

血清 Cripto-1 在胃癌早期诊断和疗效判断中的初步探讨*

苗文静¹, 张欣², 张艳丽³, 赵瑞², 杨咏梅², 张义^{2△}

(1. 日照市妇幼保健院检验科, 山东日照 276800; 2. 山东大学齐鲁医院检验科, 山东济南 250012;

3. 山东省立第三医院检验科, 山东济南 250012)

摘要:目的 探讨血清 Cripto-1 在胃癌诊断和疗效判断中的应用价值, 为临床提供参考依据。方法 选择 2018 年 1—6 月山东大学齐鲁医院收治的胃癌患者 79 例(胃癌组)、慢性萎缩性胃炎患者 42 例(慢性萎缩性胃炎组)和体检健康者 30 例(健康对照组)的血清标本。Cripto-1 采用酶联免疫吸附法检测, 癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 724(CA724)采用电化学免疫发光法测定。结果 胃癌组、萎缩性胃炎组和健康对照组血清 Cripto-1 水平中位数(四分位数)分别为 3.76(1.42~9.73) $\mu\text{g/L}$ 、0.71(0.34~0.86) $\mu\text{g/L}$ 、0.36(0.28~0.51) $\mu\text{g/L}$, 差异有统计学意义($P < 0.001$); 其中胃癌组血清 Cripto-1 水平高于萎缩性胃炎组和健康对照组(均 $P < 0.05$); 萎缩性胃炎组高于健康对照组($P < 0.05$)。血清 CEA 水平中位数(四分位数)3.46(2.15~4.59) U/L 和 CA724 水平 3.45(2.44~4.75) U/L 仅在胃癌组升高(均 $P < 0.05$)。Cripto-1 诊断胃癌的受试者工作特征曲线下面积为 0.818(95%CI: 0.747~0.876), 其明显高于 CEA 和 CA724(均 $P < 0.05$)。胃癌患者手术后血清 Cripto-1 水平明显低于手术前水平($P < 0.05$)。结论 血清 Cripto-1 在胃癌患者中表达升高, 经手术治疗后水平发生下降, 其诊断价值优于 CEA 和 CA724, 是一项潜在的胃癌早期诊断和疗效判断指标。

关键词: Cripto-1; 血清; 胃癌; 诊断; 疗效判断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.05.002

中图法分类号: R735.2; R446.1

文章编号: 1673-4130(2019)05-0518-04

文献标识码: A

Preliminary study of serum Cripto-1 in early diagnosis and therapeutic evaluation of gastric cancer*

MIAO Wenjing¹, ZHANG Xin², ZHANG Yanli³, ZHAO Rui², YANG Yongmei², ZHANG Yi^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Rizhao City, Rizhao, Shandong 276800, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Shandong Provincial Third Hospital, Jinan, Shandong 250012, China)

Abstract: **Objective** To explore the value of serum Cripto-1 in the diagnosis and treatment of gastric cancer, and to provide reference for clinical practice. **Methods** From January to June 2018, serum specimens of 79 patients with gastric cancer (gastric cancer group), 42 patients with chronic atrophic gastritis (chronic atrophic gastritis group) and 30 healthy subjects (healthy control group) were collected in Qilu Hospital of Shandong University. Cripto-1 was detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and carcinoembryonic antigen (CEA) and sugar chain antigen 724 (CA724) were determined by electrochemical immunoluminescence. **Results** Levels of serum Cripto-1 in gastric cancer group, chronic atrophic gastritis group and healthy control group were 3.76(1.42~9.73) $\mu\text{g/L}$, 0.71(0.34~0.86) $\mu\text{g/L}$ and 0.36(0.28~0.51) $\mu\text{g/L}$, and a significant difference was observed among 3 groups($P < 0.001$). Among them, levels of serum Cripto-1 in gastric cancer group were significantly higher than those in chronic atrophic gastritis group and healthy control group(all $P < 0.05$); levels in chronic atrophic gastritis group were significantly higher than those in healthy control group($P < 0.05$). Levels of serum CEA 3.46(2.15~4.59) U/L and CA724 3.45(2.44~4.75) U/L were only significantly increased in gastric cancer group($P < 0.05$). The area under the receiver operating characteristic

* 基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2017MH044); 山东省重点研发计划项目(2016GSF201122); 济南市科技发展计划项目(201805084, 201805003)。

作者简介: 苗文静, 女, 主管技师, 主要从事肿瘤标志物研究。△ 通信作者, E-mail: yizhang@sdu.edu.cn。

本文引用格式: 苗文静, 张欣, 张艳丽, 等. 血清 Cripto-1 在胃癌早期诊断和疗效判断中的初步探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(5):

curve for gastritis group diagnosis was 0.818(95%CI:0.747—0.876), significantly higher than CEA and CA724(all $P<0.05$). For gastric cancer patients, serum Cripto-1 were significantly decreased after operation when compared with levels in pre operation($P<0.05$). **Conclusion** The expression of serum Cripto-1 increased in patients with gastric cancer and decreased after operation. Its diagnostic value is better than that of CEA and CA724. It is a potential index for early diagnosis and evaluation of curative effect of gastric cancer.

Key words: Cripto-1; serum; gastric cancer; diagnosis; therapeutic evaluation

胃癌是全球最常见的恶性消化道肿瘤之一,发病率和病死率较高,严重威胁着人们的生命健康。我国也是胃癌的高发国家,发病率位列我国恶性肿瘤的第2位,并且发现时已多处于中晚期,患者预后较差,病死率高于全球平均水平,是我国肿瘤患者死亡的第三大原因^[1]。现普遍观点认为,胃癌如果能够早期发现,有望改善患者的预后,提高生存率^[2]。Cripto-1能够维持人和小鼠胚胎干细胞的多能性和自我更新能力,最初认为是一个干细胞标记物^[3]。近年来研究发现, Cripto-1在多种肿瘤组织中表达,并且在癌前病变中其表达就会升高^[4-7]。为此,本研究拟通过对胃癌患者血清 Cripto-1水平进行检测,并与传统肿瘤标志物癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 724(CA724)进行比较,探讨其在胃癌早期诊断和疗效判断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1—6 月在山东大学齐鲁医院收治的胃癌患者 79 例,均经组织病理学确诊,其中男 49 例,女 30 例,中位年龄 61.0(49.0~75.0)岁,术前未经任何放、化疗及免疫治疗;慢性萎缩性胃炎患者 42 例,经胃镜检查确诊,其中男 27 例,女 15 例,中位年龄 59.5(47.8~72.0)岁;健康体检者 30 例为健康对照组,经 B 超、肝肾功检查正常,其中男 18 例,女 12 例,中位年龄 61.5(47.5~80.3)岁。

1.2 仪器与试剂 Cripto-1 ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司,在美国热电 Multiskan FC 型酶标仪上测定;CEA 和 CA724 采用罗氏 E 601 电化学发光免疫分析仪及原装配套试剂检测。

1.3 方法 采集待测者空腹静脉血 3 mL,排除脂血、溶血标本,1 h 内 4℃ 1 500 g 离心 10 min,收集血清,于-80℃保存。血清 Cripto-1 采用酶联免疫吸附法检测,CEA 和 CA724 采用电化学免疫发光法测定,

严格按说明书操作进行。

1.4 统计学处理 各组血清 Cripto-1、CEA、CA724 水平经 Kolmogorov-Smirnov 分析呈偏态分布,用中位数(四分位数)[$M(Q_{25} \sim Q_{75})$]表示,3 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;血清 Cripto-1 手术前后比较采用配对样本的 Wilcoxon 符号秩检验,用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。受试者工作特征曲线(ROC 曲线)绘制采用 MedCalc 9.3.9.0 统计软件,曲线下面积(AUC)比较采用 Z 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 Cripto-1、CEA 和 CA724 水平比较 胃癌组、萎缩性胃炎组和健康对照组性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);血清 Cripto-1、CEA 和 CA724 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。其中胃癌组血清 Cripto-1 水平高于萎缩性胃炎组和健康对照组(均 $P<0.05$);萎缩性胃炎组血清 Cripto-1 水平高于健康对照组($P<0.05$)。胃癌组血清 CEA 和 CA724 水平高于萎缩性胃炎组和健康对照组(均 $P<0.05$),而萎缩性胃炎组和健康对照组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 Cripto-1 与 CEA 和 CA724 对胃癌的诊断价值比较 ROC 曲线显示, Cripto-1 诊断胃癌的 AUC 为 0.818(95%CI:0.747~0.876),其明显高于 CEA [0.642(95%CI:0.560~0.719)]和 CA724 [0.661(95%CI:0.579~0.736)],差异有统计学意义($Z=3.419, P=0.001; Z=3.099, P=0.002$);而 CEA 和 CA724 诊断胃癌的 AUC 比较,差异无统计学意义($Z=0.355, P=0.723$)。见图 1。Cripto-1 取最佳临界值时,其诊断胃癌的灵敏度、特异度、阳性似然比和阴性似然比均高于 CEA 和 CA724,见表 2。

表 1 各组血清 Cripto-1、CEA 和 CA724 水平比较[$M(Q_{25} \sim Q_{75})$]

组别	性别(男/女, n/n)	年龄(岁)	Cripto-1($\mu\text{g/L}$)	CEA(U/L)	CA724(U/L)
健康对照组 ^a	18/12	61.5(47.5~80.3)	0.36(0.28~0.51)	2.40(1.20~2.82)	2.16(1.49~2.76)
萎缩性胃炎组 ^b	27/15	59.5(47.8~72.0)	0.71(0.34~0.86)	2.47(1.94~3.67)	2.65(1.51~4.04)
胃癌组 ^c	49/30	61.0(49.0~75.0)	3.76(1.42~9.73)	3.46(2.15~4.59)	3.45(2.44~4.75)
χ^2/H_{all}	0.140	0.659	108.100	11.660	13.230
P_{all}	0.932	0.719	<0.001	0.003	0.001

续表 1 各组血清 Cripto-1、CEA 和 CA724 水平比较[M(Q₂₅~Q₇₅)]

组别	性别(男/女,n/n)	年龄(岁)	Cripto-1(μg/L)	CEA(U/L)	CA724(U/L)
U _a vs. b	—	—	334.000	508.500	523.500
P _a vs. b	—	—	<0.001	0.167	0.227
U _a vs. c	—	—	0.000	732.500	677.000
P _a vs. c	—	—	<0.001	0.002	0.001
U _b vs. c	—	—	98.000	1 251.00	1 253.00
P _b vs. c	—	—	<0.001	0.026	0.027

注：—表示未做两两比较

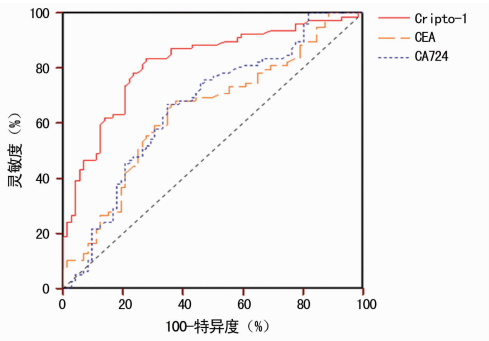


图 1 Cripto-1、CEA 和 CA724 诊断胃癌的 ROC 曲线比较

表 2 3 项指标检测诊断胃癌的诊断效果比较

检测指标	最佳 临界值	AUC	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性 似然比	阴性 似然比
Cripto-1(μg/L)	0.86	0.818	83.54	72.22	3.01	0.23
CEA(U/L)	2.61	0.642	65.82	65.28	1.90	0.52
CA724(U/L)	2.79	0.661	67.09	65.28	1.93	0.50

2.3 Cripto-1 在胃癌疗效监测中的作用 收集其中 30 例胃癌患者术后 7 d 血清,对 Cripto-1 进行检测,发现 22 例(73.3%)患者术后血清 Cripto-1 水平发生下降,8 例(26.7%)患者出现升高。胃癌患者手术后血清 Cripto-1 水平为 2.69(1.53~4.80)μg/L,明显低于手术前的 5.46(1.24~14.93)μg/L,差异有统计学意义($P=0.001$)。见图 2。

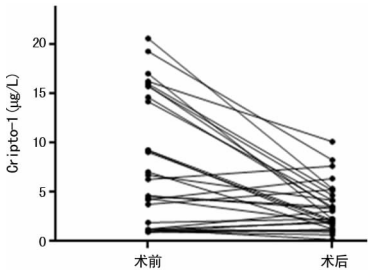


图 2 胃癌患者手术前后 Cripto-1 水平比较

3 讨 论

Cripto-1 最初是从人类 NTERA-2 畸胎瘤 cDNA 文库中分离和克隆的,是表皮生长因子(EGF)-CFC 家族的结构相关蛋白成员之一,在早期胚胎发育不可

或缺^[8]。Cripto-1 定位于人染色体 3p21.3,编码 188 个氨基酸,含有特征性 EGF 样结构域^[9]。有研究显示^[10-11],Cripto-1 可以特异度结合与膜相关的硫酸乙酰肝素蛋白多糖的磷脂酰肌醇蛋白聚糖-1,并激活酪氨酸激酶 c-Src,触发丝裂原活化蛋白激酶和 Akt 信号通路,然后促进细胞增殖、迁移和浸润。同时,Cripto-1 还通过与激活素和生长因子 β(TGF-β)配体和受体形成复合物,抑制激活素和 TGF-β 信号传导,促进肿瘤细胞存活和增殖^[12-13]。另外,Cripto-1 还参与肿瘤细胞的上皮-间皮转化,从而促进肿瘤细胞的浸润和转移^[14]。2018 年 XU 等^[15]采用 ELISA 方法对 312 例非小细胞肺癌患者血清中 Cripto-1 水平进行检测,发现非小细胞肺癌患者血清中 Cripto-1 水平明显高于健康对照者,并且和患者的 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移和生存期密切相关;COX 比例回归模型分析显示,血清 Cripto-1 水平是非小细胞肺癌患者预后的独立预测因素,提示 Cripto-1 有望作为一种非侵入性指标用于肿瘤诊断和预后判断。

胃癌的发生发展是一个多步骤、多因素共同作用的过程。ZHANG 等^[16]采用免疫组织化学方法对胃相关疾病患者组织中 Cripto-1 的表达进行分析,发现胃癌患者、慢性萎缩性胃炎患者、肠上皮化生患者以及异型增生患者组织中 Cripto-1 的表达显著高于正常的胃黏膜组织,提示 Cripto-1 参与胃癌的发生发展。本研究采用无创性的 ELISA 方法对胃癌患者血清 Cripto-1 进行检测,结果显示胃癌组血清 Cripto-1 水平高于萎缩性胃炎组和健康对照组,萎缩性胃炎组血清 Cripto-1 水平高于健康对照组;与此同时,CEA 和 CA724 虽在胃癌组表达升高,而在萎缩性胃炎组和健康对照组无显著差异,提示血清 Cripto-1 较传统肿瘤标志物在早期预测胃癌发生上更具有潜在的应用价值。本研究进一步采用 ROC 曲线分析其对胃癌的诊断价值,发现 Cripto-1 诊断胃癌的诊断效能要明显优于 CEA 和 CA724;当 Cripto-1 取最佳临界值时,其诊断胃癌的灵敏度、特异度、阳性似然比和阴性似然分别为 83.54%、72.22%、3.01 和 0.23,均高于 CEA 和 CA724。同时本研究还对 30 例胃癌患者术

后血清 Cripto-1 进行检测,发现 73.3%患者术后血清 Cripto-1 水平下降,并且手术后血清 Cripto-1 水平明显下降,提示其还可作为胃癌患者的一项疗效判断指标。目前关于 Cripto-1 在胃癌发生中的机制研究还较少,有研究显示, Cripto-1 在胃癌组织中与 p-STAT3 的表达相关,提示其可以通过 STAT3 信号通路的激活,促进下游癌基因的表达,促进胃癌的发生^[16]。同时,本研究的样本例数还较少,下一步拟加大样本量,进行多中心研究,建立其参考区间,进一步明确血清 Cripto-1 在胃癌中的临床应用价值。另外,有关血清中其他指标是否对血清 Cripto-1 的检测造成干扰也有待进一步研究。

4 结 论

目前,胃癌的早期诊断和疗效判定仍未达临床的需求,是临床一直关注的焦点和难题。CEA 和 CA724 作为临床应用较为广泛的肿瘤标志物,其在胃癌诊断和疗效判定中的效果还不甚理想。Cripto-1 是近年来新发现的一种标志物分子,本研究用于胃癌患者的检测,发现其诊断的灵敏度和特异度均高于传统肿瘤标志物,并且治疗后水平迅速下降,提示其在胃癌早期诊断和疗效判断中具有潜在的应用价值。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, ZHANG S, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2013[J]. *Cancer Lett*, 2017, 401: 63-71.
- [2] NAMIKAWA T, ISHIDA N, TSUDA S, et al. Successful treatment of liver metastases arising from early gastric cancer achieved clinical complete response by nivolumab[J]. *Surg Case Rep*, 2018, 4(1): 71.
- [3] POROKH V, VAÑHARA P, BÁRTA T, et al. Soluble Cripto-1 induces accumulation of supernumerary centrosomes and formation of aberrant mitoses in human embryonic stem cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2018, 27(16): 1077-1084.
- [4] SILVA L P, DA SILVA L A B, SEDASSARI B T, et al. Cripto-1 is overexpressed in carcinoma ex pleomorphic adenoma of salivary gland[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2018, 275(6): 1595-1600.
- [5] ZHANG H, ZHANG B, GAO L, et al. Clinical significance of cripto-1 expression in lung adenocarcinoma[J].

- Oncotarget*, 2017, 8(45): 79087-79098.
- [6] LIU Q, CUI X, YU X, et al. Cripto-1 acts as a functional marker of cancer stem-like cells and predicts prognosis of the patients in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 81.
- [7] WANG J H, WEI W, XU J, et al. Elevated expression of Cripto-1 correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33): 35116-35128.
- [8] PARK S W, DO H J, HAN M H, et al. The expression of the embryonic gene Cripto-1 is regulated by OCT4 in human embryonal carcinoma NCCIT cells[J]. *FEBS Lett*, 2018, 592(1): 24-35.
- [9] KLAUZINSKA M, CASTRO N P, RANGEL M C, et al. The multifaceted role of the embryonic gene Cripto-1 in cancer, stem cells and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 29: 51-58.
- [10] ZHANG Y, MI X, SONG Z, et al. Cripto-1 promotes resistance to drug-induced apoptosis by activating the TAK-1/NF- κ B/survivin signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 729-737.
- [11] KALYAN A, CARNEIRO B A, CHANDRA S, et al. Nodal Signaling as a Developmental Therapeutics Target in Oncology[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(5): 787-792.
- [12] SHAN Y, LI S. Expression of Cripto-1 gene protein and activin-A in human lung adenocarcinoma tissue[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2015, 28(2 Suppl): 739-743.
- [13] LO R C, LEUNG C O, CHAN K K, et al. Cripto-1 contributes to stemness in hepatocellular carcinoma by stabilizing dishevelled-3 and activating Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(8): 1426-1441.
- [14] LIU Y, QIN Z, YANG K, et al. Cripto-1 promotes epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer via Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(3): 1521-1528.
- [15] XU C H, CHI C Z, ZHANG Q, et al. Diagnostic and prognostic value of serum Cripto-1 in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Clin Respir J*, 2018, 12(10): 2469-2474.
- [16] ZHANG J G, ZHAO J, XIN Y. Significance and relationship between Cripto-1 and p-STAT3 expression in gastric cancer and precancerous lesions[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(5): 571-577.

(收稿日期: 2018-09-20 修回日期: 2018-11-22)