

• 临床检验研究论著 •

胃癌患者血清骨桥蛋白检测的临床意义

许海例¹, 高祥华²

(1. 江苏省第二中医院检验科, 江苏南京 210017; 2. 南京医科大学第二附属医院中医科, 江苏南京 210011)

摘要:目的 探讨外周血骨桥蛋白(OPN)作为胃癌肿瘤标志物检测的临床意义。方法 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 205 例胃癌患者手术前后血清 OPN 的质量浓度, 对照组为 60 例健康志愿者。结果 胃癌患者血清 OPN 检测的敏感性和特异性分别为 71.2% 和 86.3%, 血清 OPN 水平与胃癌组织的 OPN 表达、肿瘤大小、临床分期、淋巴结和器官转移、脉管内癌栓及复发有关。治疗前后 OPN 的质量浓度具有显著差异, 术后复发患者与正常对照组有显著差异。结论 OPN 是一种较理想的胃癌肿瘤标志物。

关键词:胃癌; 骨桥蛋白; 肿瘤标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)24-3324-02

Clinical significance of osteopontin in peripheral blood of patients with gastric cancer

Xu Haili¹, Gao Xianghua²

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Traditional Chinese Medical Hospital of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210017, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, the Second Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210011, China)

Abstract: Objective To evaluate the clinical significance of osteopontin(OPN) as a tumor marker in peripheral blood of patients with gastric cancer. **Methods** Serum levels of OPN in gastric cancer($n=205$) in pre- and post- operation and in control group($n=60$) were detected by ELISA methods. **Results** The sensitivity and specificity of OPN in patients with gastric cancer were 71.2% and 86.3% respectively. Serum levels of OPN were related with the expression of the tumor tissue, PTNM stage, lymph node involvement, presence of distant metastases, tumor size and recurrence. Pre- and post-operative serum levels of OPN were obviously different. **Conclusion** OPN is a potential tumor marker for gastric cancer.

Key words: gastric cancer; osteopontin; tumor marker

近年来研究发现,骨桥蛋白(OPN)与肿瘤的生长、增殖、侵袭及转移密切相关^[1-3]。进一步研究发现,外周血 OPN 作为一种新的肿瘤标志物与胃癌的发生、发展、侵袭、转移和预后具有密切的关系^[4]。但此类研究仅仅局限于外周血 OPN 的检测,很少有研究者将其与肿瘤组织 OPN 的表达结合起来,综合评判。本研究探讨胃癌患者血清 OPN 的检测的临床意义,并与肿瘤组织 OPN 的表达进行比较,更具有客观性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 205 例胃癌患者均为南京医科大学第二附属医院 2008 年 1 月至 2013 年 5 月收治。其中男 136 例,女 69 例;年龄 32~81 岁,中位年龄 63 岁。按 PTNM 分期标准分期,Ⅰ期 22 例,Ⅱ期 38 例,Ⅲ期 108 例,Ⅳ期 37 例。所有病例均经病理证实,病理组织学类型均为腺癌,术前未作治疗。对照组为 60 例健康志愿者,中位年龄 53 岁。患者于术前和术后 2 周各采血 5 mL,凝固后 1 500 r/min 离心 5 min,收集血清,−80 ℃保存。对照组取材方法同上。

1.2 主要试剂 OPN 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒购自武汉博士德生物工程公司,免疫组化用 OPN 抗体及试剂盒均购自北京中杉金桥公司。

1.3 方法 血清 OPN 的检测按照试剂盒说明书操作,先按 10 000、5 000、2 500、1 250、625、312、156 pg/mL 的质量浓度制作标准曲线,血清用生理盐水 100 倍稀释,以健康志愿者的 $\bar{x} \pm 1.96s$ 作为上下警戒值,计算上临界值为 73.5 ng/mL,余下按说明书进行。手术标本经 10% 中性福尔马林固定,常规脱

水,石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片,经 HE 及免疫组化染色。免疫组化采用 EnVision 两步法,DAB 显色。

1.4 统计学处理 应用 SPSS11.5 统计软件进行统计分析,两组间均数比较用 t 检验,多组间均数比较用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著意义。

2 结果

2.1 血清 OPN 检测的敏感性和特异性 血清 OPN 在胃癌中检测的敏感性和特异性分别为 71.2% (146/205) 和 86.3% (177/205)。

2.2 血清 OPN 与胃癌的临床及病理联系

2.2.1 胃癌组血清 OPN 与对照组的比较 胃癌患者术前及术后血清 OPN 的质量浓度分别为 (128.6 ± 75.2) 、 (73.8 ± 57.1) ng/mL,而对照组血清 OPN 的质量浓度为 (49.5 ± 38.7) ng/mL,术前与对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),术后与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),术前与术后比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2.2 胃癌组血清 OPN 与肿瘤组织 OPN 表达的关系 肿瘤组织 OPN 的表达以阳性细胞数所占的比例来表示(见图 1~2,见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”),阴性计分为 0,阳性率低于 1/3,计 1 分,阳性率大于 2/3,计 3 分,阳性率介于两者之间,计 2 分。结果 0 分者共有 38 例,其 OPN 浓度为 (53.8 ± 36.4) mg/mL;1 分者 65 例,其 OPN 浓度为 (82.4 ± 46.1) mg/mL;2 分者 73 例,其 OPN 浓度为 (102.5 ± 32.5) mg/mL;3 分者 29 例,其 OPN 浓度为 (162.9 ± 43.2) mg/mL。

统计结果显示,术前血清 OPN 的水平与肿瘤组织 OPN 的表达阴性与阳性有显著性差异($P<0.01$)。0 分组与 1、2、3 分组均有显著性差异($P<0.01$)。阳性各组之间有显著性差异($P<0.05$)。

2.2.3 胃癌组血清 OPN 与临床分期、肿瘤大小、转移、复发的关系 按 PTNM 分期,Ⅰ期血清 OPN 水平与对照组差异无统计学意义($P>0.05$),Ⅱ~Ⅳ期与对照组比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。Ⅰ期与Ⅱ~Ⅳ期组间差异有统计学意义($P<0.01$),Ⅱ~Ⅳ期组间差异无统计学意义($P>0.05$)。以肿瘤直径 5 cm 为界,将患者分为 2 组,统计结果显示,2 组间血清 OPN 水平有统计学差异($P<0.05$)。将患者按肿瘤是否转移分为 3 组:有淋巴结或远处器官转移组;无转移,但有脉管内癌栓组;无转移,也无脉管内癌栓组。统计结果显示,3 组间 OPN 水平差异有统计学意义($P<0.05$)。淋巴结内肿瘤转移和脉管内癌栓,见图 3~4(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。35 例复发病例的血清 OPN 的水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$),但与术前差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 不同临床特征胃癌患者血清 OPN 的比较

组别	<i>n</i>	OPN(ng/mL)
对照组	60	49.5±38.7
胃癌组	205	128.6±75.2
PTNM 分期		
Ⅰ	22	53.8±29.6
Ⅱ	38	82.9±32.5
Ⅲ	108	135.8±46.2
Ⅳ	37	214.7±68.3
肿瘤直径		
≤5 cm	164	84.2±38.9
>5 cm	41	147.3±63.9
转移		
无转移	74	63.5±36.8
脉管内癌栓	37	96.1±40.3
淋巴结及远处器官转移	94	185.4±65.7
复发	35	158.3±42.6

3 讨 论

OPN 是一种分泌型酸性糖蛋白,通过其受体整合素和 CD44 等发挥其生物学功能。研究发现,OPN 在正常胃黏膜不表达,在慢性萎缩性胃炎、不典型增生、胃癌及其侵袭转移灶中都有表达,且表达水平逐渐增强,提示胃癌的发生发展过程与 OPN 密切相关^[5-7]。进一步的基因筛查发现,OPN 是胃癌发生发展的一个相关基因^[5]。Dai 等^[8]研究发现 OPN 阳性的胃癌预后差于 OPN 阴性的胃癌,特别对于 TNM 分期为Ⅱ期和Ⅲ期的患者更有意义。Zhang 等^[9]研究发现,联合检测 OPN 及 CDX2 能够评价进展期胃癌的预后。目前认为 OPN 的表达水平与胃癌细胞的分化、增殖指数、肿瘤的分期、淋巴结及远处器官转移、血管侵犯都有很好的相关性,是评判肿瘤预后与复发的独立指标,是胃癌的一个颇具潜力的肿瘤标志物^[7-11]。由于 OPN 是分泌型蛋白,外周血比肿瘤组织更容易获得,因此,检测外周血 OPN 具有更大的临床应用价值^[6]。

本研究检测了 205 例胃癌患者血清 OPN 水平,与对照组相比,差异有统计学意义。患者手术治疗前后血清 OPN 的水平有明显差异,术后与对照组无明显差异,提示血清 OPN 可以反映患者的肿瘤负荷水平。患者血清 OPN 的水平与肿瘤组织 OPN 的表达量及肿瘤大小都具有相关性。当肿瘤体积较小时,虽然肿瘤组织高表达 OPN,但分泌入血的 OPN 的量并不多,因此血清 OPN 水平不高,但临床医生对这部分患者依然要保持高度警惕,因为其癌细胞的侵袭转移能力依然较强。因此,笔者认为,对于术前血清 OPN 阴性的患者,有必要检测肿瘤组织 OPN 的表达。

本研究分析了血清 OPN 水平与胃癌分期的关系,Ⅰ期与对照组无显著性差异,Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期与对照组及Ⅰ期均有明显差异,Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期组间无明显性差异。这与以前的研究结果基本类似,提示血清 OPN 对于进展期胃癌的临床价值可能更大一些。本组还研究了血清 OPN 水平与胃癌转移的关系,发现未见转移及脉管内癌栓组、脉管内癌栓组、淋巴结及远处器官转移组之间均有显著性差异,提示血清 OPN 的水平的胃癌的转移密切相关。笔者特别研究了 OPN 与脉管内癌栓的关系,发现无脉管内癌栓,其 OPN 水平的差异有显著性,这在前人的研究中很少提及。通过对 35 例复发病例的血清 OPN 检测发现,复发病例的血清 OPN 与对照组有明显差异,与其术前无明显差异,提示 OPN 可以作为胃癌术后随访的一个重要指标,因为它能反映患者的肿瘤负荷。

OPN 是一个与肿瘤侵袭转移相关的基因,目前的研究发现,它还是胃癌的一个潜在的靶向治疗位点^[4]。通过 OPN 抗体阻断其与结合位点的结合后发现可以抑制下游与肿瘤生长和侵袭相关的基因的表达。应用 RNA 干扰(RNAi)技术抑制 OPN 基因表达后,发现胃癌的生长侵袭转移能力下降,体外研究发现被种植肿瘤的小鼠的生存期延长。因此 OPN 可以作为胃癌的一个潜在靶向治疗位点设计相关的治疗药物。一旦相关的药物面世,OPN 的检测也将作为常规项目开展。

总之,OPN 作为一个颇具潜力的肿瘤标志物,对于胃癌的发生、发展、侵袭、转移和术后随访均具有较高的临床应用价值,同时,也是胃癌的一个潜在的靶向治疗位点。本文的创新之处是将胃癌血清 OPN 与肿瘤组织 OPN 的表达结合起来,并研究了其与脉管内癌栓的关系,更具客观性。

参考文献

[1] 俞文华,张国新. 骨桥蛋白:一种新的肿瘤标志物[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(12):1109-1111.

[2] Shevde LA, Das S, Clark DW, et al. Osteopontin: an effector and an effect of tumor metastasis[J]. Curr Mol Med, 2010, 10(1): 71-81.

[3] Servais EL, Suzuki K, Colovos C, et al. An in vivo platform for tumor biomarker assessment[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e26722.

[4] Cao DX, Li ZJ, Jiang XO, et al. Osteopontin as potential biomarker and therapeutic target in gastric and liver cancers[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(30): 3923-3930.

[5] Junnila S, Kakkola A, Mizuguchi T, et al. Gene expression analysis identifies over-expression of CXCL1, SPARC, SPP1, and SULF1 in gastric cancer[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2010, 49(1): 28-39.

[6] Wu CY, Wu MS, Chiang EP, et al. Elevated plasma osteopontin associated with gastric cancer development, invasion and survival [J]. Gut, 2007, 56(6): 782-789.

(下转第 3327 页)

实验组血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 单项检测,阳性检出率分别为 47.2%、58.5%、43.4%,3 项联合检测阳性检出率高达 79.2%;正常组血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 单项检测,阳性检出率分别为 2.0%、0.0%、0.0%,3 项联合检测阳性检出率仅为 2.0%。联合检测阳性检出率与单项检测阳性检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 两组检测指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Lp(a)(mg/L)	MA(g/L)	Hcy(μ mol/L)
正常组	49	218 \pm 69	36.8 \pm 6.9	7.4 \pm 2.2
实验组	53	379 \pm 157*	95.4 \pm 21.5*	30.9 \pm 9.1*

*: $P<0.05$,与正常组比较。

3 讨 论

CHD 又称缺血性心脏病,临床症状表现胸腔中央发生一种压榨性的疼痛,并可以迁延至颈、颌、手臂、后背及胃部,同时也有可能出现眩晕、气促、出汗、寒颤等,严重患者可能因为心力衰竭而死亡^[3]。Lp(a)是一种富含胆固醇的高分子质量脂蛋白,主要由载脂蛋白 A 和低密度脂蛋白成分通过二硫键共价结合而成^[4]。对心血管疾病和炎症的临床诊断以及预测 CHD 疾病程度具有一定参考价值。当 Lp(a) ≥ 0.3 g/L 时,对冠状动脉粥样硬化具有较高的预测价值。Hartmann 等^[5]研究证实,Lp(a)水平与冠状动脉内粥样斑块的面积大小相关,其代谢异常具有促进动脉粥样硬化和血栓形成的作用。IMA 形成可能与自由基的产生、氧张力下降及细胞改变等因素有关,可作为 CHD 灵敏的缺血指标辅助早期诊断^[6]。Hcy 是蛋氨酸转换成半胱氨酸的代谢途径中形成的一个重要中间产物,正常情况下极不稳定,其浓度增加可产生超氧化物及过氧化物、心肌细胞钙超载等病症,损伤血管内皮细胞,改变凝血因子功能,增加血栓形成倾向^[7]。Lp(a)、IMA 和 Hcy 水平变化对心血管疾病发生以及疾病发展中具有十分重要的价值,故本研究把 3 个指标作为 CHD 的病情预测和诊断的对象。本研究结果显示:实验组血清样本中 Lp(a)、IMA 和 Hcy 的浓度明显高于对照组,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。说明血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 指标对 CHD 疾病的鉴别诊断具有一定的参考价值,在 CHD 疾病中均有不同程度的变化,可作为 CHD 病变情况的一个较好的临床常规预测指标。

Lp(a)的主要病理作用是致动脉粥样硬化,是 CHD 等动脉粥样硬化性疾病的独立危险因素之一^[8]。IMA 虽然对动脉粥样硬化没有直接联系,但作为早期心肌缺血诊断有效生化指标,对 CHD 患者心肌缺血程度具有较高诊断的意义^[9]。Hcy 参与内皮损伤及动脉粥样硬化形成的过程,动脉粥样硬化与 Hcy 的联系主要表现为游离的巯基基团介到 H₂O₂ 生成,产生细胞毒素;抑制 C 蛋白的活化;可增加 Lp(a)与纤维蛋白结合等。因而在对 CHD 的病情评估、预测及诊断具有一定参考价

值。以上 3 个检测指标若采用单项检测的方式导致其阳性检出率降低,而多项联合检测的方式可提高对其的阳性检出率。从而可降低对 CHD 高危个体的漏诊率^[10]。故此本研究采用了血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 单项检测与联合检测的方式对其实验样本进行检测结果比较,实验组血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 单项检测,阳性检出率分别为 47.2%、58.5%、43.4%,3 项联合检测阳性检出率高达 79.2%;正常组血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 单项检测,阳性检出率分别为 2.0%、0.0%、0.0%,3 项联合检测阳性检出率仅为 2.0%。联合检测阳性检出率与单项检测阳性检出率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。说明 Lp(a)、IMA 和 Hcy 三者采用联合检测的方式可提高 CHD 的阳性检出率,对 CHD 疾病的确诊提供具有参考价值的依据。

综上所述,联合检测血清 Lp(a)、IMA 和 Hcy 的水平可作为诊断 CHD 临床常规预测指标,有助于提高 CHD 疾病的阳性检出率,其浓度水平变化能为 CHD 的临床诊断、治疗和预后提供一定参考依据。

参考文献

[1] 孙淑华. 腰围身高比值与冠状动脉粥样硬化性心脏病相关性研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(4): 351-352, 355.
[2] 刘兆平. 2011 美国冠状动脉及其他动脉粥样硬化性血管疾病二级预防指南解读[J]. 中国医学前沿杂志, 2012, 4(8): 67-69.
[3] 肖树平, 林艳. 丹红注射液治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(34): 304-305.
[4] Onat A, Hergenc G, Ozhan H, et al. Lipoprotein(a) is associated with coronary heart disease independent of metabolic syndrome[J]. Coron Artery Dis, 2008, 19(3): 125-131.
[5] Hartmann M, von Birgelen C, Mintz GS, et al. Relation between lipoprotein(a) and fibrinogen and serial intravascular ultrasound plaque progression in left main coronary arteries[J]. J Am Coll cardiol, 2006, 48(3): 446-452.
[6] 李新春, 刘志琴, 李小红. 缺血修饰白蛋白对急性冠状动脉综合征诊断价值的研究[J]. 医学综述, 2012, 18(9): 1410-1412.
[7] 海滨, 张岩, 杨莉, 等. 同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白和脂蛋白 a 联合检测在冠状动脉粥样硬化性心脏病诊断中的应用[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(11): 1042-1043.
[8] 陶丹丹, 陈慧红. 超敏 C 反应蛋白、高密度脂蛋白胆固醇和脂蛋白(a)联合检测在冠状动脉粥样硬化性心脏病检测中的应用价值[J]. 实用医技杂志, 2013, 20(2): 168-169.
[9] 安亚平, 刘志琴, 黄山. 缺血修饰白蛋白对急性冠状动脉综合征诊断价值的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2009, 8(6): 372-374.
[10] 张银辉, 萧晓友, 曾冬梅, 等. 缺血修饰清蛋白对高脂血症患者继发急性冠状动脉综合征的预警作用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(12): 1283-1284, 1286.

(收稿日期: 2013-07-28)

(上接第 3325 页)

[7] Ue T, Yokozaki H, Kitadai Y, et al. Co-expression of osteopontin and CD44v9 in gastric cancer[J]. Int J Cancer, 1998, 79(2): 127-132.
[8] Dai N, Bao Q, Lu A, et al. Protein expression of osteopontin in tumor tissues is an independent prognostic indicator in gastric cancer[J]. Oncology, 2007, 72(1/2): 89-96.
[9] Zhang X, Tsukamoto T, Mizoshita T, et al. Expression of osteopontin and CDX2: indications of phenotypes and prognosis in

advanced gastric cancer[J]. Oncol Rep, 2009, 21(3): 609-613.
[10] Higashiyama M, Ito T, Tanaka E, et al. Prognostic significance of osteopontin expression in human gastric carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(12): 3419-3427.
[11] Imano M, Satou T, Itoh T, et al. Immunohistochemical expression of osteopontin in gastric cancer[J]. J Gastrointest Surg, 2009, 13(9): 1577-1582.

(收稿日期: 2013-08-16)