·论著·

血清 lncRNA PTENP1 联合 CA724、CA19-9、癌胚抗原检测在胃癌诊断及预后中的价值

冯晓玲　李新岩

【摘要】 目的　探讨血清长链非编码 RNA(lncRNA)PTENP1 联合糖类抗原 724(CA724)、糖类抗原 19-9(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)检测在胃癌诊断及预后中的价值。方法　收集 2013 年 3 月至 2015 年 2 月经新疆医科大学第五附属医院消化科确诊的 110 例胃癌患者作为胃癌组,108 例胃良性疾病患者作为胃良性疾病组,选取 120 例同期健康体检者作为健康体检组。采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测血清 lncRNA PTENP1 表达水平,采用化学发光法检测 CA724、CA19-9、CEA 表达水平。结果　与胃良性疾病组和健康体检组相比,胃癌组患者的血清 CA724、CA19-9 和 CEA 表达水平升高,血清 lncRNA PTENP1 水平降低,差异均有统计学意义(P 均<0.05)。Spearman 相关性分析显示,血清 CA724、CA19-9、CEA 及 lncRNA PTENP1 水平与胃癌患者淋巴结转移、TNM 分期均具有显著相关性(P 均<0.001)。联合检测 CA724、CA19-9、CEA 及 lncRNA PTENP1 在区分胃癌与胃良性疾病及健康对照的敏感度为 96.1%,特异度为 88.4%。生存分析显示,CA19-9、CA724 和 CEA 表达水平较高的患者,以及 lncRNA PTENP1 表达水平较低者的生存时间较低。结论　联合检测血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 的表达水平对胃癌具有潜在的诊断及预后价值。

【关键词】 胃癌;长链非编码 RNA;糖类抗原 724;糖类抗原 19-9;癌胚抗原
DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2019.05.007

Value of serum lncRNA PTENP1 combined with CA724, CA19-9, and carcinoembryonic antigen detection in diagnosis and prognosis of gastric cancer

FENG Xiaoling. Department of Gastroenterology, Fifth Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, *China*; *LI Xinyan. Department of Endocrinology, Fifth Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi* 830000, *China*

【Abstract】 Objective This paper aims to investigate the value of serum long non-coding RNA (lncRNA) PTENP1 combined with carbohydrate antigen 724 (CA724), carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9), and carcinoembryonic antigen (CEA) in the diagnosis and prognosis of gastric cancer. **Methods** From March 2013 to February 2015, 110 patients with gastric cancer diagnosed in the Fifth Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University were assigned to the gastric cancer group, 108 patients with benign gastric diseases to the benign disease group, and 120 healthy subjects to the healthy control group. Serum lncRNA PTENP1 was detected by real-time quantitative PCR (RT-PCR), and serum CA724, CA19-9, and CEA were detected by using the chemiluminescence method. **Results** Compared with the benign disease group and the healthy control group, the expression of serum CA724 were significantly higher in the gastric cancer group, while the lncRNA PTENP1 was significantly lower in patients with gastric cancer, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that serum CA724, CA19-9, CEA, and lncRNA PTENP1 in gastric cancer patients were significantly correlated with the lymph node metastasis and TNM staging ($P<0.001$).

作者单位:830000　新疆乌鲁木齐,新疆医科大学第五附属医院消化科(冯晓玲),内分泌科(李新岩)

The sensitivity and specificity of lncRNA PTENP1 combined with CA724, CA19-9, and CEA in differentiating gastric cancer from benign lesion and the control group were 96.1% and 88.4%, respectively. Survival analysis indicated that patients with low lncRNA PTENP1, high CA19-9, high CA724, and high CEA had significantly lower survival times than those with high lncRNA PTENP1, low CA19-9, low CA724, and low CEA ($P<0.05$). **Conclusion** Combined detection of serum CA724, CA19-9, CEA, and lncRNA PTENP1 have a potential diagnostic and prognostic value for gastric cancer.

【Key words】 Gastric cancer; Long non-coding RNA; Carbohydrate antigen 724; Carbohydrate antigen 19-9; Carcinoembryonic antigen

胃癌是常见的消化道肿瘤之一，中国的发病率约为 27.77/10 万，病死率约 25.27/10 万[1]。早期胃癌患者常无自觉症状，发病隐匿，这是疾病最终进展至晚期并导致患者预后较差的重要原因。血清学标志物可为胃癌的早期发现和及时诊疗赢得宝贵时间，已逐渐引起人们重视。研究发现，糖类抗原 724(CA724)、糖类抗原 19-9(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)、长链非编码 RNA(lncRNA)PTENP1 在胃癌患者体内异常表达，与胃癌的发生、发展、侵袭、转移等过程密切相关[2-5]。本研究纳入 110 例胃癌患者、108 例胃良性疾病患者和 120 例健康体检者，检测并比较了 3 组研究对象的血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 的表达水平，分析这四项指标与胃癌的临床病理特征的相关性及临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集新疆医科大学第五附属医院 2013 年 3 月至 2015 年 2 月经病理学确诊的 110 例胃癌患者，其中乳头状腺癌 57 例，黏液腺癌 28 例，管状腺癌 25 例；发生淋巴结转移 35 例，未发生淋巴结转移 75 例；TNM 分期Ⅰ～Ⅱ期 60 例，Ⅲ～Ⅳ期 50 例。胃癌的分期参照美国肿瘤联合会(AJCC)第 8 版 TNM 分期系统[6]。同期选取 108 例胃良性疾病患者(胃平滑肌瘤 38 例、胃腺肌瘤 20 例、胃纤维瘤 19 例、胃溃疡 31 例)和 120 例健康体检者。3 组研究对象的年龄、性别、吸烟史、饮酒史差异均无统计学意义(P 均>0.05)，具有可比性，见表 1。本研究的开展经医院伦理委员会批准。

表 1 3 组研究对象的临床基本资料

组别	胃癌组(n=110)	胃良性疾病组(n=108)	健康体检组(n=120)	统计值	P 值
年龄/岁	56.32±4.71	55.25±3.98	55.80±4.87	F=1.104	0.768
男性/例(%)	75(68.2)	72(66.7)	81(67.5)	χ^2=1.028	0.843
吸烟史/例(%)	57(51.8)	59(54.6)	60(50.0)	χ^2=1.209	0.648
饮酒史/例(%)	68(61.8)	70(64.8)	77(64.2)	χ^2=1.373	0.563

1.2 血清 CA724、CA19-9、CEA 与 lncRNA PTENP1 表达水平检测

研究对象禁食 10 h 以上，次日清晨由医护人员使用含促凝剂的采血管抽取静脉血 5 mL，血液标本经 12 000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm)，收集上层血清。采用化学发光法检测 CA724、CA19-9、CEA 表达水平，检测原理为：采用化学发光剂吖啶酯类化合物直接标记 CA724、CA19-9、CEA 抗体，分别与标本中 CA724、CA19-9、CEA 特异性结合，用发光信号测定仪——Archetect j2000sr 全自动免疫分析仪(美国 Abbott 公司)进行发光测定，而后根据 CA724、CA19-9、CEA 标准品制作的标准曲线进行定量，并采用配套的原装进口试剂盒。

采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 lncRNA PTENP1 的相对表达量，检测试剂购自中国 Takara 公司，反应体系为：Mix 10 μL，上下游引物各 0.8 μL，cDNA 2 μL，DEPC 水 6.4 μL。qPCR 反应循环条件为：95 ℃变性 5 min；95 ℃ 30 s、60 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s，45 个循环。每组设置 3 个复孔。应用 PrimerPremier 5.0 进行 PCR 引物设计，引物合成由武汉擎科创新生物科技有限公司提供，引物序列见表 2。采用 $2^{-\Delta Ct}$ 法计算 lncRNA PTENP1 的相对表达量。△Ct 值= PTENP1 Ct 值－GAPDH Ct 值。

采用英国朗道公司肿瘤高值、低值质控品进行质量控制，判断标准为 Westgard 多规则分析，并分析本次实验血清 CA724、CA19-9、CEA 与 lncRNA PTENP1 检测的批内、批间变异系数，用以评估检

测的重复性和精确度。

表 2　引物序列

基因	序列
lncRNA PTENP1	上游:5′-TATTAACACAGACCGAA-3′
	下游:5′-GTTCTTTGATCAATCCAT-3′
GAPDH	上游:5′-AGAAGGCTGGTCATTTG-3′
	下游:5′-GAGGAGCATTGTGATGAT-3′

1.3　随访

依据纳入研究的时间,对胃癌患者进行 40 个月的电话随访,记录患者的生存时间。随访终点为:(1)40 个月内患者死亡;(2)40 个月内患者退出该项研究;(3)40 个月随访结束。

1.4　统计学方法

应用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组及两组间比较分别采用方差分析和 t 检验。相关性分析采用 Spearman 检验。ROC 曲线分析 CA724、CA19-9、CEA 与 lncRNA PTENP1 鉴别胃癌的效能。生存曲线分析采用 Kaplan-Meier 法,应用对数秩检验(log-rank test)比较生存曲线间是否存在显著性差异。检验水准 $\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　3 组血清 CA724、CA19-9、CEA 与 lncRNA PTENP1 表达水平比较

血清 CA724、CA19-9、CEA 与 lncRNA PTENP1 检测的批内和批间变异系数值小于 5%,提示实验具有良好的重复性和精确度。与胃良性疾病组和健康体检组相比较,胃癌组的血清 CA724、CA19-9 和 CEA 表达水平均升高,血清 lncRNA PTENP1 水平降低,差异均有统计学意义(P 均<0.05)。而胃良性疾病组与健康体检组间血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 的水平差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3　3 组研究对象血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 水平比较

组别	胃癌组($n=110$)	胃良性疾病组($n=108$)	健康体检组($n=120$)	F 值	P 值
CA724/U·mL^{-1}	4.02±0.15	0.58±0.08[a]	0.51±0.07[a]	9.153	0.000
CA19-9/U·mL^{-1}	43.31±7.10	19.12±5.33[a]	18.53±5.02[a]	5.176	0.007
CEA/ng·mL^{-1}	2.97±0.21	0.89±0.11[a]	0.74±0.10[a]	4.875	0.009
lncRNA PTENP1/-log	12.86±1.63	53.83±5.62[a]	56.75±6.37[a]	7.008	0.002

注:与胃癌组相比,[a]$P<0.05$

2.2　血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 表达水平与胃癌患者临床病理特征的关系

以胃癌患者血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 表达水平的中位数分别将患者分为高表达组和低表达组。相比于 CA724、CA19-9、CEA 低表达和 lncRNA PTENP1 高表达组,CA724、CA19-9、CEA 高表达和 lncRNA PTENP1 低表达组的淋巴结转移发生率、Ⅲ～Ⅳ期患者所占比例均升高,且差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 4 和表 5。Spearman 相关性分析显示,血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 水平与胃癌患者淋巴结转移及 TNM 分期均具有显著相关性($P<0.05$),见表 6。

表 4　血清 CA724 和 CA19-9 表达水平与胃癌患者临床病理特征的关系/例(%)

临床特征	CA724				CA19-9			
	高表达组($n=55$)	低表达组($n=55$)	χ^2 值	P 值	高表达组($n=55$)	低表达组($n=55$)	χ^2 值	P 值
病理类型			0.200	0.905			0.518	0.772
乳头状腺癌	29(52.73)	28(50.91)			27(49.09)	30(54.55)		
黏液腺癌	13(23.64)	15(27.27)			14(25.45)	14(25.45)		
管状腺癌	13(23.64)	12(21.82)			14(25.45)	11(20.00)		
淋巴结转移			22.168	<0.001			9.429	0.002
未发生	6(10.91)	29(52.73)			10(18.18)	25(45.45)		
发生	49(89.09)	26(47.27)			45(81.82)	30(54.55)		
TNM 分期			33.000	<0.001			5.280	0.022
Ⅰ～Ⅱ期	15(27.27)	45(81.82)			24(43.64)	36(65.45)		
Ⅲ～Ⅳ期	40(72.73)	10(18.18)			31(56.36)	19(34.55)		

表 5　血清 CEA 和 lncRNA PTENP1 水平与胃癌患者临床病理特征的关系/例(%)

临床特征	CEA				lncRNA PTENP1			
	高表达组(n=55)	低表达组(n=55)	χ^2 值	P 值	高表达组(n=55)	低表达组(n=55)	χ^2 值	P 值
病理类型			0.058	0.972			0.949	0.622
乳头状腺癌	28(50.91)	29(52.73)			29(52.73)	28(50.91)		
黏液腺癌	14(25.45)	14(25.45)			12(21.82)	16(29.09)		
管状腺癌	13(23.64)	12(21.82)			14(25.45)	11(20.00)		
淋巴结转移			9.429	0.002			18.480	<0.001
未发生	10(18.18)	25(45.45)			28(50.91)	7(12.73)		
发生	45(81.82)	30(54.55)			27(49.09)	48(87.27)		
TNM 分期			24.788	<0.001			9.387	0.002
Ⅰ～Ⅱ期	17(30.91)	43(78.18)			38(69.09)	22(40.00)		
Ⅲ～Ⅳ期	38(69.09)	12(21.82)			17(30.91)	33(60.00)		

表 6　血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 表达水平与临床病理特征的相关性分析

临床转归	CA724		CA19-9		CEA		lncRNA PTENP1	
	r	P	r	P	r	P	r	P
病理类型	0.102	0.482	0.075	0.851	0.284	0.327	−0.128	0.603
淋巴结转移	0.563	<0.001	0.462	0.031	0.508	0.007	−0.594	<0.001
TNM 分期	0.497	0.003	0.511	0.001	0.532	0.004	−0.513	<0.001

2.3　ROC 曲线分析结果

血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 区分胃癌组与胃良性病变组及健康体检组的 ROC 结果见表 7 和图 1，4 项指标对应的诊断临界值分别为 2.82 U/mL、30.14 U/mL、2.25 ng/mL和 26.91(-log)。当联合检测 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 时，敏感度显著提高至 96.1%。

表 7　血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 对胃癌鉴别诊断的 ROC 结果

项目	AUC	95% CI	P 值	敏感度/%	特异度/%
CA724	0.881	0.820～0.951	<0.001	91.2	73.9
CA19-9	0.856	0.742～0.903	<0.001	63.1	79.4
CEA	0.683	0.588～0.790	<0.001	66.2	61.7
lncRNA PTENP1	0.927	0.861～0.990	<0.001	84.2	89.0
联合检测	0.962	0.914～0.999	<0.001	96.1	88.4

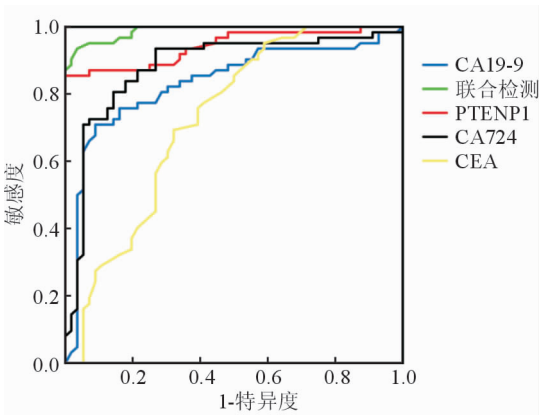


图 1　血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 对胃癌鉴别诊断的 ROC 曲线分析

2.4　生存分析

110 例胃癌患者依据 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 水平的中位数分别被分为高水平组与低水平组。与高 lncRNA PTENP1 组相比，低 lncRNA PTENP1 组患者的生存时间显著降低(log-rank P=0.002，见图 2A)；与低 CA19-9 组相比，高 CA19-9 组患者的生存时间显著降低(log-rank P=0.039，见图 2B)；与低 CA724 组相比，高 CA724 组患者的生存时间显著降低(log-rank P<0.001，见图 2C)；与低 CEA 组相比，高 CEA 组患者的生存时间也显著降低(log-rank P=0.010，见图 2D)。

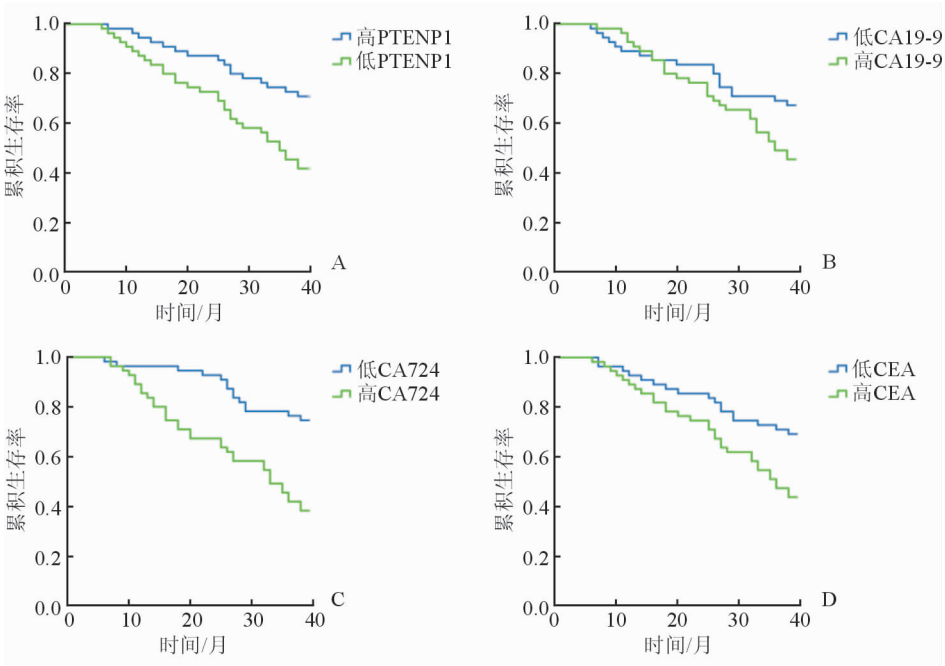


图 2　各组生存情况分析　**A**　lncRNA PTENP1 组　**B**　CA19-9 组　**C**　CA724 组　**D**　CEA 组

3　讨论

由于胃癌的早期筛查尚未在中国普及，导致一部分胃癌患者在就诊时已处于晚期。目前对晚期胃癌尚无有效的治疗方法，因而其 5 年生存率极低。寻找可靠的早期筛查生物学指标是提高胃癌患者生存率的重要方法。

CEA 是一种具有胚胎抗原特性的酸性糖蛋白，在胃肠道恶性肿瘤及乳腺癌、肺癌等肿瘤患者体内表达升高，对恶性肿瘤的诊断具有提示作用[7]。CA19-9 是糖抗原的一种，其表达升高多提示有胰腺炎、肝硬化、糖尿病、消化道肿瘤可能。CA724 是一种较新的肿瘤标志物，对胃肠道肿瘤的判断具有潜在价值，但目前在临床上的应用较少[8]。陈钟等[9]对 41 例胃癌患者和 40 例健康对照的血清肿瘤标志物检测发现，胃癌患者的血清 CA19-9、CA724 和 CEA 水平明显高于健康人群。王梅等[10]对 92 例胃癌患者和 45 例对照者血清 CEA、CA724 水平的分析结果表明，胃癌患者血清 CEA、CA724 水平、阳性率均明显高于对照组（$P<0.05$），两者联合检测的阳性率显著高于单项检测（$P<0.05$），且两者的表达水平随胃癌 TNM 分期和疾病进展呈逐级升高趋势。国外研究亦有类似报道[11-12]。本研究发现，胃癌患者血清 CA724、CA19-9、CEA 表达水平均显著高于胃良性疾病患者和健康体检者，与国内外研究结果相一致[9-12]。进一步的相关性分析发现，血清 CA724、CA19-9、CEA 水平与胃癌患者淋巴结转移及 TNM 分期均具有显著相关性，这一发现与王梅等[10]的研究结果相符。生存分析结果也进一步提示，高水平 CA724、CA19-9、CEA 与胃癌患者的不良预后有密切联系。

除肿瘤标志物外，lncRNA PTENP1 也被证实在胃癌患者体内异常表达，与胃癌的发病及转移过程密切相关。Dong 等[13]通过检测 110 例胃癌患者血浆 lncRNA PTENP1 表达，发现与健康对照相比，胃癌患者血浆 lncRNA PTENP1 表达水平显著降低。Guo 等[14]通过基因重组方法构建 lncRNA PTENP1 的 siRNA 载体，并感染人 SGC7901 及 MKN45 胃癌细胞系，发现下调 lncRNA PTENP1 表达后可显著降低胃癌细胞系中抑癌基因 PTEN 的表达，表明 lncRNA PTENP1 在抑制胃癌细胞的生物学过程中发挥了重要作用。Zhang 等[15]的研究证实，lncRNA PTENP1 可通过影响胃癌组织血管形成微环境，抑制肿瘤组织新生血管形成，从而抑制肿瘤的生长转移；此外，该研究提示 lncRNA PTENP1 可通过“海绵作用”吸附并抑制 miR-106b 和 miR-93 发挥功能，从而抑制胃癌细胞的增殖与侵袭。同样，本研究发现 lncRNA PTENP1 水平在Ⅲ～Ⅳ期胃癌患者及发生淋巴结转移患者中明显降低，提示低水平的 lncRNA PTENP1 与胃癌的不良预后相关。

此外，本研究还探究了联合检测血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 水平对胃癌的

诊断价值，发现联合 4 项指标可将胃癌诊断的敏感度提高至 96.1%，高于单独检测 CA724(91.2%)、CA19-9(63.1%)和 CEA(66.2%)。

综上所述，联合检测血清 CA724、CA19-9、CEA 和 lncRNA PTENP1 水平对胃癌的诊断和预后具有一定价值，有望为胃癌的临床诊疗路径提供新的思路。

参 考 文 献

1 郭康，周脉耕，潘晓平. 中国居民 2006-2012 年胃癌死亡趋势分析[J]. 中国公共卫生，2015，31(3)：341-343.

2 马逸云，蒋华，马元麟. 腹腔镜辅助全胃切除术对胃癌患者术后胃肠功能恢复及血清 CEA、CA50、CA19-9 水平的影响[J]. 国际消化病杂志，2017，37(4)：259-262.

3 董晓微，崔学强，张俊华，等. 血清肿瘤标志物 CA19-9、CA72-4、CEA、PGⅠ联合检测对胃癌的诊断及预后价值分析[J]. 国际检验医学杂志，2018，39(17)：2185-2188.

4 蔡晓娟，王堃，喻晶. 异常凝血酶原联合 CEA、CA72-4 和 CA199 在胃癌诊治中的价值[J]. 肿瘤防治研究，2018，45(6)：395-399.

5 Ge Y, He Y, Jiang M, et al. Polymorphisms in lncRNA PTENP1 and the risk of gastric cancer in a chinese population [J]. Dis Markers, 2017, 2017: 6807452.

6 Yegin EG, Duman DG. Staging of esophageal and gastric cancer in 2014[J]. Minerva Med, 2014, 105(5): 391-411.

7 朱江，彭宽嘉，何津春. 癌胚抗原在肿瘤中应用研究进展[J]. 国际检验医学杂志，2015，36(21)：3137-3138.

8 姜楠，周忠春，郭顺林. 糖类抗原 724 和影像学新技术在胃癌中的研究进展[J]. 中国老年学杂志，2015，35(19)：5672-5675.

9 陈钟，唐庆林，韩忠政，等. 胃癌的治疗进展[J]. 国际消化病杂志，2017，37(2)：77-78，91.

10 王梅，孟华. 联合检测 CEA、CA724 对胃癌的临床意义[J]. 中国误诊学杂志，2011，11(1)：54-55.

11 Chae HD, Kim IH. Prognostic significance of CEA expression by RT-PCR in peritoneal wash from patients with gastric cancer: result of a 5-year follow-up after curative resection[J]. Scand J Gastroenterol, 2016, 51(8): 956-960.

12 Deng K, Yang L, Hu B, et al. The prognostic significance of pretreatment serum CEA levels in gastric cancer: a meta-analysis including 14651 patients[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0124151.

13 Dong L, Qi P, Xu MD, et al. Circulating CUDR, LSINCT-5 and PTENP1 long noncoding RNAs in sera distinguish patients with gastric cancer from healthy controls[J]. Int J Cancer, 2015, 137(5): 1128-1135.

14 Guo X, Deng L, Deng K, et al. Pseudogene PTENP1 suppresses gastric cancer progression by modulating PTEN[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2016, 16(4): 456-464.

15 Zhang R, Guo Y, Ma Z, et al. Long non-coding RNA PTENP1 functions as a ceRNA to modulate PTEN level by decoying miR-106b and miR-93 in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(16): 26079-26089.

(收稿日期：2019-01-10)

(本文编辑：周骏)

(上接第 328 页)

31 Bowles CJ, Leicester R, Romaya C, et al. A prospective study of colonoscopy practice in the UK today: are we adequately prepared for national colorectal cancer screening tomorrow? [J]. Gut, 2004, 53(2): 277-283.

32 Rabeneck L, Paszat LF, Hilsden RJ, et al. Bleeding and perforation after outpatient colonoscopy and their risk factors in usual clinical practice[J]. Gastroenterol, 2008, 135(6): 1899-1906.

33 Korman LY, Overholt BF, Winker CK. Perforation during colonoscopy in endoscopic ambulatory surgical centers[J]. Gastrointest Endosc, 2003, 58(4): 554-557.

(收稿日期：2018-08-10)

(本文编辑：林磊)