

· 短篇论著 ·

血清 SLPI、SPOCK2 与卵巢癌临床病理特征关系 及其在预后评估中的价值

丁玲玲, 沈苏琴, 汪晓曼

南京医科大学附属妇产医院/南京市妇幼保健院检验科, 江苏南京 210009

摘要:目的 探讨卵巢癌患者血清中分泌型白细胞蛋白酶抑制因子(SLPI)及睾素 2(SPOCK2)的水平,并分析其作为卵巢癌不良预后预警模型的临床应用价值。方法 将 2018 年 1 月至 2019 年 11 月于该院治疗的 67 例卵巢癌患者(卵巢癌组)和进行体检的 48 例健康者(对照组)纳入研究。检测血清 SLPI、SPOCK2 水平并分析与卵巢癌患者临床病理特征的关系;采用 Kaplan-Merier 生存曲线分析 SLPI、SPOCK2 表达与卵巢癌患者生存预后的关系;采用多因素 Logistic 回归模型对卵巢癌预后不良的危险因素进行分析;采用受试者工作特征(ROC)曲线评价不良预后风险预测模型的预测效能。结果 卵巢癌组血清 SLPI、SPOCK2 水平均高于对照组($t=2.038, 2.203, P<0.05$)。SLPI、SPOCK2 阳性表达率在不同 FIGO 分期、肿瘤分化程度、有/无淋巴结转移以及有/无腹水的患者间比较,差异均有统计学意义($\chi^2=4.712, 5.664, 5.996, 5.760, P<0.05$; $\chi^2=6.976, 4.570, 9.254, 5.641, P<0.05$)。生存曲线分析显示,SLPI 和 SPOCK2 水平增加,患者的生存率降低($P<0.05$)。回归模型分析显示:SLPI 阳性表达、SPOCK2 阳性表达、FIGO III+IV 期、肿瘤低分化、淋巴结转移以及腹水是卵巢癌患者不良预后的危险因素(均 $P<0.05$),由此构建的预警模型曲线下面积(AUC)为 0.817,灵敏度为 0.852,特异度为 0.875。结论 卵巢癌患者血清 SLPI、SPOCK2 水平升高、FIGO III+IV 分期、肿瘤低分化、淋巴结转移及腹水与卵巢癌不良预后密切相关,由此构建的预警模型对卵巢癌患者不良预后的预测具有重要的参考价值。

关键词:卵巢癌; 分泌型白细胞蛋白酶抑制因子; 睾素 2; 预后; 生物标记物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.13.024

文章编号:1673-4130(2023)13-1649-05

中图法分类号:R446.11

文献标志码:A

卵巢癌是常见的女性生殖系统的恶性肿瘤,死亡率位居妇科恶性肿瘤首位,全球年龄标准化的 5 年净生存率在 30%~50% 之间^[1]。卵巢癌发病隐匿,早期缺乏特异性的临床症状,80% 的患者初诊时已处于晚期。晚期卵巢癌患者复发率高,临床转归差,5 年生存率低于 30%^[2-3],因此根据卵巢癌的临床病理特征对其进行早期预测并实施个体化干预,对优化治疗方案,改善预后,提高治疗效果具有十分重要的意义。分泌型白细胞蛋白酶抑制因子(SLPI)是一种黏膜上皮细胞分泌的非糖基化单链多肽蛋白,通过促进肿瘤细胞的迁移和侵袭功能,诱发肿瘤的发生发展,已被证实是某些恶性肿瘤不良预后评估的重要标志物^[4]。睾素 2(SPOCK2)是一类富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白/骨连接素蛋白,该基因在恶性肿瘤细胞的侵袭和转移中发挥重要作用,作为潜在的致癌基因是某些恶性肿瘤不良预后的指标及治疗靶点^[5]。本研究通过检测卵巢癌患者血清中 SLPI、SPOCK2 水平,分析 SLPI、SPOCK2 表达与卵巢癌患者临床病理特征及预后的关系,旨在明确其在卵巢癌患者不良预后评估中的临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2018 年 1 月至 2019 年 11 月于本

院治疗的 67 例卵巢癌患者和同期于本院体检的 48 例健康者为纳入研究,分别作为卵巢癌组和对照组。纳入标准:(1)经病理学确诊为卵巢癌;(2)术前未接受卵巢癌相关治疗;(3)术后严格按照卵巢癌诊疗规范进行相应治疗;(4)具备完整临床资料和随访资料。排出标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)合并心、脑、肾、肝等器官功能障碍者;(3)术前行放疗、化疗和激素治疗者;(4)临床资料、随访资料不完整者。卵巢癌组年龄 41~73 岁,平均(55.16±9.88)岁;正常对照组年龄 39~72 岁,平均(54.32±10.12)岁。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准通过,且均获得患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本收集 留取患者静脉血 5 mL, 室温静置 20 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清 -80 ℃ 保存待测。

1.2.2 指标检测 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中 SLPI、SPOCK2 水平(试剂盒购于上海沪震实业有限公司),严格按照试剂盒说明书进行操作。SLPI 检测范围为 62.5~4 000.0 pg/mL, SPOCK2 检测范围为 0.312~20.000 ng/mL。

1.2.3 生物信息学分析 通过基因表达谱数据动态分析(GEPIA)在线网站(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析426例卵巢癌组织和88例正常卵巢组织中SLPI、SPOCK2表达。利用Kaplan-Meier法(<http://www.kmplot.com>)分析SLPI、SPOCK2表达水平与卵巢癌患者预后生存情况的关系。

1.2.4 随访 对卵巢癌患者进行术后随访,以首次手术日期为随访开始时间,每隔3个月,采用电话形式或门诊复查形式,以2021年11月为随访截止时间,随访结局变量为复发或无复发。

1.3 统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件对数据进行分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本t检验分析比较;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多因素Logistic回归模型分析影响卵巢癌不良预后的危险因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线对卵巢癌不良预后的预测效能进行评价。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 卵巢癌患者与健康者组织及血清中SLPI、SPOCK2水平的比较 在线GEPIA数据库对426例卵巢癌组织和88例正常对照组织中SLPI和SPOCK2表达水平进行比较,卵巢癌组织中SLPI和SPOCK2蛋白水平均高于正常对照组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图1。卵巢癌组血清SLPI、SPOCK2水平高于对照组,差异有统计学意义($t = 2.038, 2.203$,均 $P < 0.05$),见表1。

2.2 SLPI、SPOCK2表达与临床病理特征的关系 SLPI、SPOCK2的阳性表达率在不同FIGO分期、肿瘤分化程度、有/无淋巴结转移以及有/无腹水的卵巢癌患者间进行比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

而SLPI、SPOCK2的阳性表达率在不同年龄、绝经状态、肿瘤大小(以肿瘤最大径表示)以及病理类型的患者间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

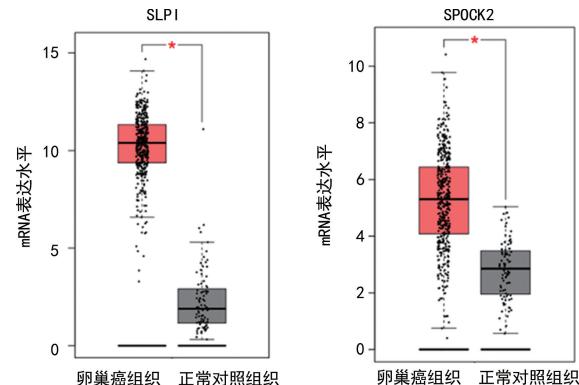


图1 卵巢癌组织和正常对照组织中SLPI和SPOCK2表达水平的比较

表1 2组间血清SLPI、SPOCK2水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SLPI(ng/mL)	SPOCK2(ng/mL)
对照组	48	2.54 ± 0.28	17.95 ± 0.68
卵巢癌组	67	2.68 ± 0.40	18.32 ± 1.02
<i>t</i>		2.038	2.203
<i>P</i>		0.044	0.030

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$ 。

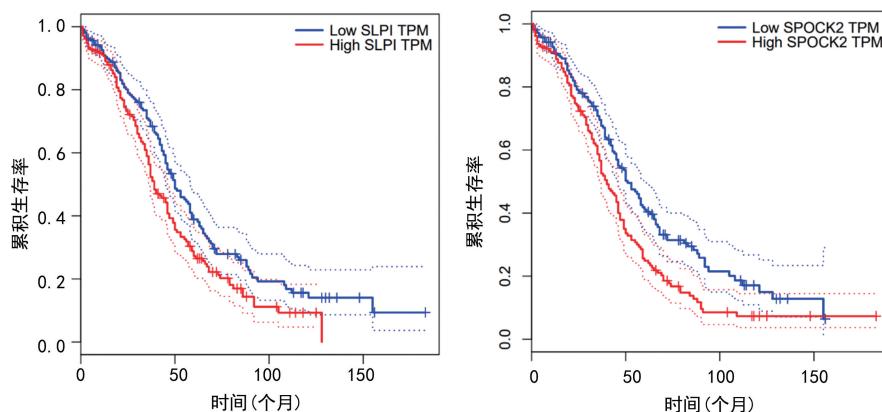
2.3 SLPI、SPOCK2表达与卵巢癌患者生存关系分析 Kaplan-Meier法对数据库中的424例卵巢癌患者的生存分析显示,随着SLPI和SPOCK2水平的增加,患者的生存率降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。SLPI和SPOCK2的危险率(HR)分别为1.4和1.5(HR大于1为疾病的危险因素),提示SLPI和SPOCK2高表达是卵巢癌患者不良预后的危险因素。见图2。

表2 SLPI、SPOCK2表达与卵巢癌患者临床病理参数分析

项目	n	SLPI阳性[n(%)]	χ^2	P	SPOCK2阳性[n(%)]	χ^2	P
年龄							
≤51岁	25	18(72.0)			17(68.0)		
>51岁	42	30(71.4)			33(78.6)		
绝经状态			0.074	0.785		0.474	0.491
是	44	32(72.7)			34(77.3)		
否	23	16(69.6)			16(69.6)		
肿瘤最大径			0.077	0.782		0.119	0.73
≤5 cm	30	22(73.3)			23(76.7)		
>5 cm	37	26(70.3)			27(73.0)		
FIGO分期			4.712	0.03		6.976	0.008
I + II期	22	12(54.5)			12(54.5)		
III + IV期	45	36(80.0)			38(84.4)		

续表 2 SLPI、SPOCK2 表达与卵巢癌患者临床病理参数分析

项目	n	SLPI 阳性[n(%)]	χ^2	P	SPOCK2 阳性[n(%)]	χ^2	P
病理类型			0.955	0.328		0.487	0.485
浆液性癌	51	35(68.6)			37(72.5)		
黏液性癌和其他	16	13(81.3)			13(81.3)		
分化程度			5.664	0.017		4.57	0.033
中高分化	50	32(64.0)			34(68.0)		
低分化	17	16(94.1)			16(94.1)		
淋巴结转移			5.996	0.014		9.254	0.002
有	37	31(83.8)			33(89.2)		
无	30	17(56.7)			17(56.7)		
腹水			5.76	0.016		5.641	0.018
有	40	33(82.5)			34(85.0)		
无	27	15(55.6)			16(59.3)		



注:Low SLPI TPM 表示 SLPI 低表达,High SLPI TPM 表示 SLPI 高表达;Low SPOCK2 TPM 表示 SPOCK2 低表达,High SPOCK2 TPM 表示 SPOCK2 高表达。

图 2 SLPI 和 SPOCK2 的表达与卵巢癌患者生存预后的关系

2.4 多因素 Logistic 回归模型分析影响卵巢癌患者不良预后的危险因素 以卵巢癌患者的治疗结局为因变量(1=复发,0=无复发),进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:FIGO 分期Ⅲ+Ⅳ期、肿瘤低分化、淋巴结转移、腹水、SLPI 阳性表达、SPOCK2 阳性表达是卵巢癌患者不良预后的危险因素(均 $P <$

0.05),见表 3。根据 Logistic 回归模型分析结果,构建卵巢癌不良预后风险预测模型: $Z = -2.926 + 1.549X_1 + 1.928X_2 + 1.066X_3 + 1.353X_4 + 1.674X_5 + 2.015X_6$,其中, X_1 为 FIGO 分期, X_2 为分化程度, X_3 为淋巴结转移, X_4 为腹水, X_5 为 SLPI 阳性, X_6 为 SPOCK2 阳性。变量赋值情况见表 4。

表 3 多因素 Logistic 回归模型分析影响卵巢癌不良预后的危险因素

变量	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
常量	-2.926	0.893	10.728	0.001	0.054	—
FIGO Ⅲ+Ⅳ期	1.549	0.628	6.079	0.014	4.705	1.374~16.112
肿瘤低分化	1.928	0.831	5.380	0.020	6.875	1.348~35.059
有淋巴结转移	1.066	0.528	4.076	0.044	2.903	1.032~8.168
有腹水	1.353	0.561	5.819	0.016	3.868	1.289~11.612
SLPI 阳性	1.674	0.692	5.848	0.016	5.333	1.373~20.712
SPOCK2 阳性	2.015	0.804	6.278	0.012	7.500	1.551~36.271

注:—表示该项无数据。

表 4 变量赋值情况

变量	赋值情况
FIGO 分期	1=Ⅲ+Ⅳ期,0=Ⅰ+Ⅱ期
分化程度	1=低分化,0=中高分化
淋巴结转移	1=有,0=无
腹水	1=有,0=无
SLPI	1=阳性,0=阴性
SPOCK2	1=阳性,0=阴性

2.5 卵巢癌不良预后风险预测模型诊断效能 使用 ROC 曲线对卵巢癌不良预后的预测效能进行评估, 曲线下面积(AUC)为 0.817(95%CI: 0.703~0.901, $P < 0.001$), 以 Youden 指数最大值(0.727)为最佳临界点, 模型灵敏度为 0.852, 特异度为 0.875, 提示该模型对卵巢癌不良预后预测效果较好。见图 3。

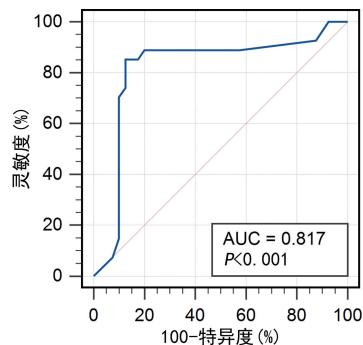


图 3 卵巢癌不良预后风险预测模型的 ROC 曲线

3 讨 论

卵巢癌是一种细胞形态、临床表现和遗传背景均有不同特征的异质性疾病, 临床多采用手术、化疗和放疗等治疗方案, 但因卵巢癌具有高复发率和多药耐药性, 患者 5 年生存率较低^[6]。基于此, 寻找相关的生物标记物用于卵巢癌患者复发和转移的预测, 可为卵巢癌的个体化治疗方案提供有价值的科学依据。SLPI 在乳腺癌、肺癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤中呈现高表达, 且与肿瘤患者的不良预后关系密切^[7-9]。SLPI 作为促癌因子, 通过 Elk-1 信号通路调控 MMP-2/9 的表达, 进而促进肿瘤细胞迁移和侵袭, 诱导了胃癌的发生、发展^[10]。最新研究表明, 耐药性卵巢癌细胞株中 SLPI 表达上调, 过表达 SLPI 基因抑制肿瘤细胞凋亡并促进肿瘤细胞的生长^[11]。细胞实验证实, SLPI 基因过表达促进 SKOV3 细胞中增殖相关蛋白 PCNA 和 Cyclin D1 的表达, 或者抑制胰岛素样生长因子结合蛋白 3(IGFBP-3)、凋亡正相关蛋白 BAX、Cleaved Caspase-9 的表达, 进而促进卵巢癌细胞的增殖^[12]。

通过在线 GEPIA 数据库对 426 例卵巢癌组织和 88 例正常对照组织中 SLPI 表达进行分析比较, 除个别 SLPI 表达过高或过低离散点(由卵巢癌患者个体

差异因素造成)外, 卵巢癌组织和正常对照组织标本中的表达水平明显聚集于两个不同平均值附近, 而且卵巢癌组织中 SLPI 平均表达水平显著高于正常对照组织。但 GEPIA 在线网站并未提供 426 例卵巢癌组织中 SLPI 水平与卵巢癌患者临床病理特征的关系, 然而在实际诊疗过程中, 存在卵巢癌患者临床病理特征不一致、临床治疗方式也不一致的情况, 为了明确 SLPI 表达水平与卵巢癌临床特征性的相关性, 弥补 GEPIA 在线网站的不足之处, 笔者对本研究入组的 67 例卵巢癌患者血清中 SLPI 表达与卵巢癌患者临床病理特征(包含年龄、绝经状态、肿瘤大小、FIGO 分期、病理类型、分化程度、淋巴结转移以及腹水等特征)细分后, 进行统计学分析。研究发现, 卵巢癌患者血清中 SLPI 水平明显高于正常对照组, 且 FIGO 分期Ⅲ+Ⅳ期的卵巢癌患者, 肿瘤低分化及有淋巴结转移和腹水的卵巢癌患者, 血清中 SLPI 水平显著高于 FIGO 分期Ⅰ+Ⅱ期、肿瘤中高分化及没有淋巴结转移和没有腹水的卵巢癌患者。Kaplan-Meier 生存曲线分析结果显示, 随着 SLPI 表达水平的增加, 患者的生存率显著降低, 且 SLPI 的危险率(HR)为 1.4, 提示 SLPI 水平升高是卵巢癌患者不良预后的重要风险因素。SLPI 参与了卵巢癌的发生发展, 可能与 SLPI 通过保护颗粒蛋白前体免受降解, 促进 Cyclin D 等的表达及抑制抗细胞增殖因子 IGFBP-3 的表达, 激活 NF-κB 促进血管发生密切相关, 以上数据充分表明, SLPI 是一种潜在卵巢癌患者术后复发与总生存率评估的重要生物学指标。已有研究证实, 脑胶质瘤中 SPOCK2 基因上调表达可通过与其家族成员 SPOCK1 及 SPOCK3 结合, 解除 SPOCK1 及 SPOCK3 对 MMP2 的抑制作用, 由此消除其他 SPOCK 家族成员对 MT-MMPs 的失活作用, 导致 ECM 重塑, 进而促进胶质瘤细胞的迁移和侵袭, 该研究提示 SPOCK2 对细胞侵袭性的影响是通过与其家族其他成员相互作用实现的^[13-14]。另一研究证实, 乳腺癌细胞中 SPOCK2 的 mRNA 高表达与脑转移具有很强的相关性^[15]。本研究中, 通过在线 GEPIA 数据库分析, 除个别 SPOCK2 表达过高或过低离散点(由卵巢癌患者个体差异因素造成)外, 卵巢癌组和正常对照组内标本明显聚集于两个不同平均值附近, 且卵巢癌组织中 SPOCK2 平均表达水平显著高于正常对照组织。进一步, 为了明确 SPOCK2 表达水平与卵巢癌临床特征性的相关性, 弥补 GEPIA 数据库的不足之处, 我们对本研究入组的 67 例卵巢癌患者血清中 SPOCK2 表达与卵巢癌患者临床病理特征(包含年龄、绝经状态、肿瘤大小、FIGO 分期、病理类型、分化程度、淋巴结转移以及腹水等特征)细分后, 进行统计学分析。研究发现, 血清中 SPOCK2 水平在不同患者

的 FIGO 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移及腹水中具有显著差异性,提示 SPOCK2 基因与卵巢癌细胞的转移和扩散密切相关。生存曲线分析表明,随着 SPOCK2 表达水平的增加,卵巢癌患者的生存率降低,SPOCK2 的危险率(HR)为 1.5,提示 SPOCK2 水平升高是卵巢癌患者不良预后的重要风险因素。分析原因可能是 SPOCK2 具有调控卵巢癌细胞迁移及侵袭相关基因的功能,SPOCK2 基因导致肿瘤细胞迁移微环境的改变,进而造成病情的进展。以上数据表明,SPOCK2 是另外一种卵巢癌患者潜在的病情监测及判断预后的评价指标。多因素 Logistic 回归模型对卵巢癌预后的危险因素进行分析,结果显示血清 SLPI、SPOCK2 高表达是卵巢癌复发与不良预后的独立危险因素,与 FIGO III+IV 期、肿瘤低分化、淋巴结转移及腹水等因素一起构成卵巢癌不良预后风险预测模型。使用 ROC 曲线对模型的预测能力进行评估,AUC 为 0.817(95% CI: 0.703~0.901, $P < 0.05$),以 Youden 指数最大值(0.727)为最佳临界点,该模型灵敏度为 0.852,特异度为 0.875,提示该模型对卵巢癌不良预后预测效果较好。综上所述,卵巢癌患者血清中 SLPI 和 SPOCK2 阳性表达,能够成为 FIGO 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移、腹水等临床病理特征的有力补充,由此构建卵巢癌风险预测模型具有良好的评估效果,进而对卵巢癌的治疗方案进行个体化指导,提高预后质量,因此具有重要的临床应用价值。

参考文献

- [1] ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries [J]. Lancet, 2018, 391(10125): 1023-1075.
- [2] MORAND S, DEVANABOYINA M, STAATS H, et al. Ovarian cancer immunotherapy and personalized medicine [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12): 6532.
- [3] LHEUREUX S, BRAUNSTEIN M, OZA AM. Epithelial ovarian cancer: evolution of management in the era of precision medicine [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(4): 280-304.
- [4] DU X Y, LIU X, WANG Z J, et al. SLPI promotes the gastric cancer growth and metastasis by regulating the expression of P53, Bcl-2 and Caspase-8 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(7): 1495-1501.
- [5] ZHAO J, CHENG M, GAI J, et al. SPOCK2 serves as a potential prognostic marker and correlates with immune infiltration in lung adenocarcinoma [J]. Front Genet, 2020, 11: 588499.
- [6] KOSSAI M, LRARY A, SCOAZEC JY, et al. Ovarian cancer: a heterogeneous disease [J]. Pathobiology, 2018, 85(1/2): 41-49.
- [7] WAGENBLAST E, SOTO M, GUTIERREZ-ÁNGEL S, et al. A model of breast cancer heterogeneity reveals vascular mimicry as a driver of metastasis [J]. Nature, 2015, 520(7547): 358-362.
- [8] JAN TREDA C, FUKUHARA T, SUZUKI T, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor modulates urethane-induced lung carcinogenesis [J]. Carcinogenesis, 2014, 35(4): 896-904.
- [9] ZHENG D, GUI B, GRAY K P, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor is a survival and proliferation factor for castration-resistant prostate cancer [J]. Oncogene, 2016, 35(36): 4807-4815.
- [10] CHOI B D, JEONG S J, WANG G, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor is associated with MMP-2 and MMP-9 to promote migration and invasion in SNU638 gastric cancer cells [J]. Int J Mol Med, 2011, 28(4): 527-534.
- [11] HOSKINS E, RODRIGUEZ-CANALES J, HEWITT S M, et al. Paracrine SLPI secretion upregulates MMP-9 transcription and secretion in ovarian cancer cells [J]. Gynecol Oncol, 2011, 122(3): 656-662.
- [12] ZHANG X L, SIMMEN F A, MICHEL F J, et al. Increased expression of the Zn-finger transcription factor BTEB1 in human endometrial cells is correlated with distinct cell phenotype, gene expression patterns, and proliferative responsiveness to serum and TGF-beta 1 [J]. Mol Cell Endocrinol, 2001, 181(1/2): 81-96.
- [13] NAKADA M, YAMADA A, TAKINO T, et al. Suppression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MMP)-mediated MMP-2 activation and tumor invasion by testican 3 and its splicing variant gene product, N-Tes [J]. Cancer Res, 2001, 61(24): 8896-8902.
- [14] NAKADA M, MIYAMORI H, YAMASHITA J, et al. Testican 2 abrogates inhibition of membrane-type matrix metalloproteinases by other testican family proteins [J]. Cancer Res, 2003, 63(12): 3364-3369.
- [15] PEDROSA R M S M, WISMANS L V, SINKE R, et al. Differential expression of BOC, SPOCK2, and GJD3 is associated with brain metastasis of ER-negative breast cancers [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(12): 2982.

(收稿日期:2022-11-18 修回日期:2023-03-12)