

Advances in Noninvasive Screening for Early Lung Cancer

Ya'nan Chen¹, Sai Chen¹, Qishan Mao^{2*}

¹Medical School, Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Respiratory Medicine, Yuhuangding Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Yantai Shandong

Email: *18354519921@163.com, *dcmqs@163.com

Received: Jun. 24th, 2018; accepted: Jul. 10th, 2018; published: Jul. 17th, 2018

Abstract

Lung cancer is the world's highest incidence and mortality of malignant tumors and its five-year survival rate is about 15.6%. Despite progress in surgery, chemotherapy and radiotherapy, in contrast, the long-term survival rate is still low. One of the main reasons for the high mortality rate of lung cancer is that the majority of lung cancer is advanced at the time of diagnosis, and the survival rate of lung cancer IV is only 2%, while the 5-year survival rate of IA and IB phases is as high as 50% and 47% respectively. If lung cancer can be detected early, it will significantly improve the patient's survival and prognosis. Therefore, effective screening for early lung cancer is one of the main challenges in the field of lung cancer. Lung cancer biomarkers can be used for screening, detection, diagnosis, prognosis, stratification of the prediction, detection and response to treatment. Detection of biomarkers in body fluids, including blood (serum or plasma), phlegm, saliva, pleural effusion, exhaled gas, etc, is one of the most convenient and routine clinical applications. This paper summarized the study progress and the development direction of early lung cancer screening method, different from the existing means, such as, imaging examination, endoscopic biopsy, CT-guided lung biopsy for pathology, it is with the characteristics of noninvasive, simple.

Keywords

Early Lung Cancer, Screening Methods, Noninvasive

早期肺癌无创筛查方法的研究进展

陈亚南¹, 陈 赛¹, 毛琦善^{2*}

¹青岛大学医学院, 山东 青岛

²青岛大学医学院附属毓璜顶医院, 呼吸内科, 山东 烟台

Email: *18354519921@163.com, *dcmqs@163.com

*通讯作者。

摘要

我国肺癌的发病率和死亡率均位列世界第一，尽管在手术、化疗和放疗方面有进展，相比之下，长期生存率仍然很低。肺癌的高死亡率最主要原因之一是确诊时大多已属晚期，肺癌IV生存率仅为2%，而IA和IB期的5年生存率分别高达50%和47%。如果能早期发现肺癌，将会明显改善病人的生存期和预后。因此，对早期肺癌进行有效筛查是目前肺癌领域面临的主要挑战之一。肺癌生物标记物可用于筛查、检测、诊断、预后、预测、分层、治疗反应检测等，检测体液中的生物标记物是最方便和常规的临床程序之一，其中体液包括血液(血清或血浆)、痰、唾液、胸腔积液、呼出气体等。该文总结了在分子生物学方面早期肺癌筛查方法的研究进展及发展方向，不同于影像学检查、气管镜活检、CT引导肺穿刺取病理等现有手段，它具有无创、简便的特点。

关键词

早期肺癌，筛查方法，无创

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌是严重危害人类健康的疾病，具有高发病率(约 52/100,000)、高病死率(约 28/10,000)的特点[1]。在我国，肺癌已成为癌症死亡的首要原因，且发病率和死亡率在逐年增长。肺癌是起源于支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤，早期症状并不明显，容易错过最佳治疗时机。大部分患者确诊时已处于中晚期，预后差；如果能较早的发现肺癌和及时进行手术治疗，5 年生存率能明显提高。近些年许多研究表明，体液中肿瘤标记物的检测在早期肺癌的筛查中有重要意义。

2. 新的痰液检查技术

目前新的痰液检查方法包括：1) 液基薄层细胞学制片技术，可较常规的痰液检查明显提高恶性细胞的发现率，2) 24 小时痰液凝固沉渣切片检查，阳性率明显优于痰液涂片，两者的联合检查阳性率更高。但是，对呼吸道获得的标本进行细胞学检查是一种高度特异性但敏感度中等的肺癌诊断程序，而使用分子生物标志物可增强肺癌检测中的敏感性。补体因子 H 则是一种有临床意义的分子生物标志物，它实质是一种由肺癌细胞分泌的蛋白质，可在肺癌患者和非恶性呼吸系统疾病患者的痰液中被量化。Pio Ruben 等人于 2010 年对肺癌患者和对照组的痰液上清液进行了检测[2]，得出了肺癌患者痰液中补体 H 因子升高的结论，且该因子在肺癌诊断中的灵敏性和特异性为 80%和 88%。另有国内学者 Liu Di 等人通过系统文献检索共获得 33 项研究，包括 4801 名受试者(2238 名肺癌患者和 2563 名对照组)和 32 个基因，发现痰标准中甲基化基因可用于肺癌的早期筛查和辅助检测，总体敏感性为 0.46 (0.41~0.50)，特异性为 0.83 (0.80~0.86) [3]。由此看来，痰液中分子生物标记物的检测可作为筛查肺部恶性疾病的辅助手段。

3. 多个抗体联合诊断

在肿瘤的发生发展过程中,免疫系统发挥着不可或缺的作用,实体肿瘤自身免疫假说认为,肿瘤发生后,肿瘤细胞的特异性抗原激活人体免疫系统,这些抗原实质为肿瘤坏死或凋亡时释放的异常蛋白质[4]。虽然在肿瘤早期只有低水平的肿瘤抗原被释放入血,但免疫系统具有免疫生物信号放大作用,会产生大量抗体——肿瘤自身相关抗体。单个抗体诊断敏感性有限,近年来的研究多联合多个抗体对恶性肿瘤进行诊断。国内外许多学者对不同抗体的组合进行了敏感性和特异性研究。学者 Hanash 等人应用血清蛋白组学分析技术,联合检测血清中 14-3-3theta、annexin163、PGP9.5 这三种肿瘤相关抗体,结论为在早期肺癌筛查中敏感性为 55%、特异性为 95% [5]; 另有国内学者以早期肺癌患者和健康者为研究对象,联合 SOX2、GBU4-5、CAGE、P53、PGP9.5、GAGE7、MAGEA1 这 7 种抗体测得敏感性 56.53%, 特异性 96.10%, 且阳性率不受组织学类型、TNM 分期、病灶大小的影响[6], 其可作为早期肺癌筛查的一种新方法。随着研究不断深入,会有越来越多的抗体被发现,早期肺癌筛查的敏感性和特异性有望进一步提高。

4. 呼出气体的检测

近些年,不少学者在呼出气体方面做了深入研究。呼出气体分析仪可以检测呼出气体中的多种氧化性应激及炎症标记物,而这些标记物广泛参与了呼吸系统疾病的发病过程。在呼出气体检测中,主要有两种检测方法,一种是气相检测,另一种是将呼出气液化进行检测。较早的研究是在 1985 年, Gordon 与 O'Neill 等分析了 12 例肺癌患者及健康对照者之间不同的质谱峰值分析图,从而提出呼出气体中的 28 种有机化合物可作为候选的肺癌标志性气体成分,主要是烷烃类及衍生物、苯及其衍生物。随后许多学者对联合多种不同呼出气体有机化合物进行了研究,在建立肺癌预测和诊断模型及模型应用方面进行了探索。Corradi, M.等在 2003 年收集并检测了肺癌患者和健康者呼气中的数种有机物,发现在肺癌患者的呼气中含量升高的有戊烷及其甲基衍生物[7]。2005 年 Poli, D.等研究了不同分期(Ia、Ib 及 IIa 期)的非小细胞肺癌患者,对照组有健康者、吸烟者及慢性阻塞性肺疾病患者,检测了 13 种呼出气体有机化合物,包含戊烷、辛烷、癸烷、2-甲基戊烷、苯和苯乙烯等,以上 13 种化合物在早期肺癌筛查中的灵敏性为 72.2%, 特异性 93.6% [8]。另有文献报道, Schumer Erin, M.对已确定为肺癌特异性标记物的呼出气中的几种羰基化合物(2-丁酮, 3-羟基-2-丁酮, 2-羟基乙醛和 4-羟基己醛)进行了研究,研究对象为 156 例肺癌患者, 65 例良性疾病患者及 194 例健康者,呼气分析结果显示检测肺癌患者的灵敏度为 93.6%, 特异性为 85.6%; 在癌症与良性疾病的比较中,标记物的特异性与升高的肿瘤标记物的数量成正比[9]。另外,呼出气冷凝液生物标志物检测也是近年出现的一种非介入性检查技术,其成分既包括代谢产物,也包括各种细胞因子、DNA 和蛋白质。Carpagnano 等对呼出气体冷凝液中白细胞介素-6 进行了临床对照研究,结果表明非小细胞肺癌组呼出气体冷凝液中白细胞介素-6 水平明显高于健康查体组,差异有统计学意义,且白细胞介素-6 水平和肺癌分期显著相关[10]。也有人研究表明非小细胞肺癌病人呼出气冷凝液中癌胚抗原的水平高于对照组[11]。对于有肺癌风险的人来说,一种可靠的呼气分析方法尤为重要,在以后早期肺癌患者的筛查应用中前景广阔。

5. 液体活检技术

液体活检技术检测体液(如血清、痰)中的循环肿瘤细胞、循环肿瘤核酸、外泌体等这些物质。第一,循环肿瘤细胞是指脱离肿瘤原发灶或转移灶而进入外周血循环的肿瘤细胞,可实现肿瘤的体外早期诊断。CHEN 等纳入 227 例肺部良性病变患者、473 例非小细胞肺癌患者及 56 例健康人,发现循环肿瘤细胞诊断非小细胞肺癌的敏感性和特异性分别为 72.46%和 88.56%,且对已确诊非小细胞肺癌的不同分期患者进

行循环肿瘤细胞检测,发现阳性率为84%,其中早期肺癌患者的发现率为57% [12],相比传统的肿瘤标记物而言,其优势更为明显。第二,在体液中循环肿瘤核酸数量较循环肿瘤细胞多,包括循环肿瘤DNA和RNA。Bettegowda等研究了小细胞肺癌中I-IV期患者,发现循环肿瘤DNA的检出率分别为47%、55%、69%、82% [13]。循环肿瘤RNA(miRNA)是指血液或体液中游离的RNA,在诸如血浆、血清、唾液、痰、乳汁等中稳定存在。报道显示通过分析miRNAs表达谱的差异可以区别肺癌与正常组织,区别小细胞肺癌、非小细胞肺癌以及区别肺鳞癌和肺腺癌。所以许多国外学者对miRNAs这一潜在价值进行了深入研究。有研究发现非小细胞肺癌患者血液中有63种miRNA表达升高,与健康者对比,差异具有统计学意义;还有其他的一些miRNA,如miR-155、miR-1254等,也相继被报道有望成为早期肺癌筛查的生物学标记[14];南京医科大学在2017年对141个肺腺癌患者和124名健康者进行了对照研究,通过检测两组受试者血浆中miRNA浓度筛选可用于早期肺腺癌监测的潜力miRNAs,发现的miRNA被得到证实[15]。因此,对于miRNAs表达谱的研究能够通过简便、无创的方法提高肺癌筛查的准确性。另外,外泌体是参与细胞“内吞-融合-外排”过程所产生的囊泡,含有蛋白质、核酸和脂质等成分,在肿瘤的微环境调节、侵袭、转移、免疫逃逸及化疗耐药等有着重要作用;它可以从血浆、痰液、尿液等多种体液中检测到。其外泌体miRNA不同于直接在血液中的miRNA,它们都是被封存在外泌体中发挥作用的。Cazzoli等发现外泌体中有742个miRNA,其中miR-139-5p、miR-379、miR-378a和miR-200b-5p这4种外泌体miRNA可作为区别肺腺癌与健康吸烟人群的生物学标志物[16];Taverna,S.等发现肺癌患者体液中外泌体来源的miR-20b、miR-25、miR-30e-3p等的含量与正常人相比有明显差异,其中miR 25在肺癌患者血浆中的含量较正常人显著增高,而miR-20b和miR-30e-3p的含量明显降低[17]。总之,通过对体液中外泌体来源的miRNA的不断检测,会为肺癌患者的早期筛查提供更为科学的依据。

6. 蛋白组学

当抑癌基因功能减弱甚至消失或致癌基因功能增强时,肿瘤细胞得以繁殖,基因功能最终由蛋白功能表现。蛋白组学通过比较癌细胞和正常细胞内蛋白质的表达,对差异表达的蛋白质进行定性定量分析,筛选与肿瘤相关的生物标记物,这可成为早期肺癌筛查的另一种方法,具有灵敏度、特异性高,可重复性等优势。Zhang等研究了肺腺癌和正常组织的蛋白之间的差异,对其发现的568个差异蛋白进行鉴定,其中257个蛋白表达上调和311个下调[18];Yu等通过检测6例早期肺癌患者和5个健康人痰上清液中蛋白质表达情况,初步验证烯醇化酶1可能是一个肺癌早期的肿瘤标记物[19];Jin等分析了小鼠肺癌模型内皮细胞和正常内皮细胞的蛋白组学,表示transgelin-2为肺癌的潜在标记物[20]。2017年有国外学者分析了呼气凝集液中的蛋白组学是否可以为肺癌的早期无创筛查提供有价值的生物标记物,收集了192例患者(48例肺癌患者,46例慢性阻塞性肺疾病,49例危险因素吸烟,49例对照组),采用液相色谱法和串联质谱法,在呼气凝集液样品中鉴别出以上4组中有348种不同模式的蛋白,因此,对呼气凝集液样本进行蛋白组学分析是开发肺癌诊断生物标记物的一种合适的方法[21]。虽然蛋白组学在临床中的应用似乎很少,但最近启动的“精准医疗倡议”可能会鼓励其转化为临床实践。

7. 结语

肺癌的发病率和死亡率持续增长,是我国癌症死亡的最常见病因。临床上存在相当一部分早期肺癌患者缺乏典型的症状和体征,在X线、CT等传统影像学检查方法中表现不典型,现有的支气管镜技术、CT引导性肺穿刺活检也难以获取病理明确诊断。肺癌早期诊断意义重大,不断寻找敏感性、特异性高的生物标志物以及更高效的检测方法用于辅助肺癌的临床诊断非常有必要。肿瘤细胞具有高代谢的特点,自身可持续异常合成分泌各种特殊成分物质,可以较早的在血清、痰、呼出气体等体液中检测到,此方

法具有简单、方便、成本低、无创的优点。本综述就近些年国内外学者在分子生物学基础上探讨的早期肺癌筛查的有效措施进行了总结,表明了痰液中 DNA 含量变化、多种抗体的联合检测、循环肿瘤细胞及核酸的检测、呼出气体异常成分的检测及检测差异蛋白等方法,均在早期肺癌的筛查中有很价值。但我们应该意识到在生物标记物的开发验证和临床应用仍然存在差距,现在我们应该在大规模临床样本中广泛地验证多种类型的生物标记物,评估其在各种组合中的有效性,以发现最优的肿瘤标记物组合,提高早期肺癌检出率,实现肺癌的早发现、早治疗,提高生存期限,改善预后。总之,分子生物标记物的检测在肺癌早期发现中有广阔的应用前景,有望开发出能应用于临床的有效诊疗措施。

参考文献

- [1] 赵华平, 伍传琦. 血清肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的价值[J]. 中外医学研究, 2011, 33(22): 355-356.
- [2] Pio, R., Garcia, J., Corrales, L., *et al.* (2010) Complement Factor H Is Elevated in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Sputum from Patients with Lung Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **19**, 2665-2672. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0467>
- [3] Liu, D., Peng, H., Sun, Q., Zhao, Z., Yu, X., Ge, S. and Wang, Y. (2017) The Indirect Efficacy Comparison of DNA Methylation in Sputum for Early Screening and Auxiliary Detection of Lung Cancer: A Meta-Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **14**, 679. <https://doi.org/10.3390/ijerph14070679>
- [4] 祁松楠, 钱忠萍, 顾国浩, 等. 肺癌血清自身抗体及其应用的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2014(18) 2506-2509.
- [5] Pereirafaca, S.R., Kuick, R., Puravs, E., Zhang, Q., Krasnoselsky, A.L., Phanstiel, D., *et al.* (2007) Identification of 14-3-3 θ as an Antigen That Induces a Humoral Response in Lung Cancer. *Cancer Research*, **67**, 12000. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-2913>
- [6] 袁绮. p53 等七种肿瘤相关抗体在肺癌早期诊断中的意义[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连医科大学, 2017.
- [7] Phillips, M., Cataneo, R.N., Cummin, A.R., Gagliardi, A.J., Gleeson, K., Greenberg, J., *et al.* (2003) Detection of Lung Cancer with Volatile Markers in the Breath. *Chest*, **123**, 2115-2123. <https://doi.org/10.1378/chest.123.6.2115>
- [8] Poli, D., Carbognani, P., Corradi, M., Goldoni, M., Acampa, O., Balbi, B., *et al.* (2005) Exhaled Volatile Organic Compounds in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: Cross Sectional and Nested Short-Term Follow-Up Study. *Respiratory Research*, **6**, 71. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-6-71>
- [9] Schumer, E.M., Trivedi, J.R., Berkel, V.V., Black, M.C., Li, M., Fu, X.A., *et al.* (2015) High Sensitivity for Lung Cancer Detection Using Analysis of Exhaled Carbonyl Compounds. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*, **150**, 1517-1524. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2015.08.092>
- [10] Carpagnano, G.E., Foschino-Barbaro, M.P., Mulé, G., Resta, O., Tommasi, S., Mangia, A., *et al.* (2005) 3p Microsatellite Alterations in Exhaled Breath Condensate from Patients with Nonecsmall Cell Lung Cancer. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, **172**, 738. <https://doi.org/10.1164/rccm.200503-439OC>
- [11] 沈巨信, 秦娥, 周国忠, 等. 呼出气冷凝液癌胚抗原检测在非小细胞肺癌诊断和分期中的意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2017(12): 1719-1720.
- [12] Chen, X., Wang, X., He, H., Liu, Z., Hu, J.F. and Li, W. (2015) Combination of Circulating Tumor Cells with Serum Carcinoembryonic Antigen Enhances Clinical Prediction of Non-Small Cell Lung Cancer. *Plos One*, **10**, e0126276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126276>
- [13] Bettegowda, C., Sausen, M., Leary, R.J., Kinde, I., Wang, Y., Agrawal, N., *et al.* (2014) Detection of Circulating Tumor DNA in Early- and Late-Stage Human Malignancies. *Science Translational Medicine*, **6**, 224ra24. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007094>
- [14] Roth, C., Kasimirbauer, S., Pantel, K. and Schwarzenbach, H. (2011) Screening for Circulating Nucleic Acids and Caspase Activity in the Peripheral Blood as Potential Diagnostic Tools in Lung Cancer. *Molecular Oncology*, **5**, 281-291. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.02.002>
- [15] Zhou, X., Wen, W., Shan, X., *et al.* (2107) A Six-MicroRNA Panel in Plasma Was Identified as a Potential Biomarker for Lung Adenocarcinoma Diagnosis. *Oncotarget*, **8**, 6513-6525.
- [16] Cazzoli, R., Buttitta, F., Di, N.M., Malatesta, S., Marchetti, A., Rom, W.N., *et al.* (2013) Micromas Derived from Circulating Exosomes as Noninvasive Biomarkers for Screening and Diagnosing Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, **8**, 1156-1162. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318299ac32>
- [17] Taverna, S., Giallombardo, M., Gilbazo, I., Carreca, A.P., Castiglia, M., Chacártégui, J., *et al.* (2016) Exosomes Isola-

- tion and Characterization in Serum Is Feasible in Non-Small Cell Lung Cancer Patients: Critical Analysis of Evidence and Potential Role in Clinical Practice. *Oncotarget*, 7, 28748-28760. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7638>
- [18] Zhang, X., Li, W., Hou, Y., Niu, Z., Zhong, Y., Zhang, Y., *et al.* (2014) Comparative Membrane Proteomic Analysis between Lung Adenocarcinoma and Normal Tissue by Itraq Labeling Mass Spectrometry. *American Journal of Translational Research*, 6, 267-280.
- [19] Yu, L., Shen, J., Mannoor, K., Guarnera, M. and Jiang, F. (2014) Identification of ENO1 as a Potential Sputum Biomarker for Early Stage Lung Cancer by Shotgun Proteomics. *Clinical Lung Cancer*, 15, 372-378.e1. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2014.05.003>
- [20] Jin, H., Xiao, C., Pei, Y., Fu, J., Zhi, L., Peng, H., *et al.* (2015) Identification and Verification of Transgelin-2 as a Potential Biomarker of Tumor-Derived Lung-Cancer Endothelial Cells by Comparative Proteomics. *Journal of Proteomics*, 136, 77-88. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.12.012>
- [21] López Sánchez, L.M., Juradogámez, B., Feucollado, N., Valverde, A., Cañas, A., Fernándezrueda, J.L., *et al.* (2017) Exhaled Breath Condensate Biomarkers for the Early Diagnosis of Lung Cancer Using Proteomics. *American Journal of Physiology Lung Cellular & Molecular Physiology*, 313, L664-L676.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-540X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: md@hanspub.org