

论著·临床研究

视网膜母细胞瘤相关血清肿瘤标记物的初步研究

刘智屏 周克英 陈俐丽 肖智辉 陈言钊

(深圳市人民医院/暨南大学第二临床医学院儿科, 广东 深圳 518020)

[摘要] **目的** 研究7个常用血清肿瘤标志物(TM)在视网膜母细胞瘤(RB)患者的表达,以期筛选出与RB相关的血清肿瘤标记物。**方法** 采用化学发光法检测20例RB患者及20例健康体检者(对照组)的甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、糖类抗原125(CA125)以及CA153、CA199、CA724的水平。**结果** RB组的NSE、CA153、CA199水平及阳性率均高于对照组($P<0.05$),两组间AFP、CEA、CA125、CA724水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。NSE灵敏度最高,但特异性相对较低;CA153、CA199特异性较高,但灵敏度相对较低。**结论** NSE、CA153、CA199在RB组的表达水平及阳性率均较高,三者结合可能可作为视网膜母细胞瘤诊断的标志物。[中国当代儿科杂志, 2017, 19(3): 318-321]

[关键词] 视网膜母细胞瘤;联合检测;肿瘤标记物;儿童

A preliminary study of retinoblastoma-related serum tumor markers

LIU Zhi-Ping, ZHOU Ke-Ying, CHEN Li-Li, XIAO Zhi-Hui, CHEN Yan-Zhao. Department of Pediatrics, The Second Clinical Medical College/Shenzhen People's Hospital, Jinan University, Shenzhen, Guangdong 518020, China (Zhou K-Y, Email: lzp97420@163.com)

Abstract: Objective To screen out retinoblastoma (RB)-related serum tumor markers by measuring the levels of serum alpha fetoprotein (AFP), carcino-embryonic antigen (CEA), neuron-specific enolase (NSE), carbohydrate antigen 125 (CA125), carbohydrate antigen 153 (CA153), carbohydrate antigen 199 (CA199), and carbohydrate antigen 724 (CA724) in children with RB. **Methods** The levels of seven serum tumor markers (AFP, CEA, NSE, CA125, CA153, CA199, and CA724) were determined in 20 children with RB and 20 healthy children (control) using a chemiluminescent immunoassay. **Results** The serum levels and positive rates of NSE, CA153, and CA199 in the RB group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). However, there were no significant differences in the levels of AFP, CEA, CA125, and CA724 between the two groups ($P>0.05$). NSE had the highest sensitivity, but a relatively low specificity for the diagnosis of RB. CA153 and CA199 had a relatively high specificity, but a relatively low sensitivity for the diagnosis of RB. **Conclusions** The serum levels and positive rates of NSE, CA153, and CA199 are high in children with RB. Combined measurement of these three serum tumor markers may have an important diagnostic value for RB. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(3): 318-321]

Key words: Retinoblastoma; Combined measurement; Tumor marker; Child

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)在存活婴幼儿中的发病率约为1/20000,是婴幼儿最常见的原发性眼内恶性肿瘤,严重地影响婴幼儿的视力及生命^[1]。RB早期诊断困难,就诊时部分患儿已处于中晚期,治疗难度增大,治疗后转移、复发的比例也明显增加。因此,早期诊断及疗效监

测对于降低RB的病死率显得尤为重要。肿瘤标记物(tumor marker, TM)对于多种肿瘤的早期诊断、疗效监测及预后评估都非常有价值^[2-4],但关于视网膜母细胞瘤相关TM的研究及文献报道很少,尚未发现RB特异性的TM。本研究选择常用且检测方法简便的7种血清肿瘤标记物:甲胎蛋

[收稿日期] 2016-9-30; [接受日期] 2016-12-08

[基金项目] 深圳市科技研发资金知识创新计划基础研究项目(JCYJ20140416122811998)。

[作者简介] 刘智屏,女,硕士,副主任医师。

[通信作者] 周克英,男,主任医师。

白 (alpha fetoprotein, AFP)、癌胚抗原 (carcino-embryonic antigen, CEA)、神经元特异性烯醇化酶 (neuron specific enolase, NSE)、以及糖类抗原 125 (carrbohydrate antigen125, CA125)、CA153、CA199、CA724, 进行RB患儿与对照组的对照研究, 以发现这些 TM 表达与 RB 之间的关系, 拟筛选出 RB 相关的 TM。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2014 年 6 月至 2016 年 6 月深圳市人民医院儿科确诊并接受化疗, 且资料完整的 20 例 RB 患者作为研究对象。RB 患者根据眼部 CT、双眼彩色超声多普勒、眼底照相及眼球摘除后病理检查确诊, 年龄 3~57 个月, 中位年龄 19 个月; 男性患儿 8 例 (40%), 女 12 例 (60%); 单眼受累 14 例 (70%), 双眼受累 6 例 (30%); 化疗前未行手术者 11 例, 化疗前行眼球摘除术者 9 例 (术后 1 个月内开始化疗)。

RB 分为 4 期^[5]: 眼内期、青光眼期、眼外期及转移期。根据 IIRC 法 (international intraocular retinoblastoma classification)^[6], 眼内期 RB 又分为 A~E 期。本组眼内期 17 例, 其中 A~C 期 5 例、D 期 7 例、E 期 5 例; 青光眼期 1 例, 眼外期 2 例, 无转移期患儿。

对照组选取同期我院健康体检儿童 20 例, 无特殊的既往史或家族史, 其中男性 7 例、女性 13 例, 年龄 2~65 个月, 中位年龄 23 个月。

1.2 检测方法

采集 RB 组化疗前及对照组空腹、非抗凝静脉血 3 mL, 室温下静置 30 min, 自凝后 4000 r/min 离心 10 min, 分离血清置于 -20℃ 冰箱保存待检。采用化学发光法 (Roche 公司 Cobase 601 全自动

化学发光免疫分析仪) 及原装配套试剂盒 (瑞士罗氏公司提供) 测定 CA125、CA199、CA153、CA724、CEA、NSE、AFP。操作按照说明书进行。

1.3 判断标准

(1) 根据试剂盒所提供标准, 各肿瘤标记物正常参考值范围: CA125<35 U/mL, CA199<39 U/mL, CA153<25 U/mL, CA724<10 U/mL, CEA<10 ng/mL, NSE<15.2 ng/mL, AFP<9 ng/mL, 大于参考值即为阳性。(2) 联合检测的阳性判定标准: 联合检测组合中任一指标超过正常值即为阳性。

灵敏度 = (真阳性数 / 确诊 RB 人数) × 100%;

特异度 = (真阴性数 / 非 RB 患者人数) × 100%;

约登指数 = (灵敏度 + 特异度) - 1。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两样本均数的比较采用独立样本 *t* 检验; 计数资料以百分率表示, 两样本百分率的比较采用 χ^2 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组及对照组各肿瘤标记物结果比较

RB 组的肿瘤标记物 NSE、CA153、CA199 水平高于对照组 (P<0.05), 两组间 AFP、CEA、CA125、CA724 水平的差异无统计学意义 (P>0.05)。见表 1。

2.2 未行手术治疗的 RB 患儿与 RB 患儿术后 NSE、CA153、CA199 水平的比较

RB 组未行手术者 11 例, 已行手术治疗者 9 例。两组间 NSE、CA153、CA199 的表达差异无统计学意义 (P>0.05), 见表 2。

表 1 两组患儿各种血清标记物的水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AFP (ng/mL)	CEA (ng/mL)	NSE (ng/mL)	CA125 (U/mL)	CA153 (U/mL)	CA199 (U/mL)	CA724 (U/mL)
对照组	20	14 ± 45	2.3 ± 1.3	29 ± 10	21 ± 9	10 ± 4	20 ± 13	2.0 ± 1.8
视网膜母细胞瘤组	20	22 ± 60	3.2 ± 3.0	44 ± 20	19 ± 6	19 ± 11	41 ± 28	1.2 ± 0.3
<i>t</i> 值		0.514	1.207	2.871	-0.818	3.338	2.991	-1.824
<i>P</i> 值		0.610	0.235	0.007	0.418	0.002	0.005	0.082

注: [AFP] 甲胎蛋白; [CEA] 癌胚抗原; [NSE] 神经元特异性烯醇化酶; [CA125] 糖类抗原 125; [CA153] 糖类抗原 153; [CA199] 糖类抗原 199; [CA724] 糖类抗原 724。

表 2 未手术与已行手术 RB 患者的肿瘤标记物水平比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NSE (ng/mL)	CA153 (U/mL)	CA199 (U/mL)
未手术组	11	50 ± 23	17 ± 13	41 ± 26
手术组	9	36 ± 13	20 ± 10	40 ± 32
t 值		1.736	-0.692	0.122
P 值		0.100	0.498	0.904

注: [NSE] 神经元特异性烯醇化酶; [CA153] 糖类抗原 153; [CA199] 糖类抗原 199。

2.3 病例组及对照组各肿瘤标记物阳性率比较

RB 组及对照组的 CA125、CA724、CEA 阳性率均为 0。AFP 显著增高的 2 例 RB 患儿及 3 例对照组均为 2~7 个月婴儿, 考虑 AFP 升高与年龄有关, 因此未进行组间 AFP 阳性率的比较。RB 组 NSE、CA153、CA199 的阳性率高于对照组 ($P < 0.05$), 见表 3。RB 组 2 例患儿的 CA153 与 CA199 均阳性。

表 3 病例组与对照组肿瘤标记物的阳性率比较

[例 (%)]

组别	n	NSE	CA153	CA199
对照组	20	8(40)	0(0)	2(10)
视网膜母细胞瘤组	20	20(100)	6(30)	8(40)
χ^2 值		17.143	4.902	4.800
P 值		<0.001	0.027	0.028

注: [NSE] 神经元特异性烯醇化酶; [CA153] 糖类抗原 153; [CA199] 糖类抗原 199。

2.4 不同肿瘤标记物诊断 RB 的灵敏度、特异度、约登指数

NSE、CA153、CA199 3 个肿瘤标志物中, NSE 灵敏度最高, 但特异度相对较低; CA153、CA199 特异度较高, 敏感度相对较低; NSE 约登指数最高。见表 4。

表 4 不同肿瘤标记物诊断 RB 的灵敏度及特异度

肿瘤标记物	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数
NSE	100	60	0.60
CA153	30	100	0.30
CA199	40	90	0.30
联合检测	100	55	0.55

注: [RB] 视网膜母细胞瘤; [NSE] 神经元特异性烯醇化酶; [CA153] 糖类抗原 153; [CA199] 糖类抗原 199。

3 讨论

目前, 确诊 RB 主要依靠眼部 CT、眼部彩色超声多普勒、眼底照相以及眼球摘除后的病理检查等综合手段。而 RB 常发生于婴幼儿, 不易被早期诊断, 就诊时部分患儿已处于中晚期, 治疗难度加大。RB 多采用化疗结合局部治疗的方法, 取得了较好的疗效^[7]。但部分患者化疗后病情仍进展, 需行眼球摘除手术; 部分已行眼球摘除的患者化疗后也可能出现眼外转移。因此, RB 患者的早期诊断及个体化治疗对于预后改善非常重要, 寻找对于早期诊断、疗效评估及预后判断有指导意义的血清学指标意义重大。

TM 是在肿瘤细胞发展和增殖过程中, 由肿瘤细胞合成、分泌或是机体对肿瘤细胞发生反应而产生的一类物质^[8]。本研究选择 7 个常用血清 TM 进行研究, 以期寻求对 RB 诊疗有意义的 TM。

NSE 是神经内分泌细胞分泌的烯醇化酶同工酶, 是神经母细胞瘤、小细胞肺癌和甲状腺髓质癌等神经内分泌肿瘤的特异性标志^[9-10]。近年来国内外有文献报道 NSE 用于 RB 的诊断^[11]。国内有研究显示, 血清和房水 NSE 是有价值的 RB 诊断标记物^[12]。胡慧敏等^[13]研究表明, 血清 NSE 检测对于 RB 远处转移有诊断价值。本研究 RB 组 NSE 水平及阳性率均高于对照组, 而且 RB 组 NSE 阳性率达 100%, 与文献相符。提示 NSE 可能对 RB 诊断具有参考价值; 但本研究 NSE 在对照组的阳性率也达 40%, 说明其特异性不够高, 最好能联合其他 TM 一起用于 RB 诊断。

CA153 最早发现于乳腺癌上皮细胞, 常在乳腺癌患者过度表达, 是监测乳腺癌的重要标志物, 在其他一些恶性肿瘤如肺癌、胃癌、卵巢癌中也有增高^[14]。CA199 是一种粘蛋白型糖蛋白, 在血清中含量甚微, 常分布于正常胎儿的胰腺、胆囊、肝脏、肠以及正常成人的胰腺、胆管上皮等部位, 是对胰腺癌敏感性最高的 TM, 在一些消化道炎症也有不同程度升高^[15]。本研究 RB 组的 CA153、CA199 的水平及阳性率均高于对照组。原因有待进一步研究。本研究 CA153 特异度为 100%、CA199 为 90%, 但二者灵敏度均较低, CA153 为 30%、CA199 为 40%, 因此血清 CA153、CA199 可能是与 RB 相关的肿瘤标志物, 联合其他更为敏

感的指标如NSE可提高诊断的有效性。

AFP是诊断肝脏肿瘤最具特异性的TM, 在一些消化道肿瘤及胚胎瘤中, 也有程度不等的增高^[16]。本研究AFP显著增高的2例RB患儿及3例对照组儿童均为2~7个月婴儿, AFP的增高与年龄有关; 而且RB组与对照组的AFP差异无统计学意义。因此, AFP对RB诊断可能参考意义不大。CEA是一种糖蛋白, 在成人血清中含量极少, 主要作为结肠癌的一个预测指标^[17]。CEA属于非器官特异性肿瘤相关抗原, 在胃癌、胰腺癌、乳腺癌、肺癌等肿瘤中均可能过度表达^[18-19]。CA125于1983年由Bast等从上皮性卵巢癌抗原中首次检出, 是一种高分子糖蛋白复合物^[20]。CA125升高主要见于妇科肿瘤患者, 现已被应用于卵巢肿瘤的诊断、预后评估及随访^[21]。Cedre's等^[22]报道CA125与肺癌也有一定的关系。在乳腺癌、肠癌、宫颈癌、子宫内膜癌以及一些炎症性疾病, CA125也可能增高^[23]。CA724存在于多种肿瘤, 如胃癌、胰腺癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌等, 但对于胃癌的诊断具有较高敏感性和特异性^[2]。本研究中CEA、CA125、CA724在RB组均阴性, 与对照组水平的差异无统计学意义, 对RB的诊断可能没有指导意义。

综上, NSE、CA153、CA199在RB组的表达及阳性率均较高, 三者结合可能可作为视网膜母细胞瘤诊断及疗效监测的标志物。但本研究例数有限, 通过多中心研究扩大样本量, 了解这些TM在不同分期以及手术、化疗等治疗过程中的动态变化, 有助于更准确地分析其与RB病情及预后的关系。

【参 考 文 献】

- [1] Shahsavari M, Mashayekhi A. Pharmacotherapy for retinoblastoma [J]. J Ophthalmic Vis Res, 2009, 4(3): 169-173.
- [2] Ucar E, Semerci E, Ustun H, et al. Prognostic value of preoperative CEA, CA199, CA724, and AFP levels in gastric cancer[J]. Adv Ther, 2008, 25(10): 1075-1084.
- [3] 周婧婷, 许晶晶, 霍剑锋, 等. 肺癌患者血清 CEA, CA19-9, CA125 及 CA153 围手术期动态监测的临床意义 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(15): 2896-2897.
- [4] 南永刚, 许建林, 李楠, 等. CA153、CA125 联合 HER-2 检测在乳腺癌各临床分期诊断中的应用 [J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(19): 3070-3073.
- [5] 罗清礼. 眼眶继发性肿瘤 [M]// 宋国祥, 吴中耀. 眼眶病学. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 247-251.
- [6] Berry JL, Jubran R, Kim JW, et al. Long-term outcomes of group D eyes in bilateral retinoblastoma patients treated with chemoreduction and low-dose IMRT salvage[J]. Pediatr Blood Cancer, 2013, 60(4): 688-693.
- [7] 曹加国. 视网膜母细胞瘤患者全身化学药物治疗联合局部治疗的临床效果 [J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(6): 918-920.
- [8] Huang HC, Zheng S, VanBuren V, et al. Discovering disease-specific biomarker genes for cancer diagnosis and prognosis[J]. Technol Cancer Res Treat, 2010, 9(3): 219-230.
- [9] 李晓玲, 孙立荣. 血清神经特异性烯醇化酶对神经母细胞瘤的诊治价值 [J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(5): 435-437.
- [10] 宋丽, 陶敏, 赵真, 等. 血清 NSE 和 CA125 作为小细胞肺癌疗效评价指标的临床价值 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(1): 99-100.
- [11] Hervás Benito I, Ruiz Rodriguez JC, Saura Quiles A, et al. Radioimmunometric assay of neuron specific enolase in aqueous humor and serum in patients with retinoblastoma[J]. Rev Esp Med Nucl, 2000, 19(7): 472-478.
- [12] 吴中耀, 毛羽翔, 杨华胜, 等. 血清烯醇化酶定量检测对视网膜母细胞瘤诊断和监测的应用价值 [J]. 中华眼科杂志, 1998, 34(2): 117-120.
- [13] 胡慧敏, 王一卓, 黄东生, 等. 213 例视网膜母细胞瘤患儿血清 NSE 值分析 [J]. 国际儿科学杂志, 2013, 40(5): 535-537.
- [14] Cao R, Wang LP. Serological diagnosis of liver metastasis in patients with breast cancer[J]. Cancer Biol Med, 2012, 9(1): 57-62.
- [15] Bilgin E, Dizdar Y, Serilmez M, et al. For which cancer types can neuron-specific enolase be clinically helpful in Turkish patients[J]. Asian Pac J cancer Prev, 2013, 14(4): 2541-2544.
- [16] Zheng L, Gong W, Liang P, et al. Effects of AFP-activated PI3K/Akt signaling pathway on cell proliferation of liver cancer[J]. Tumour Biol, 2014, 35(5): 4095-4099.
- [17] Lee WS, Baek JH, Kim KK, et al. The prognostic significance of percentage drop in serum CEA post curative resection for colon cancer[J]. Surg Oncol, 2012, 21(1): 45-51.
- [18] Nam DH, Lee YK, Park JC, et al. Prognostic value of early postoperative tumor marker response in gastric cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20(12): 3905-3911.
- [19] Ramshankar V, Krishnamurthy A. Lung cancer detection by screening-presenting circulating miRNAs as a promising next generation biomarker breakthrough[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2167-2172.
- [20] Bast RC Jr, Badgwell D, Lu Z, et al. New tumor markers: CA125 and beyond[J]. Int J Gynecol Cancer, 2005, 15(Suppl 3): 274-281.
- [21] Bast RC Jr, Spriggs DR. More than a biomarker: CA125 may contribute to ovarian cancer pathogenesis[J]. Gynecol Oncol, 2011, 121(3): 429-430.
- [22] Cedrés S, Nuñez I, Longo M, et al. Serum tumor markers CEA, CYFRA21-1, and CA125 are associated with worse prognosis in advanced non-small cell lung cancer(NSCLC)[J]. Clin Lung Cancer, 2011, 12(3): 172-179.
- [23] Azzam AZ, Hashad DI, Kamel NA. Evaluation of HE4 as an extrabiomarker to CA125 to improve detection of ovarian carcinoma: is it time for a step forward[J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 288(1): 167-172.

(本文编辑: 俞燕)