



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2021.12.007

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.12.007

· 论著 ·

孤立性肺结节患者血清和呼出气冷凝液中微小 RNA-21、微小 RNA-486 检测的临床意义研究

吴丹丹 陈金亮 姚苏梅 何海艳 朱杰 吕学东

[摘要] **目的** 探讨孤立性肺结节 (SPN) 患者血清和呼出气冷凝液 (EBC) 中微小 RNA (miR)-21、miR-486 检测的临床意义。**方法** 采用实时定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 79 例 SPN 患者和 60 例健康人 (对照组) 的血清及 EBC 中 miR-21、miR-486 水平, 将 79 例 SPN 患者术中后被证实为肺癌的患者作为恶性组 (54 例), 良性病变患者作为良性组 (25 例)。比较良性组、恶性组及对照组血清及 EBC 中 miR-21、miR-486 水平, 并评价其在恶性 SPN 中的诊断价值。**结果** 对照组、良性组及恶性组受试者血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中恶性组受试者 EBC 和血清中 miR-21 水平均高于良性组及健康组, EBC 和血清中 miR-486 水平均低于良性组及健康组 ($P < 0.05$)。受试者工作特征 (ROC) 曲线分析结果显示, 血清和 EBC 中 miR-21 诊断恶性 SPN 的敏感性分别为 72.2%、83.3%, 特异性分别为 76.0%、64.0%。EBC 和血清中 miR-21 联合检测诊断恶性 SPN 的敏感性为 81.5%, 特异性为 76.0%。血清和 EBC 中 miR-486 诊断恶性 SPN 的敏感性为 76.0%、80.0%, 特异性分别为 66.7%、85.2%。EBC 和血清中 miR-486 联合检测诊断恶性 SPN 的敏感性为 84.0%, 特异性为 92.6%。**结论** SPN 患者 EBC 和血清中 miR-21、miR-486 的检测对 SPN 患者良恶性评估具有较好的临床价值, 有助于恶性 SPN 的早期诊断。

[关键词] 孤立性肺结节; 呼出气冷凝液; 微小 RNA-21; 微小 RNA-486

[中图分类号] R563.9

[文献标识码] A

Clinical significance of detection of microRNA-21 and microRNA-486 in serum and exhaled breath condensate of patients with solitary pulmonary nodules Wu Dandan, Chen Jinliang, Yao Sumei, He Haiyan, Zhu Jie, Lv Xuedong. Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China

[Abstract] **Objective** To explore the clinical significance of detection of microRNA (miR)-21 and miR-486 in serum and exhaled breath condensate (EBC) of patients with solitary pulmonary nodules (SPN). **Methods** Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to determine levels of miR-21 and miR-486 in serum and EBC of 79 patients with SPN and 60 healthy volunteers (control group). Patients who were diagnosed with lung cancer after operation among 79 patients with SPN were regarded as malignant group (54 cases) and patients with benign lesions were regarded as benign group (25 cases). Levels of miR-21 and miR-486 in serum and EBC among benign group, malignant group and control group were compared, and to evaluate their diagnostic value in malignant SPN. **Results** Levels of miR-21 and miR-486 in serum and EBC among control group, benign group and malignant group were significant different ($P < 0.05$). Levels of miR-21 in EBC and serum of malignant group were higher than those of benign group and control group, and levels of miR-486 in EBC and serum of malignant group were lower than those of benign group and control group ($P < 0.05$). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed that sensitivity of miR-21 in serum and EBC to diagnose malignant SPN was 72.2% and 83.3%, and the specificity was 76.0% and 64.0% respectively. Sensitivity of combined detection of miR-21 in EBC and serum to diagnose malignant SPN was 81.5%, and specificity was 76.0%. Sensitivity of miR-486 in serum and EBC to diagnose malignant SPN was 76.0% and 80.0%, and the specificity was 66.7% and 85.2% respectively. Sensitivity of combined detection of miR-486 in

基金项目:江苏省南通市科技项目 (MS12017004-3)

作者单位:226001 江苏南通, 南通大学第二附属医院呼吸内科

通讯作者:吕学东, E-mail: lxd174@126.com

EBC and serum to diagnose malignant SPN was 84.0%, and the specificity was 92.6%. **Conclusion** Detection of miR-21 and miR-486 in serum and EBC in patients with SPN has good clinical value and is helpful for the early diagnosis of malignant SPN.

[Key words] Solitary pulmonary nodule; Exhaled breath condensate; MicroRNA-21; MicroRNA-486

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁人类健康,其发病率和死亡率均居全球恶性肿瘤首位^[1]。70%的肺癌患者被确诊时已进展至晚期^[2],因此早期诊断和治疗对于提高肺癌患者的生存率至关重要。随着胸部 CT 的广泛应用,越来越多的孤立性肺结节 (SPN) 被发现,SPN 作为 Ia 期肺癌存在的可能,其术前的良恶性评估尤为重要。恶性 SPN 的及时手术切除对早期肺癌的预后具有至关重要的影响。但对于形态及血流动力学特征并不典型的 SPN,高分辨率 CT 在其良恶性鉴别诊断上亦存在困难^[3]。而传统的肿瘤标记物如癌胚抗原 (CEA) 等对肺癌的早期诊断价值有限^[4],因此积极寻找新的肿瘤标记物是目前临床研究的热点之一。微小 RNA (miRNA, miR) 是一类长度为 18~25 个核苷酸组成的内源性非编码单链小分子 RNA,广泛存在于真核生物中^[5],它可以通过 mRNA 剪切和抑制蛋白翻译的方式对靶基因进行调控,参与发育、增殖、分化、凋亡等多种生物学过程^[6]。近年来,许多研究发现 miRNA 在肿瘤患者组织及体液中广泛存在,与肿瘤的发生、发展密切相关^[7]。miR-21 位于染色体 17p23.2 的肿瘤相关基因组区域的脆性位点,具有致癌基因的作用,可通过抑制凋亡基因的表达从而促进肿瘤细胞的增殖^[8]。有研究发现肺癌组织中 miR-21 的表达高出正常水平 5 倍以上,miR-21 的过表达还预示着肺癌患者预后不良^[9]。miR-486 在多种实体恶性肿瘤中均呈异常表达状态,与肺癌亦高度相关^[10]。传统的肿瘤标志物通常通过患者血清、痰液、胸腔积液、支气管肺泡灌洗液 (BALF) 等标本来检测。呼气气冷凝液 (EBC) 包含下呼吸道黏膜分泌的液体和挥发性的混合物,可反映气道早期病变。近年来对于血液和肿瘤组织中 miRNA 的研究报道较多,而 EBC 中 miRNA 的相关研究尚少。本研究通过检测 SPN 患者血清及 EBC 中 miR-486、miR-21 水平,对比传统呼吸系统肿瘤相关指标 (CEA、细胞角蛋白 19 片段抗原 Cyfra21-1),探讨血清及 EBC 中 miR-21、miR-486 在 SPN 患者良恶性的鉴别、病情评估等方面的临床意义。

对象与方法

1. 对象:纳入 2017 年 6 月~2019 年 7 月于我科和我院胸外科待行活组织检查或手术切除明确病理诊断的 SPN 患者 79 例。纳入标准:(1)典型的 SPN;(2)既

往无肿瘤病史;(3)术前影像学检查无胸腔积液和纵隔淋巴结肿大 (>1 cm);(4)术前检查未发现远处转移。将术后被证实为肺癌的患者作为恶性组 (54 例),良性病变患者作为良性组 (25 例)。同期随机纳入体检的健康者 60 例作为对照组。本研究经我院伦理委员会审核批准,所有受试者均签署知情同意书。

2. 方法

(1)EBC 标本收集:健康受试者及 SPN 患者术前使用 Eric Jaeger Company 生产的 EcoScreen 冷凝器采集 EBC 标本。在 EBC 收集前半小时内,不做用力肺活量、时间肺活量、最大通气量等检查。检查前受检者先漱口清洁口腔,戴鼻夹通过单向活瓣平静呼吸,20 分钟后取出收集管,待标本融化后可收集到 2~4 ml 的 EBC,然后立即置于 -70℃ 低温冰箱内保存。

(2)血清标本收集:SPN 患者术前抽取空腹血 3 ml 置于促凝管中,3 500 转/分钟离心 5 分钟后收集血清,置于 -70℃ 冰箱保存待检,对照组受试者血清收集方法相同。

(3)miRNA 的检测:本研究采用 Stem-loop 法进行检测。Stem-loop 技术主要包括 2 个步骤:①设计一个可形成茎环结构的逆转录引物 (RT primer),该引物 3' 端有 6 个碱基与成熟 miRNA 的 3' 端互补配对,逆转录合成第一链 cDNA;②miRNA cDNA 与 TaqMan 探针杂交,并利用设计好的正反向引物进行 PCR 扩增,当引物 PCR 延伸到 TaqMan 探针与 cDNA 结合位置时,TaqMan 探针被置换,荧光基团和猝灭基团分离,随即触发荧光,PCR 反应体系中 TaqMan 探针置换的越多,荧光信号越强。荧光信号的强弱与目标模板量之间存在一定的线性关系,通过荧光信号的收集与监测,即可确定 miRNA 的表达量。

(4)CEA、Cyfra21-1 水平的检测:采用全自动化学发光免疫分析仪检测 CEA 水平;采用双抗体夹心酶联免疫法检测 Cyfra21-1 水平,试剂盒购自上海船夫生物科技有限公司,有关操作严格遵循说明书。

3. 统计学处理:应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Spearman 相关分析评估 SPN 患者血清与 EBC 中 miR-21、miR-486 的相关性。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线评估 SPN

患者血清、EBC 中 miRNA 诊断恶性 SPN 的价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 病理类型: 入选的 79 例 SPN 患者中病理检查明确为肺恶性肿瘤者 54 例 (68.35%), 包括腺癌 38 例, 鳞癌 12 例, 小细胞癌 4 例; 明确为良性病变者 25 例 (31.65%), 包括结核 8 例, 炎性假瘤 11 例, 血管瘤 2 例, 曲菌球 2 例, 肺囊肿 1 例, 错构瘤 1 例。

2. 良性组和恶性组患者结节直径比较: 良性组患者结节直径 $[(11.36 \pm 7.80) \text{ mm}]$ 明显小于恶性组 $[(18.72 \pm 7.28) \text{ mm}]$, 差异有统计学意义 ($t = -4.053$, $P < 0.001$)。良性组结节直径 $\leq 0.8 \text{ cm}$ 患者比例高于恶性组, 结节直径为 $1.5 \sim 3.0 \text{ cm}$ 患者比例低于恶性组 ($P < 0.05$), 而两组结节直径为 $0.8 \sim 1.5 \text{ cm}$ 患者比例比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 良性组和恶性组不同结节直径患者比例比较 [例, (%)]

组别	例数	结节直径		
		$\leq 0.8 \text{ cm}$	$0.8 \sim 1.5 \text{ cm}$	$1.5 \sim 3.0 \text{ cm}$
良性组	25	8 (32.0)	8 (32.0)	9 (36.0)
恶性组	54	3 (5.6)	20 (37.0)	31 (57.4)
χ^2 值		6.364	0.324	9.794
P 值		0.012	0.569	0.002

3. 良性组和恶性组患者临床资料比较: 良性组和恶性组患者性别、年龄构成比比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。恶性组有吸烟史和肿瘤家族史患者比例均高于良性组 ($P < 0.05$)。见表 2。

4. 不同直径组 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21、miR-486 水平比较: 不同直径组 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21、miR-486 水平比较差异均有统计学意义

表 2 良性组和恶性组患者临床资料比较 [例, (%)]

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 (< 50 岁/ ≥ 50 岁)	吸烟史	肿瘤 家族史
良性组	25	17/8	14/11	9 (36.0)	2 (8.0)
恶性组	54	34/20	20/34	34 (63.0)	16 (29.6)
χ^2 组		0.189	2.507	5.009	4.544
P 组		0.663	0.113	0.025	0.033

($P < 0.05$)。 $0.8 \sim 1.5 \text{ cm}$ 组和 $1.5 \sim 3.0 \text{ cm}$ 组患者血清及 EBC 中 miR-21 水平均高于 $\leq 0.8 \text{ cm}$ 组, 血清及 EBC 中 miR-486 水平均低于 $\leq 0.8 \text{ cm}$ 组 ($P < 0.05$), 而 $0.8 \sim 1.5 \text{ cm}$ 组和 $1.5 \sim 3.0 \text{ cm}$ 组患者血清及 EBC 中 miR-21、miR-486 水平比较差异均无统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

5. 对照组、良性组及恶性组受试者血清和 EBC 中 miR-21、miR-486、CEA 及 Cyfra21-1 水平比较: 对照组、良性组及恶性组受试者血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 3 组受试者血清和 EBC 中 CEA 及 Cyfra21-1 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。恶性组受试者 EBC 和血清中 miR-21 水平均高于良性组及健康组, EBC 和血清中 miR-486 水平均低于良性组及健康组 ($P < 0.05$), 其余指标两两比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

6. 不同组别 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 水平比较: 不同年龄、性别 SPN 患者及不同病理类型恶性 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 吸烟组 SPN 患者血清及 EBC 中 miR-21 水平均高于不吸烟组, 血清及 EBC 中 miR-486 水平均低于不吸烟组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 3 不同直径组 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21、miR-486 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-21		miR-486	
		血清	EBC	血清	EBC
$\leq 0.8 \text{ cm}$ 组	11	1.69 ± 0.51	1.37 ± 0.60	2.27 ± 0.40	2.10 ± 0.55
$0.8 \sim 1.5 \text{ cm}$ 组	28	2.43 ± 0.78^a	2.08 ± 0.66^a	1.47 ± 0.52^a	1.16 ± 0.47^a
$1.5 \sim 3.0 \text{ cm}$ 组	40	2.67 ± 0.75^a	2.17 ± 0.83^a	1.22 ± 0.57^a	0.98 ± 0.56^a
F 值		7.668	5.055	17.032	20.400
P 值		0.001	0.009	< 0.001	< 0.001

注: 与 $\leq 0.8 \text{ cm}$ 组比较, $^a P < 0.05$

表 4 对照组、良性组及恶性组受试者血清和 EBC 中 miR-21、miR-486、CEA 及 Cyfra21-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-21		miR-486		CEA (ng/ml)		Cyfra21-1 (ng/ml)	
		血清	EBC	血清	EBC	血清	EBC	血清	EBC
对照组	60	2.04 ± 0.74	1.60 ± 0.64	1.70 ± 0.68	1.56 ± 0.61	3.79 ± 1.08	2.75 ± 0.70	2.73 ± 0.60	2.02 ± 0.80
良性组	25	1.95 ± 0.68	1.53 ± 0.69	1.83 ± 0.65	1.77 ± 0.65	4.04 ± 1.20	2.90 ± 0.81	2.90 ± 0.92	1.97 ± 0.72
恶性组	54	2.68 ± 0.88^{ab}	2.27 ± 0.73^{ab}	1.28 ± 0.58^{ab}	0.94 ± 0.46^{ab}	3.91 ± 0.92	3.03 ± 1.01	2.61 ± 0.70	2.11 ± 0.46
F 值		11.925	16.868	8.901	25.321	0.539	1.539	1.475	0.450
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.585	0.218	0.233	0.639

注: 与对照组比较, $^a P < 0.05$; 与良性组比较, $^b P < 0.05$

表 5 不同组别 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-21		miR-486	
		血清	EBC	血清	EBC
年龄					
<50 岁	34	2.34 ± 0.78	2.01 ± 0.88	1.32 ± 0.58	1.27 ± 0.60
≥50 岁	45	2.53 ± 0.81	2.05 ± 0.71	1.51 ± 0.71	1.41 ± 0.61
<i>t</i> 值		-1.049	-0.224	-1.272	-1.017
<i>P</i> 值		0.298	0.824	0.207	0.312
性别					
男	51	2.42 ± 0.76	2.06 ± 0.82	1.45 ± 0.68	1.43 ± 0.62
女	28	2.50 ± 0.87	1.98 ± 0.73	1.36 ± 0.57	1.25 ± 0.53
<i>t</i> 值		-0.425	0.431	0.595	1.297
<i>P</i> 值		0.672	0.668	0.554	0.199
吸烟					
无	36	2.14 ± 0.73	1.66 ± 0.69	1.74 ± 0.75	1.60 ± 0.62
有	43	2.69 ± 0.85	2.21 ± 0.81	1.19 ± 0.60	1.01 ± 0.51
<i>t</i> 值		-3.052	-3.213	3.621	4.642
<i>P</i> 值		0.003	0.002	<0.001	<0.001
恶性 SPN 病理类型					
腺癌	38	2.77 ± 0.81	2.35 ± 0.70	1.21 ± 0.49	0.98 ± 0.40
鳞癌	12	2.56 ± 0.89	2.06 ± 0.65	1.38 ± 0.62	0.84 ± 0.47
小细胞癌	4	2.34 ± 0.66	2.21 ± 0.78	1.40 ± 0.70	0.86 ± 0.56
<i>F</i> 值		0.696	0.814	0.605	0.567
<i>P</i> 值		0.503	0.449	0.550	0.571

7. SPN 患者血清与 EBC 中 miR-21、miR-486 的相关性分析: *Spearman* 相关分析结果显示, SPN 患者血清与 EBC 中 miR-21 水平呈直线正相关($r = 0.59, P = 0.002$); 血清与 EBC 中 miR-486 水平呈直线正相关($r = 0.68, P = 0.030$)。

8. 血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 评估 SPN 良恶性的诊断价值: *ROC* 曲线分析结果显示, 血清中 miR-21 诊断恶性 SPN 的 *ROC* 曲线下面积(*AUC*) 为 0.774, 诊断恶性 SPN 的敏感性为 72.2%, 特异性为 76.0%。EBC 中 miR-21 诊断恶性 SPN 的 *AUC* 为 0.775, 诊断恶性 SPN 的敏感性为 83.3%, 特异性为 64.0%。EBC 和血清中 miR-21 联合检测诊断恶性 SPN 的 *AUC* 为 0.816, 联合检测诊断恶性 SPN 的敏感性为 81.5%, 特异性为 76.0%。血清中 miR-486 诊断恶性 SPN 的 *AUC* 为 0.729, 诊断恶性 SPN 的敏感性为 76.0%, 特异性为 66.7%。EBC 中 miR-486 诊断恶性 SPN 的 *AUC* 为 0.881, 诊断恶性 SPN 的敏感性为 80.0%, 特异性为 85.2%。EBC 和血清中 miR-486 联合检测诊断恶性 SPN 的 *AUC* 为 0.910, 联合检测诊断恶性 SPN 的敏感性为 84.0%, 特异性为 92.6%。

讨 论

近年来, 肺癌的发病率和死亡率显著增加, 已成为全世界关注的重要问题, 早期发现肺癌是成功治疗和

预防药物治疗失败的关键因素之一^[11]。随着高分辨率 CT 等检查的普及, 临床上发现 SPN 的比例明显增加, 有报道指出正常人群普查发现孤立性肺结节的比例达 0.2%^[3]。目前 SPN 的治疗方法主要包括动态观察、活组织检查及手术切除, 部分研究者认为对于 SPN 可以尽可能采取动态观察^[12]。本研究结果显示, SPN 中恶性的比例为 68.35%, 以腺癌为主, 与相关文献报道一致^[13-14]。如此高的恶性比例提醒我们, 针对典型的 SPN 处理需更为积极, 必要时及时进行手术治疗。

本研究根据结节直径的不同将 SPN 患者分为直径 ≤ 0.8 cm 组 (11 例)、0.8 ~ 1.5 cm 组 (28 例) 和 1.5 ~ 3.0 cm 组 40 例。良性组结节直径 ≤ 0.8 cm 患者比例高于恶性组, 结节直径为 1.5 ~ 3.0 cm 患者比例低于恶性组。此外本研究结果显示, 良性组和恶性组患者性别、年龄构成比比较差异均无统计学意义, 而恶性组有吸烟史和肿瘤家族史患者比例高于良性组, 表明肺癌的发生不仅与环境 and 吸烟史有关, 也与遗传基因的倾向性和家族聚集性有关。因此在鉴别患者 SPN 良恶性时, 患者的吸烟史及肿瘤家族史也是需要纳入考虑的重要因素。

CEA 是胚胎发育过程中产生的多糖蛋白复合物抗原, 是一种广谱的肿瘤标志物^[15], 其在非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者中的表达增加, 血清 CEA 水平也是评判 NSCLC 患者预后的独立因素^[8]。CYFRA21-1 是一种上皮肿瘤标志物, 与包括肺癌在内的多种常见的上皮恶性肿瘤的发生发展密切相关^[16]。本研究中对对照组、良性组及恶性组受试者血清和 EBC 中 CEA 及 Cyfra21-1 水平比较差异均无统计学意义, 表明传统的肿瘤标志物对于 SPN 良恶性的鉴别价值有限, 积极寻找新的肿瘤标记物迫在眉睫。

MiRNA 广泛存在于真核生物中, 与肿瘤的发生发展密切相关, 大约 50% 的 miRNA 在基因组上位于与肿瘤相关的脆性位点上而发挥类似抑癌基因或癌基因的作用^[17]。既往研究表明 miR-21 具有致癌基因的作用, 在肺癌细胞系 H3255 和 H441 中敲除 miR-21 可以增强细胞的凋亡效应, NSCLC 患者肿瘤组织及血清中 miR-21 表达增加^[8]。本研究亦发现恶性组患者血清及 EBC 中 miR-21 水平高于良性组及对照组, 而良性组与对照组患者血清及 EBC 中 miR-21 水平比较差异无统计学意义。miR-486 定位于人类染色体的 8p11.21 区, 既往研究对 miR-486 在肺癌的不同研究中积累的数据存在争议, 有研究发现 miR-486 可能通过靶向抑制癌基因 ARHGAP5 从而发挥抑癌因子的作用^[18]。Solomides 等^[19] 及 Peng 等^[20] 发现 miR-486 在肺癌组织中的表达水平降低。Zhu 等^[21] 亦发现 miR-486 在

NSCLC 组织中呈低表达,本研究发现恶性组受试者血清及 EBC 中 miR-486 水平低于良性组及对照组,而良性组与对照组受试者血清及 EBC 中 miR-486 水平比较差异无统计学意义,但 Li 等^[10]的研究结果却显示 miR-486 在 NSCLC 患者血浆中的表达水平升高。由于本研究样本量较小,因此 miR-486 在肺癌患者中的表达及作用机制还需更多的研究来证实。

本研究结果显示,不同年龄、性别及病理类型组 SPN 患者血清和 EBC 中 miR-21 及 miR-486 水平比较差异无统计学意义,吸烟组患者血清及 EBC 中 miR-21 水平均高于不吸烟组,血清及 EBC 中 miR-486 水平均低于不吸烟组,且 0.8 cm ~ 1.5 cm 组和 1.5 cm ~ 3.0 cm 组患者血清及 EBC 中 miR-21 水平均升高,miR-486 水平均降低,可能是因为纳入的人群中吸烟 SPN 患者恶性比例明显增高,而当直径大于 0.8 cm 时,SPN 的恶性比例亦明显增高。本研究证实恶性组患者血清及 EBC 中 miR-21 水平明显升高,miR-486 水平明显降低,差异均有统计学意义,与上述结果相一致。

对比痰液、血液等传统检测手段,EBC 具有无创、简便易行及可重复性高等特点。目前 EBC 中已检测到 100 多种反映呼吸系统疾病的生物标志物,其中 miRNA 由于结构稳定、不易被降解且与肿瘤的发生发展及预后密切相关等优点,已成为近年来肿瘤疾病研究的热点^[7]。本研究中,SPN 患者血清与 EBC 中 miR-21 水平呈直线正相关;血清与 EBC 中 miR-486 水平呈直线正相关;血清及 EBC 中 miR-21、miR-486 诊断恶性 SPN 时 AUC 均 > 0.7,其敏感度较高,具有较好的诊断价值,同时 EBC 中 miR-21 诊断恶性 SPN 时 AUC 为 0.775,敏感性为 83.3%,特异性为 64.0%,敏感性明显超过血清,EBC 中 miR-486 诊断恶性 SPN 时 AUC 为 0.881,敏感性为 80.0%,特异性为 85.2%,均超过血清,考虑体液循环中 miRNA 可能是由组织细胞释放而来^[22],因此,EBC 中 miR-21、miR-486 的检测有潜力作为一种无创方法用于 SPN 患者的临床诊断。

此外,有研究发现 miR-21 与 NSCLC 的铂类耐药^[23]和表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)的获得性耐药^[24]有关,miR-486 水平的变化则与肺癌患者复发密切相关^[10],由于本试验纳入受试者数量尚少,且未能对肺癌患者进行追踪随访,未能明确肺癌患者 EBC 及血清中 miR-21、miR-486 的表达与 EGFR 突变患者疗效、预后及术后复发等之间的关系,需要进一步探讨。

综上,EBC 和血清中 miR-21 及 miR-486 检测对 SPN 患者良恶性评估具有较高的临床价值,有助于肺癌的早期诊断和发病机制的研究。采用 EBC 这种高

效、简便、快速、无创的手段检测 miRNA,可以作为判断 SPN 良恶性、筛查肿瘤高危人群的一种新途径。

参 考 文 献

- [1] Schwartz AG, Cote ML. Epidemiology of Lung Cancer[J]. Adv Exp Med Biol,2016,893:21-41.
- [2] 刘新,沈世林,王玉萍,等.中晚期非小细胞肺癌的综合介入治疗现状[J].中华肺部疾病杂志,2017,10(4):486-489.
- [3] 陈金亮,吕学东,吴丹丹,等.146 例孤立性肺结节的临床分析[J].重庆医学,2016,45(17):2375-2376,2379.
- [4] 张灿堂,朱述阳.微小 RNA-182 在非小细胞肺癌患者血清中的表达及临床意义[J].实用医学杂志,2015,31(13):2164-2166.
- [5] Xu YF, Hannafon BN, Ding WQ. microRNA regulation of human pancreatic cancer stem cells[J]. Stem Cell Investig,2017,4:5.
- [6] 王慧琦,高成金.miRNA 与常见肺疾病的关系研究[J].同济大学学报(医学版),2014,35(6):129-133.
- [7] Zhang Y, Yang Q, Wang S. MicroRNAs: a new key in lung cancer[J]. Cancer Chemother Pharmacol,2014,74(6):1105-1111.
- [8] Sun M, Song J, Zhou Z et al. Comparison of Serum MicroRNA21 and Tumor Markers in Diagnosis of Early Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Dis Mark,2016,2016:3823121.
- [9] Qi Z, Yang DY, Cao J. Increased micro-RNA 17, 21, and 192 gene expressions improve early diagnosis in non-small cell lung cancer[J]. Med Oncol,2014,31(9):195.
- [10] Li W, Wang Y, Zhang Q, et al. MicroRNA-486 as a biomarker for early diagnosis and recurrence of non-small cell lung cancer[J]. PLoS one, 2015,10(8):e0134220.
- [11] Alanazi IO, AlYahya SA, Ebrahimie E, et al. Computational systems biology analysis of biomarkers in lung cancer; unravelling genomic regions which frequently encode biomarkers, enriched pathways, and new candidates[J]. Gene,2018,659:29-36.
- [12] MacMahon H, Naidich DP, Goo JM, et al. Guidelines for Management of Incidental Pulmonary Nodules Detected on CT Images: From the Fleischner Society 2017[J]. Radiology,2017,284(1):228-243.
- [13] 刘晓飞,苏家贵,周晓红,等.(18)F-FDG PET/CT 在偶发性孤立性肺结节诊断中的应用价值[J].医学影像学杂志,2018,28(4):599-602.
- [14] Evangelista L, Cuocolo A, Pace L, et al. Performance of FDG-PET/CT in solitary pulmonary nodule based on pre-test likelihood of malignancy: results from the ITALIAN retrospective multicenter trial[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging,2018,45(11):1898-1907.
- [15] 季禹乔,孙明忠,朱晖,等.血清 miRNA-21 与肿瘤标志物 CEA、CYFRA21-1、NSE 对早期非小细胞肺癌的诊断价值[J].中国实验诊断学,2017,21(4):576-581.
- [16] 季红兵,唐芹芳,陈思聪,等.血清肿瘤标志物 HE4 对肺癌的诊断价值[J].现代检验医学杂志,2017,32(2):110-113.
- [17] 刘春生,董朝,杜江,等.miR197-p53 途径在三阴性和激素受体依赖性乳腺癌中的研究[J].现代肿瘤医学,2017,25(4):553-555.
- [18] Wang J, Tian X, Han R, et al. Downregulation of miR-486-5p contributes to tumor progression and metastasis by targeting protumorigenic ARHGAP5 in lung cancer[J]. Oncogene,2014,33(9):1181-1189.
- [19] Solomides CC, Evans BJ, Navenot JM, et al. MicroRNA profiling in lung cancer reveals new molecular markers for diagnosis[J]. Acta Cytologica, 2012,56(6):645-654.
- [20] Peng Y, Dai Y, Hitchcock C, et al. Insulin growth factor signaling is regulated by microRNA-486, an underexpressed microRNA in lung cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2013,110(37):15043-15048.
- [21] Zhu J, Zeng Y, Xu C, et al. Expression profile analysis of microRNAs and downregulated miR-486-5p and miR-30a-5p in non-small cell lung cancer[J]. Oncol Rep,2015,34(4):1779-1786.
- [22] Wang M, Yu F, Ding H, et al. Emerging Function and Clinical Values of Exosomal MicroRNAs in Cancer[J]. Mol Ther Nucleic Acids,2019,16:791-804.
- [23] Zhu J, Qi Y, Wu J, et al. Evaluation of plasma microRNA levels to predict insensitivity of patients with advanced lung adenocarcinomas to pemetrexed and platinum[J]. Oncol Lett,2016,12(6):4829-4837.
- [24] Li B, Ren S, Li X, et al. MiR-21 overexpression is associated with acquired resistance of EGFR-TKI in non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer,2014,83(2):146-153.

(收稿日期:2020-02-22)

(本文编辑:周三凤)