

## 膀胱癌患者手术前后血清前梯度蛋白水平变化及其预后判断价值

刘焜, 陈世伟( 厦门大学附属成功医院 解放军第 174 医院 泌尿外科, 福建 厦门 361003 )

**[摘要]** **目的:**检测膀胱癌患者手术前后血清前梯度蛋白 2( anterior gradient 2, AGR2 )的水平变化,并探讨其预后判断价值。**方法:**采集厦门大学附属成功医院 2013 年 6 月至 2015 年 12 月 40 例行手术治疗的膀胱癌患者(膀胱癌组)和 20 例健康体检者(对照组)外周静脉血,采用 ELISA 法检测血清 AGR2 水平,分析血清 AGR2 水平与膀胱癌临床病理特征及预后的关系。**结果:**膀胱癌组患者术前血清 AGR2 水平明显高于正常对照组[ ( 28.93 ± 6.03 )vs( 10.20 ± 3.76 )ng/ml,  $P < 0.01$  ],术后血清 AGR2 水平明显低于术前[ ( 16.63 ± 4.31 )vs ( 28.93 ± 6.03 )ng/ml,  $P < 0.01$  ];患者术前血清 AGR2 水平与临床病理分期、淋巴结转移有关(  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  ),术前血清 AGR2 > 27.9 ng/ml 组中位患者 PFS 与 OS 均明显低于 ≤ 27.9 ng/ml 组(  $P < 0.05$  );COX 模型多因素分析结果显示,病理分期、淋巴结转移以及不同 AGR2 水平是影响膀胱癌患者预后的独立危险因素(  $P < 0.05$  )。**结论:**膀胱癌患者血清 AGR2 水平增高,其与膀胱癌的恶性生物学行为有关,术前检测血清 AGR2 水平对于判断膀胱癌患者预后有一定临床价值。

**[关键词]** 膀胱癌;前梯度蛋白 2;预后

**[中图分类号]** R737.14; R730.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2017)06-0656-04

## Prognostic value of serum anterior gradient 2 level before and after surgery in patients with bladder cancer

LIU Kun, CHEN Shiwei ( Department of Urology, the 174<sup>th</sup> Hospital of PLA, Chenggong Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen 361000, Fujian, China )

**[Abstract]** **Objective:** To determine the change of serum anterior gradient-2 ( AGR2 ) level before and after surgery in bladder cancer patients, and to investigate its significance in predicting prognosis. **Methods:** The peripheral venous blood samples were collected from 40 patients with bladder cancer who accepted surgery ( bladder cancer group ) and 20 healthy controls ( control group ). The level of serum AGR2 was detected by enzyme linked immunosorbent assay ( ELISA ). The relationship between the level of serum AGR2 and clinicopathologic characteristics as well as prognosis prediction of bladder cancer was analyzed. **Results:** The level of serum AGR2 in the patients with bladder cancer was significantly higher than that in normal controls ( [ 28.93 ± 6.03 ] vs [ 10.20 ± 3.76 ] ng/ml,  $P < 0.01$  ). The preoperative level of serum AGR2 in the patients was significantly lower than that of postoperative level ( [ 16.63 ± 4.31 ] vs [ 28.93 ± 6.03 ] ng/ml,  $P < 0.01$  ). The preoperative level of serum AGR2 was closely correlated with lymph node metastasis and clinical pathologic staging (  $P < 0.01$  or  $P < 0.05$  ). The median progression free survival ( PFS ) and median overall survival ( OS ) in high level of serum AGR2 group ( AGR2 > 27.90 ng/mL group ) were lower than those in low level of serum AGR2 group ( AGR2 ≤ 27.90 ng/ml group ), respectively ( all  $P < 0.05$  ). COX multi-variance regression model showed that clinical stages, lymph node metastasis and different level of serum AGR2 were independent risk factors that influence the prognosis of bladder cancer patients (  $P < 0.05$  ). **Conclusion:** Serum AGR2 in bladder cancer patients was higher, which closely related to malignant biological behavior of bladder cancer. It is of clinical significance to detect the level of serum AGR2 before operation for judging the prognosis of patients with bladder cancer.

**[Key words]** bladder cancer; anterior gradient 2( AGR2 ); prognosis

[ Chin J Cancer Biother, 2017, 24( 6 ): 656-659. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.014 ]

**[作者简介]** 刘焜( 1982- ),男,硕士,主治医师,主要从事泌尿外科基础和微创治疗研究, E-mail: liukun2851608@163.com

**[通信作者]** 陈世伟( CHEN Shiwei, corresponding author ),副教授,主任医师,主要从事泌尿系统肿瘤的微创治疗, E-mail: oxygentoto@sina.com

血清前梯度蛋白 2( anterior gradient 2, AGR2 ) 是从乳腺癌细胞系 MCF7 的 cDNA 文库中筛选得到的,且是非洲爪蟾 AGR2 的同源基因<sup>[1]</sup>。AGR2 具有促进肿瘤细胞增殖、侵袭转移等生物学功能。有研究<sup>[2]</sup>发现,AGR2 在多种恶性肿瘤中呈高表达,与肿瘤的发生、发展密切相关,是一个潜在的早期诊断和判定预后的标志性基因。目前有关 AGR2 在膀胱癌患者血清中的表达及其临床意义尚不清楚。本研究拟采用 ELISA 法检测膀胱癌患者手术前后血清 AGR2 水平,分析其与膀胱癌患者临床病理特征的关系,并探讨其在膀胱癌患者预后判断的应用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2013 年 6 月至 2015 年 12 月在厦门大学附属成功医院泌尿外科收治的膀胱癌患者 40 例,均行手术治疗,术后病理学证实均为膀胱移行细胞癌。纳入标准:(1)临床资料完整,经病理学确诊为膀胱移行细胞癌;(2)患者自愿参加,并签署知情同意书;(3)术前未接受放疗及其他免疫治疗。排除标准:(1)有严重心、肝、肺、肾等器官功能障碍;(2)有其他肿瘤病史者。其中男 28 例,女 12 例;年龄 52~76 岁,平均(62.2±7.1)岁;另选取同期我院健康体检者 20 例作为正常对照组,其中男 14 例,女 6 例;年龄 40~69 岁,平均(58.6±6.3)岁。两组人群一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 1.2 主要材料与试剂

人 AGR2 ELISA 试剂盒、Greiner 96 孔聚苯乙烯微孔板购自北京易科攀博生物有限公司, BIOBASE-ELI10A 型酶标仪购自山东博科生物产业有限公司。

### 1.3 ELISA 法检测膀胱癌患者血清 AGR2 水平

患者于入院次日及术后 4 周,健康体检者于体检当日清晨空腹抽取静脉血 5 ml, 3 000 ×g 离心 10 min, 取上清液, -80 °C 冰箱保存待测。采用 ELISA 法检测 AGR2 水平,严格按检测说明书操作。

### 1.4 随访及观察指标

通过门诊复诊、住院复查、电话或邮件随访,随访截止日期:2016 年 6 月 31 日,随访时间为 7~37 个月。观察膀胱癌患者血清 AGR2 水平变化;术前血清 AGR2 水平与膀胱癌临床病理特征的关系及其对膀胱癌患者预后的影响。

### 1.5 统计学处理

应用 SPSS18.0 统计学软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,不同组间比较采用独立样本  $t$  检验;血清 AGR2 水平与膀胱癌临床病理特征差异比较采用单

因素方差分析;生存分析采用 Kaplan-Meier 法绘制 PFS 曲线和 OS 曲线,采用 Log-rank 法分析生存时间差异;多因素影响预后分析采用 COX 回归分析。以  $P<0.05$  或  $P<0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 膀胱癌患者术前血清 AGR2 水平明显上升

膀胱癌患者术前血清 AGR2 水平明显高于正常对照组[(28.93±6.03)vs(10.20±3.76)ng/ml,  $P<0.01$ ]。

### 2.2 术后 4 周膀胱癌患者血清 AGR2 水平明显降低

膀胱癌患者手术后 4 周血清 AGR2 水平较术前明显降低[(16.63±4.31)vs(28.93±6.03)ng/ml,  $P<0.01$ ]。

### 2.3 膀胱癌患者术前血清 AGR2 水平与临床病理特征的关系

肿瘤患者术前血清 AGR2 水平与临床病理分期、淋巴结转移有关( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),而与患者年龄、性别、病理分级无关( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 术前血清 AGR2 水平与膀胱癌临床病理特征的关系 [ $\rho_B$ /(ng·ml<sup>-1</sup>)]  
Tab.1 The relationship between preoperative serum AGR2 levels and clinicopathological features of bladder cancer [ $\rho_B$ /(ng·ml<sup>-1</sup>)]

Characteristic	n	AGR2	F	P
Age( t/a )			0.884	0.353
≥60	27	29.55 ± 5.91		
<60	13	27.63 ± 6.33		
Gender			0.068	0.796
Male	28	28.76 ± 4.39		
Female	12	29.31 ± 9.03		
Differentiation			2.022	0.163
Well, Moderate	23	27.77 ± 6.18		
Poor	17	30.48 ± 5.62		
TNM stage			19.949	0.000
Ta-T1	18	25.06 ± 4.18		
T2-T4	22	32.09 ± 5.49		
Lymph node metastasis			6.075	0.018
No	25	27.21 ± 5.53		
Yes	15	31.78 ± 5.91		

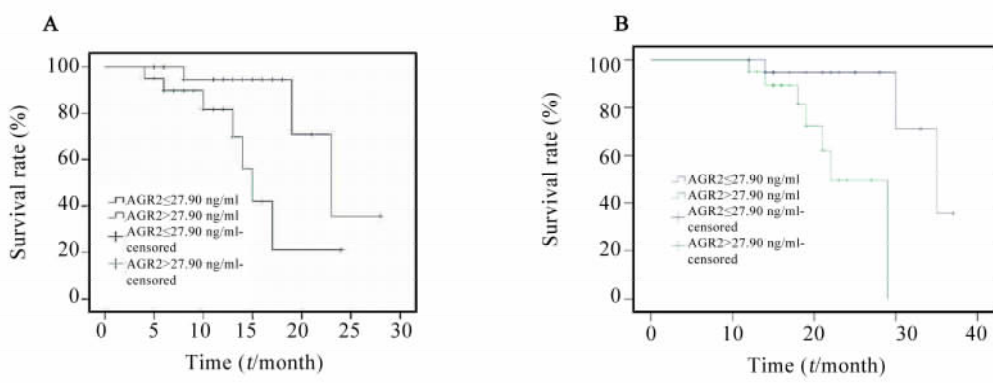
### 2.4 膀胱癌患者术前血清 AGR2 水平对其预后的影响

患者术前血清 AGR2 水平波动在 16.6 ~ 45.0 ng/ml, 两组 AGR2 中位值(27.9 ng/ml)为截点进行分组, 分为 AGR2 ≤ 27.9 ng/ml (n = 20) 和 AGR2 > 27.9 ng/ml (n = 20) 两组。通过随访进行分析, AGR2 ≤ 27.9 ng/ml 组中位 PFS 为 23 个月(95% CI: 16.995 ~ 29.005), AGR2 > 27.9 ng/ml 组中位 PFS 为 15 个月(95% CI: 12.560 ~ 17.440), 经 Log-Rank 检验, 两组 PFS 有明显差异( $\chi^2 = 5.346, P < 0.05$ ); AGR2 ≤ 27.9 ng/ml 组中位 OS 为 35 个月

(95% CI: 27.496 ~ 42.504), AGR2 > 27.9 ng/ml 组中位 OS 为 22 个月(95% CI: 17.972 ~ 26.028), 经 Log-Rank 检验, 两组 OS 有明显差异( $\chi^2 = 8.189, P < 0.01$ ), 见图 1。

### 2.5 不同 AGR2 水平是影响膀胱癌患者预后的独立危险因素

通过对年龄、性别、分化程度、病理分期、淋巴结转移以及不同 AGR2 水平分组分别进行变量赋值, 进行 COX 模型多因素分析, 结果(表 2)显示, 病理分期、淋巴结转移以及不同 AGR2 水平是影响膀胱癌患者预后的独立危险因素( $P < 0.05$ )。



A: PFS survival curve; B: OS survival curve

图 1 膀胱癌患者术前血清 AGR2 水平对 PFS 和 OS 的影响

Fig.1 Effect of preoperative serum AGR2 level on PFS and OS of patients with bladder cancer

表 2 膀胱癌患者预后影响因素的 COX 回归分析

Tab.2 COX regression analysis of prognostic factors in patients with bladder cancer

Item	B	SE	Wald	P	Exp( B )	95% CI for Exp( B )	
						Lower	Upper
TNM stage	2.920	1.352	4.665	0.031	0.054	0.004	0.763
Lymph node metastasis	3.576	1.501	5.678	0.017	0.028	0.001	0.53
AGR2 level	5.192	1.876	7.658	0.006	0.006	0.000	0.22

### 3 讨论

膀胱癌发病多在中年以后, 随着年龄的增长而增加。50% ~ 80% 的膀胱癌会发生侵袭和转移, 膀胱癌的术后高复发和高度转移恶性潜能是影响患者预后的重要因素<sup>[3]</sup>。大约 80% 的膀胱癌为表浅性膀胱癌, 手术仍是膀胱癌的首选治疗方案<sup>[4]</sup>。肿瘤患者手术预后的影响因素通常是通过术后病理学检查来评估、判断。手术或放化疗前后检测肿瘤患者血清标志物水平, 可为肿瘤早期诊断、疗效评价及预

后判断提供了一定的参考价值。有研究<sup>[2]</sup>显示, AGR2 在肺癌、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌等肿瘤组织中过表达, 与肿瘤的形成和转移密切相关。Pohler 等<sup>[5]</sup>研究证实, AGR2 通过抑制 P53 磷酸化及其活性, 细胞失去正常性能导致癌变。Hu 等<sup>[6]</sup>采用 RNAi 技术特异性地剔除 AGR2 基因, 可明显减少肺癌细胞转移。李跃进等<sup>[7]</sup>研究发现, AGR2 在鼻咽癌细胞系 5-8 F 中明显高表达, 干扰 AGR2 可使癌细胞迁移和侵袭功能明显减弱, 使其体外成瘤能力显著降低。王巍巍等<sup>[8]</sup>研究发现, 二亚硝基哌嗪

(DNP)通过在转录水平上调 AGR2 的表达,参与鼻咽癌细胞的侵袭和转移。陈圆圆<sup>[9]</sup>研究表明,化疗可有效降低肺癌患者血清 AGR2 的表达,化疗前后 AGR2 的变化与肺癌的进展及转移密切相关。因此,AGR2 被视为肿瘤早期诊断、疗效及预后判断一个新的参考指标。本研究发现,膀胱癌患者术前血清 AGR2 水平增高,术后水平明显下降,可能与体内肿瘤切除后 AGR2 分泌减少有关,在一定程度上可作为判断手术疗效的参考指标。

AGR2 水平与肿瘤的侵袭和转移密切相关。Zhang 等<sup>[10]</sup>研究发现,AGR2 与胃癌肿瘤大小、侵袭深度、TNM 分期显著相关。白小英等<sup>[11]</sup>研究发现,卵巢上皮性癌及卵巢交界性瘤血清 AGR2 水平、AGR2 蛋白阳性表达均明显高于卵巢良性肿瘤及健康体检者,卵巢上皮性癌血清 AGR2 水平及癌组织中 AGR2 的阳性表达率均与临床分期及淋巴结转移相关。刘丽娜等<sup>[12]</sup>研究发现,结直肠癌组织中 AGR2 阳性表达率较癌旁正常组织显著性增高,AGR2 的阳性表达率与肿瘤分化程度与淋巴结转移呈显著相关,AGR2 在结直肠癌的发生发展过程中发挥了重要作用。以上研究表明,AGR2 水平参与了不同肿瘤的侵袭、转移。本研究显示,术前血清 AGR2 水平与膀胱癌临床病理分期、淋巴结转移有关,提示血清 AGR2 水平与膀胱癌的侵袭、转移密切相关。

AGR2 与肿瘤侵袭和转移有关,在一定程度上与肿瘤患者预后不良有关。通过 Kaplan-Meier 生存分析显示,AGR2 低水平表达的胃癌患者,平均生存时间较长,而IV期患者则无明显差异。多元回归分析表明,AGR2 是胃癌独立的预后因子<sup>[10]</sup>。有研究<sup>[13-14]</sup>发现,AGR2 与年轻肺癌患者预后差有关。本研究通过术后随访发现,AGR2  $\leq 27.9$  ng/ml 组中位 PFS(23 个月)明显高于 AGR2  $> 27.9$  ng/ml 组中位 PFS(15 个月),AGR2  $\leq 27.9$  ng/ml 组中位 OS(35 个月)明显高于 AGR2  $> 27.9$  ng/ml 组中位 OS(22 个月),进一步行 COX 回归分析结果显示,临床分期、淋巴结转移以及 AGR2 水平是影响膀胱癌患者预后的独立危险因素。

综上所述,膀胱癌患者血清 AGR2 水平增高,与膀胱癌的临床分期、淋巴结转移有关。术前检测血清 AGR2 水平对于膀胱癌患者的预后判断有一定的参考价值,但肿瘤侵袭转移是一个复杂的生物学过程,AGR2 在肿瘤侵袭转移过程中的生物学功能尚不十分清楚,AGR2 与膀胱癌患者预后之间的关系仍需多中心、大样本量的研究进一步明确。

## [参考文献]

- [1] 任宝花,刘巍,谭文华. AGR2 与肿瘤关系研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志,2014,22(3):134-136. DOI:10.13404/j.cnki.cjhh.2014.03.063.
- [2] 魏龙刚,邓鸣涛,赵一楠,等. AGR2:一个新的癌症诊断标记[J]. 中国细胞生物学学报,2013,35(12):1705-1713. DOI:10.11844/cjcb.2013.12.9002.
- [3] 李瑞晓,于垂恭,张璟,等. 慢病毒介导 NDRG2 基因过表达抑制人膀胱癌 T24 细胞的侵袭和迁移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2013,20(4):414-418. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2013.04.006.
- [4] 李嘉,陈国俊. 表浅性膀胱癌术后膀胱灌注卡介苗随机对照试验的 Meta 分析[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2011,18(1):70-74. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2011.01.015.
- [5] POHLER E, CRAIG A L, COTTON J, et al. The Barrett's antigen anterior gradient-2 silences the p53 transcriptional response to DNA damage[J]. Mol Cell Proteomics, 2004, 3(6):534-547. DOI:10.1074/mcp.M300089-MCP200.
- [6] HU R, HUFFMAN K E, CHU M, et al. Quantitative secretomic analysis identifies extracellular protein factors that modulate the metastatic phenotype of non-small cell lung cancer[J]. J Proteome Res, 2016, 15(2):477-486. DOI:10.1021/acs.jproteome.5b00819.
- [7] 李跃进,王巍巍,卢金平,等. 前梯度蛋白 2 干扰质粒的构建及其对鼻咽癌细胞生物学功能的影响[J]. 中国病理生理杂志,2016,32(9):1545-1550. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2016.09.002.
- [8] 王巍巍,唐发清,李跃进. 二亚硝基咪唑上调 AGR2 促进鼻咽癌细胞转移[J]. 癌变·畸变·突变,2016,28(2):115-120. DOI:10.3969/j.issn.1004-616x.2016.02.007.
- [9] 陈圆圆. 吉西他滨联合顺铂化疗对非小细胞肺癌患者血清 AGR2 表达的影响及其临床意义[J]. 临床合理用药杂志,2016,9(23):3-4,10. DOI:10.15887/j.cnki.13-1389/r.2016.23.002.
- [10] ZHANG J, JIN Y, XU S, et al. AGR2 is associated with gastric cancer progression and poor survival[J]. Oncol Lett, 2016, 11(3):2075-2083. DOI:10.3892/ol.2016.4160.
- [11] 白小英,金平,张蕾. AGR2 在卵巢上皮性癌患者血清及癌组织中的表达及意义[J]. 实用妇产科杂志,2013,29(1):31-35. DOI:10.3969/j.issn.1003-6946.2013.01.012.
- [12] 刘丽娜,殷云勤,张兆美,等. AGR2、Lgr5 在结直肠癌中的表达及其临床意义[J]. 中国现代医生,2014,52(4):6-11.
- [13] 张红,刘念,李征,等. miRNA-93 在膀胱癌中的表达及其对 T24 细胞生物学特性的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2017,24(2):139-144. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.007.
- [14] ALAVI M, MAH V, MARESH E L, et al. High expression of AGR2 in lung cancer is predictive of poor survival[J/OL]. BMC Cancer, 2015, 15:655[2017-03-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4596313/>. DOI:10.1186/s12885-015-1658-2.

[收稿日期] 2017-01-13

[修回日期] 2017-03-15

[本文编辑] 王映红