

• 论 著 •

血清 TNF- α 在结直肠癌患者中的临床价值研究*龙华婧, 夏 阳, 刘道利, 曾亭亭, 邱芳华 Δ

(广州市中医医院检验科 510130)

摘要:目的 探讨血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达在结直肠癌患者诊断中的应用价值。方法 选取 2015 年 2 月至 2016 年 11 月于广州市中医医院住院治疗的结直肠疾病患者共 130 例,分为经手术病理组织明确诊断为结直肠癌患者 90 例(结直肠癌组),包括肠癌未转移患者和肠癌转移患者,经病理组织活检为结直肠良性疾病患者 40 例(结直肠良性疾病组),同一时间段来院体检健康人员 40 例(健康对照组),检测所有受试人员血清 TNF- α 及肿瘤标志物癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 724(CA724)水平。各组数据不呈正态分布,采用非参数统计方法分析比较。结果 结直肠癌组患者血清 TNF- α 水平在临床 TNM 分期 II(中位数 9.47 pg/mL)、III 期(9.95 pg/mL)、IV 期(9.67 pg/mL)明显高于 TNM I 期(6.59 pg/mL);在肠癌转移组(9.95 pg/mL)高于肠癌未转移组(8.03 pg/mL),差异有统计学意义($P < 0.05$);TNF- α 在不同年龄、性别受试者上的表达没有明显差异($P > 0.05$)。各检测指标 ROC 曲线下的面积:TNF- α 为 0.868,CEA 为 0.912,CA724 为 0.523,3 项联合检测为 0.940。结论 TNF- α 在结直肠癌发生、发展过程中表达增加,其血清水平检测有一定临床应用价值,TNF- α 在不同年龄、性别受试者上表达没有明显差异,具有广泛适用性。血清 TNF- α 、CEA、CA724 的联合检测,在结直肠癌患者中水平明显升高,3 项联合检测可起到优势互补,增加大肠癌诊断的敏感度,作为大肠癌的早期诊断、疗效评价和预后监测有意义的参考指标。

关键词:结直肠癌; 肿瘤坏死因子- α ; 转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)10-1319-03

Clinical value of TNF- α in serum of patients with colorectal cancer*LONG Huajing, XIA Yang, LIU Daoli, ZHENG Tingting, QIU Fanghua Δ

(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510130, China)

Abstract: Objective To investigate the application value of serum tumor necrosis factor alpha (TNF- α) expression in diagnosing colorectal cancer (CRC). **Methods** One hundred and thirty inpatients with CRC in our hospital from February 2015 to November 2016 were selected and divided into 90 cases of CRC confirmed by operation and histopathology (CRC group), including intestinal cancer with and without metastasis, and 40 cases of benign colorectal diseases (colorectal benign disease group), at the same time 40 persons undergoing physical examination were selected as the healthy control group. The levels of TNF- α , carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen (CA) 724 were collected in all subjects. The data of various groups were not normally distributed, and the nonparametric statistical method was used to analyze and compare. **Results** Serum TNF- α level in clinical TNM stage II (median 9.47 pg/mL), III (9.95 pg/mL) and IV (9.67 pg/mL) of the CRC group was significantly higher than that in TNM stage I (6.59 pg/mL); which in the CRC with metastasis group (9.95 pg/mL) was higher than 8.03 pg/mL in CRC without metastasis group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); the TNF- α expression had no obvious difference among different ages and between different genders ($P > 0.05$). The area under the ROC curve in each test index; TNF- α was 0.868, CEA was 0.912, CA724 was 0.523, and which of their joint detection was 0.940. **Conclusion** The expression of TNF- α is increased in the occurrence and development process of CRC, its serum level detection has certain clinical application value, the TNF- α expression has no obvious difference in the subjects with different ages and different sexes and has wide suitability. The combine detection of serum TNF- α , CEA and CA724 in the patients with CRC significantly increases the level, the combined detection of 3-index can have complementary advantages to increase the sensitivity of CRC diagnosis, which serve as the significant indexes in CRC early diagnosis, therapeutic effect evaluation and prognosis monitoring.

Key words: colorectal cancer; tumor necrosis factor; metastasis

结直肠癌是发生于结直肠部位的常见消化道恶性肿瘤,好发部位为直肠及结肠与乙状结肠交界处,近年来发病率逐年升高,5 年生存率较低,肿瘤侵袭和转移是导致结肠癌患者预后差及死亡的重要因素。近年来研究表明细胞因子失衡与肿瘤的侵袭和转移密切相关,慢性炎症可能是导致肿瘤侵袭和转移的重要原因之一^[1-2]。肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 是主要由单核-

巨噬细胞系统分泌的一种重要的细胞因子,有研究发现其与肿瘤细胞的浸润和转移密切相关,促进肿瘤的进展^[3-4]。本文通过对比不同临床分期、肠癌是否转移患者的血清 TNF- α 水平,探讨其在结直肠癌患者早期诊断中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 2 月至 2016 年 11 月于广州市

* 基金项目:广东省自然科学基金资助项目(2014A030313802);广州市卫生和计划生育委员会医药卫生科技项目(20141A011016);广东省中医药局项目(20140210);广州市卫生和计划生育委员会中医药科技项目(20152A011010)。

作者简介:龙华婧,女,主管技师,主要从事临床医学检验研究。 Δ 通信作者, E-mail: qiuanghua1976@163.com。

中医医院住院治疗的结直肠疾病患者共 130 例,男性 68 例,女性 62 例,年龄 41~89 岁,平均年龄 67.3 岁,其中 90 例结直肠癌患者(结直肠癌组),男性 52 例,女性 38 例,年龄 42~89 岁,平均年龄 67.3 岁;结肠癌患者 53 例,直肠癌患者 33 例,结直肠癌患者 4 例;肠癌未转移患者 47 例,肠癌转移患者 43 例;临床 TNM 分期 I 期 16 例、II 期 31 例、III 期 32 例、IV 期 11 例。40 例结直肠良性疾病患者(结直肠良性疾病组)包括结肠息肉、慢性结肠炎、溃疡性结肠炎等良性病变,结直肠癌和结直肠良性病变患者均经病理组织活检或手术病理组织明确诊断。选取同一时间段来院体检健康人员 40 例(健康对照组),男性 22 例,女性 18 例,年龄 41~88 岁,平均年龄 65.0 岁。

1.2 仪器与试剂 血清 TNF- α 测定仪器使用西门子 DPC1000 全自动化学发光免疫分析仪,血清癌胚抗原(CEA)、糖链蛋白 724(CA724)测定仪器使用罗氏 Roche cobas-e601 全自动电化学发光分析仪,试剂和校准品采用其公司原装配套试剂,离心机为北京白洋 BY-4000A。

1.3 方法 2 组患者于治疗前空腹用一次性真空采血管采集静脉血,室温静置 30 min,3 500 r/min 离心 10 min,分离得到血清,置于-20℃冰箱保存待用。血清 TNF- α 、CEA、CA72 检测采用化学发光法,参考值:TNF- α 0~8.1 pg/mL,CEA 0~10 ng/mL,CA724 0~8.2 U/mL。以上项目均按试剂盒说明检测,严格按照标准操作规程操作,并在室内质控在控范围下检测。

1.4 统计学处理 统计学处理使用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理。各组数据不呈正态分布,采用非参数统计方法,用中位数及四分位间距[IQR, ($P_{25} \sim P_{75}$)]表示,两数据间比较采用非参数完全随机两独立样本的秩和检验(Mann-Whitney 法),多数据间比较采用非参数完全随机多组独立样本的秩和检验(Kruskal-Wallis 法)。诊断效能评价指标采用敏感性、特异性、准确度、阳性预测值、阴性预测值表示,采用 SPSS17.0 软件绘制受试者工作特征(ROC)曲线并进行 Logistic 回归分析,评价各标志物指标单独和联合检测 ROC 的诊断价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 TNF- α 作为结直肠癌的血清标志物的适用性研究 TNF- α 在不同年龄、性别的受试者表达上的差异不具有统计学意义($P > 0.05$),TNF- α 作为结直肠癌血清标志物具有较广泛适用性,结果见表 1、2。

表 1 TNF- α 对不同年龄段受试者适用性研究
[IQR, ($P_{25} \sim P_{75}$)]

组别	年龄段(岁)	n	TNF- α (pg/mL)	P
结直肠癌组	40~60	29	8.5(7.54~9.15)	0.079
	61~90	61	9.37(7.20~12.93)	
结直肠良性疾病组	40~60	11	6.17(5.75~7.20)	0.696
	61~90	29	6.59(5.83~7.06)	
健康对照组	40~60	15	6.39(5.85~6.99)	0.135
	61~90	25	5.89(5.57~6.37)	

注:40~60 岁为低年龄段,61~90 岁为高年龄段。

2.2 TNF- α 在结直肠癌患者 TNM 分期的不同表达水平研究 TNF- α 在肿瘤发展过程中起重要作用,详细结果显示,TNF- α 在结直肠癌患者 TNM I 期 TNF- α 表达水平最低,与 II~IV 期比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 TNF- α 对不同性别受试者适用性研究
[IQR, ($P_{25} \sim P_{75}$)]

组别	性别	n	TNF- α (pg/mL)	P
结直肠癌组	男	52	9.06(7.88~11.33)	0.147
	女	38	8.39(6.59~10.15)	
结直肠良性疾病组	男	16	6.34(5.54~7.53)	0.814
	女	24	6.54(5.92~7.08)	
健康对照组	男	22	6.12(5.65~6.73)	0.302
	女	18	5.78(5.61~6.47)	

表 3 TNF- α 在结直肠癌患者 TNM 不同分期的表达水平
[IQR, ($P_{25} \sim P_{75}$)]

TNM 分期	n	TNF- α (pg/mL)	P
I	16	6.59(5.79~7.72)	/
II	31	9.47(7.84~12.55)	<0.01
III	32	9.95(8.76~13.06)	<0.01
IV	11	9.67(8.43~11.03)	<0.01

注:表中 P 均为与 I 期对比;/表示无数据。

2.3 TNF- α 在结直肠癌患者肿瘤是否转移的表达水平研究 TNF- α 在结直肠癌患者肿瘤转移患者中的表达水平[9.95(8.47~12.93) pg/mL]高于肿瘤未转移患者[8.03(6.59~10.25) pg/mL],差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 TNF- α 在肿瘤浸润及转移过程中表达增高。

2.4 TNF- α 联合 CEA、CA724 在 3 组受试者中的表达水平差异 TNF- α 联合 CEA、CA724 在结直肠癌组患者中的表达比结直肠良性疾病组及健康对照组明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),3 项血清标志物在结直肠良性疾病组和健康对照组的表达无明显差异,见表 4。

表 4 TNF- α 联合 CEA、CA724 在受试者中的表达水平
[IQR, ($P_{25} \sim P_{75}$)]

组别	TNF- α (pg/mL)	CEA(ng/mL)	CA724(U/mL)
结直肠癌组	8.76(7.20~11.10)	7.64(3.10~26.63)	2.47(1.11~12.40)
结直肠良性疾病组	6.45(5.76~7.24)	2.11(1.12~2.76)	1.34(1.04~1.71)
健康对照组	6.05(5.60~6.59)	2.07(1.34~3.58)	1.12(0.96~1.62)
P	<0.01	<0.01	<0.01

表 5 TNF- α 、CEA、CA724 作为结直肠癌血清标志物的准确度评价

检测指标	判断界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
TNF- α	7.54 pg/mL	72.22	92.31	89.00	78.30
CEA	2.17 ng/mL	89.53	82.50	84.60	88.00
CA724	6.35 U/mL	34.78	98.73	96.00	63.40
TNF- α +CEA+CA724		86.80	97.40	95.80	91.50

2.5 TNF- α 、CEA、CA724 联合检测作为结直肠癌的血清标志物的准确度及 ROC 曲线 TNF- α 、CEA、CA724 作为结直肠癌血清标志物的准确度评价见表 5,ROC 曲线见图 1(见《国际检

验医学杂志》网站首页“论文附件”)。TNF- α 、CEA、CA724、TNF- α +CEA+CA724 作为结直肠癌血清标志物的 ROC 曲线下面积分别为 0.868(95%CI:0.791~0.944)、0.912(95%CI:0.863~0.962)、0.523(95%CI:0.412~0.635)、0.940(95%CI:0.889~0.992)。

3 讨论

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,发病率位居恶性肿瘤第 3 位,肿瘤的侵袭和转移是导致患者预后差及死亡的主要原因,其发病过程有多个因素影响。有研究发现肿瘤微环境是由肿瘤细胞、间质细胞(如炎性细胞、成纤维细胞等)、趋化因子及细胞因子等共同构成^[5-7]。炎性细胞是肿瘤微环境中间质的重要组成部分,可分泌多种炎性细胞因子(TNF- α 、IL-1、IL-6),其中 TNF- α 主要由肿瘤相关巨噬细胞分泌,可以启动慢性炎症。研究表明,慢性炎症在恶性肿瘤的发生和进展过程中发挥着重要作用,不仅可以促进肿瘤细胞的生长、侵袭、转移和血管生成,还为肿瘤的发生和进展提供适宜的肿瘤微环境^[8-9]。

本研究结果显示,TNF- α 在结直肠癌组、结肠良性疾病组和健康对照组的含量中位数结果分别为 8.76、6.45、6.05 pg/mL,表明结直肠癌组的 TNF- α 明显高于结肠良性疾病组和健康对照组,说明 TNF- α 对结直肠癌的诊断有一定意义,TNF- α 很可能在结肠癌发生、发展过程中起了促进作用。研究表明 TNF- α 通过激活核转录因子 κ B(NF- κ B)和活化蛋白 1(AP-1)两种炎性信号通路关键因子,通过这 2 条信号途径来促进细胞的增殖和逃逸,从而促进肿瘤的稳定^[10-12]。

TNF- α 还可以通过稳定肿瘤上皮间质转化的相关转录因子 Snail,促进肿瘤的转移^[13-14]。本研究结果还发现,TNF- α 作为结直肠癌血清标志物,对判断肠癌是否发生转移具有重要意义。TNF- α 在肠癌转移患者中的表达比肠癌未转移患者明显增高,而在临床 TNM 分期上,I 期患者 TNF- α 表达水平最低,有肿瘤细胞淋巴转移及远端转移的 III、IV 期表达水平较高,这对判断肠癌及其预后具有重要意义。生理学研究结果显示 TNF- α 具有促进肿瘤生长的作用,其内源性分泌的 TNF- α 可诱导成纤维细胞分泌蛋白酶,破坏间皮表层导致肿瘤发生浸润,调控中性粒细胞的基因表达而促进肿瘤浸润和转移^[15]。

ROC 曲线显示,CEA 诊断结直肠癌最佳判断界值为 2.17 ng/mL(AUC = 0.912,95%CI:0.863~0.962,灵敏度 89.53%,特异度 82.50%),而 TNF- α 最佳判断界值为 7.54 pg/mL(AUC = 0.868,95%CI:0.791~0.944,灵敏度 72.22%,特异度 92.31%),ROC 曲线下面积 CEA(0.912)高于 TNF- α (0.868),但 CEA 作为非特异性肿瘤标志物,仅有 40%~70%结直肠癌患者的血清 CEA 升高,有研究表明部分结直肠癌患者血液 CEA 检测结果呈阴性,而部分良性结肠病患者 CEA 则轻度升高^[16];CA724 作为胃肠道肿瘤和卵巢癌的标志物,在本研究结果显示,其灵敏度为 34.78%,特异度为 98.73%,诊断结直肠癌的 ROC 曲线下面积,单独使用 TNF- α (0.868)高于单独使用 CA724(0.523);TNF- α 、CEA、CA724 联合诊断 ROC 曲线下面积为 0.940,证明 3 项血清标志物联合诊断能够有效提高诊断效能。

TNF- α 作为结直肠癌的血清标志物,对其早期诊断和转移及预后具有重要意义,后续将扩大样本量进行深入研究。

参考文献

[1] 金多晨,曹海龙,董文道,等.肠道微生态失衡与结肠炎相关肠癌发生发展的研究进展[J].肿瘤药学,2016,6(5):321-325.

[2] 崔曼莉,张明鑫,张超,等.肿瘤相关性炎症与结肠癌[J].世界华人消化杂志,2016(32):4343-4353.

[3] 郭宝文,何宁,翟东良.白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子- α 与大肠癌预后的关系[J].中国现代医学杂志,2015,25(4):41-43.

[4] 赵鹏,陈俊卯,曹文斌,等.TNF- α 在结肠癌细胞侵袭和迁移中的作用探讨[J].天津医药,2015,43(12):1368-1372.

[5] Kojima M, Ochiai A. Special cancer microenvironment in human colonic cancer: Concept of cancer microenvironment formed by peritoneal invasion (CMPI) and implication of subperitoneal fibroblast in cancer progression[J]. Pathol Int, 2016, 66(3):123-131.

[6] 崔云龙. 肿瘤相关巨噬细胞在结直肠癌中的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(24):2121-2124.

[7] 杨敏,杜杰, Wells A. 巨噬细胞的免疫重塑:防治肿瘤转移的新靶点[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(10):1065-1066.

[8] Brennan CA, Garrett WS. Gut microbiota, inflammation, and colorectal cancer[J]. Annu Rev Microbiol, 2016, 70(2):395-411.

[9] Grivnenikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia[J]. Semin Immunopathol, 2013, 35(2):229-244.

[10] Elkady AI, Hussein RA, El-Assouli SM. Harmal extract induces apoptosis of HCT116 human colon cancer cells, mediated by inhibition of nuclear Factor- κ B and activator protein-1 signaling pathways and induction of cytoprotective genes[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(4):1947-1959.

[11] 濮勇,陈锁成.核转录因子- κ B 在结肠癌中的表达及临床意义[J].江苏大学学报(医学版),2012,22(4):350-353.

[12] 刘宝玉,黄杰安,刘诗权,等.NF- κ B 对人结肠癌细胞上皮间质转化及侵袭转移的影响[J].世界华人消化杂志,2014(23):3403-3409.

[13] Herrera A, Herrera M, Alba-Castellón L, et al. Protumorigenic effects of Snail-expression fibroblasts on colon cancer cells[J]. International Journal of Cancer, 2014, 134(12):2984-2990.

[14] 代剑波,王继见,郝亚琴.探讨 Snail 调控上皮间质转化在结直肠癌侵袭、转移方面的作用及意义[J].重庆医科大学学报,2011,36(6):645-649.

[15] Demoulin S, Herfs M, Delvenne P, et al. Tumor microenvironment converts plasmacytoid dendritic cells into immunosuppressive/tolerogenic cells: insight into the molecular mechanisms[J]. J Leukoc Biol, 2013, 93(3):343-352.

[16] Stiksma J, Grootendorst DC, Van der Linden PW. CA 19-9 as a marker in addition to CEA to monitor colorectal cancer[J]. Clin Colorectal Cancer, 2014, 13(4):239-244.

(收稿日期:2016-12-24 修回日期:2017-02-16)

