

• 论 著 •

EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测对肺癌的诊断价值*

常文龙¹, 赵 静², 李宝新³, 蔡会欣⁴, 耿 硕¹, 杜新帅⁵, 孙吉瑞⁶

保定市第一中心医院: 1. 内分泌实验室; 2. 神经内一科; 3. 内分泌二科;

4. 检验科; 5. 彩超室; 6. 病理科, 河北保定 071000

摘要:目的 研究支气管内超声引导针吸活检术(EBUS-TBNA)检查和血清 miR-20a 检测对肺癌的诊断价值。方法 选取 2019 年 1 月至 2020 年 7 月于该院确诊为肺癌的 60 患者纳入研究作为肺癌组; 另外, 选取同期于该院治疗的肺部良性病变且无肿瘤史的患者 60 例作为良性病变组。分别对两组患者进行 EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测; 比较两组患者的 EBUS-TBNA 检查以及 miR-20a 检测结果; 比较不同病理分型及术前分期肺癌患者的 EBUS-TBNA 检查以及 miR-20a 检测结果; 对两种方法单独及联合使用对肺癌诊断的效能进行分析。结果 肺癌组 EBUS-TBNA 检查的阳性率显著高于良性病变组($P < 0.05$); 不同病理分型及术前分期肺癌患者的 EBUS-TBNA 检查的阳性率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); 肺癌组患者的血清 miR-20a 相对表达水平显著高于良性病变组($P < 0.05$); 不同病理分型及术前分期肺癌患者的血清 miR-20a 相对表达水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。EBUS-TBNA 检查联合血清 miR-20a 检测对肺癌诊断的特异度高于两种方法单独使用。结论 EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测有助于肺癌的诊断。

关键词: 肺癌; 支气管内超声引导针吸活检术; miR-20a; 诊断效能; 联合诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.17.014

中图法分类号: R446.11

文章编号: 1673-4130(2021)17-2109-04

文献标志码: A

Diagnostic value of EBUS-TBNA and serum miR-20a in lung cancer*

CHANG Wenlong¹, ZHAO Jing², LI Baoxin³, CAI Huixin⁴, GENG Shuo¹, DU Xinshuai⁵, SUN Jirui⁶

1. Endocrinology Laboratory; 2. Neurology Department 1; 3. Endocrinology Department 2;

4. Department of Clinical Laboratory; 5. Color Doppler Room; 6. Department of Pathology, Baoding first Central Hospital, Baoding, Hebei 071000, China

Abstract: **Objective** To study the diagnostic value of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration(EBUS-TBNA) and serum miR-20a in lung cancer. **Methods** A total of 60 patients with lung cancer diagnosed in the hospital from January 2019 to July 2020 were enrolled as the lung cancer group, meanwhile 60 patients with benign lung lesions and no tumor history were enrolled as the benign lesion group. EBUS-TBNA and serum miR-20a detection were performed respectively in the two groups. The results of EBUS-TBNA and miR-20a detection were compared between the two groups, The results of EBUS-TBNA and miR-20a detection were compared among lung cancer patients with different pathological types and preoperative stages. The effectiveness of the two methods alone and in combination were analyzed in the diagnosis of lung cancer. **Results** The positive rate of EBUS-TBNA in patients with lung cancer were significantly higher than that in patients with benign lesions ($P < 0.05$); the positive rates of EBUS-TBNA in patients with different pathological types and preoperative stages of lung cancer were significantly different ($P < 0.05$). The relative expression level of serum miR-20a in the lung cancer group was significantly higher than that in the benign lesion group ($P < 0.05$); the relative expression level of serum miR-20a in patients with different pathological types and preoperative stages of lung cancer was significantly different ($P < 0.05$). The specificity of EBUS-TBNA combined with serum miR-20a detection in the diagnosis of lung cancer is higher than those of the two methods alone. **Conclusion** EBUS-TBNA and serum miR-20a detection are helpful for the diagnosis

* 基金项目: 河北省保定市科学技术研究与发展指导计划项目(17ZF001)。

作者简介: 常文龙, 男, 副主任技师, 主要从事临床免疫学检验的相关研究。

本文引用格式: 常文龙, 赵静, 李宝新, 等. EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测对肺癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42

of lung cancer.

Key words: lung cancer; endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration; miR-20a; diagnostic efficiency; joint diagnosis

肺癌是临床较为常见的恶性肿瘤之一,流行病学调查显示,我国每年新发肺癌患者约为 73.3 万例,病死患者 60.0 万例,肺癌的发病率及死亡率均居恶性肿瘤的首位^[1]。与欧美发达国家相比,我国的肺癌患者预后较差^[2],所以在临床对患者的诊断中,及时对病理分期进行确认,及早进行手术,对于患者的治疗具有重要意义。支气管内超声引导针吸活检术(EBUS-TBNA)是肺癌患者手术前进行肺癌纵隔淋巴结分期的重要手段,但是也有报道显示,对于低分化癌或者样本量较少的组织,该方法对于肺癌分型的异质性较大,准确性不佳^[3]。所以,寻找多种方法对肺癌进行联合诊断具有重要意义。微小核糖核酸 miR-20a 是肺癌的特异性生物标志物^[4],检测 miR-20a 水平对于肺癌的分型具有辅助价值^[5]。本研究分析了 EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测与肺癌患者病理分型及术前分期的关系,以及两者单独和联合使用对肺癌诊断的价值,旨在为肺癌的临床诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2019 年 1 月至 2020 年 7 月于本院确诊的肺癌患者 60 例纳入研究作为肺癌组。入选标准:(1)符合肺癌诊断标准^[6];(2)预计生存时间>6 个月;(3)KPS 评分^[7]≥70 分。肺癌组男 34 例,女 26 例;体质量指数(BMI)为(24.55±7.64)kg/m²;年龄 29~76 岁、平均(55.26±11.85)岁;其中鳞癌患者 29 例,腺癌患者 15 例,非小细胞肺癌患者 16 例;TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期患者 39 例,Ⅲ~Ⅳ期患者 21 例。另外,选取同期于本院治疗的肺部良性病变且无肿瘤史患者 60 例作为良性病变组。两组患者性别、BMI 以及年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。所有纳入研究者均对本研究知情同意并签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会审批通过。排除标准:(1)心、肝、肾功能严重不全者;(2)存在交流障碍者;(3)血常规异常者;(4)不配合本研究方案者。

1.2 方法 所有纳入研究的患者均进行 EBUS-TBNA 检查。检查前常规雾化吸入利多卡因 10 mL;嘱患者去枕仰卧位,常规对患者进行支气管镜检查,对气管内的分泌物进行彻底清理。经口对患者采用超声支气管镜(奥林巴斯 BF-uc260F-OL8),在超声模式下,对患者纵隔内各站淋巴结进行探查。针对影像学肿大或者淋巴结疑似转移的部位进行穿刺活检。穿刺活检采用 22G 穿刺活检针,整个穿刺过程均在超声

引导下进行,避开血管。穿刺获得的组织样本经 HE 染色后,及时进行病理检查。在对多站淋巴结进行活检的过程中,及时进行穿刺针更换,避免造成污染。同时,在手术中依据细胞病理学的检查结果,对样本的获取过程满意度进行评估,以样本能够获得明确的病理学诊断依据或者是存在大量淋巴细胞为“满意”的标准。对患者进行 EBUS-TBNA 检查后,患者有明确的病理学恶性诊断则依据为阳性,无明确的恶性诊断依据则为阴性。

所有患者在纳入研究后,均行静脉采血 4 mL,采用 Trizol 试剂进行总 RNA 的提取,以 PCR 进行扩增,上游引物设定为 5'-TACATCTGGCTACT-GGGTGTCGTATC-3',下游引物设定为 5'-TCG-CAGGGTCCGAGGTATTC-3',以 U6 作为内参基因,使用 2^{-ΔΔCT} 计算 miR-20a 的相对表达水平。反应条件设定为 95 ℃ 5 min,95 ℃ 40 s,60 ℃ 20 s,72 ℃ 15 s。

表 1 两组患者的一般资料比较

组别	<i>n</i>	男/女 (<i>n</i> / <i>n</i>)	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	BMI ($\bar{x}\pm s$,kg/cm ²)
肺癌组	60	34/26	55.36±12.15	24.51±7.09
良性病变组	60	36/24	55.16±12.68	24.59±7.20
<i>t</i> / χ^2		0.137	0.088	0.061
<i>P</i>		0.711	0.930	0.951

1.3 观察指标 (1)对肺癌组与良性病变组患者的 EBUS-TBNA 检查结果进行比较;(2)对不同病理分型及术前分期患者的 EBUS-TBNA 检查结果进行比较;(3)对肺癌组与良性病变组患者的 miR-20a 相对表达水平进行比较;(4)对不同病理分型及术前分期患者的 miR-20a 相对表达水平进行比较;(5)将 EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测单独和联合用于肺癌诊断的效能进行分析,联合诊断采用串联模式。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌组与良性病变组患者的 EBUS-TBNA 结果比较 肺癌组的 EBUS-TBNA 阳性率显著高于良性病变组($P<0.05$),见表 2。

表 2 肺癌组与良性病变组患者的 EBUS-TBNA 检查结果比较[n(%)]

组别	n	阳性	阴性
肺癌组	60	53(88.33)	7(11.67)
良性病变组	60	0(0.00)	60(100.00)
χ ²		94.932	
P		<0.001	

2.2 不同病理分型及术前分期患者的 EBUS-TBNA 检查结果比较 鳞癌以及腺癌患者的 EBUS-TBNA 阳性率高于非小细胞肺癌患者($P<0.05$),术前分期Ⅲ~Ⅳ期的肺癌患者 EBUS-TBNA 阳性率高于Ⅰ~Ⅱ期患者($P<0.05$)。见表 3。

表 3 不同病理分型及术前分期患者的 EBUS-TBNA 检查结果比较[n(%)]

项目	n	阳性	阴性	χ ²	P
病理分型				8.219	0.016
鳞癌	29	28(96.55) [*]	1(3.45)		
腺癌	15	14(93.33) [*]	1(6.67)		
非小细胞癌	16	11(68.75)	5(31.25)		
术前分期				4.271	0.039
Ⅰ~Ⅱ期	39	32(82.05) [#]	7(17.95)		
Ⅲ~Ⅳ期	21	21(100.00)	0(0.00)		

注:与非小细胞肺癌比较,^{*} $P<0.05$;与Ⅰ~Ⅱ期比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 肺癌组与良性病变组患者 miR-20a 相对表达水

平比较 肺癌组患者的 miR-20a 相对表达水平显著高于良性病变组(6.26 ± 2.19 vs. 1.49 ± 0.56 , $t=16.345$, $P<0.05$)。

2.4 不同病理分型及术前分期患者的 miR-20a 相对表达水平比较 不同病理分型及术前分期患者间的 miR-20a 相对表达水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 不同病理分型及术前分期患者的 miR-20a 相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

项目	n	miR-20a	F/t	P
病理分型			9.062	<0.001
鳞癌	29	7.89±1.24		
腺癌	15	6.59±1.97		
非小细胞癌	16	5.73±1.26		
术前分期			4.972	<0.001
Ⅰ~Ⅱ期	39	4.58±1.61		
Ⅲ~Ⅳ期	21	7.00±2.11		

2.5 两种方法对肺癌的诊断效能分析 对 EBUS-TBNA 检查和血清 miR-20a 检测单独和联合用于肺癌诊断的效能进行分析,联合诊断的特异度显著高于单独检测,见表 5。

表 5 两种方法单独及联合检测诊断肺癌的效能分析

诊断方法	真阳 (n)	假阳 (n)	真阴 (n)	假阴 (n)	准确率 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预 测值(%)	阴性预 测值(%)	标准误	AUC	AUC 95%CI	P
EBUS-TBNA 检查	53	0	60	7	94.17	88.33	53.10	100.00	89.55	11.231	0.775	0.520~0.872	0.017
miR-20a 检测	45	5	55	15	83.33	75.00	55.00	90.00	78.57	9.252	0.603	0.600~0.746	0.000
两种方法联合	44	3	57	16	84.17	73.33	56.44	93.62	78.08	3.222	0.692	0.607~0.816	0.000

注:AUC 为曲线下面积。

3 讨 论

有研究显示,肺癌患者的生存情况与病理分期显著相关^[8]。因此,在对患者进行病理分期对于其预后判断具有重要的意义,同时也可制订适宜的治疗措施提供参考。美国医师协会也提出,针对 TNM 分期为Ⅲ期的患者,及时、有效地对患者的病理结果进行分析,对于了解患者纵隔淋巴结转移的情况具有重要的价值^[9]。而目前对于肺癌纵隔淋巴结的转移主要通过 CT 或者 PET 进行诊断,但是存在假阳性率较高的问题^[10]。纵隔内部结构较为复杂,组织来源较为丰富,在对其进行标本采集的操作过程中存在较高风险。在 EBUS-TBNA 检查的过程中,通过超声的引导,有可对周边组织进行保护。

但是在对患者的实际诊断中,通过 EBUS-TBNA 检查获取的标本量较小,有时获得的标本甚至不足以对患者进行明确诊断,甚至不能进行组织分型。也有

研究显示,在肿瘤分化程度较低的患者中,该检查方法存在一定的假阴性情况^[11]。因此,在临床诊断中,仅通过对患者的 EBUS-TBNA 检查,并不能获得较为精确地诊断。本研究中,通过对不同病理分型及术前分期患者的 EBUS-TBNA 结果比较,鳞癌以及腺癌的 EBUS-TBNA 阳性率显著高于非小细胞肺癌患者,Ⅲ~Ⅳ期患者 EBUS-TBNA 阳性率显著高于Ⅰ~Ⅱ期患者。陈坚平等^[12]在对肺癌患者的诊断中采用 EBUS-TBNA 检查,虽然其诊断的准确性显著高于蜡块和细胞学检测,但是针对病理分期较低患者仍然存在一定的假阴性情况,与本研究结果一致。所以仅通过 EBUS-TBNA 检查对肺癌患者进行诊断,但存在一定的假阴性情况。

在临床诊断中,常常采取联合诊断,以降低患者的误诊率。国外有学者提出,miR-20a 水平可作为肺癌患者诊断的重要生物标志物^[13]。但是在对肿瘤患

者的研究中发现,miR-20a 水平的异常升高,并不是仅仅存在于肺癌患者中,肺癌、肝癌以及食管癌患者中均可发现 miR-20a 水平的异常升高。miR-20a 通过对局部组织的促癌基因以及抑癌基因的影响,进而造成肿瘤的发生。同时,miR-20a 还可调节缺氧肿瘤细胞的线粒体功能,进而促进肿瘤细胞的生长^[14],对于肿瘤的远处播散以及浸润均具有重要的意义^[15]。因此,通过对患者的 miR-20a 水平分析,有助于对肺癌患者进行诊断,但单独检测 miR-20a 不足以对肺癌进行确诊。

在对肺癌患者的联合诊断效能的分析中,联合诊断对肺癌患者的诊断特异度高于单独检测,两种方法的诊断可起到互补作用。

参考文献

[1] 汪育锦,黄静宇,胡卫东,等. 2 403 例肺癌临床流行病学分析[J]. 国际肿瘤学杂志,2019,46(8):460-465.

[2] SHRIVASTAVA S,SHRIVASTAVA P S. Exploring the Issue of Tobacco Epidemic and Impairment of Lung Health[J]. MAMC J Med Sci,2019,5(3):154-155.

[3] 冒楷,周晓琪,张海峰. 非小细胞肺癌患者术前 EBUS-TBNA 淋巴结分期与术后病理分期一致性探讨[J]. 现代肿瘤医学,2019,27(7):1158-1160.

[4] 夏贤斌,李坚,汪毅. 血浆 miRNA-20a 和 miRNA-210 对肺癌的诊断价值评价[J]. 江苏大学学报(医学版),2017,27(1):47-52.

[5] 赵宝祥,李华,张亚君,等. 血清癌胚抗原、神经元特异性烯醇化酶、microRNA-20a 和 microRNA-210 联合检测对早期小细胞肺癌的诊断价值[J]. 新乡医学院学报,2019,36(5):452-454.

[6] 中国肺癌防治联盟,中华医学会呼吸病学分会肺癌学组,

中国医师协会呼吸医师分会肺癌工作委员会. 肺癌筛查与管理中国专家共识[J]. 国际呼吸杂志,2019,39(21):1604-1615.

[7] DREWRY J L,LUCK B D,WILLETT R M,et al. Predicting kernel processing score of harvested and processed corn silage via image processing techniques[J]. Comp Electron Agric,2019,160:144-152.

[8] 王泽洲,张扬,莫森,等. 大型单中心医院登记的 7 753 例肺癌手术患者生存报告:基于第 8 版国际肺癌 TNM 分期标准[J]. 中国癌症杂志,2020,30(5):321-327.

[9] BHANDARI S,KUMAR R,PHAM D,et al. Treatment timing in small cell lung cancer,a national cancer database analysis[J]. Am J Clin Oncol,2020,43(5):362-365.

[10] 冀鲲鹏,任基伟,靳宏星. 能谱 CT 扫描在周围型肺癌分型中的应用[J]. 中国医学物理学杂志,2020,37(5):608-611.

[11] 留永健,陈闽江,孙雪峰,等. 临床疑似肺癌纵隔淋巴结转移 EBUS-TBNA 阴性患者的处理[J]. 中国肺癌杂志,2019,22(4):223-227.

[12] 陈坚平,康凯夫,吴国标,等. 应用 EBUS-TBNA 细胞块检查对肺癌的诊断价值及临床意义[J]. 现代医学,2016,44(6):813-815.

[13] REN S,RIVARD C J,YU H,et al. A miRNA panel predicts sensitivity of FGFR inhibitor in lung cancer cell lines[J]. Clin Lung Cancer,2018,19(5):450-456.

[14] SIM J,KIM Y,KIM H,et al. Identification of recurrence-associated microRNAs in stage I lung adenocarcinoma[J]. Medicine(Baltimore),2018,97(25):e10996.

[15] 夏贤斌. 肺癌患者血浆 miRNA-20a 和 miRNA-210 表达的诊断意义[D]. 镇江:江苏大学,2017.

(收稿日期:2020-11-12 修回日期:2021-05-08)

(上接第 2108 页)

[6] GOYAL S N,REDDY N M,PATIL K R,et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes: a clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics[J]. Chem Biol Interact,2016,244:49-63.

[7] ERECEDO-LOPEZ C D,CANTU-ALDANA A,PATEL N J,et al. Insulin in the management of acute ischemic stroke:a systematic review and meta-analysis[J]. World Neurosurg,2020,136:e514-e534.

[8] HOU J,MANAENKO A,HAKON J,et al. Liraglutide,a long-acting GLP-1 mimetic, and its metabolite attenuate inflammation after intracerebral hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2012,32(12):2201-2210.

[9] CANDEIAS E M,SEBASTIAO I C,CARDOSO S M,et al. Gut-brain connection:the neuroprotective effects of the anti-diabetic drug liraglutide[J]. World J Diabetes,2015,6

(6):807-827.

[10] BRIYAL S,SHAH S,GULATI A. Neuroprotective and anti-apoptotic effects of liraglutide in the rat brain following focal cerebral ischemia[J]. Neuroscience,2014,281:269-281.

[11] YU J,NI L,ZHANG X,et al. Surfactant protein D dampens lung injury by suppressing NLRP3 inflammasome activation and NF-κB signaling in acute pancreatitis[J]. Shock,2019,51(5):557-568.

[12] WU X B,SUN H Y,LUO Z L,et al. Plasma-derived exosomes contribute to pancreatitis-associated lung injury by triggering NLRP3-dependent pyroptosis in alveolar macrophages[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2020,1866(5):165685.

(收稿日期:2020-12-20 修回日期:2021-05-09)