·经验交流·

癌胚抗原、糖类抗原211、前列腺特异抗原在老年人肿瘤筛查中的意义

张小明
(广州医科大学附属第二医院健康体检部,广州 510260)

【关键词】 老年人;肿瘤;预后;癌胚抗原;糖类抗原211;前列腺特异抗原;相关性
【中图分类号】 R730.4 【文献标识码】 B 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.11.204

老年人是肿瘤的高发人群,其肿瘤发病特点为发病率高,转移率高,死亡率高,且早期诊断率低,多数患者就诊时已处于进展期,肿瘤复发和转移是治疗失败的主要原因[1]。多数老年患者患病后初次就诊已经伴有广泛的淋巴结转移或者远端的转移,已处于该病的晚期,失去手术根治的机会,耽误了治疗的最佳时机,早期诊断对疾病的及时发现及治疗具有重要的临床意义[1-3]。大样本多中心的研究发现很多基因参与了老年人肿瘤发生。寻找老年人肿瘤发生、发展的相关基因,了解老年肿瘤的分子遗传学机制,为老年肿瘤的诊断和治疗提供理论基础是目前的研究热点。通过利用更特异的基因学标志及与其相关的表型改变,阐述癌前细胞的发生、发展及转归将有助于更好地了解癌前病变的分子生物学机制。这样的标志物必将有助于识别老年肿瘤高危人群,使早期发现、化学预防、早期治疗成为可能[4,5]。广州医科大学附属第二医院通过联合检测癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、糖类抗原211(carbohydrate antigen 211, CA211)、前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)的表达程度探讨了CEA、CA211、PSA基因在老年人肿瘤筛查中的作用及其作为老年人肿瘤早期诊断筛查分子指标的可能性。本研究搜集病例样本共计3685例,其中96例证实为老年人肿瘤样本,旨在进一步了解其筛查效果。

1 临床资料

从所搜集的3685例病例中筛查出我院2012年1月至2015年1月老年肿瘤手术切除患者的病例样本共计96例,通过病理诊断分析均为原发性老年肿瘤,所有患者均为初诊,术前未进行任何放疗、化疗及分子靶向治疗等。其中男性74例,女性22例,年龄为65~88(71.34±1.13)岁。收集标本前该临床试验研究通过了医院伦理委员会的批准,且所有病例患者均签订知情同意书。在术中取材之后,肿瘤的位置以病理组织报告为标准,将样本立即放置入液氮罐中保存,转入-80℃冰箱长期保存,在实验前取出,提取老年患者肿瘤组织的RNA,同时进行病理学监测,对老年患者肿瘤组织的病理学进行分型,肿瘤的浸润程度按照国际抗癌联盟标准分类[7],淋巴分化以及转移采用世界卫生组织(WHO)的诊断标准[7]进行分析判断。

试剂:Platinum SYBR Green qPCR SuperMix-UDG(Invitroge公司,美国),TaqMix(东盛生物科技有限公司,广州),PCR试剂盒、TaqMan RNA试剂盒(Santa Cruz公司,美国),RNA提取试剂盒(Sigma公司,美国),DEPC(碧云天生物技术有限公司,上海),乙醇、异丙醇、氯仿(硕盟生物科技有限公司,上海)。仪器:高速冷冻离心机(BiofugeStratos,德国),-80℃及-4℃冰箱(松下,日本),PCR仪(Rotor-gene,澳大利亚),紫外分光光度仪(Beckman Coulter公司,美国)。

对96例老年患者肿瘤组织采用RNA提取试剂盒进行RNA提取,采用TaqMan RNA试剂盒检测CEA、CA211、PSA的相对表达量。采用RNU6作为内参进行校正。对CEA、CA211、PSA的表达水平采用二步法进行检测:第一步是通过茎环引物来合成互补DNA,再通过RNA的逆转录系统对10 ng RNA进行逆转录,在PCR管加入10 μl的逆转录缓冲液,总RNA浓度调整到2 mg/L,最后加入5 μl的逆转录引物,在冰上混匀之后反应5 min,接着进行梯度变性反应,94℃、30 s,60℃、30 s,72℃、60 s,72℃、7 min递减;第二步采用Platinum SYBR Green qPCR的反应体系,反应体系为2×的PCR Taqman Universal的混合液以及Taqman RNA的特异性引物,通过逆转录体系进行反应,cDNA共5 μl加入到RNA去酶水当中,将体积扩增至20 μl,通过循环反应94℃、30 s,60℃、30 s,72℃、60 s,72℃、7 min递减,扩张40个循环之后,对实验结果进行分析。采用荧光实时定量反应,按照PCR操作说明,Ct的检测值不在20~32范围时需要进行第2次检测。应用$\Delta Ct = Ct_{CEA,CA211,PSA} - Ct_{RNU6}$的计算公式计算CEA、CA211、PSA的相对表达量。

所有采集的数据应用SPSS21.0统计软件进行处理。依据CEA、CA211、PSA表达水平分为两组:低表达组(<平均值)和高表达组(>平均值)。通过分析CEA、CA211、PSA的表达水平高低与发病相关因素,以逐步回归法筛选有统计学意义的变量,对临床病理因素之间的风险情况采用logistic回归分析,组间均数比较采用t检验或方差分析,组间率的比较用卡方检验。运用Kaplan-Meier的生存曲线对肿瘤切除术后患者的生存情况进行分析,阐明CEA、CA211、PSA表达

收稿日期:2016-06-21;修回日期:2016-08-16
通信作者:张小明,E-mail:zxming23@163.com

的高低与生存率之间的关系，统计检测采用双尾的检测方法，应用 Mann-whitney U 检验法进行数据之间两两比较。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

研究结果表明，96 例老年肿瘤组织的 CEA、CA211、PSA 的平均相对表达量分别为 1.53 ± 0.34，1.53 ± 0.41 和 1.63 ± 0.39。CEA、CA211、PSA 相对表达量与患者的年龄、性别及瘤组织大小并不存在相关性（$P>0.05$）；而在淋巴受累、肿瘤分期和分化程度方面，CA211、CEA、PSA 相对表达量差异有统计学意义（$P<0.05$；表 1）。

logistic 回归分析显示 CA211、CEA、PSA 相对表达量的上升增加了淋巴结转移的风险，调整之后风险的 OR = 5.16，95% CI 为 1.27 ~ 20.83，$P=0.03$（表 2）。

2 讨 论

2011 年世界肿瘤统计报告表明，2008 年全球共有 989 600例老年肿瘤新发病例，占所有癌症新发病例的 8%，占癌症总死亡人数的 10%[8]。2003 至 2007 年我国老年肿瘤发病率和死亡率仍处于较高水平[9]。近几年老年肿瘤的发病率有逐年增高的趋势，虽然随着治疗手段的进步，患者的生存率有所提高，但转移和复发仍然是其死亡的主要原因[10]。近年来国内外学者对老年肿瘤的研究主要集中在病因学中遗传基因的研究、早期诊断方法的研究、手术方法改进的研究、放射、化学治疗的研究等方面，且取得了一定进展，但老年肿瘤的发病率及死亡率无明显下降，说明上述研

表 1 CEA、CA211、PSA 的相对表达量与临床病理特征之间的相关性

Table 1 Correlation of CEA, CA211 and PSA relative expression levels with clinicopathological features

Item	Patient [n(%)]	CEA expression level		CA211 expression level		PSA expression level	
		($\bar{x}\pm s$)	P value	($\bar{x}\pm s$)	P value	($\bar{x}\pm s$)	P value
Gender			0.756		0.645		0.745
Male	74(77.08)	1.47 ± 0.16		1.59 ± 0.15		1.65 ± 0.16	
Female	22(22.92)	1.38 ± 0.20		1.40 ± 0.14		1.59 ± 0.17	
Age(years)			0.656		0.536		0.645
>60	46(47.92)	1.43 ± 0.21		1.45 ± 0.13		1.46 ± 0.15	
≤60	50(52.08)	1.46 ± 0.15		1.48 ± 0.16		1.49 ± 0.17	
Differentiation			0.034		0.026		0.036
High	12(12.50)	1.88 ± 0.25		1.23 ± 0.18		2.01 ± 0.19	
Mediate	46(47.92)	1.45 ± 0.17		1.56 ± 0.17		1.64 ± 0.18	
Low	38(39.58)	1.22 ± 0.21		1.96 ± 0.16		1.20 ± 0.16	
Depth of invasion			0.036		0.032		0.029
T_1+T_2	54(56.25)	1.47 ± 0.24		1.26 ± 0.14		1.56 ± 0.13	
T_3+T_4	42(43.75)	1.25 ± 0.16		1.51 ± 0.14		1.28 ± 0.14	
Lymph node metastasis			0.026		0.023		0.025
No	22(22.92)	1.89 ± 0.19		1.30 ± 0.16		1.99 ± 0.15	
Yes	74(77.08)	1.35 ± 0.16		1.97 ± 0.15		1.21 ± 0.17	
Distant metastasis			0.645		0.043		0.035
No	70(72.92)	1.48 ± 0.21		1.26 ± 0.19		1.67 ± 0.18	
Yes	26(27.08)	1.44 ± 0.18		1.50 ± 0.17		1.05 ± 0.15	
Tumor size			0.847		0.653		0.453
≤5 cm	44(45.83)	1.41 ± 0.18		1.42 ± 0.16		1.43 ± 0.17	
>5 cm	52(54.17)	1.48 ± 0.21		1.44 ± 0.17		1.45 ± 0.19	

CEA: carcino-embryonic antigen; CA211: carbohydrate antigen 211; PSA: prostate specific antigen

表 2 CEA、CA211、PSA 相对表达量的高低与临床病理因素之间的关系

Table 2 Relationship of CEA, CA211 and PSA relative expression levels with clinicopathological factors analyzed with logistic regression

Item	OR(95% CI)	P value	Adjusted OR(95% CI)[a]	P[a] value
Depth of invasion				
T_1+T_2	1.00	0.08	1.00	0.11
T_3+T_4	2.92(0.93 - 8.74)		3.08(0.81 - 9.23)	
Lymph node metastasis				
No	1.00	0.04	1.00	0.03
Yes	3.51(2.13 - 9.27)		5.16(1.27 - 20.83)	
Distant metastasis				
No	1.00	0.65	1.00	0.80
Yes	1.48(0.59 - 4.85)		0.73(0.15 - 3.82)	

CEA: carcino-embryonic antigen; CA211: carbohydrate antigen 211; PSA: prostate specific antigen

究的深度不够，一些研究结果尚未用于临床[11]。由于恶性肿瘤是威胁老年人生命的主要疾病，因此进一步研究和寻找有关老年肿瘤转移和复发的早期生物标志物及敏感特异的诊断手段，是老年肿瘤有效治疗、改善预后和提高生存率的关键所在。研究老年肿瘤的病因，做好老年肿瘤发病的预防，减少其发病率，仍是今后研究的主要方向[12]。

分子生物学检测技术对老年肿瘤的早期诊断和筛查已显现出好的应用前景，但还没有一种切实有效的方法能准确无误地做出临床前诊断和筛查。一是目前使用的新技术、新方法存在特异度差、敏感度不高、可能出现假阳性或假阴性的不足；二是目前研究的分子标志物都是肿瘤相关性而非特异性。此外，任何肿瘤的筛查和早期诊断均不是靠完全单一的方法就能完成，目前国内外多采用多项指标联合检测以提高老年肿瘤筛查和早期诊断的水平。CEA是新发现的一种促癌基因，通过促进FAK信号通路的磷酸化阻止透明质酸诱导分泌而抑制肿瘤细胞的浸润转移，是临床上常采用的肿瘤标志物[13,14]；CA211主要通过识别各种内外源性的诱变因子造成的DNA的损害，发生自动磷酸化进而快速激活CA211激酶，CA211的表达水平与肿瘤细胞的浸润及其对组织的损伤的情况具有相关性[15,16]；PSA可通过非P53依赖途径上调P21WAF1/CIP1信号促进细胞增殖，从而促进细胞周期素以及细胞周期蛋白活性，研究发现PSA在多种癌组织中存在着表达增强机制[17,18]。

本研究通过对老年肿瘤组织CEA、CA211、PSA联合检测以了解其临床意义，并探讨了其在老年肿瘤筛查中的意义，结果显示，CA211、CEA、PSA相对表达量的上升，提示淋巴结转移的风险增加，组间比较差异均具有统计学意义。综上所述，CEA、CA211、PSA的联合检测有助于提高老年肿瘤检出率，有助于肿瘤侵袭和转移的筛查及预测。

【参考文献】

[1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A, *et al*. Cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1): 10-29.

[2] Paoletti X, Oba K, Burzykowski T, *et al*. Benefit of adjuvant chemotherapy for resectable gastric cancer: a meta-analysis[J]. JAMA, 2010, 303(17): 1729-1737.

[3] Zhou Y, Yin X, Ying J. Golgi protein 73 *versus* alpha fetoprotein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic meta-analysis[J]. BMC Cancer, 2012, 12(1): 17.

[4] Society of Laboratory Medicine of Chinese Medical Association, National Center of Clinical Laboratories, Editorial Board of Chinese Journal of Laboratory Medicine, *et al*. Recommendations on clinical applications of tumor markers[J]. Chin J Lab Med, 2012, 35(2): 103-116. [中华医学会检验分会，卫生部临床检验中心，中华检验医学杂志编辑委员会，等. 肿瘤标志物的临床应用建议[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(2): 103-116.]

[5] Li ML, Zhang JC, Li SG, *et al*. Characteristic gene expression profiles in the progression from normal gastric epithelial cells to moderate gastric epithelial dysplasia and to gastric cancer[J]. Chin Med J (Engl), 2012, 125(10): 1777-1783.

[6] Yan HL, Gong YZ. Research progress in relationship of oxidative stress and p16 and p53/p21 with cellular aging[J]. Med Rev, 2011, 17(5): 682-685. [闫海龙，龚勇珍. 氧化应激及p16和p53/p21与细胞衰老关系的研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(5): 682-685.]

[7] Leja M, Wex T, Malfertheiner P. Markers for gastric cancer premalignant lesions: where do we go[J]? Dig Dis, 2012, 30(3): 268-276.

[8] Sangodkar J, Shi J, DiFeo A, *et al*. Functional role of the KLF6 tumour suppressor gene in gastric cancer[J]. Eur J Cancer, 2009, 45(4): 666-676.

[9] Migdalska-Sek M, Pastuszak-Lewandoska D, Brzezianska E. MSI and LOH in the development and prognosis of follicular cell-derived thyroid tumors[J]. Endokrynol Pol, 2012, 63(2): 126-136.

[10] Sarkar S, Goldgar S, Byler S, *et al*. Demethylation and reexpression of epigenetically silenced tumor suppressor genes: sensitization of cancer cells by combination therapy[J]. Epigenomics, 2013, 5(1): 87-94.

[11] Ehlert T, Simon P, Moser DA. Epigenetics in sports[J]. Sports Med, 2013, 43(2): 93-110.

[12] Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Amariglio N, *et al*. Adenosine-to-inosine RNA editing meets cancer[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(11): 1569-1577.

[13] Liu YF, Lai CY, Su ZX, *et al*. Research progress in diagnostic marker for prostate cancer[J]. Mod Genitourin Oncol, 2012, 4(4): 242-244. [刘玉峰，赖彩永，苏泽轩，等. 前列腺癌诊断标志物的研究进展[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2012, 4(4): 242-244.]

[14] Cheng ZY, Guo XL, Li SH, *et al*. Effect of CEA-FAK signaling pathway on the leukemia cell migration and invasion[J]. Chin J Hematol, 2009, 30(1): 115. [成志勇，郭晓玲，李世辉，等. CEA-FAK信号传导通路在自血病细胞迁移、侵袭中的作用[J]. 中华血液学杂志, 2009, 30(1): 115.]

[15] Xu CA, Li L, Xing LL, *et al*. Studies of serum carcino-embryonic antigen and CYFRA21-1 in predicting chemotherapeutic effect and prognostic value in advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Chin Gen Pract, 2012, 15(2): 411-413. [许崇安，李 琳，邢丽丽，等. 血清癌胚抗原和CYFRA21-1预测晚期非小细胞肺癌患者化疗疗效及预后的价值研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(2): 411-413.]

[16] Chu XY, Hou XB, Song WA, *et al*. Diagnostic values of SCC, CEA, Cyfra21-1 and NSE for lung cancer in patients with suspicious pulmonary masses: a single center analysis[J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(12): 995-1000.

[17] Chiam K, Ryan NK, Ricciardelli C, *et al*. Characterization of the prostate cancer susceptibility gene KLF6 in human and mouse prostate cancers[J]. Prostate, 2013, 73(2): 182-193.

[18] Guo MY, Chen Y, Luo YY, *et al*. Value of different serum tumor markers examination in diagnosis of lung cancer in the elderly[J]. Chin Med J Gerontol, 2010, 29(8): 677-678. [郭满盈，陈 扬，罗媛烨，等. 不同血清肿瘤标志物联合检查在老年人肺癌诊断中的价值[J]. 中华老年医学杂志, 2010, 29(8): 677-678.]

（编辑：周宇红）