

# ICP-MS 测定肾癌患者血清微量元素水平及其临床意义分析

郑嘉欣<sup>1</sup>, 邢金春<sup>1</sup>, 林琳<sup>2</sup>, 杭纬<sup>2</sup>, 王宝森<sup>1</sup>

(1 福建医科大学附属厦门第一医院泌尿外科暨厦门市泌尿中心, 厦门 361003

2 厦门大学化学化工学院化学系现代分析科学教育部重点实验室, 厦门 361005)

**摘要:** 采用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 对 24 例健康对照者、30 例肾癌患者血清中多种微量元素的含量进行测定, 探讨血清微量元素与肾肿瘤的关系。与健康对照组相比, 肾癌患者血清中 V、Ca、N、Mn、Cd 的含量显著增高 ( $P < 0.05$ ), 而 Ca、Zn 的含量明显降低 ( $P < 0.05$ )。Ca、N、Cd 可能是肾癌的危险因素, Ca、Zn 可能为肾癌的保护因素。V、Mn 与肾癌的相关性仍需进一步研究。

**关键词:** 肾癌; 电感耦合等离子体质谱法; 微量元素

微量元素在恶性肿瘤的发生、发展及防治中的作用已引起国内外学者们的关注。肾癌的病因尚未完全阐明, 可能与吸烟、药物、激素、咖啡、病毒感染、接触射线、遗传以及微量元素等因素有关。本文采用电感耦合等离子体质谱 (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS) 对肾癌患者与健康对照者血清中微量元素的含量进行测定, 以探讨微量元素与肾肿瘤的关系, 并对其临床意义进行分析。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2007 年 ~ 2009 年在本院就诊的本地区居住 3 年以上的肾癌患者 30 例, 其中男性 18 例, 女性 12 例, 年龄 33 ~ 80 岁, 平均年龄 53.5 岁, 所有病人均接受肾癌根治术, 均有病理学检查结果, 其中肾透明细胞癌 26 例, 肾颗粒细胞癌 1 例, 肾乳头状细胞癌 3 例。病理分级, Fuhrman 分级 I 级 23 例, II 级 5 例, III-IV 级 2 例。

健康对照组 24 例, 均为同期健康检查者, 年龄 30 岁 ~ 70 岁, 平均年龄 50.2 岁。选择本地区居住 3 年以上, 无金属接触史, 无肝、肾及内分泌疾病, 3 年内未服用过激素类药物的健康检查者。

### 1.2 方法

1.2.1 采取血清标本 早晨空腹用无抗凝的塑料

针筒静脉取血, 置聚丙烯试管内, 在室温下分离血清待测。

1.2.2 样品前处理 采用稀硝酸直接稀释的方法对样品进行前处理。移取 200  $\mu$ L 血清, 加入 20  $\mu$ L 1  $\mu$ g/mL Rh 内标溶液, 用 1%  $\text{HNO}_3$  溶液定容至 2.0 mL。

1.2.3 标准工作曲线的绘制 根据人体血清中微量元素的大致含量, 用标准储备液配制一系列混合标准溶液, 绘制标准工作曲线。

1.2.4 样品的测定 采用 HP4500 电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS, 美国 Agilent 公司) 用内标法对样品进行测定。为了确保测量的准确性和稳定性, 在测试前用 10 ng/mL 的锂 (Li)、钇 (Y)、铈 (Ce)、铊 (Tl) 的混合标准溶液对仪器进行优化调试。连续测定空白样和待测样品。测定的微量元素包括: 镁 (Mg)、钙 (Ca)、铁 (Fe)、铜 (Cu)、锌 (Zn)、钒 (V)、铬 (Cr)、锰 (Mn)、钴 (Co)、镍 (Ni)、砷 (As)、钼 (Mo)、锶 (Sr)、汞 (Hg)、镉 (Cd)。

1.2.5 统计学处理 数据采用 Origin 8.0 统计分析软件处理, 用 t 检验法比较各组间是否具有显著性差别 ( $P < 0.05$  为试验差异有统计学意义)。

## 2 结果

与健康对照组相比, 肾癌患者血清中 V、Ca

\* 作者简介: 郑嘉欣 (1979-), 男, 硕士研究生; E-mail: sha1101@126.com

N、Mn、Cd 的含量显著增高, 而 Ca、Zn 的含量显著降低。见表 1。

表 1 肾癌患者与正常对照组血清微量元素检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

元素名称	正常对照组	肾癌患者	P 值
镁 Mg (ppm)	4.417 ± 0.5810	4.408 ± 0.9507	0.4848
钙 Ca (ppm)	11.44 ± 1.781	10.43 ± 2.325	0.0168
铁 Fe (ppb)	130.38 ± 24.04	127.07 ± 32.45	0.3108
铜 Cu (ppb)	121.78 ± 21.14	113.67 ± 32.79	0.1345
锌 Zn (ppb)	70.98 ± 16.81	62.64 ± 17.73	0.0157
钒 V (ppt)	4401.64 ± 566.37	5031.14 ± 908.20	0.0430
铬 Cr (ppt)	16425.56 ± 2155.77	17490.36 ± 3144.85	0.5538
锰 Mn (ppt)	920.18 ± 606.28	2188.64 ± 1033.79	0.0001
钴 Co (ppt)	157.64 ± 40.53	215.68 ± 58.92	0.0061
镍 N (ppt)	1566.47 ± 312.50	1984.86 ± 424.95	0.0073
砷 As (ppt)	5176.86 ± 2185.48	4157.45 ± 828.76	0.1391
钼 Mo (ppt)	1008.03 ± 144.13	1022.14 ± 170.55	0.3770
锶 Sr (ppt)	5106.97 ± 2283.19	4473.32 ± 1643.95	0.3169
汞 Hg (ppt)	282.69 ± 147.75	249.05 ± 165.70	0.3993
镉 Cd (ppt)	33.75 ± 15.36	143.82 ± 159.82	0.0025

### 3 讨论

微量元素在生物体的代谢过程和生长过程中发挥着重要的作用。适量的微量元素为人体健康所必需, 参与体内的生物合成, 并直接影响核酸和蛋白质的合成, 还能增强机体免疫力。若体内微量元素过多或过少都可引起人体疾病, 有的还可致癌。本研究通过对肾癌患者血清中的微量元素测定, 探讨微量元素与肾癌的关系, 并对其临床意义进行分析。

在本实验中, 肾癌患者血清中 Cd、N、Ca、V、Mn 的含量比正常人显著增高, 而 Ca、Zn 的含量显著降低。其中 Cd、N、Co 等元素一直以来被认为具有较明显的致癌作用, 这与本实验结果相符合。肾癌患者体内蓄积了较多的 Cd、N、Ca, 这可能与癌的发生有一定的相关性。Ca、Zn 是体内重要的微量元素, 有临床实验研究已经证明 Ca、Zn 等具有抗癌作用, 这也与本实验的结果相符。肾癌患者体内 Ca、Zn 等抗癌元素的缺乏可能促进了肿瘤的发生和进展。V 和 Mn 一般被认为可预防肿瘤发生甚至有治疗癌症的元素。在本实验中, 它们在肾癌患者体内的含量显著增高。这可能由于其含量过多或者存在化合物的形式发生变化, 导致细胞调节失常, 反而促进了癌症的发展。下面将分别探讨各微量元素与肿瘤的相关性。

#### 3.1 镉 (Cd)

在本实验中, 肾癌患者血清 Cd 值达 143.82 ± 159.82ppt, 明显高于正常对照组 33.75 ± 15.36ppt (P = 0.0025), 提示 Cd 可能与肾癌发生有一定关系。实验研究和流行病学研究已经证实, Cd 作为致癌物, 通过遗传毒性机制作用于人体, 包括诱导氧化应激和 DNA 单链断裂、激活原癌基因、导致基因异常表达、抑制细胞凋亡等。Brama 等通过体外试验表明, Cd 可激活乳腺癌细胞中的信号传导通路, 从而刺激癌细胞的生长。Cemil 等通过对比测定肾肿瘤癌旁组织及胎儿、新生儿、正常成人肾组织中 Cd 的含量, 发现肾肿瘤癌旁组织 Cd 的含量明显高于其它组织, 作者认为可能因为癌旁组织 Cd 作用于体内酶系统, 并刺激肿瘤细胞形成。流行病学研究显示: Cd 的职业暴露增加了肾肿瘤的发病风险。已有不少学者开始尝试研究用于早期检测 Cd 暴露的标记物。

#### 3.2 镍 (N)

在本实验中, 肾癌患者血清 N 值达 1984.86 ± 424.95ppt, 高于正常对照组 1566.47 ± 312.50ppt (P = 0.0073), 提示 N 也是肾癌的危险因素之一。国际癌症研究署将 N 列为第一类的致癌物质。N 通过某些机制促进肿瘤的形成, 包括抑制细胞间信号转导、诱导 DNA 染色体缺失和畸变、促

进 DNA 蛋白质交联等。D ng 还研究发现 N 可以影响人支气管上皮细胞正常细胞周期, 促进肿瘤细胞形成。流行病学研究证实 N 既可以是独立的致癌因素, 也可以联合 Cd 致癌。

### 3.3 钴 (Co)

在本实验中, 肾癌患者血清 Co 值达  $215.68 \pm 58.92$  ppt, 明显高于正常对照组  $157.64 \pm 40.53$  ppt ( $P=0.0061$ ), 提示 Co 可能与肾癌发生有一定关系。Co 被认为是潜在致癌的微量元素, 其通过损伤 DNA、抑制 DNA 修复引起肿瘤细胞增殖。长期暴露于富含 Co 的环境会导致肺癌。另外, Co 还具有上调缺氧诱导因子  $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) 的作用。HIF- $1\alpha$  可以使肿瘤组织在缺氧状态下进行有效的糖酵解活动和血管生成, 从而促进了肿瘤的生长。

### 3.4 钒 (V)

在本实验中, 肾癌患者血清 V 值达  $5031.14 \pm 908.20$  ppt, 高于正常对照组  $4401.64 \pm 566.37$  ppt ( $P=0.0430$ )。在以往的研究中, 钒化合物常常被作为抗癌物质。钒化合物可以对抗致癌物在人体内产生的毒性代谢产物, 从而达到抗癌的作用。实验表明, 二价和三价的钒化合物可以通过氧化应激反应引起线粒体通透性转换孔开放, 导致细胞凋亡, 具有抑制肿瘤细胞生长的作用, 可用于预防肿瘤。Yasuda 等发现肿瘤患者头发中的硒和钒的含量明显低于健康对照者, 统计分析显示硒和钒的含量与肿瘤的发生呈负相关。不过, 也有研究表明, 五价的钒化合物具有一定的致癌性, 在动物实验中, 五价的钒化合物可以诱导大鼠和小鼠肺癌的产生。钒化合物也可导致染色体异常和微核化, 引起 DNA 链断裂、基因突变等效应。流行病学调查显示, 环境中钒和镍的蓄积会增加与乳腺癌的发病有关。可见金属元素与癌症的相关性并不是绝对的, 与其存在的化合物状态有关系。在本实验中, 肾癌患者体内钒的浓度高于正常对照组, 是否与其形成五价化合物有关, 有待进一步对钒化合物形态研究确认。

### 3.5 锰 (Mn)

在本实验中, 肾癌患者血清 Mn 值达  $2188.64 \pm 1033.79$  ppt, 明显高于正常对照组  $920.18 \pm 606.28$  ppt ( $P=0.0001$ )。Mn 是机体必需的微量元素, 在机体中有重要作用, 是精氨酸酶、超氧化物歧化酶等的组成部分。目前 Mn 被认为是一种抗癌元素。锰超氧化物歧化酶是一种较强的抗氧

化剂, 可以保护机体免受自由基的损害。但是锰超氧化物歧化酶丙氨酸-9 缬氨酸却具有致癌作用。国内周利锋等人研究提示, 高锰与胃癌的发病相关。动物实验提示适量的锰有抑癌作用, 过高或过低均可诱发肿瘤。本次研究发现肾癌组血清 Mn 显著高于对照组, 考虑与血清中 Mn 过多引起调节失衡有关, 人体中血清 Mn 的适度范围还有待于大样本的统计学调查。

### 3.6 锌 (Zn)

在本实验中, 肾癌患者血清 Zn 值为  $62.64 \pm 17.73$  ppb, 明显低于正常对照组  $70.98 \pm 16.81$  ppb ( $P=0.0157$ ), 提示 Zn 可能是肾癌的一种保护因子。Zn 是体内 80 多种酶的组成成分和激活剂, 直接影响核酸和蛋白质的合成。Zn 缺乏可能导致免疫缺陷。Dan 等通过对大鼠的实验表明, Zn 可有效对抗化学致癌剂的致癌作用。Adzersen 等通过病例-对照研究, 检测血清和饮食中 Zn 的含量和乳腺癌之间的关系, 两者呈负相关。

### 3.7 钙 (Ca)

在本实验中, 肾癌患者血清 Ca 值为  $10.43 \pm 2.325$  ppb, 明显低于正常对照组  $11.44 \pm 1.781$  ppb ( $P=0.0168$ ), 提示 Ca 也可能是肾癌的一种保护因子。Ca 和维生素 D 摄入不足是很多肿瘤的危险因素。生态学研究显示, 大肠癌、乳腺癌、胃癌、肾癌等的发病率与 Ca 的摄入量呈负相关。Ca<sup>2+</sup> 是一个具有广泛生理调节功能的细胞内信使, 其重要功能之一是诱导细胞在完成使命后的凋亡。如果这种功能发生障碍, 那么便有可能形成肿瘤。联合口服钙和维生素 D 是某些肿瘤化学预防的理想选择。Garland 等的研究表明, 在美国和加拿大, 人群中血清的 Ca<sup>2+</sup> 与 1, 25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 浓度每升高 40~60 ng/mL, 每年将会减少大约 58 000 例乳腺癌和大约 49 000 例大肠癌的发生, 并降低肿瘤患者 3/4 的死亡率。不过, Yaman 等发现与前列腺良性增生细胞相比, 前列腺癌细胞内 Ca<sup>2+</sup> 的含量明显增高。可见必需微量元素含量过多也会导致机体调节紊乱而产生致癌作用。

## 4 结论

在本次研究中, 肾癌患者血清中 Ca、N、Cd 的含量比正常人高 ( $P < 0.05$ ), 说明肾癌的发生可能与这些致癌元素的富集存在一定的相关性。而肾癌患者血清中 Ca、Zn 的含量比正常人低 ( $P < 0.05$ ), 说

明抗癌元素的缺乏也可能和肾癌的发生相关。V、Mn 虽然也必需的微量元素,具有一定抗癌作用,但是其含量过多或者存在化合物形式的变化都有可能改变其正常的功能,导致细胞调节失常,并通过各种机制致癌。微量元素的多样性及其肿瘤的多重相关性说明了微量元素与肿瘤关系的复杂性,微量元素水平在体内的变化是导致肿瘤发生的原因,还是肿瘤的继发性改变,这都需要进一步的研究明确。本实验通过对肾癌患者血清中先于形态学改变的微量元素水平的研究,可从分子水平的营养与代谢角度反映肿瘤发生的早期变化,从而作为癌变研究过程中的一种化学参考指标,进而为肿瘤的流行病学预防及化学治疗提供一定的理论参考。

### 参考文献

[1] Brama M, Gness L, Bascan S, *et al*. Cadmium induces mitogenic signaling in breast cancer cell by an ER-dependent mechanism. *Mol Cell Endocrinol* 2007, 264(1-2): 102

[2] Cenill N, Campanella L, Gross B, *et al*. Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in neoplastic kidneys and renal tissue of fetuses, newborns and corpses. *J Trace Elem Med Biol* 2006, 20: 171

[3] Ifyasova D, Schwartz GG. Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharm*, 2005, 207: 179

[4] Ding J, He GP, Gong WF, *et al*. Effects of Nickel on Cyclin Expression, Cell Cycle Progression and Cell Proliferation in Human Pulmonary Cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009, 18: 1720

[5] Grmstad TK, Berge SR, Martensen JJ, *et al*. Lung cancer incidence among Norwegian nickel-refinery workers 1953 - 2000. *J Environ Monit* 2003, 5: 190

[6] Marles-De Boeck M, Chelne K, Risch-Volders. Cobalt and antimony: genotoxicity and carcinogenicity. *Mutat Res Research* 2003, 533: 135

[7] Bucher JR, Haley JR. Inhalation toxicity and carcinogenicity studies of cobalt sulfate. *Toxicol Cal Sciences* 1999, 49(1): 56

[8] Maxwell P, Sahkoo K. HIF-1, an oxygen and metal responsive transcription factor. *Cancer Biol Ther* 2004, 3: 29

[9] Kostova I. Titanum and vanadium complexes as anti-cancer agents. *Anticancer Agents Med Chem* 2009, 9

(8): 827

[10] Ray RS, Ghosh B, Rana A, *et al*. Suppression of cell proliferation, induction of apoptosis and cell cycle arrest: chemopreventive activity of vanadium in vivo and in vitro. *Int J Cancer* 2007, 120(1): 13

[11] Yasuda H, Yoshida K, Segawa M, *et al*. Metalomics study using harmonic analysis and multiple logistic regression analysis: relationship between cancer and minerals. *Environ Health Prev Med* 2009, 14(5): 261

[12] Mahes JB, Hillard C, Fuseler JW, *et al*. Vanadate, an inhibitor of tyrosine phosphatases, induced premature anaphase in oocytes and aneuploidy and polyploidy in mouse bone marrow cells. *Mutat Res* 2003, 538: 101

[13] Brody JG, Morello-Frosch R, Zota A, *et al*. Linking exposure assessment science with policy objectives for environmental justice and breast cancer advocacy: the northern California household exposure study. *Am J Public Health* 2009, 99, Suppl 3: S600-9

[14] Wang S, Wang F, Sh X, *et al*. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) Val-9A polymorphism and cancer risk - A meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009, 45(16): 2874

[15] 周利锋, 王国栋. 原发性胃癌血清微量元素水平的研究. *山西医科大学学报*, 1997, 28(3): 170

[16] Dan V, Goel A, Vaphe K, *et al*. Chemopreventive potential of zinc in experimentally induced colon carcinogenesis. *Toxicol Lett* 2007, 171: 10

[17] Adzersen KH, Jess P, Frievoel KW, *et al*. Raw and cooked vegetables: fruits selected micronutrients and breast cancer risk: a case-control study in Germany. *Nutr Cancer* 2003, 46: 131

[18] Peterlik M, Grant WB, Cross HS. Calcium, vitamin D and cancer. *Anticancer Res* 2009, 29(9): 3687

[19] Lamprecht SA, Lpkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2003, 3(8): 601

[20] Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, *et al*. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Ann Epidemiol* 2009, 19(7): 468

[21] Yanan M, Atced, Bakirdere S, Akdeniz I. Comparison of trace metal concentrations in malign and benign human prostate. *J Med Chem*, 2005, 48(2): 630