肺内磨玻璃影的分子生物学研究进展

乔文亮 综述 林强 审校

上海交通大学附属第一人民医院胸外科，上海 200025

［摘要］ 近年来，低剂量CT广泛应用于早期肺癌的筛查，肺内磨玻璃影(ground-glass opacity，GGO)的检出率逐渐升高。多数学者认为它与早期肺腺癌密切相关，其定性诊断和早期治疗对于提高早期肺癌患者的诊断率与生存率具有重要意义。关于GGO的影像学诊断、定位方法及手术方式进展国内外已有许多报道，现重点将近年来与其分子生物学方面相关的研究进展综述如下。

［关键词］ 肺内磨玻璃影；染色体；表皮生长因子受体基因；CYFRA21-1蛋白；实时定量PCR

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2014.03.014

中图分类号：R734.2 文献标志码：A 文章编号：1007-3639(2014)03-0235-06

Research progress of molecular biology in ground-glass opacity QIAO Wen-liang, LIN Qiang (Department of Thoracic Surgery, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China)

Correspondence to: LIN Qiang E-mail: xklinqiang@hotmail.com

［**Abstract**］ With the low-dose spiral computed tomography (LDCT) widely applied in screening for early-stage lung cancers recently, positive rates of Ground-Glass Opacity (GGO) are gradually increased. Many professional researchers believe GGO has a close relationship with the early-stage lung adenocarcinoma, consequently, qualitative diagnosis and early treatment of GGO plays a significant role in improving the diagnostic and survival rates of patients with early-stage lung cancer. Since relative imaging diagnosis, location methods and surgical approaches of GGO have been reported a lot by domestic and overseas researchers, our reviews would mainly focus on the diverse research progress of molecular biology of GGO in the past several years.

［**Key words**］ Ground-glass opacity; Chromosome; EGFR gene; CYFRA21-1 protein; Real-time PCR

肺内磨玻璃影(ground-glass opacity，GGO)是指在高分辨率CT图像上表现为肺内局部或多处密度轻度增加，呈局灶性云雾状密度的阴影，其内的支气管及血管纹理仍可以显示，通常具有体积小(直径通常<2 cm)、密度低、形态学不典型等特点[1]。GGO常常是由多种原因造成肺泡含气量下降或肺泡未被完全充填所引起的非特异性影像学表现，常见的原因包括炎性反应、纤维化、良性肿瘤、肺不典型腺瘤样增生(atypical adenomatous hyperplasia，AAH)、细支气管肺泡癌(bronchioalveolar carcinoma，BAC)及分化较好的肺早期腺癌，其恶性的比例可超过70%[1-5]。在影像学上GGO按分布范围分为弥漫性和局灶性(focal GGO，fGGO)，后者根据病灶内是否存在实性成分又分为单纯型(pure GGO，pGGO)和混合型(mixed GGO，mGGO)[6]。需要特别指出的是，文献中所提到的GGO绝大多数是指pGGO。在Noguchi分型中，pGGO见于恶性度较低的NoguchiA型(局限型细支气管肺泡癌)和B型(局限型细支气管肺泡伴肺泡塌陷)，该类疾病患者术后5年生存率通常可达100%，但生存率也会随着pGGO向mGGO或实性结节的不断衍变(即实性成分的出现及增加)明显降低[7]。因此GGO的发生、发展机制及早期诊治等各方面研究开始备受关注。现就近年来肺部GGO良、恶性病灶的分子生物学研究进展做一综述。

1 与GGO相关的染色体

现代细胞遗传学和分子生物学研究表明，大多数肿瘤细胞特别是实体瘤细胞常表现为染色体不稳定性(chromosome instability，CIN)，包括整条染色体的获得或缺失、染色体易位、

通信作者：林强 E-mail:xklinqiang@hotmail.com

重排及基因扩增等，这些都涉及大量基因的变异。Brennan等[8]报道在肺癌相关突变基因的筛选中发现了3个独立的染色区域及相关基因：5p15(*TERT*，*CLPTM1L*)、6p21(*HLA*)和15q25(*CHRNA3*，*CHRNA5*，*CHRNB4*)，这些基因的异常表达与肺癌的易感性明显相关。2011年，Bettio等[9]利用荧光原位杂交技术(FISH)不仅发现了1例肺腺癌伴GGO病灶的患者是5号染色体臂间倒位的携带者：46,XY,inv(5)(p15q13)，还发现2例类似病灶中存在着*c-MYC*基因的扩增，这些显示出FISH从遗传学角度鉴别恶性GGO时较其他传统方法更具优势。随后，Bettio等[10]又利用该技术在1例右上肺腺癌患者的GGO病灶内发现4个细胞存在着染色体t(5;15)(q13;q25-26)相互易位，主要原因可能是由于染色体第1次复杂的结构重组导致染色体不稳定性增加所致。此外，上述5q13的断裂处至少有4个编码细胞周期调节因子的基因(*CCNB1*，*CDK7*，*CENPH*，*RAD17*)，它们可因染色体的结构重组导致功能异常和病变发生。

2 与GGO相关的基因

2.1 *p53*基因

*p53*基因是迄今发现与人类肿瘤相关性最高的抑癌基因。*p53*基因位于人类染色体17p13.1，其编码的p53蛋白为转录因子，可以在DNA损伤后使细胞周期发生暂时停滞修复遗传信息，刺激*p21*基因转录以阻止发生损伤的DNA进行复制及活化*Bax*、*Fas*等相关基因诱导细胞凋亡。*p53*基因突变后丧失其抑癌功能，在免疫组化实验中表达增高。Aoki等[11]对25例以GGO为主要表现的周围型肺腺癌患者的术前随访中发现，CT图像上面肿瘤体积增大或是不变的pGGO患者，*p53*基因在表达均为阴性，出现肿瘤体积增大的mGGO患者*p53*基因的阳性表达率达55%(P<0.01)，但实性成分并没有随肿瘤体积增大而改变者*p53*基因的阳性表达率仍为0。类似的情况也发生在Yoshida等[12]研究中，即随着GGO病灶内实性成分的增加，*p53*基因在pGGO组、mGGO组和实性结节组中阳性表达率分别为0、44%和80%。故*p53*基因的突变可能与pGGO向mGGO的衍变及mGGO中实性成分的增加密切有关。此外，由于pGGO在Noguchi分型中较mGGO恶性度低，因此*p53*基因可作为pGGO患者随访的分子生物学指标，对恶性GGO的早期诊治具有一定参考价值[7]。

2.2 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor，*EGFR*)基因

EGFR是由位于第7号染色体上的*EGF*基因编码的一种相对分子质量为170×10^3的跨膜糖蛋白受体，它是一种重要的信号传递蛋白。在肺腺癌中，*EGFR*基因突变较常见，突变热点集中在细胞质内段的蛋白质酪氨酸激酶区域，该热点突变后导致受体长期保持高酪氨酸激酶活性，持续不断地激活下游细胞质内的信号通路，使细胞不断增殖，进而向癌变发展。Aoki等[11]对25例以GGO为主要表现的肺腺癌患者的研究发现，36%的pGGO以及45%的mGGO病灶可见*EGFR*基因突变，尽管差异无统计学意义(P=0.70)，但显示出*EGFR*基因突变在恶性GGO病灶中是比较常见事件。Sugano等[13]对136例肺腺癌*EGFR*基因突变率检测发现，含GGO成分组突变率高于无GGO成分组(P=0.07)，且CT图像上GGO/Tumor(两者最大直径比)≥50%组突变率高于GGO/Tumor<50%组，但差异无统计学意义(P=0.22)。Hsu等[14]进一步扩大标本量发现*EGFR*基因突变率为64.2%(104/162)，主要以非吸烟的女性患者为主，其中外显子19缺失约占25.9%，L858R点突变约占29.0%，其余类型突变约占9.3%；此外，*EGFR*基因的突变率随着GGO实性成分的增加而增高(随着pGGO病灶的体积减小而降低)，尤以L858R点突变率符合这一规律，这与Yoshida等[15]所报道的mGGO的发生与*EGFR*突变特异性抗体外显子21中L858R和S768I点突变及外显子19中E746-A750缺失有关相吻合。因此*EGFR*基因突变不仅是以GGO为主要表现的肺腺癌的早期事件，且*EGFR*基因突变(特别是L858R点突变)可以促使无侵袭性特性的pGGO向具有侵袭性特性的实性结节转变，这为临床靶向治疗药物的研发提供了一定依据。此外，对于无法通过手术及活检获取标本以检

测*EGFR*基因突变的患者，可通过影像学图像观察肿块内GGO成分多少和结合临床特征估计患者*EGFR*基因的突变情况，有利于临床治疗方案的确定。

关于肺部多发GGO病灶的*EGFR*基因突变情况，Chung等[16]对24例患者肺部56处GGO病灶发生原因进行探索，结果发现*EGFR*基因的突变率仍然是随着GGO实性成分的增加而增高，且71%患者的GGO病灶的*EGFR*基因处于不同突变状态，这种异质性提示了肺部多发GGO病灶主要是由于多个病灶起源形成，这对临床排除多发GGO病灶非肺内原发恶性病灶转移所致，从而制定相应的治疗方案具有重要意义。

2.3 *CYPl9A1*基因

*CYPl9*基因位于人染色体15q21.1区带，全长约123 kb，共编码503个氨基酸，存在多种单核苷酸多态性(single nucleotide polymorph sims，SNPs)等特点，其编码的芳香化酶蛋白(aromatase cytochrome P450，P450arom)是雄激素转化为雌激素的限速酶和关键酶[17]。近年来，Demura等[18]研究指出体内雌激素水平的升高对正常肺组织细胞的分化和成熟，以及对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer，NSCLC)的发展有促进作用。Kohno等[19]通过对低剂量CT筛选出的100例肺部GGO患者研究发现，其体内*CYP19A1*基因SNPs可使血清中雌激素升高而导致以GGO为表现的BAC或AAH疾病的发生，尤其是以微小等位基因携带的rs3764221 SNPs是导致GGO发生的危险因素(*OR*=1.72，*P*<0.05)。2013年，Ikeda等[20]的研究还发现，*CYP19A1*基因(rs3764221)SNPs也是以多发GGO为表现的肺腺癌发生的危险因素(ratio=3.06，*P*<0.05)，主要是因为rs3764221和rs2470152位点多态性可使*CYP19A1*在肺内多处周围组织中局部表达，并导致相应区域雌激素浓度升高，从而导致以多发恶性GGO的发生，并呈多中心进展。

3 与GGO的相关的特殊蛋白

3.1 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen，CEA)

CEA是从结肠癌组织和胚胎组织中提取出的一种酸性糖蛋白，主要存在于直肠、结肠癌组织和胚胎肠黏膜上面，因这种抗原也存在于2~6个月胚胎的胃肠、肝脏和胰腺组织中，故称之为CEA。CEA在NCSLC及其他多种恶性肿瘤中均可见异常升高。Kim等[21]发现血清CEA在恶性GGO病灶中较良性GGO升高更明显，但差异无统计学意义，主要原因是由于患者恶性病灶中的GGO成分超过50%，多数患者仍处于肺癌早期[22]，这就意味着CEA仍未扩散入血液循环，因此它在血清中极低而难以被检测出。然而，马丹等[23]通过收集支气管肺泡灌洗液(bronchial alveolar lavage fluid，BALF)进行测定，结果发现符合筛选条件的pGGO患者在入选时GGO侧BALF中的CEA定量测定结果就已高于健侧(*P*<0.05)，当pGGO衍变为mGGO后，患者血清和BALF中CEA水平均有升高，但只有后者差异有统计学意义。因此，临床上通过比较GGO侧和健侧BALF中CEA浓度变化可鉴别良、恶性GGO。此外，Sakuma等[24]在肺癌患者术后的随访中发现，肺部出现GGO为表现的复发征象并伴有血清中CEA明显升高，但再次手术切除GGO后病理诊断为AHH，CEA浓度恢复正常，随后GGO再次复发，且血清CEA的浓度随GGO的体积出现周期性地变化：随GGO体积增大而升高，或随着其体积缩小而自发地恢复正常，且这一循环过程均发生在特定的季节，因此这一特殊现象的发现对GGO患者的随访具有一定意义，可减少临床上过度手术治疗的发生。

3.2 Ⅱ型肺泡细胞表面抗原(krebs von den lungen-6，KL-6)

KL-6是由*MUC1*基因编码的一种上皮性黏蛋白。KL-6主要由增殖的、受激发的或受损的Ⅱ型肺泡上皮细胞分泌，通过降低肿瘤细胞间、肿瘤细胞与间质间的黏附力，使肿瘤细胞逃避免疫识别，促进肿瘤的转移[25-26]。此外，早期研究还发现，血液中KL-6水平能够敏感地反映肺泡上皮和间质的损伤程度，已成为间质性肺炎如肺纤维化、过敏性肺炎、结节病和放射性肺炎等的特异性诊断标志物[27]。关于以GGO为表现的肺部疾病与KL-6黏蛋白的关

系，Hiroshige等[28]在1例多发良性GGO伴血清KL-6升高的68岁女性患者随访中发现，血清KL-6水平可随肺部GGO的保守治疗消失降至正常水平。Honda等[29]对101例良性肺部结节患者CT图像与血清KL-6水平关系研究显示，肺结节合并GGO患者在KL-6水平升高组(61.5%，16/26)较KL-6水平正常组(13.3%，10/75)更常见(P<0.05)；对其中36例患者进行随访发现，KL-6水平可随肺部GGO病灶的增大而升高，或随病灶消失及明显减小而降至正常水平；在GGO体积未改变的患者，血清KL-6水平也几乎保持不变。因此血清KL-6水平可用于评估良性GGO病灶的严重程度，但KL-6与恶性GGO关系还需进一步探索。

3.3 癌抗原12−5(cancer antigen，CA12−5)

CA12-5是一种跨膜糖蛋白，相对分子质量为200×10^3。CA12-5在健康人和大多数良性疾病患者血液中含量甚微。在恶性肿瘤患者中，CAl2-5可以进入血液循环和各种体液中而表现出高表达。马丹等[23]发现BALF中CA12-5测定结果与之前所提到的CEA测定结果一致，证明了检测BALF中CA12-5浓度变化在恶性GGO早期诊断中也具有重要参考价值。此外，由于CA12-5抗原分子有肺腺癌的抗原决定簇[30]，因此BALF中CA12-5升高很可能与GGO的Noguchi分型相关，进一步扩大样本研究以确证在恶性GGO的手术治疗方式选择和预后评估方面具有良好前景。

3.4 CYFRA 21−1

CYFRA21-1是细胞角质蛋白19的片段及相对分子质量为40×10^3的酸性多肽，主要分布在肺泡上皮、气管和食管上皮细胞的细胞质中，在正常状态下CYFRA21-1以寡聚物形式存在，含量极低，当上皮细胞出现恶变时，蛋白酶被激活，细胞角蛋白19降解加速，使得大量CYFRA 2l-l片段大量释放并进入血循环，临床上就可以检测到其含量增高。大量的临床研究资料已充分证实，CYFRA2l-l是肺癌的重要标志物之一，与肺癌的发生、发展、分化及转移有关，且CYFRA21-1是NCSLC患者最有价值的血清肿瘤标志物之一，它可能代表了患者体内肿瘤的负荷量[31-34]。Hong等[35]发现直接检测肺癌病灶组织细胞中CYFRA21-1的变化能明显提高CT引导下细针穿刺活检(NAB)诊断肺部恶性结节时的灵敏度和准确率。随后，该研究组成员Kim等[21]运用相同的方法及血清法检测肿瘤标志物CYFRA21-1和CEA，并辅助NAB对肺部持续性GGO患者的研究中发现：两种标志物在恶性GGO患者血清中浓度均较良性患者更高，但只有CYFRA21-1的浓度差异有统计学意义；此外，在良、恶性GGO鉴别诊断的灵敏度和准确率方面，通过NAB联合测定病灶细胞内CYFRA21-1和CEA浓度相比NAB联合血清测定法发现，只有NAB联合测定细胞内CYFRA21-1浓度与NAB间差异有统计学意义。不仅如此，研究还发现NAB联合测定病灶细胞内CYFRA21-1浓度方法的接受者工作特征曲线下面积显著>NAB法的曲线下面积(P<0.05)。因此，上述结果进一步显示了CYFR21-1在GGO的良、恶性判断方面同样优于其他常见的血清肿瘤标志物；目前临床上主要依靠NAB鉴别GGO，但常常因为穿刺组织获取量过少而使诊断阴性，使患者不得不接受再次NAB，甚至开胸活检以确诊[21]。直接测定GGO病灶细胞内CYFR21-1的浓度方法无创、简单易行，且它只需要很少量的细胞即可获得阳性结果，故该方法可作为NAB诊断阴性的患者一个重要的补充检测手段，从而避免增加患者不必要的痛苦，因此具有良好前景。

3.5 肺表面活性物质蛋白−A(surfact−ant protein A，SP−A)和表面活性物质蛋白−D(surfact−ant protein D，SP−D)

大分子亲水性的SP-A和SP-D是构成肺表面活性物质的重要成分，由肺泡Ⅱ型上皮细胞和气道Clara细胞(一种主要分布于终末细支气管和呼吸性细支气管上的无纤毛上皮细胞)合成的一种多功能糖蛋白，可调节局部微环境的免疫反应和炎性反应，从而维持肺泡的正常生理功能[36]。当肺部疾病引起肺泡-毛细血管膜屏障损害，肺泡膜通透性增加，引起血清中SP-A、

SP-D含量升高。Abe等[37]报道在以GGO为主要表现的间质性肺疾病患者随访中发现，生存期不足3年的患者血清SP-A、SP-D明显高于生存期超过3年者($P<0.05$)，提示血清SP-A、SP-D可以作为其疾病活动期的一项生物学判断指标。

4 其他

2010年，William等[38]发现在吸烟人群中，GGO病灶组患者血清中针对CyclinA和Cycling D1及survivin的自身抗体中位水平明显低于肺癌组及实性结节病灶组($P<0.05$)，提示这些生物指标有助于区分良性GGO和肺癌病灶。同年，Ostrow等[39]报道了将实时定量PCR技术测量*Rar*β(维甲酸受体-β)，*Kif1a*(神经元驱动蛋白超家族基因1A)，*DCC*(结肠癌缺失基因)及*NISCH*四种基因启动子区甲基化的结果结合CT诊断对区分良、恶性GGO的灵敏度和特异度分别可达73%和71%，这在临床恶性GGO患者的早期诊断、分子分期及预后评估等方面均表现出充分的潜力。

5 结语

目前，GGO的分子标志物变化更多的是用在辅助影像学诊断以鉴别GGO良、恶性和肺腺癌分期以及患者术前术后随访评估等方面，关于GGO病灶的发生、衍变机制及其与肺腺癌(特别是BAC和AAH)之间关系等研究仍相对较少和较浅，因此更多、更深入地探索仍是今后研究的重要课题。面对目前大气雾霾污染、吸烟、肥胖等众多促使肺癌发生高危因素，防止恶性GGO的发病率进一步上升势必会成为未来研究的热点。随着新的GGO分子生物学检测技术的不断发展和分子标志物的不断发现，以及将它们同更多更完善的诊断技术结合，将在恶性GGO的预防和早期诊治，以及一定程度预测其病理类型、分化程度及预后等方面充满前景。

[参 考 文 献]

[1] KOBAYASHI Y, SAKAO Y, DESHPANDE G A, et al. The association between baseline clinical-radiological characteristics and growth of pulmonary nodules with ground-glass opacity [J]. Lung Cancer, 2014, 83(1): 61-66.

[2] 魏云炜, 黎涛, 白崇峰. 肺部纯磨玻璃密度影诊断肺部周围型小腺癌1例报道 [J]. 中国肿瘤外科杂志, 2013, 5(5): 330-331.

[3] LU C H, HSIAO C H, CHANG Y C, et al. Percutaneous computed tomography-guided coaxial core biopsy for small pulmonary lesions with ground-glass attenuation [J]. J Thorac Oncol, 2012, 7(1): 143-150.

[4] ODA S, AWAI K, MURAO K, et al. Volume-doubling time of pulmonary nodules with ground glass opacity at multidetector CT: assessment with computer-aided three-dimensional volumetry [J]. Acad Radiol, 2011, 18(1): 64-69.

[5] KIM H Y, SHIM Y M, LEE K S, et al. Persistent pulmonary nodular ground-glass opacity at thin-section CT: histopathologic comparisons [J]. Radiology, 2007, 245(1): 267-275.

[6] 林强. 临床胸部外科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 365-378.

[7] NOGUCHI M, MORIKAWA A, KAWASAKI M, et a1. Small adenocarcinoma of the lung: histologic characteristics and prognosis [J]. Cancer, 1995, 75(12): 2844-2852.

[8] BRENNAN P, HAINAUT P, BOFFETTA P. Genetics of lung-cancer susceptibility [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(4): 399-408.

[9] BETTIO D, VENCI A, CARIBONI U, et al. Fluorescent in situ hybridization (FISH) in the differential diagnosis of ground-glass opacities in the lung [J]. Lung Cancer, 2011, 71(3): 319-322.

[10] BETTIO D, CARIBONI U, VENCI A, et al. Cytogenetic findings in lung cancer that illuminate its biological history from adenomatous hyperplasia to bronchioalveolar carcinoma to adenocarcinoma: A case report [J]. Exp Ther Med, 2012, 4(6): 1032-1034.

[11] AOKI T, HANAMIYA M, URAMOTO H, et al. Adenocarcinomas with predominant ground-glass opacity: correlation of morphology and molecular biomarkers [J]. Radiology, 2012, 264(2): 590-596.

[12] YOSHIDA Y, KOKUBU A, SUZUKI K, et al. Molecular markers and changes of computed tomography appearance in lung adenocarcinoma with ground-glass opacity [J]. Jpn J Clin Oncol, 2007, 37(12): 907-912.

[13] SUGANO M , SHIMIZU K, NAKANO T, et al. Correlation between computed tomography findings and epidermal growth factor receptor and KRAS gene mutations in patients with pulmonary adenocarcinoma [J]. Oncol Rep, 2011, 26(5): 1205-1211.

[14] HSU K H, CHEN K C, YANG T Y, et al. Epidermal growth factor receptor mutation status in stage Ⅰ lung adenocarcinoma with different image patterns [J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(6): 1066-1072.

[15] YOSHIDA J, ISHII G, YOKOSE T, et al. Possible delayed cut-end recurrence after limited resection for ground-glass opacity adenocarcinoma, intraoperatively diagnosed as

Noguchi type B, in three patients journal of thoracic oncology [J]. J Thorac Oncol, 2010, 5(4): 546–550.
[16] CHUNG J H, CHOE G, JHEON S, et al. Epidermal growth factor receptor mutation and pathologic–radiologic correlation between multiple lung nodules with ground–glass opacity differentiates multicentric origin from intrapulmonary spread [J]. J Thorac Oncol, 2009, 4(12): 1490–1495.
[17] FERRALDESCHI R, ARNEDOS M, HADFIED K, et al. Polymorphisms of CYP19A1 and response to aromatase inhibitors in metastatic breast cancer patients [J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 133(3): 1191–1198.
[18] DEMURA M, DEMURA Y, AMSHIMA S, et al. Changes in aromatase (CYP19) gene promoter usage in non–small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2011, 73(3): 289–293.
[19] KOHNO T, KAKINUMA R, IWASAKI M, et al. Association of CYP19A1 polym–orphisms with risks for atypical adenomatous hyperplasia and bronchioloalveolar carcinoma in the lungs [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(10): 1794–1799.
[20] IKEDA K, SHIRAISHI K, EGUCHI A, et al. Association of a genetic variant of CYP19A1 with multicentric development of lung adenocarcinomas [J]. Ann Surg Oncol, 2014, 21(3): 939–945.
[21] KIM G R, HUR J, LEE H J, et al. Analysis of tumor markers in cytological fluid obtained from computed tomography–guided needle aspiration biopsies for the diagnosis of ground–glass opacity pulmonary lesions [J]. Cancer Cytopathol, 2013, 121(4): 214–222.
[22] OHTAKA K, HIDA Y, KAGA K, et al. Limited resection and two–staged lobectomy for non–small cell lung cancer with ground–glass opacity [J]. J Cardiothorac Surg, 2013, 8: 111.
[23] 马丹, 付爽, 王笑歌. 支气管肺泡灌洗液肿瘤标志物测定对肺部局灶性磨玻璃征诊断意义分析 [J]. 中国实用内科杂志, 2009, 29(4): 365–366.
[24] SAKUMA T, IWATA Y, UEDA Y, et al. Annual periodic increases in serum carcinoembryonic antigen concurrent with ground–glass opacity in the lung: report of a case [J]. Surg Today, 2005, 35(10): 883–885.
[25] TANAKA S, HATTORI N, ISHIKAWA N, et al. Krebs von den Lungen–6(KL–6 is a prognostic biomarker in patients with surgically resected non small cell lung cancer [J]. Int J Cancer, 130(2): 377–387.
[26] 张骞. KL–6黏蛋白与肿瘤研究进展 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(12): 73–74.
[27] OHYABU N, HINOU H, MATSUSHITA T, et al. An essential epitope of anti–MUC1 monoclonal antibody KL–6 revealed by focused glycopeptide library [J]. J Am Chem Soc, 2009, 131(47): 17102–17109.
[28] HIROSHIGE S, ANDO M, OKUBO F, et al. A case of pulmonary sarcoidosis demonstrating panlobular ground–glass opacity with mosaic distribution [J]. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2009, 47(3): 212–217.
[29] HONDA K, OKADA F, ANDO Y, et al. Comparison of pulmonary thin section CT findings and serum KL–6 levels in patients with sarcoidosis [J]. Br J Radiol, 2011, 84(999): 229–235.
[30] PICARDO A L, TORRES A J, MAESTRO M, et al. Quantitative analysis of carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CA 125, and CA 50 cytosolic content in non–small cell lung cancer [J]. Cancer, 1994, 73(9): 2305–2311.
[31] ONO A, TAKAHASHI T, MORI K, et al. Prognostic impact of serum CYFRA 21–1 inpatients with advanced lung adenocarcinoma: a retrospective study [J]. BMC Cancer, 2013, 13: 354.
[32] ARAI T, INOUE Y, SUGIMOTO C, et al. CYFRA 21–1 as a disease severity marker for autoimmune pulmonary alveolar proteinosis [J]. Respirology, 2014, 19(2): 246–252.
[33] HE A, LIU T C, DONG Z N, et al. A novel immunoassay for the quantization of CYFRA 21–1 in human serum [J]. J Clin Lab Anal, 2013, 27(4): 277–283.
[34] PANG L, WANG J, JIANG Y, et al. Decreased levels of serum cytokeratin 19 fragment CYFRA 211 predict objective response to chemotherapy in patients with non–small cell lung cancer [J]. Exp Ther Med, 2013, 6(2): 355–360.
[35] HONG Y J, HUR J,LEE H J, et al. Analysis of tumor markers in the cytological fluid obtained from computed tomography–guided needle aspiration biopsy for the diagnosis of non–small cell [J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(8): 1330–1335.
[36] JAKEL A, QASEEM A S, KISHORE U, et al. Ligands and receptors of lung surfactant proteins SP–A and SP–D [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2013, 18: 1129–1140.
[37] ABE S, TAKAHASHI H. Surfactant proteins A and D as biomarkers of disease activity in diffuse interstitial pneumonia [J]. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2000, 38(3): 157–165.
[38] WILLIAM N R, JUDITH D G, DOREEN A H, et al. Identification of an autoantibody panel to separate lung cancer from smokers and nonsmokers [J]. BMC Cancer, 2010, 10: 234.
[39] OSTROW K L, HOQUE M, LOYO M, et al. Molecular analysis of plasma DNA for the early detection of lung cancer by quantitative methylation specific PCR [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(13): 3463–3472.

（收稿日期：2013–12–01 修回日期：2014–02–19）