

• 综 述 •

胃泌素释放肽前体的研究进展

杨静静, 黄 猛, 杨佳锦 综述, 唐爱国[△] 审核
(中南大学湘雅二医院检验科, 湖南长沙 410011)

关键词: 胃泌素释放肽前体; 肿瘤标记, 生物学; 实验室技术和方法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.034

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)03-0337-03

肿瘤标志物是近年来倍受关注的肿瘤筛查和早期诊断方法之一。其研究最早可追溯到 1848 年, 发现本周氏(Bence-Jones)蛋白可用于协助诊断多发性骨髓瘤。肿瘤标志物是指在肿瘤发生和增殖过程中, 由肿瘤细胞生物合成、释放或者是宿主对癌类反应性的一类物质, 存在于肿瘤组织本身或分泌至血液或其他体液中。这个概念是在 1978 年由 Herberman 正式提出, 并得到世界公认^[1]。理想的肿瘤标志物应具有较高的灵敏度和特异性, 不但有助于肿瘤的早期诊断、病理类型的判断和癌症分期, 而且能够评估治疗效果和预后并指导个体化治疗^[2]。目前用于临床诊断的肿瘤标志物有 6 大类: 癌胚抗原类、酶类、激素类、糖蛋白类、癌基因类、细胞表面肿瘤抗原类^[1]。胃泌素释放肽前体(ProGRP)是近几年来被研究者发现的一种新的激素类肿瘤标志物, 本文将从生物学特性、临床意义和实验室检测等方面对 ProGRP 的作一综述。

1 ProGRP 生物学特性

胃泌素释放肽(GRP)是由 McDonald 等在 1978 年从猪的胃组织细胞中分离出一种具有促胃泌素分泌作用的胃肠道激素, 由 27 个氨基酸组成, 是有效的促分泌素或调节肽, 广泛分布于哺乳动物的胃肠道、神经系统和肺呼吸道^[3]。GRP 是正常人脑、胃的神经纤维以及胎儿肺的神经内分泌组织存在的激素。胎儿和新生儿支气管上皮内分泌细胞 GRP 含量丰富。而在成人, GRP 仅存在于神经组织和小部分肺的神经内分泌细胞中, 且水平较低^[4]。肺癌的癌细胞本身亦可产生并分泌 GRP, 以自分泌的方式调节自身的生长, 并且也可以通过局部弥散的方式与周围的肿瘤细胞膜上相应的受体结合, 刺激肿瘤的生长, 许多小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)细胞株和肿瘤组织分泌的 GRP 储存在细胞质中的高尔基体内, 在适当条件下释放到组织中, 与细胞膜上的 GRP 受体结合, 使肿瘤细胞增殖和肿瘤无限生长, 低水平 GRP 即可刺激 SCLC 细胞 DNA 合成, 因而 GRP 被认为是 SCLC 的自主生长因子^[5]。但由于 GRP 很容易被肽链端酶快速降解, 活性部分在血中不稳定, 从血浆中直接提取可靠的 GRP 较困难, 因而难以在临床上应用^[6]。

ProGRP 是 GRP 的前体结构, 普遍存在于非胃窦组织、神经纤维、脑和肺的神经内分泌细胞中^[6]。ProGRP 根据其部分氨基酸的变异可分为 3 种生物大分子, 它们具有共同的 C 末端序列(31-98), 能够在血浆中稳定表达, ProGRP 是 GRP 基因编码的产物, 大量研究证实 ProGRP31-98 水平能够代表 GRP 水平和 GRP 基因表达, 是一种新的肿瘤标志物^[7]。

2 临床意义

2.1 ProGRP 在小细胞肺癌中的意义 目前临床常用的肺癌标志物主要有癌胚抗原(CEA)、ProGRP、神经元特异性烯醇化

酶(NSE)、鳞状上皮细胞癌抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)等。CEA 对腺癌检测的敏感性高于其他类型肺癌, SCC-Ag、CYFRA21-1 对鳞癌检测的敏感性高于其他类型肺癌^[8-10], NSE 是应用较多的 SCLC 的肿瘤标志物, ProGRP 于 1994 年被开发为小细胞肺癌患者的肿瘤标志物, 日本于 1996 年开始把 ProGRP 用于临床 SCLC 的诊断、监测疗效和复发的早期检测^[3]。临床研究表明, ProGRP31-98 和 NSE 诊断 SCLC 的敏感性分别为 62%~80% 和 54.5%~61.0%, 特异性分别为 85%~97% 和 60%~80%^[11], 杨拴盈等^[12]报道, ProGRP31-98 和 NSE 分别以 40 pg/mL 和 8.0 μg/L 为阈值, 二者检测 SCLC 的敏感性分别为 73% 和 60%, 特异性分别为 98% 和 92%。相比较, NSE 诊断早期 SCLC 的敏感性仅 36.84%, 而 ProGRP 诊断早期 SCLC 的敏感性为 63.16%; 由此可见, ProGRP 对 SCLC 诊断的特异性、敏感性, 尤其是 SCLC 的早期诊断比 NSE 更好。马可等^[7]报道, 当 ProGRP 含量为 16.93 ng/mL 时诊断肺癌的敏感性为 82.85%, 特异性为 76.67%, ROC 曲线下的面积最大为 0.793, 可用作鉴别肺癌与非肺癌的界限值; 当 ProGRP 含量为 23.97 ng/mL 时诊断肺癌的敏感性为 69.4%, 特异性为 76.7%, ROC 曲线下的面积最大为 0.772, 可用作鉴别 SCLC 与非小细胞肺癌的界限值。张志平等^[4]报道, SCLC Ⅲ、Ⅳ期血清 ProGRP 水平显著高于 I、Ⅱ期, Ⅲ、Ⅳ期 ProGRP 诊断 SCLC 的敏感性(79.6%)明显高于 I、Ⅱ期(61.8%), 表明 ProGRP 对 SCLC 的临床分期有较好的价值。

ProGRP 在监测病情、反映肿瘤负荷和疗效方面有重要价值, NSE 是逸脱性酶, 化疗后细胞崩解可一过性升高, ProGRP 是分泌型肽, 在肺癌患者和健康人血中浓度差异很大, 可敏锐地反映疗效, 近年来研究表明 ProGRP 变化比 NSE 更能准确反映疗效^[6]。小细胞肺癌广泛期 ProGRP 水平显著高于局限期, 有远处转移者显著高于无远处转移者。陈名声等^[13]研究报道, 化疗前血清 ProGRP 升高的 SCLC 患者化疗后完全缓解的占 59.2%, ProGRP 正常化疗完全缓解的占 65.5%。余秉翔^[9]等研究结果示, 治疗后 SCLC 患者血清 ProGRP 水平显著下降, 部分甚至恢复到正常水平, 而无效病例则无下降甚至升高。Niho 等^[14]报道, SCLC 复发时, 83% 患者 ProGRP 水平再次升高, 较临床症状出现平均提前 35 天。Chen 等^[15]报道, 在 SCLC 有效的治疗组 ProGRP 降低 45.9%, 在 SCLC 进展组, ProGRP 升高 103.1%。此外, Tsuchiyama 报道, 治疗后 ProGRP 水平、体力状况和年龄为 SCLC 患者独立的预后因素^[16]。Stieber 等^[17]报道, ProGRP 对复发 SCLC 的检出灵敏度高达 74%。成为 SCLC 病变进展最明确的指标。

2.2 ProGRP 在非小细胞肺癌(non small cell carcinoma,

NSCLC)中的意义 肺癌分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌,因为 SCLC 有神经内分泌特征,它的预后很差,对化疗的敏感性比 NSCLC 高。NSCLC 又被分为腺癌、鳞癌、大细胞癌。1999 年世界卫生组织把大细胞神经内分泌癌(large cell neuroendocrine carcinoma, LCNEC)归类于大细胞癌的一个变种^[18]。LCNEC 即使在早期发现预后也很差。在一些 NSCLC 尤其是 LCNEC 患者中,观察到有血浆 ProGRP 浓度的升高。Keita Kudo 等^[19]报道,在 NSCLC 患者中,血浆 ProGRP 浓度阳性的占 8.1%,血浆 ProGRP 阳性的 NSCLC 患者中,组织学上有神经内分泌特征的占 64.7%。血浆 ProGRP 阳性的 NSCLC 患者对化疗的敏感性不同于其他类型的 NSCLC。研究表明血浆 ProGRP 阳性的 NSCLC 可能有神经内分泌分化的特征,ProGRP 阳性的 NSCLC 患者有不同于其他类型 NSCLC 的临床特征。大量研究表明,血浆 ProGRP 不仅对 SCLC 是一个很好的肿瘤标志物,对有神经内分泌特征的 NSCLC 也是一个潜在的很有应用价值的肿瘤标志物。血浆 ProGRP 浓度升高的 NSCLC 患者的临床和组织病理特征还有待进一步的深入研究。

2.3 ProGRP 在胃肠肿瘤中的意义 胃泌素是一种重要的胃肠激素,对食物的消化有重要的调节作用,可以促进胃肠道上皮细胞的再生。在小细胞肺癌、结直肠癌的患者中血浆 ProGRP 异常增高,而健康人血浆中含量很低。有研究表明,将患者的肿瘤组织切除后,其血中 ProGRP 的含量明显下降,这也提示了 ProGRP 的肿瘤组织来源。近些年来,有学者在结、直肠癌中发现了血浆 ProGRP 对 CD133+ 的干细胞的生长起到重要作用,提示 ProGRP 与干细胞之间存在着一定的关系。ProGRP 可以促进胃肠道细胞的增生,抑制凋亡。在结肠癌和结肠息肉患者的血清中发现高含量的 ProGRP,而在健康人和手术切除肿瘤、息肉后的患者血清中,ProGRP 含量很低^[20]。Ciccotosto 于 1995 年证实了在结肠癌中 ProGRP 起到了促进增殖,抑制凋亡的作用。Siddheshwar 等于 2001 年证实了这个结论。在 ProGRP 转基因小鼠中,发现血清 ProGRP 的高表达导致小鼠的胃肠道癌症的发病率要明显高于野生型小鼠。可见,在胃肠道肿瘤的诊断、预后中,ProGRP 具有重要的价值。

2.4 ProGRP 在小细胞食管癌(small cell carcinoma of the esophagus, SCEC)中的意义 Naohiko Koide 等对 2 例 SCEC 患者的跟踪调查显示, SCEC 患者血浆 ProGRP 浓度明显升高,化疗后 6 个月,患者血浆降低的 ProGRP 再次升高,经检查发现患者肝脏、肺部有大量的转移瘤。Yanagawa 等^[21]报道, SCEC 患者血浆高水平的 ProGRP 在化疗和手术后逐渐降至正常水平,复发后血浆 ProGRP 的水平再次升高,对复发的 SCEC 进行化疗后,血浆 ProGRP 的水平又开始下降。因此,血浆 ProGRP 水平的监测对 SCEC 诊断和疗效评价有重要的意义。

2.5 ProGRP 在卵巢癌中的意义 樊冬梅等^[22]报道,正常卵巢组织中 GRP 和其受体(GRPR)的阳性表达率分别为 8.1%和 5.4%,良性卵巢上皮性肿瘤组织中分别为 10.2%和 6.1%,卵巢癌组织中分别为 44.8%和 87.9%;卵巢癌组织分化越差,GRP 蛋白表达越高,GRPR 蛋白表达与卵巢癌的分化程度、临床分期、有无腹水形成有关。GRP 和 GRPR 可能参与了卵巢癌的癌变和进展,GRPR 还可能与肿瘤的侵袭转移有关。ProGRP 能够代表 GRP 基因的表达和 GRP 的水平,因此检测血浆 ProGRP 的水平对卵巢癌的诊断有重要意义。

3 ProGRP 实验室检测

ProGRP 在血液中的浓度受活动、饮食和精神等因素影响较小,日内和日间波动不大,溶血对 ProGRP 浓度影响不大^[6]。有报道,肾衰可以导致血浆 ProGRP 假阳性。当患者血浆肌酐浓度大于 1.6 mg/dL 时,血浆 ProGRP 浓度开始升高^[18]。因此检测血浆 ProGRP 浓度时必须同时检查患者的肾功能,以排除因慢性肾功能衰竭所出现的血中 ProGRP 浓度的升高。血清中生成的凝血酶能够降解 ProGRP,导致血清中 ProGRP 不稳定,在血清中添加丝氨酸蛋白酶抑制体,可以使血清中 ProGRP 的稳定性增加。因此 ProGRP 的检测推荐采用血浆标本,不能及时检测的标本要低温保存^[6]。

目前常用的 ProGRP 测定方法主要有放射免疫法(RIA)、ELISA、时间分辨免疫荧光分析(TRIFMA)和化学发光免疫分析(CLIA)。碘 131 标记的胃泌素释放肽前体的单克隆抗体是较为理想的放射免疫显像及放射免疫治疗药物,但 RIA 由于存在放射性污染问题,近年来使用逐渐减少。ELISA 法是目前最常用的方法,这种方法灵敏度高、特异性好,但需批量检测,提供报告的及时程度不够快,不能满足临床的需求。TRIFMA 和 CLIA 是近年来新建的方法,具速度快、灵敏度高、特异性好的特点,易于实现自动化。Nordlund 等^[23]研究示,对 ProGRP 的检测,新的 TRIFMA 剂量反应曲线是线性的,动态范围宽(13~13 500 ng/L),检测限是 2.8 ng/L,总 CV <5.6%。Nordlund 等^[24]通过对 TRIFMA 和 ELISA 两种方法检测 ProGRP 的敏感性相关性比较分析示,两种方法诊断的特异性和敏感性都较好,由于方法学的差异,两种方法需要各自不同的临界值,因此这两种分析方法不能互相替换,另外在 SCLC 预后方面,TRIFMA 能提供更有价值的信息。目前美国雅培公司已有采用化学发光免疫分析方法检测 ProGRP 的商品试剂盒,对 ARCHITECT ProGRP 多位点评价分析证明其有很好的精密度、准确度和敏感度。该方法在 1:10 的自动稀释下有一个 50 000 pg/mL 的范围,在 100 000 pg/mL 时没有观察到高剂量钩状效应,试剂和定标曲线在仪器上能保持稳定 30 d^[3]。我国北京科美东雅生物技术有限公司也开发出了一种 ProGRP 化学发光免疫分析测定试剂盒,并申请了国家专利。但目前化学发光免疫分析还没有在临床实验室广泛开展应用。

ProGRP 已被普遍认为是诊断 SCLC 较理想的肿瘤标志物,受到临床广泛的关注。近几年来,随着对 ProGRP 研究的进一步深入,逐渐发现其在 NSCLC、胃肠道癌症、小细胞食管癌、卵巢癌等方面的价值。从目前的研究看,ProGRP 是诊断小细胞神经内分泌癌(尤其在肺部)最敏感的肿瘤标志物^[25],其具体临床、病理特征、机制还有待进一步的深入研究。ProGRP 的电化学发光法检测,目前仅限于实验室的研究应用,还需进一步完善技术,在临床广泛应用。

参考文献

- [1] 孙立慧. 肺癌血清肿瘤标志物的研究[J]. 黑龙江医学, 2012, 30(5): 352-355.
- [2] 蒋安帮, 黄礼年. 胃泌素释放肽前体在肺癌中的临床意义[J]. 医学综述, 2012, 30(2): 200-202.
- [3] Yoshimura T, Fujita K, Kinukawa H, et al. Development and analytical performance evaluation of an automated chemiluminescent immunoassay for pro-gastrin releasing peptide(ProGRP)[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47(12): 1557-1563.
- [4] 张志平, 陈名声, 任丽芬, 等. 联合检测血清胃泌素释放肽前体和特异性组织多肽抗原在小细胞肺癌诊断中的临床价值[J]. 现代

- 肿瘤医学, 2009, 30(9): 1678-1681.
- [5] 杨谨, 李蓉, 李昂, 等. 胃泌素释放肽前体片段 31-98 检测对小细胞肺癌的临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 18(3): 40-42.
 - [6] 康淑霞, 朱安友. 胃泌素释放肽前体实验室检测及临床应用进展[J]. 中华全科医学, 2012, 33(1): 88-90.
 - [7] 马可, 王欣, 于洋. 胃泌素释放肽前体对小细胞肺癌检出的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2010, 31(12): 2016-2017.
 - [8] 丁湘戔, 张宝秋, 张洁, 等. 肺癌患者血清中肿瘤标志物检测的临床意义[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 30(16): 4646-4650.
 - [9] 牛继国, 呼永华, 董峰, 等. 四项肿瘤标志物在肺癌中的表达及其相关因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(20): 2330-2333.
 - [10] 龙欣, 唐荣斌, 刘永兵. 多种肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(1): 101-102.
 - [11] Lamy P J, Grenier J, Kramar A, et al. Pro-gastrin-releasing peptide, neuron specific enolase and chromogranin A as serum markers of small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2000, 29(3): 197-203.
 - [12] 杨拴盈, 张王刚, 孙秀珍, 等. 血清胃泌素释放肽前体和神经元烯醇化酶在小细胞肺癌早期诊断中的价值及其相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2005, 25(3): 247-249.
 - [13] 陈名声, 徐焰, 刘田, 等. 胃泌素释放肽前体和神经元特异性烯醇化酶联合检测在小细胞肺癌诊断中的应用[J]. 内蒙古中医药, 2010, 28(2): 1-2.
 - [14] Niho S, Nishiwaki Y, Goto K, et al. Significance of serum pro-gastrin-releasing peptide as a predictor of relapse of small cell lung cancer: comparative evaluation with neuron-specific enolase and carcinoembryonic antigen[J]. Lung Cancer, 2000, 27(3): 159-167.
 - [15] Chen YJ, Jin WD, Yang GY, et al. The value of plasma pro-gastrin-releasing peptide, cytokeratin 19-fragments and carcinoembryonic antigen in patients with lung cancer[J]. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi, 2011, 25(5): 381-383.
 - [16] 张宝秋, 丁湘戔, 王雪玉, 等. 肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 388-390.
 - [17] Stieber P. Pro-Gastrin-Releasing Peptide(ProGRP)-A Diagnostic Biomarker for Small-Cell Lung Cancer[J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2009, 12(3): 183-186.
 - [18] 张苑, 张婷. 肺癌血清肿瘤标志物相关研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12): 1419-1421.
 - [19] Kudo K, Ohyanagi F, Horiike A, et al. Clinicopathological findings of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations[J]. Lung Cancer, 2011, 74(3): 401-404.
 - [20] 牛茜, 杨爱军, 王晨昱, 等. 前胃泌素在人胃癌 BGC-823 细胞的悬浮肿瘤球中的表达[J]. 第三军医大学学报, 2011, 32(13): 1396-1399.
 - [21] Koide N, Hiraguri M, Kishimoto K, et al. Small cell carcinoma of the esophagus with reference to alternating multiagent chemotherapy: report of two cases[J]. Surg Today, 2003, 33(4): 294-298.
 - [22] 樊冬梅, 史惠蓉, 陈志敏, 等. 卵巢癌组织中胃泌素释放肽及其受体的表达[J]. 郑州大学学报(医学版), 2011, 32(4): 550-553.
 - [23] Nordlund MS, Warren DJ, Nustad K, et al. Automated time-resolved immunofluorometric assay for progastrin-releasing peptide[J]. Clin Chem, 2008, 54(5): 919-922.
 - [24] Nordlund MS, Stieber P, Brustugun OT, et al. Characteristics and clinical validity of two immunoassays for ProGRP[J]. Tumour Biol, 2012, 33(4): 1105-1113.
 - [25] Korse CM, Taal BG, Vincent A, et al. Choice of tumour markers in patients with neuroendocrine tumours is dependent on the histological grade. A marker study of Chromogranin A, Neuron specific enolase, Progastrin-releasing peptide and cytokeratin fragments[J]. Eur J Cancer, 2012, 48(5): 662-671.

(收稿日期: 2012-10-11)

• 综 述 •

铜绿假单胞菌染色质介导的 AmpC β -内酰胺酶表达调控的研究进展

周丽芳 综述, 赵 虎 审校

(复旦大学附属华东医院检验科, 上海 200040)

关键词: 假单胞菌, 铜绿; β 内酰胺酶类; 基因; 调控; 染色质

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 03. 035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)03-0339-04

随着抗菌药物的大量应用, 多重耐药菌日益增多, 尤以铜绿假单胞菌严重。多重耐药的铜绿假单胞菌的产生, 严重影响了临床对铜绿假单胞菌感染的控制, 与之相应的铜绿假单胞菌感染的发病率和病死率也显著增加^[1]。铜绿假单胞菌的耐药机制较为复杂, 既可产生超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs), 又可产生 AmpC β -内酰胺酶(简称 AmpC 酶), 还可通过外排泵机制将进入菌体内的抗菌药物主动排出体外, 或通过改变其细胞膜的通透性, 阻止抗菌药物进入菌细胞内, 从而对抗菌药物产生耐药^[2]。铜绿假单胞菌产 ESBLs 和外排泵的耐药机制已有较多的研究报道, 但对铜绿假单胞菌产 AmpC 酶相关的研究报道不多。本文对铜绿假单胞菌染色质介导产生的 AmpC 酶的表达调控机制的最新发现作一综述。

1 AmpC 酶的定义及分类

1.1 定义 AmpC 酶主要由肠杆菌科细菌及铜绿假单胞菌等革兰阴性杆菌的染色质或质粒编码产生, 是一类主要作用于头孢菌素类抗菌药物、且不被克拉维酸抑制的“丝氨酸”头孢菌素酶, 属 Bush-Jacoby-Medeiros1 群, Ambler 分子结构分类法 C 类^[3]。AmpC 酶优先选择的底物为头孢菌素类, 与 ESBLs 不同的是对头霉烯类抗菌药物(如头孢西丁)高水平耐药, 但并不被克拉维酸所抑制^[3]。

1.2 遗传学基础 AmpC 酶的结构基因为 ampC, 其产生受 4 个调控基因 ampR、ampD、ampG 和 ampE 的调控^[4]。(1)ampR 基因, 表达产生转录调控因子, 即 AmpR, 是一种属于 Lys 家族的调控蛋白;(2)ampD 基因, 表达产生胞质酰胺酶, 即 AmpD