

芳香基硫酸酯酶法对结直肠癌和乳腺癌筛查的价值

张晶, 张青云, 董大海

■背景资料

肿瘤是危害人类健康最严重的疾病之一, 随着肿瘤患者的发病率升高, 早诊断早治疗已成为现在抗癌的主要手段。研究和寻找可以实现肿瘤早期诊断的检测方法尤其重要。尤其是利用血液、尿液等体液标本检测方式, 更是简单、方便, 易于为患者所接受, 达到早查早治的目的。

张晶, 张青云, 董大海, 北京大学临床肿瘤学院 北京市肿瘤防治研究所暨北京肿瘤医院检验科 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室 北京市 100142

作者贡献分布: 张晶主要负责标本收集、实验和数据的基本整理; 张青云负责实验设计、组织实施和文稿修订; 董大海负责标本收集和实验。

通讯作者: 张青云, 教授, 100142, 北京市, 北京大学临床肿瘤学院, 北京市肿瘤防治研究所暨北京肿瘤医院检验科。

zhqy_208@163.com

电话: 010-88196336

收稿日期: 2009-06-16 修回日期: 2009-08-16

接受日期: 2009-08-17 在线出版日期: 2009-10-08

Significance of arylsulphatase activity in the screening of colorectal and breast cancer

Jing Zhang, Qing-Yun Zhang, Da-Hai Dong

Jing Zhang, Qing-Yun Zhang, Da-Hai Dong, Department of Clinical Laboratory Sciences, Peking University School of Oncology, Beijing Institute for Cancer Research, Beijing 100142, China

Correspondence to: Professor Qing-Yun Zhang, Department of Clinical Laboratory Sciences, Peking University School of Oncology, Beijing Institute for Cancer Research, Beijing 100142, China. zhqy_208@163.com

Received: 2009-06-16 Revised: 2009-08-16

Accepted: 2009-08-17 Published online: 2009-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the significance of arylsulphatase (ARS) activity in the screening of colorectal and breast cancer.

METHODS: Fifty-nine healthy volunteers, 22 colorectal cancer patients and 110 breast cancer patients were included in the study. Urine samples were collected from these subjects to measure the activity of arylsulphatase to catalyze 4-methyl umbelliferone sulfate to produce 4-methyl umbelliferone. Serum tumor markers including CEA, CA199, CA72.4, CA242 and CA153 were also measured. Statistical analysis was performed using the SPSS 11.5 software.

RESULTS: The positive rates of arylsulphatase in urine samples from colorectal cancer patients, breast cancer patients and healthy controls were 68.2%, 55.5% and 8.4%, respectively. The mean arylsulphatase activity in colorectal and breast

cancer patients was significantly higher than that in healthy controls (0.373 U/L and 0.342 U/L vs 0.156 U/L, respectively; $t = 10.266$ and 5.735 , respectively; $df = 109, 21$; both $P < 0.05$). The positive rates of tumor markers CEA, CA199, CA72.4 and CA242 in colorectal cancer patients were 18.2%, 22.7%, 4.54% and 13.6%, respectively, whereas the positive rates of tumor markers CA153 and CEA in breast cancer patients were 3.03% and 5.05%, respectively. No significant correlation was noted between arylsulphatase activity and serum tumor markers for colorectal and breast cancers ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Arylsulphatase activity in the urine is valuable for screening colorectal and breast cancer though it is not correlated with routinely used serum tumor markers for colorectal and breast cancer.

Key Words: Arylsulphatase; Colorectal cancer; Breast cancer; Tumor marker

Zhang J, Zhang QY, Dong DH. Significance of arylsulphatase activity in the screening of colorectal and breast cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(28): 2964-2967

摘要

目的: 探讨芳香基硫酸酯酶(ARS)法对结直肠癌和乳腺癌筛查价值及适用性。

方法: 利用酶催化底物的方法检测正常人59例、结直肠癌22例、乳腺癌110例患者组共191例临床尿液标本中ARS及其同工酶的活性, 同时测定相关肿瘤标志物, 如CEA, CA199, CA72.4, CA242, CA153。

结果: 芳香基硫酸酯酶的检测结果显示, 结直肠癌该酶活力的平均数为0.373 U/L, 阳性率为68.2%; 乳腺癌该酶活力的平均数为0.342 U/L, 阳性率为55.5%, 正常人该酶活力平均数为0.156 U/L, 阳性率为8.4%。与正常人组比较, 乳腺癌和结直肠癌患者尿液中芳香基硫酸酯酶阳性百分比及酶活力增高, 差异有统计学意义($t = 10.266, 5.735, df = 109, 21$, 均 $P < 0.05$)。

■同行评议者

王正康, 教授, 北京中日友好医院普外科

直肠癌和乳腺癌相关肿瘤标志物与芳香基硫酸酯酶活力无相关性($P>0.05$). 结直肠癌的肿瘤标志物检测CEA阳性率为18.2%, CA199阳性率为22.7%, CA72.4阳性率为4.54%, CA242阳性率为13.6%, 乳腺癌的肿瘤标志物检测CA153阳性率为27.3%, CEA阳性率为3.03%. 直肠癌和乳腺癌相关肿瘤标志物与芳香基硫酸酯酶活力无相关性($P>0.05$).

结论: 芳香基硫酸酯酶活性对结直肠癌和乳腺癌筛查具有一定的价值, 但与常规肿瘤标志物检测结果不直接相关.

关键词: 芳香基硫酸酯酶; 结直肠癌; 乳腺癌; 肿瘤标志物

张晶, 张青云, 董大海. 芳香基硫酸酯酶法对结直肠癌和乳腺癌筛查的价值. 世界华人消化杂志 2009; 17(28): 2964-2967
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2964.asp>

0 引言

癌症是当前危害人类健康最严重的疾病之一, 就人群的死亡病因而言, 肿瘤是西方国家仅次于冠心病, 中国仅次于脑血管疾病的第2病因^[1]. 伴随着肿瘤患者的发病率升高, 早诊断早治疗已成为现在抗癌的主要手段. 芳香基硫酸酯酶(arylsulphatase, ARS)及其同工酶能水解芳香族的硫酸酯类, 与机体解毒功能有关. 研究表明尿中ARS活性升高多与恶性肿瘤有关^[2-5]. 本实验利用尿液样本中的ARS及其同工酶可催化4-甲基伞形酮硫酸盐(4-MUS), 生成4-甲基伞形酮(4-MU)的生化反应, 通过荧光酶标仪检测4-MU的荧光强度, 并根据已知浓度的标准溶液绘制标准曲线, 从而定量检测尿液样本中的ARS及其同工酶的活性, 比较正常人与结直肠癌以及乳腺癌的区别, 来判断良恶性, 已达到筛查肿瘤的目的.

1 材料和方法

1.1 材料 正常对照组59例为北京大学临床肿瘤学院经体检及辅助检查排除各种恶性疾病的健康人员(男14例, 女45例), 年龄30-73(平均年龄43)岁. 肿瘤组132例: 结直肠癌22例(男12例, 女10例), 年龄44-80(平均年龄63)岁; 乳腺肠癌110例, 年龄28-78(平均年龄51)岁, 均为北京大学临床肿瘤学院门诊和住院患者, 肿瘤手术后标本均经病理证实. ARS检测试剂盒北京雅康博生物科技有限公司提供, 通过荧光酶标仪检测. CEA,

表 1 191例尿液标本芳香基硫酸酯酶的检测

分组	<i>n</i>	阳性 n (%)	酶活力平均值(U/L)
正常人	59	5(8.4)	0.15630
结直肠癌	22	15(68.2)	0.37355
乳腺癌	110	61(55.5)	0.34150

CA199, CA72.4, CA153试剂盒购自德国罗氏公司. CA242试剂盒购自瑞典康乃格公司. 550酶标仪购自BIO-RAD公司.

1.2 方法

1.2.1 标本要求及检测: 尿液样本, 必须采用晨尿, 若有杂质, 可室温3000 r/min离心10 min, 去除杂质. 先将试剂盒、质控品、尿液样本及所有试剂必须摇匀但不能起泡. 用微量取液器吸取40 μ L尿液、质控品、零控制液R4至EP管中, 再加入40 μ L沉淀剂R5, 混匀, 4℃放置5 min(注意在不同的样本间更换吸头). 室温下, 3000 r/min离心5 min. 用微量取液器尽量吸尽上清后, 向管中加入40 μ L底物试剂R2, 混匀, 不要残留结块(可用手指轻弹管底), 37℃温育30-40 min, 反应时间记为T. 迅速将反应管置于冰上, 加入200 μ L终止液R3, 混匀. 将反应管于室温下, 6000-8000 r/min离心1 min. 分别吸取200 μ L反应后的尿液样本上清、质控品上清、零控制液R4上清, 逐一加入荧光酶标仪的酶标板(酶标板在加入待测样本前应洁净无杂质, 无积液). 用荧光酶标仪进行荧光测定: 365 nm激发, 3 s内记录445 nm发射光数值. 其中待测尿液样本、质控品的读数记为Ai, 零控制液R4的读数记为A0. 绘制标准曲线: 用荧光酶标仪分别对4个标准溶液(B1-B4)进行荧光测定, 365 nm激发, 3 s内记录450 nm发射光数值, 分别记为B1, B2, B3, B4. 质控品的酶活力值在允许数值范围内, 本次试验有效. 参考值: 酶活力 ≤ 0.300 U/L, 样本为阴性; 酶活力 > 0.300 U/L, 样本为阳性.

1.2.2 肿瘤标志物CEA, CA153, CA199, CA72.4检测: 空腹取血2 mL经4000 r/min离心10 min, 取上清血清用双抗体夹心法在罗氏E170全自动免疫分析仪采用电化学发光方法按标准程序检测. 肿瘤标志检测结果判断, CEA > 5 μ g/L, CA153 > 25 kU/L, CA199 > 37.0 kU/L, CA72.4 > 6.7 kU/L为阳性.

1.2.3 肿瘤标志物CA242检测: 空腹取血2 mL经4000 r/min离心10 min, 取上清血清, 分别加入标准品和患者血清, 孵育后洗涤然后加入抗体后再

■ 相关报道

近年来, 结肠癌的发病率不断上升, 已由恶性肿瘤的第4位上升到第3位, 发达国家如美国估计大肠癌死亡人数56 290人, 占全年癌症死亡总数的9.9%, 仅次于肺及气管癌而位居第2位.

■应用要点

芳香基硫酸酯酶活性对结直肠癌和乳腺癌筛查具有一定的价值,但与常规肿瘤标志物检测结果不直接相关。

表 2 患者肿瘤标志物的检测及与芳香基硫酸酯酶活力的关系

	结直肠癌				乳腺癌	
	CEA	CA199	CA72.4	CA242	CEA	CA153
r值	-0.213	-0.386	-0.052	-0.414	-0.045	0.063
P值	0.177	0.042	0.412	0.031	0.319	0.225

洗涤,最后加入底物450 nm比色,采用酶联免疫法方法(ELISA),通过标准曲线,获得样品数值。CA242试剂盒购自瑞典康乃格公司,采用ELISA标准程序检测,通过BIO-RAD公司550酶标仪检测A值,进行比比较分析。CA242>20 kU/L为阳性。

统计学处理 计量资料采用SPSS11.5统计软件对临床数据进行统计学分析,采用独立样本t检验。

2 结果

2.1 芳香基硫酸酯酶的检测 与正常人组比较,乳腺癌和结直肠癌患者尿液中芳香基硫酸酯酶阳性百分比及酶活力增高,差异有统计学意义($t = 10.266, 5.735, df = 109, 21$, 均 $P < 0.05$, 表1)。

2.2 患者肿瘤标志物的检测及与芳香基硫酸酯酶活力的关系 结直肠癌肿瘤标志物的检测结果CEA阳性率为18.2%, CA199阳性率为22.7%, CA72.4阳性率为4.54%, CA242阳性率为13.6%,结果表明直肠癌相关肿瘤标志物与芳香基硫酸酯酶活力无相关性($P > 0.05$)。乳腺癌的肿瘤标志物检测结果CEA阳性率为3.03%, CA153阳性率为5.05%,结果表明乳腺癌相关肿瘤标志物与芳香基硫酸酯酶活力无相关性($P > 0.05$, 表2)。

3 讨论

近年来,结肠癌的发病率不断上升,已由恶性肿瘤的第4位上升到第3位,发达国家如美国估计大肠癌死亡人数56 290人,占全年癌症死亡总数的9.9%,仅次于肺及气管癌而位居第2位^[6-14]。另外,乳腺癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤。在美国,每8位女性中会有1位患乳腺癌^[15-20]。随着人民生活水平的不断提高,我国乳腺癌发病率也呈逐年上升趋势,年增长率达到2%,在城市,乳腺癌已成为女性最常见的恶性肿瘤。因此,乳腺癌的早期诊断对改善患者预后和提高治愈率意义重大^[21]。所以早诊断,早治疗对改善患者的预后就意义重大。随着社会的进步和人民生活水平的提高,人们对健康的需求与渴望越来越高,医疗消费者的需求心理也随之发生变

化,人们对健康有了新的追求和目标,不再是因病就医。“有病没病先查查,有病早治,没病早防”,已经成为越来越多人的健康理念,“健康体检”已经成为一种健康消费形式^[22]。虽然目前对恶性肿瘤的检测手段多种多样,但都存在着局限性^[1],如结肠镜检查,乳腺影像学检查等等虽然直观准,但是操作复杂,存在技术难度,不利于大规模普查,还有一些肿瘤标志物的检测,如AFP、CEA、VCA-IgA、CA199、CA153、CA72.4、CA242等,虽然检测的灵敏度好,但检测范围不够广,不适于肿瘤筛查^[1]。

以往对于乳腺癌和结直肠癌的检测研究中尝试了许多检测的方法^[23-26],同时多年来也对出尿液的检测开始了探讨^[27-30]。由于检测患者尿液方便、简单,无需特殊仪器,无创伤,易被患者接受,有利于大规模地进行普查筛选^[30]。本文中ARS试剂盒的检测原理是ARS及其同工酶能水解芳香族的硫酸酯类,与机体解毒功能有关。研究表明尿中ARS活性升高多与恶性肿瘤有关^[2-5]。因此ARS检测试剂盒通过一个生化反应,利用样本中ARS及其同工酶催化试剂盒中4-MUS,生成4-MU,再利用荧光酶标仪检测4-MU的荧光强度,并根据已知浓度的标准溶液绘制标准曲线,从而定量检测尿液样本中的ARS及其同工酶的活性。本文对119例标本的检测结果显示:结直肠癌的酶活力的平均数为0.373 U/L,阳性率为68.2%;乳腺癌的酶活力的平均数为0.342 U/L,阳性率为55.5%;正常人的酶活力的平均数为0.156 U/L,阳性率为8.4%,与正常人组比较,乳腺癌和结直肠癌患者尿液中芳香基硫酸酯酶阳性百分比及酶活力增高,差异有统计学意义($t = 10.266, 5.735, df = 109, 21$, 均 $P < 0.05$)。结直肠癌肿瘤标志物的检测结果CEA阳性率为18.2%, CA199阳性率为22.7%, CA72.4阳性率为4.54%, CA242阳性率为13.6%,结果表明直肠癌相关肿瘤标志物与芳香基硫酸酯酶活力无相关性($P > 0.05$)。乳腺癌的肿瘤标志物检测结果CEA阳性率为3.03%, CA153阳性率为5.05%,结果表明乳腺癌相关肿瘤标志物与芳香基硫酸酯酶活

力无相关性($P>0.05$). 结合本试验可以认为结直肠癌患者、乳腺癌患者尿液中平均ARS活力高于正常人. 可见ARS检测试剂盒对结直肠恶性肿瘤、乳腺恶性肿瘤的筛查具有一定的价值. 同时也可弥补肿瘤标志物检测的一些不足, 其操作简便, 患者标本留取方便, 适合于结直肠恶性肿瘤、乳腺恶性肿瘤体检筛查和辅助诊断. 但是本试验中的可能出现某些假阳性或假阴性可疑病例, 对待这些病例, 要进步检查, 应严密随访、定期复查, 减少漏诊或误诊.

总之, ARS检测试剂盒对结直肠恶性肿瘤、乳腺恶性肿瘤的筛查具有一定的价值. 有望通过进一步的研究用于癌症患者的初步筛查.

4 参考文献

- 1 王凤丽, 陈健, 张朵, 陈再连. 施瑞癌症快速尿检测及其临床应用价值. *四川肿瘤防治* 1999; 12: 26
- 2 王坤, 施前. 实用诊断酶学. 第2版. 上海: 上海医科大学出版社, 2000; 376
- 3 侯振江, 陈立新. 芳香基硫酸酯酶及其同工酶与临床. *医学检验进修杂志* 2001; 8: 32
- 4 陈铁河, 曾坤荣, 王兰金, 朱炳钗, 郑家富. 晨尿芳香基硫酸酯酶B活性检测的临床应用. *临床检验杂志* 1996; 14: 24
- 5 陈铁河, 曾坤荣, 王兰金, 朱炳钗. 沉淀法分离尿中芳香基硫酸酯酶及其活性测定. *临床检验杂志* 1995; 13: 17
- 6 Steinert R, Buschmann T, van der Linden M, Fels LM, Lippert H, Reymond MA. The role of proteomics in the diagnosis and outcome prediction in colorectal cancer. *Technol Cancer Res Treat* 2002; 1: 297-304
- 7 Price AS. Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Gastroenterol Nurs* 2003; 26: 73-81
- 8 Hendon SE, DiPalma JA. U.S. practices for colon cancer screening. *Keio J Med* 2005; 54: 179-183
- 9 Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2: 533-543
- 10 Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30
- 11 吴晖, 董叶. 结肠癌早期诊断的研究. *实用临床医学* 2006; 7: 153-154
- 12 许哲, 黎介寿. 结直肠癌的筛查. *中国癌症杂志* 2006; 16: 75-77
- 13 张渊智, 李世荣. 大肠癌早期诊断新技术. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1202-1206
- 14 黄慧峰, 杜芳腾. 早期结肠癌诊断的进展. *实用临床医学* 2008; 9: 134-135, 138
- 15 Otto SJ, Fracheboud J, Looman CW, Broeders MJ, Boer R, Hendriks JH, Verbeek AL, de Koning HJ; National Evaluation Team for Breast Cancer Screening. Initiation of population-based mammography screening in Dutch municipalities and effect on breast-cancer mortality: a systematic review. *Lancet* 2003; 361: 1411-1417
- 16 Swami S, Raghavachari N, Muller UR, Bao YP, Feldman D. Vitamin D growth inhibition of breast cancer cells: gene expression patterns assessed by cDNA microarray. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 80: 49-62
- 17 Baum M. The changing face of breast cancer--past, present and future perspectives. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 75 Suppl 1: S1-S5; discussion S33-S35
- 18 侯振江, 张宗英. 乳腺肿瘤标志物研究进展. *医学综述* 2008; 14: 224-226
- 19 张铁, 付斌, 尹子毅, 王丕琳. 早期乳腺癌临床诊断分析. *武警医学* 2008; 19: 51-52
- 20 杨新红, 王文敬. 乳腺癌肿瘤标志物-乳腺球蛋白的研究进展. *现代医学仪器与应用* 2008; 20: 21-23
- 21 吕大鹏, 徐光伟. 乳腺癌普查的国内外进展. *中国实用外科杂志* 2006; 26: 68-70
- 22 陶红. 建立肿瘤专科健康体检中心的设想之我见. *现代医院管理* 2006; 3: 32
- 23 王继恒, 李世荣. 我国结直肠癌筛查和早期诊断十年回顾: 1994-2005. *胃肠病学* 2006; 11: 245-250
- 24 占强, 严洁, 蒋志阳, 司进, 陈涛, 郭继中, 陶国清. 粪便P53基因突变检测在结直肠癌诊断中的应用. *中华内科杂志* 2004; 43: 502-505
- 25 钱海英. 肿瘤标志物CA153、CA125、CEA联合检测在乳腺癌中的临床应用. *医学检验与临床* 2008; 19: 32-33
- 26 刘亚萍, 马南花, 陆雪秋. 乳腺癌患者血清肿瘤标志物检测的临床价值. *吉林医学* 2008; 29: 1235-1237
- 27 陈昌南, 黄活勋, 潘岐作, 苏铭俊, 林云笑, 黄小兵, 杨劲松. URC测试对消化道恶性肿瘤根治术后复发监测的临床意义. *现代肿瘤医学* 2006; 14: 1581-1582
- 28 吴怡春, 徐笑红, 张剑英, 王胜. 癌症尿液筛查监测试剂临床应用分析. *实验与检验医学* 2008; 26: 332
- 29 申哲洙, 顾晋, 赵伟, 张志谦. 妇女尿中MMP-9及MMP9-NGAL复合物的表达对筛查早期乳腺癌病人的临床意义. *内分泌外科杂志* 2008; 2: 13-16, 22
- 30 申哲洙, 顾晋, 赵威, 张志谦. 尿液中MMP-2、MMP-9及MMP-9/NGAL复合物的表达在乳腺癌筛查中的意义. *首都医科大学学报* 2008; 29: 395-398

■同行评价

本文内容较新, 设计与推理都较合理, 提供了有价值的信息, 但尚属初步研究, 其准确率与灵敏度等尚需进一步探讨.

编辑 李军亮 电编 何基才