

- gen granule membrane in pancreatic acinar cells[J]. *Eur J Cell Biol*, 1999, 78(2):79-90.
- [3] Rindler MJ, Xu CF, Gumper I, et al. Proteomic analysis of pancreatic zymogen granules; identification of new granule proteins[J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(8):2978-2992.
- [4] Chen X, Ulintz PJ, Simon ES, et al. Global topology analysis of pancreatic zymogen granule membrane proteins[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(12):2323-2336.
- [5] Schmidt K, Dartsch H, Linder D, et al. A submembranous matrix of proteoglycans on zymogen granule membranes is involved in granule formation in rat pancreatic acinar cells[J]. *J Cell Sci*, 2000, 113 (Pt12):2233-2242.
- [6] Kanagawa M, Satoh T, Ikeda A, et al. Crystal structures of human secretory proteins ZG16p and ZG16b reveal a Jacalin-related beta-prism fold[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(1):201-205.
- [7] Borta H, Aroso M, Rinn C, et al. Analysis of Low Abundance Membrane-Associated Proteins from Rat Pancreatic Zymogen Granules [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9 (10):4927-4939.
- [8] Schmidt K, Schrader M, Kern HF, et al. Regulated apical secretion of zymogens in rat pancreas. Involvement of the glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoprotein GP-2, the lectin ZG16p, and cholesterol-glycosphingolipid-enriched microdomains [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (17):14315-14323.
- [9] Neuschwander-Tetri BA, Fimmel CJ, Kladney RD, et al. Differential expression of the trypsin inhibitor SPINK3 mRNA and the mouse ortholog of secretory granule protein ZG-16p mRNA in the mouse pancreas after repetitive injury[J]. *Pancreas*, 2004, 28(4):104-111.
- [10] Zhou YB, Cao JB, Yang HM, et al. hZG16, a novel human secreted protein expressed in liver, was down-regulated in hepatocellular carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 355(3):679-686.
- [11] Tateno H, Yabe R, Sato T, et al. Human ZG16p recognizes pathogenic fungi through non-self polyvalent mannose in the digestive system[J]. *Glycobiology*, 2012, 22 (2):210-220.
- [12] Comelli EM, Lariani S, Zwahlen MC, et al. Biomarkers of human gastrointestinal tract regions[J]. *Mamm Genome*, 2009, 20(8):516-527.
- [13] Rodríguez-Pineiro AM, Bergström JH, Ermund A, et al. Gastrointestinal mucus proteome reveals Muc2 and Muc5ac accompanied by a set of core proteins-2. Studies of mucus in mouse stomach, small intestine, and colon [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 305 (5):348-356.
- [14] Wang L, Hahnloser D, Boardman LA, et al. Loss of expression of zymogen granule protein 16 in colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 2005(1):452.
- [15] Mojica W, Hawthorn L. Normal colon epithelium; a dataset for the analysis of gene expression and alternative splicing events in colon disease[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1):1-14.
- [16] Alves PM, Levy N, Stevenson BJ, et al. Identification of tumor-associated antigens by large-scale analysis of genes expressed in human colorectal cancer[J]. *Cancer Immun*, 2008, 8:11.
- [17] Tan F, Liu F, Liu H, et al. CTHRC1 is associated with peritoneal carcinomatosis in colorectal cancer; a new predictor for prognosis[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1):1-7.
- [18] Kim M, Lee S, Yang SK, et al. Differential expression in histologically normal crypts of ulcerative colitis suggests primary crypt disorder[J]. *Oncol Rep*, 2006, 16 (4):663-670.
- [19] Boer R, Dichtl M, Borchers C, et al. Reversible labeling of a chemosensitizer binding domain of p-glycoprotein with a novel 1,4-dihydropyridine drug transport inhibitor[J]. *Biochemistry*, 1996, 35(5):1387-1396.
- [20] Braun M, Thevenod F. Photoaffinity labeling and purification of ZG-16p, a high-affinity dihydropyridine binding protein of rat pancreatic zymogen granule membranes that regulates a K⁺-selective conductance[J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 57(2):308-316.
- [21] Johansson ME, Larsson JM, Hansson GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(Suppl 1):4659-4665.

(收稿日期:2015-06-28 修回日期:2015-09-18)

• 综 述 •

尿红细胞形态及其相关参数的研究进展

平牧野 综述, 丛玉隆[△] 审校(解放军总医院南楼检验科, 北京 100853)

【关键词】 尿红细胞形态; 红细胞位相; 自动化尿沉渣分析仪

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.052 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)05-0700-04

尿红细胞形态学检查不仅是尿液常规检查的内容,而且对泌尿系统疾病的定位诊断、鉴别诊断和预后同样具有重要意

义。本文详细阐述了尿红细胞形态学的发展进程与应用现状,在此基础上对自动化尿沉渣分析仪中红细胞形态相关参数进

[△] 通讯作者, E-mail: yulongc@263.net。

行评价,并对这些参数的应用现状和发展前景做出评估,为从事相关研究的临床工作者、自动化仪器研发和生产的同行提供借鉴。

1 尿红细胞形态学

1.1 直接镜检 1948 年,Thomas Addis 建立了尿液有形成分收集及计数方法(即 Addis 计数),自此,尿液显微镜检查便成为临床常用项目之一,且一直沿用至今^[1]。尿液有形成分检查内容包括尿液中的红细胞、白细胞、上皮细胞和管型的计数和形态两部分,其中尿液红细胞形态的检查与临床关系极为密切。1979 年,Birch 和 Fairley 提出用新鲜尿液中红细胞的形态变化来确立血尿来源的理论后,针对尿中红细胞异常形态的观察和分类逐步应用到尿液细胞形态学分析中^[2]。随后,两人对之前的研究结果进行验证,并认为尿红细胞大小和形态基本正常的均一性血尿来源于非肾性出血;尿红细胞大小不等,形态呈现两种以上的非均一性血尿来源于肾性出血;混合性血尿则同时存在肾性和非肾性出血^[3]。但各种研究对所谓肾性出血的异形红细胞的形态定义各不相同,同一实验室的两位技师对同一标本的观察结果相差可达 38%;同时,用于诊断肾性血尿的异形红细胞出现率的范围为 10%~80%,这种标准的缺乏给临床工作带来了极大的混乱^[4-5]。

1991 年,Kohler 研究对比了尿液中常见的异形红细胞形态,并提出棘形细胞与肾病相关性高且其形态不受渗透压、pH 和其他已知因素的影响。当棘形细胞大于 5%时,其诊断肾性血尿的特异性高达 98%。因此,Kohler 认为着重注意此类细胞可提高尿红细胞形态学的诊断价值^[6]。随后,Tomita 提出将尿中红细胞具体划分成 10 种,G1~G5 为肾源性,N1~N5 为非肾源性。当 G1~G5 的总和达到尿红细胞总数的 15%时即诊断为肾性血尿。同时,单独计数 G1 细胞达到尿红细胞总数的 1%时,其诊断肾性血尿的敏感性和特异度也高达 89%及 95%。Tomita 认为此标准更为具体、客观、准确、易懂,便于临床推广^[7]。特别注意的是,Kohler 提出的棘形细胞其形态描述为指环状细胞带有囊状突起,Tomita 提出的 G1 细胞其形态描述为面包圈样细胞带有小泡状突起,其应作为一种细胞,国内通常翻译为棘形细胞或芽孢状细胞。同时,有学者习惯将此类细胞称作老鼠样细胞^[8]。这种方法的提出,一定程度地解决了尿红细胞形态学诊断的混乱情况,且被多机构验证,现被临床广泛接受^[9-12]。

尽管棘形细胞或芽孢状细胞是鉴别血尿来源的可靠方法,但其在肾病患者中的出现率仅为 60%。2005 年,三浦秀人用测量面包圈样红细胞内外径差异的方法发现,肾性出血红细胞的内径明显大于非肾性出血红细胞的内径^[13]。同期,有学者提出,面包圈样细胞是提示肾小球疾病的敏感指标,而棘形细胞则提示严重的肾小球疾病^[14]。这些发现弥补了棘形或芽孢状细胞鉴别血尿来源的局限性。另外,某些少见类型的尿红细胞可帮助诊断肾小球性疾病以外的其他病变,如镰刀状尿红细胞可见于镰刀细胞性贫血,卵圆形尿红细胞可见于溶血性贫血,泪滴样红细胞见于狼疮性肾炎等^[15]。目前,尿沉渣人工镜检的相关研究已发展至一个瓶颈状态,多局限于棘形或芽孢状红细胞对肾性血尿和非肾性血尿的鉴别、普通光镜与相差镜的观察效果的差异或评价及不同种类畸形红细胞间组合而成的新分类法。国内相关文章大量重复,鲜有新进展的报道。

1.2 染色镜检 在实际工作中,尿液涂片的厚薄、观察的区域、显微镜的放大倍数、光亮的调节等实验因素及检查者的经验水平和疲劳状态等人为因素,都会影响镜检结果,使得尿红细胞形态学检查的结果呈一定水平的不可比性^[16]。同时,这

些因素也会导致误判,如将酵母菌、草酸钙误认为是红细胞。为降低误判的发生率,尿液染色法应运而生。其中最常用的是瑞氏染色,其步骤与血片染色相同,易于实验室推广。但其干燥时间长,红细胞形态易变化,有形成分易被冲洗掉。巴氏染色较瑞氏染色分色效果好,但染液要求高,程序复杂,难以普及。另有核红、考马斯亮蓝、甲苯胺蓝及中性红等单染法,但其染色单一,不易鉴别,分色差,易沉渣,已逐步淘汰^[17-18]。现较为推荐的是活体染色法中的 S-M 染色,其染色背景清晰或偶有少量杂质,有形成分与背景色对比鲜明,早在 90 年代就被列入操作规程并沿用至今^[19]。S-M 染色后的红细胞呈淡蓝色,其余有形成分也均可染成特异性的颜色。但 S-M 染液易产生沉渣,现逐步被 S 染液取代。经 S 染色的红细胞呈粉红或红色,偶尔不着色。苏兆亮等^[17]研究称 S 染色后的红细胞形态清晰可进行形态学分类,如:正常红细胞、皱缩型红细胞、影型红细胞等。

2 尿红细胞形态相关参数

近年来,随着科学技术的发展,一批自动化尿沉渣分析仪应运而生。其运用流式细胞术、数字影像拍摄等技术对尿沉渣进行分析,并可依据尿沉渣形态进行信息提取,衍生了一系列以形态为依据的新型参数^[18-19]。

2.1 流式细胞自动化有形成分分析技术中的红细胞形态相关参数 采用流式自动化有形成分分析技术的仪器,如 UF 系列可以红细胞前向散射光 FSC 直方图获得红细胞 FSC 分布图:以红细胞体积 70%百分位数(RBC-P70FSC)作为红细胞体积指标、峰高 60%处宽度作为红细胞大小分布宽度(RBC-FSC-DW),从而将尿红细胞分为三种,即非均一性、均一性、混合性^[20]。2013 年,国内学者对 RBC-info、RBC-P70Fsc、RBC-Fsc-DW 及 RBC 散点图、直方图结果研究如下。(1)非均一型血尿患者:尿沉渣 RBC-P70Fsc \leq 70.5 ch;散点图中 RBC 集中分布点在纵坐标低于 70.0 ch 位置;直方图曲线呈散点多峰分布,最高峰位点在横坐标低于 69.5 ch 处,RBC-Fsc-DW \geq 25.5 ch;(2)均一型血尿患者:尿沉渣 RBC-P70Fsc $>$ 98.0 ch;散点图中 RBC 集中分布点在纵坐标大于 98.0 ch 位置;直方图曲线呈尖锐,单峰分布,最高峰位点在横坐标大于 99.0 ch 的位置;RBC-Fsc-DW $<$ 27.0 ch;(3)混合型血尿患者:尿沉渣 RBC-P70Fsc 为 70.5~98.0 ch;散点图中 RBC 集中分布点在纵坐标 70.0~98.0 ch 位置;直方图 RBC 为散点分布宽度,且为多峰状分布,最高峰位点在横坐标 69.5~99.0 ch 的位置;RBC-Fsc-DW $>$ 37.0 ch^[21]。目前另有研究报道称,利用流式自动化有形成分分析技术检测均一性尿红细胞是诊断膀胱癌的可靠方法,其 ROC 曲线下面积可达 0.94,敏感度和特异度分别为 100.0%和 97.1%^[22]。

2.2 流式数字图像分析法有形成分分析技术中的红细胞形态相关参数 此类仪器将尿液包裹在鞘液中,流经数字摄影装置,在运动过程中拍摄数字图像,然后由软件系统对图像进行分析。代表仪器有 iQ200 系列和 FUS 系列。iQ200 系列具有红细胞分类功能。2012 年,挪威学者报道称,通过“训练”的 iQ200 可以精确地识别老鼠样红细胞,但由于分辨率较低,其无法将面包圈样红细胞从正常红细胞中分辨出来^[8]。原理类似,FUS 系列具有红细胞形态学统计报警信息,可提示血尿来源^[23]。

2.3 数字图像法尿液有形成分分析技术中的红细胞形态相关参数 此类仪器的原理为,尿液流经各种规格的计数板,采用物理方法将其沉淀或使其保持一定的静止状态后,经不同倍率的显微物镜镜头并由数字摄影装置拍摄数字图像,对其进行分

析。如 AVE-76 系列仪器,通过专家训练对同类目标进行细化分类并建立数据模型,使其“认识”更多成分,可明显提高有形成分的检出和识别率^[23]。其高达 300 万像素的摄像系统可以捕捉到环型红细胞,防止漏检肾小球源性的血尿标本。且其自动识别能力强,较少需人工干预^[24]。同时,仪器可从高倍拍摄的图像中分割出红细胞,进行大小、形状、纹理、色度等特征参数的提取,并绘制成红细胞形状、大小、色度线图位相图,并两两组合成散点位相图,为进一步分析尿液中红细胞的来源提供参考依据^[1]。有研究表明,肾性血尿红细胞的色度明显低于非肾性血尿红细胞,而正常红细胞皱缩后色度可增强^[25]。同时有学者将畸形红细胞率与红细胞形状参数联合应用,证明当畸形红细胞率大于 70%,尿红细胞形状分布小于 50%时,肾小球性血尿与临床的符合率可达 95%^[26]。URIT 系列以类似的原理可报告红细胞平均直径(MCD)、红细胞直径分布宽度(RD-DW)、异常红细胞比值(R-RATE),并可绘制以直径为横坐标的位相图。另有 LX 系列可常规报告均一性红细胞和非均一性红细胞;EH-20 系列可报告研究性参数异形红细胞(POI);CobiSed 系列具有自动离心的功能;THME-US 系列在红细胞参数下设亚分类;UriSed 系列仪器可对红细胞项扩展报告为均一性红细胞、非均一型红细胞、刺状红细胞及其他红细胞^[20]。不同医院可根据实际需要选择不同的仪器。

当三种不同原理的仪器比较时,iQ200、UriSed LabUMat 和 UF-1000i 三种仪器中,前两种仪器的红细胞检测相关性较好 92%^[27]。这可能是由于流式数字图像分析法和数字图像法更接近于人工镜检,其更关注形态而非颗粒。这些自动化仪器在一定程度上减少了检验人员的工作量,但其仅能作为初筛手段。对于仪器不能识别或出现“报警”的标本,仍需建立已证明切实可行的标准进行筛选。具有诊断意义的有形成分仍需人工显微镜检^[28]。

3 展 望

尿红细胞形态学检查是一项传统且重要的检测项目。多年来,虽有许多改进,但仍是以人工镜检为基础。人工镜检耗时费力,对技师的经验要求高,实验过程易影响结果(如冲池、离心等)。自动化尿沉渣分析仪中的红细胞形态相关参数是在这种背景下应运而生的。虽然不同仪器应用了不同原理,但其都以红细胞的形态为基础。当红细胞形态发生改变时,其相关参数也发生对应的变化,从而给出提示,以指导人工审核。由于大部分仪器在自动混匀样本后可直接检测,其吸样量一致,软件判断的标准也一致,这在一定程度上避免了离心、冲池和主观判断所造成的误差。图像法尿沉渣分析仪能直接显示动态图像,并能对图像进行采集和贮存,甚至能将镜下所见打印至报告单上,极大地方便了实验室和临床的沟通。尽管自动化尿沉渣分析仪的硬件已趋于完美,但软件尚无法达到智能判断的高度,所以不能完全满足临床的要求。实际工作中,不同实验室可根据实际需要选择具有不同特点的仪器,将仪器和人工相互结合,仪器初筛,人工复核。对于特殊疾病患者的标本,如肾小球疾病等,建议在仪器未报警的情况下,仍应进行人工镜检,以确保结果真实可靠。

参考文献

[1] 马骏龙. 尿液有形成分自动化分析系统的现状与发展[J]. 临床检验杂志, 2012, 2(2): 73-74.
 [2] Schifferli J, Rees AJ, Pearse E, et al. Haematuria: glomerular or non-glomerular [J]. Indian J Pathol Microbiol, 1996, 39(4): 281-286.

[3] Birch DF, Fairley KF, Whitworth JA, et al. Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematuria[J]. Clin Nephrol, 1983, 20(2): 78-84.
 [4] Venkat RG, Pead L, Lee HA, et al. A blind controlled trial of phase-contrast microscopy by two observers for evaluating the source of haematuria. [J]. Nephron, 1986, 44(4): 304-308.
 [5] 湛玲璞. 无症状尿异常肾小球性血尿和非肾小球性血尿鉴别诊断[J]. 医师进修杂志, 1993, 6(6): 2-3.
 [6] Köhler H, Wandel E, Brunck B, et al. Acanthocyturia—a characteristic marker for glomerular bleeding[J]. Kidney Int, 1991, 40(1): 115-120.
 [7] Tomita M, Kitamoto Y, Nakayama M, et al. A new morphological classification of urinary erythrocytes for differential diagnosis of glomerular hematuria[J]. Clin Nephrol, 1992, 37(2): 84-89.
 [8] Boven LA, Kemperman H, Demir AY. A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(4): 751-753.
 [9] Kitamoto Y, Tomita M, Akamine M, et al. Differentiation of hematuria using a uniquely shaped red cell[J]. Nephron, 1993, 64(1): 32-36.
 [10] Catalá López JL, Fábregas Brouard M. Acanthocyturia is more efficient in to differentiate glomerular from non-glomerular hematuria then dysmorphic erythrocytes[J]. Archivos Espanoles de Urologia, 2002, 55(2): 164-166.
 [11] 凌杉洪, 叶任高, 董秀清, 等. 新的尿红细胞分类算法鉴别血尿来源[J]. 中华内科杂志, 1994, 4(4): 255-258.
 [12] 熊立凡, 顾晓菁, 董晓蓓. 尿棘形红细胞在肾性和非肾性血尿鉴别中的意义[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 2(2): 74-76.
 [13] Miura H, Igarashi M, Tominaga M. Development of a new method for diagnosing the origin of urinary bleeding by doughnut-shape urinary red blood cells[J]. Rinsho Byori, 2005, 53(5): 373-377.
 [14] Nagahama D, Yoshiko K, Watanabe M, et al. A useful new classification of dysmorphic urinary erythrocytes [J]. Clin Exp Nephrol, 2005, 9(4): 304-309.
 [15] Tesser Poloni JA, Bosan IB, Garigali G, et al. Urinary red blood cells: not only glomerular or nonglomerular [J]. Nephron Clin Pract, 2012, 120(1): 36-41.
 [16] 顾可梁. 欧洲 21 世纪的尿液分析[J]. 医学检验进修杂志, 2001, 21(8): 44-47.
 [17] 苏兆亮, 顾可梁, 陈巧林, 等. 尿沉渣 6 种染色方法的应用比较[J]. 临床检验杂志, 2004, 3(3): 202-203.
 [18] 顾可梁. 尿液有形成分染色检查法的选择[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(S1): 22-24.
 [19] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 18-20.
 [20] 丛玉隆, 马骏龙, 张时民. 实用尿液分析技术与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 22-29.
 [21] 张婷婷. 尿沉渣整体化分析平台及评价体系对鉴别血尿来源的临床应用研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
 [22] Muto S, Sugiura SI, Nakajima A, et al. Isomorphic red

blood cells using automated urine flow cytometry is a reliable method in diagnosis of bladder cancer[J]. Int J Clin Oncol, 2014, 19(5): 928-934.

[23] 张时民. 尿有形成分检查自动化进展和质量保证[J]. 中国医疗器械信息, 2012, 18(4): 13-22.

[24] 张志英, 戴燕, 李冬, 等. AVE-766 尿液有形成分分析仪的性能评价及临床应用价值[J]. 临床检验杂志, 2014, 3(3): 678-682.

[25] 刘芳, 虞涛, 鲍连生, 等. 全自动尿沉渣分析仪在鉴别肾性和非肾性尿液红细胞中的作用[J]. 中国医药导报, 2010, 7(28): 13-15.

[26] 蒋炳林. 尿液红细胞相位分析在肾病诊断中的应用[J]. 医学检验与临床, 2011, 22(4): 35-36.

[27] Budak YU, Huysal K. Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice[J]. Clin Lab, 2011, 57(1/2): 47-52.

[28] 丛玉隆. 自动化仪器检查尿有形成分的问题与思考[J]. 实用医院临床杂志, 2012, 9(3): 1-3.

(收稿日期: 2015-07-01 修回日期: 2015-09-20)

• 综述 •

长链非编码 RNA 与膀胱癌的研究进展

李 芬 综述, 王美英, 张 振 审校(江苏省淮安市淮阴医院检验科 223300)

【关键词】 长链非编码 RNA; 膀胱癌; 诊断; 治疗

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.053 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)05-0703-04

膀胱癌是泌尿系统常见肿瘤之一, 发病率位于恶性肿瘤的第九位^[1]。近年来, 在泌尿系统肿瘤中, 膀胱癌发病率呈上升趋势, 严重危害人类的健康^[2]。2013 年, 美国大约有 72 570 例新增病例及 15 210 例死亡病例。尽管有先进的手术及化学治疗技术, 膀胱癌还是有较高的转移率与复发率^[3-4]。因此, 早期发现膀胱肿瘤、探寻膀胱肿瘤的分子标志物及新的治疗靶点显得至关重要^[5]。近年来, 随着大规模高通量芯片及二代测序技术的发展, 长链非编码 RNA(lncRNA) 与肿瘤相关基因之间的关系受到了人们越来越多的关注。lncRNA 是一类转录本长度超过 200 个核苷酸的 RNA 分子, 不编码蛋白质, 可在转录前、转录后和蛋白翻译等多种层面调控基因表达, 广泛分布于哺乳动物体内^[6]。研究表明, lncRNA 与肿瘤的发生发展密切相关, lncRNA 的改变可参与肿瘤的染色质重塑及转录调控等过程, 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[7]。因此, 开展 lncRNA 与膀胱癌关系的研究可以对膀胱癌的早期诊断以及个体化治疗提供新的指导策略, 具有重要的意义。本文将对 lncRNA 与膀胱癌的研究进展做一综述。

1 lncRNA 的功能与研究方法

1.1 lncRNA 的功能 lncRNA 是一类转录本长度大于 200 个核苷酸, 缺乏开放阅读框的异质性强非编码 RNA 群体。由于碱基长度的差异, 可将 lncRNA 与其他非编码 RNA 分开(如 miRNA、siRNA 等)。根据 lncRNA 在基因组位置的差异, 可将 lncRNA 分为基因间 lncRNA、基因内 lncRNA、正义 lncRNA、反义 lncRNA、双向 lncRNA^[8]。根据 lncRNA 效应机制的不同, 又可将 lncRNA 分为信号分子、诱饵分子、骨架分子和引导分子^[9]。在不同病理生理状态, lncRNA 发挥着不同的生物学功能。lncRNA 可以通过控制细胞的增殖、凋亡、细胞周期等不同方式影响细胞的生物学行为^[7]。lncRNA 也是体内生物学进程重要的调控者, 包括干细胞的多功能性和细胞的分裂等。随着研究的深入发现 lncRNA 在多种层面上调控着基因表达, 参与细胞的生命活动, 如基因组印记、染色质重塑及转录调控等多种调控环节^[10-11]。lncRNA 可通过 RNA-蛋白复合

体的形式调节相关蛋白的表达, 而且还可以和 DNA 或 RNA 形成复合物对靶基因进行调节^[12]。现代研究表明, lncRNA 在肿瘤形成和肿瘤转移中发挥重要作用^[13]。

1.2 lncRNA 的研究方法 为了揭示 lncRNA 的作用机制, 常需借助现代生物学技术来阐述 lncRNA 的生物学功能。目前, 实验室使用较多的技术主要有 RNA 测序、实时荧光定量-聚合酶链式反应、微阵列(microarray)、荧光原位杂交、Northern 印迹、RNA 干扰技术、RNA 结合蛋白免疫共沉淀等^[14]。

2 lncRNA 与膀胱癌

2.1 lncRNA H19 与膀胱癌 lncRNA H19 是在哺乳动物基因组中最早发现的非编码 RNA 之一。H19 高表达于人类胚胎和胎儿组织中, 且几乎不表达于成人。作为致癌基因, H19 也表达于包括膀胱癌在内的不同肿瘤组织中^[15]。Luo 等^[16]利用 q-RT-PCR 技术发现膀胱癌组织中 H19 的表达水平明显升高。在体外, H19 的异常表达能够促进膀胱癌细胞的增殖。在膀胱癌组织及膀胱癌细胞中, 高表达 H19 导致 ID2 表达水平的明显增加, 而且敲降 H19 能够降低 ID2 的表达水平。Luo 等^[17]研究表明 H19 是以致癌基因的形式作用于膀胱癌中, 可对膀胱癌相关的肿瘤标志物及治疗策略的研究提供有价值的线索。H19 在浸润性膀胱癌细胞中表达量升高, 而且在非浸润性膀胱癌细胞中, 通过高表达 H19 可以提高非浸润性膀胱癌细胞的迁移能力。在研究 H19 作用机制时发现, H19 基因表达量的上调可以调控 EZH2 和 E-cad 的表达来增加膀胱癌细胞的转移。其研究提供了 H19 与膀胱癌关系的新机制, 为 H19 与膀胱癌关系的后续研究提供新的思路。

2.2 lncRNA 尿路上皮癌相关基因-1(UCA1) 与膀胱癌 UCA1 是在膀胱癌中特异性表达的 lncRNA。相比于癌旁组织, UCA1 在膀胱癌组织中明显高表达。在尿道沉积物中 UCA1 的检测已经被证明在膀胱癌的诊断中有较高的敏感性及特异性, UCA1 的异常表达促进膀胱癌细胞的增殖、转移等^[18-19]。而且, 对于膀胱癌的诊断及预后, UCA1 是潜在的分子标志物^[20]。UCA1 首先从人膀胱癌细胞株 BLS-211 中被发