

血清 miR-501-3p 对肺磨玻璃结节良恶性鉴别诊断的预测价值

皇改改¹ 冯昊² 闫兰芳¹ 周宇¹ 通讯作者

1.成都市双流区第一人民医院医学检验科

2.成都市双流区第一人民医院胸外科

DOI:10.32629/bmtr.v8i2.18889

[摘要] 目的：探讨血清 miR-501-3p 在肺磨玻璃结节 (GGN) 良恶性鉴别中的诊断价值。方法：收集 2022.10-2024.09 在成都市双流区第一人民医院确诊的 GGN 患者 160 例，分为良性组 (GGN-BN) 和恶性组 (GGN-LUAD) 各 80 例；另取健康对照 (Normal) 80 例。qRT-PCR 检测血清 miR-501-3p 水平，并结合 TCGA 数据库及自建组织样本验证其表达差异。ROC 曲线分析 miR-501-3p 区分 GGN 良恶性的诊断效能，生存分析评估预后价值。多因素 Logistic 回归分析 miR-501-3p 鉴别诊断 GGN 良恶性的影响因素。结果：miR-501-3p 在 GGN-LUAD 血清和组织中显著低于 GGN-BN 组 ($P < 0.01$)，Normal 组与 GGN-BN 组间无显著差异。miR-501-3p 区分 GGN-LUAD 与 GGN-BN 的曲线下面积 (AUC) 为 0.771 (95%CI: 0.700 - 0.843)。miR-501-3p 低表达患者总生存期较短 ($P = 0.332$)。在控制年龄、性别、结节位置等影响因素后，miR-501-3p 表达水平升高是 GGN 恶性风险的保护因素 ($OR = 0.46, P = 0.001$)。结论：miR-501-3p 低表达与 GGN 恶性风险升高及不良预后相关，血清 miR-501-3p 对 GGN 良恶性鉴别具有一定的临床预测价值。

[关键词] 肺磨玻璃结节；良恶性；miR-501-3p；鉴别诊断
中图分类号：R734.2 文献标识码：A

Predictive Value of Serum miR-501-3p in the Differential Diagnosis of Benign and Malignant Pulmonary Ground-Glass Nodules

Gaigai Huang¹, Hao Feng², Lanfang Yan¹, Yu Zhou¹ ¹Corresponding Author

1 Department of Clinical Laboratory, The First People's Hospital of Shuangliu District

2 Department of thoracic surgery, The First People's Hospital of Shuangliu District

[Abstract] Objective: To investigate the diagnostic value of serum miR-501-3p in differentiating the benign and malignant pulmonary ground-glass nodules (GGNs). Methods: 160 patients with pathologically confirmed GGNs who were admitted to the First People's Hospital of Shuangliu District from October 2022 to September 2024 were enrolled, including 80 benign cases (GGN-BN) and 80 malignant lung adenocarcinoma cases (GGN-LUAD). 80 healthy individuals served as the Normal control group. Serum miR-501-3p levels were measured, and its expression differences were further validated using TCGA data and local tissue samples. The diagnostic performance of miR-501-3p for differentiating GGN-LUAD from GGN-BN was evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, and its prognostic significance was assessed by survival analysis. Multivariate logistic regression was performed to analyze other factors influencing the ability of miR-501-3p to differentiate between benign and malignant GGNs. Results: miR-501-3p expression was significantly lower in the serum and tissues of GGN-LUAD patients compared with the GGN-BN group ($P < 0.01$), while no significant difference was observed between the Normal and GGN-BN groups. The area under the ROC curve (AUC) for miR-501-3p distinguishing GGN-LUAD from GGN-BN was 0.771 (95% CI: 0.700 - 0.843). Patients with low miR-501-3p expression had shorter overall survival ($P = 0.332$). Elevated expression level of miR-501-3p is a protective factor for the malignant risk of GGNs ($OR = 0.46, P = 0.001$) with the control of confounding factors such as age, sex, and nodule location.

Conclusion: miR-501-3p is downregulated in GGN-LUAD, and low expression is associated with increased malignancy risk and poor prognosis. Serum miR-501-3p demonstrates clinical utility in differentiating malignant from benign ground-glass nodules.

[Key words] GGNs; Benign; Malignant; miR-501-3p; Differential diagnosis

引言

肺癌是全球癌症死亡的首位病因^[1],其分期与预后呈正相关。75%以上患者在确诊时已为中晚期,5年生存率仅为10%~20%;早期诊断I期患者的5年生存率可显著提高,约为68%~92%^[2]。低剂量计算机断层扫描(low-dose computed tomography, CT)的推广应用显著提高了肺磨玻璃结节(ground-glass nodules, GGN)的检出率^[3],已被证实高危人群中肺癌早期检出具有重要价值。GGN是指直径小于3cm、局灶性、边界清晰且被肺组织完全包绕的影像学致密影,包括纯磨玻璃结节(pure ground-glass nodules, pGGN)及混合磨玻璃结节(mixed ground-glass nodules, mGGN),因其潜在的恶性风险及影像学特征的异质性,临床诊断仍面临较大挑战^[4]。2024年中国肺结节诊治专家共识建议对高危结节进行多学科评估,早期准确判断GGN良恶性,并根据特征选择随访或手术。因此,亟需建立针对GGN的无创诊断方法及恶性风险评估策略。

微小RNA(microRNA, miRNA, miR)是一类非编码小分子RNA,在转录后水平调节基因表达。研究发现,诸多miRNA通过各种信号传导途径在肺癌的发生发展、诊断及预后中均发挥了重要作用,具有成为新型生物标志物的巨大潜力^[5]。LU等人(2020)报道,miR-501-3p在非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)中通过下调RAP1A抑制NSCLC细胞增殖与侵袭能力^[6]。而另一项研究发现,M2巨噬细胞来源的外泌体miR-501-3p通过靶向WD重复结构域82促进肺癌细胞株增殖加快、迁移侵袭增强^[7]。本课题组前期筛查了术前检查CT影像表现为GGN,经外科手术切除且病理证实为肺腺癌(Lung adenocarcinoma, LUAD)的IA和MIA早期病例患者(本文中统称为GGN肺腺癌(GGN-LUAD))血清中miR-501-3p的表达下调,此外,TCGA数据的分析显示miR-501-3p的表达增加与肺癌患者整体的生存曲线呈正相关。鉴于此,本研究以miR-501-3p作为出发点,探究其血清负载量的高低是否对有效区分GGN-LUAD与GGN良性病变患者有一定的诊断预测价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取自2022年10月至2024年9月就诊于成都市双流区第一人民医院的160例病理明确的肺部磨玻璃结节(GGN)患者作为研究对象,将肺部结节病理诊断作为金标准,依据病理结果将研究对象分为良性组80例(GGN-BN组),包

括肺良性病变、肺良性肿瘤、肺炎性假瘤、肺结核球;恶性组80例(GGN-LUAD组),均为IA/MIA期肺腺癌;同时选择在医院进行健康体检的80例体检者作为对照组(Normal组)。病例数样本估算公式如下: $n = u_{\alpha}^2 p(1-p) / \delta^2$,公式中p为敏感度或特异度, δ 为允许波动的范围, α 为第一类错误的概率,u值由u界值表查得。恶性组样本量由敏感性估计,良性组样本量由特异性估计。

纳入标准:1)CT诊断符合2018年版《肺结节诊治中国专家共识》,小于等于3cm的含有磨玻璃成分结节,术后病理诊断明确的肺结节患者;2)术前CT影像表现为GGN,且在本院行手术切除并留有完整病例资料;3)既往无肿瘤病史,术前检查未发现转移证据。排除标准:1)既往接受过肺癌抗肿瘤治疗或手术治疗的患者;2)存在可能引起研究项目中血液学结果异常的系统疾病:如严重感染、血液病、免疫性疾病活动期、肝肾功能衰竭等;3)合并其他部位原发肿瘤或转移瘤者。本研究的正常肺组织标本来源于肺大疱患者,排除合并其他基础疾病患者。本研究通过医院伦理委员会审核批准(批准号:2022-KS-10),患者均签署知情同意书。

1.2 主要方法

1.2.1 标本采集

血清标本:抽取所有研究对象入院当天的空腹静脉血5~8mL,4℃条件下,1500g离心15min,分离上层血清,在-80℃环境中保存,待检。组织标本:术中取下肺组织后,用生理盐水漂洗数次,立即投入液氮保存,待收集到一定数量,取出用于实验。标本信息统一记录,以备后续分析。

1.2.2 miR-501-3p的检测

组织及血清总RNA采用TRIzol试剂(Life Technologies,美国)提取。miRNA反转录采用Bulge-Loop™ miRNA特异性反转录引物及逆转录试剂盒(RiboBio,中国)得到cDNA,然后采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR),在PCR仪(BioRad, CFX Opus 96)中对获得的标本中miR-501-3p进行定量检测。95℃预变性10分钟、95℃2秒、60℃20秒、70℃10秒,进行40个循环的扩增,样品均设置3个平行孔、取其平均值作为最终循环数。U6作内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示miR-501-3p的相对表达量。

1.2.3 数据统计分析

利用SPSS 25.0统计学软件对数据对比和分析。使用软

件 GraphPad Prism10.0 分析实验数据并作图。应用 t 检验(非参数检验)来比较两组数值的差异;多组间比较采用单因素方差分析。计数资料数据利用百分比进行表示,在比较两组数据时使用卡方检验。多因素 Logistic 回归分析 miR-501-3p 鉴别诊断 GGN 良恶性的影响因素。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果:新型 miRNA 标志物 miR-501-3p 能有效区分 GGN 良恶性

本研究纳入来自我院的 160 例 GGN 患者,包括 80 例 GGN 良性组(GGN-BN)、80 例 GGN 恶性组(GGN-LUAD)及同时期健康体检的 80 例体检患者(图 1),研究患者的基线临床特征及所有磨玻璃结节(GGNs)的影像学特征汇总于表 1,患者年龄、性别、结节特征均无统计学差异;具有代表性的 CT 影像学表现见图 2;同时我们收集了来自 TCGA 数据库的 244 份肺腺癌组织样本的数据,以及 20 例来自 GGN-LUAD 组经病理分析验证为肺腺癌的肿瘤组织及非配对的 20 例正常肺组织。

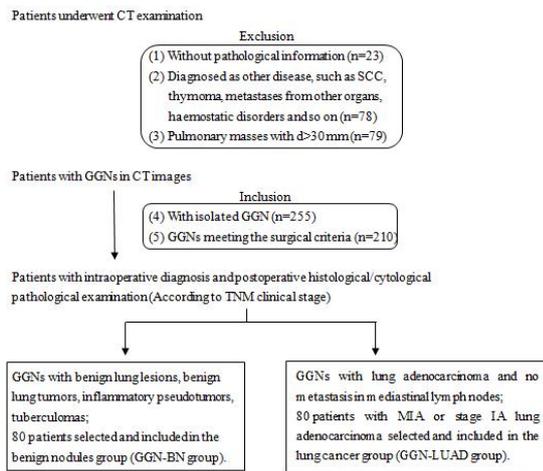


图 1 研究流程图

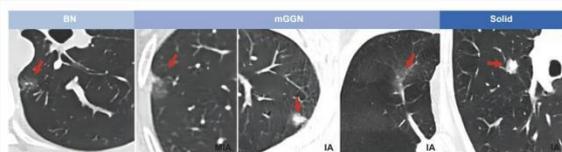


图 2 具有代表性的 CT 影像学表现

在肺腺癌组织与肺良性病变组织、正常肺组织的非配对样本比较中显示,miR-501-3p 表达水平与 GGN 良恶性显著相关。组织(图 3A)和血清(图 3B)中均观察到,与 GGN-BN 组相比,GGN-LUAD 组中绝大多数肿瘤的 miR-501-3p 表达显著降低;正常组的 miR-501-3p 水平无明显差异。受试者工作特征(ROC)曲线分析显示,miR-501-3p 区分 GGN-LUAD 患者与 GGN-BN 患者的曲线下面积(AUC)为

0.771 (95% CI: 0.700 - 0.843) (图 3C)。生存分析表明,miR-501-3p 高表达肺腺癌患者的总生存期(overall survival, OS)短于低表达患者(图 3D)。且在控制年龄、性别、结节位置等影响因素后,miR-501-3p 表达水平与 GGN 恶性风险呈显著负相关(OR=0.46, P=0.001),为保护因素(表 2)。

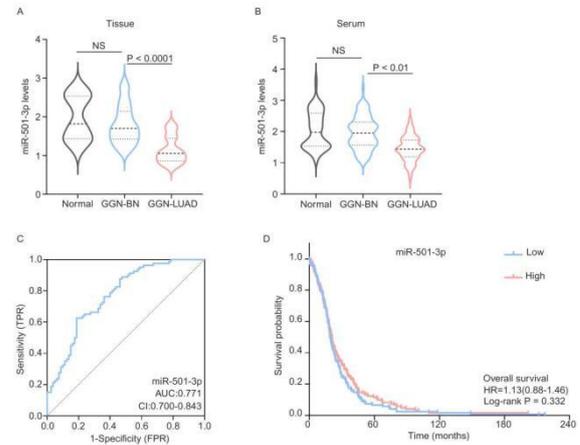


图 3 新型 miRNA 标志物 miR-501-3p 能有效区分 GGN 良恶性

表 1 研究患者的基线临床特征

Characteristics	GGN-BN (n=80)	GGN-LUAD (n=80)	p value
Sex			0.520
Male	35(43.8%)	30(37.5%)	
Female	45(56.2%)	50(62.5%)	
Age(years),median(average)	60.0(32-80)	58.5(29-76)	0.430
Nodule classification			0.170
pGGN	11(13.8%)	20(25.0%)	
PSN	31(38.7%)	30(37.5%)	
Solid	38(47.5%)	30(37.5%)	
Nodule location			0.130
RUL	28(35.0%)	15(18.8%)	
RML	9(11.3%)	9(11.2%)	
RLL	11(13.7%)	16(20.0%)	
LUL	19(23.8%)	29(36.2%)	
LLL	13(16.2%)	11(13.8%)	
Nodule diameter (cm)	1.47±0.36	1.49±0.32	0.710
Pathology			
MIA	-	28(35.0%)	
IA	-	52(65.0%)	
pulmonary inflammatory pseudotumor	65(81.3%)	-	
lung benign lesion	9(11.2%)	-	
pulmonary benign tumors	4(5.0%)	-	
Tuberculosis	2(2.5%)	-	

表2 miR-501-3p 鉴别诊断 GGN 良恶性的影响因素

Factor	OR	95%CI	p 值
miR-501-3p	0.46	0.30 - 0.72	0.001
Sex	1.03	1.01 - 1.05	0.051
Age	1.04	1.00 - 1.08	0.065
Nodule location	1.73	1.39 - 2.16	0.053

3 讨论

本研究纳入我院 160 例磨玻璃结节 (GGN) 患者, 并结合 TCGA 数据库的 244 份肺腺癌组织样本及经病理确诊的 LUAD 组织与 BN 肺组织, 系统分析了 GGN 的临床、影像特征。结果显示, GGN-BN 组与 GGN-LUAD 组在年龄、性别及常规结节影像学特征方面差异均无统计学意义。这提示, 传统的临床指标及影像学特征在 GGN 良恶性早期鉴别中准确性有限, 单纯依赖常规 CT 表现进行良恶性判断可能存在一定风险, 这一结论与 Deng 等^[8]、Li 等^[9]等的研究结果一致。近年来, 多项研究证实, 影像学上的纯磨玻璃结节虽表现相似, 但其病理学性质差异显著, 部分恶性病灶在细胞及分子水平已经发生异常改变, 而这些改变在常规影像上并不明显^[10]。本研究结果也间接印证了这一观点。值得注意的是, GGN 恶性组患者的影像学特征未能显著区别于良性组, 提示在临床实践中, 对于形态规则、边界清晰的小结节亦需结合分子生物学指标进行综合评估, 避免漏诊。

本研究系统评估了血清 miR-501-3p 在 GGN 良恶性鉴别中的诊断预测价值。结果显示, miR-501-3p 在 GGN-LUAD 患者的血清与组织中显著低于 GGN-BN 患者, 而正常健康人群与 GGN-BN 间无显著差异。这提示 miR-501-3p 的表达下降可能与 GGN 恶性进展密切相关, 而非由良性结节背景下的炎症、纤维化或感染所致。这与既往对循环 miRNA 在肺癌生物学中的研究趋势一致, 即恶性肿瘤往往伴随特定 miRNA 的系统性下调或失活^[6,11-12]。生存分析结果显示 miR-501-3p 低表达患者总生存期短于高表达患者, 这与 miR-501-3p 在肿瘤中发挥抑癌作用的报道相符^[13-15]。microRNA 在肺腺癌的早期阶段即发生显著改变, 因而在 GGN 这一“早期病变窗口”中具有较高的分子敏感性^[16]。He 等人提出的 7-miRNA panel 用于 GGN 的研究中也呈现“良性≈正常、恶性显著偏离”的表达分布特征, 支持循环 miRNA 可反映 GGN 恶变过程^[17]。

GGN 是肺腺癌早期最关键的影像学表现之一。然而, 影像学特征存在明显重叠, 良性病灶、炎症性磨玻璃影与早期腺癌常难以区分。当前国际指南对 GGN 的处理多依赖随访观察, 但此策略可能导致患者焦虑、长期辐射暴露与潜在的延迟诊断风险^[18-19]。因此, 发展可重复、可检测、非侵入、适用于大规模筛查的血清标志物十分关键。越来越多证据显示循环 miRNA 在肺癌尤其是早期病变中的诊断性能优于传

统蛋白标志物, 其对亚实性或磨玻璃成分结节尤其敏感^[20-22]。本研究中 miR-501-3p 的 AUC 为 0.771, 属于中上等诊断效能, 且在分组中表现出良好的区分度 (恶性明显下降)。有研究显示, 与健康者及良性肺结节患者相比, 肺腺癌患者血小板中的 miR-199b-3p 表达水平显著下调, 其诊断性能 AUC = 0.73。相比复杂的 miRNA panel 及 miRNA 来源分离困难, 单一标志物成本低、标准化难度小, 更适合向基层推广。

本研究仍存在一定局限性。首先, 本研究为单中心研究, 病例样本量虽相对充足, 但来自同一医疗机构, 患者的临床特征及样本分布可能存在一定选择偏倚, 结论的普适性需在多中心、大样本研究中进一步验证。其次, 虽然本研究提示 miR-501-3p 与恶性 GGN 的关联, 但尚未深入探究其在体内的具体分子机制, 未来需结合高通量测序、组学整合等方法进行具体研究。第三, 循环 miRNA 检测方法尚存在溶血、样本处理、冻融次数、内参选取不统一等前分析变量, 建议未来研究建立标准化流程以便临床转化。

综上所述, 本研究首次在较大规模 GGN 患者队列中发现, miR-501-3p 在 GGN-LUAD 组织及血清中显著下调; 其在血清水平的特异性变化为 GGN 良恶性鉴别诊断提供了一定的临床预测价值。若结合影像学、其他临床指标及多模态构建整合模型, 有望在早期肺腺癌筛查、减少短期 CT 随访甚至辅助治疗决策中发挥作用。

作者贡献: 周宇提出研究思路, 制定研究方案, 深入分析研究结果, 主导文章撰写; 皇改改、冯昊进行设计实验并整理分析数据, 绘制相关图表; 闫兰芳收集组织和血清标本, 详细记录相关信息; 皇改改和冯昊撰写原稿, 所有作者阅读并批准了文稿的最终版本。

利益冲突声明: 作者声明, 本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1]Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(1):12-49.
- [2]Blandin Knight S, Crosbie PA, Balata H, et al. Progress and prospects of early detection in lung cancer[J]. Open Bio, 2017, 7:170070.
- [3]高博, 马焱鑫. 肺磨玻璃结节 CT 定量特征诊断肺腺癌的研究进展[J]. 医学影像学杂志, 2025, 35(9):159-162.
- [4]Mazzone PJ, Lam L. Evaluating the patient with a pulmonary nodule: a review[J]. JAMA. 2022, 327(3):264-273.
- [5]胡锡麟, 田凯华. 表观遗传修饰调控微小 RNA 表达在肺癌中的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2020, 23(7):582-588.
- [6]Lu J, Zhou L, Wu B, et al. MiR-501-3p functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by downregulating RAP1A[J]. Exp Cell Res, 2020, 387(1):111752.

[7]Lei J, Chen P, Zhang F, et al. M2 macrophages-derived exosomal microRNA-501-3p promotes the progression of lung cancer via targeting WD repeat domain 82 [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):91.

[8]Deng Y, Xia L, Zhang J, et al. Multicellular ecotypes shape progression of lung adenocarcinoma from ground-glass opacity toward advanced stages[J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(4):101489.

[9]Hu X, Gou J, Wang L, et al. Diagnostic accuracy of low-dose dual-input computed tomography perfusion in the differential diagnosis of pulmonary benign and malignant ground-glass nodules[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):17098.

[10]赵静,范小春.肺磨玻璃结节筛查诊治的研究现状[J]. *中国医药*,2024,19(3):464-468.

[11]Wen X, Yu S, Leng P, et al. MiRNA sequencing of platelet and exosome revealed platelet miR-199b-3p as a potential biomarker in lung adenocarcinoma[J]. *Front Immunol*, 2025, 16:1619448.

[12]Kim YJ, Kang DH, Cho H, et al. Exosomal microRNA Panels for Detecting Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2025, 15(21):2735.

[13]Luo C, Yin D, Zhan H, et al. microRNA-501-3p suppresses metastasis and progression of hepatocellular carcinoma through targeting LIN7A[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5):535.

[14]He L, Chen S, Ying Y, et al. MicroRNA-501-3p inhibits the proliferation of kidney cancer cells by targeting WTAP[J]. *Cancer Med*, 2021, 10(20):7222-7232.

[15]Zhang Z, Shao L, Wang Y, et al. MicroRNA-501-3p restricts prostate cancer growth through regulating cell cycle-related and expression-elevated protein in tumor/cyclin D1 signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(3):746-752.

[16]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.

[17]He Y, Yang Y, Kuang P, et al. Seven-microRNA panel for lung adenocarcinoma early diagnosis in patients presenting with ground-glass nodules[J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10:5915-5926.

[18]Chen H, Kim AW, Hsin M, et al. The 2023 American Association for Thoracic Surgery (AATS) Expert Consensus Document: management of subsolid lung nodules[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2024, 168(3):631-647.

[19]Bartlett EC, Kemp SV, Rawal B, et al. Defining growth in small pulmonary nodules using volumetry: results from a "coffee-break" CT study and implications for current nodule management guidelines[J]. *Eur Radio*, 2022, 32(3):1912-1920.

[20]杜歆玥,杨慧龄.循环 miRNA 作为肺癌诊断和预后无创标志物的研究进展[J].*中国医药导报*,2020,17(14):31-34.

[21]Tao R, Wang D, Pei W, et al. Highly sensitive and specific panels of plasma exosomal microRNAs for identification of malignant pulmonary nodules[J]. *Clin Respir J*, 2024, 18(11): e70034.

[22]Poh KC, Ren TM, Ling GL, et al. Development of a miRNA-Based Model for Lung Cancer Detection[J]. *Cancers (Basel)*, 2025, 17(6):942.

作者简介：

皇改改（1995-），女，河南人，汉族，硕士研究生，主管技师。现工作于四川省成都市双流区城北上街120号成都市双流区第一人民医院医学检验科，主要研究方向：肺部肿瘤和钙化性主动脉瓣膜疾病。

周宇（1981-），女，重庆，汉族，本科，副主任技师。现工作于四川省成都市双流区城北上街120号成都市双流区第一人民医院医学检验科，主要研究方向：肺部肿瘤。

基金项目：

成都市卫生健康委员会医学科研基金资助项目（项目编号：2022416）。