

- 2 廖八根,徐勇,薛耀明. 钙调神经磷酸酶在耐力运动大鼠骨骼肌纤维类型和大小转变中的作用. 中国运动医学杂志,2008,27(5): 551-555
- 3 Mitchell PO, Mills ST, Pavlath GK. Calcineurin differentially regulates maintenance and growth of phenotypically distinct muscles. . Am J Physiol Cell Physiol, 2002,282:C984-992
- 4 Rasmussen BB and Richter EA. The balancing act between the cellular processes of protein synthesis and breakdown: exercise as a model to understand the molecular mechanisms regulating muscle mass. J Appl Physiol, 2009,106(4): 1365-1366
- 5 Kimball SR. Interaction between the AMP-activated protein kinase and mTOR signaling pathways. Medicine & Science in Sports & Exercise, 2006, 38(11): 1958-1964
- 6 Leger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Deriaz O. Akt signaling through GSK-3 β , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. J Physiol, 2006,576: 923-933
- 7 Cho H, Mu J, Kim JK, *et al.* Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB β). Science,2001, 292(5522): 1728-1731
- 8 Konhilas JP, Widegren U, Allen DL, *et al.* Loaded wheel running and muscle adaptation in the mouse. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005,289(2): H455-H465
- 9 Fuller PM, Baldwin KM, and Fuller CA. Parallel and divergent adaptations of rat soleus and plantaris to chronic exercise and hypergravity. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2006, 290(2): R442-R448
- 10 Mascher H, Andersson H, Nilsson PA, *et al.* Changes in signaling pathways regulating protein synthesis in human muscle in the recovery period after endurance exercise. Acta Physiologica, 2007,191(1):67-75
- 11 Aoki MS, Miyabara EH, Soares AG, Saito ET, Moriscot AS. mTOR pathway inhibition attenuates skeletal muscle growth induced by stretching. Cell Tissue Res,2006,324(1):149-156
- 12 Aschenbach WG, Ho RC, Sakamoto K, *et al.* Regulation of dishevelled and β -catenin in rat skeletal muscle: an alternative exercise-induced GSK-3 β signaling pathway. Am J Physiol Endocrinol Metab,2006,291(1):E152-158
- 13 Rose AJ, Alsted TJ, Jensen TE, *et al.* A Ca^{2+} -calmodulin-eEF2K-eEF2 signaling cascade, but not AMPK, contributes to the suppression of skeletal muscle protein synthesis during contractions. J Physiol,2009, 587(7): 1547-1563
- 14 Goll DE, Neti G, Mares SW, *et al.* Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains. J Anim Sci, 2008,86(14Suppl):E19-35
- 15 Wilkinson SB, Phillips SM. Atherton, PJ, *et al.* Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signaling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. J Physiol, 2008, 586(15): 3701-3717

(收稿:2010-06-29)

肺癌患者血清 DKK1、CYFRA21-1、SCC、NSE 水平及临床意义

孙红岗 董学君 李志国 杨超 卢韬

摘要 **目的** 探讨肺癌患者血清 DKK1、CYFRA21-1、SCC、NSE 水平及其临床应用价值。**方法** 病理确诊的肺部肿瘤患者 80 例(肺癌 70 例,肺部良性肿块病例 10 例),健康体检人员 10 例。用 ELISA 试剂盒检测血清标本中 DKK1 浓度,免疫化学发光法测血清 CYFRA21-1、SCC、NSE 浓度。计数资料采用 χ^2 检验,组间均数比较采用 t 检验,ROC 曲线评价各指标联合应用的效果。**结果** 与正常对照组比较,非小细胞肺癌、小细胞癌中 DKK1 浓度升高,具有统计学意义($P < 0.05$),而肺部良性肿块组与正常对照组间无意义($P > 0.05$)。肺癌转移组血清 DKK1 浓度明显高于未转移组,二者有显著意义($P < 0.05$)。肺癌患者术后血清 DKK1 浓度比术前下降明显($P < 0.05$)。血清 DKK1 与 CYFRA21-1、SCC、NSE 联合诊断,可明显提高非小细胞肺癌诊断的敏感性与特异性。**结论** DKK1、CYFRA21-1、SCC、NSE 联合诊断对肺癌诊断的价值更高;血清 DKK1 是肺癌诊断、转移及治疗效果评价的有效指标。

关键词 肺癌 DKK1 联合诊断 预后

基金项目:浙江省医药卫生科学研究基金资助项目(2009A208);绍兴市科技计划项目(2009A23005)

作者单位:325035 温州医学院(孙红岗、李志国、杨超、卢韬);312000 浙江省绍兴市人民医院分子医学中心(孙红岗、董学君)

通讯作者:董学君,电子信箱:dxj9666@163.com

DKK1, CYFRA21-1, SCC, NSE Serum Level in Patients with Lung Cancer and its Clinical Significance. Sun Honggang, Dong Xuejun, Li Zhiguo, Yang Chao, Lu Tao. Wenzhou Medical College, Zhejiang 325035, China

Abstract Objective To detect DKK1, CYFRA21-1, SCC, NSE expression in the patients with lung cancer and to evaluate their clinical value. **Methods** The study included 70 lung cancer patients, 10 benign lung tumor patients and 10 controls. All of them were confirmed by pathology. ELISA method was applied to detect serum DKK1 concentration, and ARCHITECT i2000SR immunoassay to detect serum CYFRA21-1, SCC, NSE concentration. Numeration data was analyzed by χ^2 test, and groups differences were compared by t test, and these indicators were evaluated by ROC curve. **Results** DKK1 concentrations in serum of non-small cell lung cancer and small cell lung cancer were significantly higher than those of the normal controls ($P < 0.05$). And the difference of DKK1 concentration between in serum of benign lung tumor and the controls was not statistically significant ($P > 0.05$). Serum DKK1 concentration in the metastasis group was significantly higher than that in premetastatic group ($P > 0.05$). Serum DKK1 concentration in surgery patients with lung cancer was significantly higher than that in the preoperative group ($P > 0.05$). While combined detection of serum DKK1 and CYFRA21-1, SCC, NSE could significantly improve the sensitivity and specificity of diagnosis of lung cancer. **Conclusion** Combined use of DKK1, CYFRA21-1, SCC, NSE for the diagnosis of lung cancer has even greater value. Serum DKK1 can be used for diagnosis of lung cancer, metastasis and monitoring treatment.

Key words Lung cancer; DKK1; Joint diagnosis; Prognosis

肺癌是威胁人类健康的主要疾病之一,发病隐匿,病死率高。导致肺癌高病死率的重要原因之一,是大约 75% 的患者在肺癌诊断时已经发展到Ⅲ或Ⅳ期,错过了最佳治疗时机,因此肺癌早期诊断具有重要的意义^[1]。当前临床常用的肺癌诊断血清标志物,如鳞状细胞癌相关抗原(SCC)、细胞角蛋白 19 血清片段 211(CYFRA21-1)、神经元特异性烯醇化酶(NSE),由于敏感性与特异性均较低,使其在肺癌早期诊断上的效果不佳^[2,3]。因此,寻找理想的肺癌诊断、预后和疗效评价指标,具有重要的意义。Takumie 等人用肺癌 cDNA 芯片技术筛查到 Dickkopf-1(DKK1),并提出可作为一种新的肺癌诊断指标和治疗靶点^[4]。本文主要评价血清 DKK1 在肺癌诊断、转移及疗效评价中的应用价值。

材料与方法

1. 临床资料:病例选自 2009 年 2 月~2010 年 1 月绍兴市人民医院收治的肺部肿瘤住院患者,共 80 例(肺癌患者 70 例、肺部良性肿块 10 例)。所有病例都经手术或纤维支气管镜取材并病理确诊,其中非小细胞肺癌 55 例。包括肺鳞癌 29 例(男性 20 例,女性 9 例,平均年龄 60.1 岁),肺腺癌 23 例(男性 9 例、女性 14 例,平均年龄 55.7 岁),大细胞肺癌 3 例(男性 2 例,女性 1 例,平均年龄 63.4 岁);小细胞肺癌 15 例(男性 11 例,女性 4 例,平均年龄 63.2 岁);肺部良性肿块 10 例,包括结核球 3 例,肺炎 4 例,胸膜炎 3 例(男性 6 例,女性 4 例,平均年龄 44.3 岁);正常对照组 10 例,来自绍兴市人民医院体检中心的体检人员,排除心、肝、肺、肾等疾病,经体检证明为健康人群。其中男性 7 例,女性 3 例,平均年龄 47.4 岁。

2. 标本采集:抽取实验对象清晨空腹静脉血 3ml,室温静置 30min,3500r/min 离心 5min 分离血清, -70℃ 冰箱保存待测。

3. ELISA 法检测:采用双抗体夹心法(Elisa 法)测定受试对象血清 DKK-1 浓度(人 DKK-1 Elisa 美国 R&D 生物公司生产)。加 40 μ l 样品稀释液加至各酶标包被板的样品孔内,后加血清 10 μ l。封板膜封板后 37℃ 温育 30min。揭掉封板膜,弃除液体,洗板机洗板 5 次,拍干后每孔加酶标试剂 50 μ l,封板膜封板后 37℃ 温育 30min。揭掉封板膜,弃除液体,重复洗板 5 次(安图酶标仪 2010 为匈牙利 ANTHOS 公司生产)后,拍干后每孔加显色剂 A、B 各 50 μ l,37℃ 避光显色 15min,加终止液 50 μ l。以空白为对照,450nm 波长测量 OD 值。

4. SCC、CYFRA21-1、NSE 检测:血清 SCC、CYFRA21-1、NSE 检测为美国雅培 i2000 免疫化学分析仪检测,试剂为美国雅培 i2000 专用试剂盒。严格按照仪器说明书操作。

5. 数据分析:统计数据 SPSS16.0 统计软件处理以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料采用 χ^2 检验,组间均数比较采用 t 检验,诊断效能评价以敏感性、特异性表示。DKK1 及联合检测指标的 ROC 曲线以诊断指数(灵敏度+特异性)最大处的检测值及曲线下面积为最佳诊断标准。CYFRA21-1、SCC、NSE 阳性判断标准为试剂说明书附带(NSE ≥ 12.7 ng/ml 为阳性, CYFRA21-1 ≥ 5.1 ng/ml 为阳性, SCC ≥ 4.2 ng/ml 为阳性)。

结 果

1. 非小细胞肺癌与小细胞肺癌 DKK1、CYFRA21-1、NSE 和 SCC 在各组中的浓度均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)及阳性率(%) DKK1 在非小细胞肺癌、小细胞癌组与正常对照组比较, $P < 0.05$; 良性肿块组与正常对照组比较 $P = 0.87$ (表 1)。

表 1 非小细胞肺癌、小细胞肺癌良性肿块与正常对照组 DKK1、CYFRA21-1、NSE 和 SCC 在各组中的浓度及阳性率[$\bar{x} \pm s(\%)$]

组别	n	DKK1	CYFRA21-1	NSE	SCC
非小细胞肺癌	55	36.4 ± 16.8 (76.1) ^a	11.0 ± 4.2 (50.6)	17.0 ± 15.5 (19.7)	12.2 ± 9.2 (37.0)
小细胞癌	15	30.7 ± 14.2 (75.0) ^b	5.0 ± 3.3 (25.6)	34.4 ± 23.5 (67.2)	5.1 ± 2.2 (14.3)
良性肿块	10	11.6 ± 7.8 (10.0)	3.7 ± 2.5 (20.0)	8.8 ± 2.6 (10.0)	1.3 ± 0.7 (0)
正常对照	10	11.4 ± 3.5 (10.0)	2.5 ± 1.3 (10.0)	7.5 ± 2.6 (0)	2.0 ± 1.1 (10.0)

非小细胞肺癌组 DKK1 阳性率与 CYFRA21-1、SCC 阳性率比较,^a $P < 0.05$;小细胞癌组 DKK1 阳性率与 NSE 阳性率比较,^b $P < 0.05$

2. DKK1、SCC、CYFRA21-1 3 项联合对非小细胞肺癌诊断的敏感性与特异性提高曲线下面积增大 $P < 0.05$ (图 1A);小细胞肺癌 DKK1、NSE 单项及联合诊断敏感性特异性、曲线下面积升高,但是不明显 $P > 0.05$ (图 1B)。

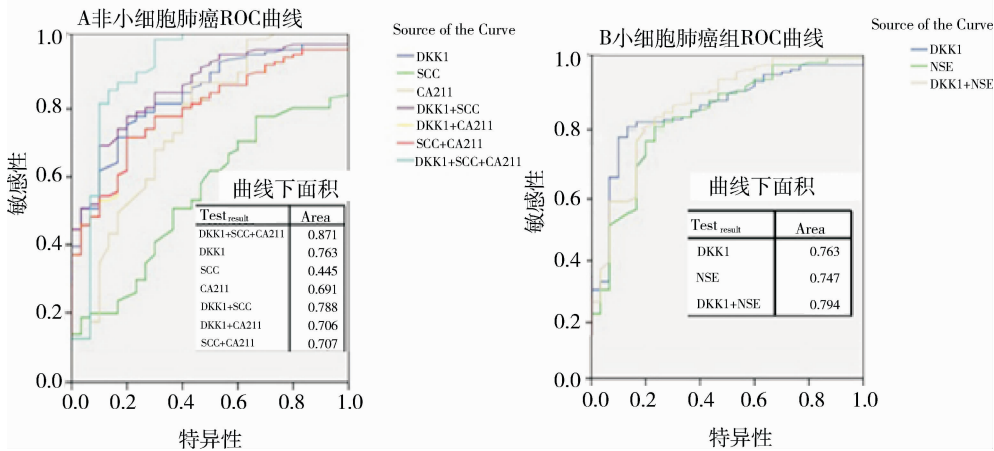


图 1 DKK1、SCC、CYFRA21-1 3 项联合对非小细胞肺癌诊断的敏感性与特异性与小细胞肺癌 DKK1、NSE 单项及联合诊断敏感性特异性

3. 肺癌转移组 ($n = 28$) DKK1 浓度 $45.8 \pm 18.7 \mu\text{g/L}$,未转移组 ($n = 34$) DKK1 浓度 $28.5 \pm 6.9 \mu\text{g/L}$ 。转移组与未转移组间比较,有统计学意义 ($P < 0.05$)。

4. 肺癌术前 ($n = 27$) DKK1 浓度 $48.6 \pm 17.8 \mu\text{g/L}$ 术后 ($n = 24$) 的 DKK1 浓度 $22.6 \pm 7.7 \mu\text{g/L}$ 。手术前后比较,有统计学意义 $P < 0.05$ 。

讨 论

DKK 基因家族包括 DKK1、DKK2、DKK3、DKK4 4 个成员。DKK1 蛋白主要通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号转导通路影响细胞凋亡、肿瘤细胞侵袭和转移^[4]。肺癌和食管癌患者的血清和病灶组织中,DKK1 的基因与蛋白表达水平明显升高,提示 DKK1 表达与癌症的发生发展有关^[6]。因此我们用 ELISA 方法检测肺癌患者血清 DKK1 浓度,进而希望形成一种对肺癌简单、快速、准确的诊断方法。非小细胞肺癌、小细胞癌患者血清中 DKK1 浓度升高与正常对照

组比较 P 均 < 0.05 存在显著统计学意义。而非小细胞肺癌、小细胞癌两组之间血清 DKK1 浓度比较意义不明显。肺部良性肿块血清 DKK1 浓度升高,与正常对照组比较 $P = 0.87$ 没有统计学意义。这一现象说明 DKK1 在正常组织与肿瘤组织中都存在,而肿瘤组织表达量增加并且能够分泌进入血液中。肺部良性肿块 (结核、炎症等) 引起 DKK1 分泌增加不明显。因此,我们就可以依据患者血清中 DKK1 升高浓度对肺癌进行诊断。根据 ROC 曲线血清 DKK1 cut-off 值为 $19.6 \mu\text{g/L}$ 时得出在非小细胞肺癌与小细胞癌患者血清中 DKK1 阳性率分别达为 76.1% 与 75.0%,而传统的肺癌血清标志物如 SCC (37%)、CYFRA21-1 (50.6%) 对非小细胞肺癌,NSE (67.2%) 对小细胞肺癌诊断价值要远大于 SCC、CYFRA21-1、NSE 单项检测。若 DKK1 与 SCC、CYFRA21-1 联合检测对非小细胞肺癌的诊断的敏感性和特异性达到 81.6% 和 93.4% 3 项联合诊断的时 ROC 曲线下面积

(AUC)为0.87大于单项检测及其他两项联合诊断时的面积($P < 0.05$),有统计学意义;DKK1与NSE联合检测对小细胞肺癌诊断与DKK1及传统单项NSE诊断的敏感性与特异性升高不明显($P < 0.05$),没有统计学意义。但是DKK1与NSE联合检查ROC曲线下面积(0.79)与单项检测DKK1(0.76)及NSE(0.75)比较ROC曲线下面积增大,诊断小细胞肺癌效能更佳。与文献报道一致^[7]。肺癌血清DKK1浓度在转移组(45.8 ± 18.6)要明显高于未转移组(28.5 ± 6.9), $P < 0.05$,有显著统计学意义。说明DKK1与肺癌的侵袭性有关,参与了肺癌的远处转移,DKK1具有观察肺癌转移的临床应用价值。我们还观察到肺癌患者在手术切除癌组织后10天观测血清DKK1浓度下降明显与手术前7天相比 $P < 0.05$,差异有显著统计学意义。这说明大量DKK1是由癌组织分泌进入血液并且与癌组织的活动性有一定关系。由此可以将DKK1作为肺癌手术、放疗、化疗后观察癌组织存活状态及观察复发的指标。

总之,我们用ELISA方法检测肺癌患者血清中DKK1浓度。根据不同病理类型,是否转移及手术前后进行比较得出血清DKK1浓度可以对肺癌进行早

期诊断判预后及可以检测复发。DKK1与传统的肺癌血清标志物SCC、CYFRA21-1相结合对肺癌诊断的灵敏性与特异性明显提高。

参考文献

- 1 Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. [J] Chest, 1997, 111: 1710 - 1717
- 2 万锦平, 黄建安, 刘皓, 等. 血清 SCC2 Ag、CYFRA212 1、NSE、CEA联合检测对肺癌的诊断价值[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12 (2): 111 - 112
- 3 Taniwa ki M, Daigo Y, Ishikawa N, et al. Gene expression profiles of small-cell lung cancers [J]: molecular signatures of lung cancer [J]. Int Oncol, 2006, 29: 567 - 575
- 4 Yamabuki T, Takano A, Hayama S, et al. Dickkopf-1 as a novel serologic and prognostic biomarker for lung and esophageal carcinomas [J]. Cancer Res, 2007, 67: 2517 - 2525
- 5 Kawano Y, Kypta R. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway [J]. Cell Sci, 2003, 116: 26272 - 2634
- 6 Fedi P, Bafico A, Nieto Soria A, et al. Isolation and biochemical characterization of the human DKK1 homologue, a novel inhibitor of mammalian Wnt signaling [J]. Biol Chem, 1999, 274: 19465 - 19472
- 7 ShiLeSheng, GangHuang, BinYu, et al. Clinical Significance and Prognostic Value of Serum Dickkopf-1 Concentrations in Patients with Lung Cancer [J]. Clinical Chemistry, 2009, 55 (9): 1656 - 1664

(收稿: 2010-07-13)

锁孔经后颞下联合经脉络裂入路至环池的显微解剖研究

王 昊 俞文华 车志豪 张祖勇 张 荣

摘要 **目的** 研究锁孔经后颞下联合经脉络裂入路至环池的显微解剖并定量测定显露范围。**方法** 在8例16侧成人尸头标本上,采用锁孔经后颞下联合经脉络裂入路显露环池,并在导航下定量测量显露范围。**结果** 选择合适的锁孔骨窗行经后颞下入路时,Labbe's静脉多数不影响操作,可较好显露三叉神经、大脑后动脉P2a段和脑干外侧面。在同一骨窗中行经脉络裂入路时,向尾侧牵拉海马体后,穹隆伞至外侧膝状体垂直距离由 $5.28 \pm 0.46\text{mm}$ 增至 $11.18 \pm 0.57\text{mm}$,除1例外,均可较好显露大脑后动脉P2p段。**结论** 锁孔经后颞下和经脉络裂入路可以分别显露环池下部和上部。MRI冠状位上,海马旁回内缘中点可以作为两种入路选择的解剖标志点。

关键词 锁孔入路 后颞下 脉络裂 环池 定量测定

Posterior Subtemporal Keyhole Approach Combined with Transchoroidal Approach to the Region Around Ambient Cistern: Anatomic Study and Quantitative Analysis. Wang Hao, Yu Wenhua, Che Zhihao, Zhang Zuyong, Zhang Rong. Department of Neurosurgery, Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang 310006, China

基金项目:浙江省卫生厅科研基金资助项目(2009A164)

作者单位:310006 杭州市第一人民医院神经外科(王昊、俞文华、车志豪、张祖勇);复旦大学附属华山医院神经外科(张荣)

通讯作者:王昊,电子信箱:capsomere@163.com