

DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2023.088

· 临床研究 ·

血液中低表达的微小 RNA let-7b-5p 对非小细胞肺癌的诊断价值

李国盛^{1,2}, 何融泉³, 周华富², 孔晋亮⁴, 陈罡¹

1. 广西医科大学第一附属医院病理科, 广西壮族自治区 南宁 530021; 2. 广西医科大学第一附属医院心胸外科, 广西 南宁 530021; 3. 广西医科大学第一附属医院肿瘤内科, 广西 南宁 530021; 4. 广西医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 广西 南宁 530021

通信作者: 陈罡, E-mail: chengang@gxmu.edu.cn

摘要: **目的** 探索微小 RNA let-7b-5p 用于早期诊断非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 患者的可行性。**方法** 从 Gene Expression Omnibus (GEO) 数据库获取 GSE152702、GSE171517、GSE27486 以及 GSE40738 原始数据集, 共包含 145 例 NSCLC 患者 (NSCLC 组) 和 83 位健康人 (对照组) 的血液样本数据。NSCLC 组数据涵盖肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD) 和肺鳞癌 (lung squamous cell carcinoma, LUSC)。采用 Wilcoxon 秩和检验和标准化均数差 (standardized mean difference, SMD) 比较 NSCLC 组和对照组的 let-7b-5p 表达水平。通过受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 以及诊断性 meta 分析的敏感度和特异度评估 let-7b-5p 诊断 NSCLC (LUAD 和 LUSC) 的效能。**结果** GSE152702、GSE27486 以及 GSE40738 数据集显示, let-7b-5p 在 LUAD 患者的血液中低表达 (均 $P < 0.05$), GSE152702 数据集还显示 LUSC 患者的血液中 let-7b-5p 表达低于对照组 ($P < 0.05$)。综合 LUAD 和 LUSC 组的 SMD 结果进一步明确 NSCLC 组血液中 let-7b-5p 表达较对照组下调 (SMD = -0.50, 95% CI: -0.75 ~ -0.26)。ROC 曲线和诊断性 meta 分析显示, 血液中 let-7b-5p 的表达水平可区分 NSCLC 样本和正常样本 (AUC = 0.79, 敏感度 = 0.71, 特异度 = 0.76)。ROC 曲线分析显示, let-7b-5p 在 NSCLC 中的 10 个潜在靶基因 [碱性亮氨酸拉链和 W2 结构域 2 (basic leucine zipper and W2 domains 2, BZW2)、细胞分裂周期蛋白 25A (cell division cycle 25A, CDC25A)、细胞分裂周期相关基因 8 (cell division cycle associated 8, CDCA8)、Ⅲ型胶原 α -1 链 (collagen type III alpha 1 chain, COL3A1)、外纺锤体极样蛋白 1 (extra spindle pole bodies like 1, ESPL1)、高迁移率族 AT-hook 蛋白 1 (high mobility group AT-hook 1, HMGAI)、胰岛素样生长因子 2 结合蛋白 3 (insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 3, IGF2BP3)、NME/NM23 核苷二磷酸激酶 4 (NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 4, NME4)、葡萄糖磷酸变位酶 2 样蛋白 1 (phosphoglucosyltransferase 2 like 1, PGM2L1) 以及核糖核苷酸还原酶调节亚基 M2 (ribonucleotide reductase regulatory subunit M2, RRM2)] 可区分 LUAD 与正常肺样本 (AUC = 0.765 ~ 0.980) 以及区分 LUSC 与正常肺样本 (AUC = 0.749 ~ 0.997)。**结论** 检测血液中的 let-7b-5p 表达水平可能可作为诊断 NSCLC (包括 LUAD 和 LUSC) 患者的有效手段。**关键词:** 非小细胞肺癌; 微小 RNA; let-7b-5p; 体液; 诊断

Diagnostic value of lowly expressed microRNA let-7b-5p in blood for non-small-cell lung cancer

Li Guosheng^{1,2}, He Rongquan³, Zhou Huafu², Kong Jinliang⁴, Chen Gang¹

1. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Department of Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 3. Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 4. Ward of Pulmonary and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Corresponding to: Chen Gang, E-mail: chengang@gxmu.edu.cn

Abstract: Objective To explore the practicality of utilizing microRNA let-7b-5p to facilitate the early diagnosis of patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Raw datasets GSE152702, GSE171517, GSE27486, and GSE40738 were collected from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. These datasets collectively comprise blood sample data from 145 NSCLC patients (NSCLC group) and 83 healthy individuals (control group). The NSCLC group data encompass both lung adenocarcinoma (LUAD) and lung squamous cell carcinoma (LUSC). The differences in the expression levels of let-7b-5p between the NSCLC and control groups were analyzed using the Wilcoxon rank-sum test and the standardized mean difference (SMD). The diagnostic performance of let-7b-5p in diagnosing NSCLC and distinguishing between LUAD and LUSC was evaluated through the area under the curve (AUC) of receiver operating characteristic (ROC) curves and the sensitivity and specificity of diagnostic meta-analysis. **Results** The datasets GSE152702, GSE27486, and GSE40738 demonstrated that the expression of let-7b-5p was down-regulated in the blood of patients with LUAD (all $P < 0.05$). Additionally, the GSE152702 dataset showed that the expression of let-7b-5p in the blood of LUSC patients was lower than that in the control group ($P < 0.05$). Combining the SMD results from LUAD and LUSC groups further confirmed the down-regulation of let-7b-5p expression in the blood of patients with NSCLC compared to that of the control group (SMD = -0.50, 95% CI: -0.75 - -0.26). ROC curves and diagnostic meta-analysis revealed that the expression level of let-7b-5p in the blood could distinguish between NSCLC samples and normal samples (AUC = 0.79, sensitivity = 0.71, specificity = 0.76). ROC curves further showed that 10 potential target genes of let-7b-5p in NSCLC could differentiate not only between LUAD and normal lung samples (AUC: 0.765-0.980) but also between LUSC and normal lung samples (AUC: 0.749-0.997). These genes included basic leucine zipper and W2 domains 2 (*BZW2*), cell division cycle 25A (*CDC25A*), cell division cycle associated 8 (*CDC48*), collagen type III alpha 1 chain (*COL3A1*), extra spindle pole bodies like 1 (*ESPL1*), high mobility group AT-hook 1 (*HMGAI*), insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 3 (*IGF2BP3*), NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 4 (*NME4*), phosphoglucomutase 2 like 1 (*PGM2L1*) and ribonucleotide reductase regulatory subunit M2 (*RRM2*). **Conclusions** The detection of let-7b-5p expression levels in the blood could potentially serve as an effective means for the diagnosis of patients with NSCLC including LUAD and LUSC.

Key words: non-small-cell lung cancer; microRNA; let-7b-5p; body fluid; diagnosis

全球范围内,肺癌是发病率排名第2位(仅次于乳腺癌)且死亡率位列第1位的恶性肿瘤。据预测,2020年,全球新诊断的肺癌患者约220万例,死亡病例高达179万例^[1]。得益于手术、放疗和化疗等治疗手段的发展,近年来肺癌预后得到一定提升^[2-4]。然而,诊断延误等问题导致肺癌患者生存率较低,尤其是晚期肺癌患者(5年生存率 $\leq 15\%$)^[4-5]。更糟糕的是,多数肺癌患者确诊时已为晚期,给治疗带来巨大挑战。非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)是最常见的肺癌病理亚型,占肺癌总病例的80%以上^[5-6],主要为肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)和肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)。因此,开展NSCLC相关的研究探索可用于早期诊断肺癌的生物标志物尤为重要。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类非编码RNA分子,可参与细胞的增殖、分化及凋亡等多种生物学进程^[7]。目前已有多种miRNA被指出在肿瘤中发挥重要作用,并具有明显的临床价值。有学者指出,通过检测血浆中外泌体的let-7d-3p和miR-30d-5p表达水平可以早期诊断宫颈癌^[8]。而血清中的miR-1290表达水平则被认为是食管鳞癌患者预后不良的标志,且该分子可以区

分食管鳞癌患者和健康人群^[9]。let-7b-5p被认为与肿瘤的发生和发展密切相关。例如,该miRNA在多发性骨髓瘤组织及细胞株中均被报道低表达,且其表达上调可抑制肿瘤细胞增殖^[10]。let-7b-5p也在肺类癌中低表达^[11]。然而,目前let-7b-5p在NSCLC组织中高表达^[12]或低表达^[13]尚存争议,且未见相关研究揭示其在NSCLC患者血液中存在表达差异以及是否可用于诊断NSCLC患者。因此,有必要进一步探讨let-7b-5p在NSCLC中的表达水平以及诊断价值。

本研究通过检索Gene Expression Omnibus(GEO)、ArrayExpress、The Cancer Genome Atlas(TCGA)和PubMed等数据库,采集来自多中心的样本数据,探索let-7b-5p在NSCLC患者血液中的表达水平。同时,通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评判let-7b-5p诊断NSCLC的效能,并综合多种方法探索let-7b-5p在NSCLC中的潜在靶基因和相关靶基因在NSCLC中的诊断价值。

1 资料和方法

1.1 数据获取

为获取全球范围内的多中心样本,截至2021

年12月22日,通过检索上述GEO、ArrayExpress、Sequence Read Archive、ONCOMINE、TCGA、PubMed、中国知网、万方数据以及重庆维普9个数据库,筛选NSCLC相关的逆转录定量聚合酶链式反应(reverse transcription quantitative polymerase chain reaction,RT-qPCR)及高通量数据。检索关键词为“lung cancer, microRNA”。数据纳入标准:(1)试验组样本获取自NSCLC患者;(2)血液样本;(3)包含miRNA表达数据。排除标准:(1)表达数据缺失;(2)重复样本。最终,4个高通量原始数据集GSE27486、GSE40738、GSE152702及GSE171517(均来自GEO数据库)符合标准,共包含145例NSCLC患者血液样本(NSCLC组)和83位健康人血液样本(对照组)。根据NSCLC亚型将4个原始数据集拆分为7个数据集:4个LUAD相关数据集(LUAD-GSE27486、LUAD-GSE40738、LUAD-GSE152702和LUAD-GSE171517)以及3个LUSC相关数据集(LUSC-GSE40738、LUSC-GSE152702和LUSC-GSE171517)。其中,源自同一个原始数据集的LUAD数据集和LUSC数据集共用该原始数据集中的对照组样本。例如,LUAD-GSE40738和LUSC-GSE40738共用原始数据集GSE40738中的58例对照组样本。基于这些数据,分LUAD和LUSC两种亚型探索NSCLC组与对照组间的let-7b-5p表达差异。为探索let-7b-5p在NSCLC中的潜在靶基因,于2022年1月5日从Genomic Data Commons数据库(该数据库存储TCGA的最新数据)分别下载LUAD和LUSC组织样本的转录组测序数据集。

1.2 NSCLC组和对照组let-7b-5p表达水平差异及let-7b-5p诊断NSCLC的效能评估

采用R(v4.1.0)的ggplot2、ggsignif以及meta程序包,通过小提琴图、箱型图以及森林图比较NSCLC组和对照组let-7b-5p表达水平差异。采用Wilcoxon秩和检验和标准化均数差(standardized mean difference, SMD)分析两组间let-7b-5p表达水平差异。SMD的95% CI不包含0提示SMD结果差异具有统计学意义;其余情况下,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。通过ROC曲线及综合ROC(summary ROC, SROC)曲线的曲线下面积(area under the curve, AUC)评估let-7b-5p诊断NSCLC的效能。 $AUC > 0.5$ 且 < 0.7 提示低准确度, $AUC \geq 0.7$ 且 < 0.9 提示中等准确度, $AUC \geq 0.9$ 提示高准确度。诊断性meta分析的敏感

度和特异度也用于检测let-7b-5p诊断NSCLC的效能。除了SROC曲线和诊断性meta分析森林图于Stata(v15.0)软件绘制外,其余计算及绘图过程均借助R(v4.1.0)软件完成。

1.3 let-7b-5p在NSCLC中的潜在靶基因筛选及let-7b-5p潜在靶基因鉴别NSCLC的效能

TargetScan通过寻找与每个miRNA种子区相匹配的3种保守性位点(8mer、7mer和6mer)预测miRNA的生物学靶点^[14-15]。miRDB基于高通量测序实验数据和计算生物学方法预测miRNA的靶点,预测5种物种(人类、小鼠、大鼠、狗和鸡)的miRNA靶基因供研究者参考^[16]。miRTarBase数据库的开发团队手工整理miRNA功能实验相关的文献,于miRTarBase数据库中存放 ≥ 36 万条miRNA-靶基因的相互作用的信息^[17]。2022年1月6日分别从TargetScan(v8.0)、miRDB以及miRTarBase数据库中获取let-7b-5p的预测靶基因。同时,根据TCGA数据库中的LUAD和LUSC组织样本的转录组测序数据集分别计算这2种疾病的上调基因(upregulated genes, UGs)。UGs的筛选借助R(v4.1.0)的limma程序包完成,筛选条件为: $\log_2(\text{fold change}) \geq 1$ 且校正 P 值 < 0.05 。运用韦恩图将预测靶基因以及LUAD和LUSC的UGs取交集获取let-7b-5p的潜在靶基因^[18],并运用Cytoscape(v3.9.0)软件绘制网络图展示let-7b-5p及其潜在靶基因。通过ROC曲线的AUC评估let-7b-5p的潜在靶基因区分NSCLC组织样本和正常肺组织样本的能力,方法及判定标准同1.2。

2 结果

2.1 NSCLC组和对照组let-7b-5p表达差异

LUAD-GSE152702、LUAD-GSE27486以及LUAD-GSE40738数据集显示let-7b-5p在LUAD组的血液中表达低于对照组(均 $P < 0.05$,图1A)。LUSC-GSE152702数据集显示,与对照组比较,LUSC患者的血液中let-7b-5p表达更低($P < 0.05$,图1A)。进一步亚组分析显示,let-7b-5p在LUAD组(SMD=-0.53,95% CI: -0.84~-0.21)及LUSC组(SMD=-0.47,95% CI: -0.84~-0.09)血液中低表达(图1B)。LUAD和LUSC汇总分析表明,let-7b-5p在NSCLC组血液中的表达水平较对照组低(SMD=-0.50,95% CI: -0.75~-0.26;图1B)。

2.2 let-7b-5p诊断NSCLC的效能

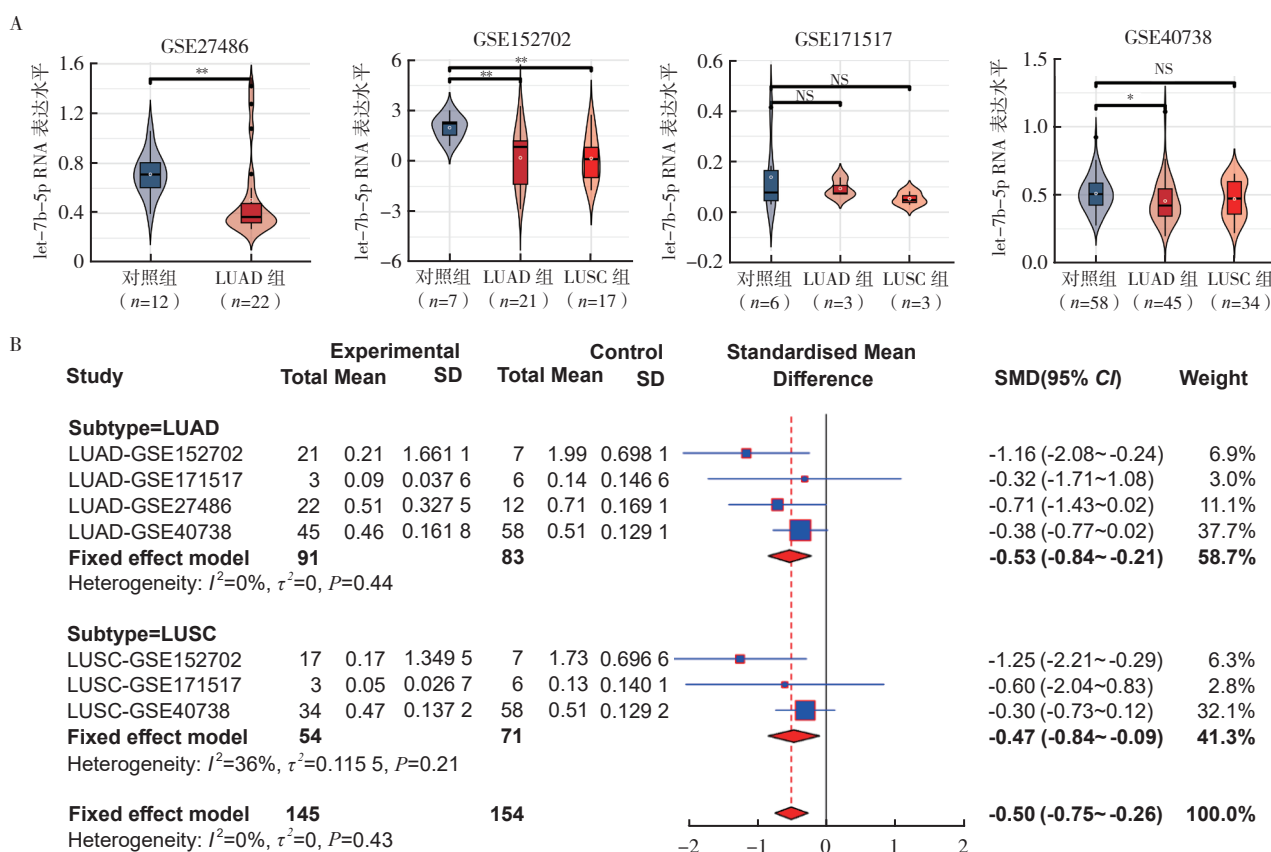
ROC曲线分析显示,let-7b-5p诊断LUAD

和 LUSC 的准确度均为低~中等 (LUAD : AUC=0.556~0.844, LUSC : AUC=0.570~0.836 ; 图 2A)。整合 LUAD 和 LUSC 数据集的 SROC 曲线显示, let-7b-5p 诊断 NSCLC 的准确度为中等 (AUC=0.79, 图 2B); 森林图的敏感度和特异度均 >0.7, 表明 let-7b-5p 可以区分 NSCLC 患者和健康人 (图 2C)。

2.3 let-7b-5p 在 NSCLC 中的潜在靶基因筛选及靶基因的诊断效能

分别从 TargetScan、miRDB 和 miRTarBase 数据库中获取 1 207、990 和 1 113 个 let-7b-5p 的预测靶基因。根据 TCGA 数据库中的 LUAD 和 LUSC 测序数据集分别计算出 1 286 和 1 976 个 UGs。将预测靶基因和 LUAD-UGs 及 LUSC-UGs 交集得到 10 个 let-7b-5p 的潜在靶基因 (图 3A)。这 10 个潜在靶基因分别为: 碱性亮氨酸拉链和 W2 结构域 2 (basic leucine zipper and W2 domains 2,

BZW2)、细胞分裂周期蛋白 25A (cell division cycle 25A, *CDC25A*)、细胞分裂周期相关基因 8 (cell division cycle associated 8, *CDC48*)、Ⅲ型胶原 α -1 链 (collagen type III alpha 1 chain, *COL3A1*)、外纺锤体极样蛋白 1 (extra spindle pole bodies like 1, *ESPL1*)、高迁移率族 AT-hook 蛋白 1 (high mobility group AT-hook 1, *HMGAI*)、胰岛素样生长因子 2 结合蛋白 3 (insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 3, *IGF2BP3*)、NME/NM23 核苷二磷酸激酶 4 (NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 4, *NME4*)、葡萄糖磷酸变位酶 2 样蛋白 1 (phosphoglucosmutase 2 like 1, *PGM2L1*) 以及核糖核苷酸还原酶调节亚基 M2 (ribonucleotide reductase regulatory subunit M2, *RRM2*; 图 3B)。let-7b-5p 在 NSCLC 的 10 个潜在靶基因均具有中等至高准确度来区分 LUAD 与正



注 A: 小提琴图和箱图比较 let-7b-5p 在 LUAD 组、LUSC 组与对照组中的表达差异; B: 森林图比较 let-7b-5p 在 LUAD 组、LUSC 组、NSCLC 组与对照组中的表达差异; LUAD: 肺腺癌 (lung adenocarcinoma); LUSC: 肺鳞癌 (lung squamous cell carcinoma); NS: not significant ($P>0.05$); * $P<0.05$; ** $P<0.01$

图 1 在 LUAD-GSE152702、LUAD-GSE171517、LUAD-GSE27486、LUAD-GSE40738、LUSC-GSE152702、LUSC-GSE171517 和 LUSC-GSE40738 数据集中 NSCLC 组及对照组 let-7b-5p 表达水平比较

Fig.1 Comparison of let-7b-5p expression between NSCLC group and control group based on the datasets of LUAD-GSE152702, LUAD-GSE171517, LUAD-GSE27486, LUAD-GSE40738, LUSC-GSE152702, LUSC-GSE171517, and LUSC-GSE40738

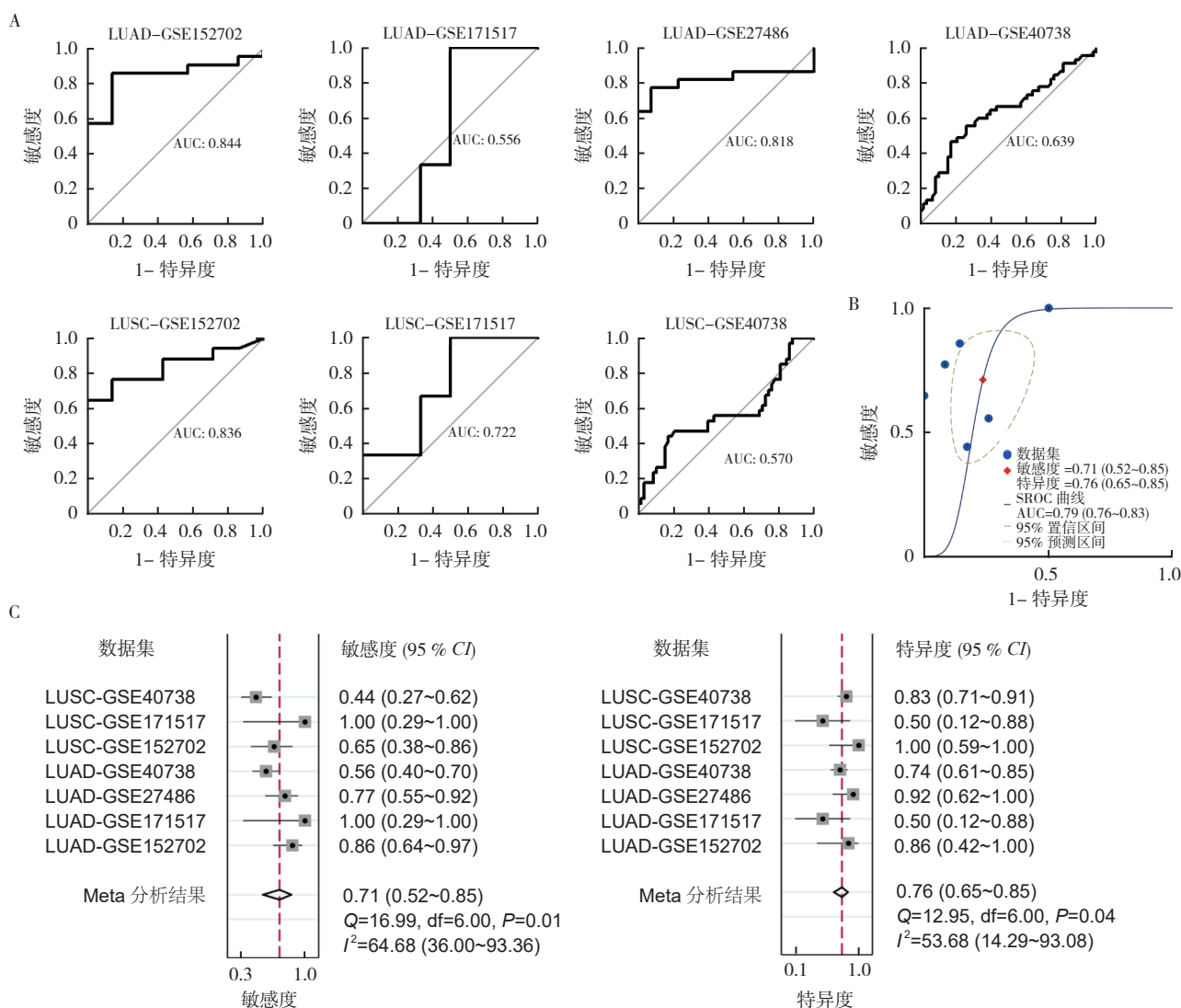
常肺样本 (AUC=0.765~0.980) 以及 LUSC 与正常肺样本 (AUC=0.749~0.997; 图 4)。

3 讨论

肺癌是发病率和死亡率均排名前列的癌症。 $\geq 50\%$ 的肺癌患者确诊时已至晚期, 患者 5 年生存率不容乐观^[4-5]。目前已有多种治疗手段使早期肺癌患者获益, 故探索可用于早期诊断肺癌患者的生物标志物具有重要意义。

本研究首次揭示 let-7b-5p 在 NSCLC 患者血

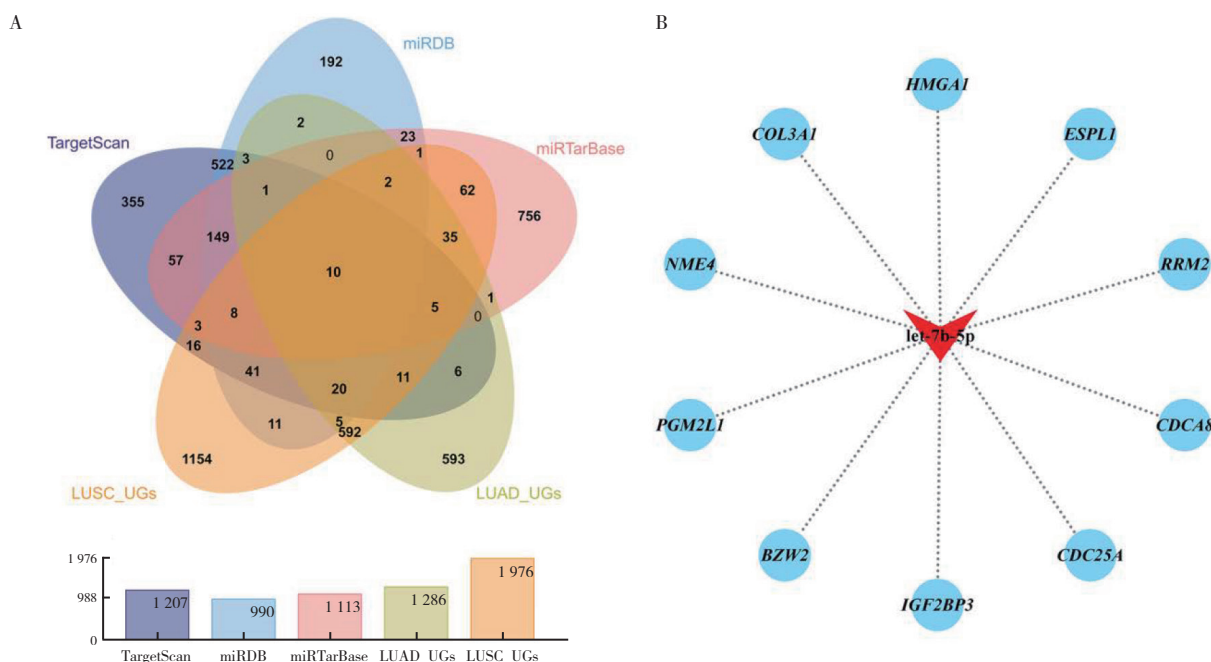
液中低表达。let-7b-5p 的低表达状态在多种癌组织中被报道, 如多发性骨髓瘤以及乳腺癌等^[10, 19]。在肺癌相关的研究中, let-7b-5p 被明确指出在肺类癌 (一种神经内分泌肿瘤) 中表达下调^[11]。而 let-7b-5p 在 NSCLC 组织中高表达还是低表达存在争议^[12-13]。此前研究报道显示, 血清中检测到 let-7b-5p 高表达的 NSCLC 患者具有更好的预后, 但在 NSCLC 患者和健康人的血清样本中未发现 let-7b-5 存在表达差异^[20]。本研究纳入的数据集中, 并非所有数据集都可检测到 NSCLC 组和对



注 A: ROC 曲线评估 let-7b-5p 诊断 LUAD 以及 LUSC 的效能; B: SROC 曲线评估 let-7b-5p 诊断 NSCLC 的效能; C: 灵敏度及特异度森林图评估 let-7b-5p 诊断 NSCLC 的效能; LUAD: 肺腺癌 (lung adenocarcinoma); LUSC: 肺鳞癌 (lung squamous cell carcinoma); AUC: 曲线下面积 (area under the curve); SROC: 综合受试者工作特征 (summary receiver operating characteristic)

图 2 在 LUAD-GSE152702、LUAD-GSE171517、LUAD-GSE27486、LUAD-GSE40738、LUSC-GSE152702、LUSC-GSE171517 以及 LUSC-GSE40738 数据集中 let-7b-5p 诊断 NSCLC 患者的效能评估

Fig.2 Evaluation of the efficacy of let-7b-5p in diagnosing NSCLC patients based on the datasets LUAD-GSE152702, LUAD-GSE171517, LUAD-GSE27486, LUAD-GSE40738, LUSC-GSE152702, LUSC-GSE171517, and LUSC-GSE40738



注 A : 韦恩图筛选 let-7b-5p 在 NSCLC 中的潜在靶基因 ; B : let-7b-5p 的潜在靶基因 ; LUSC : 肺鳞癌 (lung squamous cell carcinoma) ; UGs : 上调基因 (upregulated genes) ; LUAD : 肺腺癌 (lung adenocarcinoma) ; *HMGAI* : 高迁移率族 AT-hook 蛋白 1 (high mobility group AT-hook 1) ; *ESPL1* : 外纺锤体极样蛋白 1 (extra spindle pole bodies like 1) ; *RRM2* : 核糖核苷酸还原酶调节亚基 M2 (ribonucleotide reductase regulatory subunit M2) ; *CDCA8* : 细胞分裂周期相关基因 8 (cell division cycle associated 8) ; *CDC25A* : 细胞分裂周期蛋白 25A (cell division cycle 25A) ; *IGF2BP3* : 胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3 (insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 3) ; *BZW2* : 碱性亮氨酸拉链和 W2 结构域 2 (basic leucine zipper and W2 domains 2) ; *PGM2L1* : 葡萄糖磷酸变位酶 2 样蛋白 1 (phosphoglucomutase 2 like 1) ; *NME4* : NME/NM23 核苷二磷酸激酶 4 (NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 4) ; *COL3A1* : III 型胶原 α -1 链 (collagen type III alpha 1 chain)

图 3 let-7b-5p 在 NSCLC 中的潜在靶基因筛选

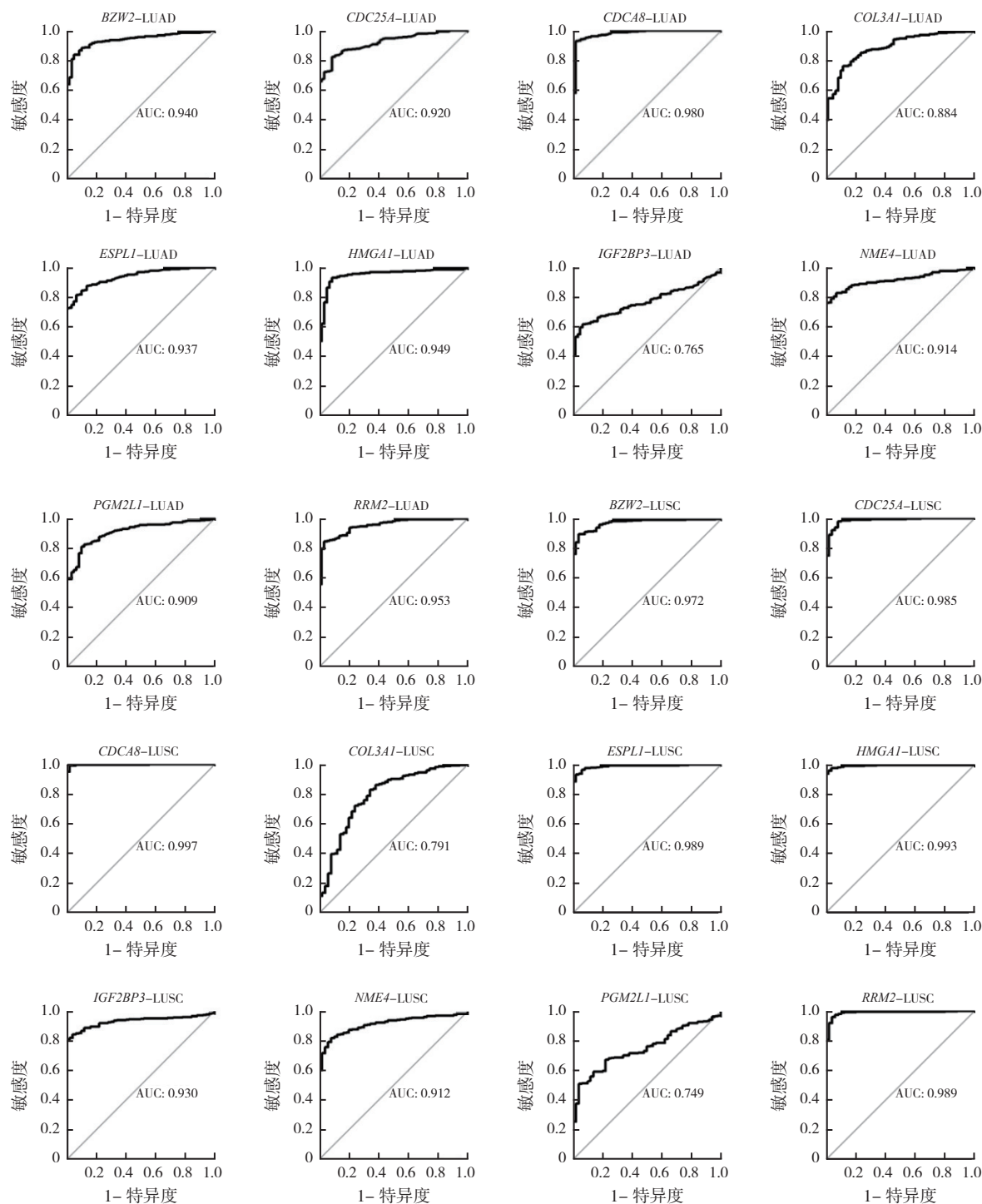
Fig.3 Screening of potential target genes of let-7b-5p in NSCLC

照组的 let-7b-5p 表达有差异。这提示上述未发现 NSCLC 体液中 let-7b-5p 的低表达的研究可能是由于相关研究仅基于单中心数据所致^[20]。为明确健康人和 NSCLC 患者血液中的 let-7b-5p 表达水平差异,本研究纳入多中心数据进行研究。考虑到不同 NSCLC 亚型之间 let-7b-5p 的表达状态可能存在差异,本研究在 LUAD 和 LUSC 患者中分别分析 let-7b-5p 的表达水平。结果显示,与健康人比较,LUAD 患者和 LUSC 患者的血液中均检测到更低水平的 let-7b-5p ; LUAD 及 LUSC 亚型的 meta 分析也支持 NSCLC 中 let-7b-5p 低表达的结论。

let-7b-5p 在血液中的表达水平具有诊断 NSCLC 患者的潜力。成功的早期诊断可提升肺癌患者的预后^[21]。本研究显示,血液中的 let-7b-5p 表达水平可以将 LUAD 患者和 LUSC 患者从健康人群中区分出来,表明该分子用于筛选 NSCLC 患者的可行性。事实上,此前已有研究揭示可通过检测血浆中的 let-7b-5p 筛选鼻咽癌患者 (AUC=0.676)^[22]。

let-7b-5p 的潜在靶基因可能也具有诊断 NSCLC 的效能。通过综合数据库预测以及 UGs 筛选等方法进行分析, *BZW2*、*CDC25A*、*CDCA8*、*COL3A1*、*ESPL1*、*HMGAI*、*IGF2BP3*、*NME4*、*PGM2L1* 及 *RRM2* 被鉴定为 let-7b-5p 在 NSCLC 中的潜在靶基因。虽然未能采集血液样本直接检测这 10 个潜在靶基因诊断 NSCLC 的效能,但这些分子的组织表达水平可以区分 NSCLC 组织和正常肺组织,表明其可能同 let-7b-5p 具有类似地筛选 NSCLC 的能力,但仍需体液样本验证。同时, let-7b-5p 的靶基因诊断 NSCLC 的可观效能一定程度上印证 let-7b-5p 诊断 NSCLC 的潜力。

综上所述,本研究首次揭示 let-7b-5p 在 NSCLC 患者的血液中低表达,并明确 let-7b-5p 表达水平可能可用于诊断 NSCLC。let-7b-5p 的 10 个潜在靶基因 *BZW2*、*CDC25A*、*CDCA8*、*COL3A1*、*ESPL1*、*HMGAI*、*IGF2BP3*、*NME4*、*PGM2L1* 及 *RRM2* 也具有诊断 NSCLC 的效能。然



注 LUAD : 肺腺癌 (lung adenocarcinoma); *BZW2* : 碱性亮氨酸拉链和 W2 结构域 2 (basic leucine zipper and W2 domains 2); AUC : 曲线下面积 (area under the curve); *CDC25A* : 细胞分裂周期蛋白 25A (cell division cycle 25A); *CDC48* : 细胞分裂周期相关基因 8 (cell division cycle associated 8); *COL3A1* : Ⅲ型胶原 α -1 链 (collagen type III α 1 chain); *ESPL1* : 外纺锤体极样蛋白 1 (extra spindle pole bodies like 1); *HMGA1* : 高迁移率族 AT-hook 蛋白 1 (high mobility group AT-hook 1); *IGF2BP3* : 胰岛素样生长因子 2 结合蛋白 3 (insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 3); *NME4* : NME/NM23 核苷二磷酸激酶 4 (NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 4); *PGM2L1* : 葡萄糖磷酸变位酶 2 样蛋白 1 (phosphoglucomutase 2 like 1); *RRM2* : 核糖核苷酸还原酶调节亚基 M2 (ribonucleotide reductase regulatory subunit M2); LUSC : 肺鳞癌 (lung squamous cell carcinoma)

图 4 ROC 曲线评估 let-7b-5p 在 NSCLC 中的 10 个潜在靶基因区分 LUAD 及 LUSC 与正常肺样本的效能

Fig.4 Efficacy of the 10 potential target genes of let-7b-5p in screening LUAD and LUSC samples from normal lung samples evaluated by ROC curves

而, let-7b-5p 在 NSCLC 中的分子机制及其 10 个潜在靶基因在 NSCLC 中的临床意义及潜在分子机制尚需体内外实验进一步探讨。

致谢 感谢广西医学病理学重点实验室提供技术支持

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [3] 朱潇宽, 虞永峰, 陆舜. 老年晚期非小细胞肺癌一线治疗[J]. *实用肿瘤杂志*, 2022, 37(3): 221-226.
- [4] Spella M, Stathopoulos G. Immune resistance in lung adenocarcinoma[J]. *Cancers*, 2021, 13(3): 384.
- [5] Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30.
- [6] Ye Z, Huang Y, Ke J, et al. Breakthrough in targeted therapy for non-small cell lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111079.
- [7] 林雪芳, 周建维. miR-513a-5p 通过靶向调控 PAK1 抑制子宫颈癌细胞增殖和侵袭[J]. *实用肿瘤杂志*, 2023, 38(1): 17-25.
- [8] Zheng M, Hou L, Ma Y, et al. Exosomal let-7d-3p and miR-30d-5p as diagnostic biomarkers for non-invasive screening of cervical cancer and its precursors[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 76.
- [9] Sun H, Wang L, Zhao Q, et al. Diagnostic and prognostic value of serum miRNA-1290 in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2019, 25(4): 381-387.
- [10] Xu H, Liu C, Zhang Y, et al. Let-7b-5p regulates proliferation and apoptosis in multiple myeloma by targeting IGF1R[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2014, 46(11): 965-972.
- [11] Fazio P, Maass M, Roth S, et al. Expression of hsa-let-7b-5p, hsa-let-7f-5p, and hsa-miR-222-3p and their putative targets HMGA2 and CDKN1B in typical and atypical carcinoid tumors of the lung[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(10): 1010428317728417.
- [12] Hosseini S, Soltani B, Tavallaei M, et al. Clinically significant dysregulation of hsa-miR-30d-5p and hsa-let-7b expression in patients with surgically resected non-small cell lung cancer[J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2018, 10(2): 98-104.
- [13] Jusufović E, Rijavec M, Keser D, et al. Let-7b and miR-126 are down-regulated in tumor tissue and correlate with microvessel density and survival outcomes in non-small-cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45577.
- [14] McGeary S, Lin K, Shi C, et al. The biochemical basis of microRNA targeting efficacy[J]. *Science*, 2019, 366(6472): eaav1741.
- [15] Lewis B, Burge C, Bartel D. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20.
- [16] Chen Y, Wang X. miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D127-D131.
- [17] Huang H, Lin Y, Li J, et al. miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA-target interaction database[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D148-154.
- [18] Bardou P, Mariette J, Escudié F, et al. Jvarkit: an interactive Venn diagram viewer[J]. *BMC Bioinformatics*, 2014, 15: 293.
- [19] Zou X, Xia T, Li M, et al. microRNA profiling in serum: potential signatures for breast cancer diagnosis[J]. *Cancer Biomark*, 2021, 30(1): 41-53.
- [20] Heegaard N, Schetter A, Welsh J, et al. Circulating micro-RNA expression profiles in early stage non-small cell lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(6): 1378-1386.
- [21] van Hal G, Diab Garcia P. Lung cancer screening: targeting the hard to reach—a review[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10(5): 2309-2322.
- [22] Zou X, Zhu D, Zhang H, et al. microRNA expression profiling analysis in serum for nasopharyngeal carcinoma diagnosis[J]. *Gene*, 2020, 727: 144243.

(收稿日期: 2022-05-10)