

· 临床检验研究论著 ·

硫氧还蛋白还原酶活性检测试剂盒在恶性肿瘤辅助诊断中的价值

罗 钰^{1,3#}, 马微微^{1,5#}, 杨 晶², 吴 琳², 李月琴², 赵友云⁴, 曾慧慧^{1,5△}

(1. 北京大学天然药物与仿生药物国家重点实验室, 北京 100191; 2. 武汉凯熙医学检验所, 武汉 430000;
3. 天津国际生物医药联合研究院, 天津 300457; 4. 湖北中医药大学附属医院检验科,
武汉 430000; 5. 北京大学药学院, 北京 100191)

摘要:目的 探讨硫氧还蛋白还原酶(TR)活性检测试剂盒在恶性肿瘤辅助诊断中的价值。方法 检测不同地区、不同检测机构 1 122 例健康人群 TR 活性, 差异有无统计学意义; 检测 84 例恶性肿瘤患者 TR 活性, 与健康人群比较, 差异有无统计学意义, 通过 ROC 曲线对检测结果进行分析评价。结果 北京体检机构的 TR 活性均值为 (2.6 ± 4.1) U/mL, 武汉体检机构的 TR 活性均值为 (2.6 ± 3.7) U/mL, 湖北中医药大学附属医院的 TR 活性均值为 (2.4 ± 3.5) U/mL, 各组间 TR 活性水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 肿瘤组 TR 活性均值为 (9.2 ± 6.4) U/mL, 健康组 TR 活性为 (2.5 ± 3.7) U/mL, 两者间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。固定健康组和肿瘤组的样本比例为 4 : 1, 不同的样本量间 TR 活性差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。ROC 曲线下面积为 0.812 ± 0.029 。结论 组间均数比较 U 检验和 ROC 曲线评价均显示, TR 活性检测试剂盒用于与异常增生密切相关的肿瘤生长的临床血样检测具有重要的实用价值。

关键词: 肿瘤标志物; 硫氧还蛋白还原酶; 试剂盒, 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.018

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)13-1580-02

Clinical value of Thioredoxin Reductase Detection Kit for diagnosis of cancers

Luo Yu^{1,3#}, Ma Weiwei^{1,5#}, Yang Jing², Wu Lin², Li Yueqin², Zhao Youyun⁴, Zeng Huihui^{1,5△}

(1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing, 100191, China; 2. KEAISE Medical Test Center, Wuhan, Hubei 430000, China; 3. Tianjin International Joint Academy of Biotechnology and Medicine, Tianjin 300457, China; 4. Department of Medical Laboratory, Hubei University of Chinese Medicine Hospital, Wuhan, Hubei 430000, China; 5. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical value of Thioredoxin Reductase (TR) Detection Kit for diagnosis of cancers. **Methods** Serum levels of TR were detected by TR Detection Kit in 1 122 healthy subjects from different regions and medical institutions and 84 patients with different cancers. Differences of the detected results between each group were compared and ROC curve was prepared to evaluate the specificity and sensitivity of this detection. **Results** Serum levels of TR in the three healthy subgroups were (2.6 ± 4.1) , (2.6 ± 3.7) and (2.4 ± 3.5) U/mL, with no statistical difference between the three subgroups ($P > 0.05$), and the difference was barely significant between 3 samples with fixed ratio ($P < 0.05$). Serum levels of TR in cancer group was (9.2 ± 6.4) U/mL, with statistical difference with the (2.5 ± 3.7) U/mL in healthy group ($P < 0.05$). There was no statistical difference between The area under ROC curve was 0.812 ± 0.029 . **Conclusion** Detection of TR by TR Detection Kit could be valuable for clinical diagnosis of cancers.

Key words: tumor marker; thioredoxin reductase; reagent kits, diagnostic

癌症的早期发现可以使 1/3 的癌症得到根治, 但早期诊断癌症仍然面临许多问题^[1]。迅速发展的针对肿瘤病因过程的多种基因或蛋白的分子检测, 提供了许多肿瘤早期诊断的思路, 但是针对肿瘤最为本质的异常增生的检测标志物还未见报道和使用^[2]。大量研究表明, 硫氧还蛋白还原酶 (TR) 在多种人原发性肿瘤中过表达, 是肿瘤异常增生的关键调控酶^[3-6], 该酶活性与体内异常增生状态具有直接相关性, 因此检测该酶在人体内的活性可以监测体内的异常增生水平, 进而监测异常增生的疾病发生和状态。在肿瘤标志物检测上由于异常增生是肿瘤的共性特征, 且相比癌症蛋白表达出现提前, 因此异常增生标志物比现有的临床应用的肿瘤表达类蛋白肿瘤标志物具有广谱性和提前时效性特点, 是肿瘤预警比较理想的标志物类别。本研究首次采用“TR 活性检测试剂盒”对不同地区健康人群及健康人群和肿瘤人群血中 TR 活性水平进行检测比较分析, 发现健康人群和肿瘤人群 TR 活性水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

1 资料与方法

1.1 一般资料 肿瘤组: 湖北中医药大学附属医院 84 例, 其中男性 39 例, 女性 45 例; 年龄 26~88 岁, 平均 60 岁, 均为 CT、B 超、内窥镜、病理或细胞学等检查确诊的肺癌、肝癌、结肠直肠癌、食道癌、胃癌、乳腺癌等恶性肿瘤患者, 其中以肺癌患者为主。健康组: 共 1 122 例, 北京体检机构 282 例, 其中男性 101 例, 女性 181 例; 年龄 14~78 岁, 平均 46 岁。武汉体检机构 286 例, 其中男性 107 例, 女性 179 例; 年龄 15~75 岁, 平均 35 岁。湖北中医药大学附属医院 554 例, 其中男性 331 例, 女性 223 例; 年龄 19~83 岁, 平均 42 岁。健康组均为同期健康体检者, 无任何已知的良性或恶性疾病。

1.2 方法 常规体检取血浆 1~1.5 mL, 试剂盒酶标仪检测 (Thermo Scientific 公司 Multiskan Mk3)。TR 活性检测试剂盒由武汉尚宜康健科技有限公司生产 (批号 20110901), 通过检测 TR 单位时间内催化 DTNB 的量来反映该酶活性。检测过程严格参照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件分析。检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 方差比较采用 *F* 检验, 均数比较采用 *U* 检验(大样本)。

2 结 果

2.1 不同地区的健康组间 TR 活性比较 北京慈铭体检中心的 TR 活性均值为(2.6±4.1)U/mL, 武汉慈铭体检中心的 TR 活性均值为(2.6±3.7)U/mL, 湖北中医药大学附属医院的 TR 活性均值为(2.4±3.5)U/mL, 各组间 TR 活性水平差异无统计学意义(*P*>0.05), 见表 1。

表 1 不同地区的健康组间 TR 活性水平

组别	TR (U/mL)	95%的置信区间		U 检验
		下限	上限	
北京体检机构(A)	2.6±4.1	2.1	3.1	<i>P</i> =0.717(总体)
				<i>P</i> =0.959(自身)
				<i>P</i> =0.935(<i>vs</i> B)
				<i>P</i> =0.407(<i>vs</i> C)
武汉体检机构(B)	2.6±3.7	2.2	3.0	<i>P</i> =0.601(总体)
				<i>P</i> =0.947(自身)
				<i>P</i> =0.935(<i>vs</i> A)
				<i>P</i> =0.334(<i>vs</i> C)
湖北中医药大学附属医院(C)	2.4±3.5	2.1	2.7	<i>P</i> =0.358(总体)
				<i>P</i> =0.805(自身)
				<i>P</i> =0.407(<i>vs</i> A)
				<i>P</i> =0.334(<i>vs</i> B)

2.2 大样本健康组和肿瘤组混合 TR 活性比较 固定健康组和肿瘤组的样本比例为 4 : 1, 不断扩大样本量, *U* 检验结果显示各组间 TR 活性差异无统计学意义(*P*>0.05), 见表 2。

表 2 大样本健康组和肿瘤组混合 TR 活性水平

总样本量	健康组 : 肿瘤组	TR(U/mL)	U 检验
250(A)	200 : 50	3.3±5.3	<i>P</i> =0.871(总体)
			<i>P</i> =0.891(自身)
			<i>P</i> =0.632(<i>vs</i> B)
			<i>P</i> =0.907(<i>vs</i> C)
375(B)	300 : 75	3.6±5.2	<i>P</i> =0.576(总体)
			<i>P</i> =0.856(自身)
			<i>P</i> =0.632(<i>vs</i> A)
			<i>P</i> =0.668(<i>vs</i> C)
420(C)	336 : 84	3.4±5.1	<i>P</i> =0.981(总体)
			<i>P</i> =0.981(自身)
			<i>P</i> =0.907(<i>vs</i> A)
			<i>P</i> =0.668(<i>vs</i> B)

2.3 肿瘤组和健康组 TR 活性比较 肿瘤组的 TR 均值为(9.2±6.4)U/mL, 健康组的 TR 均值为(2.5±3.7)U/mL, 两者间差异有统计学意义(*P*<0.05), 见表 3。

表 3 肿瘤组和健康组 TR 活性水平

组别	样本 (n)	TR (U/mL)	95%的置信区间		U 检验
			下限	上限	
肿瘤组	84	9.2±6.4	7.8	10.6	<i>P</i> <0.01
健康组	1 122	2.5±3.7	2.3	2.7	差异有统计学意义

2.4 ROC 曲线分析 ROC 曲线是肿瘤标志物临床应用中一种全面、准确评价诊断试剂的非常有效的方法, 它是以诊断实验的敏感度为纵坐标, 以 1-特异性为横坐标作图所得到的曲线, 可很好地表示出检测项目的敏感性和特异性之间的相互关系。本实验以 TR 活性水平为检验变量, 以临床诊断结果为状态变量, 利用 SPSS19.0 中的非参数检验 ROC 曲线功能绘制 ROC 曲线图, 曲线下面积为 0.812±0.029, 见图 1。

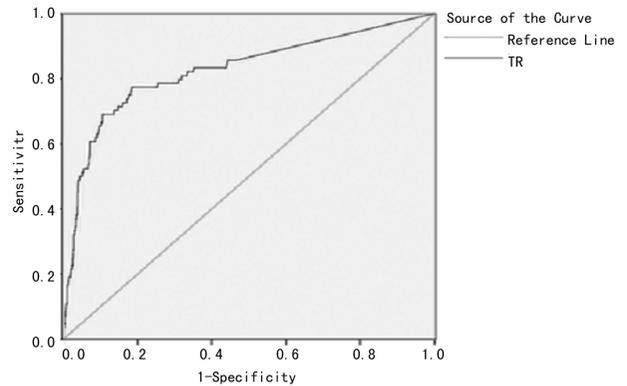


图 1 TR 的 ROC 曲线图

3 讨 论

TR 可在多种肿瘤细胞中表达, 由肿瘤细胞分泌并刺激肿瘤细胞生长, 同时阻止其程序性细胞死亡, 其活性与肿瘤异常增生密切相关。

研究表明, 不同地区和检测机构的健康人群中 TR 活性水平范围为 2.4~2.6 U/mL, 组间差异无统计学意义(*P*>0.05), 而肿瘤人群 TR 活性水平为(9.2±6.4)U/mL, 肿瘤组和健康组间差异有统计学意义(*P*<0.05)。说明肿瘤患者 TR 活性水平总体高于健康人群, 与国际上大量研究报道的 TR 水平在肿瘤组织中比正常组织中高好几倍的结论一致^[3-6]。研究说明检测血样中 TR 活性作为临床普查肿瘤的方法具有一定的应用价值。

目前评估肿瘤标志物的诊断价值常以 95% 健康者的测定值设为参考值^[7], 本研究对于同一机构样本按照健康组 : 肿瘤组 = 4 : 1, 研究了 TR 在大样本健康组和肿瘤组混合时 TR 活性水平, 发现 TR 活性在 3.3~3.6 U/mL 范围, 见表 2, 且当扩大样本量时, 各组间 TR 活性差异无统计学意义(*P*>0.05), 说明当把样本量无限放大时, 各组间 TR 活性依然差异无统计学意义(*P*>0.05), 可以保证低于 4 U/mL 水平, 因此, 将随机人群 TR 活性上限推荐值定为 4 U/mL。

ROC 曲线是美国国家临床实验室标准化委员会于 1995 年批准用作实验室实验的临床准确性评价的准则, 根据 Swets 的判断标准, 面积在 0.5 以下时无诊断价值; 面积在 0.5~0.7 时有较低的准确性; 面积在 0.7~0.9 时有较高的准确性; 面积在 0.9 以上时准确性最高^[8]。本研究数据的 ROC 曲线研究发现, 其对应面积为 0.812±0.029, 说明与临床诊断相比, 本方法具有较高的诊断价值。由于本方法采用的金标准为临床 CT 或者病理诊断, 而此标准为目前最高诊断标准, 且仅针对人血样本, 具有方便和简捷特点。因此, TR 活性检测试剂盒用于与异常增生密切相关的肿瘤生长的临床血样检测具有重要的实用价值。

由于目前国内外尚无同类产品用于临床人组织细胞异常增生评价, TR 活性在健康人群和肿瘤人群差异有统计学意义, 因此, 该检测手段具有重要的应用价值。由于肿瘤具有多环节和多靶点性特点, 因此, 结合其他分子标(下转第 1583 页)

果提示汇总分析后脑梗死患者血浆纤维蛋白原水平高于对照组。

2.3 发表偏倚的分析 使用 STATA10.0 软件对入组文献进行 Begg 和 Egger 检验。Begg 法产生的漏斗图,提示无明显发表偏倚, $pr > |Z| = 0.3 > 0.05$, Egger 法检测结果中 $P > |t| = 0.131 > 0.05$,进一步证实本研究不存在发表偏倚。

2.4 敏感性分析 对应用固定效应模型、去除小样本资料及去除质量相对较差的资料分别进行比较,结果见表 2。多角度敏感性分析结果总体趋向一致,说明合并结果稳定可靠。

表 2 敏感性分析结果

研究方法	文献(n)	比值比 OR(95%CI)
随机效应模型	13	1.26(0.89~1.63)
固定效应模型	13	1.30(1.22~1.37)
去除小样本资料	11	1.11(0.87~1.35)
去除质量较差资料	11	1.28(0.87~1.69)

3 讨论

纤维蛋白原即凝血因子 I,由肝脏合成和分泌,相对分子质量 340×10^3 。早在 20 世纪 80 年代初期,人们就通过临床观察指出纤维蛋白原是心脑血管疾病的一种危险因素^[14]。高浓度纤维蛋白原可刺激内皮细胞,直接损害血管壁;还会刺激平滑肌细胞增生迁移,损害患者的内皮功能。血浆纤维蛋白原浓度升高会增加血液黏稠度,使血小板聚集性增强,其与血小板膜表面糖蛋白 II b/III a 结合,使血小板发生黏附、聚集反应,加快动脉硬化的速度,从而形成血栓。许多研究证实,血浆纤维蛋白原水平高者,血栓形成、斑块破裂的发生率也明显升高^[15]。

Meta 分析是对具有相同研究目的的多个独立研究结果进行整合后进行系统分析的一种研究方法,在增大样本量的同时,使得研究结果的准确性得以提高。但 Meta 分析不可避免地受到各种因素的影响,如论文的发表偏倚、实验方法的差异、数据的真实性、地区差异等。本文对入选文献进行了严格的筛选(入选文献中脑梗死患者符合全国第四届脑血管病学术会议修订的诊断标准,并经头颅 CT 或磁共振成像检查证实,且实验设计相似),较好地保证了临床同质性,且经 Begg 法及 Egger 法检验证实无发表偏倚,多角度的敏感性分析结果稳定。因此,结果可靠可以认为脑梗死患者血浆纤维蛋白原水平高于对

照组,通过纤维蛋白原的测定,或许可以对高危患者进行早期干预来预防脑梗死的发生。

参考文献

- [1] 司力,卢敏,杨白侠.急性脑梗死患者 D-二聚体、纤维蛋白原及血小板参数的变化[J].血栓与止血学,2005,11(6):260-262.
- [2] 辛颖.急性脑梗死患者抗凝血酶Ⅲ、D-二聚体、血小板聚集和纤维蛋白原的测定[J].临床合理用药,2009,2(4):15-16.
- [3] 张爱民.急性脑梗死患者血浆 D-二聚体、纤维蛋白原及全血血小板数的检测及意义[J].陕西医学杂志,2010,39(4):489-490.
- [4] 尹长林,高宗良,司力.急性脑梗死患者血浆 D-二聚体与纤维蛋白原的变化[J].中国临床保健杂志,2004,7(5):349-350.
- [5] 李凤山,王振海,刁士元.急性脑梗死患者血浆纤维蛋白原和 C 反应蛋白水平的改变及其与病情和预后的关系[J].临床神经病学杂志,2008,21(2):100-102.
- [6] 张蓓蓓,齐杰玉.急性脑梗死患者血浆纤维蛋白原和 D-二聚体水平的变化[J].中国动脉硬化杂志,2009,17(4):321-322.
- [7] 史亚丽.急性脑梗死与超敏 C 反应蛋白及纤维蛋白原关系的临床研究[J].临床和实验医学杂志,2009,8(5):11-12.
- [8] 孙岩,张清艳,朱文彦.老年多发性脑梗死、冠心病及高血压患者纤维蛋白原和血红蛋白水平的观察[J].中国老年学杂志,2007,27(27):1275-1277.
- [9] 李馨,何奇檀.脑梗死患者血浆纤维蛋白原与脂蛋白(a)水平分析[J].广西医学,2010,32(4):426-427.
- [10] 张宏红.脑梗死与 D-二聚体及纤维蛋白原关系临床分析[J].中国医药指南,2009,7(13):53-54.
- [11] 张小平,胡豫,杨焰.脑梗死与 D-二聚体/纤维蛋白原比值的关系[J].临床血液学杂志,2006,19(4):216-217.
- [12] 袁媛.血浆 D-二聚体及纤维蛋白原含量的测定对急性脑梗死临床意义[J].中国社区医师,2010,12(29):166.
- [13] 胡玲玲,顾俊泉.尿酸、纤维蛋白原、超敏 C 反应蛋白与急性脑梗死的关系[J].中国微循环,2007,11(4):259-261.
- [14] 赵怡雯,王海燕,姚桂玲.心脑血管疾病 194 例纤维蛋白原检测结果分析[J].武警医学,2005,16(10):759-760.
- [15] 杨坤军,朱榆红.急性脑梗死与 CRP、纤维蛋白原、D-二聚体、血清铁蛋白的关系[J].医学综述,2009,15(1):46-48.

(收稿日期:2012-02-01)

(上接第 1581 页)

志物,特别是针对不同肿瘤类型的分子标志物将使其应用更广泛,以提高检测恶性肿瘤的灵敏度和特异度^[9-10]。

参考文献

- [1] Ren'e B. Finding biomarkers of resistance to targeted cancer therapies[J]. European Journal of Cancer Supplements, 2007, 5(5): 109-114.
- [2] 谢跃文,王强,夏洁.肿瘤标志物检测在恶性肿瘤诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2011,32(1):107-109.
- [3] Nguyen P, Awwad RT, Smart DD, et al. Thioredoxin reductase as a novel molecular target for cancer therapy[J]. Cancer Letters, 2006, 236(2):164-174.
- [4] Sabine U, Katja B. On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy[J]. Seminars in Cancer Biology, 2006, 16(6):452-465.
- [5] Powis G, Kirkpatrick DL. Thioredoxin signaling as a target for cancer therapy[J]. Curr Opin Pharmacol, 2007, 7(4):392-397.

- [6] Cristine S, Maria J, Paolo P, et al. Statins inhibit expression of Thioredoxin reductase 1 in rat and human liver and reduce tumor development[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2012, 417(3):1046-1051.
- [7] 罗疏薇,欧春萍,张莉萍,等.应用 ROC 曲线评价 CEA、CY-FRA21-1、SCC 对非小细胞肺癌的诊断价值[J].重庆医学,2011,40(3):250-255.
- [8] 陈卫中,倪宗瓚,潘晓平,等.用 ROC 曲线确定最佳临界点和可疑值范围[J].现代预防医学,2005,32(7):729-731.
- [9] Kim HJ, Chae HZ, Kim YJ, et al. Preferential elevation of Prx I and Trx expression in lung cancer cells following hypoxia and in human lung cancer tissues[J]. Cell Biol Toxicol, 2003, 19(5):285-298.
- [10] 江梅,崔艳丽,何利珍.多肿瘤标志物在肺癌诊断检测中的价值[J].国际检验医学杂志,2010,31(12):1458-1459.

(收稿日期:2011-12-20)