

• 论 著 •

前列腺癌患者血清人腺激肽释放酶 2 水平检测的临床价值

萧结容, 闵 玲, 杨素冰, 张其超

(广州医科大学附属肿瘤医院检验科, 广东广州 510000)

摘要:目的 探讨血清人腺激肽释放酶 2(hK2)的检测对于前列腺癌(PCa)患者早期诊断、预后判断和治疗手段的临床价值。方法 选取 2015 年 1~12 月期间于广州医科大学附属肿瘤医院就诊的 25 例 PCa 患者和 25 例前列腺增生(BPH)患者及 25 例健康男性作为研究对象,通过酶联免疫吸附试验(ELISA)、放射免疫分析法(RIA)对 hK2 和前列腺特异性抗原(PSA)水平进行检测。另随机选取进行过根治性前列腺全切术的 PCa 组患者 12 例,检测并分析其手术前后 hK2 水平。该文所得数据采用统计软件 SPSS21.0 建模处理。结果 PCa 组、BPH 组和健康组的 hK2 水平分别为 (75.5 ± 24.5) ng/L、 (23.3 ± 5.8) ng/L 和 (22.2 ± 3.56) ng/L,PCa 组明显高于 BPH 组和健康组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);hK2 检测 PCa 的特异度、准确度分别为 89% 和 78%,25 例 PCa 患者术后的 hK2 水平 $[(34.4 \pm 10.5)$ ng/L]与术前 $[(80.2 \pm 24.5)$ ng/L]相比较显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 hK2 诊断 PCa 患者能有效提高其检测特异度,减少患者不必要的活检率,为患者的早期临床检测、预后判断和治疗提供了新的方向,前景值得进一步挖掘。

关键词:前列腺癌; 人腺激肽释放酶 2; 前列腺特异性抗原; 临床价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)09-1186-02

Clinical value of human kallikrein 2 detection on patients with prostate cancer

Xiao Jierong, Min Ling, Yang Subing, Zhang Qichao

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Cancer Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

Abstract: Objective To study the clinical value of human kallikrein 2 detection on the early diagnosis, prognosis and therapeutic means of patients with prostate cancer. **Methods** 25 patients with prostate cancer and 25 patients with benign prostatic hyperplasia who were treated in affiliated hospital of Guangzhou Medical University between January 2015 and December 2015 were selected as research objects. Their human kallikrein 2 and prostate specific antigen level were detected by ELISA and RIA. 25 cases of prostatic cancer after operation of our hospital in synchronization were randomly selected as research objects and their human kallikrein 2 level was detected and analysed. All the data was modeling processed by SPSS21.0. **Results** Human kallikrein 2 level of PCa group, BPH group and healthy group was (75.5 ± 24.5) ng/L, (23.3 ± 5.8) ng/L and (22.2 ± 3.56) ng/L respectively, which of PCa group was higher than that of BPH group and healthy group. The difference had statistical significance ($P < 0.05$). The specific and accuracy of hK2 detecting PCa was 89% and 78%. Compared with before operation $[(80.2 \pm 24.5)$ ng/L], hK2 level of 25 patients with prostate cancer $[(34.4 \pm 10.5)$ ng/L] significantly decreased and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** On diagnosing prostate cancer, human kallikrein 2 can improve specific detection, reduce unnecessary detected rate and provide the new direction for early clinical detection, prognosis and therapy. It deserves further promotion.

Key words: prostate cancer; human kallikrein 2; prostate specific antigen; clinical value

前列腺癌(PCa)是男性生殖系统较常见的恶性肿瘤,随着年龄的增长患病的概率越大,早期症状不明显,使得早期诊断工作困难重重。目前,临床上进行 PCa 早期诊断尚未有万全之策,因此怀疑患有 PCa 的患者在没有病理诊断的情况下,必须承受前列腺活体组织检查之苦。近年来,随着医疗手段的不断进步,研究人员为发现准确度高、特异度强与 PCa 相关的分子生物学指标而不断做出努力,成为相关学者聚焦的重点。相关研究显示,与前列腺特异性抗原(PSA)一样,由前列腺上皮细胞产生的存在于血循环或组织中的人组织激肽释放酶(KLKs)出现异常及其与恶性肿瘤的形成和发展之间的关系这一课题,越来越引发相关学者的激烈讨论^[1]。KLKs 分泌至循环系统中的血清人腺激肽释放酶 2(hK2),极大可能促进 PCa 增长^[2],因此,对于 PCa 的筛选、分期和研究的准确度、特异度而言,正确检测 hK2 变得尤为重要。然而,现阶段对于此诊断方法争议较大,尚未成熟^[3]。本研究通过 hK2 联免疫定量分析法来检测 PCa、前列腺增生(BPH)患者和健康人的血清 hK2 水平,对血清 hK2 水平和 PCa 的相关性进行探讨,为 PCa 的早

期诊断、预后判断和治疗提供有力依据。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1~12 月期间于广州医科大学附属肿瘤医院就诊的 PCa 患者 25 例(PCa 组)、BPH 患者 25 例(BPH 组)及健康男性 25 例(健康组)作为研究对象。PCa 组年龄 60~82 岁,平均年龄 (69.3 ± 5.2) 岁,且根据 2002 年 PCa AJCC 分期标准,Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期分别为 2 例、4 例、7 例和 12 例;BPH 组患者 25 例,年龄 53~80 岁,平均年龄为 (66.2 ± 2.5) 岁,且均符合以下标准:(1)PCa 和 BPH 患者均进行病理诊断已证实;(2)均在直肠指诊检查前或检查后的 1 周、活检后 2 周进行采血;未因前列腺疾病而接受治疗;(3)均未接受过前列腺疾病的相关治疗。健康组年龄 55~85 岁,平均年龄为 (70.8 ± 7.6) 岁。各组年龄间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法 分别抽取各组清晨空腹静脉血 5 mL,3 h 内分离血清,收集后集中检测 hK2 和 PSA。另随机选取进行过根治

性前列腺全切术的 Pca 组患者 12 例,检测并分析其手术前后的 hK2 水平。hK2 检测通过酶联免疫吸附试验(ELISA)、hK2 单克隆抗体(hK2mAb)、hK2 多克隆抗体(hK2pAb)、放射免疫分析法(RIA)、辣根过氧化物酶(HRP)标记抗 IgG 进行。操作步骤如下:组分配制的试剂盒,置于室温平衡 30 min,加入 50 μ L hK2 标准品,准备好空白对照组(10 g/L BSA/PBS)。稀释 hK2 pAb 100 μ L,每孔 1:2 000 稀释量,37 $^{\circ}$ C 培育 1 h;洗涤 3 次,加入 1:8 000 稀释的 HRP 标记抗 IgG 每孔 100 μ L,均通过 37 $^{\circ}$ C 培育 1 h 并洗涤 3 次。底物液每孔加入 100 μ L,避光显色 15 min 后每孔加入 2.0 mol/L H_2SO_4 50 μ L 并终止反应,酶标仪 450 nm 波长读取各孔吸光度(A)值,根据曲线图绘制标准曲线。PSA 检测方法为 RIA,使用试剂盒为 PSARIAkit 药盒,厂家为天津九鼎医学生物工程有限公司,PSA 正常参考值小于 4.0 ng/mL,使用仪器为 SN-695B 型智能放免 γ 检测仪,厂家为上海核所日环光电仪器有限公司。

1.3 统计学处理 所有数据均采用 SPSS21.0 统计软件进行建模处理,相关分析方法采用均数 *t* 检验、方差分析、 χ^2 检验和双变量,计数资料采用列联表计算比值比(OR)及其 95%CI 描述, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 hK2 水平检测结果比较 PCa 组、BPH 组和健康组

的 hK2 水平分别为(75.5 \pm 24.5)ng/L、(23.3 \pm 5.8)ng/L 和 (22.2 \pm 3.56)ng/L,PCa 组分别明显高于 BPH 组和健康组,差异具有统计学意义($t=0.688,P<0.05$)。15 例进行过根治性前列腺全切术的 PCa 患者在术前后需分别检测血清 hK2 水平 3 次,PCa 患者术前和术后的血清 hK2 分别为(80.2 \pm 24.5)ng/L 和(34.4 \pm 10.5)ng/L,其中术后有 12 例呈明显下降趋势,3 例无明显变化,差异有统计学意义($t=5.258,P<0.05$)。I、II、III、IV 期 PCa 患者血清 hK2 水平分别为(76.2 \pm 24.6)ng/L、(65.2 \pm 33.5)ng/L、(82.2 \pm 22.8)ng/L 和 (83.2 \pm 25.5)ng/L,差异均无统计学意义($P>0.05$)。BPH 组和 PCa 组的血清 PSA 水平分别为(8.99 \pm 4.87)ng/mL 和 (43.5 \pm 28.3)ng/mL,可知上述两组的 PSA 水平均比正常参考值(<4.0 ng/mL)略高,其中 PCa 组的 PSA 水平明显高于 PPH 组,差异有统计学意义($t=7.380,P<0.05$)。

2.2 血清 hK2 和 PSA 水平检测的诊断价值 KLKs 分泌至循环系统中的 hK2,hK2 水平高于正常水平为异常,经统计学数据处理,以健康组单侧 95%观察值上限 31.1 ng/L($\bar{x}+1.64s$)作为阳性界值可知,PCa 组和 BPH 组 hK2 升高的分别有 16 例(64%)和 3 例(10%)。若以 PSA <4.0 ng/mL 作为阳性界值,PCa 组 PSA 升高 24 例(96%),BPH 组 PSA 升高 13 例(52%),见表 1。

表 1 PCa 患者血清 hK2 和 PSA 水平检测的诊断价值[% (n/n)]

参考值	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确度
hK2(>31.1 ng/L)	64(16/25)	92(23/25)	88(22/25)	72(18/25)	78(39/50)
PSA(>4.0 ng/mL)	96(24/25)	52(13/25)	72(18/25)	88(22/25)	70(35/50)

通过比值比和 95%CI 得到 hK2 水平较高者患 PCa 的相对危险度,计算后显示与 hK2 水平低的患者相比,相对较高的 PCa 患者的相对危险度为 15.45(95%CI:3.82~63.15, $P<0.05$)。通过血清 hK2 诊断后,PCa 的 ROC 曲线下面积为 0.657(95%CI:0.622~0.881),标准误为 0.064。由此可得,对于 PCa 的筛选、分期和研究的准确度、特异度而言,正确检测 hK2 变得尤为重要。

3 讨 论

大量研究显示,在循环系统中 PSA 和 hK2 可共存,两者在核苷酸序列上具有 80%的同源性,都可由前列腺的上皮细胞表达且表达量最高^[2,4-5],其他组织相对较低,也许两者之间存在着某种功能关系。大胆推测 hK2 极大可能促进 PCa 增长,成为 PCa 发病途径中不可或缺的因素。本研究 PCa 组大幅度高于 BPH 组和健康组,且 BPH 组 hK2 与健康组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。hK2 的升高可能使 PCa 的危险性增高,对 PCa 的诊断有较高的准确度。研究中显示只用 PSA 检测 PCa,优点在于灵敏度高,但特异度较低。相比虽然 PCa 组 hK2 升高的阳性率较低。PCa 预后关系着患者到生活质量,成为临床关注的焦点。hK2 对于 PCa 病理分级和分期评估指标存在重要指导作用。本研究显示,分期后的 PCa 组中血清 hK2 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),而且与分期无明显的相关性。产生这一结果与相关报道不相符^[6-10],研究人员探讨后总结原因主要有以下几点:(1)hK2 检测存在不同方式,有一定关联;(2)各组人员入组时的不同个体存在一定差异;(3)PCa 的分期均为临床分期,可能导致分期误差。由于种种因素,使得研究结果未达到预期,也可能产生不同的新理论,都应在日后不断证实,加强相关研究的准确度。

in prostate,breast,and ovarian cancers:from pathobiology to clinical relevance[J]. Biol Chem,2012,393(5):301-317.

[2] 毕学成,何慧婷,戴奇山,等. 前列腺癌组织中人腺体激肽释放酶 2 基因表达值与 Gleason 评分的相关性分析[J]. 中华生物医学工程杂志,2008,14(3):208-210.

[3] Shariat SF,Scherr DS,Gupta A,et al. Emerging biomarkers for prostate cancer diagnosis, staging, and prognosis[J]. Arch Esp Urol,2011,64(8):681-694.

[4] 黄伟,吴培兴,陈晓军,等. 骨特异性碱性磷酸酶联合前列腺特异性抗原检测在前列腺癌骨转移中的诊断意义[J]. 现代实用医学,2015,27(10):1283-1284.

[5] 谢克俭,姜爱英,蔡强军,等. 腺激肽释放酶 2 酶联免疫定量分析法的建立及其方法学研究[J]. 中国免疫学杂志,2013,29(4):416-418.

[6] 罗亨全,江文聪,李本义. 磷脂酰肌醇-3-磷酸激酶与前列腺癌研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志,2015,35(4):597-601.

[7] 杨瑜,陈明,朱伟东,等. 两种方式前列腺癌根治术的临床差异分析[J]. 国际泌尿系统杂志,2015,35(6):804-807.

[8] 张伟,张亚群,崔娟,等. 老年人前列腺慢性炎症与前列腺癌及前列腺增生的相关性研究[J]. 中华老年医学杂志,2015,34(5):539-542.

[9] Liu M,Su HX,Wang X,et al. Association of prostate-specific antigen and digital rectalexamination with prostate cancer[J]. Chin J Urol,2012,33(11):872-875.

[10] 刘明,苏鸿学,王鑫,等. 血清前列腺特异性抗原及直肠指检与前列腺癌的相关性研究[J]. 中华泌尿外科杂志,2012,33(11):872-875.

(收稿日期:2015-12-25)

参考文献

[1] Avgeris M,Mavridis K,Scorilas A. Kallikrein-related peptidases