

【临床研究】

肺癌早期症状隐匿,大多数患者确诊时已属中晚期,5 a 生存率仅为 4% ~ 17%^[1-3],因肺癌死亡人数占癌症总死亡人数的 18.4%^[4]。目前,肺癌诊断

主要通过穿刺、影像学检查、支气管镜活检及肿瘤标志物检测等。传统的肿瘤标志物检测对肺癌的诊断价值有限,而微小核糖核酸(microRNA, miRNA)对肿瘤的增殖、转移和发展具有重要的调控作用,循环系统中的 miRNA 可以避免核苷酸酶的溶解,在血液中具有较高的稳定性,在癌症检测和监测中具有潜在的应用价值^[2]。本研究旨在探讨血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、miRNA-20a 和 miRNA-210 联合检测对早期小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 6 月至 2017 年 5 月秦皇岛市第二医院收治的早期 SCLC 患者作为观察组,病例纳入标准:(1)符合早期 SCLC 诊断标准^[3];(2)入组前均未进行放射治疗、化学治疗及手术治疗。排除标准:(1)肿瘤肺部转移者;(2)妊娠期妇女;(3)有严重心脑血管疾病者;(4)有重要脏器功能障碍与感染者。本研究共纳入早期 SCLC 患者 60 例,男 40 例,女 20 例,年龄 30 ~ 65 (47.5 ± 16.3) 岁;另选择同期体检健康者 30 例作为对照组,其中男 20 例,女 10 例,年龄 25 ~ 60 (42.5 ± 13.2) 岁。2 组受试者的性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究获得医院伦理委员会批准,所有受试者签署知情通知书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 抽取受试者清晨空腹肘静脉血 10 mL,应用 Avanti J-26S 型离心机(美国贝克曼库尔特公司)1 000 r · min⁻¹ 离心 20 min,取上层血清分装 -80 ℃ 冰箱保存待测。

1.2.2 血清 CEA 和 NSE 水平检测 采用双抗体夹心法检测血清 CEA 水平,试剂盒购自艾康生物技术(杭州)有限公司,严格按照试剂盒说明书进行操作;采用化学发光分析法检测血清 NSE 水平,试剂盒购自德国罗氏诊断有限公司,严格按照化学发光分析仪说明书进行操作。

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR) 检测血清中 miRNA-20a 和 miRNA-210 的表达 使用 Trizol Reagent (德国 Qiagen 公司)提取血清中的总 RNA,用紫外分光光度计进行定量。使用 One Step RNA Kit (日本 TaKaRa 公司)进行反转录。采用 SuperReal PreMix

SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒(北京天根生化科技有限公司)检测样本中 miRNA-20a 和 miRNA-210 的表达。miRNA-20a 的上游引物序列为 5'-TAAAGTGCTTATAGTGCAGG-3',下游引物序列为 5'-CAGTGCGTGTCTGCTGGAGT-3';miRNA-210 的上游引物序列为 5'-AGCCCCTGCCCACCGCACA-3',下游引物序列为 5'-CAGTGCGTGTCTGCTGGAGT-3';内参 U6 的上游引物序列为 5'-TAGCAGCACGTAAAT-ATTGG-3',下游引物序列为 5'-CAGTGCGTGTCTGCGTGGAGT-3'。每个样本重复 3 次,采用 2^{-ΔΔCT} 法计算血清中 miRNA-20a 和 miRNA-210 的相对表达量。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析;采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估血清 CEA、NSE、miRNA-20a 和 miRNA-210 对早期 SCLC 诊断的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确性; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组受试者血清 CEA、NSE、miRNA-20a 及 miRNA-210 水平比较 结果见表 1。观察组患者血清 CEA、NSE、miRNA-20a 及 miRNA-210 水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 2 组受试者血清 CEA、NSE、miRNA-20a 及 miRNA-210 水平比较

($\bar{x} \pm s$)					
组别	n	CEA/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	NSE/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	miRNA-20a	miRNA-210
对照组	30	2.55 ± 0.40	12.24 ± 3.62	1.27 ± 0.01	2.10 ± 0.25
观察组	60	5.45 ± 0.45	20.34 ± 3.78	6.37 ± 0.96	12.16 ± 1.13
t		47.061	15.323	45.081	11.852
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 血清 CEA、NSE、miRNA-20a 和 miRNA-210 检测对早期 SCLC 的诊断价值 结果见表 2。单项指标检测中,血清 miRNA-20a 诊断早期 SCLC 的准确度和敏感度显著高于血清 CEA、NSE 和 miRNA-210($P < 0.05$),血清 NSE 诊断早期 SCLC 的特异度高于血清 CEA、miRNA-20a 和 miRNA-210($P < 0.05$),4 项指标联合检测诊断早期 SCLC 的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值显著高于单个指标检测、2 项指标联合检测及 3 项指标联合检测($P < 0.05$)。

表 2 血清 CEA、NSE、miRNA-20a 和 miRNA-210 检测对早期 SCLC 的诊断价值
Tab.2 Diagnostic value of serum CEA,NSE,miRNA-20a and miRNA-210 in early SCLC

指标	敏感度/%	特异度/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%	准确性/%
CEA	44.81	84.83	78.82	54.89	62.54
NSE	56.92	91.33 ^a	89.14	62.73	72.12
miRNA-20a	77.63 ^b	87.01	88.23	75.54	81.72 ^b
miRNA-210	75.90	80.41	83.02	72.51	77.93
miRNA-20a + miRNA-210	82.73	71.75	82.04	70.63	79.25
miRNA-20a + miRNA-210 + CEA	84.54	73.92	81.74	77.33	79.88
miRNA-20a + miRNA-210 + NSE	86.23	78.33	90.63	76.71	80.81
miRNA-20a + miRNA-210 + NSE + CEA	90.01 ^c	91.55 ^c	93.22 ^c	80.41 ^c	95.36 ^c

注:与 CEA、miRNA-20a 和 miRNA-210 比较^a $P < 0.05$;与 CEA、NSE 和 miRNA-210 比较^b $P < 0.05$;与单个指标检测、2 项指标检测及 3 项指标检测比较^c $P < 0.05$ 。

3 讨论

肺癌具有较高的发病率和病死率,是我国最常见的恶性肿瘤之一。由于肺癌的早期临床症状较为隐匿,很多患者确诊时已为中晚期。因此,早期诊断肺癌对提高患者的治疗效果和存活率有重要意义。CEA 和 NSE 是广谱的肿瘤标志物,可在多种肿瘤组织中非特异性表达,且影响肿瘤的发生与发展,其在恶性肿瘤诊断、肿瘤病理分期判定及预后评估中有重要意义^[5-6]。丁珂等^[7]研究显示,CEA、NSE 与肺癌的发生具有相关性。本研究结果显示,观察组患者血清 CEA、NSE 水平显著高于对照组。

肺癌的发生和发展是一个多基因参与、多步骤协同的复杂过程,其发病原因尚未完全明确。随着基因检测技术的发展,差异表达 miRNA 广泛应用于肿瘤研究。利用 miRNA 差异表达谱可以区分肿瘤组织与正常组织。miRNA 存在于人类及多种哺乳动物的血清、血浆、尿液及其他体液中,且血清中的 miRNA 非常稳定,不易被内源性 RNA 酶降解。另外,肿瘤组织中 miRNA 水平改变也可引起患者血清和血浆中 miRNA 水平变化。因此,检测血清或血浆中 miRNA 水平可作为一种非侵入性诊断指标,为肿瘤的诊断提供参考依据^[8]。研究显示,肺癌的分化、转移及侵袭与 miRNA 的异常表达有密切联系^[9-10]。夏贤斌等^[4]研究发现,肺癌组织中 miRNA-20a、miRNA-210 呈现高表达水平。另有研究发现,miRNA-20a 在缺氧环境下对肿瘤细胞的呼吸功能起到调节作用,由低氧诱导因子(hypoxia-inducible factors,HIF)所调控,HIF-1 α 在接近 miRNA-210 启动子处直接与转录起始点上游大约 400 bp 的乏氧反应元件结合,从而诱导其在实体肿瘤中大量表达,在肿瘤转移和增殖过程中起到关键性作用^[11]。本研究结果显示,观察组患者血清 miRNA-20a 及 miRNA-210 水平显著高于对照组。

本研究对血清 CEA、NSE、miRNA-20a 和 miRNA-210 检测在早期 SCLC 诊断中的价值进行了分析,结果显示,单项指标检测中,血清 miRNA-20a 诊断早期 SCLC 的敏感度显著高于血清 CEA、NSE 和 miRNA-210,血清 NSE 诊断早期 SCLC 的特异度

高于血清 CEA、miRNA-20a 和 miRNA-210;说明 miRNA-20a 单独检测对早期 SCLC 的诊断价值较高。4 项指标联合检测诊断早期 SCLC 的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值显著高于单个指标检测、2 项指标联合检测及 3 项指标联合检测;说明血清 CEA、NSE、miRNA-20a、miRNA-210 联合检测对早期 SCLC 具有更高的诊断价值。综上所述,CEA、NSE、miRNA-20a、miRNA-210 在早期 SCLC 患者血清中呈高表达,4 项指标联合检测对早期 SCLC 的诊断具有重要价值,对提高患者治疗效果和生存质量具有重要意义。

参考文献:

[1] 邓伟吾,周敏. 有关早期肺癌诊断的思考[J]. 内科理论与实践,2015,10(6):393-396.

[2] TOKAR T,PASTRELLO C,RAMNARINE V R. Differentially expressed microRNAs in lung adenocarcinoma invert effects of copy number aberrations of prognostic genes [J]. *Oncotarget*, 2018, 9 (10): 9137-9155.

[3] 张兵林,笄冀平. WHO(2015)肺肿瘤组织学分类解读[J]. 诊断病理学杂志,2016,23(6):401-405,410.

[4] 夏贤斌,李坚,汪毅. 血浆 miRNA-20a 和 miRNA-210 对肺癌的诊断价值评价[J]. 江苏大学学报(医学版),2017,27(1):47-52.

[5] 卢兴兵,石佳,李勤,等. 血清肿瘤标志物在诊断转移性肺癌中的临床价值[J]. 检验医学与临床,2018,15(2):179-182.

[6] 黄雪娉. eyfr21-1、NSE 和 CEA 联合检测在肺癌早期诊断及肺癌病理类型鉴别中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(12):1728-1729,1732.

[7] 丁珂,滕毅. 血清 CEA、NSE 与 CYFRA21-1 联合检测在肺癌诊断及疗效评估中的价值[J]. 贵州医科大学学报,2017,42(7):803-807.

[8] 罗和生,万一圆,黄晓东. 微小 RNA 在恶性肿瘤诊断与治疗中的研究进展[J]. 新乡医学院学报,2018,35(12):1134-1138.

[9] PRATAP P, RAZA S T, ABBAS S, et al. MicroRNA-associated carcinogenesis in lung carcinoma[J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(2):249-254.

[10] 吴振永. 微小核糖核酸(miRNA)联合 C 反应蛋白检测对肺癌早期的诊断价值[J]. 实用癌症杂志,2017,32(7):1062-1064.

[11] 王鑫,张毅,胡牧,等. 血浆微 RNA 对早期非小细胞肺癌诊断价值的临床研究[J]. 肿瘤研究与临床,2017,29(7):442-446,452.