

# 大鼠双侧卵巢切除术后不同时期血清骨生化标志物与骨小梁三维结构变化之间的研究

马 刚 李 理 覃永保 李百川 王仁崇 梁 伟 吕天成 汤中飞 李 兵

**摘 要** 目的 观察双侧卵巢切除(OVX)SD大鼠不同时期血清骨生化标志物与骨小梁三维结构变化之间的关系。方法 分别于6月龄雌性SD大鼠假手术(Sham)组和双侧卵巢切除术(OVX)组术后2、4、8、12周随机取样,每组每个时间点处死4只,取血清测量雌二醇( $E_2$ )、骨碱性磷酸酶(BALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)水平,取胫骨用显微CT(Micro-CT)和组织学HE染色观察胫骨骨小梁微结构变化。结果 术后2周,OVX组 $E_2$ 较Sham组开始下降,4周时差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),一直持续到12周,Sham组 $E_2$ 水平随时间变化不大;OVX组血清BALP在术后2周达峰值,然后迅速下降,12周时降至术前水平;OVX组血清TRAP活性在术后迅速升高,术后4周达峰值,然后下降,术后12周时仍高于Sham组及术前水平;Micro-CT分析胫骨干骺端相对骨体积(BV/TV)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、Conn.Dn、骨密度(BMD)在2周时与Sham组比较差异无统计学意义,第4周开始出现明显差异,12周差异更加明显,骨小梁厚度(Tb.Th)始终无明显差异;Micro-CT重建显示术后12周OVX组骨小梁较Sham组稀疏,缺失严重;HE染色显示术后12周OVX组大鼠胫骨干骺端骨骺板下骨小梁变细且排列稀疏,骨小梁结构不成熟,骨小梁间连接差,部分断裂,出现大量骨小梁盲端,小梁壁厚度不一致。结论 OVX术骨骨质疏松模型建立过程中大鼠成骨及破骨细胞活跃度先增高后降低,破骨细胞相对而言上升周期更长且下降后能维持在更高水平,比成骨细胞更活跃,骨吸收大于骨生成导致骨质疏松,主要体现为骨小梁BV/TV、Tb.N、Conn.Dn、BMD下降,Tb.Sp升高,组织学表现为骨小梁结构不成熟,骨小梁间连接差,部分断裂,出现大量骨小梁盲端。

**关键词** 卵巢切除术 雌二醇 骨碱性磷酸酶 抗酒石酸酸性磷酸酶 显微CT 苏木精-伊红染色

**中图分类号** R681 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.05.018

**Relationship between Serum Biochemical Markers of Bone and the Changes of Trabecular Bone Three-dimensional Structure in Different Periods after Rats, Bilateral Ovariectomy.** Ma Gang, Li Li, Qin Yongbao, et al. The Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University/Liuzhou Worker's Hospital, Guangxi 545005, China

**Abstract Objective** To observe the relationship between the changes of serum bone biochemical markers and the three-dimensional structure of trabecular bone after rats' bilateral ovariectomy. **Methods** 6-month-old female SD rats were randomly divided into two groups: sham operated (Sham) group and ovariectomy (OVX) group. At 2 weeks, 4 weeks, 8 weeks, 12 weeks after operation, they were randomly sampled, and 4 rats were sacrificed in every group at each time point. Serum levels of estradiol ( $E_2$ ), bone alkaline phosphatase (BALP), and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) were measured. The microstructure changes of trabecular bone in tibia were detected by Micro-CT and hematoxylin-eosin staining (HE staining). **Results** At 2 weeks after operation,  $E_2$  in OVX group began to reduce compared with Sham group. It was significantly different from Sham group at postoperative 4 weeks ( $P < 0.05$ ), which lasted until postoperative 12 weeks. The level of  $E_2$  in Sham group was not changed too much with time. Serum BALP activity in OVX group reached a peak at 2 weeks after operation, and then decreased rapidly, equal to preoperative level at postoperative 12 weeks. Serum TRAP activity in OVX group increased rapidly, and reached a peak at 4 weeks after operation, and then decreased, which was still higher than that of Sham group at postoperative 12 weeks and preoperative level. Micro-CT analysis showed no significant difference in relative bone volume (BV/TV), trabecular number (Tb.N), trabecular separation (Tb.Sp), Conn.Dn, bone mineral density (BMD) in OVX group compared with Sham group. At 4 postoperative weeks they began to appear obvious difference, and the difference was more obvious at postoperative 12 weeks. Trabecular thickness (Tb.Th) always had no obvious difference. Micro-CT reconstruction showed that trabecular bone was sparse and seriously missing in OVX group at postoperative 12 weeks compared with Sham group. HE staining showed that the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260273);广西壮族自治区自然科学基金资助项目(2013GXNSFAA019269)

作者单位:545005 广西医科大学第四附属医院/柳州市工人医院(注:马刚、李理为共同第一作者)

通讯作者:李兵,教授,主任医师,硕士生导师,电子信箱:aconelee@gmail.com

trabecular bone under tibia epiphyseal plate in OVX group became thin and arranged sparsely compared with Sham group at postoperative 12 weeks. The trabecular bone structure was not mature, and trabecular connectivity was decreased. Part of them was broken. There were a large number of trabecular bone blind ends, and trabecular thickness was inconsistent. **Conclusion** In the process of establishing the model of OVX, the activities of osteoblasts and osteoclasts were both increased and then decreased. Relatively speaking, osteoclasts rise period was longer and could be maintained at a higher level after drop, more active than osteoblasts. Bone resorption was more than bone formation, which caused osteoporosis, mainly for BV/TV, Tb. N, Conn. Dn and BMD were decreased, and Tb. Sp increased. Histology showed that the trabecular structure was not mature, trabecular connectivity was decreased, and there existed numbers of trabecular bone blind ends.

**Key words** OVX;  $E_2$ ; BALP; TRAP; Micro-CT; HE staining

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 的发生是由于骨代谢失衡逐渐导致骨骼完整性的破坏、骨量的减少、骨质的破坏、骨密度的变化、正常骨生长和骨吸收之间的平衡代谢失调所引起<sup>[1]</sup>。一般来说,骨骼通过破骨细胞去除衰老部分,再由成骨细胞形成的新骨替代,进而形成骨骼的再造循环,正常情况下两者保持平衡,若骨吸收总量超过骨形成,则导致骨质疏松,其组织学变化主要表现为广泛骨小梁退变<sup>[2]</sup>。卵巢切除术 (OVX) SD 大鼠骨质疏松模型的建立在骨质疏松症的研究中已经非常成熟,但卵巢切除后  $E_2$  及相关血清骨生化标志物的变化在骨质疏松骨小梁改变的过程中的作用及关系还少见报道。本实验选取 OVX 大鼠术后 2、4、8、12 周 4 个时间点,动态观察大鼠摘除双侧卵巢后血清样本  $E_2$  和 BALP、TRAP 的变化,同时结合 Micro-CT 和 HE 组织染色观察胫骨骨小梁三维结构变化,阐明 OVX 大鼠术后血清标志物与骨小梁三维结构之间的关系。

### 材料与方法

1. 仪器和试剂:大鼠雌二醇酶联免疫试剂盒 (Rat Estradiol EIA Kit, 美国, R&D 公司), 大鼠骨碱性磷酸酶酶联免疫吸附测定试剂盒 (Rat BALP ELISA Kit, 美国, R&D 公司), 大鼠抗酒石酸酸性磷酸酶酶联免疫吸附测定试剂盒 (Rat TRAP ELISA Kit, 美国, R&D 公司), Model 550 型酶标仪 (美国, BIO-RAD 公司), 2% 戊巴比妥钠注射液, 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE)、台式离心机、-80℃ 冰箱、电子天平、光学显微镜、石蜡切片机、HP-C 型烘片机、TP-C 型烘片机、Micro-CT (Skyscan 1176)。

2. 实验动物:健康 3 月龄雌性 Sprague Dawley (SD) 大鼠 36 只, 购自广西医科大学动物实验中心, 体重 260~300g。将大鼠分笼饲养, 每笼 4~5 只, 自由活动, 自由摄食喂养, 光照 12h, 黑暗 12h, 室温 27℃, 湿度 30%~40%。饲养 3 个月, 取 6 月龄大鼠进行卵巢切除术建立骨质疏松模型。

3. 实验方法:(1) 卵巢切除术:①实验分组:随机取 4 只 6 月龄 SD 大鼠设立术前空白对照组, 将剩下的 32 只 6 月龄 SD 大鼠随机分为两组:假手术组 (Sham) 和卵巢切除术组 (OVX), 每组 16 只。术前所有动物称量体重记录。②双侧卵巢切除术步骤:大鼠背部双侧卵巢切除术:麻醉前大鼠禁食 6h, 用 2% 戊巴比妥钠注射液 (0.02ml/100g) 对大鼠进行腹腔麻醉, 3~5min 后麻醉成功。取俯卧位, 于背部后正中线与双侧肋缘连线为中心, 半径为 3cm 备皮, 分别用碘伏和乙醇于术部消毒, 覆盖无菌铺单, 以背部后正中线为切口, 向下切开皮肤 1.0~1.5cm, 钝性分离皮下组织, 拉钩向一侧拉开皮肤于正中线旁开 1.5cm, 双侧肋缘下 1cm 切开肌层, 暴露腹腔, 切口视野可见用组织钳夹闭卵巢下输卵管, 将输卵管用丝线结扎, 剪除卵巢, 将断端输卵管送回腹腔, 碘伏消毒后间断缝合肌层, 拉钩拉向另一侧同法切除另一侧卵巢, 最后缝合皮肤 (图 1)。Sham 组手术步骤基本同上, 找到卵巢后不切除, 只切除同重量的脂肪组织, 然后逐层缝合。术后于大鼠大腿肌肉内注射青霉素 G 钠盐 40000IU。(2) 标本采集:术前空白对照组取 4 只大鼠, 术后 2、4、8、12 周分别于 OVX 组和 Sham 组选取 4 只动物, 2% 戊巴比妥钠 (0.02ml/100g) 麻醉后称量体重于心脏采血, 室温静置 2h 后离心 (3000r/10min) 取上层血清, 于 -80℃ 保存。处死大鼠后分离双侧胫骨, 浸泡 10% 甲醛溶液中, 左侧胫骨行 Micro-CT 检测, 右侧胫骨石蜡包埋软组织切片行 HE 染色。(3) 血清指标检测:血清  $E_2$ 、BALP、TRAP 水平测定均采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA), 实验操作完全按照试剂盒说明书 (大鼠雌二醇酶联免疫试剂盒, Rat Estradiol EIA Kit; 大鼠骨碱性磷酸酶酶联免疫吸附测定试剂盒, Rat BALP ELISA Kit; 抗酒石酸酸性磷酸酶酶联免疫吸附测定试剂盒, Rat TRAP ELISA Kit), 以上试剂盒均购自美国 R&D 公司。(4) Micro-CT: Micro-CT (Skyscan 1176) 扫描 (扫描分辨率: 18μm,

旋转角度: 360°, 电压: 88kV, 功率: 40W, 电流: 80μA, 帧平均数: 6, 像素组合: 1 × 1)。采用软件 CTAn, Version 1. 1 对胫骨干骺端相对骨体积 (BV/TV)、骨小梁厚度 (Tb. Th)、骨小梁数目 (Tb. N)、骨小梁分离度 (Tb. Sp)、Conn. Dn、骨密度 (BMD) 等参数进行分析; 采用软件 CT Vol, version 2. 1. 0. 0 对数据进行三维重建。(5) 组织学检测: 取右侧胫骨, 剔除周围肌肉组织后用 10% 甲醛固定 3 天, 然后 10% 硝酸常规脱钙 3 天致软化, 脱水、石蜡包埋切片, 行苏木素 - 伊红 (hematoxylin - eosin, HE) 染色, 光镜下观察骨小梁微观结构的变化。

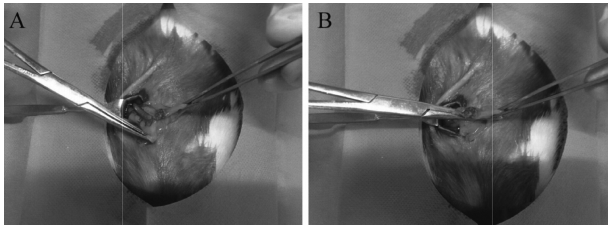


图 1 背侧入路 OVX 术

A. 暴露卵巢状卵巢; B. 结扎近端输卵管

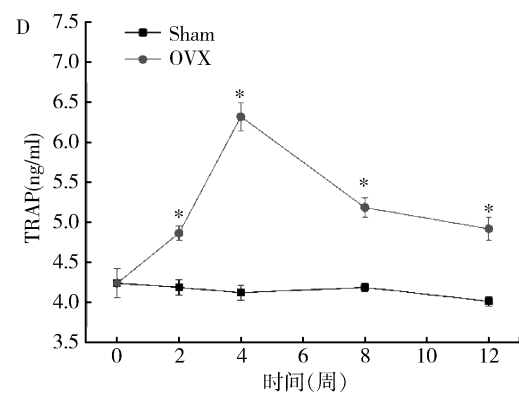
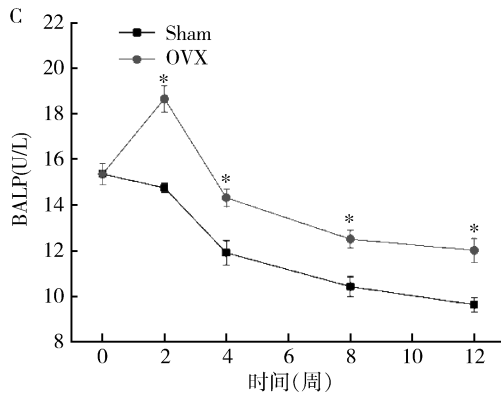
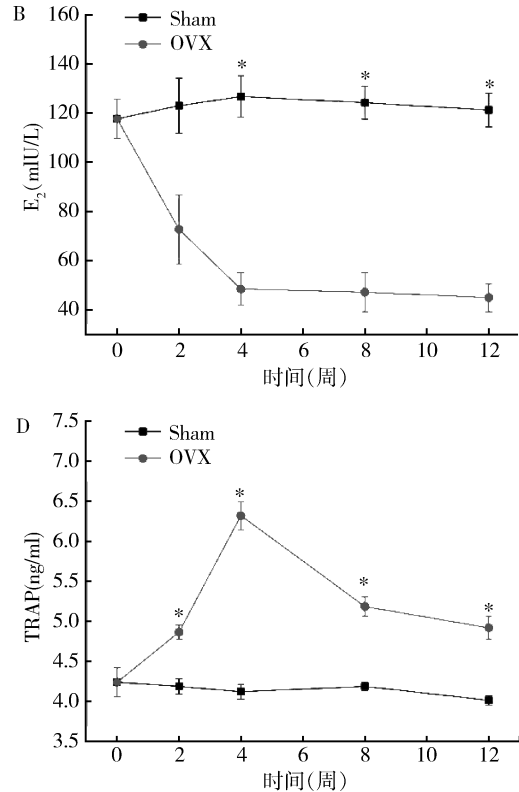
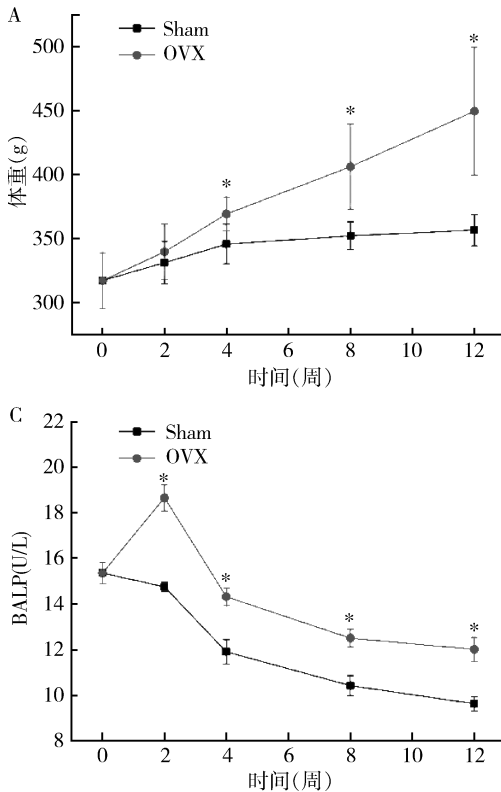


图 2 OVX 术后 2、4、8、12 周 SD 大鼠体重、血清 E<sub>2</sub>、BALP、TRAP 的变化情况

A. 体重; B. E<sub>2</sub>; C. BALP; D. TRAP; 与另一组相比, \* P < 0.05

4. 统计学方法: 实验数据建立 Excel 数据库, 所得数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 应用软件 SPSS 21.0 处理数据, *t* 检验比较两组间的差异, 以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 体重变化: 卵巢切除术前, Sham 组与 OVX 组大鼠体重差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。术后 2 周 OVX 组大鼠体重较 Sham 组有所升高, 术后 8 周, OVX 组大鼠体重明显高于 Sham 组 (*P* < 0.05), 一直持续到 12 周 (图 2A)。

2. 血清雌激素: 术后 2 周, OVX 组 E<sub>2</sub> 较 Sham 组开始下降, 4 周时有明显差异 (*P* < 0.05), 一直持续到 12 周, Sham 组 E<sub>2</sub> 水平随时间变化不大 (图 2B)。

3. 血清 BALP: OVX 组血清 BALP 在术后迅速上升在 2 周达峰值, 然后迅速下降, 12 周时已经降至术前水平 (图 2C)。

4. 血清 TRAP: OVX 组血清 TRAP 在术后迅速升高, 并在术后 4 周达峰值, 然后下降, 术后 12 周时仍高于 Sham 组及术前水平 (图 2D)。

5. Micro - CT: 胫骨干骺端相对骨体积 (BV/TV)、骨小梁数目 (Tb. N)、骨小梁分离度 (Tb. Sp)、

Conn. Dn、骨密度(BMD)在2周与 Sham 组差异无统计学意义,第4周开始差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),12周差异更加明显,骨小梁厚度(Tb. Th)差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,图3)。12周 OVX 组大

鼠胫骨干骺端 Micro-CT 断层扫描图像显示骨骺板下骨小梁相对 Sham 组稀疏,离骨骺板较远处甚至出现缺失,三维重建结果与上述情况相符,OVX 术后12周骨小梁稀疏,丢失严重(图4A~D)。

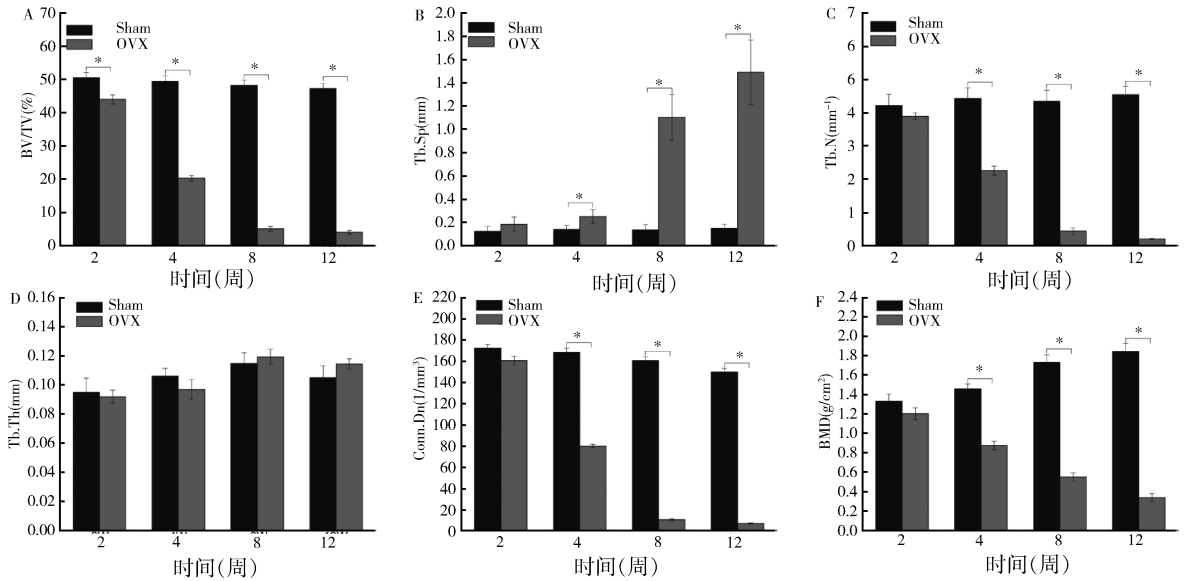


图3 OVX 术后2、4、8、12周 SD 大鼠胫骨 BV/TV、Tb. Sp、Tb. N、Tb. Th、Conn. Dn、BMD 的变化情况

A. BV/TV; B. Tb. Sp; C. Tb. N; D. Tb. Th; E. Conn. Dn; F. BMD; 两组间比较, \*  $P < 0.05$

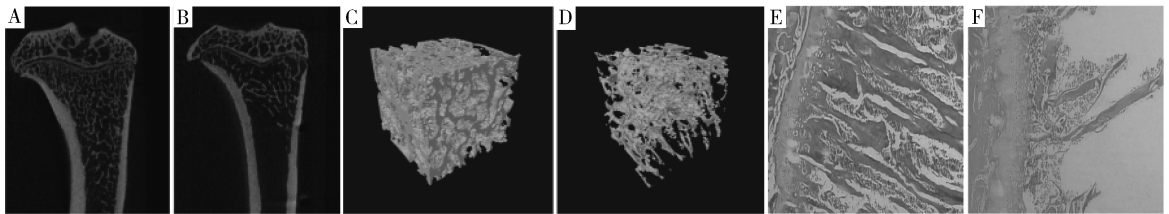


图4 OVX 术后12周 SD 大鼠胫骨干骺端 Micro-CT(A~D) 断层及三维重建图像和 HE 染色情况( $\times 100$ )

A、B 为断层图,其中 A 为 Sham 组,B 为 OVX 组;C、D 为三维重建图,其中 C 为 Sham 组,D 为 OVX 组;

E、F. HE 染色,其中 E 为 Sham 组,F 为 OVX 组

6. HE 染色:12 周 OVX 组大鼠胫骨干骺端骨骺板下骨小梁变细切排列稀疏,骨小梁结构不成熟,骨小梁间连接差,部分断裂,出现大量骨小梁盲端,小梁壁厚薄不一。相比之下 Sham 组胫骨骨小梁结构正常,骨骺板下骨小梁结构多于 OVX 组,骨小梁数目正常,骨小梁厚度与连续性好(图4E、F)。

### 讨 论

本研究测定了血清骨转换标志物 BALP、TRAP 在 OVX 术后随时间的变化,其中 BALP 是早期反应成骨细胞活性的标志物,TRAP 是早期反映破骨细胞活性的标志物<sup>[3]</sup>。笔者观察到术后 2 种血清标志物都呈现了上升的趋势,但是相对比不同的是骨形成标志物 BALP 是瞬时改变,2 周达到一个峰值然后下

降,12 周下降到术前水平,骨吸收标志物是持续地升高,在 4 周达到峰值然后开始下降,12 周时相比术前还保持了一个较高水平,这与之前的研究相符合<sup>[4]</sup>。从血清标志物的术后表现来看,OVX 术后形成的骨质疏松属于高转化型骨质疏松,术后成骨细胞及破骨细胞活性均升高了,但相对而言,成骨细胞升高只是短暂的表现,破骨细胞活性是持续的升高,甚至在术后很长时间内破骨细胞都保持在术前之上的较高水平,破骨细胞活性高于成骨细胞,骨吸收大于骨生成,逐渐形成骨质疏松。OPG-RANKL-RANK 系统是近年来发现在破骨细胞分化过程中的一个重要信号转导通路,体内调控破骨细胞的多种因子和激素几乎都是通过影响 OPG 和 RANKL 的分泌来影响骨代谢

的,成骨细胞表达 RANKL,与破骨细胞表面的 RANK 结合后,促进破骨细胞的分化及骨吸收活性。另一方面,成骨细胞还可以分泌骨保护素(osteoprotegerin, OPG),与 RANKL 竞争性结合,阻止 RANKL 与 RANK 之间的结合<sup>[5]</sup>。

本研究结果显示,BALP 在术后 2 周出现一个明显的峰值,TRAP 上升一直持续到 4 周,可能是成骨细胞的这种瞬时变化激发了 RANKL-RANK 通路使破骨细胞表达增加。笔者在实验中检测了 OVX 术后不同时间点血清中的 E<sub>2</sub> 含量,发现切除大鼠双侧卵巢后,血清中 E<sub>2</sub> 随时间逐渐下降。研究报道指出,缺乏雌激素,骨小梁微/纳米结构、骨小梁三维体积、骨密度和二维骨密度会剧烈下降<sup>[6]</sup>。早期的研究就已经发现成骨细胞及破骨细胞内都存在雌激素受体,雌激素可以作用于两种细胞实现对细胞的直接调控而引起骨量变化进而导致骨小梁微观形态的改变<sup>[7]</sup>。大量的研究报道证实雌激素可加速破骨细胞凋亡,雌激素通过成骨细胞或基质细胞上具有转录活性的 ER- $\alpha$  引起细胞 OPG 生成,减少 CSF-1 的生成,OPG 作为诱导受体与 RANKL 结合后可防止 RANKL 激活破骨细胞系中的 RANK<sup>[8]</sup>。此外,雌激素也可直接抑制破骨细胞前体细胞对 RANKL 的反应性,通过降低 RANKL 诱导的 JNK 活化通路而抑制破骨细胞分化,诱导破骨细胞凋亡<sup>[9]</sup>。实验中 E<sub>2</sub> 下降,TRAP 持续上升,可能是雌激素下降解除了其对破骨细胞的抑制作用从而上调破骨细胞活性标志物的表达,这可能是 OVX 术后大鼠骨吸收亢进的直接作用机制。

OVX 术后 E<sub>2</sub> 下降,BALP、TRAP 双相增高,骨吸收大于骨生成,为了能够更加直观地了解这些血清标志物变化后骨小梁结构变化情况,笔者通过 Micro-CT 检测了大鼠胫骨干骺端骨小梁相关参数,分析结果显示胫骨干骺端相对骨体积(BV/TV)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、Conn.Dn、骨密度(BMD)在第 4 周开始出现明显差异,12 周达到一个更稳定的差异,胫骨干骺端同一区域骨小梁三维重建图显示,骨小梁在 OVX 术后 12 周与 Sham 组相比已经发生了明显的丢失现象,证明 OVX 术后 3 个月能够成功建立骨质疏松模型。组织学切片 HE 染色发现术后 12 周胫骨干骺端骨小梁连接差,部分断裂,出现大量骨小梁盲端,与 CT 结果一致。很多报道用于建立骨质疏松模型的 SD 大鼠大多为 3 月龄,术后 8 周开始发生骨量的变化<sup>[10]</sup>。但是采用 3 月龄大鼠

建立骨质疏松模型存在一个问题:3 月龄大鼠虽然达到了性成熟阶段,但仍处于生长发育阶段,其松质骨发育成熟一般在 6~9 个月,密质骨要稍晚,一般是 9~12 个月<sup>[11]</sup>。本实验选取 6 月龄大鼠进行 OVX 术,发现建模效果更加快速而明显,术后 4 周的时候各项相关参数差异有统计学意义,所以选取 6 月龄大鼠作为 OVX 术实验动物更为合理。OVX 术手术切口主要有腹部正中切口和背部双侧切口,有人对两种手术方法进行了比较,证明了背部双切口比腹部正中切口操作更为简便、手术用时少、安全性高,术中减少输卵管牵拉,不会改变腹腔正常解剖结构,有效降低术后腹膜的粘连<sup>[12]</sup>。本实验在背部切口的基础上进行了一点微小的改变,皮肤切开取背部正中切口,术后只有一个缝合创口外露,进一步减少术后感染概率。

综上所述,OVX 术骨质疏松模型建立过程中大鼠成骨及破骨细胞活跃度先增高后降低,破骨细胞相对而言上升周期更长且下降后能维持在更高水平,比成骨细胞更活跃,骨吸收大于骨生成导致骨质疏松,主要体现为 BV/TV、Tb.N、Conn.Dn、BMD 下降,Tb.Sp 升高,组织学表现为骨小梁结构不成熟,骨小梁间连接差,部分断裂,出现大量骨小梁盲端。

#### 参考文献

- 1 Kanis JA, McCloskey EV, Harvey NC, *et al.* Intervention Thresholds and the Diagnosis of Osteoporosis[J]. *J Bone Mineral Res*, 2015,30(10):1747-1753
- 2 Mathavan N, Turunen MJ, Tagil M, *et al.* Characterising Bone Material Composition and Structure in the Ovariectomized (OVX) Rat Model of Osteoporosis[J]. *Calcified Tissue Int*, 2015,97(2):134-144
- 3 Fahmy SR, Soliman AM, Sayed AA, *et al.* Possible antiosteoporotic mechanism of Cicer arietinum extract in ovariectomized rats[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015,8(4):3477-3490
- 4 Miyazaki T, Matsunaga T, Miyazaki S, *et al.* Changes in receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, and its ligand, osteoprotegerin, bone-type alkaline phosphatase, and tartrate-resistant acid phosphatase in ovariectomized rats[J]. *J Cell Biochem*, 2004,93(3):503-512
- 5 Song CY, Peng B, Shen JY, *et al.* Research on regulation mechanism of osteoclast differentiation [J]. *China J Orthopaedics Traumatol*, 2015,28(6):580-584
- 6 Hu S, Li J, Liu L, *et al.* Micro/nanostructures and mechanical properties of trabecular bone in ovariectomized rats[J]. *Int J Endocrinol*, 2015,2015:252503
- 7 Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J, *et al.* Avian osteoclasts as estrogen target cells[J]. *P Nat Acad Sci*, 1991,88(15):6613-6617

(下转第 129 页)

于此,笔者收集了2013年4月~2015年9月笔者医院收治的初诊腹膜假黏液瘤患者血清标本,同时收集健康体检者和腹部良性疾病患者作为对照组,分析了5种常用肿瘤标志物 CEA、CA125、CA199、CA724 和 CA242 在初诊患者血清中的表达情况。本研究结果显示,这5种血清肿瘤标志物在良性疾病组和健康体检组两组间表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而在健康体检组和腹膜假黏液瘤组以及良性疾病组和腹膜假黏液瘤组间表达均差异有统计学意义( $P$ 均  $< 0.05$ ),具体结果见图1。

笔者将健康体检组和良性疾病组合并为一组,称为对照组,进一步采用 ROC 曲线分析了5种肿瘤标志物对腹膜假黏液瘤诊断的敏感度和特异性,结果显示,5种肿瘤标志物 CEA、CA125、CA199、CA724 和 CA242 对疾病的敏感度分别为 89.3%、89.3%、78.6%、92.9% 和 89.3%,特异性分别为 100.0%、98.1%、98.1%、92.3% 和 98.1%,曲线下面积分别为 0.945、0.942、0.875、0.967 和 0.954。但是笔者发现根据 ROC 曲线所得的各检测项目的临界值均在本单位设定的参考范围内,分析原因主要是本研究所包含的研究对象样本数相对较少,代表性差所致。根据本单位设定的临界值,笔者重新统计了5种肿瘤标志物对腹膜假黏液瘤的敏感度和特异性,结果显示 CEA、CA125、CA199、CA724 和 CA242 对腹膜假黏液瘤的敏感度分别为 78.6%、71.4%、67.9%、89.3% 和 78.6%,特异性分别为 100.0%、98.1%、100.0%、92.3% 和 100.0%,具体结果见图2和表2。从笔者的研究结果看,5种肿瘤标志物对腹膜假黏液瘤均有较好的敏感度和特异性,将5种肿瘤标志物联合检测,以本笔者医院设定的临界值作为判断 cutoff 值,该组合对腹膜假黏液瘤诊断的敏感度为 100.0%,特异性为 90.4%,阳性预测值为 84.8%,阴性预测值为 100%,结果见表3。

综合笔者的研究结果可知,5种肿瘤标志物联合

检测对腹膜假黏液瘤诊断的敏感度高于单个肿瘤标志物,且联合检测对疾病的阴性预测值可达 100%,即该组合检测阴性的患者基本可排除腹膜假黏液瘤的诊断,此结论对辅助临床对非黏液瘤患者做出排除诊断有较大的临床意义。由于腹膜假黏液瘤发生率低,标本收集困难,本项研究所包括病例数较少,研究结论还有待于扩大样本量进一步验证。

参考文献

- 1 Wang H, Wang XJ, Ju YF, *et al.* Clinicopathological features and prognosis of pseudomyxoma peritonei [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(1): 185-190
- 2 Smeenk RM, van Velthuisen ML, Verwaal VJ, *et al.* Appendiceal neoplasms and pseudomyxoma peritonei: a population based study [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2008, 34(2): 196-201
- 3 张和平,孙宇,黄小征,等.腹膜黏液性肿瘤临床病理特征分析及其起源探讨[J].*中华病理学杂志*,2014,43(3):163-168
- 4 Bosman FT, Cameiro F, Hruban RH, *et al.* World Health Organization classification of tumours of the digestive system[M]. Lyon: IARC Press, 2010
- 5 Bevan KE, Mohamed F, Moran BJ. Pseudomyxoma peritonei [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2010, 2(1):44-50
- 6 Miner TJ, Shia J, Jaques DP, *et al.* Longterm survival following treatment of pseudomyxoma peritonei: an analysis of surgical therapy [J]. *Ann Surg*, 2005, 241(2): 300-308
- 7 Amini A, Masoumi-Moghaddam S, Ehteda A, *et al.* Secreted mucins in pseudomyxoma peritonei: pathophysiological significance and potential therapeutic prospects [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2014, 9:71-82
- 8 李艳青,胡君,温宏武.腹膜假黏液瘤诊治的研究进展 [J]. *中华妇产科杂志*,2014,4(1):70-72
- 9 唐鸿生,崔书中,巴明臣.腹膜假性黏液瘤的临床综合诊治现状 [J]. *中华外科杂志*,2010,48(7):550-552
- 10 李江琳,徐波,曹杰.腹膜假黏液瘤的研究进展 [J]. *国际外科学杂志*,2013,40(7):468-471
- 11 Carmignani CP, Hampton R, Sugarbaker CE, *et al.* Utility of CEA and CA 19-9 tumor markers in diagnosis and prognostic assessment of mucinous epithelial cancers of the appendix [J]. *J Surg Oncol*, 2004, 87(4):162-166
- 12 Koh JL, Liauw W, Chua J, *et al.* Carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) is an independent prognostic indicator in pseudomyxoma peritonei post cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy [J]. *Gastrointest Oncol*, 2013, 4(2): 173-181

(收稿日期:2015-10-23)

(修回日期:2015-10-30)

(上接第80页)

- 8 Pelosi E, Arena V, Baudino B, *et al.* Pre-operative lymphatic mapping and intraoperative sentinel lymph node detection in early stage endometrial cancer [J]. *Nucl Med Commun*, 2003, 24(9):971-975
- 9 Kharkwal G, Chandra V, Fatima I, *et al.* Ormeloxifene inhibits osteoclast differentiation in parallel to downregulating RANKL-induced ROS generation and suppressing the activation of ERK and JNK in murine RAW264.7 cells [J]. *J Mol Endocrinol*, 2012, 48(3):261-270
- 10 Du Z, Steck R, Doan N, *et al.* Estrogen deficiency-associated bone

loss in the maxilla: a methodology to quantify the changes in the maxillary intra-radicular alveolar bone in an ovariectomized rat osteoporosis model [J]. *Tissue Eng Part C: Methods*, 2014, 21(5):458-466

- 11 Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, *et al.* The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research [J]. *Comp Med*, 2008, 58(5):424
- 12 李明,吕厚辰,尹鹏滨,等.两种卵巢切除术式建立大鼠骨质疏松模型的优势比较 [J]. *解放军医学院学报*,2015,36(4):383-387 (收稿日期:2015-10-29) (修回日期:2015-11-16)