

血浆miR-34b-3p和miR-302a-5p在非小细胞肺癌诊断中的临床应用

宋治鹏 张宗德 刘洋

【摘要】背景与目的 微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 是一类长约22个核苷酸的单链非编码RNA, 其表达异常与疾病密切相关。本研究旨在探讨miR-34b-3p和miR-302a-5p在非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者血浆中的表达水平及其在NSCLC诊断的临床应用价值研究。方法 采用荧光定量PCR (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR) 对86例NSCLC患者、64例肺结核 (pulmonary tuberculosis, PTB) 患者、39例健康体检者血浆中的miR-34b-3p和miR-302a-5p含量进行测定, 同时对比并结合癌胚抗原 (carcino-embryonic antigen, CEA)、神经元烯醇化酶 (neuron-specific enolase, NSE) 和血清骨胶素 (cytokeratin 19 fragments 21-1, CYFRA21-1), 分析其诊断NSCLC的价值。结果 NSCLC组血浆中miR-34b-3p及miR-302a-5p表达水平明显高于PTB组和健康对照组 ($P<0.05$)。血浆miR-34b-3p的表达水平与肿瘤直径相关 ($P<0.01$)。单项检测NSCLC时, miR-302a-5p的灵敏度最高 (82.6%), CEA的特异性最高 (81.6%)。双项检测NSCLC时, miR-34b-3p+miR-302a-5p的灵敏度最高 (80.2%), miR-34b-3p+CEA的特异性最高 (89.3%)。多项检测NSCLC时, miR-302a-5p+NSE+CYFRA21-1的灵敏度最高 (81.4%), miR-34b-3p+CEA+NSE的特异性最高 (90.3%)。当联合miR-34b-3p、miR-302a-5p和CEA进行检测时, 其ROC曲线下面积AUC (area under the curve, AUC) 最大, 为0.832。Logistic回归模型表明: 在NSCLC与对照组 (PTB组+健康对照组) 中, miR-34b-3p可能是NSCLC发生的独立危险因素。结论 血浆miR-34b-3p、miR-302a-5p有可能成为NSCLC辅助诊断的血浆学标志物。

【关键词】 肺肿瘤; 诊断; 微小核糖核酸; 肿瘤标志物

Clinical Application of Plasma miR-34b-3p and miR-302a-5p in the Diagnosis of Non-small Cell Lung Cancer

Zhipeng SONG¹, Zongde ZHANG², Yang LIU¹

¹Department of Epidemiology; ²Laboratory of Molecular Biology, Beijing Chest Hospital, Capital Medical University, Beijing 101149, China

Corresponding author: Yang LIU, E-mail: lygyl1973@126.com

【Abstract】 **Background and objective** MicroRNA is a kind of single-stranded non-coding RNA whose length is about 22 nucleotides and its abnormal expression is related to disease closely. This study is aiming to explore the relative expression of miR-34b-3p and miR-302a-5p in the plasma of non-small cell lung cancer (NSCLC) patients and its clinical value. **Methods** The levels of miR-34b-3p and miR-302a-5p in plasma were detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) in 86 patients with NSCLC, 64 patients with pulmonary tuberculosis (PTB) and 39 healthy subjects. Analyze their value in diagnosing NSCLC by contrasting and combining carcino-embryonic antigen (CEA), neuron-specific enolase (NSE), and cytokeratin 19 fragments 21-1 (CYFRA21-1). **Results** The levels of plasma miR-34b-3p and miR-302a-5p in NSCLC group were significantly higher than those in the PTB group and the healthy group ($P<0.05$). In patients with NSCLC, the levels of plasma miR-34b-3p was correlated with the diameter of tumor ($P<0.01$). When using one plasma marker to diagnose NSCLC, miR-302a-5p had the highest sensitivity (82.6%) and CEA had the highest specificity (81.6%). While combined two plasma markers, miR-34b-3p+miR-302a-5p had the highest sensitivity (80.2%) and miR-34b-3p+CEA had the highest specificity (81.4%). As detected multiple markers, miR-302a-5p+NSE+CYFRA21-1 had the highest sensitivity (81.4%) and miR-34b-3p+CEA+NSE had the highest specificity (90.3%). The combination of miR-34b-3p, miR-302a-5p and CEA obtained the highest area under the curve (AUC), which was 0.832. Logistic regression model indicated that miR-34b-3p was independent

本研究受北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划 (No.2015-3-097) 项目资助

作者单位: 101149 北京, 首都医科大学附属北京胸科医院流行病研究室 (宋治鹏, 刘洋); 分子生物学实验室 (张宗德) (通讯作者: 刘洋, E-mail: lygyl1973@126.com)

risk factor for NSCLC compared to control groups. **Conclusion** Plasma miR-34b-3p and miR-302a-5p could be used as biological markers for the diagnosis of NSCLC.

【 Key words 】 Lung neoplasms; Diagnosis; microRNA; Tumor markers

This study was supported by the grant from Beijing Health System High-level Health Technology Talents Training Program (to Yang LIU)(No.2015-3-097).

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一，近年来其发病率和死亡率在全球范围内明显增加^[1,2]，且5年内存活率<15%，尽管有一些化疗及手术等手段，存活率仍<60%^[3]。目前，肺癌的临床诊断主要依靠影像学检查、临床指征分析和组织活检^[4]等，但以上方法均存在一定的局限性，尚无敏感性和特异性较高的检测手段。血液肿瘤标志物可以用于疑似肺癌患者的初步诊断判断，但现有的肺癌血液肿瘤标志物[癌胚抗原（carcino-embryonic antigen, CEA）、糖类抗原199（carbohydrate antigen 19-9, CA199）、糖类抗原125（carbohydrate antigen 125, CA125）、神经元烯醇化酶（neuron-specific enolase, NSE）、血清骨胶素（cytokeratin 19 fragments 21-1, CYFRA21-1）、SCC等]虽然被广泛地应用，但其在非肿瘤疾病中也会存在异常表达，因此，CEA等肿瘤标志物用于肺癌诊断的敏感性较差。

微小核糖核酸（microRNA, miRNA）是一类长约22个核苷酸的单链非编码RNA，其表达异常与疾病密切相关^[5]，具有成为多疾病尤其是肿瘤诊断标志物的潜能^[6,7]。本研究在前期通过关键词[lung cancer and (microRNA or miR) and (serum or plasma)]检索，整合基因表达数据库（gene expression omnibus, GEO）中获得的不同的数据（GSE68951、GSE16512、GSE46729、GSE67804、GSE70080、GSE76462），挑选在多个数据中出现并且差异表达较高的指标。其中，miR-34b-3p在多种恶性肿瘤（前列腺癌、乳腺癌、宫颈癌、肺癌）中表达异常，有望成为恶性肿瘤的生物学标志物或治疗靶点^[8-11]；miR-302a异常表达与与卵巢癌^[12]、急性髓细胞白血病（acute myeloid leukemia, AML）^[13]、胃癌^[14]的发生均密切相关，但在肺癌患者中的表达情况至今未见报道。以此为依据，最终确定所要研究的miRNA（miR-34b-3p和miR-302a-5p）。

本研究通过检测血浆中miR-34b-3p和miR-302a-5p在非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）患者中的表达水平，分析其表达情况与临床病理特征之间的关系及其在NSCLC诊断的潜在价值，以期对NSCLC的诊断提供新思路和新依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年6月-2018年10月首都医科大学附属北京胸科医院收治并确诊的NSCLC患者86例作为肺癌组，其中男性54例，女性32例，平均年龄（61.35±8.52）岁。纳入标准：①经组织病理学或细胞学诊断明确；②临床资料完整，包括人口学特征，如年龄、性别、吸烟状况、职业暴露、病理诊断、肿瘤-淋巴结-转移（tumor-node-metastasis, TNM）；③在本医院进行首程治疗；④未合并其他肿瘤或器官功能障碍性疾病。排除标准：①年龄>80岁；②肺内合并活动性炎症。选取同期收治并确诊为PTB的患者64例作为良性对照组，其中男性44例，女性20例，平均年龄（59.02±11.19）岁，诊断标准参照中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会肺结核诊断标准（WS288-2017）。同期进行健康体检的39例作为健康对照组，其中男性24例，女性15例，平均年龄（57.32±9.18）岁。各组的性别、年龄等一般资料比较，差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ），具有可比性。所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 清晨空腹采集静脉血5 mL置于EDTA抗凝管中，所有血液自收集至处理时间不超过2 h。血液样本在4℃下、4,000 rpm离心10 min；取上层血浆置于新的1.5 mL RNase-Free的离心管中，处理后的血浆于-80℃保存。

1.2.2 miRNA的提取 冻存的样本室温融解后，4℃，16,000 g离心10 min，取上层血浆200 μL。miRNA的提取严格按照商品化试剂盒（miRcute血清/血浆miRNA提取分离试剂盒，TIANGEN）的操作步骤进行。提取的microRNA加入25 μL的RNase-Free水溶解，使用NanoDrop2000微量分光光度计测定其浓度与纯度，而后直接进行miRNA的反转录。

1.2.3 miRNA检测 用反转录试剂盒（miRcute增强型miRNA cDNA第一链合成试剂盒，TIANGEN）进行反转，其反应体系包括miRNA 8 μL，反转录缓冲液10 μL，反转录酶混合液2 μL；反转条件为42℃ 60 min、95℃ 3 min，4℃ 5 min。取反转录产物5 μL加45 μL RNase-Free水稀释。采用商品化试剂盒[miRcute增强型miRNA荧光定

量检测试剂盒 (SYBR Green), TIANGEN] 进行荧光定量 PCR (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测, 其反应体系包括预混液 10 μL, 正向引物 0.4 μL, 反向引物 0.4 μL, 取稀释后的反转录产物 2 μL, ROX 染料 2 μL, 加 5.2 μL RNase-Free 水补足至 20 μL。设置空白对照, 所有反应采用 3 个复孔, 使用 QuantStudio 7 荧光定量 PCR 仪 (美国, Thermo Fisher Scientific) 按照 95 °C 15 min、5 个预循环 (94 °C 20 s、64 °C 30 s、72 °C 34 s)、40 个循环 (94 °C 20 s、60 °C 34 s) 进行扩增。采用相对定量法对血浆中各 miRNA 含量进行分析。以 U6 为内参, $2^{-\Delta Ct}$ 作为其相对含量, 其中 $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{U6}$ 。

1.3 统计学方法 数据采用 IBM SPSS 24.0 软件进行分析和处理。非正态分布的计量资料以中位数 (四分位间距) [M (Q1, Q3)] 表示, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验, 两组间血浆中 miRNA 表达水平的比较采用 Mann-Whitney U 检验。通过受试者工作特征曲线 (receiver operator characteristic curve, ROC curve) 分析 miR-34b-3p 和 miR-302a-5p 以及肿瘤标志物的诊断价值, 获得临界值 (cut-off point) 以及灵敏度和特异度。使用 Logistic 回归分析 miR-34b-3p 和 miR-302a-5p 与 NSCLC 发生的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 多组血浆 miR-34b-3p 和 miR-302a-5p 表达水平比较 结果显示 miR-34b-3p、miR-302a-5p 在 NSCLC 组、PTB 组以及健康对照组中的表达水平存在差异, 并且具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 1。

对 miR-34b-3p、miR-302a-5p 在 NSCLC 组和 PTB 组、NSCLC 组和健康对照组中的表达情况, 进行两组间的比较分析。结果显示 miR-34b-3p 和 miR-302a-5p 的表达在 NSCLC 组与 PTB 组以及 NSCLC 组与健康对照组中存在差

异 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.2 NSCLC 患者血浆 miR-34b-3p 和 miR-302a-5p 表达与临床病理特征的关系 结果显示血浆 miR-34b-3p 表达水平与肿瘤直径相关, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与年龄、性别、吸烟状况、职业暴露、病理分期、病理类型、淋巴结转移无关; 而 miR-302a-5p 表达水平与年龄、性别、吸烟状况、职业暴露、病理分期、病理类型、淋巴结转移、肿瘤直径无关, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

2.3 血浆 miR-34b-3p 和 miR-302a-5p 单独及与肿瘤标志物联合检测对 NSCLC 的诊断价值 ROC 曲线用来评估血浆 miRNA 对 NSCLC 的诊断价值。结果显示, 单项检测 NSCLC 时, miR-302a-5p 的灵敏度最高 (82.6%), CEA 的特异度最高 (81.6%); 两项检测 NSCLC 时, miR-34b-3p+miR-302a-5p 的灵敏度最高 (80.2%), miR-34b-3p+CEA 的特异度最高 (89.3%); 多项检测 NSCLC 时, miR-302a-5p+NSE+CYFRA21-1 的灵敏度最高 (81.4%), miR-34b-3p+CEA+NSE 的特异度最高 (90.3%)。当联合 miR-34b-3p、miR-302a-5p 和 CEA 这三项进行检测时, 其 ROC 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 最大, 为 0.832。见表 4 和图 1。

2.4 Logistic 回归 将 miR-34b-3p、miR-302a-5p 进行单因素 Logistic 回归分析 结果显示在 NSCLC 组与对照组 (PTB 组+健康对照组) 中, miR-34b-3p 的优势比 (odds ratio, OR) 为 9.214 ($P < 0.05$), 说明其具有一定的预测性, 可能为 NSCLC 发病的独立危险因素。见表 5。

3 讨论

在临床上, 新的生物标志物是肺癌患者的诊断、指导治疗和监测肺部病变的关键^[15,16]。基因组学和蛋白质组学技术的飞速进展加快了许多潜在的临床应用标志

表 1 多组间血浆 miRNAs 表达水平比较 [M (Q1, Q3)]

Tab 1 Comparison of plasma miRNAs expression levels among multiple groups [M (Q1, Q3)]

miRNAs	NSCLC (n=86)	PTB (n=64)	Healthy control (n=39)	P
miR-34b-3p	0.252 (0.126, 0.447)	0.114 (0.037, 0.262)	0.098 (0.029, 0.242)	<0.000,1
miR-302a-5p	0.025 (0.008, 0.047)	0.012 (0.003, 0.033)	0.007 (0.003, 0.015)	0.000,2

表 2 两组间血浆 miRNAs 表达水平比较 [M (Q1, Q3)]

Tab 2 Comparison of plasma miRNAs expression levels between the two groups [M (Q1, Q3)]

miRNAs	NSCLC (n=86)	PTB (n=64)	P	Healthy control (n=39)	P
miR-34b-3p	0.252 (0.126-0.447)	0.114 (0.037, 0.262)	0.000,1	0.098 (0.029, 0.242)	<0.000,1
miR-302a-5p	0.025 (0.008-0.047)	0.012 (0.003, 0.033)	0.015,1	0.007 (0.003, 0.015)	<0.000,1

表3 非小细胞肺癌患者血浆miRNAs表达与临床病理特征的关系

Tab 3 The relationship between plasma miRNAs expression and clinicopathological features in patients with non-small cell lung cancer

Clinical parameter	n	miR-34b-3p		miR-302a-5p		
		[M (Q1, Q3)]	P	[M(Q1, Q3)]	P	
Age (year)	≤60	38	0.261 (0.114, 0.498)	0.791,9	0.034 (0.008, 0.056)	0.413,2
	>60	48	0.240 (0.137, 0.391)		0.020 (0.010, 0.044)	
Gender	Male	54	0.316 (0.134, 0.516)	0.191,7	0.032 (0.010, 0.052)	0.154,9
	Female	32	0.201 (0.112, 0.326)		0.018 (0.008, 0.040)	
Smoking state	Yes	42	0.286 (0.144, 0.554)	0.113,2	0.030 (0.010, 0.055)	0.226,1
	No	44	0.210 (0.084, 0.388)		0.019 (0.008, 0.041)	
Occupational exposure	Yes	3	0.508 (0.161, 0.694)	0.293,7	0.035 (0.003, 0.066)	0.876,8
	No	83	0.249 (0.115, 0.435)		0.024 (0.009, 0.047)	
Pathological stages	I-II	52	0.195 (0.111, 0.414)	0.085,8	0.027 (0.007, 0.045)	0.613,4
	III-IV	34	0.327 (0.158, 0.516)		0.023 (0.011, 0.051)	
Pathological types	Adenocarcinoma	56	0.260 (0.113, 0.461)	0.623,3	0.018 (0.009, 0.047)	0.468,0
	Squamous cell carcinoma	30	0.231 (0.141, 0.429)		0.033 (0.007, 0.052)	
Lymph node metastasis	Yes	36	0.327 (0.147, 0.549)	0.145,6	0.030 (0.012, 0.051)	0.136,1
	No	50	0.208 (0.113, 0.390)		0.019 (0.007, 0.041)	
Diameter of tumor (cm)	≤5	75	0.208 (0.114, 0.389)	0.009,8	0.021 (0.008, 0.046)	0.114,3
	>5	15	0.473 (0.255, 0.731)		0.042 (0.017, 0.066)	

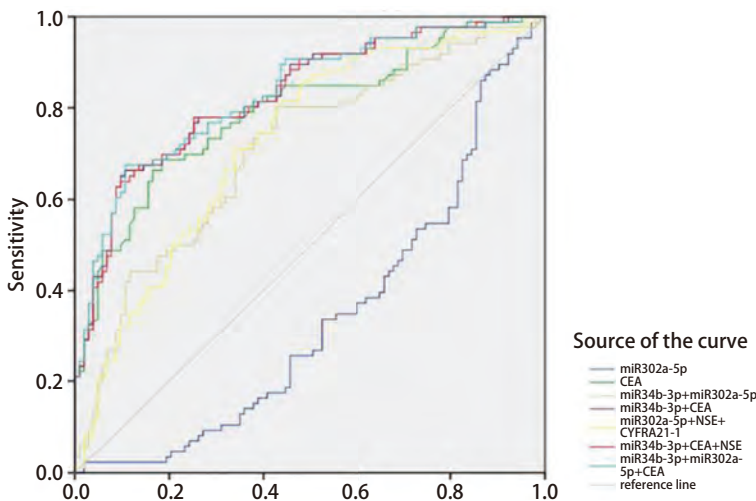


图1 miR-34b-3p、miR-302a-5p以及肿瘤标志物的ROC曲线
Fig 1 ROC curve of miR-34b-3p, miR-302a-5p and tumor markers. ROC: receiver operating characteristic.

表5 单因素Logistic回归

Tab 5 Univariate Logistic regression

miRNAs	NSCLC group vs Control group		
	OR	95%CI	P
miR-34b-3p	9.214	2.442-34.768	0.001
miR-302a-5p	0.963	0.83-1.118	0.622

物的发现。血液学检查对患者创伤小且操作简便，因此在血液中找到合适的分子标志物，阐明其与肺癌发生的关系，显得尤为重要^[17]。miRNA是一种非编码的小分子单链RNA，是调控基因在转录后及翻译水平表达的主要元件^[18]，报道表明miRNA与肿瘤、炎症等许多疾病的发生、发展等密切相关，且miRNA取材方便，在血浆中稳定存在，可连续监测，有望成为一种理想的潜在血浆肿瘤标志物^[19,20]。

本研究发现miR-34b-3p和miR-302a-5p，与对照组（PTB组+健康对照组）相比，两者在NSCLC血浆中均高表达，表示其在肺癌的发生发展过程中可能起正向调控作用。其中miR-34b-3p的表达与既往研究结果相一致^[21]，并且还发现其表达水平与肿瘤直径相关，在肿瘤直径>5 cm的患者血浆中的表达水平明显高于肿瘤直径≤5 cm的患者。分析其原因可能是肿瘤负荷越大，肿瘤组织释放具有原癌基因作用的miRNA进入血液的机会越大，使得机体原有的具有抑癌作用的miRNA表达水平受到抑制，进而导致机体miRNA表达水平异常升高。由此可见，miR-34b-3p在一定程度上参与NSCLC的发生发展。然而miR-34b-3p的表达在年龄、性别、吸烟状况、职业暴露、病理分期、病理类型、淋巴结转移分类中却未发现

表4 血浆miR-34b-3p、miR-302a-5p、肿瘤标志物对非小细胞肺癌的诊断价值

Tab 4 Diagnostic value of plasma miR-34b-3p, miR-302a-5p and tumor markers for non-small cell lung cancer

Parameter	AUC (95%CI)	P	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Cut-off point
One marker					
miR-34b-3p	0.703 (0.628-0.778)	<0.001	81.4%	55.3%	0.367
miR-302a-5p	0.660 (0.582-0.737)	<0.001	82.6%	44.7%	0.273
CEA	0.793 (0.727-0.858)	<0.001	68.6%	81.6%	0.502
NSE	0.608 (0.527-0.689)	0.011	62.8%	61.2%	0.240
CYFRA21-1	0.759 (0.690-0.828)	<0.001	72.1%	73.8%	0.459
Two markers					
miR-34b-3p+CEA	0.829 (0.770-0.888)	<0.001	66.3%	89.3%	0.556
miR-34b-3p+NSE	0.696 (0.621-0.771)	<0.001	47.7%	85.4%	0.331
miR-34b-3p+CYFRA21-1	0.749 (0.679-0.818)	<0.001	58.1%	83.5%	0.416
miR-302a-5p+CEA	0.792 (0.726-0.857)	<0.001	68.6%	81.6%	0.502
miR-302a-5p+NSE	0.615 (0.534-0.696)	0.007	64.0%	62.1%	0.261
miR-302a-5p+CYFRA21-1	0.749 (0.679-0.820)	<0.001	68.6%	75.7%	0.443
miR-34b-3p+miR-302a-5p	0.709 (0.634-0.783)	<0.001	80.2%	57.3%	0.375
Multiple markers					
miR-34b-3p+CEA+NSE	0.828 (0.769-0.887)	<0.001	64.0%	90.3%	0.543
miR-34b-3p+CEA+CYFRA21-1	0.828 (0.768-0.887)	<0.001	66.3%	89.3%	0.556
miR-34b-3p+NSE+CYFRA21-1	0.734 (0.663-0.805)	<0.001	58.1%	80.6%	0.387
miR-34b-3p+CEA+NSE+CYFRA21-1	0.826 (0.767-0.885)	<0.001	66.3%	87.4%	0.537
miR-302a-5p+CEA+NSE	0.793 (0.727-0.859)	<0.001	68.6%	81.6%	0.502
miR-302a-5p+CEA+CYFRA21-1	0.791 (0.725-0.857)	<0.001	69.8%	80.6%	0.504
miR-302a-5p+NSE+CYFRA21-1	0.725 (0.653-0.797)	<0.001	81.4%	56.3%	0.377
miR-302a-5p+CEA+NSE+CYFRA21-1	0.789 (0.722-0.855)	<0.001	69.8%	80.6%	0.504
miR-34b-3p+miR-302a-5p+CEA	0.832 (0.774-0.890)	<0.001	67.4%	89.3%	0.567
miR-34b-3p+miR-302a-5p+NSE	0.703 (0.629-0.778)	<0.001	46.5%	87.4%	0.339
miR-34b-3p+miR-302a-5p+CYFRA21-1	0.742 (0.672-0.813)	<0.001	55.8%	85.4%	0.412
miR-34b-3p+miR-302a-5p+CEA+NSE	0.832 (0.774-0.890)	<0.001	67.4%	89.3%	0.567
miR-34b-3p+miR-302a-5p+CEA+CYFRA21-1	0.830 (0.771-0.888)	<0.001	67.4%	89.3%	0.567
miR-34b-3p+miR-302a-5p+NSE+CYFRA21-1	0.733 (0.661-0.804)	<0.001	58.1%	82.5%	0.406
miR-34b-3p+miR-302a-5p+CEA+NSE+CYFRA21-1	0.830 (0.772-0.889)	<0.001	67.4%	89.3%	0.567

差异。分析其原因可能是因为本次研究的样本量相对较小，仍需进一步扩大，才能验证miRNA含量在不同分组中的表达差异。我们还将miR-34b-3p进行了单因素Logistic回归分析，结果显示在NSCLC组与对照组（PTB组+健康对照组）中，miR-34b-3p的OR值为9.214^[22]。由于对入组患者的相关随访还在进行中，未进行Cox回归等相关分析。因此，miR-34b-3p可能是NSCLC发生的独立危险因素，但仍需进一步验证。

关于miR-302a-5p与肺癌之间的相关研究至今未见报道，参考其在卵巢癌、急性髓细胞白血病（acute myeloid leukemia, AML）、胃癌中的表达情况，发现miR-302a-5p

在卵巢癌和AML细胞中高表达^[12,13]，在胃癌组织中低表达^[14]。本研究中miR-302a-5p的表达情况与其在卵巢癌和AML中表达相一致。在分析其表达水平与临床病理特征的关系时，却未发现两者之间的关联。造成这种结果可能的原因，一是受限于本次研究的样本量；二是受限于纳入研究的病理特征的分类，其表达水平有可能在其他病理特征分类上存在统计学差异。

我们通过计算ROC曲线下面积AUC，来评估miR-34b-3p、miR-302a-5p及联合肿瘤标志物对NSCLC的诊断价值。有研究组合6种miRNA（miR-429、miR-205、miR-200b、miR-203、miR-125b、miR-34b）对早期NSCLC进

行诊断, 获得的AUC为0.88^[21]。由此可以肯定miR-34b在NSCLC早期诊断中的价值。本研究发现, 检测86例NSCLC (I期-II期52例, III期-IV期34例) 血浆中miR-34b-3p、miR-302a-5p的表达, 获得的曲线下面积分别为0.703和0.660, 并且可以获得 $\geq 81.4\%$ 的诊断灵敏度, 但特异度并不理想 (最大值为55.3%), 这为miR-34b用于NSCLC诊断方面提供了更为全面的证据, 并且探索了miR-302a-5p用于NSCLC诊断的价值。应用肿瘤标志物CEA、NSE、CYFR21-1对入组病例进行诊断可以获得较好的诊断特异度 ($\geq 61.2\%$), 但是敏感度较差 (最大值为72.1%)。由此, 本研究尝试将血浆中miRNA检测与肿瘤标志物检测结果结合, 以此来提高诊断效能^[23]。发现多项检测NSCLC时, miR-302a-5p+NSE+CYFRA21-1的灵敏度最高 (81.4%), miR-34b-3p+CEA+NSE的特异度最高 (90.3%)。当联合miR-34b-3p、miR-302a-5p和CEA进行检测时, 其AUC最大, 为0.832。由此可见, 血浆miR-34b-3p、miR-302a-5p与肿瘤标志物联合, 有利于提高其对NSCLC的诊断灵敏度、特异度以及诊断效能, 具有潜在的应用价值。

综上所述, NSCLC患者血浆中miR-34b-3p和miR-302a-5p的表达水平高于对照人群, 并且通过组合miRNA与肿瘤标志物, 可以获得满意的诊断效能, 有望成为NSCLC辅助诊断的血浆学标志物, 为液体活检的发展提供了新的思路。

参考文献

- Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108. doi: 10.3322/caac.21262
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. doi: 10.3322/caac.21492
- Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*, 2008, 359(13): 1367-1380. doi: 10.1056/NEJMra0802714
- Diaz LA, Jr., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol*, 2014, 32(6): 579-586. doi: 10.1200/JCO.2012.45.2011
- Lv JJ, Xu L, Xu YT, *et al.* Expression of MiRNA-221 in non-small cell lung cancer tissues and correlation with prognosis. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2014, 17(3): 221-225. [吕俊杰, 徐磊, 许有涛, 等. 非小细胞肺癌组织miRNA-221表达及其与预后的关系研究. *中国肺癌杂志*, 2014, 17(3): 221-225.] doi: 10.3779/j.issn.1009-3419.2014.03.07
- Montani F, Marzi MJ, Dezi F, *et al.* miR-test: a blood test for lung cancer early detection. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(6): djv063. doi: 10.1093/jnci/djv063
- Song ZP, Liu Y. Progress of liquid biopsy in early diagnosis of lung cancer. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2018, 21(8): 620-627. [宋治鹏, 刘洋. 液体活检在肺癌早期诊断中的研究进展. *中国肺癌杂志*, 2018, 21(8): 620-627.] doi: 10.3779/j.issn.1009-3419.2018.08.08
- Fang LL, Sun BF, Huang LR, *et al.* Potent inhibition of miR-34b on migration and invasion in metastatic prostate cancer cells by regulating the TGF-beta pathway. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): pii: E2762. doi: 10.3390/ijms18122762
- Kim YH, Lee WK, Lee EB, *et al.* Combined effect of metastasis-related microRNA, miR-34 and miR-124 family, methylation on prognosis of non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*, 2017, 18(1): e13-e20. doi: 10.1016/j.clcc.2016.06.005
- Sanaei S, Hashemi M, Rezaei M, *et al.* Evaluation of the pri-miR-34b/c rs4938723 polymorphism and its association with breast cancer risk. *Biomed Rep*, 2016, 5(1): 125-129. doi: 10.3892/br.2016.690
- Yuan F, Sun R, Chen P, *et al.* Combined analysis of pri-miR-34b/c rs4938723 and TP53 Arg72Pro with cervical cancer risk. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6267-6273. doi: 10.1007/s13277-015-4467-y
- Guo T, Yu W, Lv S, *et al.* MiR-302a inhibits the tumorigenicity of ovarian cancer cells by suppression of SDC1. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4869-4880.
- Liu X, Heng C, Li Y, *et al.* MiR-302a sensitizes leukemia cells to etoposide by targeting Rad52. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 73884-73891. doi: 10.18632/oncotarget.17878
- Ma G, Li Q, Dai W, *et al.* Prognostic implications of miR-302a/b/c/d in human gastric cancer. *Pathol Oncol Res*, 2017, 23(4): 899-905. doi: 10.1007/s12253-017-0282-7
- Vargas AJ, Harris CC. Biomarker development in the precision medicine era: lung cancer as a case study. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(8): 525-537. doi: 10.1038/nrc.2016.56
- Villalobos P, Wistuba II. Lung cancer biomarkers. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2017, 31(1): 13-29. doi: 10.1016/j.hoc.2016.08.006
- Matikas A, Syrigos KN, Agelaki S. Circulating biomarkers in non-small-cell lung cancer: current status and future challenges. *Clin Lung Cancer*, 2016, 17(6): 507-516. doi: 10.1016/j.clcc.2016.05.021
- Hou J, Meng F, Chan LW, *et al.* Circulating plasma microRNAs as diagnostic markers for NSCLC. *Front Genet*, 2016, 7: 193. doi: 10.3389/fgene.2016.00193
- He Y, Lin J, Kong D, *et al.* Current state of circulating microRNAs as cancer biomarkers. *Clin Chem*, 2015, 61(9): 1138-1155. doi: 10.1373/clinchem.2015.241190
- Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30): 10513-10518. doi: 10.1073/pnas.0804549105
- Halvorsen AR, Bjaanaes M, LeBlanc M, *et al.* A unique set of 6 circulating microRNAs for early detection of non-small cell lung cancer. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 37250-37259. doi: 10.18632/oncotarget.9363
- Sha J, Fan LH. Diagnostic value of miRNA-146b-3p in early non-small cell lung cancer. *Tongji Da Xue Xue Bao (Yixueban)*, 2018, 39(2): 73-78. [沙杰, 范理宏. miRNA-146b-3p在早期非小细胞肺癌中的诊断

价值. 同济大学学报(医学版), 2018, 39(2): 73-78.] doi: 10.16118/j.1008-0392.2018.02.014

122-5p和miR-486-5p在肝癌诊断中的临床应用. 中华检验医学杂志, 2018, 41(1): 41-46.] doi: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2018.01.010

23 He J, Xiao B, Hang JF, et al. Clinical application of serum miR-122-5p and miR486-5p in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. Zhonghua Jian Yan Yi Xue Za Zhi, 2018, 41(1): 41-46. [何佳, 肖斌, 杭建锋, 等. 血清miR-

(收稿: 2018-11-17 修回: 2019-01-29 接受: 2019-03-01)

(本文编辑 丁燕)



Cite this article as: Song ZP, Zhang ZD, Liu Y. Clinical Application of Plasma miR-34b-3p and miR-302a-5p in the Diagnosis of Non-small Cell Lung Cancer. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2019, 22(4): 216-222. [宋治鹏, 张宗德, 刘洋. 血浆miR-34b-3p和miR-302a-5p在非小细胞肺癌诊断中的临床应用. 中国肺癌杂志, 2019, 22(4): 216-222.] doi: 10.3779/j.issn.1009-3419.2019.04.03

• 消息 •

《中国肺癌杂志》被CSCD (2017-2018年度) 收录

2017年3月, 由中国科协主管、中国抗癌协会、中国防痨协会和天津医科大学总医院主办的《中国肺癌杂志》继续被中国科学引文数据库 (CSCD) 2017-2018年度收录为核心期刊 (以C标记), 至此, 《中国肺癌杂志》已经被美国Medline, 荷兰SCOPUS, 中国统计源目录, 北大核心与中科院CSCD数据库全部收录为核心期刊!

中国科学引文数据库 (Chinese Science Citation Database, CSCD) 创建于1989年, 收录我国数学、物理、化学、天文学、地学、生物学、农林科学、医药卫生、工程技术和环境科学等领域出版的中英文科技核心期刊和优秀期刊千余种, 目前已积累从1989年到现在的论文记录4,690,808条, 引文记录57,967,579条。中国科学引文数据库内容丰富、结构科学、数据准确。系统除具备一般的检索功能外, 还提供新型的索引关系——引文索引, 使用该功能, 用户可迅速从数百万条引文中查询到某篇科技文献被引用的详细情况, 还可以从一篇早期的重要文献或著者姓名入手, 检索到一批近期发表的相关文献, 对交叉学科和新学科的发展研究具有十分重要的参考价值。中国科学引文数据库还提供了数据链接机制, 支持用户获取全文。

中国科学引文数据库具有建库历史最为悠久、专业性强、数据准确规范、检索方式多样、完整、方便等特点, 自提供使用以来, 深受用户好评, 被誉为“中国的SCI”。

2017年-2018年度中国科学引文数据库收录来源期刊1,229种, 其中中国出版的英文期刊201种, 中文期刊1,028种。中国科学引文数据库来源期刊分为核心库和扩展库两部分, 其中核心库885种; 扩展库344种。

中国科学引文数据库来源期刊每两年遴选一次。每次遴选均采用定量与定性相结合的方法, 定量数据来自于中国科学引文数据库, 定性评价则通过聘请国内专家定性评估对期刊进行评审。定量与定性综合评估结果构成了中国科学引文数据库来源期刊。