

• 论 著 •

AHSG 与 CEA 联合检测对膀胱癌的诊断价值*

刘牟林, 丁大朋[△]

大连医科大学附属第一医院检验科, 辽宁大连 116011

摘要:目的 探讨胎球蛋白 A(AHSG)与癌胚抗原(CEA)联合检测在膀胱癌诊断中的临床应用价值。方法 选择 2017 年 9 月至 2019 年 9 月该院收治的 30 例膀胱癌患者作为膀胱癌组,另选择同期 30 例体检健康者作为健康组,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测并比较 2 组血清 AHSG 及 CEA 水平。利用 starBase 和 Oncomine 数据库分析膀胱癌组织中的 AHSG mRNA 表达水平,利用 Human Protein Atlas(HPA)数据库验证膀胱癌组织中的 AHSG 蛋白表达水平;利用 Kaplan-Meier Plotter(KM Plotter)数据库分析 AHSG 预测膀胱癌患者预后的价值,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 AHSG、CEA 检测对膀胱癌的诊断价值。结果 starBase 和 Oncomine 数据库分析发现,膀胱癌组织中 AHSG mRNA 表达水平明显升高,且与患者的肿瘤分级、远处转移和淋巴结转移等密切相关($P < 0.05$)。HPA 数据库验证了膀胱癌组织中 AHSG 蛋白表达水平较正常膀胱组织升高。ELISA 结果显示,膀胱癌组患者血清 AHSG、CEA 水平较健康组明显升高($P < 0.05$)。KM Plotter 数据库分析发现,AHSG 高表达的膀胱癌患者较 AHSG 低表达患者具有更高的无复发生存概率。ROC 曲线显示,AHSG 与 CEA 联合检测诊断膀胱癌的曲线下面积为 0.952,灵敏度为 90.0%,特异度为 93.3%,较 AHSG、CEA 单独检测对膀胱癌的诊断价值更高。结论 AHSG 在膀胱癌中的表达明显升高,是膀胱癌诊断和预后预测的客观评价指标,其与 CEA 是膀胱癌诊断和预后分析中临床应用价值更高的、潜在的血清学标志物。

关键词:膀胱癌; 胎球蛋白 A; 癌胚抗原**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.01.006**中图法分类号:**R446.11**文章编号:**1673-4130(2022)01-0027-05**文献标志码:**A

Diagnostic value of combined detection of AHSG and CEA for bladder cancer*

LIU Mulin, DING Dapeng[△]

Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116011, China

Abstract: **Objective** To investigate the clinical application value of combined detection of Alpha-2-HS-glycoprotein (AHSG) and carcinoembryonic antigen (CEA) in the diagnosis of bladder cancer. **Methods** Thirty patients with bladder cancer admitted to this hospital from September 2017 to September 2019 were selected as the bladder cancer group, and 30 healthy patients during physical examination during the same period were selected as the health group. The serum levels of AHSG and CEA in the two groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and compared. The expression level of AHSG mRNA in bladder cancer tissues was analyzed by starBase and Oncomine database. The expression level of AHSG protein in bladder cancer tissues was verified by the Human Protein Atlas (HPA) database. The value of AHSG for predicting the prognosis in the patients with bladder cancer was analyzed by using the Kaplan-Meier Plotter (KM Plotter) database. The diagnostic value of AHSG and CEA combined detection for bladder cancer was analyzed by the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The starBase and Oncomine databases analysis found that the expression level of AHSG mRNA in bladder cancer increased significantly, and was closely correlated with the tumor grade, distant metastasis and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The HPA database verified that the expression level of AHSG protein in bladder cancer tissue was higher than that in normal bladder tissue. The ELISA results showed that the serum levels of AHSG and CEA in the bladder cancer group were significantly higher than those in the health group ($P < 0.05$). The KM Plotter database analysis found that the bladder cancer patients with high AHSG expression had a better relapse free survival

* 基金项目:辽宁省大连市医学科学研究计划项目(18Z2001)。

作者简介:刘牟林,男,主管技师,主要从事肿瘤发病机制研究。 [△] 通信作者, E-mail:18098877269@163.com。

本文引用格式:刘牟林,丁大朋. AHSG 与 CEA 联合检测对膀胱癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(1): 27-31.

probability than those with low AHSG expression. The ROC curve analysis showed that the area under the curve for the combined detection of AHSG and CEA for the diagnosis of bladder cancer was 0.952, the sensitivity was 90.0%, and the specificity was 93.3%. It is more valuable than AHSG and CEA alone for the diagnosis of bladder cancer. **Conclusion** The expression of AHSG is significantly increased in the patients with bladder cancer, and it is an objective evaluation indicator for bladder cancer diagnosis and prognosis prediction. It and CEA are potential serological markers with higher clinical application value in the diagnosis and prognosis analysis of bladder cancer.

Key words: bladder cancer; alpha-2-HS-glycoprotein; carcinoembryonic antigen

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,发病率和病死率呈逐年上升趋势,是危害人类身心健康的主要疾病之一^[1-2]。膀胱癌患者早期临床表现多为尿频、尿急等非特异性症状,导致临床漏诊率和误诊率较高。目前,膀胱镜检查与组织活检是诊断膀胱癌的金标准^[3-4],但以上方法为侵入性的有创检查手段,很多患者对其心理接受度低且要承受更多痛苦,加上较高的经济成本和尿路感染、出血等风险,使其无法成为常规筛查方法。血液作为无创类检查标本,可以提供 DNA、RNA 和蛋白质等来源信息,是寻找肿瘤标志物的理想标本。血液检查具有标本用量少、易取得且创伤小、患者易接受等优点^[5]。本研究利用在线肿瘤数据库 starBase 和 Oncomine 分析血清胎球蛋白 A (AHSG) 在膀胱癌中的 mRNA 表达情况,并采用 Human Protein Atlas (HPA) 数据库和酶联免疫吸附试验 (ELISA) 验证 AHSG 在膀胱癌组织中的蛋白表达水平。同时,利用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 AHSG 与 CEA 联合检测对膀胱癌的诊断价值,为膀胱癌筛查提供新的、潜在的客观评价指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 9 月至 2019 年 9 月就诊于本院的膀胱癌患者 30 例作为膀胱癌组,其中男 24 例、女 6 例,年龄 41~83 岁、平均 (64.9±11.27) 岁。入选标准:(1)年龄大于 18 岁;(2)病理检查明确诊断为膀胱癌;(3)未接受手术、放化疗等治疗。排除标准:患有急性或慢性感染及其他膀胱相关疾病者。选择本院同期 30 例体检健康者作为健康组,健康组年龄和性别与膀胱癌组患者相匹配,各项生化指标正常,无膀胱癌家族史且无重要脏器疾病与恶性肿瘤。本研究通过本院伦理委员会批准 (YJ-KY-SB-2017-50),所有受试者均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 北京威士达公司 SunriseTM 酶标仪,罗氏 Cobas e601 全自动化学发光免疫分析仪,美国 P&D 公司人 AHSG ELISA 试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 在线肿瘤数据库分析 AHSG mRNA 及蛋白的表达水平 在 starBase (<http://starbase.sysu.edu.cn/index.php>) 数据库中的“Pan-Cancer”模块中选择“Gene Differential Expression”,在“Gene”选项中输入“AHSG”,得到 AHSG 在各种肿瘤中的表达数据,选择“BLCA (Bladder Urothelial Carcinoma)”得

到 AHSG mRNA 在膀胱癌组织中的表达数据, mRNA 表达水平由 RNA-seq 数据通过 log2 (FPKM+0.01) 获得。

在 Oncomine (<https://www.oncomine.org/resource/login.html>) 数据库的“Search”选项中输入“AHSG”,在“Analysis Type”选项中的“Cancer vs. Normal Analysis”下选择“Bladder Cancer vs. Normal Analysis”,“THRESHOLD BY: P-VALUE”选择“0.05”,得到 AHSG mRNA 在膀胱癌组织中的表达数据。

在 HPA (<https://www.proteinatlas.org/>) 数据库的“Search”选项中输入“AHSG”,点击“TISSUE”中的“Urinary bladder”得到 AHSG 蛋白在正常膀胱组织中的表达结果;点击“PATHOLOGY”中的“Urothelial cancer”得到 AHSG 蛋白在膀胱癌组织中的表达结果。

1.3.2 在线肿瘤数据库分析 AHSG 预测膀胱癌患者预后的价值 在 Kaplan-Meier Plotter (KM Plotter, <http://kmplot.com/analysis/index.php?p=background>) 数据库中选择“Start KM Plotter for pan-cancer”,在“Gene symbol”选项中输入“AHSG”,在“Survival”选项中选择“OS (n=7 462)”,在“Select all (n=7 489)”选项中选择“Bladder Carcinoma”,点击“Draw Kaplan-Meier plot”,得到 AHSG 预测膀胱癌患者总体生存概率的生存曲线;在“Survival”选项中选择“RFS (n=4 420)”,在“Select all (n=7 489)”选项中选择“Bladder Carcinoma”,点击“Draw Kaplan-Meier plot”,得到 AHSG 预测膀胱癌患者无复发生存概率的生存曲线。

1.3.3 血清标本采集与储存 采集受试者清晨空腹静脉全血 3~5 mL,置于 10 mL 含促凝剂的真空采血管中,室温下垂直静置 1 h,使血液充分凝固。然后将标本以 3 000 r/min 离心 10 min,充分分离血清,取上层血清分装于 2.0 mL 冻存管中,-80 °C 保存备用。

1.3.4 血清 AHSG 和 CEA 水平检测 利用 ELISA 商品化试剂盒检测受试者血清 AHSG 水平,操作严格按照试剂盒说明书进行,利用 SunriseTM 酶标仪检测 450 nm 波长处的吸光度值,根据标准曲线法计算血清 AHSG 水平并进行统计分析。利用罗氏 Cobas e601 全自动化学发光免疫分析仪检测血清 CEA 水平,检测过程严格按照仪器操作规程进行。

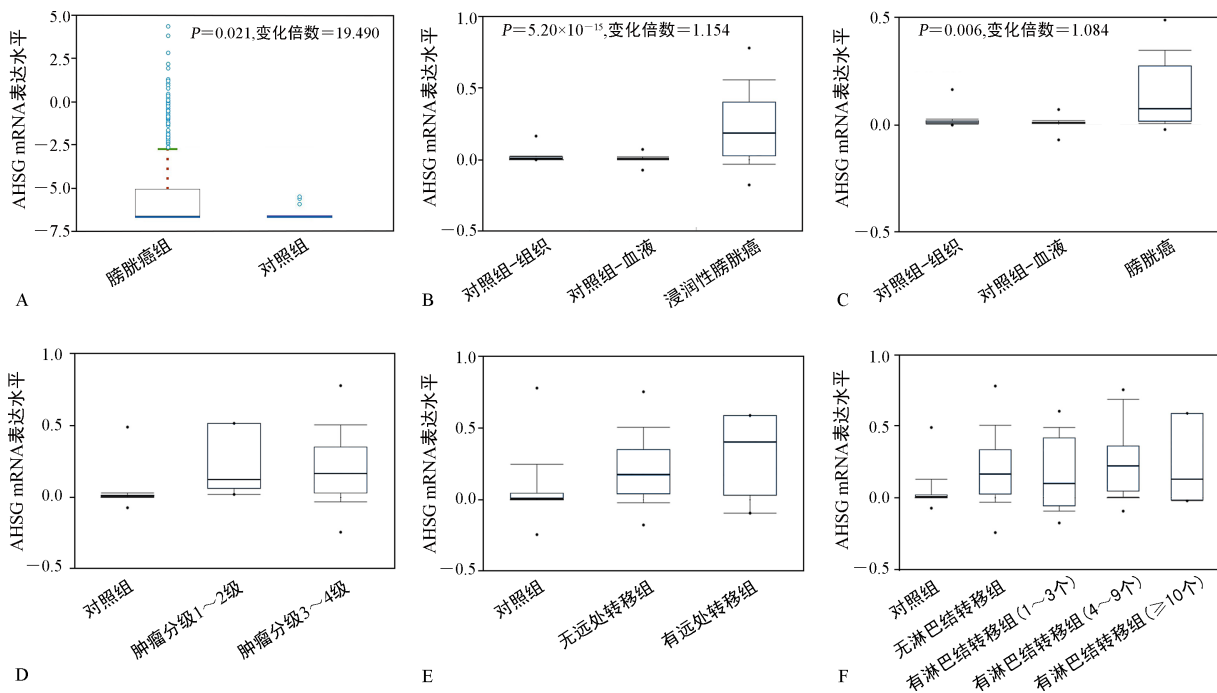
1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;采用 ROC 曲线分析 AHSG、CEA 单独和联合检测对膀胱癌的诊断价值,获得曲线下面积(AUC)、灵敏度和特异度等评价指标。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AHSG mRNA 在膀胱癌组织中的表达水平升高 利用 starBase(图 1A)和 Oncomine(图 1B、C)数据库分析 AHSG mRNA 在膀胱癌组织中的表达情况,结果发现,膀胱癌组织中 AHSG mRNA 表达水平明显升高,且与肿瘤分级(图 1D)高低、有无远处转移(图 1E)和淋巴结转移(图 1F)密切相关($P < 0.05$)。

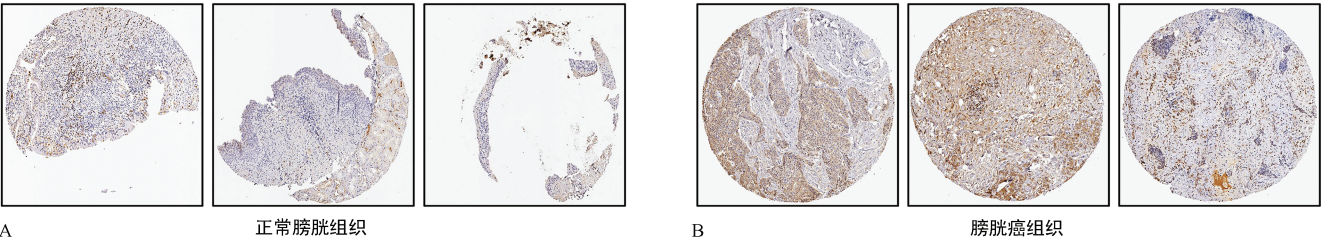
当膀胱癌患者肿瘤分级越高、伴有远处转移或淋巴结转移时,AHSG 的表达也随之升高。

2.2 AHSG 是预测膀胱癌患者预后的潜在标志物 利用 HPA 数据库验证 AHSG 蛋白在膀胱癌组织中的表达情况,结果发现,与正常膀胱组织相比,膀胱癌组织中 AHSG 蛋白表达水平更高(图 2)。ELISA 发现,本研究中膀胱癌组血清 AHSG 水平较健康组明显升高($P < 0.05$),见图 3A。KM Plotter 数据库分析发现,AHSG 高表达的膀胱癌患者较 AHSG 低表达的患者具有更高的无复发生存概率($P < 0.05$),表明 AHSG 是潜在的膀胱癌患者预后分析的客观评价标志物,见图 3B、C。



注:A 为 starBase 数据库分析 AHSG mRNA 在膀胱癌组织中的表达情况;B、C 为 Oncomine 数据库分析 AHSG mRNA 在膀胱癌中的表达情况;D、E、F 分别为 Oncomine 数据库分析不同肿瘤分级、有无远处转移和有无淋巴结转移膀胱癌的 AHSG mRNA 表达情况。

图 1 starBase 和 Oncomine 数据库分析 AHSG mRNA 在膀胱癌组织中的表达情况

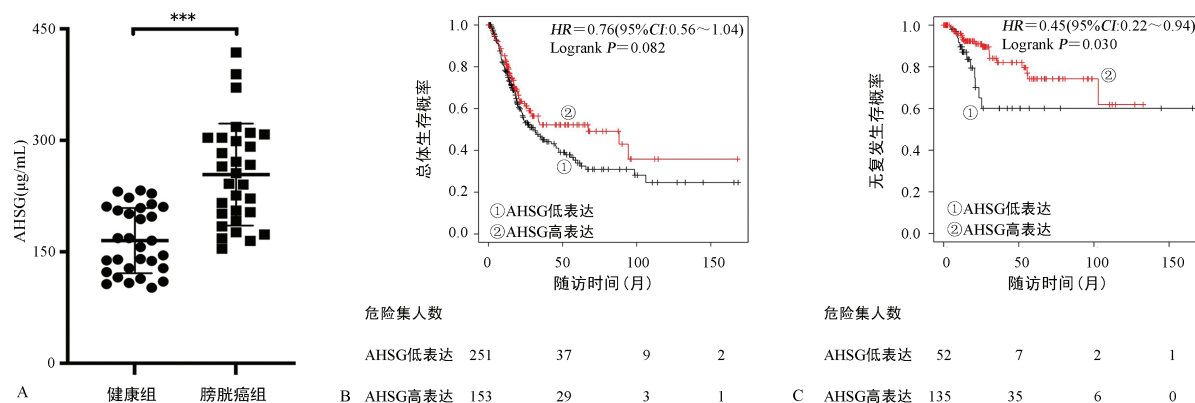


注:A、B 分别为 HPA 数据库分析 AHSG 蛋白在正常膀胱组织和膀胱癌组织中的表达情况。

图 2 HPA 数据库验证 AHSG 蛋白在膀胱癌组织中的表达情况

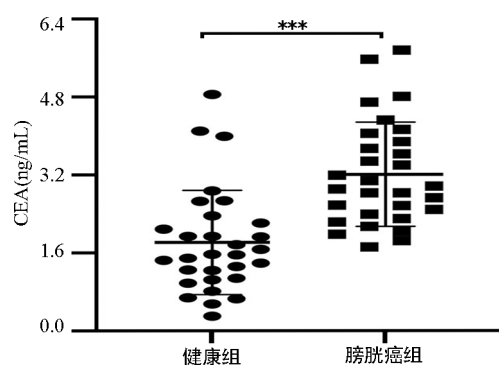
2.3 AHSG、CEA 检测对膀胱癌的诊断效能分析 为分析 AHSG 与 CEA 联合检测对膀胱癌的诊断价值,本研究首先验证了膀胱癌组患者血清 CEA 水平高于健康组($P < 0.05$),见图 4。同时,ROC 曲线(图 5)显示,AHSG 单独检测诊断膀胱癌的 AUC 为 0.855,灵敏度为 66.7%,特异度为 86.7%;CEA 单独检测诊断膀胱癌的 AUC 为 0.851,灵敏度为 93.3%,

特异度为 70.0%。与 AHSG 相比,CEA 检测诊断膀胱癌的灵敏度(93.3%)较 AHSG(66.7%)高,特异度(70.0%)较 AHSG(86.7%)稍有降低,但降低幅度小。当 AHSG 与 CEA 联合检测诊断膀胱癌时,AUC 为 0.952,灵敏度为 90.0%,特异度为 93.3%,其诊断价值优于 AHSG、CEA 单独检测。



注: A 为本研究膀胱癌组与健康组血清 AHSG 水平比较; B、C 分别为 KM Plotter 数据库分析 AHSG 预测膀胱癌患者总体生存概率和无复发生存概率的生存曲线。与健康组比较, *** $P < 0.001$ 。

图 3 膀胱癌患者血清 AHSG 水平及其预后预测价值分析



注: 与健康组比较, *** $P < 0.001$ 。

图 4 健康组与膀胱癌组血清 CEA 水平比较

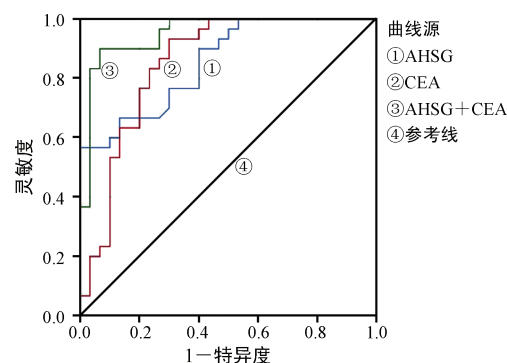


图 5 AHSG、CEA 诊断膀胱癌的 ROC 曲线

3 讨论

膀胱癌起病隐匿,恶性程度高,手术是目前临床上治疗膀胱癌的首选方案,但患者术后生存率较低,其中转移性膀胱癌患者的 5 年生存率仅为 6%^[6]。早期发现是膀胱癌诊断、治疗和预后的关键。膀胱镜检查与组织活检是传统的诊断膀胱癌的有效方法,但其操作复杂,对患者损伤大,难以成为膀胱癌筛查和常规检测的手段。因此,寻找和发现有效的血清学标志物来提高膀胱癌的临床诊断率具有重要意义。近年来,血清蛋白质组学已成为发现肿瘤标志物的重要手段,且已证实血清标志物具有较高的灵敏度和特异度^[7-10]。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 是临床上检测血液、体液等标本的成熟质谱技术,具有操作简便、检测快速、高选择

性、高灵敏度和高特异性等特点。郑爱文等^[11] 利用 MALDI-TOF-MS 检测了子宫内膜癌患者和健康女性的血清多肽谱,发现 12 个差异多肽峰,其中质荷比 (m/z) 为 2 768.0、3 402.0 和 6 441.0 的 3 种血清多肽联合诊断子宫内膜癌的灵敏度为 88.1%,特异度为 75.8%,鉴别子宫内膜癌和子宫良性病变的灵敏度为 94.9%,能较准确地地区分子宫内膜癌患者、健康女性和子宫良性病变患者,有助于子宫内膜癌的早期筛查。本研究前期利用 MALDI-TOF-MS 筛选并验证了膀胱癌患者血清中 5 种表达上调的差异血清多肽 (m/z 为 2 081.0、3 938.3、1 954.0、4 268.8 和 3 946.5),通过纳米级液相色谱耦合串联质谱技术进行鉴定,并与 UniProt 数据库比对,确定了其中 2 种血清多肽对应的蛋白,分别是 m/z 为 2 018.0 对应的 AHSG 和 m/z 为 1 954.9 对应的血清转铁蛋白 (TRF)^[12]。

AHSG 是一种可分泌到体液中的蛋白质。研究发现, AHSG 可以作为多种肿瘤如口腔鳞状细胞癌、非小细胞肺癌和胃癌等的标志物。JAIN 等^[13] 利用液相色谱仪-质谱仪 (LC-MS) 分析,发现 AHSG 在口腔鳞状细胞癌中表达升高,其诊断口腔鳞状细胞癌的灵敏度为 78.0%,特异度为 87.5%,是口腔鳞状细胞癌辅助诊断的潜在标志物。SHI 等^[14] 分析了 32 例胃癌患者和 30 例健康对照者血清标本中 AHSG 的蛋白表达变化,并利用 ELISA 验证差异纤维蛋白原 α 链、AHSG 和载脂蛋白 A-I 水平,发现它们在胃癌患者中表达水平升高,且具有良好的诊断价值,可成为诊断胃癌的潜在血清学标志物。目前,较少见 AHSG 在膀胱癌中表达水平的研究。根据前期研究结果,本研究选择 AHSG 进行后续验证和研究。首先利用 star-Base 和 Oncomine 数据库分析确定了 AHSG mRNA 在膀胱癌中高表达,且与膀胱癌的肿瘤分级高低、有无远处转移和淋巴结转移密切相关。同时 HPA 数据库和 ELISA 也验证了 AHSG 蛋白在膀胱癌中的高表达。KM Plotter 数据库分析发现,与 AHSG 低表达的膀胱癌患者相比, AHSG 高表达膀胱癌患者具有更高的无复发生存概率。ROC 曲线显示, AHSG 单独检测诊断膀胱癌的 AUC 为 0.855,灵敏度为 66.7%,

特异度为 86.7%，表明 AHSG 是膀胱癌诊断和预后分析的潜在血清学标志物。

目前，膀胱癌缺乏特异的血清学肿瘤标志物，主要通过检测 CEA 水平来监测患者病情变化^[15]。CEA 是由黏膜上皮细胞分泌的可溶性跨膜糖蛋白，在健康人群血清中含量极低，是高效、广谱的肿瘤标志物。血清或尿 CEA 检测在膀胱癌的诊断和监测中具有重要的应用价值。正常情况下，机体内 CEA 水平低于 10 ng/mL。当膀胱组织癌变或肿瘤复发时，尿 CEA 水平会快速升高，其与肿瘤大小和病情严重程度密切相关，是膀胱癌诊断和预后评估的有效指标^[16]。AHMADI 等^[17]发现，膀胱癌患者术前血清 CEA 和糖类抗原(CA)19-9 水平升高，是判断患者预后不良的独立预测因子。本研究验证了膀胱癌患者血清 CEA 水平升高，并利用 ROC 曲线分析 AHSG、CEA 对膀胱癌的诊断价值，发现 AHSG 与 CEA 联合检测诊断膀胱癌的 AUC 为 0.952，较 AHSG 或 CEA 单独检测更高，说明 AHSG 与 CEA 联合检测诊断膀胱癌的临床应用价值更高。

综上所述，AHSG 在膀胱癌中的表达明显升高，是膀胱癌诊断和预后预测的客观评价指标，其与 CEA 是膀胱癌诊断和预后分析中临床应用价值更高的、潜在的血清学标志物。

参考文献

- [1] CUMBERBATCH M G K, NOON A P. Epidemiology, aetiology and screening of bladder cancer [J]. *Transl Androl Urol*, 2019, 8(1): 5-11.
- [2] BERSANELLI M, BUTI S, GIANNATEMPO P, et al. Outcome of patients with advanced upper tract urothelial carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors: a systematic review and meta-analysis [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 159: 103241.
- [3] WOLDU S L, BAGRODIA A, LOTAN Y. Guideline of guidelines: non-muscle-invasive bladder cancer [J]. *BJU Int*, 2017, 119(3): 371-380.
- [4] GUURAM S, MUTHIGI A, EGAN J, et al. Imaging in localized bladder cancer: can current diagnostic modalities provide accurate local tumor staging [J]. *Curr Urol Rep*, 2019, 20(12): 82.
- [5] NANDAGOPAL L, SONPAVDE G. Circulating biomarkers in bladder cancer [J]. *Bladder Cancer*, 2016, 2(4): 369-379.
- [6] LIU D, QIU X, XIONG X, et al. Current updates on the role of reactive oxygen species in bladder cancer pathogenesis and therapeutics [J]. *Clin Transl Oncol*, 2020, 22(10): 1687-1697.
- [7] NEDJADI T, BENABDELKAMAL H, ALBARAKATI N, et al. Circulating proteomic signature for detection of biomarkers in bladder cancer patients [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10999.
- [8] BANSAL N, GUPTA A, SANKHWAR S N, et al. Low- and high-grade bladder cancer appraisal via serum-based proteomics approach [J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 436: 97-103.
- [9] WANG Y T, SHI T, SRIVASTAVA S, et al. Proteomic analysis of exosomes for discovery of protein biomarkers for prostate and bladder cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9): 2335.
- [10] FRANTZI M, VLAHO A. ten years of proteomics in bladder cancer: progress and future directions [J]. *Bladder Cancer*, 2017, 3(1): 1-18.
- [11] 郑爱文, 陈雅卿, 朱笕青, 等. 血清多肽谱检测对子宫内膜癌早期诊断价值 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(11): 875-879.
- [12] DING D, CHEN M, XIAO X, et al. Novel serum peptide model revealed by MALDI-TOF-MS and its diagnostic value in early bladder cancer [J]. *Int J Biol Markers*, 2020, 35(3): 59-66.
- [13] JAIN A, KOTIMOOLE C N, GHOSH S, et al. Identification of potential salivary biomarker panels for oral squamous cell carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 3365.
- [14] SHI F, WU H, QU K, et al. Identification of serum proteins AHSG, FGA and APOA-I as diagnostic biomarkers for gastric cancer [J]. *Clin Proteomics*, 2018, 15: 18.
- [15] 左玉良, 窦中岭. NMP22、CA19-9 和 CEA 的检测在诊断膀胱癌中的意义 [J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2015, 33(2): 157-160.
- [16] 张杰. 肿瘤标志物在早期膀胱癌肿瘤的诊断价值及临床表达意义 [J]. *中国卫生工程学*, 2017, 16(4): 490-492.
- [17] AHMADI H, DIALADAT H, CAI J, et al. Precystectomy serum levels of carbohydrate antigen 19-9, carbohydrate antigen 125, and carcinoembryonic antigen: prognostic value in invasive urothelial carcinoma of the bladder [J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(5): 648-656.

(收稿日期: 2021-03-29 修回日期: 2021-09-22)

(上接第 26 页)

Downregulated GBX2 gene suppresses proliferation, invasion and angiogenesis of breast cancer cells through inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 23(3): 405-418.

- [17] WANG C H, LI Y H, TIAN H L, et al. Long non-coding RNA BLACAT1 promotes cell proliferation, migration and invasion in cervical cancer through activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(10): 3002-3009.

- [18] JIANG Q, HE M, GUAN S, et al. MicroRNA-100 suppresses the migration and invasion of breast cancer cells by targeting FZD-8 and inhibiting Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(4): 5001-5011.
- [19] PENG Y, ZHANG X J, MA Q, et al. MiRNA-194 activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway in gastric cancer by targeting the negative Wnt regulator, SUFU [J]. *Cancer Lett*, 2017, 385(28): 117-127.

(收稿日期: 2021-03-01 修回日期: 2021-10-07)