

• 论 著 •

血浆 miR-17-3p 对初诊老年多发性骨髓瘤患者总生存情况的预测价值*

邹永刚, 魏建全, 陈兴超, 钱 军[△]

河西学院附属张掖人民医院骨三科, 甘肃张掖 734000

摘 要:目的 探讨血浆 miR-17-3p 对初诊老年多发性骨髓瘤(MM)患者总生存情况的预测价值。方法 选取该院收治的 80 例初诊老年多发性骨髓瘤患者纳入 MM 组, 并选择同期 80 例体检健康老年人作为对照组, 比较两组血浆 miR-17-3p, 血清免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG), 血浆清蛋白(ALB)水平。比较不同临床特征 MM 患者间 miR-17-3p 水平。分析 MM 组患者 miR-17-3p 水平与 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 的相关性。对所有 MM 患者随访 3 年, 根据存活状态分为存活组和死亡组, 比较两组血浆 miR-17-3p 水平。根据 MM 组患者 miR-17-3p 平均值分为 miR-17-3p 高表达组和 miR-17-3p 低表达组, 比较两组临床特征及 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平, 采用 Kaplan-Meier 生存曲线比较两组累积生存期。结果 相较于对照组, MM 组 ALB 水平更低, 而 miR-17-3p、IgA、IgG、 β_2 -MG 水平更高($P < 0.05$)。随着 MM 组国际分期体系(ISS)分期上升, 患者 miR-17-3p 水平也有所上升($P < 0.05$)。相关性分析结果显示, MM 组患者 miR-17-3p 水平与 ALB 呈负相关, 而与 IgA、IgG、 β_2 -MG 呈正相关($P < 0.05$)。相较于存活组, 死亡组 miR-17-3p 水平更高($P < 0.05$); miR-17-3p 高表达组与 miR-17-3p 低表达组在 ISS 分期的构成比、IgA、IgG、 β_2 -MG 水平上比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存曲线分析结果显示, miR-17-3p 高表达组及 miR-17-3p 低表达组累积生存期分别为(26.83 $\pm$ 1.20)、(33.03 $\pm$ 0.68)个月, 两组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 MM 患者血浆 miR-17-3p 水平显著上升, 并与病情严重程度密切相关, 血浆 miR-17-3p 高表达患者可能生存情况不佳。

关键词: miR-17-3p; 血浆; 老年; 多发性骨髓瘤; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.18.016

中图法分类号: R551.3

文章编号: 1673-4130(2022)18-2255-05

文献标志码: A

Predictive value of plasma miR-17-3p in overall survival of elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma*

ZOU Yonggang, WEI Jiantong, CHEN Xingchao, QIAN Jun[△]

Third Department of Orthopedics, Affiliated Zhangye People's Hospital,
Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, China

Abstract: Objective To explore the predictive value of plasma miR-17-3p for the overall survival of the elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma (MM). **Methods** Eighty patients with newly diagnosed senile multiple myeloma treated in this hospital were selected as the MM group, and 80 healthy elderly people undergoing the physical examination were selected as the control group. The plasma miR-17-3p, serum immunoglobulin A (IgA), serum immunoglobulin G (IgG), serum β_2 microglobulin (β_2 -MG) and plasma albumin (ALB) levels were compared between the two groups. The miR-17-3p levels were compared among the different clinical features of MM patients. The correlation between the miR-17-3p level with IgA, IgG, β_2 -MG and ALB was analyzed. All MM patients conducted the 3-year follow up. The patients were divided into the survival group and death group according to the survival status. The serum miR-17-3p levels were compared between the two groups. The patients in the MM group were divided into the miR-17-3p high expression group and miR-17-3p low expression group according to the miR-17-3p mean value. The clinical characteristics and levels of IgA, IgG, β_2 -MG and ALB were compared between the two groups. The Kaplan-Meier survival curve

* 基金项目: 甘肃省高等学校创新能力提升项目(2019A-103)。

作者简介: 邹永刚, 男, 副主任医师, 主要从事髋膝关节骨病、脊柱创伤及骨病的微创治疗研究。 [△] 通信作者, E-mail: 44565554@qq.com。

was used to compare the cumulative survival period between the two groups. **Results** Compared with the control group, the ALB level of the MM group was lower, while the levels of miR-17-3p, IgA, IgG, and β_2 -MG were higher ($P<0.05$); as the ISS stage in the MM group was increased, the miR-17-3p level of the patient was also increased ($P<0.05$); the correlation analysis results showed that the miR-17-3p level in the MM group was negatively correlated with the ALB level, but positively correlated with the levels of IgA, IgG and β_2 -MG ($P<0.05$); compared with the survival group, the miR-17-3p level in the death group was higher ($P<0.05$); the constituent ratio of ISS stage, IgA, IgG and β_2 -MG levels had statistical differences between the miR-17-3p high expression group and miR-17-3p low expression group ($P<0.05$). The Kaplan-Meier survival curve analysis results showed that the cumulative survival periods of the miR-17-3p high expression group and miR-17-3p low expression group were (26.83 ± 1.20) months and (33.03 ± 0.68) months, respectively, and the difference between the two group was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The plasma miR-17-3p level in MM patients is significantly increased, and is closely related to the severity of the disease. The survival status may be poor in the patients with high plasma miR-17-3p expression.

Key words: miR-17-3p; plasma; elderly; multiple myeloma; prognosis

多发性骨髓瘤(MM)是一类以恶性浆细胞聚集, 血液、尿液、骨髓中出现单克隆蛋白为特征的肿瘤疾病, 发病率约占所有血液恶性肿瘤的 10%, 且好发于中老年人^[1-3]。MM 患者可表现为病理性骨折、严重骨痛、神经压迫症状等, 严重影响患者的生活质量及生命健康^[4-5]。研究表明, MM 起病隐匿, 部分患者确诊时往往已存在多处骨质损伤, 因此探讨有效的生物标志物用于评估病情及预测预后具有十分重要的临床意义。微小 RNA(miRNA)是一类内源性非编码小 RNA 分子, 在细胞增殖、凋亡、分化等过程中发挥着重要作用^[6]。既往研究证实, miRNA 的表达与肿瘤的发生、发展存在密切联系^[7-8]。miR-17-3p 是位于人类染色体 13q31 上的 miRNA, 主要通过靶向 P21 等基因来调控肿瘤细胞周期, 进而影响肿瘤细胞的增殖、凋亡等过程。已有研究证实, miR-17-3p 在肺癌、乳腺癌等实体癌中表达有所上升^[9], 但目前关于 miR-17-3p 在 MM 中的临床意义报道尚少。基于此, 本研究通过探讨血浆 miR-17-3p 与 MM 患者预后的相关性, 旨在为临床治疗 MM 提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 3 月至 2018 年 3 月来本院住院治疗的 80 例初诊老年 MM 患者为 MM 组。MM 组纳入标准: (1)符合 2014 年国际骨髓瘤工作组对 MM 的诊断标准^[10]; (2)首次发病; (3)未经手术或化疗; (4)临床资料完整。排除标准: (1)取样前经内分泌、手术、放化疗治疗者; (2)合并严重其他疾病者; (3)依从性差者。选择同期 80 例体检健康者为对照组。对照组纳入标准: (1)近 1 个月内体检健康; (2)年龄 ≥ 50 岁。观察组中男 46 例、女 34 例, 平均年龄 (66.3 ± 11.6) 岁; 对照组中男 49 例、女 31 例, 平均年龄 (65.8 ± 9.9) 岁。两组在年龄、性别等方面比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。本研究通过医

院伦理委员会批准, 研究对象及家属均知情同意。

1.2 方法 所有研究对象均于入组时空腹抽取静脉血 5 mL(3 管)。一管分离血浆, 采用 RNA 提取试剂盒及反转录试剂盒(Abcam 公司, 美国)提取血浆 RNA, 并反转录, 根据 SYBR RT-PCR 试剂盒(中国杭州博日科技有限公司)说明书进行 RT-PCR(TC100 PCR 仪, Bio-Rad 公司, 美国)。反应体系: 95 ℃ 预变性 30 s, 93 ℃ 5 s, 62 ℃ 30 s, 循环 35 次。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法测定各组 miR-17-3p 相对表达量, 内参为 U6, 每个样本重复 3 次, 取平均值。引物序列见表 1。

表 1 引物序列	
引物	序列
miR-17-3p 上游	5'- TGCAAAGTGCTTACAGTGCAG-3'
miR-17-3p 下游	5'- GTGCAGGGTCCGAGGTATTC-3'
U6 上游	5'-CTCGCTTCGCGAGCACA-3'
U6 下游	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

一管分离血清后采用 ELISA(Hamilton microlab star 多功能酶标仪, 瑞士 Hamilton 公司)检测血清免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)水平, 试剂盒购于上海碧云天生物科技有限公司。一管采用全自动生化分析仪(AU5821 全自动生化分析仪, 美国贝克曼公司)检测血浆清蛋白(ALB)水平。对所有 MM 患者随访 3 年, 记录患者生存状态。

1.3 观察指标 主要指标: (1)比较 MM 组及对照组血浆 miR-17-3p, 血清 IgA、IgG、 β_2 -MG, 血浆 ALB 水平; (2)对所有 MM 患者随访 3 年, 根据存活状态分为存活组和死亡组, 比较两组 miR-17-3p 水平; (3)根据 MM 组 miR-17-3p 平均值分为 miR-17-3p 高表达组和 miR-17-3p 低表达组, 采用 Kaplan-Meier 生存曲线

比较两组累积生存期。

次要指标:(1)比较 MM 组不同临床特征患者 miR-17-3p 水平;(2)分析 MM 组患者 miR-17-3p 水平与 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平的相关性;(3)比较 miR-17-3p 高表达组和 miR-17-3p 低表达组临床特征及 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计分析。采用 Shapiro-Wilk 检验对计量资料进行正态性检验。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较,若方差齐性,采用

LSD-*t* 检验,若方差不齐,采用 Dunnett-*t*3 检验;两组间比较采用 *t* 检验。计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 相关进行相关性分析。采用 Kaplan-Meier 生存曲线进行各组累积生存期的比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 miR17-3p、IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平比较 结果显示,相较于对照组,MM 组 ALB 水平更低,而 miR-17-3p、IgA、IgG、 β_2 -MG 水平更高($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 miR-17-3p、IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-17-3p	IgA(mg/mL)	IgG(mg/mL)	β_2 -MG(mg/L)	ALB(g/L)
MM 组	80	3.16 $\pm$ 0.94	8.27 $\pm$ 0.83	18.23 $\pm$ 2.16	9.81 $\pm$ 1.13	28.26 $\pm$ 3.03
对照组	80	1.29 $\pm$ 0.71	0.91 $\pm$ 0.34	4.24 $\pm$ 1.28	1.69 $\pm$ 0.35	44.95 $\pm$ 1.65
<i>t</i>		14.198	73.394	49.837	61.395	43.268
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 MM 组不同临床特征患者 miR17-3p 水平比较 结果显示,不同年龄、性别、Durie-Salmon(DS)分期、诊断分型患者 miR17-3p 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。而随着 MM 组国际分期体系(ISS)分期上升,miR-17-3p 水平也有所上升($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 MM 组不同临床特征患者 miR17-3p 水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	miR-17-3p 水平	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
年龄(岁)				
≥ 60	45	3.19 $\pm$ 0.88	0.388	0.699
< 60	35	3.11 $\pm$ 0.96		
性别				
男	46	3.18 $\pm$ 0.87	0.38	0.705
女	34	3.10 $\pm$ 1.01		
ISS 分期				
I 期	30	2.04 $\pm$ 0.33	139.073	<0.001
II 期	33	3.18 $\pm$ 0.82 ^a		
III 期	17	4.93 $\pm$ 0.17 ^{ab}		
DS 分期				
I 期	13	3.01 $\pm$ 1.21	0.193	0.825
II 期	16	3.12 $\pm$ 0.90		
III 期	51	3.19 $\pm$ 0.78		
诊断分型				
IgA 型	31	3.14 $\pm$ 0.92	0.044	0.959
IgG 型	30	3.17 $\pm$ 0.87		
轻链型及其他	19	3.22 $\pm$ 0.86		

注:与 ISS 分期 I 期比较,^a $P < 0.05$;与 ISS 分期 II 期比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 MM 组患者 miR-17-3p 水平与 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 的相关性 Pearson 相关分析结果显示,MM 组患者 miR-217-3p 水平与 ALB 呈负相关,而与 IgA、IgG、 β_2 -MG 呈正相关($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 存活组和死亡组 miR-17-3p 水平比较 结果显示,截至随访结束,MM 组共 43 例存活,37 例死亡。存活组及死亡组 miR-223-3p 水平分别为 2.01 $\pm$ 0.22、3.89 $\pm$ 0.34,两组比较,差异有统计学意义($t = 28.838, P < 0.05$)。

表 4 MM 组患者 miR-17-3p 水平与 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平的相关性

统计量	IgA	IgG	β_2 -MG	ALB
<i>r</i>	0.446	0.324	0.371	-0.359
<i>P</i>	0.012	0.007	<0.001	<0.001

2.5 miR-17-3p 高表达组和 miR-17-3p 低表达组临床特征及 IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平比较 以 MM 组 miR-17-3p 平均值(3.16)为界,将患者分为 miR-17-3p 高表达组和 miR-17-3p 低表达组。结果显示,两组在 ISS 分期的构成比,IgA、IgG、 β_2 -MG、ALB 水平上比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

2.6 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果 结果显示,miR-17-3p 高表达组 31 例中 20 例死亡,累积死亡率为 64.52%,累积生存期为(26.83 $\pm$ 1.20)个月;miR-17-3p 低表达组 49 例中 17 例死亡,累积死亡率为 34.69%,累积生存期为(33.03 $\pm$ 0.68)个月,两组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

表 5 miR-17-3p 高表达组和 miR-17-3p 低表达组临床特征及 IgA、IgG、β₂-MG、ALB 水平比较 (n 或 $\bar{x} \pm s$)

类别	miR-17-3p 高表达组 (n=31)	miR-17-3p 低表达组 (n=49)	t/F/χ ²	P
年龄 (岁)			0.442	0.506
≥60	16	29		
<60	15	20		
性别			0.147	0.702
男	17	29		
女	14	20		
ISS 分期			22.976	<0.001
I 期	6	24		
II 期	10	23		
III 期	15	2		
DS 分期			1.784	0.409
I 期	6	7		
II 期	8	8		
III 期	17	34		
诊断分型			0.803	0.654
IgA 型	12	20		
IgG 型	11	20		
轻链型及其他	8	9		
IgA (mg/mL)	8.79±0.21	7.84±0.33	15.735	<0.001
IgG (mg/mL)	19.45±1.13	17.22±0.56	10.223	<0.001
β ₂ -MG (mg/mL)	10.76±0.34	9.21±0.46	16.162	<0.001
ALB (g/L)	26.01±2.27	29.68±1.05	8.448	<0.001

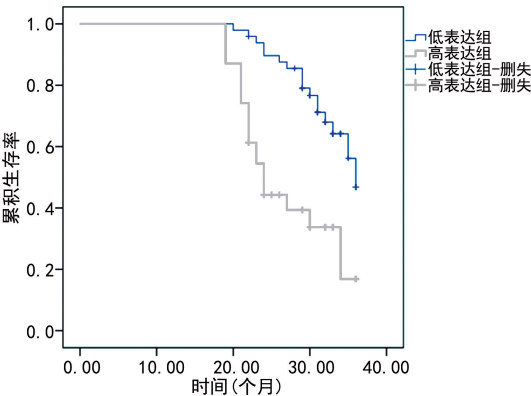


图 1 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨 论

随着医学技术的发展,MM 患者的病情虽然得到有效控制,但资料显示,MM 仍具有较高的病死率和复发率^[11]。目前,临床上主要采用影像学检查、骨髓活检结合 ALB、β₂-MG 等实验室指标进行 MM 的诊断及病情评估,但上述方式均存在一定缺陷与不足^[12]。因此,探讨针对 MM 有效的生物标志物用于评估患者病情及预后十分必要。本研究结果显示,MM 患者 ALB 水平更低,而 IgA、IgG、β₂-MG 水平更高(P<0.05),这与既往研究结果较为一致^[13]。

miRNA 可作为促癌或抑癌因子,通过对信号通路的调控进而参与肿瘤细胞的增殖、分化等过程,因此 miRNA 可作为生物学指标用于诊断肿瘤及评估预后^[8,14-15]。既往研究证实,许多 miRNA,如 miR-1246、miR-720 等可参与 MM 的发生、发展^[16]。miR-17-3p 为 miRNA 家族成员之一,其表达上升可抑制前列腺细胞凋亡反应-4 基因的表达,进而促进肿瘤细胞的增殖、生长^[9]。本研究结果显示,相较于健康人群,MM 患者血浆 miR-17-3p 水平显著上升(P<0.05)。其可能机制为 MM 患者肿瘤坏死因子-α 水平显著上升,并与细胞表面肿瘤坏死因子受体 1 相结合,进而调控相关信号通路,激活 miR-17-3p 基因启动子区,促进 miR-17-3p 的表达。MM 患者临床表现多样,影响因素较多,既往多采用 DS 分期来评估患者病情,但该分期涉及参数较多,导致临床价值有限^[17-18]。ISS 分期系统是由国际骨髓瘤工作组于 2005 年提出的 MM 分期方法,纳入影响预后的主要因素为 β₂-MG,具有较高的准确性。本研究结果显示,随着 MM 患者分期上升,血浆 miR-17-3p 水平也有所上升,且 miR-17-3p 高表达组患者 ISS 高分期者占比更高(P<0.05)。相关性分析结果显示,MM 组患者 miR-17-3p 水平与 ALB 水平呈负相关,而与

IgA、IgG、 β_2 -MG 水平呈正相关($P<0.05$)。此外,将患者根据 miR-17-3p 均值分组后,相较于 miR-17-3p 低表达组,miR-17-3p 高表达组 IgA、IgG、 β_2 -MG 水平更高,而 ALB 水平更低($P<0.05$)。上述研究结果均提示,MM 患者 miR-17-3p 表达水平越高,病情越严重。

本研究进一步探讨了 miR-17-3p 水平在评估患者预后中的临床价值。随访结果显示,存活组及死亡组 miR-17-3p 水平分别为 2.01 ± 0.22 、 3.89 ± 0.34 ,提示死亡组患者存在更为严重的 miR-17-3p 表达异常。此外,miR-17-3p 高表达组累积死亡率为 64.52%,累积生存期(26.83 ± 1.20)个月;miR-17-3p 低表达组累积死亡率为 34.69%,累积生存期为(33.03 ± 0.68)个月。这提示 miR-17-3p 高表达患者累积生存率更低,存在预后不佳的风险,也说明 miR-17-3p 可作为辅助指标之一用于评估 MM 患者预后。

本研究也存在以下不足:(1)未探讨患者治疗前后血浆 miR-17-3p 水平变化情况,难以获得动态数据以进一步证实;(2)未分析初诊和复发 MM 患者 miR-17-3p 表达的差异,难以评估 miR-17-3p 对初诊患者的特异性;(3)样本来源于单中心,导致样本量较小。因此,仍需后续研究进一步加以探讨。

综上所述,MM 患者血浆 miR-17-3p 水平显著上升,并与病情严重程度及 ISS 分期存在密切联系,血浆 miR-17-3p 高表达患者可能生存情况不佳。

参考文献

[1] GUPTA N, SHARMA A, SHARMA A. Emerging biomarkers in multiple myeloma; a review[J]. Clin Chim Acta, 2020, 503(1): 45-53.

[2] JANKER L, MAYER R L. Metabolic, anti apoptotic and immune evasion strategies of primary human myeloma cells indicate adaptations to hypoxia[J]. Mol Cell Proteomics, 2019, 18(5): 936-953.

[3] HEYMACH J, KRILOV L, ALBERG A, et al. Clinical cancer advances 2018: annual report on progress against cancer from the American society of clinical oncology[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(10): 1020-1044.

[4] LEE S E, LIM J Y, RYU D B, et al. Low frequency of CD3⁺ CD4⁺ CD161⁺ T cells correlates with the occurrence of infections in refractory/relapsed multiple myeloma patients receiving lenalidomide plus low-dose dexamethasone treatment[J]. Ann Hematol, 2018, 97(11): 2163-2171.

[5] RICHARDSON P G, HOFMEISTER C C, ROSENBAUM C A, et al. Twice-week lyxazomib in combination with lenalidomide-dexamethasone in patients with newly diagnosed multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2018, 182

(2): 231-244.

[6] YANG C X, SEDHOM W, SONG J, et al. The role of microRNAs in recurrence and metastasis of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancers, 2019, 11(3): 30901831.

[7] HUANG X, WANG L, LIU W, et al. MicroRNA-497-5p inhibits proliferation and invasion of non-small cell lung cancer by regulating FGF2[J]. Oncol Lett, 2019, 17(3): 3425-3431.

[8] CHEN S, SHI F, ZHANG W, et al. MiR-744-5p inhibits non-small cell lung cancer proliferation and invasion by directly targeting PAX2[J]. Technol Cancer Res Treat, 2019, 18: 1078144561.

[9] JIANG X, LI N. Induction of miR-17-3p and miR-106a by TNF- α and LPS[J]. Cell Biochem Funct, 2011, 29(2): 164-170.

[10] RAJKUMAR S V, DIMOPOULOS M A, PALUMBO A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma[J]. Lancet Oncol, 2014, 15(12): 538-548.

[11] SIEGEL R L, MILLER K D. Cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.

[12] 刘志伟, 郭桂凤, 韩泽平. 流式细胞技术在多发性骨髓瘤诊断中的应用研究[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(9): 714-716.

[13] 褚娜丽, 张靖宇, 郭丽, 等. 血液不同分离结果的多发性骨髓瘤患者 IL-6、IL-10、TNF- α 、 β_2 -MG 表达水平及临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(5): 1625-1630.

[14] NDZI E N, INDU VISWANATH A N, ADZEMYE N G, et al. Upregulated bovine tuberculosis microRNAs trigger oncogenic pathways: an insilico perception[J]. Int J Mycobacteriol, 2019, 8(1): 70-74.

[15] YANG C X, SEDHOM W, SONG J, et al. The role of microRNAs in recurrence and metastasis of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancers, 2019, 11(3): 395-399.

[16] REN Y, LI X, WANG W, et al. Expression of peripheral blood miRNA-720 and miRNA-1246 can be used as a predictor for outcome in multiple myeloma patients[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2017, 17(7): 415-423.

[17] MIHAILOVICH M, BONALDI T. MYC/miR-17-92 interplay maintains B-lymphoma cell homeostasis[J]. Cell Cycle, 2016, 15(8): 1025-1026.

[18] MA M Z, ZHANG Y, WENG M Z, et al. Long non-coding RNA GCASPC, a target of miR-17-3p, negatively regulates pyruvate carboxylase-dependent cell proliferation in gallbladder cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(18): 5361-5371.