DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201803008

· 鼻咽癌专栏 ·

血浆长链非编码 RNA NEAT1 和 H19 及 MALAT1 在鼻咽癌中的表达及临床意义

罗泳林[1],陆爱英[1],蔡永林[1],覃炜玲[1],叶茵欣[1],冀火金[1],李　军[1],汤敏中[1],陈学杰[2],莫武宁[2]

(1. 梧州市红十字会医院 医学检验科,广西 梧州　543002; 2. 广西医科大学第一附属医院 医学检验部,广西 南宁　530021)

摘　要:　目的　探讨长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)3 个分子 NEAT1 和 H19 及 MALAT1 在鼻咽癌患者血浆中的表达水平及其在鼻咽癌诊断中的价值。**方法**　收集 91 例病理确诊的鼻咽癌患者和 100 例健康体检者血浆作为研究对象。采用定量逆转录 PCR 检测上述 3 个 lncRNA 分子在鼻咽癌患者及健康者血浆中的表达水平。统计分析鼻咽癌患者血浆 lncRNA NEAT1、H19 和 MALAT1 的表达水平与临床因素之间的关系,受试者工作特征(ROC)曲线和曲线下面积(AUC)评估血浆这 3 个 lncRNA 分子诊断鼻咽癌的效能。**结果**　鼻咽癌患者血浆 lncRNA NEAT1、H19 和 MALAT1 的相对表达量均显著高于对照组($P<0.001$)。MALAT1 表达水平与 N 分期相关。血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 检测诊断鼻咽癌的 AUC 分别为 0.715、0.708 和 0.704;NEAT1 与 H19 联合,诊断鼻咽癌 AUC 增加至 0.734。**结论**　鼻咽癌患者血浆 lncRNA NEAT1、H19 和 MALAT1 有可能成为鼻咽癌辅助诊断的标志物。

关　键　词:鼻咽癌;长链非编码 RNA;诊断

中图分类号:R739.63　　**文献标识码:**A　　[中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2018,24(3):230 – 235]

Expressions and clinical significances of plasma long non-coding RNAs NEAT1, H19 and MALAT1 in nasopharyngeal carcinoma

LUO Yong-lin[1], LU Ai-ying[1], CAI Yong-lin[1], QIN Wei-ling[1], YE Yin-xin[1],
JI Huo-jin[1], LI Jun[1], TANG Min-zhong[1], CHEN Xue-jie[2], MO Wu-ning[2]

(1. *Department of Clinical Laboratory, Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou* 543002, *China*; 2. *Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning* 530021, *China*)

Abstract:　Objective　To investigate the expressions of long non-coding RNAs (lncRNA) NEAT1, H19 and MALAT1 in plasma of nasopharyngeal carcinoma (NPC) patients and their values in the diagnosis of NPC. **Methods**　The plasma samples were collected from 91 primary NPC patients and 100 healthy controls. The expression levels of NEAT1, H19 and MALAT1 were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qTR-PCR) in all samples. Associations between lncRNAs expressions and clinicopathological features of NPC were analyzed. The receiver operating characteristic curve (ROC) and the area under ROC (AUC) were used to evaluate the diagnostic performance of the lncRNAs for NPC. **Results**　The plasma levels of lncRNA NEAT1, H19 and MALAT1 were significantly up-regulated in NPC patients compared with healthy control group (all $P<0.001$). The plasma MALAT1 level was associated with N classification. The AUCs of NAET1, H19 and MALAT1 were 0.715, 0.708 and 0.704, respectively. Combination of NEAT1 and H19 could provide a more effective diagnostic performance (AUC: 0.734). **Conclusion**　The plasma lncRNA NEAT1, H19 and MALAT1 may be potential biomarkers for NPC serological diagnosis.

Key words: Nasopharyngeal neoplasm; Long non-coding RNA; Diagnosis

[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(3): 230 – 235]

基金项目:国家地区自然科学基金项目(81460414);区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室/广西重点实验室(GKE2017 – KF04)。

作者简介:罗泳林,男,在读硕士研究生,主管技师;陆爱英,女,在读硕士研究生,主管技师。罗泳林与陆爱英对本文有同等贡献,为并列第一作者。

通信作者:莫武宁,Email:mown163@163.com

陈学杰,Email:chenxuejie1970@163.com

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是中国及东南亚常见的头颈部恶性肿瘤[1],因早期缺乏任何特异性的症状,75% ~90% 的鼻咽癌患者诊断时已经达到了中晚期[2-3],导致了鼻咽癌复发率高,且降低了鼻咽癌患者的治疗效果和 5 年生存率[4]。

放化疗作为鼻咽癌的治疗手段之一,很大程度上提高了鼻咽癌的局部控制率,但频繁的复发和较差的预后对于临床来说仍然是个很大的难题。因此,寻找对鼻咽癌早期诊断有高敏感性和特异性的生物标志物,对鼻咽癌的早诊早治有着重要的意义。近年来随着分子技术的发展,越来越多的异常表达长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)被研究者们发现参与鼻咽癌发生、发展、侵袭和转移等过程[5]。lncRNA 是一类长度大于 200bp,且缺乏明显的开放阅读框架的 RNA 分子,最初被认为是 RNA 聚合酶转录的副产物,不具有任何的蛋白编码功能。但是近来很多研究表明,lncRNA 在疾病的进展中具有重要的调控作用,例如 lncRNA 在肝癌[6]、神经母细胞瘤[7]及肺癌[8]等肿瘤中异常表达。最近的研究证实人类血清或血浆中的 lncRNA 可以被检测到,并且具有很高的稳定性,可以作为某些肿瘤的生物学标志物[9],例如 lncRNA 分子-LETPVT1、PANDAR、PTENP1 和 linc00963 在肾透明细胞癌患者血清中的表达明显高于健康对照人群;而 lncRNA 分子 HULC 可以作为胃癌诊断与预后评估的新的血清标志物[10-11]。有研究表明,NEAT1、H19 和 MALAT1 3 个 lncRNA 分子在鼻咽癌组织及其对应的癌旁组织中均能稳定表达且在癌灶中其相对表达量较高[12],但它们在血浆中的表达情况目前尚未见有报道,故本研究拟验证这 3 个 lncRNA 分子在血浆中的表达情况并探讨其成为鼻咽癌血浆分子标志物的可能性。我们通过实时定量 PCR 的方法,检测 lncRNA NEAT1、H19 和 MALAT1 在鼻咽癌患者及健康对照者血浆中的表达情况,分析血浆 lncRNA NEAT1、H19 和 MALAT1 与临床病理特征的相关性以及对鼻咽癌的诊断价值,为鼻咽癌的早期诊断、病情监测等提供新的指标。

1　资料与方法

1.1　研究对象

收集 2017 年 9 月 ~2018 年 1 月在广西梧州市红十字会医院肿瘤科收治的治疗前鼻咽癌患者91 例,其中男 63 例,女 28 例;年龄 20 ~ 84 岁,中位年龄 51 岁。所有患者均经活检病理证实为鼻咽癌,按照 WHO 分型原则,全部为未分化型非角化型癌。所有患者均作鼻咽部 MRI、鼻咽纤维镜或间接鼻咽镜检查,常规胸片、腹部 B 超以及胸部 CT、ECT 等检查,以明确肿瘤范围、排除远处转移。并根据上述检查结果按照"鼻咽癌 2008 分期"方案进行临床分期。收集同时期的健康体检者 100 例作为对照,其中男 69 例,女 31 例;年龄 21 ~83 岁,中位年龄 49 岁;两组人群的性别与年龄差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2　研究方法

1.2.1　*标本的收集*　收集鼻咽癌患者治疗前、健康体检者清晨空腹静脉血约 5 ml 注入含有 EDTA 抗凝剂的采血管中并尽量避免溶血,轻轻混匀后于 3 000 × g离心 10 min,吸取 1 ml 上层血浆于无 RNA 酶的 EP 管中,放入 -80℃冰箱保存待检。

1.2.2　*试剂和仪器*　miRNeasy serum/Plasma Kit (217184)购自于德国 Qiagen 公司,逆转录试剂盒(PrimeScriptTM RT reagentKit with gDNA Eraser RR047A)、荧光定量 PCR 试剂盒(SYBR® Premix ExTaq™ Ⅱ RR820A)均购自 Takara 公司。AppliedBiosystems 7500 实时荧光定量 PCR 仪,旋涡振荡器,低温高速离心机,普通低速离心机。

1.2.3　*总 RNA 的提取*　吸取收集的血浆标本 200 μl,加入 1 ml 的 QIAzol Lysis Reagent,用枪头吹打混匀,严格按照说明书(Qiagen,miRNeasy Serum/plasma Kit217184)操作分别加入氯仿,无水乙醇等试剂提取总 RNA,溶解于 14 μl 的 RNasee Free ddH_2O,采用 Nanodrop2000 测定提取血浆总 RNA 的浓度和纯度。所提取的总 RNA 置于 -80℃冰箱用于后续实验。

1.2.4　*逆转录反应及实时荧光定量 PCR*　取固定体积的 RNA 6 μl 利用 PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒两步法逆转录成 cDNA,以 2 μl cDNA 为模板采用 SYBR green 法检测 lncRNA 的表达。反应条件如下:95℃ 预变性 30 s,随后 95℃ 5 s,61℃ 60 s,共 40 个循环。每个反应孔的荧光信号达到设定的阈值时的循环数即为 Ct 值,并根据溶解曲线判断引物反应的特异性。设置空白对照,实验设计 3 个复孔,选用 GAPDH 作为内参基因,NEAT1、H19、MALAT1 引物由 Primer5 软件进行设计,经 BLAST 比对后由上海生工生物工程有限公司合成。所用引物的序列如下:GAPDH 上游引物为:5′ - GCACCGTCAAGGCTGAGAAC - 3',下游引物:5′ - TGGTGAAGACGCCAGTGGA - 3';NEAT1 上游引物:GCCAGTGTGAGTCCTAGCATTGC,下游引物:GCCAGTGTGAGTCCTAGCATTGC;H19 上游引物:GCACCTTGGACATCTGGAGT,下游引物:TTCTTTCCAGCCCTAGCTCA;MALAT1 上游引物:AAGCAGCAGTTCGTGGTGAAGATAG,下游引物:

TCGCCTCCTCCGTGTGGTTG。采用 2 - △Ct 法来计算基因的相对表达量。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。lncRNAs 检测结果采用中位值(四分位数范围)[M(P_{25} - P_{75})]表示。各组间指标水平比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线确定血浆 NEAT1、H19 及 MALAT1 检测的截断点,计算相应的敏感度、特异度及曲线下面积等评价指标。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 的表达

鼻咽癌组血浆中 NEAT1、H19 及 MALAT1 的相对表达量均比健康对照组高,差异具有统计学意义(P 均 <0.001),见表 1、图 1。

2.2 血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 表达水平与鼻咽癌患者各临床因素的关系

治疗前血浆 NEAT1 和 H19 相对表达量与鼻咽癌患者性别、年龄及 TNM 分期无关($P>0.05$)。治疗前血浆 MALAT1 相对表达量与鼻咽癌患者年龄、性别、T 分期、M 分期和总分期无关($P>0.05$),而 N0、1 分期患者的血浆 MALAT1 相对表达量显著高于 N2、3 分期患者($P<0.05$),具体数据见表 2。

表 1 治疗前鼻咽癌患者和对照组血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 水平比较[M (P_{25} - P_{75})]

分组	例数	NEAT1	H19	MALAT1
鼻咽癌组	91	0.267 (0.144 - 0.602)	0.333 (0.130 - 0.740)	3.590 (1.207 - 8.543)
健康对照组	100	0.086 (0.040 - 0.282)	0.112 (0.048 - 0.285)	1.126 (0.477 - 3.319)
z		5.097	4.812	4.817
P		<0.001	<0.001	<0.001

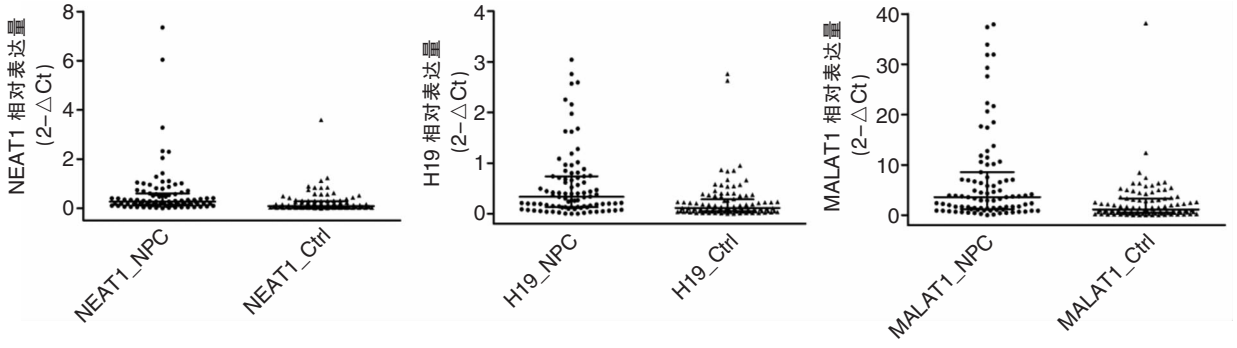

图 1 治疗前鼻咽癌患者和对照组血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 水平

表 2 治疗前血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 水平与鼻咽癌患者临床因素的关系

临床因素	例数	NEAT1		H19		MALAT1	
		M(P_{25} - P_{75})	P	M(P_{25} - P_{75})	P	M(P_{25} - P_{75})	P
年龄(岁)							
<51	42	0.274 (0.125 - 0.848)	0.605	0.330 (0.096 - 0.776)	0.720	3.823 (0.963 - 10.945)	0.781
≥51	49	0.267 (0.150 - 0.526)		0.342 (0.139 - 0.729)		3.575 (1.537 - 7.004)	
性别							
男	63	0.255 (0.141 - 0.573)	0.513	0.380 (0.144 - 0.815)	0.095	3.331 (1.448 - 6.913)	0.492
女	28	0.318 (0.147 - 0.730)		0.198 (0.077 - 0.481)		5.816 (0.896 - 12.502)	
T 分期							
T1、2	41	0.271 (0.118 - 0.607)	0.975	0.401 (0.141 - 0.816)	0.268	3.774 (1.235 - 10.357)	0.604
T3、4	50	0.266 (0.156 - 0.623)		0.259 (0.122 - 0.641)		3.415 (1.170 - 7.457)	
N 分期							
N0、1	17	0.511 (0.171 - 1.183)	0.123	0.262 (0.119 - 0.694)	0.996	6.691 (2.827 - 23.480)	0.026
N2、3	74	0.255 (0.150 - 0.536)		0.342 (0.130 - 0.777)		2.935 (1.096 - 7.072)	
M 分期							
M0	85	0.271 (0.156 - 0.664)	0.133	0.328 (0.129 - 0.740)	0.256	3.590 (1.274 - 10.115)	0.587
M1	6	0.158 (0.084 - 0.332)		0.648 (0.241 - 1.624)		3.647 (0.810 - 6.792)	
总分期							
I、II	8	0.607 (0.088 - 1.065)	0.377	0.310 (0.079 - 0.887)	0.933	6.661 (1.676 - 24.643)	0.306
III、IV	83	0.264 (0.144 - 0.540)		0.333 (0.130 - 0.740)		3.331(.207 - 7.555)	

2.3 血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 检测对鼻咽癌诊断价值

建立 ROC 曲线,评价 3 个 lncRNA 分子在鼻咽癌诊断中的价值,见表 3、图 2。NEAT1、H19 和 MALAT1 3 个指标的 ROC 曲线下面积均大于 0.7,显示其诊断准确度中等;NEAT1 与 H19 联合检测诊断鼻咽癌的 ROC 曲线下面积达到 0.734。

表 3 血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 对鼻咽癌的诊断价值

lncRNA 分子	截断值	敏感度 (95% CI)	特异度 (95% CI)	AUC (95% CI)
NEAT1	0.87	85.7 (76.8 - 92.2)	58.0 (47.7 - 67.8)	0.715 (0.645 - 0.778)
H19	1.72	65.9 (55.3 - 75.5)	68.0 (57.9 - 77.0)	0.708 (0.638 - 0.771)
MALAT1	1.21	78.0 (68.1 - 86.0)	56.0 (45.7 - 65.9)	0.704 (0.634 - 0.768)
NEAT1 + H19	0.39	74.7 (64.5 - 83.3)	65.0 (54.8 - 74.3)	0.734 (0.665 - 0.795)

注:CI 为置信区间;AUC 为 ROC 曲线下面积

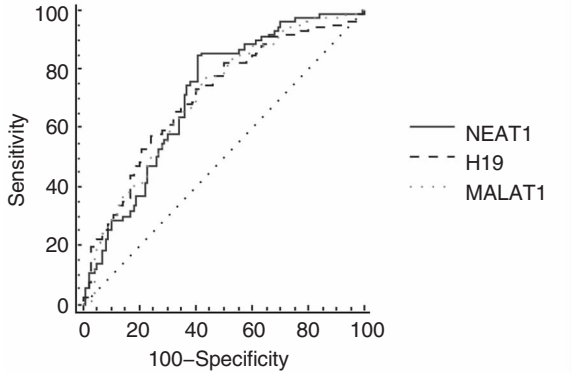

图 2 ROC 曲线分析血浆 NEAT1、H19 和 MALAT1 对鼻咽癌的诊断效能

3 讨论

上皮间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肿瘤的转移、侵袭有关[13]。Liu 等[14]研究发现 lncRNA 分子 FER1L4 在胃癌组织中的表达明显下调,且其表达的水平与血管和神经的侵袭密切相关。Peng 等[15]学者研究 lncRNA 分子 HULC 与胰腺癌的发生发展关系时发现,其表达水平与晚期胰腺癌淋巴结及血管转移相关。Cai 等[16]发现有关转录因子在体外可以通过调控 lncRNA AP001631.9(lncRNA 编号名称)促进胃癌细胞迁移而在胃癌患者体内则能促进胃癌的转移。此外,Zhao 等[17]也发现过表达的 lncRNA PCTA1 可以明显的促进非小细胞肺癌细胞的转移侵袭能力。近年来,在鼻咽癌患者及鼻咽癌细胞系中越来越多的 lncRNA 被发现表达上调或下调。Nie 等[18]通过原位杂交法及实时荧光定量 PCR 发现鼻咽癌组织中 HOTAIR 的表达水平比非鼻咽癌组织高,且与肿瘤体积增大、临床分期晚期及淋巴转移增多有相关性,高表达 HOTAIR 的鼻咽癌患者总体生存率较低预后较差,提示其可能是一个鼻咽癌预后的生物标志物。而 Gao 等[19]通过鼻咽癌组织芯片分析 lncRNA 在初发鼻咽癌与复发鼻咽癌组织的表达差异,3 个新发现的 lncRNA 分子 lnc-C22orf32-1、lnc-AL355149.1-1 和 lnc-ZNF674-1 在初发鼻咽癌组织中高表达,且前两者在男性鼻咽癌患者中表达异常升高;表达升高的 lnc-C22orf32-1 和 lnc-ZNF674-1 与较晚的 TNM 分期相关,表明其可能参与了鼻咽癌的发生与发展;在对复发鼻咽癌组织 lncRNA 研究中,他们发现 lnc-BCL2L11-3 明显上调,而 lnc-AL355149.1-1 和 lnc-ZNF674-1 明显下调,因此推测可能与鼻咽癌的复发有关。

MALAT1 在健康人群组织中广泛表达,在肿瘤组织中表达水平更高。MALAT1 已经被证实能够促进多种肿瘤的增殖与转移。Tano 等[20]通过敲低 MALAT1 的表达量后发现 AIMI、LAYN、SLC26A2 和 CCT4 等与细胞运动相关基因的表达量也降低,说明 MALAT1 可能过调控与运动有关的基因,从而参与肿瘤细胞的运动。Lai 等[21]通过干扰 RNA 技术敲低 MALAT1 在肝癌细胞株中的表达量后,能够降低肝癌细胞的活性及迁移和侵袭能力,此外他们还发现,肝脏移植后的肝癌患者 MALAT1 过表达则复发的可能性会明显增加。我们的研究显示,鼻咽癌患者血浆中 MALAT1 的表达显著高于健康对照人群,诊断鼻咽癌的 ROC 曲线下面积为0.704,但其相对表达水平与 N 分期有关而与肿瘤大小及临床总分期均没有相关性,在早期发生淋巴结转移的患者中其 MALAT1 的相对表达水平较高。这一结果与 He 等[22]的研究结果不一致,他们的研究显示鼻咽癌患者血清中的 MALAT1 表达量与 TNM 分期有关,且分期越晚其相对表达量越高。这种差异可能与样本差异及样本含量有关。这其中的原因与作用机制还需我们将来做进一步的研究。尽管不同研究的结果有所差异,但都说明了 lncRNA 与肿瘤的转移有着密切的关系。目前 MALAT1 分子在鼻咽癌发生及转移中的作用机制尚未完全清楚,最早的报道有谢林英等[23]在 2013 年采用 Q-PCR 技术检测不同鼻咽癌细胞系及上皮细胞系 NP69 中 MALAT1 的表达水平,发现 MALAT1 在鼻咽癌细胞系 5 - 8F

中表达最高,而该细胞系具有高成瘤、高转移性的特点。在一些恶性程度较高的细胞系中,MALAT1 的表达也较高,但是在永生化上皮系中其表达水平明显降低,这说明 MALAT1 与鼻咽癌的分化程度及转移有关。进一步研究发现,通过利用 CNE-1 细胞系转染慢病毒载体来上调 MALAT1 的表达水平,该细胞的增殖、迁移和侵袭能力增强且与其有关的 EMT 标志物明显上调,这说明 MALAT1 或以诱导 EMT 的方式促进鼻咽癌细胞的侵袭、转移。也有研究者[24]验证敲低 MALAT1 的表达水平,发现其与 miRNA-1 相互抑制通过 miRNA-1/slug 轴来调控鼻咽癌肿瘤干细胞的活跃度,从而增加鼻咽癌细胞对放射的敏感性。以上的研究结果提示 MALAT1 异常改变是鼻咽癌发生发展的重要事件之一,说明 MALAT1 可能是鼻咽癌早期诊断潜在的分子标志物。

H19 转录本是较早发现的长链非编码 RNA 之一。Li 等[25]报道 H19 在鼻咽癌组织中上调并通过 mir-630/EZH2 通路抑制上皮钙黏素(E-cadherin,E-cad)的表达,促进鼻咽癌细胞的侵袭,表明 H19 在鼻咽癌细胞侵袭与转移中起着重要的作用。本研究亦发现鼻咽癌患者血浆中的 H19 表达量明显升高;H19 和 NEAT1 联合检测可以提高诊断准确度。

Wang 等[26]研究发现 NEAT1 通过 mir-101-3p 调节上皮膜蛋白 2 的表达作为一种竞争性内源性 RNA 机制,从而抑制鼻咽癌细胞的侵袭迁移和放化疗抵抗;NEATI1 在鼻咽癌组织的表达量较正常组织低,并且 NEAT1 低表达的鼻咽癌患者预后较差,表明 NEAT1 下调可能在鼻咽癌的发生和发展中起重要作用。本研究结果显示鼻咽癌患者血浆中 NEAT1 的表达水平显著高于健康对照人群,而 NEAT1 在鼻咽癌的早期(T 1-2,N 0-1)中表达则相对高于晚期(T 3-4,N 2-3)。NEAT1 在鼻咽癌组织和血浆中表达差异的原因还不清楚,可能与入组样本量以及个体差异有关。

综上所述,本研究表明 NEAT1、H19 和 MALAT1 可能是鼻咽癌诊断潜在的分子标志物。下一步我们将扩大样本量,对这些指标在鼻咽癌疗效监测及预后评估方面的价值进行前瞻性的研究。

参考文献:

[1] Chua M, Wee J, Hui EP, et al. Nasopharyngeal carcinoma[J]. Lancet, 2016, 387(10022): 1012 - 1024.

[2] Agulnik M, Epstein J B. Nasopharyngeal carcinoma: current management, future directions and dental implications[J]. Oral Oncol,2008,44(7):617 - 627.

[3] Yan Q, Zeng Z, Gong Z, et al. EBV-miR-BART10 - 3p facilitates epithelial-mesenchymal transition and promotes metastasis of nasopharyngeal carcinoma by targeting BTRC[J]. Oncotarget, 2015,6(39):41766 - 41782.

[4] Xu T, Tang J, Gu M, et al. Recurrent nasopharyngeal carcinoma: a clinical dilemma and challenge[J]. Curr Oncol,2013,20(5): e406 - e419.

[5] Yang QQ, Deng YF. Long non-coding RNAs as novel biomarkers and therapeutic targets in head and neck cancers[J]. Int J Clin Exp Pathol,2014,7(4):1286 - 1292.

[6] Matouk IJ, Abbasi I, Hochberg A, et al. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2009,21(6): 688 - 692.

[7] Koshimizu TA, Fujiwara Y, Sakai N, et al. Oxytocin stimulates expression of a noncoding RNA tumor marker in a human neuroblastoma cell line[J]. Life Sci,2010,86(11 - 12):455 - 460.

[8] Ji P, Diederichs S, Wang W, et al. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. Oncogene,2003, 22(39):8031 - 8041.

[9] Huang YK, Yu JC. Circulating microRNAs and long non-coding RNAs in gastric cancer diagnosis: An update and review[J]. World J Gastroenterol,2015,21(34):9863 - 9886.

[10] Wu Y, Wang YQ, Weng WW, et al. A serum-circulating long noncoding RNA signature can discriminate between patients with clear cell renal cell carcinoma and healthy controls[J]. Oncogenesis,2016,5:e192.

[11] Jin C, Shi W, Wang F, et al. Long non-coding RNA HULC as a novel serum biomarker for diagnosis and prognosis prediction of gastric cancer[J]. Oncotarget,2016,7(32):51763 - 51772.

[12] He R, Hu Z, Wang Q, et al. The role of long non-coding RNAs in nasopharyngeal carcinoma: As systemic review[J]. Oncotarget, 2017,8(9):16075 - 16083.

[13] 杨年婷, 刘超, 李果, 等. MiR-324 - 3p 经上皮 - 间质转化调控鼻咽癌迁移侵袭的实验分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2016,22(2):95 - 99.
Yang NT, Liu C, Li G, et al. MiR - 324 - 3p regulates the migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma via epithelial-mesenchymal transition[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2016,22(2):95 - 99.

[14] Liu Z, Shao Y, Tan L, et al. Clinical significance of the low expression of FER1L4 in gastric cancer patients[J]. Tumour Biol, 2014,35(10):9613 - 9617.

[15] Peng W, Gao W, Feng J. Long noncoding RNA HULC is a novel biomarker of poor prognosis in patients with pancreatic cancer[J]. Med Oncol,2014,31(12):346.

[16] Cai H, Ye X, He B, et al. LncRNA-AP001631.9 promotes cell migration in gastric cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(6):6235 - 6244.

[17] Zhao B, Hou X, Zhan H. Long non-coding RNA PCAT-1 over-ex-

pression promotes proliferation and metastasis in non-small cell lung cancer cells[J]. Int J Clin Exp Med,2015,8(10): 18482 - 18487.

[18] Nie Y, Liu X, Qu S, et al. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma progression and survival[J]. Cancer Sci,2013,104(4):458 - 464.

[19] Gao W, Chan JY, Wong TS. Differential expression of long non-coding RNA in primary and recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. Biomed Res Int,2014,2014:404567.

[20] Tano K, Mizuno R, Okada T, et al. MALAT-1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility-related genes[J]. FEBS Lett,2010,584(22): 4575 - 4580.

[21] Lai MC, Yang Z, Zhou L, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation[J]. Med Oncol,2012,29(3): 1810 - 1816.

[22] He B, Zeng J, Chao W, et al. Serum long non-coding RNAs MALAT1, AFAP1-AS1 and AL359062 as diagnostic and prognostic biomarkers for nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncotarget, 2017,8(25):41166 - 41177.

[23] 谢林英,胡志燕,王晓燕,等. 长非编码 MALAT1 基因在人鼻咽癌细胞株的表达及生物学意义[J]. 南方医科大学学报,2013,33(5):692 - 697.
Xie LY, Hu ZY, Wang XY, et al. Expression of long noncoding RNA MALAT1 gene in human nasopharyngeal carcinoma cell lines and its biological significance[J]. Journal of Southern Medical University, 2013,33(5):692 - 697.

[24] Jin C, Yan B, Lu Q, et al. The role of MALAT1/miR-1/slug axis on radioresistance in nasopharyngeal carcinoma[J]. Tumour Biol, 2016,37(3):4025 - 4033.

[25] Li X, Lin Y, Yang X, et al. Long noncoding RNA H19 regulates EZH2 expression by interacting with miR-630 and promotes cell invasion in nasopharyngeal carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2016,473(4):913 - 919.

[26] Wang Y, Wang C, Chen C, et al. Long non-coding RNA NEAT1 regulates epithelial membrane protein 2 expression to repress nasopharyngeal carcinoma migration and irradiation-resistance through miR-101 - 3p as a competing endogenous RNA mechanism[J]. Oncotarget,2017,8(41): 70156 - 70171.

(收稿日期:2018 - 02 - 05)

(上接第 229 页)

Sun XN, Chen AZ, Xie CY, et al. The relationship between the parotid glands function and the dose-volume effect in nasopharyngeal carcinoma patients with intensity-modulated radiation therapy [J]. National Medical Journal of China,2006,86(32):2289 - 2292.

[10] 刘永革,宋秀勤,张莉. 鼻腔 pH 值的测定[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志. 2001,9(2):84 - 85.
Liu YG, Song XQ, Zhang L, et al. Determination of nasal pH value[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology in Integrative Medicine, 2001,9(2):84 - 85.

[11] 于晓霞,金艳,宋斌,等. 改良人工唾液对鼻咽癌放疗患者唾液 pH 值和缓冲能力的影响[J]. 口腔医学研究,2006,22(5):475 - 477.
Yu XX, Jin Y, Song B, et al. Changes of salivary pH value and buffer capacity before and after mouthrinse with modified artificial saliva in patients with nasopharyngeal carcinoma under irradiation [J]. Journal of Oral Science Research,2006,22(5):475 - 477.

[12] Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions[J]. Br Dent J, 1992, 172(8): 305 - 312.

[13] 马岩,孙磊,于雷,等. 三维适形放疗和调强放疗对鼻咽癌患者腮腺功能损伤的比较[J]. 中华放射医学与防护杂志,2014,34(11):854 - 856.
Ma Y, Sun L, Yu L, et al. A comparative study of parotid gland dysfunction after three-dimensional conformal radiotherapy and intensity-modulated radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma patients[J]. Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection, 2014,34(11):854 - 856.

(收稿日期:2018 - 02 - 15)