DOI: 10.16016/j.1000-5404.201505070

血清Ⅰ型前胶原在前列腺癌骨转移早期诊断中的应用

黄学梅[1],林 丁[2],刘 预[2],吴立翔[1],吕自兰[1],郭变琴[1],刘兴明[2] (400030 重庆,重庆市肿瘤研究所:临床检验科[1],肿瘤学重点实验室[2])

[**摘要**] **目的** 探讨血清Ⅰ型前胶原(procollagen type Ⅰ,PCⅠ)含量检测在早期诊断前列腺癌骨转移中的临床价值。**方法** 采用羊Ⅰ型前胶原放射免疫试剂联合Ⅰ型前胶原氨基端肽(procollagen type Ⅰ amino terminal peptide, PⅠNP)和Ⅰ型前胶原羧基端肽(procollagen type Ⅰ carboxyl terminal peptide, PⅠCP)对262例样本(包括50例正常人、62例前列腺增生症、67例前列腺癌以及83例前列腺骨转移患者的血清)进行含量检测并统计分析。**结果** 前列腺癌骨转移组PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP含量均显著高于其余各组($P<0.001$);前列腺癌组PCⅠ、PⅠNP含量均显著高于正常对照组和前列腺增生组($P<0.05$),PⅠCP含量无统计学差异($P>0.05$);前列腺增生组的PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP含量与正常对照组比较无统计学差异($P>0.05$);前列腺癌骨转移组PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP含量升高的比例均显著高于前列腺增生组和前列腺癌组($P<0.01$)。PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP含量检测对前列腺癌骨转移的诊断灵敏度分别为90.4%、88.0%、84.3%,特异度分别为94.4%、96.1%、95.5%,Youden指数分别为84.8%、84.0%、79.9%,诊断正确率均在92%以上;PCⅠ与PⅠNP、PⅠCP间的灵敏度、特异度等指标比较均无统计学差异($P>0.05$)。**结论** 自主研制的羊PCⅠ放射免疫试剂有望替代进口PⅠNP、PⅠCP放射免疫试剂进行血清PCⅠ含量检测,应用于前列腺癌骨转移的早期诊断和病程监测。

[**关键词**] 前胶原;试剂盒;前列腺癌;骨转移
[**中图法分类号**] R73-37;R730.43;R737.25 [**文献标志码**] A

Application of serum procollagen type Ⅰ in early diagnosis of bone metastases in prostate cancer patients

Huang Xuemei[1], Lin Ding[2], Liu Yu[2], Wu Lixiang[1], Lv Zilan[1], Guo Bianqin[1], Liu Xingming[2] ([1]Department of Clinical Laboratory, [2]Key Laborutory of Oncology, Chongqing Cancer Institute, Chongqing, 400030, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the expression and clinical value of serum procollagen type Ⅰ (PCⅠ) in the early diagnosis of bone metastases in prostate cancer patients. **Methods** Serum PCⅠ, procollagen type Ⅰ amino terminal peptide (PⅠNP) and procollagen type Ⅰ carboxyl terminal peptide (PⅠCP) in 262 samples (50 healthy subjects, 62 patients with benign prostatic hyperplasia, 67 patients with prostate cancer, and 83 prostate cancer patients with bone metastases) were detected by radioimmunoassay kits (PCⅠ kits were prepared in our laboratory, and PⅠNP and PⅠCP kits were purchased from Orion Diagnostics), and statistical analysis was performed. **Results** The PCⅠ, PⅠNP and PⅠCP levels in the prostate cancer bone metastases group were significantly higher than those in the other groups ($P<0.001$). The PCⅠ and PⅠNP levels in the prostate cancer group were significantly higher than those in the normal control group and the benign prostatic hyperplasia group ($P<0.05$), but the PⅠCP level had no significant difference among the groups ($P>0.05$). The PCⅠ, PⅠNP and PⅠCP levels had no significant difference

[**通信作者**] 刘兴明,E-mail:378838097@qq.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151127.0853.004.html(2015-11-27)

between the benign prostatic hyperplasia group and the normal control group ($P > 0.05$). The elevated percentages of PCⅠ, PⅠNP and PⅠCP levels in the prostate cancer bone metastases group were significantly higher than those in the benign prostatic hyperplasia group and the prostate cancer group ($P < 0.01$). The sensitivity of PCⅠ, PⅠNP and PⅠCP levels in diagnosis of prostate cancer bone metastases was 90.4%, 88.0%, and 84.3%, respectively, the specificity was 94.4%, 96.1%, and 95.5%, respectively, and the Youden indexes were 84.8%, 84.0%, and 79.9%, respectively. The diagnostic accuracy was above 92%. There were no significant difterences in the sensitivity and specificity among PCⅠ, PⅠNP and PⅠCP ($P < 0.05$). **Conclusion** The PCⅠ kits prepared in our laboratory can replace imported PⅠNP and PⅠCP kits to detect the PCⅠ levels, and PCⅠ may be a significant marker in the early diagnosis and monitoring of bone metastases in prostate cancer patients.

[**Key words**] procollagen type Ⅰ; kits; prostate cancer; bone metastases

Corresponding author: Liu Xingming, E-mail: 378838097@qq.com

前列腺癌是男性泌尿生殖系统的最常见恶性肿瘤之一,其病死率仅次于肺癌。约25%的前列腺癌患者存在局部或远处转移,有转移的前列腺癌患者病死率高,5年生存率仅28%[1]。患者骨转移的早期发现,对于临床上能够尽早控制病情以提高其生活质量、延长其生存率具有重要意义。我们从山羊胎皮中提纯Ⅰ型前胶原(procollagen type Ⅰ,PCⅠ)作为抗原免疫动物而获得抗PCⅠ抗体,自主制备了血清PCⅠ含量检测放免试剂盒,同时使用芬兰Orion Diagnostics公司提供的Ⅰ型前胶原氨基端肽(procollagen type Ⅰ amino terminal peptide, PⅠNP)和Ⅰ型前胶原羧基端肽(procollagen type Ⅰ carboxyl terminal peptide, PⅠCP)放免试剂盒,同时检测262例血清样本中的PCⅠ、PⅠNP和PⅠCP的含量并进行比较分析,以探讨PCⅠ在早期诊断前列腺癌骨转移中的临床价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2006年3月至2009年4月我院收治的符合《中国前列腺癌临床诊治指南》的前列腺增生和前列腺癌患者以及体检正常人群标本。正常对照组:健康血清标本50例,男性,年龄20~50岁。前列腺增生组:前列腺增生症患者血清标本62例,男性,年龄40~75岁。

前列腺癌组:前列腺癌患者(临床通过ECT全身骨扫描排除骨转移)血清标本67例,男性,年龄35~80岁。前列腺癌骨转移组:前列腺癌骨转移患者(通过X线或ECT骨扫描明确其骨转移的住院患者)血清标本83例,男性,年龄40~89岁。以上血清标本均为我所生物组织样本库中心收集保存的标本。

1.2 仪器与试剂

血清PCⅠ含量测定使用我们自行研制的血清PCⅠ放免分析试剂盒,PⅠNP和PⅠCP含量测定均为芬兰Orion Dignostics公司提供的放免试剂盒。测定仪器采用上海辐日公司生产的SN-682放射免疫γ计数器。

1.3 检测方法

血清PⅠNP和PⅠCP含量测定均采用放射免疫测定法,严格按照试剂盒使用说明书操作。PCⅠ含量测定使用自行研制的放免分析试剂盒[2](竞争抑制法,第1步,分别加入标准品、样本后再加入PCⅠ抗体,混匀孵育;第2步,加入定量的125Ⅰ标记抗PCⅠ抗体温育;第3步,分离并测定反应物的放射性,根据标准曲线求得待测物中PCⅠ含量)。按照试剂使用说明书,PⅠNP以≥80.54 μg/L为阳性,PⅠCP以≥136.2 μg/L为阳性,PCⅠ以≥ 即108.38 μg/L为阳性[3]。

1.4 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件进行数据处理和统计学分析。计量资料采用$\bar{x} \pm s$表示,4组间比较采用方差分析,两两比较采用SNK检验。诊断效果评价采用诊断试验的灵敏度、特异度、似然比、预测值、Youden指数等评价指标,采用U检验比较两种诊断方法之间的灵敏度、特异度等评价指标的差异性。以$\alpha = 0.05$为检验水准。

2 结果

2.1 血清测定结果

262例血清标本PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP含量测定结果见表1。前列腺癌骨转移组PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP含

量均显著高于正常对照组、前列腺增生组和前列腺癌组($P<0.01$),前列腺癌组 PCⅠ、PⅠNP 含量均显著高于正常对照组和前列腺增生组($P<0.05$),PⅠCP 含量无显著差异($P>0.05$),前列腺增生组的 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量与正常对照组比较无显著差异($P>0.05$)。

2.2 诊断效果评价

血清标本 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量测定对前列腺癌骨转移的诊断效果见表 2。PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量检测对前列腺癌骨转移的诊断都具有较高的灵敏度和特异度,Youden 指数达到 80.0%,诊断正确率均在 92% 以上;PCⅠ与 PⅠNP、PⅠCP 间的灵敏度、特异度等指标比较均无明显差异($P>0.05$)。

表 1 4 组研究对象血清标本 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量测定结果比较 ($\bar{x}\pm s$,μg/L)

组别	n	PCⅠ	PⅠNP	PⅠCP
正常对照组	50	75.58±16.40	45.48±17.53	98.27±18.96
前列腺增生组	62	71.66±14.01	48.32±15.74	95.87±24.51
前列腺癌组	67	102.42±26.94^{ab}	58.23±23.05^{ab}	113.42±26.94
前列腺癌转移组	83	232.84±96.22^{abc}	121.25±52.36^{abc}	275.84±126.22^{abc}

a:$P<0..05$,与正常对照组比较;b:$P<0..05$,与前列腺增生组比较;c:$P<0..01$,与前列腺癌组比较

3 讨论

骨转移是晚期前列腺癌常见并发症,超过 70% 的进展期前列腺癌有骨转移,85% ~100% 前列腺癌的死亡患者合并骨转移[2]。近年研究表明超过 70% 有骨转移的前列腺癌患者对激素治疗,放、化疗均不敏感[4],而大部分患者发现时已是晚期,主要因为缺乏早期诊断前列腺癌骨转移标志物。因此,寻找新的早期诊断前列腺癌骨转移的生物标志物至关重要。临床上,前列腺癌骨转移的诊断依靠 X 线片和骨扫描[5-6]。骨扫描缺乏特异性,不能可靠地检测在骨转移的骨中常见降解区域,而且患者对系统性治疗的反应可能与骨扫描的改善不一致[7]。骨代谢的特征是成骨细胞介导的新骨形成和破骨细胞介导的骨吸收,正常骨代谢是骨生成和吸收的动态平衡,骨质量的检测取决于该动态平衡[8]。有骨转移的前列腺癌患者,平衡被打破。因此,检测骨形成和吸收的生物标志物能够比较特异和敏感地预测骨总量、诊断代谢性骨疾病、监测疗效,并可用于诊断前列腺癌骨转移以及评估其预后。

人体软组织中含有最丰富的Ⅰ型胶原是构成骨骼肌腱唯一的胶原类型,占骨骼基质有机成分的 90% 以上。Ⅰ型胶原来源于 PCⅠ,PCⅠ两端各有多余的前肽序列,在胶原分子聚合成纤维前,这些前肽序列被特异蛋白酶切去,从分子羧基端切下的片段为 PⅠCP;从分子氨基端切下的片段为 PⅠNP。PⅠCP 和 PⅠNP 是成骨细胞分泌的前胶原细胞外的组织酶切割的端肽,可反映胶原形成的情况,而Ⅰ型胶原与 PCⅠ呈1∶1分子比例关系[9]。有研究[10-12]表明血清 PⅠNP 与 PⅠCP 水平与癌症骨转移密切相关,检测血清 PⅠNP 与 PⅠCP 水平可评估癌症骨转移及治疗情况。

在本研究中,我们使用自主建立的 PCⅠ放射免疫试剂与芬兰进口 PⅠCP 和 PⅠNP 放射免疫试剂,同时检测了 262 例血清样本的 PCⅠ、PⅠCP 和 PⅠNP 含量。表 1 显示,前列腺癌骨转移组 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量均显著高于正常对照组、前列腺增生组和前列腺癌组($P<0.01$);前列腺癌组的 PCⅠ、PⅠNP 含量均显著高于正常对照组和前列腺增生组($P<0.05$),PⅠCP 含量无显著差异($P>0.05$);前列腺增生组的 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量与正常对照组比较无显著差异($P>0.05$)。前列腺癌骨转移组 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量升高的比例均显著高于前列腺增生组和前列腺癌组($P<0.01$)。我们还发现 10 例PCⅠ水平升高的前列腺癌患者中,能追踪到的 7 例患者,在 1 ~2 年内有 5 例发生有骨转移,占 71.42%;而 5 例 PⅠNP 升高的前列腺癌患者中有 2 例后来发生有骨转移,占 40.00%;7 例 PⅠCP 升高的前列腺癌患者中有

表 2 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量测定对前列腺癌骨转移的诊断效果

检测项目	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	阳性似然比	阴性似然比	YI(%)	正确率(%)
PCⅠ	90.4	94.4	88.2	95.5	16.175	0.102	84.8	93.1
PⅠNP	88.0	96.1	91.3	94.5	22.491	0.125	84.0	93.5
PⅠCP	84.3	95.5	89.7	92.9	18.870	0.164	79.9	92.0

4 例后来发生有骨转移,占 57.14%。表 2 显示,血清 PCⅠ、PⅠNP、PⅠCP 含量测定在诊断前列腺癌骨转移的灵敏度分别为 90.4%、88.0%、84.3%,特异度分别为 94.4%、96.1%、95.5%,Youden 指数分别为 84.8%、84.0%、79.9%,正确率均在 92%以上。各指标间比较无显著差异($P>0.05$)。以上均提示血清 PCⅠ含量测定不仅在前列腺良、恶性疾病中有鉴别诊断意义,而且对于前列腺癌骨转移各诊断指标较 PⅠNP 和 PⅠCP 无统计学差异。因此我们认为血清 PCⅠ含量检测有望替代进口试剂检测的 PⅠNP 和 PⅠCP,以降低患者的实验室检查成本。

参考文献:

[1] Aoun F, Peltier A, van-Velthoven R. A comprehensive review of contemporary role of local treatment of the primary tumor and/or the metastases in metastatic prostate cancer[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 501213. DOI:10.1155/2014/501213

[2] 刘兴明, 林丁, 刘预, 等. 羊Ⅰ型前胶原的提取、纯化与抗血清的制备应用于放免法的建立[J]. 重庆医学, 2008, 37(11): 1203 - 1204. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2008.11.029

[3] 陈彬, 李丽萍, 李克. 第十一讲 如何确定参考值范围[J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(5): 355 - 357.

[4] 吴禹铮, 郑素琴. 前列腺癌生物标记物的研究进展[J]. 淮海医药, 2014(6): 629 - 630. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7044.2014.06.070

[5] Heidenreich A, Bastian P J, Bellmunt J, *et al*. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013[J]. Eur Urol, 2014, 65(1): 124 - 137. DOI: 10.1016/j.eururo.2013.09.046

[6] Zacho H D, Manresa J A, Mortensen J C, *et al*. Observer agreement and accuracy in the evaluation of bone scans in newly diagnosed prostate cancer[J]. Nucl Med Commun, 2015, 36(5): 445 - 451. DOI: 10.1097/MNM.0000000000000279

[7] Lara P N Jr, Ely B, Quinn D I, *et al*. Serum biomarkers of bone metabolism in castration-resistant prostate cancer patients with skeletal metastases: results from SWOG 0421[J]. J Natl Cancer Inst, 2014, 106(4): dju013. DOI: 10.1093/jnci/dju013

[8] 周定, 张琪琪, 胡勇. 骨生化指标在骨肿瘤中的临床应用进展[J]. 中国骨与关节杂志, 2014, 3(2): 156 - 160. DOI: 10.3969/j.issn.2095-252X.2014.02.017

[9] Kamiya N, Suzuki H, Endo T, *et al*. Clinical usefulness of bone markers in prostate cancer with bone metastasis[J]. Int J Urol, 2012, 19(11): 968 - 979. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2012.03098.x

[10] 王抒, 张军宁, 乔田奎. 血清Ⅰ型前胶原氨基端前肽、Ⅰ型前胶原羧基端前肽、Ⅰ型胶原羧基端肽在骨转移性癌诊断中的应用[J]. 中国临床医学, 2011, 18(4): 456 - 458. DOI: 10.3969/j.issn.1008-6358.2011.04.014

[11] 杨欢, 王波, 周惠琴, 等. 前列腺癌骨转移患者血清 ICTP、PINP 的表达及临床价值[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(2): 128 - 131.

[12] Zafeirakis A. Collagenous and non-collagenous biochemical markers of bone metastases from prostate cancer[J]. Hippokratia, 2010, 14(3): 164 - 169.

(**收稿**:2015-05-13;**修回**:2015-07-14)

(编辑 邓强庭)