

外周血 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化对肺结节良恶性诊断价值研究

周红梅^a, 赵晓彬^a, 吴亚光^a, 肖敬^b (河北省第七人民医院 a. 肺病科; b. 肿瘤科, 河北定州 073000)

摘要: **目的** 探究外周血 Discs 大同源物相关蛋白 5 (DLGAP5) 和 Ras 相关区域家族蛋白 1A (RASSF1A) 甲基化水平对肺结节良恶性鉴别诊断的价值。**方法** 选取 2022 年 12 月~2024 年 6 月河北省第七人民医院收治的 110 例肺结节患者作为研究对象。根据病理检查确诊, 将 52 例恶性肺结节患者纳入恶性组, 58 例良性肺结节患者纳入良性组。通过实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 法测定外周血 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平; 分析外周血 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化对肺结节良恶性的诊断价值及其与恶性肺结节患者临床病理特征的关系; 采用 Spearman 法分析 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平与临床病理特征的相关性。**结果** 与良性组相比, 恶性组患者外周血 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平均较高, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=27.010, 24.350$, 均 $P<0.001$); DLGAP5 甲基化和 RASSF1A 甲基化单独检测恶性肺结节的敏感度分别为 61.54%, 67.31%, 特异度分别为 86.21%, 79.31%, 准确度分别为 74.55%, 73.63%。且两基因甲基化联合检测对恶性肺结节的敏感度 (84.62%) 和准确度 (83.64%) 均优于单个基因甲基化 ($Z=2.816, 2.497$, 均 $P<0.05$)。DLGAP5 甲基化和 RASSF1A 甲基化单独检测及联合检测与病理结果的一致性 Kappa 值分别为 0.583, 0.569 和 0.712。恶性肺结节患者结节大小、组织学分化程度、淋巴结转移及毛刺征与 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化水平相关, 差异具有统计学意义 ($\chi^2_{DLGAP5}=4.644 \sim 14.981, \chi^2_{RASSF1A}=4.293 \sim 12.629$, 均 $P<0.05$)。相关性分析显示, DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平与结节大小、组织学分化、淋巴结转移和毛刺征呈正相关 ($r_{DLGAP5}=0.512 \sim 0.683, r_{RASSF1A}=0.527 \sim 0.691$, 均 $P<0.05$)。**结论** 外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化与组织学分化、淋巴结转移、临床分期密切相关, 二者联合检测对肺结节良恶性具有较高的鉴别诊断价值。

关键词: 肺结节; 良恶性鉴别; Discs 大同源物相关蛋白 5; Ras 相关区域家族蛋白 1A

中图分类号: R734.2; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2025) 02-053-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2025.02.010

Value of Peripheral Blood DLGAP5 and RASSF1A Gene Methylation in the Differential Diagnosis of Benign and Malignant Lung Nodules

ZHOU Hongmei^a, ZHAO Xiaobin^a, WU Yaguang^a, XIAO Jing^b (a. Department of Pulmonology; b. Department of Oncology, Hebei Seventh People's Hospital, Hebei Dingzhou 073000, China)

Abstract: Objective To investigate the value of methylation levels of Discs large-associated protein5 (DLGAP5) and Ras association domain family 1A (RASSF1A) in peripheral blood in the differential diagnosis of benign and malignant lung nodules. **Methods** 110 patients with pulmonary nodules admitted to the Seventh People's Hospital of Hebei Province from December 2022 to June 2024 were selected as study subjects. Based on the diagnosis confirmed by pathological examination, 52 patients with malignant lung nodules were included in the malignant group and 58 patients with benign lung nodules were included in the benign group. The methylation levels of DLGAP5 and RASSF1A genes in peripheral blood were determined by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The diagnostic value of methylation of DLGAP5 and RASSF1A genes in peripheral blood on the benign and malignant nature of lung nodules and their relationship with clinicopathological characteristics of patients with malignant lung nodules were analyzed. Spearman's method was used to analyze the correlation between DLGAP5 and RASSF1A gene methylation levels and clinicopathological features. **Results** Compared with the benign group, the methylation levels of DLGAP5 and RASSF1A genes were higher in the peripheral blood of patients in the malignant group, and the differences were statistically significant ($\chi^2=27.010, 24.350$, all $P<0.001$). The sensitivities of DLGAP5 methylation and RASSF1A methylation alone in the detection of malignant lung nodules were 61.54%, 67.31%, and the specificity were 86.21%, 79.31%, and the accuracies were 74.55%, 73.63%, respectively. The sensitivity(84.62%) and accuracy(83.64%) of the combined two-gene methylation test for malignant lung nodules were better than that of single gene methylation ($Z=2.816, 2.497$, all $P<0.05$). The concordance Kappa values of DLGAP5 methylation and RASSF1A methylation alone and in combination

作者简介: 周红梅 (1981-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 肺病相关研究, E-mail: trabiton@sina.com。

通讯作者: 肖敬 (1981-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤相关研究, E-mail: 117307081@qq.com。

with the pathological results were 0.583, 0.569 and 0.712, respectively. The nodules size, histological differentiation degree, lymph nodes and spiculation sign of patients with malignant pulmonary nodules were correlated with DLGAP5 and RASSF1A methylation levels, and the differences were statistically significant ($\chi^2_{DLGAP5}=4.644 \sim 14.981$, $\chi^2_{RASSF1A}=4.293 \sim 12.629$, all $P<0.05$). Correlation analysis showed that the methylation levels of DLGAP5 and RASSF1A genes were positively correlated with nodule size, histologic differentiation, lymph node metastasis and spiculation sign ($r_{DLGAP5}=0.512\sim0.683$, $r_{RASSF1A}=0.527 \sim 0.691$, all $P<0.05$). **Conclusion** The methylation levels of DLGAP5 and RASSF1A gene in peripheral blood were closely related to histological differentiation, lymph node metastasis and clinical staging. The combined detection of the two has high diagnostic value for the benign and malignant nature of pulmonary nodules.

Keywords: lung nodule; benign-malignant differentiation; disks large-associated protein 5; RAS association domain family 1A

肺癌是一种发病率和死亡率较高的恶性肿瘤,早期肺癌最常见的表现就是肺结节^[1]。肺结节是指影像学上直径 $\leq 3\text{cm}$ 的类圆形或不规则形病灶,其良恶性鉴别一直是临床关注的焦点^[2-3]。表观遗传学是指在基因的核酸序列未发生改变的前提下发生的可遗传的表型变化,主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰和染色体重塑等^[4]。DNA启动子区甲基化是最普遍的表观遗传学变化。在多种因素作用下,细胞内某些特定的核团及染色体上的甲基化发生改变,引起相关基因的表达沉默,从而促进肿瘤的发生^[5]。Disks 大同源物相关蛋白5 (disks large-associated protein 5, DLGAP5) 是一种有丝分裂调节因子,参与肿瘤的发生发展,对微管的聚合、双极纺锤体形成和稳定性微管有促进作用^[6-7]。DLGAP5 在子宫内膜癌^[8]、肾透明细胞癌^[9]、膀胱癌^[10]、乳腺癌^[11]和结直肠癌^[12]中高表达,并与癌症进展及不良预后相关。据报道,DLGAP5 高甲基化水平不利于肺癌患者的生存。DLGAP5 基因甲基化异常会导致基因表达改变,促使癌细胞异常增殖,进而推动肿瘤的发生发展^[13]。Ras 相关区域家族蛋白 1A (Ras association domain family 1A, RASSF1A) 是一种肿瘤抑制蛋白,参与有丝分裂阻滞、DNA 修复和细胞凋亡,并控制细胞周期和细胞迁移等^[14]。在肺癌的发展过程中,RASSF1A 基因甲基化会使其表达失活,不能发挥对细胞周期的正常调控作用,癌细胞异常增殖。同时,该基因不能有效诱导癌细胞凋亡,使肿瘤细胞逃避机体的免疫监视,促使肿瘤不断发展恶化^[15]。因而,推测 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化水平与肺结节良恶性存在关联,本研究通过检测肺结节患者外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平,旨在探讨其对肺结节良恶性的鉴别诊断价值,以期对肺结节的早期诊断和治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2022 年 12 月~2024 年 6 月河北省第七人民医院通过胸部 CT 影像学检查诊断为肺结节的 110 例患者作为研究对象。根据病理学检查确诊,将 52 例恶性肺结节患者纳入恶性组。其

中男性 24 例,女性 28 例;年龄 38~75 (60.28 ± 6.25) 岁;BMI $22.46 \pm 1.33\text{kg/m}^2$;结节大小 4~18 mm,平均结节大小 $8.43 \pm 1.17\text{mm}$;左肺 22 例,右肺 30 例。将 58 例良性肺结节患者纳入良性组,其中男性 30 例,女性 28 例;年龄 38~75 (60.87 ± 6.27) 岁;BMI $22.04 \pm 1.29\text{kg/m}^2$;结节大小 4~18 mm,平均结节大小 $8.08 \pm 1.02\text{mm}$;左肺 34 例,右肺 24 例。两组一般资料比较,差异无统计学意义 ($t=0.493, 1.680, 1.676$, $\chi^2=0.340, 2.920$, 均 $P>0.05$),具有可比性。纳入标准:①符合《中国肺结节病诊断和治疗专家共识》中的肺部结节诊断标准^[16];②原发性的肺结节;③CT 检查图像清晰;④临床资料完整,知情并自愿参与本研究。排除标准:①其他系统严重疾病;②并发其他肺内疾病;③并发免疫性和血液性疾病;④并发其他恶性肿瘤;⑤精神障碍者。本研究经河北省第七人民医院医学伦理委员会审核通过 (20221057),所有患者知情并同意本研究。

1.2 仪器与试剂 离心机 (德国 Eppendorf 公司);实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司);Tanno 5200 型化学发光凝胶成像仪 (上海天能科技有限公司);Trizol (美国 Life Technologies 公司);DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化特异性 PCR 扩增试剂盒 (德国 Merck millipore 公司)。

1.3 方法

1.3.1 样本采集: 用含 EDTA 抗凝剂的采血管采集患者空腹静脉血 4 ml。采集后,立即轻轻颠倒混匀,避免血液凝固。将采集的血液样本在室温下放置 30 min 后,4 000 r/min 离心 10 min 分离血清,于 -80°C 保存,用于后续研究。

1.3.2 临床资料收集: 收集所有患者临床资料,包括:年龄、性别、体质指数 (BMI)、吸烟史,经 CT 影像学检查统计结节大小、结节位置、有无淋巴结转移及影像学特征 (分叶、毛刺、血管束征、支气管征、胸膜凹陷征、空泡征) 等情况,在 CT 等影像学引导下,通过肺穿刺活检确定患者组织学分化程度及病理类型等情况。使用 ELISA 试剂盒检测血清中神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、癌胚

抗原 (CEA) 含量。

1.3.3 DLGAP5, RASSF1A 基因甲基化检测：利用 Trizol 试剂提取血清中总 RNA，按照 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化检测试剂盒操作流程进行 DNA 亚硫酸氢钠修饰，以修饰后的 DNA 为模版进行 PCR 反应。PCR 反应条件为：95℃ 5 min，94℃ 20 s，60℃ 30s，共 35 个循环。反应结束后进行琼脂糖凝胶电泳检测，在凝胶成像仪下观察拍照。DLGAP5

和 RASSF1A 基因甲基化判定：若仅有 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化引物扩增出产物，或 DLGAP5 和 RASSF1A 基因非甲基化引物及甲基化引物均扩增出产物，则判定为 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化；若仅有 DLGAP5 和 RASSF1A 基因非甲基化引物扩增出产物，则判定为 DLGAP5 和 RASSF1A 基因非甲基化。引物序列由上海生工生物工程股份有限公司设计合成。引物序列见表 1。

表 1 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化特异性 PCR 引物序列			
基因	甲基化状态	上游引物	下游引物
DLGAP5	甲基化	5'-CCTCCAGTCAGAAACTGAGAAA-3'	5'-CCAACTGCTGTGCGAATAAG-3'
	非甲基化	5'-GTGATGTTTCGAGCAATCCGA-3'	5'-AGAATAGTTTTTCATTGCCCTT-3'
RASSF1A	甲基化	5'-GGGTTCTGTTTTGTGGTTTCGTTTC-3'	5'-GATTAAACCCGTACTTCG-3'
	非甲基化	5'-GGGGTTTGTGTTTTGTGGTTTTGTTC-3'	5'-AACATAACCCAATTAAACCCATACATTC-3'

1.4 统计学分析 采用 SPSS23.0 软件进行统计学处理，计数资料以 $n(\%)$ 表示，采用 χ^2 检验，符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较采用 t 检验。采用一致性 Kappa 检验比较 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化单独及联合诊断肺结节良恶性与病理结果的一致性。利用 Spearman 法分析 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平与临床病理特征的相关性。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化比较 见表 2。与良性组相比，恶性组患者外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平均较高，差异具有统计学意义（均 $P<0.001$ ）。

2.2 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化对恶性肺结节的诊断价值 见表 3。联合检测 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化对恶性肺结节的敏感度和准确度均优于单个基因甲基化（ $Z=2.816, 2.497$, 均 $P<0.05$ ）。

表 2 两组患者外周血中 DLGAP5, RASSF1A 基因甲基化比较 [n(%)]

基 因		良性组 (n=58)	恶性组 (n=52)	χ^2	P
DLGAP5	甲基化	8(13.79)	32(61.54)	27.010	<0.001
	非甲基化	50(86.21)	20(38.46)		
RASSF1A	甲基化	12(20.69)	35(67.31)	24.350	<0.001
	非甲基化	46(79.31)	17(32.69)		

表 3 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化对恶性肺结节的诊断价值 (%)

项 目	敏感度	特异度	准确度	Kappa 值
DLGAP5 甲基化	61.54	86.21	74.55	0.583
RASSF1A 甲基化	67.31	79.31	73.63	0.569
两者联合	84.62	82.76	83.64	0.712

2.3 不同临床特征恶性肺结节患者 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化状态 见表 4。恶性肺结节患者结节大小、组织学分化程度、淋巴结转移及毛刺征与 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化水平相关，差异具有统计学意义（均 $P<0.05$ ）。

2.4 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化与恶性肺结节患者临床病理特征的相关性 见表 5。相关性分析显示，DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平与结节大小、组织学分化、淋巴结转移、毛刺征呈正相关（均 $P<0.05$ ）。

3 讨论

肺癌发病率和死亡率位居世界恶性肿瘤前列，而早期发现并及时干预对延长患者生存期具有重要意义^[17]。肺结节是早期肺癌的外在表现形式，有良恶性之分，其中良性肺结节主要包括肉芽瘤、错构瘤和炎性假瘤等，一般预后良好，而恶性肺结节包括原发性肺癌、鳞状细胞癌和小细胞癌等，预后较差^[18-19]。肺结节早期缺乏特异性表现，且定性诊断难度较大，因而早期准确判断肺结节的性质对于制定治疗方案和改善患者预后至关重要。传统的影像学检查虽有一定价值，但存在局限性，如一些炎性结节在影像学上可能表现出毛刺征等类似恶性肿瘤的表现，而且对于磨玻璃结节，其良恶性的影像学鉴别更加困难，需要长期随访观察其变化，这可能导致患者焦虑和延误诊断。而甲基化检测为解决这一问题带来新的希望。

研究表明，DNA 甲基化在许多肿瘤诊断和预后中起着关键作用。DLGAP5 是癌细胞癌变过程中的潜在细胞周期调节剂^[10]。研究报道，DLGAP5 基因在肾透明细胞癌患者中表达升高，且 DLGAP5 甲基

表 4

不同临床特征恶性肺结节患者 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化状态 [n(%), $\bar{x}\pm s$]

项 目		DLGAP5 甲基化		χ^2	P	RASSF1A 甲基化		χ^2	P
		甲基化 (n=32)	非甲基化 (n=20)			甲基化 (n=35)	非甲基化 (n=17)		
年龄 (岁)	<60	18(56.25)	10(50.00)	0.193	0.660	18(51.43)	6(35.29)	1.199	0.274
	≥ 60	14(43.75)	10(50.00)			17(48.57)	11(64.71)		
性别	男	16(50.00)	12(60.00)	0.495	0.482	16(45.71)	10(58.82)	0.787	0.375
	女	16(50.00)	8(40.00)			19(54.29)	7(41.18)		
BMI(kg/m ⁻²)	<22	15(46.88)	14(70.00)	2.668	0.102	16(45.71)	9(52.94)	0.239	0.625
	≥ 22	17(53.12)	6(30.00)			19(54.29)	8(47.06)		
吸烟史	有	20(62.50)	14(70.00)	0.306	0.580	24(68.57)	11(64.71)	0.302	0.583
	无	12(37.50)	6(30.00)			11(31.43)	6(35.29)		
结节大小	<8 mm	11(34.37)	13(65.00)	4.644	0.031	12(34.29)	11(64.71)	4.293	0.038
	≥ 8 mm	21(65.63)	7(35.00)			23(65.71)	6(35.29)		
结节位置	左肺	12(37.50)	10(50.00)	0.788	0.375	14(40.00)	8(47.06)	0.233	0.629
	右肺	20(62.50)	10(50.00)			21(60.00)	9(52.94)		
组织学分化	高分化	15(46.88)	4(20.00)	7.732	0.021	17(48.57)	3(17.65)	8.368	0.015
	中分化	11(34.37)	5(25.00)			11(31.43)	4(23.53)		
	低分化	6(18.75)	11(55.00)			7(20.00)	10(58.82)		
淋巴结转移	有	24(75.00)	7(35.00)	8.179	0.004	24(68.57)	5(29.41)	7.113	0.007
	无	8(25.00)	13(65.00)			11(31.43)	12(70.59)		
病理类型	腺癌	13(40.63)	8(40.00)	0.598	0.741	15(42.55)	8(47.06)	0.196	0.907
	鳞癌	10(31.25)	8(40.00)			12(34.29)	6(35.29)		
	其他	9(28.12)	4(20.00)			8(22.86)	3(17.65)		
分叶征	有	23(71.88)	9(45.00)	3.756	0.053	23(65.71)	7(41.18)	2.823	0.093
	无	9(28.12)	11(55.00)			12(34.29)	10(58.82)		
毛刺征	有	24(75.00)	4(20.00)	14.981	<0.001	28(80.00)	5(29.41)	12.629	<0.001
	无	8(25.00)	16(80.00)			7(20.00)	12(70.59)		
血管集束征	有	20(62.50)	8(40.00)	2.507	0.113	20(57.14)	8(47.06)	0.468	0.494
	无	12(37.50)	12(60.00)			15(42.86)	9(52.94)		
支气管征	有	18(56.25)	9(45.00)	0.624	0.430	19(54.29)	6(35.29)	1.653	0.199
	无	14(43.75)	11(55.00)			16(45.71)	11(64.71)		
胸膜凹陷征	有	21(65.63)	8(40.00)	3.276	0.070	22(62.86)	6(35.29)	3.498	0.061
	无	11(34.37)	12(60.00)			13(37.14)	11(64.71)		
空泡征	有	19(59.38)	7(35.00)	2.925	0.087	21(60.00)	7(41.18)	1.631	0.202
	无	13(40.62)	13(65.00)			14(40.00)	10(58.82)		
CEA(ng/ml)		4.14 ± 0.98	3.56 ± 0.83	1.895	0.064	4.36 ± 0.92	3.83 ± 0.88	1.976	0.054
NSE(μg/L)		15.27 ± 2.05	14.33 ± 1.92	1.648	0.106	15.45 ± 2.11	14.36 ± 1.92	1.798	0.078

表 5 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化与恶性肺结节患者临床病理特征相关性				
类别	DLGAP5 甲基化		RASSF1A 甲基化	
	r	P	r	P
结节大小	0.574	<0.05	0.527	<0.05
组织学分化	0.512	<0.05	0.594	<0.001
淋巴结转移	0.644	<0.001	0.665	<0.001
毛刺征	0.683	<0.001	0.691	<0.001

化与肾透明细胞癌患者的不良预后相关^[20]。RASSF1A 参与了许多靶基因的调控, RASSF1A 基因失活原因可能是启动子区异常高甲基化、杂合性缺失及染色体缺失等^[21]。RASSF1A 过表达抑制肺癌肿瘤生长和体内肺结节转移, DNA 甲基化阻断了转录因子 CTCF 对 RASSF1A 表达的调节, 减轻了 RASSF1A 对肺癌的抗性^[22]。肺癌中 RASSF1A 存在缺失和失活, 与其启动子区的高甲基化密切相

关^[14]。基因甲基化是一种表观遗传学改变,可导致基因表达沉默或降低^[23]。在本研究中,恶性肺结节患者外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平比良性肺结节患者高。这表明外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化与肺结节的恶性转化密切相关。根据先前研究结果,本研究进一步说明了 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化与癌症发病机制相关,并且在肺结节这种可能的癌前病变阶段就已经出现异常。其原因可能是在正常细胞中, DLGAP5 表达受到严格调控。然而,当发生甲基化异常时, DLGAP5 基因的表达可能受到抑制,进而影响细胞的正常增殖和分化,增加了肿瘤的发生风险。当 RASSF1A 基因发生甲基化时,其表达受到抑制,这种抑制作用被解除,使细胞更容易发生癌变。

本研究中, DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化联合诊断恶性肺结节的敏感度及准确度高,并且与病理结果的一致性高。这说明 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化联合检测可以提高肺结节良恶性鉴别的准确度,提示 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化联合检测可以帮助确定是否需要进一步的有创检查或直接进行手术干预。另外,在本研究恶性肺结节患者中,不同临床特征患者 DLGAP5 和 RASSF1A 甲基化水平有差异,且 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平与结节大小、组织学分化、淋巴结转移、毛刺征呈正相关,这表明 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平可能与肺结节的恶性程度密切相关。随着肿瘤的进展, DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平也相应增加,进一步暗示其可作为判断病情进展和预后的潜在指标。这为临床利用 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化检测来评估肺结节良恶性和预测预后提供了理论依据,也为后续制定个性化治疗方案提供了新的方向。

综上所述,外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化水平在恶性肺结节患者中明显升高,可作为肺结节良恶性鉴别诊断的分子标志物。外周血中 DLGAP5 和 RASSF1A 基因甲基化检测具有无创、便捷、可重复性好等优点,对于一些难以通过影像学检查和临床症状判断性质的肺结节,基因甲基化检测可以为肺结节患者的诊断和治疗提供更加准确、便捷的手段。但本研究存在一定局限性,未来应扩大样本量,进行多中心研究,以提高结果的可靠性和普遍性。另外应深入研究基因甲基化的作用机制,探索其在肿瘤发生发展中的具体作用,为开发新的治疗方法提供理论依据。

参考文献:

- [1] SETHI S, CICIENIA J. Role of biomarkers in lung nodule evaluation[J]. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 2022, 28(4):275-281.
- [2] CHEN Xinyu, ZHU Xianji, YAN Wenjun, et al. Serum lncRNA THRIL predicts benign and malignant pulmonary nodules and promotes the progression of pulmonary malignancies[J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1):755.
- [3] 陈敬信, 王小玲. 肺结节组织中 Caspase3 和 Caspase9 蛋白表达在良恶性诊断及肺癌临床病理特征中的价值研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(4):92-95.
CHEN Jingxin, WANG Xiaoling. Value of Caspase3 and Caspase9 protein expression in lung nodules in diagnosis of benign and malignant and clinicopathological characteristics of lung cancer[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(4):92-95.
- [4] HUANG Guo, CHEN Juan, ZHOU Jun, et al. Epigenetic modification and BRAF gene mutation in thyroid carcinoma[J]. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1):687.
- [5] 谌媛媛, 李静. 宫颈脱落细胞中 PAX1 和 SOX1 基因甲基化对宫颈癌实验诊断的临床研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37 (6): 46-51.
CHEN Yuanyuan, LI Jing. Clinical study of PAX1 and SOX1 gene methylation in cervical exfoliated cells for experimental diagnosis of cervical cancer[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37 (6): 46-51.
- [6] 李坤, 韩娜, 凡志祥, 等. DLGAP5 作为肾透明细胞癌的诊断标志物及其与 CD8⁺T 细胞的相关性 [J]. *医学信息*, 2023, 36(7):1-8.
LI Kun, HAN Na, FAN Zhixiang, et al. DLGAP5 as a diagnostic marker of renal clear cell carcinoma and its correlation with CD8⁺T cells[J]. *Journal of Medical Information*, 2023, 36(7):1-8.
- [7] TANG Neng, DOU Xiaolin, YOU Xing, et al. Pan-cancer analysis of the oncogenic role of discs large homolog associated protein 5 (DLGAP5) in human tumors[J]. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1):457.
- [8] ZHENG Ruoyi, SHI Zhengzheng, LI Wenzhi, et al. Identification and prognostic value of DLGAP5 in endometrial cancer[J]. *PeerJ*, 2020, 8:e10433.
- [9] FENG Yun, LI Fang, YAN Jing, et al. Pan-cancer analysis and experiments with cell lines reveal that the slightly elevated expression of DLGAP5 is involved in clear cell renal cell carcinoma progression[J]. *Life Sciences*, 2021, 287:120056.
- [10] RAO Xiaosheng, CAO Hanyan, YU Qingfeng, et al. NEAT1/MALAT1/XIST/PKD-Hsa-miR-101-3p-DLGAP5 axis as a novel diagnostic and prognostic biomarker associated with immune cell infiltration in bladder cancer[J]. *Frontiers in Genetics*, 2022, 13:892535.
- [11] XU Tao, DONG Menglu, LI Hanning, et al. Elevated mRNA expression levels of DLGAP5 are associated with poor prognosis in breast cancer[J]. *Oncology Letters*, 2020, 19(6):4053-4065.
- [12] BRANCHI V, GARCÍA S A, RADHAKRISHNAN P, et al. Prognostic value of DLGAP5 in colorectal cancer[J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 2019, 34(8):1455-1465.
- [13] TANG Xiaolong, ZHOU Honghong, LIU Yongshuo. High expression of DLGAP5 indicates poor prognosis and immunotherapy in lung adenocarcinoma and

- promotes proliferation through regulation of the cell cycle[J]. *Disease Markers*, 2023, 2023:9292536.
- [14] HARRELL STEWART D R, SCHMIDT M L, DONNINGER H, et al. The RASSF1A tumor suppressor binds the RasGAP DAB2IP and modulates RAS activation in lung cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(12):3807.
- [15] MALPELI G, INNAMORATI G, DECIMO I, et al. Methylation dynamics of RASSF1A and its impact on cancer[J]. *Cancers*, 2019, 11(7):959.
- [16] 中华医学会呼吸病学分会间质性肺疾病学组, 中国医师协会呼吸医师分会间质性肺疾病工作委员会. 中国肺结节病诊断和治疗专家共识 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 42(9): 685-693.
- Interstitial Lung Disease Group, Chinese Thoracic Society, Chinese Medical Association; Interstitial Lung Disease Working Committee, Chinese Association of Chest Physicians, Chinese Medical Doctor Association. Chinese expert consensus on the diagnosis and treatment of pulmonary sarcoidosis[J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2019, 42(9):685-693.
- [17] LIU Peiyu, ZHAO Qingyang, XU Yang, et al. A Chinese classical prescription Qianjinweijing Decoction in treatment of lung cancer: An overview[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 156:113913.
- [18] 杨洁, 赵森, 李秋实, 等. 功能磁共振成像联合 CT 配合 AI 诊断系统鉴别诊断肺结节良恶性的价值观察 [J]. *罕见疾病杂志*, 2024, 31(8):52-53.
- YANG Jie, ZHAO Sen, LI Qiushi, et al. The value of functional magnetic resonance imaging combined with CT combined with AI diagnostic system in the differential diagnosis of benign and malignant pulmonary nodules[J]. *Journal of Rare and Uncommon Diseases*, 2024, 31(8):52-53.
- [19] WANG Xiaojing, LIU Haifeng, ZHAI Dongjie, et al. Multiple primary lung tumors of different pathological types including squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and mixed squamous cell and glandular papilloma: A case report[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2022, 15:13-19.
- [20] 孙井涛, 郭长春, 许传兵, 等. DLGAP5 基因突变与甲基化在肾透明细胞癌中的预后及意义 [J]. *泌尿外科杂志 (电子版)*, 2022, 14(2): 31-38.
- SUN Jingtao, GUO Changchun, XU Chuanbing, et al. Prognosis of DLGAP5 in kidney renal clear cell carcinoma[J]. *Journal of Urology for Clinicians (Electronic Version)*, 2022, 14 (2): 31-38.
- [21] RAOS D, ULAMEC M, KATUSIC BOJANAC A, et al. Epigenetically inactivated RASSF1A as a tumor biomarker[J]. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 2021, 21(4):386-397.
- [22] 朱东平, 李海峰, 冯俊飞, 等. 肺部结节或肿块患者肺泡灌洗液 SHOX2 和 RASSF1A 基因甲基化在肺癌诊断中的价值 [J]. *昆明医科大学学报*, 2024, 45(3):106-111.
- ZHU Dongping, LI Haifeng, FENG Junfei, et al. Value of SHOX2 and RASSF1A gene methylation in alveolar lavage fluid in patients with pulmonary nodules or masses in the diagnosis of lung cancer[J]. *Journal of Kunming Medical University*, 2024, 45(3): 106-111.
- [23] RUIZ DE LA CRUZ M, DE LA CRUZ MONTOYA A H, ROJAS JIMÉNEZ E A, et al. Cis-acting factors causing secondary epimutations: impact on the risk for cancer and other diseases[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(19):4807.
- 收稿日期: 2024-12-03
修回日期: 2025-01-08

(上接第 52 页)

- LÓPEZ M D, et al. Role of V-ATPases in solid tumors: importance of the subunit C (Review)[J]. *International Journal of Oncology*, 2009, 34(6): 1513-1520.
- [13] PÉREZ-SAYÁNS M, REBOIRAS-LÓPEZ M D, SOMOZA-MARTÍN J M, et al. Measurement of ATP6V1C1 expression in brush cytology samples as a diagnostic and prognostic marker in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2010, 9(12): 1057-1064.
- [14] OTERO-REY E M, SOMOZA-MARTÍN M, BARROS-ANGUEIRA F, et al. Intracellular pH regulation in oral squamous cell carcinoma is mediated by increased V-ATPase activity via over-expression of the ATP6V1C1 gene[J]. *Oral Oncology*, 2008, 44(2): 193-199.
- [15] PÉREZ-SAYÁNS M, SUÁREZ-PEÑARANDA J M, AGUIRRE-URÍZAR J M, et al. The use of tissue microarrays for semiquantitative evaluation of ATPaseC1 expression is ineffective [J]. *Biotechnic & Histochemistry*, 2015, 90(6): 439-444.
- [16] LI Fengzhi, ALJAHDAI I, LING Xiang. Cancer therapeutics using survivin BIRC5 as a target: what can we do after over two decades of study?[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2019, 38(1): 368.
- [17] VELCULESCU V E, MADDEN S L, ZHANG L, et al. Analysis of human transcriptomes[J]. *Nature Genetics*, 1999, 23(4): 387-388.
- [18] LIN T Y, CHAN H H, CHEN S H, et al. BIRC5/survivin is a novel ATG12-ATG5 conjugate interactor and an autophagy-induced DNA damage suppressor in human cancer and mouse embryonic fibroblast cells[J]. *Autophagy*, 2020, 16(7): 1296-1313.
- [19] TROIANO G, GUIDA A, AQUINO G, et al. Integrative histologic and bioinformatics analysis of BIRC5/survivin expression in oral squamous cell carcinoma[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(9): 2664.
- [20] DHAINI H R, EL HAFI B, KHAMIS A M. NAT1 genotypic and phenotypic contribution to urinary bladder cancer risk: a systematic review and meta-analysis [J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2018, 50(2): 208-219.
- [21] POLIMANTI R, GELERNTER J. ADH1B: from alcoholism, natural selection, and cancer to the human phenome [J]. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics*, 2018, 177(2): 113-125.
- [22] LIU Xiaohong, XU Qian, LI Zijing, et al. Integrated analysis identifies AQP9 correlates with immune infiltration and acts as a prognosticator in multiple cancers[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 20795.
- 收稿日期: 2023-03-13
修回日期: 2024-07-12