

• 短篇论著 •

结直肠癌患者血清中骨膜蛋白与癌胚抗原的变化分析*

张业霞¹, 张佳伦¹, 邵文锦², 赵 晶³, 李淑敏⁴

(菏泽医学专科学校: 1. 免疫与微生物学教研室; 2. 学报编辑部; 3. 预防医学教研室, 山东菏泽 274000; 4. 菏泽市立医院检验科, 山东菏泽 274000)

摘 要:目的 探讨分析结直肠癌患者血清中骨膜蛋白与癌胚抗原(CEA)的变化表达及其与临床病理特征的关系。方法 选取该院临床确诊结直肠癌患者 80 例为结直肠癌组, 同期体检健康者 60 例为对照组, 分别检测 2 组血清中骨膜蛋白及 CEA 水平, 采用 SPSS20.0 软件对结果进行统计学处理。结果 结直肠癌组患者血清骨膜蛋白和 CEA 水平均远高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其水平与患者年龄、性别无关($P > 0.05$)。患者临床 Dukes 分期越高、细胞分化越低者, 血清骨膜蛋白和 CEA 水平越高。结论 骨膜蛋白与 CEA 在结直肠癌患者血清中的表达明显增高, 对患者病情诊断有重要参考价值。

关键词:结直肠癌; 骨膜蛋白; 癌胚抗原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.22.030

文章编号:1673-4130(2019)22-2805-03

中图法分类号:R574.6, R446.6

文献标识码:B

大肠癌又称结直肠癌, 是源自肠黏膜上皮的恶性肿瘤, 其发病率在全球逐渐增加, 已上升到癌症发病率的第 3 位。由于其高发病率、恶性行为、缺乏治疗策略的重大进展, 且不同的临床病理特征可能会影响结直肠癌的预后, 早期预防和早期诊断对控制结直肠癌的发病及预后非常关键。常见的血清学肿瘤标志物如癌胚抗原 CEA)、糖链抗原 19-9(CA19-9)等已广泛应用于结直肠癌的筛查、辅助诊断和疗效判断, 但其存在着诊断灵敏度或特异度不足的缺陷。越来越多的证据表明, 很多遗传标志对结直肠癌的生物学行为有重要影响, 某些基因在肿瘤细胞中的异常表达与肿瘤细胞进展的各个方面, 如肿瘤细胞的生长、侵袭和转移、抑癌基因的失活等密切相关。骨膜蛋白是一种重要的候选基因, 研究发现其在多种人类肿瘤如结直肠癌、胃癌、肺癌等中均过表达^[1-6]。因此, 为进一步明确骨膜蛋白在结直肠癌中的诊断价值, 了解骨膜蛋白与 CEA 在结直肠癌患者血清中的表达差异, 探索血清骨膜蛋白在结直肠癌诊断及病情判断中的效能, 特开展此研究, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取菏泽市立医院临床确诊结直肠癌患者 80 例(均为病理诊断确诊)为结直肠癌组, 所有患者术前均未接受任何化疗、放疗及生物靶向治疗等辅助治疗措施, 并排除糖尿病、高血压、肾病等疾病。其中男 49 例, 女 31 例, 年龄 29~75 岁, 中位年龄 52 岁; 结肠癌 46 例, 直肠癌 34 例; 患者 Dukes 临床分期: A 期 15 例, B 期 31 例, C 期 23 例, D 期 11 例; 病理组织学分型: 腺癌 53 例, 黏液癌 18 例, 未分化癌 9 例。无菌采集患者空腹静脉血液样本, 室温静

置 30 min, 2 500 r/min 离心 20 min 后提取血清, 低温保存备用。同时选取同期体检健康者 60 例作为健康对照组, 包括男 37 例, 女 23 例, 年龄 27~73 岁, 中位年龄 50 岁, 其各项体检指标均正常。2 组在性别、年龄等方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性, 所有结直肠癌患者及健康对照者均知情同意本研究, 并经菏泽市立医院伦理委员会批准。

1.2 方法 应用酶联免疫吸附试验(ELISA, Sigma)法检测结直肠癌患者和健康对照组血清中骨膜蛋白水平, 采用双抗体夹心法, 严格按试剂盒说明书操作。主要步骤为: 将 6 种不同水平的 Periostin 标准品(0.5、1.0、5.0、10.0、30.0、50.0 ng/mL)及健康对照者和结直肠癌患者血清各 100 μ L 分别加至相应孔(每份标准品及待检标本均做复孔), 将反应板置 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 2 h 后, 洗板 4 次。每孔分别加 5 μ L 兔抗人 Periostin 单克隆抗体和 HRP 标记的羊抗兔 IgG, 然后置 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 1 h, 然后每孔分别加显色液 DAB 和 H_2O_2 , 再置 37 $^{\circ}$ C 温箱避光显色 20 min, 最后加 2 mol/L 的 H_2SO_4 以终止反应。设空白孔为零, 于酶标仪 450 nm 处读取吸光度值(A 值)。以标准品水平为横坐标, A 值为纵坐标, 绘制标准曲线, 根据样品 A 值, 从标准曲线上查出相应水平, 再乘以稀释倍数, 计算出待检血清 Periostin 水平。应用电化学发光免疫分析法测定结直肠癌患者和健康对照者血清中 CEA 水平, 原理亦是双抗夹心法, 严格按试剂盒说明书要求操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计学软件对结果进行统计学处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间采用单因素方差分析, 2 组间采用两独立样本 t 检验, 以

* 基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(J18KB123)。

本文引用格式:张业霞, 张佳伦, 邵文锦, 等. 结直肠癌患者血清中骨膜蛋白与癌胚抗原的变化分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(22): 2805-2807.

$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组血清骨膜蛋白与 CEA 检测结果 结直肠癌组血清中骨膜蛋白和 CEA 水平均远高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 结直肠癌患者血清中骨膜蛋白和 CEA 水平与其临床病理特征的关系 结直肠癌患者血清中骨膜蛋白和 CEA 水平表达在不同年龄(≥ 60 岁、 < 60 岁)、不同性别患者中差异无统计学意义($P>0.05$)。随患者临床 Dukes 分期的增高,患者血清骨膜蛋白和 CEA 水平逐渐升高,在结直肠癌不同病理组织学类型中,未分化癌血清骨膜蛋白和 CEA 水平最高,其次是黏液癌和腺癌,肿瘤分化程度越低,骨膜蛋白和 CEA 水平越高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2、3。

表 1 2 组血清骨膜蛋白与 CEA 检测结果 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

变量	结直肠癌组($n=80$)	健康对照组($n=60$)	t	P
骨膜蛋白	36.3±13.2	19.7±6.3	8.977	<0.001
CEA	13.7±3.8	2.2±0.3	23.366	<0.001

表 2 结直肠癌患者血清骨膜蛋白和 CEA 水平与年龄、性别的关系 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

项目	n	骨膜蛋白	CEA
年龄(岁)			
≥60	56	37.1±12.5	15.1±4.8
<60	24	34.4±11.7	17.4±5.1
t		0.902	1.928
P		0.37	0.057
性别			
男	49	37.3±11.8	13.9±4.2
女	31	34.7±12.4	13.4±4.7
t		0.941	0.495
P		0.35	0.622

表 3 结直肠癌患者血清中骨膜蛋白和 CEA 水平与临床 Dukes 分期、病理组织学类型的关系 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

项目	n	骨膜蛋白	CEA
临床 Dukes 分期			
A 期	15	29.2±8.7	7.2±2.1
B 期	31	33.6±9.1	12.7±3.8
C 期	23	38.4±8.3	15.6±4.5
D 期	5	49.3±13.7	21.4±6.9
F		10.747	25.037
P		<0.001	<0.001
病理组织学类型			
腺癌	53	30.6±9.3	11.3±4.6
黏液癌	18	44.3±12.9	16.2±6.3
未分化癌	9	53.7±13.4	22.8±6.8
F		23.426	19.548
P		<0.001	<0.001

3 讨 论

骨膜蛋白是一种来源于鼠成骨细胞的蛋白质,因其在骨膜和牙周韧带的定位表达而被称为骨膜蛋白,由 811 个氨基酸残基构成^[1]。研究发现在多种人类

肿瘤中,如乳腺癌、胃癌、肺癌、卵巢癌等,骨膜蛋白均过表达^[2-6]。人源骨膜蛋白由 836 个氨基酸残基组成,基因定位于第 13 号染色体长臂上,大小约为 36 kb,相对分子质量约为 93.33×10^3 ,与鼠的氨基酸同源性约为 89.2%,具有高度的保守性。骨膜蛋白属于成束蛋白家族成员,属分泌性细胞外基质蛋白,它含有 1 个 NH₂-末端信号肽序列,1 个胱氨酸结构域,4 个同源性重复区(120~160 个氨基酸)和 1 个亲水 COOH-末端结构域。骨膜蛋白的 COOH-末端可与多种细胞外基质蛋白结合,如胶原蛋白、纤维连接蛋白、生腱蛋白-C 等,从而发挥调节细胞与基质间的组成、相互作用、改变结缔组织的生物力学特性构建网状结构等重要作用。

骨膜蛋白作为 $\alpha v\beta 3$ 和 $\alpha v\beta 5$ 整合素的配体有助于卵巢上皮细胞的黏附和迁移。骨膜蛋白通过 $\alpha v\beta 3$ 整合素激活 Akt/PKB 标志性通路以增加细胞的生存、黏附及扩散,整合素的表达水平与结直肠癌的转移和复发有关^[7]。虽然骨膜蛋白在多种肿瘤及结直肠癌中有个别报道,但其在结直肠癌患者血清中的表达研究较少,且未发现其与常用指标 CEA 的比较分析,故开展此研究,以期为临床结直肠癌的早期发现寻求更可靠的肿瘤标志物。

CEA 是研究者 在 1965 年提取的一种肿瘤相关抗原,最先是 从 结 肠 癌 和 胚 胎 组 织 中 发 现 的。它 是 一 种 酸性糖蛋白,且是构成细胞膜的结构蛋白,包含 641 个氨基酸,存在于内胚层细胞分化而来的肿瘤细胞表面,具有人类胚胎抗原特性。CEA 的合成是在胞质中,可穿过细胞膜分泌到细胞外,分布于人体周围体液中,因此,可从血清、脑脊液、乳汁等多种体液标本中检出。CEA 水平的升高常见于大肠癌、胰腺癌、胃癌等多种肿瘤中,但吸烟者、妊娠期者和心血管疾病、直肠息肉、结肠炎等多种疾病中,15%~53%的患者血清 CEA 水平也会升高,故 CEA 对恶性肿瘤的诊断不具有特异性,虽然已广泛应用于结直肠癌的筛查、辅助诊断和疗效判断,作为早期检测大肠癌的传统血清学肿瘤标志物,但受到其诊断灵敏度或特异度的限制^[8]。

本研究通过对结直肠癌患者和健康对照者血清进行骨膜蛋白与 CEA 的联合测定,发现结直肠癌组患者血清中骨膜蛋白与 CEA 的水平明显高于健康对照组,此结果证实 CEA 在结直肠癌患者血清中的诊断价值,符合临床结论,但同时也表明骨膜蛋白类似于 CEA,在结直肠癌患者血清中的表达明显增高,同样对结直肠癌的诊断有重要的参考价值。

基础研究认为,肿瘤细胞常利用邻近间质细胞及其所分泌的细胞外基质蛋白重塑出有利于原发肿瘤生长的微环境,进而形成便于其侵袭和迁移的转移灶。也有研究表明,骨膜蛋白可以促进细胞生长及血管生成,增强细胞对低氧的耐受性,在非小细胞肺癌、结肠癌、肾细胞癌、恶性胸膜间皮瘤等中均高表达,具有增强肿瘤细胞增生、迁移和侵袭的能力。本研究对结直肠癌患者血清中骨膜蛋白、CEA 水平与其临床病

理特征的关系进行了探讨,结果表明,结直肠癌患者血清中骨膜蛋白和 CEA 水平随患者临床 Dukes 分期进展而升高,这在一定程度上说明越是接近于结直肠癌晚期的患者,其血清中骨膜蛋白和 CEA 水平亦越高,特别是 C 期和 D 期的血清骨膜蛋白水平显著高于 A 期和 B 期,与临床研究结果相符。因此,血清中骨膜蛋白水平在提示结直肠癌患者具有侵袭和转移的风险评估中有重要意义,可以作为高风险的临床指标。但本研究也观察到,不论处于何种临床分期和何种肿瘤病理类型的结直肠癌患者,其血清骨膜蛋白和 CEA 水平与年龄、性别差异无统计学意义。

本研究也发现,骨膜蛋白和 CEA 在不同病理组织学类型的表达程度也不同,在未分化癌血清中骨膜蛋白和 CEA 水平最高,其次是黏液癌和腺癌。低分化型大肠癌血清中骨膜蛋白水平显著高于中分化、高分化大肠癌,肿瘤分化程度越低,骨膜蛋白和 CEA 水平越高。此外研究还发现,血清骨膜蛋白和 CEA 水平升高的患者发生远处器官转移的概率较高,与临床报道一致^[9-10],这在判断肿瘤进展、临床分期、术后复发及预后等方面会有一定意义。

综上所述,骨膜蛋白和 CEA 在大肠癌的诊断中具有高度的一致性,这 2 项指标对患者病情评估和预后判断均有重要参考价值。目前,研究者所用的多数肿瘤标志物缺乏器官特异性,再加上不同肿瘤组织的复杂性和异质性,单项肿瘤标志物的判断价值有限,辅助诊断效果不佳,已不能满足临床需求。因此,多项标志物联合检测已是诊断肿瘤的一个趋势。

参考文献

- [1] RATAJCZAK W, WIELGOMAS K, GRZEGRZOLKA J, PIOTROWSKA A, et al. Expression of periostin in breast cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(4):1300-1310.
- [25] KIM Y J, WILSON D M 3RD. Overview of base excision repair biochemistry[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2012, 5(1):3-13.
- [26] ANNA K R, HILLUKKALA T, VAARA M, et al. DNA polymerase ϵ associates with the elongating form of RNA polymerase II and nascent transcripts[J]. *Febs J*, 2010, 273(24):5535-5549.
- [27] GAO L, JIANG T, YAO X, et al. TREM2 and the progression of Alzheimer's disease[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2017, 14(2):177.
- [28] BUCHOLTZ N, DEMUTH I. DNA-repair in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease[J]. *DNA Repair*, 2013, 12(10):811-816.
- [29] CHURCH D N, BRIGGS S E W, PALLES C, et al. DNA polymerase ϵ and δ exonuclease domain mutations in endometrial cancer[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(14):2820-2828.
- [30] KORONA D A, LECOMPTE K G, PURSELL Z F. The

- [2] LI J S, SUN G W, WEI X Y, et al. Expression of periostin and its clinicopathological relevance in gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(39):5261-5266.
- [3] MURAKAMI D, TAKAMORI S, KAWAHARA A, et al. Periostin expression in non-small cell lung cancer: clinical significance[J]. *Kurume Med J*, 2018, 64(1/2):13-20.
- [4] SUNG P L, JAN Y H, LIN S C, et al. Periostin in tumor microenvironment is associated with poor prognosis and platinum resistance in epithelial ovarian carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(4):4036-4047.
- [5] MINO M, KANNO K, OKIMO K, et al. Periostin promotes malignant potential by induction of epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Hepatol Commun*, 2017, 1(10):1099-1109.
- [6] LIU Y, LI F, GAO F, et al. Role of microenvironmental periostin in pancreatic cancer progression[J]. *Oncotarget*, 2016, 8(52):89552-89565.
- [7] BAO S, OUYANG G, BAI X, et al. Periostin potently promotes metastatic growth of colon cancer by augmenting cell survival via the Akt/PKB pathway[J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(4):329-339.
- [8] YANG K L, YANG S H, LIANG W Y, et al. Carcinoembryonic antigen(CEA) level, CEA ratio, and treatment outcome of rectal cancer patients receiving pre-operative chemoradiation and surgery[J]. *Radiat Oncol*, 2013, 8(1):43.
- [9] YANG K M, PARK I J, KIM C W, et al. The prognostic significance and treatment modality for elevated pre- and postoperative serum CEA in colorectal cancer patients[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2016, 91(4):165-171.
- [10] THOMAS D S, FOURKALA E O, APOSTOLIDOU S, et al. Evaluation of serum CEA, CYFRA21-1 and CA125 for the early detection of colorectal cancer using longitudinal preclinical samples[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(2):268-274.

(收稿日期:2019-04-18 修回日期:2019-06-30)

(上接第 2793 页)

- high fidelity and unique error signature of human DNA polymerase ϵ [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(5):1763-1773.
- [31] HENNINGER E E, PURSELL Z F. DNA polymerase ϵ and its roles in genome stability. [J]. *Iubmb Life*, 2014, 66(5):339-351.
- [32] 黄茜, 张声. POLE 突变在肿瘤发生发展中的作用[J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(12):2173-2179.
- [33] BELLONE S, BIGNOTTI E, LONARDI S, et al. Polymerase ϵ (POLE) ultra-mutation in uterine tumors correlates with T lymphocyte infiltration and increased resistance to platinum-based chemotherapy in vitro[J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 144(1):146-152.
- [34] PARKASH V, KULKARNI Y, TER BEEK J, et al. Structural consequence of the most frequently recurring cancer-associated substitution in DNA polymerase ϵ [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):373.

(收稿日期:2019-04-08 修回日期:2019-06-20)