT GTC AGT TTG TCA AAT; miRNA 16 上游检测引物为 ACA CTC CAG CTG GGT AGC AGC ACG TAA ATA TT。

1.3.2 DAS 评分 DAS28 评分细则如下。(1)压痛关节数:共检查 28 个关节,包括掌指关节、肩关节、膝关节、两侧近端指间关节、肘关节、腕关节,计算关节触痛数;(2)肿胀关节数:检查上述 28 个关节是否出现肿胀,记录肿胀关节数;(3)测定红细胞沉降率(ESR);(4)最近 7 d 患者健康状况或患者对 RA 病情活动的总体评价:采用 0~10 cm 标尺,0 表示病情无活动,10 表示病情极度活动,中间部分表示 RA 不同程度的病情活动,数字越大表示病情活动性越强。 $DAS28 = (0.56 \times \text{压痛关节数} + 0.28 \times \text{肿胀关节数}) \times 1/2 + 0.70 \times \ln(ESR) \times 1.08 + 1.06$ 。

1.3.3 RF、CRP 的检测 采用贝克曼 2700 全自动生化分析仪,免疫速率散射比浊法测定 RA 患者 RF、CRP 的水平。

1.4 统计学处理 所用数据使用 SPSS17.0 统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;Pearson 分析 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 与 RF、DAS28、CRP 的相关性;建立 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的 ROC 曲线,计算 AUC,分析各指标的特异度和灵敏度。以 $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RA 患者及健康对照组 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 相对表达水平比较 RA 组患者外周血中 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平均显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 在 RA 组及健康对照组的相对表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miRNA-16	miRNA-146a	miRNA-223
RA 组	68	3.02±0.91 [#]	3.14±0.95 [#]	3.31±0.89 [#]
健康对照组	20	1.45±0.39	1.72±0.48	2.63±0.61

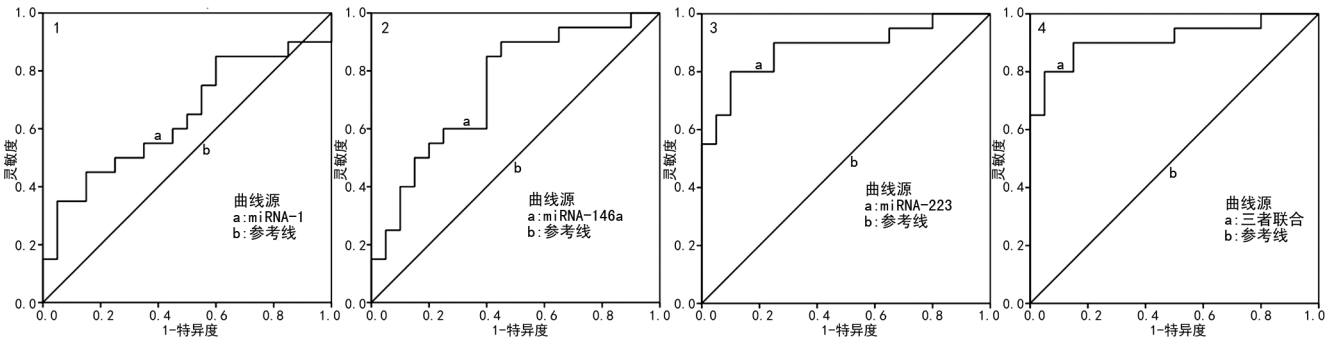
注:与健康对照组相比,[#] $P < 0.05$ 。

2.2 RA 活动组、缓解组及健康对照组之间 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 相对表达水平比较 根据 DAS28 评分,进一步把 RA 组分为活动组和缓解组,每组 34 例。结果显示活动组 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 相对表达水平高于缓解组和健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。缓解组 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 相对表达水平与健康对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 RA 活动组、缓解组与健康对照组间 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miRNA-16	miRNA-146a	miRNA-223
活动组	34	3.74±1.02 ^{#*}	3.27±0.95 ^{#*}	3.58±1.05 ^{#*}
缓解组	34	2.89±0.86	2.56±0.79	2.91±0.84
健康对照组	20	1.45±0.39	1.72±0.48	2.63±0.61

注:与健康对照组相比,[#] $P < 0.05$;与缓解组相比,^{*} $P < 0.05$ 。



注:1~4 分别为 miRNA-1、miRNA-146a、miRNA-223、三者联合使用的 ROC 曲线。

图 1 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 及三者联合诊断 RA 的 ROC 曲线

2.3 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的表达与 RA 患者 RF、CRP 及 DAS28 评分的相关性分析 经检测,RA 患者的 RF 水平为 (35.74 ± 9.28)

IU/mL,CRP 水平为 (11.58 ± 2.49) mg/L,DAS28 评分为 (4.17 ± 1.06) 分。Pearson 分析发现,miRNA-16 与 CRP、DAS28 存在正相关关系($r > 0, P <$

0.05)。miRNA-146a 与 CRP、DAS28 存在正相关关系($r>0, P<0.05$)。miRNA-223 与 RF、CRP 存在正相关关系($r>0, P<0.05$)。见表 3。

表 3 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的表达与 RF、CRP 及 DAS28 的相关性

指标	miRNA-16		miRNA-146a		miRNA-223	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
RF	0.311	0.061	0.524	0.375	0.527	<0.01
CRP	0.470	<0.01	0.408	<0.01	0.518	<0.01
DAS28	0.446	<0.01	0.496	<0.01	0.483	0.28

2.4 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的表达水平对 RA 的诊断效能 单独使用 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 作为诊断 RA 的标志物,得到 AUC 分别为 0.63、0.75、0.89,灵敏度分别为 68.70%、85.24%、87.63%,特异度分别为 55.39%、63.57%、90.35%。三者联合使用作为诊断 RA 的标志物,得到 AUC 为 0.91,灵敏度为 89.34%,特异度为 91.56%。见图 1。

3 讨 论

目前,RA 的诊断标准由美国风湿病学会(ACR)1978 年修订,通常达到此标准的患者的疾病已经发展到一定程度,甚至出现了不可逆的病理改变。后来,ACR 联合欧洲抗风湿联盟(EULAR)提出新的 RA 分类标准和评分系统。新标准加入了新的血清学指标,对及早诊断 RA 有一定帮助但并不纳入诊断指标。目前监测 RA 的指标主要为实验室指标 RF、CRP 和临床指标 DAS28。DAS28 评分作为目前临床最好的综合指标,主要用于监测 RA 病情活动度及评定药物有效性,但评价方法复杂不便于广泛应用。RF 是在 RA 相关抗原的刺激下由免疫细胞分泌的自身抗体,CRP 是由于关节炎症引起分泌异常的一种急性时相反应蛋白。RF、CRP 的检测操作虽简单,均在评定患者健康状况、组织病变状况等方面起重要作用,但其他自身免疫性疾病患者也存在 RF 分泌异常,而 CRP 仅存在于急性炎症时期,故应用 RF、CRP、DAS28 早期诊断 RA 存在一定的局限性。近年来,miRNA 被认为是免疫功能及炎症反应发生过程的参与者^[4],miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 有希望成为 RA 早期诊断及预后评估的新型分子标记物,然而目前尚无大量研究证实其实际的诊断价值。

miRNA 在人体内广泛分布于外周血和组织细胞中,有研究表明,外周血中的 miRNA 能在室温的条件下过夜,并且能经受反复冻融、高温等操作,在过酸、过碱的条件下也能稳定存在,同时,组织和外周血中的 miRNA 具有相同的改变趋势^[5],说明外周血中

miRNA 替代组织活检成为新型生化指标的可能。近年来,miRNA 在 RA 的研究中所扮演的角色越来越重要。miRNA-16 是一类在淋巴疾病中广泛表达的 miR-15/16 簇,能通过负反馈环调节 NF-κB 信号通路进而发挥抑制细胞凋亡的作用^[6]。WANG 等^[7]应用 qRT-PCR 法检测到 RA 患者外周血中 miRNA-16、miRNA-21、miRNA-451、miRNA-223 表达水平显著升高。CASTRO-SANTOS 等^[8]的研究表明,外周血中的 miRNA-16 水平能够区分健康人、骨性关节炎(OA)患者及 RA 患者,且在 RA 患者的外周血中明显上升。miRNA-146a 是 miRNA-146 中的一种亚型。研究显示 miRNA-146a 来源于 CD4⁺ T 细胞,并在滑膜成纤维细胞、外周血单核细胞以及关节液中高表达。同时,miRNA-146a 参与抑制 RA 滑膜成纤维细胞的炎症反应,主要通过下调 IRAK-1 的表达来抑制滑膜成纤维细胞的增殖和分泌 IL-8、IL-6 等炎症因子发挥作用^[9]。刘琴等^[10]采用 qRT-PCR 检测活动期 RA 患者和缓解期 RA 患者血清中 miRNA-146a 的表达水平,结果显示活动期 RA 患者血清 miRNA-146a 水平显著高于缓解期 RA 患者及健康人($P<0.05$),认为血清 miRNA-146a 水平可作为活动期 RA 的诊断指标。冯知涛等^[11]检测 RA 患者及健康人外周血单核细胞(PBMs)中 miRNA-146a、miRNA-16 的表达,发现 RA 患者 miRNA-146a、miRNA-16 的表达显著高于健康人,且 miRNA-146a、miRNA-16 表达与 CRP、ESR 和 DAS28 评分呈正相关关系。miRNA-223 作为参与调节破骨细胞分化的潜在分子标记物,提示 miRNA-223 可能与 RA 患者关节的不可逆性损伤有关。MURATA 等^[12]证实 miRNA-223 通过抑制胰岛素样生长因子-1(IGF-1)的分泌来干预炎症相关因子 IL-10 的产生,由此可知 miRNA-223 能调控炎症相关因子的分泌从而参与 RA 的免疫反应过程。在治疗时间较久的 RA 患者外周血中 miRNA-223 的水平与治疗时间较短的 RA 患者相比,明显下降^[13],说明 miRNA-223 能在一定程度上反映治疗效果。

本试验结果与上述研究结果一致,RA 患者外周血中的 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平显著高于健康对照组,提示 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 在 RA 患者外周血中异常高表达,这 3 项指标有潜力应用于辅助鉴别健康人群和 RA 患者。另外,本研究发现 RA 活动组 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 的相对表达水平均显著高于 RA 缓解组,miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 与 RA 常用诊断指标 RF、CRP,以及反映 RA 活动度的 DAS28 评分存在一定的相关性,所以笔者推断外周血 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223

与 RA 的活动度相关,可能参与疾病的发生、发展。为观察这 3 项指标作为 RA 诊断标志物的灵敏度和特异度,本研究建立了 miRNA-16、miRNA-146a、miRNA-223 单独检测及联合检测的 ROC 曲线。结果显示,单独检测这 3 项指标作为 RA 标志物时,miRNA-223 的 AUC、灵敏度和特异度在三者中最高,而联合使用三者作为 RA 标志物时,AUC、灵敏度和特异度较单独使用时高,说明 miRNA-146a、miRNA-223、miRNA-16 联合检测诊断 RA 的效能较好。

综上所述,miRNA-146a、miRNA-223、miRNA-16 有利于诊断 RA,取样方便、安全,可作为临床辅助诊断方法。

参考文献

- [1] GARVIE C W, PUFALL M A, GRAVES B J, et al. Structural analysis of the autoinhibition of Ets-1 and its role in protein partnerships[J]. J Biol Chem, 2002, 277 (47):45529-45536.
- [2] 陈岩,秦阳华. miRNA 在类风湿关节炎中作用的研究进展[J]. 现代免疫学, 2013, 33(1):77-80.
- [3] GALLO A, TANDON M, ALEVIZOS I, et al. The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes[J]. PLoS One, 2012, 7(3):e30679.
- [4] CHEN X M, HUANG Q C, YANG S L, et al. Role of micro RNAs in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: novel perspectives based on review of the literature[J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(31):e1326.
- [5] CAPPELLETTI V, APPIERTO V, TIBERIO P, et al. Circulating Biomarkers for Prediction of Treatment Response[J]. J Natl Cancer Inst Monogr, 2015, 2015(51): 60-63.

(上接第 446 页)

- [8] TAKAGI K, YAGI T, UMEDA Y, et al. Preoperative controlling nutritional status (CONUT) score for assessment of prognosis following hepatectomy for hepatocellular carcinoma[J]. World J Surg, 2017, 41(9):2353-2360.
- [9] SUZUKI S, KANAJI S, YAMAMOTO M, et al. Controlling nutritional status (CONUT) score predicts outcomes of curative resection for gastric cancer in the elderly [J]. World J Surg, 2019, 43(4):1076-1084.
- [10] ONATE-OCANA L F, AIELLO-CROCIFOGLIO V, GALLARDO-RINCÓN D, et al. Serum albumin as a significant prognostic factor for patients with gastric carcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(2):381-389.
- [11] WU N, CHEN G, HU H, et al. Low pretherapeutic serum albumin as a risk factor for poor outcome in esophageal squamous cell carcinomas[J]. Nutr Cancer, 2015, 67(3):

- [6] ESPIN-PALAZON R, TRAVER D. The NF- κ B family: key players during embryonic development and HSC emergence[J]. Exp Hematol, 2016, 44(7):519-527.
- [7] WANG H, PENG W, OUYANG X, et al. Circulating microRNAs as candidate biomarkers in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Transl Res, 2012, 160(3): 198-206.
- [8] CASTRO-SANTOS P, LABORDE C M, DÍAZ-PENÁ R. Genomics, proteomics and metabolomics: their emerging roles in the discovery and validation of rheumatoid arthritis biomarkers[J]. Clin Exp Rheumatol, 2015, 33(2):279-286.
- [9] 张晓苹,李茹,王世瑶,等. 微小 RNA-146a 对类风湿关节炎患者滑膜成纤维细胞抑制作用的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(4):20-22.
- [10] 刘琴,王伟,张仙珍. SYBR Green I 荧光定量 PCR 检测类风湿关节炎患者血清 miRNA-146a 的表达及意义[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(6):422-425.
- [11] 冯知涛,李娟,任洁,等. 类风湿关节炎患者外周血 miRNA-146a 及 miR-16 的表达及与病情活动的相关性研究[J]. 南方医科大学学报, 2011, 32(2):320-322.
- [12] MURATA K, YOSHITOMI H, TANIDA S, et al. Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(3):R86-R89.
- [13] LI Y T, CHEN S Y, WANG C R, et al. Brief report: amelioration of collagen-induced arthritis in mice by lentivirus-mediated silencing of microRNA-223[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(10):3240-3245.

(收稿日期:2019-07-06 修回日期:2019-11-18)

481-485.

- [12] SAITO H, KONO Y, MURAKAMI Y, et al. Prognostic significance of pre- and postoperative lymphocyte counts in patients with gastric cancer[J]. Dig Surg, 2019, 36(2): 137-143.
- [13] KUZU O F, NOORY M A, ROBERTSON G P. The role of cholesterol in cancer [J]. Cancer Res, 2016, 76(8): 2063-2070.
- [14] MURAI T. Cholesterol lowering: role in cancer prevention and treatment [J]. Biol Chem, 2015, 396(1):1-11.
- [15] KANG R, LI P, WANG T, et al. Apolipoprotein E epsilon 2 allele and low serum cholesterol as risk factors for gastric cancer in a Chinese Han population [J]. Sci Rep, 2016, 28(6):19930-19935.

(收稿日期:2019-06-15 修回日期:2019-11-17)