

呼气冷凝液中 3 种肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的价值研究

马 伦¹, 詹伟杰¹, 廖绍宗¹, 潘赛英² (广东省深圳市南山人民医院 1. 核医学科; 2. 肿瘤科 518052)

【摘要】 目的 对呼气冷凝液(EBC)中 3 种肿瘤标志物进行联合检测,研究其在肺癌诊断中的临床价值,探讨该方法在临床应用的可能性,为今后的肺癌诊断和治疗效果评估提供可靠的参考依据。**方法** 选择 2011 年 1 月 15 日至 2012 年 12 月 15 日该院肿瘤科收治的肺癌患者 30 例作为肺癌组,另抽取同期健康体检者 30 例作为健康对照组,对肺癌组患者治疗前后和健康对照组进行 EBC 及血清中癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 的可溶性片段(CYFRA21-1)、血管内皮生长因子(VEGF)水平检测,并对比分析检测结果。采用标准 EBC 收集器收集 EBC,CEA、CYFRA21-1 采用化学发光法,VEGF 用酶联免疫吸附法测定。**结果** 肺癌组患者 EBC 及血清中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测水平明显高于对照组($P<0.05$),化疗后 CEA、CYFRA21-1、VEGF 水平较治疗前显著降低($P<0.05$),EBC 中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 水平较血清中低($P<0.05$)。**结论** 对 EBC 中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 水平进行检测对于肺癌的诊断、病理分型和疗效判断均具有重要的参考价值,EBC 检测结果与血清结果联合可实现相互补充,提高阳性率,值得关注。

【关键词】 呼气冷凝液; 肿瘤标志物; 肺癌; 诊断; 临床价值

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.22.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)22-2973-02

Value of combined detection with three tumor markers in exhaled breath condensate on the diagnosis of lung cancer MA Lun¹, ZHAN Wei-jie¹, LIAO Shao-zong¹, PAN Sai-ying² (1. Department of Nuclear medical; 2. Department of Oncology, Nanshan People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen, Guangdong 518052, China)

【Abstract】 Objective To combinedly detect three tumor markers in exhaled breath condensate, analyze the clinical value on diagnosis of lung cancer, discuss the possibility of the method applied in the clinic, and provide a reliable basis for the lung cancer diagnosis and treatment in the future assessment. **Methods** 30 cases with lung cancer from January 15, 2011 to December 15, 2012 in our hospital were selected as lung cancer group, and the other 30 healthy people were selected as control group. The CEA, CYFRA21-1 and VEGF levels in exhaled breath condensate and serum were detected in lung cancer group and control group, and the detection results were comparatively analyzed. **Results** The CEA, CYFRA21-1 and VEGF levels in lung cancer group were significantly higher than that of control group ($P<0.05$). CEA, CYFRA21-1 and VEGF levels were significantly decreased after treatment with chemotherapy than before ($P<0.05$). In exhaled breath condensate, the CEA, CYFRA21-1 and VEGF levels were low than that in serum ($P<0.05$). **Conclusion** Detection of CEA, CYFRA21-1 and VEGF levels in exhaled breath condensate has important reference value in lung cancer diagnosis, pathological typing and curative effect judgment, and it is worthy of attention.

【Key words】 exhaled breath condensate; tumor markers; lung cancer; diagnosis; clinical value

肺癌发病率及增长速度高居恶性肿瘤之首,在我国其 5 年生存率仅为 10%^[1]。早期得到确诊并展开积极治疗为提高临床疗效的根本手段^[2]。血清肿瘤标志物检测是临床肺癌诊断及鉴别诊断广泛使用的一种常用方法,不同的血清肿瘤标志物对肺癌诊断的敏感性 & 特异性均不尽相同。本研究中对本院收治的 30 例肺癌临床患者化疗前后、同期健康体检者展开了呼气冷凝液(EBC)和血清中癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 的可溶性片段(CYFRA21-1)、血管内皮生长因子(VEGF)水平检测并分析检测结果,旨在探讨其在肺癌诊断中的临床应用价值并进行评价分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2011 年 1 月 15 日至 2012 年 12 月 15 日收治的 30 例肺癌临床患者作为肺癌组,另抽取 30 例同期健康体检者作为健康对照组。肺癌组中男 21 例,女 9 例,年龄 39~81 岁,平均(64.5±12.7)岁,其中非小细胞肺癌(NSCLC)15 例,鳞癌者 9 例,腺癌者 6 例;健康对照组中男 20

例,女 10 例,年龄 38~79 岁,平均(65.7±13.4)岁。以上研究对象的一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。所有肺癌患者均采取临床检查、X 线、纤维支气管镜、胸部 CT 及病理等检查确诊,符合临床诊断标准。

1.2 方法

1.2.1 研究方法 对肺癌组患者化疗前和化疗后以及健康体检者的 EBC、血清中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 水平进行检测,而后对比分析各组检测结果。

1.2.2 检测方法 采用生命科学国际贸易有限公司生产的标准 EBC 收集器(由取样管及活塞、三通管和单向阀三部分组成)。患者戴鼻夹,通过单向活瓣吸入空气,呼出气呼入-10℃冰浴的取样管中,平静呼吸 15~20 min 后,收集约 3 mL 的 EBC,于-70℃超低温冰箱中保存待测^[2]。同时抽取晨起空腹血两管,各 3 mL,离心提取血清或血浆,于-70℃超低温冰箱中保存待测。CEA、CYFRA21-1 采用化学发光法,试剂由深圳市新产业生物医学工程有限公司提供,VEGF 采用上海朗顿

生物科技有限公司的酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒^[3]。由专人严格按照说明书操作。对血清中的 CEA、CYFRA21-1、VEGF 进行检测,同时检测肺癌治疗前后的变化值,腺癌、鳞癌、非小细胞肺癌(NSCLC)3 种患者中的 CEA、CYFRA21-1、VEGF 值,并进行对比。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件处理,CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测结果采用 $\bar{x} \pm s$ 进行表示,采用 t 检验和 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺癌组与对照组各项指标检测结果 肺癌组患者中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 在 EBC 中水平较血清中低($P < 0.05$),血清与 EBC 中检测水平均较对照组高($P < 0.05$),且肺癌组中治疗后各项指标的检测结果均较治疗前发生明显降低($P < 0.05$)。见表 1、2。

表 1 血清和 EBC 中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CEA ($\mu\text{g/mL}$)	CYFRA21-1 ($\mu\text{g/mL}$)	VEGF (pg/mL)
血清	30	23.15 $\pm$ 1.32	14.27 $\pm$ 2.01	274.53 $\pm$ 23.17
EBC	30	15.47 $\pm$ 1.65	9.77 $\pm$ 1.43	201.32 $\pm$ 19.65
<i>P</i>	—	<0.05	<0.05	<0.05

注:—表示无数据。

表 2 肺癌组与对照组 EBC 中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测结果统计($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CEA ($\mu\text{g/mL}$)	CYFRA21-1 ($\mu\text{g/mL}$)	VEGF (pg/mL)
健康对照组	30	0.67 $\pm$ 0.22	1.72 $\pm$ 0.11	84.52 $\pm$ 10.21
肺癌治疗前	30	17.89 $\pm$ 2.13 [#]	10.76 $\pm$ 2.34 [#]	248.33 $\pm$ 26.86 [#]
肺癌治疗后	30	9.77 $\pm$ 2.01 ^{* *}	3.45 $\pm$ 2.57 ^{* *}	175.46 $\pm$ 14.25 ^{* *}

注:与对照组比较,[#] $P < 0.05$;与治疗前比较,^{*} $P < 0.05$ 。

2.2 肺癌组不同病理分型者的 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测结果 腺癌患者 CEA 水平(17.89 $\pm$ 2.13) $\mu\text{g/mL}$ 相对于其他两类较高,鳞癌患者 CYFRA21-1 水平(10.76 $\pm$ 2.34) $\mu\text{g/mL}$ 相对于其他两类较高,NSCLC 患者 VEGF 水平(248.33 $\pm$ 26.86) $\mu\text{g/mL}$ 相对于其他两类要高,三者间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 肺癌组不同病理分型者的 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测结果统计($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CEA ($\mu\text{g/mL}$)	CYFRA21-1 ($\mu\text{g/mL}$)	VEGF (pg/mL)
腺癌患者	15	17.89 $\pm$ 2.13	7.45 $\pm$ 2.35 [*]	199.46 $\pm$ 9.97 Δ
鳞癌患者	9	12.21 $\pm$ 2.33 [#]	10.76 $\pm$ 2.34	203.46 $\pm$ 11.25 Δ
NSCLC 患者	6	13.77 $\pm$ 2.01 [#]	7.51 $\pm$ 2.15 [*]	248.33 $\pm$ 26.86

注:与腺癌患者比较,[#] $P < 0.05$;与鳞癌患者比较,^{*} $P < 0.05$;与 NSCLC 患者比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.3 EBC 和血清中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测在肺癌诊断中的价值,经检测对比,两组间指标差异无统计学意义。见表 4。

表 4 EBC 中和血清中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 检测阳性率(%)

类别	<i>n</i>	CEA	CYFRA21-1	VEGF
EBC 中	30	83.33	86.67	83.33
血清中	30	84.60	86.46	83.65
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05	>0.05

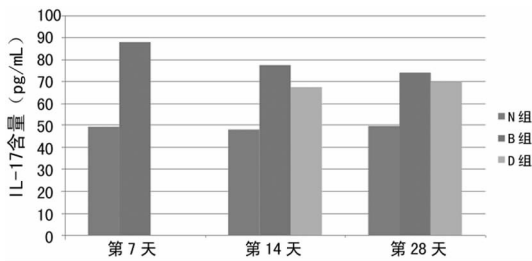
注:—表示无数据。

3 讨 论

EBC 在国内研究较多的是炎性标志物,如过氧化氢、硝酸盐/亚硝酸盐、氨、前列腺素、8-异前列腺素、白三烯、NO、CO 等,有关 EBC 中肿瘤标志物的研究报道较少,可能与获取标准的 EBC 收集器较困难有关^[4-5]。实际上 EBC 收集方法简单、无创、不会伤及支气管黏膜,是下呼吸道和肺实质早期病变的直接信号来源之一,病变在局部发生发展的病理过程中将相关的标志物分泌于黏膜与肺泡表面液体中,可在 EBC 中测得。与血清标本进行联合测定加以对照,可以提高诊断的阳性率^[6-7]。CEA 为肿瘤检测的一个首选标志物,研究表明 CEA 在进展的腺癌中的敏感性相对较高,为肺癌转移诊断的主要标志。曾有研究指出肺癌患者血清中 CEA 阳性率在 39%~68%^[8]。有学者对 33 例 NSCLC 患者 EBC 中 CEA 进行了检测,其敏感性和特异性分别为 51.5%和 93.3%^[9]。本研究得出,EBC 中 CEA 检测敏感性为 83.33%,较文献报道水平高,可能与标本数量小有关。腺癌患者 CEA 水平高于鳞癌和 NSCLC 患者。目前认为 CYFRA21-1 是检测肺癌的首选肿瘤标志物^[10]。本研究得出,肺癌患者 EBC 中的 CYFRA21-1 阳性率高于对照组。鳞癌患者 CYFRA21-1 水平高于另外两类。目前研究证实,VEGF 为作用最强的一种促血管内皮生长因子,同多种肿瘤的血管生成以及生长有关,在肺癌组织以及血清中的表达会显著增加,且与肺癌的恶性程度以及是否存在淋巴结转移有关,VEGF 水平越高,转移的可能性也就越大^[11]。大量的实验证实,血管生成伴随着肺癌演变的全过程,VEGF 在 NSCLC 组织中表达的阳性率为 72.46%,其表达水平与肿瘤细胞分化程度、临床分期和预后有关,是判定 NSCLC 转移和预后的一个重要指标^[12-13]。本研究得出,NSCLC 患者 EBC 及血清中 VEGF 表达阳性率为 83.33%,与文献报道结果接近。VEGF 在 NSCLC 中的水平高于其他两组。本研究提示肺癌患者的 CEA、CYFRA21-1、VEGF 水平较对照组明显升高,且在治疗后检测结果较治疗前发生明显降低,同时经比较发现以上 3 种标志物在腺癌、鳞癌以及 NSCLC 患者中的检测结果存在差异,这一结果证实:对患者 EBC 中 CEA、CYFRA21-1、VEGF 水平的检测能够对肺癌诊断、鉴别诊断以及病情评估结果做出准确的判断,且该方法属无创检测手段,操作简单,对于肺癌的诊治及疗效评价工作具有重要的临床参考价值。

参考文献

[1] 陈东红.非小细胞肺癌分期现状与进展[J].癌症进展杂志,2009,7(4):349-358.
[2] 肖烈钢,何本夫.TPS、CEA 和 CYFRA21-1 联合检测对非小细胞肺癌的诊断价值[J].实用医学杂志,2008,24(16):2774-2775.
[3] 程黎明,邓玲艳,管青.评价 CYFRA21-1、(下转第 2977 页)



注: N 组为健康对照组; B 组为肺纤维化模型组; D 组为地塞米松治疗组。

图 5 IL-17 在支气管冲洗液中的表达

3 讨 论

IL-17 是一种促炎症性细胞因子, 含有 155 个氨基酸的糖蛋白^[2]。Th17 是能分泌 IL-17 细胞因子的 CD4⁺ T 细胞, 在人体, 除了 Th17 细胞能分泌 IL-17 外, 还有 $\gamma\delta$ T 细胞及 NK 细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞, 但主要的来源还是 Th17 细胞^[3-5]。IL-17 可以促进 T 细胞的激活和刺激上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞产生多种细胞因子, 如 IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞刺激因子 (GM-CSF) 和化学增殖素及细胞黏附分子, 从而导致炎症的产生。

应用博来霉素制备肺纤维化动物模型是目前公认最接近人肺纤维化的实验模型^[6]。肺内胶原合成的主要细胞是肺成纤维细胞, 羟脯氨酸含量可以用来反映肺内胶原含量, 因此纤维化程度可以用测定肺组织中羟脯氨酸含量来判断。本研究采用气管内注入博来霉素制备大鼠肺纤维化模型, 肺纤维化模型组及地塞米松组大鼠肺组织羟脯氨酸含量的测定结果随时间逐渐升高, 提示肺纤维化动物模型制备成功。本研究发现, IL-17 在博来霉素组大鼠肺纤维化发生的早期表达升高, 并于造模后第 7 天肺泡炎症最重时达到峰值, 进而随着肺纤维化的发展逐渐降低, 但仍高于健康对照组。IL-17 在肺组织表达规律和支气管灌洗液中的变化趋相一致, 呈现了先高后低的趋势, 与羟脯氨酸呈负相关。Prudhomme^[7]在研究肺的囊性纤维化中, 提出 Th17、IL-17 与肺纤维化有关, Decraene 等^[8]在检测 IL-17 与 IL-23 在肺纤维化患者痰液的 mRNA 表达和蛋白水平, 发现了在肺纤维化的炎症及病理发展过程中 IL-23 和 IL-17 起着重要作用。

综上所述, 提示 IL-17 参与了肺纤维化的全过程, 为肺纤维化的诊断及治疗提供了一条新的思路。但是, 肺纤维化发病机制复杂, 有关 IL-17 与肺纤维化的发病机制还需进一步研究。

参考文献

- [1] Melissa M, Ahmedin J, Robert A, et al. Worldwide variations in colorectal cancer [J]. CA Cancer J Clin, 2009, (59): 366-378.
- [2] 戴小波, 孙万邦. IL-17 免疫调节作用的研究进展 [J]. 检验医学与临床, 2011, 8(6): 732-734.
- [3] Ferretti S, Bonneau O, Dubois GR, et al. IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia; IL-15 as a possible trigger [J]. J Immunol, 2003, 170(4): 2106-2112.
- [4] Lockhart E, Green AM, Flynn JL. IL-17 production is dominated by gamma delta T cells rather than CD4 T cells during Mycobacterium tuberculosis infection [J]. J Immunol, 2006, 177(7): 4662-4669.
- [5] Zhou Q, Desta T, Fenton M, et al. Cytokine Profiling of macrophages exposed to Porphyromonas gingivalis, its lipopolysaccharide, or its FimA protein [J]. Infect Immun, 2005, 73(2): 935-943.
- [6] Moriya Y, Sugihara K, Akasu T, et al. Importance of extended lymphadenectomy with lateral node dissection for advanced lower rectal cancer [J]. World J Surg, 2004, 21(9): 728-732.
- [7] Prudhomme GJ. Pathobiology of transforming growth factor beta in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations [J]. Lab Invest, 2007, 87(11): 1077-1091.
- [8] Decraene A, Willems-widyastuti A, Kasran A, et al. Elevated expression of both mRNA and protein levels of IL-17A in sputum of stable cystic fibrosis patients [J]. Respir Res, 2010, 11(1): 177-184.

(收稿日期: 2013-03-06 修回日期: 2013-05-12)

(上接第 2974 页)

- NSE 和 CEA 对非小细胞肺癌的诊断价值 [J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(4): 489-492.
- [4] 刘向红. CEA、NSE 和 CYFRA2-1 联检在肺癌中的诊断价值 [J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(5): 465-466.
- [5] Ushijima C, Tsukamoto S, Yamazaki K, et al. High vascularity in the peripheral region of nonsmall lung cancer tissue is associated with tumor progression [J]. Lung Cancer, 2001, 34(2): 233-241.
- [6] 韩志刚, 单利, 黄艳春, 等. 肿瘤标志物联合检测晚期肺癌的临床意义 [J]. 新疆医科大学学报, 2010, 28(3): 244-246.
- [7] 徐红萍, 薛冰, 徐笛. 肿瘤标志物 CEA、NSE、CYFRA21-1 联合检测在肺癌诊断中的应用 [J]. 实用医学杂志, 2010, 26(16): 2943-2944.
- [8] 陈琳, 朱惠莉, 张新. 非小细胞肺癌患者呼出气冷凝液 ET-1 测定的意义 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2011, 11(4): 243-244.

- [9] 董敬军, 陶一江, 陈建荣, 等. 非小细胞肺癌患者呼出气冷凝液中 CEA 检测的临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2008, 13(7): 828-830.
- [10] Chantapet P, Riantawan P, Lebnak P, et al. Utility of serum cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1) and carcinoembryonic antigen (CEA) as tumour markers for non-small cell lung cancer [J]. J Med Assoc Thai, 2000, 83(4): 383-391.
- [11] 马航. 肺癌治疗前后呼出气冷凝液和血浆中 CEA、ET-1 水平研究 [J]. 临床肺科杂志, 2009, 14(12): 227-228.
- [12] 刘玉春, 李益红, 林士军, 等. 非小细胞肺癌组织 ET-1、VEGF 及 MVD 的表达及相互关系 [J]. 现代肿瘤医学, 2009, 10(17): 1881-1884.
- [13] 杨东霞, 韩艳春, 刘鲁英, 等. EGF 和 VEGF 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义 [J]. 癌症, 2009, 28(7): 762-767.

(收稿日期: 2013-04-10 修回日期: 2013-06-12)