

# 食管癌患者血清可溶性肿瘤坏死因子受体水平测定

刘明<sup>1</sup> 张显忠<sup>2</sup> 王磊<sup>1</sup> 任建林<sup>1</sup>

厦门大学医学院第一临床学院 福建医科大学教学医院 厦门中山医院消化内科<sup>1</sup>(361004)  
泰山医学院免疫学教研室<sup>2</sup>

**背景:**目前尚无敏感性和特异性较高的血清肿瘤标志物用于临床诊断食管癌。**目的:**通过测定食管癌患者血清可溶性肿瘤坏死因子受体(sTNFR)水平的变化,探讨其在食管癌诊断和监控中的临床意义。**方法:**应用双抗体夹心酶联免疫吸附测定(ABC-ELISA)检测56例食管癌患者和10名健康成人的血清sTNFR-I、sTNFR-II水平,并与血清癌胚抗原(CEA)水平进行比较。**结果:**食管癌患者的血清sTNFR-I和CEA水平显著高于健康对照组( $P<0.001$ ),而sTNFR-II水平则显著低于健康对照组( $P<0.001$ );sTNFR-I与CEA的阳性率无显著差异,但均显著低于sTNFR-II( $P<0.001$ )。食管癌切除术后,患者的血清sTNFR-I、sTNFR-II水平均呈升高趋势,而CEA水平则无明显变化。**结论:**同时检测血清sTNFR-I、sTNFR-II水平有助于诊断食管癌和评估机体的免疫状态。

**关键词** 受体,肿瘤坏死因子;食管肿瘤;酶联免疫吸附测定

## Determination of Serum Levels of Soluble Tumor Necrosis Factor Receptors in Patients with Esophageal Cancer

LIU Ming, ZHANG Xianzhong, WANG Lei, REN Jianlin. Department of Gastroenterology, The First Clinical Hospital of Xiamen University Medical College, The Teaching Hospital of Fujian Medical University, Xiamen Zhongshan Hospital, Xiamen (361004)

**Background:** At present, the serum tumor markers for clinical diagnosis of esophageal cancer with high sensitivity and specificity have not been available. **Aims:** To determine the changes of serum soluble tumor necrosis factor receptors (sTNFR) levels in patients with esophageal cancer, in order to explore their clinical significance in the diagnosis and surveillance of esophageal cancer. **Methods:** The serum levels of sTNFR-I and sTNFR-II were measured by avidin-biotin complex enzyme-linked immunosorbent assay (ABC-ELISA) in 56 patients with esophageal cancer and 10 healthy adults, and compared with the serum level of carcinoembryonic antigen (CEA). **Results:** The serum levels of sTNFR-I and CEA in esophageal cancer patients were significantly higher than those in the healthy controls ( $P<0.001$ ), and the serum level of sTNFR-II was unusually lower ( $P<0.001$ ); No significant differences in positivity rate were observed between sTNFR-I and CEA, both of which were markedly lower than that of sTNFR-II ( $P<0.001$ ). The serum levels of both sTNFR-I and sTNFR-II increased after resection of esophageal cancer, but no obvious change was seen in the level of CEA. **Conclusions:** The simultaneous determination of serum levels of sTNFR-I and sTNFR-II is useful in the diagnosis of esophageal cancer and in the evaluation of patient's immune status.

**Key words** Receptors, Tumor Necrosis Factor; Esophageal Neoplasms; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

血清可溶性肿瘤坏死因子受体(soluble tumor necrosis factor receptors, sTNFR)是一种新的血清学检验指标。国外研究<sup>[1,2]</sup>表明,多种肿瘤,如肺癌、胃癌、直肠癌患者的血清sTNFR水平均明显升高,且与肿瘤的发生、发展和预后相关。国内研究<sup>[3-6]</sup>也得出类似的结果。目前尚无敏感性和特异性较高的血清肿瘤标志物用于临床诊断食管癌,针对食管癌患者血清sTNFR的专项研究亦较少,难以确定其临床应用价值。为此,本研究通过测定食管癌患者血清sTNFR水平的变化,探讨其在食管癌诊断和监控中的临床意义。

## 对象与方法

### 一、患者资料

56例食管癌患者均为我院1997年2月~2000年6月的住院病例。入选条件:①食管癌的诊断经胃镜活检组织或手术切除标本病理检查证实;②未接受过任何治疗;③近期无感染性疾病史;④无自身免疫性疾病史和肾功能不全史;⑤无其他器官肿瘤存在。其中男34例,女22例,年龄46~65岁,平均年龄56岁。56例食管癌组织学上均为鳞癌,分

化程度低度 11 例,中度 33 例,高度 12 例。同期选取 10 名健康成人(均为我院职工)作为对照,其中男 5 名,女 5 名,年龄 35~60 岁,平均年龄 53 岁。两组受检者在性别、年龄上无显著统计学差异。

### 二、标本采集

空腹抽取受检者外周静脉血 2 ml,即刻高速离心后,吸取血清 1~1.5 ml,置于带盖试管内封闭,-20 ℃ 低温冰箱保存待测。28 例接受手术治疗的食管癌患者于术前和术后第 5 周分别采集血样。

### 三、检测方法

sTNFR- I 、sTNFR- II 和癌胚抗原(CEA)检测试剂盒均为法国 Diaclone 公司产品,由北京帮定泰克生物技术有限公司提供;550 型酶标仪为美国 Bio-Rad 公司产品。以双抗体夹心酶联免疫吸附测定[亲和素-生物素复合物(avidin-biotin complex, ABC)-ELISA]检测血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 水平。将抗人 sTNFR- I 、sTNFR- II 单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的 sTNFR- I 、sTNFR- II 与单抗结合,加入生物素化的 sTNFR- I 、sTNFR- II 抗体,形成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的抗生物素蛋白链菌素与生物素结合,加入酶底物,出现黄色,加终止液硫酸,颜色变深,在 492 nm 处测定吸光度值(A)。sTNFR- I 、sTNFR- II 浓度与 A<sub>492 nm</sub> 值成正比,通过绘制标准曲线求出标本中的 sTNFR- I 、sTNFR- II 浓度。以 ELISA 方法测定血清 CEA 水平。检测操作根据试剂盒说明书要求由专人完成。

### 四、统计学分析

检测结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,非配对资料行 *t* 检验,配对资料行方差分析,*P*<0.05 为差异有显著性。

## 结 果

### 一、食管癌患者的血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 和 CEA 水平

表 1 食管癌组和健康对照组的血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 和 CEA 水平( $\bar{x}\pm s$ )

组 别	例数	sTNFR- I (pg/ml)	sTNFR- II (pg/ml)	CEA(μg/L)
食管癌组	56	1 077.30±858.74*	156.82±213.24*	5.66±1.97*
健康对照组	10	586.13±140.06	3 271.78±2 414.76	1.86±0.85

\*与健康对照组比较,*P*<0.001

表 2 食管癌患者手术前后血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 和 CEA 水平的变化( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	STNFR- I (pg/ml)	STNFR- II (pg/ml)	CEA(μg/L)
术前	28	872.16±448.31	118.76±48.33	4.63±2.53
术后	28	1 702.24±853.49	260.43±231.05	4.68±2.95
<i>P</i> 值		0.045	0.051	0.98

食管癌患者的血清 sTNFR- I 和 CEA 水平显著高于健康对照组,而 sTNFR- II 水平则显著低于健康对照组(见表 1)。

### 二、食管癌患者的血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 和 CEA 阳性率

以检测值大于健康对照组的 $\bar{x}+2s$ 为 sTNFR- I 和 CEA 的阳性标准,以检测值小于健康对照组的 $\bar{x}-2s$ 为 sTNFR- II 的阳性标准,食管癌患者的血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 和 CEA 阳性率分别为 55.4% (31/56)、85.7% (48/56)和 53.6% (30/56)。其中 sTNFR- I 与 CEA 的阳性率无显著差异,但均显著低于 sTNFR- II (*P*<0.001)。

### 三、食管癌患者手术前后血清 sTNFR- I 、sTNFR- II 和 CEA 水平的变化

食管癌切除术后,患者的血清 sTNFR- I 水平较术前显著升高,而 CEA 水平则无明显变化,sTNFR- II 水平虽呈升高趋势,但与术前相比无统计学差异(见表 2)。

## 讨 论

国外研究<sup>[1,2]</sup>表明,TNFR 广泛分布于许多正常组织细胞,如淋巴细胞、上皮细胞和成纤维细胞以及肿瘤细胞表面。根据分子质量,TNFR 可分为 TNFR- I 和 TNFR- II 两种类型,其血清中的可溶性形式 sTNFR- I 和 sTNFR- II 是由蛋白酶将细胞膜上相应的膜受体 TNFR- I 和 TNFR- II 水解而成的受体片段,存在于人的各种体液液中。sTNFR- I 主要来源于迅速增殖分裂的肿瘤细胞和单核巨噬细胞,而 sTNFR- II 则主要来源于自然杀伤细胞(NK 细胞)。sTNFR 具有多种生物学特性:①拮抗 TNF 的作用。sTNFR 能阻断、减少 TNF 与其靶细胞上的 TNFR 结合,从而拮抗 TNF 的生物学活性,此种拮抗作用呈剂量依赖性。②运载 TNF。sTNFR 与 TNF 结合后起运输 TNF 的作用。sTNFR 对 TNF 的作用具有双

向性,高浓度 sTNFR 能抑制 TNF 的活性,低浓度 sTNFR 则可以促进 TNF 的某些生物学活性。其原因可能是低浓度的 sTNFR 与 TNF 结合后,减缓了 TNF 的衰变,使 TNF 得以缓慢释放,从而发挥其生物学效应;高浓度 sTNFR 的作用则相反。推测 sTNFR 对 TNF 的影响主要取决于两者的血清比例。Aderka 等<sup>[1]</sup>发现,肺癌、胃癌、直肠癌等肿瘤患者的血清 sTNFR 水平较正常人明显升高,且升高程度与患者的病情及其分期有关,认为尽管各类肿瘤患者的血清 sTNFR 水平均有所升高,不具有特异性,但在排除其他因素,如炎症、自身免疫性疾病等的干扰后,sTNFR 水平升高常提示肿瘤的发生和发展。他还发现 sTNFR 水平升高比 CEA 更为显著,测定血清 sTNFR 水平有助于癌症的早期诊断、病情分期和预后评估。

本研究以 ELISA 方法测定了 56 例食管癌患者的血清 sTNFR-I、sTNFR-II 和 CEA 水平,结果显示食管癌患者的血清 sTNFR-I、sTNFR-II 水平与健康对照组相比有显著差异,其中 sTNFR-I 水平显著升高,与高蕾等<sup>[7]</sup>和刘辉等<sup>[8]</sup>的报道一致。同时,本研究还观察到食管癌患者的血清 sTNFR-II 水平显著低于健康对照组,其阳性率远高于 sTNFR-I 和 CEA。手术前后食管癌患者的血清 CEA 水平无明显改变,sTNFR-I、sTNFR-II 水平的变化则较为明显,两者术后均呈升高趋势。笔者等认为此种结果可能与食管癌患者的免疫状态异常相关。食管癌发生后,机体免疫系统在肿瘤组织的刺激下产生各种细胞因子,力图阻止肿瘤的发展,TNF 即是其中之一。而肿瘤组织为了逃避机体的免疫防御,其自身也产生相应受体 TNFR 以中和 TNF 的抗肿瘤作用,因此血清 sTNFR-I 水平升高。与此同时,机体自身的 NK 细胞数量和活性受到明显抑制,导致主要由其产生的 sTNFR-II 水平明显下降。手术切除食管癌后,患者机体的瘤负荷大大减少,肿瘤对机体免疫系统的抑制作用减弱,TNF 产生减少,血清 sTNFR-I 水平应随之降低。但本研究中食管癌患者术后血清 sTNFR-I 水平反而升高,与刘辉等<sup>[8]</sup>报道的结果相反,其原因可能与本研究术后采集血清标本的时间过早(术后第 5 周),患者的手术创伤尚未完全修复,炎症与结缔组织增生并存有关。推测如果在手术 8 周后采集血样,sTNFR-I 水平可能会明显下降。而术后血清 sTNFR-II 水平升高则可能与

术后机体免疫系统的抑制得到部分解除,NK 细胞的数量和活性逐渐恢复相关。此外,本研究中食管癌患者的血清 CEA 阳性率虽然显著低于 sTNFR-II,但与 sTNFR-I 无显著差异。提示通过单独检测血清 sTNFR-I 预测食管癌的发生并不比常规的血清 CEA 检测更为敏感,但联合检测血清 sTNFR-I 和 CEA 可能会明显提高食管癌患者血清肿瘤标志物检测的阳性率。检测血清 sTNFR-II 水平可以推测患者机体免疫系统受抑制的情况,也可用于监测所采用的治疗方案,尤其是生物治疗方案的实际效果。同时检测患者的血清 sTNFR-I、sTNFR-II 水平有助于诊断食管癌和评估机体的免疫状态,为进一步制定有效的治疗措施提供较为可靠的实验室指标;而动态监测其血清水平变化有利于更加全面、客观地揭示食管癌患者的病情转归和机体免疫状态,对预测患者的预后有较大参考价值。

#### 参考文献

- 1 Aderka D, Englemann H, Hornik V, Skornick Y, Levo Y, Wallach D, Kushtai G. Increased serum levels of soluble receptors for tumor necrosis factor in cancer patients. *Cancer Res*, 1991, 51: 5602~5607.
- 2 Diez-Ruiz A, Tilz GP, Zangerle R, Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D. Soluble receptors for tumor necrosis factor in clinical laboratory diagnosis. *Eur J Haematol*, 1995, 54: 1~8.
- 3 王跃如,周新,陈宇清,王裕发. 血清可溶性肿瘤坏死因子受体测定在肺癌诊断中的临床价值. *中国肿瘤临床*, 1998, 25: 263~265.
- 4 王裕发,巫协宁,周小寒,陈霞芳,张晓琼,吴晴,温文倩,顾青. 消化道肿瘤血清 sTNFR I 的检测及其临床意义. *中华消化杂志*, 1996, 16 (增刊): 113~114.
- 5 白岚,姜云飞,袁爱力,黄玫,牛杰志,赖卓胜. 癌症患者血清可溶性肿瘤坏死因子受体 I 的测定及分析. *实用肿瘤杂志*, 1997, 12: 9~11.
- 6 秦光奇,王裕发. 消化道癌症患者血清 sTNFR-I 的测定及临床意义. *肿瘤*, 1999, 19: 162~163.
- 7 高蕾,南清振,白岚,杨希山,姜云飞. 食管癌患者血清可溶性肿瘤坏死因子受体 I 测定及临床意义. *第一军医大学学报*, 2000, 20: 260~261.
- 8 刘辉,彭开桂. 食管癌放疗前后血清可溶性肿瘤坏死因子受体 I 的变化和意义. *肿瘤防治研究*, 1999, 26: 6~8. (2003-12-15 收稿;2004-02-10 修回)