

论著·临床研究

胃癌患者血清生长分化因子 15 和胃癌抗原 724 检测及其临床价值探讨*

钱婀娜¹, 于泳², 杨宁³, 周艳丽¹

(1. 郑州市第十人民医院内科, 河南郑州 450000; 2. 郑州大学第五附属医院消化内科, 河南郑州 450000;

3. 郑州市中心医院急诊内科, 河南郑州 450000)

摘要:目的 探讨生长分化因子 15(GDF15)和胃癌抗原 724(CA724)在胃癌患者血清中的变化及临床意义。方法 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 30 例胃癌患者血清中 GDF15 水平,同时用电化学发光法(ECL)测定血清 CA724 水平,并与 32 例胃良性病变患者和 30 例健康对照者进行比较。结果 胃癌组患者血清 GDF15 和 CA724 水平分别为(1.58±0.53)ng/mL、(40.80±5.20)IU/mL,胃良性病变组患者血清 GDF15 和 CA724 水平分别为(0.26±0.11)ng/mL、(12.90±2.30)IU/mL,健康对照组 GDF15 和 CA724 水平分别为(0.17±0.08)ng/mL、(3.80±0.90)IU/mL,胃癌组患者血清 GDF15 和 CA724 水平显著高于胃良性病变组和健康对照组($P<0.01$)。血清 GDF15 水平与胃癌患者肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移密切相关($P<0.05$)。GDF15 诊断胃癌灵敏度为 83.3%,特异度为 83.9%,受试者工作特征曲线下面积(AUC)为 0.837;CA724 诊断胃癌的灵敏度为 90.0%,特异度为 76.5%,AUC 为 0.886。GDF15 和 CA724 联合检测时,AUC 为 0.920,显著高于单项检测。结论 GDF15 与胃癌的发生、发展有关,联合检测血清中 GDF15 和 CA724 有助于早期诊断胃癌,并判断患者预后。

关键词:胃癌; 生长分化因子 15; 胃癌抗原 724**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.11.007**中图法分类号:**R446.11;R735.2**文章编号:**1673-4130(2018)11-1303-04**文献标识码:**A

Detection and clinical value of serum growth differentiation factor 15 and gastric cancer antigen 724 in gastric cancer patients*

QIAN E'na¹, YU Yong², YANG Ning³, ZHOU Yanli¹

(1. Department of Internal Medicine, the Tenth People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan 450000, China; 2. Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China; 3. Department of Emergency Internal Medicine, Zhengzhou Central Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: Objective To investigate the change and clinical significance of growth differentiation factor 15 (GDF15) and gastric cancer antigen 724 (CA724) in serum of patients with gastric cancer. **Methods** Serum levels of GDF15 in serum of 30 patients with gastric cancer were detected by ELISA. The levels of serum gastric CA724 were measured by electrochemiluminescence, and 32 cases of benign gastric lesions and 30 healthy controls were compared. **Results** The levels of serum GDF15 and CA724 in patients with gastric cancer were (1.58±0.53)ng/mL and (40.80±5.20) IU/mL, respectively. The levels of serum GDF15 and CA724 in patients with benign gastric lesions were (0.26±0.11) ng/mL, (12.90±2.30) IU/mL ($P<0.01$). The levels of GDF15 and CA724 in normal control group were (0.17±0.08)ng/mL and (3.80±0.90)IU/mL respectively. The levels of serum GDF15 and CA724 in gastric cancer group were significantly higher than those in benign gastric lesions and normal control group ($P<0.01$). The level of serum GDF15 was closely related to tumor size, TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). The sensitivity of gastric cancer was 83.3%, the specificity was 83.9% and the AUC was 0.837. The sensitivity of CA724 was 90.0%, the specificity was 76.5% and the AUC was 0.886. The combined detection of AUC was 0.920, which was significantly higher than that of single detection. **Conclusion** GDF15 is associated with the development and progression of gastric cancer.

* 基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201702121)。

作者简介:钱婀娜,女,主治医师,主要从事消化内科研究。

本文引用格式:钱婀娜,于泳,杨宁,等.胃癌患者血清生长分化因子 15 和胃癌抗原 724 检测及其临床价值探讨[J].国际检验医学杂志, 2018,39(11):1303-1306.

Combined detection of GDF15 and CA724 in serum is helpful for early diagnosis of gastric cancer and prognosis.

Key words: gastric cancer; growth differentiation factor 15; gastric cancer antigen 724

胃癌作为消化系统中最常见的恶性肿瘤之一,其发病率近年来逐年增加^[1]。到 2015 年,中国胃癌患者总数约为 485 000 人,年增长率接近 2.63%,中国胃癌的死亡率约为每年 230.21/100 000^[2]。因此,对胃癌发病机制的研究已成为医学研究的重要方向。早期检测和早期治疗是诊断和治疗胃癌的最有效方法,找到与胃癌的发病机制和治疗相关的标志物是非常重要的。生长分化因子 15(GDF15)是转化生长因子-β(TGF-β)家族的重要成员,以往研究显示与肿瘤细胞的转移密切相关^[3]。目前,研究 GDF15 和胃癌之间相关性的报道较少^[4],本研究探讨 GDF15、CA724 和胃癌之间的相关性及其预后,为胃癌的诊断和治疗提供理论和实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 5~12 月郑州市第十人民医院、郑州市中心医院收治的胃癌患者 60 例,男 44 例,女 36 例,年龄(62.84±7.20)岁。纳入标准:(1)所选患者临床病理资料完整;(2)全部病例采血时均未经过化疗或放疗、免疫及抗肿瘤药物等治疗,病理标本均证实为胃癌。排除标准:(1)采血前经过放疗、化疗、免疫及抗肿瘤药物等治疗,病理证实为胃癌;(2)临床病理资料不完整。临床分期采用国际抗癌联盟(UICC)颁布的胃癌 TNM 分期法:Ⅰ期和Ⅱ期 20 例,Ⅲ期和Ⅳ期 40 例。淋巴结转移 38 例,无淋巴结转移 22 例。胃良性病变患者 32 例,年龄(59.37±8.86)岁,男 18 例,女 14 例,通过胃镜及活检排除胃癌,其中良性胃溃疡 12 例,急慢性胃炎 20 例。健康体检者 30 例作为健康对照组,男 16 例,女 14 例,年龄(56.93±7.79)岁,无心、肝、肺、肾等重要器官疾病,无消化道良性病变及恶性肿瘤。本研究经过郑州市第十人民医院伦理委员会审批通过,所有参加本研究的对象均签署知情同意书。

1.2 方法 严格按照血清收集标准采集,用一次性真空采血针抽取胃癌、胃良性病变患者及健康者晨起空腹静脉全血 3 mL,室温下静置 2 h,4 500 r/min 离心 10 min,在室温下静置 15 min 后储存在-80℃超低温水箱中冷冻保存,备用,检测 GDF15 和 CA724 水平。血清 GDF15 水平的测定采用酶联免疫吸附试验(ELISA),96 孔 ELISA kit GDF15 试剂盒为美国 Novatein Biosciences 公司产品。检测步骤严格按照说明书进行。在 450 nm 波长处应用酶标仪检测吸光度(A 值),通过 CurveExpert 1.4 软件计算并绘制 ELISA 标准曲线,计算样品中 GDF15 各孔的水平。血清 CA724 水平采用电化学发光法(ECL)检测,仪器及试剂为瑞士罗氏公司 Cobas e 601 全自动电化学发

光免疫分析仪及配套试剂盒。临床参考值按说明书设定,血清 CA724>6 U/mL 为阳性。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。在胃癌组中对比 GDF15、CA724 水平和各临床指标的关系采用 Mann-Whitney U 或 Kruskal-Wallis 检验。所有结果采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。为了比较肿瘤标志物对肝癌的诊断效能,应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)及 Rokit 的程序构建真阳性率和假阳性率关系。此外,ROC 曲线下面积(AUC)评估细胞因子指标的预测效能。以 AUC=1.000 为最理想检测指标,AUC<0.500 为无诊断价值。灵敏度和特异度的最大总和为血清细胞因子的临界值。

2 结果

2.1 血清 GDF15 与 CA724 蛋白水平在 3 组中的表达 胃癌组血清中 GDF15 平均水平明显高于胃良性病变组及健康对照组中的表达($P < 0.05$)。同样,血清 CA724 在胃癌患者的表达也显著高于胃良性病变患者和健康对照($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 血清 GDF15 和 CA724 蛋白水平在各组中的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CA724(U/mL)	GDF15(ng/mL)
胃癌组	60	40.80±5.20*#	1.58±0.53*#
胃良性病变组	32	12.90±2.30&	0.26±0.11&
对照组	30	3.80±0.90	0.17±0.08

注:与胃良性病变组比较,* $P < 0.05$;与健康对照组比较,# $P < 0.05$;与健康对照组比较,& $P > 0.05$

2.2 胃癌患者血清 GDF15、CA724 水平与临床病理特征的关系 胃癌患者血清 GDF15 水平与淋巴结有无转移和 TNM 分期有关($P < 0.05$),而与年龄、性别和肿瘤大小无关($P > 0.05$),CA724 只与淋巴结有无转移有关($P < 0.05$),而与年龄、性别、肿瘤大小和 TNM 分期均无关($P > 0.05$)。进一步研究 GDF15 和 CA724 在胃癌中表达的相关性,二者呈正相关($r = 0.384, P < 0.05$)。见表 2。

表 2 胃癌患者血清 GDF15 和 CA724 水平与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	CA724(U/mL)	GDF15(ng/mL)
年龄			
≤60 岁	14	38.20±6.90	1.71±0.28
>60 岁	46	42.70±5.30*	1.32±0.65*
性别			
男	44	39.90±6.40	1.46±0.38

续表 2 胃癌患者血清 GDF15 和 CA724 水平与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	CA724(U/mL)	GDF15(ng/mL)
女	16	42.60±3.90*	1.68±0.29*
肿瘤大小(cm)			
≤3.5	18	32.60±3.70	1.25±0.62
>3.5	42	46.90±4.60*	1.59±0.75*
淋巴结转移			
无	22	21.20±3.90	0.82±0.37
有	38	63.50±2.80#	1.73±0.25#
TNM分期			
I+II	20	32.50±2.70	0.78±0.29
III+IV	40	47.90±5.10*	1.82±0.31#

注:各临床病理特征组内比较,* P>0.05, # P<0.05

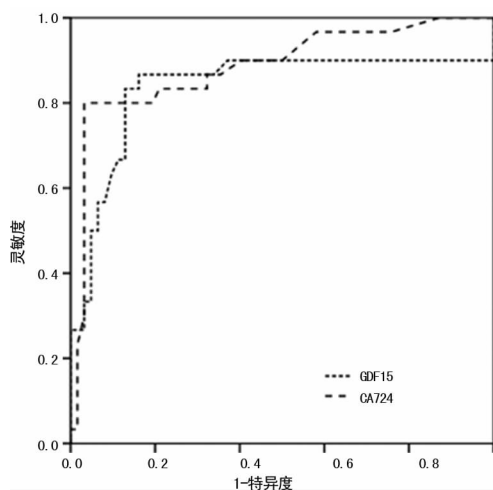


图 1 单独应用 GDF15 和 CA724 诊断胃癌的 ROC 曲线分析

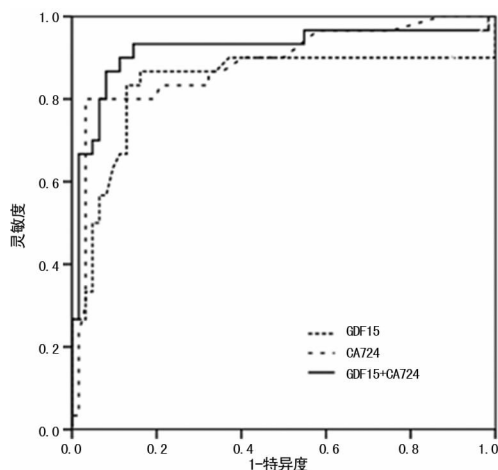


图 2 GDF15 和 CA724 联合诊断胃癌的 ROC 曲线分析

2.3 血清 GDF15 和 CA724 对胃癌诊断的性能评价

在胃癌组单独应用 GDF15 诊断的曲线下面积(AUC)为 0.837, 95%CI: 0.727~0.947; 单独应用 CA724 的 AUC 为 0.886, 95%CI: 0.805~0.966, 当 GDF15 的诊断临界点为 0.22 ng/mL 时, 诊断的灵敏

度和特异度最大, 分别为 83.3% 和 83.9%。当 CA724 为 6.00 U/mL 时, 其灵敏度和特异度分别为 90.0% 和 65.6%, 见图 1。本研究还分析了使用 GDF15 和 CA724 联合诊断胃癌, 二者结合后, AUC 是 0.920, 95%CI: 0.845~0.995, 显著高于二者单独应用(P<0.05), 见图 2。

3 讨论

作为常见的消化性疾病, 中国胃癌的发病率逐年增加^[5]。然而, 胃癌的发病机制以及许多涉及的信号分子和基因目前还不清楚, 这导致了没有有效的胃癌诊断和治疗方法这一事实。CA724 作为高分子量黏蛋白分子的一种, 是胃肠道恶性肿瘤的标志物, 目前的研究提示, 胃癌血清 CA724 水平显著升高是诊断胃癌最敏感的恶性肿瘤标志物之一^[6]。

GDF15 广泛参与细胞凋亡、分化和增殖等病理生理过程。近年来有许多研究发现 GDF15 表达水平在多种肿瘤的发生、发展阶段均有增高。有研究表明, GDF15 作为 TGF-β 家族的重要成员, 在胰腺癌和结肠癌细胞中比在正常细胞中表达更高的水平^[7-8]。有研究结果发现, GDF15 有助于成纤维细胞的激活, 是胃癌进展的功能性分泌分子, 可通过影响成纤维细胞功能及 TGF-β, 对胃癌的发展起重要作用^[9-10]。进一步的研究表明, 该基因可以通过旁分泌和自分泌进入周围细胞。GDF15 也可以通过一些信号通路影响下游信号分子的表达和作用, 还可以抑制树突状细胞的成熟和功能, 抑制肿瘤的特异性免疫应答^[11]。LEE 等^[12]研究发现在人胃癌细胞系 SNU-216 中 GDF15 过表达可通过胞外信号传导激酶 1/2(ERK1/2) 相关途径上调 uPA/uPAR 系统活性, 从而显著增加肿瘤细胞的侵袭性。BROWN 等^[13]研究显示, 在结肠癌患者血清中 GDF15 水平显著高于健康人群, 表明 GDF15 基因可作为结肠癌诊断和判断预后的标志物。本研究首先检测胃癌患者和健康者中 GDF15 基因的表达水平, 结果表明, 胃癌和胃良性疾病、健康人群相比血清中 GDF15 蛋白水平均有显著差异。有研究报道 GDF15 在多种肿瘤组织呈高表达状态, 并且在患者血液中的水平越高, 往往预后越差, 进一步还评价了血清 GDF15 的表达与胃癌临床指标之间的关系, 并且用来诊断胃癌的价值。本研究发现血清 GDF15 的表达与胃癌患者有无淋巴结转移和 TNM 分期有关, 表明其可作为胃癌预后的预测因子, GDF15 的水平可作为肿瘤诊断及判断预后的一个生物学指标^[14]。本研究结果显示, 在胃癌组, 当 GDF15 的诊断临界点为 0.22 ng/mL 时, 诊断的灵敏度和特异度最大; 当 CA724 为 6.00 U/mL 时, 其灵敏度和特异度分别为 90.0% 和 65.6%; 把 GDF15 和 CA724 结合起来检测可以显著提高胃癌诊断的灵敏度, 高于二者单独应用。

综上所述, GDF15 和 CA724 在胃癌的发生、发展

过程中发挥着重要作用,可作为一种新的胃癌诊断和预后的生物标志物,为胃癌的治疗寻求新的生物靶点。

参考文献

- [1] XI H, WU X, WEI B, et al. Aberrant expression of EphA3 in gastric carcinoma: correlation with tumor angiogenesis and survival[J]. *Gastroenterol*, 2012, 47(7): 785-794.
- [2] YANG L J, GAO W, BAI J Y, et al. Correlation between Interleukin-17 gene polymorphism and gastric cancer susceptibility in Han Chinese population[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(7): 1271-1282.
- [3] MEIER J C, HAENDLER B, SEIDEL H, et al. Knock-down of platinum-induced growth differentiation factor 15 abrogates p27-mediated tumor growth delay in the chemoresistant ovarian cancer model A2780cis [J]. *Cancer Med*, 2015, 4(2): 253-267.
- [4] LI Y L, CUI W, GAO F, et al. Downregulation of growth differentiation factor-15 in trichostatin A-induced apoptosis could play a role in progression of gastric cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7): 8136-8142.
- [5] SHEN Y H, XIE Z B, YUE A M, et al. Expression level of microRNA-195 in the serum of patients with gastric cancer and its relationship with the clinicopathological staging of the cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(7): 1283-1287.
- [6] BILGIC C I, TEZ M. Serum VEGF levels in gastric cancer patients: Correlation with clinicopathological parameters [J]. *Turk J Med Sci*, 2015, 45(1): 112-117.
- [7] LI C, WANG X, CASAL I, et al. Growth differentiation factor 15 is a promising diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer[J]. *Cell Mol Med*, 2016, 20(8): 1420-1426.
- [8] WANG X, LI Y, TIAN H, et al. Macrophage inhibitory cytokine 1 (MIC-1/GDF15) as a novel diagnostic serum biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(8): 578.
- [9] ISHIGE T, NISHIMURA M, SATOH M, et al. Combined Secretomics and Transcriptomics Revealed Cancer-Derived GDF15 is Involved in Diffuse-Type Gastric Cancer Progression and Fibroblast Activation[J]. *Sci Rep*, 2016, 19(6): 21681.
- [10] KIKUCHI Y, KUNITA A, IWATA C, et al. The niche component periostin is produced by cancer-associated fibroblasts, supporting growth of gastric cancer through ERK activation[J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(3): 859-870.
- [11] ZHOU Z, LI W, SONG Y, et al. Growth differentiation factor-15 suppresses maturation and function of dendritic cells and inhibits tumor-specific immune response [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78618.
- [12] LEE D H, YANG Y, LEE S J, et al. Macrophage inhibitory cytokine-1 induces the invasiveness of gastric cancer cells by upregulating the urokinase-type plasminogen activator system[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(15): 4648-4655.
- [13] BROWN D A, HANCE K W, ROGERS C J, et al. Serum macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1/GDF15): a potential screening tool for the prevention of colon cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21(2): 337-346.
- [14] BAUSKIN A R, BROWN D A, KRFFNER T, et al. Role of Macrophage Inhibitory Cytokine-1 in tumorigenesis and diagnosis of cancer [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(10): 4983-4986.

(收稿日期:2018-01-04 修回日期:2018-03-14)

(上接第 1302 页)

J Neurol Sci, 1994, 122(2): 189-203.

- [7] REIBER H, FELGENHAUER K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immuneresponse within the central nervous system[J]. *Clin Chim Acta*, 1987, 163: 319-328.
- [8] TOURTELLOTTE W A, FLEMING J O. Multiple sclerosis: measurement and validation of central nervous system IgG synthesis rate[J]. *Neurology*, 1980, 30: 240-244.
- [9] REIBER H. Flow rate of cerebrospinal fluid(CSF)-a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases [J]. *J Neurol Sci*, 1994, 122(2): 189-203.
- [10] REIBER H. The hyperbolic function: a mathematical solution of the protein flux/CSF flow model for blood-CSF barrier function[J]. *J Neurol Sci*, 1994(126): 243-245.
- [11] 邵素君, 王效敏. 急性脊髓炎与脊髓型多发硬化的对比研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16(10): 1531-1534.
- [12] DEISENHAMMER F, BARTOS A, EGG R, et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from An EFNS task force[J]. *Europ J Neurol*, 2006, 13(9): 913-922.
- [13] 郝洪军, 项俊, 高枫, 等. 中枢神经感染患者脑脊液免疫指标分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16(5): 683-685.

(收稿日期:2017-12-20 修回日期:2018-03-02)