

(3);155-158.

[3] 孟庆宝.微柱凝胶技术在输血相关实验中的评价及应用研究[J].国际检验医学杂志,2009,30(9):848-851.

[4] 龙华泉,陈世豪,张伟坚.凝聚胺法与微柱凝胶法检测不规则抗体的对比分析[J].检验医学与临床,2013,10(1):39-40.

[5] 秦立红,蔡利星.微柱凝胶法配血试验 2 316 例结果分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(4):500-501.

[6] 谢作听,钱林利,陶志华,等.血清青霉素 IgM 和 IgG 抗体检测方法的建立和评价[J].中华检验医学杂志,2006,29(6):527-528.

[7] 林观祥,潘晓锋,郭红,等.微柱凝胶法检测人血中美洛西林针剂的 IgM 和 IgG 抗体[J].中国药业,2010,19(9):21.

(收稿日期:2013-04-28 修回日期:2013-07-11)

• 临床研究 •

直肠癌患者血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶的变化

于建新,梁文英(山东省菏泽市单县中心医院检验科 274300)

【摘要】 目的 分析不同临床分期直肠癌患者血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK)水平的变化,初步探讨 TuM2-PK 在直肠癌诊断、病情监测中的临床价值。**方法** 采用酶联免疫吸附试验检测 126 例直肠癌患者、63 例直肠良性肿瘤患者及 32 例健康对照者血浆 TuM2-PK 水平,同时检测血清癌胚抗原(CEA)浓度。以 TuM2-PK >15 U/mL 为阳性,分析直肠癌患者血浆 TuM2-PK 水平与临床病理参数的相关性,ROC 曲线法分析 TuM2-PK 与 CEA 的诊断性能。**结果** 直肠癌组、直肠良性肿瘤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,直肠癌组显著高于直肠良性肿瘤患者及健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),直肠良性肿瘤患者与健康对照组血浆 TuM2-PK 水平差异无统计学意义。直肠癌血浆 TuM2-PK 水平与肿瘤细胞分化程度、淋巴结转移与否、临床分期有关;TuM2-PK 与 CEA 诊断直肠癌的敏感度与特异性分别为 74.60%、79.16%与 73.51%、69.18%。**结论** 血浆 TuM2-PK 水平可辅助诊断直肠癌,但不能用于直肠癌的早期诊断,对病情的评估、临床分期、浸润转移的判断有一定意义。

【关键词】 肿瘤型 M2 丙酮酸激酶; 直肠癌; ROC 曲线
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.064 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)23-3205-02

目前国内有关直肠癌患者血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK)表达水平的研究多数通过检测粪便中 TuM2-PK 浓度在不同病变程度患者中的分布,来探讨它的诊断价值及是否具有作为一项新直肠癌筛查指标的价值^[1-4]。对于以直肠良性肿瘤为对照研究血浆中 TuM2-PK 水平表达的状况及与临床病理参数相关性研究报道很少,本文对此进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院肿瘤外科 2012 年 1~12 月住院的直肠癌患者 126 例,其中 TNM 分期 I、II、III、IV 各 23 例、31 例、37 例、35 例,年龄 46~82 岁,男 87 例,女 39 例;选择同期直肠良性肿瘤患者 64 例,其中直肠息肉 11 例、低级别直肠上皮内瘤变 17 例、高级别直肠上皮内瘤变 36 例,年龄 42~73 岁,男 47 例,女 17 例;随机选取无肿瘤史、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA199)、CA724、CA242 正常的健康体检者 43 例,年龄 39~72 岁,男 31 例,女 12 例。所有癌症患者均由病理诊断证实,直肠癌患者术前未接受任何放疗和化疗。

1.2 标本收集 所有患者与健康对照者均于早晨空腹采集静脉血 8 mL,平均分加于乙二胺四乙酸二钾抗凝管与带分离胶的无抗凝试管中,1 h 内以 3 000 r/min 离心 8 min,分离出血浆与血清存于-80 ℃冰箱备用。

1.3 仪器与方法 TuM2-PK 测定采用酶联免疫吸附试验(ELISA),试剂购于美国 ABI 公司的原装进口 M2-PK 检测试剂盒,酶标仪为 Bai-Rad 680 型,检测波长 450 nm 参考波长 620 nm。CEA、CA199、CA242、CA724 采用化学发光法测定,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和仪器说明书进行,TuM2-PK>15 U/mL 判断为阳性结果^[4-5]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS13.5 软件进行统计操作分析,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,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 直肠癌患者、直肠良性肿瘤患者及健康对照者血浆 TuM2-PK 测定结果 见表 1。

表 1 3 组 TuM2-PK 测定结果(U/mL)			
组别	<i>n</i>	中位数	范围
健康对照组	43	12.68	5.11~18.23
直肠良性肿瘤组	64	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	36	15.06	8.39~24.78
直肠癌组	126	23.00	5.36~112.71
I 期	23	15.99▲	5.36~18.85
II 期	31	19.63▲★	7.42~26.67
III 期	37	28.61▲★	11.69~41.12
IV 期	35	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 直肠癌不同临床病理参数间 TuM2-PK 表达阳性结果比较 见表 2。

表 2 直肠癌不同临床病理参数 TuM2-PK 表达
阳性结果比较

临床病理参数	<i>n</i>	TuM2-PK(<i>n</i>)	χ^2	<i>P</i>
性别 男	87	65	0.07	0.73
女	39	29		
年龄(岁) >65	78	61	0.16	0.69
≤65	48	33		
肿瘤直径(cm) >5	55	40	0.25	0.61
≤5	71	54		
分化程度 高	32	20	3.51	0.05
中	53	39		
低	41	35		
浸润深度 T1~T2	46	29	3.12	0.07
T3~T4	80	65		
淋巴结转移 有	39	35	6.41	0.01
无	87	59		

2.3 血浆 TuM2-PK 诊断直肠癌的性能指标 以病理结果为金标准对直肠癌组与直肠良性肿瘤组检测结果进行 TuM2-PK 诊断性能分析,血浆 TuM2-PK 检测直肠癌的敏感性为 74.60%,特异性为 79.16%,阳性似然比为 2.20,阴性似然比为 0.49,阳性预测值为 90.47%,阴性预测值为 39.58%。

3 讨 论

丙酮酸激酶是糖酵途径中的一个关键酶,相对分子量质量约为 240×10^3 ,主要以 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,这种二聚体的 M2 型丙酮酸激酶被称为 TuM2-PK,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 合成增加。TuM2-PK 在增生细胞中呈普遍表达,但在恶性肿瘤中呈现过度表达情况。恶性肿瘤这种异常能量代谢是 TuM2-PK 增高的主要原因,在肿瘤的坏死或转移过程中 TuM2-PK 会被释放到外周体液中,因此外周血液中可以检测到 TuM2-PK^[5]。

本研究结果显示,TuM2-PK 在直肠癌患者外周血液中水平显著高于直肠息肉与直肠上皮内瘤变患者及健康对照者,但直肠息肉或直肠上皮内瘤变患者与健康对照组差异无统计学意义,由此说明 TuM2-PK 可区别直肠癌与直肠良性肿瘤及与健康对照者,可辅助直肠癌的诊断,这与卢仁泉等^[2]报道的 TuM2-PK 用于诊断胃癌时的结果相似。但是直肠癌 TNM I 期患者 TuM2-PK 与直肠良性肿瘤患者间差异无统计学意义,表明 TuM2-PK 不具备早期诊断直肠癌的价值,血浆 TuM2-PK 不适合于直肠癌的筛查诊断。在直肠癌患者中 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、肿瘤大小无关。在

TuM2-PK 阳性结果与肿瘤浸润深度的相关分析中虽然二者间并不存在正相关,但随着浸润的加深,TuM2-PK 表达阳性也呈增加趋势。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 浓度高。在临床病理 TNM 分期中Ⅲ~Ⅳ患者血浆 TuM2-PK 水平显著高于 I~Ⅱ期,而且前者 TuM2-PK 阳性表达也显著高于后者。这些都明确表明直肠癌患者血浆 TuM2-PK 浓度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和发展。

本实验研究采用 ELISA 定量检测 TuM2-PK,所用试剂为原装进口的美国 ABI 公司产品,所包被的两种单克隆抗体针对 TuM2-PK 不同位点,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。研究发现对直肠癌诊断时灵敏度、特异性分别为 74.60%、79.16%,与国外学者 Hardt 等^[3]的报道相似,但低于叶维洁和金冶宁^[6]的报道。

综上所述,直肠癌患者 TuM2-PK 水平可代表癌细胞的生物学状态,反映了癌症的发生和发展,与直肠癌的分化程度、浸润状况、淋巴结转移与否高度相关,可辅助诊断直肠癌,用于直肠癌病情判断,但不能区分直肠良性肿瘤患者尤其是直肠上皮内瘤变患者与直肠癌早期的患者,不具备癌症筛查功能。若能通过本地区大规模人群的研究确定 TuM2-PK 阳性判断的阈值,用于直肠癌的临床诊断价值就更可靠。

参考文献

[1] Spoden GA, Rostek U, Lechner S, et al. Pyruvate kinase isoenzyme M2 is a glycolytic sensor differentially regulating cell proliferation, cell size and apoptotic cell death dependent on glucose supply[J]. Exp Cell Res, 2009, 315 (16):2765-2774.

[2] 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.

[3] Hardt PD, Ngoumou BK, Rupp J, et al. Tumor M2-pyruvate kinase: a promising tumor marker in the diagnosis of gastro-intestinal Cancer [J]. Anticancer Res, 2009, 20 (6D):4965-4968.

[4] Lüftner D, Mesterharm J, Akrivakis C, et al. Tumor type M2 pyruvate kinase expression in advanced breast Cancer [J]. Anticancer Res, 2005, 20(6D):5077-5082.

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

[6] 叶维洁, 金冶宁. 肿瘤型丙酮酸激酶在结直肠癌血浆中的测定及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(3):511-514.