

• 临床检验研究论著 •

非霍奇金淋巴瘤患者血清 TAM 和 β 2-微球蛋白检测及意义

李小优,冯继锋[△],吴剑秋,汤唯艳,刘宇飞,张 琰

(江苏省肿瘤医院内科,江苏南京 210009)

摘 要:目的 探讨肿瘤相关物质(TAM)和 β 2-微球蛋白(β 2-MG)检测在非霍奇金淋巴瘤(NHL)患者诊断、化疗疗效评价中的临床意义。方法 检测 161 例 NHL 患者及 37 例体检健康者血清 TAM 和 β 2-MG 水平,分析 TAM 和 β 2-MG 与疾病发展及预后的关系。结果 NHL 患者血清 TAM 和 β 2-MG 水平高于健康体检者($P<0.05$);并发骨髓浸润的 NHL 患者的 TAM 和 β 2-MG 水平明显高于未有骨髓浸润患者;TAM 和 β 2-MG 表达水平与患者年龄和性别均无相关性($P>0.05$),而惰性淋巴瘤的 TAM 和 β 2-MG 水平比侵袭性和高侵袭性的淋巴瘤水平低($P<0.05$);I~II 期和 III~IV 期患者 TAM 和 β 2-MG 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$);临床治疗有效的患者,治疗后 TAM 和 β 2-MG 浓度较治疗前均有明显下降($P<0.05$)。结论 TAM 和 β 2-MG 在 NHL 患者血清中的表达水平,对临床分期、病理恶性程度、肿瘤侵犯程度均有一定指导意义;TAM 和 β 2-MG 的检测对 NHL 治疗反应的判断有一定价值,可作为 NHL 患者诊断及疗效评估的有效指标。

关键词:淋巴瘤,非霍奇金; β 2 微球蛋白; 肿瘤相关物质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)02-0165-02

The significance of serum tumor associated marker and β 2-MG in patients with non-Hodgkin's lymphoma and treated with chemotherapy

Li Xiaoyou, Feng Jifeng[△], Wu Jianqiu, Tang Weiyan, Liu Yufei, Zhang Yan
(Tumour Hospital of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract: Objective To evaluate the clinical value of serum tumor associated marker(TAM) and β 2-microglobulin(β 2-MG) in the diagnosis and treatment of non-Hodgkin's lymphoma(NHL). **Methods** To compare the levels of serum TAM and β 2-MG in 161 patients with NHL and 37 healthy controls in order to analyze the relationships, the development and prognosis of NHL. **Results** The levels of serum TAM and β 2-MG in NHL were higher than the healthy controls($P<0.05$). The levels of serum TAM and β 2-MG combined with marrow invasion were higher than those without marrow invasion($P<0.05$). There was no statistic difference in TAM and β 2-MG expression levels among different ages and sexes($P>0.05$). The levels of serum TAM and β 2-MG in NHL patients with high-grade histological classification were higher than those with low-grade($P<0.05$). The levels of serum TAM and β 2-MG in patients in stage III-IV were higher than those in stage I-II($P<0.05$). The average levels of serum TAM and β 2-MG before treatment were higher than those after effective treatment($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum TAM and β 2-MG in NHL patients were helpful in the evaluation of Dukes stage, clinicopathological characteristics, the degree of invasion and estimating the treatment.

Key words: lymphoma, non-hodgkin; beta 2-microglobulin; tumor associated marker

恶性淋巴瘤是起源于淋巴网状系统的恶性肿瘤,多发生于淋巴结和(或)结外部位淋巴组织,是中国常见的十大恶性肿瘤之一。近年来发病率呈上升趋势。恶性淋巴瘤按病理和临床特点可分为两大类:霍奇金淋巴瘤(HL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL),其中 NHL 约占 90%。在最近的 30 年里, NHL 在世界范围内的发病率几乎增长了 1 倍^[1]。目前,肿瘤标志物已广泛应用于恶性肿瘤的辅助诊断、疗效观察、病情监测和预后判断^[2]。肿瘤相关物质(TAM)为近年来发现的一种新型广谱恶性肿瘤标志。 β 2-微球蛋白(β 2-MG)是临床上应用较多的 NHL 肿瘤标志物,与 NHL 的分期、组织学分型及预后等有直接关系。本研究通过检测 NHL 患者血清 TAM 和 β 2-MG 水平,以探讨其在 NHL 诊断、疗效和预后判断中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 6 月至 2012 年 6 月在本院就诊经病理组织学检查确诊为 NHL 的患者 161 例。其中男性 87 例,女性 74 例,年龄 11~82 岁,中位年龄 52 岁。患者临床、病理及实验室资料完整,并密切随访。患者病理类型和恶性程度按 1997 年 WHO 制定的造血淋巴组织肿瘤分类标准^[3]及《淋巴瘤》^[4]进行分类;临床分期按 Ann Arbor 进行分期。161 例

NHL 中按恶性程度分为高侵袭性 19 例、侵袭性 112 例、惰性 30 例。161 例 NHL 患者临床分期为 I~II 期 39 例、III~IV 期 122 例,其中 9 例患者骨髓有浸润。161 例患者均接受化疗,患者进行 2 周期的化疗后根据《血液病诊断及疗效标准》^[5]确定化疗疗效。37 例健康对照组为本院 2010 年 9 月的健康体检者,平均年龄为 54 岁,男性 21 例、女性 16 例。

1.2 仪器与试剂 GF-II 半自动生化分析仪、可见分光光度计、Eppendorf 微量移液器、数显恒温水箱 HH-420、Luminex FLEX MAP3D 液相芯片检测仪、临床 TAM 检测试剂盒(青岛博新生物技术有限公司);Millipore Milliplex MAP HKT2 试剂盒(上海密理博贸易有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本收集 所有患者于化疗前和完成 2 个周期化疗后采集空腹静脉血 4 mL,混匀后按 3 000×g 离心 10 min 后分离血清, -80℃ 保存待测(避免反复冻融)。排除患者在观察期间存在感染、出血或组织创伤等情况。

1.3.2 检测方法

1.3.2.1 TAM 的测定 严格按血清 TAM 检测试剂说明书要求进行,由专门技术人员操作。准确取 100 μ L 血清加入含

2.0 mL TAM 试剂的测试管中,置沸水浴中 15 min,取出测试管,置冷水中冷却 5 min,在 GF-II 半自动生化分析仪 450 nm 波长处,以蒸馏水调零,测定其吸光度,根据标准曲线算出相应的 TAM 值。按照青岛博新生物技术有限公司提供的判定标准:TAM<95 U/mL 为阴性,≥95 U/mL 为阳性。

1.3.2.2 血清 β2-MG 的测定 取 200 μL 血清放到 96 孔板中,将试剂盒提供的塑料珠与缓冲液混合均匀,向标本检测板中加入塑料珠混悬液,25 μL 每孔。在室温下避光振摇标本检测板 16 h。向标本检测板中加入检测抗体,50 μL 每孔。在室温下振摇 5 min 后将标本放入 Luminex FLEX MAP3D 液相芯片检测仪中检测,将检测产生的数据,用软件 Xponent4 的五参数法进行分析。β2-MG<1 650 ng/mL 为正常。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计分析软件对数据进行统计学处理,所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NHL 组与健康对照组血清中 TAM 和 β2-MG 水平比较 NHL 组 TAM 和 β2-MG 水平分别为(103.91±17.68)U/mL、(5 259.2±40.27)ng/mL,均高于健康对照组的(79.83±10.24)U/mL、(1 017.9±22.73)ng/mL,两组间 TAM 和 β2-MG 差异均有统计学意义(*P*<0.05)。

2.2 合并骨髓浸润的 NHL 患者血清 TAM、β2-MG 水平与骨髓未浸润组的比较 合并骨髓浸润的 NHL 患者共有 9 例,其血清 TAM 浓度为(112.24±7.94)U/mL,比骨髓未浸润组[TAM 浓度为(102.92±15.27)U/mL]高,差异有统计学意义(*P*<0.05);其血清 β2-MG 平均浓度为6 521.5 ng/mL 比骨髓未浸润组(β2-MG 平均浓度 5 031.7 ng/mL)高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

2.3 不同年龄、性别、恶性程度及临床分期的患者血清 TAM、β2-MG 水平比较 TAM 及 β2-MG 表达水平在患者年龄和性别组间差异均无统计学意义(*P*>0.05);惰性淋巴瘤患者与侵袭性淋巴瘤患者的 TAM、β2-MG 比较,差异有统计学意义(*P*<0.05);I~II 期与 III~IV 期 NHL 患者 TAM、β2-MG 表达水平比较,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

表 1 NHL 患者治疗前血清 TAM 和 β2-MG 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TAM(U/mL)	β2-MG(ng/mL)
年龄(岁)			
>60	62	104.69±16.81	5 507.2±50.65
≤60	99	102.51±21.70	5 071.0±36.25
性别			
男性	87	102.46±13.24	5 736.2±53.13
女性	74	103.81±10.62	5 221.1±39.77
恶性程度			
惰性	30	97.86±9.85	4 396.5±29.78
侵袭性	131	108.65±20.19*	5 916.0±36.53*
临床分期			
I~II 期	39	96.82±6.45	4 052.2±19.44
III~IV 期	122	106.47±13.84#	5 771.7±64.26#

*:*P*<0.05,与 NHL 惰性患者比较;#:*P*<0.05,与 I~II 期患者比较。

2.4 临床疗效评价 161 例 NHL 患者接受 2 个周期化疗后,47.83%完全缓解(CR),19.88%部分缓解(PR),18.63%病情稳定(SD),13.66%病情进展(PD)。SD 组加上 PD 组为无效组。

2.5 NHL 患者化疗前后血清 TAM、β2-MG 表达水平的比较 分别取 NHL 患者治疗前后的血清标本,自身对照比较治疗

前后的 TAM 及 β2-MG 水平。CR 组和 PR 组化疗后与化疗前患者 TAM 及 β2-MG 水平比较,后者均明显低于前者(*P*<0.05)。无效组患者化疗前后 TAM 及 β2-MG 水平无明显变化(*P*>0.05),见表 2。

表 2 NHL 患者化疗前后血清 TAM 和 β2-MG 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TAM(U/mL)	β2-MG(ng/mL)
CR 组(<i>n</i> =77)		
化疗前	105.44±18.75	6 663.1±51.00
化疗后	89.54±15.63*	2 921.9±25.41*
PR 组(<i>n</i> =32)		
化疗前	106.44±22.66	5 741.3±47.94
化疗后	92.78±12.84#	3 495.1±22.69#
无效组(<i>n</i> =52)		
化疗前	105.60±14.66	5 995.8±43.05
化疗后	108.50±20.74	6 340.4±64.28

*:*P*<0.01,与 CR 组化疗前比较;#:*P*<0.01,与 PR 组化疗前比较。

3 讨 论

目前国际上淋巴瘤诊断的金标准是病理组织学诊断,NHL 的预后指标多采用国际预后指标(IPI),但国际上尚无可用于淋巴瘤预后判断的金指标^[6]。TAM 是新型的以糖蛋白等糖胺类物质和 L-羟脯氨酸等氨基酸类物质为主要检测对象的试剂。TAM 通过检测末端唾液酸含量来检测肿瘤信号。其次,末端聚糖抗原决定簇过表达经常出现,已发现有 sLex、sTn、Globo H、Ley 和抗原聚唾液酸等。TAM 通过特殊的高分子载体识别特定的寡糖序列从而识别特定末端聚糖抗原决定簇,并与之发生反应^[7]。肿瘤发生时羟脯氨酸含量升高,羟脯氨酸为体内骨和胶原的基本结构;肿瘤发生骨转移的时候,大量骨和胶原分解,释放出羟脯氨酸,故羟脯氨酸含量对肿瘤骨转移敏感。刘泽民^[8]做了血清游离脯氨酸、游离羟脯氨酸和肽结合羟脯氨酸测定及其在骨肿瘤的评价,其研究发现,游离羟脯氨酸在恶性肿瘤患者中显著增高,肽结合羟脯氨酸在鉴别骨肿瘤恶性和良性中有显著意义。目前发现的肿瘤标志物大部分都是包含特定的寡糖序列的糖蛋白、糖脂;TAM 通过高分子载体识别这些寡糖序列从而与多种肿瘤标志物进行反应。

β2-MG 在许多恶性肿瘤患者中均有不同程度的升高,尤以代谢活跃的恶性肿瘤细胞为著。由于大部分肿瘤的 β2-MG 阳性率都低于 50%,与其他肿瘤标志物联合应用就十分重要。陈芳等^[9]研究显示 β2-MG 对 NHL 患者有无骨髓浸润、疗效判断有重要意义。近年来有学者认为血清 β2-MG 在 NHL 患者中有不同程度升高^[10]。梁进等^[11]研究显示 NHL 患者的 β2-MG 浓度常高于正常值,且 III~IV 期患者明显高于 I~II 期患者(*P*<0.05),伴有全身症状者明显高于无全身症状者;CR、PR、SD 组患者治疗后 β2-MG 水平明显下降(*P*<0.05)。以上结果说明,β2-MG 表达水平与临床分期、全身症状、骨髓浸润情况及临床疗效有相关性。Federico 等^[12]测定了 236 例滤泡性淋巴瘤患者 β2-MG 浓度并探讨其预后作用,结果显示 β2-MG 是一项独立、稳定的预后指标;多因素分析显示 β2-MG 对生存期的影响独立于 IPI 评分。β2-MG 可以作为 IPI 评分以外的一项独立的预后指标。当发生骨髓浸润时,NHL 细胞自身合成 β2-MG 的速度加快、代谢旺盛,破坏增加导致大量 β2-MG 释放入血,同时机体参与肿瘤免疫的细胞增生也导致 β2-MG 合成量的增加。多数学者认为,β2-MG 持续增高提示肿瘤的恶性度增加,预后欠佳。

本研究分别对患者年龄、性别、病理恶性(下转第 168 页)

3 讨 论

本研究结果显示,血清 HA、LN、PⅢ NP 和Ⅳ-C 在慢性肝病中的浓度显著增高,且四项指标在 CPH 组、CAH 组、LC 组的浓度呈上升趋势,与文献报道一致^[1-2]。

HA 是由间质细胞合成的一种大分子氨基多糖,肝纤维化时,由于星状细胞对其合成增加或由于肝血窦毛细血管化、肝血窦内皮细胞受损及门脉短路对血清中的 HA 摄取和降解减少,使血清 HA 升高^[3-4]。本研究 103 例慢性肝病血清 HA 浓度与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$),特别是 LC 组增高更为显著,提示血清 HA 对中、重度肝纤维化、肝硬化患者具有较高的诊断价值。有学者认为,HA 在目前所有肝纤维化血清标志物中最具临床实用价值^[5]。

临床上对 LC 的诊断缺乏敏感、特异的生化指标,传统的清蛋白测定敏感性低,假阴性率高。本组 30 例 LC 患者中,清蛋白浓度小于或等于 35 g/L 者仅占 56.6%,血清 HA 浓度高于 300 ng/mL 者占 90.0%,提示将血清 HA 作为辅助诊断 LC 的指标,可提高 LC 的诊断率。

LN 是一种细胞外基质非胶原性蛋白,主要来源于星状细胞,正常肝脏中含量很少,主要分布于肝胆管、血管和淋巴管的基底膜中,肝纤维化时,LN 可与其他 ECM 成分交联,形成基底膜样结构,故此指标可以反映肝窦毛细血管化和汇管区纤维化。有研究结果显示,LN 与肝纤维化程度和门静脉压力呈正相关,可作为早期诊断肝纤维化的指标之一^[6]。

PⅢ NP 主要由肝脏的星状细胞合成,释放到细胞外,在肝纤维化过程中,PⅢ NP 合成增加,降解减少,是反映肝内纤维化的特异指标。有报道,血清 PⅢ NP 增高提示活动性肝纤维化,动态观察 PⅢ NP 可以判断肝硬化的程度。本研究结果显示,PⅢ NP 浓度从 CPH 组、CAH 组到 LC 组逐渐增高,与文献

报道一致,在排除 LC 方面也有一定的应用价值^[7]。

Ⅳ-C 为构成基底膜主要成分,在肝纤维化时出现较早,有利肝纤维化的早期诊断,本研究结果显示,Ⅳ-C 浓度随肝纤维化加重逐渐上升,明显高于对照组($P<0.01$),可以较好地反映肝纤维化的分期,对于中晚期的肝纤维化诊断具有较大的意义。

综上所述,血清 HA、LN、PⅢ NP 和Ⅳ-C 检测对慢性肝病、肝纤维化的判断、肝硬化早期诊断,以及病情的动态观察均有一定的意义,联合检测具有更高的临床应用价值。

参考文献

[1] 吴正林,吴意,叶军,等.血清中肝纤维化指标测定在肝病中的应用价值[J].国际检验医学杂志,2011,32(1):31-32.

[2] 张竹美.78 例肝纤维化患者血清学指标检测临床观察[J].中国医药指南,2011,9(16):277-278.

[3] 杜开春,李诺飞.几种慢性肝病患者血清透明质酸,层粘连蛋白,Ⅳ型胶原和腺苷脱氢酶的检测分[J].微循环杂志,2008,18(2):65.

[4] 江明凤,华肖杭.透明质酸等血清学指标在慢性乙型肝炎患者诊断中的意义[J].中华医院感染学杂志,2011,21(9):1816-1817.

[5] 姚佳燕,钟碧慧,晁康,等.肝纤维化血清学诊断的研究[J].胃肠病学和肝病学杂志,2011,20(8):687-691.

[6] 高清宝.肝纤维化临床检验血清学检测指标的研究进展[J].吉林医学,2011,32(6):1198-1199.

[7] 何云,王建宾,王宇明.肝纤维化程度诊断方法的评价[J].成都军区医院学报,2002,4(3):35-37.

(收稿日期:2012-09-18)

(上接第 166 页)

程度和临床分期进行统计学分析。结果显示 161 例 NHL 患者中,侵袭性、高侵袭性的 NHL 患者的 TAM 及 $\beta 2$ -MG 浓度比惰性淋巴瘤患者的高,差异有统计学意义($P<0.05$)。Ⅰ~Ⅱ期与Ⅲ~Ⅳ期 NHL 患者 TAM 及 $\beta 2$ -MG 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$);说明临床分期晚,肿瘤负荷大,其 TAM 及 $\beta 2$ -MG 会有显著变化。CR、PR 组治疗后 TAM 及 $\beta 2$ -MG 表达水平较治疗前明显下降($P<0.05$),而无效组患者治疗前后 TAM 及 $\beta 2$ -MG 水平无明显变化($P>0.05$),提示血清 TAM 及 $\beta 2$ -MG 表达水平与 NHL 预后及疗效有关。

同一种肿瘤可表达多种肿瘤标志物,而一种肿瘤标志物可出现在多种肿瘤中。选择特异性肿瘤标志物有利于提高肿瘤诊断的阳性率;动态观测有利于良性和恶性肿瘤的鉴别以及对复发、转移和预后的判断。本研究检测 NHL 患者肿瘤标志物,TAM 反映肿瘤生长速度, $\beta 2$ -MG 反映肿瘤负荷,两者联合作为 NHL 患者临床分期、骨髓浸润、预后及疗效判断的辅助指标,有助于化疗方案的调整,对 NHL 临床诊断和治疗有重要的参考意义。

参考文献

[1] 张俊萍,王毓奎.恶性淋巴瘤的生物治疗进展[J].白血病·淋巴瘤,2006,15(6):474-476.

[2] 王英.血清鳞状上皮细胞癌抗原与肿瘤的研究进展[J].现代肿瘤医学,2009,17(7):1389-1391.

[3] Jaffe ES,Harris NL,Stein H.Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues[M].Lyon:IARC Press,

2001.

[4] 石远凯.淋巴瘤[M].北京:北京大学医学出版社,2007:129-151.

[5] 王奇璐.恶性淋巴瘤的诊断与治疗[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997:126-127.

[6] 侯淑玲,张巧花,王军,等.应用表面增强激光解吸电离-飞行时间-质谱技术筛选淋巴瘤患者血清特异性生物标志物[J].白血病·淋巴瘤,2011,20(11):672-679.

[7] Li CG,Huang XE,Xu L,et al.Clinical application of serum tumor associated material (TAM) from non-small cell lung cancer patients[J].Asian Pac J Cancer Prev,2012,13(1):301-304.

[8] 刘泽民.血清游离脯氨酸游离羧脯氨酸和肽结合羧脯氨酸测定及其在骨肿瘤的评价[J].中华医学检验杂志,1986,9(3):129-133.

[9] 陈芳,曹方方,张继红,等. $\beta 2$ 微球蛋白与乳酸脱氢酶对非霍奇金淋巴瘤治疗效果的判断价值[J].中国全科医学,2011,36:4160-4163.

[10] Pang LP,Wei YH,Zhang WL,et al.The clinical significance of the serum CA125,LDH, $\beta 2$ -MG measuring in the diagnosis and treatment of non-Hodgkin lymphoma[J].J Leuk Lymphoma,2006,15(2):113-114.

[11] 梁进,何文杰,毕清,等.非霍奇金淋巴瘤患者 LDH 和 $\beta 2$ -MG 及 ESR 与疾病发展及临床预后的关系[J].中国肿瘤临床与康复,2008,15(4):328-331.

[12] Federico M,Guglielmi C,Luminari S,et al.Prognostic relevance of serum beta2 microglobulin in patients with follicular lymphoma treated with anthracycline-containing regimens. A GISL study [J].Haematologica,2007,92(11):1482-1488.

(收稿日期:2012-06-03)