

血清巨噬细胞抑制因子-1 在肺癌诊断中的临床应用

沈迪,王小兵,车轶群,刘秋颖,许潇天,张伟,齐军
(北京协和医学院中国医学科学院肿瘤医院,北京 100021)

摘要: [目的] 研究巨噬细胞抑制因子-1 (MIC-1) 血清水平在肺癌诊断中的临床应用价值。[方法] 采用 ELISA 方法检测 324 例肺癌患者、48 例肺良性疾病患者和 229 例正常对照人群血清 MIC-1 浓度,并检测肺癌患者血清 CEA、CA125、NSE、CYFRA21-1 和 SCC 浓度。[结果] 肺癌组患者血清中 MIC-1 浓度显著性高于正常对照组 ($P<0.001$) 和肺良性疾病组 ($P<0.001$)。MIC-1 诊断肺癌的敏感度和特异性分别为 71.3% 和 96.5%。MIC-1 诊断肺癌的敏感度优于已有标志物 CEA、CA125、NSE、SCC 和 CYFRA21-1;在肺癌早期(I~II 期)阶段, MIC-1 的敏感度优于其他 5 种标志物的联合诊断(I 期:66.7% vs 47.6%, II 期:71.7% vs 65.0%);6 种标志物联合诊断则能使 I 期和 II 期肺癌诊断敏感度分别提高至 77.1% 和 83.3%。[结论] MIC-1 可能成为比较理想的肺癌诊断标志物。

关键词: 巨噬细胞抑制因子-1;肿瘤标志物;肺癌;诊断

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2015)05-0421-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2015.05.A015

Clinical Application of Serum Macrophage Inhibitory Cytokine-1 for Diagnosis of Lung Cancer

SHEN Di, WANG Xiao-bing, CHE Yi-qun, et al.

(Cancer Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the clinical value of macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) as a serum tumor marker for the diagnosis of lung cancer. [Methods] The double antibody sandwich ELISA was used to detect serum MIC-1 level in 324 cases with lung cancer, 48 cases with benign pulmonary disease and 229 healthy persons. Serum CEA, CA125, NSE, CYFRA21-1 and SCC levels were also detected. [Results] MIC-1 concentration in lung cancer group was significantly higher than that in healthy persons group ($P<0.001$) and in benign disease group ($P<0.001$). The specificity and sensitivity of MIC-1 for lung cancer were 96.5% and 71.3% respectively. The sensitivity of MIC-1 for early stage of lung cancer was higher than that of CEA, CA125, NSE, SCC and CYFRA21-1 respectively. The sensitivity of MIC-1 for early stage of lung cancer (stage I and stage II) was higher than the combination of the above five markers (stage I: 66.7% vs 47.6%; stage II: 71.7% vs 65.0%). The sensitivity for stage I and stage II reached 77.1% and 83.3% respectively in the combination of the six markers. [Conclusions] Serum MIC-1 level might be an ideal marker in diagnosis for lung cancer.

Key words: macrophages inhibitory cytokine-1; tumor marker; lung cancer; diagnosis

肿瘤标志物在肺癌诊断的临床应用方面已被广大临床医生所关注,但目前尚未发现具体高敏感度及特异性的肺癌肿瘤标志物。因此,研究和发现新的

诊断和监测肺癌发生发展的肿瘤标志物是目前研究的重要课题。巨噬细胞抑制因子-1(MIC-1)是 TGF- β 家族成员,广泛参与细胞凋亡、侵袭及转移等生物学过程。正常人血清中的成熟 MIC-1 蛋白呈低水平稳定表达,在病理状态下如肿瘤、急性损伤及炎症时其表达可显著性升高^[1]。对多种类型肿瘤患者血清 MIC-1 含量进行检测显示肿瘤患者血清 MIC-1 水平高于正

收稿日期:2014-12-29;修回日期:2015-01-27

基金项目:国家高技术研究发展 863 计划资助项目(2008AA02Z415);
北京希望马拉松专项基金临床课题(LC2012A12);国家自然科学基金(81441080)

通讯作者:齐军, E-mail: qijun5610@126.com

常对照和非癌对照,有望成为恶性肿瘤的一个新的血清肿瘤标志物^[2-5]。

1 资料与方法

1.1 病例资料

肿瘤及良性疾病患者均经病理科细胞学或组织病理学确诊,且第一次采血时未接受过任何治疗。2011年9月至2013年5月中国医学科学院肿瘤医院门诊及住院肺癌患者324例,男性206例,女性118例,年龄27~87岁,平均年龄 58.8 ± 9.6 岁。肺良性疾病48例,男性20例,女性28例,年龄23~75岁,平均年龄 53.2 ± 10.5 岁。病理诊断:炎症18例,结核13例,错构瘤8例,硬化性血管瘤6例,腺瘤样增生2例,囊肿1例。

正常对照组为中国医学科学院肿瘤医院防癌科健康体检人群,均无心血管系统及消化系统疾患,肝肾功能正常。正常对照229例,男性127例,女性102例,年龄18~80岁,平均年龄 51.4 ± 11.4 岁。

1.2 样本采集及检测

惰性分离胶的进口真空采血管分别抽取研究对象空腹静脉血4ml;自然凝集30min,4℃、4000rpm离心15min分离血清;分装并-80℃低温冰箱保存待测。

MIC-1检测所用试剂盒由中国医学科学院肿瘤医院研发,北京金紫晶生物医药技术有限公司生产并提供。采用双抗体夹心ELISA法,利用伯乐公司450酶标仪进行450nm、655nm双波长检测,操作严格按照仪器和试剂使用说明书进行。试剂盒自带质控品值均在要求范围内^[6]。

采用Cobas601电化学发光免疫分析仪及配套试剂盒(Roche)检测肺癌患者血清癌胚抗原(CEA)、糖链抗原125(CA125)、神经烯醇化酶(NSE)、细胞角质素片段抗原(CYFRA21-1)浓度,采用I2000化学发光免疫分析仪(Abbott)检测血清鳞状细胞癌相关抗原(SCC)浓度,操作严格按照仪器和试剂使用说明书进行,高、低质控品值均在要求范围内。根据使用说明书,各标志物临界参考值分别为5ng/ml、35U/ml、18ng/ml、1.5ng/ml和3.3ng/ml,在其临界参考值时特异性均在97%左右;多种标志物联合诊断时,阳性标准为任一标志物呈阳性。

1.3 统计学处理

血清中MIC-1浓度用四分位数表示。应用SPSS18.0软件进行统计分析,多个独立样本间的比较用Kruskal-Wallis *H*检验,两个独立样本间比较用Mann-Whitney *U*检验。ROC曲线分析MIC-1检测效能并确定其临界值。统计学检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌、肺良性疾病组及正常对照组血清MIC-1水平比较

与肺良性疾病组和正常对照组比较,肺癌组MIC-1水平差异均有统计学意义($P < 0.001$),肺良性疾病组的MIC-1水平亦高于正常对照组($P < 0.001$)(Table 1)。

Table 1 Serum MIC-1 level in different patients(pg/ml)

Group	N	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅
Lung cancer	324	940.11	1346.28	1826.63
Benign disease	48	667.07	848.12	1239.80
Normal control	229	213.07	367.46	592.59

2.2 血清MIC-1水平与肺癌临床病理学特征的关系

不同病理类型血清MIC-1水平无统计学差异($P = 0.531$)。血清MIC-1水平在不同分化程度组有统计学差异,中低分化组血清MIC-1水平显著性高于高分化组($P = 0.022$)。血清MIC-1水平在不同肿瘤浸润程度(T)、淋巴结转移(N)、远处转移(M)以及I~II期与III~IV期组间差异均无统计学意义($P > 0.05$)(Table 2)。

2.3 MIC-1诊断肺癌的价值

MIC-1诊断肺癌的ROC曲线下面积(area under curve, AUC)为0.912(95%CI:0.886~0.939)。综合考虑ROC曲线和正常对照人群MIC-1水平,设1000pg/ml为诊断肺癌的临界值,MIC-1检测肺癌的敏感度和特异性分别为71.3%和96.5%(Figure 1)。

2.4 MIC-1与其他肿瘤标志物诊断价值比较

血清MIC-1在肺癌患者中显示出良好的敏感度,MIC-1的敏感度远优于CEA、CA125、NSE、SCC和CYFRA21-1(I期分别为66.7%、16.2%、4.8%、1.0%、13.3%和22.9%,II期分别为71.7%、21.7%、8.3%、5.0%、33.3%和48.3%,III期分别为68.4%、

Table 2 The association between MIC-1 levels and clinicopathological feature

Clinicopathological features	N	P ₂₅ (pg/ml)	P ₅₀ (pg/ml)	P ₇₅ (pg/ml)	P value
Pathological type					
Squamous cell carcinoma	91	918.99	1383.53	1854.57	0.531
Adenocarcinoma	193	932.53	1245.43	1877.48	
Small cell carcinoma	26	946.51	1341.63	1761.37	
Sarcomatoid carcinoma	7	1039.66	2086.13	3680.03	
Others*	7	1198.06	1574.50	1757.96	
Differentiation					
High	57	786.09	1092.78	1486.87	0.022
Middle~Low	186	969.77	1371.61	1876.64	
T stage					
T ₁	54	764.40	1199.56	1591.20	0.344
T ₂	167	964.35	1319.87	1875.79	
T ₃	48	877.22	1368.60	1809.53	
T ₄	31	1039.24	1391.50	2348.13	
N stage					
N ₀	142	959.63	1298.19	1853.57	0.672
N ₁ ~N ₃	150	878.68	13317.19	1778.63	
M stage					
M ₀	240	900.19	1317.72	1940.06	0.308
M ₁	78	1036.01	1426.50	1765.86	
Stage					
I ~ II	164	927.04	1324.43	1868.38	0.629
III ~ IV	160	962.73	1360.97	1862.63	

Others:adenosquamous carcinoma and carcinoid tumor

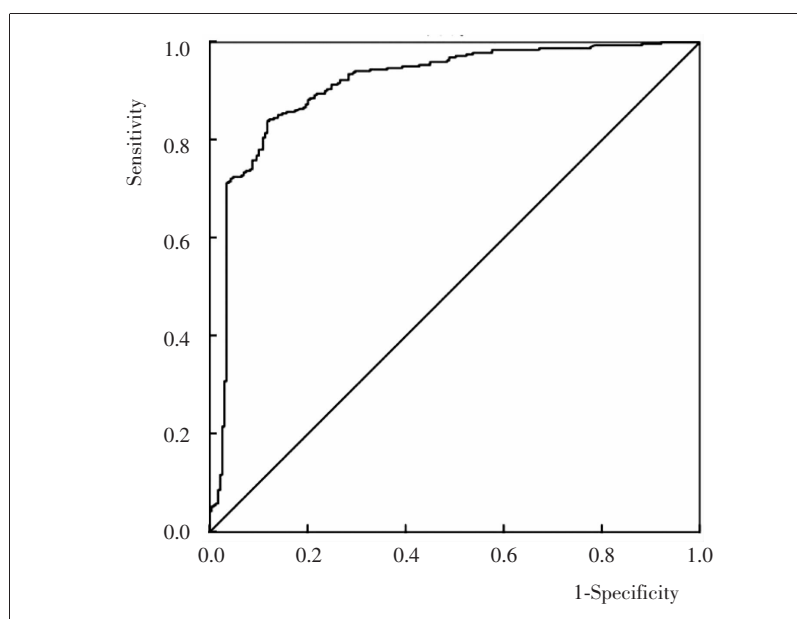


Figure 1 The ROC curve of MIC-1 in diagnosis of early stage lung cancer

39.2%、25.3%、21.5%、31.6%和 53.2%，Ⅳ期分别为 80.0%、56.3%、45.0%、31.3%、20.0%和 58.8%)。在早期肺癌(Ⅰ~Ⅱ期)中,MIC-1 诊断敏感度高于 CEA、

平同样会升高^[3,9,10],提示 MIC-1 作为一种可分泌型的蛋白质,可在外周血中被检测到,故可作为一种血清学指标。MIC-1 也能够较好地反映肿瘤在体内的

CA125、NSE、SCC 和 CYFRA21-1 的联合诊断(Ⅰ期:66.7% vs 47.6%,Ⅱ期:71.7% vs 65.0%)(Table 3)。

在不同病理类型中,MIC-1 诊断敏感度均高于其余 5 种肿瘤标志物。MIC-1 诊断敏感度对肉瘤样癌最高(100%,7/7),依次为小细胞癌(73.1%,19/26),鳞癌组(71.4%,65/91),腺癌(68.9%,133/193)(Table 4)。

3 讨 论

巨噬细胞抑制因子-1 (MIC-1)作为一种细胞因子,广泛参与细胞凋亡、分化、增殖和机体炎症反应的信号传递,并在抑制肿瘤细胞增长、促进凋亡、维持胎盘功能和胚胎发育、调节和保护中枢神经等方面具有重要作用^[7]。肿瘤组织中 MIC-1 表达水平显著性升高,并以二聚体成熟蛋白分泌至细胞外,导致血清 MIC-1 水平的改变。正常人血清中成熟 MIC-1 蛋白呈低水平表达,肿瘤患者血清 MIC-1 水平与正常对照相比有所提高,有望成为恶性肿瘤的一个新的血清标志物^[2,3,8]。Koopmann 等^[9]率先报道了血清 MIC-1 表达水平对胰腺癌的诊断价值,胰腺癌和壶腹周围癌患者血清 MIC-1 水平显著性高于正常人、胰腺良性肿瘤和胰腺炎患者($P<0.05$)。MIC-1 和 CA199 在诊断胰腺癌患者时 ROC 曲线下面积分别为 0.99 和 0.78;但在分辨胰腺炎和胰腺癌时,MIC-1 和 CA199 的 ROC 曲线下面积分别为 0.81 和 0.74,可见,MIC-1 是比 CA199 更敏感的胰腺癌肿瘤标志物。研究同时指出炎症、与胰腺癌有相同症状的疾病(如胆管癌和壶腹癌)患者血清 MIC-1 水

Table 3 Sensitivity of MIC-1 and other 5 tumor markers in lung cancer with different stage

Tumor marker	I	II	III	IV	Total
1.MIC-1	66.7	71.7	68.4	80.0	71.3
2.CEA	16.2	21.7	39.2	56.3	32.7
3.CA125	4.8	8.3	25.3	45.0	20.4
4.NSE	1.0	5.0	21.5	31.3	14.2
5.SCC	13.3	33.3	31.6	20.0	23.1
6.CYFRA21-1	22.9	48.3	53.2	58.8	43.8
Combined 2~6	47.6	65.0	83.5	86.3	69.1
Combined 1~6	77.1	83.3	97.5	98.8	88.6

Table 4 Sensitivity of MIC-1 and other 5 markers in lung cancer with different pathological types

Tumor marker	Squamous cell carcinoma	Adenocarcinoma	Small cell carcinoma	Sarcomatoid carcinoma
1.MIC-1	71.4	68.9	73.1	100.0
2.CEA	20.9	40.4	26.9	14.3
3.CA125	19.8	21.8	15.4	14.3
4.NSE	15.4	7.8	61.5	28.6
5.SCC	44.0	16.1	0	14.3
6.CYFRA21-1	65.9	35.2	26.9	28.6
Combined2~6	82.4	66.3	69.2	42.9
Combined1~6	97.8	84.5	88.5	100.0

状态,可预测肿瘤的进展和预后^[4]。

基于 MIC-1 在血清肿瘤标志物方面的良好应用前景,本研究应用自主研发的双抗体夹心 ELISA 试剂盒检测肺癌患者血清 MIC-1 浓度。在完成试剂盒的制备和优化之后,已对试剂盒进行了性能验证。试剂盒各项性能指标的评定均依照《体外诊断试剂注册管理办法》执行,保证了评定的准确性,试剂盒各项指标结果良好,符合目前国际的要求^[11]。

本研究证实了肺癌患者血清中 MIC-1 水平显著性高于正常对照组和肺良性疾病组($P<0.001$),提示 MIC-1 作为肺癌血清标志物的可行性。MIC-1 诊断肺癌的 ROC 曲线下面积为 0.912,综合考虑 ROC 曲线和正常人群的 MIC-1 水平,将临界值设定为 1000pg/ml 时,其诊断肺癌的特异性和敏感度分别为 96.5%和 71.3%。血清 MIC-1 水平在肺癌不同分化程度组间差异有统计学意义,中低分化组血清 MIC-1 水平显著性高于高分化组($P=0.022$)。MIC-1 水平差异可能与不同肿瘤细胞来源以及肿瘤在不同分化程度所分泌的 MIC-1 蛋白相关,其具体机制有待进一步研究。血清 MIC-1 水平在不同肿瘤浸润程度(T)、淋巴结转移(N)、远处转移(M)以及 I~II 期与 III~

IV 期组间均无统计学差异($P>0.05$)。MIC-1 在肿瘤的发生发展中水平升高还是降低观点不一致,大部分研究认为 MIC-1 水平与肿瘤的 TNM 分期无明显相关。血清 MIC-1 水平与肿瘤进展间关系还有待进一步研究。

目前临床常以 CEA、CA125、NSE、SCC 和 CYFRA21-1 作为肺癌肿瘤标志物。国内外研究表明,CEA 有助于 NSCLC 的辅助诊断、判断预后和疗效检测;血清 CEA 水平变化可反映患者的病情进展、治疗效果及预后^[12]。血清 CA125 浓度在肺癌患者与非肺癌患者之间存在显著性差异($P<0.01$),对协助肺癌诊断有一定的临床价值;但作为单一诊断指标,CA125 的敏感度较低,仅为 40.18%^[12]。NSE 存在于神经及神经来源的细胞中,起源于神经内分泌细胞中肿瘤组织的异常表达,NSE 是神经细胞的蛋白标志物,而小细胞肺癌正是具有神经分泌性质的肿瘤,故 NSE 是诊断小细胞性肺癌的敏感度最强、特异性最高的肿瘤标志物。国内有研究表明,血清 NSE 对小细胞肺癌的诊断敏感度明显高于肺鳞癌和腺癌,提示 NSE 可作为小细胞肺癌的敏感标志物^[13]。SCC 是一种糖蛋白,存在于肺、咽、食管等肿瘤中,特别是鳞状细胞癌中,目前 SCC 主要用于食管鳞癌、肺鳞癌及宫颈鳞癌的检测,且有研究证实 SCC 表达水平与肿瘤大小、肿瘤细胞的活跃程度呈密切相关。CYFRA21-1 为细胞角蛋白 19 的片段,在上皮组织来源的肿瘤组织中含量明显增高,是非小细胞肺癌较敏感的肿瘤标志物,尤其对肺鳞癌特异性高^[13]。相比这 5 种肿瘤标志物,肺癌患者血清 MIC-1 水平在非小细胞肺癌和小细胞肺癌均有升高,是广谱的肺癌标志物。本文分析结果显示不同 TNM 分期患者中,血清 MIC-1 在肺癌患者中显示出良好的敏感度,远优于其他 5 种肿瘤标志物。而且在肺癌早期(I~II 期)阶段,MIC-1 诊断敏感度要优于其他 5 种标志物的联合诊断(I 期:66.7% vs 47.6%,II 期:71.7% vs 65.0%)。6 种肿瘤标志物联合诊断则能使 I 期和 II 期肺癌诊断敏感度分别提高至 77.1%和 83.3%。研究结果提示 MIC-1 对早期肺癌具有较好的诊断能力,有望成为比较理想的肺癌早期诊断肿瘤标志物。

综上所述,MIC-1 在肺癌诊断、特别是早期诊断中具有较好的临床应用价值,提示 MIC-1 可能成为

比较理想的肺癌诊断标志物。血清 MIC-1 检测在肺癌患者病情监测、疗效评估、预后评价及复发预警中的应用价值还需进一步病例随访,有待研究证实。

参考文献:

- [1] Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: validation of the proposals for revision of the T, N, and M descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours[J]. *J Thorac Oncol*, 2007, 2(8): 694-705.
- [2] Bauskin AR, Brown DA, Kuffner T, et al. Role of macrophage inhibitory cytokine-1 in tumorigenesis and diagnosis of cancer [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(10): 4983-4986.
- [3] Koopmann J, Rosenzweig CN, Zhang Z, et al. Serum markers in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma: macrophage inhibitory cytokine 1 versus CA19-9[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(2): 442-446.
- [4] Fu C, Wang H, Qi J, et al. Application of serum macrophage inhibitory cytokine-1 in pancreatic cancer [J]. *Oncology Progress*, 2011, 9(2): 204-208. [付超, 王海, 齐军, 等. 胰腺癌患者血清巨噬细胞抑制因子 1 的临床价值研究[J]. *癌症进展*, 2011, 9(2): 204-208.]
- [5] Kim KK, Lee JJ, Yang Y, et al. Macrophage inhibitory cytokine-1 activates AKT and ERK-1/2 via the transactivation of ErbB2 in human breast and gastric cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(4): 704-712.
- [6] Wang XB, Li YF, Tian HM, et al. Development of monoclonal antibody and establishment of detecting system for macrophage inhibitory cytokine-1[J]. *Oncology Progress*, 2011, 9(4): 361-366. [王小兵, 李艳芬, 田海梅, 等. 巨噬细胞抑制因子-1 单克隆抗体的研制及血清检测系统的建立[J]. *癌症进展*, 2011, 9(4): 361-366.]
- [7] Lee DH, Yang Y, Lee SJ, et al. Macrophage inhibitory cytokine-1 induces the invasiveness of gastric cancer cells by up-regulating the urokinase-type plasminogen activator system [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(15): 4648-4655.
- [8] Welsh JB, Sapinoso LM, Kern SG, et al. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(6): 3410-3415.
- [9] Koopmann J, Buckhaults P, Brown DA, et al. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 as a marker of pancreatic and other periampullary cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(7): 2386-2392.
- [10] Liang JJ, Kimchi ET, Staveley-O'Carroll KF, et al. Diagnostic and prognostic biomarkers in pancreatic carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2009, 2(1): 1-10.
- [11] Fu C. Application and development study of the serum MIC-1 immunoassay kit [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2011. [付超. 血清 MIC-1 检测试剂盒的研究及应用[D]. 北京: 北京协和医学院, 2011.]
- [12] Ma ZH, Shen QB, Fei SW, et al. Significance of combined detection of CEA, CA125, CYFRA21-1 and NSE for lung cancer [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2013, 29(11): 1174-1176. [马志红, 沈琦斌, 费淑祎, 等. CEA、CA125、CYFRA21-1、NSE 联合检测肺癌的临床价值[J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(11): 1174-1176.]
- [13] Li YP, Wang Q, Zhao ZH, et al. Diagnostic value of combined detection of serum tumor markers for lung cancer [J]. *Chin Nucl Med Mol Imaging*, 2013, 33(5): 336-339. [李艳平, 王群, 赵姿红, 等. 联合检测肿瘤标志物在肺癌诊断中的临床价值 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2013, 33(5): 336-339.]