

七项自身抗体在肺癌诊断中的应用

徐思璞¹, 乔金平², 费广鹤¹

摘要 目的 分析评价七项自身抗体对肺癌的鉴别诊断价值。方法 采用 ELISA 试剂盒对 122 例受试者的血清抑癌基因 p53、蛋白基因产物 9.5 (PGP9.5)、干细胞转录因子(SOX2)、G 抗原 7 (GAGE7)、肿瘤抗原 4-5 (GBU4-5)、黑色素瘤抗原 A1 (MAGEA1)、人癌抗原 (CAGE) 共七项自身抗体进行检测, 其中肺外肿瘤 65 例、肺部良性病变 20 例、小细胞肺癌 3 例、体检 20 例、非小细胞肺癌 14 例, 并对结果进行了统计学分析。结果 实验对象分为肺外肿瘤、肺部良性病变、小细胞肺癌、体检、非小细胞肺癌 5 组, p53、SOX2、GBU4-5 和 MAGEA1 在小细胞癌组中的表达水平显著增高。使用 ROC 曲线进行统计分析结果显示: p53 (AUC = 0.664, $P < 0.05$) 对肺癌组和其他组的鉴别诊断有意义; GBU4-5 (AUC = 0.639, $P < 0.05$) 及七项联合检测 (AUC = 0.635, $P < 0.05$) 对鉴别非恶性肿瘤组和肿瘤组具有一定的诊断价值; MAGEA1、CAGE、PGP9.5、SOX2、七项联合检测对小细胞肺癌组和其他组的鉴别诊断具有较高的诊断价值 (均 AUC > 0.8, $P < 0.05$); MAGEA1 (AUC = 0.333, $P < 0.05$) 对体检组和其他组的鉴别诊断有一定的价值; p53 (AUC = 0.33)、PGP9.5 (AUC = 0.355)、GBU4-5 (AUC = 0.280)、CAGE (AUC = 0.341) 及七项联合检测 (AUC = 0.731) 对肺部良性病变和其他组的鉴别诊断具有一定的价值。结论 依据分组的不同, 所述七项自身抗体及其联合检测对肺癌的鉴别诊断均具有一定的价值。

关键词 肺癌; 自身抗体; ROC 曲线

中图分类号 R 734.2; R 446.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)06-0971-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.06.031

肺癌是世界上最常见的癌症之一, 近年来患病率持续升高^[1]。肺癌的诊断, 从依据细胞学和组织病理检查到检测血清中的单个肿瘤标志物, 再到肿瘤标志物的联合检测, 敏感性和特异性得到提高^[2]。对于肺癌的早期诊断, 自身抗体的敏感性和特异性已引起重视。血清中抑癌基因 p53 (tumor

protein 53, p53) 和抗 p53 抗体与癌症风险的增加密切相关, 并且可以作为恶性肿瘤早期诊断的血清学标志物^[3]。通过使用 ELISA 法检测血清 p53 (S-p53) 基因的改变, 证实 S-p53 基因可作为无症状、高风险群体的常规筛查标志物^[4-5]。肺癌中蛋白基因产物 9.5 (protein gene product 9.5, PGP9.5) 的表达可能在人类肺上皮细胞的致癌转化中起到一个因果作用^[6]。SOX2 (SRY-box containing gene 2) 的表达与小细胞肺癌的分期和增殖密切相关, 支持了 SOX2 是真正的小细胞肺癌驱动基因的设想^[7]。G 抗原 7 (G antigen 7, GAGE7) 在多种癌症中广泛表达, 表明其在肿瘤发生中起作用, 高水平的 GAGE7 表达在鳞状细胞癌中更常见^[8-9]。肿瘤抗原 (GBU4-5) 具有的免疫原性、癌症特异性的, 可能为癌症的诊断和治疗提供潜在的靶标^[10]。黑色素瘤抗原 (melanoma antigen, MAGE) 在黑素瘤、胃癌、结肠癌、肝细胞癌和非小细胞肺癌中都发现了 MAGE-A1 和-A3 的表达; 由 MAGE 启动子去甲基化介导的 MAGE 表达与非小细胞肺癌的侵袭性进展密切相关^[11]。人癌抗原 (cancer antigen, CAGE) 能在胃癌、胰腺癌和一部分肺癌中诱导自身抗体的应答^[10]。该文通过使用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析评价 p53、PGP9.5、SOX2、GAGE7、GBU4-5、MAGEA1、CAGE 等七项自身抗体单独和联合检测对肺癌的诊断的敏感性和特异性, 并对受试者进行了不同的组合分类, 探讨这些自身抗体对肺癌辅助诊断的应用价值。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2017 年 1~4 月期间就诊于安徽医科大学第一附属医院病例 122 例, 男 59 例, 女 63 例, 年龄 32~85 (62.8 ± 10.6) 岁。将受试者分为肺外肿瘤组、肺部良性病变组、小细胞肺癌组、非小细胞肺癌组、体检组。其中肺外肿瘤 65 例, 男 29 例, 女 36 例, 年龄 55~79 (66.0 ± 7.3) 岁。肺部良性病变 20 例, 男 11 例, 女 9 例, 年龄 32~81 (58.0 ± 13.0) 岁; 小细胞肺癌 3 例, 男 1 例, 女 2 例, 年龄 58~78 (67.0 ± 10.1) 岁; 体检 20 例, 男 10 例, 女 10

2018-03-26 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81570034)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院¹ 呼吸与危重症医学科、² 检验科, 合肥 230022

作者简介: 徐思璞, 男, 硕士研究生;

费广鹤, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: guanghefei@126.com

例, 年龄 40 ~ 75 (53.5 ± 9.9) 岁; 非小细胞肺癌 14 例, 男 8 例, 女 6 例, 年龄 48 ~ 85 (67.4 ± 11.7) 岁。

1.2 标本采集与检测 采集患者空腹晨血 3 ml, 离心后使用 ELISA 试剂盒(杭州凯保罗生物科技有限公司), 参照说明书进行检测。七项自身抗体阳性参考值分别为: p53 > 13.1 U/ml, PGP9.5 > 11.1 U/ml, SOX2 > 10.3 U/ml, GAGE7 > 14.4 U/ml, GBU4-5 > 7 U/ml, MAGEA1 > 11.9 U/ml, CAGE > 7.3 U/ml。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 24 软件, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA) 和 LSD 事后检验进行两两比较; 使用二元 Logistic 回归计算七项自身抗体联合检测的预测值, 再和每一项自身抗体单独检测的结果一起作图绘成 ROC 曲线, 计算曲线下面积(AUC), 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 不同类型的受试者者血清七项自身抗体水平测定 良性病变组和体检组的自身抗体浓度均较低, 各癌变组的自身抗体浓度有不同程度的增高, 经两两比较可得, 小细胞癌组的 p53、SOX2、GBU4-5、MAGEA1 自身抗体与体检组、肺外肿瘤、肺部良性病变组相比较, 差异均有显著性 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 肺癌组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 p53 的 AUC > 0.5, 且 $P < 0.05$, 提示 p53 自身抗体对肺癌组(非小细胞肺癌组、小细胞肺癌组)和其他组(体检组、肺外肿瘤组、肺部良性病变组) 差异有显著性(AUC > 0.5, $P < 0.05$)。见图 1。

2.3 肺部病变组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 单个自身抗体的 AUC < 0.5, 七项联合检测的 AUC 稍大于 0.5, 诊断价值较低, 即表示本组分类的差异无统计学意义, 见图 2。

2.4 非恶性肿瘤组和肿瘤组七项自身抗体的 ROC 曲线 GBU4-5 的 AUC = 0.639, 七项联合检测的 AUC = 0.635, 介于 0.5 ~ 0.7 之间, 有一定的诊断价值, 故 GBU4-5 及七项联合检测对本组分类的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

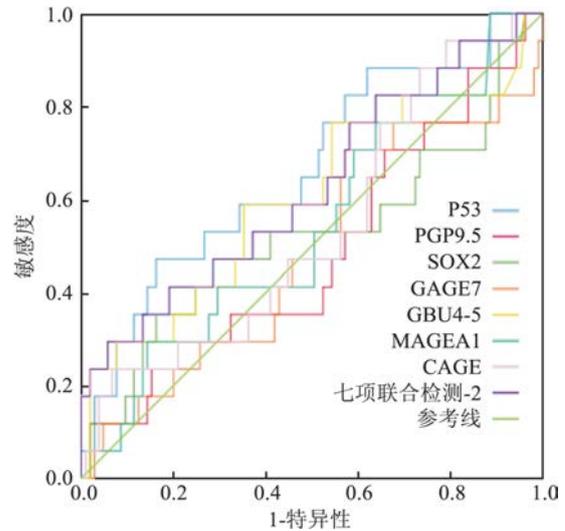


图1 肺癌组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线

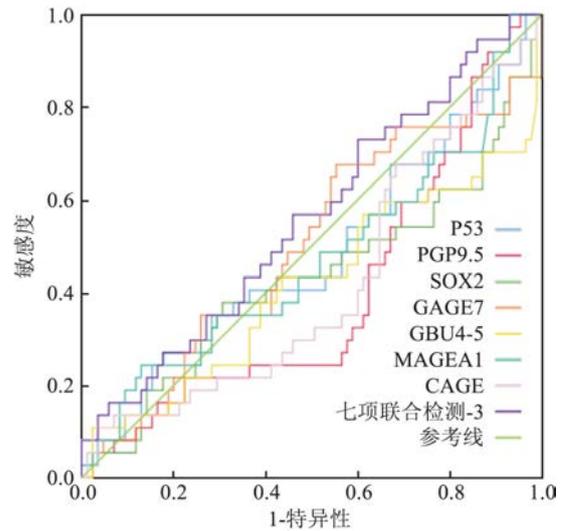


图2 肺部病变组和其他组的 ROC 曲线

表1 不同组别的自身抗体水平比较(U/ml) (n = 122 $\bar{x} \pm s$)

组别	p53	PGP9.5	SOX2	GAGE7	GBU4-5	MAGEA1	CAGE
体检	1.2 ± 0.7*	4.3 ± 1.9	2.9 ± 2.8*	3.7 ± 3.2	1.3 ± 1.5*	0.9 ± 1.0*	0.9 ± 0.4
肺外肿瘤	2.9 ± 6.3*	12.3 ± 32.9	10.3 ± 22.0*	4.0 ± 6.8	4.2 ± 8.0*	0.7 ± 1.5*	1.6 ± 3.3
肺部良性病变	0.9 ± 1.0*	4.1 ± 5.6	2.5 ± 3.6*	3.7 ± 5.5	0.7 ± 1.1*	0.7 ± 1.1*	1.0 ± 1.8
非小细胞肺癌	2.8 ± 3.5*	10.9 ± 30.4*	8.0 ± 19.1*	3.0 ± 3.8	5.5 ± 9.7*	0.5 ± 0.6*	2.3 ± 4.5
小细胞肺癌	20.3 ± 22.3	37.0 ± 52.1	33.2 ± 37.2	8.3 ± 10.6	20.9 ± 17.8	9.4 ± 14.2	3.5 ± 2.4
F 值	8.2	1.3	2.5	0.5	6.0	10.9	0.9

与小细胞肺癌组比较: * $P < 0.05$

2.5 小细胞肺癌组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 MAGEA1、CAGE、PGP9.5、SOX2、七项联合检测的 AUC 均 > 0.5 故均有诊断价值 (AUC > 0.5, $P < 0.05$) 其诊断价值排序为 MAGEA1 > CAGE > PGP9.5 = SOX2 > 七项联合检测, 见图 4。

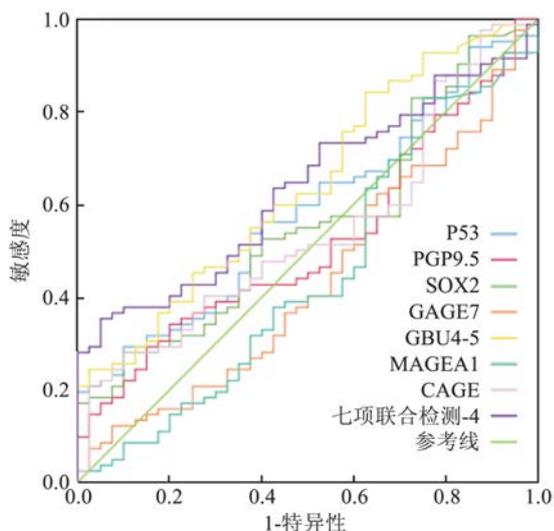


图3 非恶性肿瘤组和肿瘤组七项自身抗体的 ROC 曲线

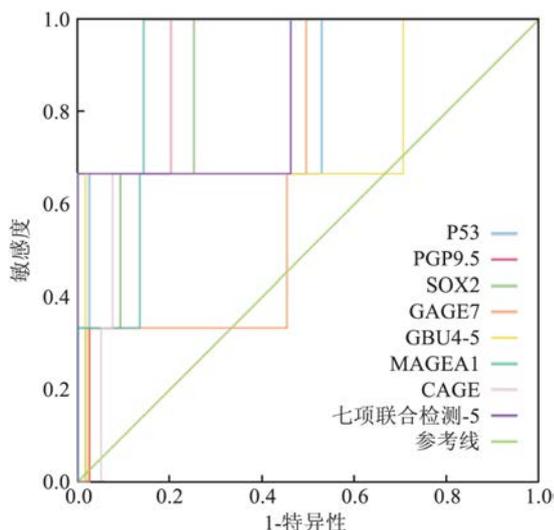


图4 小细胞肺癌组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线

2.6 非小细胞肺癌组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 仅 p53 和七项联合检测的 AUC > 0.5, 但 $P > 0.05$, 小细胞肺癌组和其他组(体检组、肺外肿瘤、肺部良性病变、非小细胞肺癌组)的七项自身抗体差异无显著性, 见图 5。

2.7 肺外肿瘤组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 仅七项联合检测的 AUC > 0.5, 且 $P < 0.05$, 肺外肿瘤组和其他组(体检、肺部良性病变、非小细

胞肺癌组、小细胞肺癌) 单独检测七项自身抗体无显著差异, 七项联合检测差异有显著性 (AUC > 0.5, $P < 0.05$)。见图 6。

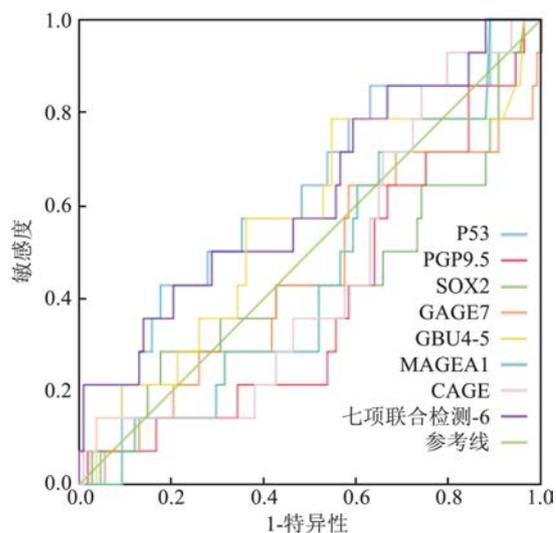


图5 非小细胞肺癌组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线

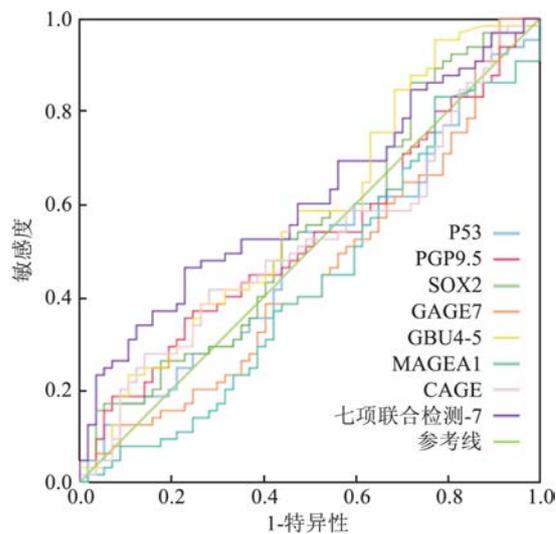


图6 肺外肿瘤组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线

2.8 体检组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 仅 MAGEA1 的 AUC = 0.333, 且 $P < 0.05$, 体检组和其他组(肺外肿瘤、肺部良性病变、非小细胞肺癌、小细胞肺癌) MAGEA1 自身抗体差异有显著性 ($P < 0.05$) 见图 7。

2.9 肺部良性病变和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线 仅 p53、PGP9.5、GBU4-5、CAGE、七项联合检测预测值的 AUC 与 0.5 相差较大, 且 $P < 0.05$, 其诊断价值排序为 GBU4-5 > 七项联合检测预测值 > p53 > CAGE > PGP9.5, 故 p53、PGP9.5、GBU4-5、CAGE 自身抗体及七项联合指标可鉴别诊断肺

部良性病变和其他组(体检、肺外肿瘤组、非小细胞肺癌组、小细胞肺癌) ,依据其 AUC 大小 ,以 GBU4 - 5 的诊断价值最高 ,见图 8。

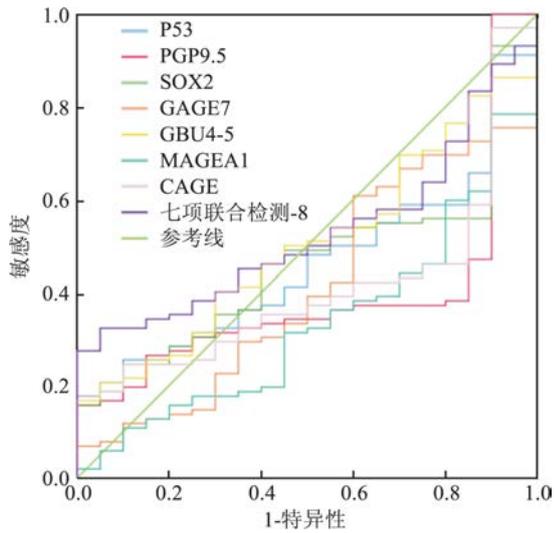


图7 体检组和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线

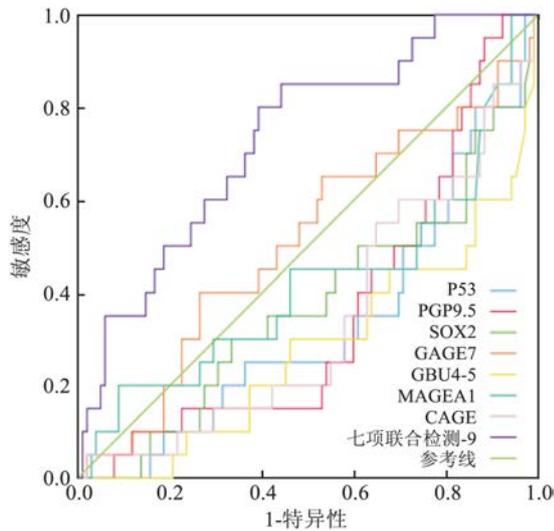


图8 肺部良性病变和其他组七项自身抗体的 ROC 曲线

3 讨论

与检测某一种自身抗体相比 ,检测一组自身抗体对疾病的诊断具有更高水平的灵敏度。6 个肿瘤相关性抗原即 p53 ,NY-ESO-1 ,CAGE ,GBU4 - 5 ,An-nexin 1 和 SOX2 组成的血清自身抗体测试组证实了检测一组自身抗体的价值^[12]。但是由于欧洲和亚洲肺癌患者的基因构成存在显著差异 ,因此这一组自身抗体联合检测可能不适合中国人群 ,近期有研究验证了另外七项自身抗体即 p53、GAGE7、PGP9. 5、CAGE、MAGEA1、SOX2 和 GBU4 - 5 的联

合检测与低剂量 CT 扫描相结合对于表现为磨玻璃样结节或实性结节患者的诊断准确率更高^[13]。

本实验通过统计分析 122 例受试者的血清七项自身抗体的水平 ,探讨其对肺癌的辅助诊断的应用价值。统计结果显示: 相对于其他四组 ,p53、SOX2、GBU4 - 5 和 MAGEA1 在小细胞癌组中的表达水平显著增高。但由于该组别病例数相对较少 ,可能会影响结果的准确性 ,后续研究将加大样本量。

ROC 曲线是生物标志物对疾病的诊断价值的一种非常有效的评价方法。曲线下面积 AUC 可反映诊断试验的价值的大小。依据 Swets 标准^[14] , AUC 常常取值范围在 0. 5 ~ 1 ,为 0. 5 时完全无诊断价值; 为 1 时是完全理想的诊断; 通常认为 ,在 0. 5 ~ 0. 7 时有较低的准确性; 在 0. 7 ~ 0. 9 时有较高的准确性; 在 0. 9 以上时准确性很高。但由于可以对数据按照公式换算后重新绘制 ROC 曲线旋转 180 度 ,从而使 AUC 大于 0. 5 ,所以在 ROC 分析诊断价值时主要是曲线离分隔线越远越好。本实验中 ,体检组和其他组的 ROC 曲线以及肺部良性病变和其他组的 ROC 曲线中有几个指标均小于 0. 5 ,并且 $P < 0. 05$,实际的意义是 ,这些自身抗体在这些组别里越低越具有诊断价值 ,如果对这些指标的检测值进行倒数后再进行 ROC 分析 ,即可得到数值大于 0. 5 的 AUC 值。

为了更精细化地评价这些自身抗体对肺癌的诊断价值 ,本实验对受试者进行不同的分类 ,结果显示: p53(AUC = 0. 664 , $P < 0. 05$) 对肺癌组和其他组的鉴别诊断有意义。MAGEA1、CAGE、PGP9. 5、SOX2、七项联合检测的对小细胞肺癌组和其他组的鉴别诊断具有较高的诊断价值(均 AUC > 0. 8 , $P < 0. 05$)。由不同的分组模式所得到的数据可见这七项自身抗体对不同的肺癌类型的诊断也是有区别的。

综上所述 ,依据分组的不同 ,本实验中的七项自身抗体及其联合检测对肺癌的鉴别诊断均具有一定的价值。

参考文献

[1] Torre L A , Siegel R L , Jemal A. Lung cancer statistics[J]. Adv Exp Med Biol , 2016 893: 1 - 19.

[2] 陈 锋 ,李为民 ,王冬梅 ,等. 联合检测血清肿瘤标志物在肺癌诊断中的价值[J]. 四川大学学报(医学版) , 2008 ,39(5) : 832 - 5.

[3] Wu M , Mao C , Chen Q , et al. Serum p53 protein and anti-p53 antibodies are associated with increased cancer risk: a case-control

- study of 569 patients and 879 healthy controls [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(1): 339–43.
- [4] Shimada H, Ochiai T, Nomura F, et al. Titration of serum p53 antibodies in 1,085 patients with various types of malignant tumors: a multiinstitutional analysis by the Japan p53 Antibody Research Group [J]. *Cancer*, 2003, 97(3): 682–9.
- [5] Park Y, Kim Y, Lee J H, et al. Usefulness of serum anti-p53 antibody assay for lung cancer diagnosis [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2011, 135(12): 1570–5.
- [6] Hibi K, Westra W H, Borges M, et al. PGP9.5 as a candidate tumor marker for non-small-cell lung cancer [J]. *Am J Pathol*, 1999, 155(3): 711–5.
- [7] Rudin C M, Durinck S, Stawiski E W, et al. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in small-cell lung cancer [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(10): 1111–6.
- [8] Lowe F J, Shen W, Zu J, et al. A novel autoantibody test for the detection of pre-neoplastic lung lesions [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 78.
- [9] Gjerstorff M F, Pohl M, Olsen K E, et al. Analysis of GAGE, NY-ESO-1 and SP17 cancer/testis antigen expression in early stage non-small cell lung carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 466.
- [10] Chapman C J, Murray A, McElveen J E, et al. Autoantibodies in lung cancer: possibilities for early detection and subsequent cure [J]. *Thorax*, 2008, 63(3): 228–33.
- [11] Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, et al. MAGE expressions mediated by demethylation of MAGE promoters induce progression of non-small cell lung cancer [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(1): 171–5.
- [12] Murray A, Chapman C J, Healey G, et al. Technical validation of an autoantibody test for lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(8): 1687–93.
- [13] Ren S, Zhang S, Jiang T, et al. Early detection of lung cancer by using an autoantibody panel in Chinese population [J]. *Oncol Immunol*, 2017: e1384108.
- [14] Swets J A. Measuring the accuracy of diagnostic systems [J]. *Science*, 1988, 240(4857): 1285–93.

Application of seven autoantibodies in diagnosis of lung cancer

Xu Sipu¹, Qiao Jinping², Fei Guanghe¹

(¹Dept of Respiratory and Critical Medical, ²Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To evaluate the diagnostic value of seven autoantibodies in the differential diagnosis of lung cancer patients. **Methods** The serum levels of seven autoantibodies p53, PGP9.5, SOX2, GAGE7, GBU4–5, MAGEA1 and CAGE were detected by ELISA in 122 subjects, which include 65 extrapulmonary tumors, 20 benign lung diseases, 3 small cell lung cancers, 20 physical examination subjects and 14 non-small cell lung cancers. Subsequently, the results were statistically analyzed by SPSS. **Results** The subjects were divided into five subgroups, included extrapulmonary tumors, benign pulmonary lesions, small cell lung cancer, physical examination and non-small cell lung cancer subgroup. p53, SOX2, GBU4–5 and MAGEA1 in small cell cancer subgroup had significantly higher expression levels. Subjects were categorized differently using a ROC curve for statistical analysis. The results showed that p53 (AUC = 0.664, $P < 0.05$) was significantly higher in lung cancer group than another group. GBU4–5 (AUC = 0.639, $P < 0.05$) and the combination of the seven indicators (AUC = 0.635, $P < 0.05$) had a certain diagnostic value for differential diagnosis of the non-malignant tumor group and the tumor group. MAGEA1, CAGE, PGP9.5, SOX2 and the combination of the seven indexes (AUC > 0.8, $P < 0.05$) had a high value in the differential diagnosis of small cell lung cancer group and another group. MAGEA1 (AUC = 0.333, $P < 0.05$) had some value in the differential diagnosis of the physical examination group and another group. p53 (AUC = 0.33), PGP9.5 (AUC = 0.355), GBU4–5 (AUC = 0.280), CAGE (AUC = 0.341) and seven indicators combined detection (AUC = 0.731) had certain value in the differential diagnosis of benign lung diseases group and another group. **Conclusion** According to the different groups, the detection of seven autoantibodies and their combined detection have a certain value for differential diagnosis of lung cancer.

Key words lung carcinoma; autoantibody; ROC curve