DOI:10.16016/j.2097-0927.202209136

血清肿瘤标志物与非小细胞肺癌驱动基因突变发生率的相关性分析

祝梦晓,胡 晨,何 勇 400042 重庆,陆军特色医学中心呼吸与危重症医学科

[**摘要**] **目的** 探讨血清肿瘤标志物与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)驱动基因突变与否是否存在相关性,为血清肿瘤标志物指导 NSCLC 靶向治疗提供参考。**方法** 本研究采用横断面研究设计,自 2015 年 12 月到 2021 年 3 月,回顾性纳入陆军特色医学中心呼吸科、肿瘤科、胸外科共 1 008 例行组织活检以及驱动基因检测的 NSCLC 患者。收集患者的临床资料、血清肿瘤标志物以及肺癌基因检测结果,通过相关性分析和受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)评价多种驱动基因突变与患者临床特征或特定血清肿瘤标志物的相关性。并根据肿瘤标志物升高的水平以及是否具备手术指针进行分组分析,观察不同分组患者驱动基因突变类型及突变率的差别。**结果** 本研究纳入 1 008 例患者中男性 674 例,女性 334 例,平均年龄 58.4 岁。驱动基因突变的总发生率为 64.5%。其中,血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)升高(49.9% *vs.* 32.6%,$P<0.001$)和细胞角蛋白 19 的可溶性片段(cytokeratin fragment 19,CYFRA21-1)未升高(48.5% *vs.* 38.3%,$P=0.003$)患者的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,*EGFR*)基因突变发生率较高。与此同时,*EGFR* 突变患者的血清 CEA 水平显著高于 *EGFR* 野生型患者[12.19(3.49,79.05) *vs.* 4.93(2.47,17.29) ng/mL,$P<0.001$]。随着血清 CEA 的升高,*EGFR* 突变发生率逐渐增高。分层分析显示:在Ⅰ~ⅢA 期患者中,*EGFR* 突变患者的血清 CEA 水平与野生型患者无差异。血清神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE)异常升高的患者较 NSE 正常水平患者发生鼠类肉瘤病毒癌基因(kirsten rat sarcoma viral oncogene,*KRAS*)基因突变的可能性更大。**结论** NSCLC 患者血清 CEA 水平与 *EGFR* 突变发生存在相关性;尤其是在ⅢB~Ⅵ期肺癌患者中,血清 CEA 水平越高的患者 *EGFR* 的突变率越高,提示在 CEA 明显升高的晚期肺癌患者更应推荐行肺癌基因检测评,明确是否具有靶向治疗指征。

[**关键词**] 血清肿瘤标志物;非小细胞肺癌;驱动基因突变

[**中图法分类号**] R394.3; R730.43; R734.2 [**文献标志码**] A

Correlation of serum tumor markers and incidence of driver gene mutations in non-small cell lung cancer

ZHU Mengxiao, HU Chen, HE Yong Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the correlation between serum tumor markers and mutations of driver genes in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients, so as to provide references for serum tumor markers-guided targeted therapies for NSCLC. **Methods** A cross-sectional study was performed on 1 008 NSCLC patients admitted in the respiratory, oncology and thoracic surgery departments of our medical center from December 2015 to March 2021. All these patients underwent tissue biopsies and driver gene tests. Their clinical data and results of serum tumor markers and lung cancer-specific gene test were collected. The correlation of mutations of driver genes with clinical characteristics and serum tumor markers were analyzed with correlation analysis and receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. Then the patients were

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81972189)

[**通信作者**] 何 勇,E-mail: heyong@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议( )

grouped according to the elevated levels of these tumor markers and presence of surgical indicators or not. The differences in mutation types and rates in the driver genes were observed among different groups of patients. **Results** In the 1 008 patients, there were 674 males and 334 females, with an average age of 58.4 years. The total incidence of driver gene mutations was 64.5%. Higher mutation rate of epidermal growth factor receptor (*EGFR*) was observed in the patients with increased serum carcinoembryonic antigen (CEA) level than those without (49.9% *vs* 32.6%, $P<0.001$) and in the patients with unraised cytokeratin fragment 19 (CYFRA21-1) level than those with unchanged or elevated level (48.5% *vs* 38.3%, $P=0.003$). And, the serum CEA level was significantly higher in the *EGFR* mutant patients than those with *EGFR* wild-type [12.19 (3.49~79.05) *vs* 4.93 (2.47~17.29) ng/mL, $P<0.001$]. With the increase of serum CEA level, the occurrence of *EGFR* mutations was gradually increased. Stratified analysis showed that in stage ⅢB to Ⅵ patients, the serum CEA level was obviously higher in patients with *EGFR* mutation than those with *EGFR* wild-type. The patients with abnormally elevated serum neuron-specific enolase (NSE) level showed higher mutation rate of kirsten rat sarcoma viral oncogene (*KRAS*) than those with normal NSE level. **Conclusion** In NSCLC patients, serum CEA level is correlated with occurrence of *EGFR* mutations. Especially for those with stage ⅢB to Ⅵ, higher serum CEA level indicates higher mutation rate of *EGFR*. Lung cancer-specific gene test should be recommended to carry out in advanced lung cancer patients with significantly elevated CEA in order to determine whether there are indications for target therapy.

[**Key words**] serum tumor markers; non-small cell lung cancer; driver gene mutation

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81972189). Correspondence author: HE Yong, E-mail: heyong@tmmu.edu.cn

肺癌是目前致死率最高的恶性肿瘤,5年生存率仅10%~20%[1]。肺癌靶向治疗显著延长了晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)患者的生存周期并改善其生活质量,为肺癌患者带来了新的治疗希望[2]。目前最为常见的肺癌驱动基因是表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,*EGFR*)突变以及间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, *ALK*)基因融合[3-4]。针对鼠类肉瘤病毒癌基因(kirsten rat sarcoma viral oncogene,*KRAS*)突变开发的靶向药物也在临床研究中有较好的表现[5]。

血清肿瘤标志物在肿瘤的诊断、病理类型及原发灶的判定上发挥着重要的作用,同时其治疗过程中的动态变化也可用于疗效及预后的判断。既往研究表明,癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE)、糖类抗原125(carbohydrate antigen 125,CA-125)、细胞角蛋白19的可溶性片段(cytokeratin fragment 19,CYFRA21-1)等肿瘤标志物存在于正常细胞中,但在肿瘤细胞中合成和分泌量明显增加[6]。既往研究表明血清肿瘤标志物可用于预测肺癌靶向治疗疗效[7]。与此同时,有研究指出血清肿瘤标志物水平与肺癌驱动基因突变率存在相关性,但也有研究得出相反结论[8-10]。因此,血清肿瘤标志物与肺癌驱动基因突变发生率是否存在相关性尚待进一步研究。本研究基于陆军特色医学中心大样本回顾性临床研究资料,进一步分析肺癌驱动基因突变率与血清肿瘤标志物的相关性,并探讨其内在的联系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究采用横断面研究设计[11],通过PASS 15.0.5计算样本量,根据已有研究*EGFR*在NSCLC中的突变率占比50.09%,CEA诊断*EGFR*检出率的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)下面积(area under the curve,AUC)为0.715[10],使用双侧z检验,设定把握度为0.9,在显著性水平0.050处,样本量估算结果为至少需要70例患者,其中基因突变NSCLC患者35例,非基因突变NSCLC患者35例。回顾性纳入2015年12月至2021年3月来自陆军特色医学中心进行组织活检明确为原发性肺癌并行基因检测的患者,包含呼吸科、肿瘤科、胸外科的住院及门诊患者,共计1 261例。入组标准如下:病理学符合NSCLC的诊断;未经治疗的初诊患者;在病理活检前后1周内进行血清肿瘤标志物检测,至少有CEA检测结果。排除标准如下:病理学诊断为混有小细胞肺癌成分的混合性NSCLC;患者临床信息不完整。最终共纳入1 008例患者进入下一步分析。

1.2 研究方法

通过医院病历系统收集纳入1 008例患者的性别、年龄、吸烟史,参照第八版肺癌TNM分型确定临床分期。记录患者的年龄、性别、吸烟史、TNM分期、病理类型、基因突变类型以及肿瘤标志物结果。首先根据不同的基因突变类型进行分组(包含*EGFR*各种突变亚型),分析突变型与野生型患者在临床特征及各项肿瘤标志物的差异。其次,通过中位数比较不同基因突变型与野生型患者在肿瘤标志物水平上的差异。根据肿瘤标志物水平进行连续分组,分析不同肿瘤标志物升高水平组中基因突变患者占比差异。同时,通过分期进行亚组分析上述差异性。最后采用ROC曲线分析不同因素对EGFR突变率的影响。根据国际肺癌研究协会第八版肺癌TNM分期,将患者分为早期可手术组(Ⅰ~ⅢA期)及晚期不可手术组(ⅢB~Ⅳ期),分析两组患者肿瘤标志物和基因突变相关性的差异。

本研究经陆军特色医学中心研究伦理委员会批准(2020第117号)。

1.3 基因检测

经皮穿刺、支气管镜或胸腔镜获取原发肿瘤组织标本。采用QIAamp DNA FFPE组织试剂盒(Qiagen,Valencia,CA,USA)按生产厂家说明书提取肿瘤组织DNA。用Qubit dsDNA检测技术(Life Technologies,Carlsbad,CA,USA)测定肿瘤组织的DNA浓度。聚合酶链反应用ABI7500实时PCR系统进行,通过采用扩增受阻突变系统(ARMS)和肺癌驱动基因检测试剂盒(厦门艾德生物技术有限公司提供)进行检测标本是否存在驱动基因突变。用于定性检测NSCLC患者*EGFR/ALK/ROS1/RET/KRAS/NRAS/PIK3CA/BRAF/HER2/MET*基因变异。

1.4 血清肿瘤标志物的检测

在组织活检的前后1周内晨采空腹静脉血3 mL,血液采集均在治疗前进行。离心机4 000 r/min高速分离血清15 min。严格按照电化学发光分析仪和试剂盒说明书,使用相同的电化学发光免疫法对血清肿瘤标志物进行检测。正常血清肿瘤标志物参考范围:CEA 0~5.0 ng/mL、NSE 0~16.3 ng/mL、CYFRA21-1 0~3.3 ng/mL、CA-125 0~35 U/mL。

1.5 统计分析方法

本研究使用SPSS 20.0版本对所有数据进行分析。使用夏皮罗-威尔克检验(shapiro-wilk test)评估正态性,结果显示各项肿瘤标志物均为偏态数据($P<0.001$),因此对肿瘤标志物采用$M(P_{25},P_{75})$描述。对连续非正态分布的变量使用Mann-Whitney U检验。分类变量采用皮尔森χ^2检验进行分析。通过斯皮尔曼等级相关系数来评估两个非正态分布连续变量之间的相关性。采用ROC曲线分析,采用Delong法计算AUC的标准误差。采用趋势χ^2检验(cochran-armitage trend test)分析组间是否存在线性趋势。$P<0.05$认为差异具有统计学意义。

2 研究结果

2.1 一般资料及基因突变分布

纳入患者中位年龄58岁(年龄范围35~76岁),男性占66.8%(674/1 008),女性占33.2%(334/1 008)。包含了217例Ⅰ~ⅢA期患者,以及791例ⅢB~Ⅳ期患者。病理类型以腺癌(807例)为主,鳞癌139例,其他类型62例(包含31例非小细胞癌,12例腺鳞癌,7例大细胞癌,6例肉瘤样癌,5例低分化癌,1例*SMRCA4*缺失型癌)。吸烟或既往吸烟患者共661例,非吸烟患者共347例。

本组病例中,驱动基因的检出率为64.5%(651/1 008),最常见的驱动基因突变是*EGFR*突变(44.1%,424/1 008),其次是为*KRAS*突变(10.4%,105/1 008),*ALK*融合突变共检出54例(5.4%)。*EGFR* L858R突变是最常见的突变亚型,占*EGFR*突变患者的47.2%,占总突变人群的31%。*EGFR* 19del突变亚型占*EGFR*突变患者的44.8%,占总突变人群的29%。非经典*EGFR*突变共34例,包括22例*EGFR* 20插入突变、9例*EGFR* L861Q突变、3例*EGFR* 19del/L858R复合突变(图1)。在无明确腺癌成分的病理类型中,基因突变的总体检出概率较低(23/153),包含8例*PIK3CA*突变、5例*KRAS*突变、4例*EGFR* 19del突变、3例*EFGR* L858R突变、2例*MET* 14跳跃突变、1例*ALK*融合突变(图1)。

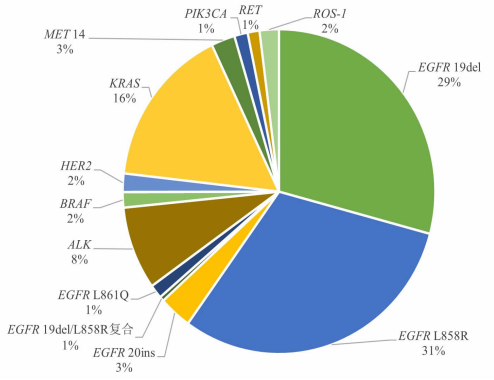


图1 651例驱动基因突变的NSCLC患者突变类型分布图

2.2 临床特征与基因突变关系

*EGFR*基因突变更常见于女性(61.4% *vs.* 34.0%,$P<0.001$)、无吸烟史(40.1% *vs.* 31.5%,$P<0.001$)的

腺癌患者(50.2% *vs.* 5.0% *vs.* 19.4%,$P<0.001$),而与年龄及肿瘤分期无明显相关性。肿瘤标志物方面,CEA 异常升高(49.9% *vs.* 32.6%,$P<0.001$)以及正常范围的 CYFRA21-1(48.5% *vs.* 38.3%,$P=0.003$)患者更易发生 *EGFR* 基因突变,而 NSE、CA-125 与 *EGFR* 基因突变无明显相关性。*ALK* 融合突变同样常见于无吸烟史(7.8% *vs.* 4.1%,$P=0.013$)、女性(7.8% *vs.* 4.2%,$P=0.016$)、腺癌(6.4% *vs.* 0.7% *vs.* 1.6%,$P=0.006$)人群,但其更容易见于年轻的患者(7.0% *vs.* 3.0%,$P=0.006$)。*ALK* 融合突变与各项肿瘤标志物的异常升高无明显相关性。*KARS* 基因突变常发生于男性(12.6% *vs.* 5.7%,$P<0.001$)、吸烟(12.7% *vs.* 5.8%,$P<0.001$)以及肺腺癌(11.6% *vs.* 2.9% *vs.* 9.7%,$P=0.009$)患者,*KARS* 基因突变与 *NSE* 异常升高有相关性(12.9% *vs.* 8.5%,$P=0.030$,表 1)。

EGFR 各突变亚型与野生型相比均较易发生在无吸烟史、女性以及 CEA 异常升高的患者中。较为特殊的是:①*EGFR* 19del 突变(22.5% *vs.* 16.3%,$P=0.020$)和非经典突变(4.5% *vs.* 2.6%,$P=0.042$)更易发生在高龄患者,而 *EGFR* L858R 突变与年龄无明显相关(21.7% *vs.* 17.1%,$P=0.331$);②血清 CYFRA21-1 正常患者发生 *EGFR* 19del 突变的比率较高(24.1% *vs.* 16.4%,$P=0.001$),而 *EGFR* L858R 突变(21.7% *vs.* 18.3%,$P=0.051$)和 *EGFR* 非经典突变(2.7% *vs.* 3.6%,$P=0.782$)与血清 CYFRA21-1 水平无明显相关性;③*EGFR* 19del 突变(22.9% *vs.* 2.9% *vs.* 1.6%,$P<0.001$)和 *EGFR* L858R(23.4% *vs.* 2.2% *vs.* 12.9%,$P<0.001$)突变更易发生在肺腺癌当中,而 *EGFR* 非经典突变(3.8% *vs.* 0.0% *vs.* 4.8%,$P=0.050$)与病理类型无明显相关性(表 2)。

表 1 NSCLC 患者不同基因突变组与野生型组临床特征及肿瘤标志物的比较[*n*(%)]

变量	*n*	*EGFR* 基因		*P*	*ALK* 基因		*P*	*KRAS* 基因		*P*
		野生型	突变型		野生型	融合型		野生型	突变型	
年龄/岁				0.217			0.006			0.903
<60	604(59.9)	359(59.4)	245(40.6)		562(93.0)	42(7.0)		541(89.6)	63(10.4)	
≥60	404(40.1)	225(55.7)	179(44.3)		392(97.0)	12(3.0)		363(89.9)	41(10.1)	
性别				<0.001			0.016			<0.001
男	674(66.8)	455(66.0)	219(34.0)		646(95.8)	28(4.2)		589(87.4)	85(12.6)	
女	334(33.2)	129(38.6)	205(61.4)		308(92.2)	26(7.8)		315(94.3)	19(5.7)	
吸烟史				<0.001			0.013			<0.001
无	347(66.2)	208(59.9)	139(40.1)		427(92.0)	27(7.8)		327(94.2)	20(5.8)	
有	661(33.8)	453(68.5)	208(31.5)		219(92.4)	27(4.1)		577(87.3)	84(12.7)	
临床分期				0.131			0.372			0.878
Ⅰ~ⅢA 期	217(21.5)	116(53.5)	101(46.5)		208(95.8)	9(4.2)		194(89.4)	23(10.6)	
ⅢB~Ⅵ期	791(78.5)	468(59.2)	323(40.8)		746(94.3)	45(5.7)		710(89.8)	81(10.2)	
CEA /ng·mL^{-1}				<0.001			0.411			0.596
<5	431(42.8)	295(68.4)	136(32.6)		405(94.0)	26(6.0)		384(89.1)	47(10.9)	
≥5	577(57.2)	289(50.1)	288(49.9)		549(95.1)	28(4.9)		520(90.1)	57(9.9)	
NSE/ng·mL^{-1}				0.846			0.455			0.030
<16.3	520(51.6)	300(57.7)	220(42.3)		495(95.2)	25(4.8)		476(91.5)	44(8.5)	
≥16.3	396(39.2)	231(58.3)	165(41.7)		381(96.2)	15(3.8)		345(87.1)	51(12.9)	
CYFRA21-1 /ng·mL^{-1}				0.003			0.264			0.407
<3.3	336(33.3)	173(51.5)	163(48.5)		318(94.6)	18(5.4)		305(90.8)	31(9.2)	
≥3.3	556(55.2)	343(61.7)	213(38.3)		535(96.2)	21(3.8)		495(89.0)	61(11.0)	
CA-125/U·mL^{-1}				0.229			0.304			0.241
<35	260(25.8)	143(55.0)	117(45.0)		247(95.0)	13(5.0)		231(88.8)	29(11,2)	
≥35	326(32.3)	163(50.0)	163(50.0)		303(92.9)	23(7.1)		299(91.7)	27(8.3)	
病理类型				<0.001			0.006			0.009
腺癌	807(80.1)	402(49.8)	405(50.2)		755(93.6)	52(6.4)		713(88.4)	94(11.6)	
鳞癌	139(13.8)	132(95.0)	7(5.0)		138(99.3)	1(0.7)		135(97.1)	4(2.9)	
其他	62(6.1)	50(80.6)	12(19.4)		61(98.4)	1(1.6)		56(90.3)	6(9.7)	
合计	1 008(100)	584(57.9)	424(42.1)		954(94.6)	54(5.4)		904(89.7)	104(10.3)	

表 2 NSCLC 患者 *EGFR* 基因不同突变亚型组与野生型组临床特征及肿瘤标志物的比较 [*n*(%)]

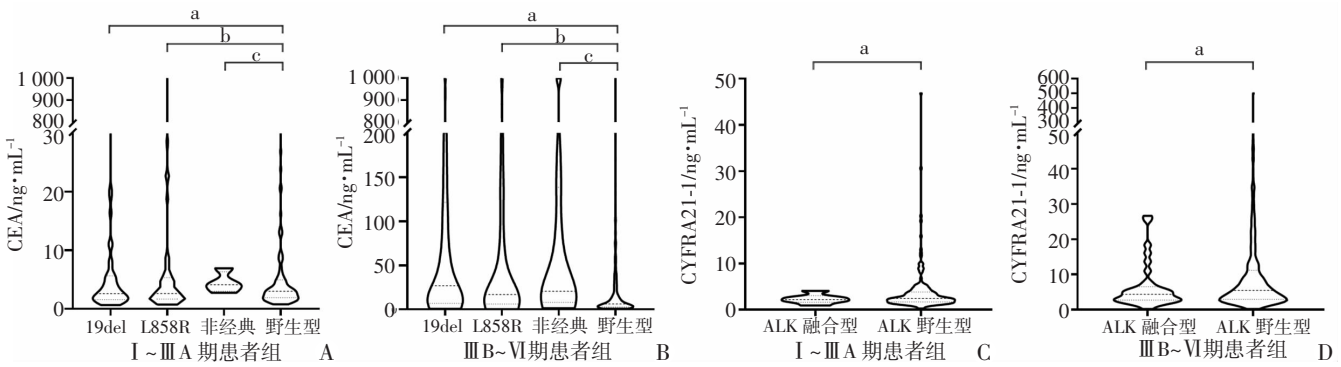
变量	*EGFR* 基因突变亚型						
	野生型	19del	*P*	L858R	*P*	非经典	*P*
年龄/岁			0.020		0.331		0.042
<60	359 (59.4)	99 (16.3)		131 (21.7)		16 (2.6)	
≥60	225 (55.7)	91 (22.5)		69 (17.1)		18 (4.5)	
性别			<0.001		<0.001		0.030
男	455 (66.0)	99 (14.7)		99 (14.7)		21 (3.1)	
女	129 (38.6)	91 (27.2)		101 (30.2)		13 (3.9)	
吸烟史			<0.001		<0.001		0.034
无	208 (59.9)	97 (28.0)		106 (30.1)		13 (3.7)	
有	453 (68.5)	93 (14.0)		94 (14.2)		21 (3.1)	
临床分期			0.260		0.068		0.246
Ⅰ~ⅢA 期	116(53.5)	45(20.7)		52(24.0)		4(1.8)	
ⅢB~Ⅵ期	468(59.2)	145(18.3)		148(18.7)		30(3.8)	
CEA /ng·mL^{-1}			<0.001		<0.001		<0.001
<5	295(68.4)	59(13.7)		72(16.7)		5(1.2)	
≥5	289(50.1)	131(22.7)		128(22.2)		29(5.0)	
NSE /ng·mL^{-1}			0.679		0.973		0.889
<16.3	300(57.7)	102(19.6)		102(19.6)		16(3.1)	
≥16.3	231(58.3)	73(18.4)		79(18.9)		13(3.3)	
CYFRA21-1 /ng·mL^{-1}			0.001		0.051		0.782
<3.3	173(51.5)	81(24.1)		73(21.7)		9(2.7)	
≥3.3	343(61.7)	91(16.4)		102(18.3)		20(3.6)	
CA-125/U·mL^{-1}			0.474		0.218		0.731
<35	143(55.0)	59(22.7)		49(18.8)		9(3.5)	
≥35	163(50.0)	78(24.0)		73(22.4)		12(3.7)	
病理类型			<0.001		<0.001		0.050
腺癌	402(49.8)	185(22.9)		189(23.4)		31(3.8)	
鳞癌	132(95.0)	4(2.9)		3(2.2)		0(0.0)	
其他	50(80.6)	1(1.6)		8(12.9)		3(4.8)	

2.3 不同基因突变类型患者血清肿瘤标志物水平的差异

在本组病例中,*EGFR* 突变患者的血清 CEA 水平显著高于 *EGFR* 野生型患者[12.19(3.49,79.05) *vs.* 4.93(2.47,17.29) ng/mL,$P<0.001$]。亚组分析显示,*EGFR* 19del 突变[15.85(3.31,90.35) *vs.* 4.93(2.47,17.29) ng/mL),$P<0.001$]、*EGFR* L858R 突变[9.57(3.28,76.64) *vs.* 4.93(2.47,17.29) ng/mL,$P<0.001$]以及非经典突变亚型[18.96(6.92,100.00) *vs.* 4.93 (2.47,17.29) ng/mL,$P<0.001$]患者血清 CEA 水平均显著高于野生型患者。同时,*EGFR* 突变患者的血清 CYFRA21-1 水平低于野生型患者[3.92(2.32,8.92) *vs.* 4.87(2.65,9.16) ng/mL,$P=0.017$]。亚组分析显示,*EGFR* 19del 突变患者组与 *EGFR* 野生型患者在血清 CYFRA21-1 水平的差异有统计学意义[3.61(2.31,8.03) *vs.* 4.87(2.65,9.16) ng/mL,$P=0.008$]。*KARS* 突变型患者的血清 NSE 水平高于 *KARS* 野生型患者[16.43(13.50, 22.63) *vs.* 14.97(11.40, 20.52) ng/mL, $P=0.029$]。*ALK* 融合突变患者与 *ALK* 野生型患者与在所有纳入分析的血清肿瘤标志物水平上的差异均无统计学意义(表 3)。

表 3 不同基因突变类型 NSCLC 患者血清肿瘤标志物水平差异 [$M(P_{25},P_{75})$]

基因类型	CEA/ng·mL^{-1}	*P*	NSE/ng·mL^{-1}	*P*	CYFRA21-1/ng·mL^{-1}	*P*	CA-125/ng·mL^{-1}	*P*
EGFR 突变		<0.001		0.350		0.017		0.388
野生型	4.93(2.47,17.29)		15.24(11.71,21.30)		4.87(2.65,9.16)		40.03(16.50,122.85)	
突变型	12.19(3.49,79.05)		14.88(11.27,20.20)		3.92(2.32,8.92)		45.01(17.18,129.53)	
EGFR 亚型								
19del	15.85(3.31,90.35)	<0.001	14.9(11.42,19.79)	0.388	3.61(2.31,8.03)	0.008	47.57(17.85,144.91)	0.385
L858R	9.57(3.28,76.64)	<0.001	14.7(11.22,20.65)	0.490	4.06(2.25,9.79)	0.104	45.01(15.61,45.01)	0.586
非经典	18.96(6.92,100.00)	<0.001	15.9(11.56,21.10)	0.977	4.84(2.61,11.60)	0.477	36.78(18.14,84.06)	0.895
ALK		0.088		0.868		0.177		0.177
野生型	6.98(2.69,33.74)		15.2(11.60,20.88)		4.49(2.47,9.21)		41.43(16.42,123.82)	
融合型	5.14(2.05,25.42)		14.45(10.81,22.74)		3.62(2.51,5.92)		57.41(22.31,161.49)	
KRAS 突变		0.696		0.029		0.916		0.339
野生型	6.82(2.63,33.50)		14.97(11.40,20.52)		4.38(2.47,9.22)		43.90(16.85,127.85)	
突变型	5.90(3.01,27.75)		16.43(13.50,22.63)		4.72(2.39,7.96)		31.95(15.53,115.19)	



A:Ⅰ~ⅢA 期患者组中不同 *EGFR* 突变亚型与野生型比较 a:P=0.689, b:P=0.123, c:P=0.091;B:ⅢB~Ⅵ期患者组中不同 *EGFR* 突变亚型与野生型比较 a:P=0.006, b:P<0.001, c:P=0.144;C:Ⅰ~ⅢA 期患者组中 *ALK* 融合突变与 ALK 野生型对比 a:P=0.001;D:ⅢB~Ⅵ期患者组 *ALK* 融合突变与 *ALK* 野生型对比 a:P=0.026

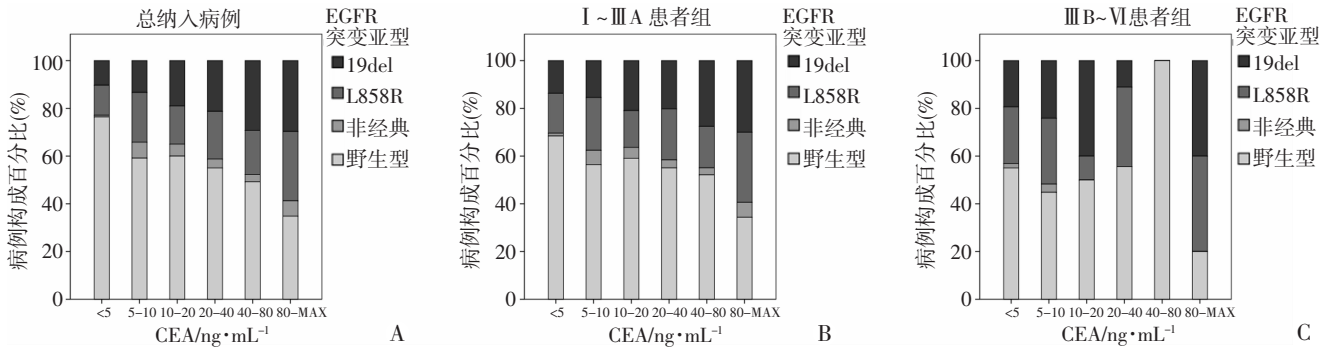
图 2 根据分期分组,比较不同基因突变类型血清肿瘤标志物水平的差异

2.4 不同分期影响突变类型与血清肿瘤标志物的相关性

在Ⅰ~ⅢA 期患者中,不同 *EGFR* 突变亚型与 *EGFR* 野生型患者血清 CEA 水平的差异均不具有统计学意义(图 2A)。而在ⅢB~Ⅵ期患者中,*EGFR* 经典突变亚型患者血清 CEA 水平显著高于 *EGFR* 野生型患者,但 *EGFR* 非经典突变患者的血清 CEA 水平与 *EGFR* 野生型患者的差异无统计学意义(图 2B)。*ALK* 融合突变与 *ALK* 野生型患者血清 CYFRA21-1 水平的差异,无论是早期组还是晚期组均有统计学意义(P<0.05, 图 2C、D)。

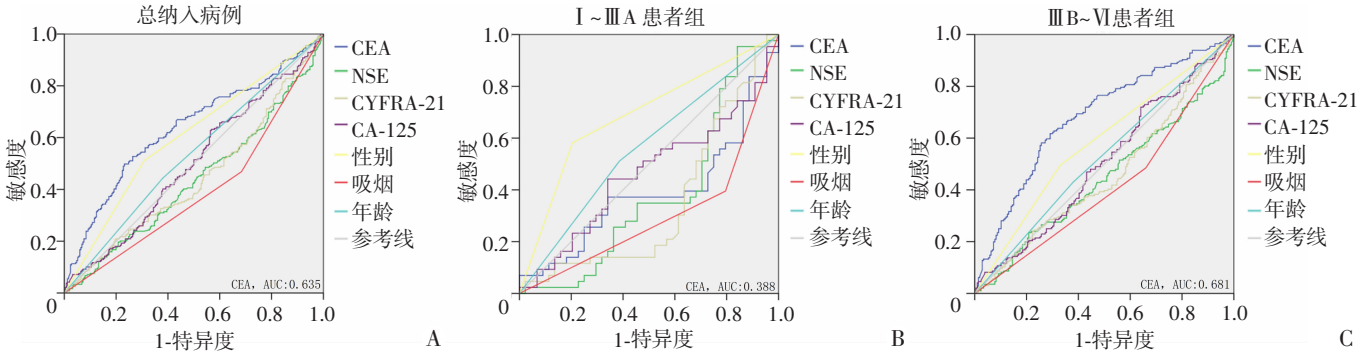
2.5 血清 CEA 水平与 EGFR 基因突变率相关性

结果显示 *EGFR* 突变率均随着 CEA 水平的升高而逐渐升高,两组变化有直线相关关系(Mantel-Haenszel 差异检验,P<0.001,图 3)。分层分析显示,ⅢB~Ⅵ期患者组中 *EGFR* 突变率均随着 CEA 水平的升高而逐渐升高,两组变化有相关关系(P<0.001),而Ⅰ~ⅢA 期患者组 CEA 水平与 *EGFR* 突变不具有直线相关关系(P=0.568,图 3)。通过各指标 ROC 曲线的参数结果显示,无论是总体人群还是ⅢB~Ⅵ期患者组,血清 CEA 水平均有最大的曲线下面积(总人群:0.635,晚期组:0.681);而在Ⅰ~ⅢA 患者组,血清 CEA 水平曲线下面积仅有 0.388,远低于吸烟及性别因素(图 4)。



A:总纳入病例不同 CEA 水平 *EGFR* 突变类型构成比及变化趋势;B:Ⅰ~ⅢA 患者组不同 CEA 水平 *EGFR* 突变类型构成比及变化趋势;C:ⅢB~Ⅵ期患者组不同 CEA 水平 *EGFR* 突变类型构成比及变化趋势

图 3 不同 CEA 水平各期 NSCLC 患者 *EGFR* 突变类型构成比变化趋势



A:总纳入病例中各项指标对预测 *EGFR* 基因突变效能;B:Ⅰ~ⅢA 患者组各项指标对预测 *EGFR* 基因突变效能;C:ⅢB~Ⅵ患者组各项指标对预测 *EGFR* 基因突变效能

图 4 ROC 曲线分析各项指标对不同分期 NSCLC 患者 *EGFR* 基因突变的预测效能

3 讨论

近年来,靶向治疗显著提高了晚期 NSCLC 患者的生存时间以及生活质量。与既往研究结论一致,我们的研究结果同样发现 *EGFR* 突变通常发生在女性、非吸烟的腺癌人群中,*ALK* 融合突变更易发生在年轻人群中,*KARS* 突变在吸烟、男性人群中更加常见[12]。于此同时,本研究还发现不同基因突变与血清肿瘤标志物呈现一定的相关性。*EGFR* 突变更易发生在血清 CEA 异常升高以及血清 CYFRA21-1 水平正常的患者,且血清 CEA 水平越高的肺癌患者 *EGFR* 突变概率越高。

既往研究表明,CEA 升高可增强多种肿瘤细胞的细胞间粘附并促进肿瘤形成[13],且可通过造成细胞外基质细胞失锚状态,从而抑制肿瘤细胞凋亡[14-15]。同时,突变的 *EGFR* 蛋白会异常激活下游信号转导通路,诱导转录因子表达和激活,从而破坏抗凋亡通路,加速细胞增殖[16]。*EGFR* 下游激活的信号转导蛋白,如蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)和信号传导及转录激活蛋白 3/5(signal transducer and activator of transcription 3/5,STAT3/5),在 *EGFR* 突变诱导的抗凋亡效用中发挥重要作用[17]。在间皮瘤相关的基础研究中发现,CEA 表达受 *EGFR* 信号通路的正向调节[18]。这可能是 *EGFR* 突变体诱导的抗凋亡信号导致 CEA 蛋白的表达水平升高的潜在分子机制,但仍需进一步的研究证实。

CYFRA21-1 是较为公认用于鳞状细胞癌鉴别诊断的肿瘤标志物,其水平高低与病情呈正相。当肿瘤细胞发生溶解时,其中的细胞角质蛋白释放入血,而使血中 CYFRA21-1 升高。既往研究提示治疗前血清 CYFRA21-1 水平与 NSCLC 靶向治疗效果呈负相关[19-21],这可能与肿瘤的异质性导致鳞状细胞癌成分较多相关。本研究发现 CYFRA21-1 与 *EGFR* 突变发生率呈负相关,也有可能是肿瘤的异质性所导致。

不同于既往的研究,我们的研究还纳入了部分早期肺癌患者。结果提示,尽管在早期患者中 EGFR 野生型与突变型在血清 CEA 水平上差异并不明显,但携带 *ALK* 融合突变的早期肺癌患者中 CYFRA21-1 水平低于野生型患者,差异具有统计学意义。既往研究提示早期 NSCLC 患者中,*ALK* 融合突变患者的 OS 更长,预后更好[22]。同时有研究证明,术前高水平的 CYFRA21-1 是 NSCLC 患者术后预后不良独立危险因素[23],但上述研究未对患者的基因突变状况进行检测。我们结果发现早期肺癌患者中 *ALK* 融合突变患者组中 CYFRA21-1 水平低于野生型患者,也似乎预示此类患者的预后较好,可待后续的跟踪随访进一步验证。来自韩国的研究报道显示,*ALK* 融合突变的早期肺癌患者通常原发灶较小,T 分期主要集中在 1 期[24]。这可能是导致早期 *ALK* 融合突变患者血清 CYFRA21-1 水平较低的一方面原因。

本研究仍存在一定局限性,首先纳入的罕见突变患者数量较少,针对罕见突变的研究需要更大样本的临床研究加以探索。其次,本研究为回顾性研究,存在不同检测时间点对肿瘤标志物的影响,且入组病例部分肿瘤标志物检测项目缺失,会对结果造成一定的影响。最后,本研究检测出的多重基因突变的概率较低,可能与研究采用的基因检测为 PCR 法相关,后续可设计采用二代测序为基因检测手段的前瞻性研究进一步验证肿瘤标志物与肺癌驱动基因突变的关系。

综上所述,本研究通过大样本的临床资料,揭示了肿瘤标志物与常见的肺癌驱动基因之间的联系。血清 CEA、CYFRA21-1 和 NSE 水平可作为判断 NSCLC 驱动基因突变的辅助指标。在无法获知患者基因突变的情况下,通过结合肿瘤标志物及患者临床特征,判断是否应用靶向药物治疗,具有一定的参考意义。

参考文献:

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al*. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.

[2] HIRSCH F R, SCAGLIOTTI G V, MULSHINE J L, *et al*. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments[J]. Lancet, 2017, 389(10066): 299-311. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30958-8.

[3] TAN C S, KUMARAKULASINGHE N B, HUANG Y Q, *et al*. Third generation EGFR TKIs: current data and future directions[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 29. DOI: 10.1186/s12943-018-0778-0.

[4] FUKUI T, TACHIHARA M, NAGANO T, *et al*. Review of therapeutic strategies for anaplastic lymphoma kinase-rearranged non-small cell lung cancer[J]. Cancers, 2022, 14(5): 1184. DOI: 10.3390/cancers14051184.

[5] URAS I Z, MOLL H P, CASANOVA E. Targeting KRAS mutant non-small-cell lung cancer: past, present and future[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4325. DOI: 10.3390/ijms21124325.

[6] HOSEOK I, CHO J Y. Lung cancer biomarkers[J]. Adv Clin Chem, 2015, 72: 107-170. DOI: 10.1016/bs.acc.2015.07.003.

[7] FENG L X, WANG J, YU Z, *et al*. Clinical significance of serum *EGFR* gene mutation and serum tumor markers in predicting tyrosine kinase inhibitor efficacy in lung adenocarcinoma[J]. Clin Transl Oncol, 2019, 21(8): 1005-1013. DOI: 10.1007/s12094-018-02014-6.

[8] ZHAO C, LI J, ZHANG Y, *et al*. The rational application of liquid biopsy based on next-generation sequencing in advanced non-small cell lung cancer[J]. Cancer Med, 2022, Nov 7. DOI: 10.1002/cam4.5410.

[9] LIU J, ZHAO Y Q, HAN X, *et al*. Correlation between pretreatment serum carcinoembryonic antigen levels and genotypes in a large population of Chinese people with advanced lung adenocarcinoma[J]. Intern Med J, 2019, 49(5): 634-643. DOI: 10.1111/imj.14152.

[10] WANG S F, MA P, MA G Z, *et al*. Value of serum tumor markers for predicting EGFR mutations and positive ALK expression in 1089 Chinese non-small-cell lung cancer patients: a retrospective analysis[J]. Eur J Cancer, 2020, 124: 1-14. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.10.005.

[11] GRIMES D A, SCHULZ K F. An overview of clinical research: the lay of the land[J]. Lancet, 2002, 359(9300): 57-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07283-5.

[12] LEE B, LEE T, LEE S H, *et al*. Clinicopathologic characteristics of EGFR, KRAS, and ALK alterations in 6,595 lung cancers[J]. Oncotarget, 2016, 7(17): 23874-23884. DOI: 10.18632/oncotarget.8074.

[13] BENCHIMOL S, FUKS A, JOTHY S, *et al*. Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule[J]. Cell, 1989, 57(2): 327-334. DOI: 10.1016/0092-8674(89)90970-7.

[14] WIRTH T, SOETH E, CZUBAYKO F, *et al*. Inhibition of endogenous carcinoembryonic antigen (CEA) increases the apoptotic rate of colon cancer cells and inhibits metastatic tumor growth[J]. Clin Exp Metastasis, 2002, 19(2):

155-160. DOI: 10.1023/a: 1014566127493.

[15] ORDOÑEZ C, SCREATON R A, ILANTZIS C, *et al*. Human carcinoembryonic antigen functions as a general inhibitor of anoikis[J]. Cancer Res, 2000, 60(13): 3419-3424.

[16] SORDELLA R, BELL D W, HABER D A, *et al*. Gefitinib-sensitizing EGFR mutations in lung cancer activate anti-apoptotic pathways[J]. Science, 2004, 305(5687): 1163-1167. DOI: 10.1126/science.1101637.

[17] CAPPUZZO F, MAGRINI E, CERESOLI G L, *et al*. Akt phosphorylation and gefitinib efficacy in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(15): 1133-1141. DOI: 10.1093/jnci/djh217.

[18] KOBAYASHI M, TAKEUCHI T, OHTSUKI Y. Establishment of three novel human malignant pleural mesothelioma cell lines: morphological and cytogenetical studies and EGFR mutation status[J]. Anticancer Res, 2008, 28(1A): 197-208.

[19] 孙宇晶,刘畅,龙彦,等. NSCLC 患者治疗前血清 CEA 和 CYFRA21-1 水平与 EGFR 突变及 EGFR-TKI 疗效的关系[J]. 中华检验医学杂志,中华检验医学杂志, 2015, 38(6): 407-411. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2015.06.011.

SUN Y J, LIU C, LONG Y, *et al*. Serum CEA and CYFRA21-1 correlates with EGFR mutation and EGFR-TKI effectiveness in untreated NSCLC patients[J]. Chin J Lab Med, 2015,38(6): 407-411. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2015.06.011.

[20] TANAKA K, HATA A, KAJI R, *et al*. Cytokeratin 19 fragment predicts the efficacy of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor in non-small-cell lung cancer harboring EGFR mutation[J]. J Thorac Oncol, 2013, Jul;8(7): 892-898. doi: 10.1097/JTO.0b013e31828c3929.

[21] JUNG M, KIM S H, LEE Y J, *et al*. Prognostic and predictive value of CEA and CYFRA 21-1 levels in advanced non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib or erlotinib[J]. Exp Ther Med, 2011, 2(4): 685-693. DOI: 10.3892/etm.2011.273.

[22] BLACKHALL F H, PETERS S, BUBENDORF L, *et al*. Prevalence and clinical outcomes for patients with ALK-positive resected stage Ⅰ to Ⅲ adenocarcinoma: results from the European thoracic oncology platform lungscape project[J]. J Clin Oncol, 2014, 32(25): 2780-2787. DOI: 10.1200/jco.2013.54.5921.

[23] HANAGIRI T, SUGAYA M, TAKENAKA M, *et al*. Preoperative CYFRA 21-1 and CEA as prognostic factors in patients with stage I non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2011, 74(1): 112-117. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.02.001.

[24] PAIK J H, CHOI C M, KIM H, *et al*. Clinicopathologic implication of ALK rearrangement in surgically resected lung cancer: a proposal of diagnostic algorithm for ALK-rearranged adenocarcinoma[J]. Lung Cancer, 2012, 76(3): 403-409. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.11.008.

(**收稿**:2022-09-15;**修回**:2022-10-17)

(编辑 栾 嘉)