

血清铜蓝蛋白水平在HBV携带伴妇科肿瘤患者治疗中的意义

刘华放, 许艳丽, 曹彦君, 刘军 (首都医科大学附属北京地坛医院 妇产科, 北京 100015)

摘要: 目的 探究血清铜蓝蛋白水平对HBV携带伴妇科肿瘤患者治疗和预后的意义。方法 选取2013年6月1日至2016年7月3日于首都医科大学附属北京地坛医院住院的HBV携带伴妇科肿瘤患者90例为肿瘤组, 包括42例良性肿瘤患者和48例恶性肿瘤患者, 另外选取45例女性HBV携带者为对照组。采用免疫透射比浊法测定各组患者血清铜蓝蛋白含量, 追踪随访20例恶性肿瘤根治术患者及6例术后复发患者的血清铜蓝蛋白水平, 检测各组患者138和397位点上铜蓝蛋白的核心岩藻糖基化比率。结果 良性肿瘤及恶性肿瘤根治术后患者血清铜蓝蛋白含量与对照组相比, 差异无统计学意义 (t 值分别为0.771、0.534, P 值分别为0.586、0.711); 恶性肿瘤患者血清铜蓝蛋白水平显著高于良性肿瘤组及对照组, 差异有统计学意义 (t 值分别为3.259和1.365, P 值分别为0.013和0.022); 行恶性肿瘤根治术的20例患者中有6例肿瘤复发, 铜蓝蛋白水平显著升高 ($t = 3.255$, $P = 0.015$)。恶性肿瘤患者138位点和397位点铜蓝蛋白岩藻糖基化比率显著高于对照组及良性肿瘤组, 差异有统计学意义 (138位点: t 值分别为3.567、4.556, P 值分别为0.023、0.014; 397位点: t 值分别为4.598、4.620, P 值分别为0.013、0.011)。结论 检测肝脏合成的血清铜蓝蛋白水平对HBV携带伴妇科肿瘤患者的良、恶性鉴别有参考价值, 并且对恶性肿瘤患者的随访具有一定意义。

关键词: 血清铜蓝蛋白; HBV携带; 妇科肿瘤; 核心岩藻糖基化

Clinical value of serum ceruloplasmin levels in HBV carriers with gynecologic tumor

LIU Hua-fang, XU Yan-li, CAO Yan-jun, LIU Jun (Department of Obstetrics and Gynecology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical value of serum ceruloplasmin in the diagnosis and prognosis of hepatitis B virus carriers with gynecologic tumor. **Methods** Total of 90 HBV carriers with gynecologic tumor in Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University from June 1, 2013 to July 3, 2016 were selected as cancer group (including 42 cases with benign tumors and 48 cases with malignant tumors) and another 45 female HBV carriers were selected as control group. Immunohistochemical rate nephelometer technique was used to assess the levels of serum ceruloplasmin. The core-fucosylation ratio of 138 site and 397 site were also detected. **Results** The serum level of ceruloplasmin in benign group and patients underwent radical resection of malignant tumor had no statistical differences compared with that in control group ($t = 0.771, 0.534$; $P = 0.586, 0.711$). The serum levels of ceruloplasmin in patients with malignant tumor were significantly higher than those of patients with benign tumor and controls ($t = 3.259, 1.365$; $P = 0.013, 0.022$). After radical correction, 6 out of 20 cases were found tumor recurred, whose serum ceruloplasmin levels increased significantly ($t = 3.255$, $P = 0.015$). The ceruloplasmin core-fucosylation ratio of 138 site and 397 site of malignant tumor group were significantly higher than those of benign group and controls (138 site: $t = 3.567, 4.556$, $P = 0.023, 0.014$; 397 site: $t = 4.598, 4.620$, $P = 0.013, 0.011$). **Conclusions** Serum ceruloplasmin level has a reliable clinical value on the differential diagnosis of gynecological oncological diseases and has great significance on the follow-up strategy of cancer.

Key words: Serum ceruloplasmin; HBV carriers; Gynecological oncological diseases; Core-fucosylation

众所周知, 氧化应激反应是许多急性或慢性疾病的显著特征, 其也参与癌症的发生与发展^[1]。机体通过合成抗氧化剂这一保护机制削弱氧自由

基造成的损伤, 其在各种疾病包括肿瘤类疾病中具有相当重要的作用^[2]。肝脏合成的铜蓝蛋白 (ceruloplasmin, CER) 是一种含铜且具有氧化酶活性的球蛋白, 又称为铁氧化酶^[3,4]。其作为一种急性时相蛋白, 在诸多病理情况下会显著增加, 尤其在发生恶性肿瘤时, 体内会产生大量的超氧自由

基,从而刺激肝脏产生大量铜蓝蛋白^[5]。不少国内外学者均发现血清铜蓝蛋白与恶性肿瘤的发生、发展、预后及复发显著相关^[6,7]。近年来,核心岩藻糖基化(core-fucosylation)这一新型的诊断策略成为研究热点,其被作为各类肿瘤的潜在血清标记物^[8-10]。Yin等^[5]研究发现,在肝细胞肝癌患者体内,岩藻糖基化的铜蓝蛋白含量显著高于正常对照组,且在其发现的4个铜蓝蛋白糖苷位点中,位点138和397在疾病发生时更易发生糖基化。

我国是乙型肝炎大国,总人口中接近10%人群呈乙型肝炎病毒表面抗原阳性,严重危害了患者的生活质量,加重了其经济负担^[11]。由于目前尚无有效药物根除HBV,无症状HBV携带成为传染病中一个非常特殊的问题。另一方面,妇科疾病特别是妇科肿瘤是威胁女性的一大杀手,其发病愈来愈倾向于年轻化,早期及时诊断,精确的病理分型、分级,合理的治疗及治疗后定期随访将大大降低此类疾病的危害性。慢性肝炎、肝硬化及其他肿瘤类疾病均会造成肝脏合成的铜蓝蛋白水平改变,因此本研究将对HBV携带者伴妇科肿瘤这一特殊群体的血清铜蓝蛋白水平进行研究,以期明确在不同类型肿瘤及同种肿瘤的不同分期中铜蓝蛋白的变化规律,进一步为临床对HBV携带者伴妇科肿瘤患者的诊断、治疗及预后判断提供科学依据。此外,本研究将首次探索铜蓝蛋白核心岩藻糖基化比率在HBV携带伴妇科肿瘤患者和HBV携带者中的差异。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2013年6月1日至2016年7月3日于

首都医科大学附属北京地坛医院住院的HBV携带伴妇科肿瘤患者90例为肿瘤组,另外选取45例女性HBV携带者为对照组。纳入标准:①所有纳入病例均进行HBV表面标志物的检测,确诊为HBV携带者;②各型肿瘤均由两位专业临床医生根据患者的症状、体征、实验室及组织病理学检查得以确诊;③均接受随访,得到完整的随访资料。排除标准:①良性及恶性肿瘤组患者均排除其他系统肿瘤;②随访资料不完整或缺失病例。

1.2 仪器 主要仪器包括离心机(Eppendorf)和Array-360System特种蛋白仪(Beckman)。

1.3 检测方法 采集研究对象清晨空腹外周静脉血5 ml,室温静置10~15分钟,3000 rpm离心10分钟(离心半径10 cm),即可获得血清,置于-80℃储存备用。血清中铜蓝蛋白水平的检测采用免疫透射比浊法,测试前将血清静置于室温中融化。铜蓝蛋白岩藻糖基化位点分析交由上海天昊生物科技有限公司进行检测,具体流程见图1。

1.4 统计学处理 应用SPSS 21.0软件进行数据统计与分析,采用GraphPad Prism 5绘制统计图。所有计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组之间的比较采用配对t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的一般资料 对照组患者共45例,年龄18~60岁,均无任何肿瘤疾病。肿瘤组患者包括:①良性肿瘤组:42例,年龄20~59岁,其中卵巢良性肿瘤18例,子宫肌瘤24例。②恶性肿瘤组:48例,年龄29~62岁,包括卵巢癌8例,外阴癌6例,

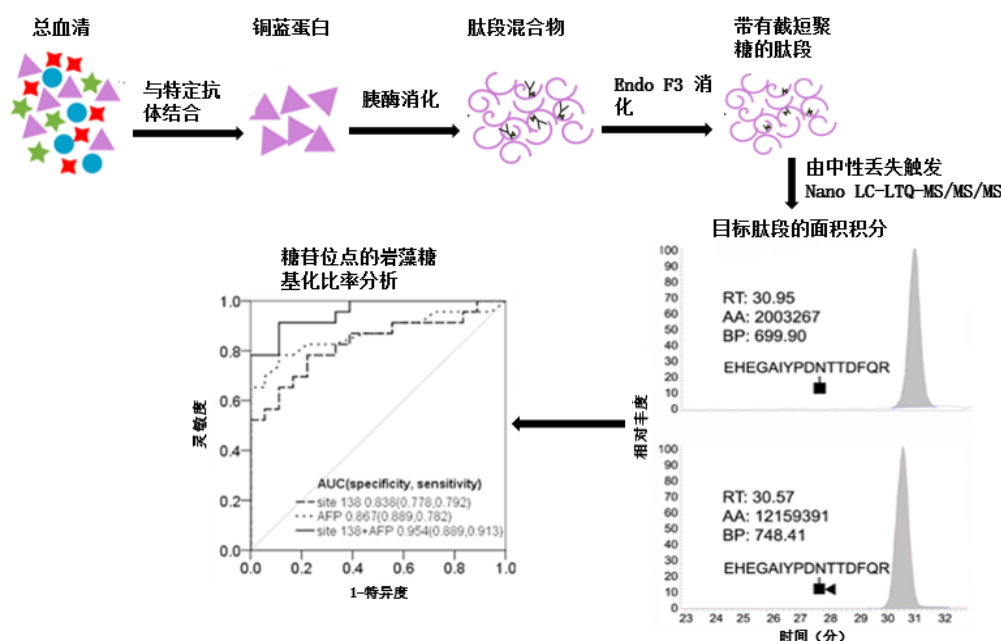


图1 血清铜蓝蛋白岩藻糖基化比率分析流程(138及397糖苷位点)

子宫颈癌18例, 子宫内膜癌14例, 绒毛膜癌2例。其中20例患者(4例卵巢癌、2例外阴癌、10例子宫颈癌及4例子子宫内膜癌)进行了根治性手术。在术后第10个月至20个月的随访期内, 6例患者(2例卵巢癌、1例外阴癌及3例子宫颈癌)出现肿瘤复发, 恶化程度均较前严重。

2.2 两组患者血清铜蓝蛋白水平的比较 对照组患者血清铜蓝蛋白为(311.3 ± 42.6) mg/L, HBV携带伴良性肿瘤组患者血清铜蓝蛋白为(334.5 ± 56.7) mg/L, 与对照组相比差异无统计学意义($t = 0.771$, $P = 0.586$)。HBV携带者伴恶性肿瘤组血清铜蓝蛋白为(462.7 ± 12.1) mg/L, 与对照组及良性肿瘤组相比, 含量显著升高, 差异具有统计学意义(t 值分别为3.259和1.365, P 值分别为0.013和0.022)。恶性肿瘤组中20例患者经根治术后, 血清铜蓝蛋白水平为(325.6 ± 70.1) mg/L, 与对照组相比差异无统计学意义($t = 0.534$, $P = 0.711$), 相较于术前, 血清铜蓝蛋白水平显著降低($t = 2.664$, $P = 0.018$)。经根治术后复发的6例患者其血清铜蓝蛋白再次升高至(473.7 ± 16.4) mg/L, 与术前相比, 差异无统计学意义($t = 0.422$, $P = 0.633$); 与根治术后相比, 差异有统计学意义($t = 3.255$, $P = 0.015$)。

2.3 血清铜蓝蛋白138位点及397位点的核心岩藻糖基化比率分析 在恶性肿瘤组中, 138及397位点都发生了明显的岩藻糖基化修饰, 与对照组及良性肿瘤组相比, 核心岩藻糖基化比率的差异有统计学意义(138位点: t 值分别为3.567、4.556, P 值分别为0.023、0.014; 397位点: t 值分别为4.598、4.620, P 值分别为0.013、0.011), 见图2。

3 讨论

铜蓝蛋白由肝细胞合成, 属于 α_2 糖蛋白, 是多铜氧化酶家族成员之一, 其最重要的功能是将铜元素从肝脏源源不断地运输到人体的各个组织、器

官、系统^[12]。根据血清中铁离子或其他类似功能元素的微量水平, 铜蓝蛋白可发挥氧化剂或抗氧化剂的功能, 其可直接通过阳离子氧化而阻止脂质氧化的发生, 因而细胞膜的脂质氧化变得可控制^[13,14]。近年来, 抗氧化防御系统对肿瘤类疾病发生和发展的作用逐渐成为热点研究, 这个防御系统主要由酶及低分子量化合物等辅因子构成。金属蛋白在氧化还原反应中起重要作用, 铜元素是此类蛋白的关键成分, 人体内95%铜元素由铜蓝蛋白提供^[15]。

在白血病、淋巴瘤、肉瘤、支气管癌、黑色素瘤和妇科恶性肿瘤患者中, 铜元素含量显著升高^[16,17]。在一项针对肺癌患者的研究中, Pignatelli等发现当患者发生肺癌时, 机体内氧化应激反应增强, 引发肝脏合成铜蓝蛋白增加及其他血浆蛋白的硝化或氧化反应^[18]。国外一些研究也发现铜蓝蛋白在乳腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌及口腔黏膜白斑病患者中水平显著升高^[3,7]。铜蓝蛋白主要对原发性肿瘤的诊断有重要意义, 高国生等^[23]研究指出铜蓝蛋白在原发性肝癌的诊断中具有重要价值, 对转移性肿瘤测定的意义尚未见报道。女性生殖系统肿瘤起源复杂, 组织结构多样, 受神经内分泌影响不断变化, 且所在部分极易受细菌或病毒感染, 越来越受到人们的关注^[19,20]。我国作为乙型肝炎高发地区, 妇科肿瘤人群中常有部分HBV携带者。无症状HBV携带者的肝功能通常是正常的, 但其肝组织可能会有不同程度的病变, 这类人群体内仍然存在HBV, 一旦病毒开始复制, 就会导致患者肝组织受损, 引起病情恶化。现阶段, 妇科恶性肿瘤的发病逐渐趋于年轻化且病情进展迅速, 虽然通过病理学及影像学手段, 肿瘤诊断的敏感性及精确性已显著提升, 但不可否认, 这些手段费用相对昂贵且为有创操作^[21,22]。针对HBV携带者伴妇科肿瘤这一特殊群体, 尚无相关的临床研究。因此, 亟需一项费用低廉、检测方便, 对肿瘤诊断、鉴别诊断及预后判断都有价值的检测手段。肝脏合成的铜蓝蛋白水平在肿瘤患者

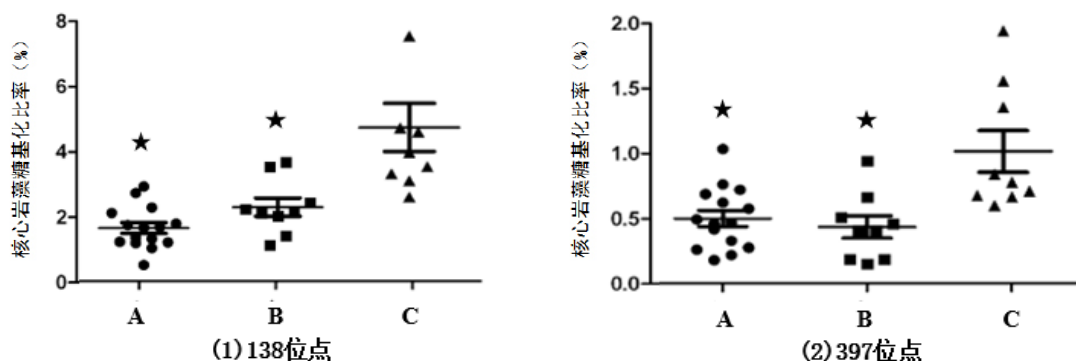


图2 血清铜蓝蛋白138位点及397位点的核心岩藻糖基化比率分析

注: 横坐标中A、B、C分别代表对照组(HBV携带者)、良性肿瘤组及恶性肿瘤组; 与恶性肿瘤组相比, * $P < 0.05$

体内的变化为此提供了研究思路,并在本研究中亦证实了其实用性和可靠性。

通过本研究,可以得出以下结论:①患者恶性肿瘤发生时,体内产生大量的超氧自由基,刺激肝脏产生大量铜蓝蛋白来清除这些超氧自由基,故血清铜蓝蛋白水平显著高于对照组及良性肿瘤组。提示肝脏合成的铜蓝蛋白可作为HBV携带者鉴别良、恶性肿瘤的一项辅助指标。②本研究首次发现在两个特定位点上(138和397)核心岩藻糖基化修饰的铜蓝蛋白比率在妇科良、恶性肿瘤患者中差异显著。Yin等^[5]研究进一步阐明了4个位点(138、358、397和762)的糖基化比率在不同病因诱发的肝癌中亦存在差异。提示依据此差异可使检测范围从铜蓝蛋白这一非特异性物质缩小至具有相对特异性的糖苷,若能发现具有妇科肿瘤特异性的糖苷位点,将会对疾病诊断和预后判断带来更大获益。③当患者接受恶性肿瘤根治术后,大部分甚至全部癌细胞被消除,缺少了刺激源,体内将不再产生大量的超氧自由基,肝脏合成的铜蓝蛋白减少,其含量很快趋近于正常水平。然而,恶性肿瘤复发患者的铜蓝蛋白水平再次显著升高,由此可见其可作为肿瘤治疗效果监测的辅助指标。当然,氧自由基的产生要归咎于多方面因素,因此在检测铜蓝蛋白含量时,应排除其他系统的肿瘤类疾病,并结合妇科肿瘤的其他相关指标进行综合判断,这样可使肝脏合成的血清铜蓝蛋白在HBV携带伴妇科肿瘤患者中的诊断和预后判断应用更加科学,且更具有说服力。本研究也存在许多不足之处,如各类妇科肿瘤性质有不同,肿瘤细胞分化、凋亡等方式亦不同,未对其分类进行对照。

综上所述,血清铜蓝蛋白水平对HBV携带伴妇科肿瘤患者的良、恶性鉴别有参考价值,并且对恶性肿瘤患者的治疗随访具有一定意义。

参考文献

- [1] ZHOU Y, HUANG S, SHEN H, et al. Detection of glutathione in oral squamous cell carcinoma cells with a fluorescent probe during the course of oxidative stress and apoptosis[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2017, 75(1): 223.
- [2] Nascimento VH, Lima CD, Paixão JT, et al. Antioxidant effects of a?ai seed (*Euterpe oleracea*) in anorexia-cachexia syndrome induced by Walker-256 tumor[J]. *Acta Cir Bras*, 2016, 31(9): 597-601.
- [3] Muhammad IF, Borné Y, Hedblad B, et al. Acute-phase proteins and incidence of diabetes: a population-based cohort study[J]. *Acta Diabetol*, 2016, 53(6): 981-989.
- [4] Adamczyk-Sowa M, Sowa P, Mucha S, et al. Changes in serum ceruloplasmin levels based on immunomodulatory treatments and melatonin supplementation in multiple sclerosis patients[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 2484-2491.
- [5] Yin H, Lin Z, Nie S, et al. Mass-selected site-specific core-fucosylation of ceruloplasmin in alcohol-related hepatocellular carcinoma[J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(6): 2887-2896.
- [6] Balmaña M, Sarrats A, Llop E, et al. Identification of potential pancreatic cancer serum markers: Increased sialyl-Lewis X on ceruloplasmin[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 442: 56-62.
- [7] Miyamoto S, Ruhaak LR, Stroble C, et al. Glycoproteomic analysis of malignant ovarian cancer ascites fluid identifies unusual glycopeptides[J]. *J Proteome Res*, 2016, 15(9): 3358-3376.
- [8] Lin Z, Yin H, Lo A, et al. Label-free relative quantification of alpha-2-macroglobulin site-specific core-fucosylation in pancreatic cancer by LC-MS/MS[J]. *Electrophoresis*, 2013, 35(15): 2108-2115.
- [9] Ahn JM, Sung HJ, Yoon YH, et al. Integrated glycoproteomics demonstrates fucosylated serum paraoxonase 1 alterations in small cell lung cancer[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13(1): 30-48.
- [10] Sato Y, Nakata K, Kato Y, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein[J]. *N Engl J Med*, 1993, 328(25): 1802-1806.
- [11] 蒋凤, 莲施为, 建梁, 等. HBsAg(-)伴HBcAb(+)妇科肿瘤患者TP化疗方案化疗后乙肝病毒再激活的临床研究[J]. *中国现代医学*, 2016, 54(12): 154-157.
- [12] 陈曦, 王楚怀, 丰岩清, 等. TX小鼠铜代谢和肝损害的实验研究[J]. *中华肝脏病杂志*, 2009, 17(9): 688-691.
- [13] Kashyap S, Kheniser K, Li L, et al. Erratum to: The therapeutic efficacy of intensive medical therapy in ameliorating high-density lipoprotein dysfunction in subjects with type two diabetes[J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15(1): 141-145.
- [14] Grešner P, Świercz R, Król MB, et al. Does the low-level occupational exposure to volatile organic compounds alter the seasonal variation of selected markers of oxidative stress? A case-control study in nail technicians[J]. *J Occup Med Toxicol*, 2016, 11: 36-39.
- [15] MC L. Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update[J]. *Metallomics*, 2016, 8(9): 887-905.
- [16] Zhou Y, Abel GA, Hamilton W, et al. Diagnosis of cancer as an emergency: a critical review of current evidence[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(1): 45-56.
- [17] Wu T. Serum iron, copper and zinc concentrations and risk of cancer mortality in US adults[J]. *Ann Epidemiol*, 2004, 14(3): 195-201.
- [18] Pignatelli B, Boffetta P. Nitrated and oxidized plasma proteins in smokers and lung cancer patients[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(2): 778-784.
- [19] Anagnostopoulos A, Mouzakiti N, Ruthven S, et al. Primary cervical and uterine corpus lymphoma; a case report and literature review[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2013, 6(4): 298-306.
- [20] Petricone-Westwood D, Lebel S. Being a caregiver to patients with ovarian cancer: A scoping review of the literature[J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 143(1): 184-192.
- [21] Hennigs A, Riedel F, Gondos A, et al. Prognosis of breast cancer molecular subtypes in routine clinical care: A large prospective cohort study[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 734-739.
- [22] DONG A, LU Y, LU B. Genomic/Epigenomic alterations in ovarian carcinoma: translational insight into clinical practice[J]. *J Cancer*, 2016, 7(11): 1441-1451.
- [23] 高国生, 冯家飞, 丁世雄. 甲胎蛋白、铜蓝蛋白和触珠蛋白联合诊断原发性肝癌评价[J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, (12): 2833-2834, 2842.

收稿日期: 2016-10-09

刘华放, 许艳丽, 曹彦君, 等. 血清铜蓝蛋白水平在HBV携带伴妇科肿瘤患者治疗中的意义[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2017, 9(1): 36-39.