doi:10.11659/jjssx.09E022045

·临床研究·

血清PDCD4、ZEB1、G-17联合检测对早期胃癌的诊断价值

杨小云[1],陈燕萍[1],胡益冰[1],朱 莎[1],钱璐珈[2],丁 进[1] (1.金华市中心医院消化内科,浙江 金华 321000;2.金华市中心医院病理科,浙江 金华 321000)

[摘 要] **目的** 探究血清程序性细胞死亡因子4(PDCD4)、E盒结合锌指蛋白1(ZEB1)、胃泌素-17(G-17)联合检测对早期胃癌(GC)的诊断价值。**方法** 将本院收治的136例GC患者、82例萎缩性胃炎患者分别设为GC组、萎缩性胃炎组,另选取同期136例体检健康者设为对照组。比较各组血清PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA及G-17、糖类抗原19-9(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)水平。根据GC患者病情进展程度将其分为早期GC组(80例)和进展期GC组(56例),比较早期GC组、进展期GC组患者血清PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA及G-17、CA19-9、CEA水平;分析血清PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA单独或联合检测对早期GC的诊断价值。**结果** 与对照组相比,萎缩性胃炎组、GC组患者血清PDCD4 mRNA表达水平降低($P<0.05$),ZEB1 mRNA、G-17水平升高($P<0.05$);与萎缩性胃炎组相比,GC组患者血清PDCD4 mRNA表达水平降低($P<0.05$),ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA水平升高($P<0.05$)。进展期GC组患者血清PDCD4 mRNA表达水平低于早期GC组($P<0.05$),ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA水平高于早期GC组($P<0.05$)。血清PDCD4、ZEB1、G-17联合诊断早期GC的曲线下面积(*AUC*)为0.946,高于三者单独诊断及CA19-9、CEA($P<0.05$),联合诊断的灵敏度为86.25%,特异度为94.64%,诊断价值最高。**结论** GC患者血清PDCD4 mRNA表达水平较低,ZEB1 mRNA、G-17水平较高,血清PDCD4、ZEB1、G-17均可辅助诊断早期GC,且三者联合检测可能更有益于临床筛查早期GC。

[关键词] 程序性细胞死亡因子4;胃泌素-17;E盒结合锌指蛋白1;早期胃癌;诊断

[中图分类号] R735.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-09-08

Diagnostic value of combined detection of serum PDCD4, ZEB1 and G-17 in early gastric cancer

YANG Xiao-yun[1], CHEN Yan-ping[1], HU Yi-bing[1], ZHU Sha[1], QIAN Lu-jia[2], DING Jin[1] (1.Department of Gastroenterology, Jinhua Central Hospital, Jinhua Zhejiang 321000, China; 2.Department of Pathology, Jinhua Central Hospital, Jinhua Zhejiang 321000, China)

Abstract: Objective To explore the diagnostic value of combined detection of serum programmed cell death 4 (PDCD4), zinc finger E-box-binding homeobox 1 (ZEB1) and gastrin-17 (G-17) in early gastric cancer (GC). **Methods** A total of 136 patients with GC and 82 patients with atrophic gastritis admitted to our hospital were set as the GC group and the atrophic gastritis group, respectively; and 136 healthy people with physical examination in the same period were taken as the control group. The levels of serum PDCD4 mRNA, ZEB1 mRNA, G-17, carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) and carcinoembryonic antigen (CEA) in each group were compared. According to the degree of progression of GC patients, they were divided into the early GC group (80 cases) and the advanced GC group (56 cases). The levels of serum PDCD4 mRNA, ZEB1 mRNA, G-17, CA19-9 and CEA of patients were compared between the early GC group and the advanced GC group. The diagnostic value of serum PDCD4 mRNA, ZEB1 mRNA, G-17, CA19-9 and CEA alone or in combination for early GC was analyzed. **Results** Compared with the control group, the expression level of serum PDCD4 mRNA in the atrophic gastritis group and the GC group decreased ($P<0.05$), and the levels of ZEB1 mRNA and G-17 increased ($P<0.05$). Compared with the atrophic gastritis group, the expression level of serum PDCD4 mRNA in the GC group decreased ($P<0.05$), and the levels of ZEB1 mRNA, G-17, CA19-9 and CEA increased ($P<0.05$). The expression level of serum PDCD4 mRNA in the advanced GC group was lower than that in the early GC group ($P<0.05$), and the levels of ZEB1 mRNA, G-17, CA19-9 and CEA were higher than those in the early GC group ($P<0.05$). The *area under the curve* (*AUC*) of serum PDCD4, ZEB1 and G-17 in the combined diagnosis of early GC was 0.946, which was higher than that of the three alone diagnosis or CA19-9 or CEA ($P<0.05$), the sensitivity and specificity of the combined diagnosis were 86.25% and 94.64%, respectively, with the highest diagnostic value. **Conclusion** The expression level of serum PDCD4 mRNA in GC patients is lower, while the levels of ZEB1 mRNA and G-17 are higher. Serum PDCD4, ZEB1 and G-17 can assist in the diagnosis of early GC, and the combined detection of the three may be more beneficial for clinical screening of early GC.

Keywords: programmed cell death 4; gastrin-17; zinc finger E-box-binding homeobox 1; early gastric cancer; diagnosis

[基金项目] 浙江省基础公益研究计划(LGF19H160022);金华市科技计划项目(2018-3-001f)

[通信作者] 丁 进,E-mail:wdtih74@163.com

胃癌(gastric cancer,GC)是一种较为常见的消化道肿瘤,外科手术切除是治疗GC的主要方式,但GC起病隐匿,早期无明显症状,确诊时患者多为进展期,手术治疗效果并不理想[1-2]。有研究显示,早期诊断GC可有效提高其治疗效果,延长患者生存期[3]。目前,糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9,CA19-9)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)等是诊断胃肠道肿瘤的常见血清指标,但其诊断效果不佳;病理活检虽是诊断GC的金标准,但其为有创检查,不适用于临床筛查[3-4]。因此,寻找高效、简便诊断早期GC的方法,对于临床诊治GC尤为重要。程序性细胞死亡因子4(programmed cell death 4,PDCD4)是一种抑癌基因,其在GC中呈低表达,可能参与GC病理变化[5];E盒结合锌指蛋白1(zinc finger E-box-binding homeobox 1,ZEB1)在GC中呈高表达,其可影响GC的放射线敏感性[6];胃泌素-17(gastrin-17,G-17)能反映胃部状况,可用于GC的筛查[7]。虽然PDCD4和ZEB1均参与GC发病[5-6],但二者是否可作为诊断指标尚有待验证,而G-17单独用于诊断GC的特异度较低[7],需与其他血清指标联合检测提高诊断效能。基于此,本研究通过初步测定PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA、G-17在早期GC患者中的水平,分析PDCD4、ZEB1、G-17联合检测对早期GC的诊断价值,以期为临床早期筛查或诊断GC提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2019年1月至2021年12月本院收治的GC患者136例,设为GC组,其中男72例,女64例;年龄41~70岁,平均(55.38±9.25)岁;根据GC患者病情进展程度将其分为早期GC组(肿瘤未突破基底膜,仅限于胃黏膜的黏膜层或黏膜下层)80例和进展期GC组(肿瘤组织浸润到肌层或已到达浆膜)56例[4]。纳入同期于本院就诊的萎缩性胃炎患者82例,设为萎缩性胃炎组,其中男47例,女35例;年龄41~70岁,平均(54.74±9.18)岁。另选取同期体检健康者136例设为对照组,其中男70例,女66例;年龄41~70岁,平均(56.26±9.49)岁;无炎症、免疫、内分泌或其他系统性疾病。GC组、对照组、萎缩性胃炎组患者性别、年龄比较,差异无统计学意义(P>0.05)。受试者或其家属均对本研究知情同意,本研究经我院伦理委员会批准(2018-1213)。

胃部疾病患者纳入标准:①临床初次确诊为GC[8]或萎缩性胃炎[9];②资料完善;③入院前未行放化疗等抗肿瘤治疗。排除标准:①合并血液、免疫系统疾病;②合并肝癌、胰腺癌或其他肿瘤;③伴有全身感染疾病、代谢异常疾病;④合并肺、肾等重要器官疾病。

1.2 方法

1.2.1 样本收集 收集所有受试者空腹外周血5~6 mL,4 ℃下4 500 r/min离心8 min,分离血清,存于-80 ℃冰箱。

1.2.2 qRT-PCR检测血清PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA水平 解冻所有受试者血清,利用TRIzol LS Reagent(美国Invitrogen,10296010)抽提血清总RNA;采用RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit(美国Fermentas,K1621)制备cDNA模板;使用SYBR Green Realtime PCR Master Mix(日本TOYOBO,QPK-201)、qRT-PCR仪(美国ABI,ViiA7)扩增cDNA,确定各基因循环阈值(CT)。扩增参数:96.4 ℃ 10 min,95.6 ℃ 40 s,59.5 ℃ 30 s,57.2 ℃ 15 s,40个循环。以GAPDH为内参,各引物序列见表1。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA相对表达量。

表1 PDCD4、ZEB1、GAPDH引物序列

基因	正向引物5′-3′	反向引物5′-3′
PDCD4	ACTGTGCCAACCAGTCCAAAGG	CCTCCACATCATACACCTGTCC
ZEB1	GGCATACACCTACTCAACTACGG	TGGGCGGTGTAGAATCAGAGTC
GAPDH	GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG

1.2.3 ELISA检测血清G-17水平 利用人G-17 ELISA试剂盒(上海美轩生物科技有限公司,MEXN-H4991)配制G-17的标准品溶液,解冻血清,于450 nm波长处使用酶标仪(美国Molecular Devices,SpectraMax iD3)测定G-17标准品溶液、血清的吸光度,绘制G-17的标准回归曲线,依据G-17的标准回归方程计算血清G-17水平。

1.2.4 电化学发光法检测血清CA19-9、CEA水平 取适量血清,采用电化学发光仪(瑞士Roche,Cobas e602)按照电化学发光法测定所有受试者血清CA19-9、CEA水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 25.0统计学软件分析数据。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,行单因素方差分析、SNK-q检

验或 t 检验；采用受试者工作特征（*receiver operating characteristic*，*ROC*）曲线评估血清 PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA 对早期 GC 的诊断价值。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA 及 G-17、CA19-9、CEA 水平比较

与对照组相比，萎缩性胃炎组、GC 组患者血清 PDCD4 mRNA 表达水平降低（P<0.05），ZEB1 mRNA、G-17 水平升高（P<0.05）；与萎缩性胃炎组相比，GC 组患者血清 PDCD4 mRNA 表达水平降低（P<0.05），ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA 水平升高（P<0.05），见表 2。

2.2 早期 GC 组、进展期 GC 组血清 PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA 及 G-17、CA19-9、CEA 水平比较

与早期 GC 组相比，进展期 GC 组患者血清 PDCD4 mRNA 表达水平降低（P<0.05）；ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA 水平升高（P<0.05），见表 3。

2.3 血清 PDCD4、ZEB1、G-17、CA19-9、CEA 对早期 GC 的诊断价值

ROC 曲线显示，血清 PDCD4、ZEB1、G-17 联合诊断早期 GC 的曲线下面积（*area under the curve*，*AUC*）高于三者单独诊断及 CA19-9、CEA（P<0.05），联合诊断的灵敏度为 86.25%，特异度为 94.64%，诊断价值最高，见表 4、图 1。

表 2 各组血清 PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA 水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	PDCD4 mRNA	ZEB1 mRNA	G-17（pmol/L）	CA19-9（U/mL）	CEA（ng/mL）
对照组	136	1.03±0.34	1.01±0.33	8.36±2.79	18.32±6.11	3.46±1.14
萎缩性胃炎组	82	0.67±0.23*	1.75±0.58*	13.25±4.42*	19.97±6.67	3.85±1.28
GC 组	136	0.36±0.12*#	3.31±1.10*#	23.89±7.96*#	46.50±15.51*#	23.30±7.77*#
F		245.666	316.559	265.453	272.091	674.089
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*：与对照组相比，P<0.05；#：与萎缩性胃炎组相比，P<0.05

表 3 早期 GC 组、进展期 GC 组血清 PDCD4 mRNA、ZEB1 mRNA、G-17、CA19-9、CEA 水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	PDCD4 mRNA	ZEB1 mRNA	G-17（pmol/L）	CA19-9（U/mL）	CEA（ng/mL）
早期 GC 组	80	0.42±0.11	2.91±0.73	21.14±5.29	31.72±7.93	5.78±1.45
进展期 GC 组	56	0.27±0.07	3.88±0.97	27.82±6.96	67.61±16.92	48.32±12.09
t		9.003	6.652	6.356	16.658	31.201
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 各指标对早期 GC 的诊断效能

指标	*AUC*	95%*CI*	截断值	灵敏度（%）	特异度（%）	约登指数
PDCD4	0.843	0.782~0.905	0.53	88.75	75.00	0.638
ZEB1	0.870	0.814~0.926	2.29	87.50	75.00	0.625
G-17	0.806	0.733~0.879	20.78 pmol/L	86.25	76.79	0.630
CA19-9	0.648*#△	0.564~0.732	28.15 U/mL	73.75*#△	51.79	0.255
CEA	0.682*#△	0.599~0.765	4.20 ng/mL	70.00*#△	64.29	0.343
PDCD4、ZEB1、G-17 联合	0.946*#△▲□	0.909~0.984	0.35	86.25▲□	94.64*#△▲□	0.809

*：与 PDCD4 相比，P<0.05；#：与 ZEB1 相比，P<0.05；△：与 G-17 相比，P<0.05；▲：与 CA19-9 相比，P<0.05；□：与 CEA 相比，P<0.05

3 讨论

PDCD4 为一种抑癌基因，其可影响信号传导，参与 GC 细胞凋亡、转移，可用于评估肿瘤患者预后[9-10]。研究发现，PDCD4 在 GC 中表达下调，其可能通过影响 GC 细胞增殖、迁移进而参与 GC 病理改变，PDCD4 可能是 GC 的治疗靶点[11]；巴赫等[12]研究发现，GC 患者癌组织中 PDCD4 mRNA 表达水平降低，表明 PDCD4 可能参与 GC 病情进展。本研究中 GC 组患者血清 PDCD4 mRNA 表达水平低于萎缩性胃炎组、对照组，与饶向东等[5]的研究结果相似，提示 PDCD4 表达水平可能与 GC 的发生发展有关。另外，本研究结果显示，进展期 GC 组患者血清 PDCD4 mRNA 表达水平低于早期 GC 组患者，且血清 PDCD4 诊断 GC 的 *AUC* 为 0.843，提示 PDCD4 可能与 GC 的进展程度相关，其可能是诊断早期 GC 的辅助血清指标，检测血清 PDCD4 mRNA 水平可能有助于临床早期筛查 GC。

ZEB1 是一种转录因子，其可参与上皮-间质转化（epithelial-to-mesenchymal transition，EMT），促进 GC 等肿瘤细胞的侵袭和转移[13-14]。有研究发现，ZEB1 在 GC 中呈高表达，其可能通过影响 EMT 进程进而影响

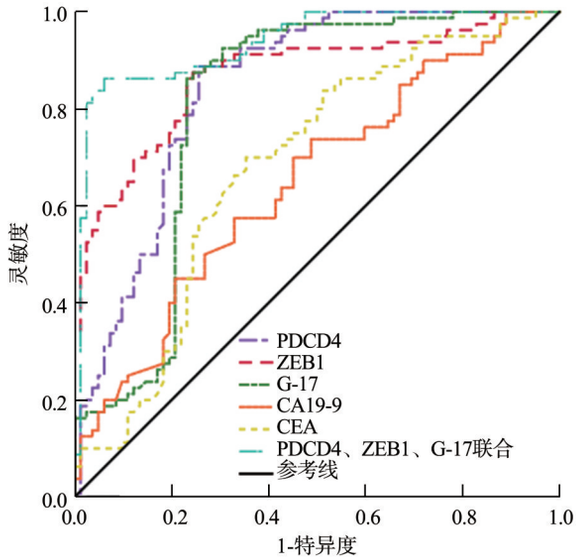


图1 血清PDCD4、ZEB1、G-17诊断GC的*ROC*曲线

GC细胞化疗敏感性,进而发挥促癌作用[15-16]。本研究中GC组患者血清ZEB1 mRNA表达水平高于萎缩性胃炎组、对照组,与刘伟等[16]的研究结果类似,提示ZEB1可能参与GC病变过程,推测ZEB1可能通过促进GC细胞增殖、迁移影响EMT过程,从而在GC病变过程中起促进作用。另外,本研究结果显示,进展期GC组患者血清ZEB1 mRNA表达水平高于早期GC组患者,提示ZEB1可能与GC患者病情进展程度有关,其有望成为诊断GC的潜在指标;进一步经*ROC*曲线分析发现,血清ZEB1对早期GC有一定诊断价值,测定血清ZEB1 mRNA水平有利于临床早期筛查GC,并制定个体化治疗方案。

G-17是一种胃肠激素,可促进胃体收缩,影响胃肠道分泌功能,其在GC中呈高表达,可用于鉴别诊断GC[17-19]。本研究结果显示,GC组和萎缩性胃炎组患者血清G-17水平高于对照组,GC组患者血清G-17水平高于萎缩性胃炎组,与袁培杰[19]的研究结果相近,提示G-17可能与GC发病进程密切相关。本研究进一步分析发现,进展期GC组患者血清G-17水平高于早期GC组患者,且血清G-17诊断早期GC的*AUC*为0.806,表明G-17与GC进展程度相关,具有筛查GC的潜在价值。

本研究结果显示,GC组患者血清CA19-9、CEA水平高于萎缩性胃炎组、对照组,且进展期GC组患者血清CA19-9、CEA水平更高,与饶向东等[5]、刘健[3]的研究结果一致,提示CA19-9、CEA与GC的发生发展有关。此外,CA19-9、CEA是诊断GC等肿瘤的常用肿瘤标志物[3,5]。本研究结果显示,CA19-9、CEA诊断GC的*AUC*为0.648、0.682,有一定的诊断价值,但二者诊断早期GC的*AUC*低于PDCD4、ZEB1、G-17联合诊断(*AUC*为0.946),提示PDCD4、ZEB1、G-17联合检测更有助于临床诊断早期GC,可为临床筛查早期GC提供一种新的参考方法。

综上,GC患者血清PDCD4 mRNA水平降低,ZEB1 mRNA、G-17水平升高,血清PDCD4、ZEB1、G-17均可辅助诊断早期GC,且三者联合可能更有利于临床筛查早期GC,对临床诊治GC、改善GC患者预后有积极意义。但本研究缺少随访资料,样本量较小,后期将扩大样本,对GC患者进行跟踪随访,深入分析PDCD4、ZEB1、G-17与GC患者预后的关系,以期为临床诊治GC提供更多参考。

[参考文献]

[1] Zhang ZG, Xu L, Zhang PJ, et al. Evaluation of the value of multiparameter combined analysis of serum markers in the early diagnosis of gastric cancer[J]. World J Gastrointest Oncol, 2020, 12(4): 483-491. doi: 10.4251/wjgo.v12.i4.483.

[2] Zhong H, Luo X. Serum dihydropyrimidinase-like 3 concentration in patients with gastric cancer and its diagnostic value[J]. Iran J Public Health, 2021, 50(9): 1789-1795. doi: 10.18502/ijph.v50i9.7051.

[3] 刘 健. 血清miR-760表达对早期胃癌的诊断价值[J]. 山东医药, 2021, 61(16): 77-79. doi: 10.3969/j.issn.1002-266X.2021.16.018.

[4] 刘旭初, 谭世运, 梁 彬, 等. 血清CEA, CA72-4, CA19-9及胃蛋白酶原水平对胃癌早期诊断的临床价值[J]. 中国现代普通外科进展, 2022, 25(3): 196-200. doi: 10.3969/j.issn.1009-9905.2022.03.006.

[5] 饶向东, 刘振宇, 汤红亮, 等. 胃癌患者血清miR-181b和PDCD4水平表达与幽门螺杆菌感染的关系[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(4): 1-4. doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.04.001.

[6] Gao ZY, Liu H, Zhang Z. miR-144-3p increases radiosensibility of gastric cancer cells by targeting inhibition of ZEB1[J]. Clin Transl Oncol, 2021, 23(3): 491-500. doi: 10.1007/s12094-020-02436-1.

[7] 詹长欣, 詹雪梅, 俞 桦. 血清G-17, PGⅠ, PGⅡ联合HP阳性检测用于胃癌筛查的价值[J]. 现代消化及介入诊疗, 2021, 26(6): 772-774. doi: 10.3969/j.issn.1672-2159.2021.06.026.

[8] 徐泽宽. 2015年V1版《NCCN胃癌临床实践指南》更新解读[J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(5): 512-514. doi: 10.7504/CJPS.ISSN1005-2208.2015.05.16.

[9] Wu P, Wang J, Mao X, et al. PDCD4 regulates apoptosis in human peritoneal mesothelial cells and promotes gastric cancer peritoneal metastasis[J]. Histol Histopathol, 2021, 36(4): 447-457. doi: 10.14670/HH-18-305.

[10] Kim JY, Lee H, Kim EK, et al. Low PDCD4 expression is associated with poor prognosis of colorectal carcinoma[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2021, 29(9): 685-692. doi: 10.1097/PAI.0000000000000948.