

20 例女性腹膜恶性间皮瘤患者血清骨桥蛋白、糖链抗原 125 的检测

Combined Detection of Serum Osteopontin and CA125 in 20 Female Patients with Malignant Peritoneal Mesothelioma // YANG Chun-lin, MA Jian-ting, SHAO Hua-jiang, et al.

杨春林, 马建婷, 邵华江, 吴坚敏
(余姚市人民医院, 浙江 余姚 315400)

摘要: [目的] 探讨血清骨桥蛋白(OPN)、糖链抗原 125(CA125)测定对女性腹膜恶性间皮瘤的诊断价值。[方法] 收集 20 例腹膜恶性间皮瘤患者作为恶性组, 50 例卵巢良性肿瘤患者为良性组, 60 名健康妇女为对照组。酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清骨桥蛋白水平, 电化学发光免疫法测定血清 CA125 水平。比较各组 OPN、CA125 水平, 分析 OPN、CA125 诊断腹膜恶性间皮瘤的灵敏度、特异性。[结果] 恶性组患者骨桥蛋白、CA125 水平显著高于良性组及对照组($P<0.05$)。骨桥蛋白、CA125 单独检测诊断腹膜恶性间皮瘤的灵敏度分别为 60.0%、50.0%, 特异性分别为 89.1%、79.1%, 骨桥蛋白、CA125 联合检测诊断腹膜恶性间皮瘤的灵敏度为 90.0%, 特异性为 95.5%。[结论] 骨桥蛋白对腹膜恶性间皮瘤的诊断有一定的价值, 骨桥蛋白和 CA125 联合检测可提高其临床应用价值, 但确切评价血清骨桥蛋白水平在腹膜恶性间皮瘤中的临床价值仍需积累更多临床资料进行深入研究。

主题词: 腹膜恶性间皮瘤; 骨桥蛋白; 糖链抗原 125

中图分类号: R737.31 **文献标识码:** B

文章编号: 1671-170X(2015)12-1019-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.12.B015

女性腹膜恶性间皮瘤发病隐匿、发展迅速、预后极差, 早期症状缺乏特异性, 临床表现复杂。虽然影像学检查比较直观, 但灵敏度、特异性不高。因此, 选择简便、非介入性检查方法对腹膜恶性间皮瘤的早期诊断尤为重要。血清肿瘤标志物因其检测方便、费用低廉, 已在临床广泛应用。国内外近年来对胸膜恶性间皮瘤的肿瘤标志物有较多研究^[1-3], 但目前没有关于腹膜恶性间皮瘤肿瘤标志物的研究报道。CA125 作为应用最广泛的肿瘤标志物, 并非腹膜恶性间皮瘤所特有, 单凭 CA125 升高不能确诊腹膜恶性间皮瘤。外周血骨桥蛋白(osteopontin, OPN) 作为一个新的肿瘤标志物与多种肿瘤的发生发展、侵袭转移和预后具有密切的关系。本文应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 20 例女性腹膜恶性间皮瘤患者外周血 OPN 的水平, 并用电化学发光免疫法测定 CA125 水平, 初步探讨 OPN 作为女性腹膜恶性间皮瘤肿瘤标志物的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2010 年 1 月至 2014 年 12 月本院收治的 20 例女性腹膜恶性间皮瘤患者作为恶性组, 均经病理确诊, 既往未

行手术、放化疗、基因靶向治疗。患者年龄 42~74 岁, 平均 55.6 岁。选择本院同期收治的 50 例卵巢良性肿瘤患者作为良性组(卵巢子宫内膜异位囊肿 10 例、卵巢浆液性囊腺瘤 12 例、卵巢黏液性囊腺瘤 13 例、卵巢成熟畸胎瘤 15 例), 亦均经病理确诊, 患者年龄 39~76 岁, 平均 52.3 岁。所有患者均无其他恶性肿瘤史, 无心、肺、肝、肾等重要脏器慢性疾病史。另选择 60 名本院健康体检的健康妇女(无恶性肿瘤史、无心肺肝肾等重要脏器慢性疾病史)作为对照组, 年龄 40~75 岁, 平均 54.1 岁。三组年龄、体重指数、绝经状况比较差异无统计学意义($P>0.05$)(Table 1)。

Table 1 The comparison of clinical data of three groups

Groups	N	Age(years)	BMI(kg/m ²)	Menopause	
				Yes	No
Malignant group	20	55.6 ± 4.4	23.2 ± 3.2	6	14
Benign group	50	52.9 ± 6.7	21.8 ± 2.6	11	39
Control group	60	54.1 ± 5.8	22.5 ± 4.6	20	40
F/χ^2		1.690	1.838	1.748	
P		0.189	0.163	0.417	

1.2 检测方法

所有患者血液标本均于术前 1~3 天空腹采集外周抗凝静脉血 5ml, 静置 1h 后 3 000 转/分离心 10min, 取上清液于 -80℃ 冰箱冻存待测。空腹采集对照组标本, 保存方法同上。酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清骨桥蛋白水平。同期电化学发光免疫法测定血清 CA125 水平。OPN 试剂盒由 AMEKO 公司提供, 严格按说明书操作。实验步骤简述如下: 将血清标准品稀释 25 倍; 加样(标准品孔加入标准品 50μl 和链霉亲和素-HRP 50μl; 待测样品孔加入样品 40μl、抗 OPN 抗体 10μl、链霉亲和素-HRP 50μl; 空白对照孔只加显色剂和终止液), 盖上封板膜, 轻摇匀, 37℃ 下放置 60min; 将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用, 揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每孔加满洗涤液, 静置 30s 后弃去, 如此重复 5 次, 拍干。向每孔中加入显色剂 A 50μl, 再加入显色剂 B 50μl, 轻摇匀, 37℃ 避光显色 10min; 向每孔中加入终止液 50μl, 孔中液体颜色由蓝色变为黄色, 未变色的充分混匀; 半小时内酶标仪上 450nm 波长

基金项目: 浙江省医药卫生平台骨干人才计划项目(2012RCA047)

通讯作者: 杨春林, 副主任医师, 硕士; 余姚市人民医院妇产科, 浙江省余姚市文山路 800 号(315400); E-mail: 770359509@qq.com

收稿日期: 2015-09-29; **修回日期:** 2015-10-22

依次测量各孔的吸光度(OD 值);根据标准品的浓度及对应的 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程,再根据样品的 OD 值在回归方程上计算出对应的样品浓度。

1.3 正常参考值

以健康对照组数据($\bar{x}\pm1.96s$)作为上下临界值,计算 OPN 上限临界值。OPN>32.8 μ g/L 时诊断为阳性;CA125 $\geq$ 35U/ml 为阳性。联合检测阳性率的判定方法:两者中一项阳性即定为阳性,两者都阴性定为阴性^[4]。

1.4 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计量资料数据用均数 $\pm$ 标准差表示,组间均数比较采用独立样本 *t* 检验,计数资料采用卡方检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 CA125、骨桥蛋白检测结果

恶性组 OPN、CA125 水平分别为 (114.7 $\pm$ 30.6) μ g/L、(189.1 $\pm$ 15.3)U/ml,显著高于良性组 [(24.8 $\pm$ 7.6) μ g/L、(28.6 $\pm$ 4.2)U/ml] 及对照组 [(19.5 $\pm$ 6.8) μ g/L、(16.9 $\pm$ 3.8)U/ml],经 *t* 检验,差异有统计学意义 (*P*<0.05)(Table 2)。

2.2 血清 CA125、OPN 单检及联检对腹膜恶性间皮瘤的诊断结果

单独检测时,OPN 检测的灵敏度、特异性、阳性和阴性预测值均高于 CA125,灵敏度、阳性预测值和阴性预测值比较差异没有统计学意义 (*P*>0.05),特异性差异有统计学意义 (*P*<0.05) (Table 3)。OPN+CA125 检测的灵敏度均高于 OPN 和 CA125 单独检测,差异均有统计学意义 (*P*<0.05)。OPN+CA125 与 OPN 单独检测的特异性差异无统计学意义 (*P*>0.05),与 CA125 单独检测的特异性差异有统计学意义 (*P*<0.05)。联合检测的阳性预测值和阴性预测值均高于 CA125 的单独检测,差异有统计学意义 (*P*<0.05)。联合检测的阳性预测值高于 OPN 的单独检测,差异有统计学意义 (*P*<0.05),但阴性预测值比较差异没有统计学意义 (*P*>0.05)(Table 4,5)。CA125+OPN、OPN、CA125ROC 曲线下面积分别为 0.944、0.881、0.829(Figure 1)。

3 讨论

腹膜恶性间皮瘤易与卵巢恶性肿瘤、转移性腺癌等混淆,易误诊,无论是临床诊断还是病理诊断均有一定难度^[5,6]。CA125 是

Table 2 Comparison of OPN,CA125 levels between 3 groups

Groups	N	CA125(U/ml)	<i>t</i>	<i>P</i>	OPN(μ g/L)	<i>t</i>	<i>P</i>
Malignant group	20	189.1 $\pm$ 15.3	49.61 ^a	0.000 ^a	114.7 $\pm$ 30.6	13.479 ^a	0.000 ^a
Benign group	50	28.6 $\pm$ 4.2	13.376 ^b	0.000 ^b	24.8 $\pm$ 7.6	4.001 ^b	0.000 ^b
Control group	60	16.9 $\pm$ 3.8	53.334 ^c	0.000 ^c	19.5 $\pm$ 6.8	14.423 ^c	0.000 ^c

Note:^a;malignant vs benign;^b;benign vs control;^c;malignant vs control.

Table 3 Serum CA125,OPN diagnosis of peritoneal malignant mesothelioma alone

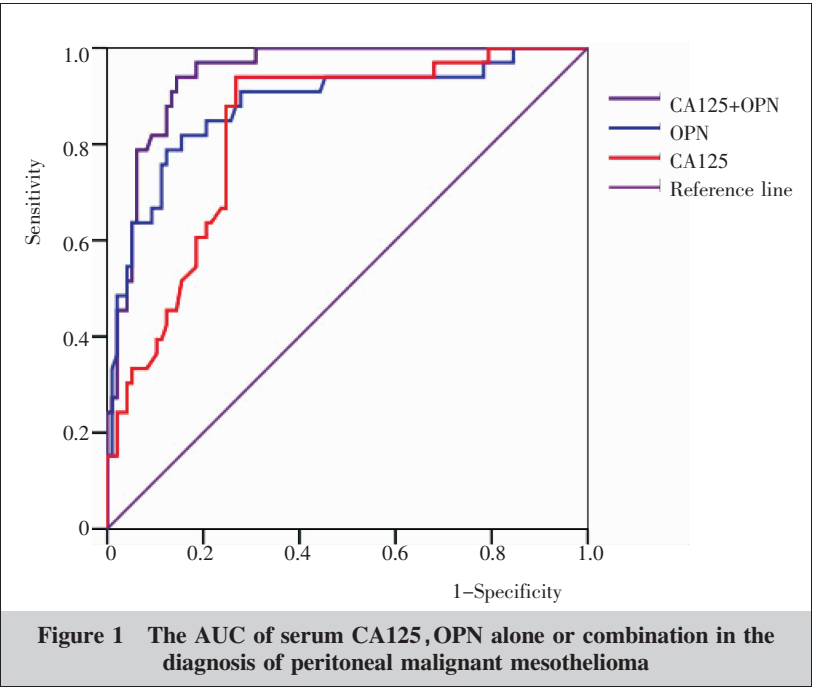
Index	Se(%)	Sp(%)	PV+(%)	PV-(%)
CA125	50.0(10/20)	79.1(87/110)	30.3(10/33)	89.7(87/97)
OPN	60.0(12/20)	89.1(98/110)	50.0(12/24)	92.5(98/106)
χ^2	0.404	4.111	2.275	0.478
<i>P</i>	0.525	0.043	0.132	0.489

Table 4 Serum CA125,OPN+CA125 in the diagnosis of peritoneal malignant mesothelioma

Index	Se(%)	Sp(%)	PV+(%)	PV-(%)
CA125	50.0(10/20)	79.1(87/110)	30.3(10/33)	89.7(87/97)
OPN+CA125	90.0(18/20)	95.5(105/110)	78.3(18/23)	98.1(105/107)
χ^2	7.619	13.259	12.469	6.546
<i>P</i>	0.006	0.000	0.000	0.011

Table 5 Serum OPN,OPN+CA125 in the diagnosis of peritoneal malignant mesothelioma

Index	Se(%)	Sp(%)	PV+(%)	PV-(%)
OPN	60.0(12/20)	89.1(98/110)	50.0(12/24)	92.5(98/106)
OPN+CA125	90.0(18/20)	95.5(105/110)	78.3(18/23)	98.1(105/107)
χ^2	4.800	3.124	4.063	2.673
<i>P</i>	0.028	0.077	0.044	0.102



目前临床实验室最常用的肿瘤标志物之一,但CA125在多种良性和恶性疾病及某些生理情况下均可不同程度的升高,对腹膜恶性间皮瘤的诊断缺乏较高的特异性,作为单一指标诊断腹膜恶性间皮瘤有一定的局限性,因此需要寻找新的肿瘤标志物与CA125联合检测来提高腹膜恶性间皮瘤的早期诊断率。

OPN是一种带负电荷、具有亲水性的酸性分泌糖蛋白,表达于骨组织和上皮细胞中,其编码基因位于染色体4q13位点上,具有多种生物学功能,在肿瘤细胞的迁移、粘附、浸润、血管新生以及肿瘤的微环境中起重要作用,与肿瘤的发生发展、转移和预后密切相关。研究发现人类多种肿瘤组织和肿瘤患者的血浆中出现OPN过量表达或其OPN基因异常扩增现象^[7-10],黄天臣等^[11]用ELISA法检测了135例胃癌患者术前、术后血清的骨桥蛋白浓度,并随访了病例组患者转移复发及生存情况,发现胃癌病例组OPN浓度明显高于健康对照组,胃癌患者术前血清骨桥蛋白浓度与术后复发和生存密切相关,提示OPN可以成为预测胃癌转移复发及生存分子指标。Zhang等^[12]认为骨桥蛋白水平与铂类化疗反应和晚期非小细胞肺癌的预后相关。Konieczna等^[13]通过电泳技术分析比较了健康人群与乳腺癌患者组织中OPN平均值,结果表明OPN在乳腺癌组织的水平显著高于健康组织,并且OPN高水平与癌症分期相关,提示骨桥蛋白可作为乳腺癌的候选标志物。有研究表明卵巢癌血清OPN浓度明显高于良性卵巢肿瘤组,提示OPN可作为新的肿瘤标志物用于卵巢良恶性肿瘤的鉴别,且联合CA125检测可以提高卵巢癌诊断的灵敏度、阳性预测值、阴性预测值^[4,9,14]。OPN亦可作为宫颈癌疗效的评价指标,张颖等^[15]通过检测宫颈癌外周血中OPN的水平发现,复发者OPN水平明显高于未复发患者,进一步证实了OPN参与宫颈癌的发展和转移。

本研究中腹膜恶性间皮瘤组血清OPN浓度明显高于良性卵巢肿瘤组和对照组,差异有统计学意义,表明OPN可作为新的肿瘤标志物用于腹膜恶性间皮瘤的鉴别诊断。各标志物单独或联合检测腹膜恶性间皮瘤的AUC从大到小CA125+OPN(0.944)>OPN(0.881)>CA125(0.829),显示两者联合诊断价值最高。单检时,OPN的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值均高于CA125,但仅特异性比较差异有统计学意义,提示OPN对腹膜恶性间皮瘤的诊断有较高的特异性。OPN联合CA125的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值均高于两者单独检测,但联合检测的阴性预测值与OPN单独检测比较差异没有统计学意义,提示联合检测可以提高腹膜恶性间皮瘤诊断的灵敏度、特异性、阳性预测值,OPN对腹膜恶性间皮瘤的诊断有较高阴性预测值,和CA125联合检测可以提高腹膜恶性间皮瘤的诊断率。但本课题的缺陷在于未设立卵巢癌对照组,下一步的研究计划是结合影像学诊断,检测OPN及CA125应用于腹膜恶性间皮瘤与卵巢癌鉴别诊断的可能性。

综上所述,血清OPN检测在一定意义上符合肿瘤标志物

的要求特点,在临床中可考虑将其与CA125联合检测应用诊断腹膜恶性间皮瘤。但本研究由于样本量较少,上述结论还需要大规模、高条件、专业的实验研究,为临床应用提供有力的依据。

参考文献:

- [1] Cristaudo A, Bonotti A, Simonini S, et al. Combined serum mesothelin and plasma osteopontin measurements in malignant pleural mesothelioma[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(9): 1587-1593.
- [2] Rai AJ, Flores RM, Mathew A, et al. Soluble mesothelin related peptides (SMRP) and osteopontin as protein biomarkers for malignant mesothelioma: analytical validation of ELISA based assays and characterization at mRNA and protein level[J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(2): 271-278.
- [3] Lin H, Shen YC, Long HY, et al. Performance of osteopontin in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma: a meta-analysis[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(5): 1289-1296.
- [4] Yang JH, Liu JH, Sun ZP. Detection of osteopontin and CA125 in patients with ovarian cancer and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Family Planning, 2007, 15(5): 303-305. [杨静华, 刘建辉, 孙志平. 卵巢癌患者血清骨桥蛋白和CA125的检测及临床意义[J]. 中国计划生育学杂志, 2007, 15(5): 303-305.]
- [5] Shao HJ, Ma JT, Yang XE, et al. Diagnostic and therapeutic analyses for peritoneal malignant mesothelioma: a report of 26 women [J]. National Medical Journal of China, 2011, 91(33): 2336-2339. [邵华江, 马建婷, 杨秀儿, 等. 女性腹膜恶性间皮瘤26例诊治分析[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(33): 2336-2339.]
- [6] Lou JL, Gao ZB, Jiang ZQ, et al. Comparing the results of pathologic diagnosis of mesothelioma between Chinese and Japanese experts[J]. Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, 2015, 33(1): 33-36. [楼建林, 高志斌, 蒋兆强, 等. 中日专家对恶性间皮瘤病理诊断的对比研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(1): 33-36.]
- [7] He ZQ, Yang GP, Zhao HY. Correlativity of expressions of osteopontin and integrin $\beta 3$ subunit with malignant degree of meningioma[J]. Chinese Journal of Clinical Neurosurgery, 2014, 19(11): 665-667. [何主强, 杨国平, 赵洪洋. 骨桥蛋白及整合素 β_3 亚基与脑膜瘤恶性程度相关性[J]. 中国临床神经外科杂志, 2014, 19(11): 665-667.]
- [8] Tang M, Zhang ZX, Xu J, et al. Expression of OPN and CD44v6 and their clinical significances in esophageal squamous cell carcinoma[J]. China Journal of Modern Medicine, 2014, 24(17): 28-33. [唐猛, 张志学, 许静, 等.

- 骨桥蛋白与 CD44V6 在食管鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(17): 28-33.]
- [9] Huang XC, Sun XB, Hu ZD, et al. Diagnostic value of osteopontin for ovarian cancer: a Meta-analysis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(6): 44-47. [黄晓春, 孙晓冰, 胡志德, 等. 血清骨桥蛋白诊断卵巢癌的 meta 分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(6): 44-47.]
- [10] Shang Sufen, Plymoth Amelie, Ge Shaokui, et al. Identification of osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology (Baltimore, Md.), 2012, 55(2): 483-490.
- [11] Huang TC, Qiu XG. Detection of osteopontin as a potential biomarker for metastasis and recurrence in gastric cancer [J]. Medical Journal of Wuhan University, 2013, 34 (2): 280-284. [黄天臣, 邱新光. 血清骨桥蛋白检测对预测胃癌转移复发的意义[J]. 武汉大学学报(医学版), 2013, 34 (2): 280-284.]
- [12] Zhang T, Zhang DM, Zhao D, et al. Osteopontin expression is associated with platinum-based chemotherapy response and prognosis of patients with advanced non small cell lung cancer [J]. J BUON, 2014, 19(3): 742-748.
- [13] Konieczna L, Skokowski J, Oledzka I, et al. The osteopontin tissue level as a breast cancer biomarker in females after mastectomy measured by the capillary gel electrophoresis technique [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2013, 16(5): 331-338.
- [14] Li MJ, Yang YQ, Peng CX, et al. Early diagnostic value of combined detection of OPN and CA125 in ovarian cancer [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(4): 691-693. [李明锦, 杨毓琴, 彭彩霞, 等. OPN 联合 CA125 检测在卵巢癌早期诊断中的价值[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13 (4): 691-693.]
- [15] Zhang Y, Liu YX, Li LY, et al. Predictive value of plasma osteopontin level in cervical cancer recurrence [J]. Medical Innovation of China, 2015, 12(6): 44-46. [张颖, 刘艳霞, 李灵燕, 等. 血浆骨桥蛋白水平变化对宫颈癌复发预测的价值[J]. 中国医学创新, 2015, 12(6): 44-46.]

浙江省放射肿瘤学重点实验室 2016 春季研讨会 暨淋巴瘤放化疗论坛预告

为了推动浙江省放射肿瘤学重点实验室项目的建设,推进淋巴瘤综合治疗理念,由浙江省肿瘤医院和浙江省放射肿瘤学重点实验室主办,肿瘤学杂志社承办的浙江省放射肿瘤学重点实验室 2016 春季研讨会暨淋巴瘤放化疗论坛,将于 2016 年 3 月 11~13 日在杭州举行。

会议特别邀请一批国内外著名淋巴瘤治疗相关专家作学术报告。本研讨会将本着规范与前沿并重的原则,在重点介绍淋巴瘤放化疗规范化治疗的同时,亦将对相关领域的最新进展及同道们关心关注的热点难点问题进行对话与探讨。对全程参会者将按规定授予国家级 I 类继续教育学分。

我们诚挚地邀请省内外的专家和同道能莅临杭州,相聚在美丽的西子湖畔,畅叙友情,交流心得,共同促进放射治疗事业的发展。

浙江省肿瘤医院
浙江省放射肿瘤学重点实验室
肿瘤学杂志社
2015 年 12 月