

Role of Tumour markers in lung non small cell carcinoma (NSCLC)

Introduction to lung tumors

As per WHO 2021 classification of thoracic tumors, lung tumors are classified broadly as:

- a. Epithelial tumors
- b. Mesenchymal tumors
- c. Lymphohistiocytic tumors
- d. Tumors of ectopic tissue
- e. Metastatic tumors

Of these, the most encountered tumors in practice are epithelial malignancies and their precursors. These epithelial malignancies are further classified as:

1. **Non-small cell carcinoma (NSCLC)** which includes
 - a. Squamous cell carcinoma
 - b. Adenocarcinoma
 - c. Large cell carcinoma
 - d. Adenosquamous carcinoma
2. **Small cell carcinoma**

Diagnostic approach to lung tumours

1. Clinical history

Strong association with tobacco smoking along with persistent cough, hemoptysis, significant weight loss, anorexia, chest pain, breathlessness, symptoms related to paraneoplastic syndromes (wheeze/flushing/ diarrhoea/ bone pain/ pulmonary osteoarthropathy/ features of cushing syndrome etc), dysphagia, hoarseness of voice, face/arm swelling.

2. Thoracic imaging (ultrasonography/ computed tomography scan)

Site (central,/ peripheral), single or multiple lesions (primary vs metastatic), appearance-ground glass opacities to lobulated or spiculated or necrotic cavitary lesion, hilar mass with or without pleural effusion.

3. Fibre optic bronchoscopy (FOB) findings

4. Laboratory parameters

Elevated serum Lactate dehydrogenase (LDH), Alkaline phosphatase (ALP-with bone metastasis), Paraneoplastic syndrome causing- hyponatremia, hypercalcemia etc, elevated serum tumour markers like CEA, CYFRA 21-1, SCC-Ag, Chromogranin, CA125, CA15-3. CA19-9, AFP, PSA etc related to primary lung disease/ lung tumours vs metastatic tumours. Also elevated LDH levels in pleural fluid.

5. Cytology

Bronchioalveolar fluid (BAL) and brushings during FOB, sputum, pleural fluid for cytology

6. Histopathology

FOB or CT guided biopsies from lesions are sent for histopathological diagnosis as well as cell block prepared from pleural fluid.

7. Ancillary tests

Immunohistochemistry and molecular testing.

As lung is a site for both various primary and metastatic malignancies, diagnosing the tumour needs multimodality and here is the additional role of tumour markers.

Tumour markers

Tumour markers are proteins or antigenic substances produced by cancer cells or body cells in response to tumour.

They are generally tested in serum but can also be tested in other body fluids like urine, bronchioalveolar lavage or feces and in tumour tissue.

How do they help in diagnosis of non small cell lung carcinoma(NSCLC)

Prior to treatment (for screening)

These tumour markers serve as baseline values for presence of disease/ tumour as they are not very specific and can be elevated in non cancerous diseases. Though the clinician orders these tests, they are generally interpreted along with patient symptoms, its duration, imaging, cytology and histopathology findings. They primarily serve as markers of abnormality and baseline values for assessing the stage and prognosis in patient before commencement of treatment.

Post treatment

After medical/ surgical treatment is given, these values are of significance as they correspond to effects of treatment i.e. complete surgical removal of tumour (R0 resection) with no residual tumour/ metastasis.

Persistent levels in patients post treatment can be due to residual tumour or metastasis.

Re elevation in levels after coming down to normal values after treatment, indicates recurrence/ metastasis.

The markers generally used are:

- a) CEA
- b) CYFR21-1
- c) SCC-Ag

None of these markers are specific to primary lung tumour and can be elevated in non cancerous lung disease as well as in primary or metastatic lung disease.

Other markers which are usually advised when we are having lung lesion suspicious of metastatic vs primary NSCLC of lung are

- a. CA125
- b. CA19-9
- c. CA15-3
- d. PSA

These markers help the clinician in determining the line of treatment which is specific for certain specific type of lung tumors. Regular monitoring of tumor markers also help the response to cancer treatment.

Diagnosis of NSCLC and its specific type

Tumor markers that may help diagnose NSCLC

1. Carcinoembryonic antigen (CEA)

- ◆ CEA is carcinoembryonic antigen. Serum CEA is preferred to urine or stool and other fluid examination.
- ◆ **It's normal range is <5 ng/ml in serum.**
- ◆ It can be elevated in many conditions including non-neoplastic lung disease like allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA), in patients with elevated eosinophil count, inflammatory bowel disease (crohn's, ulcerative colitis), pancreatitis etc.
- ◆ In neoplastic conditions, it is elevated in **adenocarcinomas of lung, colorectal, stomach, pancreatic, liver, breast, mucinous ovarian tumours, endometrium, stomach and medullary thyroid carcinoma.**
- ◆ Thus, its elevation is not specific to primary lung tumour and is very often seen with metastatic colorectal tumour to lung and so one needs to correlate with personal habits, symptoms and imaging. Additional tumour markers which are more specific for other sites like for pancreas, liver, medullary thyroid carcinoma are then done as per the clinical findings, for eg CA19-9, AFP, calcitonin respectively in order to close down on the differentials.

2. Cytokeratin 19 fragment antigen (CYFRA21-1)

- ◆ CYFRA21-1 is a cytokeratin 19 fragment which is usually tested in serum.

- ◆ **It's normal range is 3.3 to 3.5 ng/ml**
- ◆ IT can be elevated in non-neoplastic conditions like chronic bronchitis and renal failure.
- ◆ It's levels are elevated in cancers of squamous cell origin/epithelial origin. It has highest sensitivity (upto 60-70%) for **NSCLC especially squamous cell carcinoma though it can also be elevated in oropharyngeal squamous malignancies, bile duct cancer, thymic carcinoma and metastatic colorectal cancer to liver.**
- ◆ It's results are interpreted with patient symptoms and other imaging findings to know if it is primary of lung vs metastasis.

3. Squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag)

- ◆ SCC-Ag is a subfraction of tumour associated antigen TA-4.
- ◆ **Its reference value vary from lab to lab but is generally ≤ 2.0 ng/ml.**
- ◆ It can be elevated in benign skin conditions like psoriasis, eczema or renal failure.
- ◆ Its clinical utility is in squamous cell carcinoma of cervix, lung, head & neck and skin. It has a short plasma half-life (approx 20 minutes) so its level normalize within 1-2 days of R0 resection.
- ◆ It is also used more in monitoring response to radiation or chemotherapy as rise in levels prompts for more investigation for recurrence or metastasis.. Its levels can get elevated 2-5 months before clinical detection.
- ◆ Results are interpreted with other clinical findings and symptoms.

Differentiating between cancer subtypes

In lung NSCLC

- a. Elevated CEA and CA125 in adenocarcinoma
- b. Elevated levels of SCC-Ag and CYFRA21-1 in squamous cell carcinoma

*Few other serum tumour markers that help to distinguish primary NSCLC from small cell carcinoma of lung, mesotheliomas or metastatic tumour to lung are:

S.No	Tumour marker*	Normal reference range**	Tumour type***
1.	Chromogranin	<100 ng/ml	Neuroendocrine tumours
2.	CA125	<35 U/ml	Primarily in ovarian tumours and also in other serosal diseases
3.	CA19-9	<35U/ml	Primarily for pancreatic cancer but also in cholangiocarcinoma (bile duct cancer),lung colon etc
4.	CA15-3	<=30 U/ml	Liver and bone metastasis from breast cancer
5.	AFP	Varies for new born and others and in pregnancy. Adults usually<10 ng/ml	Liver cancer, yolk sac tumour (ovary/testis/extragonadal)
6.	PSA	Varies as per age of male. Generally <4.5 ng/ml	Prostate benign hypertrophy and adenocarcinoma
7.	Calcitonin	<10 pg/ml	Medullary carcinoma thyroid

**The reference values are for general guidelines as these values can be slightly different from lab to lab and as per age, gender and special condition (like pregnancy)

***The above table does not give a entire list of all the non-neoplastic (inflammatory diseases, endometriosis, renal failure, cirrhosis etc) and neoplastic conditions in which these serum tumour markers can be elevated. It provides the most important cause for elevated levels which in correlation with patient symptoms and other clinical and imaging findings are used to narrow down the differentials and in monitoring the disease while on treatment. None of these tumour markers alone are enough to make a specific diagnosis.

Immunohistochemical testing using tumour markers on tissue or cell block of cells

- ◆ Some of these above markers are also used in immunohistochemistry on formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tissue sample and on cell blocks prepared from malignant effusions/aspirate from cancer site to aid in diagnosis like:
 - i. CEA
 - ii. Chromogranin
 - iii. CA125
 - iv. CA19-9
 - v. AFP
- They are used along with a panel of other antibodies for diagnosis.

Conclusion

Serum tumour markers are an easily available, not so expensive blood test which helps the clinician to direct his other investigations for diagnosis. They are not specific to cancer only and are not site specific all the time but their judicious use with patient symptoms, imaging and treatment can help to diagnose, stage and monitor treatment. The most commonly used serum tumour markers in patients with lung lesion (primary NSCLC vs metastatic) are CEA, CA19-9, CA125, PSA, ALP, LDH and AFP depending upon patient gender and other clinical findings.

नॉन-स्मॉल सेल लंग कार्सिनोमा (NSCLC) में ट्यूमर मार्कर्स की भूमिका

फेफड़ों के ट्यूमर का परिचय

WHO 2021 के अनुसार थोरैसिक ट्यूमर का वर्गीकरण इस प्रकार है:

- एपिथीलियल ट्यूमर
- मेसेनकाइमल ट्यूमर
- लिम्फोहिस्टियोसाइटिक ट्यूमर
- एक्टोपिक टिशू से उत्पन्न ट्यूमर
- मेटास्टेटिक ट्यूमर

इनमें सबसे अधिक पाए जाने वाले ट्यूमर एपिथीलियल मैलिग्रेंसी/मेटास्टेटिक फेफड़ों के ट्यूमर होते हैं। इन्हें

आगे वर्गीकृत किया जाता है:

1. नॉन-स्मॉल सेल कार्सिनोमा (NSCLC)

- स्कैमस सेल कार्सिनोमा
- एडेनोकार्सिनोमा
- लार्ज सेल कार्सिनोमा
- एडेनोस्कैमस कार्सिनोमा

2. स्मॉल सेल कार्सिनोमा

लंग ट्यूमर का डायग्नोस्टिक एप्रोच

1. क्लिनिकल हिस्ट्री

धूम्रपान से मजबूत संबंध, लगातार खाँसी, खून की खाँसी, वजन कम होना, भूख न लगना, छाती दर्द, सांस फूलना, पैरानेओप्लास्टिक सिंड्रोम के लक्षण (व्हीज़िंग, फ्लशिंग, डायरिया, हड्डी दर्द, पल्मोनरी ऑस्टियोआर्थ्रोपैथी, कुशिंग सिंड्रोम), निगलने में कठिनाई, आवाज बैठना, चेहरा/हाथ सूजना।

2. थोरैसिक इमेजिंग (USG / CT Scan)

साइट (सेंट्रल/पेरिफेरल), सिंगल या मल्टीपल लेजन (प्राइमरी बनाम मेटास्टेटिक), स्वरूप (appearance) : ग्राउंड ग्लास से लेकर स्पिकुलेटेड या कैवितरी लेजन, हिलर मास, प्लूरल इफ्यूजन।

4. फाइबरऑप्टिकब्रोकोस्कोपी (FOB)

4. लैबोरेटरी पैरामीटर्स

सीरम (रक्त का तरल भाग) : LDH, ALP (बोन मेटास्टेसिस में), पैरानेओप्लास्टिक सिंड्रोम से हाइपोनेट्रेमिया, हाइपरकैल्सीमिया, ट्यूमर मार्कर जैसे CEA, CYFRA21-1, SCC-Ag, क्रोमोग्रैनिन, CA125, CA15-3, CA19-9, AFP, PSA आदिबढ़ा हुआ पाया जा सकता है।

5. साइटोलॉजी

BAL, ब्रशिंग, स्पुटम और प्लूरल फ्लूइड।

6. हिस्टोपैथोलॉजी

FOB या CT गाइडेड बायोप्सी तथा सेल ब्लॉक।

7. एन्सिलरी टेस्ट

इम्यूनोहिस्टोकेमिस्ट्री एवं मॉलिक्यूलर टेस्ट।

फेफड़ा प्राइमरी और मेटास्टेटिक दोनों ट्यूमर का साइट है, इसलिए मल्टीमॉडल डायग्नोसिस जरूरी होता है जहाँ ट्यूमर मार्कर सहायक भूमिका निभाते हैं।

ट्यूमर मार्कर

ट्यूमर मार्कर वे प्रोटीन या एंटीजन होते हैं जो कैंसर कोशिकाओं या शरीर द्वारा ट्यूमर के उत्तर में बनाए जाते हैं।

ये प्रायः सीरम में जाँचे जाते हैं, परंतु मूत्र, BAL, मल या टिशू में भी जाँचे जा सकते हैं।

NSCLC में ट्यूमर मार्कर की भूमिका

ट्रीटमेंट से पहले

ये बेसलाइन वैल्यू देते हैं। ये पूरी तरह स्पेसिफिक नहीं होते, इसलिए क्लिनिकल, इमेजिंग व पैथोलॉजी से कोरिलेट किए जाते हैं। इनके मान असामान्यता के बारे में बताते हैं तथा रोग की स्टेज और प्रोग्नोसिस निर्धारित करने में सहायता करते हैं।

ट्रीटमेंट के बाद

R0 रेस्कशन के बाद लेवल नॉर्मल हो जाना चाहिए।

लेवल बना रहना – रेसिडुअल ट्यूमर/ मेटास्टेसिस।

फिर से बढ़ना – रीकुरेन्स या मेटास्टेसिस।

मुख्य मार्कर

- a. CEA
- b. CYFRA21-1
- c. SCC-Ag

अन्य मार्कर:

CA125, CA19-9, CA15-3, PSA।

NSCLC में प्रयुक्त प्रमुख ट्यूमर मार्कर

1. CEA (Carcinoembryonic Antigen)

नॉर्मल: <5 ng/ml

यह ABPA, ईओसिनोफिलिया, IBD, पैंक्रियाटाइटिस में भी बढ़ सकता है।

नियोप्लास्टिक कंडीशन में फेफड़े, कोलन, पैंक्रियास, ब्रेस्ट, ओवरी आदि में बढ़ता है।

इसलिए यह केवल लंग के लिए स्पेसिफिक नहीं है।

2. CYFRA21-1

नॉर्मल: 3.3–3.5 ng/ml

क्रॉनिक ब्रोंकाइटिस, रिनल फेल्योर में भी बढ़ सकता है।

स्कैमस सेल कार्सिनोमा में सबसे अधिक सेंसिटिव होता है।

3. SCC-Ag

नॉर्मल: ≤ 2 ng/ml

सोरायसिस, एक्ज़िमा, रिनल फेल्योर में भी बढ़ सकता है।

सर्विक्स, लंग, हेड-नेक स्कैमस कैंसर में उपयोगी।

रीकुरेन्स 2–5 महीने पहले दिखा सकता है।

NSCLC के सबटाइप में अंतर

- एडेनोकार्सिनोमा → CEA, CA125 बढ़े
 - स्कैमस सेल → SCC-Ag, CYFRA21-1 बढ़े
-

अन्य सहायक ट्यूमर मार्कर

मार्कर	नॉर्मल	ट्यूमर
Chromogranin	<100 ng/ml	न्यूरोएंडोक्राइन
CA125	<35 U/ml	ओवरी, सेरोसल डिज़ीज
CA19-9	<35 U/ml	पैंक्रियास
CA15-3	≤30 U/ml	ब्रेस्ट मेटास्टेसिस
AFP	<10 ng/ml	लीवर, योल्क सैक
PSA	<4.5 ng/ml	प्रोस्टेट
Calcitonin	<10 pg/ml	मेडुलरी थायरॉयड

इम्यूनोहिस्टोकेमिस्ट्री में उपयोग

CEA, Chromogranin, CA125, CA19-9, AFP आदि FFPE टिश्यू व सेल ब्लॉक पर प्रयोग किए जाते हैं।

ALK, RAS, ROS तथा BRAF म्यूटेशन के लिए मॉलिक्यूलर टेस्टिंग की जाती है, साथ ही फर्स्ट-लाइन कीमोथेरेपी के प्रति रेज़िस्टेंस से संबंधित म्यूटेशन्स की भी जाँच की जा सकती है।”

निष्कर्ष

सीरम ट्यूमर मार्कर सरल व कम खर्चीले टेस्ट हैं जो डायग्नोसिस,

स्टेजिंग और ट्रीटमेंट मॉनिटरिंग में मदद करते हैं। ये अकेले डायग्नोसिस नहीं करते, पर क्लिनिकल,

इमेजिंग और पैथोलॉजी के साथ मिलकर उपयोगी होते हैं। NSCLC में सामान्यतः CEA, CA19-9, CA125,

PSA, LDH, ALP और AFP प्रयोग किए जाते हैं।