

呼吸系统疾病多学科研究专题

血浆循环游离 DNA 水平及其完整性
用于肺结节良恶性的诊断研究居冠军¹, 施民新¹, 樊烽辉¹, 陈赛华¹, 刘红利², 龚海鹏³, 朱桂娟¹

(江苏省南通市肿瘤医院, 1. 胸外科, 2. 检验科, 3. 影像科, 江苏 南通, 226361)

摘要: 目的 探讨血浆循环游离 DNA (cfDNA) 水平及其完整性对肺结节良恶性的诊断价值。方法 选取 110 例肺结节患者作为研究对象, 根据病理诊断结果分为良性肺结节组 60 例与恶性肺结节组 50 例, 另选取同期健康体检者 30 例设为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血浆癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1 (CYFRA21-1) 水平, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测血浆 cfDNA 水平和 cfDNA 完整性; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线, 分析并比较血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性、CEA、Cyfra21-1 单独和联合应用对恶性肺结节的诊断效能。结果 恶性肺结节组血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平依次为 1 154.83(452.85, 1 642.31)、7.93(3.21, 10.31)、5.75(2.85, 8.12) ng/mL, 分别高于良性肺结节组的 385.43(176.45, 704.55)、2.67(1.36, 5.45)、2.74(1.43, 3.96) ng/mL, 差异有统计学意义($P < 0.001$); 恶性肺结节组患者 cfDNA 完整性为 0.68(0.47, 0.91), 高于良性肺结节组的 0.37(0.26, 0.59), 差异有统计学意义($P < 0.001$)。血浆 cfDNA 水平和 cfDNA 完整性与恶性肺结节患者性别、年龄、是否吸烟、肿瘤直径、病理类型、TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移均无相关性($P > 0.05$)。ROC 曲线显示, 血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性诊断恶性肺结节的曲线下面积、敏感度、特异度均大于或高于 CEA、Cyfra21-1; 血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性联合诊断恶性肺结节的敏感度、特异度均高于四者单独检测, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血浆 cfDNA 水平和 cfDNA 完整性对恶性肺结节具有一定的诊断价值, 可作为肺结节良恶性辅助诊断的分子生物学指标。

关键词: 循环游离 DNA; 肺结节; 良恶性; 血浆; 癌胚抗原; 细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1

中图分类号: R 734.2; R 446.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2023)07-025-05 DOI: 10.7619/jcmp.20223406

A clinical study of circulating free DNA concentration
and integrity in peripheral blood in the diagnosis
of benign and malignant pulmonary nodulesJU Guanjun¹, SHI Minxin¹, FAN Yihui¹, CHEN Saihua¹, LIU Hongli²,
GONG Haipeng³, ZHU Guijuan¹(1. Department of Thoracic Surgery, 2. Laboratory Department, 3. Department Imaging, Nantong
Cancer Hospital of Jiangsu Province, Nantong, Jiangsu, 226361)

Abstract: **Objective** To explore the concentration and integrity of circulating free DNA (cfDNA) in plasma, and its diagnostic value for benign and malignant pulmonary nodules. **Methods** According to pathological diagnosis results, the patients were divided into benign pulmonary nodules group (60 cases) and malignant pulmonary nodule group (50 cases), and another 30 healthy examiners in the same period were selected as control group. Plasma carcinoembryonic antigen (CEA) and cytokeratin fragment 19 (Cyfra21-1) expression levels were detected by enzyme-related immunosorbent assay (ELISA). The cfDNA level and cfDNA integrity were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn, and the diagnostic value of cfDNA, CEA and Cyfra21-1 in NSCLC was analyzed by ROC curve, and the diagnostic efficacy of each index and their combination was compared. **Results** Compared with the benign pulmonary nodule group [385.43 (176.45, 704.55), 0.37 (0.26, 0.59) ng/mL, 2.67 (1.36, 5.45) ng/mL, 2.74 (1.43, 3.96) ng/mL], the plasma levels of cfDNA [1 154.83 (452.85,

1 642.31) ng/mL], cfDNA integrity[0.68 (0.47, 0.91) ng/mL], CEA[7.93 (3.21, 10.31) ng/mL] and Cyfra21-1 [5.75 (2.85, 8.12) ng/mL] in the malignant pulmonary nodule group were significantly increased ($P < 0.05$). Plasma cfDNA concentration and integrity showed no significant correlation with gender, age, smoking or not, tumor diameter, pathological type, TNM stage, degree of tumor differentiation and lymph node metastasis in lung cancer patients ($P > 0.05$). ROC curve showed that area under the curve, sensitivity and specificity of plasma cfDNA concentration and cfDNA integrity were higher or larger than those of CEA and Cyfra21-1, the sensitivity and specificity of plasma cfDNA concentration and cfDNA integrity combined with CEA and Cyfra21-1 in the diagnosis of NSCLC were higher than those of their single detection of plasma cfDNA concentration, cfDNA integrity, CEA, Cyfra21-1 ($P < 0.05$). **Conclusion** Plasma cfDNA and its integrity have certain clinical value in the diagnosis of benign and malignant pulmonary nodules, and can be used as molecular biological indicators for the auxiliary diagnosis of benign and malignant pulmonary nodules.

Key words: circulating free DNA; pulmonary nodules; benign and malignant types; plasma; carcinoembryonic antigen; cytokeratin fragment 19

肺结节是指影像学表现为局灶性、类圆形、密度增大、直径 ≤ 3 cm且周围被含气肺组织包绕的实性或亚实性肺部阴影,而肺癌在早期常表现为肺结节。尽早鉴别诊断肺结节良恶性,对于改善治疗效果和预后具有重要意义^[1-2]。目前,组织病理学检查依然是诊断非小细胞肺癌(NSCLC)的金标准,但其具有创伤性,且对较小肿瘤组织的操作难度较大,影像学检查则可了解肺癌的部位及大小,但对小结节的敏感度有限。循环游离DNA(cfDNA)是指循环血中游离于细胞外的高度片段化DNA,源于正常细胞或肿瘤细胞,在卵巢癌、甲状腺癌等多种肿瘤中水平升高,可用于肿瘤的筛查和诊断^[3-4]。癌胚抗原(CEA)和细胞角蛋白19片段抗原21-1(Cyfra21-1)是肿瘤标志物,在肺癌患者血清中水平明显升高,常被用于肿瘤诊断^[5-6]。既往已有研究^[7]将cfDNA浓度和cfDNA完整性用于区分恶性肿瘤患者和健康人群,但其辅助诊断肺结节良恶性的价值尚有待进一步研究。本研究以病理结果为金标准,探讨血浆cfDNA、CEA、Cyfra21-1检测对肺结节良恶性的诊断价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年7月—2020年10月在南通市肿瘤医院就诊的110例良恶性肺结节患者作为研究对象,其中男68例,女42例,年龄22~78岁,平均(48.30 \pm 8.10)岁,良性肺结节60例,恶性肺结节50例(肺腺癌31例、鳞癌19例)。纳入标

准:①经CT诊断为肺结节,且经病理学确诊者;②血液采集前未接受手术、放化疗等抗肿瘤治疗者;③临床资料完整者。排除标准:①严重心、肝、肾功能不全者;②伴有其他类型恶性肿瘤或肿瘤转移和复发者。另选取同期健康体检人员30例设为对照组,其中男21例,女9例,年龄22~75岁,平均(47.80 \pm 8.30)岁。各组研究对象性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经南通市肿瘤医院伦理委员会审核批准(批准文号2018-039),且患者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样品采集及保存:采集所有研究对象清晨空腹静脉血5 mL,装入抗凝管中,于室温条件下静置30 min,以3 000转/min离心10 min后收集血浆,置于无菌EP冻存管中,-80℃冰箱保存备用。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测cfDNA水平:使用cfDNA快速提取试剂盒(QIAamp DNA Blood Mini Kit)提取血浆中总cfDNA,试剂盒购自德国Qiagen公司,使用核酸定量仪测定波长260 nm与280 nm处的光密度比值($OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$),将 $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$ 为1.6~1.8的样本于-20℃保存备用。采用qRT-PCR检测各研究对象血浆cfDNA水平,以ALU115基因(115 bp)表示cfDNA浓度,以ALU247基因/ALU115基因表示cfDNA的完整性。ALU115引物扩增的基因包含所有的cfDNA片段(细胞凋亡途径与非凋亡途径),ALU247引物扩

增的基因为非凋亡途径释放的 cfDNA 片段, cfDNA 完整性接近 1, 表示 cfDNA 来自于非细胞凋亡途径。ALU115 及 ALU247 引物序列见表 1, 引物由上海吉玛制药技术有限公司合成。qRT-PCR 总体系为 20 μL, 循环参数为 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 15 s, 65 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 10 s, 共 38 个循环, 扩增后检测光密度值。以人类基因组 DNA 为标准品(美国 Promega 公司)绘制扩增曲线, 其中标准曲线回归方程为 $Y = -3.186\log X + 39.87$, 线性关系良好($R^2 = 1$), 根据标准曲线对 cfDNA 含量及熔解曲线进行分析。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	上游引物 5'-3'	下游引物 5'-3'
ALU115	CCTGAGGTCAGGAGTTCGAG	CCCGAGTAGCTGGGATTACA
ALU247	GTGGCTCAGCCTGTAATC	CAGGCTGGAGTGCAGTGC

1.2.3 检测血浆 CEA、Cyfra21-1 水平: 采用化学发光法检测血浆 CEA、Cyfra21-1 水平, CEA、CYFRA21-1 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购

表 2 3 组血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	n	cfDNA/(ng/mL)	cfDNA 完整性
对照组	30	265.23(80.52, 475.34)***	0.23(0.15, 0.32)***
良性肺结节组	60	385.43(176.45, 704.55)***	0.37(0.26, 0.59)***
恶性肺结节组	50	1154.83(452.85, 1642.31)	0.68(0.47, 0.91)

与恶性肺结节组比较, *** $P < 0.001$ 。

2.2 血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性与恶性肺结节患者临床病理特征的相关性
血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性与恶性肺结

表 3 血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性与恶性肺结节患者临床病理特征的相关性 [$M(P_{25}, P_{75})$]

特征	分类	n	cfDNA/(ng/mL)	Z	P	cfDNA 完整性	Z	P
性别	男	30	1054.62(405.38, 1621.22)	1.054	0.310	0.61(0.43, 0.89)	1.198	0.274
	女	20	1108.45(434.21, 1637.26)					
年龄	<50 岁	28	1035.54(396.85, 1630.51)	2.134	0.135	0.65(0.43, 0.92)	2.025	0.183
	≥50 岁	22	1115.33(426.32, 1658.45)					
吸烟	是	18	1149.55(401.21, 1639.76)	2.987	0.072	0.67(0.39, 0.87)	1.268	0.260
	否	32	1018.53(453.66, 1641.72)					
肿瘤直径	<4 cm	26	1035.82(401.52, 1602.42)	0.373	0.564	0.66(0.38, 0.87)	3.344	0.067
	≥4 cm	24	1094.47(442.53, 1640.65)					
病理类型	腺癌	31	956.42(395.33, 1583.22)	1.825	0.177	0.65(0.40, 0.91)	1.035	0.323
	鳞癌	19	1168.32(456.44, 1655.78)					
TNM 分期	I ~ II 期	23	987.42(401.26, 1609.58)	0.767	0.305	0.61(0.35, 0.89)	0.451	0.507
	III ~ IV 期	27	1165.28(441.53, 1654.67)					
肿瘤分化程度	低、中分化	35	1092.41(413.46, 1624.43)	3.153	0.069	0.70(0.44, 0.95)	0.361	0.548
	高分化	15	1123.45(398.56, 1641.55)					
淋巴结转移	有	29	1110.24(473.46, 1655.31)	1.564	0.201	0.62(0.38, 0.86)	2.856	0.091
	无	21	985.36(402.21, 1593.34)					

2.3 血浆 CEA、Cyfra21-1 表达水平比较
恶性肺结节组血浆 CEA、Cyfra21-1 表达水平

自罗氏公司, 具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 不符合正态分布的计量资料采用 [$M(P_{25}, P_{75})$] 描述, 组间比较采用非参数检验, 绘制受试者工作特征(ROC)曲线, 分析血浆 cfDNA 水平及完整性、CEA、Cyfra21-1 对恶性肺结节的诊断价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性比较

恶性肺结节组患者血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性均高于良性肺结节组、对照组, 差异有统计学意义($P < 0.001$); 良性肺结节组血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性与对照组比较, 差异无统计学意义($P = 0.113, 0.067$)。见表 2。

节患者性别、年龄、是否吸烟、肿瘤直径、病理类型、TNM 分期、肿瘤分化程度和淋巴结转移均无相关性($P > 0.05$), 见表 3。

均高于良性肺结节组、对照组, 差异有统计学意义($P < 0.001$); 良性肺结节组血浆 CEA、Cyfra21-1

水平与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.073, 0.095$)。见表 4。

2.4 血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性对恶性肺结节的诊断效能

ROC 曲线分析结果显示, 血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性对恶性肺结节均具有一定的诊断价值, 但敏感度与特异度较低; 血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性诊断恶性肺结节的曲线下面积、敏感度、特异度均大于或高于 CEA、Cyfra21-1; 血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平

和 cfDNA 完整性联合诊断恶性肺结节的敏感度、特异度均高于两者单独检测, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5、图 1。

表 4 3 组血浆 CEA、Cyfra21-1 水平

组别	n	比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]		ng/mL
		CEA	Cyfra21-1	
对照组	30	1.78(0.52, 3.45)***	1.69(0.22, 2.35)***	
良性肺结节组	60	2.67(1.36, 5.45)***	2.74(1.43, 3.96)***	
恶性肺结节组	50	7.93(3.21, 10.31)	5.75(2.85, 8.12)	

CEA: 癌胚抗原; Cyfra21-1: 细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1。
与恶性肺结节组比较, *** $P < 0.001$ 。

表 5 血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性对恶性肺结节的诊断效能

指标	曲线下面积	95% CI	临界值	敏感度/%	特异度/%
cfDNA	0.839	0.765 ~ 0.872	687.23 ng/mL	85.92*	74.21*
cfDNA 完整性	0.842	0.787 ~ 0.897	0.69	81.82*	72.34*
CEA	0.783	0.715 ~ 0.851	7.65 ng/mL	79.12*	70.45*
Cyfra21-1	0.795	0.724 ~ 0.843	6.93 ng/mL	76.92*	71.61*
联合诊断	0.942	0.906 ~ 0.975	—	92.34	95.56

与联合诊断比较, * $P < 0.05$ 。

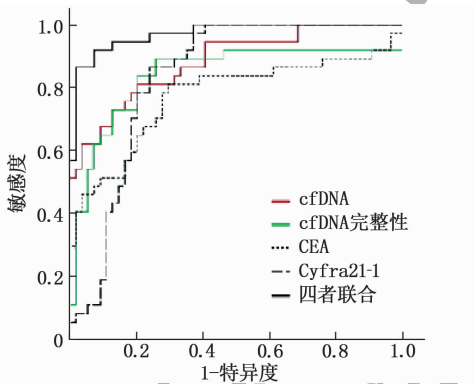


图 1 血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性诊断恶性肺结节的 ROC 曲线

3 讨论

NSCLC 约占肺癌的 80%, 早期症状不明显或缺乏特异症状, 多数患者确诊时已处于疾病中晚期, 5 年生存率仅 16% ~ 18%, 是癌症相关死亡的首要原因。因此, 寻找稳定可靠的早期诊断生物标志物对早期诊治 NSCLC 和提高患者生存率具有重要意义^[8-9]。

cfDNA 是一种游离 DNA, 可来源于人体凋亡或坏死的正常细胞, 也可来源于凋亡或坏死的肿瘤细胞。研究^[10-11]表明, 肿瘤患者血浆中 cfDNA 水平显著高于健康人, 且 cfDNA 在肿瘤良恶性的鉴别诊断中具有重要意义。另有研究^[12]发现, 与健康者相比, NSCLC 患者的血浆游离 DNA 水平显著升高, 提示该指标水平在 NSCLC 早期诊断中具有一定的临床价值。王宇轩等^[13]发现, cfDNA

在 NSCLC 患者血浆中的表达水平显著高于肺部良性结节患者, 对肺结节良恶性具有一定的诊断价值。本研究结果亦显示, 与良性肺结节组比较, 恶性肺结节组患者血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性均显著升高, 其原因可能是在肺结节恶性进展过程中, 局部组织供血不足, 引起细胞坏死或凋亡, DNA 释放, 造成血浆 cfDNA 水平升高。SOLIMAN S E S 等^[14]研究表明, NSCLC 患者血清 cfDNA 水平与 NSCLC 分期和转移有关, 且血浆血清 cfDNA 水平和完整性指数在 NSCLC 早期诊断和预后预测方面具有一定价值。与此不同的是, 本研究结果显示, cfDNA 水平和 cfDNA 完整性与临床病理特征无相关性, 这可能与本研究样本量较少有关。本研究 ROC 曲线分析结果显示, 血浆 cfDNA 水平、cfDNA 完整性诊断恶性肺结节的曲线下面积、敏感度、特异度均大于或高于 CEA、Cyfra21-1, 提示 cfDNA 水平和 cfDNA 完整性对恶性肺结节具有一定的诊断价值, 但特异度与敏感度均不高。研究^[15]显示, 血浆 cfDNA 联合血清标志物可提高对早期胃癌的诊断灵敏度。

CEA 为临床常见的肿瘤标志物, 在乳腺癌、结肠癌、宫颈癌等多种肿瘤患者中表达水平升高, 可用于良恶性肿瘤的诊断; 此外, CEA 在恶性肺结节患者血清中表达水平升高, 为孤立性肺结节的鉴别标志物^[16-17]。Cyfra21-1 是一种上皮来源性质的新肿瘤标志物, 主要表达于肺组织, 肺部发生

癌变时,其被释放至血液中,故肺癌患者血清 Cyfra21-1 水平较高^[18]。Cyfra21-1 是肺癌的肿瘤标志物之一,且对肺结节良恶性具有一定诊断价值,但需要与其他血清标志物联合应用以提高诊断效率^[19]。范伟等^[20]研究表明,NSCLC 患者血清 CEA、Cyfra21-1 水平显著升高,两者联合检测对 NSCLC 具有较高的诊断效能。本研究结果显示,恶性肺结节组患者血浆 CEA、Cyfra21-1 水平显著高于对照组与良性肺结节组,良性肺结节组血浆 CEA、Cyfra21-1 水平与对照组无显著差异,其可能原因是 CEA 为糖蛋白,是细胞膜的结构蛋白,Cyfra21-1 为上皮细胞结构蛋白亚单位,在恶性上皮细胞中,激活的蛋白酶加速了细胞降解,使大量蛋白被释放至血液中,Cyfra21-1 水平升高。本研究进一步分析 CEA、Cyfra21-1 对恶性肺结节的诊断价值,结果显示两者的敏感度、特异度均不高,但血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性四者联合诊断恶性肺结节的敏感度、特异度显著高于四者单独检测,提示四者联合检测对恶性肺结节具有较高的诊断效能,在肺结节良恶性的鉴别诊断中具有一定临床价值。但本研究样本量较少,未来还需扩大样本量进一步研究 cfDNA 对肺结节良恶性的鉴别诊断价值。

综上所述,恶性肺结节患者血浆 cfDNA、CEA、Cyfra21-1 水平和 cfDNA 完整性均高于良性肺结节患者,血浆 cfDNA 水平和 cfDNA 完整性对恶性肺结节具有一定的诊断价值,可作为肺结节良恶性辅助诊断的分子生物学指标。

参考文献

- [1] XING W, SUN H, YAN C, *et al.* A prediction model based on DNA methylation biomarkers and radiological characteristics for identifying malignant from benign pulmonary nodules[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 263.
- [2] 刘博, 黄露, 曹亚, 等. 尿酸受体阳性 CTC 检测在恶性肺部结节辅助诊断中的应用[J]. *第三军医大学学报*, 2020, 42(23): 2330-2335.
- [3] FERNANDEZ-GARCIA D, HILLS A, PAGE K R, *et al.* Plasma cell-free DNA (cfDNA) as a predictive and prognostic marker in patients with metastatic breast cancer[J]. *Breast Cancer Res*, 2019, 21(1): 149.
- [4] 贾劭, 李竹瑶, 秦波, 等. 血浆游离 DNA 完整性指标在恶性甲状腺肿瘤中的诊断价值[J]. *中华实验外科杂志*, 2020, 37(7): 1294-1296.
- [5] 凌云志, 沈益青. CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 联合检测对小细胞肺癌的临床诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(2): 231-234.
- [6] FU L, WANG R, YIN L, *et al.* CYFRA21-1 tests in the diagnosis of non-small cell lung cancer: A meta-analysis[J]. *Int J Biol Markers*, 2019, 34(3): 251-261.
- [7] 谢冰峰, 黎明, 朱勇军. 肺癌患者围化疗期血清 CYFRA21-1、NSE 和 CA125 水平变化的临床价值[J]. *重庆医学*, 2019, 48(6): 1049-1051.
- [8] JONNA S, SUBRAMANIAM D S. Molecular diagnostics and targeted therapies in non-small cell lung cancer (NSCLC): an update[J]. *Discov Med*, 2019, 27(148): 167-170.
- [9] 南永刚, 王常利, 刘新芸, 等. 干细胞特征相关自身抗体对非小细胞肺癌患者早期诊断及预后评估的价值[J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(13): 2374-2380.
- [10] PÖS O, BIRÓO, SZEMES T, *et al.* Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications[J]. *Eur J Hum Genet*, 2018, 26(7): 937-945.
- [11] 李芳芳, 陶紫薇, 沈永利, 等. 基于血液 DNA 甲基化在肝癌诊断中的研究进展[J]. *实用临床医药杂志*, 2021, 25(9): 117-122.
- [12] 王健, 董栋, 渠敬明, 等. 血浆游离 DNA 在非小细胞肺癌诊断中的价值分析[J]. *医药前沿*, 2019, 9(34): 105-106.
- [13] 王宇轩, 苏崇玉, 刘志东. Alu-qPCR 检测游离 DNA 长度在肺结节良恶性鉴别中的应用[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(6): 944-949.
- [14] SOLIMAN S E S, ALHANAFY A M, HABIB M S E D, *et al.* Serum circulating cell free DNA as potential diagnostic and prognostic biomarker in non small cell lung cancer[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2018, 15: 45-51.
- [15] 樊庆宇, 王雅静, 钟悦娇, 等. 胃癌血浆游离 DNA 检测的临床意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(3): 241-245.
- [16] 裴东方, 陈少武, 李静. 低剂量螺旋 CT 联合肿瘤标志物 CEA、SCC-Ag、ProGRP、NSE 对良恶性孤立性肺结节的鉴别诊断价值[J]. *实用癌症杂志*, 2021, 36(4): 614-617.
- [17] NUMATA T, ENDO T, YANAI H, *et al.* Serum CEA and CYFRA levels in ALK-rearranged NSCLC patients: correlation with distant metastasis[J]. *In Vivo*, 2020, 34(4): 2095-2100.
- [18] 官燕飞, 陈健锋, 袁斌, 等. 外周血循环肿瘤细胞联合细胞角蛋白 19 片段 21-1 检测在非小细胞肺癌筛查中的应用价值[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(10): 1615-1619.
- [19] 冯小玲, 陈红梅, 成军霞, 等. 血清 NSE、CYFRA21-1、SCC 水平联合 CT 灌注成像对肺结节良恶性病变的诊断价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(9): 1551-1555, 1619.
- [20] 范伟, 孙振宇, 孟祥宽, 等. 血清 CEA、CYFRA21-1、VEGF、STKI 及 SF 联合检测在非小细胞肺癌患者诊断中的价值分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(3): 480-483, 507.

(本文编辑: 陆文娟)