

血清肝素结合生长因子对分化型甲状腺肿瘤 诊断及临床预后的评估价值

冯光勇¹ 黄伟¹

【摘要】 目的:探讨血清肝素结合生长因子(MK)对分化型甲状腺肿瘤诊断及临床预后的评估价值。**方法:**选择 91 例分化型甲状腺肿瘤患者(DTC 组)、119 例甲状腺良性结节患者(良性组)和 80 例健康人群(对照组)作为研究对象,采用化学发光免疫分析法检测各组游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)、甲状腺球蛋白(Tg)水平,酶联免疫吸附法检测血清 MK 水平。85 例 DTC 患者获得 24 个月以上随访,按照随访结果分为清甲成功且无转移病灶(预后良好组)64 例和清甲成功但存在转移病灶(预后不良组)21 例,分析 2 组患者无转移生存率,利用受试者工作曲线(ROC)研究血清 Tg、MK 对 DTC 诊断价值和转移病灶的预测价值。**结果:**DTC 组血清 Tg、MK 显著高于良性组和对照组($P<0.05$),良性组血清 Tg 显著高于对照组($P<0.05$);预后不良组血清 FT3、FT4、Tg、MK 显著高于预后良好组($P<0.05$)。在最佳临界值($Tg=25.31$ mg/L, $MK=0.33$ ng/L)时,MK 诊断 DTC 的敏感度为 78.7%,特异度为 81.3%,AUC 为 0.848(95%CI: 0.791~0.905, $P<0.05$),MK 诊断 DTC 的 AUC 高于 Tg(AUC:0.787,95%CI: 0.712~0.861, $P<0.05$);在最佳临界值($Tg=30.18$ mg/L, $MK=0.71$ ng/L)时,MK 预测 DTC 转移的敏感度为 74.7%,特异度为 88.3%,AUC 为 0.971(95%CI:0.951~0.991, $P<0.05$),MK 预测 DTC 转移的 AUC 高于 Tg(AUC:0.868, 95%CI:0.811~0.925, $P<0.05$)。相关性分析显示,血清 Tg 与 MK 呈正相关关系($r=0.816$, $P<0.05$),Tg 与年龄呈正相关关系($r=0.913$, $P<0.05$),MK 与年龄呈正相关关系($r=0.778$, $P<0.05$),其余各指标间均差异无统计学意义($P>0.05$)。生存分析显示 $Tg>30.18$ mg/L 患者 24 个月无转移生存率为 32.7%, $Tg\leq 30.18$ mg/L 患者 24 个月无转移生存率为 83.5%,差异有统计学意义($\chi^2=78.041$, $P<0.05$)。MK >0.71 ng/L 患者 24 个月无转移生存率为 51.2%,MK ≤ 0.71 ng/L 患者 24 个月无转移生存率为 90.6%,差异有统计学意义($\chi^2=83.104$, $P<0.05$)。**结论:**血清 MK 对 DTC 的诊断价值和转移病灶的预测价值均高于 Tg。

【关键词】 肝素结合生长因子;甲状腺球蛋白;分化型甲状腺肿瘤;诊断;转移

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2017.08.007

【中图分类号】 R736.1 **【文献标志码】** A

Diagnosis and prognosis prediction value of serum midkine in differentiated thyroid cancer

FENG Guangyong HUANG Wei

(Department of Endocrinology, Puren Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, 430081, China)

¹ 武汉科技大学附属普仁医院内分泌科(武汉, 430081)

通信作者:冯光勇, E-mail: fengguangyong1980@163.com

大型突发公共事件的影响,这些将会导致预测值与实际值得较大的偏差^[5]。保证供血应该在预测供血需求量的基础上,制定合理的采血计划,并结合临床需求量不断修正,才能做到及时、科学、合理为临床提供优质血液。

参考文献

- [1] 郭慧敏,杜军,练正秋. ARIMA 模型应用于临床悬浮红细胞用量预测的探讨[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(8): 829-832.
- [2] 孙国栋,李俊霞,陈慧,等. 基于时间序列模型的邯郸

地区临床用红细胞分析及预测的初步研究[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(11): 1361-1363.

- [3] 易丹辉. 时间序列分析方法与应用[M]. 中国人民大学出版社有限公司, 2014: 48-103.
- [4] 肖良. 基于季节性 ARIMA 模型的居民消费水平预测[J]. 中国统计与决策, 2015, 8(452): 83-86.
- [5] 陈迎春,杨群身,万涓科,等. 临床血液需求量趋势的 ARIMA 模型的研究[J]. 实用医院临床杂志, 2011, 8(5): 190-192.

(收稿日期: 2016-10-25)

Corresponding author: FENG Guangyong, E-mail: fengguangyong1980@163.com

Abstract Objective: To explore the diagnosis and prognosis prediction value of serum midkine (MK) in differentiated thyroid cancer. **Method:** A total of 91 cases of differentiated thyroid cancer patients (DTC group), 119 cases of benign thyroid nodules patients (benign group) and 80 cases of healthy people (control group) were selected as research object, the 3 ml of elbow vein blood was extracted from each group, the serum level of free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4), thyroid stimulating hormone (TSH), thyroglobulin (Tg) were detected by chemiluminescence immunoassay, and the serum MK level was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Eighty-five cases of DTC patients were followed up for more than 24 months. According to the results of follow-up, 85 cases of DTC patients were divided into metastasis free patients (good prognosis group) 64 cases and metastatic lesions patients (poor prognosis group) 21 cases. The metastasis free survival rate was analyzed, and the diagnosis of DTC and the predictive value of metastatic lesions were performed by ROC curves. **Result:** The serum level of Tg and MK in DTC group were significantly higher than those in benign group and control group ($P < 0.05$), while serum Tg level in benign group were significantly higher than that in control group ($P < 0.05$). The serum level of Tg and MK in poor prognosis group were significantly higher than those in good prognosis group ($P < 0.05$). The optimal cut-off value of MK as an indicator for DTC diagnosis was projected to be 0.33 ng/L, which yielded a sensitivity of 78.7% and a specificity of 81.3%, with an area under the curve (AUC) of 0.848 (95%CI: 0.791-0.905, $P < 0.05$), the AUC of MK diagnosis DTC was higher than that of Tg (AUC: 0.787, 95%CI: 0.712-0.861, $P < 0.05$). The optimal cut-off value of MK as an indicator for DTC predict metastases was projected to be 0.71 ng/L, which yielded a sensitivity of 74.7% and a specificity of 88.3%, with an area under the curve (AUC) of 0.971 (95%CI: 0.951-0.991, $P < 0.05$), the AUC of MK predict metastase of DTC was higher than that of Tg (AUC: 0.868, 95%CI: 0.811-0.925, $P < 0.05$). Correlation analysis showed that serum Tg was positively correlated with MK ($r = 0.816$, $P < 0.05$), Tg positive correlated with age ($r = 0.913$, $P < 0.05$), MK positive correlated with age ($r = 0.778$, $P < 0.05$), there were no significant correlation between other indexes ($P > 0.05$). Survival analysis showed that 24 months of metastasis free survival rate was 32.7% in Tg > 30.18 mg/L, while metastasis free survival rate was 83.5% in Tg ≤ 30.18 mg/L, the difference was statistically significant ($\chi^2 = 78.041$, $P < 0.05$). 24 months of metastasis free survival rate was 51.2% in MK > 0.71 ng/L, while metastasis free survival rate was 90.6% in MK ≤ 0.71 ng/L, the difference was statistically significant ($\chi^2 = 83.104$, $P < 0.05$). **Conclusion:** The diagnosis and prognosis prediction value of serum MK might be higher than Tg in DTC.

Key words heparin-binding growth factor; thyroglobulin; differentiated thyroid carcinoma; diagnosis; metastasis

甲状腺肿瘤是发病率增长最快的恶性肿瘤之一。流行病学调查显示^[1],至2015年我国甲状腺肿瘤发病率已达12.1/10万,高于世界平均发病率(7.1/10万)。尽管绝大多数甲状腺肿瘤预后较好,但是患者一般需要接受甲状腺切除术,且需要终生服用甲状腺素以及行碘消融术,导致患者面临多种并发症的风险。因此早期诊断及准确评估甲状腺肿瘤预后具有重要临床意义。既往研究证实血清甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)对甲状腺肿瘤及监测¹³¹I清除甲状腺残余组织(清甲)治疗后疾病进展方面具有良好的诊断价值^[2]。分化型甲状腺肿瘤(differentiated thyroid cancer, DTC)血清Tg在甲状腺切除术前含量较低,对早期诊断甲状腺结节良恶性的临床价值不大。Midkine(MK)是肝素结合生长因子(heparin-binding growth factor, HBGF)家族成员之一,其作为分泌型细胞因子,在多种恶性肿瘤的发生、进展中发挥关键作用。本研究旨在探讨术前血清MK对甲状腺结节良恶性诊断的价值,及DTC首次¹³¹I清甲治疗前血清MK对患者预后的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2009-01—2012-01医院收治的210例甲状腺结节患者为研究对象,所有患者均接受甲状腺结节切除术,术中取病理样本送检。纳入标准:①所有患者行甲状腺结节切除术;②患者签署知情同意书。排除标准:①合并桥本甲状腺炎或甲状腺功能亢进症;②并发其他恶性肿瘤、自身免疫性疾病、全身严重感染;③严重高血压、糖尿病、肝肾功能不全;④凝血功能异常或其他手术禁忌证。210例甲状腺结节患者按照术后病理检查结果分为DTC组91例(包括甲状腺乳头状癌87例和滤泡状甲状腺肿瘤4例)和甲状腺良性结节(良性组)119例(包括结节性甲状腺肿82例和甲状腺腺瘤37例)。另选择2012-07—2012-12在我院体检中心进行体检的80例健康人群作为对照组,对照组均排除甲状腺疾病、自身免疫性疾病。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 91例DTC患者于术后给予3.7 GBq的¹³¹I清甲治疗,对于存在转移病灶的患

者,首次¹³¹I清甲治疗间隔3~4个月后再给予3.7~7.4 GBq。¹³¹I清甲治疗后第5天,SPECT/CT对患者进行全身扫描,并对患者病情和疗效进行评价。临床治愈评价标准:血清Tg阴性,¹³¹I扫描未见甲状腺床和¹³¹I摄取,也无影像学和临床证据表明存在肿瘤。转移病灶评价标准^[3]:血清Tg显著升高,超声或CT检查证实存在转移病灶。91例DTC患者有85例获得24个月以上随访,其余4例失访,2例随访不足24个月。将获得24个月以上随访的85例DTC患者按照随访结果分为清甲成功且无转移病灶(预后良好组)64例和清甲成功但存在转移病灶(预后不良组)21例。

1.2.2 血清学检测 甲状腺良性结节组于术前抽取肘静脉血3 ml,对照组于上午空腹体检时抽取3 ml肘静脉血;DTC组分别于术前和¹³¹I清甲治疗前抽取空腹肘静脉血3 ml。血液样本静置10 min,以2 500×g离心15 min,置于-70℃冰箱保存待检。采用化学发光免疫分析法检测游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、Tg水平,检测仪器为Maglumi 2000全自动化学发光免疫分析仪(深圳市新产业生物医学工程有限公司)。采用酶联免疫吸附测定法检测血清MK水平,MK抗体及试剂盒均购自美国R&D公司,按照产品说明书,酶标仪检测450 nm处吸光度值,每个样本均检测3次,取平均值。

1.3 统计学方法

采用SPSS19.0软件包进行数据处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,3组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),2组间计量资料比较采用配对t检验;计数资料用百分率表示,率的比较采用 χ^2 检验或fishers确切概率法;采用Pearson相关性分析MK与临床指标的关系;利用受试者工作曲线(receiver operating characteristic curves, ROC)确定MK和Tg的最佳临界值,分析MK和Tg的对DTC诊断或预后的预测价值;采用Kaplan Meier法及log-rank法检验不同MK、Tg水平的DTC患者生存率。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组基本资料及血清指标比较

DTC组、良性组、对照组性别、年龄、血清FT3、FT4、TSH比较差异无统计学意义($P > 0.05$);DTC组血清Tg、MK显著高于良性组和对照组($P < 0.05$),良性组血清Tg显著高于对照组($P < 0.05$),见表1。

2.2 预后良好组和预后不良组基本资料及血清指标比较

预后良好组和预后不良组性别、年龄、血清TSH比较差异无统计学意义($P > 0.05$);预后不良组血清FT3、FT4、Tg、MK显著高于预后良好组($P < 0.05$),见表2。

表1 DTC组、良性组、对照组基本资料及血清指标比较

组别	例数	性别/例 (男/女)	年龄/岁	FT3 /(pmol·L ⁻¹)	FT4 /(pmol·L ⁻¹)	TSH /(mU·L ⁻¹)	Tg /(mg·L ⁻¹)	MK /(mg·L ⁻¹)
DTC组	91	13/78	48.7±5.4	4.53±0.32	15.89±2.17	3.68±0.11	47.81±7.69 ¹⁾²⁾	0.69±0.07 ¹⁾
良性组	119	24/95	48.5±4.3	4.55±0.29	16.02±2.24	3.69±0.15	17.39±4.31 ²⁾	0.25±0.04
对照组	80	18/62	49.1±5.7	4.51±0.18	15.95±2.03	3.72±0.17	8.67±0.59	0.26±0.03

与良性组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与对照组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

表2 预后良好组和预后不良组基本资料及血清指标比较

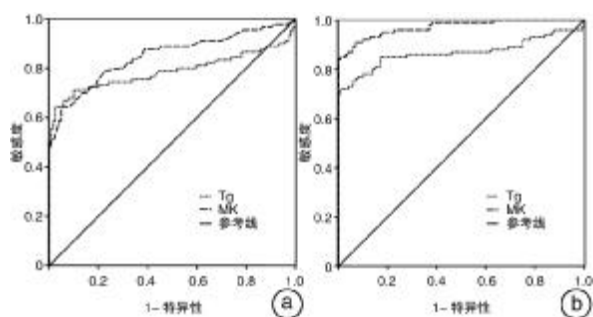
组别	例数	性别/例 (男/女)	年龄/岁	FT3 /(pmol·L ⁻¹)	FT4 /(pmol·L ⁻¹)	TSH /(mU·L ⁻¹)	Tg /(mg·L ⁻¹)	MK /(mg·L ⁻¹)
预后良好组	64	8/56	49.1±5.8	1.90±0.14	5.21±0.26	90.43±12.38	23.89±0.31	0.61±0.04
预后不良组	21	4/17	48.5±5.2	2.13±0.18	5.97±0.29	88.96±10.13	129.48±15.93	1.39±0.18

2.3 血清Tg、MK对DTC的诊断价值

ROC曲线分析显示,在最佳临界值(Tg=25.31 mg/L, MK=0.33 ng/L)时,MK诊断DTC的敏感度为78.7%,特异度为81.3%,ROC曲线下面积(AUC)为0.848(95%CI:0.791~0.905, $P < 0.05$),MK诊断DTC的AUC高于Tg(AUC:0.787, 95%CI:0.712~0.861, $P < 0.05$),见图1a。

2.4 血清Tg、MK对DTC转移的评估价值

在最佳临界值(Tg=30.18 mg/L, MK=0.71 ng/L)时,MK预测DTC转移的敏感度为74.7%,特异度为88.3%,AUC为0.971(95%CI:0.951~0.991, $P < 0.05$),MK预测DTC转移的AUC高于Tg(AUC:0.868, 95%CI:0.811~0.925, $P < 0.05$),见图1b。



a: 血清 Tg、MK 诊断 DTC 的 ROC 曲线; b: 血清 Tg、MK 预测 DTC 转移的 ROC 曲线。

图 1 血清 Tg、MK 对 DTC 的诊断及预后评估的价值

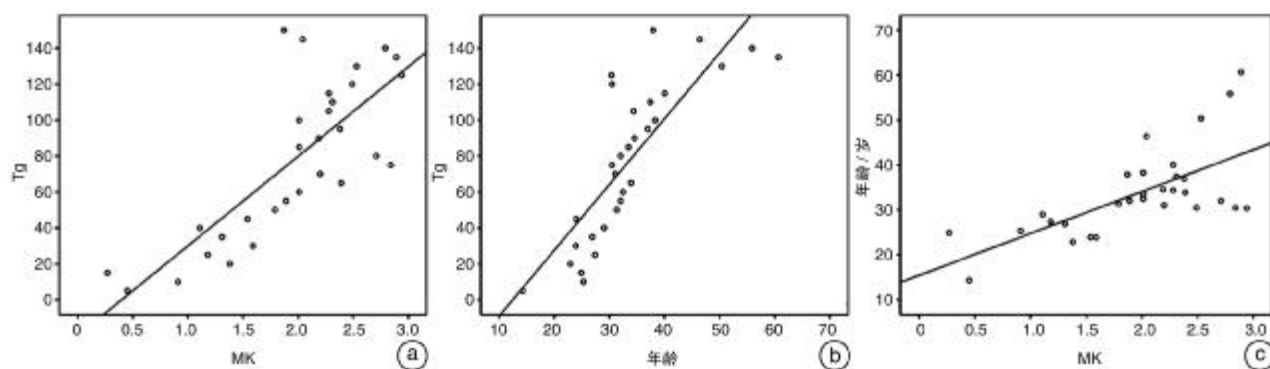
2.5 相关性分析

相关性分析显示,血清 Tg 与 MK 呈正相关关

系($r=0.816$, $P<0.05$), Tg 与年龄呈正相关关系($r=0.913$, $P<0.05$), MK 与年龄呈正相关关系($r=0.778$, $P<0.05$), 其余各指标间均无明显相关性($P>0.05$), 见图 2。

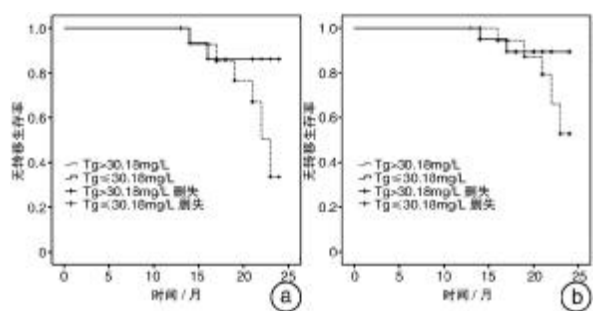
2.6 不同血清 Tg、MK 水平 DTC 患者生存分析

以¹³¹I 清甲治疗前 Tg (30.18 mg/L)、MK (0.71 ng/L) 最佳临界值作为分组标准, 采用 Kaplan Meier 法分析患者随访 24 个月的无转移灶生存率, 结果显示 Tg>30.18 mg/L 患者 24 个月无转移生存率为 32.7%, Tg≤30.18 mg/L 患者 24 个月无转移生存率为 83.5%, 差异有统计学意义($\chi^2=78.041$, $P<0.05$), 见图 3a。MK>0.71 ng/L 患者 24 个月无转移生存率为 51.2%, MK≤0.71 ng/L 患者 24 个月无转移生存率为 90.6%, 差异有统计学意义($\chi^2=83.104$, $P<0.05$), 见图 3b。



a: 血清 Tg 与 MK 相关性; b: 血清 Tg 与年龄的相关性; c: 血清 MK 与年龄的相关性。

图 2 Tg、MK、年龄的相关性



a: 不同血清 Tg 水平 DTC 患者生存曲线; b: 不同血清 MK 水平 DTC 患者生存曲线。

图 3 不同血清 Tg、MK 水平 DTC 患者生存曲线

3 讨论

MK 属于肝素生长因子成员之一, 最初表达于胚胎期; 至成年期 MK 降低至极低水平, 其表达仅用于维持机体基础需求的水平^[4]。Kadomatsu 等^[5]报道称成年健康人群 MK 值为 0.25~0.30 mg/L, 本研究中对照组 MK 水平为 (0.26±0.03) mg/L, 与上述结论相符。Muramatsu 等^[6]报道 MAPK、PI3K/Akt 等受体信号路径参与调节 MK

表达信号通路, 由于 MAPK、PI3K/Akt 亦是调节恶性肿瘤发生与进展的主要信号通路, 因此该作者推测 MK 可能与恶性肿瘤有关。目前已证实 MK 表达上调是多种恶性肿瘤显著的生物学特征。

Zhu 等^[7]报道以 0.66 ng/ml 作为临界值, MK 对肝癌诊断的敏感性为 86.9%, 特异性为 86.3%, 均高于甲胎蛋白。另外 MK 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.937, 亦高于甲胎蛋白 0.843。Yu 等^[8]也证实将最佳临界值调整为 0.5 mg/L, MK 对早期肝细胞肝癌诊断的敏感性和特异性分别为 75.5% 和 86.2%, 具有良好的诊断价值。Tg 是 DTC 监测的重要指标, 既往报道^[9]证实术后及首次清甲治疗前监测血清 Tg 能够预测远处转移, 然而对于甲状腺良恶性结节术前诊断, Tg 尚无明确的临床价值。本研究显示 DTC 组、良性组、对照组性别、年龄、血清 FT3、FT4、TSH 比较差异无统计学意义, DTC 组血清 Tg、MK 显著高于良性组和对照组 ($P<0.05$), 良性组血清 Tg 显著高于对照组 ($P<0.05$); 预后不良组血清 FT3、FT4、Tg、MK 显著高于预后良好组 ($P<0.05$)。

最新研究显示,肿瘤组织切除后,血清 MK 会显著降低,而一旦病灶复发或转移 MK 会明显升高,提示 MK 具有作为恶性肿瘤诊断、预后评估生物指标的潜在价值^[10]。Fujiwara 等^[11]报道显示 MK 在甲状腺乳头状癌原发灶呈高表达,在癌旁组织则低表达或不表达;此外 MK 表达与甲状腺肿瘤细胞淋巴结转移、远处侵袭和肿瘤分期呈正相关。本研究以¹³¹I 清甲治疗前 Tg、MK 最佳临界值(30.18 mg/L 和 0.71 ng/L)作为分组依据,生存分析显示 Tg≤30.18 mg/L 和 MK≤0.71 ng/L 的患者 24 个月无转移生存率均显著高于 Tg>30.18 mg/L 和 MK>0.71 ng/L 患者,说明 Tg、MK 高表达可能是患者不良预后的危险因素,¹³¹I 治疗前血清 Tg、MK 是预测无转移生存率的有效指标。本研究的局限性:①纳入的 DTC 患者样本量偏少,导致结果可能有偏倚。②随访时间较短,甲状腺肿瘤患者远期生存率较高,这可能需要 5~10 年的随访,我们也会在接下来的研究中继续对患者进行随访,观察血清 MK 表达与远期生存率的关系。

综上所述,血清 MK 对 DTC 的诊断价值和转移病灶的预测价值均高于 Tg,是 DTC 理想的血清标志物。

参考文献

- [1] 杨雷,郑荣寿,王宁,等. 2010 年中国甲状腺肿瘤发病与死亡情况[J]. 中华预防医学杂志,2014,48(8): 663—668.
- [2] 孟超,龙文,梁军,等. 中低危分化型甲状腺肿瘤术后¹³¹I 清甲治疗后血清甲状腺球蛋白的变化[J]. 中华核医学与分子影像杂志,2013,33(4):271—274.
- [3] 中华医学会核医学分会.¹³¹I 治疗分化型甲状腺肿瘤指南(2014 版)[J]. 中华核医学与分子影像杂志,2014,34(4):264—278.
- [4] Ikutomo M, Sakakima H, Matsuda F, et al. Midkine-deficient mice delayed degeneration and regeneration after skeletal muscle injury[J]. Acta Histochem, 2014,116:319—326.
- [5] Kadomatsu K, Kishida S, Tsubota S. The heparin-binding growth factor midkine: the biological activities and candidate receptors[J]. J Biochem,2013,153: 511—521.
- [6] Muramatsu T. Structure and function of midkine as the basis of its pharmacological effects[J]. Br J Pharmacol, 2014,171:814—826.
- [7] Zhu WW, Guo JJ, Guo L, et al. Evaluation of midkine as a diagnostic serum biomarker in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res,2013,19:3944—3954.
- [8] Yu L, Fan Y, Chen B, et al. Suppression of metastasis of human pancreatic cancer cells to the liver by small interfering RNA-mediated targeting of the midkine gene[J]. Oncol Lett,2013,6:1338—1342.
- [9] Zhang Y, Meng Z, Zhang M, et al. Immunohistochemical evaluation of midkine and nuclear factor-kappa B as diagnostic biomarkers for papillary thyroid cancer and synchronous metastasis[J]. Life Sci,2014, 118:39—45.
- [10] Meng Z, Tan J, Zhang G, et al. Evaluation of serum midkine as a biomarker in differentiated thyroid cancer[J]. Life Sci, 2015,130:18—24.
- [11] Fujiwara K, Horiguchi K, Maliza R, et al. Expression of the heparin-binding growth factor midkine and its receptor, Ptpz1, in adult rat pituitary[J]. Cell Tissue Res,2015,359:909—914.

(收稿日期:2017-04-24)