

# 循环肿瘤细胞联合血清学检测 在非小细胞肺癌中的应用

赵汉卿,周新睿,李子建,唐兴

(苏州大学附属第一医院胸外科,江苏 苏州 215006)

**摘要:**目的 探究循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)联合肺癌自身抗体及肿瘤标志物检测在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的应用。方法 采集161例NSCLC患者、19例肺良性病变患者及20例健康志愿者静脉血,通过免疫磁珠阴性富集法对CTCs进行检测,分析其与NSCLC临床资料的相关性,并与肺癌自身抗体及肿瘤标志物诊断效能进行比较。结果 患者的性别、吸烟史、肿瘤部位及淋巴结转移情况所对应的CTCs计数差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。年龄、T分期、肿瘤最大直径、肿瘤分期、病理类型所对应的CTCs计数差异有统计学意义( $P<0.05$ )。NSCLC患者外周血叶酸受体阳性CTCs以8.9 FU/3 mL为最佳截断值,诊断的灵敏度和特异度分别为84.5%、76.9%,ROC曲线下面积为0.801。CTCs与肺癌自身抗体和肿瘤标志物联合检测能够提高NSCLC的诊断效能。三项联合检测的ROC曲线下面积为0.914,95%CI为86.8~96.1( $P<0.001$ )。结论 CTCs、肺癌自身抗体、肿瘤标志物检测对于临床上NSCLC的诊断及筛查可提供一定的参考价值,三项联合可以提高诊断NSCLC的临床意义。

**关键词:**循环肿瘤细胞;非小细胞肺癌;自身免疫抗体;肿瘤标志物;早期诊断

中图分类号:R604

文献标志码:A

## Application of circulating tumor cells combined with serological detection in non-small cell lung cancer

ZHAO Hanqing, ZHOU Xinrui, LI Zijian, TANG Xing

(Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu, China)

**Abstract: Objective** To explore the application of circulating tumor cells (CTCs) combined with detection of lung cancer autoantibodies and tumor markers in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** The venous blood of 161 patients with NSCLC, 19 patients with benign lung lesions and 20 healthy volunteers were collected, and CTCs were detected by negative enrichment method of immunomagnetic beads. The correlation between CTCs and clinical data of NSCLC was analyzed, and the diagnostic efficiency of CTCs, autoantibodies and tumor markers of lung cancer were compared. **Results** There were no significant differences of CTCs counts in gender, smoking history, tumor site and lymph node metastasis (all  $P>0.05$ ). There were significant differences of CTCs counts in age, T stage, maximum tumor diameter, tumor stage and pathological type (all  $P<0.05$ ). The optimal cutoff value of folic acid receptor positive CTCs in peripheral blood of NSCLC patients was 8.9 FU/3mL. The sensitivity and specificity of diagnosis were 84.5% and 76.9%, respectively, and the area under ROC curve was 0.801. Combined detection of CTCs, lung cancer autoantibodies and tumor markers could improve the diagnostic efficiency of NSCLC. The area under ROC curve of the three combined tests was 0.914, and the 95%CI was 86.8-96.1 ( $P<0.001$ ). **Conclusion** The detection of CTCs, lung cancer autoantibodies and tumor markers can provide some reference for the diagnosis and screening of NSCLC in clinic, and the combination of the three items can improve the clinical significance of the diagnosis of NSCLC.

**Key words:** Circulating tumor cells; Non-small cell lung cancer; Autoantibodies; Tumor biomarkers; Early diagnosis

病理诊断是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)诊断的“金标准”<sup>[1]</sup>。液体活检已经成为肺癌诊断过程的重要组成部分<sup>[2]</sup>。与传统的病理切片诊断相比,液体活检具有无创、精准的优点<sup>[3]</sup>。本研究采用阴性富集法检测肺肿瘤患者外周血中循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)的水平,探究CTCs对于肺癌早期诊断的灵敏度和特异度,并与肺癌自身抗体及肿瘤标志物的诊断效能进行比较。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

单纯随机抽样法选取2022年6月至2024年6月在苏州大学附属第一医院胸外科接受手术治疗并经病理诊断明确的161例NSCLC患者(肺癌组)和19例肺良性病变患者(肺良性病变组)以及20例健康志愿者(健康组)。肺癌组患者中,男70例、女91例,24~82(60.75±10.52)岁。浸润性腺癌108例,微浸润性腺癌25例,鳞癌18例,腺鳞癌、黏液腺癌共10例。T分期:T1期109例,T2期32例,T3期16例,T4期4例;TNM分期:I期122例,II期20例,III期15例,IV期4例。伴有淋巴结转移患者19例,不伴有淋巴结转移者142例。肺良性病变组中,男12例、女7例,31~78(57.11±12.74)岁。健康组中,男13例、女7例,35~75(56.45±10.25)岁。

纳入标准:①患者手术前均未接受放化疗和免疫治疗等抗肿瘤治疗;②除健康志愿者外,所有患者均为术后经病理诊断为NSCLC或者肺良性病变;③患者术前无其他脏器肿瘤病史。排除标准:①有尚未稳定控制的急性感染或重大内科疾病患者;②良性病变患者及健康志愿者在实验统计期间及随访中无新发恶性肿瘤。

本研究系回顾性研究,肺癌和肺良性病变患者的检验结果均来自于2022—2024年期间苏州大学附属第一医院检验系统,健康志愿者数据于2024年采集。本研究经苏州大学附属第一医院医学伦理委员会批准通过(2024-059),参与者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 CTCs的检测

以叶酸受体为靶点的免疫磁珠阴性法富集CTCs,实时免疫荧光PCR法进行CTCs的鉴定和分析,叶酸受体细胞检测试剂盒购自格诺思生物科技南通有限公司。采集患者外周血3 mL,血液样本

存放于EDTA抗凝管中,去除红细胞后通过CD45免疫磁珠阴性富集,去除白细胞和单核巨噬细胞,去上清液,离心,得到富集的CTCs,去除其目标肿瘤细胞上所结合的叶酸,以空出叶酸结合位点;以叶酸受体表面一段16 bp的寡核苷酸链为探针标记,作为后续PCR的检测模板,最后洗脱肿瘤细胞上结合的叶酸表面标记的探针,中和强酸性的洗脱液后,于2℃~8℃保存。采用实时荧光定量PCR法检测叶酸受体阳性CTCs。以叶酸受体单位(folate receptor unit, FU)表示时,>8.7 FU/3 mL为CTCs阳性。

#### 1.2.2 肺癌自身抗体血清学检测

采集患者静脉血3~5 mL,血液样本存放于EDTA抗凝管中,以3 000 r/min离心5~10 min,分离出血清后采用酶联免疫吸附法进行检测。肺癌七种自身抗体(seven-autoantibody, 7-AAB)的阳性标准如下:抑癌基因53(tumor suppressor gene 53, P53)≥13.1 U/mL、蛋白基因产物9.5(protein gene product 9.5, PGP9.5)≥11.1 U/mL、性别决定基因家族2(sex determining gene family 2, SOX2)≥10.3 U/mL、肿瘤/睾丸抗原G抗原7(tumor/testis antigen G 7, GAGE7)≥14.4 U/mL、ATP结合RNA解旋酶(ATP binding RNA helicase, GBU4-5)≥7.0 U/mL、黑色素瘤抗原(melanoma antigen, MAGE)≥11.9 U/mL、肿瘤相关基因(tumor related genes, CAGE)≥7.2 U/mL。若联合检测一项及以上指标为阳性,则认定肺癌7-AAB结果呈阳性,反之则认定为阴性。

#### 1.2.3 肿瘤标志物的检测

收集所有受试者清晨空腹静脉血5 mL,3 000 r/min离心血清后采用化学发光免疫分析法检测癌胚抗原(carcino embryonic antigen, CEA)、糖类抗原(cancer antigen, CA)72-4、CA125、细胞角蛋白19片段(cytokeratin 19 fragment, CYFRA21-1)、神经元特异烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE),正常参考值为:CEA<5 ng/mL, CA72-4<6 U/mL, CYFRA21-1<3.07 ng/mL, NSE<7 ng/mL, CA125<35 U/mL。测定值高于正常值为阳性,进行联合检测时其中任何一项及以上指标高于正常值即为阳性。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 26.0对数据进行统计分析。正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布的计量资料如CTCs采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。CTCs临床资料中,两组间比较使用Mann-Whitney  $U$ 检验,多组间比较使用Kruskal-Wallis  $H$ 检验。CTCs、肿瘤标志物、肺癌自身抗体诊断指标组间使用Fisher精确检验显示阳性显著性;利用多元Logistic回归建立

7-AAB和五项肿瘤标志物的联合诊断关系,同法建立 CTCs 和抗体联合、肿瘤标志物的联合诊断关系,绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,计算曲线下面积(area under curve, AUC),比较阳性似然比,评估外周 CTCs 及肺癌自身抗体、肿瘤标志物诊断 NSCLC 的效能。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 各组 CTCs 样本检出水平

肺癌组患者外周血 CTCs 计数为 10.60(9.30, 12.90)FU/3 mL,肺良性病变组为 8.20(7.20, 9.80)FU/3 mL,健康组为 7.35(6.33, 8.35)FU/3 mL;其中

肺癌组与肺良性病变组之间外周血 CTCs 计数差异有统计学意义( $P<0.001$ ),肺癌组与健康组间差异有统计学意义( $P<0.001$ ),而肺良性病变组与健康组之间差异无统计学意义( $P=0.129$ )。

### 2.2 不同临床特征 NSCLC 患者外周血 CTCs 计数比较

共纳入 NSCLC 患者 161 例。无吸烟史(131/161)、肿瘤最大直径 $\leq 3.0$ (118/161)、病理类型为浸润性腺癌(108/161)、T 分期 T1-T2 期(141/161)、临床分期 I 期(122/161)、无淋巴结转移(142/161)患者占比较大,故多为早期 NSCLC 患者。CTCs 检出数量在不同年龄、T 分期、肿瘤最大直径、病理类型、临床分期中的差异有统计学意义( $P$  均 $<0.05$ )。见表 1。

表 1 不同临床特征 NSCLC 患者外周血 CTCs 计数比较/ $M(P_{25}, P_{75})$

Table 1 Comparison of CTCs in peripheral blood of NSCLC patients with different clinical features / $M(P_{25}, P_{75})$

临床特征	例数	CTCs/(FU/3 mL)	U/H	P
性别			2 892.000	0.318
男	70	10.80(9.48, 13.53)		
女	91	10.50(9.30, 12.50)		
年龄/岁			2 179.000	0.001
<61	68	9.70(9.20, 11.48)		
$\geq 61$	93	11.10(9.85, 14.40)		
吸烟史			1 836.500	0.577
有	30	10.50(9.28, 15.03)		
无	131	10.60(9.30, 12.50)		
肿瘤部位			3 091.500	0.830
左肺	60	10.60(9.30, 13.13)		
右肺	101	10.60(9.35, 12.75)		
肿瘤最大直径/cm			3 162.000	0.017
$\leq 3.0$	118	10.25(9.28, 12.20)		
$> 3.0$	43	11.70(10.20, 14.50)		
病理类型			15.193	0.002
微浸润性腺癌	25	9.50(9.15, 10.00)		
浸润性腺癌	108	10.85(9.43, 13.45)		
鳞癌	18	10.95(8.73, 13.28)		
其他	10	11.00(10.60, 15.83)		
T 分期			1 820.500	0.035
T1~T2	141	10.50(9.25, 12.65)		
T3~T4	20	11.60(10.60, 11.43)		
临床分期			13.034	0.005
I	122	10.30(9.23, 12.20)		
II	20	13.40(9.40, 16.70)		
III	15	10.70(10.20, 11.80)		
IV <sup>a</sup>	4	19.00(12.13, 24.60)		
淋巴结转移			1 131.000	0.253
有	19	11.10(10.20, 13.30)		
无	142	10.55(9.30, 12.75)		

注:<sup>a</sup>IV 期患者术中探查发现胸壁或者膈肌转移肿瘤。

### 2.3 各组患者外周血 CTCs 计数及肺癌自身抗体阳性的比较

经 Fisher 精确检验,7-AAB 中的 P53 和 GBU4-5 阳性病例在肺癌组中较多(30/161,34/161);各项

指标在肺良性病变组和健康组中检出较少,CTCs 和 7-AAB 联合检测在肺癌组、肺良性病变组和健康组检出的阳性数量差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。见表 2。

表 2 各组患者外周血 CTCs 计数及肺癌自身抗体阳性显著性的比较/n

Table 2 Comparison of CTCs count in peripheral blood and positive significance of lung cancer autoantibodies in the three groups/n

检测项目	检出(+/-)	肺癌组	肺良性病变组	健康组	$\chi^2$	$P$
CTCs	+	137	7	2	64.832	<0.001
	-	24	12	18		
P53	+	30	0	1		0.037
	-	131	19	19		
PGP9.5	+	5	3	2		0.027
	-	156	16	18		
SOX2	+	25	3	2		0.871
	-	136	16	18		
GAGE7	+	18	2	1		0.829
	-	143	17	19		
GBU4-5	+	34	1	1		0.079
	-	127	18	19		
MAGE	+	1	1	0		0.191
	-	160	18	20		
CAGE	+	14	0	0		0.271
	-	147	19	20		
7-AAB 联合检测	+	112	8	5	18.801	<0.001
	-	49	11	15		

注:除 CTCs 和 7-AAB 联合检测外,其他检测项目均使用 Fisher 精确检验。

### 2.4 各组肿瘤标志物阳性的比较

CA724 在 3 组检出数量差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其余 4 项差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

五项肿瘤标志物联合检测在 3 组数据中阳性数量差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。见表 3。

表 3 肿瘤标志物阳性显著性的比较/n

Table 3 Comparison of positive significance of tumor markers /n

检测项目	检出(+/-)	肺癌组	肺良性病变组	健康组	$\chi^2$	$P$
CA72-4	+	23	0	0		0.044
	-	138	19	20		
CYFRA21-1	+	41	2	2		0.162
	-	120	17	18		
NSE	+	30	0	3		0.113
	-	131	19	17		
CEA	+	40	2	1		0.055
	-	121	17	19		
CA125	+	33	1	2		0.188
	-	128	18	18		
五项联合	+	116	3	4	38.882	<0.001
	-	45	16	16		

注:除五项联合检测外,其他检测项目均使用 Fisher 精确检验。

### 2.5 外周血 CTCs、7-AAB、肿瘤标志物诊断及联合诊断 NSCLC 的效能

CTCs+7-AAB+肿瘤标志物综合性能最佳(AUC=0.914, $P < 0.001$ ),灵敏度和特异度均较高(87.6%、84.6%),阳性似然比 5.688,提示阳性结果对于 NSCLC 有较强的诊断价值。CTCs+7-AAB(AUC=

0.864)、CTCs+肿瘤标志物(AUC=0.843)及单独 CTCs(AUC=0.801)诊断效能均显著( $P < 0.001$ ),但特异度略低(82.1%、76.9%、76.9%)。单项指标中 GBU4-5 和 CA72-4 对于 NSCLC 诊断具有统计学意义( $P < 0.05$ ),且特异度较高(87.2%、79.5%)。见图 1~2,表 4。

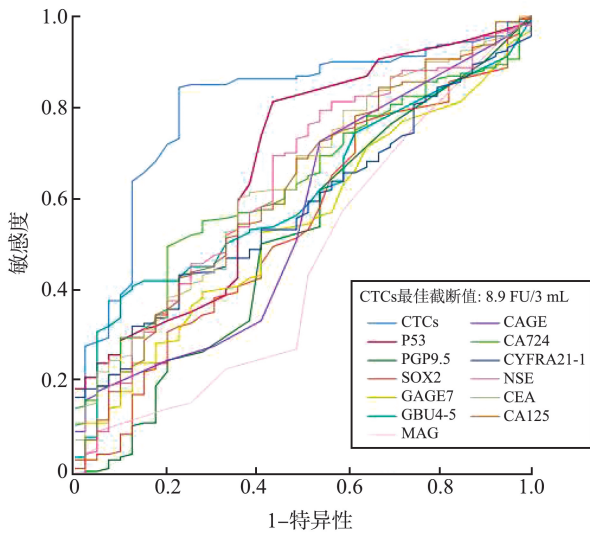


图1 外周血 CTCs、7-AAB、肿瘤标志物单独诊断的 ROC 曲线  
Figure 1 ROC curves of diagnostic efficiency of peripheral blood CTCs, 7-AAB and tumor markers alone

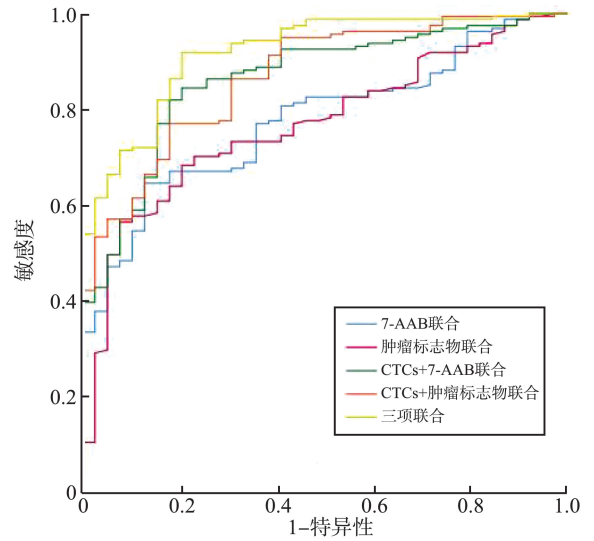


图2 CTCs、7-AAB、肿瘤标志物联合诊断效能的 ROC 曲线  
Figure 2 ROC curves of combined diagnosis efficiency of CTCs, 7-AAB and tumor markers

表4 CTCs、7-AAB、肿瘤标志物单独及联合诊断效能比较

Table 4 Comparison of the diagnostic efficacy of CTCs, 7-AAB, and tumour markers alone and in combination

项目	灵敏度/%	特异度/%	阳性似然比	AUC	95%CI	P
CTCs+7-AAB+肿瘤标志物	87.6	84.6	5.688	0.914	86.8~96.1	<0.001
CTCs+7-AAB	82.0	82.1	4.581	0.864	80.5~92.3	<0.001
CTCs+肿瘤标志物	77.6	76.9	3.359	0.843	78.0~90.6	<0.001
肿瘤标志物联合	64.6	87.2	5.047	0.768	69.5~84.1	<0.001
CTCs	84.5	76.9	3.658	0.801	72.4~87.8	<0.001
7-AAB 联合	64.6	87.2	5.047	0.777	70.8~84.6	<0.001
P53	81.4	56.4	1.867	0.676	57.8~77.3	0.001
PGP9.5	50.3	59.0	1.227	0.516	41.0~62.3	0.752
SOX2	76.4	38.5	1.242	0.539	43.8~64.1	0.446
GAGE7	52.8	59.0	1.288	0.545	45.1~63.9	0.385
GBU4-5	41.0	87.2	3.203	0.609	52.1~69.7	0.035
MAG	9.3	94.9	1.824	0.458	35.1~56.6	0.418
CAGE	72.7	46.2	1.351	0.558	45.4~66.1	0.262
CA72-4	49.7	79.5	2.424	0.626	53.8~71.5	0.015
CYFRA21-1	43.5	76.9	1.883	0.579	49.0~66.8	0.126
NSE	69.6	56.4	1.596	0.635	53.6~73.3	0.009
CEA	60.2	64.1	1.677	0.636	54.2~73.0	0.009
CA125	42.9	79.5	2.093	0.637	54.4~72.9	0.008

### 3 讨论

肺癌的发病率持续攀升<sup>[4]</sup>,液体活检作为诊断的补充方式给肺癌的诊断提供了新思路和新方向<sup>[5]</sup>。CTCs、肺癌自身抗体及肿瘤标志物是基础实验和临床研究的热点。肿瘤标志物对于特定的恶性肿瘤有较高的诊断灵敏度;单项肺癌自身抗体肺癌诊断的灵敏度不高,七项联合的诊断效能明显提高。本研究将三项指标联合检测,从而提高其在 NSCLC

中的诊断价值。

CTCs 是指肿瘤细胞离开原发部位、进入血液转移而种植到其他器官的癌细胞,是恶性肿瘤转移定植的前体<sup>[6]</sup>。原发部位的肿瘤 CTCs 在转移入外周血的过程中,由于受到机体自身免疫系统的攻击和清除,其数量会大量减少<sup>[7]</sup>。因此有效的富集和捕获 CTCs 的方法至关重要,目前富集法中获得美国食品药品监督管理局唯一批准的方法是 CELLSEARCH® 法<sup>[8]</sup>。阴性富集基于通过靶向造血细胞谱系的特异性抗原 CD45 来耗尽造血细

胞<sup>[9]</sup>,从而允许循环上皮细胞的富集。研究表明,>70%的NSCLC患者高表达叶酸受体<sup>[10]</sup>。Young等<sup>[11]</sup>研究发现,叶酸受体,特别是叶酸 $\alpha$ 亚型受体( $\alpha$ -folate receptor,  $\alpha$ -FR)阳性CTCs参与癌细胞增殖和转化,在癌症的诊断中可能是一种有效的生物标志物。本研究使探针上的叶酸类似物和寡核苷酸结合物与CTCs表面的 $\alpha$ -FR结合,经过后续的PCR扩增分析,能够在少量的检测中发现含量极少的CTCs,故能准确且充分地检测外周血中的CTCs数量<sup>[12]</sup>。

本研究结果显示,161例NSCLC患者外周血叶酸受体阳性CTCs以8.9 FU/3 mL为最佳截断值,诊断的灵敏度和特异度分别为84.5%、76.9%,AUC曲线下面积为0.801。根据不同临床特征进行了外周血CTCs检出阳性率的比较。绝大多数存在淋巴结转移的患者CTCs检测为阳性(18/19),且检出的CTCs数量整体水平高于无淋巴结转移患者,提示当肺癌发生淋巴结转移时外周血中应具有更多的CTCs,但由于本研究纳入的合并淋巴结转移的晚期肺癌患者样本量较小,故组间差异无统计学意义( $P=0.253$ )。本研究还发现, $\geq 61$ 岁患者外周血中检测出了更多的CTCs,这很大程度上是由于部分高龄患者在接受手术治疗时疾病已经处于进展阶段,且 $< 61$ 岁患者中诊断为早期肺癌如微浸润性腺癌的患者占了较大比例,因此二者之间差异有统计学意义( $P=0.001$ )。在肿瘤直径 $> 3$  cm和T3-T4期患者外周血中均检测出了较多的CTCs,且与直径 $\leq 3$  cm和T1-T2期患者外周血中的CTCs数量差异有统计学意义( $P=0.017$ ,  $P=0.035$ )。一方面肿瘤直径的增大意味着侵袭性的增强,上皮-间质转化过程更加活跃,肿瘤细胞更容易从原发病灶脱落进入毛细血管后微静脉;另一方面,更大的直径为肿瘤内部的增生血管提供了适宜环境,随着血管通透性的增加,肿瘤细胞侵入肿瘤内基底膜的不完整新生血管的数量大大增多。不同的肿瘤病理分型中检测出不同数量的CTCs。本研究的NSCLC中,腺癌占比较高,且由于腺癌可能相对于鳞癌较早发生血行转移,使得血液中检出的CTCs数量增多。不同临床分期的肿瘤患者外周血中的CTCs差异有统计学意义( $P=0.005$ ),CTCs在肿瘤的早期阶段检出数量有限,但在肿瘤的转移过程中具有重要作用,理论上晚期阶段或者有淋巴结转移的患者外周血中的CTCs具有更明显的意义<sup>[13]</sup>。根据Krebs等<sup>[14]</sup>研究结果,IV期的NSCLC患者CTCs数量高于III A期及III B期,也证实了相对晚期的肺癌患者要比早期肺癌患者的外

周血中CTCs数量多。而Jin等<sup>[15]</sup>研究发现,早期阶段(I~II)肺癌患者中检测到CTC可能提示肿瘤细胞提早发生了血管的微浸润和微转移灶的形成,预后较晚期阶段(III~IV)差。因此,通过监测患者外周血中CTCs数量,可一定程度上预示患者肿瘤转移,为后续提供辅助诊疗参考。

肺癌7-AAB已经被证实是早期发现肺癌的可靠、具体指标<sup>[16]</sup>。研究表明,肺癌自身抗体在早期筛查中较CT提前4~5年发现癌变<sup>[17]</sup>。Mu等<sup>[18]</sup>研究发现,所有7-AAB单独诊断肺癌的灵敏度均较低,诊断效率不佳。本研究中,P53和GBU4-5在诊断NSCLC时有一定的意义( $P=0.001$ ,  $P=0.035$ )。P53在肿瘤的进展中有所表现,在诸多肿瘤(如肺癌、结直肠癌等)中均有表达,而在这些恶性肿瘤中有约50%的P53基因发生突变<sup>[19]</sup>。在本研究的随访中,有两例P53阳性患者发生了远处转移。GBU4-5在癌变过程中具有肿瘤特异性和免疫原性<sup>[20-21]</sup>,在本研究中诊断的灵敏度为41.0%、特异度为87.2%。除这两项外,其余五项抗体单独检测的临床意义不高,故临床上多不将单项抗体作为单独的检验指标。Du等<sup>[22]</sup>研究也表明,将七项抗体联合检测比单项抗体检测更加有利。

肿瘤标志物是肿瘤患者临床检验指标<sup>[23]</sup>。本研究选择大多数研究及临床中NSCLC筛查较多的五项肿瘤标志物(CA72-4、CYFRA21-1、NSE、CEA、CA125)作为研究项目。NSE和CEA是较为成熟的肿瘤标志物,本研究结果亦表明其具有较高的灵敏度和特异度。既往研究表明,CEA在肺腺癌中具有较高的表达,与本研究结果相符<sup>[24]</sup>。

本研究结果表明,七项肺癌抗体联合诊断的灵敏度为64.6%、特异度为87.2%,高于每个抗体单独诊断NSCLC的效能,七项抗体联合对于诊断NSCLC存在明显的意义(AUC=0.777, 95% CI: 70.8~84.6,  $P<0.001$ );同时五项肿瘤标志物联合诊断的效能显著大于单个肿瘤标志物(AUC=0.768, 95% CI: 69.5~84.1,  $P<0.001$ )。进一步探讨CTCs、抗体以及肿瘤标志物的联合检测价值可以发现,CTCs+7-AAB的曲线下面积为0.864,灵敏度为82.0%,特异度为82.1%;CTCs+肿瘤标志物曲线下面积为0.843,灵敏度为77.6%,特异度为76.9%,继而得出结论:CTCs与7-AAB和肿瘤标志物分别联合检测均可以提高三者对于NSCLC诊断的价值。三者联合检测的曲线下面积为0.914,诊断的灵敏度为87.6%,特异度为84.6%,具有统计学意义( $P<0.001$ ),提升了三项指标单独检测以及两两结合的

临床检验价值。本研究亦发现,三种方案结合的可信区间有部分重叠,一方面可能是本研究中选取样本的随机性误差使得两项指标的联合诊断效能达到相对高的结果,故三项指标结合提升的诊断效能有限,另一方面可能是因为本研究的样本量仍不足,未来将进一步扩大样本量、进行多中心联合研究,从而更精准、更有效地评估三种指标在 NSCLC 诊断中的作用。阳性似然比结果显示,三种方案联合诊断的阳性似然比值最高,肺癌自身抗体和肿瘤标志物的阳性似然比值虽较高,但 AUC 面积较小且诊断的灵敏度、置信区间均低于三项指标联合,表明三种指标联合诊断阳性与临床上 NSCLC 相关。

综上所述,本研究结果表明,CTCs、肺癌自身抗体、肿瘤标志物联合检测能够提高 NSCLC 的诊断价值,三项联合检测可为临床上 NSCLC 的诊断及筛查提供一定的参考。

## 参考文献:

- [1] Popper H. Pathologic diagnosis of lung cancer—recent developments[J]. *Curr Opin Oncol*, 2024, 36(1): 57-62.
- [2] 孙硕,王锋,何立,等.液体活检生物标志物及其联合影像学在肺癌早期诊断中应用的研究进展[J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2023, 30(2): 313-319.  
SUN Shuo, WANG Feng, HE Li, et al. Research progress on liquid biopsy and its combination of radiology in diagnosis of pulmonary nodules[J]. *Chinese Journal of Clinical Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2023, 30(2): 313-319.
- [3] 赵婷,徐秋月,李娅,等.循环 circRNA 作为肺癌液体活检标志物的研究进展[J]. *临床检验杂志*, 2022, 40(3): 234-237.
- [4] Bade BC, Dela Cruz CS. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention[J]. *Clin Chest Med*, 2020, 41(1): 1-24.
- [5] Lin DF, Shen LS, Luo M, et al. Circulating tumor cells: biology and clinical significance[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6: 404. doi:10.1038/s41392-021-00817-8
- [6] Zhu HH, Liu YT, Feng Y, et al. Circulating tumor cells (CTCs)/circulating tumor endothelial cells (CTECs) and their subtypes in small cell lung cancer: predictors for response and prognosis[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(20): 2749-2757.
- [7] Carvalho Â, Ferreira G, Seixas D, et al. Emerging lab-on-a-chip approaches for liquid biopsy in lung cancer: status in CTCs and ctDNA research and clinical validation[J]. *Cancers*, 2021, 13(9): 2101. doi:10.3390/cancers13092101
- [8] Maly V, Maly O, Kolostova K, et al. Circulating tumor cells in diagnosis and treatment of lung cancer[J]. *In Vivo*, 2019, 33(4): 1027-1037.
- [9] Costa C, Dávila-Ibáñez AB. Methodology for the isolation and analysis of CTCs[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1220: 45-59. doi:10.1007/978-3-030-35805-1\_4
- [10] 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(5): 833-840.
- [11] Young O, Ngo N, Lin L, et al. Folate receptor as a biomarker and therapeutic target in solid tumors[J]. *Curr Probl Cancer*, 2023, 47(1): 100917. doi:10.1016/j.currprobcancer.2022.100917
- [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.  
TANG Xing, JIANG Dong, ZHAO Jun. Peripheral blood folate receptor-positive circulating tumor cells detection in the screening of non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Chinese Practical Diagnosis and Therapy*, 2021, 35(3): 280-283.
- [13] Ren F, Fei Q, Qiu K, et al. Liquid biopsy techniques and lung cancer: diagnosis, monitoring and evaluation[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 96. doi:10.1186/s13046-024-03026-7
- [14] Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(12): 1556-1563.
- [15] Jin F, Zhu L, Shao J, et al. Circulating tumour cells in patients with lung cancer universally indicate poor prognosis[J]. *Eur Respir Rev*, 2022, 31(166): 220151. doi:10.1183/16000617.0151-2022
- [16] Zhang XZ, Liu M, Zhang X, et al. Autoantibodies to tumor-associated antigens in lung cancer diagnosis[J]. *Adv Clin Chem*, 2021, 103: 1-45. doi:10.1016/bs.acc.2020.08.005
- [17] Zhong L, Coe SP, Stromberg AJ, et al. Profiling tumor-associated antibodies for early detection of non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2006, 1(6): 513-519.
- [18] Mu Y, Xie F, Sun T. Clinical value of seven autoantibodies combined detection in the diagnosis of lung cancer[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(8): e23349. doi:10.1002/jcla.23349
- [19] Ning YC, Hui N, Qing B, et al. ZCCHC10 suppresses lung cancer progression and cisplatin resistance by attenuating MDM2-mediated p53 ubiquitination and degradation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 414. doi:10.1038/s41419-019-1635-9