

• 论 著 •

# 血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 在非小细胞肺癌中的表达及其诊断价值

魏 萍

中国人民解放军联勤保障部队第九六〇医院肾内科肾病实验中心, 山东济南 250031

**摘要:**目的 探讨血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及其诊断价值。方法 选取 2018 年 1—12 月该院新确诊且未经治疗的 NSCLC 患者 179 例(NSCLC 组)和健康对照组 144 例(健康对照组)作为研究对象,提取各组鉴定血清外泌体并随机将其纳入训练集和验证集,通过 qRT-PCR 检测 NSCLC 患者和健康对照组血清外泌体中 miRNA 的相对表达量,绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线),计算曲线下面积(AUC)。将训练集中筛选出的 NSCLC 组血清外泌体 miRNA 分子,结合目前临床开展的 NSCLC 相关蛋白肿瘤标志物,建立 NSCLC 血清外泌体 miRNA 诊断模型,通过 ROC 曲线下面积评估该模型的诊断效能及与 NSCLC TNM 分期 I、II、III 期的关系。结果 NSCLC 组验证集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 与健康对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。验证集中诊断模型对 NSCLC 诊断的 AUC 为 0.824(95%CI:0.768~0.871),灵敏度为 72.5%,特异度为 72.9%,显著高于验证集中单一分子的 AUC。该诊断模型对 NSCLC 患者 TNM 分期 I 期、II 期、III 期诊断的 AUC 分别为 0.783(95%CI:0.710~0.845)、0.832(95%CI:0.760~0.889)和 0.902(95%CI:0.835~0.948)。结论 血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 对 NSCLC 具有较高的临床诊断价值。

**关键词:**血清外泌体; 非小细胞肺癌; 生物标志物

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.14.018

**中图法分类号:**R734.2

**文章编号:**1673-4130(2022)14-1749-07

**文献标志码:**A

## Serum exosome miR-17-5p and miR-20b-5p in non-small cell lung cancer and its diagnostic value

WEI Ping

Experimental Center for Nephrology, Internal Medicine, the 960th Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Ji'nan, Shandong 250031, China

**Abstract: Objective** To investigate the expression of serum exosome miR-17-5p and miR-20b-5p in non-small cell lung cancer(NSCLC) and its diagnostic value. **Methods** A total of 179 untreated NSCLC patients(NSCLC group) and 144 healthy controls(healthy control group) in this hospital from January to December 2018 were collected as research objects. Serum exosome was extracted and identified in each group and randomly included in the training set and validation set. The relative expression levels of miRNA in serum exosomes of the two groups were detected by qRT-PCR, the receiver operating characteristic curve(ROC curve) was drawn, and the area under the curve(AUC) was calculated. The selected serum exosome miRNA molecules of NSCLC group were combined with the current clinical NSCLC-related protein tumor markers to establish the diagnostic model of NSCLC serum exosome miRNA. The diagnostic efficacy of the model and its relationship with NSCLC TNM stage I, II, III were evaluated by the area under ROC curve. **Results** The serum exosome miR-17-5p and miR-20b-5p in the NSCLC group were compared with those in the healthy control group respectively, the differences were statistically significant(All  $P < 0.05$ ). The AUC of the confirmatory centralized diagnostic model for NSCLC was 0.824(95%CI:0.768—0.871), with a sensitivity of 72.5% and specificity of 72.9%, which were significantly higher than the AUC of the confirmatory centralized single molecule. The AUC of the diagnostic model for stage I, II, III in NSCLC patients were 0.783(95%CI:0.710—0.845) and 0.832(95%CI:0.760—0.889) and 0.902(95%CI:0.835—0.948), respectively. **Conclusion** Serum exosome miR-17-5p and miR-20b-5p have high clinical diagnostic value for NSCLC.

**Key words:** serum exosome; non-small cell lung cancer; biomarker

肺癌是全球发病率高居第二位、病死率位居第一的恶性肿瘤<sup>[1-2]</sup>。肺癌的病理学分类主要分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC),其中 NSCLC 又分为鳞癌(SCC)、腺癌和大细胞癌等,约占肺癌发生率的 80%以上<sup>[3-4]</sup>。外泌体是细胞外囊泡的一个子集,是一种脂质双分子层包裹的小囊泡,直径为 30~150 nm,密度为 1.13~1.21 g/mL,呈球形、扁球形或杯状结构,存在于血清、尿液、唾液、胸腔积液等多种体液中<sup>[5]</sup>。研究表明,在 NSCLC 的微环境中,外泌体 miRNA 在癌症和间质细胞之间的转移已被证明与癌症的发生和进展有关<sup>[6-7]</sup>。外泌体通过 miRNA 在肿瘤细胞间传递遗传信息,从而促进肺癌细胞增殖和转移<sup>[8]</sup>。本研究探讨血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 在 NSCLC 中的表达及其诊断价值,旨在了解外泌体 miRNA 与 NSCLC 的关系,为 NSCLC 的早期诊断提供新的生物标志物。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 1—12 月就诊于中国人民解放军联勤保障部队第九六〇医院,新确诊且未经治疗的 NSCLC 患者 179 例作为 NSCLC 组。纳入标准:(1)采血前 NSCLC 患者未采取手术切除和放疗等治疗;(2)通过手术切除且病理确诊为 NSCLC;(3)NSCLC 患者无其他系统肿瘤;(4)病历相关资料记录完善。另选取在本院体检中心进行体检的健康者 144 例作为健康对照组。纳入标准:(1)年龄 45 周岁以上;(2)影像学及肿瘤标志物检测均未见明显异常;(3)无任何肿瘤相关疾病或其他重大疾病。TNM 分期参照文献<sup>[9]</sup>进行划分。随机将收集的 NSCLC 患者和健康对照者标本分为训练集和验证集,两组临床数据资料包括年龄、性别、淋巴结是否转移、肿瘤最大径和 TNM 分期比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

**1.2 仪器与试剂** CFX-96 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);ExoQuick™ 试剂(美国, SBI 公司);Trizol 试剂和总 RNA 提取试剂(德国, QIA-GEN);逆转录试剂盒、miRNA 引物和 qRT-PCR 试剂(美国 GeneCopoeia 公司);蛋白质定量试剂盒(美国 Thermo 公司);鼠抗人 TSG101 蛋白单克隆抗体

(英国 Abcam);兔抗人 CD9 蛋白单克隆抗体;(美国, CST 公司);辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠和山羊抗兔 IgG(美国, CST 公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 实验设计** 通过检索 PubMed 数据库,根据文献<sup>[10]</sup>报道来自同源的 3 个 miRNA 基因簇,包括 miR-17-92、miR-106a-363、miR-106b-25 家族编码的共 15 个 miRNA,因其在 NSCLC 患者的支气管肺泡灌洗液中高表达,所以将其作为候选分子。分子成员见表 2。

表 1 两组训练集和验证集的临床特征比较(n)

组别	训练集(n=96)	验证集(n=227)	P
健康对照组	48	96	
年龄(岁)			0.349
≤52	27	46	
>52	21	50	
性别			0.240
男	19	48	
女	29	48	
NSCLC 组	48	131	
年龄(岁)			0.575
≤61	23	69	
>61	25	62	
性别			0.132
男	31	68	
女	17	63	
肿瘤最大径(cm)			0.706
≤3	29	75	
>3	19	56	
组织学类型			0.256
鳞癌	15	30	
腺癌	33	101	
TNM 分期			0.419
I 期	19	59	
II 期	17	46	
III 期	12	26	
是否淋巴结转移			0.685
否	16	48	
是	32	83	

表 2 3 个 miRNA 簇的分子成员

miRNA 簇	染色体	miRNA 分子
miR-17-92	13	miR-17、miR-18a、miR-19a、miR-19b-1、miR-20a、miR-92a-1
miR-106a-363	X	miR-106a、miR-18b、miR-19b-2、miR-20b、miR-92a-2、miR-363
miR-106b-25	7	miR-106b、miR-93、miR-25

**1.3.2 血清外泌体的提取和鉴定** (1)血清外泌体的提取。加入 63 μL ExoQuick™ 沉淀剂,加冰 4 ℃ 冰箱放置 30 min。4 ℃、1 500 r/min 离心 30 min。

倒掉上清,继续离心 5 min,吸掉上清液。加入 50 μL 磷酸盐缓冲液,振荡吹打混匀将外泌体悬浮。用于下一步 RNA 的提取、外泌体鉴定或储存于-80 ℃ 冰箱

待用。(2)透射电子显微镜鉴定血清外泌体。首先将待鉴定的血清外泌体样本分别进行 50× 和 100× 稀释,取 15 μL 样本滴于碳膜铜网上,小心夹住铜网,吸附 1 min。将铜网置于滤纸上,以吸去多余的样本。滴入配制好的 2% 醋酸双氧铀染液 15 μL 进行负染 1 min,将铜网放在灯下烘烤 10 min 进行观察。(3)纳米颗粒跟踪分析 (NTA) 技术。用磷酸盐缓冲液 1 : 10 000 重悬外泌体,将样品注射到纳米颗粒跟踪分析仪器中,根据利用光散射和布朗运动的特性对样本进行粒径和浓度分析。重复检测样本两次。(4)蛋白质免疫印迹 (Western Blot) 鉴定外泌体表面标志蛋白 CD9 和 TSG101 将提取好的外泌体及去除外泌体的血清蛋白样品加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 蛋白裂解液进行裂解。按照蛋白质定量试剂盒进行蛋白定量。利用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白,转至聚偏二氟乙烯膜上后,用新鲜的 5% 脱脂奶粉封闭。孵育 CD9 和 TSG101 的第一抗体和第二抗体。使用电化学发光法显色、曝光。

**1.3.3 提取血清外泌体 RNA、逆转录和 qRT-PCR** 根据文献[11-12]报道,选用 miR-16-5p 作为血清外泌体中每种 miRNA 的 qRT-PCR 内参照。通过克隆测序验证 miRNA 特异性扩增产物。qRT-PCR 引物序列列表 3。

引物	序列
hsa-miR-106a-5p	GTGCTTACAGTGCAGGTAGAA
hsa-miR-106b-5p	TAAAGTGCTGACAGTGCAGATAAA
hsa-miR-93-5p	CAGCACGTAAATATTGGCGA
hsa-miR-17-5p	GTGCTTACAGTGCAGGTAGAA
hsa-miR-18a-5p	GTGCATCTAGTGCAGATAGAA
hsa-miR-18b-5p	GTGCATCTAGTGCAGTTAGAA
hsa-miR-19a-3p	CAAATCTATGCAAAACTGAAA
hsa-miR-19b-1-5p	CAGGTTTGCATCCAGCAAAA
hsa-miR-19b-2-5p	TGCAGGTTTGCATTTCAAAA
hsa-miR-20a-5p	TAAAGTGCTTATAGTGCAGGTAGAA
hsa-miR-20b-5p	CAAAGTGCTCATAGTGCAGGTAGA
hsa-miR-25-3p	TGCACTTGCTCTCGGTCTGAAA
hsa-miR-363-3p	AATTCACGGTATCCATCTGTAAAA
hsa-miR-92a-1-5p	GGATCGGTTGCAATGCTAAAA
hsa-miR-92a-2-5p	GGGGATTGTGTCATTACAAAA

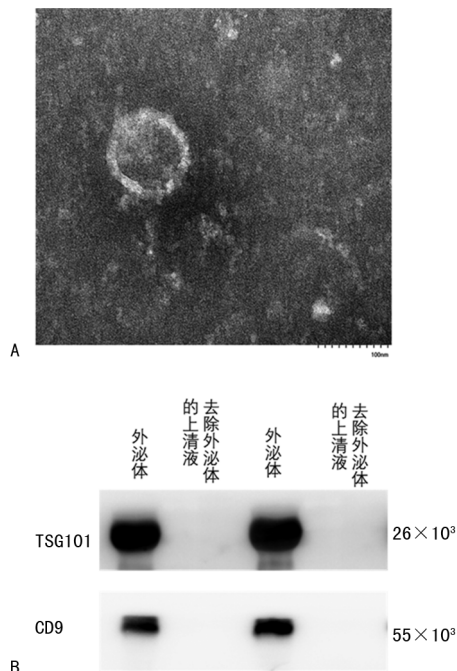
**1.3.4 常见肿瘤标志物的检测** 血清鳞状细胞癌抗原 (SCCA) 通过雅培 i1000 化学发光仪及其配套试剂检测;血清癌胚抗原 (CEA) 和细胞角蛋白 19 片段 (CYFRA21-1) 通过罗氏 Cobas e601 全自动电化学发光仪及其配套试剂检测。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS23.0 统计软件进行数

据处理。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算每个样本中每个 miRNA 分子的相对表达量。非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,并采用非参数 Mann-Whitney U 检验进行统计分析。利用 GraphPad Prism 5 软件绘制散点图;利用 MedCalc9.6.4.0 软件绘制受试者工作特征曲线 (ROC 曲线)、计算曲线下面积 (AUC),计算差异表达的 miRNA 对 NSCLC 的诊断效能。利用软件 MATLAB 运用 Logistic 回归分析建立 NSCLC 诊断模型。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 鉴定血清外泌体** 外泌体经醋酸双氧铀水溶液染色后,置于低分辨率透射电镜下观察,视野内可见具有囊状双层脂质膜结构的圆形颗粒,直径约为 100 nm,见图 1A。Western Blot 在提取的血清沉淀物中成功鉴定出外泌体表面标志蛋白 CD9、TSG101 (见图 1B),而这两种外泌体表面标志蛋白在去除沉淀的上清液中呈低表达。通过 NTA 技术观察外泌体样品粒径大小及颗粒浓度,结果显示颗粒直径为 30~200 nm 占 99.5%,分散均一,呈单峰正态分布曲线,峰值约为 115.2 nm。以上结果表明,利用此方法可以从血清中分离出完整的外泌体,为下一步研究血清外泌体中的生物标志物提供了基础保证。



注:A 为透射电镜下外泌体形态;B 为 Western Blot 实验鉴定表面标志蛋白 CD9 和 TSG101 在血清外泌体和去除外泌体的血清上清液中的表达情况。

图 1 血清外泌体的鉴定

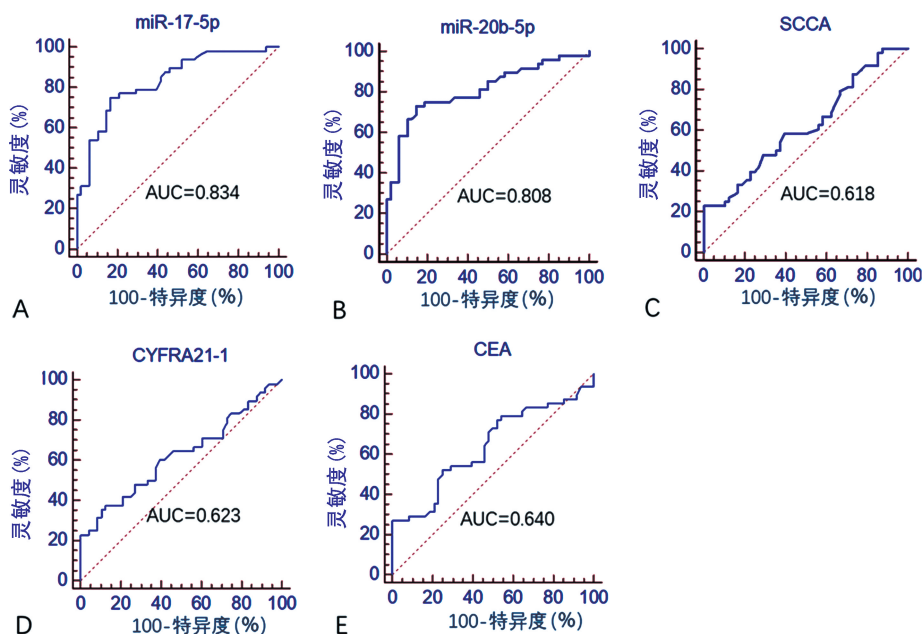
**2.2 两组训练集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 相对表达量比较** 两组训练集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 相对表达量比较见表 4。ROC 曲线分析显示,miR-17-5p 的 AUC 为 0.834 (95% CI: 0.744 ~ 0.902),灵敏度为 75.0%,特异度为 83.3%。miR-20b-5p 的 AUC 为 0.808 (95% CI: 0.715 ~

0.881), 灵敏度为 72.9%, 特异度为 85.4%。见图 2。  
**2.3 两组验证集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 相对表达量比较** NSCLC 组验证集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 与健康对照组比较, 差异有统计学意义(均  $P < 0.0001$ , 见表 5)。ROC 曲线分

析显示, miR-17-5p 的 AUC 为 0.784 (95% CI: 0.725~0.836), 灵敏度为 71.0%; 特异度为 75.0%, miR-20b-5p 的 AUC 为 0.756 (95% CI: 0.695~0.810), 灵敏度为 68.7%; 特异度为 75.0%。见图 3。

表 4 两组训练集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 相对表达量比较 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

miRNA	健康对照组 (n=48)	NSCLC 组 (n=48)	P
hsa-miR-17-5p	1.015(0.618, 1.270)	2.275(1.353, 3.233)	<0.0001
hsa-miR-18a-5p	1.185(0.465, 1.895)	1.150(0.930, 2.140)	0.5733
hsa-miR-19a-3p	1.555(0.160, 6.343)	3.620(0.523, 8.560)	0.1245
hsa-miR-19b-1-5p	1.710(0.153, 4.353)	3.280(0.975, 5.860)	0.0898
hsa-miR-20a-5p	0.985(0.578, 1.630)	1.340(0.898, 2.023)	0.1200
hsa-miR-92a-1-5p	0.970(0.435, 2.470)	2.010(1.048, 3.610)	0.0640
hsa-miR-106a-5p	0.975(0.545, 1.888)	1.100(0.633, 2.145)	0.4223
hsa-miR-18b-5p	0.990(0.130, 14.122)	0.750(0.215, 4.605)	0.6075
hsa-miR-19b-2-5p	2.520(0.123, 5.173)	2.460(0.470, 6.538)	0.4244
hsa-miR-20b-5p	1.295(0.948, 1.770)	2.385(1.628, 3.230)	<0.0001
hsa-miR-92a-2-5p	1.795(0.108, 4.913)	3.995(0.453, 7.505)	0.0627
hsa-miR-363-3p	0.950(0.350, 2.708)	1.380(0.580, 2.850)	0.2200
hsa-miR-106b-5p	0.860(0.520, 2.160)	1.180(0.590, 2.460)	0.4779
hsa-miR-93-5p	1.155(0.398, 2.160)	1.470(0.768, 2.733)	0.1157
hsa-miR-25-3p	1.150(0.418, 2.423)	1.090(0.425, 3.738)	0.5214



注: A~E 依次为 NSCLC 组训练集血清外泌体 miR-17-5p、miR-20b-5p、SCCA、CYFRA21-1 和 CEA 对 NSCLC 诊断的 ROC 曲线。

图 2 NSCLC 组训练集 ROC 曲线分析

**2.4 建立 NSCLC 血清外泌体 miRNA 诊断模型及诊断效能** 在训练集中, 将 NSCLC 组筛选的血清外泌体中 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 和血清 SCCA、CYFRA21-1 和 CEA 的相对表达量通过 Matlab 软件进行 Logistic 多元回归分析, 建立 NSCLC 血清外泌体

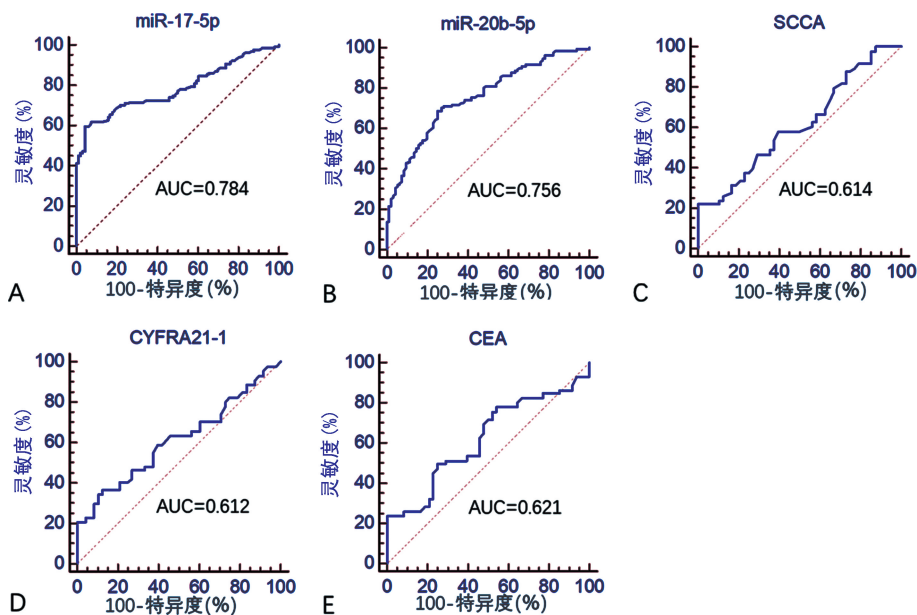
miRNA 诊断模型, 公式如下:  $\text{logit}(P) = 1.3713 - (0.3739 \times \text{miR-17-5p}) - (0.1758 \times \text{miR-20b-5p}) - (0.0468 \times \text{CEA}) - (0.0206 \times \text{CYFRA21-1}) - (0.0821 \times \text{SCCA})$ 。采用 ROC 曲线分析建立的模型对 NSCLC 的诊断效能, 其 AUC 为 0.914 (95% CI:

0.839~0.961), 灵敏度为 0.916, 特异度为 0.833。此模型对 NSCLC 的诊断效能优于其中任何一个单个分子。将分析得出的 NSCLC 血清外泌体 miRNA 诊断模型代入验证集中进一步验证其诊断效能。验证集中诊断模型对 NSCLC 诊断的 AUC 为 0.824(95% CI: 0.768~0.871), 灵敏度为 72.5%, 特异度为

72.9%, 显著高于验证集中单一分子的 AUC。该诊断模型对 TNM 不同分期的 NSCLC 患者进行诊断, 其对 NSCLC 患者 TNM 分期 I 期、II 期、III 期诊断的 AUC 分别为 0.783(95% CI: 0.710~0.845)、0.832(95% CI: 0.760~0.889) 和 0.902(95% CI: 0.835~0.948)。见图 4。

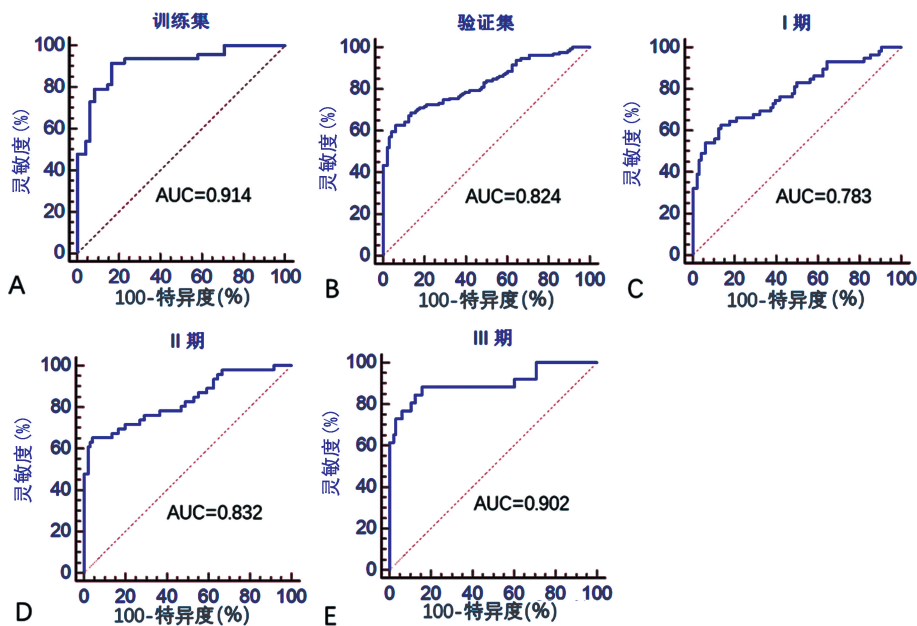
表 5 两组验证集血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 相对表达量比较[M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

miRNA	健康对照组(n=96)	NSCLC 组(n=131)	P
hsa-miR-17-5p	1.110(0.538, 1.395)	3.140(1.140, 11.880)	<0.000 1
hsa-miR-20b-5p	1.095(0.593, 1.950)	2.430(1.270, 4.080)	<0.000 1



注: A~E 依次为 NSCLC 组验证集血清外泌体 miR-17-5p、miR-20b-5p、SCCA、CYFRA21-1 和 CEA 对 NSCLC 诊断的 ROC 曲线。

图 3 NSCLC 组验证集 ROC 曲线分析



注: A 为训练集的诊断模型 ROC, B 为验证集的诊断模型 ROC。C、D、E 图分别为诊断模型对非小细胞肺癌 TNM 分期 I 期、II 期、III 期的诊断效能。

图 4 使用诊断模型绘制 ROC 曲线

### 3 讨 论

研究者指出, NSCLC 初步诊断后, 大多数 TNM 分期 I ~ II 期患者可从手术切除中获益, 而晚期患者多选择非手术治疗, 预后较差<sup>[13]</sup>。目前 CT 平扫已广泛用于健康查体中, 虽能筛选及早发现肺内小结节, 但容易漏检早期不典型的肺癌, 且受到费用高、辐射性等方面制约。因此, 寻找更有效的诊断早期 NSCLC 的生物标志物至关重要。

相对于传统组织活检, 血清外泌体检测可重复操作, 患者无痛苦, 可用作监测病情发展及预后的指标<sup>[14]</sup>。相对于冗长复杂的超速离心法提取外泌体, 本研究采用的聚合物共沉淀分离外泌体, 具有较高的提取率, 且操作简便、快捷。沉淀后, 这些外泌体可以通过在离心机进行简单的低速离心进行回收<sup>[15]</sup>。

本研究运用了透射电子显微镜、NTA 技术和 Western Blot 3 种方法验证利用聚合物共沉淀可以成功提取完整的外泌体。透射电镜下可见具有囊状双层脂质膜结构的圆形颗粒, 直径约为 100 nm, 具有茶托样结构的囊泡样物质。Western Blot 在提取的血清沉淀物中成功鉴定出外泌体表面标志蛋白 CD9、TSG101, 而这两种外泌体表面标志蛋白在去除沉淀的上清中呈低表达。通过 NTA 技术观察外泌体, 结果显示颗粒直径分布于 30~200 nm 范围占 99.5%, 分散均一, 呈单峰正态分布曲线, 峰值约为 115.2 nm。以上结果表明, 利用沉淀法可以从血清中分离出完整的外泌体, 为下一步研究血清外泌体中的生物标志物提供了基础保证。

本研究评估了血清外泌体中 miRNA 作为诊断 NSCLC 的生物标志物的潜在应用价值。有研究表明, 不同的 miRNA 表达谱在 NSCLC 中被鉴定和验证, miRNA 作为肺癌诊断和预后的生物标志物的具有潜在的应用价值<sup>[16]</sup>。本研究的 15 个 miRNA 分子来自同源的 3 个 miRNA 簇。大多数的报道都只研究 1 种 miRNA 的作用, 而对于同源 miRNA 簇作为分子标志物的研究并不多。已有报道, NSCLC 患者的肿瘤组织和血清中 miR-17-5p 相对表达量较健康对照者高表达<sup>[17]</sup>, 与本研究结果相一致。本研究将筛选出的训练集中的 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 两个分子, 联合 CEA、CYFRA21-1 和 SCCA 建立针对 NSCLC 诊断的新模型, 对训练集和验证集中 NSCLC 诊断效能均较高, 并且随着 TNM 分期的递增, 该诊断模型对 TNM 分期 I 期、II 期、III 期的诊断效能逐渐增强, AUC 逐渐增大。

本研究血清外泌体中 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 对 NSCLC 的诊断效能均高于目前临床开展的蛋白肿瘤标志物(SCCA、CYFRA21-1 和 CEA), 有发展为临床应用的诊断 NSCLC 生物标志物的潜力。对于血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 与临床病理参数的

相关性得出的结论, 在后续的研究中将进一步扩大样本量, 验证其相关性。

本研究 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 在 NSCLC 血清外泌体中呈现高表达的趋势, 可能与其研究选取的样本类型、受试对象的人群特征、所采取的实验设计方式等不同有关。

综上所述, 本研探讨 NSCLC 患者血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 的表达并分析其临床诊断价值, 发现 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 是潜在的诊断 NSCLC 的生物标志物。由血清外泌体 miR-17-5p 和 miR-20b-5p 联合血清 SCCA、CYFRA21-1 和 CEA 建立的 NSCLC 诊断模型, 对于 NSCLC 具有较高的诊断效能, 并与 TNM 分期具有重要的关系, 是理想的诊断模型。也为进一步研究其在 NSCLC 中的作用机制和临床意义奠定基础。

### 参考文献

- [1] IMYANITOV E N, IYEVLEVA A G, LEVCHENKO E V. Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: current status and perspectives[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2021, 157(1):103194.
- [2] BRAY F I, FERLAY J, SOER JOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424
- [3] TRAVIS W D, BRAMBILLA E, BURKE A P, et al. Introduction to the 2015 World Health organization classification of tumors of the lung, pleura, thymus, and heart [J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(9):1240-1242.
- [4] TRAVIS W D, BRAMBILLA E, NICHOLSON A G, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification[J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(9):1243-1260.
- [5] KOWAL J, TKACH M, THÉRY C. Share biogenesis and secretion of exosomes[J]. Curr Opin Cell Biol, 2014, 29(1):116-125.
- [6] ZHANG X, SAI B, WANG F, et al. Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells via STAT3-induced EMT[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1):40.
- [7] XU Z, LIU X, WANG H, et al. Lung adenocarcinoma cell-derived exosomal miR-21 facilitates osteoclastogenesis [J]. Gene, 2018, 666(1):116-122.
- [8] SUN Z, SHI K, YANG S, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1):147.
- [9] LIM W, RIDGE C A, NICHOLSON A G, et al. The 8th lung cancer TNM classification and clinical staging system: review of the changes and clinical implications[J]. Quant Imaging Med Surg, 2018, 8(7):709-718.

- Med, 2019, 42(1):1-9.
- [2] 何馨怡, 李梦兰, 谢青青, 等. 系统性红斑狼疮患者的生活质量现状和影响因素[J]. 西部医学, 2020, 32(9):1395-1398.
- [3] 罗帅寒天, 龙海, 张桂英, 等. 2019 年系统性红斑狼疮研究新进展[J]. 中华皮肤科杂志, 2021, 54(2):183-186.
- [4] 袁媛, 赵毅, 刘毅. 中性粒细胞凋亡在系统性红斑狼疮发病机制的研究进展[J]. 西部医学, 2017, 29(7):1018-1022.
- [5] 马海航, 郜赵伟, 赵冠华, 等. 腺苷脱氨酶及同工酶对自身免疫病诊断和病情监测的作用[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(23):4427-4431.
- [6] VALADBEIGI S, SAGHIRI R, EBRAHIMI-RAD M, et al. Adenosine deaminase activity and HLA-DRB as diagnostic markers for rheumatoid arthritis[J]. *Curr Rheumatol Rev*, 2019, 15(1):44-49.
- [7] 李墨. 联合检测腺苷脱氨酶与 C-反应蛋白对儿童社区获得性肺炎的鉴别诊断意义[J]. 中国社区医师, 2020, 36(29):44-45.
- [8] 张绍君, 李俊巧, 张永刚, 等. 系统性红斑狼疮患者血清 PS-PLA1、CCL19 水平与疾病活动度及免疫功能的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(11):1143-1146.
- [9] 康晓燕. 支气管哮喘患者血清趋化因子 CCL19、CCL21 与病情的相关性[J]. 实验与检验医学, 2020, 38(3):550-552.
- [10] VASQUEZ-CANIZARES N, WAHEZI D, PUTTERMAN C. Diagnostic and prognostic tests in systemic lupus erythematosus[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2017, 31(3):351-363.
- [11] 中华医学会风湿病学分会. 系统性红斑狼疮诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 22(5):342-346.
- [12] 庞杰, 张宗芳, 李艳霞, 等. 血清补体 C5a 水平和红细胞沉降率与系统性红斑狼疮疾病活动度及预后的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(11):1110-1113.
- [13] GERGIANAKI I, BORTOLUZZI A, BERTSIAS G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2018, 32(2):188-205.
- [14] 周廷栋, 杨凯, 陈礼文, 等. 红细胞分布宽度对系统性红斑狼疮疾病活动度评估的临床价值[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(12):1871-1875.
- [15] 蒋莉, 周秋曦, 何朗, 等. 血浆 LDH 与胸腔积液 ADA 的比值在恶性胸腔积液中的诊断价值[J]. 西部医学, 2018, 30(1):31-34.
- [16] KOH M J, LEE I J, KIM J H. Can pleural adenosine deaminase(ADA) levels in pleural tuberculosis predict the presence of pulmonary tuberculosis: a CT analysis[J]. *Clin Radiol*, 2016, 71(6):617.
- [17] 程卫东, 王纪敏. 血清 MBP、CGRP、ADA 及 CK-BB 在化脓性脑膜炎中的表达及意义[J]. 脑与神经疾病杂志, 2020, 28(8):490-493.
- [18] 文琼花, 唐敏云, 魏玉, 等. 血清腺苷脱氨酶和淀粉样蛋白 A 辅助诊断自身免疫性肝炎患者临床价值分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2020, 23(4):508-511.
- [19] 赵冠华, 郜赵伟, 张惠中. 血清腺苷脱氨酶检测在自身免疫性疾病诊断中的应用价值研究进展[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1):160-164.
- [20] HAUSER M A, LEGLER D F. Common and biased signaling pathways of the chemokine receptor CCR7 elicited by its ligands CCL19 and CCL21 in leukocytes[J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 99(6):869-882.
- [21] 刘洪江, 石连杰, 胡凡磊, 等. 趋化因子配体 19 在系统性红斑狼疮中的表达及其与 B 细胞异常的相关性研究[J/CD]. 北京大学学报(医学版), 2017, 49(5):829-834.
- [22] 林丽. CCL19 在类风湿关节炎中的表达及与 T 细胞亚群相关性[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2018, 32(5):420-422.

(收稿日期:2021-06-15 修回日期:2022-07-06)

(上接第 1754 页)

- [10] MOLINA-PINELO S, PASTOR M D, SUAREZ R, et al. MicroRNA clusters: dysregulation in lung adenocarcinoma and COPD[J]. *Eur Respir J*, 2014, 43(6):1740-1749.
- [11] DEJIMA H, IINUMA H, KANAOKA R, et al. Exosomal microRNA in plasma as a non-invasive biomarker for the recurrence of non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(3):1256-1263.
- [12] UOTANI K, FUJIWARA T, YOSHIDA A, et al. Circulating microRNA-92b-3p as a novel biomarker for monitoring of synovial sarcoma[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):14634.
- [13] RECK M, RABE K F. Precision diagnosis and treatment for advanced non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(9):849-861.
- [14] BANYS-PALUCHOWSKI M, KRAWCZYK N, FEHM T. Liquid biopsy in breast cancer[J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2020, 80(11):1093-1104.
- [15] LI P, KASLAN M, LEE S H, et al. Progress in exosome isolation techniques[J]. *Theranostics*, 2017, 7(3):789-804.
- [16] MA Z L, ZHANG B J, WANG D T, et al. Tanshinones suppress AURKA through up-regulation of miR-32 expression in non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24):20111-20120.
- [17] JIANG Z, YIN J, FU W, et al. MiRNA 17 family regulates cisplatin-resistant and metastasis by targeting TGF-betaR2 in NSCLC[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94639.

(收稿日期:2021-11-05 修回日期:2022-06-29)