

叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测在早期肺腺癌辅助诊断及手术效果评估中的价值探讨

温淑娴¹ 周丹女² 徐韞健¹ 刘利平¹ 高俊¹

【摘要】 目的 探讨叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测在早期肺腺癌辅助诊断及手术效果评估中的应用价值。方法 收集 153 例经 CT 检查发现肺结节或肺部肿物且在术后经病理活检确诊为肺腺癌患者的术前及术后 EDTA 抗凝血 6 mL、100 例肺部良性疾病患者的 EDTA 抗凝血 6 mL 进行叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测。收集实验数据及患者的临床资料并应用 SPSS 16.0 进行数据分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。结果 153 例早期肺腺癌患者术前与 100 例肺部良性疾病患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的平均水平分别为 (9.73 ± 5.69) FU、 (8.93 ± 5.60) FU, $P > 0.05$; 肺腺癌患者术前与术后的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的平均水平分别为 (9.73 ± 5.69) FU、 (7.68 ± 3.41) FU, $P < 0.05$ 。性别、年龄、结节大小和数量均与肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。以叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平作为肺癌的诊断指标,其 ROC 曲线下面积为 0.564 (95% CI 为 0.491~0.637),当截断点为 8.5 FU 时,诊断灵敏度为 49.7%、特异度为 66.0%。结论 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平用于肺腺癌患者早期诊断的价值较低,建议结合其他检验项目或影像学报告进行联合诊断。肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在术后下降,可作为肺腺癌患者手术成效的评估指标。本研究暂未发现肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平与年龄、性别、结节大小、数量等指标的相关性。

【关键词】 循环肿瘤细胞; 肺腺癌; 叶酸; 早期诊断

Application value of folate receptor-positive circulating tumor cells detection in the diagnosis and surgical effect evaluation of early pulmonary adenocarcinoma Wen Shuxian¹, Zhou Danyu², Xu Yunjian¹, Liu Liping¹, Gao Jun¹. ¹The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou Guangdong 510120, China; ²Danzhou People's Hospital, Danzhou Hainan 571700, China
Corresponding author: Gao Jun, Email: gzhg2001@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the application value of folate receptor-positive circulating tumor cells detection in the diagnosis and surgical effect evaluation of pulmonary adenocarcinoma. **Method** A total of 153 patients with pulmonary adenocarcinoma who were confirmed by CT image and/or pathological biopsy and 100 benign pulmonary diseases patients were enrolled in the study. The amount of 6 mL venous blood was collected from both groups to detect the level of folate receptor-positive circulating tumor cells. The experimental data and clinical data were collected and analyzed by SPSS 16.0 and $P < 0.05$ was considered that there are significant differences. **Result** The mean folate receptor-positive circulating tumor cells level of pulmonary adenocarcinoma patients and benign pulmonary diseases patients were (9.73 ± 5.69) FU and (8.93 ± 5.60) FU, respectively ($P > 0.05$). The mean level of folate receptor-positive circulating tumor cells in patients with pulmonary adenocarcinoma before and after biopsy operation were (9.73 ± 5.69) FU and (7.68 ± 3.41) FU, respectively ($P < 0.05$). Gender, age, the size and number of nodule were not significantly

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-5820.2021.04.001

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81772486)

作者单位: ¹510120 广东广州, 广州医科大学附属第一医院; ²571700 海南儋州, 儋州人民医院

通信作者: 高俊, Email: gzhg2001@126.com

correlated with the level of folate receptor positive circulating tumor cells in patients with pulmonary adenocarcinoma ($P>0.05$). The area under the ROC curve (AUC ROC) of blood folate receptor-positive circulating tumor cells level for the diagnosis of pulmonary adenocarcinoma was 0.564 (95% CI:0.491~0.637). When the cut off value was set at 8.5 FU, sensitivity was 49.7%、specificity was 66.0%. **Conclusions** It was not so ideal to use folate receptor-positive circulating tumor cells level for early diagnosis of pulmonary adenocarcinoma. The mean folate receptor-positive circulating tumor cells level was decreased after operation, which can be used as an indicator of the outcome of pulmonary adenocarcinoma. In this study, no correlation was found between the level of folate receptor positive circulating tumor cells and age, gender, nodule size and number in patients with pulmonary adenocarcinoma.

【Key words】 Circulating tumor cells; Pulmonary adenocarcinoma; Folic acid; Early diagnosis

目前全球肺癌的发病率仍居高不下，五年生存率仅为 19%^[1]，其治疗和预后很大程度上依赖于明确的早期诊断，以腺癌为主的肺腺癌是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的主要分型。传统的肺癌诊断手段主要为影像学检查和病理组织活检，两者对人体机能均有一定的损伤，容易引发受检者的排斥心理，且对检查者的专业性要求比较高。近年来，液体活检的发展日新月异，带来了许多在肿瘤诊断方面的变革。除了应用已久的肺癌肿瘤标记物癌胚抗原、鳞状上皮细胞癌抗原、细胞角蛋白-19 等，还有近些年在各种肿瘤的辅助诊断上崭露头角的循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)。叶酸受体是一类细胞表面受体糖蛋白，具有组织特异性，仅在胎盘、肾等少数正常组织中表达。一旦上皮来源的细胞发生癌变，叶酸受体的表达量就会显著增加，尤其在卵巢和肺等上皮来源的肿瘤组织^[2,3]中，高达 80% 以上的肺癌细胞存在叶酸受体过表达的情况^[3,4]。叶酸受体随肿瘤细胞的脱落经外周血循环，因此，叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平常用于 CT 检查发现可疑病例之后的肿瘤辅助诊断。本研究旨在评估叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测在早期肺腺癌辅助诊断及术后监测中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 对象与材料

收集 2019 年到广州医科大学附属第一医院就诊并经 X 线或 CT 检查发现肺部结节或肺部肿物且在术后经病理活检确诊为早期肺腺癌的患者 153 例，其中男 57 例，女 96 例，平均年龄为 (53.39±10.91) 岁，其中 60 岁以上患者 42 例，60 岁以下患者 111 例。肺腺癌患者的纳入标准：(1)均首次经 X 线或 CT 检查发现肺部结节或肺部肿物且在术后经

病理活检确诊为早期肺腺癌；(2)采血前未接受过化疗、放疗或其他抗癌治疗；(3)无合并严重的心肝肾疾病、精神疾病或其他恶性肿瘤；(4)病历资料记录完整。排除标准：(1)肺部结节或肿物经病理活检确认为良性病者，非结节或肿物性质的肺部良性疾病患者；(2)早期肺腺癌合并其他良性疾病者，早期肺腺癌合并其他系统肿瘤的患者；(3)不可行根治术的非早期肺腺癌患者，其他部位肿瘤继发肺转移者，肺部肿瘤复发者，行手术根治前已经放化疗处理的早期肺腺癌患者。

收集肺部良性疾病患者共 100 例，其中男 59 例，女 41 例，平均年龄为 (60.26±15.21) 岁。肺部良性疾病患者的纳入标准：(1)胸部 X 线或 CT 检查排除肺部肿瘤；(2)无合并严重的心肝肾疾病、精神疾病或其他恶性肿瘤；(3)病历资料记录完整。排除标准：(1)胸部 X 线或 CT 检查提示磨玻璃样结节；(2)其他部位肿瘤继发肺转移；(3)其他部位肿瘤患者；(4)肺部肿瘤复发患者^[5,6]。

叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测试剂盒(免疫磁珠负向筛选+靶向荧光定量 PCR 法)购自南通格诺思博生物科技有限公司。ABI 7500 荧光 PCR 扩增仪购自美国 Applied Biosystems。

1.2 方法

1.2.1 EDTA 抗凝血的采集

分别采集肺部良性疾病患者治疗前和早期肺腺癌患者行根治术前(手术前 3 d 内)的 EDTA 抗凝血 6 mL，采集早期肺腺癌患者行根治术后(手术当天)的 EDTA 抗凝血 6 mL，并于 24 h 内检测完毕。

1.2.2 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测

分别将肺腺癌患者、肺部良性疾病患者的 EDTA 抗凝血进行叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测。免疫磁珠富集纯化系统的作用是去除红细胞和绝大多数的白细胞，在获得患者血样后，采用红细胞裂解、离心的方法去除红细胞，然后用免疫磁珠的方

式去除绝大多数的白细胞，得到样品中的叶酸受体阳性细胞。靶向探针标记系统使用特异性小分子探针针对叶酸受体阳性细胞进行标记，通过洗涤去除未结合的探针，然后洗脱受体结合的探针，用于后续定量检测。检测过程为叶酸受体细胞的分离，叶酸受体细胞的活化，叶酸受体细胞的标记，标记细胞的洗涤和洗脱，样品的 PCR 检测。具体过程如下：

(1) 叶酸受体细胞的分离样本阴性处理区

取全血 3 mL 置于 15 mL 离心管中，加入 12 mL 细胞裂解液，轻轻颠倒充分混匀。然后将样品置于 2 °C~8 °C 冰箱中裂解，期间每 7.5 min 轻轻颠倒混匀，15 min 后，500 g，4 °C 离心 10 min。

移出上清，加入 10 mL 反应缓冲液洗涤细胞；500 g，4 °C 离心 10 min；弃上清，加入 400 μL 反应缓冲液重悬细胞。

洗涤白细胞去除免疫磁珠(简称磁珠)：将白细胞去除磁珠 A 溶液和白细胞去除磁珠 B 溶液涡旋震荡 20 s 充分混匀，取一定量的磁珠 A(150 μL/样品，但总量不超过 600 μL)和一定量的磁珠 B(50 μL/样品，但总量不超过 600 μL)分别置于 1.5 mL 管中，加入 0.8 mL 反应缓冲液后混匀；置于磁场中 1 min，移出上清；用相同体积的反应缓冲液重悬磁珠。

将洗涤好的磁珠 A 分装于 1.5 mL 预包被管中，100 μL/样品；置于磁场中 1 min，移出上清；加入准备好的细胞样品，与磁珠混匀，置于混旋仪上(8 rpm~10 rpm)，2 °C~8 °C 冰箱中孵育 30 min。

加入 1 mL 反应缓冲液，轻轻颠倒混匀，置于磁场中 10 min；将上清转移至新的 1.5 mL 预包被管中，离心收集细胞。

移出上清，加入 300 μL 反应缓冲液重悬细胞，各加入洗涤好的磁珠 A(50 μL/样品)和磁珠 B(50 μL/样品)，混匀，置于混旋仪上(8 rpm~10 rpm)，4 °C 冰箱中孵育 20 min。

(2) 叶酸受体细胞的活化样本阴性处理区

移出上清，加入 100 μL 细胞活化液，冰上孵育 1 min 以活化细胞；后立刻加入 1 mL 反应缓冲液终止反应；离心收集细胞。

弃上清，加入 1 mL 反应缓冲液离心洗涤细胞。

(3) 叶酸受体细胞的标记样本阴性处理区

取出阳性质控品和阴性质控品，平衡至室温，涡旋震荡 20 s 充分混匀，在 1.5 mL 离心管内加入 40 μL 质控品。加入 1 mL 反应缓冲液洗涤质控品，在磁场中静置 2 min 后，吸除上清。重复洗涤步骤

一次。加入 390 μL 反应缓冲液重悬质控品。

加入 390 μL 反应缓冲液重悬细胞；然后加入封闭缓冲液 100 μL 至细胞样品与质控品的离心管中，室温孵育 20 min。注：以下步骤操作转入样本阳性处理区。

加入 10 μL 探针标记液，室温孵育 40 min；加入 900 μL 细胞洗涤液终止反应；离心收集细胞。

(4) 标记细胞的洗涤和洗脱

加入 1 mL 细胞洗涤液离心洗涤细胞三次，并在第一次和第三次洗涤之中将细胞转入新的 1.5 mL 预包被管中。注：第三次洗涤后，为避免污染，操作转入样本阴性处理区。

小心移出上清，加入 120 μL 细胞洗脱液重悬细胞，冰上孵育 2 min；离心。

将 100 μL 上清液转入新的 1.5 mL 管中，并加入 20 μL 反应中和液中和，充分混匀，用于 PCR 检测。若样本在 24 h 内进行 PCR 检测，可于 2 °C~8 °C 保存，若超过 24 h，则需于 -20 °C 保存。

(5) 样品的 PCR 检测

扩增程序：95 °C 2 min，40 °C 30 s，60 °C 1 min，8 °C 5 min，95 °C 1 min 各 1 个循环，95 °C 10 s，35 °C 30 s，72 °C 5 s 共 40 个循环，在 35 °C 退火时选择 FAM 检测荧光信号，并用 ROX 进行校正。实验同时设立三个平行质控。

1.3 结果判断与统计

三个 PCR 质控品的检测值均落在可允许范围内，校准曲线和关系数 R 应达到 0.98 以上，则该次实验视为有效，检测的样本叶酸受体水平大于 8.7 FU/L 为叶酸受体水平升高。两组间计量资料比较，由于数据呈正态分布，采用 *t* 检验，多个样本之间的比较采用 Kruskal-Wallis 检验，用统计软件 SPSS 16.0 进行分析，以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺腺癌患者术前和术后的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

本研究共纳入肺腺癌患者 153 例，患者手术前与术后的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的平均水平分别为 (9.73 ± 5.69) FU、 (7.68 ± 3.41) FU， $t=4.922$ ， $P=0.000$ ， $P < 0.05$ 。说明肺腺癌患者在手术后血浆中叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平较术前下降。见图 1。

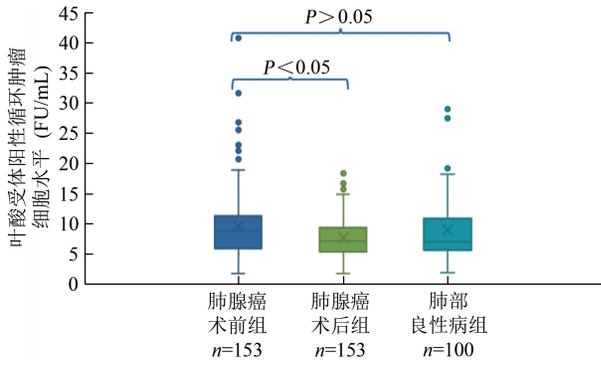


图1 肺腺癌患者和肺部良性疾病患者的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

2.2 肺腺癌患者术前和肺部良性疾病患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的比较

通过计算约登指数(表示检验方法发现真正病人与非病人的总能力)确定 8.5 FU 为截断点,肺腺癌患者 153 例,其中 79 例叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平升高,检出率为 51.6%;肺部良性疾病患者 100 例,其中 35 例叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平升高,检出率为 35%。肺腺癌患者术前和肺部良性疾病患者的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的平均水平分别为(9.73±5.69)FU、(8.93±5.60)FU, $t=0.102$, $P=0.271$, $P>0.05$ 。血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的水平在肺部良性疾病患者及肺腺癌患者中都出现升高,但统计结果暂未能表明两者之间差异有统计学意义。见图 1。

2.3 男性与女性肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

本研究共纳入肺腺癌患者 153 例,其中男性 57 例,女性 96 例,男性肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的平均水平为(9.94±5.98)FU,女性为(9.60±5.54)FU,采用随机 t 检验对两组数据进行统计, $t=0.358$, $P=0.721$, $P>0.05$ 。提示血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的水平在男性和女性患者之间差异无统计学意义。见图 2。

2.4 60 岁以上与 60 岁以下肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

本研究共纳入肺腺癌患者 153 例,平均年龄为(53.39±10.91)岁,其中 60 岁以上患者 43 例,60 岁以下患者 110 例。60 岁以上肺腺癌患者组的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞平均水平为(10.67±6.33)FU,60 岁以下为(9.37±5.41)FU,采用随机 t 检验对两组数据进行统计, $t=1.264$, $P=0.208$, $P>0.05$ 。提

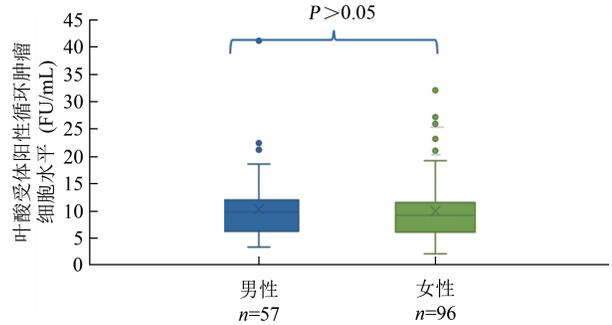


图2 男性与女性肺腺癌患者的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

示血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在年长组(60 岁以上组)和中年组(60 岁以下组)患者之间差异无统计学意义。见图 3。

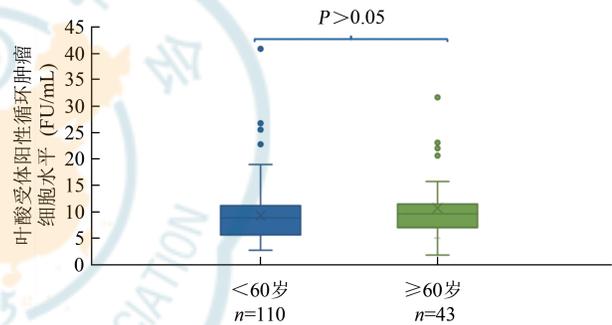


图3 60 岁以下组与 60 岁以上组肺腺癌患者的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

2.5 结节大小与肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的相关性

本研究纳入的肺腺癌患者中,结节直径>1 cm 的患者 61 例,结节直径≤1 cm 的患者 76 例,其余结节直径数据不详。>1 cm 组的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞平均水平为(9.01±4.98)FU,≤1 cm 组为(10.07±5.43)FU,采用随机 t 检验对两组数据进行统计, $t=1.180$, $P=0.240$, $P>0.05$ 。提示结节大小不同的肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平差异无统计学意义。见图 4。

2.6 结节数量与肺腺癌患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的相关性

本研究纳入的肺腺癌患者中,结节单发的患者 106 例,结节多发的患者 31 例,其余结节数量数据不详。多发组的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞平均水平为(9.20±6.82)FU,单发组为(9.668±4.71)FU,采用随机 t 检验对两组数据进行统计, $t=0.433$, $P=0.666$, $P>0.05$ 。提示结节数量不同的肺腺癌患者

的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平差异无统计学意义。见图4。

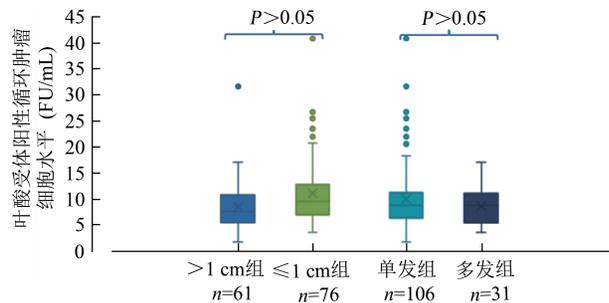


图4 肺腺癌患者的肺部结节大小和数量与血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的关系

2.7 不同肺部良性疾病患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

本研究共纳入肺部良性疾病患者100例，其中慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)12例，支气管扩张伴感染15例，肺炎29例，间质性肺疾病9例，其他肺部良性疾 35例(支气管哮喘、支气管狭窄、肺脓肿等)。采用Kruskal-Wallis检验对上述前三组常见病变(间质性肺疾病例数太少未纳入统计)数据进行统计， $\chi^2=0.253$ ， $P=0.881$ ， $P>0.05$ 。提示不同的肺部良性疾 病组之间的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞的水平差异无统计学意义。见图5。

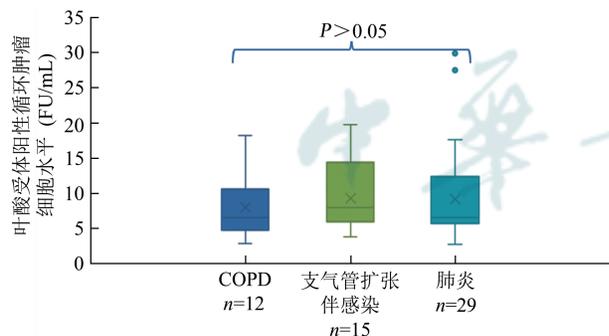


图5 不同肺部良性疾病患者的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的比较

2.8 受试者工作曲线(ROC)的绘制

以叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平作为肺癌的诊断指标，其ROC曲线下面积为0.564(95%CI为0.491~0.637)，当截断点为8.5FU时，诊断灵敏度为49.7%、特异度为66.0%。见图6。

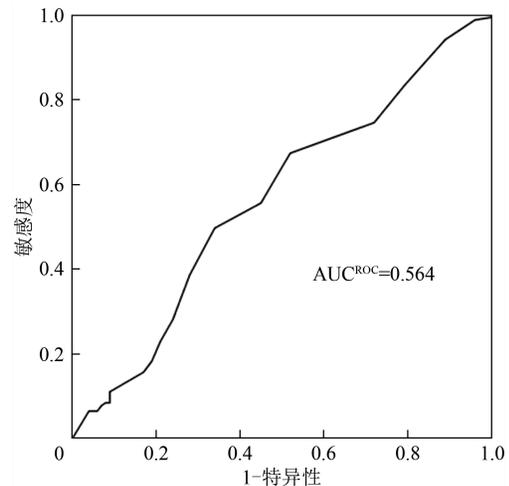


图6 用血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平诊断早期肺腺癌患者的受试者工作曲线(ROC曲线)

3 讨论

肺癌在全球范围的发病率和死亡率很高，5年生存率仅为19%~21%^[1,7,8]。随着人们健康意识的提高，肺部结节的检出率也大大地提高。一般而言，临床针对可疑的肺部结节可采取服用抗生素消炎并随访的处理，但对于进展迅猛的肺癌患者可能会错过最佳的手术时间。早诊断早治疗一直是肿瘤患者亟待解决的难题。尽管目前已经研发了多种肺癌标志物，如CEA、SCC、CYFRA21-1等等，但经临床实践表明，这些肿瘤标志物的阳性率极低，尽管采取联合检测，对早期肺癌的诊断阳性率也不到20%^[9]。

叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平是在循环肿瘤细胞的理论上发现的新的肺癌标志物，在肺癌细胞尤其是在肺腺癌细胞的表面呈高度表达^[10,11]。此外，检测途径方便无创，因此叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平有望为早期肺癌的辅助诊断提供新思路。本研究采用免疫磁珠富集纯化系统、靶向探针系统和荧光定量PCR系统组成的叶酸受体细胞检测试剂盒对肺腺癌及肺部良性疾病患者体内的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平进行检测。

本研究共纳入153例早期肺腺癌患者以及100例肺部良性疾病患者，结果显示两组患者的血浆叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的差异无统计学意义，与潘世泽、唐兴、陈罗军等^[5,6,12]人报道的结果存在差异，可能与两组研究所采用的试剂盒检测原理有差异或两组研究之间的入组例数及入组标准不完全相同有关。本研究纳入的患者均为NSCLC中的肺

腺癌患者，而潘世泽^[5]、陈罗军^[6]等人纳入的患者包括肺腺癌和鳞癌患者。另外由于本院医生在诊断肺癌患者方面有丰富的经验，因此大部分经确诊患者的肺部结节都比较小(最小的为 0.2 cm)，不排除由于患者处于癌症早期影响了循环血中循环肿瘤细胞的检出率。另外，有研究表明，利用循环肿瘤细胞对肺腺癌进行辅助诊断受肿瘤分期的影响较大，I 期 NSCLC 患者的诊断灵敏性为 67%，期望利用循环肿瘤细胞检测联合 CT 检查弥补单纯 CT 检查在肺部疾病良恶性鉴别中的不足^[13]。

其次，全血中的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的检测受有核细胞数量的影响，肿瘤细胞释放可能是间歇性的，且循环中的肿瘤细胞常常成群，单点时间的检测可产生一定的偏倚，实际表达可能更高。采取连续多次取样或加大样本量可能会提高检出率。本研究采用的试剂盒在检验方法的局限性中提出检测样本中的白细胞含量应在 $2.0 \times 10^6/\text{mL} \sim 10.0 \times 10^6/\text{mL}$ 的范围内，过多或过少的白细胞均会影响结果检测的准确性，因此，可能存在部分肺腺癌患者的叶酸受体细胞水平较低，而部分受炎症影响的肺部良性患者的叶酸受体细胞水平很高，导致了叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在鉴别良恶性肺部疾病上有所欠缺。本研究的结果表明叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在肺腺癌和肺部良性患者体内均高于截断点水平(8.5 FU)，与常规的肺部肿瘤标志物 CEA、CA125、CA153 相比灵敏度尚可(肺部肿瘤标志物由于阳性率极低，未纳入实验结果)，可用于肺腺癌患者的术前辅助诊断，但低水平时不能作为肺腺癌的排除指标。

本研究发现肺腺癌患者体内的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在活检术后发生下降，且与术前水平比较，两者差异有统计学意义。国外一研究前列腺癌患者外周血中循环肿瘤细胞检测的文献报道，循环肿瘤细胞的半衰期只有数小时，绝大部分患者在术后当天的外周血中循环肿瘤细胞的数量就发生急剧下降，少部分术前检测值较低的患者发生了术后短暂的升高，这可能是由于手术挤压导致肿瘤细胞入血或肺部损伤导致大量上皮细胞入血引发的。这部分患者的外周血中循环肿瘤细胞的数量在术后三个月内也发生缓慢下降^[4]，提示叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平可能可以作为肺腺癌患者手术成效的评估指标。若叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在术后随访中发生

升高，可能提示该患者出现了肿瘤复发或扩散的情况。连欢欢等^[15]人的研究认为在术后一个月检测循环肿瘤细胞如果水平升高，可能存在未被发现的隐匿病灶。目前相关随访数据仍需要进一步完善。鲁翔华等^[16]人的研究认为，叶酸受体阳性循环肿瘤细胞对小细胞肺癌患者的化疗效果具有预测能力。叶酸受体阳性循环肿瘤细胞可实时监测小细胞肺癌患者疾病进展情况，弥补影像学检查的空窗期。由于目前大部分研究纳入分析的病例数较少，叶酸受体阳性循环肿瘤细胞在评估患者疗效方面的应用仍需更多的临床实验数据支持。

本研究分析了叶酸受体阳性循环肿瘤细胞与患者年龄、性别、结节大小、数量及不同良性肺部疾病等因素的相关性，但目前尚无证据表明这些因素与肺腺癌叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平相关。陈罗军等^[6]人的研究中，循环肿瘤细胞检出率与性别、年龄、临床分期、脑转移、骨转移、肾上腺转移和胸腔积液均无关，该研究通过联合叶酸受体阳性循环肿瘤细胞 FRa 与皮细胞粘附分子 EpCAM 作为循环肿瘤细胞检测的免疫捕获靶点，利用免疫磁珠分选法对 NSCLC 患者的循环肿瘤细胞进行检测，提高循环肿瘤细胞的检出率到 73.2%，单独检测 EpCAM 时为 48.8%。本研究在单独检测叶酸受体阳性循环肿瘤细胞时，无论是以产品说明书建议的 8.7 FU 为截断点还是根据实践确定的截断点，诊断效能均较差，未能很好地区分肺部良性患者以及肺腺癌患者，提示了联合检测的重要性，但如何选择目前临床上已开展并且较为灵敏特异的肿瘤筛查标志物，仍需要进一步探讨。目前临床上所开展的肺癌标志物通常存在灵敏度较低的通病，检出率较低，因此在未来很长一段时间，寻找灵敏度高、特异性强的肿瘤指标仍然是目前肺癌早期诊断亟待解决的难题。

综上，单独检测叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平其灵敏度和特异度均不够理想，可与其他肿瘤筛查标志物联合作为肺腺癌的辅助诊断指标。叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平在活检根治术后显著下降，可作为肺腺癌手术成效的评估指标，后续将补充肺腺癌患者术后叶酸受体阳性循环肿瘤细胞水平的随访数据，以评估其作为肺腺癌患者术后监测指标的价值。

参 考 文 献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1):7-34.
- 2 Ledermann JA, Canevari S, Thigpen T. Targeting the folate receptor: diagnostic and therapeutic approaches to personalize cancer treatments[J]. Ann Oncol, 2015, 26(10):2034-2043.
- 3 Nakashima-Matsushita N, Homma T, Yu S, et al. Selective expression of folate receptor beta and its possible role in methotrexate transport in synovial macrophages from patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 1999, 42(8):1609-1616.
- 4 Nunez MI, Behrens C, Woods DM, et al. High expression of folate receptor alpha in lung cancer correlates with adenocarcinoma histology and EGFR [corrected] mutation[J]. J Thorac Oncol, 2012, 7: 833-840.
- 5 潘世泽, 汪巍, 方一凡, 等. 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测对早期肺癌的诊断效能[J]. 山东医药, 2017, 57(47):69-72.
- 6 陈罗军, 李娜, 宋启斌, 等. FR 仪联合 EpCAM 用于非小细胞肺癌循环肿瘤细胞的检测[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(11):1012-1016.
- 7 Christoph DC, Asuncion BR, Hassan B, et al. Significance of folate receptor alpha and thymidylate synthase protein expression in patients with non-small-cell lung cancer treated with pemetrexed[J]. J Thorac Oncol, 2013, 8:19-30.
- 8 Torre LA, Siegel RL, Jemal A. Lung cancer statistics[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 893:1-19.
- 9 郭巧梅, 乔理华, 王琳, 等. 循环肿瘤细胞检测对非小细胞肺癌的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(8):589-594.
- 10 Parker N, Turk MJ, Westrick E, et al. Folate receptor expression in carcinomas and normal tissues determined by a quantitative radioligand binding assay[J]. Anal Biochem, 2005, 338(2):284-293.
- 11 Chen XX, Zhou F, Li XF, et al. Folate receptor-positive circulating tumor cell detected by LT-PCR-based method as a diagnostic biomarker for non-small-cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(8):1163-1171.
- 12 唐兴, 蒋东, 赵军. 外周血叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测在非小细胞肺癌筛查中的应用价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(3):280-283.
- 13 Tanaka F, Yoneda K, Kondo N, et al. Circulating tumor cell as a diagnostic marker in primary lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(22):6980-6986.
- 14 Shannon LS, Richard JL, Sunitha N, et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer[J]. Sci Transl Med, 2010, 2(25): 25ra23.
- 15 连欢欢, 丁志丹, 袁东风, 等. 应用 FR 靶向 PCR 法检测 CTC 在肺癌诊断中的临床价值: 初步研究[J]. 中国肺癌杂志, 2016, 19(12): 813-820.
- 16 鲁翔华, 陈皇, 马双双, 等. 循环肿瘤细胞对小细胞肺癌化疗效果预测价值的分析[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(11):861-863.

(收稿日期: 2020-12-14)

(本文编辑: 吴冰 李雨佳)

温淑娴, 周丹女, 徐韞健, 等. 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测在早期肺腺癌辅助诊断及手术效果评估中的价值探讨 [J/OL]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2021, 09(4): 193-199.

中 华 医 学 会