ESM-1 和 CEA 联合检测在鉴别良恶性胸腔积液中的价值

陆国军[1*],张　宇[1],解卫平[2],曾晓宁[2],孔　辉[2],魏永越[3]

([1]东南大学医学院附属南京胸科医院呼吸科,江苏　南京　210029;[2]南京医科大学第一附属医院呼吸科,江苏　南京　210029;[3]南京医科大学公共卫生学院统计学系,江苏　南京　211166)

[摘　要]　目的:探讨胸腔积液中细胞内皮特异因子-1(malignant pleural effusion, ESM-1)、癌胚抗原(carcino embryonie anti-gen, CEA)联合检测对肺癌所致恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)和结核性胸腔积液(tuberculous pleural effusion, TPE)的鉴别诊断价值。方法:收集 110 例胸腔积液患者,其中肺癌伴 MPE 65 例,TPE 45 例,分别采用 ELISA 法和化学发光法对两组患者胸腔积液组的 ESM-1 和 CEA 水平进行测定,根据受试者工作曲线(ROC)计算临床诊断界值,并对结果进行统计分析。结果:MPE 中 ESM-1 和 CEA 的水平明显高于 TPE 组,差异有统计学意义(P 均<0.001)。ESM-1 取 19.58 ng/mL 时,诊断 MPE 的敏感度、特异度和准确性分别为 81.50%、84.60%、82.73%;CEA 取 8.52 ng/mL 时,诊断 MPE 的敏感度、特异度和准确性分别为 73.80%、95.60%和 82.73%。二者联合检测的敏感度、特异度和准确性为 83.1%、93.3%和 82.73%。结论:MPE 患者胸腔积液中 ESM-1 显著增高,ESM-1 对 MPE 有一定的诊断价值,联合检测 ESM-1 和 CEA 可进一步提高 MPE 诊断敏感度。
[关键词]　ESM-1;CEA;胸腔积液;鉴别诊断

Diagnostic significance of combining determination ESM-1 with CEA level in differentiating malignant pleural effusion from tuberculous pleural effusion

Lu Guojun[1*], Zhang Yu[1], Xie Weiping[2], Zeng Xiaoning[2], Kong Hui[2], Wei Yongyue[3]
([1]*Department of Respiratory Medicine*, *Nanjing Chest Hospital*, *School of Medicine*, *Southeast University*, *Nanjing 210029*; [2]*Department of Respiratory Medicine*, *the First Affiliated Hospital of NJMU*, *Nanjing 210029*; [3]*Department of Biostatistics*, *School of Public Health*, *NJMU*, *Nanjing 211166*, *China*)

[Abstract]　Objective: To investigate the diagnostic value of combining determination of ESM-1 and CEA levels in differentiating tuberculous(TPE) from malignant pleural effusion(MPE) caused by lung cancer. Methods: Totally 65 NSCLC patients with MPE and 45 patients with TPE were enrolled into this study. The ESM-1 level in pleural effusion was tested by ELISA and CEA levels were tested by the chemiLuminescence method. All results were analyzed by the statistical method. Results: The levels of ESM-1 and CEA in MPE was significantly higher than those in TPE(P<0.001). The sensitivity of ESM-1 testing for diagnosing MPE was 81.5%, the specificity was 84.60% and the accuracy was 82.73%. The sensitivity of CEA testing was 73.80%, the specificity was 95.60%, and the overall accuracy was 82.73%. The sensitivity of the combined testing was 83.10%, the specificity was 96.30%, and the overall accuracy was 82.73%. The sensitivity and the overall accuracy of combined testing were higher than those by ESM-1 and CEA testing single. Conclusion: MPE presents higher ESM-1 concentration than TPE does,and determination of ESM-1 is useful to differentiate MPE from TPE. The combined testing of ESM-1 with CEA can increase the sensitivity of diagnosis of MPE.
[Key words]　ESM-1;CEA;pleural effusion;differential diagnosis

肺癌是全球范围内发病率和病死率居首位的恶性肿瘤，其中非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 占 85%。约有 50%的晚期 NSCLC 患者出现恶性胸腔积液 (malignant pleural effusion, MPE)[1]。然而 MPE 尚无敏感性和特异性均令人满意的标志物。寻找新的 MPE 诊断标志物,对于 MPE 的诊断和预后有着重要意义。内皮细胞特异性分子-1(endothelial-cell-specific molecule 1, ESM-1)是一种可溶性蛋白聚糖，由内皮细胞特异性分泌,分

子量为 50 kDa。研究表明,ESM-1 在多种肿瘤如肾透明细胞癌、肝癌、胃癌均表达增高[2-4]。ESM-1 在肺癌组织中的表达也明显增高[5-6],尚无胸腔积液ESM-1 表达的报道。而癌胚抗原(carcino embryonie antigen,CEA)作为肿瘤标志物已广泛应用于临床,对鉴别良恶性胸腔积液有一定的价值[7]。本研究拟通过联合检测胸腔积液中 ESM-1 和 CEA 的表达,探讨其对 MPE 和结核性胸腔积液(tuberculous pleural effusion,TPE)的诊断价值。

1 对象和方法

1.1 对象

选取南京市胸科医院住院的胸腔积液患者,共110 例。其中经病理学检查确诊的 NSCLC 合并 MPE患者 65 例,其中男 37 例,女 28 例,年龄 33~84 岁,平均 59.34 岁;其中肺腺癌 50 例,肺鳞癌 15 例。TPE患者 45 例,男 26 例,女 19 例,年龄 18~94 岁,平均52.91 岁。诊断标准:NSCLC 患者合并的 MPE 均经病理学证实,胸水细胞或胸膜活检病理找到癌细胞。TPE 的诊断标准如下:患者无肿瘤病史,经反复多次化验胸水中无肿瘤细胞,胸水中腺苷脱氨酶(ADA)增高(>40 U/L),胸膜活检标本存在典型的上皮细胞样肉芽肿或结核分枝杆菌,且经过抗结核治疗后胸水能吸收。

1.2 方法

签署知情同意书后,在患者接受化疗或抗结核治疗前,经无菌条件下胸腔穿刺术抽取胸腔积液,在 4℃以 1 500 r/min 离心 10 min,收集上清液保存于−80℃冰箱备用。采用 ELISA 试剂盒(武汉 USCN生物公司)检测胸腔积液中 ESM-1 的表达。同时采用化学发光法试剂盒(罗氏公司,瑞士)检测胸腔积液中的 CEA 水平。所用的样本都有经验丰富的实验人员按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x}±s$)表示,两组间均数比较用 t检验。根据受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)确定诊断的敏感度、特异度和准确性,以及诊断 MPE 的最佳临界值。$P≤0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 良恶性胸腔积液中 ESM1 和 CEA 的表达水平

实验结果表明,MPE 组中 ESM-1 及 CEA 表达

均高于 TPE 组,差异有统计学意义[ESM-1:(50.86±37.39)ng/mL vs.(13.96±6.21)ng/mL, P<0.001;CEA:(199.28±248.12)ng/mL vs. (3.79±2.66)ng/mL, P<0.001]。因 MPE 中 ESM-1 和 CEA 的值变化差异大且显著高于 TPE 组, 作图时进行了对数转换(图 1)。
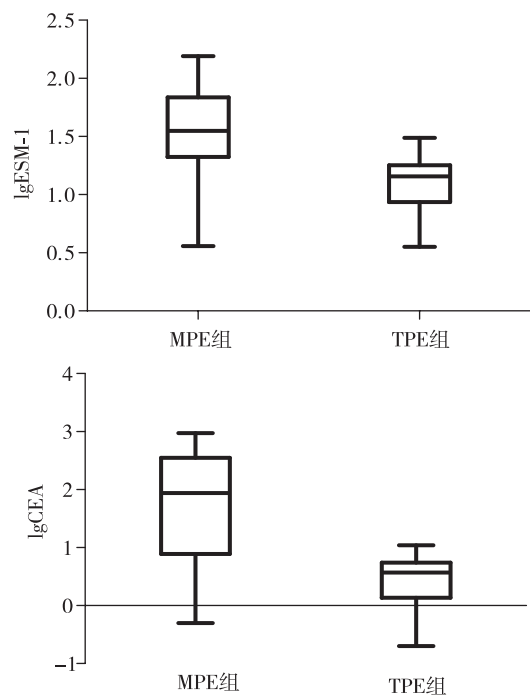

图 1　MPE 组胸腔积液中 ESM-1、CEA 浓度显著高于 TPE 组
Figure 1　MPE presents higher ESM-1, CEA concentration than TPE

2.2 胸腔积液 ESM-1、CEA 对鉴别 MPE 和 TPE 的价值

通过 ROC 曲线分析不同诊断界值时, 胸腔积液 ESM-1 和 CEA 诊断 MPE 的敏感性和特异性。ESM-1 和 CEA 的 ROC 曲线下面积分别为 0.885 和0.903(图 2)。ESM-1 的 95%CI 为 0.822~0.947,当最佳截断值取 19.58 ng/mL 时,ESM-1 诊断 MPE 的灵敏度和特异度分别为 81.5%和 84.6%。CEA 的 95%CI 为 0.846~0.910, 当最佳截断值取 8.52 ng/mL 时,CEA 诊断 MPE 的灵敏度和特异度分别为 73.8%和95.6%。

2.3 二者联合检测诊断 MPE 的价值

共有 41 例(63.1%)MPE 患者 CEA 和 ESM-1 同时增高。ESM-1 和 CEA 联合检测时,先用 Logistic 回归进行分析,做出概率预测值,并以此值绘制 ROC曲线。二者联合诊断 MPE 的灵敏度较单一检测有所增高(83.1%),特异度略有下降(93.3%),而准确性无变化(表 1)。
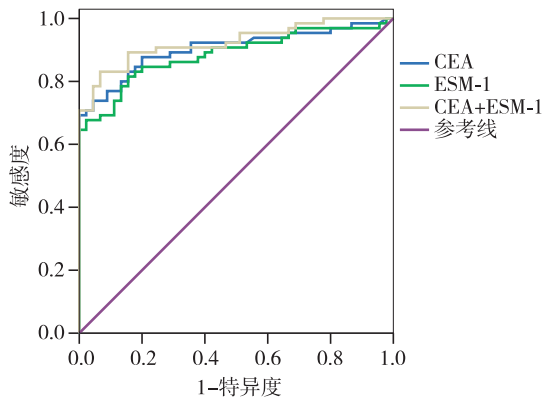
图 2　ESM-1、CEA 及二者联合对 MPE 的诊断价值

Figure 2　ROC curve of ESM-1，CEA and combining determination for MPE

表 1　ESM-1、CEA 及二者联合 MPE 的诊断效能评价

Table 1　Diagnostic value of ESM-1，CEA and combining determination for MPE (%)

指标	敏感度	特异度	准确性	阳性预测值	阴性预测值
ESM-1	81.5	84.6	82.73	88.33	76.00
CEA	73.8	95.6	82.73	96.00	71.70
ESM-1+CEA	83.1	93.3	82.73	94.74	79.25

3　讨　论

肺癌是全球范围内发病率和病死率均居首位的恶性肿瘤，大约 15% 的 NSCLC 患者在初诊时即伴有胸腔积液，同时约有高达 50% 的患者在病程中出现。结核性胸膜炎仍是我国胸腔积液最主要的病因。目前诊断胸腔积液最常用的办法有胸水细胞学、闭式胸膜活检或胸腔镜检查。胸水细胞学和闭式胸膜活检术诊断胸腔积液效率低下[8]，而胸腔镜虽可将诊断率提高到 90% 以上，但技术要求高、易出现并发症[9-10]，且无法在基层医院推广。因此，对于病理无法确诊的患者，常检测胸腔积液中肿瘤标志物等的表达来辅助诊断，目前常用的指标有 CEA、CY21-1、CA125，其敏感性低下不能满足临床需求[11-12]。因此，临床上迫切需要寻找新的鉴别胸腔积液的标志物。

ESM-1 是长度为 2 kb 的 cDNA 序列所编码的一种可溶性蛋白聚糖，1996 年由法国科学家 Lassalle 等发现[13]。ESM-1 主要表达于肺和肾的血管内皮细胞，可作为血管内皮细胞激活和功能障碍的特异性标志物[14]。研究表明，ESM-1 在细胞黏附[13]、脓毒症[15]和肿瘤中表达增高并发挥重要作用。ESM-1 有广泛的生物活性，可通过多种信号转导途

径，参与体内的炎症反应、血管生成及肿瘤的发生发展[16]。研究表明，大多数肿瘤组织细胞均有较高水平的 ESM-1 表达，而在正常组织和体细胞为阴性，因此可作为恶性肿瘤筛选的标记物[17-18]。Lv 等[17]发现胃癌患者血清中 ESM-1 水平增高，且其诊断胃癌的敏感性高于 CEA。Jiang 等[18]发现结肠癌患者血清中 ESM-1 水平较健康对照显著增高，且与组织分化、肿瘤侵犯程度、TNM 分期及淋巴结转移正相关。这些研究结果说明体液 ESM-1 检测有可能会成为一种新的肿瘤标志物。目前尚无 ESM-1 在胸腔积液中表达的研究。

本研究选择 65 例 NSCLC 所致的 MPE 患者和 45 例 TPE 患者，分别检测其胸水中 ESM-1 和 CEA 水平，结果发现 MPE 患者 CEA 水平亦明显高于 TPE 患者，与相关文献报道一致[11]，ESM-1 明显高于 TPE 患者。故 ESM-1 和 CEA 均可作为良恶性胸腔积液鉴别诊断的辅助手段。本研究通过 ROC 曲线分析 ESM-1 和 ECA 对 MPE 及 TPE 的诊断价值。ESM-1 和 CEA 的 ROC 曲线下面积分别为 0.885 和 0.903，说明二者诊断胸腔积液有一定准确性。以 TPE 患者胸腔积液的检测值为对照，从 ROC 曲线得到的 CEA 的临界值为 8.52 ng/mL，诊断 MPE 的敏感度为 73.8%，特异度为 95.6%，准确度为 82.73%，与文献一致[7]，ESM-1 的临界值为 19.58 ng/mL，诊断 MPE 的敏感度为 81.5%，特异度为 84.6%，准确度为 82.73%。因此其对良、恶性胸腔积液的鉴别诊断具有很好的临床应用价值。两者联合检测时，敏感度上升至 83.1%，特异性可达 93.3%，准确性无变化。本研究结果表明，联合测定胸腔积液中 ESM-1 和 CEA 水平，可提高 MPE 的诊断敏感率，对良性和恶性胸腔积液的鉴别诊断具有重要意义。

综上所述，MPE 患者胸腔积液中 ESM-1 显著增高，ESM-1 的检测易于临床应用和操作，可作为诊断 MPE 的实验室指标。联合检测 ESM-1 和 CEA 可进一步提高 MPE 诊断敏感度。

[参考文献]

[1] Morgensztern D，Waqar S，Subramanian J，et al. Prognostic impact of malignant pleural effusion at presentation in patients with metastatic non-small-cell lung cancer[J].J Thorac Oncol，2012,7(10):1485−1489

[2] Leroy X，Aubert S，Zini L，et al. Vascular endocan (ESM-1) is markedly overexpressed in clear cell renal cell carcinoma[J]. Histopathology，2010,56(2):180−187

[3] Liu N，Zhang LH，Du H，et al. Overexpression of en-

dothelial cell specific molecule-1（ESM-1）in gastric cancer［J］. Ann Surg Oncol,2010,17(10):2628-2639

［4］ Kang YH, Ji NY, Lee CI, et al. ESM-1 silencing decreased cell survival, migration, and invasion and modulated cell cycle progression in hepatocellular carcinoma ［J］. Amino Acids,2011,40(3):1003-1013

［5］ Grigoriu BD, Depontieu F, Scherpereel A, et al. Endocan expression and relationship with survival in human non-small cell lung cancer［J］. Clin Cancer Res,2006,12 (15):4575-4582

［6］ 徐大林,桂淑玉,李永怀,等. 内皮细胞特异性分子-1 在肺癌组织中的表达及其临床意义［J］. 安徽医科大学学报,2007,42(4):363-367

［7］ Shi HZ, Liang QL, Jiang J, et al. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in malignant pleural effusion: A meta-analysis［J］. Respirology,2008,13(4):518-527

［8］ Koegelenberg CF, Diacon AH. Pleural controversy: Close needle pleural biopsy or thoracoscopy-Which first［J］. Respirology,2011,16(5):738-746

［9］ Wang XJ, Yang Y, Wang Z, et al. Efficacy and safety of diagnostic thoracoscopy in undiagnosed pleural effusions ［J］. Respiration,2015,90(3):251-255

［10］ 姜淑娟,牟晓燕,张 嵩,等. 内科胸腔镜术对不明原因胸腔积液的诊断价值［J］. 中华结核和呼吸杂志,2013, 让 36(5):337-340

［11］ Sriram KB, Relan V, Clarke BE, et al. Diagnostic molecular biomarkers for malignant pleural effusions［J］.

Future Oncology,2011,7(6):737-752

［12］ 孔　洁,朱美华,张锦根,等. 细胞角蛋白 19,癌胚抗原联合检测对良恶性胸腔积液的诊断价值［J］. 南京医科大学学报(自然科学版),2000,20(1):63-64

［13］ Lassalle P, Molet S, Janin A, et al. Endocan is a novel human endothelial cell specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines［J］. J Biol Chem,1996, 271(34):20458-20464

［14］ Tsai JC, Zhang J, Minami T, et al. Cloning and characterization of the human lung endothelial-cell-specific molecule-1 promotcr［J］. J Vasc Res,2002,39(2):148- 159

［15］ Bechard D, Meignin V, Scherpereel A, et al. Characterization of the secreted form of endothelial-cell-specific molecule 1 by specific monoclonal antibodies［J］. J Vasc Res,2000,37(5):417-425

［16］ Sarrazin S, Adam E, Lyon M, et al. Endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1):A potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy［J］. Biochim Biophys Acta,2006,1765(1):25-37

［17］ Lv ZC, Fan YS, Chen HB, et al. Endothelial cell-specific molecule-1: a potential serum marker for gastric cancer［J］. Tumor Biol,2014,35(10):10497-10502

［18］ Jiang H, Fu XG, Chen YT. Serum level of endothelial cell-specific molecule-1 and prognosis of colorectal cancer［J］. Genet Mol Res,2015,14(2):5519-5526

［收稿日期］ 2016-03-28

cis-elementin protecting regulatory T cell identity ［J］. Cell,2014, 158(4):734-748

［65］ Kim HP, Leonard WJ. CREB/ATF-dependent T cell receptor-induced Foxp3 gene expression: a role for DNA methylation［J］. J Exp Med,2007,204(7):1543-1551

［66］ Ding X, Wang A, Ma X, et al. Protein SUMOylation is required for regulatory T cell expansion and function［J］. Cell Rep,2016,16(4):1055-1066

［67］ Ohkura N, Hamaguchi M, Morikawa H, et al. T cell receptor stimulation-induced epigenetic changes and Foxp3 expression are independent and complementary events required for Treg cell development［J］. Immunity, 2012, 37(5):785-799

［68］ Obata Y, Furusawa Y, Endo TA, et al. The epigenetic regulator Uhrf1 facilitates the proliferation and maturation of colonic regulatory T cells［J］. Nat Immunol,2014,15 (6):571-579

［69］ DuPage M, Chopra G, Quiros J, et al. The chromatin-modifying enzyme Ezh2 is critical forthe maintenance of regulatory T cell identity after activation［J］. Immunity, 2015, 42(2):227-238

［70］ Arvey A, VanDer Veeken J, Samstein RM, et al. Inflammation-induced repression of chromatin bound by the transcription factor Foxp3 in regulatory T cells ［J］. Nat Immunol,2014,15(6):580-587

［71］ VanDer Veeken J, Gonzalez AJ, Cho H, et al. Memory of inflammation in regulatory T cells［J］. Cell,2016, 166 (4):977-990

［72］ Oh SA, Li MO. TETs link hydrogen sulfide to immune tolerance［J］. Immunity, 2015, 43(2):211-213

［73］ Li Z, Li D, Tsun A, et al. FOXP3+ regulatory T cells and their functional regulation［J］. Cell Mol Immunol, 2015, 12(5):558-565

［收稿日期］ 2016-11-09