

本文引用:任利兵,贾如江,苏春永,等.食管鳞状细胞癌组织中miR-504和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B通路相关分子表达及其与患者临床病理学特征的关系[J].新乡医学院学报,2020,37(9):839-843. DOI:10.7683/xxxyxb.2020.09.007.

【临床研究】

食管鳞状细胞癌组织中miR-504和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B通路相关分子表达及其与患者临床病理学特征的关系

任利兵¹, 贾如江¹, 苏春永¹, 杨晓光¹, 秦景云¹, 熊正明²

(1. 邯郸市中心医院胸外科,河北 邯郸 056001;2. 石家庄平安医院肿瘤科,河北 石家庄 050000)

摘要: 目的 探讨食管鳞状细胞癌组织中miR-504和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)通路相关分子的表达及其与患者临床病理学特征的关系。方法 选择2016年1月至2018年12月于邯郸市中心医院就诊并进行手术治疗的食管鳞状细胞癌患者67例为研究对象,取术中切除的新鲜食管鳞状细胞癌组织和距离癌组织5 cm以上正常食管鳞状上皮组织(癌旁组织),采用反转录-聚合酶链反应检测食管鳞状细胞癌组织和癌旁组织中miR-504表达,免疫组织化学法检测食管鳞状细胞癌组织及癌旁组织中PI3K、磷酸化Akt(p-Akt)表达;分析食管鳞状细胞癌组织中miR-504、PI3K、p-Akt表达与患者临床病理学特征的关系及miR-504与PI3K、p-Akt表达的相关性。结果 miR-504在癌组织中的表达量显著低于癌旁组织($P < 0.05$),miR-504在不同分化程度癌组织中的表达量两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),miR-504在I期患者癌组织中表达量显著高于II、III期患者($P < 0.05$)。PI3K、p-Akt在癌组织中表达评分显著高于癌旁组织($P < 0.05$)。PI3K、p-Akt在不同分化程度癌组织中的表达量两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。PI3K、p-Akt在II、III期患者癌组织中表达量显著高于I期患者($P < 0.05$)。食管鳞状细胞癌组织中miR-504、PI3K、p-Akt的表达与患者年龄、性别无关($P > 0.05$),与癌组织的分化程度、TNM分期和淋巴结转移相关($P < 0.05$)。食管鳞状细胞癌组织中miR-504表达与PI3K、p-Akt表达呈明显负相关($r = -0.354$ 、 -0.519 , $P < 0.05$)。结论 miR-504在食管鳞状细胞癌组织中的表达与肿瘤的分化程度、TNM分期和淋巴结转移有关,其在食管鳞状细胞癌中可能作为抑癌基因发挥作用,且这种抑制作用可能与抑制肿瘤细胞内PI3K/Akt信号通路的活性有关。

关键词: 食管鳞状细胞癌;miR-504;磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B信号通路

中图分类号: R735.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2020)09-0839-05

Expression of miR-504 and phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway related molecules in esophageal squamous cell carcinoma and the relationship between them with the clinicopathological feature of patients

REN Libing¹, JIA Rujiang¹, SU Chunyong¹, YANG Xiaoguang¹, QIN Jingyun¹, XIONG Zhengming²

(1. Department of Thoracic Surgery, Handan Central Hospital, Handan 056001, Hebei Province, China; 2. Department of Oncology, Shijiazhuang Ping'an Hospital, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of miR-504, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B(PI3K/Akt) pathway related molecules in esophageal squamous cell carcinoma tissue and the relationship between them with the clinicopathological feature of patients. **Methods** A total of 67 patients with esophageal squamous cell carcinoma who were treated in Handan Central Hospital from January 2016 to December 2018 were enrolled in this study. The fresh esophageal squamous cell carcinoma tissue and normal esophageal squamous epithelial tissues which were away from cancer tissue more than 5 cm (paracancerous tissues) were taken during the operation. The expression of miR-504 in esophageal squamous cell carcinoma and paracancerous tissues was detected by reverse transcription polymerase chain reaction. The expression of PI3K and phosphorylated Akt(p-Akt) in esophageal squamous cell carcinoma and paracancerous tissues was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of miR-504, PI3K, p-Akt and the clinicopathological characteristics of patients and the correlation between the expression of miR-504 and PI3K, p-Akt were analyzed. **Results** The expression of miR-504 in cancer tissues was significantly lower than that in the paracancerous tissues($P < 0.05$); there was statistic difference in the expression of miR-504 in cancer tissues with different degrees of differentiation($P < 0.05$); the expression of miR-504 in

cancer tissues of stage I patients was significantly higher than that of stage II, III patients ($P < 0.05$). The scores of PI3K, p-Akt expression in cancer tissues were significantly higher than those in the paracancerous tissues ($P < 0.05$). There was statistic difference in the expressions of PI3K, p-Akt in cancer tissues with different degrees of differentiation ($P < 0.05$); the expressions of PI3K, p-Akt in cancer tissues of stage II, III patients were significantly higher than those of stage I patients ($P < 0.05$). The expressions of miR-504, PI3K, p-Akt in esophageal squamous cell carcinoma were not correlated with age and gender of patients ($P > 0.05$), but correlated with the differentiation degree, TNM stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The expression of miR-504 was negatively correlated with the expression of PI3K and p-Akt ($r = -0.354, -0.519; P < 0.05$). **Conclusion** The expression of miR-504 in esophageal squamous cell carcinoma tissue is related to differentiation, TNM stage and lymph node metastasis of tumor. miR-504 may play a role as a tumor suppressor gene in esophageal squamous cell carcinoma, and this inhibition may be related to the inhibition of the activity of PI3K/Akt signaling pathway in tumor cells.

Key words: esophageal cancer; miR-504; phosphatidylinositol 3-kinase / protein kinase B signaling pathway

食管癌是世界范围内发病率最高的恶性肿瘤之一,同时具有较高的致死率^[1-2]。食管癌主要有2种病理类型:食管鳞状细胞癌(esophageal aquamous cell zarcinoma, ESCC)和食管腺癌,其中ESCC占所有食管癌的90%以上。目前,临幊上对食管癌的治疗以手术联合放射治疗及化学治疗为主,但预后并不理想。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类内源性表达的非编码RNA,在基因转录后的调控过程中发挥重要作用,能通过与靶基因相互作用调节基因表达^[3]。miR-504是miRNA家族重要成员,在多种肿瘤细胞中发挥不同程度的抑癌作用^[4-5],但对食管癌的发生是否有影响鲜有报道。磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路是细胞内重要的信号通路之一,通过影响下游多种效应分子调控细胞的生物学活性^[6-8]。有研究证实,miR-504在乳腺癌细胞中能靶向抑制PI3K/Akt通路活性^[9]。基于以上理论,本研究探讨了miR-504、PI3K/Akt在ESCC中的表达及二者之间的关系,并分析了miR-504、PI3K/Akt表达与患者临床病理学特征的关系,为临床ESCC的治疗寻找新的潜在靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2016年1月至2018年12月于邯郸市中心医院就诊并进行手术治疗的ESCC患者67例为研究对象,患者均经组织病理学确诊为ESCC并首次进行ESCC切除手术,术前未进行放射治疗、化学治疗等辅助治疗。取患者术中切除的新鲜ESCC组织和距癌组织5 cm以上的正常食管鳞状上皮组织(癌旁组织),将一部分病理标本用100 g·L⁻¹多聚甲醛固定后石蜡包埋保存,另一部分于-80℃冰箱保存。患者年龄45~73(60.1±8.3)岁,其中≥60岁者36例,<60岁者31例;男40例,女27例;按照国际抗癌联盟与美国癌症联合会2017年联合发布的第8版TNM分期标准分期:I期44例,II、III期23例;组织分化程度:高分化16例,中

分化29例,低分化22例;有淋巴结转移者40例,无淋巴结转移者27例。

1.2 试剂与仪器 miR-504及β-actin引物序列由广州锐博生物公司合成,TRIzol、反转录试剂盒购自美国Sigma公司,β-actin一抗、二抗购自上海碧云天生物技术有限公司;酶标仪购自美国Biorad公司,实时定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪购自美国Applied Biosystems公司,普通光学显微镜购自日本Olympus公司。

1.3 反转录-聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)检测ESCC组织及癌旁组织中miR-504表达 取冻存的癌组织和癌旁组织于液氮预冷的研钵中研磨成粉末,加入1 mL TRIzol,按说明书中所示步骤提取总RNA进行反转录。取2 μL RNA进行PCR扩增。内参β-actin引物序列:正向引物序列为5'-CATTGGATCGGCATACGCATT-3',反向引物序列为5'-GCTAGCGCT-TAGCTAGCCATC-3';miR-504引物序列:正向引物序列为5'-AGCGCTTAGCTAGGCTAGCCA-3',反向引物序列为5'-CGTAGCTAGGCTAGCCATCAA-3'。扩增条件:94℃预变性2 min,1个循环;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸2 min,共35个循环;72℃延伸6 min。取5 μL PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,紫外线投射仪下观察电泳条带,Image Pro Plus 6.0分析目的基因和内参基因条带灰度值比值。

1.4 免疫组织化学法检测ESCC组织及癌旁组织中PI3K、p-Akt表达 将ESCC组织及癌旁组织用100 g·L⁻¹多聚甲醛固定后石蜡包埋,切片脱蜡、水化,用体积分数0.3% H₂O₂处理标本30 min,枸橼酸钠缓冲液中加热20 min以修复抗原,加入一抗PI3K(1:200)、p-Akt(1:200),4℃孵育过夜,加入二抗37℃孵育30 min,二氨基联苯胺显色,苏木精复染,体积分数1%盐酸乙醇分化、脱水、封固,设立空白对照,磷酸盐缓冲溶液代替一抗作为阴性对照。标本染色后由经验丰富的病理科医师进行评分,采用双

盲法在每张切片上随机选取5个视野,每个视野内计数100个细胞,根据细胞染色强度进行评分,无阳性着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分,评分0~2为低表达,>2为高表达。

1.5 统计学处理 应用SPSS20.0软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本间比较采用独立样本t检验,不符合正态分布的数据用中位数表示,两样本间比较采用秩和检验;多组计量资料比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著性差异法t检验。计数资料用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用Pearson积矩相关; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-504在癌组织和癌旁组织中的表达量 miR-504在癌组织和癌旁组织中的表达量分别为 0.50 ± 0.17 、 0.89 ± 0.12 ,miR-504在癌组织中的表达量显著低于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。miR-504在低分化、中分化和高分化癌组织中的表达量分别为 0.19 ± 0.03 、 0.51 ± 0.07 、 0.69 ± 0.09 ,miR-504在不同分化程度癌组织中的表达量两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。miR-504在I期患者和II、III期患者癌组织中表达量分别为 0.59 ± 0.06 、 0.41 ± 0.07 ,miR-504在I期患者癌组织中表达量显著高于II、III期患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 PI3K、p-Akt在癌旁组织和癌组织中的表达量比较 结果见图1。PI3K在癌组织和癌旁组织中的表达评分分别为 2.43 ± 0.35 、 1.27 ± 0.21 ,PI3K在

癌组织中的表达评分显著高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$);p-Akt在癌组织和癌旁组织中表达评分分别为 1.97 ± 0.18 、 0.54 ± 0.08 ,p-Akt在癌组织中表达评分显著高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

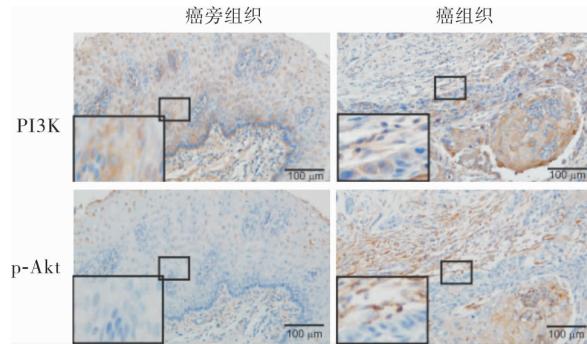


图1 PI3K、p-Akt在癌旁组织和癌组织中的表达(免疫组织化学染色, $\times 200$)

Fig.1 Expression of PI3K and p-Akt in paracancerous and cancerous tissues (immunohistochemical staining, $\times 200$)

2.3 PI3K、p-Akt在不同分化程度及不同分期癌组织中的表达量比较 结果见图2。PI3K在低分化、中分化和高分化癌组织中的表达评分分别为 4.62 ± 0.31 、 3.01 ± 0.16 、 1.03 ± 0.09 ,p-Akt在低分化、中分化和高分化癌组织中的表达评分分别为 3.89 ± 0.63 、 0.27 ± 0.31 、 0.95 ± 0.09 ;PI3K、p-Akt在不同分化程度癌组织中的表达量两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。PI3K在I期患者和II、III期患者癌组织中表达评分分别为 1.96 ± 0.31 、 3.79 ± 0.47 ,p-Akt在I期患者和II、III期患者癌组织中表达评分分别为 1.66 ± 0.15 、 4.02 ± 0.72 ;PI3K、p-Akt在II、III期癌组织中表达评分显著高于I期患者癌组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

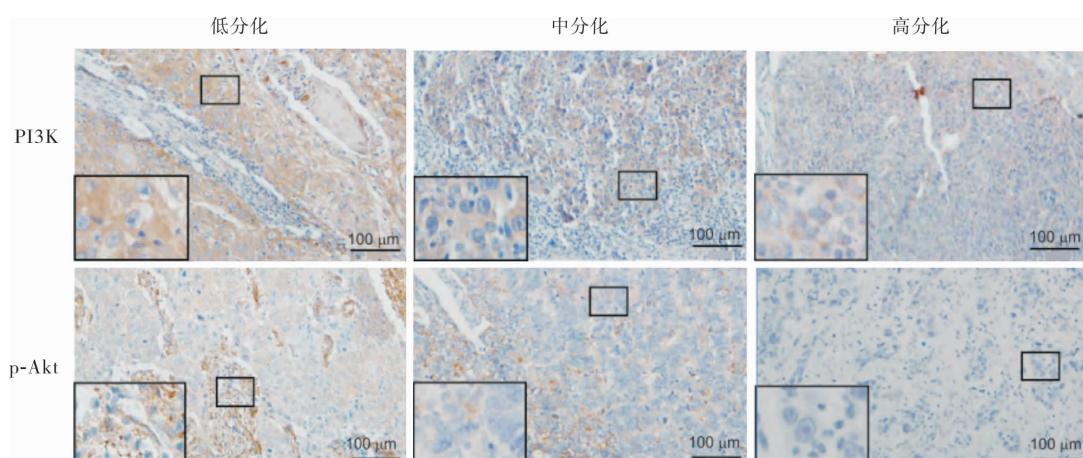


图2 PI3K、p-Akt在不同分化程度癌旁组织中的表达(免疫组织化学染色, $\times 200$)

Fig.2 Expression of PI3K and p-Akt in cancerous tissues with different differentiation degree (immunohistochemical staining, $\times 200$)

2.4 ESCC 组织中 miR-504、PI3K、p-Akt 表达与患者临床病理学特征的关系 结果见表 1。ESCC 组织中 miR-504、PI3K 及 p-Akt 的表达与患者年龄、

表 1 miR-504、PI3K 和 p-Akt 在 ESCC 组织中的表达与患者临床病理特征关系

Tab. 1 Relationship between the expression of miR-504, PI3K and p-Akt in ESCC tissue and clinicopathological features of patients

临床特征	n	miR-504		χ^2	P	PI3K		χ^2	P	p-Akt		χ^2	P
		高表达/例(%)	低表达/例(%)			高表达/例(%)	低表达/例(%)			高表达/例(%)	低表达/例(%)		
年龄													
<60岁	31	4(40.0)	27(47.4)	0.033	0.124	24(49.0)	7(38.9)	0.004	0.846	24(51.1)	7(35.0)	0.353	0.241
≥60岁	36	6(60.0)	30(52.6)			25(51.0)	11(61.1)			23(48.9)	13(65.0)		
性别													
男	40	4(40.0)	36(63.2)	0.002	0.921	28(57.1)	12(55.6)	0.032	0.886	26(55.3)	14(70.0)	0.437	0.177
女	27	6(60.0)	21(36.8)			21(42.9)	6(44.4)			21(44.7)	6(30.0)		
分化程度													
高分化	20	7(80.0)	13(22.8)			10(20.4)	10(55.6)			11(23.4)	9(45.0)		
中分化	25	3(20.0)	22(38.6)	9.302	0.000	17(34.7)	8(44.4)	15.966	0.000	14(29.8)	10(50.0)	18.644	0.000
低分化	22	0(0.0)	22(38.6)			22(44.9)	0(0.0)			21(46.8)	1(5.0)		
TNM分期													
I期	30	8(80.0)	22(38.6)	12.291	0.000	13(26.5)	17(94.4)	17.755	0.000	16(34.0)	14(70.0)	21.086	0.000
II、III期	37	2(20.0)	35(61.4)			36(73.7)	1(5.6)			31(66.0)	6(30.0)		
淋巴结转移													
是	40	3(30.0)	37(64.9)	25.311	0.000	29(59.2)	11(61.1)	14.283	0.000	32(68.1)	8(40.0)	15.755	0.000
否	27	7(70.0)	20(35.1)			20(40.8)	7(38.9)			15(31.9)	12(60.0)		

2.6 ESCC 组织中 miR-504 与 PI3K、p-Akt 表达水平的相关性 Pearson 相关分析结果显示, ESCC 组织中 miR-504 表达与 PI3K、p-Akt 表达呈显著负相关($r = -0.354$ 、 -0.519 , $P < 0.05$)。

3 讨论

miR-504 是 miRNA 家族成员, 其异常表达可作为致癌基因或抑癌基因对肿瘤细胞发挥调控作用。miR-504 在多种肿瘤细胞中发挥抑癌或促癌作用。miR-504 在直肠癌中通过靶向抑制凋亡抑制蛋白 C 的表达来抑制细胞的增殖、转移, 同时促进细胞的凋亡^[10]; miR-504 在胶质瘤细胞和口腔鳞状细胞癌中能靶向转录 Foxp1 因子, 从而加快细胞的凋亡进程^[11]; miR-504 可通过调控细胞周期蛋白激酶 6 (cyclin-dependent kinase 6, CDK6) 活性来抑制下咽鳞状细胞癌细胞的增殖^[12]; 以上研究证实, miR-504 既能作为抑癌基因发挥作用, 也能作为癌基因促进癌症进展。miR-504 能通过 p53 促进非小细胞肺癌细胞增殖、抑制凋亡, 其机制可能与下调 p53 表达有关, 说明 miR-504 在非小细胞肺癌中可能起致癌基因作用^[13]。但目前关于 miR-504 在食管癌中的作用尚未见报道, 本研究选择接受手术治疗的 67 例 ESCC 患者为研究对象, 检测其癌组织和癌旁组织中 miR-504 的表达, 结果显示, 癌组织中 miR-504 的表达量显著低于癌旁组织, 且随着分化程度的增加,

性别无关($P > 0.05$), 与癌组织的分化程度、TNM 分期和淋巴结转移相关($P < 0.05$)。

miR-504 在癌组织中的表达逐渐减弱; 同时, miR-504 在癌组织中的表达随着患者 TNM 分期的增加而减弱。进一步分析 miR-504 在癌组织中的表达与患者临床病理学特征的关系发现, 肿瘤分化程度高、TNM 分期较低、肿瘤细胞无淋巴结转移的癌组织中 miR-504 高表达的比例更高, 提示 miR-504 在 ESCC 中可能起抑癌基因作用。

PI3K 是一种细胞内磷脂酰肌醇激酶, 参与多种生长因子的活化, 其与 Akt 组成的信号通路在肿瘤细胞的增殖和存活中起重要作用, 其过度活化是细胞发生癌变的必要因素^[14-15]。PI3K/Akt 信号通路的失衡是食管癌发展的重要分子机制, 通过激活 Akt 调节下游信号分子, 影响肿瘤细胞的生物学活性^[16]。本研究结果显示, PI3K、p-Akt 在癌组织中的表达显著高于癌旁组织, 进一步分析二者在癌组织中的表达与患者病理学特征的关系发现, 随着病情进展, PI3K、p-Akt 的表达呈增强趋势, 提示该通路在食管癌的发生、发展中起一定作用, 上述结果与文献报道^[17]相一致。本研究还发现, miR-504 与 PI3K、p-Akt 的表达均呈显著负相关, 推测 PI3K/Akt 信号通路可能为 miR-504 的靶向通路, miR-504 通过负向调控该通路的活性进而阻止食管癌的发生、发展。

综上所述, 本研究在组织水平上验证了 miR-504 在 ESCC 中可能作为抑癌基因发挥作用, 且该作用可能与抑制肿瘤细胞内 PI3K/Akt 信号通路的活性有关。

参考文献:

- [1] 曹小琴,孙喜斌.食管癌发病水平及变化趋势[J].中国肿瘤临床,2016,43(21):932-936.
- [2] 南鹏,李春晓,孙芳洲,等.食管癌化疗耐药相关基因的初步筛选及其临床意义[J].解放军医学杂志,2019,44(3):222-227.
- [3] GUO X D,ZHAO L,SHEN Y,et al. Polymorphism of miRNA and esophageal cancer risk:an updated systemic review and meta-analysis[J]. *Onco Targets Ther*,2019,12:3565-3580.
- [4] YE M F,ZHANG J G,GUO T X,et al. MiR-504 inhibits cell proliferation and invasion by targeting LOXL2 in non small cell lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*,2018,97:1289-1295.
- [5] BUBLIK D R,BURSAĆ S,SHEFFER M,et al. Regulatory module involving FGF13,miR-504, and p53 regulates ribosomal biogenesis and supports cancer cell survival[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2017,114(4):E496-E505.
- [6] LIEN E C,DIBBLE C C,TOKER A. PI3K signaling in cancer:beyond AKT[J]. *Curr Opin Cell Biol*,2017,45:62-71.
- [7] 王红兵,蒲志惠,邓彬,等.康艾注射液对乳腺癌组织中PI3K/Akt通路和CD,NK细胞的影响[J].世界中医药,2018,13(5):1156-1159,1163.
- [8] ZHANG Y,KWOKSHING N P,KUCHERLAPATI M,et al. A pan-cancer proteogenomic atlas of PI3K/AKT/mTOR pathway alterations[J]. *Cancer Cell*,2017,31(6):820-832.
- [9] 王照岩,杨志一,林祥博,等.miR-504靶向CHD1L抑制乳腺癌细胞侵袭的分子机制[J].临床与实验病理学杂志,2018,34(12):8-13.
- [10] 荣国强.miR-150/miR-504/miR-519d靶向抑制c-FLIP调控结肠癌细胞增殖、凋亡和自噬的研究[D].苏州:苏州大学,2017.
- [11] CUI R ,GUAN Y ,SUN C ,et al. A tumor-suppressive microRNA,miR-504,inhibits cell proliferation and promotes apoptosis by targeting FOXP1 in human glioma[J]. *Cancer Lett*,2016,374(1):1-11.
- [12] GUAN Y,CHEN L,BAO Y,et al. Downregulation of microRNA-504 is associated with poor prognosis in high-grade glioma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*,2015,8(1):727-734.
- [13] 高昕,杨智,于海波,等.微小RNA-504对非小细胞肺癌细胞增殖及凋亡的作用[J].临床与病理杂志,2018,38(2):239-245.
- [14] HAMZEHZADEH L,ATKIN S L,MAJEEED M,et al. The versatile role of curcumin in cancer prevention and treatment:a focus on PI3K/AKT pathway[J]. *J Cell Physiol*,2018,233(10):6530-6537.
- [15] 陈利娟,穆晓倩,刘杰,等.PTEN通过磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B信号通路对非小细胞肺癌顺铂敏感性的影响[J].新乡医学院学报,2020,37(6):501-508.
- [16] YANG J,NIE J,MA X,et al. Targeting PI3K in cancer:mechanisms and advances in clinical trials[J]. *Mol Cancer*,2019,18(1):26.
- [17] 张小三,张一鸣,赵燕,等.PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达与食管癌淋巴结转移的关系[J].癌症进展,2019,17(4):460-463.

(本文编辑:孟月)

(上接第838页)

- [3] ECKHERT E,HEWITT R,LIEDTKE M. B-cell maturation antigen directed monoclonal antibody therapies for multiple myeloma[J]. *Immunotherapy*,2019,11(9):801-811.
- [4] LAKSHMAN A,PAINULY U,RAJKUMAR S V,et al. Natural history of multiple myeloma with de novo del(17p)[J]. *Blood Cancer J*,2019,9(3):32-41.
- [5] PERROT A,LAUWERS-CANCES V,TOURNAY E. Development and validation of a cytogenetic prognostic index predicting survival in multiple myeloma[J]. *J Clin Oncol*,2019,37(19):1657-1665.
- [6] KYLE R,LARSON D R,THERNEAU T M,et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance[J]. *N Engl J Med*,2018,387(3):241-249.
- [7] GONZÁLEZ-CALLE V,MATEOS M V. Monoclonal gammopathies of unknown significance and smoldering myeloma:assessment and management of the elderly patients[J]. *Eur J Intern Med*,2018,58(2):57-63.
- [8] KUMAR S K,ANDERSON K C. Immune therapies in multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*,2016,22(22):5453-5460.
- [9] KOO E H,SHIN J H,JANG H R. Diagnostic performances of

M-protein tests according to the clinical presentations of kidney disease[J]. *Eur J Intern Med*,2016,33(9):88-92.

- [10] PELZER B W,ARENDE M,MOEBUS S,et al. Light chain monoclonal gammopathy of undetermined significance is characterized by a high disappearance rate and low risk of progression on longitudinal analysis[J]. *Ann Hematol*,2018,97(8):1463-1469.
- [11] GHOBRIALI M,LANDGREN O. How I treat smoldering multiple-myeloma[J]. *Blood*,2014,124(23):3380-3388.
- [12] ROSENBERG A S,BAINBRIDGE S,PAHWA R,et al. Investigation into the interference of the monoclonal antibody daratumumab on the free light chain assay[J]. *Clin Biochem*,2016,49(15):1202-1204.
- [13] LIPPI G,BATTISTELLI L,VERNOCCHI A,et al. Analytical evaluation of the novel Helena V8 capillary electrophoresis system[J]. *J Med Biochem*,2013,32(11):245-249.
- [14] MURATA K,MCCASH S I,CARROLL B,et al. Treatment of multiple myeloma with monoclonal antibodies and the dilemma of false positive M-spikes in peripheral blood[J]. *Clin Biochem*,2018,51:66-71.

(本文编辑:周二强)