

(9):703-705.

- [9] 方明,陈海庚,李阿敏. γ 干扰素释放试验联合胸腔积液腺苷脱氨酶在结核性胸膜炎中的诊断价值[J]. 安徽医学, 2016,37(10):1282-1283.

在结核性胸膜炎诊断中的价值[J]. 中华生物医学工程杂志, 2013,19(4):324-326.

(收稿日期:2017-12-04 修回日期:2018-04-22)

- [10] 石瑞如,张曼林,韩云港,等. 胸腔积液中干扰素释放测定

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.15.033

鼻咽癌患者外周血膜联蛋白 A1 检测的临床意义

陈红耀,王荣国[△],宋晓飞,皮丽宏

(河北省人民医院耳鼻咽喉科,石家庄 050051)

摘要:目的 分析鼻咽癌患者外周血膜联蛋白 A1 (ANXA1) 表达情况及其临床意义。方法 选取该院经病理确诊行放射治疗的鼻咽癌患者 80 例作为治疗组,治疗后确诊为复发的鼻咽癌患者 30 例为复发组,选择同期健康体检者 50 例纳入对照组。检测所有研究对象外周血中 ANXA1、C 反应蛋白 (CRP)、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 及白细胞介素 (IL)-10 的水平。结果 放疗组患者放疗前外周血 CRP、TNF- α 的水平明显高于放疗后 1 d 和放疗后 1 个月,放疗组患者放疗后 1 d 外周血 CRP、TNF- α 水平明显高于放疗后 1 个月,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);放疗组患者放疗前外周血 ANXA1、IL-10 的水平明显低于放疗后 1 d 和放疗后 1 个月,放疗组患者放疗后 1 d 外周血 ANXA1、IL-10 水平明显低于放疗后 1 个月,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。复发组患者外周血 CRP、TNF- α 的水平明显高于放疗组放疗前的水平,外周血 ANXA1、IL-10 的水平明显低于放疗前的水平,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。随着分期的逐渐加重,外周血 CRP、TNF- α 水平明显升高,ANXA1、IL-10 的水平明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。放疗组外周血 ANXA1 与 IL-10 表达呈显著正相关 ($r = 0.4517, P < 0.05$),与血清 CRP、TNF- α 水平呈显著负相关 ($r = -0.3976, -0.4127, P < 0.05$)。结论 监测患者外周血 ANXA1 水平对了解鼻咽癌患者疾病进展情况及预测复发有价值,联合监测 CRP、TNF- α 及 IL-10 的水平对掌握鼻咽癌患者的病情变化更有意义。

关键词:鼻咽癌; 膜联蛋白 A1; 外周血; 进展; 复发

中图法分类号:R739.62

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)15-2301-03

鼻咽癌起源于鼻咽黏膜上皮和腺体,是头颈部肿瘤中恶性程度较高的肿瘤之一,有明显的种族差异,我国的发病率较高,南部地区明显高于北部地区,以 40~50 岁的中年男性患者居多^[1]。鼻咽癌早期症状不典型,临床上容易延误诊断,严重威胁患者的身体健康^[2-3]。虽然医疗技术迅速发展,但鼻咽癌的治疗效果仍不理想,尤其近年来青年人发病率增加,女性发病率也增加,对鼻咽癌的诊治提出了新的要求。目前用于鼻咽癌检测的肿瘤指标特异度及灵敏度均较低,因此寻找新的肿瘤特异性蛋白及因子十分必要。膜联蛋白 A1 (ANXA1) 是膜联蛋白家族中的一员,与多种恶性肿瘤关系密切,参与肿瘤的发生、发展^[4-5]。但是关于 ANXA1 在鼻咽癌中的具体作用机制还不清楚,本研究通过检测鼻咽癌患者外周血及肿瘤组织 ANXA1 的水平变化,深入探讨其作用机制及变化规律,为鼻咽癌的诊疗提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 2 月至 2017 年 3 月于本院行放射治疗的初诊鼻咽癌患者 80 例纳入放疗组,该组患者以前均未接受过抗癌治疗,均经过 CT、

磁共振及组织活检病理结果确诊,其中男 51 例,女 29 例,年龄 35~64 岁,平均 (48.3 ± 9.8) 岁。根据国际抗癌联盟 (UICC, 1997) 和美国癌症分期联合委员会 (AJCC, 2002) 第 5 版的方案进行分期,其中 0 期 16 例、I 期 29 例、II 期 22 例、III 期 8 例、IV 期 5 例。放疗后复发的患者 30 例纳入复发组,其中男 19 例,女 11 例,年龄 37~59 岁,平均 (47.8 ± 10.4) 岁。选择同期性别、年龄相匹配的健康体检者 50 例纳入对照组,其中男 22 例,女 28 例,年龄 35~65 岁,平均 (48.6 ± 10.5) 岁。所有入选者均自愿参与本研究,并签署知情同意书,本研究获得本院医学伦理委员会的批准。

1.2 仪器与试剂 德国 BN II System 全自动特定蛋白分析仪,ANXA1 试剂盒、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒、白细胞介素 (IL)-10 ELISA 试剂盒均购自美国 R&D 公司,瑞士 HAMILTON 酶免之星全自动免疫分析仪。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有入选者清晨空腹抽取静脉血 5 mL,室温静置 30 min 后,3 500 r/min 离心 15 min,分离血清。放疗组在放疗前 1 d、放疗后 1 d、放疗后 1

[△] 通信作者, E-mail: 603701920@qq.com.

个月各采血 1 次,对照组采血 1 次。复发组在确诊复发后采取下一步治疗以前采血 1 次。

1.3.2 血清 C 反应蛋白(CRP)水平的检测 血清标本采用德国 BN II System 全自动特定蛋白分析仪检测。质控品、定标品为仪器厂家配套产品。

1.3.3 ANXA1、TNF-α、IL-10 水平的检测 采用双抗夹心法检测 ANXA1、TNF-α、IL-10 在外周血中的表达水平,使用前从冰箱取出标本在室温下静置 30 min,所有液体组分使用前充分混匀,操作过程严格依据相应试剂盒的说明书进行。在 450 nm 波长处,采用酶免之星全自动酶标仪检测读数。ANXA1 检测范围为 6~220 μg/L,板内、板间变异系数均小于 10%。样本线性回归与预期水平相关系数(r)=0.99。TNF-α 检测范围为 20~400 ng/L,批内与批间变异系数应分别小于 9%和 11%,样品线性回归与预期水平 r 应为 0.95 以上。IL-10 检测范围为 50~1 600 pg/mL,批内与批间变异系数应分别小于 7%和 9%,样品线性回归与预期水平 r 应在 0.97 以上。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,相关分析采用 Pearson 相关,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 3 组研究对象外周血 ANXA1、TNF-α、IL-10 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CRP(mg/L)	ANXA1(μg/L)	TNF-α(ng/L)	IL-10(pg/mL)
放疗组	80				
放疗前		18.72±4.28*#△	37.51±7.34*#△	142.05±13.57*#△	276.21±31.58*#△
放疗后		11.34±1.95*#	98.44±15.38*#	89.36±9.75*#	403.67±42.75*#
放疗后 1 个月		6.01±1.12△	166.37±19.78△	33.74±5.03△	863.17±83.96△
复发组	30	27.65±5.33*#△▲	21.35±3.94*#△▲	188.43±18.26*#△▲	159.25±20.43*#△▲
对照组	50	5.95±1.06△	169.34±22.17△	32.41±4.72△	871.27±95.73△

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与放疗后 1 个月比较,# $P<0.05$;与放疗后 1 d 比较,△ $P<0.05$;与放疗前比较,▲ $P<0.05$

表 2 放疗组不同分期的鼻咽癌患者外周血各项指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

分期	<i>n</i>	CRP(mg/L)	ANXA1(μg/L)	TNF-α(ng/L)	IL-10(pg/mL)
0 期	16	11.28±2.28	49.63±4.62	121.54±10.34	344.27±30.28
I 期	29	15.33±2.85*	40.71±4.15*	134.27±13.56*	289.85±28.03*
II 期	22	21.17±3.12*#	33.96±3.96*#	144.75±18.12*#	258.14±27.16*#
III 期	8	26.94±3.38*#△	24.64±3.64*#△	169.38±18.26*#△	212.64±20.75*#△
IV 期	5	38.22±3.76*#△▲	16.43±3.31*#△▲	197.15±19.35*#△▲	160.33±21.46*#△▲

注:与 0 期比较,* $P<0.05$;与 I 期比较,# $P<0.05$;与 II 期比较,△ $P<0.05$;与 III 期比较,▲ $P<0.05$

3 讨 论

我国鼻咽癌发病率较高,位置隐蔽,病程进展较快。鼻咽癌的病因是多种因素造成的,如遗传因素、环境因素、EB 病毒感染等。近年来,虽然鼻咽癌手术和放疗技术有了一定的进步,但鼻咽癌的复发率及病死率依然没有明显改善。与此同时鼻咽癌的发病率略有升高,发病年龄呈年轻化趋势^[6-7]。只有找到灵敏度与特异度均较高的鼻咽癌相关指标,才能对其进行早期诊断和早期治疗,确保手术和放疗的效果,改善患者预后。目前常用的一些指标不能早期提示鼻

2 结 果

2.1 3 组研究对象外周血 ANXA1、TNF-α、IL-10 水平的比较 放疗组患者放疗前外周血 CRP、TNF-α 的水平明显高于放疗后 1 d 和放疗后 1 个月,放疗组患者放疗后 1 d 外周血 CRP、TNF-α 水平明显高于放疗后 1 个月,差异有统计学意义($P<0.05$);放疗组患者放疗前外周血 ANXA1、IL-10 的水平明显低于放疗后 1 d 和放疗后 1 个月,放疗组患者放疗后 1 d 外周血 ANXA1、IL-10 水平明显低于放疗后 1 个月,差异有统计学意义($P<0.05$)。复发组患者外周血 CRP、TNF-α 的水平明显高于放疗组放疗前的水平,外周血 ANXA1、IL-10 的水平明显低于放疗前的水平,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 放疗组不同分期的鼻咽癌患者外周血各项指标水平比较 随着分期的逐渐加重,外周血 CRP、TNF-α 水平明显升高,ANXA1、IL-10 的水平明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 放疗组外周血 ANXA1 与其他指标的关系 Pearson 相关分析显示,放疗组外周血 ANXA1 与 IL-10 表达呈显著正相关($r=0.451\ 7, P<0.05$),与血清 CRP、TNF-α 水平呈显著负相关($r=-0.397\ 6, -0.412\ 7, P<0.05$)。

咽癌的发生,而 ANXA1 在多种恶性肿瘤患者体内异常表达,本研究就 ANXA1 在鼻咽癌患者中的变化情况及其与其他血清学指标的关系进行了研究讨论。

ANXA1 位于人 9q12-q21.2,包含 13 个外显子和 12 个内含子,编码 346 个氨基酸。ANXA1 隶属于膜联蛋白家族,广泛表达于动植物体内各种组织和细胞表面,依赖钙离子的结合,并能与磷脂可逆结合才能发挥调节细胞增殖、分化、变异、凋亡等一系列作用。ANXA1 具有很强的抗炎、抗感染功能;通过表皮生长因子受体(EGFR)、激活蛋白激酶 C(PKC)途径或是

直接磷酸化,促进细胞的增殖、趋化、新生血管形成;通过加强过氧化氢(H_2O_2)的过氧化功能促进细胞凋亡、组织坏死^[8]。有研究报道,ANXA1 通过磷酸化促进细胞癌变及肿瘤细胞增殖,抑制抑癌基因分化,通过与钙离子和磷脂结合降低肿瘤细胞对药物的敏感性,促进肿瘤转移^[9-10]。本研究应用 ELISA 技术检测了研究对象外周血 ANXA1 水平,结果显示 ANXA1 在鼻咽癌患者放疗前的表达水平明显降低,随着放疗的进行,ANXA1 水平逐渐回升,放疗后 1 个月时基本恢复到正常水平,与对照组中 ANXA1 的水平差异无统计学意义($P>0.05$),说明 ANXA1 在肿瘤发生时表达下降,随着肿瘤的切除或肿瘤细胞的杀灭,其表达水平逐渐升高,提示 ANXA1 与鼻咽癌的进展程度密切相关。同时本研究还发现复发组患者血清 ANXA1 水平下降更多,明显低于鼻咽癌患者放疗前的水平,提示 ANXA1 与鼻咽癌的复发关系密切。

为进一步探讨外周血中 ANXA1 水平与鼻咽癌的进展程度、有无淋巴结及远处转移的关系,本研究将放疗组根据分期情况进行分组,结果显示,随着分期的变化,ANXA1 水平逐渐下降,说明 ANXA1 水平在鼻咽癌出现周围组织浸润、淋巴结及远处转移时进一步降低,提示 ANXA1 的水平与鼻咽癌的浸润程度、恶化与转移情况密切相关,检测 ANXA1 水平可以提示鼻咽癌患者目前肿瘤的发展状态,预测肿瘤转移和复发。

炎症的局部表现和全身反应的临床特征是红、肿、热、痛和功能障碍。红、热是由于局部血管扩张,血流加快。肿是局部炎症性充血,血液成分渗出。痛是由于渗出物压迫和某些炎症介质直接作用于神经末梢所致。150 年前,VIRCHOW 最初发现慢性炎症与癌变之间存在关联。研究发现超过 25% 的癌症都是由于慢性感染或其他类型的慢性炎症引起^[11]。慢性炎症通过多种机制致癌,其包括诱导基因突变、促进血管生成、改变基因状态和促进细胞增殖等方面。而这些机制主要通过一些炎症因子作为媒介起到致癌作用。

本研究还检测了 CRP、TNF- α 、IL-10 等炎症指标的水平,发现放疗组患者术前外周血 CRP、TNF- α 的水平明显升高,IL-10 的水平明显降低,随着放疗的进行,CRP、TNF- α 的水平明显下降,IL-10 的水平明显升高,于放疗后 1 个月,三者的水平与对照组的水平差异无统计学意义($P>0.05$),尤其是复发组患者外周血 CRP、TNF- α 的水平明显高于放疗组放疗前的水平,IL-10 的水平明显低于放疗前的水平,提示鼻咽癌的进展过程也是炎性反应的过程,通过炎症因子的变化可以间接反映肿瘤的变化情况,提示肿瘤的发生和复发。本研究还发现,放疗组不同分期的鼻咽癌患者中外周血 CRP、TNF- α 水平随着分期的逐渐加重明显升高,IL-10 水平明显降低,进一步验证了炎症因

子的水平变化趋势可以间接代表鼻咽癌的浸润程度、有无淋巴结及远处转移和复发。

相关分析发现,外周血 ANXA1 水平与 IL-10 表达呈显著正相关,与血清 CRP、TNF- α 水平表达呈显著负相关。提示 ANXA1 与炎症指标联合应用对掌握鼻咽癌患者的病情变化更有意义,同时也提示 ANXA1 可能通过促进炎性反应干预了肿瘤的进程。

综上所述,本研究发现鼻咽癌患者的外周血 ANXA1 水平随肿瘤的发展、淋巴结转移、远处转移逐渐下降,且复发患者 ANXA1 水平下降更明显,说明 ANXA1 与鼻咽癌的发生、发展、浸润、转移、复发关系密切,监测外周血 ANXA1 水平的变化对了解鼻咽癌患者的病情变化及评估十分重要。外周血 ANXA1 可作为鼻咽癌的随访指标,对临床治疗有一定的指导价值。

参考文献

- [1] 丁静华,苏法仁,薄琳.鼻咽癌研究进展[J].国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,41(1):43-46.
- [2] LASKAR S G,GURRAM L,GUPTA T,et al. Outcomes in nasopharyngeal carcinoma: results from a nonendemic cohort[J]. Indian J Cancer,2016,53(4):493-498.
- [3] SONG Y,LI W,PENG X,et al. Inhibition of autophagy results in a reversal of taxol resistance in nasopharyngeal carcinoma by enhancing taxol-induced caspase-dependent apoptosis[J]. Am J Transl Res,2017,9(4):1934-1942.
- [4] XIAO Y,OUYANG C,HUANG W,et al. Annexin A1 can inhibit the in vitro invasive ability of nasopharyngeal carcinoma cells possibly through Annexin A1/S100A9/Vimentin interaction[J]. PLoS One,2017,12(3):e0174383.
- [5] ONOZAWA H,SAITO M,SAITO K,et al. Annexin A1 is involved in resistance to 5-FU in colon cancer cells[J]. Oncol Rep,2017,37(1):235-240.
- [6] 田忠,夏婧,王新颖. P13K/Akt 信号通路及其在鼻咽癌发生发展中的研究进展[J]. 实用医学杂志,2016,32(4):678-680.
- [7] 费樱平,覃纲. 免疫机制与鼻咽癌研究进展[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2016,40(2):104-108.
- [8] LEONI G,NUSRAT A. Annexin A1:shifting the balance towards resolution and repair[J]. Biol Chem,2016,397(10):971-979.
- [9] SHIN J,SONG I S,PAK J H,et al. Upregulation of annexin A1 expression by butyrate in human melanoma cells induces invasion by inhibiting E-cadherin expression[J]. Tumour Biol,2016,37(11):14577-14584.
- [10] ROHWER N,BINDEL F,GRIMM C,et al. Annexin A1 sustains tumor metabolism and cellular proliferation upon stable loss of HIF1A[J]. Oncotarget,2016,7(6):6693-6710.
- [11] HUSSAIN S P,HARRIS C. Inflammation and cancer:an ancient link with novel potentials[J]. Int J Cancer,2007,121(11):2373-2380.