血清微小 RNA-326、微小 RNA-192 水平在良恶性肺结节鉴别中的临床价值

房涛 吴海永 张静
张家口市第一医院胸外科，河北张家口 075000

摘要 目的：探讨血清微小 RNA(miR)-326、miR-192 在良恶性肺结节鉴别中的临床价值。方法：选取 121 例肺结节患者，将其分为良性结节组 78 例和恶性结节组 43 例。采用实时荧光定量聚合酶链反应法对 2 组血清 miR-326、miR-192 水平进行检测，比较分析 2 组的临床资料；采用 Logistic 回归法分析影响恶性结节发生的相关因素；采用 Pearson 法分析恶性结节患者血清 miR-326、miR-192 水平相关性。用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 miR-326、miR-192 水平单独以及二者联合对恶性肺结节的评估价值。结果：恶性结节组血清 miR-326 水平低于良性结节组(0.79 ±0.17 *vs* 1.02 ±0.18，P <0.05)，miR-192 水平高于良性结节组(1.35 ±0.36 *vs* 1.01 ±0.21，P <0.05)；良性结节组和恶性结节组患者肺结节成分、肺结节密度、肺结节有无实变比较，差异有统计学意义(P 均 <0.05)；Logistic 回归分析显示，miR-326 水平是恶性肺结节发生的保护因素(P <0.05)，肺结节密度、血清 miR-192 水平是其危险因素(P <0.05)；Pearson 法分析显示，恶性肺结节患者血清 miR-326 与 miR-192 水平呈负相关(r = −0.439，P <0.001)；两者单独及联合检测恶性肺结节发生的 AUC 分别为 0.862、0.808 和 0.930，二者联合诊断优于血清 miR-326、miR-192 单独诊断($Z_{二者联合\text{-}miR\text{-}326}$ =2.719、P =0.007，$Z_{二者联合miR\text{-}192}$ =3.159、P = 0.002)。结论：血清 miR-326 和 miR-192 水平有助于良恶性肺结节的鉴别诊断。

关键词 微小 RNA-326；微小 RNA-192；良恶性肺结节；鉴别
中图分类号 R734.2 **文献标识码** A DOI 10.11768/nkjwzzzz.202409020797

Clinical value of serum microRNA-326 and microRNA-192 in the differentiation of benign and malignant pulmonary nodules

FANG Tao, WU Hai-yong, ZHANG Jing. Department of Thoracic Surgery, Zhangjiakou First Hospital, Hebei Zhangjiakou 075000, China
Corresponding author: FANG Tao, E-mail: taoh8662480@163.com

Abstract Objective: To investigate the clinical value of serum microRNA (miR)-326 and miR-192 in the differentiation of benign and malignant pulmonary nodules. Methods: Totally, 121 patients with pulmonary nodules were selected, and they were categorized into benign nodule group (n = 78) and malignant nodule group (n = 43). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction method was applied to detect the serum levels of miR-326 and miR-192 in each group, and clinical data were compared between two groups. Logistic regression was applied to analyze the relevant factors affecting the occurrence of malignant nodules; Pearson method was applied to analyze the correlation between serum miR-326 and miR-192 levels in patients with malignant nodules. Receiver operating characteristic (ROC) curve was applied to evaluate the diagnostic value of blood levels of miR-326 and miR-192, and their combination for malignant pulmonary nodules. Results: The serum miR-326 level in the malignant nodule group was lower than that in the benign nodule group (0.79 ± 0.17 *vs*. 1.02 ±0.18, P < 0.05), while the miR-192 level was higher than that in the benign nodule group (1.350.36 *vs*. 1.010.21, P < 0.05). There were statistically significant differences in the components of pulmonary nodules, the density of pulmonary nodules, the presence of consolidation in pulmonary nodules, and the levels of serum miR-326 and miR-192 between the benign nodule group and the malignant nodule group (all P < 0.05). Logistic regression analysis showed that miR-326 was a protective factor for the occurrence of malignant pulmonary nodules (P < 0.05), while the density of pulmonary nodules and the level of serum miR-192 were risk factors for the occurrence of malignant pulmonary nodules (P < 0.05). Pearson method analysis results showed that there was an obvious negative correlation between miR-326 level and miR-192 level in patients with malignant pulmonary nodules (r = −0.439, P < 0.001); The AUC of serum miR-326, miR-192 alone and combined detection of malignant pulmonary nodules was 0.862, 0.808 and 0.930, respectively, suggesting the combined diagnosis of the two was superior to the individual diagnosis of serum miR-326 and miR-192 ($Z_{combination\text{-}miR\text{-}326}$ =2.719, P = 0.007, $Z_{combination\text{-}miR\text{-}192}$ =3.159, P = 0.002). Conclusion: Serum miR-326 and miR-192 are helpful for the differential diagnosis of benign and malignant pulmonary nodules.

Key words Micro RNA-326; Micro RNA-192; Benign and malignant pulmonary nodules; Differentiation

通信作者：房涛，E-mail：aoh8662480@163.com，河北省张家口市桥西区新华前街礼拜寺巷 6 号

随着人们健康意识的不断增强以及 CT 体检的普及,肺部结节的检出率呈现增加的趋势[1]。肺结节是指在影像学检查中,表现为密度增大、类圆形等周围含有气肺组织包绕的亚实性或者实性的肺部阴影,是早期肺癌的主要表现之一[2]。区分良、恶性肺结节是发现早期肺癌的关键,利于改善预后[3,4]。微小 RNA(microRNA,miRNA)是一类长度约为 21~25 个核苷酸的非编码小分子组成的单链 RNA。miRNA 参与细胞增殖、分化和凋亡等过程,与肿瘤的发生发展密切相关[5]。研究发现,miRNA 可以作为肺癌的生物标志物[6]。帮助区分良性和恶性肺结节[7]。miR-326 参与非小细胞肺癌发生及调控过程[8]。miR-192 在肺腺癌患者的外泌体中表达失调[9],与多种炎症反应疾病的发生和发展过程密切相关[10]。在肺癌细胞顺铂耐药性中发挥重要作用[11]。本研究探究血清 miR-326、miR-192 在良恶性肺结节的表达以及在鉴别诊断中的临床应用价值。

资料与方法

1. 研究对象:选取 2022 年 1 月-2023 年 1 月张家口市第一医院收治的肺结节患者 121 例(肺结节均 <30 mm),均经影像学检查发现有肺结节,其中男 66 例,女 55 例;年龄 39~72 岁,平均年龄(57.61±9.67)岁。排除标准:①肺部疾病或肺部急性感染者;②心、肝、肾等功能不全者;③精神疾病,无法正常沟通交流者;④其他系统的恶性肿瘤患者。本研究经医院伦理委员会审核批准(批号:2021-10012)。患者或家属知情并签署同意书。

2. 方法:抽取所有研究对象入院第二天清晨空腹外周静脉血 6 mL,放入真空采血管中,3 000 转/min 离心 15 min,收集上层血清,-80℃保存备用。加入提前预冷的 Trizol 试剂(购自上海信裕生物科技有限公司),按照 RNA 提取试剂盒(购自江苏凯基生物技术股份有限公司)的说明书操作步骤提取血清总 RNA,采用凝胶电泳检测 RNA 分子量,用分光光度计检测 RNA 浓度。将符合标准的总 RNA 通过反转录试剂盒(青岛捷世康生物科技有限公司)反转为 cDNA。采用实时荧光定量聚合酶链反应对 miR-326、miR-192 进行定量,以 GAPDH 和 U6 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算相对表达量。所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成(扫描文前二维码查看引物)。

根据病理检查结果[12],将患者分为良性结节组 78 例和恶性结节组 43 例。比较 2 组临床资料、血清 miR-326、miR-192 水平;分析影响恶性结节发生的相关因素;分析恶性肺结节患者血清 miR-326、miR-192 水平相关性及对恶性肺结节的诊断评估价值分析。

3. 统计学分析:采用 SPSS 25.0 统计学软件。经 Shapiro-Wilktest 检验法检验符合正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较进行 t 检验;计数资料用例数和百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;用多因素逐步 Logistic 回归模型对影响因素进行分析;以 Pearson 法分析恶性肺结节患者血清 miR-326、miR-192 相关性;以受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线分析血清 miR-326、miR-192 以及二者联合对恶性肺结节诊断评估价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 临床资料:2 组患者年龄、吸烟饮酒史、性别、肺结节大小、是否有过敏史、是否有肿瘤家族比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05,扫描文前二维码查看详细数据资料)。2 组患者肺结节成分、密度、肺结节有无实变比较,差异有统计学意义(P 均 <0.05),见表 1。

2. 血清 miR-326、miR-192 水平:与良性结节组比较,恶性结节组血清 miR-326 水平降低,miR-192 水平升高,见表 2。

表 1 良性组与恶性组肺结节情况比较[例(%)]

肺结节性质	n(例)	良性结节组(n=78)	恶性结节组(n=43)	t/χ^2 值	P 值
肺结节成分					
实性	53	41(52.56)	12(27.91)	7.424	0.024
混合	34	20(25.65)	14(32.56)		
磨玻璃	34	17(21.79)	17(39.53)		
肺结节密度					
> -200 HU	66	36(46.15)	30(69.77)	6.234	0.013
≤ -200 HU	55	42(53.85)	13(30.23)		
肺结节实变	79	56(71.79)	23(53.49)	4.099	0.043

表 2　2 组血清 miR-326、miR-192 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n(例)	miR-326	miR-192
良性结节组	78	1.02 ± 0.18	1.01 ± 0.21
恶性结节组	43	0.79 ± 0.17	1.35 ± 0.36
t 值		6.859	6.568
P 值		< 0.001	< 0.001

3. 影响恶性肺结节的相关因素分析：以肺结节性质为因变量(良性肺结节 = 0，恶性肺结节 = 1)，以肺结节成分、肺结节密度、肺结节有无实变及血清 miR-326、miR-192 水平为自变量，行 Logistic 回归分析显示，血清 miR-326 水平、miR-192 水平与恶性肺结节发生独立相关(P 均 < 0.05)，见表 3。

4. 恶性肺结节患者血清 miR-326、miR-192 水平相关性：Pearson 法分析显示，恶性肺结节患者血清 miR-326 水平与 miR-192 水平呈负相关(r = −0.439，P < 0.001)。

5. 对恶性肺结节的预测价值分析：ROC 曲线显示，血清 miR-326 与 miR-192 联合诊断优于单独诊断($Z_{二者联合\text{-}miR\text{-}326}$ = 2.719，P = 0.007、$Z_{二者联合miR\text{-}192}$ = 3.159，P = 0.002)，见表 4 和图 1。

表 3　影响良恶性肺结节的相关因素 Logistic 回归分析

指标	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
肺结节成分	−0.137	0.356	0.148	0.700	0.872	0.434-1.752
肺结节密度	0.921	0.275	11.229	0.001	2.513	1.466-4.309
肺结节实变	0.190	0.297	0.408	0.523	1.209	0.675-2.164
miR-326	−0.396	0.157	6.362	0.012	0.673	0.495-0.915
miR-192	0.771	0.329	5.499	0.019	2.163	1.135-4.122

表 4　血清 miR-326、miR-192 对恶性肺结节的诊断价值分析

变量	AUC	截断值	灵敏度(%)	特异性(%)	Youden 指数	95% CI
miR-326	0.862	0.89	83.72	79.49	0.632	0.788-0.918
miR-192	0.808	1.21	62.79	88.46	0.512	0.727-0.874
二者联合	0.930	-	90.70	82.05	0.728	0.869-0.968

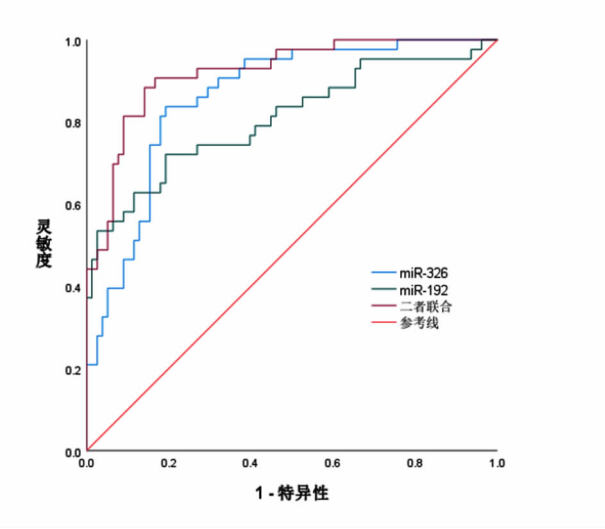


图 1　血清 miR-326、miR-192 对恶性肺结节的诊断价值的 ROC 曲线

讨　论

全球每年约有 130 万人死于肺癌，我国占有大约 40 万人，其发病率和死亡率位于恶性肿瘤首位，严重威胁人类健康[13,14]。早期诊断尽早治疗，能降低其死亡率。对肺结节良恶性的鉴别诊断是研究者们关注的热点[15]。

miRNA 能够通过抑制或降解蛋白质的翻译作用来调控靶基因的表达，是一种新兴的表观遗传学调控因子，还参与一些炎症的发生和发展，并通过靶向结合 mRNA 来抑制转录和转录后翻译过程[16]。HONG 等[17]研究发现，miRNA 可以作为诊断肺结节的一种生物标志物，且具有一定的灵敏度和特异性。miR-326 是 miRNA 家族中的一员，位于 11 号染色体的 q13.4 上，参与各种生理过程，并且会靶向调控 mRNA，从而影响肿瘤的发生和发展。研究报道，miR-326 在非小细胞肺癌肿瘤的发生发展中发挥重要作用[18]。miR-192 一般在肝脏、肾脏和结肠中表达，与多种恶性肿瘤密切相关[19~21]。本研究显示，恶性结节组血清 miR-326 水平较良性结节组低、miR -192水平较良性结节组高，提示血清miR-326、

miR-192 水平在良恶性肺结节鉴别中具有重要作用。多因素分析显示,血清 miR-326 水平是保护因素,肺结节密度、血清 miR-192 水平是危险因素,表明血清 miR-326、miR-192 水平与肺结节患者类型密切相关。Pearson 法分析显示,血清 miR-326 水平与 miR-192 水平呈明显的负相关,推测原因可能为 miR-326 通过作用于多个靶点发挥肿瘤抑制功能,而 miR-192 则在特定环境下通过促进耐药、抑制凋亡等方式发挥促癌作用。

本研究中,ROC 曲线分析表明,血清 miR-326 与 miR-192 水平对良恶性肺结节鉴别诊断具有一定的价值,且二者联合的预测价值更高。与癌胚抗原、细胞角蛋白 21-1 等传统标志物相比,miRNA 标志物在灵敏度和特异性上展现出优势,将其与传统标志物联合应用,是未来提高肺癌早期诊断率的重要方向。本研究存在样本量较少,样本来源较单一的缺点,后续需扩大样本量深入研究。

参 考 文 献

1 Qi LL, Wu BT, Tang W, et al. Long-term follow-up of persistent pulmonary pure ground-glass nodules with deep learning-assisted nodule segmentation[J]. Eur Radiol, 2020, 30(2): 744-755.

2 Deguzman R, Malik M. Global cancer burden and natural disasters: A focus on asia's vulnerability, resilience building, and impact on cancer care[J]. J Glob Oncol, 2019, 5(1): 1-8.

3 Xing W, Sun H, Yan C, et al. A prediction model based on DNA methylation biomarkers and radiological characteristics for identifying malignant from benign pulmonary nodules[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 263.

4 刘博,黄露,曹亚,等. 叶酸受体阳性 CTC 检测在恶性肺部结节辅助诊断中的应用[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(23): 2330-2335.

5 张文俊,王明祥,宋沁哲,等. 微小 RNA-185 水平对结直肠癌术后无进展生存有评估价值[J]. 内科急危重症杂志, 2024, 30(1): 21-25.

6 Lobera ES, Varela MA, Jimenez L, et al. miRNA as biomarker in lung cancer[J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(11): 9521-9527.

7 Zheng D, Zhu Y, Zhang J, et al. Identification and evaluation of circulating small extracellular vesicle microRNAs as diagnostic biomarkers for patients with indeterminate pulmonary nodules[J]. J Nanobiotechnology, 2022, 20(1): 172-183.

8 An J, Shi J, Yang C, et al. Regulation of tumorigenesis and ferroptosis in non-small cell lung cancer by a novel BBOX1-AS1/miR-326/PROM2 axis[J]. Mol Cell Biochem, 2024, 479(8): 2143-2155.

9 Wang T, Li W, Li H, et al. Dysregulation of exosomal miR-192 and miR-194 expression in lung adenocarcinoma patients[J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(3): 1561-1568.

10 Li J, Panganiban R, Kho A T, et al. Circulating microRNAs and treatment response in childhood asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2020, 20(1): 1169-1173.

11 Li Y, Zu L, Wu H, et al. MiR-192/NKRF axis confers lung cancer cell chemoresistance to cisplatin via the NF-κB pathway[J]. Thorac Cancer, 2022, 13(3): 430-441.

12 戴正行,胡春洪,王希明,等. 基于 DenseNet 网络深度学习法 CT 图像人工智能分析技术判断肺结节良恶性[J]. 放射学实践, 2020, 35(4): 484-488.

13 Nasim F, Sanath BF, Eapen GA, et al. lung cancer[J]. Med Clin North Am, 2019, 103(3): 463-473.

14 王东苑,谢敏. 哮喘合并肺癌临床与发病机制的研究进展[J]. 内科急危重症杂志, 2025, 31(3): 275-280.

15 居冠军,施民新,樊怿辉,等. 血浆循环游离 DNA 水平及其完整性用于肺结节良恶性的诊断研究[J]. 实用临床医药杂志, 2023, 27(7): 25-29.

16 田娇,宁静,徐勇胜. 微小 RNA(microRNA)与儿童支气管哮喘关系的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(5): 460-466.

17 Hong Z, Cui B, Bai X, et al. Meta analysis of the diagnostic value of circulating miRNA in benign and malignant pulmonary nodules[J]. World J Surg Oncol, 2023, 21(1): 284-293.

18 Zhang Q, Cheng F, Zhang Z, et al. Propofol suppresses non-small cell lung cancer tumorigenesis by regulation of circ-RHOT1/miR-326/FOXM1 axis[J]. Life Sci, 2021, 27(1): 119042.

19 Huang YL, Li XH, Ma H, et al. Metabolites of intestinal microflora upregulate miR-192-5p to suppress proliferation of colon cancer cells via RhoA-ROCK-LIMK2 pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(4): 1794-1806.

20 Yu M, Du H, Zhang C, et al. miR-192 family in breast cancer: Regulatory mechanisms and diagnostic value[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 175(1): 116620.

21 罗伯珣,张卫平,卫国红,等. 糖尿病肾病患者血浆 miR-192、miR-29c 水平变化及诊断价值[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2020, 21(9): 813-815.

(2024-09-04 收稿 2026-07-13 修回)

附表 1　qRT-PCR 引物序列

基因	上游引物 5’-3’	下游引物 5’-3’
miR-326	GCCGAGCCTCTGGGCCCTTCC	CTCAACTGGTGTCGTGGA
miR-192	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGT	ATTCGCACTGGATACGACGGGCTGT
U6	AACGCTTCACGAATTTGCGT	CTCGCTTCGGCAGCACA

附表 2　2 组患者临床资料比较[例（%）]

临床资料	例数	良性结节组（*n*=78）	恶性结节组（*n*=43）	t/χ^2 值	*P* 值
≥60 岁	51	32（41.03）	19（44.19）	0.114	0.736
男性	66	44（56.41）	22（51.16）	0.308	0.579
饮酒	83	57（73.08）	26（60.47）	2.047	0.153
吸烟	75	52（66.67）	23（53.49）	2.043	0.153
肺结节≥15 mm	68	43（55.13）	25（58.14）	0.102	0.749
有肿瘤家族史	30	16（20.51）	14（32.56）	2.157	0.142
有过敏史	33	19（24.36）	14（32.56）	0.939	0.332
不规则形	38	24（30.77）	14（32.56）	0.041	0.839
圆形	83	54（69.23）	29（67.44）		
边缘毛刺	35	18（23.08）	17（39.53）	3.652	0.056
边缘光滑	86	60（76.92）	26（60.47）		