

文章编号: 1001-098X(2005)03-0101-04

肿瘤标记物在结直肠癌中的临床应用和研究

陈虞梅

摘要 结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 有关其检测的肿瘤标记物很多, 部分已广泛应用于临床。但是, 迄今为止尚无理想的肿瘤标记物。本文简单介绍几种常用的血清学肿瘤标记物例如癌胚抗原、CA19-9、CA50、CA242 等对结直肠癌的诊断价值, 并探讨近来研究发现的几种联合检测方法对提高结直肠癌诊断正确性的临床价值。另外, 随着分子生物学技术的发展, 新的肿瘤标记物及基因肿瘤标记物对结直肠癌诊断的研究也取得较大的进展, 有望成为提高结直肠癌诊断效率的新的检查方法。

关键词 结直肠癌; 肿瘤标记物; 基因

中图分类号 R817.4 文献标识码 A

Clinical application and research of tumor markers in colorectal cancer

CHEN Yu-mei

(Department of Nuclear Medicine, Renji Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200127, China)

Abstract Colorectal cancer is one of the most common malignant tumors. There are many tumor markers for detecting colorectal cancer, some of which have been widely used in clinical area. However, still lack an ideal tumor marker of colorectal cancer. In this review, we simply characterized some common tumor markers including carcinoembryonic antigen, CA19-9, CA50, CA242 etc and their diagnostic value. And here we discussed some combined detecting procedures which improve diagnostic accuracy of colorectal cancer. In addition, with the development of the biomolecular technique, some newly discovered tumor markers and genetic markers have gained great progress in the research of colorectal cancer, and will become a promising technique in the diagnosis of colorectal cancer.

Key Words colorectal cancer; tumor markers; gene

结直肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤。近年来, 随着我国生活条件和饮食习惯的改变, 结直肠癌发病率呈明显上升趋势。目前对结直肠的检查手段主要有大便隐血试验、血清学肿瘤标记物检测、消化道钡剂灌肠、肠镜及其他影像学检查方法, 例如 CT、MRI 和 PET 等, 其确诊需要组织病理学检查。肿瘤标记物检测已成为继影像诊断和病理诊断之后临床最常用的方法之一。理想的标记物可用于肿瘤筛选、诊断、疗效及预后评估和复发监测, 应具有较强的特异性, 并可检测出最小的病灶, 能定量反映肿瘤负荷^[1]。一般的血清肿瘤标记物对结直肠癌的诊断特异性、敏感性均不高, 因此有必要开

发一些新的肿瘤标记物及其检测方法。

研究表明, 结直肠癌的发生和发展是一个涉及原癌基因激活、抑癌基因失活、配错修复基因失常等多步骤、多阶段及多基因参与的病变过程^[2]。随着分子生物学的进展, 使得细胞的癌变、增殖和转移等发生机制及其有关的癌基因、抑癌基因或基因组修复异常发生机制的研究取得很大发展。因此, 通过对基因肿瘤标记物的检测并结合形态及功能显像, 有望使结直肠癌得到早期诊断, 为患者带来早期治疗, 从而提高其生存率。

1 传统的肿瘤标记物

1.1 糖类抗原

细胞癌变时, 由于糖基转化酶的失活或某些胚

胎时期活跃而成熟期趋于静止的转化酶被激活,导致细胞表面糖类变化。糖类抗原能从不同组织的多种原发或转移癌中分离出来,而正常成熟组织含量极微,它是较普通的肿瘤相关抗原,而非器官特异性^[3]。

目前,利用癌细胞表面存在的特异性糖类抗原及单克隆抗体作为肿瘤标记物已经广泛运用于临床。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是从结肠腺癌组织中分离出来的一种 α 糖蛋白,是结肠直肠癌诊断中最常用的标记物。CEA的诊断敏感度与肿瘤分期有关,其上升速率及浓度水平随肿瘤发展而增加: Dukes A期为20%, Dukes B期为40%~60%, Dukes C期为60%~80%, Dukes D期为80%~86%。在胆囊癌、胃癌、胰癌、肺癌、卵巢癌和子宫癌中,随分期不同,也可有50%~70%病例的CEA浓度上升。因其临床敏感性及其特异性有限,考虑到结肠直肠癌的发病率,CEA的单独检测不适用于结肠直肠癌的筛查和早期诊断,但是连续测定血清CEA是原发癌切除术后局部或远处复发的最敏感的非创伤性诊断方法。约有一半的结肠癌伴肝脏转移的CEA水平高于正常值的8~10倍,并且与肝转移灶的数目及大小相关,与患者生存率也呈明显相关^[4]。因此,检测CEA水平对于术前估计预后、术后监测复发及转移有重要价值。

糖链抗原19-9(carbohydrate antigen, CA19-9)、癌抗原50(cancer antigen, CA50)、癌抗原242(cancer antigen, CA242)、癌抗原72-4(cancer antigen, CA72-4)对结肠直肠癌诊断也具有一定价值,但都缺乏足够的敏感性和特异性,故许多研究试图通过多种糖类抗原联合检测找到一种有效的方法来提对其对结肠直肠癌的诊断率。研究发现,各项指标平行联合检测法可使诊断敏感度提高至82.6%~89.7%,系列联合检测法可使特异度提高至88.6%~91.5%。国外最近文献报道^[5],在204例结肠直肠癌、104例良性疾病患者中,研究CEA、CA19-9、CA242、CA72-4、人绒毛膜促腺激素- β (human chorionic gonadotrophin- β , HCG- β)等5种肿瘤标记物对结肠直肠癌的诊断价值及最佳的联合检测方法,发现CEA和CA72-4对结肠直肠癌最有诊断价值,并用Logistic回归分析法推算出结肠直肠癌的患病概率指数 $P=e^x/(e^x+1)$; $x=-0.420+1.043 \times \ln(\text{CEA})+0.454 \times \ln(\text{CA72-4})$,其

诊断准确率显著高于单个肿瘤标记物。这种诊断方法颇有前景,但需更多的前瞻性研究来评价其临床价值。

1.2 CEA mRNA

目前对结肠直肠癌局部原发的肿瘤采取手术根治为主的治疗,但根治术后肿瘤的复发和转移率高达50%,早期发现血循环中微转移的肿瘤细胞对于结肠直肠癌复发和预后判断以及指导临床治疗有重大意义。CEA mRNA是指导合成CEA的模板,应用逆转录-聚合酶链反应法将CEA mRNA作为靶RNA来检测结肠直肠癌外周血中微转移的肿瘤细胞是一种灵敏有效的微转移检测方法。正常者及良性疾病患者血循环中均无CEA mRNA扩增,结肠直肠癌患者癌组织标本中均有CEA mRNA阳性表达,其术前外周血中约有52%出现阳性表达,且阳性检出率与分期密切相关。结肠直肠癌早期患者尽管常规病理学检查无淋巴转移,根据CEA mRNA测定结果,仍有37%患者可能已发生血液或淋巴转移,故CEA mRNA不仅在肿瘤早期诊断中有重要意义,而且与肿瘤的生物行为密切相关。将现行的TNM[根据肿瘤(T)、结节(N)及转移(M)情况的肿瘤分类法]临床分期与分子生物学的微转移有机结合,可为肿瘤预后提供更为准确的判断。

1.3 分化抗原簇44(cluster of differentiation 44, CD44)分子

CD44分子为体内细胞分布极广的一种单链的胞膜表面跨膜蛋白分子,具有高度的异质性,参与细胞与细胞、细胞与间质之间的特异性黏连。其分子有标准型(CD44s)和变异型(CD44v)两类。应用逆转录-聚合酶链反应及Southern杂交技术检测25例结肠直肠癌患者及15例健康对照者粪便中脱落细胞的CD44、CD44v6、CD44v10的表达,结果显示结肠直肠癌患者的CD44v6和CD44v10的阳性检出率为68%和60%,术后转阴率为88%和80%,而且CD44v6、CD44v10均可在Dukes A期患者术前粪便中检出。CD44v6与肿瘤转移的关系也较为密切,其阳性表达与临床分期、局部淋巴结的转移有关。CD44v6阳性表达者术后3年生存率显著低于阴性者,故CD44v6的表达也可作为术后判断预后的参考指标之一,且CD44v6阳性者需要更彻底地进行淋巴结清扫和综合治疗。

2 基因肿瘤标志物

2.1 癌基因

癌基因是诱导细胞恶性转化或使细胞恶变的一类基因。它是正常细胞生长发育中不可缺少的功能性基因, 由于发生了点突变、易位重排、基因扩增等改变, 扰乱了原有正常有序的功能, 成为对肿瘤发生和发展起重要作用的癌基因。

2.1.1 ras 基因

ras 基因家族分为 H-ras, K-ras, N-ras, 分别定位于 11、12 和 1 号染色体, 因其编码的蛋白质相对分子质量均为 21×10^3 , 故称为 P21 蛋白。P21 蛋白的活性在传达细胞外源性增殖信号中具有重要作用。变异型 P21 蛋白与正常型 P21 蛋白相比较其鸟苷三磷酸酶(guanosine triphosphatase, GTPase)活性明显低下, 与癌变有关。目前, 对结直肠癌的发生、发展与 ras 癌基因点突变的关系已进行深入的研究, 约 50% 的结直肠癌有 K-ras 癌基因点突变, 其中约 80% 的点突变位于 K-ras 第 12 位氨基酸密码子, 另约 15% 发生在 K-ras 第 13 位密码子^[6]。

应用聚合酶链反应-限制性片段长度多形性技术检测 23 例结直肠癌患者的粪便和癌组织中 K-ras12 及 K-ras13 密码子突变体, 其癌组织中 16 例 K-ras 突变体阳性, 其中 13 例粪便中同时检出 K-ras 突变体, 同时检出率为 81% (13/16 例); 对粪便及相应癌组织检出的 K-ras 突变体进行测定分析, 发现两者基因突变位点及碱基置换完全相同。许多研究均证实了聚合酶链反应技术检测粪便中的 K-ras 突变体能反映结直肠癌组织中 K-ras 基因的突变体情况, 具有高度的敏感性和特异性, 为结直肠癌的早期诊断提供了分子检测手段。

血浆 DNA 中 K-ras 基因第 12 密码子点突变也有望成为结直肠癌诊断的肿瘤标志物。用引物序列特异性聚合酶扩增链式反应检测 32 例结直肠癌患者肿瘤组织 DNA、血浆中 K-ras 癌基因第 12 密码子点突变, 发现 14 例(44%) 在结直肠癌组织 DNA 中存在 K-ras 12 密码子点突变, 其中 13 例 (93%) 在血浆 DNA 中存在与其肿瘤组织相同的基因点突变, 而在正常对照组, 血浆 DNA 中无一发现 K-ras 基因突变。

2.1.2 myc 基因

myc 基因属核转录因子类原癌基因, 其编码的蛋白质在核内结合于 DNA 链上, 对转录过程实施调控。myc 基因家族中至少有 6 个关系密切的基因, 其中 c-myc 与结直肠癌相关, 它定位于 8 号染色体, 其诱导活化的形式为基因大量扩增。myc 的扩增不但能与其他基因在结直肠癌发生早期起协调作用, 而且还多见于恶性程度高、预后差的肿瘤。约 2/3 结直肠癌 myc 的 mRNA 表达较正常黏膜高 3~24 倍, 能否作为结直肠癌的诊断标记物有待更多的研究^[7]。

2.2 抑癌基因

抑癌基因是一大类可抑制细胞生长、增殖、分裂的基因, 可诱导细胞凋亡, 其缺乏和失活与肿瘤的发生和发展有密切的关系。

2.2.1 p53 基因

p53 基因染色体定位于 17p13.1, 含有 11 个外显子和 10 个内含子, 编码 393 个氨基酸的蛋白, 是核内磷蛋白, 通过与 DNA 的特定区域结合, 抑制细胞异常增殖, 控制其他基因表达。p53 基因分野生型和突变型, 野生型 p53 基因在细胞受到伤害而发生 DNA 断裂后, 细胞在修补、增殖基因时使细胞分裂终止在 G₁/S 期, 如损伤不能修复, p53 基因则启动细胞凋亡而引发自灭, 故 p53 基因对细胞增殖有控制和负调节作用; 突变型 p53 基因丧失抑癌作用, 促进细胞向恶性转化。p53 基因突变在结直肠癌的发生中属晚期事件, 其突变位点在第 110 和 232 位氨基酸上, 热点为第 175 位氨基酸^[2]。p53 基因突变在患者的癌组织或粪便中的阳性率为 50%~70%^[8]。另外, p53 基因的杂合性缺失频度在结直肠腺瘤中为 20%, 而结直肠癌中则为 50%~75%, 提示从粪便中提取细胞检测基因可望成为结直肠癌诊断的一种新方法。

2.2.2 DCC 基因

利用多肽性 DNA 探针在结肠癌细胞第 18 号染色体长臂的 21.3 区多次发现杂合性缺失, 提示该位点可能丢失了一个正常时存在的抑癌基因, 之后该基因被克隆, 命名为结直肠癌缺失(DCC)基因。DCC 基因可能在结直肠癌变过程后期起重要作用, 其在结直肠癌中杂合性缺失的发生率达 70%。

另外, DCC 基因参与了结直肠癌组织分化的调节, 对结直肠癌的转移有抑制作用。DCC 基因的杂合性缺失及 DCC mRNA 表达低下在结直肠癌, 尤其是肝转移患者中呈现较高的频率, 提示它可能作为结直肠癌肝转移的一个诊断标志及评估结直肠癌预后的重要指标^[9]。

2.3 错配修复 (mismatch repair, MMR) 基因与微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI)

为保证 DNA 复制的准确性, 存在 DNA 修复机制。DNA 修复基因失活而丧失修复功能, 间接促进异常细胞增殖。遗传性非息肉结肠癌是一种由于 DNA MMR 基因发生胚系突变的常见的染色体显性遗传病, 约占结直肠癌的 10%。另外, 一部分散在性的结直肠癌中也发现同样的基因异常。现已发现的 MMR 基因有多个, 其中任何一个发生突变均可导致 MSI, 故 MSI 的检出可以说明 MMR 基因的异常, 从而为遗传性非息肉结肠癌发病的可能性提供参考指标。研究表明, 遗传性非息肉结肠癌家族中有 MMR 基因突变的成员到 65 岁时结直肠癌发病率为 70% 左右^[10], 因此早期发现遗传性非息肉结肠癌患者及其家系, 对防治早期结直肠癌有十分重要的意义。

2.4 端粒酶

端粒酶是一种核糖核蛋白体, 主要由 RNA 和蛋白质组成, 具有逆转录酶活性。它能以自身 RNA 为模板, 从头合成端粒, 以补偿细胞分裂时染色体末端端粒的缩短, 从而使细胞获得“永生性”。端粒酶仅在正常人体中生长速度快的胚胎、骨髓和生殖细胞才能检测到, 在多数分化的体细胞中则检测不到, 但大部分肿瘤组织中端粒酶呈阳性表达。近年发现, 结直肠癌较其他脏器癌肿具有较高的端粒酶活性表达(为 90% 以上), 而正常肠黏膜为阴性, 故端粒酶被认为是较理想的结直肠癌标志物^[11]。用聚合酶链端粒重复扩增银染技术研究结直肠癌患者粪便中脱落细胞的端粒酶活性表达显示, 总阳性率达 62.3%, 特异度为 95.7%, 阳性预测值为 96.4%, 提示粪便检测端粒酶活性有望成为筛查结直肠癌无症状个体或结直肠癌高危人群的一个非侵入性敏感方法。

近年来, 国内外对结直肠癌的有关肿瘤标志物作了不少的研究, 目前尚无足够理想的肿瘤标志物。各种肿瘤标志物的联合检测能够明显提高结直肠癌诊断的敏感性和特异性, 但进一步确诊仍需内镜及病理的综合诊断。而随着分子生物学研究的进展及其检测技术的日趋成熟, 基因肿瘤标志物对肿瘤的诊断受到极大的关注, 结直肠癌的发生、发展更是与基因改变密切相关, 因此基因肿瘤标志物的检测有望成为提高结直肠癌早期发现率、诊断正确率和新的无创伤性检测方法。

参 考 文 献

- 1 Seregini E, Coli A, Mazzucca N, et al. Circulating tumor markers in breast cancer[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2004, 31 (Suppl 1): S15-S22.
- 2 Calvert PM, Frucht H. The genetics of colorectal cancer[J]. *Ann Intern Med*, 2002, 137(7): 603-612.
- 3 Lawicki S, Mroczko B, Szmitkowski M. Neoplasm markers useful for diagnosis and monitoring of colonic neoplasms[J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2002, 56(5): 617-634.
- 4 Ishizuka D, Shirai Y, Sakai Y, et al. Colorectal carcinoma liver metastases: clinical significance of preoperative measurement of serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2001, 16(1): 32-37.
- 5 Carpelan-Holmstrom M, Louhimo J, Stenman UH, et al. Estimating the probability of cancer with several tumor markers in patients with colorectal disease[J]. *Oncology*, 2004, 66(4): 296-302.
- 6 Pontieri-Lewis V. Colorectal cancer: prevention and screening [J]. *Medsurg Nurs*, 2000, 9(1): 9-13.
- 7 黄萍. 大肠癌相关基因改变的研究进展[J]. *国外医学卫生学分册*, 2003, 30(1): 44-48.
- 8 Srivastava S, Verma M, Henson DE. Biomarkers for early detection of colon cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5): 1118-1126.
- 9 Saito M, Yamaguchi A, Goi T, et al. Expression of DCC protein in colorectal tumors and its relationship to tumor progression and metastasis[J]. *Oncology*, 1999, 56(2): 134-141.
- 10 Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications[J]. *Ann Intern Med*, 2003, 138(7): 560-570.
- 11 Tatsumoto N, Hiyama E, Murakami Y, et al. High telomerase activity is an independent prognostic indicator of poor outcome in colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(7): 2696-2701.

(收稿日期: 2004-11-27)