

血清miRNA-135、miRNA-141与PSA对前列腺癌的诊断及预后的研究进展

李江帆*, 郑宝寿#, 刘晨一男

大理大学第一附属医院泌尿外科, 云南 大理

收稿日期: 2024年7月5日; 录用日期: 2024年7月29日; 发布日期: 2024年8月7日

摘要

前列腺癌是老年男性的常见恶性肿瘤, 我国患者在治疗时多属于中晚期, 总体预后不佳。如何提高疾病早期诊断率, 是其治疗关键。目前PSA和直肠指诊是前列腺癌筛查的主要手段, 而如何在前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)灰区时, 提高诊断的灵敏度和特异性及避免不必要的前列腺穿刺活检是目前研究的热点。近年的实验研究中, 发现了一些蛋白质标志物、分子标志物和微小RNA (mi-croRNA, miRNA)等。且研究也证实了这些指标可以提高前列腺癌诊断灵敏度和准确性, 本文将对此类国内外关于血清miRNA-135、miRNA-141与PSA对前列腺癌的诊断及预后的研究情况进行综述。

关键词

前列腺癌, 微小RNA, miRNA-135, miRNA-141, PSA, PSA灰区

Research Progress of Serum miRNA-135, miRNA-141 and PSA in the Diagnosis and Prognosis of Prostate Cancer

Jiangfan Li*, Baoshou Zheng#, Chenyinan Liu

Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali Yunnan

Received: Jul. 5th, 2024; accepted: Jul. 29th, 2024; published: Aug. 7th, 2024

Abstract

Prostate cancer is a common malignant tumor in elderly men. Most patients in our country are in

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 李江帆, 郑宝寿, 刘晨一男. 血清 miRNA-135、miRNA-141 与 PSA 对前列腺癌的诊断及预后的研究进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(8): 229-239. DOI: 10.12677/acm.2024.1482205

the middle and late stages of treatment, and the overall prognosis is poor. How to improve the early diagnosis rate of the disease is the key to its treatment. At present, PSA and digital rectal examination are the main means of prostate cancer screening, and how to improve the sensitivity and specificity of diagnosis and avoid unnecessary prostate biopsy in the gray area of prostate specific antigen (PSA) is a current research hotspot. In recent years, some protein markers, molecular markers and microRNA (microRNA, miRNA) have been discovered in experimental studies. And studies have also confirmed that these indicators can improve the sensitivity and accuracy of prostate cancer diagnosis. This article will review the research on the diagnosis and prognosis of serum miRNA-135, miRNA-141 and PSA for prostate cancer at home and abroad.

Keywords

Prostate Cancer, microRNA, miRNA-135, miRNA-141, PSA, PSA Gray Area

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

前列腺癌(prostatic carcinoma, prostatic cancer, PCa)是一种来源于前列腺上皮细胞的恶性肿瘤,也是男性生殖系统中最常见的恶性肿瘤[1]。研究发现 PCa 的发病率会随着患者的年龄增长而增加,在欧美地区发病率较高。目前在我国前列腺癌的发病率相对于其他国家较低,但是据研究数据表明随着中老年人的占比升高和饮食习惯的改变,前列腺癌的发病率显示出逐渐增高趋势[2]。同时通常为分化差、恶性程度较高的类型,预后往往不良。文献显示,我国初诊的 PCa 患者中只有 1/3 是临床局限性 PCa 即早期 PCa,而大部分患者在在接受治疗时大多数已经是中晚期 PCa,总体预后较差[3]。主要原因是前列腺癌的发病特征具有隐蔽性,早期往往无明显症状。总体预后较差。GLOBOCAN2020 的数据显示,中国的前列腺癌发病数占世界发病数的 8.2%,死亡数占世界死亡数的 13.6% [4]。因此早发现、早诊断和早治疗,是降低前列腺癌的死亡率的关键。

在现如今的临床实践中,前列腺癌的广泛使用的筛选手段主要包括血清前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)和直肠指诊(digital rectal examination, DRE)。而在 PSA 灰区(tPSA 水平为 4~10 ng/mL)时,如何提高其诊断的灵敏度和特异性及避免不必要的前列腺穿刺活检是目前研究的热点。目前国内外研究中有关 PSA 灰区前列腺癌的相关诊断指标有蛋白质标志物、分子标志物、微小 RNA (microRNA, miRNA) [5]等。其中 miRNA 是一类高度保守的单链非编码 RNA,广泛表达于动植物中,参与 RNA 介导的基因沉默[6]。1993 年, Lee 等人在秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)中首次发现了一种叫做微小 RNA (miRNA) lin-4 的新分子[7]。作为长度最短的功能型 RNA,后来, miRNA 调控生物基因表达的功能逐渐得到广泛的认可[8],其通过控制多种生物学过程,例如调控细胞的增殖、分化和凋亡,可以影响个体的生长发育和应激反应[9]。因此肿瘤的发生与 miRNA 的表达密切相关,若失去调控,正常的细胞会发生异常增殖和分化,进而导致生理功能的改变。miRNA 的作用机制主要为靶向作用于 mRNA 的 3'端非编码区在转录后水平调控基因表达,抑制靶蛋白的翻译过程。

目前已经有一些研究人员探讨了 miRNA 在前列腺癌早诊、预后判断以及治疗指导等方面的生物标志物的潜在作用[10] [11]。例如, Mitchell 等人在 2008 年首次证明了在生物体液中可以很容易地检测和测量与癌症相关的 miRNA,同时报道了进展性 PCa 患者循环 miRNA-141 水平明显增高[12]。Lodes [13]等

人也在一项研究中发现 PCa 患者血液中的 miRNA-141 水平明显增高。此外,赵宇明[14]等人的研究发现 PCa 患者的血清 miRNA-135 水平明显升高,有望成为 PCa 治疗的新靶标。这些研究表明,miRNAs 在 PCa 的发生发展中起着至关重要的作用。这些 miRNAs 在血液、前列腺组织、外泌体甚至尿液中的特异性表达以及其较高的稳定性,从而使得 miRNAs 可以作为前列腺癌的早期诊断标志物。此外,miRNAs 还可以作为预测前列腺癌患者预后的标志物,以及疗效监测前列腺癌治疗效果的标志物。国内外一些研究显示,血浆 miRNA 在前列腺癌的诊断效能可能优于 PSA,特别是在前列腺特异性抗原(PSA)的灰区(tPSA: 4~10 ng/mL)内具有更大的潜力,综上所述 miRNA 可能在临床应用上具有更加广阔的前景[15]。因此本文将对此类国内外关于血清 miRNA-135、miRNA-141 与 PSA 对前列腺癌的诊断及预后的研究进展进行综述。

2. 血清 miRNA-135 与前列腺癌

2.1. 血清 miRNA-135 的生物学功能和作用机制

miRNA-135 是由 MIR135A1(3p21.2)、MIR135A2(12q23.1)和 MIR135B(1q32.1)三个位点编码[16]。miRNA-135a 分子是由分别位于不同的人类染色体上的 MIR-135A1 和 MIR-135A2 基因编码,而 miRNA-135b 分子则是由 MIR-135B 基因编码[16]。其中 miRNA-135a 在组织中的表达范围更广,特别是在全血、心、肝、肾、脊髓、小肠、胫骨神经、骨骼肌、肺、脂肪细胞、脾以及其他一些组织中[16]。而 miRNA-135b 在脑、小脑、动脉、结肠、肺、胃、食道、甲状腺、唾液腺、乳腺、卵巢、前列腺和睾丸中均有表达[16]。2009 年,最早发现 miRNA-135 在经典霍奇金淋巴瘤中存在表达且表达水平与疾病复发率有关的学者是国外的 Navarro [17]。另一些学者发现 miRNA-135 在乳腺癌[18]、肝癌[19]和结肠癌[20]中表现出了高表达。而赵宇明等人在 2017 年的研究发现前列腺癌患者与健康对照组相比,前列腺癌患者的血清 miRNA-135 水平明显升高,有望成为 PCa 治疗的新靶标[14]。随后,彭扬洋[21]等人采用 miRNA-135 和 PSA 这两个指标展开了相关研究,最后得出了和赵宇明相同的结论:血清 miRNA-135 在前列腺癌中呈现高表达。

在对 miRNA-135 的研究中,Navarro 等[17]发现在经典霍奇金淋巴瘤病人中,miRNA-135a 可能直接作用在 JAK2 来调节细胞的凋亡。miRNA-135a 可在肾癌中可通过影响 c-MYC 的表达来抑制肿瘤细胞的增殖[22]。这些研究表明了 miRNA-135a 可在多种恶性肿瘤中起到抑癌基因样作用。并且还有文献报道指出,miRNA-135b 在结肠癌患者中的表达水平明显升高,其可抑制信号传导通路中的 APC 基因,从而促进结肠癌的发生发展,相当于发挥了癌基因的作用[23] [24]。多数学者认为 miRNA 在前列腺肿瘤的发生发展中发挥了重要作用。然而,对于 miRNA 在前列腺癌中的具体发病机制,学术界仍然存在较大的争议,多数人认为与年龄、遗传等危险因素有关[25]。2017 年,赵宇明等人的研究中用 miRwalk 和 miRanda 这两个预测软件运算来预测 miRNA-135 的靶基因,结果证明信号转导和转录激活子(STAT6)是 miRNA-135 的靶基因。同时证明 miRNA-135a 可以靶向 STAT6mRNA 并诱导前列腺癌细胞的凋亡[14]。2019 年,徐斌等人的研究通过在 ONCOMINE®数据库的分析中,得出 miRNA-135a 可能在前列腺癌中作为抑癌 miRNA 发挥作用,其抗肿瘤活性可能与 STAT6 的直接靶向和抑制有关[26]。因此目前认为 miRNA-135 主要作用机制是通过调节细胞凋亡、抑制细胞增殖、和调控基因表达过程实现对于恶性肿瘤的控制和表达。

2.2. 血清 miRNA-135 对前列腺癌的诊断价值和预测预后

针对 miRNA-135 在前列腺癌的进一步研究,赵宇明[14]等人的研究表明其在前列腺癌患者的血清中的表达水平明显增高,并且发现该基因表达水平与前列腺 Gleason 评分及临床分期之间存在一定的关联。尽管该研究具有很好的成果,但并没有真正的深入研究临床特征、疾病的预后预测和评估 miRNA 的诊断

效能。随后,彭扬洋[21]等人做了一项关于前列腺癌的研究,他们对这些样本是否存在淋巴结转移,TNM分期,Gleason评分以及分化程度等多种因素对血清 miRNA-135 表达有什么影响进行了比较,绘制出 ROC 曲线,对血清 miRNA-135 在前列腺癌诊断中的效能进行了大量样本数据进行对比研究,发现血清 miRNA-135 在前列腺癌的诊断中具有显著效果,miRNA-135 的 AUC (Area Under Curve)面积可达 0.933,其灵敏度和特异性分别为 81.6%和 93.4%。彭扬洋等人的结论表明,前列腺癌患者的血清 miRNA-135 显示出高水平的表达,这也意味着它在诊断前列腺癌方面具有一定的价值。

针对前列腺癌的预测预后方面,彭扬洋等人的此项研究绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,得出了一个结论是患有高表达 miRNA-135 的前列腺癌患者的生存率仅为 26.47%,这个显著低于 miRNA-135 低表达患者的 47.50%。此外,对 miRNA-135 高表达患者的生存时间进行了研究,结果表明高表达的 miRNA-135 水平的人体血清中,前列腺癌患者的生存时间明显短于低表达的患者,这进一步表明了人体血清中的 miRNA-135 水平可能会成为前列腺癌的预后重要预测指标[21]。

综上所述的研究表明,miRNA-135 对于前列腺癌的诊断可能具有较好的临床价值,这使得其可以作为诊断前列腺癌和预测预后的重要指标,对于前列腺癌的诊疗具有一定的指导作用。然而,miRNA-135 在诊断前列腺癌方面的表现仍有很大的提升空间,主要存在以下问题:首先,miRNA-135 在前列腺癌中的表达谱非常复杂,不同的研究团队得出的结果并不完全一致,这可能导致诊断准确率的差异;其次,miRNA-135 单独在诊断前列腺癌时的特异性和灵敏度也还有待提高,因此目前仍然需要更多的研究来进一步验证其临床应用价值。

2.3. 血清 miRNA-135 与 PSA 联合诊断前列腺癌

单独的 miRNA-135 在诊断前列腺癌方面存在不足,因此在这个基础之上,人们开始探索用它联合 PSA 来诊断前列腺癌。近年来,有国内学者将良性前列腺增生患者、前列腺癌患者和健康体检者分别分为三个对应的组,主要通过检测前列腺癌患者的血清 miRNA-135 及 PSA 水平来进行研究。并对前列腺癌患者进行 3 年的随访,以分析它们是否与生存情况有关[21],该研究分析血清 miRNA-135、PSA 或血清 miRNA-135 联合 PSA 诊断前列腺癌的准确性,miRNA-135 的 AUC 面积可达 0.933,其灵敏度和特异性分别为 81.6%和 93.4%。相比之下,PSA 单独诊断前列腺癌的 AUC 面积为 0.805,截断值为 69.38,其灵敏度和特异性就分别为 73.5%和 90.0%;而 PSA 联合 miRNA-135 检测时,AUC 值升高至 0.981,灵敏度升高到 90.2%,特异性升高到 98.6%,通过比较结果得出,血清 miRNA-135 在前列腺癌的诊断中具有显著效果,显示出良好的医学价值。通过应用血清 miRNA-135 联合 PSA,可以提高前列腺癌的诊断准确性,为临床诊断提供了一种新的思路和方法[21]。

3. 血清 miRNA-141 与前列腺癌

3.1. 血清 miRNA-141 的生物学功能和作用机制

人类 miRNA-141 基因定位于染色体 12p13.31 上,其前体 pre-miRNA 在胞浆内可加工生成 miRNA-141-3p 和 miRNA-141-5p 两种成熟 miRNA。miRNA-141 是参与上皮间充质转化(EMT)相关 miRNA,参与调节多种肿瘤疾病的发生发展[27],也可参与增殖、迁移、侵袭和耐药等细胞过程[28]。2008 年 NAKADA 等[29]进行了一项研究。他们发现肾透明细胞癌与正常人相比,血清中的 miRNA-141 表达明显下降,还发现提高 miRNA-141 的表达能够降低肿瘤细胞的侵袭力和转移能力。另一些学者的研究[30] [31]表明,在卵巢癌、肾癌等恶性肿瘤组织中,miRNA-141 呈现低表达状态。这表明 miRNA-141 可能在恶性肿瘤的发展过程中发挥了重要作用。最近几年来的研究验证了 miRNA-141 在胆道癌[32]、膀胱癌[33]、鼻咽癌[34]、结直肠癌[35]、和非小细胞肺癌[36]中过表达。此外,miRNA-141 在许多类型的癌症中下调,如

胃癌[37]、乳腺癌[38]、肝细胞癌[39]、和胰腺癌[40]。而在 2009 至 2011 年期间的一些国外研究中, Lodes 等[13]和 Brase 等[41]发现前列腺癌患者血液 miRNA-141 水平明显增高[42]。相比于正常的前列腺组织, 前列腺癌组织中 miRNA-141 的表达量明显增加[43]。2020 年, 宁博[44]等人的研究中发现雄激素依赖性前列腺癌细胞和雄激素非依赖性前列腺癌细胞的 PC3、DU145 中的 miRNA-141 的表达水平比正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 都要高很多, 尤其是在 DU145 细胞中的 miRNA-141 的表达水平达到了最高。

在对 miRNA-141 的研究中, 2009 年, DU 等[45]发现, 胃癌组织中的 miRNA-141 的表达水平比正常的低。如果能让 miRNA-141 的表达水平升高, 就可以显著抑制胃癌细胞株的增殖能力。因此, miRNA-141 也是人体中的一种抑癌基因。但 Gao 等[46]在针对卵巢癌的研究中发现, 卵巢癌组织中 miRNA-141 的水平会明显升高, miRNA-141 为致癌基因。根据以上研究可知, miRNA-141 在肾透明细胞癌、卵巢癌和胃癌中的表达水平都存在显著差异, 并且它能够通过 miRNA-141 的多种表达方式发挥不同的调节作用。数年来国内外的研究也表明了 miRNA-141 可作为致癌基因, 例如上述的胆道癌、膀胱癌、鼻咽癌、结直肠癌和非小细胞肺癌。此外, miRNA-141 也可作为一种抑癌基因, 例如上述的胃癌、乳腺癌、肝细胞癌、胰腺癌和肾脏透明细胞癌。2017 年, CanL 的研究确定 CD44 是 PCa 细胞中 miRNA-141 的直接靶点。抑制前列腺癌干细胞和转移[43]。2020 年, 宁博[44]等人使用了 Western blotting 技术, 对转染后的前列腺癌细胞系 DU145 细胞中 VEGF 和 EGFR 蛋白的表达情况进行了检测。结果表明在 miRNA-141 下调表达组中, VEGF 和 EGFR 蛋白的表达水平显著下降, 这表明 miRNA-141 可能通过抑制 VEGF 和 EGFR 蛋白的表达来影响细胞的生长和增殖。相反, 在 miRNA-141 上调表达组中, VEGF 和 EGFR 的表达水平则显著上升, 这表明 miRNA-141 可能通过促进 VEGF 和 EGFR 蛋白的表达来影响细胞的生长和增殖。该研究结果表明 miRNA-141 可以正向调节 DU145 细胞中 VEGF 和 EGFR 的表达, 进一步影响 DU145 细胞的增殖、侵袭和迁移过程[44]。因此目前认为 miRNA-141 的主要作用机制是通过抑制靶蛋白的翻译过程来调控细胞增殖, 并且抑制前列腺肿瘤的生长和转移, 进而来实现对于恶性肿瘤的控制和表达。

3.2. 血清 miRNA-141 对前列腺癌的诊断价值与预测预后

国外最新研究表明, 在评估的非侵入性 miRNA 中, 可以看出 miRNA-141 和 miRNA-1290 具有显著更高的致癌表达[47]。也有国内学者, 如廖于峰等的研究通过 qRT-PCR 检测 PCa、BPH 和健康对照血清中 miRNA-141 的相对表达水平, 表明与 BPH 组相比, 在 PCa 患者中, 前列腺癌组织周围组织 miRNA-141 的表达水平显著增加, 证明 miRNA-141 在区分前列腺癌与良性前列腺增生(BPH)方面具有较高的准确性, AUC 分别为 0.785 和 0.801 [48]。研究还发现 PCa 患者血清 miRNA-141 水平与 Gleason 积分存在一定相关性, Gleason 积分 > 7 的 PCa 患者血清 miRNA-141 水平明显升高; miRNA-141 的表达水平随着临床分期的增加而增加; 并且已经发生骨转移的 PCa 患者血清中的 miRNA-141 水平显著高于那些尚未发生转移的患者[48]。在 2016 年, Osipov 的研究结果也表明, miRNA-141 表达水平可有效区分早期前列腺癌患者, 并与 Gleason 评分相关[49]。因此 2020 年, 有学者采用荟萃分析表明, miRNA-141 对前列腺癌具有很高的诊断价值[50]。也有研究表明 miRNA-141 可能是一种有价值的肿瘤标志物[43]。

同时, 关于其在 PCa 预后预测方面: 2008 年, Mitchell 等人[12]首次发表研究结果, 表明进展期前列腺癌患者的循环 miRNA-141 水平明显高于正常人群。这项研究表明, 在前列腺癌患者中, 循环 miRNA-141 的水平与癌症的进展和转移密切相关。2012 年, Bryant 等人[51]也发现了 miRNA-141 与前列腺癌转移之间的联系, 他们进一步研究发现, 转移性前列腺癌患者的循环 miRNA-141 水平明显高于未转移的患者。此外, Yaman Agaoglu 等人[52]和 Selth 等人[53]也在他们的研究发现了类似的结果: 循环 miRNA-141 水平与前列腺癌的转移密切相关。2011 年, Brase 等人[41]发表了一项研究, 他们发现 miRNA-141 是高风险肿瘤的标志物, 特别是在 Gleason 积分 > 7 或者远处转移的患者中, 循环 miRNA-141

水平与 Gleason 积分和淋巴结转移密切相关。2013 年, Zhang HL 等人[54]发表了一项研究, 他们发现血清中 miRNA-141 水平越高的患者, 骨转移病变的数目也相应地增加, 从而证明了 miRNA-141 在前列腺癌骨转移病变发生和发展中的重要作用。此外, 研究人员还发现血清中的 miRNA-141 的水平与血清中的碱性磷酸酶水平存在一定的相关性, 但与血清中 PSA 水平并无明显的相关性。综合上述结论, 研究可以有力地证明血清 miRNA-141 可以作为预测前列腺癌非侵入性诊断和预后的有效新型分子标志。2020 年, Zedan [55]等人进一步研究也发现, 在使用阿比特龙和多西他赛治疗后的前列腺癌患者血液样本中 miRNA-141-3p 和 miRNA-375-3p 的表达水平都会降低, 但当前列腺癌患者病情恶化的时候, 这两种 miRNA 的表达水平又会升高。因此, 血清中的 miRNA-141-3p 和 miRNA-375-3p 可以作为判断转移性雄激素阻断疗法抗性前列腺癌患者预后的生物标志物。2017 年, Çat 的研究结果表明, 与 BPH 患者和健康个体相比, PCa 患者外周血中 miRNA-141 的表达显著增加。血浆 miRNA-141 可以区分 PCa 病例和 BPH 病例, AUC 值为 0.751, 因此我们认为 miRNA-141 可以在 PSA 灰色地带的 PCa 和 BPH 患者的决策阶段指导临床医生[56]。

上述研究认为 miRNA-141 对于前列腺癌诊断中具有重要意义, 有望成为前列腺癌诊断和预后预测的有效指标。其不足之处在于 miRNA-141 作为一种新型的生物标志物在前列腺癌诊断领域的应用存在一些局限性。miRNA-141 的血清水平可能受到多种因素的影响, 包括年龄、前列腺炎病史、治疗史、心血管疾病等, 从而导致其在诊断前列腺癌时的特异性和敏感性相对较低。

3.3. 血清 miRNA-141 与其它联合诊断前列腺癌

2011 年, Hao [57]等人在前列腺癌的诊疗的研究中发现, 联合应用血清 PSA 与 miRNA-21、miRNA-141 表达水平检测, 可以将前列腺癌的阳性预测值由 40%显著提高至 87.5%。同时, Kachakova [58]等人在 2015 年发表的一篇研究中, 选取了 PSA 作为重要指标, 对血浆中的 let-7c、miRNA-30c、miRNA-141、miRNA-375 四种 miRNA 在前列腺癌、良性前列腺增生以及健康男性表达情况进行了研究, 认为这四种 miRNA 在前列腺癌的诊断和预后评估中具有重要的价值, 在共同使用这四种 miRNA 情况下, 诊断的灵敏度提升到了 86.8%, 特异性提升到了 81.8%。综上所述, miRNA-141 与 PSA 或其他 miRNA 联合使用诊断前列腺癌的效果明显优于单独使用这两者去诊断前列腺癌。

4. 三者联合诊断前列腺癌及其前景

PSA 检测已经被证明是一种有效的诊断前列腺癌的方法, 特别是在早期发现阶段, 因为血清中的 PSA 浓度与前列腺癌的肿瘤比例呈正相关。此外, 该方法操作起来非常简便, 只需进行血液检测, 不需要进行侵入性的检查。更重要的是, 该方法的成本相对较低, 对大多数患者来说是经济实惠的诊断方法。因此, PSA 检测在前列腺癌的诊断中具有极其重要的作用, 能够显著提高患者的生存率和生活质量。

但是针对 tPSA 水平在 4~10 ng/mL 的患者进行研究后, 发现其前列腺癌组及良性前列腺增生组的 tPSA 水平存在无统计学差异[59]。并且, 据研究显示, 65%~75%的 PSA 灰区男性在活检后并未检出前列腺癌[60]。这一研究结果表明, 单纯依赖 tPSA 水平来诊断 PSA 灰区前列腺癌的方法, 使得过度诊断的比例达到了 16%~50% [61]。因此在实践中, 单独使用 tPSA 水平作为 PSA 灰区前列腺癌的诊断标准, 其诊断效率是相当有限的[62]。目前这已得到广泛的认同。但 Fleshner [63]等人的研究表明, 尽管放弃 PSA 筛查可以避免前列腺癌的过度诊断, 但这种行为并不能有效降低患者的可避免性死亡, 放弃 PSA 筛查可能会导致前列腺癌相关的死亡率增加 13%~20%。

因此采用什么标记物联合 PSA 成为研究热点。有研究显示, 对于 PSA 灰区前列腺癌使用 fPSA/tPSA 比值联合 PSA 可以有效地增加 PSA 的诊断灵敏度和特异性。有研究表明, 单独使用 PSA 检测前列腺癌

的准确率不及 PSA 联合 IL-8、TNF- α 和 sTNF R 等指标的组合[64] [65]。多项研究表明,采用多种指标联合诊断前列腺癌具有一定价值。彭扬洋的研究中显示,单独的 PSA 诊断前列腺癌的曲线下面积为 0.805,截断值为 69.38,灵敏度和特异性分别为 73.5%和 90.0% [21]。三者及以上的 miRNA 指标联合用于前列腺癌诊断的诊断效能与单独的 PSA 相比的比较结果如下: Wach 及其团队通过研究,发现了一种能够区分前列腺癌与正常前列腺组织的 miRNA 谱,其中包括 miRNA-375、miRNA-143 和 miRNA-145 三种 miRNA。他们通过对这三种 miRNA 的结合分析,发现其能对 78%的肿瘤样本进行成功分类[66]。同时, Kachakova 等[58]人在 2015 年发表的一篇研究中,选取了 PSA 作为重要指标,对 let-7c、miRNA-141、miRNA-375、miRNA-30c 四种 miRNA 在前列腺癌、良性前列腺增生以及健康男性血浆中的表达情况进行了研究得出了在共同使用这四种 miRNA 时,诊断的灵敏度提升到了 86.8%,特异性提升到了 81.8%。在前列腺癌的诊断中,为了获得更准确的结果,联合使用多种血清 miRNA 可能是一种更优的方法。针对这种情况,有研究人员提出了联合使用 5 种 miRNA (let-7c、let-7e、miRNA-30c、miRNA-622、miRNA-1285) 的方法,并通过实验验证了其在前列腺癌和良性前列腺增生(BPH)鉴别诊断中的有效性, AUC 分别达到 0.924 和 0.860 [67]。与此同时, Haldrup [68]等人的研究发现了三组高特异性的 miRNA 的配对分别是 miRNA-562 和 miRNA-210、miRNA-501 和 miRNA-501-3p、miRNA-375 和 miRNA-551b,能够准确识别 84%的前列腺癌患者以及 80%的转移性前列腺癌患者。这些指标的联合诊断结果显示,相较于单一的 PSA 指标,其灵敏度或特异性更高。

正如上述,当 PSA 联合 miRNAs,例如 miRNA-135 和 miRNA-141,或者联合 miRNAs 中的两者来提高 PSA 的灵敏度和特异性,从而有效提高临床中的前列腺癌的诊断和治疗。这样能够有效地去避免 PSA 灰区时不必要的前列腺穿刺活检。从而减少对于患者身体损伤和经济负担。

5. 总结与展望

对于任何恶性肿瘤,最好的方法是早发现、早诊断和早治疗,以尽可能降低死亡率。目前,临床上最广泛使用的前列腺癌筛选指标是 PSA 和 DRE,但两者的灵敏度和特异性尚需进一步提高。近年来,随着学者对 miRNA 的不断深入研究,它有望成为一种具有便捷性、高灵敏度和强特异性的前列腺癌生物标记物,有助于对前列腺癌的诊断和治疗进行优化。此外,miRNA 还可能影响前列腺癌治疗的发展,为患者提供更有效的治疗方案。它不仅可用于前列腺癌诊断,还可以用于临床预后判断,miRNAs 中的一个或多个指标与 PSA 联合,可能更好地诊断前列腺癌,提高 PSA 的灵敏度和特异性。

本文旨在探讨血清 miRNA-135 和 miRNA-141 在前列腺癌中的表达情况,探讨这些 miRNAs 基因表达组合与 PSA 的联合检测在前列腺癌诊断和预后预测中的价值。随着近年来分子诊断技术的发展,miRNAs 被认为是前列腺癌诊断和治疗的重要生物标志物。其中 miRNA-135 和 miRNA-141 在前列腺癌的诊断中具有较高的诊断价值,与 PSA 联合,能够更好地诊断前列腺癌。未来可能会有更多的指标或生物标志物被用于前列腺癌的诊断和预后预测。这些方法将有助于提高患者疾病的诊断准确率,避免 PSA 灰区时不必要的活检,从而减少对患者身体和经济的负担。

基金项目

云南省教育厅科学研究基金项目(编号: 2024Y898)。

参考文献

- [1] 李振国, 林相国, 吕建阳. KLK3 基因变异与前列腺癌的相关性分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(4): 15-16.
- [2] Chen, W., Zheng, R., Baade, P.D., Zhang, S., Zeng, H., Bray, F., *et al.* (2016) Cancer Statistics in China, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 66, 115-132. <https://doi.org/10.3322/caac.21338>

- [3] Chen, R., Sjoberg, D.D., Huang, Y., Xie, L., Zhou, L., He, D., *et al.* (2017) Prostate Specific Antigen and Prostate Cancer in Chinese Men Undergoing Initial Prostate Biopsies Compared with Western Cohorts. *Journal of Urology*, **197**, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.08.103>
- [4] Cao, W., Chen, H., Yu, Y., Li, N. and Chen, W. (2021) Changing Profiles of Cancer Burden Worldwide and in China: A Secondary Analysis of the Global Cancer Statistics 2020. *Chinese Medical Journal*, **134**, 783-791. <https://doi.org/10.1097/cm9.0000000000001474>
- [5] 周子滢, 艾子译, 崔丽艳, 等. PSA 灰区前列腺癌相关诊断指标的研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(10): 1757-1762.
- [6] Raue, R., Frank, A., Syed, S.N. and Brüne, B. (2021) Therapeutic Targeting of MicroRNAs in the Tumor Microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 2210. <https://doi.org/10.3390/ijms22042210>
- [7] 黄莹莹. MiR-132 参与调控动脉粥样硬化过程中的初步研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 南方医科大学, 2016.
- [8] Ameres, S.L. and Zamore, P.D. (2013) Diversifying MicroRNA Sequence and Function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **14**, 475-488. <https://doi.org/10.1038/nrm3611>
- [9] Khan, S., Ayub, H., Khan, T. and Wahid, F. (2019) MicroRNA Biogenesis, Gene Silencing Mechanisms and Role in Breast, Ovarian and Prostate Cancer. *Biochimie*, **167**, 12-24. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.09.001>
- [10] Loeb, S., Sanda, M.G., Broyles, D.L., Shin, S.S., Bangma, C.H., Wei, J.T., *et al.* (2015) The Prostate Health Index Selectively Identifies Clinically Significant Prostate Cancer. *Journal of Urology*, **193**, 1163-1169. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2014.10.121>
- [11] Guazzoni, G., Lazzeri, M., Nava, L., Lughezzani, G., Larcher, A., Scattoni, V., *et al.* (2012) Preoperative Prostate-Specific Antigen Isoform p2PSA and Its Derivatives, %p2PSA and Prostate Health Index, Predict Pathologic Outcomes in Patients Undergoing Radical Prostatectomy for Prostate Cancer. *European Urology*, **61**, 455-466. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.10.038>
- [12] Mitchell, P.S., Parkin, R.K., Kroh, E.M., Fritz, B.R., Wyman, S.K., Pogosova-Agadjanyan, E.L., *et al.* (2008) Circulating microRNAs as Stable Blood-Based Markers for Cancer Detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 10513-10518. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804549105>
- [13] Lodes, M.J., Caraballo, M., Suci, D., Munro, S., Kumar, A. and Anderson, B. (2009) Detection of Cancer with Serum miRNAs on an Oligonucleotide Microarray. *PLOS ONE*, **4**, e6229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006229>
- [14] 赵宇明, 张悦, 王华, 等. miR-135 在前列腺癌中的诊断价值研究[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(3): 474-476.
- [15] 孟真. microRNA-182 和前列腺健康指数对 PSA 灰区前列腺癌患者的诊断价值研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 郑州大学, 2020.
- [16] Kadkhoda, S., Eslami, S., Mahmud Hussien, B. and Ghafouri-Fard, S. (2022) A Review on the Importance of miRNA-135 in Human Diseases. *Frontiers in Genetics*, **13**, Article ID: 973585. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.973585>
- [17] Navarro, A., Diaz, T., Martinez, A., Gaya, A., Pons, A., Gel, B., *et al.* (2009) Regulation of JAK2 by miR-135a: Prognostic Impact in Classic Hodgkin Lymphoma. *Blood*, **114**, 2945-2951. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-02-204842>
- [18] 刘润奇, 高学忠, 罗锐娟. miRNA-135a-5p 在乳腺癌患者血清中的表达及其临床诊断效能[J]. 癌症进展, 2019, 17(11): 1328-1331.
- [19] 李文宏, 曾宪成, 王捷. miRNA-135a 在肝癌组织中的表达及临床意义[J]. 岭南现代临床外科, 2017, 17(3): 261-266.
- [20] 董大庆. miRNA-135b-5p 在结肠癌中表达水平及临床意义[D]: [硕士学位论文]. 承德: 承德医学院, 2019.
- [21] 彭扬洋, 邱樊, 王刚. 血清 miRNA-135 与 PSA 联合检测对前列腺癌的诊断价值及与临床特征、预后的关系[J]. 癌症进展, 2020, 18(1): 69-72.
- [22] Yamada, Y., Hidaka, H., Seki, N., Yoshino, H., Yamasaki, T., Itesako, T., *et al.* (2012) Tumor-Suppressive miRNA-135a Inhibits Cancer Cell Proliferation by Targeting the c-MYC Oncogene in Renal Cell Carcinoma. *Cancer Science*, **104**, 304-312. <https://doi.org/10.1111/cas.12072>
- [23] 赵遵兰, 蔡颖, 王洋洋, 等. 微小 RNA-21 对人乳腺癌细胞株紫杉醇耐药性的影响及其机制[J]. 浙江大学学报(医学版), 2015, 44(4): 400-409.
- [24] Quaranta, M.T., Olivetta, E., Sanchez, M., Spinello, I., Paolillo, R., Arenaccio, C., *et al.* (2015) miR-146a Controls CXCR4 Expression in a Pathway That Involves PLZF and Can Be Used to Inhibit HIV-1 Infection of CD4+ T Lymphocytes. *Virology*, **478**, 27-38. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.01.016>
- [25] 朱文雄, 袁峡峰, 彭涛, 等. 中西医结合治疗前列腺癌的研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(12): 177-181.
- [26] Xu, B., Lu, X., Zhao, Y., Liu, C., Huang, X., Chen, S., *et al.* (2018) MicroRNA-135a Induces Prostate Cancer Cell Apoptosis via Inhibition of STAT6. *Oncology Letters*, **17**, 1889-1895. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9791>

- [27] Li, B., Cao, Y., Sun, M. and Feng, H. (2021) Expression, Regulation, and Function of Exosome-Derived miRNAs in Cancer Progression and Therapy. *The FASEB Journal*, **35**, e21916. <https://doi.org/10.1096/fj.202100294rr>
- [28] Gao, Y., Feng, B., Han, S., Zhang, K., Chen, J., Li, C., et al. (2016) The Roles of MicroRNA-141 in Human Cancers: From Diagnosis to Treatment. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **38**, 427-448. <https://doi.org/10.1159/000438641>
- [29] Nakada, C., Matsuura, K., Tsukamoto, Y., Tanigawa, M., Yoshimoto, T., Narimatsu, T., et al. (2008) Genome-Wide microRNA Expression Profiling in Renal Cell Carcinoma: Significant Down-Regulation of miR-141 and miR-200c. *The Journal of Pathology*, **216**, 418-427. <https://doi.org/10.1002/path.2437>
- [30] 朱正纲. 我国胃癌外科 2017 年热点回顾与未来展望[J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(1): 7-14.
- [31] 王学林, 刘逸翔. 老年肺癌患者血清 miR-200b 和 miR-141 表达及对预后的影响[J]. 广东医学, 2019, 40(21): 3040-3044.
- [32] Kim, J., Ryu, J.K., Lee, S.H. and Kim, Y. (2016) MicroRNA 141 Expression Is a Potential Prognostic Marker of Biliary Tract Cancers. *Gut and Liver*, **10**, 836-841. <https://doi.org/10.5009/gnl15460>
- [33] Zhou, H., Tang, K., Xiao, H., Zeng, J., Guan, W., Guo, X., et al. (2015) A Panel of Eight-miRNA Signature as a Potential Biomarker for Predicting Survival in Bladder Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **34**, Article No. 53. <https://doi.org/10.1186/s13046-015-0167-0>
- [34] Zhang, L., Deng, T., Li, X., Liu, H., Zhou, H., Ma, J., et al. (2010) microRNA-141 Is Involved in a Nasopharyngeal Carcinoma-Related Genes Network. *Carcinogenesis*, **31**, 559-566. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp335>
- [35] Sun, Y., Liu, Y., Cogdell, D., Calin, G.A., Sun, B., Kopetz, S., et al. (2016) Examining Plasma microRNA Markers for Colorectal Cancer at Different Stages. *Oncotarget*, **7**, 11434-11449. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7196>
- [36] Mei, Z., He, Y., Feng, J., Shi, J., Du, Y., Qian, L., et al. (2014) MicroRNA-141 Promotes the Proliferation of Non-Small Cell Lung Cancer Cells by Regulating Expression of PHLPP1 and PHLPP2. *FEBS Letters*, **588**, 3055-3061. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.06.020>
- [37] Zhou, X., Wang, Y., Shan, B., Han, J., Zhu, H., Lv, Y., et al. (2014) The Downregulation of miR-200c/141 Promotes ZEB1/2 Expression and Gastric Cancer Progression. *Medical Oncology*, **32**, Article No. 428. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0428-3>
- [38] Madhavan, D., Peng, C., Wallwiener, M., Zucknick, M., Nees, J., Schott, S., et al. (2016) Circulating miRNAs with Prognostic Value in Metastatic Breast Cancer and for Early Detection of Metastasis. *Carcinogenesis*, **37**, 461-470. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgw008>
- [39] Wu, S., Ai, H., Zhang, D., Han, X., Pan, Q., Luo, F., et al. (2014) MiR-141 Targets ZEB2 to Suppress HCC Progression. *Tumor Biology*, **35**, 9993-9997. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2299-9>
- [40] Zhao, G., Wang, B., Liu, Y., Zhang, J., Deng, S., Qin, Q., et al. (2013) miRNA-141, Downregulated in Pancreatic Cancer, Inhibits Cell Proliferation and Invasion by Directly Targeting MAP4K4. *Molecular Cancer Therapeutics*, **12**, 2569-2580. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-13-0296>
- [41] Brase, J.C., Johannes, M., Schlomm, T., Fäth, M., Haese, A., Steuber, T., et al. (2010) Circulating miRNAs Are Correlated with Tumor Progression in Prostate Cancer. *International Journal of Cancer*, **128**, 608-616. <https://doi.org/10.1002/ijc.25376>
- [42] 竺展坤. 循环 miRNAs 在前列腺患者血清中的表达水平及临床意义[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 武汉工程大学, 2015.
- [43] Liu, C., Liu, R., Zhang, D., Deng, Q., Liu, B., Chao, H., et al. (2017) MicroRNA-141 Suppresses Prostate Cancer Stem Cells and Metastasis by Targeting a Cohort of Pro-Metastasis Genes. *Nature Communications*, **8**, Article No. 14270. <https://doi.org/10.1038/ncomms14270>
- [44] 宁博, 纪宏伟, 陈雪磊. miRNA141 表达的调控对人前列腺癌 DU145 细胞恶性生物行为的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(9): 999-1005.
- [45] Du, Y., Xu, Y., Ding, L., Yao, H., Yu, H., Zhou, T., et al. (2009) Down-Regulation of miR-141 in Gastric Cancer and Its Involvement in Cell Growth. *Journal of Gastroenterology*, **44**, 556-561. <https://doi.org/10.1007/s00535-009-0037-7>
- [46] Gao, Y. and Wu, J. (2015) microRNA-200c and microRNA-141 as Potential Diagnostic and Prognostic Biomarkers for Ovarian Cancer. *Tumor Biology*, **36**, 4843-4850. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3138-3>
- [47] Manoj, A., Ahmad, M.K., Prasad, G., Kumar, D., Mahdi, A.A. and Kumar, M. (2023) Screening and Validation of Novel Serum Panel of microRNA in Stratification of Prostate Cancer. *Prostate International*, **11**, 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.pnil.2023.06.002>
- [48] 廖于峰, 戴金华, 茅奇峰, 等. 循环 miRNA-141 对前列腺癌的诊断和预后价值研究[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(10): 1887-1890.
- [49] Osipov, I.D., Zaporozhchenko, I.A., Bondar, A.A., Zaripov, M.M., Voytsitskiy, V.E., Vlassov, V.V., et al. (2016)

- Cell-Free miRNA-141 and miRNA-205 as Prostate Cancer Biomarkers. In: Gahan, P.B., Fleischhacker, M. and Schmidt, B., Eds., *Circulating Nucleic Acids in Serum and Plasma—CNAPS IX*, Springer International Publishing, Berlin, 9-12. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42044-8_2
- [50] Ye, Y., Yuan, X., Wang, J., Wang, Y. and Li, S. (2020) The Diagnostic Value of miRNA-141 in Prostate Cancer: A Systematic Review and PRISMA-Compliant Meta-Analysis. *Medicine*, **99**, e19993. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000019993>
- [51] Bryant, R.J., Pawlowski, T., Catto, J.W.F., Marsden, G., Vessella, R.L., Rhees, B., *et al.* (2012) Changes in Circulating microRNA Levels Associated with Prostate Cancer. *British Journal of Cancer*, **106**, 768-774. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.595>
- [52] Yaman Agaoglu, F., Kovancilar, M., Dizdar, Y., Darendeliler, E., Holdenrieder, S., Dalay, N., *et al.* (2011) Investigation of miR-21, miR-141, and miR-221 in Blood Circulation of Patients with Prostate Cancer. *Tumor Biology*, **32**, 583-588. <https://doi.org/10.1007/s13277-011-0154-9>
- [53] Selth, L.A., Townley, S., Gillis, J.L., Ochnik, A.M., Murti, K., Macfarlane, R.J., *et al.* (2011) Discovery of Circulating microRNAs Associated with Human Prostate Cancer Using a Mouse Model of Disease. *International Journal of Cancer*, **131**, 652-661. <https://doi.org/10.1002/ijc.26405>
- [54] Zhang, H., Qin, X., Cao, D., Zhu, Y., Yao, X., Zhang, S., *et al.* (2013) An Elevated Serum miR-141 Level in Patients with Bone-Metastatic Prostate Cancer Is Correlated with More Bone Lesions. *Asian Journal of Andrology*, **15**, 231-235. <https://doi.org/10.1038/aja.2012.116>
- [55] Zedan, A.H., Osther, P.J.S., Assenolt, J., Madsen, J.S. and Hansen, T.F. (2020) Circulating miR-141 and miR-375 Are Associated with Treatment Outcome in Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 227. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57101-7>
- [56] Köken, T., Çat, A. and Karalar, M. (2017) Prostate Cancer Detection in Patients with Total Serum Prostate-Specific Antigen Levels of 4-10 ng/ml: Diagnostic Efficacy of MicroRNA-141. *Clinical Cancer Investigation Journal*, **6**, 10-14. https://doi.org/10.4103/ccij.ccij_16_17
- [57] Hao, Y., Zhao, Y., Zhao, X., He, C., Pang, X., Wu, T., *et al.* (2011) Improvement of Prostate Cancer Detection by Integrating the PSA Test with miRNA Expression Profiling. *Cancer Investigation*, **29**, 318-324. <https://doi.org/10.3109/07357907.2011.554477>
- [58] Kachakova, D., Mitkova, A., Popov, E., Popov, I., Vlahova, A., Dikov, T., *et al.* (2015) Combinations of Serum Prostate-Specific Antigen and Plasma Expression Levels of Let-7c, miR-30c, miR-141, and miR-375 as Potential Better Diagnostic Biomarkers for Prostate Cancer. *DNA and Cell Biology*, **34**, 189-200. <https://doi.org/10.1089/dna.2014.2663>
- [59] 高自颖, 甄拴平. 血清总前列腺特异性抗原表达的随龄变化及其在前列腺癌鉴别诊断中的意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2017, 29(1): 39-41.
- [60] Schröder, F.H., Hugosson, J., Roobol, M.J., *et al.* (2014) Screening and Prostate Cancer Mortality: Results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 Years of Follow-Up. *The Lancet*, **384**, 2027-2035.
- [61] Fenton, J.J., Weyrich, M.S., Durbin, S., Liu, Y., Bang, H. and Melnikow, J. (2018) Prostate-Specific Antigen-Based Screening for Prostate Cancer: Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA*, **319**, 1914-1931. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.3712>
- [62] Lojanapiwat, B., Anutrakulchai, W., Chongruksut, W. and Udomphot, C. (2014) Correlation and Diagnostic Performance of the Prostate-Specific Antigen Level with the Diagnosis, Aggressiveness, and Bone Metastasis of Prostate Cancer in Clinical Practice. *Prostate International*, **2**, 133-139. <https://doi.org/10.12954/pi.14054>
- [63] Fleshner, K., Carlsson, S.V. and Roobol, M.J. (2016) The Effect of the USPSTF PSA Screening Recommendation on Prostate Cancer Incidence Patterns in the USA. *Nature Reviews Urology*, **14**, 26-37. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.251>
- [64] Chistiakov, D.A., Myasoedova, V.A., Grechko, A.V., Melnichenko, A.A. and Orekhov, A.N. (2018) New Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of Localized Prostate Cancer. *Seminars in Cancer Biology*, **52**, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.01.012>
- [65] Vychytilova-Faltejskova, P., Radova, L., Sachlova, M., Kosarova, Z., Slaba, K., Fabian, P., *et al.* (2016) Serum-Based microRNA Signatures in Early Diagnosis and Prognosis Prediction of Colon Cancer. *Carcinogenesis*, **37**, 941-950. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgw078>
- [66] Wach, S., Nolte, E., Szczyrba, J., Stöhr, R., Hartmann, A., Ørntoft, T., *et al.* (2011) MicroRNA Profiles of Prostate Carcinoma Detected by Multiplatform MicroRNA Screening. *International Journal of Cancer*, **130**, 611-621. <https://doi.org/10.1002/ijc.26064>
- [67] Chen, Z., Zhang, G., Li, H., Luo, J., Li, Z., Chen, G., *et al.* (2012) A Panel of Five Circulating microRNAs as Potential

-
- Biomarkers for Prostate Cancer. *The Prostate*, **72**, 1443-1452. <https://doi.org/10.1002/pros.22495>
- [68] Haldrup, C., Kosaka, N., Ochiya, T., Borre, M., Høyer, S., Orntoft, T.F., *et al.* (2013) Profiling of Circulating microRNAs for Prostate Cancer Biomarker Discovery. *Drug Delivery and Translational Research*, **4**, 19-30. <https://doi.org/10.1007/s13346-013-0169-4>