

循环肿瘤细胞和血清肿瘤标志物检测对胃癌腹膜转移的诊断意义

孙利君, 陈日红, 孙开裕, 黄先进, 全祯豪, 黄超辉, 许庆文, 林琳* (广东医科大学附属第一医院胃肠外科, 广东湛江 524000)

摘要: **目的** 了解循环肿瘤细胞(CTCs)、血清肿瘤标志物(CEA、CA125、CA199)检测对胃癌腹膜转移的临床诊断意义。**方法** 选取确诊为有腹膜转移的胃癌患者40例(腹膜转移胃癌组)及同期无腹膜转移的胃癌患者147例(无腹膜转移胃癌组),分析CTCs与CEA、CA125、CA199在胃癌及其腹膜转移患者中的变化情况,比较CTCs、血清肿瘤标志物(CEA、CA125、CA199)测量值对胃癌腹膜转移的诊断效能。**结果** 腹膜转移胃癌组患者术前CTCs、CEA、CA125和CA199的水平明显高于无腹膜转移胃癌组($P<0.01$)。单检时CTCs、CA125用于诊断胃癌腹膜转移的准确性高于CEA、CA199,而CTCs+CEA+CA125+CA199联合诊断胃癌腹膜转移的准确性最高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 腹膜转移胃癌患者血液中CTCs、CEA、CA125、CA199表达水平平均高于无腹膜转移胃癌患者,CTCs、CEA、CA125、CA199联合检测可提高胃癌腹膜转移的准确性。

关键词: 胃癌; 腹膜转移; 循环肿瘤细胞; 血清肿瘤标志物

中图分类号: R 735.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-3610 (2022) 06-0639-06

Clinical significance of circulating tumor cells and serum tumor markers in the diagnosis of peritoneal metastasis of gastric cancer

SUN Li-jun, CHEN Ri-hong, SUN Kai-yu, HUANG Xian-jin, QUAN Zhen-hao, HUANG Chao-hui, XU Qing-wen, LIN Lin* (Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical significance of circulating tumor cells (CTCs) and serum tumor markers (CEA, CA125 and CA199) in the diagnosis of peritoneal metastasis of gastric cancer. **Methods** A total of 40 cases diagnosed with gastric cancer with peritoneal metastasis (Peritoneal Metastasis Group) and 147 cases diagnosed with gastric cancer without peritoneal metastasis (No-Peritoneal-Metastasis Group) were selected. The changes of CTCs and CEA, CA125, and CA199 in gastric cancer patients with peritoneal metastasis were analyzed. The efficacy of CTCs and CEA, CA125, and CA199 in the diagnosis of peritoneal metastasis of gastric cancer was compared. **Results** The preoperative levels of CTCs, CEA, CA125 and CA199 in Peritoneal Metastasis Group were significantly higher than those in No-Peritoneal-Metastasis Group ($P<0.01$). The accuracy of CTCs and CA125 in the diagnosis of peritoneal metastasis of gastric cancer was higher than that of CEA and CA199 respectively, while the accuracy of CTCs+CEA+CA125+CA199 in the diagnosis of peritoneal metastasis of gastric cancer was the highest, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of CTCs, CEA, CA125 and CA199 in gastric cancer patients with peritoneal metastasis are all higher than those of gastric cancer patients with no peritoneal metastasis. Combined detection of CTCs, CEA, CA125 and CA199 can improve the accuracy of peritoneal metastasis of gastric cancer.

Key words: gastric cancer; peritoneal metastasis; circulating tumor cells; serum tumor markers

据国际癌症研究机构(IARC)收集的数据提示,2020年全世界新增胃癌病例约108.9万例,2020年全世界胃癌死亡人数约为76.9万,且多数患者发现时已

为晚期,出现了腹膜转移、肝转移或盆腔转移等,从而错过了手术治疗的最佳时机。目前认为外周血微转移灶与肿瘤发生血行转移密切相关,是肿瘤发生发展的

收稿日期: 2022-07-25

基金项目: 湛江市科技攻关计划项目(2020B01111)

作者简介: 孙利君(1992-),女,硕士,医师, E-mail:916767787@qq.com

通信作者: 林琳(1981-),男,博士,副主任医师, E-mail:13763042806@163.com

关键因素^[1],且临床上依赖传统的血清学肿瘤指标、影像学检查等存在特异性不足、滞后性等缺点^[2-3],难以早期检测微转移灶。随着精准医学的发展,人们逐渐发现循环肿瘤细胞(CTCs)是恶性肿瘤患者复发、转移的重要影响因素。有文献报道,CTCs可作为胃癌早期检测的生物标志物,并可提供关于胃癌患者治疗反应和预后的有用信息^[4-6]。血清肿瘤标志物是与肿瘤相关的抗原,而非肿瘤的特异性抗原,在一定程度上也能够反映肿瘤的发生和发展,血清肿瘤标志物可以在肿瘤组织、血液和排泄物中检测到。迄今,还没发现一种标志物对胃癌腹膜转移早期诊断有较高的阳性率和特异性,且多数肿瘤标志物在胃癌复发及转移早期敏感度低,说明对于肿瘤腹膜转移的早期诊断具有一定的困难。寻找一种更为简单、快捷、无创的方法来诊断胃癌腹膜转移迫在眉睫,从而为胃癌腹膜转移的早期诊断、治疗方案选择等提供更为可靠的依据,本文对此进行了探究。

1 资料和方法

1.1 病例资料

选取 2019–2021 年广东医科大学附属第一医院胃肠外科收治的无腹膜转移胃癌患者 147 例(无腹膜转移胃癌组)及有腹膜转移的胃癌患者 40 例(腹膜转移胃癌组)。无腹膜转移胃癌组中男 96 例,女 51 例,平均年龄 63.2 岁;腹膜转移胃癌组中男 22 例,女 18 例,平均年龄 62.7 岁。

1.2 方法

检测患者 CTCs 及 CEA、CA125、CA199 的表达水平,分析胃癌腹膜转移与临床病理特征的相关性,分析 CTCs、CEA、CA125、CA199 单检及联合检测在胃癌腹膜转移中的诊断效能。

1.2.1 CTCs 的检测 采用多重 mRNA 原位分析(MRIA)的方法,对 CTCs 进行分型和鉴定。在患者术前空腹状态下抽取其外周血 10 mL,首先裂解外周血中的红细胞,再根据 CTCs 与白细胞的大小差异通过纳米技术进行 CTCs 的分离和富集,再对富集的 CTCs 进行特异性基因核酸定位。根据 CanPatrol™ CTCs 检测技术说明书判读标准以及参阅文献,本研究将胃癌患者的外周血中检测的 CTCs 数大于或等于 2 个定义为 CTCs 阳性。

1.2.2 血清肿瘤标志物(CEA、CA125、CA199)的检测 患者血清肿瘤标志物 CEA、CA125、CA199 的标本均在术前空腹状态下抽取外周血,并送广东医科大

学附属医院检验科进行定量标记分析。所采集的血标本离心后加入相应的肿瘤标记盒中进行检测。根据文献数据及肿瘤试剂盒说明,本研究将血清 CEA、CA125、CA199 的临界值分别定为 5 μg/L、35 U/mL、27 U/mL,超过其临界值的定义为阳性。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 26.0 软件进行统计学处理,对各组计量资料进行正态性检验,以 $\bar{x} \pm s$ 描述正态分布的数据,中位数及四分位间距描述非正态分布数据。分类资料采用卡方检验。采用独立样本的非参数检验(Mann-Whitney U 检验)进行组间 CTCs、CEA、CA125 及 CA199 测量值的比较。CTCs、CEA、CA125 及 CA199 对胃癌腹膜转移的诊断效能比较采用 MedCalc 软件进行受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床及病理学特征的比较

与无腹膜转移胃癌组相比,有腹膜转移胃癌组患者原发病灶的肿瘤更大、分化程度更低、神经及脉管侵犯更多,CTCs、CEA、CA125、CA199 阳性率更高($P < 0.01$);而两组的性别、年龄的差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组临床及病理学特征的比较 (例)

项 目	无腹膜转移胃癌组(n=147)	腹膜转移胃癌组(n=40)	P 值
性别			>0.05
男	96	22	
女	51	18	
年龄			>0.05
< 60 岁	47	16	
≥ 60 岁	100	24	
分化程度			< 0.01
好	42	3	
差	105	37	
肿瘤大小			< 0.01
≥ 5 cm	65	31	
< 5 cm	82	9	
神经侵犯			< 0.01
是	82	34	
否	65	6	
脉管侵犯			< 0.01
是	65	32	
否	82	8	
CTCs			< 0.01
≥ 2 个	116	39	
< 2 个	31	1	
CEA			< 0.01

续表 1

项 目	无腹膜转移 胃癌组 (n=147)	腹膜转移 胃癌组 (n=40)	P 值
≥ 5 μg/L	24	16	
< 5 μg/L	123	24	
CA125			< 0.01
≥ 35 U/mL	6	13	
< 35 U/mL	141	27	
CA199			< 0.01
≥ 27 U/mL	22	18	
< 27 U/mL	125	22	

2.2 CTCs、CEA、CA125、CA199 表达水平

腹膜转移胃癌组的CEA、CA125、CA199、CTCs、上皮型CTCs (eCTCs)、间质型CTCs (bCTCs)、混合型CTCs (mCTCs) 的水平均高于无腹膜转移胃癌组 (P<0.01 或 0.05)。见表 2。

2.3 CTCs、CEA、CA125、CA199 对胃癌腹膜转移的诊断效能分析

根据ROC 曲线, 血清CA125 参考值为 18.39 U/L 时, 诊断胃癌腹膜转移的敏感度为 62.50%, 特异度为 88.44%, AUC 值为 0.74, 95% 置信区间为[0.672, 0.802], 约登指数为 0.509 (P<0.05)。当血清CTCs 参考值为 10 个/10 mL 时, 诊断胃癌腹膜转移的敏感度为 90.00%, 特异度为 53.06%, AUC 值为 0.72, 95% 置信区间为[0.649 0.783], 约登指数为 0.5234 (P<0.05)。CTCs、CA125 对于胃癌腹膜转移的诊断效能高于 CEA、CA199。见表 3, 图 1。

2.4 CTCs、血清CEA、CA125、CA199 联合对胃癌腹膜转移的诊断效能分析

根据 ROC 曲线可知, CTCs+CEA+CA125+CA199 联合诊断胃癌腹膜转移的 ROC 曲线下面积 0.80, 敏感性为 65.00%, 特异性为 87.80%, CTCs+CEA+CA125+CA19 联合起来对于胃癌腹膜转移的诊断准确性较单一诊断时的准确性高。见表 4、5, 图 2。

表 2 CTCs、CEA、CA125 及CA199 表达水平在两组中的差异

[中位数 (P25, P75)]

指标	无腹膜转移胃癌组 (n=147)	腹膜转移胃癌组 (n=40)	Z 值	P 值
CEA/(μg/L)	2.04 (1.39, 3.34)	3.47 (1.62, 10.80)	-2.530	< 0.05
CA125/(U/mL)	9.77 (6.48, 13.11)	23.60 (8.86, 40.85)	-4.665	< 0.01
CA199/(U/mL)	10.53 (6.72, 17.56)	22.22 (10.39, 58.65)	-3.417	< 0.01
CTCs/ 个	9 (2, 38)	23 (16, 58)	-4.254	< 0.01
eCTCs/ 个	2 (0, 4)	5 (1, 11)	-2.723	< 0.01
bCTCs/ 个	4 (0, 11)	11 (4, 19)	-3.777	< 0.01
mCTCs/ 个	1 (0, 4)	4 (2, 9)	-3.778	< 0.01

表 3 CTCs、CEA、CA125、CA199 诊断效能的比较

指标	最佳截断值	灵敏度/%	特异度/%	AUC	95%CI	Z 值	P 值	约登指数
CEA	>3.16	55.00	74.15	0.63	0.557~0.700	2.385	<0.05	0.292
CA125	>18.39	62.50	88.44	0.74	0.672~0.802	4.616	<0.05	0.509
CA199	>21.54	52.50	80.27	0.68	0.604~0.743	3.405	<0.05	0.328
CTCs	>10	90.00	53.06	0.72	0.649~0.783	5.234	<0.05	0.431

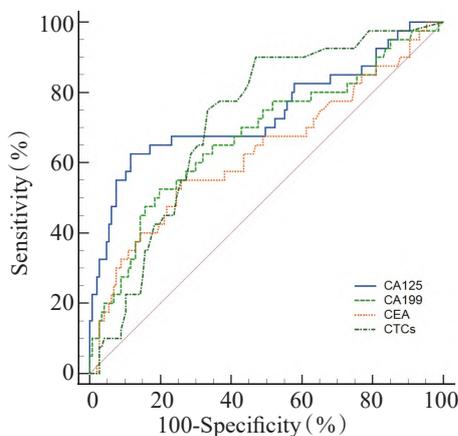


图 1 CTCs、CEA、CA125、CA199 诊断胃癌腹膜转移的ROC 曲线

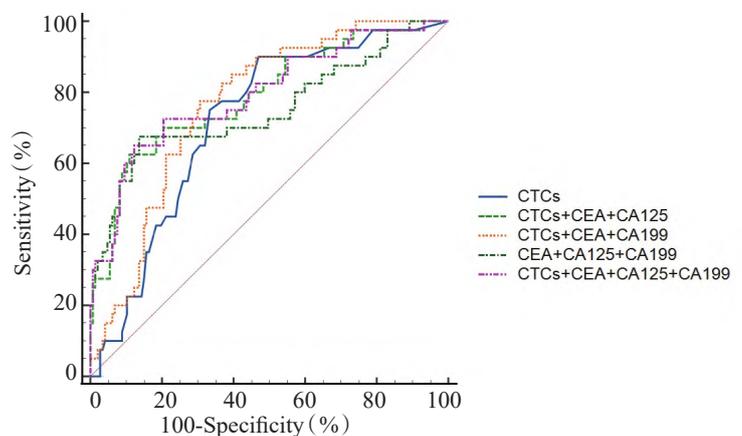


图 2 CTCs、CEA、CA125、CA199 联合诊断胃癌腹膜转移ROC 曲线

表4 CTCs、CEA、CA125、CA199 诊断效能的两两比较

指标	敏感性/%	特异性/%	AUC	95%CI	Z 值	P 值
CTCs+CEA	82.50	59.86	0.74	0.667~0.798	5.784	< 0.05
CTCs+CA125	62.50	89.80	0.78	0.718~0.840	6.266	< 0.05
CTCs+CA199	82.50	63.95	0.76	0.691~0.818	6.750	< 0.05
CEA+CA125	62.50	87.07	0.75	0.678~0.807	4.868	< 0.05
CEA+CA199	62.50	79.59	0.71	0.638~0.772	4.111	< 0.05
CA125+CA199	65.00	87.76	0.75	0.677~0.806	4.697	< 0.05

表5 CTCs、CEA、CA125、CA199 联合对胃癌腹膜转移的诊断效能

指标	敏感性/%	特异性/%	AUC	95%CI	约登指数	P 值
CTCs	90.00	53.10	0.72	0.649~0.786	0.431	< 0.05
CTCs+CEA+CA125	62.50	89.10	0.79	0.725~0.846	0.516	< 0.05
CTCs+CEA+CA199	77.50	69.30	0.77	0.699~0.825	0.469	< 0.05
CTCs+CA125+CA199	72.50	80.27	0.79	0.723~0.845	0.528	< 0.05
CTCs+CEA+CA125+CA199	65.00	87.80	0.80	0.731~0.851	0.528	< 0.05

3 讨论

腹膜转移已成为影响胃癌患者预后的重要因素之一。目前肿瘤腹膜转移常用的诊断手段包括CT、MRI、超声多普勒以及PET-CT、腹腔灌洗液细胞学、诊断性腹腔镜探查^[7-8]，但这些均具有一定的局限性。腹膜转移的发病机制也十分复杂，可能与肿瘤细胞的粘附、移动、降解、血管生成、免疫逃逸等因素有关。目前公认发病机制是“种子-土壤学说”^[9]。目前已发现大约80%的转移性肿瘤细胞来源于早期播散的癌细胞^[10]。CTCs的概念是由Ashworth在1896年首次提出的^[11]，它是指在血液循环中的具有转移潜能及高活力的肿瘤细胞，不仅可形成微转移，而且在一定条件下还可发展为转移癌^[12]。Pantel等^[13]的研究表明，在胃癌患者中，外周血中CTCs的检测可能在监测肿瘤的复发和转移方面有临床价值。一项关于胃癌患者中CTCs预后意义的meta分析结果显示CTCs的检测与胃癌患者的不良预后相关，晚期胃癌中CTCs的数量高于早期胃癌，低分化胃癌高于高/中分化胃癌，有淋巴结转移的胃癌高于无淋巴结转移的胃癌；它还与患者的无病生存率和总生存率显著相关^[14]。也有研究发现CTCs在胃癌腹膜转移患者中更常见(9/25, 36%)，而在肝转移患者中较少(1/5, 20%)^[15]。正常情况下血清中CEA含量极低，而在食管癌、胃癌、结直肠癌、肝癌患者中CEA水平呈升高趋势。CA199是一种存在于血清中的黏蛋白，有研究发现在胃癌患者中，血清CEA和CA199水平可被广泛用于预测预后和复发^[16-17]。但在Kim等^[18]的研究中，血清CEA和CA199诊断腹膜转移的特异性与敏感性却不高，本研究结果基本与其相符。本研究中CEA诊断胃癌腹膜转移的敏感

性和特异性分别为55.00%和74.15%，CA199诊断胃癌腹膜转移的敏感性和特异性分别为52.50%和80.27%。CA125是一种存在于细胞表面的糖蛋白，能够参与并促进卵巢肿瘤细胞的生长。因CA125无组织特异性，其升高也见于胃肠道肿瘤、肺部肿瘤等^[19]。有研究表明，肿瘤细胞表面膜上的CA125通过与间皮细胞表面分子间硫蛋白的结合启动细胞与间皮细胞的附着，从而促进腹膜转移的形成^[20-21]。也有研究提示血清CA125表达水平对于胃癌腹膜转移有一定的诊断价值^[22-23]。可见，血清CA125表达水平升高可能不仅仅是疾病进展的结果，可能与腹膜转移的进展也有因果关系。本研究结果显示，腹膜转移胃癌组CEA、CA125、CA199、CTCs及其分型的平均水平均高于无腹膜转移胃癌组，这与以往研究报道的结果一致，即CTCs、血清肿瘤标志物在肿瘤的复发和转移中有其临床价值。有研究结果提示，CTCs对胃癌腹膜转移的诊断有一定的诊断意义^[24]。在先前有关胃癌CTCs的研究中，Hiraiwa等^[25]使用了2个CTCs作为临界值，本研究也参考他们的做法，使用2个CTCs作为临界值。而对于胃癌腹膜转移，本研究通过ROC曲线分析将临界值确定为10个CTCs，此时CTCs对胃癌腹膜转移的灵敏性为90.00%，特异性为53.06%，AUC为0.72，这与以往的研究结果基本一致。

近年来，大量的研究发现肿瘤标志物在判定肿瘤的疗效、预后等方面有一定的临床价值，还发现肿瘤标志物联合检测可以提高其诊断的准确性。在胃癌腹膜转移的早期诊断中，单一的传统血清肿瘤标志物检测是片面的，采用联合检测的方法很有必要。本研究中，我们对CTCs、CEA、CA125、CA199单一诊断及

CTCs+CEA+CA125+CA199 联合诊断胃癌腹膜转移的AUC 分别为 0.72、0.63、0.74、0.68、0.80。诊断的准确性排序为 CTCs+CEA+CA125+CA199>CA125>CTCs>CA199>CEA, CTCs+CEA+CA125+CA199 联合诊断的准确性高于CTCs、CEA、CA125、CA199 单一检测。

综上所述, CTCs、血清肿瘤标志物(CEA、CA125、CA199)联合检测可提高诊断胃癌腹膜转移的准确性, 对胃癌腹膜转移的早期诊断、病情进展等均有较为重要的临床价值, 可成为较可靠的肿瘤评价指标, 二者结合可提高临床诊断的准确率。

但需注意的是, 本研究也存在以下局限性: (1) CTCs 并不是胃癌腹膜转移的特异性生物标志物, 它可以在各种肿瘤中检测到, 如结直肠癌、乳腺癌、食管癌, 因此CTCs 用于胃癌腹膜转移的诊断仍存在一定局限性, 更适合作为胃癌腹膜转移的辅助诊断; (2) 本研究并未纳入腹膜转移之外其他远处转移的胃癌患者, 对此无法进行直接分析, 且纳入的患者均来自同一机构, 样本量较小; (3) 对于CTCs 临界值的确定, 尽管笔者查阅了大量文献, 但迄今的相关研究并未确定得到公认的标准, 这可能使本研究出现偏倚, 需要后续更为深入的研究, 例如进行多中心及更大样本的研究, 从而进一步确定CTCs 的临界值, 以使CTCs 及血清肿瘤标志物在胃癌腹膜转移患者中的临床意义更为明确。

参考文献:

[1] SAAD A A, AWED N M, ABD E N, et al. Prognostic significance of E-cadherin expression and peripheral blood micrometastasis in gastric carcinoma patients [J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17: 3059-3067.

[2] WANG W, CHEN X L, ZHAO S Y, et al. Prognostic significance of preoperative serum CA125, CA19-9 and CEA in gastric carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 35423-35436.

[3] MINE T. The role of magnifying endoscopy in the diagnosis of early gastric carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2006, 41(4): 397.

[4] LEE M W, KIM G H, JEON H K, et al. Clinical application of circulating tumor cells in gastric cancer[J]. *Gut Liver*, 2019, 13(4): 394.

[5] JEON H K, KIM G H. Clinical significance of circulating tumor cells in gastric cancer[J]. *The Korean Journal of Helicobacter and Upper Gastrointestinal Research*, 2018, 18(3): 162-167.

[6] UENOSONO Y, ARIGAMI T, KOZONO T, et al. Clinical significance of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer[J]. *Cancer*, 2013, 119(22): 3984-3991.

[7] 所剑. 第 15 版日本《胃癌处理规约》更新要点[J]. *中国实用外科杂志*, 2017, 37(4): 399-401.

[8] 梁品, 胡祥. 胃癌腹膜转移诊治策略[J]. *中国实用外科杂志*, 2017, 37(10): 1099-1102.

[9] AKHTAR M, HAIDER A, RASHID S, et al. Paget's "seed and soil" theory of cancer metastasis: an idea whose time has come[J]. *Adv Anat Pathol*, 2019, 26(1): 69-74.

[10] HOSSEINI H, OBRADOVIC M, HOFFMANN M, et al. Early dissemination seeds metastasis in breast cancer[J]. *Nature*, 2016, 540(7634): 552-558.

[11] DIVE C, BRADY G. SnapShot: circulating tumor cells[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 742.

[12] HOU J M, KREBS M G, LANCASHIRE L, et al. Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(5): 525-532.

[13] PANTEL K, ALIX-PANABIÈRES C. Circulating tumour cells and cell-free DNA in gastrointestinal cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(2): 73-74.

[14] HUANG X, GAO P, SUN J, et al. Clinicopathological and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with gastric cancer: A meta-analysis[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(1): 21-33.

[15] OKABE H, TSUNODA S, HOSOGI H, et al. Circulating tumor cells as an independent predictor of survival in advanced gastric cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(12): 3954-3961.

[16] KOCHI M, FUJII M, KANAMORI N, et al. Evaluation of serum CEA and CA19-9 levels as prognostic factors in patients with gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2000, 3(4): 177-186.

[17] TAKAHASHI Y, TAKEUCHI T, SAKAMOTO J, et al. The usefulness of CEA and/or CA19-9 in monitoring for recurrence in gastric cancer patients: A prospective clinical study[J]. *Gastric Cancer*, 2003, 6(3): 142-145.

[18] KIM J H, JUN K H, JUNG H, et al. Prognostic value of preoperative serum levels of five tumor markers (Carcinoembryonic Antigen, CA19-9, Alpha-fetoprotein, CA72-4, and CA125) in gastric cancer[J]. *Hepato-gastroenterology*, 2014, 61(131): 863-869.

[19] KIM E S, PARK K U, SONG J H, et al. The clinical significance of CA-125 in pulmonary tuberculosis[J]. *Tuberculosis*, 2013, 93(2): 222-226.

[20] RUMP A, MORIKAWA Y, TANAKA M, et al. Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(10): 9190-9198.

[21] GUBBELS J A A, BELISLE J, ONDA M, et al. Mesothelin-MUC16 binding is a high affinity, N-glycan dependent

