

• 论 著 •

血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶在直肠癌诊断与病情监测中的价值

杨春云

(山东省莱州市人民医院检验科 261400)

摘要:目的 探讨血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK)水平在直肠癌患者中的变化,以及在直肠癌诊断与病情监测方面的价值。方法 采用 ELISA 定量检测 153 例直肠癌患者、50 例直肠良性肿瘤患者及 32 例健康对照者血浆 TuM2-PK 水平,比较 3 组间 TuM2-PK 的表达差异。以 TuM2-PK >15 U/mL 判断为阳性结果,分析不同临床病理参数直肠癌患者的 TuM2-PK 阳性率差异。ROC 曲线法分析 TuM2-PK 诊断直肠癌 TNM 分期 I 期、II 期的性能, Spearman 分析血浆 TuM2-PK 与直肠癌各临床病理参数的相关性。结果 直肠癌组、直肠良性病变组及健康对照组血浆 TuM2-PK 水平中位数分别为 23.00、14.57、12.68 U/mL,直肠癌组明显高于良性病变组及健康对照组($P < 0.05$),良性病变组与健康对照组血浆 TuM2-PK 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。直肠癌不同分化程度、TNM 分期、是否存在淋巴结转移时的 TuM2-PK 表达阳性率存在明显差异; TuM2-PK 诊断直肠癌及 TNM 分期 I 期、II 期的曲线下面积分别为 0.72、0.74、0.77; TuM2-PK 水平与肿瘤细胞分化程度、淋巴结转移与否、TNM 分期有关;血浆 TuM2-PK 检测直肠癌的灵敏度为 62%,特异度为 58%。结论 血浆 TuM2-PK 变化与病情有一定相关性,对直肠癌的 TNM 分期、浸润转移的判断有帮助,可辅助诊断直肠癌。

关键词:肿瘤型 M2 丙酮酸激酶; 直肠癌; 诊断性能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)12-1654-03

Value of plasma tumor M2 pyruvate kinase in diagnosis and monitoring of rectal cancer

YANG Chunyun

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Laizhou City, Laizhou, Shandong 261400, China)

Abstract: Objective To evaluate the value of plasma tumor M2 pyruvate kinase(TuM2-PK)in diagnosis and monitoring of rectal cancer. **Methods** The plasma TuM2-PK was determined by ELISA and compared in rectal cancer patients($n=153$), patients with benign rectal disease($n=50$)and healthy controls($n=32$). TuM2-PK>15 U/mL as the positive standard, the positive rate of TuM2-PK in patients with different pathological parameters were compared. Receiver Operating Characteristic Curve(ROC) was used to analyze performance of TuM2-PK in diagnosis for TNM I and II of rectal cancer, Spearman method was used to analyze the correlation between TuM2-PK and different pathological parameters. **Results** The median of the plasma TuM2-PK levels in cancer group, rectal benign group and healthy control group were 23.00, 14.57, 12.68 U/mL, the level in the cancer group was significantly higher than those in the other two groups($P < 0.05$), but there was no significant difference between benign disease group and healthy control group($P > 0.05$). The plasma TuM2-PK and tumor cell differentiation, lymph node metastasis, TNM stage was related in rectal cancer patients. The sensitivity and specificity of TuM2-PK in plasma on diagnosis for rectal disease was 62% and 58%. The AUC of diagnosis rectal cancer and TNM I phase cancer, TNM II phase cancer were 0.72, 0.74, 0.77 respectively. **Conclusion** The plasma TuM2-PK has high clinical value for the diagnosis and monitoring of rectal cancer, and has a certain significance in determined cancer clinical stage, invasion and metastasis.

Key words: tumor M2 pyruvate kinase; rectal cancer; diagnostic performance

肿瘤细胞的代谢与正常细胞存在巨大的差别,在低营养与缺氧状态下依然能够快速生长,1956 年 Warburg^[1]发现了独特的肿瘤细胞代谢现象,后来有学者研究证实主要以二聚体形式存在于肿瘤细胞细胞质的丙酮酸激酶是导致上述现象的关键,这种二聚体丙酮酸激酶几乎很少存在于正常细胞,而在肿瘤细胞中大量存在,被称为肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK)。Spoden 等^[2]在体外肿瘤细胞培养研究中显示可通过上调 TuM2-PK 活性表达促进大分子生物的合成,进而影响肿瘤的增殖、转移。肺癌、乳腺癌、胃癌等实体瘤的研究表明癌症患者血浆 TuM2-PK 水平明显高于对照组^[3-5],且与肿瘤的恶性程度、侵袭、转移与否均相关。直肠癌是危害人类健康的主要癌症之一,早期诊断、早期治疗是关键,本研究旨在分析 TuM2-PK 在直肠癌患者血清中的表达,及其与临床病理参数相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院肿瘤外科 2013 年 6 月至 2014 年 5 月住院直肠癌患者 153 例纳入直肠癌组,所有患者均由病理诊断证实,直肠癌患者术前未接受任何放疗,其中 TNM 分期 I 期 35 例、II 期 49 例、III 期 39 例、IV 期 30 例;年龄 46~82 岁;男 107 例,女 46 例。同期收集直肠良性病变患者 50 例纳入良性病变组,包括直肠息肉、低级别直肠上皮内瘤变、高级别直肠上皮内瘤变,分别为 11 例、17 例、22 例;年龄 42~73 岁;男 33 例,女 17 例。随机选取无肿瘤史、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA)199、CA724 正常的健康体检者 32 例纳入健康对照组,年龄 39~72 岁;男 21 例,女 11 例。

1.2 标本采集 3 组研究对象均于清晨空腹采集静脉血装于带分离胶的抗凝管中,1 h 内 3 000 r/min 离心 8 min,分离出血清存于一 80 °C 冰箱备用。

1.3 仪器与试剂 TuM2-PK 检测试剂盒 (ScheBo Biotech AG, 德国), 为双抗体夹心法, 酶标仪为郑州安图生物科技公司的 PHOMO 型, 检测波长为 450 nm, 参考波长为 620 nm。CEA 采用化学发光法检测, 仪器为美国贝克曼公司的 DXI800, 定标液、检测试剂及其他辅助试剂均为配套试剂。所有操作严格按试剂或仪器说明书进行, TuM2-PK 以大于 15 U/mL 判断为阳性结果^[4-5]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计学分析, 数据以中位数与四位分数表示, 不同分类水平非参数分布资料比较采用多个样本秩和检验, 率的比较采用 χ^2 检验, Spearman 相关分析法进行相关分析。

2 结果

2.1 3 组血浆 TuM2-PK 水平比较 直肠癌患者血浆 TuM2-PK 水平明显高于直肠良性病变患者与健康对照者, 见表 1。

表 1 3 组受试者血浆 TuM2-PK 比较 (U/mL)

组别	n	中位数	四位分数
健康对照组	32	12.68	5.11~18.23
良性病变组	50	14.57	5.22~24.67
直肠息肉	11	12.86	5.00~23.34
低级别上皮内瘤变	17	14.56	6.89~21.75
高级别上皮内瘤变	22	15.06	8.39~24.78
直肠癌组	153	23.00	5.36~112.71
I 期	31	15.99▲	5.36~18.85
II 期	37	19.63▲★	7.42~26.67
III 期	52	28.61▲★	11.69~41.12
IV 期	33	33.00▲★	10.83~112.71

注: 与健康对照组比较, ▲ $P < 0.05$; 与良性病变组比较, ★ $P < 0.05$ 。

2.2 不同临床病理参数直肠癌患者 TuM2-PK 表达阳性率的比较 不同文化程度、不同淋巴结转移情况、不同 TNM 分期患者 TuM2-PK 表达阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同临床病理参数直肠癌患者 TuM2-PK 表达阳性率的比较 (n)

临床病理参数	n	TuM2-PK 阳性	χ^2	P
性别				
男	107	67	0.05	0.82
女	46	28		
年龄(岁)				
>65	69	39	0.24	0.62
≤65	84	56		
肿瘤直径(cm)				
>5	72	46	0.23	0.62
≤5	81	49		
分化程度				
高	65	20	3.51	0.04
中	53	43		
低	35	32		

续表 2 不同临床病理参数直肠癌患者 TuM2-PK 表达阳性率的比较 (n)

临床病理参数	n	TuM2-PK 阳性	χ^2	P
浸润深度				
T1	38	19	3.12	0.07
T2	59	36		
T3	34	23		
T4	22	17		
淋巴结转移				
近处转移	38	28	4.40	0.01
远处转移	13	11		
无转移	102	56		
TNM 分期				
I	31	20	3.62	0.03
II	37	23		
III	52	31		
IV	33	24		

2.3 TuM2-PK 与 CEA 诊断直肠癌患者 ROC 曲线 TuM2-PK 与 CEA 诊断全部直肠癌患者与 TNM 分期 I 期及 II 期患者时的 ROC 曲线, 见图 1~3 (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。ROC 曲线分析显示 TuM2-PK 与 CEA 在诊断直肠癌与直肠癌 TNM 分期 I 期及 II 期时曲线下面积分别为 0.72、0.59、0.74、0.66、0.77、0.60。

2.4 TuM2-PK 与 CEA 诊断直肠癌与直肠癌临床 I 期及 II 期时的性能比较 以 TuM2-PK > 15 U/mL 为阳性, CEA > 5.0 ng/mL 为阳性, 血浆 TuM2-PK 与 CEA 诊断直肠癌与直肠癌 TNM 分期 I 期及 II 期时的性能见表 3。

表 3 TuM2-PK 与 CEA 诊断直肠癌与直肠癌临床 I 期及 II 期时的性能比较

临床诊断	TuM2-PK		CEA	
	灵敏度	特异度	灵敏度	特异度
直肠癌	0.62	0.58	0.38	0.62
直肠癌临床 I 期	0.65	0.62	0.22	0.68
直肠癌临床 II 期	0.61	0.56	0.32	0.65

2.5 TuM2-PK 水平与直肠癌患者临床病理参数 Spearman 相关分析 血浆 TuM2-PK 水平与淋巴结转移与否、分化程度及临床分期间存在显著相关, 相关系数分别为 0.346、0.312、0.337 ($P < 0.05$)。

3 讨论

全球范围内直肠癌的发病率男性与女性分别占恶性肿瘤的第 2 位、第 3 位, 其病死率分别位居第 4 位、第 3 位, 近年来随着人们生活方式的改变与饮食结构的变化, 直肠癌患病率逐年上升, 尤其是在中国南方地区, 其发病年龄可提前至 40 岁。相关研究表明 I 期与 II 期的患者可以通过手术切除治愈^[6-7], 因此早期诊断早期治疗是关键。目前临床上直肠癌高危人群筛查的非创伤性检测指标主要是大便潜血试验, 该方法虽然操作简单、便捷, 但具有特异性差、干扰因素多, 在早期患者中灵敏度较低等缺点^[8], 使其在临床筛查中的价值受到限制。因

此,临床上迫切需要一种高特异度、高灵敏度、操作简单、低创或无创、人群顺应性好的筛查指标。

肿瘤细胞代谢的重要特征之一是糖酵解酶活性的增强与糖酵解同工酶结构的改变,在糖酵解能量供应与肿瘤增殖所需大分子物质合成平衡中,肿瘤细胞选择二聚体形式的丙酮酸激酶,这种二聚体的 M2 型丙酮酸激酶被称为 TuM2-PK。丙酮酸激酶是糖酵途径中的一个关键酶,相对分子质量约为 240×10^3 , 主要以由 4 个亚基组成的四聚体形式存在,有两种结构基因(L 基因、M 基因)和 4 种同工酶,这 4 种同工酶通常以酶的活性四聚体形式存在,在肿瘤细胞中主要以磷酸化丙酮酸低亲和力的二聚体形式存在,与磷酸烯醇丙酮酸亲和力很低,导致磷酸烯醇类物质的大量堆积,DNA 合成的增加^[9]。肿瘤细胞高表达 TuM2-PK 适应了自身这种有别于正常细胞的代谢方式,在肿瘤的发生、发展过程中起重要作用。恶性肿瘤这种异常能量代谢是 TuM2-PK 升高的主要原因,在恶性肿瘤中呈现过度表达,在肿瘤的坏死或转移的过程中 TuM2-PK 会被释放到外周体液中,因此外周血中可以检测到 TuM2-PK。

本研究发现,TuM2-PK 在直肠癌患者外周血水平明显高于直肠良性病变患者与健康对照者,直肠息肉与直肠上皮内瘤变患者血浆 TuM2-PK 水平虽然高于健康对照者,但差异无统计学意义($P > 0.05$),说明确定好 TuM2-PK 的医学决定水平可用于区别直肠的恶性病变、良性病变及健康组织,这与卢仁泉等^[3]报道的 TuM2-PK 水平在胃癌患者血浆中的 TuM2-PK 水平相似。直肠癌患者 TuM2-PK 水平的表达与癌细胞的分化程度、肿瘤是否有淋巴转移及临床病理 TNM 分期相关,而与患者性别、年龄、肿瘤的大小无关,TuM2-PK 阳性率与肿瘤浸润程度的相关分析中,虽然两者间并不存在正相关,但随着浸润的加深,TuM2-PK 表达阳性率也呈升高趋势。癌细胞分化程度越低,血浆中 TuM2-PK 水平就越高,有淋巴转移的患者比未发生淋巴转移的患者 TuM2-PK 水平高。在临床病理 TNM 分期中,随分期的增加血浆 TuM2-PK 水平也升高,而且不同 TNM 分期间 TuM2-PK 阳性表达率存在明显差异,这些都明确表明直肠癌患者血浆 TuM2-PK 水平变化随着癌细胞生物状态的改变而改变,一定程度上反映了肿瘤的发生、发展。

本研究采用 ELISA 定量检测 TuM2-PK,所用的试剂为原装进口的德国 ScheBo Biotech AG,所包被的两种单克隆抗体针对 TuM2-PK 不同的位点,避免了与其他丙酮酸激酶的交叉反应,保证了结果的准确性。本研究发现对直肠癌诊断时灵敏度、特异度分别为 62%、58%,低于国外学者 Hardt 等^[4]的报道,但灵敏度高于 CEA,特异度低于 CEA 的 62%。另外 ROC 曲线所得结果分析,说明 TuM2-PK 对诊断直肠癌有一定的准确性,对早期诊断直肠癌有较高临床价值。

综上所述,直肠癌患者血浆 TuM2-PK 水平可代表癌细胞

的生物学状态,反映了癌症的发生、发展,具有辅助诊断直肠癌的价值,为以后在人群中的筛查提供了一定的基础。如果能通过本地区大规模人群的研究筛查确定 TuM2-PK 阳性判断的阈值,用于直肠癌的临床诊断价值就更加可靠。

参考文献

[1] Warburg O. On the origin of cancer cells[J]. Science, 1956,123(3191):309-314.

[2] Spoden GA, Rostek U, Lechner S, et al. Pyruvate Kinase isoenzyme M2Is a glycolytic sensor differentially regultin cell poeliferotinCellsize and apoptotic cell death dependent on glucose supply[J]. Exp Cell Res,2009,315(16):2765-2774.

[3] 卢仁泉,郭林,许晓峰. 胃肠道恶性肿瘤患者血浆肿瘤型 M2-丙酮酸激酶测定及临床价值[J]. 检验医学,2008,23(4):370-373.

[4] Hardt PD, Ngoumou BK, Rupp J, et al. Tumor M2-purvate kinase:a promising tumor marker in the diagnosis of gastro-intestinal cancer[J]. Anticancer Res, 2009, 26(6D): 4965-4968.

[5] Luftner D, Mesterharm J, Akrcvakis C, et al. Tumor type M2 pyruvate kinase expression in advanced breast cancer [J]. Anticancer Res,2005,22(20):5077-5082.

[6] Libutti SK, Saltz LB, Tepper JE. DeVita, hellman, and rosenberg's cancer: principles and practice of oncology [J]. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins,2011,31(1):1232-1284.

[7] Compton C, Hawk ET, Grochow L, et al. Abeloff's clinical oncology [M]. Philadelphia; Churchill Livingstone, 2008.

[8] 金鹏,武子涛,李爱琴,等. 粪便转铁蛋白和免疫粪隐血试验在结直肠癌筛查中效能的比较[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2012,21(9):858-860.

[8] Mazurek S, Eigenbrodt E. The tumor metabolome[J]. Anticancer Research,2003,23(2A):1149-1154.

[9] Mazurek S, Boschek CB, Hugo F, et al. Pyruvate kinase type M2 and it's role in tumor growth and spreading[J]. Sen in Cancer Biol,2005,15(4):300-308.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-03-18)



(上接第 1653 页)

[8] 陈剑飞,陈爱雨,郭国锋,等. 新疆叶城县维吾尔族、汉族 2 型糖尿病合并冠心病患者血脂水平的对比性研究[J]. 第三军医大学学报,2011,33(12):1262-1264.

[9] Oram JF. HDL apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular Cholesterol[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2003,23(5):720-727.

[10] Mohamad Navab, Srinivasa TR, Brian J, et al. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective

mechanisms[J]. Nat Rev Cardiol,2011,8(4):222-232.

[11] 向光大,何玉生,赵林双,等. 2 型糖尿病伴血脂异常患者 HDL-C 与内皮依赖性血管舒张功能的关系[J]. 中国糖尿病杂志,2007,15(8):474-477.

[12] 王英,兰怡. 维汉两民族 2 型糖尿病血脂分析对比研究[J]. 新疆医学,2006,36(5):189-190.

(收稿日期:2016-01-19 修回日期:2016-03-21)