

叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测对早期肺癌的诊断价值

陈鹏飞 谢金标 杨天宝 王武 陈豪 黄国忠

莆田学院附属医院心胸外科,福建莆田 351100

[摘要]目的 研究分析叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测对早期肺癌的临床诊断价值。方法 选取 2019 年 9 月至 2021 年 12 月莆田学院附属医院心胸外科收治的 100 例胸部 CT 影像学疑似肺癌患者作为研究对象,收集 100 例患者的血液样本,在前肘静脉操作并储存于 4℃ 的温度下,并将血液标本于 24 h 之内完成叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测。结果 结合患者的病理诊断结果,有 75 例早期肺癌患者,25 例肺良性病变患者,早期肺癌患者的叶酸受体阳性肿瘤细胞数量高于肺良性病变患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。以术后病理结果作为诊断肺癌的金标准, $Kappa$ 一致性检验显示叶酸受体阳性循环肿瘤诊断早期肺癌具有一定的准确性($Kappa=0.683, P<0.05$);以叶酸受体阳性循环肿瘤细胞作为肺癌的诊断指标,ROC 曲线下面积为 0.810(95%CI=0.648~1.000),最佳截断值为 8.7 FU/3 ml,灵敏度为 87.7%,特异度为 76.9%。结论 临床上,叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测对早期肺癌的诊断具有较好的诊断效能。

[关键词]叶酸受体阳性循环肿瘤细胞;早期肺癌;临床诊断价值;灵敏度;特异度

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1674-4721(2022)11(b)-0079-03

Diagnostic value of folate receptor-positive circulating tumor cells in early lung cancer

CHEN Pengfei XIE Jinbiao YANG Tianbao WANG Wu CHEN Hao HUANG Guozhong

Department of Cardiothoracic Surgery, the Affiliated Hospital of Putian University, Fujian Province, Putian 351100, China

[Abstract] **Objective** To study and analyze the clinical diagnostic value of folate receptor-positive circulating tumor cells for early lung cancer. **Methods** A total of 100 patients with suspected lung cancer on chest CT imaging treated in the Department of Cardiothoracic Surgery of the Affiliated Hospital of Putian University from September 2019 to December 2021 were selected as the research objects. The blood samples of 100 patients were collected, operated in the anterior elbow vein and stored at a temperature of 4℃, and the blood samples were tested for folate receptor positive circulating tumor cells within 24 h. **Results** Combined with the pathological diagnosis results of the patients, there were 75 patients with early stage lung cancer and 25 patients with benign lung lesions, the quantity of folate receptor-positive tumor cells in patients with early lung cancer was higher than that in patients with benign lung disease, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Taking postoperative pathological results as the gold standard for diagnosing lung cancer, $Kappa$ consistency test showed that folate receptor positive circulating tumor had a certain accuracy in the diagnosis of early lung cancer ($Kappa=0.683, P<0.05$). Folate receptor positive circulating tumor cells were used as diagnostic indicators for lung cancer, the area under the ROC curve was 0.837 (95%CI=0.648-1.000), the optimal cut-off value was 8.7 FU/3 ml, the sensitivity was 87.7%, and the specificity was 76.9%. **Conclusion** The detection of folate receptor-positive circulating tumor cells has good diagnostic performance in the diagnosis of early lung cancer.

[Key words] Folate receptor-positive circulating tumor cells; Early lung cancer; Clinical diagnostic value; Sensitivity; Specificity

据中国国家癌症中心(China National Cancer Center, NCC)公布的最新癌症数据^[1],我国常见的癌症类型包括肺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌和乳腺癌,占比超过总

[基金项目]莆田学院校内科研项目(2019090)。

[作者简介]陈鹏飞(1990-),男,福建莆田人,硕士,研究方向:外科学(心胸外)。

癌症类型的 50%。肺癌是中国最常见的癌症,如果在早期发现并进行手术切除,预后良好,5 年生存率达到 70%~90%。然而,大多数患者(约 75%)在确诊时已是晚期(Ⅲ/Ⅳ期)^[2]。因此,对肺癌患者尽早实施诊断和治疗对患者的预后尤为关键。目前,肺部结节良、恶性的临床诊断方法是血液学检测(肿瘤标志

物)、影像学检查(胸部 CT)等。其中,化验肿瘤标志物的指标在肺癌和癌前病变中,癌胚抗原、肿瘤相关糖类抗原、细胞角蛋白片段等的表达率均不高,从而对临床诊断的准确性产生一定的影响。影像学检查如发现肺部小结节,患者对手术治疗的态 度不明确,未能按时治疗,患者常常会错失最佳手术时机^[3]。循环肿瘤细胞为患者机体的肿瘤细胞自发从原发肿瘤和转移灶或者侵入性操作导致释放入血,肿瘤细胞在循环中聚集,形成微小的瘤栓,在适宜条件下形成转移灶^[4]。叶酸受体在肺癌细胞中表达率高,本研究探讨早期肺癌患者叶酸受体阳性的临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 9 月至 2021 年 12 月莆田学院附属医院收治的 100 例疑似肺癌患者作为研究对象,其中男 57 例,女 43 例;年龄 44 ~ 79 岁,平均(62.16 ± 2.51)岁。纳入标准:①临床表现不典型,只有咳嗽、胸闷、低热等呼吸道表现,胸部 CT 表现为疑似肺癌的单一肺结节(最大直径 < 3 cm),没有纵隔淋巴结肿大或其他转移;②所有患者知情且自愿参与本研究,临床资料完整。排除标准:①CT 显示肺部多个结节,并伴发转移;②包括外科和放射治疗患者,或者是肺部肿瘤复发患者^[5]。本研究经医院医学伦理委员会批准同意(2019090),患者和家属均签署研究知情同意书。

1.2 方法

所有患者抽取 3 ml 肘前静脉血,含有 EDTA 的试管用于静脉血的保存,储存温度:4℃,检测时间:叶酸受体阳性的循环肿瘤细胞检测在 24 h 后进行。首先采用 3 ml 血液中的免疫磁性微球负向富集方法,采用配体 PCR 技术对其进行定量检测,上海格诺思博生物技术有限公司为其提供的检测试剂盒,并严格按照试验试剂盒的使用方法进行操作^[6],用 4 倍于 3 ml 的红细胞溶解液,于 4℃ 溶解 15 min,除去红细胞,再加入 150 μl 抗 CD45 微球,于 4℃ 培养 30 min,除去白细胞;将抗 CD14 微粒 50 μl 于 4℃ 培养 30 min,将巨噬细胞剔除;将采集到的循环肿瘤细胞添加 10 μl 的具有肿瘤特异性的叶酸配体-寡核苷酸偶合物的探针标记液,在室温孵育 40 min,然后添加 1 ml 的清洗缓冲溶液,在 4℃ 下进行 10 min 的离心,以 1500 r/min 的速度,离心半径 15 cm,反复 3 次,以除去未结合的探头;最后,添加 120 μl 的洗脱缓冲溶液,4℃ 培养 2 min,将结合的探头洗脱出来,离心收集,加入中和缓冲液 24 μl,进行荧光 PCR 扩增,利用 ABI7300 仪器(美国爱普拜斯公司)采集 PCR 信号和

数据^[7-8]。在此基础上,ABI7300 仪器在 95℃ 变性 2 min、40℃ 退火 30 s、72℃ 延长 30 s、8℃ 5 min 完成;40 次热处理后,95℃ 变性 10 s、35℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 10 s。在 3 ml 的血液中,发现 1 个循环中的叶酸受体阳性细胞,即 1 FU^[9]。

1.3 观察指标

记录 100 例患者中的早期肺癌、肺良性结节患者的例数,叶酸受体阳性循环肿瘤细胞计数及该检测方法在临床诊断的灵敏度、特异度。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料用率表示,组间比较采用 χ^2 检验;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线并采用 *Kappa* 一致性检验分析诊断价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 早期肺癌患者和肺良性病变患者叶酸受体阳性肿瘤细胞的比较

结合患者的病理诊断结果,有 75 例早期肺癌患者,25 例肺良性病变患者,早期肺癌患者的叶酸受体阳性肿瘤细胞为(11.38 ± 1.37)FU/3 ml,高于肺良性病变患者的(8.10 ± 1.83)FU/3 ml,差异有统计学意义($t = 9.495, P < 0.05$)。

2.2 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测诊断早期肺癌的价值

以术后病理结果作为诊断肺癌的金标准,*Kappa* 一致性检验显示叶酸受体阳性循环肿瘤细胞诊断早期肺癌具有一定的准确性($Kappa = 0.683, P < 0.05$);以叶酸受体阳性循环肿瘤细胞作为肺癌的诊断指标,ROC 曲线下面积为 0.810(95% CI = 0.648 ~ 1.000),最佳截断值为 8.7 FU/3 ml,灵敏度为 87.7%,特异度为 76.9%(图 1)。

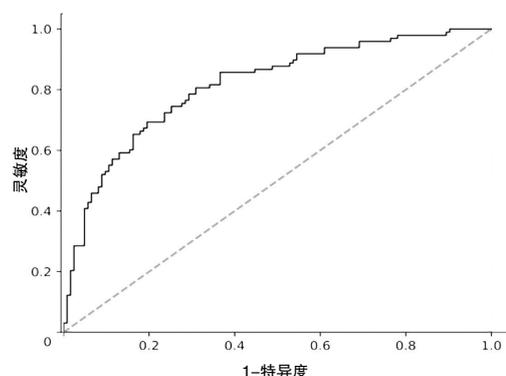


图 1 叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测诊断早期肺癌的 ROC 曲线

3 讨论

肺癌患者的人数越来越多,病情严重,具有很高

的死亡率,严重威胁患者的生命安全。因此,对肺癌患者做到早诊断和早治疗尤为重要。随着居民对体检意识认知性的提高,肺结节的临床诊断率越来越高,但结节的性质、能否手术影响着患者及家属的决定^[10]。

肿瘤标记物在早期肺癌的诊断中,临床参考价值较小,诊断意义不大。而外周血中肿瘤细胞的检测在临床上也有一定的局限性,目前,尚没有一种标准的方法来进行检测^[11]。早期的循环肿瘤细胞可以显示出肿瘤细胞的形状,而循环肿瘤细胞的检测则是基于不同的细胞形态,对肿瘤各项数据进行分析,而不需要对细胞表面的信息进行检测,其优势在于不依赖于循环中的肿瘤细胞表面抗原,且其形态和活性保持不变,但其纯度非常低,容易失去直径较小的循环肿瘤细胞^[12-14]。

叶酸受体在肺癌细胞的表达性很高,因此,叶酸受体阳性的循环肿瘤细胞检测是最理想的检测手段。通过保真放大、实时检测 PCR 分子,实现双层次放大,最终完成对 3 ml 血液样本中循环肿瘤细胞的检测,对检测的灵敏度有很大的改善^[15]。在本研究中,通过对 100 例疑似肺癌患者实施检测,比较早期肺癌的临床诊断中早期肺癌及良性肺结节患者的叶酸受体阳性循环肿瘤细胞,结果显示,叶酸受体阳性循环肿瘤细胞更高,早期肺癌患者的叶酸受体阳性肿瘤细胞含量高于肺良性病变细胞,差异有统计学意义 ($t=9.495, P<0.05$),同时检测 $Kappa$ 值为 0.683, AUC 为 0.810,最佳截断值为 8.7 FU/3 ml,灵敏度为 87.7%,特异度为 76.9%,具有一定的临床诊断价值。本研究结果与唐兴等^[16]的研究结果一致,具有参考价值。

综上所述,叶酸受体阳性循环肿瘤细胞在早期肺癌的临床诊断中灵敏度较高,能够作为诊断早期肺癌的有效标记物,明确肺癌患者的具体情况,在临床上具有较高的应用价值,值得临床推广应用。

[参考文献]

[1]Zheng RS,Zhang SW,Zeng HM,*et al.*Cancer incidence and mortality in China,2016[J].JNCC,2022,2(1):1-9.
 [2]Blandin Knight S,Crosbie PA,Balata H,*et al.*Progress and prospects of early detection in lung cancer[J].Open Biol,2017,7(9):170010.
 [3]苏雷,支修益,张毅,等.56 例循环肿瘤细胞检测阳性的亚厘米肺结节患者术后病理分析[J].医学研究杂志,2019,

48(5):51-54.

- [4]Schillaci O,Calabria FF.Comments on characterization of solitary pulmonary nodules with 18F-FDG PET/CT relative activity distribution analysis[J].J Thorac Dis,2015,7(10):1708-1712.
 [5]张孝侠,吴友涛,杨海霞.叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测诊断早期肺癌[J].中国城乡企业卫生,2020,35(4):169-171.
 [6]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.
 [7]Wang L,Wu C,Qiao L,*et al.*Clinical Significance of Folate Receptor-positive Circulating Tumor Cells Detected by Ligand-targeted Polymerase Chain Reaction in Lung Cancer[J].J Cancer,2017,8(1):104-110.
 [8]肖婵清,吴兆红,谭博,等.循环肿瘤细胞联合癌胚抗原检测在非小细胞肺癌中的临床价值[J].贵州医科大学学报,2020,45(7):859-863,868.
 [9]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].中华临床实验室管理电子杂志,2021,9(4):193-199.
 [10]刘琳娟,张书耕,张青云,等.肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中价值[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(2):177-179.
 [11]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.
 [12]陈罗军,李娜,宋启斌,等.FR α 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.
 [13]孔德志,刘傲,崔健,等.临床 I 期非小细胞肺癌诊断模型构建:基于临床影像学特征联合叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测的研究[J].中国胸心血管外科临床杂志,2021,28(10):1192-1201.
 [14]王晓康,袁锦权.肺癌患者术后血液高凝状态与外周血循环肿瘤细胞的相关性分析[J].中国当代医药,2021,28(29):13-16.
 [15]陈玉霞,刘艳红.叶酸受体介导的宫颈特殊染色在宫颈异常病变中的临床筛查意义[J].临床医学工程,2018,25(10):1417-1418.
 [16]唐兴,蒋东,赵军.外周叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测在非小细胞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.

(收稿日期:2022-04-07)