

- targets[J]. Nature Genetics, 2017, 49(3):416~425.
- [6] You LH, Yan CZ, Zheng BJ, et al. Astrocyte hepcidin is a key factor in LPS-induced neuronal apoptosis[J]. Cell Death and Disease, 2017, 8(3):e2676.
- [7] Sangkhae V, Nemeth E. Regulation of the iron homeostatic hormone hepcidin[J]. Advances in Nutrition, 2017, 8(1):126~136.
- [8] Michels KR, Zhang Z, Bettina AM, et al. Hepcidin-mediated iron sequestration protects against bacterial dissemination during pneumonia[J]. Jci Insight, 2017, 2(6):e92002.
- [9] Latour C, Wlodarczyk MF, Jung G, et al. Erythroferrone contributes to hepcidin repression in a mouse model of malarial anemia[J]. Haematologica, 2017, 102(1):60~68.
- [10] 中华人民共和国卫生部.慢性阻塞性肺疾病诊断标准[J].国际呼吸杂志,2011,31(1):1~2.
- [11] Girelli D, Nemeth E, Swinkels DW. Hepcidin in the diagnosis of iron disorders[J]. Blood, 2016, 127(23):2809~2813.
- [12] Wang CY, Babitt JL. Hepcidin regulation in the anemia of inflammation[J]. Current Opinion in Hematology, 2016, 23(3):189~197.
- [13] Xiang L, Rhee DK, Malhotra R, et al. Progesterone receptor membrane component-1 regulates hepcidin biosynthesis[J]. Journal of Clinical Investigation, 2016, 126(1):389~401.

【文章编号】1006-6233(2019)09-1431-04

## 外周血胃蛋白酶原 I 胃泌素-17 及 TOLL 样受体联合检测对早期喉癌的诊断价值

张 义, 王志平, 白 洁, 许尧生

(哈励逊国际和平医院耳鼻喉头颈外科, 河北 衡水 053000)

**【摘要】目的:**探讨外周血胃蛋白酶原 I (pepsinogen-I, PG-I)、胃泌素-17(gastrin-17, G-17) 联合 TOLL 样受体 4 (Toll-like receptors, TLR4) 联合检测在早期喉癌诊断中的应用价值。**方法:**选取我院自 2013 年 1 月至 2017 年 5 月间耳鼻喉科收治的 270 例疑似喉癌患者和同期健康体检的 90 例健康体检患者作为试验对象,采用酶联免疫吸附法(ELISA)法检测 3 组受检者血清中 PG-I、G-17 水平差异,使用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)测定外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中 TLR4 mRNA 表达情况。**结果:**声带息肉组患者 PG-I 水平显著低于健康对照组( $P < 0.05$ ),喉癌组患者 PG-I 远低于其他两组( $P < 0.05$ );健康对照组、声带息肉组患者 G-17 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),喉癌患者 G-17 水平显著高于健康对照组、声带息肉组( $P < 0.05$ );喉癌组 TLR4 mRNA 表达显著高于声带息肉组、息肉组 TLR4 表达高于健康对照组,数据差异有统计学意义( $P < 0.05$ );3 指标联合检测的敏感度、阴性预测值均显著高于单个指标检测( $P < 0.05$ )。**结论:**外周血清中 PG-I、G-17 浓度以及 PBMC 中 TLR4 表达情况对早期喉癌的诊断鉴别意义重大,联合检测方式可显著提升诊断的效能。

**【关键词】** 喉 癌; 胃蛋白酶原 I; 胃泌素-17; TOLL 样受体 4

**【文献标识码】** A **【doi】**10.3969/j.issn.1006-6233.2019.09.006

## The Diagnosis Value of Combined Detection of Pepsinogen I Gastrin-17 and TOLL-like Receptors in Peripheral Blood in Early Laryngeal Cancer

ZHANG Yi, WANG Zhiping, BAI Jie, et al

(Harrison International Peace Hospital, Hebei Hengshui 053000, China)

**【Abstract】Objective:** To investigate the value of combined detection of pepsinogen-I (PG-I), gastrin-17 (G-17) and Toll-like receptors (TLR4) in peripheral blood in the diagnosis of early laryngeal cancer. **Methods:** 270 cases of suspected laryngeal cancer and 90 cases of health check-up were selected from January 2013 to May 2017 in our hospital. The levels of PG-I and G-17 in serum of the three groups were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and (peripheral blood mononuclear cell, in peripheral

blood mononuclear cells (PBMC) was measured by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR). TLR4 mRNA expression in PBMC. **Results:** The level of PG-I in vocal cord polyp group was significantly lower than that in healthy control group ( $P < 0.05$ ), while that in laryngeal cancer group was much lower than that in other two groups ( $P < 0.05$ ); there was no significant difference between healthy control group and vocal cord polyp group ( $P > 0.05$ ), and the level of G-17 in laryngeal cancer patients was significantly higher than that in healthy control group and vocal cord polyp group ( $P < 0.05$ ). The expression of TLR4 in cancer group was significantly higher than that in vocal cord polyp group and polyp group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The sensitivity and negative predictive value of combined detection of three indicators were significantly higher than that of single indicator detection ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The concentration of PGI and G-17 in peripheral serum and the expression of TLR4 in PBMC are of great significance for the diagnosis and differentiation of early laryngeal cancer. The combined detection method can significantly improve the diagnostic efficiency.

**【Key words】** Laryngeal carcinoma; Pepsinogen - I; Gastrin-17; Toll-like receptor 4

喉癌(laryngeal carcinoma, LC)是头颈部较为常见的恶性肿瘤,占全身恶性肿瘤的5.7~7.6%之间<sup>[1]</sup>。近年来,因人们生活节奏加快、饮食习惯的改变,喉癌的患病率逐年升高。早期喉癌可以采用放疗、手术以及基因治疗等方式取得良好的临床效果,但是大多数患者确诊时已经进展至中晚期阶段综合治疗方案的效果也不尽人意,因此早期准确诊断对患者的治疗和预后意义重大<sup>[2]</sup>。在早期诊断中寻求有效检测指标有助于肿瘤性质的鉴别和确诊,本文分析PG-I、G-I和TLR4联合检测在早期LC诊断中的应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料:**选取我院自2013年1月至2017年5月间收治的270例疑似喉癌患者作为观察组对象,男性为151例,女性为119例,年龄42~72岁,平均为(57.2±11.5)岁;其中手术病理确诊为LC患者120例、声带息肉患者150例;选取同期进行健康体检者90例作为对照组,男性52例、女性38例,年龄39~70岁,平均为(55.8±12.2)岁,3组受检者的性别比例、年龄情况差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**1.2 纳入和排除标准:**纳入标准:对照组纳入标准:健康志愿者或健康体检者,年龄匹配无智能障碍、无心脑血管疾病,其血压、心电图正常,血常规、血糖及血脂均在正常范围。无神经系统体征及明显的肝、肾或内分泌疾病。疑似喉癌组纳入标准:参照反流症状指数和反流体征分数的标准,由两名资深医师(副高以上)填写反流症状指数量表(RSI), $\geq 13$ 分为阳性,相同医师用纤维喉镜检查患者咽喉部并填写反流检查计分量表(RFS), $\geq 7$ 分为阳性<sup>[3]</sup>。喉癌组均为原发性喉癌患者,参照UICC1997国际分期标准为I期患者;声带息肉患者均经手术病例确诊良性息肉患者,对实验知情且自愿配合者。排除标准:长期大量服用抗精神病药物;患者累及中枢神经系统功能的内科疾病如,甲状腺

疾病、贫血、维生素B<sub>12</sub>和叶酸缺乏、血糖较高的糖尿病患者;患有严重脏器疾病患者;患有严重精神疾病患者;检查或随访过程中不能配合的患者。

**1.3 方法:**所有受检者均入院后第2d早晨空腹状态下采集静脉血样3mL。2000r/min离心15min后分离血清,置于-20℃恒温环境中待用。PG-I和G-I指标采用ELISA法测定,PG-I试剂盒由芬兰Biohit公司提供(批号:16PA1609),G-17检测试剂盒同样有Biohit公司提供(批号:20GC1612);严格按照说明书操作。TLR4测定。使用淋巴细胞分离液(厂家:天津灏洋生物制品科技有限公司提供)分离PBMC。使用miRNeasy Mini Kit(厂家:德国Qiagen公司提供)提取PBMC中的RNA,采用PrimeScript RT reagent Kit(厂家:日本TaKaRa公司提供)逆转录合成cDNA,以SYBR Premix Ex Taq™ II作为荧光染料, $\beta$ -action基因作为内参照,使用RT-PCR测定TLR2。PCR引物序列:上游,AGGATGATGCCAGCATGATGTC;引物长度22;产物大小198;下游TCAGGTCCAGGTTCTTGGT-TGAG,引物长度23,产物大小198。PCR反应体系:模板cDNA 2 $\mu$ L,SYBR II 10 $\mu$ L,上、下游引物各1.0 $\mu$ L,去离子水6 $\mu$ L;扩增程序:预变性95℃,30s,1个循环;95℃ 5s,45个循环;64℃延伸34s。经公式 $Ca/Cb = 2^{\Delta Ctb - \Delta Cta}$ ( $Ct_{TLR2} - Ct_{\beta}$ -action)计算Ct值,相对表达量超过2倍为评判标准。咽喉pH监测:监测电极均为双导铂电极(奎尔斯SYNECTICS Medical公司),digitrapperMK3型记录仪(CTD SYNECTICS Medical公司)。测压注水灌注泵,6通道测压导管对研究对象进行24 h pH监测。

**1.4 观察指标:**①3组受检者血清中PG-I、G-I水平差异,PBMC中TLR4 mRNA表达水平情况。②3项指标单独和联合检测的敏感度、特异性、阳性预测值、隐形预测值指标差异;③3项指标分别检测喉癌的

ROC 曲线。

1.5 统计学方法:采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计分析处理。符合正态分布的计量资料采用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组间差异比较采用 t 检验。非配对 t 检验和卡方检验分别用于计量资料和计数资料的比较分析。 $P<0.05$ ,差异有统计学意义。

## 2 结果

表 1 组患者血清 PG-I、G-17 和 TLR4 表达情况

组别	n	PG-I (ug/L)	G-17 (pmol/L)	TLR4
健康对照组	90	112.4±47.3	10.8±6.03	8.63±1.77
声带息肉组	150	73.8±33.6	9.76±3.14 *	9.51±0.82
喉癌组	120	51.4±27.4	17.6±9.05	10.2±2.51
t 健-息肉		7.369	1.754	5.320
t 健-喉癌		11.747	6.173	5.063
t 息肉-喉癌		5.900	7.867	3.164
P		<0.05	<0.05	<0.05

注: \* 与健康对照组差异无统计学意义,  $P>0.05$

2.2 3 项指标单独检测和联合检测的结果:PG-I、G-17 以及 TLR4 单独检测的敏感度、阴性预测值等均显著低于联合检测方式,数据差异有统计学意义 ( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 PG-I、G-17 和 TLR4 三项指标单独检测和联合检测结果比较

指标	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值	阴性预测值
PG-I	69.5	90.0	95.4	51.2
G-17	60.4	93.6	96.3	46.3
TLR4	76.3	94.1	94.2	56.8
联合检测	85.2	89.5	94.8	66.4

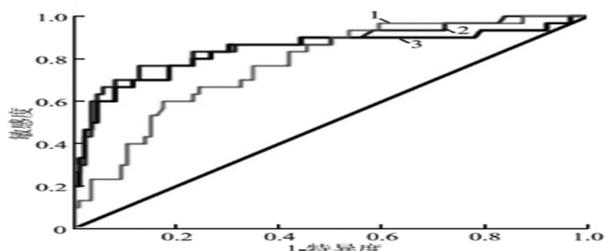


图 1 3 项指标单独检测早期喉癌的 ROC 曲线图

注: 1, G-17; 2, TLR4; 3, PG-I

2.1 3 组血清 PG-I、G-17 和 TLR4 表达情况:声带息肉组患者 PG-I 和 G-17 水平均显著低于健康对照组 ( $P<0.05$ ), TLR4 与健康对照组差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );喉癌组患者 PG-I 显著低于声带息肉组, G-17、TLR4 mRNA 表达显著高于声带息肉组,数据差异有统计学意义  $P<0.05$ 。见表 1。

2.3 三项指标单独检测早期喉癌的 ROC 曲线:PG-I、G-17 和 TLR4 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.841、0.865 和 0.774,见图 1。

## 3 讨论

LC 有原发性和继发性两种类型,原发性 LC 以鳞状细胞癌较为常见,依据病灶部位可分为声门上型癌、声门型、声门下型癌以及跨声门喉癌等;继发性 LC 较为少见,多是因为其他部位的肿瘤转移至喉部所致。目前医学界对 LC 的致病原因尚未定论,多认为与日常饮食习惯、酗酒/吸烟等不良嗜好、居住环境、遗传因素等有关,而慢性炎症和胃食管反流 (GERD) 在咽喉部肿瘤的发生、发展过程中其重要作用<sup>[4]</sup>。早期 LC 患者可以采用放疗、手术、基因疗法等综合手段取得较好的预后效果,但大多数患者确诊时病情已进展至中晚期,手术治疗后容易出现病灶转移和复发,所以患者近期生存率较低,因此早期诊断是有效治疗的关键。目前,LC 的诊断多采用病理组织活检,该种诊断方式导致永久性声带损伤的风险较高。临床上尚缺乏喉癌早期诊断、治疗效果/预后评估的相关血清或体液指标,所以鉴定特异性的喉癌相关血清标志物临床意义重大,近年来,随着喉癌发病机制和病理研究的深入,越来越多的研究将喉癌的早期诊断及早期药物干预作为重点,并取得一定成绩。

有研究发现<sup>[5]</sup>,约 5~10% 的耳鼻喉就诊患者存在 GERD 症状和体征,其中 50~62.8% 发音障碍患者经

24h食管pH值检测证实存在GERD。已经证实,GERD与咽喉慢性炎症密切相关,其作为喉癌的及癌前病变的高危发病因素亦被广泛重视,所以胃癌早期诊断的血清PG-I、PG-II、G-17等血清标志物为喉癌的早期诊断提供了思路。胃蛋白酶原(PG)有PG-I和PG-II 2种亚群,PG-I亚群由1~5组分组成,多由胃底腺的主细胞、颈黏液细胞所分泌;PG-II亚群则有组分6~7组成,由贲门腺、幽门腺以及距十二指肠较近的肠腺所分泌。PG分泌至血液中十分稳定,当不同部位的胃黏膜发生病变时,PG-I的含量也会随之发生变化。章武战<sup>[6]</sup>发现胃粘膜在发生癌变之后,致癌因子会造成癌细胞中PG受损或突变,PG-I的分泌能力下降,血清中PG-I水平会显著下降。本次试验分析了喉癌患者、声带息肉和健康对照3组患者的PG-I水平,发现喉癌患者外周血清PG-I水平最低,与其他两组数据差异有统计学意义。

G-17是促进胃酸分泌和营养胃肠道黏膜的一种多肽类激素物质,其经胃肠道G细胞分泌可与胆囊收缩素受体结合后通过一系列信号转导而发挥生物学效应。研究表明,血清G-17具有促进胃肠黏膜细胞增殖和抑制凋亡的作用,在胃癌筛查以及癌前病变鉴别中测定血清G-17可准确反映胃黏膜的功能状态和GERD<sup>[7]</sup>。严波等<sup>[8]</sup>等研究显示血清G-17表达情况与癌症病情呈正相关关系,因此推测喉癌患者、良性声带息肉患者血清G-17表达水平差异明显,从表1的结果来看喉癌组患者G-17表达远高于其他两组,与上述相关研究结果保持一致。TLRs作为NF-κB的潜在激活剂,因此被认为是炎性病变、肿瘤发病的桥梁,其已被证实在肺癌、胰腺癌等中高表达,且其在肿瘤的发生、发展中均发挥重要作用<sup>[9]</sup>。此外,汤夏冰等<sup>[10]</sup>指出,TLR4属模式识别受体,可于受前炎症因子与诸多配体刺激后被激活,并将信号传递至下游通路,以此引发炎症反应等,并能于细胞增殖和分化中产生重要作用,故逐渐被用于喉癌诊断及疗效评估、预后预测等。实验结果显示喉癌组患者的TLR4表达远高于声

带息肉和健康对照组,两两对比差异有统计学意义。表2的结果显示,单使用PG-I、G-17和TLR4诊断的敏感度远低于3项联合检测方式,在阴性预测值方面联合检查方法为66.4%,显著高于其他单指标检测值。

综上所述,外周血清PG-I、G-17以及联合TLR4检查在在早期喉癌的诊断中应用其敏感度较高,此外能够准确鉴别良性声带息肉和恶性肿瘤,值得临床推广使用。

【参考文献】

- [1] 席盼盼,张淑香.凋亡相关基因及其与喉癌关系的研究进展[J].蚌埠医学院学报,2016,41(1):137~140.
- [2] 曾珍,苏跃,王中亮.全喉切除术后喉发音功能重建的研究进展[J].中国耳鼻咽喉科杂志,2016,16(1):53~56.
- [3] 刘泽阳,许洪波,郭伟,等.胃蛋白酶在咽喉反流与喉癌中的临床意义及研究进展[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2018,21(7):559~562.
- [4] 龚霞,秦永,王晓云.喉癌组织中胃蛋白酶表达的初步研究[J].听力学及言语疾病杂志,2014,22(4):375~377.
- [5] 存在食管外症状的胃食管反流病患者的临床特点及反流监测的研究[D].河北医科大学,2016.
- [6] 章武战,章国东,陈俊华.胃蛋白酶原I、II测定在胃癌早期诊断中的研究[J].中国卫生检验杂志,2014,24(12):1718~1719.
- [7] Mansour-Ghanea F, Joukar F, Rajpout Y, et al. Screening of precancerous gastric lesions by serum pepsinogen, gastrin-17, anti-helicobacter pylori and anti-caga antibodies in dyspeptic patients over 50 years old in guilan province, north of Iran[J]. Asian Pac Cancer Prev, 2014, 15(18):7635~7638.
- [8] 严波,杨善峰,李祥,等.血清胃泌素17、胸苷激酶1联合检测辅助诊断胃癌的价值[J].山东医药,2016,56(8):40~41.
- [9] Volk-Draper L, Hall K, Griggs C, et al. Paclitaxel therapy promotes breast cancer metastasis in a TLR4-dependent manner[J]. Cancer Res, 2014, 74(19):5421~5434.
- [10] 汤夏冰,李蕾,庄强尔,等.TLR4/NF-κB通路在脂多糖诱导喉癌细胞释放HMGB1中的作用[J].江苏医药,2013,39(15):1762~1764.

【文章编号】1006-6233(2019)09-1434-05

## 黄体酮联合孕康口服液治疗习惯性流产的疗效评价及对TGF-β<sub>1</sub> EmAb PIBF ACA影响的研究

郑敏<sup>1</sup>, 于峰<sup>1</sup>, 肖瑶<sup>2</sup>

(1.山东省日照市妇幼保健院妇科, 山东 日照 276800  
2.北大医疗淄博医院妇产科, 山东 淄博 255069)

【基金项目】山东省科技发展计划,(编号:2014GGH218026)  
【通讯作者】于峰