

[2] Cao GW. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(46):5761-5769.

[3] Grabarczyk P, Garmiri P, Liszewski G, et al. Molecular and serological characterization of hepatitis B virus genotype A and D infected blood donors in Poland[J]. J Viral Hepat, 2010, 17(6):444-452.

[4] Sharma S, Sharma B, Singla B, et al. Clinical significance of genotypes and precore/basal core promoter mutations in HBV related chronic liver disease patients in North India[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(3):794-802.

[5] Ren X, Xu Z, Liu Y, et al. Hapatitis B virus genotype and basal core promoter/precore mutations are associated with hepatitis B-related acute-on-chronic liver failure without pre-existing liver cirrhosis[J]. J Viral Hepatol, 2010, 17(12):887-895.

[6] Liu S, Zhang H, Gu C, et al. Associations Between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma; a meta-analysis[J]. Natl Cancer Inst, 2009, 101(15):1066-1082.

[7] Vergani D, Mieli-Vergni G. Aetiopathogenesis of autoimmune hepatitis [J]. Word J Gastroenterol, 2008, 14(21):3306-3312.

[8] 梁蔚芳, 何海棠, 刘志华, 等. 乙型肝炎病毒前 C/C 区及其调控基因变异的研究[J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(4):331-334.

[9] 周秀梅, 顾华丽, 朱亮, 等. 慢性重型乙型肝炎前 C 区及 BCP 区基因突变的临床意义[J]. 山东医药, 2009, 49(1):57-58.

[10] Funk ML, Rosenberg DM, Lok AS, et al. Word-wide epidemiology of HBeAg-negative chronic hepatitis B and associated precore and core pro2moter variants[J]. J Viral, 2002, 9(1):52-61.

[11] 肖倩, 向晓星, 龙爱华. HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者 HBV 变异与中医分型的相关性研究[J]. 江苏中医药, 2008, 40(4):22-24.

[12] 周飞, 王灵台, 陈建杰, 等. 乙型肝炎病毒前 C 区基因变异与中医证型的关系[J]. 世界感染杂志, 2003, 3(4):286-288.

[13] 李瀚昱, 赵映前, 向楠, 等. HBV 前 C 区基因变异与中医证候的相关性研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 22(2):84-85.

[14] 李瀚昱, 张振鄂, 张金发, 等. HBV 前 C 区基因变异与血清肝纤维化标志物的相关性研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2003, 19(1):29-30.

[15] 肖琳, 李瀚曼, 高翔, 等. 清热利湿法对慢性乙型肝炎 HBV 基因突变株复制的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2007, 17(5):261-263.

[16] Yuen MF, Tanaka Y, Mizokami M, et al. Role of hepatitis B virus genotypes Ba and C, core promoter and precore mutations on hepatocellular carcinoma; A case control study[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(9):1953-1958.

[17] Inoue J. Factors involved in the development of fulminant hepatitis B; Are the mutations of hepatitis B virus implicated? [J]. Hepatol Res, 2009, 39(11):1053-1055.

[18] Fang ZL, Sabin CA, Dong BQ, et al. HBV A1762T, G1764A mutations are a valuable biomarker for identifying a subset of male HBsAg carriers at extremely high risk of hepatocellular carcinoma; a prospective study[J]. Am J Gastroenterol, 2008, 103(9):2254-2262.

[19] Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, et al. Role of hepatitis B viral load and Basal core promoter mutation in hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers[J]. J Infect Dis, 2006, 193(9):1258-1265.

[20] 蒋开平, 王虹, 陶银, 等. 乙型肝炎病毒 C 基因启动子双变异患者中医证候特点研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2006, 16(5):259-261.

[21] 周飞, 王灵台, 陈建杰, 等. 乙型肝炎病毒 BCP 联合点突变与中医证型的关系[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(9):777-779.

[22] 施卫兵. 慢性乙型肝炎中医证型与客观检测指标的相关性研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2007, 17(5):275-280.

[23] 周一鸣, 曹建彪, 闻炜, 等. 乙型肝炎病毒 YMDD 变异后果及原因分析[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2011, 20(11):1035-1037.

[24] 丘源旺, 蒋祥虎, 黄利华, 等. 乙型肝炎病毒 YMDD 变异的治疗对策[J]. 中华肝脏病杂志, 2009, 17(3):171-174.

[25] Sallie R. Replicative homeostasis; a fundamental mechanism mediating selective viral replication and escape mutation[J]. Virol J, 2005, 2(1):10.

[26] 缪锡民, 章亮. 慢性乙型肝炎 YMDD 变异与中医证型的临床研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(6):702-703.

[27] 陈星浩, 宋洁, 石玉珍, 等. 核苷(酸)类似物联合中药治疗 HBV-P 基因序列耐药变异研究[J]. 临床合理用药, 2013, 2(6):1-2.

[28] 张玮, 王奕, 贺德昌, 等. HBV-YMDD 变异患者与中医虚实辨证关系初探[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(9):731-732.

[29] Chen CH, Hung CH, Lee CM, et al. Pre-S deletion and complex mutations of hepatitis B virus related to advanced liver disease in HBeAg-negative patients [J]. Gastroenterology, 2007, 133(5):1466-1474.

(收稿日期:2013-09-12)

• 综 述 •

肿瘤标志物在肺癌诊断中的研究进展

王 冰 综述, 邱 红 审校

(中国人民解放军第八一医院检验科, 江苏南京 210002)

关键词:肺癌; 肿瘤标志物; 综述
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 24. 056

文献标识码:A **文章编号:**1673-4130(2013)24-3384-03

肺癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率在逐年上升,早期诊断肺癌在临床工作中具有重要意义。肿瘤标志物具有早期发现特定肿瘤的作用,而目前肿瘤标志物的概念已突破了原来的范围,内容包括肿瘤抗原、激素、受体、酶与同工酶、癌基因与抑癌基因及其产物等 200 余种,其作用也从

单纯的肿瘤诊断扩大到检测肿瘤复发与转移、判断疗效和预后以及人群普查等方面。用于肺癌诊断的肿瘤标志物很多,本文就近年来新现的肺癌肿瘤标志物作一综述。

1 蛋白质类肿瘤标志物

1.1 Dickkopf 1 蛋白(DKK1) DKK1 是 Wnt 信号途径的一

个抑制蛋白,在多种恶性肿瘤细胞系中高度表达,在肿瘤的发生、发展中起到重要作用^[1-2]。黄钢等^[3]研究发现,相比其他恶性肿瘤、良性肺疾病和健康对照者,肺癌患者 DKK1 血清浓度明显升高;而在患有胃癌、卵巢癌、子宫腺癌的患者,他们相比健康对照组 DKK1 血清浓度均明显减低。这些数据表明,DKK1 优先表达于肺部肿瘤细胞上。

1.2 SP70 抗原 有学者采用人肺腺癌细胞株 SPC-A1 为免疫原,成功制备、鉴定并筛选出一株能特异性识别非小细胞肺癌(NSCLC)的 McAbNJ001(又名 NJ488.1),且此抗体所针对的靶抗原为相对分子质量 70 000 的胞浆新抗原 SP70^[4-5]。常规的 ELISA 方法检测 NSCLC 患者中肺腺癌组和肺鳞癌组外周血液中 SP70 的阳性检出率分别达到 68.88%(55/80)和 51.4%(36/70),NSCLC 总的阳性检出率为 60.7%^[6]。研究结果表明 SP70 是一个潜在的 NSCLC 实验诊断的肿瘤标志物。

1.3 异质性细胞核糖蛋白(hnRNP)A2/B1 1988 年研究者发现在许多早期肺癌和癌前病变患者的痰液中存在一种与 IgG703D4 结合的未知抗原,并进一步证明这种未知的抗原就是 hnRNPA2/B1。有学者采用免疫印迹法比较了 61 例肺癌患者肺泡灌洗液和活检组织与 30 例健康对照样本 hnRNPA2/B1 表达情况,结果显示 hnRNPA2/B1 特异性在灌洗液和组织中分别为 75.9%和 78.3%^[7]。敏感性在非小细胞肺癌中为 84.8%(灌洗液)和 80.8%(组织),在小细胞肺癌中为 66.7%(灌洗液)和 75%(组织)。有 9 例在支气管镜检查中最初未确诊的患者中发现 hnRNPA2/B1 过表达,在随后的 2 年中,其中 7 人发展为肺癌。戚均超等^[8]应用流式细胞术检测 40 例肺癌组和肺良性病变组 hnRNPA2/B1 的表达情况,同时用化学发光免疫法检测血清肿瘤标志物 CEA、NSE、CYFRA21-1 和 SCCAg 的含量。结果表明肺癌肺泡灌洗液中的 hnRNPA2/B1 水平明显高于血清 CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCAg 4 项肿瘤标志物的联合检测。hnRNPA2/B1 作为一种新型肿瘤相关抗原已逐渐引起人们的重视,可作为分子生物学指标对肺癌进行诊断。

1.4 胃泌素释放肽前体(GRP) 肺癌的癌细胞本身亦可产生并分泌 GRP,以自分泌和旁分泌的方式调节肿瘤的生长。低水平 GRP 即可刺激小细胞肺癌细胞 DNA 合成,因而 GRP 被认为是小细胞肺癌的自主生长因子^[9]。由于 GRP 可被肽链端解酶快速降解,所以很难在血清中检测到 GRP。Pro-GRP 可在血浆中稳定表达,并能代表 GRP 水平和 GRP 基因表达^[10]。多项研究结果显示 Pro-GRP 在肺癌组的含量显著高于肺良性病变组、健康对照组,在小细胞肺癌组的含量显著高于肺鳞癌、腺癌组,表明 Pro-GRP 可用作鉴别小细胞肺癌与其他肺部疾病,并且在监测病情、反映肿瘤负荷和疗效方面有重要价值^[11-12]。

2 酶类肿瘤标志物

2.1 端粒酶 端粒酶主要由三部分组成:端粒酶 RNA 组分(hTRC)、端粒酶相关蛋白(TEP1)、催化亚单位(hTERT)。前两者在临近正常组织也有高表达,而 hTERT 在正常组织中表达接近零,显示出 hTERT 良好的肿瘤特异性和敏感性,且 hTERT 表达水平与端粒酶活性有显著相关性。患者在肺癌癌前病变和原位癌阶段即存在低水平的端粒酶活性,随肿瘤的进展其表达水平逐渐增加,吸烟者或戒烟者气道上皮存在类似的端粒酶异常,表明端粒酶活性对肺癌早期诊断具有重要意义^[13]。Arai 等^[14]发现支气管肺泡灌洗液端粒酶测定结合细

胞学检测可大大增强肺癌诊断的可靠性。

2.2 组织蛋白酶-D(Cath-D) Cath-D 能促进细胞增殖,而且既能直接消化细胞外基质和基底膜,还可以激活组织蛋白酶 B,继而依次激活尿激酶型纤溶酶原激活剂,使其转变为纤溶酶。Cath-D 在肿瘤转移过程中起着重要作用^[15]。研究表明,高表达的 Cath-D 通过内吞作用可以降解细胞外基质,释放血管生成因子,刺激新生血管形成,加速肿瘤生长。Cath-D 在非小细胞肺癌有较高表达,其高表达与肺癌患者病情发展、细胞分化程度、淋巴结转移相关,提示 Cath-D 可以作为评价非小细胞肺癌生物学行为和预后的指标^[16]。

2.3 肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(M2-PK) 在癌基因 one-gene 编码的激酶的催化作用下,M2-PK 的 Set 和 Tyr 位均发生磷酸化,称之为肿瘤型 M2-PK (TuM2-PK)^[17]。TuM2-PK 是一种新型肿瘤标志物,在多种肿瘤上都有表达^[18]。Schneider 等^[19]在肺癌患者、肺炎患者、阻塞性肺病患者和对照者中检测血 TuM2-PK 的水平,结果显示肺癌患者和一些严重肺炎病患者较其他组明显升高。国内多项研究比较了肺癌患者、肺良性疾病患者和健康人血清 TuM2-PK 水平,也得出类似的结论^[20-21]。

2.4 基质金属蛋白酶 7(MMP-7) 有研究比较了 114 例肺癌患者和 100 例健康人外周血 MMP-7 水平发现,肺癌患者 MMP-7 平均含量与健康人相比有明显差异($P<0.01$)^[22]。当血清 MMP-7 含量 cut off 值为 0.56 ng/mL 时,诊断肺癌的敏感度和特异度分别为 62.7%和 72.0%。结果表明 MMP-7 可以作为肺癌诊断的标志物,同时作者也指出 MMP-7 水平与一些临床参数如年龄、性别、吸烟与否、肿瘤大小、病理类型等没有显著的相关性,可能还需要扩大样本量来进行进一步的明确。

2.5 脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 1(APE1) 多项研究指出^[23-24],APE1 在肺癌组织中的表达率超过 70%,并与吸烟有关,是影响 NSCLC 患者生存率的独立危险因素。新的一项研究^[25]用免疫印迹法鉴定了 NSCLC 患者和健康人血清中的 APE1 自身抗体(APE1-AAbs),并用间接 ELISA 法比较了 292 例 NSCLC 患者和 300 例健康人血清 APE1-AAbs 的表达情况。除此以外,还监测了 91 例患者化疗前后 APE1-AAbs 水平的变化。结果显示,APE1-AAbs 水平在 NSCLC 患者中显著升高,并与肿瘤组织和外周血中 APE1 抗原含量相关,与化疗效果也密切相关。

3 基因及其转录产物类肿瘤标志物

3.1 AKR1B10 AKR1B10 基因的转录起点位于 ATG 翻译起始编码上游 320 bp 处,启动子上包含多个潜在的致癌蛋白和抑癌蛋白结合位点,包括 c-Ets-1、C/EBP、AP-1、P53,推测 AKR1B10 的表达可能与肿瘤相关蛋白相互作用,在肿瘤的形成过程中发挥作用^[26]。相关研究结果提示,AKR1B10 表达与肺癌有相关性,并有明显病理类型趋向^[27]。

3.2 LKB1 基因 LKB1 基因是一具有普遍作用的抑癌基因,其功能异常与多种癌症的发生有关。有报道,LKB1 在非小细胞肺癌的极性的调节中起关键作用,可能是通过 JNK 信号通路,对转录因子 AP-1、c-Jun、JunD 和 ATF2 进行调控,提高转录活性参与细胞极性形成^[28]。用 PCR-SSCP 技术检测支气管肺泡灌洗液 LKB1 突变,39 例 NSCLC 患者中有 10 例发生了 LKB1 突变,非癌对照组均未检测出,提示 LKB1 突变与肺癌的发生存在着一定的相关性,其功能失活可能是肺癌发生过程中重要的基因事件^[29]。

3.3 P53 抗体 P53 抗体是由于 P53 基因突变导致异常的 P53 蛋白产生,从而在细胞内累积,可作为靶抗原引发机体的自身免疫应答,产生 P53 抗体。有研究指出 P53 抗体联合 CEA、CYFRA 21-1 检测可提高肺癌诊断的敏感性和特异性^[30-31]。

4 展 望

从临床诊断的要求考虑,理想的肿瘤标志物应特异性好、灵敏度高、器官特异性强、能反应肿瘤大小或分期、能进行疗效监测、预后判断。尽管肿瘤标志物的研究已经取得了阶段性的进展,但目前仍存在问题。相信随着基因组学、蛋白质组学、免疫组学等研究的日趋深入及 ROC 曲线、聚类 and 分类等统计方法的广泛应用,将会对筛选理想的肺癌诊断血清标志物提供有益的思路,还能以 TM 为靶点,进行肿瘤的靶向治疗及免疫治疗。

参考文献

- [1] Makino T, Yamasaki M, Takemasa I, et al. Dickkopf-1 expression as a marker for predicting clinical outcome in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(7): 2058-2064.
- [2] Yao X, Jiang H, Zhang C, et al. Dickkopf-1 autoantibody is a novel serological biomarker for non-small cell lung cancer[J]. Biomarkers, 2010, 15(2): 128-134.
- [3] Le Sheng S, Huang G, Yu B, et al. Clinical significance and prognostic value of serum Dickkopf-1 concentrations in patients with lung cancer[J]. Clin Chem, 2009, 55(9): 1656-1664.
- [4] 徐婷,潘世扬,王芳,等. 抗人非小细胞肺癌单克隆抗体的制备及鉴定[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(3): 216-218.
- [5] Pan S, Wang F, Huang P, et al. The study on newly developed McAb NJ001 specific to non-small cell lung cancer and its biological characteristics[J]. PLoS one, 2012, 7(3): e33009.
- [6] 彭夔,潘世扬,王芳,等. 非小细胞肺癌患者血清中 SP70 的检测及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(6): 554-558.
- [7] Katsimpoula S, Patrinoiu-Georgoula M, Makrilia N, et al. Overexpression of hnRNPA2/B1 in bronchoscopic specimens: a potential early detection marker in lung cancer[J]. Anticancer Res, 2009, 29(4): 1373-1382.
- [8] 戚均超,孟曙芳,周海英. 血清和肺泡灌洗液中肿瘤标志物检测对肺癌的诊断价值分析[J]. 放射免疫学杂志, 2009, 22(3): 284-286.
- [9] 杨谨,李蓉. 胃泌素释放肽前体片段 31~98 检测对小细胞肺癌的临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 22(3): 216-218.
- [10] 马可,王欣,于洋. 胃泌素释放肽前体对小细胞肺癌检出的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(12): 2016-2017.
- [11] Kim HR, Oh IJ, Shin MG, et al. Plasma proGRP concentration is sensitive and specific for discriminating small cell lung cancer from nonmalignant conditions or non-small cell lung cancer[J]. J Korean Med Sci, 2011, 26(5): 625-630.
- [12] 陈永健,金卫东,杨广宇,等. 血浆胃泌素释放肽前体,细胞角蛋白 19 和癌胚抗原对各类肺肿瘤的诊断价值[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(5): 381-383.
- [13] Soria JC, Xu X, Liu DD, et al. Retinoic acid receptor β and telomerase catalytic subunit expression in bronchial epithelium of heavy smokers[J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(2): 165-168.
- [14] Aria T, Yasuda Y, Takaya T, et al. Application of telomerase activity for screening of primary lung cancer in broncho-alveolar lavage fluid[J]. Oncol Rep, 1998, 5(2): 405-413.
- [15] Lakka SS, Gondi CS, Rao JS. Proteases and glioma angiogenesis[J]. Brain Pathol, 2005, 15(4): 327-341.
- [16] 吴晶晶,张鹏宇,张明智,等. 组织蛋白酶-D 和 MMP-9 在非小细胞肺癌中的表达意义[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(15): 5-6.
- [17] Hugo F, Fischer G, Eigenbrodt E. Quantitative detection of tumor M2-PK in serum and plasma[J]. Anticancer Res, 1999, 19(4A): 2753-2757.
- [18] Mazurek S. Pyruvate kinase type M2: a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2011, 43(7): 969-980.
- [19] Schneider J, Peltri G, Bitterlich N, et al. Fuzzy logic based tumor marker profiles including a new marker tumor M2-PK improved sensitivity to the detection of progression in lung cancer patients[J]. Anticancer Res, 2003, 23(2): 899-906.
- [20] 方伟达,梁文勇,余其昌. 肺癌患者肿瘤 M2 型丙酮酸激酶的表达水平及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(7): 1352-1353.
- [21] 徐鸿绪,王东,陈连周,等. 肿瘤型 M2 丙酮酸激酶表达水平与非小细胞肺癌患者近期疗效及预后的关系[J]. 中国综合临床, 2009, 25(8): 830-832.
- [22] 孙小亮,肖汀,杨磊,等. MMP-7 蛋白在肺癌患者和正常人外周血中的表达水平及临床意义[J]. 中国肺癌杂志, 2012, 15(12): 725-729.
- [23] Yoo DG, Song YJ, Cho EJ, et al. Alteration of APE1/ref-1 expression in non-small cell lung cancer: the implications of impaired extracellular superoxide dismutase and catalase antioxidant systems[J]. Lung Cancer, 2008, 60(2): 277-284.
- [24] 顾咸庆,杨雪琴,杨宇馨,等. APE1 和 VEGF 在非小细胞肺癌组织中的表达及其与肿瘤血管生成和预后的关系[J]. 重庆医学, 2012, 41(11): 1047-1054.
- [25] Dai N, Cao XJ, Li MX, et al. Serum APE1 autoantibodies: a novel potential tumor marker and predictor of chemotherapeutic efficacy in non-small cell lung cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58001.
- [26] Liu ZW, Zhong LI, Krishack PA, et al. Structure and promoter characterization of aldo-keto reductase family B10 gene[J]. Gene, 2009, 437(1/2): 39-44.
- [27] 章琼芳,刘斌,李燕芹. 醛酮还原家族 1B10 蛋白在非小细胞肺癌中的表达和临床意义[J]. 诊断学理论与实践, 2012, 11(2): 167-171.
- [28] Repici M, Mare L, Cdombo A, et al. C-Jun N-terminal kinase-binding domain-dependent phosphorylation of mitogen-activated protein kinase 4 and mitogen-activated protein kinase kinase 7 and balancing cross-talk between c-Jun N-terminal kinase and extracellular signal-regulated kinase pathways in cortical neurons[J]. Neuroscience, 2009, 159(1): 94-103.
- [29] 曹超,曹勇,曾大雄,等. 联合检测支气管肺泡灌洗液中 DPC4 和 LKB1 突变诊断肺部孤立块影的价值[J]. 华中科技大学学报:医学版, 2010, 39(6): 825-828.
- [30] Park Y, Kim Y, Lee JH, et al. Usefulness of serum anti-p53 antibody assay for lung cancer diagnosis[J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(12): 1570-1575.
- [31] 杜紫燕,余勇,张增利,等. 血清 p53 抗体联合 CEA、CYFRA21-1 检测在肺癌诊断中的价值[J]. 江苏医药, 2013, 39(7): 785-787.

(收稿日期:2013-09-10)