

BMP2在原发性肝癌患者血清中的表达

温彪, 米俊杰, 侯桃华, 郭晓红, 白春爱, 许翠萍

温彪, 米俊杰, 侯桃华, 山西医科大学 山西省太原市 030001
郭晓红, 山西医科大学第一医院科研实验中心 山西省太原市 030001
白春爱, 山西医科大学第一医院科技处 山西省太原市 030001
许翠萍, 山西医科大学第一医院消化内科 山西省太原市 030001
山西省归国留学人员基金资助项目, No. 200568, No. 2009103
作者贡献分布: 此课题由许翠萍与温彪设计; 研究过程由温彪、米俊杰、侯桃华及郭晓红操作完成; 白春爱给予行政、技术支持; 研究所用试剂及分析工具由许翠萍提供; 数据分析由温彪完成; 在许翠萍指导下, 论文由温彪完成。
通讯作者: 许翠萍, 主任医师, 030001, 山西省太原市解放南路85号, 山西医科大学第一医院消化内科, cui ping xu@hotmail.com
电话: 0351-4639511
收稿日期: 2009-11-18 修回日期: 2009-12-10
接受日期: 2009-12-14 在线出版日期: 2010-02-08

Expression of serum bone morphogenetic protein 2 in patients with primary hepatic carcinoma

Biao Wen, Jun-Jie Mi, Tao-Hua Hou, Xiao-Hong Guo, Chun-Ai Bai, Cui-Ping Xu

Biao Wen, Jun-Jie Mi, Tao-Hua Hou, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Hong Guo, Department of Experimental Center of Science and Research, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Chun-Ai Bai, Office of Science and Technology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Cui-Ping Xu, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Supported by: the Foundation for Returned Overseas Chinese Scholars, Shanxi Province, No. 200568 and No. 2009103
Correspondence to: Cui-Ping Xu, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shanxi Medical University, 85 Jiefang South Road, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. cui ping xu@hotmail.com
Received: 2009-11-18 Revised: 2009-12-10
Accepted: 2009-12-14 Published online: 2010-02-08

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of serum bone morphogenetic protein 2 (BMP2) in patients with primary hepatic carcinoma (PHC) by measuring serum BMP2 levels in patients with chronic liver disease.

METHODS: Seventy serum samples, including

20 from patients with chronic hepatitis, 20 from those with hepatic cirrhosis and 30 from those with PHC, were detected in the study. Seventeen serum samples from normal donors were used as normal controls. The serum level of BMP2 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The content of serum alpha-fetoprotein (AFP) was determined by radioimmunoassay.

RESULTS: The level of serum BMP2 in PHC patients was significantly lower than those in chronic hepatitis patients, hepatic cirrhosis patients and normal controls (all $P < 0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy of serum BMP2 measurement in diagnosis of PHC were 90%, 100% and 96.55%, respectively. The sensitivity of serum BMP2 measurement in diagnosis of PHC was higher than that of serum AFP measurement ($\chi^2 = 22.78$, $P = 0.001$).

CONCLUSION: Serum BMP2 level has appreciable value in the diagnosis of PHC.

Key Words: Bone morphogenetic protein 2; Hepatic carcinoma; Diagnosis

Wen B, Mi JJ, Hou TT, Guo XH, Bai CA, Xu CP. Expression of serum bone morphogenetic protein 2 in patients with primary hepatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(4): 397-399

摘要

目的: 探讨血清骨形态发生蛋白2(BMP2)对原发性肝癌(PHC)的诊断价值。

方法: 对70例慢性肝病患者及17例正常对照者血清进行检测, 并按临床诊断或病理诊断分组, 其中慢性病毒性肝炎20例, 肝炎后肝硬化20例, PHC 30例。分别用酶联免疫法检测血清BMP2, 用放射免疫法测定血清甲胎蛋白(AFP)。

结果: 肝癌组患者血清BMP2较正常对照组、肝炎组、肝硬化组降低, 且差异均有统计学意义($P < 0.05$); BMP2诊断PHC的敏感性是90%, 特异性是100%, 准确率是96.55%; BMP2诊断

■背景资料

原发性肝癌是一种恶性程度高, 进展快, 侵袭性强, 预后差的肿瘤, 临床上确诊的肝癌多数属于中晚期, 已失去有效的治疗机会, 因此, 对PHC的早期诊断极为重要。AFP是目前临床应用最广泛的肝癌肿瘤标志物, 但其敏感性仅为39%-65%。因此寻找敏感性较高的肝癌标志物仍是目前研究的热点。

■同行评议者

李文岗, 副教授, 福建医科大学附属厦门第一医院肝胆胰血管外科

■相关报道

黄河等用免疫组织化学法发现肝癌细胞中BMP2的表达强度明显低于肝癌癌旁组织,提示PHC发生可能与肝细胞中BMP2的含量减少有关。

PHC的敏感性高于AFP($\chi^2 = 22.78, P = 0.001$).

结论: 血清BMP2对PHC的诊断具有一定的价值。

关键词: 骨形态发生蛋白2; 原发性肝癌; 诊断

温彪, 米俊杰, 侯桃华, 郭晓红, 白春爱, 许翠萍. BMP2在原发性肝癌患者血清中的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18(4): 397-399

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/397.asp>

0 引言

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是一种恶性程度高, 进展快, 侵袭性强, 预后差的肿瘤, 临床上确诊的肝癌多数属于中晚期, 已失去有效的治疗机会, 因此, 对PHC的早期诊断极为重要。血清甲胎蛋白(AFP)是目前临床应用最广泛的肝癌肿瘤标志物, 但其敏感性仅为39%-65%^[1]。因此寻找敏感性较高的肝癌标志物仍是目前研究的热点。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是TGF- β 超家族成员中一族, 广泛存在于人体组织细胞、血液中, 其在胚胎的发生、发育以及在组织细胞的增殖、分化、凋亡等方面都起着重要作用^[2]。BMP2是BMPs家族中的重要成员, 其在胚胎肝中均有表达, 且在胚胎肝的发育、分化中起重要作用^[3,4]。肝癌的发生、发展和胚胎肝的发育在分子机制上极其相似^[5], 因此, BMP2可能与肝癌的发生、发展有关, 并已得到一些研究证实^[6-9]。本研究旨在通过检测慢性肝病患者血清BMP2, 探讨其在PHC诊断中的价值。

1 材料和方法

1.1 材料 病例来自山西医科大学第一医院2009-05/2009-09经确诊的住院患者, 其中慢性病毒性肝炎20例, 肝炎后肝硬化20例, PHC 30例。病毒性肝炎和肝炎后肝硬化病例的诊断均符合2000年第六次全国传染病与寄生虫学术会议修订的病毒性肝炎诊断标准^[10]。PHC诊断符合中国抗癌协会肝癌专业委员会2001年修订的原发性肝癌诊断标准^[11]。正常对照组17例, 均为同期健康体检者。BMP2人血清单克隆抗体、PBS缓冲液(博士德生物工程有限公司); AFP试剂盒(天津协和医学科技有限公司); BIO-TEK(ELX-800)全自动酶标仪(美国宝特公司); 全自动洗板仪(美国宝特公司); SN-697型全自动双探头放射免疫 γ 计数器(上海核所日环光电公司)。

■应用要点

骨形态发生蛋白2具有抑制肿瘤细胞增殖的作用, 原发性肝癌患者血清BMP2降低, 通过检测血清BMP2, 从而早期诊断PHC的发生。

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 取清晨空腹静脉血, 立即离心后取血清, 于-20℃冰箱中保存、待测。

1.2.2 检测方法: 用酶联免疫吸附法检测血清BMP2, 用放射免疫法测定AFP。严格按说明书进行操作。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行分析, 数据用M(QR)表示, 多组间的比较采用Kruskal-Wallis检验, 选用最小显著差值法(least-significant difference, LSD法)法进行各组间的多重比较, 相关性分析采用Spearman等级相关分析法, 计数资料用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清BMP2的检测 PHC组血清BMP2较其他组低, 且差异均有统计学意义($P < 0.05$), 其余各组间差异均无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。

2.2 BMP2和肿瘤标志物AFP在诊断PHC中的临床评价 以非肝癌患者血清BMP2含量下限148.95 ng/L为阳性临界值时, PHC组中有28例低于此数值, 其他组中无样本低于此数值, 因此, BMP2在诊断PHC的敏感性为90%(27/30), 特异性为100%(57/57), 准确率为96.55%(84/87); AFP以20 μ g/L为阳性临界值时, PHC组中有20例高于此数值, 其他组中有40例高于此数值, 因此, 在诊断PHC的敏感性为66.67%(20/30), 特异性为70.18%(40/57), 准确率为68.97%(60/87)。

2.3 BMP2和AFP在诊断PHC中的敏感性 用 χ^2 检验比较各指标在诊断PHC中的敏感性, 将BMP2和AFP进行比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 22.78, P = 0.001$, 表2)。

2.4 BMP2和AFP的相关性 采用Spearman等级相关分析法对各组血清BMP2和AFP进行相关性分析, 结果发现BMP2和AFP无相关性($r = 0.315, P = 0.235$)。

3 讨论

BMP2是天然骨形态发生蛋白提取物中的最主要的形式, 位于第20号染色体p12区^[12], 具有抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡的作用^[13]。有学者发现其在消化系统肿瘤中也具有相应的作用, Hardwick等^[14]通过检测BMP2对结肠癌细胞的生物学行为的影响, 发现BMP2在体外能够抑制结肠癌细胞的生长、增殖, 促进细胞凋亡和分化。有研究发现BMP2能促进肝癌细胞系HepG2中抑癌因子PTEN蛋白的表达^[6], 并可直

表 1 BMP2在慢性肝病患者血清中的水平

分组	n	BMP2 (ng/L) M(QR)
正常对照组	17	379.51(274.83)
慢性肝炎组	20	318.05(153.59)
肝硬化组	20	278.76(174.52)
原发性肝癌组	30	239.51(115.23) ^{ab}

^a $P \leq 0.05$ vs 慢性肝炎组和肝硬化组; ^b $P \leq 0.01$ vs 正常对照组.

表 2 BMP2和AFP诊断PHC的敏感性比较

AFP	n	BMP2	
		阳性	阴性
阳性	54	52	2
阴性	33	30	3
总计	87	82	5

接促进肝癌细胞系HepG2的凋亡^[7]及抑制肝癌细胞系Huh7的生长^[9]. 黄河等^[8]用免疫组织化学法发现肝癌细胞中BMP2的表达强度明显低于肝癌癌旁组织, 提示PHC发生可能与肝细胞中BMP2的含量减少有关. BMPs为一种分泌性蛋白, 当BMP2由组织细胞分泌释放入血后, 就可在血清中检测到BMP2. 1984年, Urist等^[15]首次用放射免疫法检测到了血清中BMPs. 目前临床上检测血清BMP2的报道尚少见, 尚未见定量检测肝癌患者血清BMP2的报道.

本实验研究发现PHC组血清BMP2水平较正常对照组、肝炎组、肝硬化组低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 而正常对照组、肝炎组、肝硬化组间差异无统计学意义. Xu等^[9]应用部分肝切除大鼠模型观察术后不同时间点BMP2的动态变化, 发现BMP2在肝大部切除术后再生肝组织中的表达强度明显低于正常肝组织, 提示BMP2有抑制肝细胞再生的作用. 而BMP2具有抑制肿瘤细胞增殖的作用^[13]. 因此推测, 本实验中PHC组BMP2较其他组降低, 可能是由于肝癌细胞大量增殖, BMP2失去其抑制肿瘤的作用. 所以, 通过检测血清BMP2, 可以早期诊断PHC的发生. 本实验中, BMP2在诊断PHC中有较高的敏感性(90%). 同时, BMP2诊断PHC的敏感性显著高于传统肿瘤标志物AFP($P < 0.01$). 因此,

BMP2在PHC的诊断中具有广泛的前景, 值得我们进一步深入研究.

4 参考文献

- 1 Daniele B, Bencivenga A, Megna AS, Tinessa V. Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S108-S112
- 2 Hogan BL. Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev* 1996; 10: 1580-1594
- 3 Danesh SM, Villasenor A, Chong D, Soukup C, Cleaver O. BMP and BMP receptor expression during murine organogenesis. *Gene Expr Patterns* 2009; 9: 255-265
- 4 Rossi JM, Dunn NR, Hogan BL, Zaret KS. Distinct mesodermal signals, including BMPs from the septum transversum mesenchyme, are required in combination for hepatogenesis from the endoderm. *Genes Dev* 2001; 15: 1998-2009
- 5 Maegdefrau U, Amann T, Winklmeier A, Braig S, Schubert T, Weiss TS, Schardt K, Warnecke C, Hellerbrand C, Bosserhoff AK. Bone morphogenetic protein 4 is induced in hepatocellular carcinoma by hypoxia and promotes tumour progression. *J Pathol* 2009; 218: 520-529
- 6 李秀青, 王琦. 肝癌中骨形成蛋白2对PTEN蛋白水平影响的研究. *中国药物与临床* 2007; 7: 24-26
- 7 唐四元. 骨形成蛋白2诱导肝癌细胞凋亡及其机制. *中国普通外科杂志* 2008; 17: 34-36
- 8 黄河, 伍赶球, 祝继明, 陈庆林. 肝细胞癌及癌旁组织中骨形态发生蛋白的免疫组织化学研究. *中国医师杂志* 2002; 4: 378-380
- 9 Xu CP, Ji WM, van den Brink GR, Peppelenbosch MP. Bone morphogenetic protein-2 is a negative regulator of hepatocyte proliferation downregulated in the regenerating liver. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7621-7625
- 10 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂志* 2001; 19: 56-62
- 11 中华抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *现代实用医学* 2002; 14: 213
- 12 Tabas JA, Zasloff M, Wasmuth JJ, Emanuel BS, Altherr MR, McPherson JD, Wozney JM, Kaplan FS. Bone morphogenetic protein: chromosomal localization of human genes for BMP1, BMP2A, and BMP3. *Genomics* 1991; 9: 283-289
- 13 Glozak MA, Rogers MB. Specific induction of apoptosis in P19 embryonal carcinoma cells by retinoic acid and BMP2 or BMP4. *Dev Biol* 1996; 179: 458-470
- 14 Hardwick JC, Van Den Brink GR, Bleuming SA, Ballester I, Van Den Brande JM, Keller JJ, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. Bone morphogenetic protein 2 is expressed by, and acts upon, mature epithelial cells in the colon. *Gastroenterology* 2004; 126: 111-121
- 15 Urist MR, Hudak RT. Radioimmunoassay of bone morphogenetic protein in serum: a tissue-specific parameter of bone metabolism. *Proc Soc Exp Biol Med* 1984; 176: 472-475

■同行评价

文章采用BMP-2作为诊断原发性肝癌的标志物, 具有一定的创新性, 为诊断肝癌提供了一个新的标志物.

编辑 李军亮 电编 吴鹏联