

多个肿瘤标志物联合检测诊断非小细胞肺癌的价值

闫飞¹, 马艳宁², 宋燕¹, 刘雪凯¹

(1. 航天中心医院 检验科, 北京, 100049; 2. 中国人民解放军总医院 检验科, 北京, 100039)

摘要: **目的** 探讨叶酸受体阳性循环肿瘤细胞(FR⁺-CTCs)、神经元烯醇化酶(NSE)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21-1)联合检测在非小细胞肺癌(NSCLC)诊断中的价值。**方法** 选取本院2019年1月—2020年8月150例NSCLC患者为NSCLC组, 100例肺部良性病变患者为良性病变组, 健康体检者100例为对照组。比较3组FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平, 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析各项指标单独与联合检测的诊断效能。**结果** NSCLC组FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平高于良性病变组、对照组, 良性病变组FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在TNM分期I、II期NSCLC患者中, FR⁺-CTCs阳性率高于NSE、CYFRA21-1, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。分析150例NSCLC患者临床病理特征发现, TNM分期为III期及IV期、鳞癌、分化程度低、有淋巴结转移的患者FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平分别高于I期及II期、腺癌、分化程度高、无淋巴结转移的患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。ROC曲线分析结果提示, 联合检测的曲线下面积(AUC)、敏感度、特异度依次为0.938、90.1%、84.6%, 均较单独检测具有更高的诊断效能, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** FR⁺-CTCs在NSCLC早期具有较高的检出率, FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1联合检测可以进一步提高诊断效能, 对NSCLC的早期诊断具有重要意义。

关键词: 非小细胞肺癌; 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞; 神经元烯醇化酶; 细胞角蛋白19片段

中图分类号: R 446.61; R 734.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)09-014-04 DOI: 10.7619/jcmp.20210120

Value of combined detection of multiple tumor markers in the diagnosis of non-small cell lung cancer

YAN Fei¹, MA Yanning², SONG Yan¹, LIU Xuekai¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Aerospace Center Hospital, Beijing, 100049;

2. Department of Laboratory, General Hospital of People's Liberation Army, Beijing, 100039)

Abstract: Objective To investigate the value of combined detection of folate receptor-positive circulating tumor cells (FR⁺-CTCs), neuronal enolase (NSE) and cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1) in diagnosis of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** From January 2019 to August 2020, 150 patients with NSCLC were selected as NSCLC group, 100 patients with benign pulmonary lesions were selected as benign lesion group, and 100 healthy people in physical examinations were selected as control group. The levels of FR⁺-CTCs, NSE and CYFRA21-1 were compared among the three groups. The diagnostic efficacies of one indicator and combined detection were analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The levels of FR⁺-CTCs, NSE and CYFRA21-1 in the NSCLC group were significantly higher than those in the benign lesion group and control group, and the levels of FR⁺-CTCs, NSE and CYFRA21-1 in the benign lesion group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). In the NSCLC patients with TNM stage I and II, the positive rate of FR⁺-CTCs was significantly higher than that of NSE and CYFRA21-1 ($P < 0.05$). The clinicopathological features of 150 patients with NSCLC were analyzed, and the levels of FR⁺-CTCs, NSE and CYFRA21-1 in patients with TNM stage III and IV, squamous cell carcinoma, low differentiation and lymph node metastasis were significantly higher than those in patients with TNM stage I and II, adenocarcinoma, high differentiation and no lymph node metastasis ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under curve (AUC), sensitivity and

specificity of combined detection were 0.938, 90.1% and 84.6% respectively, which were significantly higher than those of single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** FR⁺-CTCs has a high detection rate in the early stage of NSCLC. Combined detection of FR⁺-CTCs, NSE and CYFRA21-1 can further improve the diagnostic efficiency, which is of great significance for the early diagnosis of NSCLC.

Key words: non-small cell lung cancer; folate receptor-positive circulating tumor cells; neuronal enolase; cytokeratin 19 fragment

肺癌是世界范围内发病率和致死率较高的恶性肿瘤,已经逐渐发展成为严重的公共卫生健康问题和社会问题^[1-2]。肺癌按组织形态学可以分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌,其中NSCLC约占85%以上^[3]。肺癌早期症状不明显,确诊时多为晚期。晚期肺癌患者的5年生存率仅为5%,而早期肺癌的5年生存率可达57%^[4]。因此,早发现、早治疗对延长肺癌患者生存时间及改善预后极为重要。临床上常采用血清肿瘤标志物对肺癌患者进行诊断,但不同的肿瘤标志物对不同类型肺癌的诊断灵敏度和特异度各不相同^[5]。研究^[6]报道在早期肺癌患者血清中可以检测到循环肿瘤细胞(CTCs),而叶酸受体则是外周血CTCs的理想靶点,可用于多种实体瘤的早期诊断。本研究探讨检测叶酸受体阳性循环肿瘤细胞(FR⁺-CTCs)、神经烯醇化酶(NSE)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21-1)在NSCLC诊断中的价值,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2019年1月—2020年8月呼吸内科收治的150例NSCLC患者为NSCLC组,其中男110例,女40例,平均年龄(62.30 ± 13.20)岁。纳入标准:①年龄20~80岁者;②符合2018年版《NCCN非小细胞肺癌诊断指南》^[7]的诊断标准者;③初次发病,未进行放化疗治疗者。排除标准:①合并重要脏器疾病或其他恶性肿瘤者;②合并心脑血管疾病者;③妊娠期女性。根据肺癌TNM分期标准^[8]分为I期50例,II期51例,III期39例,IV期10例。选取100例肺部良性病变患者作为良性病变组,其中男70例,女30例,平均年龄(61.20 ± 12.70)岁;良性病变均经影像学及组织病理学确诊,患者既往无恶性肿瘤史。选取体检中心健康体检者100例为对照组,其中男70例,女30例,平均年龄(61.80 ± 13.00)岁;受试者身心健康,无既往肺部疾病史。3组受试

者年龄、性别分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,所有研究对象知情同意。

1.2 检测方法

所有研究对象均空腹抽取静脉血2管,一管加入乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝血3 mL,另一管无添加剂干燥真空管3 mL。FR⁺-CTCs检测方法:在获得EDTA抗凝血3 mL血样后,采用免疫磁珠负向富集法捕获CTCs,应用配体靶向聚合酶链式反应(PCR)检测FR⁺-CTCs。仪器为美国ABI7300实时定量PCR仪,采用格诺思博生物科技公司生产的试剂盒。在3 mL血液中检测到1个FR⁺-CTCs即判断为1 FU,阳性判断标准为≥8.7 FU。NSE、CYFRA21-1检测方法:仪器为贝克曼DXI-800全自动免疫分析仪,采用配套试剂盒。NSE > 16.5 ng/mL、CYFRA21-1 > 3.3 ng/mL为阳性。所有检测项目均严格按照试剂盒说明书及标准操作规程进行。

1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0统计软件对所有数据进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验,计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,比较行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用受试者工作特征(ROC)曲线计算各项检测指标的曲线下面积(AUC),并分析单独检测和联合检测的灵敏度、特异度。

2 结果

2.1 3组FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平比较

NSCLC组FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平高于良性病变组、对照组,良性病变组FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1水平高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

2.2 不同TNM分期NSCLC患者相关指标阳性率比较

在TNM分期I、II期NSCLC患者中,FR⁺-CTCs阳性率高于NSE、CYFRA21-1阳性率,

差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 3 组 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FR ⁺ -CTCs/FU	NSE/(ng/mL)	CYFRA21-1/(ng/mL)
NSCLC 组	150	12.13 ± 2.61*#	58.15 ± 12.36*#	10.88 ± 1.01*#
良性病变组	100	6.32 ± 2.33*	7.81 ± 1.59*	4.31 ± 1.42*
对照组	100	3.20 ± 2.17	3.29 ± 1.23	2.95 ± 0.39

FR⁺-CTCs: 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞; NSE: 神经元烯醇化酶; CYFRA21-1: 细胞角蛋白 19 片段。

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与良性病变组比较, # $P < 0.05$ 。

表 2 不同 TNM 分期 NSCLC 患者相关指标阳性率比较[n(%)]

TNM 分期	n	FR ⁺ -CTCs 阳性	NSE 阳性	CYFRA21-1 阳性
I 期	50	38(76.00)	27(54.00)*	25(50.00)*
II 期	51	40(78.43)	32(62.75)*	31(60.78)*
III 期	39	32(82.05)	31(79.49)	30(76.92)
IV 期	10	10(100.00)	10(100.00)	9(90.00)

FR⁺-CTCs: 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞;

NSE: 神经元烯醇化酶; CYFRA21-1: 细胞角蛋白 19 片段。

与 FR⁺-CTCs 阳性比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 不同临床病理特征 NSCLC 患者 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平比较

分析 150 例 NSCLC 患者临床病理特征发现, TNM 分期为 III 期及 IV 期、鳞癌、分化程度低、有淋巴结转移的患者 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平分别高于 I 期及 II 期、腺癌、分化程度高、无淋巴结转移的患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 不同临床病理特征 NSCLC 患者 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

病理特征		FR ⁺ -CTC/FU	NSE/(ng/mL)	CYFRA21-1/(ng/mL)
TNM 分期	I 期及 II 期(n=101)	10.69 ± 1.39	53.33 ± 14.36	10.56 ± 1.39
	III 期及 IV 期(n=49)	12.86 ± 2.21*	60.15 ± 12.36*	12.01 ± 1.14*
分化程度	低分化(n=98)	13.27 ± 2.15	61.33 ± 12.36	11.29 ± 1.49
	高分化(n=52)	11.56 ± 1.98*	57.99 ± 11.88*	9.98 ± 1.63*
病理类型	腺癌(n=82)	10.69 ± 1.83	57.83 ± 12.51	10.00 ± 1.89
	鳞癌(n=68)	13.25 ± 2.32*	60.19 ± 13.44*	11.03 ± 1.78*
淋巴结转移	有(n=28)	12.79 ± 2.33	61.09 ± 11.98	12.03 ± 2.02
	无(n=122)	10.59 ± 1.27*	57.90 ± 13.24*	10.14 ± 1.78*

FR⁺-CTCs: 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞; NSE: 神经元烯醇化酶; CYFRA21-1: 细胞角蛋白 19 片段。

与同一病理特征另一亚项比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 对 NSCLC

患者的诊断效能分析

ROC 曲线分析结果提示, 联合检测的 AUC、

敏感度、特异度依次为 0.938、90.1%、84.6%, 均较单独检测具有更高的诊断效能, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 对 NSCLC 患者诊断效能分析

指标	AUC	95% CI	灵敏度/%	特异度/%	截断值
FR ⁺ -CTCs/FU	0.880*	0.835 ~ 0.930	82.1*	81.7*	8.5
NSE/(ng/mL)	0.829*	0.780 ~ 0.888	72.0*	83.0*	15.4
CYFRA21-1/(ng/mL)	0.700*	0.608 ~ 0.736	85.0*	60.1*	3.2
联合检测	0.938	0.906 ~ 0.973	90.1	84.6	-

AUC: 曲线下面积; CI: 置信区间。与联合检测比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

肺癌已成为中国城市人口首要的恶性肿瘤死亡原因, 且 80% 以上为 NSCLC^[9]。NSCLC 生长较慢、转移较晚, 早期症状不明显, 大多数患者就诊时已出现不同程度、部位的转移, 无法进行手术治疗, 导致晚期患者生存率低。

FR⁺-CTCs 是近年来发现的新型肿瘤标志物。CTCs 是由实体肿瘤或转移病灶释放入血, 随着肿瘤细胞的浸润和转移时, 部分肿瘤细胞可以通过结缔组织间隙或破裂的毛细血管进入血液循环^[10]。叶酸是人体必需的维生素, 主要从外界摄取, 通过与细胞表面叶酸受体结合而进入细胞。叶酸受体在多种肿瘤细胞中高度表达, 尤其是卵

巢癌和肺癌,正常人机体中表达极低,叶酸受体已经成为检测 CTCs 的理想靶点^[11]。NSE 是一种糖酵解酶,主要分布于人体神经元和神经内分泌细胞内,在周围型 NSCLC 中显著升高^[12]。但 NSE 在良性病变中也会出现高表达,因此存在一定假阳性。CYFRA21-1 是细胞角蛋白家族的重要成员,在恶性肿瘤细胞的增殖过程中以外分泌的形式进入血液循环,在肺癌中可高度表达^[13]。

本研究发现 NSCLC 患者的 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平显著升高,说明这些标志物与肺癌的发生、发展密切相关,与研究^[14]结果相近。FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 联合检测的诊断效能明显提高,弥补了单独检测的各项不足,提高了肺癌早期检测的诊断效能。本研究还发现,FR⁺-CTCs 在早期肺癌中具有更高的检出率,可能与肿瘤细胞释放入血而早期临床症状还不明显有关。本研究还显示, TNM 分期为 III 期及 IV 期、鳞癌、分化程度低、有淋巴结转移的患者 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平明显升高,因此临床需积极监测 FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 水平以评估癌症进展情况,为临床治疗提供参考。

综上所述, FR⁺-CTCs 在 NSCLC 早期具有较高的检出率, FR⁺-CTCs、NSE、CYFRA21-1 联合检测可以进一步提高诊断效能,对 NSCLC 的早期诊断具有重要意义。

参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM 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.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.

[3] WANG L, ZHAO D Z, QIN K, *et al.* Effect and biomarker of Nivolumab for non-small-cell lung cancer[J]. Biomedicine Pharmacother, 2019, 117: 109199.

[4] CHENG B, XIONG S, LI C C, *et al.* An annual review of the remarkable advances in lung cancer clinical research in 2019[J]. J Thorac Dis, 2020, 12(3): 1056-1069.

[5] CHEN Z Q, HUANG L S, ZHU B. Assessment of seven clinical tumor markers in diagnosis of non-small-cell lung cancer[J]. Dis Markers, 2018, 2018: 9845123.

[6] 李倩, 郑琪, 马婕群, 等. 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测的临床研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(2): 356-360.

[7] LIU H. Updates of the NCCN guidelines for small cell lung cancer[J]. 肿瘤学与转化医学: 英文版, 2018, 4(2): 81-83.

[8] 杨龙海, 叶波, 魏星, 等. 最新国际肺癌 TNM 分期标准(第 8 版)修订稿解读[J]. 中国医刊, 2016, 51(9): 22-25.

[9] 王春梅, 高艳丽, 尹丽霞. 非小细胞肺癌放射治疗研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(10): 720-724.

[10] RZETCHONEK A, BŁASIAK P, MUSZCZYŃSKA-BERNHARD B, *et al.* Metachronous lung cancer: clinical characteristics and effects of surgical treatment[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1039: 9-17.

[11] CHEN L J, PENG M, LI N, *et al.* Combined use of EpCAM and FR α enables the high-efficiency capture of circulating tumor cells in non-small cell lung cancer[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 1188.

[12] 盛俊卿, 李卫星, 贾祯, 等. 多层螺旋 CT 灌注成像联合血清 CYFRA21-1、CEA、NSE 对周围型非小细胞肺癌的诊断价值[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(5): 542-546.

[13] 刘亚杰, 马晓波. 肿瘤标志物 GSTP1、CYFRA21-1 及 SCC-Ag 对非小细胞肺癌的预后评估价值[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(14): 42-46.

[14] 潘世泽, 汪巍, 方一凡, 等. 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测对早期肺癌的诊断效能[J]. 山东医药, 2017, 57(47): 69-72. (本文编辑: 梁琥)

(上接第 13 面)

[11] MEUWISSEN M E, HALLEY D J, SMIT L S, *et al.* The expanding phenotype of COL4A1 and COL4A2 mutations; clinical data on 13 newly identified families and a review of the literature[J]. Genet Med, 2015, 17(11): 843-853.

[12] PLAISIER E, RONCO P. COL4A1-Related Disorders. In: GeneReviews® [DB/OL]. Seattle (WA): University of Washington, 2009.

[13] WEN Y, YANG H X, WU J J, *et al.* COL4A2 in the tissue-specific extracellular matrix plays important role on osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells[J]. Theranostics, 2019, 9(15): 4265-4286.

[14] PARK A C, PHAN N, MASSOUDI D, *et al.* Deficits in COL5A2 expression result in novel skin and adipose abnormalities and predisposition to aortic aneurysms and dissections[J]. Am J Pathol, 2017, 187(10): 2300-2311.

[15] NANDI S S, KATSURADA K, SHARMA N M, *et al.* MMP9 inhibition increases autophagic flux in chronic heart failure[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2020, 319(6): H1414-H1437.

[16] XU L, CAI Z, YANG F, *et al.* Activation-induced upregulation of MMP9 in mast cells is a positive feedback mediator for mast cell activation[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(4): 1759-1764.

[17] KRAMEROVA I, KUMAGAI-CRESSE C, ERMOLOVA N, *et al.* Spp1 (osteopontin) promotes TGF β processing in fibroblasts of dystrophin-deficient muscles through matrix metalloproteinases[J]. Hum Mol Genet, 2019, 28(20): 3431-3442.

(本文编辑: 梁琥)