

## · 临床研究 ·

# 非小细胞肺癌患者血清中ADAM8和CEA的表达及意义

黄金桔 陈飞鹏 郭勇坚 阳隽

**【摘要】**背景与目的 肺癌是目前世界上最常见的恶性肿瘤，死亡率在各类肿瘤中居首位，本文拟研究ADAM8和CEA在非小细胞肺癌患者血清中的表达规律，探讨ADAM8和CEA对非小细胞肺癌的诊断价值。方法 应用酶联免疫吸附试验方法检测62例非小细胞肺癌患者、27例良性肺病患者和32例健康体检者血清中的ADAM8蛋白表达水平，同时用放射免疫分析法检测以上所有研究对象血清中CEA的蛋白表达水平。结果 血清ADAM8、CEA水平在NSCLC组均高于良性肺病组和正常对照组，差异有统计学意义 ( $P<0.01$ )，良性肺病组中这两种标志物表达水平比正常对照组略高，但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )；ADAM8在腺癌患者中表达水平与鳞癌相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )，而CEA在腺癌患者中表达水平比鳞癌高，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )；Ⅲ-Ⅳ期NSCLC患者血清中ADAM8和CEA的表达水平均高于Ⅰ-Ⅱ期患者，差异均有统计学意义 ( $P<0.01$ )；伴有淋巴结转移NSCLC患者血清中ADAM8和CEA的表达水平均高于不伴有淋巴结转移者，差异均具有统计学意义 ( $P<0.01$ )；单项检测ADAM8、CEA对NSCLC的敏感性分别为77.4%、71.0%，特异性分别为90.6%、84.4%，联合检测敏感性提高到91.9%，但特异性下降到75.0%。结论 ADAM8在非小细胞肺癌患者血清中的过度表达表明其与肺癌的发展有着密切的关系，联合检测ADAM8和CEA对非小细胞肺癌的诊断有一定的辅助价值。

**【关键词】** 解整合素-金属蛋白酶8 癌胚抗原 肺肿瘤 酶联免疫吸附试验 放射免疫分析法

**【中图分类号】** R734.2 DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2008.06.18

## Expression and clinical significance of ADAM8 and CEA in serum of patients with non-small cell lung cancer

HUANG Jinju, CHEN Feipeng, WU Yongjian, YANG Jun

Department of Respiratory, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510260, China

Corresponding author: WU Yongjian, E-mail: Drwuyongjian@126.com

**【Abstract】** **Background and objective** Lung cancer is one of the most common cancers in the world, whose mortality is at the first place in all malignant tumors. This study is to investigate the diagnostic value of ADAM8 and CEA in serum of non-small cell lung cancer patients. **Methods** The serum levels of ADAM8 were assayed by ELISA in 62 NSCLC patients, 27 benign palmonary lesions and 32 healthy subjects as control. The serum level of CEA were assayed by radioimmunoassay. **Results** The serum level of ADAM8 and CEA in group of NSCLC were both remarkably higher than those in lung benign lesions and normal controls ( $P<0.01$ ), without significant difference between benign palmonary lesions and normal controls ( $P>0.05$ ). There was no significant difference between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in serum ADAM8 level ( $P>0.05$ ). The serum level of CEA in adenocarcinoma were significantly higher than that in squamous cell carcinoma ( $P<0.05$ ). The serum level of ADAM8 and CEA in NSCLC with stages Ⅲ-Ⅳ were both remarkably higher than those with stages Ⅰ-Ⅱ ( $P<0.01$ ). The level of ADAM8 and CEA in NSCLC with lymph node metastasis positive were both higher than those of negative ( $P<0.01$ ). The diagnostic sensitivity of ADAM8 and CEA for NSCLC was 77.4% and 71.0% respectively, and the specificity was 90.6% and 84.4% respectively. The combined detection of ADAM8 and CEA could improve the sensitivity to 91.9%, but the specificity decreased to 75.0%. **Conclusion** The overexpression of ADAM8 in serum of NSCLC patients indicates that ADAM8 is related to the development of NSCLC; Combined detection of ADAM8 and CEA is helpful for the diagnosis of NSCLC.

**【Key words】** Human ADAM8 protein Human carcinoembryonic antigen Lung neoplasms Enzyme-linked immunosorbent assay Immunoradiometric assay

This study was supported by a grant from Natural Science Foundation of Guangdong Province (to WU Yongjian) (No.5002538).

本研究受广东省自然科学基金 (No.5002538) 资助

作者单位: 510260 广州, 广州医学院第二附属医院呼吸科 (通讯作者: 郭勇坚, E-mail: Drwuyongjian@126.com)

肺癌是目前世界上最常见的恶性肿瘤，其发病率有逐年上升的趋势，死亡率在各类肿瘤中居首位。非小细胞肺癌(NSCLC)占肺癌的85%以上，而非小细胞肺癌中85%以上确诊时已属中晚期而失去根治性手术治疗的机会。若能早期诊断、及时治疗可提高生存率。解整合素-金属蛋白酶(a disintegrin and metalloproteases, ADAMs)是近年来发现的一类与细胞膜结合糖蛋白家族，参与细胞-细胞的黏连、细胞-基质的黏连、细胞融合、细胞外基质的降解及信号传导等过程，科学家推测其参与了人类肿瘤形成和转移的病理过程<sup>[1]</sup>。ADAM8是新近发现的肿瘤标志物，文献报道其在脑部肿瘤、胰腺癌、肾癌等肿瘤存在表达，但ADAM8在NSCLC患者血清中的表达情况以及其临床意义国内外很少有研究报道，因此本文拟研究ADAM8和CEA在NSCLC患者血清中的表达规律，探讨ADAM8和CEA在NSCLC临床诊断中的价值。

### 1 材料与方 法

1.1 研究对象 研究对象分为正常对照组、良性肺病组和NSCLC组共三大组。正常对照组32例，男性18例，女性14例，年龄范围30岁-68岁，平均年龄(52.0±12.1)岁，为来自广州医学院第二附属医院健康体检者，均排除肺、心、肝、肾等疾病；良性肺病组27例，男性15例，女性12例，年龄范围35岁-76岁，平均年龄(58.0±11.1)岁，其中肺炎10例、慢性阻塞性肺疾病9例、肺结核4例、支气管扩张3例、特发性肺纤维化1例；NSCLC组62例，其中男性39例，女性23例，年龄范围36岁-84岁，平均年龄(64.0±10.1)岁。良性肺病及肺癌病例均来自广州医学院第二附属医院住院患者。在NSCLC组中，腺癌36例，鳞癌26例。根据2003年UICC肺癌TNM分期标准进行分期，伴有淋巴结转移者43例，不伴有淋巴结转移者19例，其中I-II期23例，III期16例，IV期23例。以上病例均经临床及病理检查证实，病理及细胞学诊断通过纤维支气管镜活检、外科手术切除活检及经皮肺穿刺活检而证实。

1.2 主要试剂及研究方法 ADAM8试剂盒购自美国R&D公司，CEA试剂盒购自USCN LIFE公司。用无抗凝管抽取研究对象空腹静脉血3 mL，常温下自凝后再用离心机离心15 min(1 000 rpm)后分离血清，分装后置于-70℃冰箱集中待检。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法检测血清ADAM8水平、放射免疫分析法(RIA)检测血清CEA水平，具体步骤按照试剂盒说明书进行。

1.3 结果判断及统计学处理 根据ROC(Receiver Operating Characteristic, 受试者工作特征)曲线判定界值。结果统计

采用统计软件SPSS13.0处理，数据以均数±标准差(Mean±SD)表示，两组间比较采用Mann-whitney U检验，以P<0.05为差异具有统计学意义。

### 2 结 果

2.1 血清中ADAM8及CEA的表达水平与临床病理特征的关系 由表1可见，NSCLC组中这两种标记物血清水平均高于良性肺病组和正常对照组，且差异有统计学意义(P<0.01)。良性肺病组中这两种标记物血清水平比正常对照组略高，但差异无统计学意义(P>0.05)。腺癌组和鳞癌组的ADAM8血清水平差异无统计学意义(P>0.05)，而腺癌组的CEA血清水平明显高于鳞癌组，且差异有统计学意义(P<0.05)。将NSCLC患者按其临床分期分为I-II期和III-IV期两组，然后比较两组间ADAM8和CEA表达水平。由表1可见，这两种标记物III-IV期的表达水平均明显高于I-II期，且差异均有统计学意义(P<0.01)。伴有淋巴结转移患者血清中这两种标记物的表达水平均高于不伴有淋巴结转移者，经比较差异均有统计学意义(P<0.01)。

2.2 血清ADAM8、CEA单项检测及联合检测对NSCLC的诊断价值 以1-特异性为横坐标，敏感性为纵坐标，应用SPSS13.0软件绘制出ADAM8和CEA的ROC曲线(图1)，曲线下面积ADAM8为0.911，CEA为0.895。选择335.0 pg/mL和5.0 ng/mL分别作为ADAM8和CEA的诊断界值时，Youden指数最大，ADAM8单项检测对NSCLC诊断的敏感性、特异性及准确性分别为77.4%、90.6%、81.9%，CEA分别为71.0%、84.4%、74.5%。联合检测ADAM8和CEA可以把敏感性及准确性提高到91.9%和86.2%，但特异性下降到75.0%。

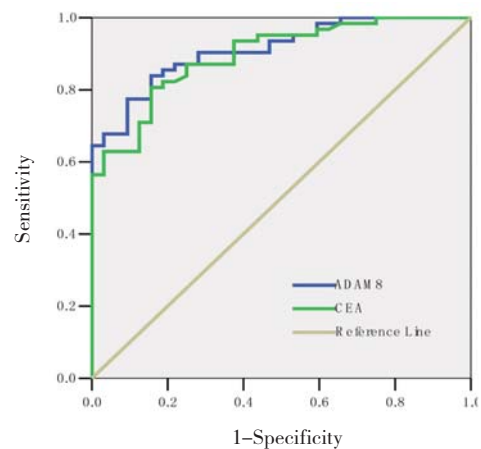


图1 ADAM8和CEA的ROC曲线图

Fig 1 The ROC curve of ADAM8 and CEA

表1 血清中ADAM8及CEA的表达水平与临床病理特征的关系

Tab 1 Relationship between the level of ADAM8 and CEA in serum and clinicopathologic characteristics

Item	n	ADAM8 (pg/mL)	CEA (ng/mL)
Group			
NSCLC	62	456.88 ± 143.87 <sup>ab</sup>	18.69 ± 8.99 <sup>ab</sup>
Lung benign lesion	27	271.63 ± 74.20 <sup>c</sup>	3.70 ± 1.37 <sup>c</sup>
Normal control	32	253.09 ± 72.15	3.15 ± 1.69
Pathologic types			
Adenocarcinoma	36	462.54 ± 161.38 <sup>d</sup>	20.93 ± 10.57 <sup>e</sup>
Squamous cell carcinoma	26	449.04 ± 118.03	8.31 ± 4.50
Clinical stages			
I-II	23	385.80 ± 95.85 <sup>f</sup>	7.28 ± 3.69 <sup>f</sup>
III-IV	39	498.80 ± 151.80	21.11 ± 10.16
Lymph node metastasis			
Negative (N0)	19	371.23 ± 98.76 <sup>g</sup>	6.97 ± 4.27 <sup>g</sup>
Positive (N1-N3)	43	516.59 ± 162.21	26.61 ± 12.48

<sup>a</sup>: Compared with lung benign lesion group,  $P < 0.01$ ; <sup>b</sup>: Compared with normal control group,  $P < 0.01$ ; <sup>c</sup>: Compared with normal control group,  $P > 0.05$ ;

<sup>d</sup>: Compared with squamous cell carcinoma,  $P > 0.05$ ; <sup>e</sup>: Compared with squamous cell carcinoma,  $P < 0.05$ ; <sup>f</sup>: Compared with stages III-IV,  $P < 0.01$ ;

<sup>g</sup>: Compared with lymph node metastasis positive group,  $P < 0.01$

### 3 讨论

血清肿瘤标志物 (tumor marker, TM) 在肺癌的诊断中具有重要的辅助价值, 目前临床上较常用于NSCLC诊断的TM有CEA、CYFRA21-1和CA125等, 但其敏感性和特异性均较低, 探索新的TM已成为目前研究的热点。

解整合素-金属蛋白酶 (ADAMs) 是近年来发现的一类I型跨膜分泌型糖蛋白家族, 迄今文献报道已有30多种。ADAM基因编码的蛋白质通常由800-1 200个氨基酸组成, 包含有8个结构域, 自N-端至C-端依次为: 信号域、前导域、类金属蛋白酶功能域、解整合素样功能域、富含半胱氨酸功能域、类表皮生长因子功能域、跨膜域和胞质尾域。它们在调节细胞外基质 (ECM) 的重塑和细胞迁移作用中起着重要的作用<sup>[2]</sup>。

ADAM8是ADAMs家族其中一员, 由824个氨基酸组成, 它在胞浆和胞膜表达, 可在血清中进行检测。我们用ELISA方法检测ADAM8在血清中的蛋白表达水平, 结果显示NSCLC组显著高于正常对照组和良性肺病组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 而正常对照组和良性肺病组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。同时血清中ADAM8蛋白表达水平在鳞癌和腺癌这两种病理类型差异不大, 经比较没有统计学意义 ( $P > 0.05$ )。我们的研究结果与Ishikawa的报道相似, Ishikawa等<sup>[3]</sup>通过组织芯片检测发现ADAM8在肺癌中存在表达, 免疫组化结果显示III B/IV期肺癌较I-III A期表达明显增高; ELISA检测显示, 肺癌组血清中ADAM8蛋白的水平明显高于健康对照组, 而鳞癌和腺癌两者之间表

达水平差异无统计学意义。Rocks等<sup>[4]</sup>用半定量RT-PCR发现肺癌组织中ADAM8的mRNA水平在鳞癌和腺癌的表达没有差异。这些研究提示ADAM8的过度表达与肺癌的发展有关, 检测ADAM8可作为NSCLC的辅助诊断方法之一, 但要注意ADAM8在鉴别鳞癌和腺癌方面可能意义不大。

恶性肿瘤的侵袭转移是一个复杂的多步骤过程, 癌细胞从原发灶脱落后, 必须突破ECM和基膜组成的结构屏障, 才能向周围组织侵袭或进入血循环及淋巴系统而进一步向远处转移。我们发现随着病情的进展, ADAM8表达水平与肺癌的TNM分期及侵袭转移存在明显的相关性。III-IV期NSCLC患者血清ADAM8蛋白表达水平明显高于I-II期, 伴有淋巴结转移者表达水平明显高于不伴有淋巴结转移者, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。这提示ADAM8过度表达参与了肺癌的侵袭转移。我们的研究结果与国内外报道相符, 吴国成等<sup>[5]</sup>用组织芯片通过免疫组化方法分析结果显示ADAM8的表达与淋巴结转移和TNM分期存在相关性, 分期越高, 淋巴结转移越明显, 其表达越强, 提示ADAM8与肿瘤的进展及转移存在一定相关性。Wildeboer等<sup>[6]</sup>应用RT-PCR分析发现ADAM8在原发性脑肿瘤的mRNA表达明显增高, ADAM8的蛋白主要定位在肿瘤细胞和血管内皮细胞, 在脑肿瘤组织, ADAM8经过前结构域移去的活性蛋白酶形成的活化过程, 使用ADAM8特异性的底物, 证实了活化蛋白酶加强了高表达的肿瘤细胞中蛋白水解酶的活性, ADAM8表达水平和蛋白水解酶的活性与恶性胶质瘤细胞侵入活性的相关性, 也提示ADAM8在肿瘤转移上发挥重要作用, 且与预后有关。Roemer等<sup>[7]</sup>用实

时半定量RT-PCR分析发现ADAM8在肾癌中表达增高,且与病理分期有关,分期越晚表达水平越高,高表达ADAM8的患者预后较差,是肾癌远处转移的一个影响因素。Valkovskaya等<sup>[8]</sup>通过定量RT-PCR发现,相对于正常胰腺组织,胰腺导管腺癌中ADAM8 mRNA表达明显增高,且高水平mRNA和高蛋白表达与存活时间呈负相关。沉默ADAM8基因表达虽然不能影响胰腺癌细胞生长,但能抑制它的侵袭性,且细胞培养液上清的肿瘤细胞蛋白水解酶活性明显下降。Ohtsuka等<sup>[9]</sup>用半定量RT-PCR测定显示ADAM28的表达水平在肺癌组织中高于非癌组织,有淋巴结转移者高于无淋巴结转移,差异有统计学意义,说明ADAM28可能在肺癌的细胞增殖和肿瘤进展上发挥重要作用。Yasushi等<sup>[10]</sup>发现ADAM9 mRNA在伴有脑转移的非小细胞肺癌亚系A549中过度表达,把A549细胞通过静脉注入小鼠导致了脑部的微转移灶和肺部的多发转移灶,这结果表明ADAM9的过度表达可以调节整合素在细胞表面分布及其他粘附分子,改变细胞对生长因子的敏感性,从而增强了非小细胞肺癌的细胞粘附和侵袭,因而促进了肿瘤从肺组织向脑的转移能力。综上所述,我们认为ADAM8主要是通过其蛋白酶成分降解细胞外基质(ECM)中的各种蛋白成分,使癌细胞从肿瘤原发灶中游离出来,并通过其整合素成分介导癌细胞与正常细胞的反应,参与细胞信号传递、细胞粘附及迁移、细胞增殖及调节,进而促进癌细胞的邻近及远处的转移;ADAM8可反映肿瘤的负荷和疾病进展情况,表达水平越高提示分期越晚。

已有研究表明,CEA在肺腺癌中的阳性率及特异性较高,而在其他组织学类型阳性率及特异性均较低,且CEA与肺癌分期及淋巴结转移有关,随着分期的增加血清CEA水平升高。我们研究显示CEA在NSCLC组的表达水平明显高于正常对照组和良性肺病组,而正常对照组和良性肺病组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。在腺癌患者血清中CEA水平明显比鳞癌高,Ⅲ-Ⅳ期CEA表达水平高于Ⅰ-Ⅱ期,伴有淋巴结转移者CEA的表达水平高于不伴有淋巴结转移者,差异均有统计学意义( $P<0.01$ ),这些结果与许多文献报道是相一致的<sup>[11,12]</sup>。

本研究两个TM的ROC曲线显示,选择335.0 pg/mL和5.0 ng/mL分别作为ADAM8和CEA的诊断界值时,ADAM8对NSCLC诊断的敏感性、特异性及准确性分别为77.4%、90.6%、81.9%,均高于CEA,且曲线下面积ADAM8为0.911,略高于CEA的0.895,说明ADAM8对NSCLC的诊断价值稍优于CEA。联合检测ADAM8和CEA,结果显示敏感性及准确性提高到91.9%和86.2%,但特异性下降到75.0%。虽然特异性有所下降,但鉴于TM在临床上应用的意义在于对高危患者的筛查,联合检测依然是可取的。

本研究只是对血清中ADAM8和CEA表达与非小细胞肺癌的临床意义进行初步探讨,且样本量较小,没有在分子机制方面进行深入研究,若将ADAM8应用于临床肺癌的辅助诊断,还有待以后大规模样本作进一步验证。

#### 参考文献

- Mochizuki S, Okada Y. ADAMs in cancer cell proliferation and progression. *Cancer Sci*, 2007, 98(5): 621-628.
- Seals DF, Courtneidge SA. The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions. *Genes Dev*, 2003, 17(1): 7-30.
- Ishikawa N, Yataro D, Yasui W, et al. ADAM8 as a novel serological and histochemical marker for lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8363-8370.
- Rocks N, Paulissen G, Quesada Calvo F, et al. Expression of a disintegrin and metalloprotease (ADAM and ADAMTS) enzymes in human non-small-cell lung carcinomas (NSCLC). *British J Cancer*, 2006, 94(5): 724-730.
- Wu GC, Hu HC, Shi MH. Expression and clinical significance of a disintegrin and metalloprotease 8 (ADAM8) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in non-small cell lung cancer. *Ai zheng*, 2008, 27(8): 874-878. [吴国成, 胡华成, 施敏骅. ADAM8、EGFR在非小细胞肺癌中的表达及其相关性. *癌症*, 2008, 27(8): 874-878.]
- Wildeboer D, Naus S, Amy Sang QX, et al. Metalloproteinase disintegrins ADAM8 and ADAM19 are highly regulated in human primary brain tumors and their expression levels and activities are associated with invasiveness. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 65(5): 516-527.
- Roemer A, Schwettmann L, Jung M, et al. Increased mRNA expression of ADAMs in renal cell carcinoma and their association with clinical outcome. *Oncol Rep*, 2004, 11(2): 529-536.
- Valkovskaya N, Kaye H, Felix K, et al. ADAM8 expression is associated with increased invasiveness and reduced patient survival in pancreatic cancer. *J Cell Mol Med*, 2007, 11(5): 1162-1174.
- Ohtsuka T, Shiomi T, Shimoda M, et al. ADAM28 is overexpressed in human non-small cell lung carcinomas and correlates with cell proliferation and lymph node metastasis. *Int J Cancer*, 2006, 118(2): 263-273.
- Shintani Y, Higashiyama S, Ohta M, et al. Overexpression of ADAM9 in non-small cell lung cancer correlates with brain metastasis. *Cancer Res*, 2004, 64(12): 4190-4196.
- Hirovuki O, Kazuhiro S, Haruhiko I, et al. Preoperative serum CEA level is predictive for patient outcome in case of non-small cell lung cancer, especially squamous cell carcinoma. *Yokohama Med*, 2005, 56(5/6): 541-546.
- Molina R, Filella X, Augé JM, et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21.1, SCC and NSE) in non small cell lung cancer (NSCLC) patients as an aid in histological diagnosis and prognosis: Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol*, 2003, 24(4): 209-218.

(收稿: 2008-11-05 修回: 2008-11-25)

(本文编辑 南娟)