

• 论 著 •

血清 TBULC 水平对肺腺癌的诊断价值

车开丽, 姜 坤[△]

南京医科大学附属淮安第一医院检验科, 江苏淮安 223001

摘 要:目的 探讨血清转化生长因子 β 诱导的长链非编码 RNA (TBULC) 对肺腺癌 (LUAD) 的诊断价值。方法 选取 2018 年 9 月至 2020 年 4 月于该院就诊的 116 例 LUAD 患者作为 LUAD 组, 110 例肺良性结节患者作为肺良性结节组, 另选取健康体检者 110 例作为对照组。采用实时荧光定量 PCR 检测血清 TBULC 水平, 采用电化学发光免疫分析法检测血清癌胚抗原 (CEA) 水平。比较 3 组血清 TBULC 与 CEA 水平, 并分析上述两项指标与 LUAD 患者临床病理特征间的关系; 采用受试者工作特征曲线评价 TBULC、CEA 单独及联合检测对 LUAD 的诊断效能。结果 LUAD 组血清 TBULC、CEA 水平均明显高于肺良性结节组和对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。LUAD 患者术前血清 TBULC 水平明显高于术后, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。肿瘤最大径 ≥ 3 cm 的患者 TBULC 和 CEA 水平高于 < 3 cm 的患者, TNM III ~ IV 期的患者 TBULC 和 CEA 水平高于 I ~ II 期的患者, 有淋巴结转移的患者 TBULC 和 CEA 水平高于无淋巴结转移的患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。TBULC 与 CEA 联合检测诊断 LUAD 的曲线下面积、灵敏度、特异度均高于两项指标单独检测。结论 TBULC 与 LUAD 的发生、发展有关, 可作为 LUAD 治疗效果及病情评估的良好指标, 且与 CEA 联合检测可提高对 LUAD 的诊断效能。

关键词: 肺腺癌; 转化生长因子 β 诱导的长链非编码 RNA; 癌胚抗原

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.12.022

中图法分类号: R734.2

文章编号: 1673-4130(2021)12-1503-04

文献标志码: A

The diagnostic value of serum TBULC level in lung adenocarcinoma

CHE Kaili, JIANG Kun[△]

Department of Clinical Laboratory, Huaian First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Huaian, Jiangsu 223001, China

Abstract: **Objective** To explore the diagnostic value of serum long-chain non-coding RNA induced by transforming growth factor β (TBULC) in lung adenocarcinoma (LUAD). **Methods** A total of 116 cases of LUAD patients treated in the hospital from September 2018 to April 2020 were selected as LUAD group, 110 cases of benign lung nodules were selected as benign lung nodules group, and 110 cases of healthy people took physical examination were selected as control group. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect serum TBULC level, and electrochemiluminescence immunoassay was used to detect serum carcinoembryonic antigen (CEA) level. Compared the levels of serum TBULC and CEA among the three groups, and analyzed the relationship between the above two indicators and the clinicopathological characteristics of LUAD patients. The receiver operating characteristic curve was used to evaluate the diagnostic efficacy of TBULC and CEA alone and in combination for LUAD. **Results** Serum TBULC and CEA levels in the LUAD group were significantly higher than those in the benign lung nodules group and the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The serum TBULC level of LUAD patients before surgery was significantly higher than that after surgery, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The TBULC and CEA levels in patients with tumor maximum diameter ≥ 3 cm were higher than those in patients with tumor maximum diameter < 3 cm, the TBULC and CEA levels in patients with TNM stage III - IV were higher than those in patients with TNM stage I - II, the TBULC and CEA levels in patients with lymph node metastasis were higher than those in patients without lymph node metastasis, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The area under the curve, sensitivity and specificity of the combined detection of TBULC and

作者简介: 车开丽, 女, 主管技师, 主要从事肿瘤分子标志物研究。 [△] 通信作者, E-mail: jiangkunyk@163.com。

本文引用格式: 车开丽, 姜坤, 血清 TBULC 水平对肺腺癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(12): 1503-1506.

CEA in the diagnosis of LUAD were higher than those of the two indicators alone. **Conclusion** TBULC is related to the occurrence and development of LUAD, and can be used as a good indicator of LUAD treatment effect and disease evaluation, and combine detection with CEA can improve the diagnostic efficiency of LUAD.

Key words: lung adenocarcinoma; long-chain non-coding RNA induced by transforming growth factor β ; carcinoembryonic antigen

肺癌(LUAD)是肺癌最常见的亚型之一^[1]。目前,LUAD 血清学肿瘤标志物主要包括癌胚抗原(CEA)、糖类抗原-125 和胃泌素释放前体等,这些指标的灵敏度和特异度均较低,诊断价值有限,可能造成漏诊^[2]。由于缺乏 LUAD 早期诊断的标志物,无法对患者进行个体化的治疗方案制订、治疗效果评估及复发预测,因此,为了提高 LUAD 患者的总体生存率,需要寻找具有高特异度和灵敏度的早期诊断标志物。长链非编码 RNA(LncRNA)是长度 >200 个核苷酸的非编码 RNA^[3],许多研究报道 LncRNA 在 LUAD 的发生、发展过程中起到了重要的作用^[4-6]。ZHENG 等^[7]研究发现,转化生长因子 β 诱导的长链非编码 RNA(TBULC)在 LUAD 组织中的表达较癌旁组织明显上调,并且与患者肿瘤大小相关,参与肿瘤的浸润、转移。目前尚未见血清 TBULC 的表达与 LUAD 关系的相关报道,因此本研究采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测血清 TBULC 在 LUAD 患者、肺良性结节患者及健康体检者血清中的表达情况,并探讨血清 TBULC 对 LUAD 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 9 月至 2020 年 4 月于本院就诊的 116 例 LUAD 患者作为 LUAD 组,其中男 59 例,女 57 例;年龄 23~80 岁,平均 (59.53 ± 9.92) 岁。纳入标准:(1)病理组织标本经本院病理科确诊为 LUAD;(2)术前未进行放疗、化疗、靶向治疗或中药治疗等。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)合并严重心、肝、肺、肾等脏器功能障碍;(3)存在其他慢性疾病;(4)临床病理资料不完整。另外选取肺良性结节患者 110 例作为肺良性结节组,其中男 56 例,女 54 例;年龄 25~78 岁,平均 (58.25 ± 10.02) 岁。选取同期 110 例健康体检者作为对照组,其中男 57 例,女 53 例;年龄 26~79 岁,平均 (59.36 ± 10.26) 岁。3 组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经本院医学伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与处理 采集各组研究对象空腹静脉血 3 mL 于含有促凝剂的真空采血管中, $5\,000 \times g$ 离心 5 min,分离血清, $4\,^{\circ}\text{C}$ $15\,000 \times g$ 离心 5 min 去除细胞碎片,置于 $-80\,^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存。

1.2.2 RNA 提取及反转录 采用 RNA 提取试剂盒

(日本 Takara 公司)提取血清总 RNA,经核酸检测仪(美国赛默飞世尔公司)检测 RNA 浓度与纯度,选择吸光度 $(A)_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 为 1.8~2.0 的 RNA 标本,经过反转录试剂盒(日本 Takara 公司)反转录为 cDNA,置于 $-20\,^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2.3 引物设计与合成 TBULC 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。TBULC 上游引物:5'-GGGGTGAGAGGAACAACAAA-3',下游引物:5'-TGTCAGGGGAGCCATACAC-3';GAPDH 上游引物:5'-CCT GGTATGACAACGAATTTG-3',下游引物:5'-CAG TGAGGGTCTCTCTCTTCC-3'。

1.2.4 RT-qPCR 检测 采用美国 Bio-Rad 公司生产的 T100 梯度 PCR 仪,按照日本 Takara 公司生产的 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒说明书进行反应体系配制。采用相对定量 PCR 的方法计算 TBULC 的相对表达水平。PCR 反应体系共 25 μL ,其中 10 $\mu\text{mol/L}$ 上游引物和下游引物各 1 μL ,荧光混合物 10 μL , $50 \times \text{ROX}$ 染料 0.5 μL ,cDNA 模板 1 μL ,双蒸水 11.5 μL 。上述操作均在冰上进行,加样完成后离心、上机。反应条件: $95\,^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $95\,^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s, $58\,^{\circ}\text{C}$ 退火,延伸 30 s,共 40 个循环。采用公式 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算相对表达水平。试验重复 5 次。

1.2.5 血清 CEA 水平检测 采用罗氏公司生产的 Cobas 801 电化学发光免疫分析仪及配套试剂检测各组血清 CEA 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK- q 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价血清 TBULC 与 CEA 对 LUAD 的诊断效能;血清 TBULC 水平与 CEA 水平的相关性分析采用 Pearson 相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 TBULC、CEA 水平比较 LUAD 组血清 TBULC、CEA 水平均明显高于肺良性结节组和对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);肺良性结节组和对照组血清 TBULC、CEA 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 LUAD 患者手术前后血清 TBULC 水平比较
LUAD 患者术前血清 TBULC 水平为 3.558 ± 0.559 ，术后为 1.951 ± 0.818 ，术前血清 TBULC 水平明显高于术后，差异有统计学意义($t=41.463, P<0.05$)。

2.3 血清 TBULC 和 CEA 水平与 LUAD 患者临床病理特征的关系 肿瘤最大径 ≥ 3 cm 的患者 TBULC 和 CEA 水平高于 <3 cm 的患者，TNM Ⅲ～Ⅳ期的患者 TBULC 和 CEA 水平高于 I～Ⅱ期的患者，有淋巴结转移的患者 TBULC 和 CEA 水平高于无淋巴结转移的患者，差异均有统计学意义($P<$

0.05)。LUAD 患者血清 TBULC 和 CEA 水平与性别、年龄均无关($P>0.05$)。见表 2。

表 1 3 组血清 TBULC、CEA 水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	TBULC	CEA($\mu\text{g/L}$)
LUAD 组	116	3.540 ± 0.563	8.336 ± 1.090
肺良性结节组	110	$1.930\pm0.806^*$	$5.660\pm2.551^*$
对照组	110	$1.913\pm0.797^*$	$5.722\pm2.650^*$
<i>F</i>		187.736	54.915
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注：与 LUAD 组比较，* $P<0.05$ 。

表 2 LUAD 患者血清 TBULC 和 CEA 水平与患者临床病理特征的关系							
临床病理特征	<i>n</i>	TBULC($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>	CEA($\bar{x}\pm s,\mu\text{g/L}$)	<i>t</i>	<i>P</i>
性别(<i>n</i>)			1.575	0.118		1.930	0.056
男	59	3.377±0.364			8.147±1.062		
女	57	3.475±0.301			8.533±1.094		
年龄(岁)			0.938	0.350		0.711	0.479
≥60	64	3.399±0.354			8.271±1.195		
<60	52	3.458±0.313			8.416±0.951		
肿瘤最大径(cm)			3.554	0.001		3.255	0.001
≥3	35	3.599±0.367			8.818±1.084		
<3	81	3.350±0.294			8.128±1.032		
淋巴结转移			18.496	<0.001		12.856	<0.001
无	82	3.255±0.238			7.799±0.708		
有	34	3.835±0.099			9.633±0.678		
TNM 分期			18.416	<0.001		11.291	<0.001
I ~ II 期	87	3.280±0.253			7.892±0.766		
III ~ IV 期	29	3.860±0.085			9.735±0.708		

2.4 LUAD 患者血清 TBULC 水平与 CEA 水平的相关性 Pearson 相关分析结果显示，LUAD 患者血清 TBULC 水平与 CEA 水平呈正相关性($r=0.642, P<0.001$)。

2.5 血清 TBULC 与 CEA 对 LUAD 的诊断效能分析 ROC 曲线分析结果显示，TBULC 的诊断阈值为 2.84，在此阈值处，ROC 曲线下面积(AUC)为 0.878，灵敏度、特异度分别为 98.10%和 73.00%，均高于 CEA。TBULC 与 CEA 联合检测诊断 LUAD 的 AUC、灵敏度、特异度均高于两项指标单独检测。见表 3、图 1。

表 3 血清 TBULC 与 CEA 对 LUAD 的诊断效能			
指标	AUC	灵敏度(%)	特异度(%)
TBULC	0.878	98.10	73.00
CEA	0.775	95.50	58.00
TBULC 联合 CEA	0.901	99.00	84.00

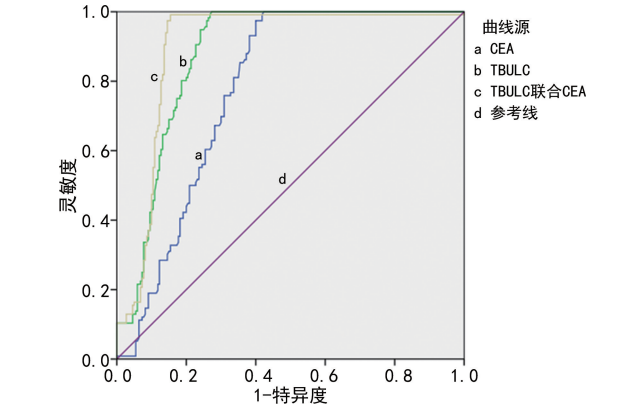


图 1 血清 TBULC 与 CEA 诊断 LUAD 的 ROC 曲线

3 讨 论

LUAD 作为常见的呼吸系统恶性肿瘤，其发病率和病死率一直处于较高水平^[8-10]，且由于发病隐匿，大部分患者在确诊时已经进入中晚期，导致其 5 年生存率较低^[11-12]，因此，寻找高特异度和灵敏度的肿瘤标志物一直是 LUAD 临床研究的热点。

本研究结果显示,LUAD 组血清 TBULC 水平明显高于肺良性结节组和对照组($P<0.05$),肺良性结节组和对照组间血清 TBULC 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示 LUAD 患者血清 TBULC 存在明显高表达,出现该结果的原因可能与 TBULC 参与了 LUAD 的发生过程有关。LUAD 患者术前血清 TBULC 水平高于术后,提示 TBULC 可以作为患者手术治疗效果的观察指标。

此外,本研究还发现肿瘤最大径 <3 cm、无淋巴结转移、TNM I~II 期的 LUAD 患者血清 TBULC 水平分别低于肿瘤最大径 ≥ 3 cm、有淋巴结转移与 TNM III~IV 期的患者,提示病情越严重的患者血清 TBULC 水平越高,考虑可能随着病情加重, TBULC 通过相应的信号通路产生了更加明显的生化调节,最终表现出更高的表达水平。ZHENG 等^[7] 研究显示, TBULC 在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中高表达,并且在体外实验中 TBULC 通过转化生长因子- β (TGF- β) 诱导的上皮间质转化(EMT)途径来促进 NSCLC 细胞的迁移和转移,推测其可能也通过 EMT 途径促进了 LUAD 的迁移和侵袭,但该结论需要进一步的研究验证。在临床工作中通过监测 TBULC 的表达情况可以有效判断 LUAD 患者的病情严重程度,进一步为临床治疗方案的制订提供依据。

相关性分析结果显示,LUAD 患者血清 TBULC 水平与 CEA 水平呈正相关,提示二者在 LUAD 发生、发展过程中可能存在协同作用。本研究 ROC 曲线分析结果显示, TBULC 与 CEA 联合检测诊断 LUAD 的效能高于 TBULC、CEA 单独检测,二者联合检测提高了诊断效能,有效减少了误诊和漏诊。本研究缺少 LUAD 患者的随访资料,因此 TBULC 与 LUAD 患者预后之间的关系需要在今后的研究中进一步探讨。

综上所述, TBULC 与 LUAD 的发生、发展有关,可作为 LUAD 治疗效果及病情评估的良好指标,且与 CEA 联合检测可提高对 LUAD 的诊断效能。

参考文献

[1] SONG Q, SHANG J. Identification of an immune signature predicting prognosis risk of patients in lung adenocarcinoma[J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 70.

[2] LIU L, TENG J, ZHANG L, et al. The combination of the tumor markers suggests the histological diagnosis of lung cancer[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 2013989.

[3] ZHAO M, XIN X F, ZHANG J Y, et al. LncRNA GMDS-AS1 inhibits lung adenocarcinoma development by regulating miR-96-5p/CYLD signaling[J]. Cancer Med, 2020, 9(3): 1196-1208.

[4] TIAN X, GAO S, LIU Y, et al. Long non-coding RNA ENST00000500843 is downregulated and promotes chemoresistance to paclitaxel in lung adenocarcinoma[J]. Oncol Lett, 2019, 18(4): 3716-3722.

[5] DING Y, LIU J H. The signature lncRNAs associated with the lung adenocarcinoma patients prognosis[J]. Math Biosci Eng, 2019, 17(2): 1593-1603.

[6] GAO L M, XU S F. Long non-coding RNA H19 is responsible for the progression of lung adenocarcinoma by mediating methylation-dependent repression of CDH1 promoter[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9): 6411-6428.

[7] ZHENG S, LU Z, LIU C, et al. The TGF beta-induced long non-coding RNA TBULC promotes the invasion and migration of non-small cell lung cancer cells and indicates poor prognosis[J]. Front Oncol, 2019, 9(1): 1340-1347.

[8] ISAEVA O I, SHARONOV G V, SEREBROVSKAYA E O, et al. Intratumoral immunoglobulin isotypes predict survival in lung adenocarcinoma subtypes[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 279-283.

[9] ZHANG L, ZHANG Z, YU Z. Identification of a novel glycolysis-related gene signature for predicting metastasis and survival in patients with lung adenocarcinoma[J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 423-428.

[10] MIZUTANI K, GUO X, SHIOYA A, et al. The impact of PRDX4 and the EGFR mutation status on cellular proliferation in lung adenocarcinoma[J]. Int J Med Sci, 2019, 16(9): 1199-1206.

[11] SUN G Z, ZHAO T W. Lung adenocarcinoma pathology stages related gene identification[J]. Math Biosci Eng, 2019, 17(1): 737-746.

[12] HUANG K, HU E, LI W, et al. Association of PD-1 polymorphisms with the risk and prognosis of lung adenocarcinoma in the northeastern Chinese Han population[J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 177-183.

(收稿日期: 2020-12-11 修回日期: 2021-04-13)