

• 论 著 •

循环肿瘤细胞与肿瘤标志物在肺癌诊断中的价值比较^{*}

吴 方^{1,2}, 赵 京³, 张 侠⁴, 郭沛艳⁵, 杨家树^{1,2}, 刘 杰^{1,2△}

(1. 南方医科大学第二临床医学院, 广东广州 510280; 中国人民解放军总医院第七医学中心:

2. 检验科; 3. 胸外科; 4. 肿瘤科; 5. 呼吸内科, 北京 100700)

摘 要:目的 探讨循环肿瘤细胞(CTCs)检测在肺癌中的诊断价值。方法 选取 35 例肺癌患者为肺癌组, 以同期入院的非结核肺良性疾病患者 22 例及健康体检者 26 例为对照组, 分别检测两组患者外周血 CTCs 及传统血清肿瘤标志物的表达水平, 并使用灵敏度、特异度及 ROC 曲线对 CTCs 在肺癌中的诊断价值进行评价。**结果** 肺癌组 CTCs 的检出率为 77.1%, 显著高于对照组 CTCs 检出率(10.4%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); CTCs 诊断肺癌的灵敏度、特异度、ROC 曲线下面积分别为 77.1%、89.6%、0.865, 均高于传统血清肿瘤标志物 NSE(42.9%、77.1%、0.591), CA125(34.3%、87.5%、0.706), CA153(11.4%、89.5%、0.530), CYFRA21-1(62.9%、64.6%、0.674), SCCA(22.9%、66.7%、0.336); 而 CEA 的特异度(93.8%)虽高于 CTCs, 但其灵敏度(45.7%)及 ROC 曲线下面积(0.793)均低于 CTCs。**结论** CTCs 检测可用于肺癌的诊断, 且与传统血清肿瘤标志物相比具有更高的诊断价值。

关键词:循环肿瘤细胞; 肺癌; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.05.004

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2020)05-0527-05

文献标识码:A

Comparison of the diagnostic value between circulating tumor cells and tumor markers in lung cancer^{*}

WU Fang^{1,2}, ZHAO Jing³, ZHANG Xia⁴, GUO Peiyan⁵, YANG Jiashu^{1,2}, LIU Jie^{1,2△}

(1. The Second School of Clinical Medicine, Southern Medical University,

Guangzhou, Guangdong 510280, China; 2. Department of Clinical Laboratory; 3. Department of Thoracic

Surgery; 4. Oncology Department; 5. Respiratory Medicine, Seventh

Medical Center, PLA General Hospital, Beijing 100700, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of circulating tumor cells (CTCs) in lung cancer.

Methods Thirty-five patients with lung cancer were enrolled in the study group, Twenty-two patients with non-tuberculous benign lung disease and 26 healthy subjects were enrolled in the control group. The expression levels of peripheral blood CTCs and traditional serum tumor markers were detected in the two groups. The diagnostic value of CTCs in lung cancer was evaluated using sensitivity, specificity and ROC curve.

Results The detection rate of CTCs in the study group was 77.1%, which was significantly higher than that in the control group (10.4%, $P < 0.05$). The sensitivity, specificity and the area under the ROC curve of CTCs for diagnosis of lung cancer were 77.1%, 89.6%, and 0.865, respectively, which were higher than the traditional serum tumor markers NSE (42.9%, 77.1%, 0.591), CA125 (34.3%, 87.5%, 0.706), CA153 (11.4%, 89.5%, 0.530), CYFRA21-1 (62.9%, 64.6%, 0.674), SCCA (22.9%, 66.7%, 0.336); The specificity of CEA was 93.8%, which was higher than CTCs, however, its sensitivity (45.7%) and the area under the ROC curve (0.793) is lower than the CTCs. **Conclusion** The detection of CTCs can be used for the diagnosis of lung cancer and has higher diagnostic value than traditional serum tumor markers.

Key words: circulating tumor cells; lung cancer; diagnose

^{*} 基金项目:北京市科学技术委员会生物医药与生命科学创新培育研究(Z161100000116078)。

作者简介:吴方,男,在读硕士研究生,主要从事临床检验诊断学的研究。△ 通信作者, E-mail: fhaalj@163.com。

本文引用格式:吴方,赵京,张侠,等. 循环肿瘤细胞与肿瘤标志物在肺癌诊断中的价值比较[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(5): 527-531.

肺癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其发病率及病死率各类恶性肿瘤中均居首位^[1],早期诊断对疗效及延长患者生存期限具有重要意义^[2]。由于患者早期并无明显症状及当前检查手段自身的局限性,致使 60%~80% 的患者确诊时已是中晚期而错失了最佳治疗时机^[3]。循环肿瘤细胞(CTCs)来源于肿瘤原发灶或转移灶,在肺癌的诊断中具有潜在应用价值^[4]。本研究将 CTCs 与传统血清肿瘤标志物进行比较分析,从而探讨 CTCs 在肺癌中的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 9 月至 2019 年 7 月中国人民解放军总医院第七医学中心收治的且经病理检查确诊的肺癌患者 35 例作为肺癌组,其中男性 27 例,女性 8 例,年龄 40~88 岁,平均(60.7±9.6)岁,根据第 8 版国际肺癌 TNM 分期标准:I 期患者 10 例、II 期患者 6 例、III 期患者 3 例、IV 期患者 16 例;大细胞癌 1 例、鳞癌 8 例、肉瘤 1 例、腺癌 13 例、腺鳞癌 3 例、小细胞癌 9 例。选取同期入院的非结核肺良性疾病者以及健康体检者共 48 例作为对照组,其中男性 38 例,女性 10 例,年龄 31~98 岁,平均(61.0±17.6)岁;非结核肺良性疾病均为肺炎、慢性阻塞性肺疾病等呼吸系统疾病。两组患者一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入标准:(1)年龄 18~98 岁;(2)经组织病理学检查确诊为肺癌;(3)

入组前未接受任何抗肿瘤治疗;(4)患者知情同意。排除标准:(1)缺乏病理学诊断;(2)已接受手术、化疗等任何治疗;(3)依从性较差。

1.2 方法

1.2.1 CTCs 检测方法 用含 ACD 保养液的真空采血管抽取纳入研究者(患者在入院接受治疗前)空腹静脉血 5 mL,使用人外周血白细胞去除试剂盒(江苏莱尔生物医药科技有限公司)对 CTCs 进行富集,使用荧光原位杂交样品处理试剂盒(江苏莱尔生物医药科技有限公司)对 CTCs 进行鉴定,即使用 CD45 对白细胞进行标记;使用 DAPI 对细胞核进行标记;使用 CEP8 探针对着丝粒进行标记。

1.2.2 血清肿瘤标志物检测方法 患者入院接受治疗前,用红色真空采血管抽取其空腹静脉血 5 mL,4 000 r/min 离心 5 min,使用罗氏 Cobas e601 全自动化学发光免疫分析仪及其配套试剂对癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 153(CA153)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)进行检测;使用新产业 Maglumi 4000 Plus 型全自动化学发光测定仪及其配套试剂对鳞状细胞癌相关抗原(SCCA)进行检测。操作步骤严格按照仪器及试剂说明书进行。

1.2.3 CTCs 阳性判断标准 (1)单个细胞,核质均匀,未发现分层;(2)探针信号三个或三个以上;(3)CD45 不显色;(4)细胞表面无或仅一颗磁珠。见图 1。

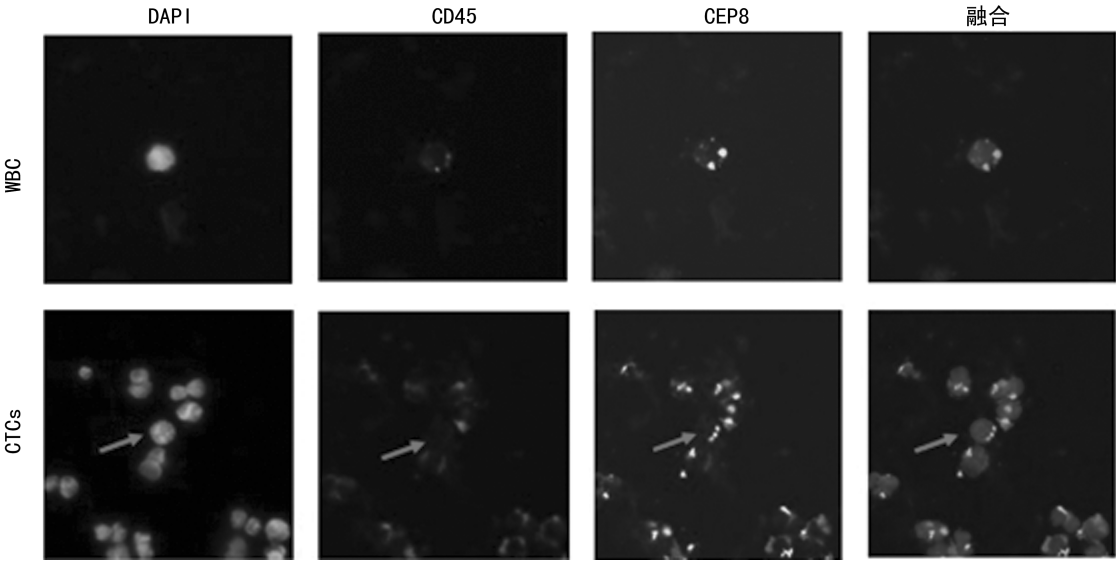


图 1 荧光显微镜下对白细胞及 CTCs 的鉴别(400×)

1.2.4 参考范围 血清肿瘤标志物正常值:CY-FRA21-1 0~3.3 ng/mL,NSE 0~16.3 ng/mL,SC-CA 0~2.5 ng/mL,CEA 0~5 ng/mL,CA125 0~35 U/mL,CA153 0~25 U/mL;CTCs 正常值:0~1 个/

3.2 mL。
1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析处理,以 ROC 曲线对 CTCs 在肺癌中的诊断效能进行评价;计数资料以频数及百分比 $[n(\%)]$

表示,组间差异比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺癌组和对照组 CTCs 阳性率比较 应用免疫磁珠阴性富集结合荧光原位杂交技术对两组患者外周血 CTCs 进行检测,肺癌组阳性率为 77.1%(27/35),高于对照组 CTCs 阳性率 10.4%(5/48),差异具有统计学意义($\chi^2=38.042,P=0.000$)。

2.2 CTCs 与传统血清肿瘤标志物诊断肺癌的灵敏度及特异度比较 以病理诊断为金标准,整理 CTCs 对肺癌诊断的四格表资料,见表 1。CTCs 检测在肺癌诊断中的灵敏度及特异度分别为 77.1%、89.6%,见表 2,均高于传统血清肿瘤标志物 NSE(42.9%、77.1%)、CA125(34.3%、87.5%)、CA153(11.4%、89.5%)、CYFRA21-1(62.9%、64.6%)、SCCA(22.9%、66.7%);而 CEA 的特异度为 93.8%,虽高于 CTCs(89.6%),但其灵敏度(45.7%)要低于 CTCs(77.1%)。

表 1 CTCs 对肺癌诊断的四格表资料(n)

CTCs	病理学检查	
	肺癌	非肺癌
阳性	27	5
阴性	8	43

表 2 CTCs 与传统血清肿瘤标志物诊断肺癌的灵敏度及特异度(%)

指标	灵敏度	特异度
CTCs	77.1	89.6
CEA	45.7	93.8
NSE	42.9	77.1
CA125	34.3	87.5
CA153	11.4	89.5
CYFRA21-1	62.9	64.6
SCCA	22.9	66.7

2.3 CTCs 与传统血清肿瘤标志物诊断肺癌的 ROC 曲线分析 以病理诊断为金标准,以 35 例肺癌患者为疾病组,以 48 例健康者及肺良性疾病为对照组,如图 2 所示,CTCs 诊断肺癌的曲线下面积为 0.865(95%CI:0.779~0.952),其曲线下面积均高于 CEA(0.793)、NSE(0.591)、CA125(0.706)、CA153(0.530)、CYFRA21-1(0.674)、SCCA(0.336),ROC 曲线分析结果显示 CTCs 检测对肺癌的诊断价值均比传统血清肿瘤标志物高。

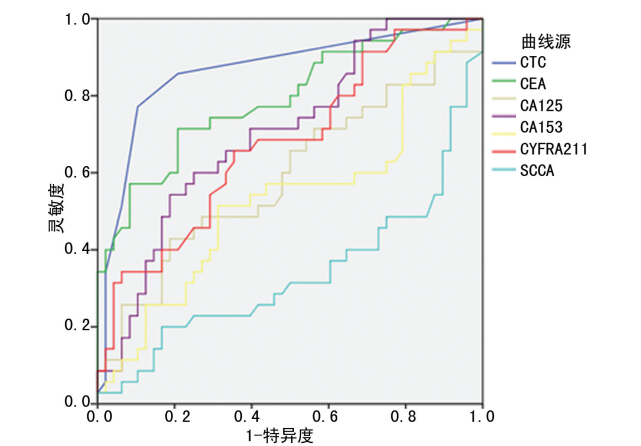


图 2 CTCs 与传统血清肿瘤标志物诊断肺癌的 ROC 曲线分析

2.4 传统血清肿瘤标志物联合检测与 CTCs 诊断肺癌的灵敏度及特异度比较 联合检测时,有一项指标阳性便判定检测结果为阳性。如表 3 所示,CEA、NSE、CA125、CA153、CYFRA21-1、SCCA 联合检测的灵敏度为 94.3%,高于 CTCs 检测的灵敏度(77.1%),差异有统计学意义($\chi^2=4.200,P=0.04$);但 CTCs 检测的特异度(89.6%)显著高于 6 项肿瘤标志物联合检测的特异度(33.3%),差异有统计学意义($\chi^2=32.059,P=0.000$)。

表 3 6 项血清肿瘤标志物联合检测与 CTCs 诊断肺癌的灵敏度及特异度(%)

指标	灵敏度	特异度
CEA	45.7	93.8
NSE	42.9	77.1
CA125	34.3	87.5
CA153	11.4	89.5
CYFRA21-1	62.9	64.6
SCCA	22.9	66.7
六项肿瘤标志物联合检测	94.3	33.3
CTCs	77.1	89.6

2.5 CTCs 阳性与肺癌患者病理类型的关系 CTCs 的阳性与肺癌患者的病理类型无关($\chi^2=1.772,P=0.880>0.05$),见表 4。

表 4 CTCs 阳性与肺癌患者病理类型的关系[n(%)]

病理类型	n	CTCs 阳性
大细胞癌	1	1(100.00)
鳞癌	8	6(75.00)
肉瘤	1	1(100.00)
腺癌	13	11(84.62)
腺鳞癌	3	2(66.67)
小细胞癌	9	6(66.67)

3 讨 论

癌症是全球的公共卫生问题,根据世界卫生组织(WHO)2015 年的估计,癌症是导致 91 个国家 70 岁前死亡的第一或第二主要原因^[5],而在 2018 年的 1 810 万例新发癌症病例(肺癌占 11.6%)和 960 万癌症死亡病例(肺癌占 18.4%)中,肺癌均居首位^[5]。在我国,肺癌的发病例数(约 78.7 万例)及病死率(约 63.1 万例)依然居各恶性肿瘤之首^[1],而且发病率还在逐年上升^[6],严重影响了我国人民的身体健康,也给社会和个人带来了极大的经济负担。对于肺癌,只有早期诊断、早期治疗,才会获得好的疗效,但由于目前诊断手段自身的局限性^[7],致使 60%~80% 的肺癌患者因确诊时已是中晚期而失去了最佳的治疗时机^[3]。

1869 年,一名澳大利亚医生在 1 例因肿瘤而死亡的患者外周血里发现了 CTCs 并因此首次提出了 CTCs 的概念^[8],CTCs 来源于肿瘤原发灶或转移灶,在肿瘤早期就可以进入血液循环,因此在肿瘤的早期诊断中具有重要应用价值。CHEN 等^[9]的研究发现,CTCs 检测在原发性肺癌及良性肺病和健康人组成的对照组中的阳性率分别为 84.0%、4.2%,本研究也得到了同样的结果,这提示 CTCs 检测在肺癌的诊断中具有一定的应用价值。此外,在传统的血清肿瘤标志物里,有研究者发现 CEA、NSE、CA125、CA153、CY-FRA21-1、SCCA 在肺癌诊断中均具有一定价值,各项指标的灵敏度及特异度分别为 42.50%、100.00%、47.67%、84.78%、34.88%、88.04%、17.50%、92.50%、64.44%、61.11%、30.20%、78.50%^[10-12]。为了对 CTCs 检测在肺癌中的诊断效能进行评价,本研究将 CTCs 在肺癌诊断中的灵敏度及特异度与传统的血清肿瘤标志物进行了比较分析。结果显示,CTCs 在灵敏度方面高于传统血清肿瘤标志物,而在特异度方面,CTCs 高于 NSE、CA125、CA153、CY-FRA21-1、SCCA,仅低于 CEA,但 CEA 的灵敏度要远低于 CTCs,说明 CTCs 检测在肺癌的诊断中具有较高的灵敏度和特异度,具有较低的漏诊率及误诊率,这与 YE 等^[13]的研究结果基本符合。为了进一步探索 CTCs 在肺癌中的诊断价值,本研究使用并联试验对六项肿瘤标志物进行联合检测,结果显示联合检测将肿瘤标志物的敏感性提高至 94.3%,显著高于 CTCs 检测的灵敏度(77.1%),但联合检测却降低了肿瘤标志物的检测特异度(33.3%),远低于 CTCs(89.6%),这提示肿瘤标志物联合检测在肺癌的早期筛查方面会优于单项 CTCs 检测,而 CTCs 检测的费用较为昂贵,临床医师可先对可疑患者行肿瘤标志物

的联合检测,当所有指标均阴性时,可嘱患者定期复查;当联合检测阳性时,CTCs 检测具有较高的灵敏度及特异度,可做 CTCs 检测,以先于组织活检为临床医师提供参考。与此同时,本研究也使用 ROC 曲线对 CTCs 及传统血清肿瘤标志物在肺癌中的诊断价值进行了比较,结果显示,CTCs 对肺癌诊断的 ROC 曲线下面积均高于 CEA、NSE、CA125、CA153、CY-FRA21-1、SCCA,说明 CTCs 检测对肺癌的诊断价值比传统的肿瘤标志物均要高,这与 LI 等^[14]的研究结果基本符合。而在 CTCs 阳性表达与肺癌患者病理类型的关系分析中,发现 CTCs 在肺癌中的阳性表达与肺癌患者的病理类型无关,而传统的血清肿瘤标志物均与肺癌的病理类型有关;CEA 在肺腺癌患者血清中会异常升高^[12];NSE 常作为小细胞肺癌的血清标志物^[15];CA125 在肺腺癌患者血清中会异常升高^[16];CA153 在肺腺癌患者血清中会异常升高^[10];CY-FRA21-1 常作为非小细胞肺癌的血清标志物^[12];SCCA 常作为肺鳞癌的血清标志物^[12]。而 CTCs 在肺癌中的阳性表达不受肺癌病理类型的影响,因此,在应用于肺癌的诊断中时,更具有优势。但本研究因经费所限,也存在一些局限,即对照组样本量较少,但有研究者报道 CTCs、CEA、NSE、CA125、CA153、CY-FRA21-1、SCCA 在肺良性疾病和健康组中差异无统计学意义^[9,17-20],因此本研究将肺良性疾病组和健康组合并为一组进行了探讨,与同类研究结果基本符合,结果较为可靠。

4 结 论

CTCs 检测在肺癌的诊断中具有较高的灵敏度及特异度,可将其作为辅助肺癌诊断的一种手段。

参考文献

- [1] 孙可欣,郑荣寿,张思维,等. 2015 年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤,2019,28(1):1-11.
- [2] 马文莉. NSE、CYFRA21-1、SCC 联合检测在肺癌诊断中的应用[J]. 中国医药指南,2014,12(32):51-52.
- [3] 阙祖俊,罗斌,李和根,等. 肺癌液体活检研究进展[J]. 中国肿瘤,2017,26(5):383-387.
- [4] RIED K, ENG P, SALI A. Screening for circulating tumour cells allows early detection of cancer and monitoring of treatment effectiveness: an observational study[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(8): 2275-2285.
- [5] 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.
- [6] 罗鹏飞,林萍,周金意. 肺癌与大气污染关系的流行病学

- 研究进展[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(10): 792-797.
- [7] 甄丽芳, 凌敏. 肺癌早期诊断现状与未来展望[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(3): 549-553.
 - [8] ASHWORTH T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death[J]. Aust Med J, 1869(14): 146-147.
 - [9] CHEN Y Y, XU G B. Effect of circulating tumor cells combined with negative enrichment and CD45-FISH identification in diagnosis, therapy monitoring and prognosis of primary lung cancer[J]. Med Oncol, 2014, 31(12): 240.
 - [10] 王建军. 血清 CEA、CA125、CA199、CA153 联检在肺癌诊断中的价值[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2018, 7(4): 645-646.
 - [11] 朱超男, 陆学荣, 郑贸根, 等. 非小细胞肺癌患者中 SC-CaG、ProGRP 及 CYFRA21-1 的表达水平及诊断价值分析[J]. 癌症进展, 2019, 17(15): 1796-1799.
 - [12] 刘兰凤, 刘海燕, 杜丽新, 等. 肿瘤标志物 CEA、CYFRA21-1、SCCA 和 ProGRP 联合检测在肺癌诊断中的意义[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(52): 16-17.
 - [13] YE Y, LI S L, WANG J J, et al. The diagnostic value of circulating tumor cells for lung cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(12): e14936.
 - [14] LI Y, TIAN X, GAO L, et al. Clinical significance of circulating tumor cells and tumor markers in the diagnosis of lung cancer[J]. Cancer Med, 2019, 8(8): 3782-3792.
 - [15] 尹莉, 梁腾, 李霞. 血清肿瘤标志物在肺癌临床诊断中价值[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(45): 197-198.
 - [16] 杨颖, 何肇晴, 李婧, 等. 血清肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的价值研究[J]. 癌症进展, 2019, 17(11): 1324-1327.
 - [17] 刘志华, 卢旭妹, 容元. 血清标志物 CYFRA21-1、SCC、NSE、CEA 及 ProGRP 联合检测在非小细胞性肺癌中的诊断价值[J]. 河北医药, 2019, 41(10): 1464-1468.
 - [18] 李冬玲, 刘寿芳, 尹光凤, 等. 血清 ProGRP、CEA、CYFRA21-1、NSE、CA199 和 AFP 联合检测在肺癌诊断的临床价值[J/CD]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2019, 7(3): 145-149.
 - [19] 段雯. 多种肿瘤标志物在诊断肺癌之检验医学实践的研究[J/CD]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(24): 5-6.
 - [20] 王玲, 申鸿. 癌胚抗原、糖类抗原、CA125、血管生成素、细胞角蛋白 19 片段及甲胎蛋白检测在肺癌诊断中的临床研究[J]. 陕西医学杂志, 2019, 48(8): 1080-1084.

(收稿日期: 2019-06-12 修回日期: 2019-10-23)

(上接第 517 页)

碍。但相信随着技术的发展, POCT 的数据精度问题终究会被克服, 而作为一种短时间获取大量检验数据的途径, POCT 和 AI 的结合将会带来独特的应用前景。相比于常规检测, POCT 可以连续动态地监测人体的检测指标, 通过 AI 对不同人群动态数据的分析, 可以及时发现异常的生理变化, 更早地识别疾病的征兆, 也能够有效实现慢性疾病管理甚至健康管理。同时, 随着胰岛素泵等可穿戴给药设备的发展, 其与血糖仪的联动已经能够实现即时检测、即时给药。再有了 AI 的辅助, 无疑将推动慢性病治疗的智能化、精准化发展。

刘善荣: POCT 现在开始迈入“智慧诊断十大数据 AI”时期, AI 在 POCT 智能化、信息化方面具有广阔的应用前景。

AI 的应用可以提高 POCT 产品的便捷性。现在越来越多的与衰老相关的慢性病患者特别希望能参与到自己的健康管理中去。开发与互联网、大数据相结合的产品, 使应用与服务向移动端转移, 可以满足患者的这一需求。使用 POCT 产品完成检测, 基于云

端大数据的质量管理服务系统将其与病史信息、体征指标进行整合。AI 依托这些数据形成分析模型, 提供出更加全面的诊疗建议。比如可以利用 AI 引擎分析用户的血糖值、用药等数据后, 将血糖控制的实时指导意见快速传到用户的手机、手表等移动接收设备。

AI 的应用有助于构建大健康体系。现在 POCT 正朝着“自动化、信息化、云端化、共享化”等方向发展。实现个人健康数据的实时采集、监测与评估, 整合远程数据终端和医疗资源进行最佳治疗。POCT 与移动云平台、个人用户 APP 终端以及医院的 LIS 与 HIS 相互连接, 实现人、物、系统、服务的无缝互连, 从而实现构建真正的大健康体系。AI 依托 POCT 源源不断产生的数据持续推动大健康体系的优化和创新。可以想象, AI 在 POCT 领域的应用和推广将会推动 POCT 产品像手机、电脑等进入到人们生活的每一个角落, 成为健康管理的必需品。

(收稿日期: 2019-02-10 修回日期: 2019-02-20)