

# 多种血清肿瘤相关抗原自身抗体联合检测 对骨肉瘤的诊断价值研究

罗漫丽<sup>1</sup>, 黄满玉<sup>2</sup>, 李东升<sup>2</sup>, 马言<sup>2</sup>, 张勇勇<sup>2</sup>, 罗亚鸽<sup>2</sup>, 李记天<sup>2</sup>, 代丽萍<sup>1</sup>

(1. 郑州大学基础医学院, 河南 郑州 450001;

2. 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院, 河南 郑州 450016)

**摘要** 目的:探讨多种血清肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)自身抗体联合检测对骨肉瘤的诊断价值。方法:收集 2013 年 12 月至 2016 年 6 月收治的 51 例骨肉瘤患者(骨肉瘤组)和同时期在医院体检的 51 例健康志愿者(健康组)的外周血血清。使用间接 ELISA 法检测所有受试对象血清中抗烯醇化酶 1(enolase 1, ENO1)自身抗体、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)自身抗体、抗热休克蛋白(heat shock protein, HSP)27 自身抗体、抗 HSP60 自身抗体、抗核仁磷酸蛋白 1(nucleophosmin 1, NPM1)自身抗体、抗人 PDZ 和 LIM 域蛋白 1(PDZ and LIM domain 1, PDLIM1)自身抗体、抗重组人微管解聚蛋白 1(stathmin 1, STMN1)自身抗体、抗丙糖磷酸异构酶 1(triosephosphate isomerase 1, TPI1)自身抗体共 8 种 TAA 自身抗体的血清含量。按单侧估计各 TAA 自身抗体含量的 95% 参考值范围,并以此计算和评价各 TAA 自身抗体血清含量检测诊断骨肉瘤的价值。按诊断的灵敏度由高到低排序,从诊断骨肉瘤灵敏度最高的自身抗体开始,每次增加 1 种灵敏度排名次一位的自身抗体,计算和评价对应的 TAA 自身抗体联合检测诊断骨肉瘤的价值。结果:①2 组血清 TAA 自身抗体含量检测及对比结果。2 组受试对象血清中抗 ENO1 自身抗体、抗 GAPDH 自身抗体、抗 HSP27 自身抗体、抗 HSP60 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 STMN1 自身抗体和抗 TPI1 自身抗体含量比较,组间差异均有统计学意义( $0.269 \pm 0.101$ ,  $0.202 \pm 0.113$ ,  $Z = -3.758$ ,  $P = 0.000$ ;  $0.145 \pm 0.037$ ,  $0.125 \pm 0.027$ ,  $Z = -3.477$ ,  $P = 0.001$ ;  $0.175 \pm 0.048$ ,  $0.164 \pm 0.027$ ,  $Z = -2.125$ ,  $P = 0.034$ ;  $0.174 \pm 0.048$ ,  $0.149 \pm 0.028$ ,  $Z = -2.871$ ,  $P = 0.004$ ;  $0.305 \pm 0.079$ ,  $0.288 \pm 0.068$ ,  $Z = -2.249$ ,  $P = 0.025$ ;  $0.188 \pm 0.082$ ,  $0.167 \pm 0.071$ ,  $Z = -2.041$ ,  $P = 0.041$ ;  $0.174 \pm 0.083$ ,  $0.159 \pm 0.040$ ,  $Z = -2.095$ ,  $P = 0.036$ )。②血清 TAA 自身抗体含量检测诊断骨肉瘤的结果。除抗 NPM1 自身抗体之外的 7 种 TAA 自身抗体中,抗 STMN1 自身抗体诊断骨肉瘤的价值最大,其灵敏度为 27.45%、特异度为 96.08%、Youden 指数为 0.235 3、Kappa 值为 0.24。随着联合检测的 TAA 自身抗体种类增加,诊断的灵敏度逐渐增大、特异度逐渐减小。当联合检测抗 STMN1 自身抗体、抗 TPI1 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 ENO1 自身抗体和抗 HSP27 自身抗体 5 种血清 TAA 自身抗体时,诊断效果比较理想,对应的灵敏度为 60.78%、特异度为 80.39%、Youden 指数为 0.411 8、符合率为 70.59%、Kappa 值为 0.41。结论:联合检测抗 STMN1 自身抗体、抗 TPI1 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 ENO1 自身抗体和抗 HSP27 自身抗体 5 种血清 TAA 自身抗体,对骨肉瘤具有较高的诊断价值。

**关键词** 骨肉瘤;抗原,肿瘤;自身抗体;诊断;免疫学试验

## A study of the clinical value of combined detection on serum autoantibodies against tumor-associated antigens in the diagnosis of osteosarcomas

LUO Manli<sup>1</sup>, HUANG Manyu<sup>2</sup>, LI Dongsheng<sup>2</sup>, MA Yan<sup>2</sup>, ZHANG Yongyong<sup>2</sup>, LUO Yage<sup>2</sup>, LI Jitian<sup>2</sup>, DAI Liping<sup>1</sup>

1. School of Basic Medical Sciences of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan, China

2. Luoyang Orthopedic - Traumatological Hospital, Zhengzhou 450016, Henan, China

**ABSTRACT** **Objective:** To explore the clinical value of combined detection on serum autoantibodies against tumor associated antigens (TAA) in the diagnosis of osteosarcomas (OSs). **Methods:** The peripheral serum samples were collected from 51 OSs patients (OSs group) recruited from December 2013 to June 2016 and 51 healthy volunteers (healthy group) undergoing medical examination during the same period respectively. The serum levels of autoantibodies, including anti-enolase 1 (anti-ENO1), anti-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (anti-GAPDH), anti-heat shock protein 27 (anti-HSP27), anti-HSP60, anti-nucleophosmin 1 (anti-NPM1), anti-PDZ and LIM domain 1 (anti-PDLIM1), anti-stathmin 1 (anti-STMN1) and anti-triosephosphate isomerase 1 (anti-TPI1), were detected

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(2018ZYZD01);2019 年洛阳市科技计划医疗卫生项目(1930005A)

通讯作者:代丽萍 E-mail:lpdai@zzu.edu.cn

by using indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The clinical value of detection on the serum level of each anti-TAA autoantibody for diagnosis of OSs was calculated and evaluated based on the 95% reference range of the serum level of each anti-TAA autoantibody estimated unilaterally. According to the sort by diagnostic sensitivity from highest to lowest, starting from the autoantibody with the highest sensitivity in the diagnosis of OSs, one autoantibody with the next highest sensitivity was added each time, and the value of combined detection on corresponding anti-TAA autoantibodies in diagnosis of OSs was calculated and evaluated. **Results:** There were statistical difference in the serum levels of anti-ENO1, anti-GAPDH, anti-HSP27, anti-HSP60, anti-PDLIM1, anti-STMN1 and anti-TPI1 autoantibodies between the 2 groups ( $0.269 \pm 0.101$  vs  $0.202 \pm 0.113$ ,  $Z = -3.758$ ,  $P = 0.000$ ;  $0.145 \pm 0.037$  vs  $0.125 \pm 0.027$ ,  $Z = -3.477$ ,  $P = 0.001$ ;  $0.175 \pm 0.048$  vs  $0.164 \pm 0.027$ ,  $Z = -2.125$ ,  $P = 0.034$ ;  $0.174 \pm 0.048$  vs  $0.149 \pm 0.028$ ,  $Z = -2.871$ ,  $P = 0.004$ ;  $0.305 \pm 0.079$  vs  $0.288 \pm 0.068$ ,  $Z = -2.249$ ,  $P = 0.025$ ;  $0.188 \pm 0.082$  vs  $0.167 \pm 0.071$ ,  $Z = -2.041$ ,  $P = 0.041$ ;  $0.174 \pm 0.083$  vs  $0.159 \pm 0.040$ ,  $Z = -2.095$ ,  $P = 0.036$ ). There was no statistical difference in the serum level of anti-NPM1 autoantibody between the 2 groups ( $0.255 \pm 0.075$  vs  $0.260 \pm 0.064$ ,  $Z = -0.020$ ,  $P = 0.984$ ). The anti-STMN1 autoantibody presented with the maximum value in diagnosis of OSs among anti-ENO1, anti-GAPDH, anti-HSP27, anti-HSP60, anti-PDLIM1, anti-STMN1 and anti-TPI1 autoantibodies, with the sensitivity, specificity, Youden index and Kappa value as 27.45%, 96.08%, 0.235 3 and 0.24 respectively. With the increase of the number of anti-TAA autoantibodies, the diagnostic sensitivity gradually increased and the diagnostic specificity gradually decreased. The diagnostic effects were optimal when the combined detection was performed on serum autoantibodies of STMN1, TPI1, PDLIM1, ENO1 and HSP27 with the corresponding sensitivity, specificity, Youden index, total consistent rate and Kappa value as 60.78%, 80.39%, 0.4118, 70.59% and 0.41 respectively. **Conclusion:** The combined detection on serum autoantibodies of STMN1, TPI1, PDLIM1, ENO1 and HSP27 enjoys high clinical value in diagnosis of OSs.

**Keywords** osteosarcoma; antigens, neoplasm; autoantibodies; diagnosis; immunologic tests

骨肉瘤是 10 ~ 20 岁青少年最常发生的骨肿瘤<sup>[1]</sup>, 恶性度极高, 预后较差<sup>[2]</sup>。骨肉瘤的高致残率和死亡率在一定程度上可归因于缺乏有效的早期诊断手段。肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA) 抗体系统已被证实对多种肿瘤具有良好的诊断效能<sup>[3-7]</sup>。TAA 自身抗体的含量在癌变早期就已经增加<sup>[8]</sup>, 即使抗原含量很低<sup>[9]</sup>, 甚至已经被清除<sup>[10]</sup>, 对应自身抗体的含量依然很高且稳定<sup>[11]</sup>。但单个 TAA 自身抗体诊断骨肉瘤的准确性较差。为此, 本研究依据前期研究结果, 拟从抗烯醇化酶 1 (enolase 1, ENO1) 自身抗体、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 自身抗体、抗热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 27 自身抗体、抗 HSP60 自身抗体、抗核仁磷酸蛋白 1 (nucleophosmin 1, NPM1) 自身抗体、抗人 PDZ 和 LIM 域蛋白 1 (PDZ and LIM domain 1, PDLIM1) 自身抗体、抗重组人微管解聚蛋白 1 (stathmin 1, STMN1) 自身抗体和抗丙糖磷酸异构酶 1 (triosephosphate isomerase 1, TPI1) 自身抗体共 8 种血清 TAA 自身抗体中筛选一组 TAA 自身抗体组合, 联合检测以提高早期诊断骨肉瘤的准确率, 现总结报告如下。

## 1 临床资料

受试对象为 2013 年 12 月至 2016 年 6 月在河南

省洛阳正骨医院 (河南省骨科医院) 骨肿瘤科门诊就诊或住院治疗的骨肉瘤患者 (骨肉瘤组), 以及同时期在医院体检的健康志愿者 (健康组)。骨肉瘤组 51 例, 男 33 例、女 18 例。年龄 4 ~ 64 岁, 中位数 20 岁。所有骨肉瘤患者均结合临床表现、影像学及病理学检查结果确诊。患者就诊前未针对骨肉瘤进行放射治疗、化学药物治疗及手术治疗; 均不合并其他原发肿瘤及肝、肾、免疫系统疾病。健康组 51 例, 男 33 例、女 18 例。年龄 5 ~ 59 岁, 中位数 25 岁。试验方案经医院医学伦理委员会审查通过。

## 2 方法

**2.1 标本收集与处理** 试验所用血清为受试对象就诊或体检时保存的血清样本。清晨空腹状态下采集外周血, 标本收集后 30 min 内以  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min (离心半径 10 cm), 提取血清, 置于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱保存。此次试验抗体检测前, 于  $4^\circ\text{C}$  冰箱中缓慢解冻, 避免反复冻融。

**2.2 血清 TAA 自身抗体含量检测** 使用间接 ELISA 法检测所有受试对象血清中抗 ENO1 自身抗体、抗 GAPDH 自身抗体、抗 HSP27 自身抗体、抗 HSP60 自身抗体、抗 NPM1 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 STMN1 自身抗体、抗 TPI1 自身抗体等 8 种 TAA 自身抗体的含量。将各抗原用包被液稀释到  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 每

孔 100  $\mu\text{L}$  包被到酶标板上, 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。吸弃酶标板中的包被液, 每孔加入 2% 牛血清蛋白 200  $\mu\text{L}$ , 在室温下封闭 2 h。弃掉板中液体, 以 PBST (PBS 中加入 0.05% 的 Tween 20) 洗板 3 次。将研究对象的血清按 1:100 的比例稀释, 每孔 100  $\mu\text{L}$  包被在酶标板上, 37  $^{\circ}\text{C}$  半水浴孵育 1 h, 同时加入阴性和阳性血清作为对照, 空白对照孔中加入抗体稀释液。PBST 洗板 5 次, 拍干。以辣根过氧化物酶标记的山羊抗人 IgG (H+L) 作为二抗 (1:4000 稀释), 37  $^{\circ}\text{C}$  半水浴孵育 1 h, 再用 PBST 洗板 5 次。检测试剂采用 EL-ABTS 显色试剂盒, 显色液每孔 100  $\mu\text{L}$ , 避光条件下 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴 15 min 后加入终止液 50  $\mu\text{L}$ , 使用全酶标仪检测 405 nm 处的光密度值 (OD 值)。每种自身抗体检测 2 次, 最终结果取平均值。

**2.3 血清 TAA 自身抗体含量检测诊断骨肉瘤的结果评价** 按单侧估计各 TAA 自身抗体含量的 95% 参考值范围,  $\geq$  参考值即判定为骨肉瘤, 以此计算和评价各 TAA 自身抗体血清含量检测诊断骨肉瘤的价值。按诊断的灵敏度由高到低排序, 从灵敏度最高的自身抗体开始, 每次增加 1 种灵敏度排名次一位的自身抗体, 计算和评价对应的 TAA 自身抗体联合检测诊断骨肉瘤的价值。

**2.4 数据统计** 采用 SPSS21.0 软件进行数据统计分析, 2 组受试对象血清 TAA 自身抗体含量的组间比较均采用 Mann-Whitney U 检验, 检验水准  $\alpha=0.05$ 。

### 3 结果

#### 3.1 血清 TAA 自身抗体含量检测结果 2 组受试对

表 1 2 组受试对象 8 种肿瘤相关抗原自身抗体血清含量

组别	样本量/例	抗 ENO1 <sup>1)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )	抗 GAPDH <sup>2)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )	抗 HSP27 <sup>3)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )	抗 HSP60 <sup>4)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )
骨肉瘤组	51	0.269 $\pm$ 0.101	0.145 $\pm$ 0.037	0.175 $\pm$ 0.048	0.174 $\pm$ 0.048
健康组	51	0.202 $\pm$ 0.113	0.125 $\pm$ 0.027	0.164 $\pm$ 0.027	0.149 $\pm$ 0.028
检验效能		0.977	0.875	0.822	0.417
Z 值		-3.758	-3.477	-2.125	-2.871
P 值		0.000	0.001	0.034	0.004
组别		抗 NPM1 <sup>5)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )	抗 PDLIM1 <sup>6)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )	抗 STMN1 <sup>7)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )	抗 TPI1 <sup>8)</sup> 自身抗体 ( $M \pm Q$ )
骨肉瘤组		0.255 $\pm$ 0.075	0.305 $\pm$ 0.079	0.188 $\pm$ 0.082	0.174 $\pm$ 0.083
健康组		0.260 $\pm$ 0.064	0.288 $\pm$ 0.068	0.167 $\pm$ 0.071	0.159 $\pm$ 0.040
检验效能		0.053	0.906	0.653	0.808
Z 值		-0.020	-2.249	-2.041	-2.095
P 值		0.984	0.025	0.041	0.036

1) 烯醇化酶 1; 2) 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; 3) 热休克蛋白 27; 4) 热休克蛋白 60; 5) 核仁磷酸蛋白 1; 6) 人 PDZ 和 LIM 域蛋白 1; 7) 重组人微管解聚蛋白 1; 8) 丙糖磷酸异构酶 1。

象血清中抗 ENO1 自身抗体、抗 GAPDH 自身抗体、抗 HSP27 自身抗体、抗 HSP60 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 STMN1 自身抗体和抗 TPI1 自身抗体含量比较, 组间差异均有统计学意义; 2 组受试对象血清中抗 NPM1 自身抗体含量比较, 差异无统计学意义 (表 1)。

**3.2 血清 TAA 自身抗体含量检测诊断骨肉瘤的结果** 除抗 NPM1 自身抗体之外的 7 种 TAA 自身抗体中, 抗 STMN1 自身抗体诊断骨肉瘤的价值最大, 其灵敏度为 27.45%、特异度为 96.08%、Youden 指数为 0.2353、Kappa 值为 0.24 (表 2)。随着联合检测的 TAA 自身抗体种类增加, 诊断的灵敏度逐渐增大、特异度逐渐减小, 当联合检测抗 STMN1 自身抗体、抗 TPI1 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 ENO1 自身抗体和抗 HSP27 自身抗体 5 种血清 TAA 自身抗体时, 诊断效果比较理想, 对应的灵敏度为 60.78%、特异度为 80.39%、Youden 指数为 0.411 8、符合率为 70.59%、Kappa 值为 0.41 (表 3)。

### 4 讨论

由于骨肉瘤具有较高的致残率和死亡率, 因此早期诊断非常重要<sup>[12]</sup>。自身抗体作为一种自身免疫现象已经在许多研究中被应用, 可作为疾病早期筛查的一种有效手段<sup>[13-14]</sup>。根据前期研究结果, 本研究采用间接 ELISA 法检测抗 ENO1 自身抗体、抗 GAPDH 自身抗体、抗 HSP27 自身抗体、抗 HSP60 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 STMN1 自身抗体、抗 TPI1 自身抗体和抗 NPM1 自身抗体的血清含量。其中前 7 种

表 2 7 种肿瘤相关抗原自身抗体血清含量检测诊断骨肉瘤的结果

自身抗体	诊断为阳性/例		灵敏度/%	特异度/%	Youden 指数	Kappa 值
	骨肉瘤组	健康组				
抗 ENO1 <sup>1)</sup> 自身抗体	8	2	15.68	96.08	0.117 6	0.12
抗 GAPDH <sup>2)</sup> 自身抗体	3	2	5.88	96.08	0.019 6	0.02
抗 HSP27 <sup>3)</sup> 自身抗体	7	2	13.73	96.08	0.098 0	0.10
抗 HSP60 <sup>4)</sup> 自身抗体	1	2	1.96	96.08	-0.019 6	-0.02
抗 PDLIM1 <sup>5)</sup> 自身抗体	12	2	23.53	96.08	0.196 1	0.20
抗 STMN1 <sup>6)</sup> 自身抗体	14	2	27.45	96.08	0.235 3	0.24
抗 TPII <sup>7)</sup> 自身抗体	13	5	25.49	90.20	0.156 9	0.16
自身抗体	阳性似然比	阴性似然比	阳性预测值/%	阴性预测值/%	符合率/%	
抗 ENO1 <sup>1)</sup> 自身抗体	4.00	0.88	80.00	53.26	55.88	
抗 GAPDH <sup>2)</sup> 自身抗体	1.50	0.98	60.00	50.52	50.98	
抗 HSP27 <sup>3)</sup> 自身抗体	3.50	0.90	77.78	52.69	54.90	
抗 HSP60 <sup>4)</sup> 自身抗体	0.50	1.02	33.33	49.49	49.02	
抗 PDLIM1 <sup>5)</sup> 自身抗体	6.00	0.80	85.71	55.68	59.80	
抗 STMN1 <sup>6)</sup> 自身抗体	7.00	0.76	87.50	56.98	61.76	
抗 TPII <sup>7)</sup> 自身抗体	2.60	0.83	72.22	54.76	57.84	

1) 烯醇化酶 1; 2) 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; 3) 热休克蛋白 27; 4) 热休克蛋白 60; 5) 人 PDZ 和 LIM 域蛋白 1; 6) 重组人微管解聚蛋白 1; 7) 丙糖磷酸异构酶 1。

表 3 多种肿瘤相关抗原自身抗体血清含量联合检测诊断骨肉瘤的结果

自身抗体	诊断为阳性/例		灵敏度/%	特异度/%	Youden 指数	Kappa 值
	骨肉瘤组	健康组				
1) 2)	22	4	43.14	92.16	0.352 9	0.35
1) 2) 3)	27	6	52.94	88.24	0.411 8	0.41
1) 2) 3) 4)	28	8	54.90	84.31	0.392 2	0.39
1) 2) 3) 4) 5)	31	10	60.78	80.39	0.411 8	0.41
1) 2) 3) 4) 5) 6)	32	11	62.75	78.43	0.411 8	0.41
1) 2) 3) 4) 5) 6) 7)	32	13	62.75	74.51	0.372 5	0.37
自身抗体	阳性似然比	阴性似然比	阳性预测值/%	阴性预测值/%	符合率/%	
1) 2)	5.50	0.62	84.62	61.84	67.65	
1) 2) 3)	4.50	0.53	81.82	65.22	70.59	
1) 2) 3) 4)	3.50	0.53	77.78	65.15	69.61	
1) 2) 3) 4) 5)	3.10	0.49	75.61	67.21	70.59	
1) 2) 3) 4) 5) 6)	2.91	0.48	74.42	67.80	70.59	
1) 2) 3) 4) 5) 6) 7)	2.46	0.50	71.11	66.67	68.63	

1) 抗重组人微管解聚蛋白 1 自身抗体; 2) 抗丙糖磷酸异构酶 1 自身抗体; 3) 抗人 PDZ 和 LIM 域蛋白 1 自身抗体; 4) 抗烯醇化酶 1 自身抗体; 5) 抗热休克蛋白 27 自身抗体; 6) 抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶自身抗体; 7) 抗热休克蛋白 60 自身抗体。

TAA 自身抗体的血清含量在骨肉瘤组和健康组之间的差异有统计学意义。然而, 单一的 TAA 自身抗体诊断骨肉瘤的价值有限。基于此, 本研究对各 TAA 自身抗体联合检测诊断骨肉瘤的效果进行了评价, 当联合检测抗 STMN1 自身抗体、抗 TPII 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 ENO1 自身抗体和抗 HSP27 自身抗体等 5 种血清 TAA 自身抗体时的诊断效果较为理想, 对应的灵敏度为 60.78%、特异度为 80.39%、Youden 指数为 0.4118、符合率为 70.59%、Kappa 值

为 0.41。

STMN1 作为一种在多种肿瘤中均存在的胞浆磷酸蛋白, 其在骨肉瘤组织中的含量可用于判断骨肉瘤的预后<sup>[15]</sup>。Chen 等<sup>[16]</sup>的研究发现, 包含 TPII 和 ENO1 基因的一组标志物可以诊断骨肉瘤。一项关于 PDLIM1 自身抗体和乳腺癌的研究表明, 高滴度的抗 PDLIM1 自身抗体在乳腺癌病例组中显著高于对照组<sup>[17]</sup>。Moon 等<sup>[18]</sup>的研究表明, HSP27 可作为鉴别常规骨肉瘤与低级别中心型骨肉瘤的标志物, 也可作为

骨肉瘤的一个潜在预后标志物。

Gao 等<sup>[19]</sup>的研究表明,通过几种循环 miRNAs 的组合诊断骨肉瘤具有较高的准确性,其灵敏度、特异度和 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)分别为 79%、89% 和 0.90,但循环 miRNAs 的检测对样本的处理要求较高。截至目前,尚未见到应用自身抗体组合早期诊断骨肉瘤的研究报道。但在针对其他类型肿瘤的研究中,联合检测自身抗体被证明具有较高的诊断价值。Wang 等<sup>[20]</sup>找到了 9 种自身抗体(V-Ral 猴白血病病毒癌基因同源物 A、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2、肿瘤抑制蛋白 53、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3、蛋白磷酸酶 2A 癌抑制因子、细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子、癌基因 c-Myc 结合蛋白、 $\alpha 2$ -HS 糖蛋白、14-3-3 蛋白 zeta)作为诊断卵巢癌的最佳组合,其灵敏度和特异度分别为 61.4% 和 85.0%,当结合临床上常用的糖类抗原 125 时,其灵敏度、特异度和 AUC 分别达到 94.7%、78.2% 和 0.914。Zhang 等<sup>[21]</sup>选择了一组包括 4 种抗体的组合,这个组合在诊断食管癌的训练集中的 AUC 为 0.838、在验证集中 AUC 为 0.872,具有较高的诊断效能。Wang 等<sup>[22]</sup>的研究发现,胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2、癌基因 c-Myc 结合蛋白、核仁磷酸蛋白 1、14-3-3 蛋白 zeta、鼠双微体 2 蛋白和细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子等 6 种自身抗体的组合对胃癌尤其是早期胃癌具有较高的诊断价值,在训练集中 AUC 为 0.841、在验证集中 AUC 为 0.856。基于这些研究,早期使用自身抗体的组合来诊断骨肉瘤是完全可行的。

本研究的结果提示,联合检测抗 STMN1 自身抗体、抗 TPI1 自身抗体、抗 PDLIM1 自身抗体、抗 ENO1 自身抗体和抗 HSP27 自身抗体 5 种血清 TAA 自身抗体,对骨肉瘤具有较高的诊断价值。本研究的局限性在于纳入的骨肉瘤患者较少,今后应增加样本以进一步验证该诊断方案的可靠性。

### 参考文献

- [1] WARD E, DESANTIS C, ROBBINS A, et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(2): 83-103.
- [2] JAFARI F, JAVDANSIRAT S, SANAIE S, et al. Osteosarcoma: a comprehensive review of management and treatment strategies [J]. Ann Diagn Pathol, 2020, 49: 151654.
- [3] WANG K, LI M, QIN J, et al. Serological biomarkers for early detection of hepatocellular carcinoma: a focus on autoantibodies against tumor-associated antigens encoded by cancer driver genes [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(5): 1271.
- [4] QIN J, WANG S, SHI J, et al. Using recursive partitioning approach to select tumor-associated antigens in immunodiagnosis of gastric adenocarcinoma [J]. Cancer Sci, 2019, 110(6): 1829-1841.
- [5] MA Y, WANG X, QIU C, et al. Using protein microarray to identify and evaluate autoantibodies to tumor-associated antigens in ovarian cancer [J]. Cancer Sci, 2021, 112(2): 537-549.
- [6] JIANG D, WANG Y, LIU M, et al. A panel of autoantibodies against tumor-associated antigens in the early immunodiagnosis of lung cancer [J]. Immunobiology, 2020, 225(1): 151848.
- [7] ZHANG L, DONG B, REN P F, et al. Circulating plasma microRNAs in the detection of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 3303-3318.
- [8] ZAYAKIN P, ANCANS G, SILINA K, et al. Tumor-associated autoantibody signature for the early detection of gastric cancer [J]. Int J Cancer, 2013, 132(1): 137-147.
- [9] LU H, GOODELL V, DISIS M L. Humoral immunity directed against tumor-associated antigens as potential biomarkers for the early diagnosis of cancer [J]. J Proteome Res, 2008, 7(4): 1388-1394.
- [10] ANDERSON K S, CRAMER D W, SIBANI S, et al. Autoantibody signature for the serologic detection of ovarian cancer [J]. J Proteome Res, 2015, 14(1): 578-586.
- [11] ZHANG H F, QIN J J, REN P F, et al. A panel of autoantibodies against multiple tumor-associated antigens in the immunodiagnosis of esophageal squamous cell cancer [J]. Cancer Immunol Immunother, 2016, 65(10): 1233-1242.
- [12] WAFA H, GRIMER R J. Surgical options and outcomes in bone sarcoma [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2006, 6(2): 239-248.
- [13] YANG Q, QIN J, SUN G, et al. Discovery and validation of serum autoantibodies against tumor-associated antigens as biomarkers in gastric adenocarcinoma based on the focused protein arrays [J]. Clin Transl Gastroenterol, 2020, 12(1): e00284.
- [14] SUN G, YE H, WANG X, et al. Identification of novel autoantibodies based on the protein chip encoded by cancer-driving genes in detection of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Oncoimmunology, 2020, 9(1): 1814515.
- [15] ZHAO C, LI H L, WANG L, et al. An immunohistochemical

- study of stathmin 1 expression in osteosarcoma shows an association with metastases and poor patient prognosis [J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 6070 - 6078.
- [16] CHEN K, ZHU C, CAI M, et al. Integrative metabolome and transcriptome profiling reveals discordant glycolysis process between osteosarcoma and normal osteoblastic cells [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(10): 1715 - 1721.
- [17] GUPTA P, SUMAN S, MISHRA M, et al. Autoantibodies against TYMS and PDLIM1 proteins detected as circulatory signatures in Indian breast cancer patients [J]. Proteomics Clin Appl, 2016, 10(5): 564 - 573.
- [18] MOON A, BACCHINI P, BERTONI F, et al. Expression of heat shock proteins in osteosarcomas [J]. Pathology, 2010, 42(5): 421 - 425.
- [19] GAO S S, WANG Y J, ZHANG G X, et al. Potential diagnostic value of miRNAs in peripheral blood for osteosarcoma: a meta-analysis [J]. J Bone Oncol, 2020, 23: 100307.
- [20] WANG P, QIN J, YE H, et al. Using a panel of multiple tumor-associated antigens to enhance the autoantibody detection in the immunodiagnosis of ovarian cancer [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 3091 - 3100.
- [21] ZHANG L, WANG H, DONG X. Diagnostic value of  $\alpha$ -enolase expression and serum  $\alpha$ -enolase autoantibody levels in lung cancer [J]. J Bras Pneumol, 2018, 44(1): 18 - 23.
- [22] WANG S, QIN J, YE H, et al. Using a panel of multiple tumor-associated antigens to enhance autoantibody detection for immunodiagnosis of gastric cancer [J]. Oncoimmunology, 2018, 7(8): e1452582.

(收稿日期: 2021-01-21 本文编辑: 李晓乐)

## · 作者须知 ·

### 论文中对数据进行统计学处理时需要注意的问题

**1 对基线资料进行统计学分析** 搜集资料应严格遵守随机抽样设计, 保证样本从同质的总体中随机抽取, 除了对比因素外, 其他可能影响结果的因素应尽可能齐同或基本接近, 以保证组间的齐同可比性。因此, 应对样本的基线资料进行统计学分析, 以证明组间的齐同可比性。

**2 选择正确的统计检验方法** 研究目的不同、设计方法不同、资料类型不同, 选用的统计检验方法则不同。例如: 2 组计量资料的比较应采用  $t$  检验; 而多组 ( $\geq 3$  组) 计量资料的比较应采用方差分析 (即  $F$  检验), 如果组间差异有统计学意义, 想了解差异存在于哪两组之间, 再进一步做  $q$  检验或 LSD- $t$  检验。许多作者对多组计量资料进行比较时采用两两组间  $t$  检验的方法是错误的。又如: 等级资料的比较应采用 Ridit 分析或秩和检验或行平均得分差检验。许多作者对等级资料进行比较时采用卡方检验的方法是错误的。

**3 假设检验的推断结论不能绝对化** 假设检验的结论是一种概率性的推断, 无论是拒绝  $H_0$  还是不拒绝  $H_0$ , 都有可能发生错误 (I 型错误和 II 型错误)。因此, 假设检验的推断结论不能绝对化。

**4  $P$  值的大小并不表示实际差别的大小** 研究结论包括统计结论和专业结论两部分。统计结论只说明有无统计学意义, 而不能说明专业上的差异大小。 $P$  值的大小不能说明实际效果的“显著”或“不显著”。统计结果的解释和表达, 应说对比组之间的差异有 (或无) 统计学意义, 而不能说对比组之间有 (或无) 显著的差异。 $P \leq 0.01$  比  $P \leq 0.05$  更有理由拒绝  $H_0$ , 并不表示  $P \leq 0.01$  时比  $P \leq 0.05$  时实际差异更大。只有将统计结论和专业知识有机地结合起来, 才能得出恰如其分的研究结论。若统计结论与专业结论一致, 则最终结论也一致; 若统计结论与专业结论不一致, 则最终结论需根据专业知识而定。判断被试因素的有效性时, 要求在统计学上和专业上都有意义。

**5 假设检验的结果表达**  $P$  值传统采用 0.05 和 0.01 这 2 个界值, 现在提倡给出  $P$  的具体数值和检验统计量的具体数值 (小数点后保留 3 位有效数字), 主要理由是: ①以前未推广统计软件之前, 需要通过查表估计  $P$  值, 现在使用统计软件会自动给出具体的  $P$  值和检验统计量的具体值 ( $t$  值、 $F$  值、 $\chi^2$  值等)。②方便根据具体情况判断问题。例如  $P = 0.051$  与  $P = 0.049$  都是小概率, 不能简单地断定  $P = 0.051$  无统计学意义而  $P = 0.049$  有统计学意义。③便于对同类研究结果进行综合分析。

**6 统计学符号的使用** 统计学符号的使用应按照 GB 3358—82《统计名词及符号》的规定, 具体可参阅本刊投稿须知中的有关要求。