

• 短篇论著 •

肺癌患者血清肿瘤标志物与 EGFR 突变相关性研究

侯玉磊,李德涛,陈 特,毕小云[△]

(重庆医科大学附属第一医院检验科,重庆 400016)

摘 要:**目的** 探究肺癌患者血清细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、神经元特异烯醇化酶(NSE)、鳞状上皮细胞抗原(SCC)浓度与 EGFR(表皮生长因子受体)基因突变的关系,为 EGFR 基因突变提供可靠的预测指标。**方法** 收集 174 例肺癌患者术前血清及术后肺癌组织;电化学发光法检测血清肿瘤标志物浓度,利用突变扩增阻滞系统(ARMS)检测肺癌组织 EGFR 基因突变;分析 EGFR 突变与肺癌患者临床病理特征的关系;分析血清肿瘤标志物与肺癌患者 EGFR 突变的关系。**结果** 174 例肺癌患者中,78 例发生突变,其中以 19 号外显子缺失(19-del)和 21 号外显子 L858R 突变为主;女性肺癌患者 EGFR 突变率显著高于男性患者($\chi^2=34.027$, $P=0.000$),腺癌患者 EGFR 突变率显著高于鳞癌患者($\chi^2=34.027$, $P=0.002$),非吸烟患者 EGFR 突变率显著高于吸烟患者($\chi^2=40.397$, $P=0.000$);EGFR 野生型肺癌患者血清 CYFRA21-1、NSE、SCC 浓度显著高于 EGFR 突变者[4.80(2.50,8.30)ng/mL vs. 2.50(1.90,4.60)ng/mL, $P=0.000$;13.05(10.63,18.35)U/L vs. 11.00(9.20,13.10)U/L, $P=0.010$;1.00(0.70,1.58)ng/mL vs. 0.70(0.55,1.00)ng/mL, $P=0.000$]。**结论**

EGFR 突变多发生在非吸烟女性腺癌患者,血清肿瘤标志物作为 EGFR 基因突变的预测指标具有一定的临床应用价值,值得扩大样本量进一步研究。

关键词:肺癌; 肿瘤标志物; EGFR 基因突变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.027

文章编号:1673-4130(2018)20-2562-04

中图法分类号:R446.1;R734.2

文献标识码:B

肺癌是发病率和病死率极高的恶性肿瘤之一^[1]。至少 1/3 的肺癌患者出现症状时,已经处于中晚期,失去了手术治疗的机会^[2]。随着分子靶向治疗的发展,表皮生长因子受体(EGFR)基因突变作为肺癌靶向治疗的常规检测项目,表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIS)作为 EGFR 基因突变的靶向化疗药,敏感突变者,治疗有效率高达 80%以上,突变阴性者治疗有效率仅为 1%左右^[3]。因此,准确检测出 EGFR 基因的突变状态,有助于筛选出合适的治疗人群,指导临床个体化治疗和降低患者的经济负担。目前,EGFR 基因突变检测标本仍以组织学为主,然而 70%以上的患者出现症状时,已经处于中晚期,失去手术治疗的机会,肿瘤组织难以获取。其他种类标本 EFGR 基因突变检出率大大降低,这些因素使得 EGFR 基因突变检测在临床上大量推广受限,寻找预测检测 EGFR 基因突变的标志物具有更重要的价值。

肺癌相关的血清学肿瘤标志物[癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、神经元特异烯醇化酶(NSE)、鳞状上皮细胞抗原(SCC)]在肺癌的诊断、预后和监测具有非常重要的价值,而目前肺癌肿瘤标志物水平与 EGFR 基因突变的关系仍存在争议。因此,本研究拟通过比较血清肺癌相关的肿瘤标志物与 EGFR 突变的关系,期望为肺癌 EGFR 基

因突变状态提供可靠的预测指标。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月在本院就诊的肺癌患者 174 例,所有患者均签署知情同意书,该项目获得重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准。入组标准:(1)经病理学证实为肺癌;(2)均进行 EGFR 基因突变检测和外周血清细胞角蛋白 19 片段、神经元特异烯醇化酶、鳞状上皮细胞抗原浓度检测;(3)病例资料完整;(4)肝肾功能及血常规无显著异常,无其他并发症。排除标准:(1)其他肿瘤肺部转移的患者;(2)非首诊患者;(3)病例资料不完整患者。肺癌 TNM 分期参照文献[4]。

1.2 仪器与试剂 Cobas e602 全自动电化学发光免疫分析仪,Cobas Z480 全自动 PCR 分析仪(Roche,瑞士);雅培 I2000 SR 全自动免疫分析仪(Abbott,上海)。组织 DNA 提取试剂盒(北京天根生物技术公司,产品目录号:DP304),人类 EGFR 基因突变检测试剂盒(厦门艾德生物公司生产,试剂批号:01217092701);血清 CEA(批号:24484801)、CYFRA21-1(批号:21374203)、NSE(批号:22243402)、SCC(批号:81111LP92)检测试剂盒,CEA、CYFRA21-1、NSE 检测试剂质控品、校准品均购自罗氏公司,SCC 检测试剂盒质控品、校准品购自上海雅培

[△] 通信作者,E-mail:1284906318@qq.com。

公司。

1.3 方法

1.3.1 样本准备 术前采集患者静脉血 5 mL,3 000 r/min,离心 6 min,分离血清。留取患者术后新鲜的肺癌组织,封存于 EP 管中。

1.3.2 样本处理和核酸提取 按照试剂盒说明书提取组织 DNA。

1.3.3 EGFR 基因突变检测 (1)EGFR 基因突变检测是基于扩增阻碍突变系统(ARMS)和荧光 PCR 技术实现样本 DNA 中 EGFR 基因突变检测:针对 EGFR 基因突变位点设计特异的突变检测引物,PCR 扩增时,由于该引物 3'末端的碱基与突变型模板完全配对,引物延伸并扩增出突变模板;而与野生型模板由于不能完全配对,引物的延伸被阻断,野生型模板被抑制,从而实现 EGFR 基因突变的检测。本检测方法同时结合荧光 PCR 技术,通过 FAM 标记的荧光探针,实现 EGFR 基因突变的实时检测。(2)检测步骤如下。①质量控制程序:每个分析批均设有阳性、阴性对照。②检测核心步骤:首先,将 2.7 μL Taq 酶(EGFR)分别加入体积为 42.3 μL 的阳性对照管、阴性对照管、待测样品管中,旋涡混匀。然后,按照下列程序进行聚合酶链式反应:95 ℃,5 min,1 个循环;95 ℃,25 s,64 ℃,20 s,72 ℃,20 s,15 个循环;93 ℃,25 s,60 ℃,35 s,72 ℃,20 s,31 个循环。随后 60 ℃收集 FAM 和 HEX 信号,执行实时聚合酶链式反应。最后分析数据。

1.3.4 血清 CEA、CYFRA21-1、NSE、SCC 浓度检测 罗氏 e602 全自动电化学发光仪检测血清 CEA、CYFRA21-1、NSE、SCC 浓度。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。肿瘤标志物浓度符合非正态分布,采用中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,突变率的比较采用 χ^2 检验,取检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧),以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EGFR 基因突变情况分析 174 例肺癌患者中,78 例发生 EGFR 基因突变,其中 19 号外显子 21 例(26.9%),21 号外显子 L858 突变 47 例(60.2%),18 号外显子突变 5 例(6.4%),20 号外显子突变 2 例(2.6%),双位点突变为 3 例(3.8%)。

2.2 EGFR 基因突变与肺癌患者临床特征相关性分析 相关性分析发现,女性肺癌患者 EGFR 基因突变率显著高于男性患者($\chi^2=34.027, P=0.000$),腺癌患者 EGFR 基因突变率显著高于鳞癌患者($\chi^2=34.027, P=0.002$),非吸烟患者 EGFR 基因突变率显著高于吸烟患者($\chi^2=40.397, P=0.000$),差异均有统计学意义,不同年龄和不同肿瘤分期 EGFR 基因突变率比较,差异无统计学意义($P=0.120、0.190$)。见表 1。

表 1 EGFR 突变与肺癌患者临床特征的关系[n(%)]				
特征	n	突变型	野生型(%)	χ^2 P
性别				34.027 0.000
男	118	37(31.4)	81(68.6)	
女	56	44(78.6)	12(21.4)	
年龄				1.762 0.120
≥60 岁	81	43(53.1)	38(46.9)	
<60 岁	93	40(43.0)	53(57.0)	
组织学类型				9.405 0.002
鳞癌	23	4(17.4)	19(82.6)	
腺癌	151	78(51.7)	73(48.3)	
肿瘤分期 ^a				2.063 0.190
(Ⅰ+Ⅱ)	52	36(69.2)	16(30.8)	
(Ⅲ+Ⅳ)	58	47(81.0)	11(19.0)	
吸烟史				40.397 0.000
有	104	30(28.9)	84(71.1)	
无	70	52(74.3)	18(26.7)	

注:^a 表示存在部分病例失访

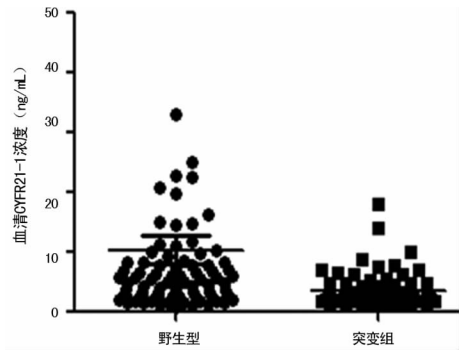


图 1 不同组血清 CYFR21-1 浓度比较

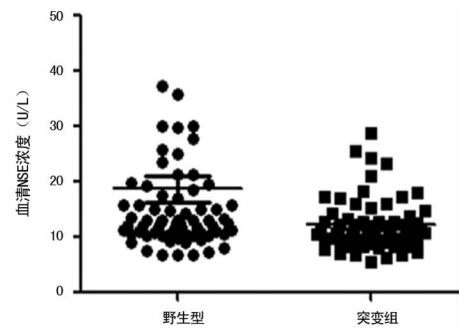


图 2 不同组血清 NSE 浓度比较

2.3 不同 EGFR 基因突变状态血清肿瘤标志物浓度比较 EGFR 野生型肺癌患者血清 CYFRA21-1 浓度显著高于 EGFR 突变者[4.80(2.50,8.30)ng/mL vs. 2.50(1.90,4.60)ng/mL],差异有统计学意义($P=0.000$),见图 1;EGFR 野生型肺癌患者血清 NSE 浓度显著高于 EGFR 突变者[13.05(10.63,18.35)U/L vs. 11.00(9.20,13.10)U/L],差异有统计学意义($P=0.01$),见图 2;EGFR 野生型肺癌患者血清 SCC 浓度显著高于 EGFR 突变者[1.00(0.70,1.58)ng/

mL vs. 0.70(0.55,1.00)ng/mL],差异有统计学意义($P=0.000$),见图 3。EGFR 基因野生型者血清 CEA 浓度与 EGFR 基因突变者,差异无统计学意义($P>0.05$);不同突变类型肺癌患者血清肿瘤标志物浓度比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

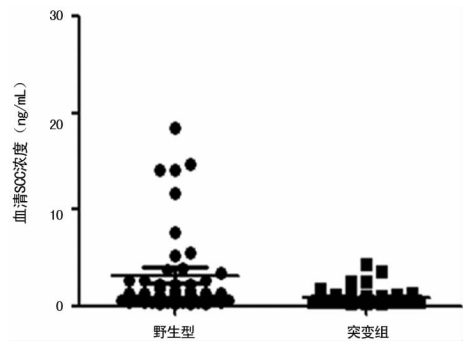


图 3 不同组血清 SCC 浓度比较

3 讨 论

3.1 不同地区 EGFR 基因突变存在差异 EGFR 基因突变作为肺癌靶向治疗的关键预测因子,极大提高了肺癌治疗效果。EGFR 基因突变主要表现为 19 号外显子缺失,21 号外显子 L858 突变两个方面,这两种突变显著提高肺癌细胞对 EGFR-TKI 化疗药的敏感性^[5]。陈慧娟等^[6]发现,广东地区肺癌患者 EGFR 突变主要以 19 号外显子为主,突变率约为 70%,21 号外显子突变率仅为 1.72%。而 ABDURAHMAN 等^[7]对新疆地区非小细胞肺癌患者 EGFR 基因突变的研究中发现 19 号外显子突变率为 50%,21 号外显子突变率为 19%。本研究证实,重庆地区肺癌患者 EGFR 基因突变主要以 19 号外显子缺失和 21 号外显子 L858R 突变为主,21 号外显子突变率约为 60%,19 号外显子突变率约为 30%,本研究结果与上述结果不一致,原因尚不清楚,可能与不同地区人群的遗传背景、发病机制有关,值得进一步研究。

3.2 EGFR 基因突与性别、肿瘤组织学类型、非吸烟有关 本研究结果发现,女性 EGFR 突变率显著高于男性,腺癌患者 EGFR 突变率显著高于鳞癌,非吸烟患者发病率显著高于吸烟者。王珊等^[8]研究发现,NSCLC 患者中女性、肺腺癌及非吸烟患者 EGFR 突变率分别高于男性、肺鳞癌及吸烟患者。杨庆等^[9]也发现了类似的结果,与本研究结果基本一致。因此,分析 EGFR 突变与临床病理特征的关系,为 EGFR 基因检测人群的筛选提供了参考依据。

3.3 血清肿瘤标志物浓度可能为 EGFR 基因突的预测指标 本研究结果证实,血清 CYFR21-1、NSE、SCC 浓度在 EGFR 突变的肺癌患者中显著降低。张连民等^[10]发现 EGFR 野生型肺癌患者血清 cyfr21-1、SCC 浓度显著高于突变患者,与本研究结果基本一致。而 CHO 等^[11]则发现血清 CYFR21-1、SCC 浓度无显著相关性,这可能是其研究对象数量(69 例)较少

导致的。YANG 等^[12]证实,血清 CEA 与 EGFR 突变存在显著正相关,未发现肺癌患者血清 CEA 浓度与 EFR 突变状态无相关性。这可能与选取的肺癌患者很大一部分处于早期(52 例),血清 CEA 浓度并未开始升高有关。JIANG 等^[13]研究发现在 EGFR 突变的肺腺癌血清 NSE 浓度显著升高,与本研究结果不一致,这可能归结于样本量大小。血清肿瘤标志物作为 EGFR 基因突变预测指标可能与样本量大小、地域遗传因素有关。

3.4 本研究的局限性 本研究仅仅选取鳞癌和腺癌患者作为研究对象,具有一定的局限性,应该将小细胞肺癌和大细胞癌囊括进来,这样才能更全面,另外由于样本量的关系,并没有将肿瘤标志物浓度分级,分析与 EGFR 基因突变的关系,下一步拟通过样本量的增加,通过将肿瘤标志物分级,比较不同分级浓度肿瘤标志物与 EGFR 基因突变的关系,期望为肺癌患者 EGFR 基因突变预测提供更客观可靠的生物预测指标。

4 结 论

重庆地区非吸烟女性腺癌患者 EGFR 突变率较高,EFR 突变患者血清 CYFR21-1、NSE、SCC 浓度显著低于与 EGFR 野生型患者,血清肿瘤标志物作为 EGFR 突变的预测指标具有一定的临床应用价值,值得扩大样本量进一步研究。

参考文献

[1] CHEN W Q,ZHENG R S,BAADE P D,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2): 115-132.

[2] SIEGEL R,NAISHADHAM D,JEMAL A. Cancer statistics,2013[J]. CA Cancer J Clin,2013,63(1):11-30.

[3] CHEN G,KRONENBERGER P,TEUGELS E,et al. Effect of siRNAs targeting the EGFR T790M mutation in a non-small cell lung cancer cell line resistant to EGFR tyrosine kinase inhibitors and combination with various agents[J]. Biochem Biophys Res Commun,2013,431(3): 623-629.

[4] DETTERBECK F C,BOFFA D J,KIM A W,et al. The eighth edition lung cancer stage classification[J]. Chest, 2017,151(1):193-203.

[5] RUSSO A,FRANCHINA T,RICCIARDI G R,et al. A decade of EGFR inhibition in EGFR-mutated non small cell lung cancer (NSCLC):old successes and future perspectives[J]. Oncotarget,2015,6(29):26814-26825.

[6] 陈慧娟,喻长顺,李洪波. 广东地区非小细胞肺癌 EGFR 基因的突变研究[J]. 分子诊断与治疗杂志,2011,3(1): 29-32.

[7] ABDURAHMAN A,ANWAR J,TURGHUN A,et al. Epidermal growth factor receptor gene mutation status and its association with clinical characteristics and tumor markers in non-small-cell lung cancer patients in North-

- west China[J]. Mol Clin Oncol, 2015, 3(4): 847-850.
- [8] 王珊,董丽儒,刘爱东,等. EGFR 及 KRAS 基因突变与非小细胞肺癌临床病理特征的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(4): 379-383.
- [9] 杨庆,孙愚. 非小细胞肺癌患者 EGFR、EML4-ALK 表达与临床病理特征的关系[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(4): 582-584.
- [10] 张连民,郝李刚,张华,等. 血清癌胚抗原与非小细胞肺癌患者 EGFR 突变的关系及其对预后的影响[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(17): 1075-1079.
- [11] CHO A, HUR J, MOON Y W, et al. Correlation between EGFR gene mutation, cytologic tumor markers, 18F-FDG uptake in non-small cell lung cancer[J]. BMC Cancer, 2016, 16: 224.
- [12] YANG Z M, DING X P, PEN L, et al. Analysis of CEA expression and EGFR mutation status in non-small cell lung cancers[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(8): 3451-3455.
- [13] JIANG R C, WANG X Y, LI K. Predictive and prognostic value of preoperative serum tumor markers is EGFR mutation-specific in resectable non-small-cell lung cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(18): 26823-26836.
- (收稿日期: 2018-03-16 修回日期: 2018-06-06)
- 短篇论著 •

血清胱抑素 C、降钙素原及血红蛋白水平变化对高血压肾衰竭患者中的影响

魏 杰¹, 王志国², 梁 鑫³, 王琼琼^{4△}

(1. 南京梅山医院检验科, 南京 210039; 2. 江苏省中西医结合医院检验科, 南京 210028; 3. 江苏省中医院检验科, 南京 210029; 4. 南京医科大学附属南京医院/南京市第一医院核医学科实验诊断部, 南京 210006)

摘 要:目的 探究血清胱抑素 C(CysC)、降钙素原(PCT)和血红蛋白(Hb)在高血压肾衰竭患者体内的水平变化及其临床价值。方法 选取 2015 年 3 月至 2017 年 9 月南京梅山医院收治的高血压肾衰竭患者 86 例(高血压肾衰竭组), 同期选取高血压患者 80 例(高血压组), 健康者 94 例(健康组)。结果 高血压肾衰竭组血清 CysC 和 PCT 水平显著高于高血压组和健康组, 而血清 Hb 水平显著低于高血压组和健康组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。高血压组与健康组间 CysC、PCT 和 Hb 水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。受试者工作特征曲线(ROC)分析显示, 血清 CysC、PCT 和 Hb 在区分高血压肾衰竭组与高血压组和健康组的灵敏度分别为 85.2%、78.8%、60.1%, 特异度分别为 94.4%、75.5%、73.5%; 当联合血清 CysC、PCT、Hb、尿素氮和肌酐在区分高血压肾衰竭组与高血压组和健康组的灵敏度 91.5%, 特异度 95.6%。logistic 分析显示, 在校正年龄、性别、BMI、糖尿病等因素后, 血清高 CysC 和高 PCT 水平仍与高血压肾衰竭的发生相关。结论 联合检测血清 CysC、PCT 和 Hb 可能是高血压肾衰竭早期诊断的潜在标志物。

关键词: 血清胱抑素 C; 降钙素原; 血红蛋白; 诊断; 高血压; 肾衰竭

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.028

中图法分类号: R446.11+2; R692.5

文章编号: 1673-4130(2018)20-2565-05

文献标识码: B

在过去数十年里,我国高血压患病人数呈逐年递增趋势。2015 年我国高血压患病率为 27.7%,较 2002 年增长了近 10%^[1]。作为人类慢性疾患中最重要的“隐形杀手”,高血压与多种疾病的发生、发展密切相关,尤其是在出血性/缺血性脑卒中、心血管疾病、高血压性肾病中有促进作用^[2-3]。高血压肾衰竭是指高血压患者病情恶化进展的一个晚期阶段,其主要原因是高血压患者的血压控制情况不理想,未能得以及时有效的治疗,对肾脏血管造成破坏,导致高血压患者肾脏的血液供应不足,从而引起肾脏功能的损害,最终发展成为高血压肾衰竭^[4-6]。由于高血压发病率不断增高,因高血压导致的高血压肾衰竭发病率

也在提高,已成为影响人群健康的重要疾病。胱抑素 C(CysC)是临床上广泛应用于肾功能评估的一种有效指标^[7]。近年研究发现,血清降钙素原(PCT)和血红蛋白(Hb)两个指标紊乱在肾功能不全患者中均有报道。唐敬强等^[8]通过对 60 例慢性肾病患者的研究指出, PCT 能够准确地评估患者的肾功能损害情况,并可作为慢性肾病早期诊断的辅助指标。刘晓宇等^[9]发现, 静脉血 Hb 水平对肾病患者的临床疗效评估具有重要意义,尤其是在肾病患者肾功能评估中有着较大的临床价值。然而关于 CysC、PCT 和 Hb 在高血压肾衰竭患者中的价值探讨还鲜有研究报道。因此,本研究旨在探讨联合检测血清 CysC、PCT 和

△ 通信作者, E-mail: wq19880901@126.com。

本文引用格式: 魏杰, 王志国, 梁鑫, 等. 血清胱抑素 C、降钙素原及血红蛋白水平变化对高血压肾衰竭患者中的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(20): 2565-2569.