

· 论 著 ·

血清标志物 pro-GRP、NSE 在小细胞肺癌鉴别诊断中的价值*

姚亚超¹, 李 磊², 邱厚匡¹, 吴晓昀¹, 严 芳¹, 张 珍¹, 李亚红¹, 李 楠¹, 李泽泳¹, 张 智^{1△}

(1. 广东省第二人民医院检验医学部, 广东广州 510317; 2. 广州医科大学附属第三医院生殖医学中心/广东省生殖医学重点实验室, 广东广州 510150)

摘要:目的 探讨血清标志物胃泌素释放肽前体(pro-GRP)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)对小细胞肺癌(SCLC)鉴别诊断的价值。方法 选择 SCLC 患者 120 例(SCLC 组)、非小细胞肺癌(NSCLC)患者 130 例、良性肺部疾病者 80 例, 以及同期健康体检者 90 例(健康对照组), 检测血清 pro-GRP、NSE 水平, SPSS13.0 进行统计分析, 分析各标志物的血清水平和阳性率。GraphPad Prism 5 进行 ROC 曲线绘制。结果 SCLC 组患者血 pro-GRP、NSE 水平明显高于 NSCLC 组、良性肺部疾病组和健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。SCLC 组患者血清 pro-GRP 阳性率(80.00%)高于其他 3 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。SCLC 组和 NSCLC 组 NSE 阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。pro-GRP、NSE 单独及联合诊断 SCLC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.890、0.810 和 0.915。结论 NSE 只能鉴定良恶性肺部疾病, 不能鉴定 SCLC 和 NSCLC; pro-GRP 既可鉴定良恶性肺部疾病, 还可鉴定肺癌的 SCLC 和 NSCLC 病理分型; pro-GRP、NSE 联合检测对 SCLC 的鉴别诊断有重要价值。

关键词:小细胞肺癌; 非小细胞肺癌; 鉴别诊断**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.003**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)12-1647-03

Differential diagnosis value of pro-GRP and NSE in small cell lung cancer*

Yao Yachao¹, Li Lei², Qiu Houkuang¹, Wu Xiaoyun¹, Yan Fang¹,Zhang Zhen¹, Li Yahong¹, Li Nan¹, Li Zeyong¹, Zhang Zhi^{1△}

(1. Clinical Laboratory Medicine, the Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510317, China; 2. Key Laboratory for Reproductive Medicine of Guangdong Province/Department of Reproductive Medicine Center, Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510150, China)

Abstract: Objective To evaluate the values of gastrin-releasing peptide (pro-GRP) and neuron-specific enolase (NSE) in differential diagnosing of small cell lung cancer (SCLC). **Methods** Serum samples from 120 SCLC patients, 130 non-small cell lung cancer (NSCLC), 80 Patients with benign lung disease and 90 healthy donors were collected to detect the level of pro-GRP and NSE. All data were analyzed by SPSS13.0 and then we analyzed the serum level and positive rates of the two tumor markers. ROC was generated by GraphPad Prism 5. **Results** The expression level of pro-GRP and NSE in SCLC group were significant higher than NSCLC group, benign lung disease group and healthy donors group ($P < 0.05$). The positive rates of pro-GRP in SCLC were higher than the other three groups ($P < 0.05$). However, there had no significant difference between SCLC group and NSCLC group in the positive rates of NSE ($P > 0.05$). ROC area under curve of pro-GRP, NSE and both were 0.890, 0.810 and 0.915, separately. **Conclusion**

The tumor biomarker of NSE could only identify of benign and malignant lung diseases, but can not identify the type of lung cancer including SCLC and NSCLC; Nonetheless the tumor biomarker of pro-GRP could not only identify benign and malignant lung diseases, but also identify the pathological type of SCLC and NSCLC; Combined determination of pro-GRP and NSE had significant values for the differential diagnosis of SCLC.

Key words: small cell lung cancer; non-small cell lung cancer; differential diagnosis

肺癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤, 其病死率居高不下。小细胞肺癌(SCLC)约占肺癌的 20%~25%, 恶性程度高, 生长迅速, 5 年生存率不足 10%。因此, 早期发现、诊断、治疗有重要意义。近年来肿瘤标志物在肺癌中的临床应用价值受到关注, 但是目前临床用于肺癌诊断的肿瘤标志物有多种, 检测方法各异^[1-3]。本研究通过比较分析 SCLC、非小细胞肺癌(NSCLC)及良性肺部疾病中胃泌素释放肽前体(pro-GRP)^[4-5]、神经元特异性烯醇化酶(NSE)^[6]的水平和阳性率, 探讨其对 SCLC 诊断和鉴别判断的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2009 年 7 月 1 日至 2014 年 11 月 1 日广东省第二人民医院收治的病理学或细胞学证实的肺癌患者, 其中 SCLC 120 例(SCLC 组), NSCLC 130 例(NSCLC 组), 良

性肺部疾病患者 80 例(良性肺部疾病组), 所有患者年龄 16~88 岁。良性肺部疾病组包括肺结核患者和肺炎患者, 肺结核患者均为痰罗氏培养阳性的患者, 肺炎患者为痰培养中查到致病菌或经抗炎治疗肺部病灶迅速消失的患者。另外选取本院 2014 年 10 月进行体检的健康体检者 90 例作为健康对照组。

1.2 方法 血清 pro-GRP、NSE 水平采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)进行检测, pro-GRP 试剂由日本三株会社生产, NSE 试剂由瑞典 CanAg 公司生产。pro-GRP 正常值范围为 0~50 pg/mL, NSE 正常值范围为 0~15 μg/L。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行统计分析, ROC 曲线采用 GraphPad Prism 5 软件绘制; 率的比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81400639); 广州医科大学博士启动基金项目(2014C39)。 作者简介: 姚亚超, 女, 主管技师, 主要从事分子生物学研究。 △ 通讯作者, E-mail: yalw135@126.com。

2 结 果

2.1 血清 pro-GRP、NSE 在各组中的水平 与 NSCLC 组、良性肺部疾病组和健康对照组相比, SCLC 组血清 pro-GRP、NSE 水平差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与良性肺部疾病组和健康对照组相比, NSCLC 组血清 pro-GRP、NSE 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 良性肺部疾病组和健康对照组的血清 pro-GRP、NSE 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 肺癌患者与健康对照组的血清肿瘤标志物水平

组别	n	pro-GRP(μg/mL)	NSE(μg/L)
SCLC 组	120	231.49 ± 20.56 ^{△‡*}	28.30 ± 3.95 ^{△‡*}
NSCLC 组	130	40.47 ± 23.57	7.34 ± 3.35
良性肺部疾病组	80	25.89 ± 2.78	5.29 ± 2.26
健康对照组	90	22.33 ± 2.17	3.82 ± 1.39

△: $P < 0.05$, 与 NSCLC 组比较; ‡: $P < 0.05$, 与良性肺部疾病组比较; *: $P < 0.05$, 与健康对照组比较。

2.2 血清 pro-GRP、NSE 在各组中阳性率的比较 SCLC 组血清 pro-GRP 的阳性率较高 (80.00%), 与其他各组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); SCLC 组和 NSCLC 组中 NSE 的阳性率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与良性肺部疾病组和健康对照组相比, NSCLC 组血清 NSE 阳性率差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 良性肺部疾病组和健康对照组的血清 pro-GRP、NSE 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 肺癌患者与健康对照组的血清肿瘤

组别	n	pro-GRP(%)	NSE(%)
SCLC 组	120	80.00(96/120) ^{△‡*}	64.17(77/120) ^{‡*}
NSCLC 组	130	3.08(4/130)	41.54(54/130) ^{‡*}
良性肺部疾病组	80	2.50(2/80)	6.25(5/80)
健康对照组	90	2.22(2/90)	4.44(4/90)

△: $P < 0.05$, 与 NSCLC 组比较; ‡: $P < 0.05$, 与良性肺部疾病组比较; *: $P < 0.05$, 与健康对照组比较。

2.3 血清 pro-GRP、NSE 对 SCLC 的诊断价值 以良性肺部疾病组和健康对照组为对照, 分析 pro-GRP、NSE 对 SCLC 的诊断价值, 结果显示 pro-GRP 的诊断价值优于 NSE, ROC 曲线下面积最大 (0.890), 其灵敏度和特异度分别为 80.00% 和 96.47%; NSE 的灵敏度和特异度分别为 64.17% 和 87.65%。与单项指标检测相比, 两者联合诊断 SCLC 时的灵敏度提高至 92.50%, 其 ROC 曲线下面积和约登指数分别增加至 0.915 和 77.21。见表 3 和图 1。

表 3 pro-GRP、NSE 对 SCLC 诊断效能的比较

检测项目	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数
pro-GRP	80.00	96.47	76.67
NSE	64.17	87.65	51.82
pro-GRP+NSE	92.50	84.71	77.21

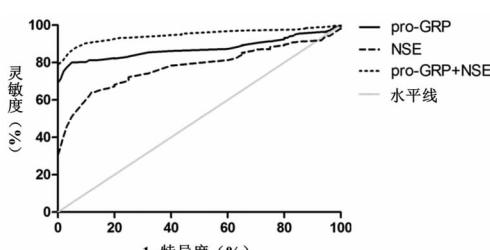


图 1 pro-GRP、NSE 诊断 SCLC 的 ROC 曲线

3 讨 论

本文中, 测定了 SCLC、NSCLC、良性肺部疾病患者和健康对照组的 pro-GRP、NSE 水平, 比较这两个指标在不同组别的水平和阳性率, 然后测定了两个标志物分别诊断及两者联合诊断 SCLC 的敏感度和特异度, 绘制了 ROC 曲线并计算曲线下面积, 从而探讨两个标志物对于 SCLC 诊断和鉴别诊断的价值。

NSE 是目前公认的 SCLC 首选肿瘤标志物, 是参与糖酵解途径的烯醇化酶中的一种, 其特异性地存在于神经元和神经内分泌细胞中。NSE 在 SCLC 中的异常表达被认为是 SCLC 的肿瘤标记物, 但是 NSE 在 NSCLC 中有较高的假阳性率; 另外 NSE 在红细胞内含量丰富, 标本溶血、未及时分离血清等分析前的因素都可能导致 NSE 出现假阳性结果, 影响临床医师对结果的判读。上述两方面原因导致 NSE 诊断 SCLC 的特异度不高^[6]。

pro-GRP 是 GRP 的前体结构, GRP 是 SCLC 的重要生成物。研究发现, SCLC 患者的肿瘤细胞能合成和释放 GRP, GRP 通过自分泌或细胞间的相互作用刺激肿瘤生长, 参与转移过程。因为 GRP 的半衰期只有 2 min, 临床检测困难。pro-GRP 比较稳定, 研究证实血清 GRP 与 pro-GRP 呈正相关。而 GRP 在正常肺部上皮中不表达或低表达, 在良性肺部疾病和上皮来源的肿瘤中为低表达, 但在 SCLC 患者中高表达。因此, pro-GRP 作为新的 SCLC 肿瘤标志物, 在 SCLC 诊断中有非常高的潜在价值^[4-5]。

本研究中, 与 NSCLC 组、良性肺部疾病组和健康对照组相比, SCLC 组血清 pro-GRP、NSE 平均水平差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 结果显示 pro-GRP、NSE 的高表达均只与 SCLC 相关, 与文献[7]报道一致, 两者的水平与 SCLC 的神经内分泌特性有关, 提示两者不仅可进行良恶性肺部疾病的鉴别诊断, 而且还可以鉴别不同病理学类型的肺癌。与赵兵等^[8]报道的一致。SCLC 患者中的 pro-GRP 平均值水平为临界值的 4.63 倍, 而 NSE 在 SCLC 患者中的平均值水平为临界值的 1.89 倍, 说明 pro-GRP 在 SCLC 患者中可表现出更高的灵敏度。但也有报道称, 在肾病及某些肿瘤如结直肠癌、前列腺癌、髓样甲状腺癌等患者血清 pro-GRP 水平也会升高, 在临床应用时也要加以鉴别^[9]。文献[10]报道中一部分具有神经内分泌分化的 NSCLC 患者的血清 pro-GRP 呈阳性表达。本文中也有 4 例 NSCLC 患者血清 pro-GRP 升高, 占 3.08%, 但与良性肺部疾病患者和健康对照组中的 pro-GRP 升高者比例无明显差异, 分别为 (2.50%, 2.22%)。而尹颜军等^[7]报道的 pro-GRP 阳性率在 NSCLC 和良性肺部疾病患者中略低, 分析可能是由于纳入病例的地域分布不一致所致。NSE 在 SCLC 和 NSCLC 组别中的阳性率虽然差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但其均明显高于良性肺部疾病患者和健康对照组, 与文献[7]报道一致。提示 NSE 虽然不能很好地鉴别 SCLC 和 NSCLC, 但其在良恶性肺部疾病中有非常好的鉴别诊断价值。综上所述, pro-GRP 和 NSE 可作为 SCLC 鉴别诊断的非常好的肿瘤标志物。

本文结果显示, pro-GRP 和 NSE 都可作为 SCLC 的辅助诊断和鉴别诊断较好的肿瘤标志物。单项检测时, 以 pro-GRP 诊断 SCLC 的灵敏度 (80.00%) 和特异度 (96.47%) 均高于 NSE, NSE 的灵敏度和特异度都不是很好 (64.17% 和 87.65%)。本研究进行 pro-GRP 和 NSE 联合检测, 可使检测灵敏度提高到 92.50%, 但特异度降至 84.71%, 但与单项指标相比, 联合检测诊断 SCLC 的约登指数最高(下转第 1650 页)

ApoA1 测定时出现的钩状效应。本方法不仅对样本 ApoA1 测定项目适用,而且对日立 7600 全自动生化分析仪上所有免疫浊度分析项目适用。

现代化的全自动生化仪需要设置合适的仪器参数对这些样本进行监测^[2],免疫检测中稀释法非常必要,是减少钩状效应发生的最简便最直接的方法^[3]。免疫检测中稀释法误差小更接近真值,而且实用和简便,方法易于普及,所有的大、中、小实验室都适用。

长期以来,人们普遍认为免疫透射比浊法的灵敏度不够理想,检测范围不够宽。严格地说,前带现象是指抗体过剩时反而使反应信号弱化而使信号-剂量(浓度)曲线呈钩状的现象;后带现象是指抗原过剩使反应信号弱化而使反应信号-剂量曲线呈钩状的现象。因此钩状效应概括了前后带现象。目前,钩状效应针对抗原过剩而言,因此更确切地命名为高剂量钩状效应。高剂量钩状效应使强阳性标本误测为弱阳性,甚至假阴性结果,高浓度标本误测为低值。

用手工或仪器对样本进行前稀释解决抗原过量引起钩状效应的问题,这方法有时会导致抗原浓度过低而造成抗体的绝对过剩,影响测定结果的准确性。原因是免疫复合物颗粒太小阻挡不了光线的通过;或是免疫复合物的数量太少,其浊度变化对光通量的透过影响不大,特别是在低浓度时更加明显^[4]。但近年来,乳胶颗粒增强免疫技术的大量应用,大大增加了抗原抗体复合物颗粒的直径,检测灵敏度得以大大提高。特别是双乳胶颗粒连接的双抗体技术也得以应用于免疫透射比浊法,其中大乳胶颗粒包被了高反应性抗体,以提高分析灵敏度;小乳胶颗粒包被了低反应性抗体,以此来扩展测量范围,使得检测灵敏度及检测范围大大改善。有学者^[5]对 IgG、IgA、IgM、

(上接第 1648 页)

(77.21%),可以实现较高的临床诊断价值。联合检测的灵敏度和特异度与既往研究相比,无明显不同^[11-14]。绘制 ROC 曲线,pro-GRP、NSE 及两者联合诊断 SCLC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.890、0.810 和 0.915。由于特异度计算和绘制的 ROC 曲线均以良性肺部疾病组和健康对照组为对照,本研究结果提示,pro-GRP 较 NSE 在鉴别良恶性肺部疾病时,诊断 SCLC 的价值更高,但两者联合诊断效果更好。

综上所述,NSE 只能鉴定良恶性肺部疾病,不能鉴定 SCLC 和 NSCLC;pro-GRP 既可鉴定良恶性肺部疾病,还可鉴定肺癌的 SCLC 和 NSCLC 病理分型;pro-GRP 和 NSE 均为 SCLC 鉴别诊断中较好的标志物,且两者联合诊断效果更佳。

参考文献

- [1] 时广利,胡秀玲,岳思东,等. 血清肿瘤标志物在肺癌辅助诊断中的应用[J]. 中华肿瘤杂志,2005,27(5):299-301.
- [2] 李学祥,周善良,王憨杰,等. 四种肿瘤标志物联合检测在小细胞肺癌中的临床价值[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(1):1011-1015.
- [3] 丁湘彧,张宝秋,张洁,等. 肺癌患者血清中肿瘤标志物检测的临床意义[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(16):4646-50.
- [4] Nordlund MS, Fermer C, Nilsson O, et al. Production and characterization of monoclonal antibodies for immunoassay of the lung cancer marker ProGRP[J]. Tumour Biol, 2007, 28(2):100-110.
- [5] Molina R, Filella X, Augé JM. ProGRP: a new biomarker for small cell lung cancer[J]. Clin Biochem, 2004, 37(7):505-511.

C3、C4、CRP、hs-CRP 7 种血清蛋白研究结果表明,在免疫散射比浊法的低检测范围及高检测范围,免疫透射比浊法均与之有着良好的线性回归。

所以,作为临床实验工作者应该注意日常工作中一些细节问题,高度重视抗原检测中高剂量钩状效应对分析结果的影响,尽量避免将较大病理浓度的抗原误测为低值甚至假阴性,切实提高高浓度抗原检测的准确度。随着新技术的发展和方法学改进,新的检测项目不断增多,为临床提供了丰富的诊断信息,对许多疾病诊断、治疗、监测、预后和评估都起着越来越重要的作用。所以在工作中要不断提高临床检验质量,为临床提供可信度极高的数据资料,更好地为临床服务,为患者服务。

参考文献

- [1] Blirup-Jensen S. Protein standardization III: Method optimization basic principles for quantitative determination of human serum proteins on automated instruments based on turbidimetry or nephelometry [J]. Clin Chem Lab Med, 2001, 39(11):1098-1109.
- [2] Ledue TB, Collins MF, Ritchie RF. Development of immunoturbidimetric assays for fourteen human serum proteins on the Hitachi 912 [J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(5):520-528.
- [3] 张明,陈志英. 引起钩状效应的原因及对策[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(18):4409.
- [4] 张汉园. 透射免疫比浊法和速率散射免疫比浊法测 C 反应蛋白的比较[J]. 江苏大学学报, 2004, 14(4):348-350.
- [5] 彭凤,应春妹. 免疫透射比浊法与免疫散射比浊法检测特定蛋白的比较研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(1):45.

(收稿日期:2015-03-28)

- [6] Harmsma M, Schutte B, Ramaekers FC. Serum markers in small cell lung cancer: opportunities for improvement[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1836(2):255-272.
- [7] 尹颜军,荣长利,郑华. proGRP、NSE 在小细胞肺癌鉴别诊断中的意义[J]. 放射免疫学杂志,2007,12(1):137-139.
- [8] 赵兵,张苗苗,朱灵智,等. 血清 pro-GRP、NSE 和 TPS 联检在小细胞肺癌中的临床应用[J]. 放射免疫学杂志,2013,26(3):364-365.
- [9] 余文聘,郑小河,吴洁文. 胃泌素释放肽前体在小细胞肺癌诊断中的研究进展[J]. 汕头大学医学院学报,2004,17(2):127-129.
- [10] Kudo K, Ohyanagi F, Horiike A, et al. Clinicopathological findings of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations[J]. Lung Cancer, 2011, 74(3):410-404.
- [11] 王莉,贾志凌,于忠和,等. 血清 pro-GRP 和 NSE 检测在小细胞肺癌中的意义[J]. 临床肺科杂志,2010,15(9):1235-1236.
- [12] 胡范彬,张同梅,高远,等. 小细胞肺癌患者血清中神经特异性烯醇化酶和胃泌素释放肽前体水平与临床特征的关系[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2013,7(6):2480-2483.
- [13] Molina R, Augé JM, Bosch X, et al. Usefulness of serum tumor markers, including progastrin-releasing peptide, in patients with lung cancer: correlation with histology[J]. Tumour Biol, 2009, 30(3):121-129.
- [14] Tang JH, Zhang XL, Zhang ZH, et al. Diagnostic value of tumor marker pro-gastrin-releasing peptide in patients with small cell lung cancer: a systematic review[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(10):1563-1568.

(收稿日期:2015-01-02)