

山东大学

硕士学位论文

血浆纤维蛋白原在肺癌诊治中的临床价值

姓名：李道卫

申请学位级别：硕士

专业：内科学（呼吸系病）

指导教师：姜淑娟

20090501

血浆纤维蛋白原在肺癌诊治中的临床价值

硕士研究生：李道卫

导师：姜淑娟

摘 要

目的

探讨血浆纤维蛋白原在肺癌诊断及转移中的临床价值,研究肺癌患者化疗前后血浆纤维蛋白原(FIB)含量与化疗疗效的关系。

资料和方法

1、病例选择: 肺癌组患者95例,均为于2007年4月至2009年3月在山东省立医院呼吸内科住院确诊肺癌的患者,其中男性62例,女性33例,年龄34-81岁,中位年龄60.0岁。病例选择标准:所有病例经均病理或细胞学确诊为原发性支气管肺癌,并排除同时患有其他心、肺、肾疾病及糖尿病等基础疾病。在这95例肺癌患者中,有67例患者经证实已有转移,70例患者接受化疗,治疗结束后,按实体瘤近期疗效判定标准:有效(包括完全缓解CR、部分缓解PR和稳定SD患者)48例、无效(包括进展PD和复发患者)22例。正常对照组100例,均为本院体检中心体检健康者,其中男性60例,女性40例;年龄25~77岁,中位年龄45.0岁。

2、治疗方法:经确诊的肺癌患者,其治疗方案主要根据肿瘤的组织学类型确定。参加化疗的患者均遵医嘱按时完成规定疗程。

3、血浆FIB测定:入组肺癌患者均于入院后接受化疗前测定血浆FIB值,接受化疗患者均于下次化疗前再次测定血浆FIB值。测定方法如下:于清晨空腹抽取肘静脉血1.8ml,放入含枸橼酸钠0.2ml的专用真空抗凝试管中,混匀,经3000r/min离心10分钟后收取上层血浆,应用美国贝克曼-库尔特公司ACL-7000型全自动血凝分析仪检测,以凝血酶原导出FIB法得出测定结果。检验均在(20±5)℃室温条件下行,2h内完成。所用试剂盒、参比血浆、参比液均为美国IL公司(International Laboratory)产品。

4、统计学方法:数据均为计量资料,以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组数

据的显著性检验采用t检验，方差不齐则采用近似法t'检验。全部数据分析采用SPSS13.0软件进行，取 $P < 0.05$ 具有统计学差异。

结果

1、肺癌组和对照组血浆FIB含量测定结果比较：对照组为 (2.95 ± 1.59) g/L，肺癌组治疗前为 (4.76 ± 1.77) g/L，两组数据差异具有显著性($P < 0.05$)（如表1所示）。

2、肺癌组中有转移组和无转移组治疗前FIB值比较：有转移组血浆FIB值为 (4.95 ± 1.95) g/L,无转移组血浆FIB值为 (4.31 ± 0.64) g/L，两组数据差异具有显著性($P < 0.05$)（如表2所示）。

3、接受化疗的肺癌患者治疗前与治疗后FIB含量的比较

化疗有效者：治疗前FIB含量为 (4.66 ± 0.52) g/L，治疗后为 (3.32 ± 0.91) g/L，治疗前后FIB含量差异有显著性($P < 0.05$)。化疗无效者：治疗前FIB含量为 (4.67 ± 0.80) g/L，治疗后为 (5.28 ± 0.94) g/L，治疗前后FIB含量差异有显著性($P < 0.05$)（如表3所示）。

结论

肺癌患者存在高纤维蛋白原血症,故可用血浆FIB含量作为诊断肺癌的一项指标; FIB作为一种简便、快速、敏感的指标,从血凝学变化方面,监测肺癌的生长、转移、恶化及治疗效果,具有一定的实用价值。

关键词：纤维蛋白原；肺癌；肿瘤；转移。

Clinical value of fibrinogen in diagnosis and therapy of lung cancer

Postgraduate : Li Daowei

Supervisor : Prof. Jiang Shujuan

ABSTRACT

Objection

To observe the clinical value of plasma fibrinogen (FIB) content involved in 95 advanced cancer patients in the the diagnosis and treatment .

Material and methods

1、General condition of the patients: 95 patients with definite diagnosed of lung cancer admitted into Shandong Provincial Hospital from April 2007 to March 2009 were enrolled into our study, including 62 males and 33 females, median age 60.0 years (ranged 34-81 years). All the patients were diagnosed by pathology or cytology. Other cardiac 、 pulmonary and renal diseases, diabetes and so on , were excluded. Among the 95 patients,67 have been confirmed distant metastasis,70 patients have been accepted standard chemotherapy.48 were effective (including CR、 PR and SD)and 22 were invalid (including PD and Progress). 100 people in normal control group were healthy persons through health examination in our hospital , including 60 males and 40 females, median age 45.0 years (ranged 25-77 years).

2、Method of treatment: Therapeutic schedule of the patients with lung cancer According to histology type of the tumor.

3、Determination of plasma fibrinogen (FIB): Plasma FIB was detected with ACL- 7000 Blood Coagulating Analyser, Control group people were detected in the moning fasting, The patients with lung cancer were detected before and after chemotherapy.

4、Statistical methods: All the data are Measurement data , shown in the form

mean+Standard deviation ($\bar{x}\pm s$). T test was used in comparison of two sets of data. Approximate t'test was used in data with Variance arrhythmia. SPSS13.0 Software was used to data Analysis, $P < 0.05$ shows significant difference.

Result

- 1、 The FIB content was significantly higher in patients with lung cancer than in healthy people.
- 2、 The FIB content was significantly higher in lung cancer patients with distant metastasis than those without metastasis.
- 3、 Significant decrease was observed after chemotherapy , then became elevated again when there was recurrence or metastasis.

Conclusion

The FIB plays an important role in the diagnosis , evaluation of the rapeutic effect and prognosis of malignant tumor patients.

Key word: Lung cancer;fibrinogen;cancer;metastasis.

符号说明

FIB	Fibrinogen	纤维蛋白原
VEGF	Vascular endothelial Growth Factor	血管内皮生长因子
HRG	Histidine-rich Glycoprotein	富组氨酸糖蛋白
FDP	Fibrinogen Degradation Product	纤维蛋白原降解产物
TGF	Transforming Growth Factor	转化生长因子
PDGF	Platelet Derived Growth Factor	血小板源性生长因子
MHC	Major Histocompatibility Complex	主要组织相容性(抗原) 复合物
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time Test	活化部分凝血酶原时间
PT	Prothrombin time	凝血酶原时间

原创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名：李道卫 日期：2009.5.1

关于学位论文使用授权的声明

本人同意学校保留或向国家有关部门或机构送交论文的印刷件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权山东大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

(保密论文在解密后应遵守此规定)

论文作者签名：李道卫 导师签名：李道卫 日期：2009.5.1

前 言

世界卫生组织（WHO）发布^[1]，2000年全世界新发癌症1000万，死亡600万，现患癌症病例2240万，其中我国癌症发病人数180~200万，死亡人数140~150万；预测到2020年，全球人口80亿，癌症新发病例将达2000万，死亡将近1200万，现患癌症病例将达3000万，足见癌症将成为新世纪人类健康的最大威胁。作为癌症中的第一杀手，肺癌被认为是当今世界上对人类健康与生命危害最大的恶性肿瘤^[2]。肺癌的发病率、死亡率在男性中均占第一位，全世界2000年肺癌新发病例就有120万，死亡110万人。每30秒钟就有1人死于肺癌，每年全球增加120万病例，每年有60万中国人死于肺癌，在美国肺癌死亡率接近90%，进展期患者5年生存率仅15%^[3]，我国肺癌的5年生存率仅10%。80%的肺癌患者在临床确诊时已经失去了手术机会。但是医学界始终没有放弃攻克癌症的努力。目前认为，肿瘤的早期诊断对于其疗效及预后至关重要。

虽然胸片和痰细胞学检查已被广泛应用于肺癌的筛查，但胸片特异性不高，痰细胞学检查的敏感性较低，仍有相当数量的早期肺癌患者因被漏诊而失去了最佳治疗机会。因此，目前研究的重点是寻找更有效的肺癌早期诊断方法。多年来，人们期望能针对不同肿瘤寻找其特异而敏感的标志物用于早期诊断、预后判断及疗效评估，随着医学科学技术的快速发展，国内外在肺癌筛查及早期诊断手段方面做了大量的探索和研究，也取得了不少的进步和创新，但现今对肺癌的普查和早期诊断方法仍尚未统一。

纤维蛋白原（FIB）是人体血液中重要的凝血因子，是凝血系统中的“中心”蛋白质，传统上主要作为凝血疾病的诊断指标，但近年来研究认为，它与心血管疾病、血栓性疾病、恶性肿瘤等疾病的发生及发展有关。本研究对2007年4月至2009年3月在山东省立医院呼吸内科就诊的初诊肺癌病例进行统计，以临床病历资料、血浆FIB测定值、病理或细胞学指标为研究内容进行对比分析，以探讨血浆FIB水平与肺癌的生长、转移、疗效及预后的关系。现将研究过程报告如下：

资料和方法

一、病历资料

1、病例选择：肺癌组患者95例，均为2007年4月至2009年3月在山东省立医院呼吸内科住院确诊肺癌的患者，其中男性62例，女性33例，中位年龄60.0岁。在这95例肺癌患者中，有67例患者经证实已有远处转移，70例患者接受化疗。

2、病例诊断及排除标准：所有入选病例均经病理或细胞学确诊为原发性支气管肺癌。排除标准：排除合并其他心、肺疾患（如肺结核、尘肺、支气管哮喘、支气管扩张、肺炎、冠心病、心力衰竭）及糖尿病、肝病等系统性基础疾病。

3、70例接受化疗的患者化疗结束后,按化疗疗效评定均采用WHO1981年统一评定标准:完全缓解(CR) + 部分缓解(PR) + 稳定(SD) 为化疗有效组,化疗后进展(PD)和复发者为化疗无效组,本研究中化疗后有效者48例、无效者22例。

4、正常对照组100例,均为本院体检中心体检健康者,其中男性60例,女性40例;年龄25~77岁,中位年龄45.0岁。

二、治疗方法

经确诊的肺癌患者，其治疗方案主要根据肿瘤的组织学类型决定。参加化疗的患者均遵医嘱按时完成规定疗程。

三、观察指标及测定方法

入组肺癌患者均于入院后接受化疗前测定血浆FIB值，接受化疗的患者均于下次化疗前再次测定血浆FIB值。测定方法如下：于清晨空腹抽取肘静脉血1.8ml，放入含枸橼酸钠0.2ml的专用真空抗凝试管中，混匀，经3000r/min离心10分钟后收取上层血浆,应用美国贝克曼-库尔特公司ACL-7000型全自动血凝分析仪检测,以凝血酶原导出FIB法得出测定结果。检验均在(20±5)℃室温条件下行,2h内完成。所用试剂盒、参比血浆、参比液均为美国IL公司(International Laboratory)产品。

四、统计方法

数据均为计量资料，以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，两组数据的差异性检验均采用t检验，方差不齐则采用近似法t'检验。全部数据分析均采用SPSS13.0软件进行，取 $P < 0.05$ 具有统计学差异。

结 果

1、肺癌组和对照组血浆FIB含量测定结果比较：对照组为(2.95±1.59) g/L，肺癌组治疗前为(4.76±1.77)g/L,两组数据差异具有显著性(P < 0.05)（如表1所示）。

2、肺癌组中有转移组和无转移组治疗前FIB值比较：有转移组血浆FIB值为(4.95±1.95) g/L,无转移组血浆FIB值为(4.31±0.64) g/L, 两组数据差异具有显著性(P < 0.05)（如表2所示）。

3、接受化疗的肺癌患者治疗前与治疗后FIB含量的比较

化疗有效者：治疗前FIB含量为(4.66±0.52) g/L,治疗后为(3.32±0.91) g/L, 治疗前后FIB 含量差异有显著性(P < 0.05)。化疗无效者：治疗前FIB含量为(4.67±0.80) g/L,治疗后为(5.28±0.94) g/L,治疗前后FIB 含量差异有显著性(P < 0.05)（如表3所示）。

表 1. 对照组与肺癌组治疗前血浆 FIB 测定值的比较

组别	例数 (n)	FIB (g/L)	t 值	p 值
对照组	100	2.95±1.59		
肺癌组:	95	4.76±1.77	14.0	P < 0.05

表 2 肺癌患者有转移组和无转移组治疗前血浆 FIB 的比较

组别	例数 (n)	FIB (g/L)	t 值	p 值
有转移组	67	4.95±1.95		
无转移组	28	4.31±0.64	4.76	P < 0.05

*注：两样本方差不齐，用近似法t'检验得t'=4.76 > t'_a=2.01， P < 0.05

表 3. 肺癌组患者治疗前后血浆 FIB 测定值的变化比较

疗效	例数 (n)	治疗前	治疗后	t 值	p 值
有效组	48	4.66±0.52	3.32±0.91	10.8	P < 0.05
无效组	22	4.67±0.80	5.28±0.94	2.30	P < 0.05

讨 论

原发性支气管肺癌（primary bronchogenic carcinoma），简称肺癌（lung cancer），为起源于支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤。肺癌发病率位于男性肿瘤的首位，并且由于早期诊断不足致使预后较差。虽然病因和发病机制尚未完全明确，但通常认为肺癌的发病与吸烟、职业致癌因子、空气污染、电离辐射、饮食与营养、遗传和基因改变等因素有关。

肺癌按组织学分类可分为小细胞肺癌（small cell lung cancer, SCLC）和非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）两类，NSCLC又可分为鳞癌、腺癌和大细胞癌三类。肺癌的治疗效果与肺癌的早期诊断密切相关。因此，应该大力提倡早期诊断及早期规范治疗以提高生存率甚至治愈率。由于早期诊断不足致使肺癌预后差，86%的肺癌患者在确诊后5年内死亡。只有15%的患者在确诊时病变局限，5年生存率可达50%。规范有序的诊断、分期以及根据肺癌临床行为制定多学科治疗（综合治疗）方案，可为患者提供可能治愈或有效缓解的最好的治疗方法。随着以手术、化疗和放疗为基础的综合治疗进展，近30年肺癌总体5年生存率几乎翻了一倍。肿瘤的恶性生物学行为主要表现在生长速度快、转移和扩散、恶化和死亡等方面，其发展过程与多种因素有关^[4]。

恶性肿瘤患者的凝血和纤溶系统通常存在着异常，多数肿瘤患者处于高凝状态^[5]，而这种高凝状态反过来对于肿瘤的生长及转移可能起着促进作用，有文献报道95%的肿瘤患者尤其是晚期肿瘤患者拥有一项或多项凝血指标异常，如凝血酶原时间（PT）缩短，FIB升高，D-二聚体升高^[6]等。

血浆纤维蛋白原（fibrinogen FIB），即凝血因子 I，是一种糖蛋白，由肝细胞合成和分泌，是血浆中含量最高的凝血因子，正常人血浆中FIB浓度为2.0 g/L~4.0 g/L，半寿期约为3天，电泳分离显示在 β_2 区带，其分子量为 340×10^3 (340 kD)。FIB是一种急性时相反应蛋白，其增高可见于毒血症、肺炎、轻型肝炎、胆囊炎、肺结核等感染及肾病综合征、风湿热、恶性肿瘤、风湿性关节炎、脑血栓、脑梗死、心肌梗死等无菌性炎症；另外如外科手术、放射治疗、月经期及妊娠期也可见FIB轻度增高。有文献报道，在肿瘤的不同时期，FIB有差异，在早期有35%患者出现异常，晚期则高达83%^[7]。

纤维蛋白原是一种含2964个氨基酸的大分子糖蛋白，首先在肝细胞中合成，

由两个相同的组分($\text{A}\alpha, \text{B}\beta, \gamma$)组成六聚体^[8],链间以二硫键相连。 $\text{A}\alpha, \text{B}\beta, \gamma$ 三条多肽链借助 $\text{A}\alpha\text{Cys}28$ 、 $\gamma\text{Cys}8$ 和 $\text{Cys}9$ 构成对称性二聚体。单体中 $\text{A}\alpha\text{Cys}36$ 与另一单体 $\text{B}\beta\text{Cys}65$ 组成的二硫键对形成二聚体分子也起到关键作用。 $\text{A}\alpha$ 、 $\text{B}\beta$ 、 γ 三条链在肝脏由独立的多核糖体合成其前体蛋白(分别包括19、30、26个信号肽),在粗面内质网内将信号肽切除、疏水反应及二硫键形成等加工后,折叠、装配成成熟的二聚体分子,最后经糖基化、部分磷酸化分泌到胞外。幼鼠肾细胞株(BHK)转染实验显示,纤维蛋白原的起始装配包括 $\alpha\gamma$ 和 $\beta\gamma$ 杂聚体的形成,但不包括 $\alpha\beta$ 杂聚体,第三条链的加入导致半分子 $\alpha\beta\gamma$ 的形成,而后二聚化形成成熟的六链纤维蛋白原,参与到血液循环^[9]。

纤维蛋白原分子中,有多个配体的结合位点,研究较多的是凝血酶作用位点和血小板糖蛋白IIb/IIIa的结合位点。凝血酶的裂解位点在 $\text{A}\alpha-16$ 和 $\text{B}\beta-14$,作用后分别释放出纤维蛋白肽A和B,并同时分别形成纤维蛋白单体 I 和 II。研究发现,FIB中有多个糖蛋白 II b/ III a 的结合序列,主要是 $\alpha 95\sim 97$ 、 $\alpha 572\sim 574$ 的RGD序列和 $\gamma 400\sim 411$ 附近的10~15个氨基酸残基;并且两个多肽会相互抑制,说明两者在糖蛋白上的结合位点可能相同,也或是前者结合后导致糖蛋白构型的改变,而阻止另一种多肽的再次结合。其中 $\gamma 400\sim 411$ 是血小板聚集的关键, α 链的RGD序列则不是必需的。由于FIB的三条多肽链是独立合成的,在成熟之前要经过加工和装配;每条多肽链的部分氨基酸的改变都可能会影响到这些过程,使三条多肽链不能装配成完整的FIB分子^[9]。

纤维蛋白原主要是作为凝血因子而直接参与凝血过程。在凝血共同途径中,凝血酶先裂解纤维蛋白原两条 $\text{A}\alpha$ 链氨基端 $\text{Arg}16\text{-Gly}17$ 释放出一对纤维蛋白肽A,形成纤维蛋白单体 I;在裂解纤维蛋白原两条 $\text{B}\beta$ 链氨基端 $\text{Arg}14\text{-Iy}15$ 释放出一对纤维蛋白肽B,形成纤维蛋白单体 II,暴露纤维蛋白单体的聚合部位,通过非共价结合,形成了不稳定的可溶性纤维蛋白单体。在活化的凝血因子 γ 及 Ca^{2+} 的作用下,纤维蛋白单体互相交联,生成稳定的可溶性纤维蛋白,并将血液的有形成分包绕其中,形成牢固的血栓^[10]。

FIB除了参与凝血外,还具有其他多种功能,近年来人们研究发现血浆纤维蛋白原水平升高是心脑血管、血栓性疾病的重要危险因素^[11];影响血液粘度;参与肿瘤的血行转移等。

现将纤维蛋白原与肺癌及其转移的关系阐述如下:

1、 肺癌与高纤维蛋白原血症:

(1)、肺癌细胞进入血液循环后,能刺激内皮细胞释放大量的组织因子,导致凝血系统被激活,促发血栓的形成,并且也能够诱导血管内皮细胞分泌纤维蛋白溶解酶,然后再激活其抑制剂,阻止纤维蛋白原的降解,当这种作用大于纤维蛋白原的降解时,便导致了纤维蛋白原的增高^[12]。另外,癌细胞与内皮细胞、血小板等相互作用,释放出许多生物活性物质,促使血小板激活,而血小板被激活时,其 α 颗粒所含有FIB等分子可释放进入血循环,导致血浆FIB的增高,同时也参与肺癌的转移。被激活的血小板还可分泌富组氨酸糖蛋白(HRG),HRG有与FIB结合的作用,其结合能阻止纤维蛋白原的降解,导致血浆FIB升高^[13]。

(2)、肺癌细胞可分泌血管生成因子,使肺癌的微血管丰富^[14],在肺癌的转移过程中,血液循环中所形成的癌栓,可以导致血液循环瘀滞,在FIB水平已升高的基础上,易形成血栓,而继发性纤溶亢进所生成的纤维蛋白原降解产物(FDP),又能反馈性地刺激血浆FIB增高^[15]。

促微血管生成的因子:最早被发现的促微血管生成因子是成纤维细胞生长因子,它由a、b两种类型,即aFGF和bFGF。二者都属于和肝素高亲和的生长因子类。用原位杂交实验分析肿瘤组织发现,临床晚期(出现转移症状)的肿瘤组织的外围(侵袭的边缘)细胞中bFGF过度表达。相比之下,临床早期肿瘤组织的bFGF水平较低。这也从另一方面说明,肿瘤细胞基因的异质性,即同一肿瘤组织具有侵袭转移相关基因表达的差异,那些高表达这些基因的细胞将发生侵袭和转移。血管内皮细胞生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是内皮细胞专一的促有丝分裂因子,它主要通过内皮细胞上的flk、flt1、flt4等3个受体起作用。肿瘤细胞通过缺氧作为最初刺激信号上调VEGF的表达,缺氧造成的血管新生是通过激活VEGF启动子区缺氧反应元件实现的。另外,细胞经IL-1、IL-6、IL-8、TGF、PDGF和bFGF处理后,VEGF水平也升高。在成胶质细胞瘤的坏死区的附近,可以观察到VEGF表达水平的升高。VEGF过表达还与癌症的侵袭和血管密度密切相关,是一个最具普遍意义的肿瘤微血管生成刺激因子。此外,血小板来源的内皮生长因子(PDEGF)及IL-6、IL-8、TNF- α 等也可调节微血管的生成。实验表明,组成型表达IL-8的人肿瘤细胞株接种裸鼠后,肿瘤生长迅速,具有明显的微血管丰富表型,并

有很强的侵袭和转移能力^[14]。

(3)、鳞状细胞癌能刺激肝脏细胞产生过多的FIB^[16]。Jones等^[17]对93例非小细胞肺癌患者进行研究,结果表明,鳞癌患者的FIB浓度较腺癌患者高,其机制尚不清楚。

(4)、需要说明的是,除高分化的肝细胞癌外,肿瘤细胞本身并不能合成和分泌纤维蛋白原^[18]。

2、纤维蛋白原和肺癌的转移:

(1)、FIB作为癌细胞、血小板和血管内皮细胞之间的桥梁,增加它们之间的粘附结合:由于肿瘤细胞间黏附因子的改变,使肺癌细胞从原发灶游离,进入血液循环;而癌细胞-血小板簇可通过血小板与损伤内皮的黏附锚定在内皮表面,这也是癌细胞在继发器官定位附着的关键环节。这些过程包含众多黏附因子(钙连接素、选择素、整合素等)及促进黏附的因素(如FIB)^[19]。其中FIB可作为不同黏附分子的配体,即桥梁作用,增加白细胞、血小板及癌细胞间的黏附结合^[20],在肺癌的转移中起着重要的作用。另外,此过程同时消耗大量的凝血因子,造成APTT和PT延长。

肺癌细胞进入循环系统后,它们自身形成同聚物或与白细胞、血小板形成异聚物,通常这些聚合物被称为癌栓。癌栓将留驻在远端血流缓慢的毛细血管网处,进而粘附微血管内皮并诱导内皮崩解。癌细胞穿出微血管后,与基底膜接触并通过特殊膜受体结合基质蛋白,如癌细胞表面的某些整合素受体与基质中的层粘连蛋白结合。这样,癌细胞再通过与最初侵袭原发组织同样的机制,完成在远端组织中的转移。转移的癌灶进一步诱生新生血管以满足其过度的增长需要,并在一定的情况下发生再度转移^[15]。

运用单克隆技术及流式细胞测定法测定体内血小板被激活的标志物CD63和与溶酶体有关的膜蛋白1(Lamp1),结果显示在癌症患者血浆中,被激活的血小板比例明显高于对照组,提示癌症患者体内血小板大多处于激活状态^[21]。许多研究证实体外肿瘤细胞可以激活并诱导血小板聚集。分子作用机制研究表明,肿瘤细胞可通过膜之间的糖-糖识别、糖-蛋白质识别、直接或间接的蛋白质-蛋白质连接直接作用于血小板,激活血小板,诱导血小板聚集。血小板表面可表达多种粘附分子(整合素族、免疫球蛋白、选择素族、富亮氨酸糖蛋白等),在血浆中存在这些粘

附分子的特异性配体(FIB、vWF、凝血酶敏感蛋白、vitronectin、laminin、IV型胶原等),肿瘤细胞可以同这些配体相结合,因此在体内血小板可通过这些配体介导粘附于肿瘤细胞,进而被激活发生聚集^[22]。近来研究发现,肿瘤细胞膜上一种涎酸糖蛋白和糖脂中的涎酸化糖链在诱导血小板聚集中可能起重要作用,同正常细胞相比,恶性肿瘤细胞(肺癌、脑膜瘤、神经胶质瘤及结肠直肠癌细胞等)中涎酸的水平明显增高,且随病情的加重而上升。肿瘤细胞中涎酸的含量与其体外促血小板聚集的能力正相关。认为与糖蛋白和糖脂连接的涎酸可能参与肿瘤细胞和血小板之间的多种相互作用^[23]。

在高凝状态下,肿瘤细胞本身可分泌血管内皮生长因子(VEGF),还可通过血小板聚集,促进血小板分泌VEGF,从而增加肺癌组织局部血管密度,增加肺癌远处转移的可能性。在肺癌的转移过程中,血液循环中所形成的癌栓可以导致血液循环瘀滞,在FIB水平已升高的基础上,易形成血栓,而继发性纤溶亢进所生成的纤维蛋白原降解产物(FDP),又能反馈性地刺激血浆FIB增高。这样就形成了高纤维蛋白原血症与肺癌转移的恶性循环。Matsuyama W^[24]研究发现:肺癌患者血浆VEGF水平与肿瘤分期有关,晚期肺癌患者血浆中VEGF含量显著高于早期肺癌患者,且VEGF的产生提示预后不良。

(2) FIB参与提供肿瘤细胞顺利迁移的临时性间质,这种临时间质为迅速增殖的肿瘤细胞提供营养和气体交换^[25,26]。

癌细胞生长需要一个合适的细胞外环境,即间质。间质为肿瘤细胞提供机械支撑、营养支持、代谢产物运输通道,而且参与调控癌细胞分化、增殖、癌细胞粘附、运动,并最终成为一肿瘤侵袭表型和转移过程的促进因素。根据目前的研究结果,侵袭的调控机制大致包括以下几个方面:①癌细胞通过细胞膜表面的受体与基底膜、基质成分层粘连蛋白,纤粘连蛋白和胶原蛋白粘附;②蛋白酶分泌和激活,降解细胞外基质成分;③癌细胞定向运动穿越缺损的基底膜和间质;以上即Liotta等提出的侵袭“三步”假说。肿瘤细胞与细胞外基质(extracellular matrix ECM)粘附是侵袭的起始阶段。肿瘤细胞能通过细胞表面的整合素或非整合素类受体与细胞外基质中特殊糖蛋白结合,如纤粘连蛋白、层粘连蛋白、纤维蛋白原等。在肿瘤侵袭前期,癌细胞表面的层粘连蛋白的受体在介导瘤细胞与基底膜粘附中起着重要作用。在肿瘤细胞上层粘连蛋白的受体发生了数量或结合率改

变。正常上皮细胞上的层粘连蛋白受体集中位于基底膜侧，并与基底膜中的层粘连蛋白结合；侵袭性肿瘤细胞表面的层粘连蛋白的受体数量增多，而且散布于整个癌细胞表面。

癌细胞粘附细胞外基质后向周围组织侵袭时会遇到一系列宿主的组织屏障，如组织基质和基底膜等，这些组织屏障的破坏为肿瘤侵袭提供了突破的途径，这主要是由能降解基质成分的蛋白水解酶完成的。基质蛋白的酶有四大类，包括丝氨酸蛋白酶（如纤溶酶原激活因子、弹性蛋白酶）、半胱氨酸蛋白酶（如组织蛋白酶B）、天冬氨酸蛋白酶（如组织蛋白酶D）、金属蛋白酶。在四类蛋白水解酶中都已证实蛋白水解酶表达水平与肿瘤侵袭性呈正性相关，其中最重要的是基质金属蛋白酶和纤溶酶原激活因子。纤溶酶原激活因子的2个类型uPA和tPA裂解纤溶酶原为纤溶酶，纤溶酶是血浆中活性最强的蛋白酶，其主要作用是水解纤维蛋白原和纤维蛋白。同时可通过激活多种基质金属蛋白酶降解其它基质成分。纤溶酶原激活因子/纤溶酶受特异的抑制物PAI-1和PAI-2调节。在细胞周围的纤溶酶原激活过程可因位于细胞表面而被增强，并被其细胞表面受体u-PAR调节。总之由uPA介导的肿瘤细胞侵袭需要uPA、PAI-1、PAI-2、u-PAR和ECM分子相互密切协调^[27]。

(3) FIB血小板微血栓可能提供保护肿瘤细胞对抗宿主免疫监视系统。

目前资料表明,抗肿瘤特异性抗体与肿瘤细胞结合,激活补体进而杀伤肿瘤细胞。T淋巴细胞可能通过其表面的抗原特异性受体识别肿瘤表面抗原,继而经过一系列的主动耗能过程,最终导致肿瘤细胞的杀伤^[18]。

在某些条件下,上述抗肿瘤免疫难以见效,如给小鼠注入的抗肿瘤抗体可预防血行乳腺癌细胞所造成的肺转移,同样的抗体却不能抑制皮下注入相同肿瘤的生长。体外培养,抗体与肿瘤细胞相结合,并激活补体系统后,能溶解分散的悬浮肿瘤细胞,对实体肿瘤并不呈现出明显的破坏作用。抗体能与体外培养的肺腺癌细胞起反应,与肺腺组织基本无反应。肿瘤细胞小团块比起同样数目散在、单个细胞更易发生转移。这可能与皮下组织物质交换较慢、一定数量的实体肿瘤内及周围液体更加容易出现低pH、低氧、营养贫乏状态^[28]。单抗Herceptin和人源化的嵌合抗体Rituximab的临床应用已取得了较好的疗效,但部分患者仍未能取得满意的结果^[29, 30]。

肿瘤组织微环境中存在多种可抑制效应T细胞功能的细胞因子成分,其中IL-10与TGF- β 的作用最为显著。这些细胞因子由肿瘤细胞本身或间质细胞所分泌。Qin等^[31]观察到IL-10可阻碍肿瘤组织局部对树突细胞的募集,也可阻断由树突细胞介导的T细胞向细胞毒效应细胞的转换,说明IL-10可以多重机制抑制免疫系统对肿瘤组织的作用。TGF- β 具有促进和抑制细胞增殖的双向作用,在免疫系统中表现出负调节因子效应,可通过抑制MHC抗原表达、干扰树突状细胞的分化成熟诱导免疫耐受。在肿瘤组织微环境中,主要是通过影响效应T细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞等发挥非特异性免疫抑制作用。同时,TGF- β 可诱导Treg细胞的扩增,而扩增的Treg细胞又可进一步分泌TGF- β ^[32]。

另外,肿瘤细胞自身面对机体免疫系统的压力,逐渐选择性地丢失细胞膜表面的抗原表达、MHC-I分子、 β 微球蛋白等^[33],既可在免疫初始阶段减少抗原呈递,又可减弱免疫效应阶段的特异性细胞毒作用。另外,由于免疫挑剔机制的存在,肿瘤细胞在进展过程中也会逐渐对干扰素等免疫效应细胞分泌的细胞因子变得不敏感^[34]。这些现象说明,免疫系统抵抗肿瘤的同时,又对肿瘤具有塑型作用,即对肿瘤细胞实施免疫选择压力,使弱免疫原性肿瘤细胞得以逃逸并进一步生长。

Palumbo等^[35]从小鼠动物模型已证实FIB的缺乏,能降低小鼠原发肿瘤的淋巴和血液转移。故FIB在肿瘤转移中起着重要作用,如何降低恶性肿瘤患者血浆中的FIB的水平,改善血液高凝状态可能是防止肿瘤转移的一个重要环节^[36]。

本研究显示肺癌患者的血浆FIB水平显著高于正常对照组,与文献报道一致^[37],证实肺癌患者存在高纤维蛋白原血症,故可用血浆FIB含量作为肺癌的早期诊断指标;肺癌组有转移患者FIB水平与无转移者经统计学处理差别具有显著性,提示高凝状态参与介导肺癌的远处转移浸润。表明FIB是导致肺癌患者转移的危险因素,可作为肺癌进展的血凝标志物,通过降低肺癌患者血浆中的FIB水平,改善血液高凝状态可能是防治肿瘤的一个重要环节。接受化疗的患者化疗后有效者的血浆FIB水平较化疗前显著降低,病变进展或复发者血浆FIB显著升高,这表明血浆FIB含量的变化,可考虑作为判断患者病情演变及评估化疗效果的参考指标。

值得注意的是,化疗药物对肝脏细胞有损伤,使FIB的合成和分泌受影响。因此,有些患者虽病情加重,但FIB并不升高,反而降低,提示FIB下降的同时,需要检查肝功能^[38]。

综上所述,血浆FIB水平升高可导致凝血紊乱,促进肺癌转移。因此,FIB 作为一种简便、快速、敏感的指标,从血凝学变化方面,监测肿瘤转移、恶化及化疗效果,具有一定的临床实用价值。

结 论

1. 肺癌患者存在高纤维蛋白原血症,故可用血浆纤维蛋白原含量作为诊断肺癌的一项指标。
2. 血浆纤维蛋白原作为一种简便、快速、敏感的指标,在血凝学变化方面,监测肺癌的转移、恶化具有一定的实用价值。
3. 血浆纤维蛋白原可以作为评估肺癌患者化疗效果的一项参考指标。

参考文献

- 1 董志伟, 乔友林, 李连弟, 等. 中国癌症控制策略研究报告[J]. 中国医学科学院学报, 2002, (03):334.
- 2 Jemal A, Tiwaci RC, Murray T, et al. Cancer Statistics. CA Cancer J Clin, 2004, 54:92-119.
- 3 American Lung Association. Best practice and program service :trends in lung cancer morbidity and mortality[M]. New York :American Lung Association, 2001.
- 4 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 123-134.
- 5 Voland C, Serre CM, Delmas P, Clézardin P. Platelet-osteosarcoma cell interaction is mediated through a specific fibrinogen-binding sequence located within the N-terminal domain of thrombospondin 1. J Bone Miner Res. 2000 Feb;15(2):361-8.
- 6 Gouin-Thibault I, Samama MM. Laboratory diagnosis of the thrombophilic state in cancer patients. Semin Thromb Hemost. 1999;25(2):167-72.
- 7 高辉, 杨舒, 李远华. 恶性肿瘤患者血浆纤维蛋白原测定的临床意义[J]. 实用医技杂志, 2002, 9 (4):269-270.
- 8 Duga S, Asselta R, Santagostino E, et al. Missense mutations in the human beta fibrinogen gene cause congenital afibrinogenemia by impairing fibrinogen secretion. Blood, 2000, 95(4):1336-13341.
- 9 Okumura N, Terasawa F, Tanaka H, et al. Analysis of fibrinogen Gamma-chain truncations shows the C-terminus, particularly gamma-malle387, is essential for assembly and secretion of this multichain protein. Blood, 2002, 99(10):3654-3660.
- 10 徐修才, 吴竞生, 翟志敏. 人纤维蛋白原的研究进展[J]. 国外医学. 临床生物化学与检验学分册, 2004, (06).
- 11 王振义, 李家增, 阮长耿, 等. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 1995. 11.
- 12 徐光炜. 临床肿瘤学[M]. 沈阳: 辽宁教育出版社, 1999: 444-445.

- 13 王振义,李家增,阮长耿. 血栓与止血[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996 :547-552.
- 14 李春海,李克勤. 肿瘤微血管生成的机制与肿瘤侵袭和转移[J]. 中华肿瘤杂志,2000 ,22 :181-183.
- 15 杨莉. 纤维蛋白原与血栓性疾病[J]. 中华血液学杂志,1999 ,20 :163-165.
- 16 郁知非,编著. 临床血液学最近进展[M]. 广州:暨南大学出版社,1992.362.
- 17 Jones JM, McGonigle NC, McAnespie M, et al . Plasma fibrinogen and serum C-reactive protein are associated with non-small cell lung cancer.Lung Cancer, 2006, 53(1): 97-101.
- 18 汤钊.现代肿瘤学[M].上海:上海医科大学出版社,2000 :240.
- 19 何新斌. 肿瘤患者体液中血管生长的临床意义. 国外医学肿瘤学分册,2001 ,28 :7-10.
- 20 Stolpe A , Jacobs N , Hage WJ , et al . Fibrinogen binding to ICAM-1 on EA. hy 926 endothelial cells is dependent on an intact cytoskeleton.Thromb Haemost,1996,75:182-189.
- 21 Kannan K, Divers SG, Lurie AA , et al. Cell surface expression of lysosome-associated membrane protein-2 (lamp2) and CD63 as markers of in vivo platelet activation in malignancy. Eur J Haematol,1995,55:145.
- 22 刘元波, 赵相印. 肿瘤所致凝血异常的研究[J]. 首都医科大学学报, 2000,21:270-272.
- 23 Toyoshima M,Nakajima M ,Yamori T,et al.Purification and characterization of the platelet-ag-gregating sialoglycoprotein gp44 expressed by highly metastatic variant cells of mouse colon adenocarcinoma 26. Cancer Res , 1995,55:767.
- 24 Matsuyama W, Hashiguchi T, Mizoguchi A, et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor dependent on the stage progression of lung cancer[J]. Chest, 2000, 118(4): 948-951.
- 25 Yamazaki D, Kurisu S, Takenawa T. Regulation of cancer cell motility through actin reorganization. Cancer Sci. 2005 Jul;96(7):379-86.
- 26 Sahai E. Mechanisms of cancer cell invasion. Curr Opin Genet Dev. 2005 Feb, 15(1):87-96.

- 27 He C, He P, Liu LP, Zhu YS. Analysis of expressions of components in the plasminogen activator system in high- and low-metastatic human lung cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2001;127(3):180-6.
- 28 范平生,汪瑛,冯克海. 肿瘤微环境对肿瘤免疫的影响[J]. *安徽医药*, 2005, (09).
- 29 Leyland-Jones B, Gelmon K, Ayoub JP, et al. Pharmacokinetics,safety and efficacy of trastuzumab administered every weeks in combination with paclitaxel [J]. *Clin Oncology*, 2003,21(21):3965 - 71.
- 30 Hainsworth JD. First-line and main tenance treatment with rituximab for patients with indolent non-hodgkin's lymphoma[J]. *Seminars in Onclogy* 2003,30(1):9-15.
- 31 Qin Z, Noffz G, MohauptM, et al. Interleukin-10 prevents dendritic cell accumulation and vaccination with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene-modified tumor cells[J]. *J Immunol*,1997,159 (2) :770-776.
- 32 Peng Y, Laouar Y, LiM O, et al. TGF-beta regulates in vivo expansion of Foxp3-expressing CD4+CD25+ regulatory T cells responsible for protection against diabetes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2004,101 (13) :4572-4577.
- 33 Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin D J, et al. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance[J]. *Adv Immunol*, 2000,74:181-273.
- 34 Dunn GP, Sheehan KC, Old LJ, et al. IFN unresponsiveness in LNCaP cells due to the lack of JAK1 gene expression [J]. *Cancer Res*,2005,65(8):3447-3453.
- 35 Palumbo JS , Potter JM , Kaplan LS, et al. Spontaneous hematogenous and lymphatic metastasis , but not primary tumor growth or angiogenesis , is diminished in fibrinogen deficient mice[J].*CancerRes* ,2002,62(23):6966-6972.
- 36 Biggerstaff JP, Seth N, Amirkhosravi A, et al. Soluble fibrin augments platelet/tumor cell adherence in vitro and in vivo,and enhances experimental metastasis. *Clin Exp Metastasis*. 1999;17(8):723-30.
- 37 Yoshida T, Osato H , Sakon M, et al . Coregional injection of OK-432/fibrinogen/ thrombin for unresectable metastatic liver tumors. *Gan*

ToKagaku Ryoho,1996,23:1575-1577.

- 38 刘秀巧,王淑娟,吴振茹,等.恶性肿瘤与高纤维蛋白原血症[J].中华肿瘤杂志,2002,24(1):51-52.

·综述·

肺癌早期诊断的现状及其新进展

世界卫生组织(WHO)发布^[1],2000年全世界新发癌症1000万,死600万,现患癌症病例2240万,其中我国癌症发病人数180~200万,死亡人数140~150万;预测到2020年,全球人口80亿,癌症新发病例将达2000万,死亡将近1200万,足见癌症将成为新世纪人类第一杀手;肺癌的发病率、死亡率在男性均占第一位,全世界2000年肺癌新发病例就有120万,死亡110万人。近20年来,肺癌在欧美国家不论男女均占常见肿瘤的首位,肺癌的总5年生存率仅13%~15%,在我国不足10%^[1],随着人均寿命延长、城市化加快、禁烟运动不力、职业暴露、环境污染、遗传易感性等因素的影响,肺癌的发病率呈上升趋势,

统计资料显示,0期肺癌患者5年存活率超过90%,而IIIb-IV期中位生存期仅为6~10月。但令人遗憾的是,0期患者一般没有任何症状,确诊时还不到肺癌患者总数的0.6%^[2]。肺癌早期诊断率仅15%,但I期肺癌术后5年生存率可达60%~90%^[3,4],因此要改善肺癌预后的关键在于早发现、早诊断、早治疗^[5]。

病理学诊断是肺癌诊断的“金标准”,也是根据循证医学要求来选定个体化科学合理的肺癌治疗方案的最重要的依据。但现实是临床上影像学已经发现的肺小病灶($\leq 3\text{cm}$),大部分医院大部分患者都无法得到病理定性诊断,因为目前医生手头还没有简便实用、行之有效的能为肺癌患者快速作出诊断的手段。近几年来,随着科学技术快速发展,国内外在肺癌诊断及肺癌筛查早期诊断手段方面做了大量探索研究,取得了不少的进步和创新。主要集中在影像学、微创介入、分子生物学、基因诊断及血清标志物等几个方面,综述如下:

1、 影像学在肺癌的早期诊断中的应用新进展

1.1 低剂量螺旋CT(Low-dose spiral CT,LDCT)是采用螺旋CT扫描时,设定电压为140kV,电流40mA,螺距10mm,屏气20s一次扫描完成,由于电流减少,辐射量低,适合肺癌的普查。LDCT检出肺内小结节的能力是X线的10倍^[6]。第一个“早期肺癌行动计划”^[7]采用胸片和LDCT检查了1000例60岁以上、吸烟危险指数大于200、需要时能够耐受剖胸手术的病人。通过LDCT发现非钙化肺结节233例,其中27例为肺癌,26例可手术切除;而通过胸片发现68例非钙化肺

结节,肺癌 7 例。26 例手术切除的病人中,88% (23) 例 1 期肺癌,故极大地改善了肺癌患者的预后。Sone^[6]采用车载低剂量螺旋 CT 对 40~74 岁人群普查了 5483 人,同时进行胸片及痰细胞学检查,肺癌 CT 诊断率为 0.148%,较常规普查的 0.03%~0.05%发现率提高近 10 倍,显示其优越性。据北美放射学 2005 年会报告,对无症状高危人群筛查-国际早期肺癌行动计划筛查发现了 458 例肺癌,其中 80%为 I 期;而筛查出行手术治疗的肺癌患者 8 年生存率为 95~98%。更大规模的入选人数达 50000 人的采用胸片和 LDCT 进行的肺癌筛查试验已经进行,结果有望在今年得出^[8]。但 CT 诊断也有其不足,如价格偏高,定性困难,需结合其它手段,以及对中央型肺癌早期发现率低,对肺内小于 6mm 的结节检出敏感性较低^[9],以及放射损害等问题,需在选择时进行综合考虑。

1.2 F-脱氧葡萄糖(F-18 fluoro-deoxyglucose, FDG)正电子发射断层显像(Positron emission tomography, PET);其原理是肿瘤细胞代谢活动增加时其葡萄糖传递蛋白数增加和细胞内己糖激酶、磷酸果糖激酶水平增高;而正常组织及良性病变中细胞代谢及葡萄糖摄取率均极低,显示差别明显。当将放射性 18FD 注入体内后,肿瘤组织对其摄取率明显增加,从而被探测系统记录,经计算机图像重建显示三维断层图像。因此 PET 有助于胸片或 CT 检查发现病变的定性诊断,以及肺癌治疗前后的疗效判断^[10]。瘤细胞内。研究表明^[11-12],PET 对肺内孤立性结节鉴别良恶性的灵敏度为 94.6%~95.8%,特异度为 66.7%~82%.,精确度为 89%~90.7%,阴性预测值 66.7%~93%,阳性预测值为 86%~94.6%。Sugair 等^[13]报道 PET 用于 CT 不能定性的病变诊断肺癌的敏感性 95%。炎症过程如组织胞浆菌病等可造成 FDG 的积累,特异性为 85%。由于 PET 高阴性预计值,故研究者对 PET 阴性病变仅推荐放射学随访,而不需做活检。PET 可以弥补螺旋 CT 定性困难的不足。其局限性在于:费用昂贵、诊断 6mm 以下结节时无帮助^[14]、有假阳性率(假阳性见于急性炎症或肺结核、肺曲菌病等)、图像分辨率低、解剖定位差。PET-CT 可弥补这一不足。PET-CT 是将 PET 与 CT 结合在一起的高新技术,既可获得形态和功能的信息,能提供高分辨率、高对比度的断层图象,同时能够直接评价功能和代谢的信息,提高了对恶性肿瘤诊断的特异性和准确性。

另外,CT 仿真支气管镜(CTVB)三维重建术可显示 4~7 级支气管及周围结构,但不能观察黏膜病变及取细胞学组织学标本。近来发展可在 CTVB 引导

下利用超细支气管镜活检。

2. 开展微创介入检查新方法

病理学诊断是肺癌早期诊断的“金标准”，通过微创或介入的手段取到病变组织行活检，对于早期肺癌的诊断具有重大的意义：

2.1 经支气管镜针吸活检（transbronchial needle aspiration, TBNA）

多数纵隔疾病未侵犯支气管黏膜，常规气管镜检查难以获取标本，成为诊断盲区，是临床常见的难题之一。TBNA 通过针吸活检针穿透气管壁，可以获得病理标本，对纵隔及肺门肿物定性诊断及肺癌分期诊断有重要作用。Schieppati^[15]首次经硬质气管镜对隆突进行穿刺，为气管镜检查开辟了一个新的领域。文献报道^[16]用该技术评价肺门和纵隔肿大淋巴结病变性质的准确性、敏感性和特异性，分别是 92.2%、89.3%和 100%，术前 N 分期与术后 N 分期比较符合率达 86.9%。姜淑娟教授等对 168 例 CT 扫描发现有纵隔病变患者，在支气管镜检查过程中完成 TBNA 操作，直接涂片送检。结果 TBNA 诊断阳性率为 92.9%，其中恶性肿瘤 81.0%，未出现纵隔气肿、感染等不良反应。然而 TBNA 要求操作者熟练掌握穿刺技术，支气管镜准确定位，再有病理科及细胞室专家的配合，可以提高诊断的阳性率和准确率。TBNA 创伤性小、安全性高，是诊断纵隔病变特别是肺癌肺门淋巴结转移的有效方法，目前正被逐渐推广。

2.2 荧光纤维支气管镜检查

荧光支气管镜检查（Laser - induced Fluorescences Endoscope ,LIFE）是利用细胞自发性荧光和电脑图象分析技术开发的一种新型纤维支气管镜，可使气管镜对肺癌及其癌前病变早期定位诊断的敏感性显著提高，是对普通光源支气管镜检查技术（White light bronchoscopy ,WLB）的技术突破^[17]。其工作原理是利用波长为（400~440）nm 蓝色光照射支气管树，支气管镜连接到高分辨率照相机上，将观察部位的图像通过数据转换器输入计算机，最后将观察部位的图像反映在荧光屏上。正常组织发出绿色光，而癌前病变、原位癌和早期浸润癌发出程度不同的红光。Stephen Lam 等^[18]发现，LIFE 对癌前病变和原位癌的诊断比普通纤支镜提高了 1.5~6.3 倍。操作时，先用 WLB 观察支气管树，再用 LIFE 检查，总体检查时间会延长 8~14 分钟，不需要另外给药未观察到相关并发症。A K Banerje 等^[19]也认为荧光纤支镜现在对癌前病变和早期肺癌能提供很有价值的检

测结果,对大气道浸润癌能够很好地识别和定位。LIFE 适用于已经确诊的肺癌或高度怀疑肺癌的患者。其局限性是无法检测周围型肺癌只能检测段支气管附近的支气管黏膜病变,不适合于临床诊断轻度异型增生^[20]。

2.3 超声纤支镜(EUS)

腔内超声可显示支气管壁的各层结构及管外的血管和淋巴结,其最大价值在于提高经支气管壁针吸活检的阳性率。目前,支气管内超声引导经支气管纵隔和肺门淋巴结针吸活检存在一定的局限性和技术难度。日本学者 Yasufuku 研究一种新型超声穿刺支气管镜,先在超声(EBUS)引导下识别纵隔和肺门淋巴结,实时行经支气管针吸活检,其敏感性、特异性和准确性分别为 95.7%、100.0%和 97.1%,未出现并发症。

2.4 仿真支气管镜(CTVB),在其引导下作超细支气管镜活检,超细支气管镜可进入到第 5~8 级支气管,该镜的外径 2.8 mm,活检管道直径为 1.2 mm(如 OES 纤支镜 BF-type, XP-60),适用于诊断不明的肺外周型小病灶(直径约 1~2 cm 左右)。Shinagawa 报道 25 例,VB 显示的支气管影像与通过超细支气管镜所观察到的实际支气管形态一致。超细支气管镜可进入第 5 至第 8 级支气管,初次扫描、首次活检及总的检查用时分别为 5.46、12.96 和 39.27 min。有 65.4% 病灶经病理检查确诊,因此认为该技术对 <20mm 肺外周病灶的活检安全、有效。

另外,电视胸腔镜在外周部肺部病变,纵隔淋巴结及胸膜病变取材活检或切除方面的研究也取得了一定的进展;电磁导航系统经支气管镜对肺外周病变活检也正在研究中。

3 血清肿瘤标志物

血清肿瘤标志物作为肿瘤有效的诊断方法倍受临床关注,是肺癌早期诊断研究的热点。

3.1 糖蛋白类抗原 主要有糖类抗原 CA19-9、CA125、CA15-3、细胞角蛋白片段(cyfra21-1)、鳞状细胞抗原(SCCAg)等几类。CA125 对肺鳞癌、腺癌均有较高敏感性。Barradas 等^[21] 根据 Youden 指数推算各种肿瘤标志物的诊断能力,认为 cyfra21-1 是肺鳞癌诊断中最佳的单一标志;SCCAg 是抗原 TA-4 的一个片段,主要适用于鳞癌,但敏感性差(仅为 22.9%),提示其不宜作为单一的诊断指标。

3.2 癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)

CEA是一种人类胚胎抗原决定簇的酸性糖蛋白,为非特异性肿瘤标记物。研究表明^[22,23], 17% ~80%肺癌患者CEA高于正常值, CEA升高程度与肺癌的广泛程度相关, CEA水平的动态变化,可以反应患者的治疗效果,陈香丽等^[23]研究结果显示它对肺癌的特异性高,且在非小细胞肺癌(NSCLC)中升高更明显,但是敏感度尚不理想,仅50%~60%, Plavec等^[22]测定原发性肺癌患者胸水中CEA值,阳性率为60%,特异性为90%,显示CEA对诊断肺腺癌的临床价值较大。当CEA >10 μ g/ml对肺癌的定性诊断有较大帮助;对于诊断肺部周围型癌或怀疑瘢痕癌时CEA可作为首选的诊断指标。另外,组织多肽抗原(tissue polypeptide antigen, TPA)是广谱肿瘤标志物,在肿瘤组织中可以广泛检测到,在恶性胸腔积液中含有高于血清,有利于良、恶性胸水的鉴别。

3.3 酶类抗原 主要包括同工酶类,如胃泌素释放肽前体(Pro-GRP)、神经烯醇化酶(NSE)、乳酸脱氢酶(LDH)、谷胱甘肽转换酶(GST)以及基质金属蛋白酶(MMPs)等。NSE是糖酵解途径中的关键酶,此酶不仅存在于中枢神经内,还存在于各种末梢神经内分泌细胞和某些肿瘤细胞内。NSE在肺癌特别是在小细胞肺癌(SCLC)中具有高水平及高阳性率,并可反映疾病病程、病期、肿瘤负荷,帮助判定疗效,对监测肿瘤复发、转移也有重要意义。Pinson^[24]等分别在肺癌确诊时、化疗后和复发时测定血清NSE浓度,结果确诊的64例小细胞肺癌(SCLC)患者中有47例NSE阳性,占73%,且有转移病灶患者血清NSE明显高于无转移病灶者,而其他恶性肿瘤及良性肺病仅有4%有NSE异常,这表明NSE对小细胞肺癌(SCLC)既有较高的灵敏度,也有较高的特异性。Pro-GRP是一种脑肠肽,在小细胞肺癌(SCLC)患者血清中表达较高。有学者使用双抗体夹心酶联免疫法检测SCLC患者血清,结果发现:Pro-GRP和NSE诊断SCLC的敏感度分别为72.05%和66.7%,提示其是目前SCLC较好的标志物^[25];NSE的优点是不受性别年龄的影响,但是红细胞含有NSE,故标本有溶血时可有假阳性表现。MMPs是近年在肺癌发病、转移及预后方面研究较多的标志物,常用放射免疫法检测。Toshihiko等^[26]研究发现在I~II期肺癌患者血清中检测水平明显高于肺部良性病变患者和健康志愿者,而且在腺癌和鳞癌之间存在显著性差异,提示MMPs可以作为一个早期的诊断标志物且具有分型价值。

4 分子生物学在肺癌早期诊断中的应用进展

目前的放射影像学和组织学无法对肿瘤生物学行为作出预测,50%~60%的I期肺癌患者完全切除术后仍会复发,已知肺癌是一种多基因疾病,其发生是多基因参与的病理过程。支气管黏膜上皮细胞演变为恶性肿瘤的过程中,产生了许多分子生物学的改变。运用分子生物学的方法检测肺癌早期基因及分子的改变,使得肺癌的分子早期诊断成可能。随着高通量分子生物学技术的迅猛发展和对肺癌生物学日益增加的了解,寻找和发现肺癌早期诊断的分子标记已有大量报道,为肺癌早期诊断及癌前高危人群筛查提供了新的有用的手段,也是目前研究的热点。

4.1、核内异质核糖蛋白A₂/B₁ (Heterogeneous nuclear ribonucleo-protein A₂/B₁, hnRNP A₂/B₁)过表达: hnRNP A₂/B₁是1988年发现的一种单抗,在肺肿瘤组织、支气管肺泡灌洗及痰细胞学中的检测已有较广泛研究,在血液中的检测近年倍受关注。hnRNP A₂/B₁系RNA结合蛋白质,负责mRNAs加帽、去尾、多聚腺苷化及胞浆内的转运。生物学资料证实^[27] hnRNP A₂/B₁上调发生于肺癌的早期,并广泛存在于潜在癌变组织中,具有早期诊断价值。Tockman等^[28]对I期NSCLC术后继发肺癌高危人群及云南锡矿肺癌高危人群痰标本行痰细胞学、hnRNP A₂/B₁过表达测定,同时行纤支镜、经皮肺穿确诊。结果hnRNP A₂/B₁上调准确预计80%(32/40)临床前肺癌,而对照组痰细胞学仅2.5%(1/40)提示肺癌,极大改善了临床前肺癌诊断的准确性及预测价值,具有良好的应用前景。Fleischhacker等^[29]应用逆转录扩增技术(RT-PCR)检测18例肺腺癌患者血清,其中有14例hnRNP A₂/B₁ mRNA阳性,提示其可作为潜在的肺腺癌筛检指标。

4.2 端粒酶

端粒(telomere)是真核生物线形染色体末端的一种特殊结构,对维持染色体的稳定和基因组的完整十分重要。端粒酶(telomerase)是一种特殊的逆转录酶,能以自身RNA为模板逆转录合成具有重复DNA序列(5'TTGGG23')的染色体末端的端粒DNA,以保持端粒的长度从而使体细胞得以无限分裂。端粒酶在恶性肿瘤中的检出率高达84%~95%,是目前公认的最广泛的肿瘤标志物。端粒酶调控失常多发生在肺癌发生的早期。Yashima等^[30]研究了40例患者的205例新鲜及存档标本,其中34例肺癌标本中32例端粒酶阳性(94%),28例增生性标本中20例端粒酶阳性(71%),5例上皮化生标本中4例端粒酶阳性(80%),11例发育异

常标本中9例端粒酶阳性(80%),11例原位癌标本中,端粒酶活性阳性率为100%,在肺癌纤维支气管镜检查中,刷检标本的端粒酶阳性率为91.3%,BALF为86.7%。大量的研究表明,端粒酶在肺癌组织、肺癌患者支气管刷落细胞和BALF中具有很高的阳性检出率,结合常规细胞学检查,将有助于提高肺癌细胞检出率。

Hiyama等^[31]用端粒重复扩增法(TRAP)测定了136例原发性肺癌的手术切除标本癌组织端粒酶活性,其阳性率80.1%(109/136),而正常邻近组织标本的端粒酶活性阳性率仅为4.4%(3/68)。小细胞肺癌端粒酶活性均为阳性(11/11),非小细胞肺癌的端粒酶活性呈高水平见于有肺癌转移破坏者。Arai等^[32]用TRAP法测定了肺癌病人支气管肺泡灌洗液的端粒酶活性,37例中29例(79%)阳性,而细胞学仅24例(67%)阳性。细胞学和端粒酶联合检测其阳性率高达89%,表明支气管肺泡灌洗液端粒酶测定尤其是结合细胞学检测有很好的应用价值。另外,端粒酶活性测定对判断肺癌恶性程度和病理分期也有一定的价值,albanell等^[33]的研究表明,端粒酶活性水平与非小细胞肺癌肿瘤TNM分期、淋巴结转移、病理分期、K-67免疫染色(肿瘤细胞增殖的指标)呈显著正相关,与病人的年龄呈负相关。

虽然端粒酶活性测定对于肺癌的诊断有良好的应用前景。但是有些问题仍需解决:所用的端粒酶活性测定方法费用偏高,操作过于繁复,设备要求也较高,不利于临床推广应用。开发更简便易行的端粒酶定量测定方法,便于区分不同程度上皮病理变化(化生、非典型增生和原位癌)和肺癌之间的界限;对各种不同的标本,尤其是便于获取的标本如痰液、胸水进行大系列的研究,将进一步提高端粒酶活性对肺癌的诊断价值。

4.3 DNA含量分析

肿瘤细胞含量异常及倍体异常是其基本生物学特征之一,它在肿瘤发生、发展、转移、治疗及预后均有重要意义。Schenk^[34]等采用FISH法检测肺癌患者纤支镜检活标本及恶性胸水标本的异倍体,发现肺癌组织及恶性胸水均出现倍体异常,而同时进行的纤支镜刷检及胸水细胞学检查未能发现异常,提示染色体倍体异常检测可避免炎症细胞及坏死物质干扰,从而提高良恶性细胞的鉴别。由于染色体倍体异常先于形态学改变,故可为临床提供癌前独特信息起早期诊断作用。随着流式细胞仪广泛应用,进行DNA含量测定越来越普及。最近开展的调控细胞周期进程分子如细胞周期蛋白(cyclin)、细胞周期蛋白依赖的蛋白激酶家族

(CDKs)以及CDKs抑制蛋白(CKIs)测定,开辟了肿瘤研究的新前景^[35]。对肺癌早期诊断、评价肿瘤恶性程度、甚至对肿瘤细胞进行详细分期 为化疗药物选用提供依据等,具有广泛应用价值。

4.4 ras基因

ras 基因家族是由H-ras、N-ras和K-ras三种基因组成,具有明显的同源性编码蛋白,为细胞内膜蛋白。与肺癌相关的主要是K-ras基因,肺癌ras基因突变的90%~100%均为K-ras突变。在肺癌中ras基因突变主要存在于NSCLC,在SCLC中很罕见。突变为G→T颠换,导致正常的甘氨酸(GGT)被半胱氨酸(GTT)替换K-ras的突变是肺腺癌发生中的重要遗传学改变^[36]。已证实K-ras突变在肺癌的前阶段参与非典型腺瘤样增生(atypical adenomatous hyperplasia, AAH)。Westra 等^[37]发现AAH和肺腺癌有一个相似的突变谱,突变都发生在第12密码子,主要的突变类型是G→T的转换。AAH已被认为是肺腺癌的癌前病变。

肺癌 K-ras基因突变与吸烟之间存在明显的相关性,研究表明近期吸烟和曾有吸烟史的肺腺癌患者 K-ras的点突变率分别为32%和30%,明显高于未吸烟者(7%),这提示K-ras基因突变是肺腺癌发生的早期事件。也有研究发现肺癌K-ras基因突变常发生在临床症状出现之前,突变可使细胞转化,同时也在肺癌形成的早期被观察到,因此该基因被认为在肺癌的早期形成和发展中具有重要的意义,可用于早期诊断^[38,39]。美国Johns Hopkins肺癌研究中心对常规细胞学检查阴性的肺癌患者的痰液脱落细胞 K-ras基因状态进行了检测,结果发现10例患者中8例有K-ras及p53突变,随访提示这8例后来均发生腺癌。采用痰脱落细胞中K-ras基因突变分析可比临床诊断肺癌提前1年,说明该检测方法可作为肺癌的临床前期或早期诊断的有效方法^[40]。检测患者痰液标本或BALF中的K-ras 突变可作为细胞学的一种重要辅助手段。

4.5 p53

p53基因是与人类恶性肿瘤相关性最高的肿瘤抑制基因,p53基因突变是肺癌中最常见的基因改变,在肺癌形成过程中起着关键的作用,p53 基因突变率在SCLC中为80%左右,在NSCLC中为60%,在肺癌中是一个频发事件^[41]和早期事件^[42,43]。在肺癌确诊前1~13个月从保存的患者痰标本中可检测出 p53 基因的突变;在高危患者的痰标本中也可检测出p53基因的突变,这些高危患者随诊3年后

被确诊为肺癌;在广泛不典型性增生患者的支气管上皮中发现了 p53基因的单个突变;在浸润性肺癌病例的癌旁支气管粘膜上皮细胞中检测到了p53基因的突变和 P53蛋白高表达^[44]。Brambilla 等^[45] 还发现 ,p53在癌前病变中异常表达的程度越深 ,发展为浸润性肿瘤的可能性就越大 ,而所有P53突变型蛋白表达阴性的癌前病变均未发展成浸润性肿瘤。此外 ,Nuorva 等报道在支气管不典型增生者中 P53蛋白表达和与其相关的鳞癌表现出明显的相关性 ,提示P53蛋白表达可能是鳞癌发生过程中的早期事件^[46]。应用 PCR 技术在绝大多数肺癌中均可检出突变的p53基因 ,说明p53有可能成为一种理想的早期检测肺癌的分子生物学指标。

4.6 p16

p16 基因是迄今为止人类发现的第一个最直接的抑制肿瘤发生的基因 ,与许多肿瘤的发生、发展密切相关。p16基因编码的P16蛋白是细胞周期依赖激酶 CDK 的抑制物 ,P16蛋白能特异性地与细胞周期D₂/CDK₄复合物结合 ,抑制 CDK₄活性 ,从而抑制细胞周期从G向S期进展 ,抑制细胞增殖。Marx的研究认为 ,p16基因既是细胞周期固有调节者 ,又是抑制细胞生长的关键成分 ,因此,p16基因在肺癌发生发展中的作用可能比任何其他基因都重要^[47]。有研究报道 p16在30%~50%的NSCLC中失活 ,在NSCLC细胞系中甚至高达70%,但在SCLC中却很少失活。在腺癌中 P16 蛋白阳性率高于鳞癌和SCLC,高分化和低分化腺癌之间 P16蛋白阳性率的差异也有显著性差异 ,说明p16 基因失活不仅与肺癌的发生有关 ,也与肺癌的分化不良有关^[48]。Belinsky等^[49]在致癌剂甲基亚硝胺吡啶基丁酮(NNK)诱发的大鼠肺腺癌模型及人肺鳞癌中观察到 ,p16 基因启动子从癌前病变到肿瘤均有频繁的高度甲基化 ,而肺鳞癌中 p16 基因甲基化频率随病程进展而升高 ,在基底细胞增生中为17% ,鳞状化生 24 % ,原位癌50%。在该研究中 43%的肺癌患者的痰脱落细胞有p16基因的异常甲基化,而19%的无痰高危人群中 也检测到同样的变化 ,这些研究结果提示p16 基因异常甲基化是肺癌发生的早期事件 ,p16基因的改变在肺癌的早期诊断中可作为一个新的生物标记。

4.7微卫星不稳定 (Microsatellite instability ,MSI)

通过肿瘤DNA与正常DNA比较发现,肿瘤标本中其DNA中微卫星标志等位基因丢失即杂合性缺失,也可以检测到新的等位基因的存在,表明基因组的微卫星不稳定性。微卫星不稳定的检出也表明样本中存在一克隆性细胞群,它们具

有作为肿瘤细胞学特征的异常遗传学改变。在NSCLC患者中,染色体 3P、5Q、9P 及17P 杂合性缺失非常常见。3P、17P 及 13q14 的缺失亦出现在大多数 SCLC中。1996年Chen等^[50]第一次检测21例SCLC患者的血浆DNA改变,发现原发灶存在MSI的患者中,93% (15/16) 的相应血浆中存在MSI。随后Sanchez等^[51]研究了NSCLC患者血浆DNA3p位点的微卫星改变,阳性率为28% (6/22)。其他一些研究也得到了类似的结果^[52]。从而表明用特异性的微卫星来检测血浆中的DNA,会成为一种有前景的肺癌早期诊断方法。

随着分子生物学的迅速发展,分子技术已广泛用于患者痰液、支气管毛刷BALF、组织活检、外周血和骨髓等标本的检测。当然尽管分子生物学检测技术对肺癌的早期诊断和筛查已显现出好的应用前景,但还没有一种切实有效的方法能准确无误地作出临床前诊断和筛查。任何肿瘤的筛查和早期诊断都不是靠完全单一的方法就能完成,因此,多项指标联合检测及多种检测方法并用,才能提高肺癌筛查和早期诊断的水平。

当前,若干关于肺癌筛查的研究正在全球多个地区进行,包括在美国和欧洲进行的随机试验^[53,54],以及国际早期肺癌行动计划(International Early LungCancer Action Project)^[55]。2003年11月8日在意大利的科摩(Como)召开了肺癌早期筛查的科摩国际会议。科摩会议(Como Conference)关于“肺癌筛查早期诊断”提出如下建议:①强烈敦促正在吸烟者戒烟,并提供戒烟帮助;②告知曾经吸烟者,戒烟后仍有患肺癌的风险;③尽可能鼓励高危个体参加临床试验或参加受协议约束的观察性研究;④对肺癌高危者告知其肺癌出现症状时已属晚期且无法治愈;⑤对早期肺癌施行根治性切除才有可能获得较好的转归;⑥目前能用于早期肺癌检测的方法为胸部X线检查和CT扫描;⑦新的影像学技术是薄层CT及计算机辅助的CXR;⑧CT扫描比CXR为优,但CT检测出的非钙化性小结节不能定性,尚需观察3~6个月后复检或进行活检;⑨对现有相关知识进行探讨后,应使高危个体意识到进行肺癌早期筛选是明智的选择。

总之,早期确诊肺癌是降低肺癌死亡率的关键,单纯应用一种方法不能达到早期诊断肺癌的目的,需要细胞学、内镜学、影像学、分子生物学等的协同合作,我们相信,随着这些学科的发展、技术的完善,肺癌在早期得到诊断,继而使患者得到早期治疗的时代必将到来。

参考文献

- 1 董志伟, 乔友林, 李连弟, 等. 中国癌症控制策略研究报告[J]. 中国医学科学院学报, 2002, (03) :334.
- 2 Fry WA, Menck HR, Winchester DP. The National Cancer Data Base report on lung cancer. *Cancer*. 1996 May 1;77(9):1947-55.
- 3 Mountain CF. Revision in the international system for staging lung cancer. *Chest Surg Clin N Am*, 1997,111 (6) :1710 - 1717.
- 4 Mountain CF. The evolution of the surgical treatment of lung cancer.*Chest SurgClinN Am*, 2000,10 (1) :83 - 104.
- 5 Radzikowska E, Glaz P, Roszkowski K. Lung cancer in women: age,smoking, histology, performance status, stage, initial treatment and survival. Population - based study of 20561 cases. *Ann Oncol*,2002,13 (7) :1087.
- 6 Sone S,Takashima S,Li F,et al. Mass screening for lung cancer with mobile spiral computed tomography scanner. *The Lancet* ,1998 ,351(9111) :1242~1245.
- 7 Henscke CI,Mccauley DI, Yankelevitz DF,et al. Early lung cancer action project :overall design and findings from baseline screening.*Lancet* ,1999,354:99~105.
- 8 Thomas Bauer. Lung cancer screening. *Hematol Oncol Clin N Am*,2005 , 19(2) :209~217.
- 9 Diederich S,Semik M ,Lentschig MG,et al. Helical CT of pulmonary nodules in patients with extrathoracic malignancy:CT - surgical correlation. *Am J Roentgenol* ,1999 ,172(2) :353~360.
- 10 Rubinstein R, BreuerR, Chisin R. Contribution of PET using FDG in the diagnosis of lung cancer2first results. *Harefuah*, 2001, 140(2) : 10- 103.
- 11 Dunagan D ,Chin RJr ,McCain T,et al. Staging by positron emission tomography predicts survival in prtients with non-small cell lung cancer. *Chest* ,2001 ,119(2) :333~339.
- 12 LeeJ ,AronchickJM ,Alavi A. Accuracyof F- 18 fluoro-deoxyglucose positron emission tomography for the evaluation of malignancy in patients presenting with

- new lung abnormalities: a retro - spective review. *Chest* ,2001 ,120(6) :1791~1797.
- 13 Sugair AA,Coleman RE.Applications of PET in lung cancer.*Semin Nucl Med*,1998,28(4):303-309.
- 14 Coleman RE. PET in lung cancer .*J Nucl Med* ,1999 ,40(5) :814~820.
- 15 李强.呼吸内镜学 [M] .上海: 上海科学技术出版社,2004:126 127.
- 16 刘邦荣, 朱纯儒.经纤维支气管镜针吸细胞学检查在肺癌分期及分型中的应用 [J] . *中国基层医药*,2006,13(3): 364 365.
- 17 Kennedy TC,Miller Y,Prindiville S. Screening for lung cancer revisited and the role of sputum cytology and fluorescence bronchoscopy in a high - risk group. *Chest* , 2000 ,117:72s~79s.
- 18 Lam S,Kennedy T,Unger M ,et al.Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy.*Chest* ,1998 ,113(5) :696~702.
- 19 Banerjee AK, Rabbitts PH, George J. Fluorescence bronchoscopy:clinical dilemmas and research opportunities. *Thorax*,2003,58: 266 -271.
- 20 Lam S,Palcic B. Re:Autofluorescence bronchoscopy in the detection of squamous metaplasia and dysplasia in current and former smokers. *J Natl Cancer Inst* ,1999 , 91:561~563.
- 21 Barradas PA , Cristorao MM , Costa AM , et al . Comparison of three serum(cyfra21-1 , NSE and CEA) in lung cancer :diagnosis efficacy prognostic importance value in chemotherapy monitoring and in early prediction of relapse. *Chest* ,1998 ,114 :250-255.
- 22 Plavec G,NinkovicM, Kozlovacki G, etal. Tumor maker sinp leural effusion sinbronchogenic carcinoma and tuberculosis. *Vojnosanit Pregl*,2002, 59 (1) : 23.
- 23 陈香丽,陈小燕. 血清肿瘤标记物在肺癌诊断中的意义. *临床肺科杂志*, 2004, 9 (6) : 590 - 592.
- 24 Pinson P, Joos G, Watrion P, et al . Serum neuron-specific enolase as a tumor marker in the diagnosis and follow-up of small-cell lung cancer. *Respiration*. 1997;64(1):102-7.
- 25 Schneider J , Philipp M , Velcovsky HG, et al . Pro-gast rin-releasing peptide (Pro-GRP) neuron specific endolase (NSE) ,carcinoembryonic antigen (CEA) and

cytokeratin19-f ragments(cyfra21-1) patient s wit h lung cancer in comparison to ot her lung diseases. *Anticancer Res* ,2003 ,4 :885-894.

26 Toshihiko I , Takerhik F , MakotoS , et al . Elevated levels of circulating plasma MMPs-9 in non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* ,1999 ,5 :149-152.

27 李润生,操乐杰. 核内不均一核蛋白A₂/B₁在肺癌诊断上的进展. *国外医学内科学分册*, 2005, 32 (90) : 401 - 404.

28 Tockman MS,Mulshine JL, Piantadosi S, et al. Prospective detection of preclinical lung cancer: results from two studies of heterogenous nuclear ribonucleoprotein A₂/B₁ overexpression. *Clin Cancer Res*, 1997,3: 2237 - 2246.

29 Fleischhacker M , Beinert T , Eritsch M , et al . Detection of amplifiable messenger RNA in serum of patients with lung cancer . *Ann N Y Acad Sci* ,2001 ,9 :178-188.

30 Yashima K, Litzky LA , Kaiser L , et al.Telomerase expression in respiratory epithelium during the multistage pathogenesis of lung carcinomas. *Cancer Res*, 1997 , 57(12) : 2373-2377.

31 Hiyama K,Hiyama e,Ishioka S et al. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst*,1995;87:895-902

32 Arai T,Yasuda y,Takaya T et al. Application of telomerase activity for screening of primary lung cancer in broncho-alveolar lavage fluid. *Oncol Rep*,1998;5:405-408

33 Albanell J,Lonardo f,Rusch V et al. High telomerase activity in primary lung cancers: association with increased cell proliferation rates and advanced pathologic stage. *J Natl Cancer Inst*,1997;89:1609-1615

34 Schenk T ,Ackermann J, Brunner C, et al. Detection of chromosomal aneuploidy by interphase fluorescence in situ hybridization in bronchoscopically gained cells from lung cancer patients. *Chest* 1997,111(6): 1691~1696.

35 Peter M ,Herskowitz I .Joining the complex cyclin dependent kinase inhibitory proteins and the cell cycle. *Cell* 1994, 79: 181~184.

36 Kovalchuk O , Naumnik W, Serwicka A , et al. K-ras codon 12 mutations may be detected in serum of patients suffering from adeno- and large cell lung carcinoma. *A*

- preliminary report. *Folia Histochem Cytobiol* , 2001 , 39 Suppl 2 : 70-72.
- 37 Westra WH, Baas IO , Hruban RH, et al. K-ras oncogene activation in atypical alveolar hyperplasias of the human lung. *Cancer Res*, 1996 , 56 (9) : 2224-2228.
- 38 Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *J Clin Oncol* , 1998 , 16 (3) : 1207-1217.
- 39 周清华, 孙燕主编. 肺癌新理论新技术进展. 成都: 四川大学出版社, 2003. 20-37.
- 40 Tockman MS. Clinical detection of lung cancer progression markers. *J Cell Biochem Suppl* , 1996 , 25 : 177-184.
- 41 Tseng JE, Rodriguez M , RoJ , et al. Gender differences in p53 mutational status in small cell lung cancer. *Cancer Res*, 1999 , 59 (22) : 5666-5670.
- 42 Chen JT, Ho WL , Cheng YW, et al. Detection of p53 mutations in sputum smears precedes diagnosis of non-small cell lung carcinoma. *Anticancer Res* , 2000 , 20 (4) : 2687-2690.
- 43 Gonzalez R, Silva JM , Sanchez A , et al. Microsatellite alterations and TP53 mutations in plasma DNA of small-cell lung cancer patients: follow-up study and prognostic significance. *Ann Oncol* , 2000 , 11 (9) : 1097-1104.
- 44 Chung GT, Sundaresan V , Hasleton P, et al. Clonal evolution of lung tumors. *Cancer Res*, 1996 , 56 (7) : 1609-1614.
- 45 Brambilla E, Gazzeri S, Lantuejoul S, et al. p53 mutant immunophenotype and deregulation of p53 transcription pathway (Bcl2 , Bax, and Waf1) in precursor bronchial lesions of lung cancer. *Clin Cancer Res*, 1998 , 4 (7) : 1609-1618.
- 46 Nuorva K, Soini Y, Kamel D , et al. Concurrent p53 expression in bronchial dysplasias and squamous cell lung carcinomas. *Am J Pathol* , 1993 , 142(3) : 725-732.
- 47 Marx J. New tumor suppressor may rival p53. *Science*, 1994, 246(5157):344-245.
- 48 王洁, 王曾礼, 高洁. 癌基因蛋白在肺癌中的表达及其临床意义. *中华结核和呼吸杂志*, 1997 , 20(5) : 317-321
- 49 Belinsky SA , Nikula KJ , Palmisano WA , et al. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 1998 , 95(20) : 11891-11896.

- 50 Chen X, Stroun M, Magnenat JL, et al. Microsatellite alteration in plasma DNA of small cell lung cancer patients. *Nat Med*, 1996, 2(9):1033-1035.
- 51 Sanchez-Cespedes M, Monzo M, Rosell R, et al. Detection of chromosome 3p alteration in serum DNA of non-small cell lung cancer patients. *Ann Oncol*. 1998, 9(1):113-116.
- 52 Bruhn N, Beinert T, Oehl C, et al. Deduction of microsatellite alterations in the DNA isolated from in cells and from plasma DNA of patients with lung cancer. *Am N Y Acad Sci*, 2000, 906:72-82.
- 53 Ford LG, Minasian LM, McCaskill-Stevens W, et al. Prevention and early detection clinical trials: opportunities for primary care providers and their patients. *CA Cancer J Clin* 2003; 53:82-101.
- 54 Hirsch FR, Bunn PA Jr, Dmitrovsky E, et al. IV international conference on prevention and early detection of lung cancer, Reykjavik, Iceland, August 9-12, 2001. *Lung Cancer* 2002; 37:325-344.
- 55 Henschke CI, Yankelevitz DF, Smith JP, et al. Screening for lung cancer: the early lung cancer action approach. *Lung Cancer* 2002; 35:143-148.

致 谢

首先，我要感谢我尊敬的导师姜淑娟教授，作为国内知名专家学者，她渊博的学识、敏锐的科研思路、严谨的治学态度、高尚的人格和宽阔的胸怀，让我获益匪浅，永志难忘，是我终身学习的楷模。本课题是在姜老师的严格要求和悉心指导下完成的，从课题的设计、实施、总结到论文的定稿都倾注了导师大量的心血。在日常生活中，姜老师也给予我无微不至的关怀。在此，我谨向导师表示最由衷、最真诚的感谢！在今后的工作中我将更加努力，不断进步！

其次，我要感谢山东省立医院呼吸科辛洪涛教授、雷茂禄教授、李怀臣教授、林殿杰教授、王茂芬副教授、张才擎副教授、牟晓燕副教授、朱玲副教授、张嵩老师、张敏老师、苏莉莉老师、刘庆华老师、刘毅老师在学术方面给予我的良好熏陶，感谢各位老师临床实习期间对我的关怀和指导！正是各位老师的谆谆教导，我的临床工作能力才大为提高！

我要感谢师姐王艳、杨艳娜、师哥王星光在平时学习和生活中的关心和照顾！

我要感谢我的同学叶茜、高顺翠、李涓、王莎莎及我的师弟师妹们对我的支持和帮助！

我要感谢我的父母及亲友多年来对我的一贯支持和默默奉献！

我要感谢成长及求学生涯中帮助和培养过我的所有师长、朋友！

借此机会，我也向答辩委员会的所有专家表示崇高的敬意和真挚感谢！

攻读硕士学位期间发表论文

经支气管镜针吸活检在纵隔疾病诊断中的价值 《山东大学学报》

2008年11期 第二作者

白细胞介素17抗体对哮喘小鼠中性粒细胞的影响 《山东大学学报》医学版

2009, 47(03) 第四作者