

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.14.038

非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与血清 SCC-Ag 及 Cy-fra21-1 水平的关系研究*

才 让 阿 选 德 祁 蕙 燕 张 辉 赵 莹

(西宁市第一人民医院检验科 青海 西宁 810000)

摘要 目的:研究非小细胞肺癌(NSCLC)患者循环肿瘤细胞(CTC)数与血清鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag)及角质素 19 可溶片段(Cy-fra21-1)水平的关系。**方法:**将从 2017 年 2 月~2019 年 2 月我院收治的 NSCLC 患者 100 例纳入研究,记作 NSCLC 组。另取同期我院收治的 100 例肺良性病变患者作为良性病变组。再取同期于我院进行体检的健康志愿者 100 例作为对照组。检测并比较三组人员的 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平,并以 Pearson 相关性分析 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平的关系。通过受试者工作特征(ROC)曲线分析 CTC 和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 诊断 NSCLC 的效能。此外,分析 CTC 和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 与 NSCLC 患者淋巴结转移的关系。**结果:**NSCLC 组及良性病变组的 CTC 数以及血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均高于对照组,且 NSCLC 组 CTC 数以及血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均高于良性病变组($P<0.05$)。经 Pearson 相关性分析发现:NSCLC 患者 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均呈正相关($r=0.642, 0.601, P<0.05$)。经 ROC 曲线分析可得:CTC 和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 联合检测诊断 NSCLC 的曲线下面积、灵敏度、特异度较上述指标单独检测高($P<0.05$)。NSCLC 淋巴结转移患者的 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均高于无淋巴结转移患者($P<0.05$)。**结论:**NSCLC 患者 CTC 数与血清 SCC-Ag 及 Cy-fra21-1 水平存在明显正相关,三者联合检测可更加准确的诊断 NSCLC,且上述三项指标可能和 NSCLC 患者淋巴结转移密切相关。

关键词:非小细胞肺癌;循环肿瘤细胞;鳞状细胞癌抗原;角质素 19 可溶片段

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)14-2778-04

Relationship between Circulating Tumor Cells and Serum Scc-ag and Cy-fra21-1 Levels in Patients with NSCLC*

CAI Rang, A Xuan-de, QI Hui-yan, ZHANG Hui, ZHAO Ying

(Department of Clinical Laboratory, Xining First People's Hospital, Xining, Qinghai, 810000, China)

ABSTRACT Objective: To study the relationship between circulating tumor cells (CTC) and serum scc-ag and keratin 19 soluble fragment (cy-fra21-1) levels in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** 100 NSCLC patients admitted to our hospital from February 2017 to February 2019 were included in the study, which was referred to as NSCLC group. Another 100 patients with benign lung lesions admitted to our hospital at the same time were taken as the benign lesion group. Another 100 healthy volunteers who underwent physical examination in our hospital at the same time were selected as the control group. The CTC and serum scc-ag and cy-fra21-1 levels of the three groups were detected and compared, and the correlation between CTC and serum scc-ag and cy-fra21-1 levels was analyzed by Pearson correlation. The diagnostic efficacy of CTC and serum scc-ag and cy-fra21-1 levels in NSCLC was analyzed by ROC curve. In addition, the relationship between CTCS, serum scc-ag, cy-fra21-1 and lymph node metastasis in NSCLC patients was analyzed. **Results:** The levels of CTC, serum scc-ag and cy-fra21-1 in the NSCLC group and the benign lesion group were higher than those in the control group, and the levels of CTC, serum scc-ag and cy-fra21-1 in the NSCLC group were higher than those in the benign lesion group (all $P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that there was a positive correlation between CTC and serum scc-ag and cy-fra21-1 levels in NSCLC patients ($r=0.642, 0.601, P<0.05$). According to ROC curve analysis, the combined detection of CTC, serum scc-ag and cy-fra21-1 levels in the diagnosis of NSCLC showed that the area under the curve, the sensitivity and the specificity were all higher than those measured separately (all $P<0.05$). The levels of CTC and serum scc-ag and cy-fra21-1 in patients with NSCLC lymph node metastasis were higher than those in patients without lymph node metastasis (all $P<0.05$). **Conclusion:** There is a significant positive correlation between CTCS and serum scc-ag and cy-fra21-1 levels in NSCLC patients, and the combined detection of the three can improve the diagnostic value of NSCLC, and the above three indicators are closely related to lymph node metastasis.

Key words: Non-small cell lung cancer; Circulating tumor cells; Squamous cell carcinoma antigen; Keratin 19 soluble fragments

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)14-2778-04

* 基金项目:青海省自然科学基金项目(2015-ZI-203)

作者简介:才让(1976-),男,本科,副主任检验师,研究方向:临床检验医学,E-mail:caihao20130831@163.com

(收稿日期:2020-11-24 接受日期:2020-12-18)

前言

肺癌属于临床上最为常见的一种发生于支气管黏膜上皮的恶性肿瘤,在国内乃至全球范围内均具有较高的发病率以及死亡率^[1,2]。其中非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)是其常见的病理类型,在所有肺癌中占比约为60%左右,尤其是伴随着近年来人们生活方式的不断改变以及生活环境的日益恶化,NSCLC的发病率逐年升高^[3,4]。由于该病早期具有极强的隐匿性,患者往往无典型临床症状表现,从而导致临床检出率较低,绝大部分患者一经确诊已是中晚期,手术根治最佳时机已丧失。因此,如何有效早期准确诊断NSCLC显得尤为重要。循环肿瘤细胞(Circulating tumor cells, CTC)主要是指来源于实体肿瘤的广泛存在于外周血中的一类肿瘤细胞,其是隐匿的微小转移病灶,在NSCLC的远处转移过程中起着至关重要的作用。目前,已有不少研究报道^[5,6]证实CTC和前列腺癌以及乳腺癌等多种恶性肿瘤患者预后密切相关,但关于其与NSCLC关系的研究并不多见。鳞状细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCC-Ag)属于肿瘤相关抗原TA-4亚单位,其已被证实是鳞状癌细胞的侵袭以及转移过程中发挥着极其重要的作用^[7,8]。角质素19可溶片段(Keratin 19 soluble fragments, Cy-fra21-1)是在癌细胞分化过程中产生,可在一定程度上预示肿瘤增殖情况^[9,10]。鉴于此,本文通过研究NSCLC患者CTC数与血清SCC-Ag及Cy-fra21-1水平的关系,旨在指导临床NSCLC的诊治,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将从2017年2月~2019年2月我院收治的NSCLC患者100例纳入研究,纳入标准:(1)均经病理检查确诊为NSCLC;(2)无临床病历资料缺失;(3)入院前未接受相关抗肿瘤治疗;(4)年龄 ≥ 18 周岁。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)心、肝、肾等脏器发生严重病变者;(3)伴有精神疾病或意识障碍者。记作NSCLC组,其中男女人数分别为59例,41例,年龄29~82岁,平均年龄(58.72 $\pm$ 10.72)岁;临床TNM分期:I期10例,II期21例,III期45例,IV期24例;分化程度:低、中、高分化分别为47例、29例、24例;淋巴结转移58例,无淋巴结转

移42例。另取同期我院收治的100例肺良性病变患者作为良性病变组,其中男女人数分别为57例,43例,年龄30~79岁,平均年龄(58.44 $\pm$ 11.22)岁。再取同期于我院进行体检的健康志愿者100例(对照组),其中男56例,女44例,年龄28~79岁,平均年龄(58.32 $\pm$ 11.31)岁。三组一般资料比较无差异($P>0.05$)。本研究获得医院医学伦理委员会批准,且所有受试者均在知情同意书上签字。

1.2 研究方法

(1)CTC数检测:健康志愿者体检当日、其他受试者入院时均进行肘正中静脉血5 mL的采集,通过EDTA完成抗凝处理,保存在4℃冰箱中备用。将所采集到的静脉血标本送至益善生物技术股份有限公司完成检测,检测方法为免疫磁珠技术联合密度梯度离心法,检测结果由该公司相关工作人员反馈。(2)血清SCC-Ag及Cy-fra21-1水平检测:健康志愿者体检当日、其他受试者入院后翌日清晨空腹状态下采集静脉血2 mL,离心半径8 cm,时长10 min,转速3000 r/min离心处理。取血清,上述指标表达水平的检测以酶联免疫吸附法完成,具体操作遵循试剂盒(法国STAGO公司)说明书完成。

1.3 观察指标

比较三组受试者CTC数以及血清SCC-Ag、Cy-fra21-1水平,分析CTC和血清SCC-Ag、Cy-fra21-1与NSCLC患者淋巴结转移的关系。

1.4 统计学处理

数据应用SPSS 22.0软件分析,以率表示计数资料,实施 χ^2 检验。通过($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,两组间比较实施独立样本t检验,三组间两两比较实施LSD-t检验,三组间比较实施单因素方差分析。采用Pearson相关性分析相关性。通过受试者工作特征(Receiver operating characteristic, ROC)曲线分析CTC和血清SCC-Ag、Cy-fra21-1诊断NSCLC的效能。将 $P<0.05$ 记作差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组CTC数及血清SCC-Ag、Cy-fra21-1水平对比

NSCLC组及良性病变组的CTC数以及血清SCC-Ag、Cy-fra21-1水平均高于对照组,且NSCLC组CTC数以及血清SCC-Ag、Cy-fra21-1水平均高于良性病变组($P<0.05$),见表1。

表1 三组CTC数及血清SCC-Ag、Cy-fra21-1水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of CTC number and serum levels of SCC-Ag, Cy-fra21-1 in the three groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	CTC(PCS/mL)	SCC-Ag(ng/mL)	Cy-fra21-1(μ g/L)
NSCLC group	100	8.12 $\pm$ 1.05 ^{#*}	22.72 $\pm$ 6.27 ^{#*}	3.98 $\pm$ 1.50 ^{#*}
Benign lesion group	100	0.45 $\pm$ 0.41 [#]	1.01 $\pm$ 0.34 [#]	2.32 $\pm$ 1.10 [#]
Control group	100	0.00 $\pm$ 0.00	0.34 $\pm$ 0.15	1.42 $\pm$ 0.79
F	-	55.294	47.824	37.852
P	-	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with control group, [#] $P<0.05$; Compared with benign lesion group, ^{*} $P<0.05$.

2.2 NSCLC患者CTC数和血清SCC-Ag、Cy-fra21-1水平的关联性分析

经Pearson相关性分析发现,NSCLC患者CTC数和血清

SCC-Ag、Cy-fra21-1水平均呈正相关($r=0.642, 0.601; P=0.000, 0.000$)。

2.3 各检测方式诊断NSCLC的效能及ROC曲线

CTC 和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 联合检测诊断 NSCLC 的曲线下面积、灵敏度、特异度均高于上述指标单独检测 ($P < 0.05$), 见表 2、图 1。

表 2 各检测方式诊断 NSCLC 的效能
Table 2 Efficacy of each detection method in the diagnosis of NSCLC

Detection method	Area under curve	Sensibility	Specificity
CTC	0.733	0.74	0.72
Serum SCC-Ag	0.635	0.66	0.61
Serum Cy-fra21-1	0.658	0.68	0.63
CTC combined serum SCC-Ag, Cy-fra21-1	0.904	0.92	0.88

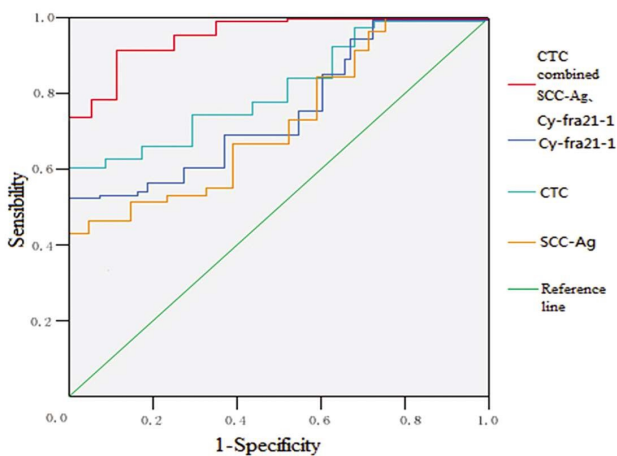


图 1 各检测方式诊断 NSCLC 效能的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curves of NSCLC efficacy in diagnosis by various detection methods

2.4 NSCLC 淋巴结转移患者及无淋巴结转移患者 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平对比

NSCLC 淋巴结转移患者的 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均高于无淋巴结转移患者 ($P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

CTC 主要包括治疗过程人为引起的进入血液的肿瘤细胞和实体肿瘤增殖分化过程中脱落的细胞^[11,12]。有研究表明, CTC 仅表达于发生远处转移恶性肿瘤患者血液中, 而伴随深入的研究, 有学者发现于早期肿瘤患者外周血内亦能检测到, 甚至于良性疾病患者血液中亦存在微量的 CTC^[13-15]。提示其可能是 NSCLC 早期诊断以及预测淋巴结转移的可靠指标之一。SCC-Ag 则是鳞状上皮细胞癌的敏感标志物之一, 其在 NSCLC 患者血清中亦存在明显异常表达^[16-18]。Cy-fra21-1 主要源自肿瘤

细胞分化过程, 是有效反映肿瘤细胞增殖状况的可靠生物学指标^[19-21]。迄今为止, 关于上述指标在恶性肿瘤中表达情况的研究较为常见, 但研究上述三项指标在 NSCLC 患者中关系的研究并不多见, 具有一定的研究价值。

本研究结果发现, CTC 以及血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平在 NSCLC 患者中存在明显高表达。这在既往多项研究报道中得到了佐证^[22-24]。分析原因, 我们认为 CTC 是对存在于患者外周血中各类肿瘤细胞的总称, 主要是由实体肿瘤脱落, 并进入外周血中, 其中大部分的 CTC 会凋亡或被吞噬细胞所吞噬, 小部分则会逐渐进展为转移灶。SCC-Ag 是 20 世纪 70 年代末发现的一种肿瘤相关蛋白, 其与鳞状细胞侵袭以及转移存在密切联系^[25,26]。Cy-fra21-1 是临床上用于诊断肺肿瘤的指标, 在上皮细胞中表达, 并高表达于肺癌患者中。此外, 经 Pearson 相关性分析发现: NSCLC 患者 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均呈正相关。这表明了随着 NSCLC 患者 CTC 数的升高, 其血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平会相应升高, 提示其可能在 NSCLC 发生、发展过程中起着至关重要的作用。究其原因, 随着 NSCLC 患者 CTC 数的升高, 会引起结构蛋白细胞角素素的分解, 进一步促进 Cy-fra21-1 的释放; CTC 作为从实体肿瘤脱落进入血液内的肿瘤细胞, 会刺激机体内血清 SCC-Ag 的增加^[27,28]。另外, 经 ROC 曲线分析可得: CTC 和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 联合检测诊断 NSCLC 的曲线下面积、灵敏度、特异度较上述指标单独检测高。提示在临床工作中可联合检测上述三项指标的表达情况以使 NSCLC 的检出率提高。本研究结果还显示了 NSCLC 淋巴结转移患者的 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平均高于无淋巴结转移患者。而朱建峰等人的研究结果提示了 CTC、血清 Cy-fra21-1 和 NSCLC 淋巴结转移存在密切相关, 并未对血清 SCC-Ag 和 NSCLC 淋巴结转移的关系进行研究。由此可见, 本研究结果更为全面。

综上所述, NSCLC 患者 CTC 数与血清 SCC-Ag 及

表 3 NSCLC 淋巴结转移患者及无淋巴结转移患者 CTC 数和血清 SCC-Ag、Cy-fra21-1 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of CTC number and serum levels of SCC-Ag、Cy-fra21-1 in NSCLC patients with and without lymph node metastasis ($\bar{x} \pm s$)

Lymph node metastasis	n	CTC(PCS/mL)	SCC-Ag(ng/mL)	Cy-fra21-1(μ g/L)
Lymphatic metastasis	58	10.63 $\pm$ 1.15	30.71 $\pm$ 7.05	4.57 $\pm$ 1.61
Non-Lymphatic metastasis	42	5.16 $\pm$ 1.22	12.55 $\pm$ 5.20	2.01 $\pm$ 1.35
t	-	22.883	14.133	8.386
P	-	0.000	0.000	0.000

Cy-fra21-1 水平存在明显正相关,三者联合检测可更加准确的诊断 NSCLC,且上述三项指标可能和 NSCLC 患者淋巴结转移密切相关。

参考文献(References)

- [1] Bian NN, Shi XY, Qi HY, et al. The relationship of plasma fibrinogen with clinicopathological stages and tumor markers in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(32): 16764-16765
- [2] Zhang Y, Zhang Y, Yin Y, et al. Detection of circulating exosomal miR-17-5p serves as a novel non-invasive diagnostic marker for non-small cell lung cancer patients[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(8): 152466-152467
- [3] Akamine T, Tagawa T, Mori M. Relationship between obstructive lung disease and non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(3): 1145-1146
- [4] Jiang R, Wang X, Li K, et al. 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
- [5] Cho MS, Park CH, Lee S, et al. Clinicopathological parameters for circulating tumor DNA shedding in surgically resected non-small cell lung cancer with EGFR or KRAS mutation [J]. *PLoS One*, 2020, 15(3): 230622-230623
- [6] Yasukawa M, Sawabata N, Kawaguchi T, et al. Wedge Resection of Tumor Before Lobectomy for Lung Cancer Could Be a No-touch Isolation Technique[J]. *In Vivo*, 2020, 34(2): 779-785
- [7] 陈秀英,陈怡舟,徐红,等.血清及胸腔积液中 CA19-9、SCC-Ag 及 CYFRA21-1 对肺癌诊断意义的对比研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(19): 3733-3736, 3794
- [8] Masuda T, Fujitaka K, Ishikawa N, et al. Treatment rationale and design of the PROLONG study: safety and efficacy of pembrolizumab as first-line therapy for elderly patients with non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(3): 1079-1084
- [9] 王洪阁.非小细胞肺癌患者癌胚抗原和细胞角蛋白与表皮生长因子基因突变的关系及靶向治疗的预测价值 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(4): 809-811
- [10] 孙乐,鲍扬漪.血清 CEA、CYFRA21-1、CA125、Ca²⁺、ALP 水平检测对肺癌骨转移的临床诊断价值 [J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(9): 1200-1203
- [11] Zhu C, Zhuang W, Chen L, et al. Frontiers of ctDNA, targeted therapies, and immunotherapy in non-small-cell lung cancer [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(1): 111-138
- [12] Tamminga M, de Wit S, Schuurin E, et al. Circulating tumor cells in lung cancer are prognostic and predictive for worse tumor response in both targeted- and chemotherapy[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2019, 8(6): 854-861
- [13] Ikeda M, Koh Y, Teraoka S, et al. Detection of AXL expression in circulating tumor cells of lung cancer patients using an automated microcavity array system[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(6): 2122-2133
- [14] Ma C, Yang X, Xing W, et al. Detection of circulating tumor DNA from non-small cell lung cancer brain metastasis in cerebrospinal fluid samples[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(3): 588-593
- [15] Jiang SS, Deng B, Feng YG, et al. Circulating tumor cells prior to initial treatment is an important prognostic factor of survival in non-small cell lung cancer: a meta-analysis and system review [J]. *BMC Pulm Med*, 2019, 19(1): 262-263
- [16] Yoon HJ, Kang J, Park H, et al. Deciphering the tumor microenvironment through radiomics in non-small cell lung cancer: Correlation with immune profiles[J]. *PLoS One*, 2020, 15(4): 231227-231228
- [17] Yu G, Zhong N, Huang B, et al. PEBP4 gene expression in lung squamous cell carcinoma: A meta-analysis-based study of the molecular pathways involved[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(4): 2825-2831
- [18] Qu Y, Cheng B, Shao N, et al. Prognostic value of immune-related genes in the tumor microenvironment of lung adenocarcinoma and lung squamous cell carcinoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(6): 4757-4777
- [19] Kalfert D, Ludvik J, Kucera R, et al. Pretreatment Serum Levels of Soluble Cytokeratin Fragments (Cyfra 21-1, TPS, MonoTotal) in Relation to Clinical and Pathobiological Aspects of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(9): 5171-5177
- [20] Marrakchi R, Ouerhani S, Benammar S, et al. Detection of cytokeratin 19 mRNA and CYFRA 21-1 (cytokeratin 19 fragments) in blood of Tunisian women with breast cancer [J]. *Int J Biol Markers*, 2007, 23(4): 238-243
- [21] Wang X, Zhang Y, Zhao L, et al. Polysaccharide-enhanced ARGET ATRP signal amplification for ultrasensitive fluorescent detection of lung cancer CYFRA 21-1 DNA [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(11): 2413-2421
- [22] 王国芳,郎华,王玉娟,等.血 CTC、D-D、FIB 及 PLT 对原发性肺癌患者临床病理特点的影响[J]. *贵州医药*, 2019, 43(9): 1360-1362
- [23] 郝艳艳.血清癌胚抗原鳞状上皮细胞癌抗原神经元特异性烯醇化酶角蛋白 21-1 联合检验在肺癌诊断中的临床研究[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(10): 1641-1643
- [24] 刘道利,邱芳华,周伟青,等.ProGRP、CYFRA21-1 和胱抑素 C 联合检测对不同病理类型肺癌的诊断价值[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(1): 9-12
- [25] Tomita M, Ayabe T, Maeda R, et al. Serum Carcinoembryonic Antigen Level Predicts Cancer-Specific Outcomes of Resected Non-Small Cell Lung Cancer With Interstitial Pneumonia[J]. *World J Oncol*, 2018, 9(5): 136-140
- [26] Holdenrieder S, Molina R, Qiu L, et al. Technical and clinical performance of a new assay to detect squamous cell carcinoma antigen levels for the differential diagnosis of cervical, lung, and head and neck cancer[J]. *Tumour Biol*, 2018, 40(4): 2202-2203
- [27] Tamminga M, Andree KC, Hiltermann TJN, et al. Detection of Circulating Tumor Cells in the Diagnostic Leukapheresis Product of Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Comparing Cell Search and ISET[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(4): 896-897
- [28] Gu X, He J, Ji G, et al. Combined use of circulating tumor cells and salivary mRNA to detect non-small-cell lung cancer [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(8): 19097-19098
- [29] 张敏,蔡灼远,于莉,等.肺癌患者血清 ProGRP、CEA、SCC 及 CYFRA21-1 的表达及临床价值探讨[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(11): 1385-1388