

# 假尿嘧啶核苷与恶性肿瘤

符雪松, 白文元

符雪松, 迁安市人民医院消化病研究室 河北省迁安市 064400  
白文元, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000  
项目负责人: 符雪松, 064400, 河北省迁安市消化病研究室.  
收稿日期: 2002-05-24 接受日期: 2002-07-01

## 摘要

假尿嘧啶核苷是tRNA降解的最终产物, 机体不再重新利用而从尿中排泄. 因在肿瘤患者体内异常增高, 被作为肿瘤标志物用于肿瘤的早期诊断、鉴别诊断、肿瘤进展与复发的监测、疗效和预后的判断.

符雪松, 白文元. 假尿嘧啶核苷与恶性肿瘤. 世界华人消化杂志 2003;11(1):72-73  
<http://www.wjnet.com/1009-3079/11/72.htm>

## 0 引言

假尿嘧啶核苷(pseudouridine, PU)是tRNA降解的最终产物. 1975年 Waalkes et al<sup>[1]</sup>发现多种不同疾病, 特别是晚期肿瘤患者的尿中修饰核苷, 尤其是PU增高. Becker et al<sup>[2]</sup>经动物实验证明, 在肿瘤组织的tRNA中, 修饰核苷的转化率明显高于正常组织, 二者相差10倍以上. 构成这种现象的分子基础是肿瘤组织中tRNA修饰酶的增多, 致使修饰核苷异常增高<sup>[3, 4]</sup>. 近年来国内外学者研究发现, 在甲状腺癌、鼻咽癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、胃癌、食管癌、以及淋巴细胞性白血病等患者体内PU异常增高, 故将PU作为肿瘤标志物用于肿瘤的早期诊断、鉴别诊断、肿瘤进展与复发的监测、疗效和预后的判断<sup>[5-7]</sup>.

## 1 假尿嘧啶核苷的代谢

假尿嘧啶核苷是尿嘧啶核苷的异构体<sup>[8]</sup>. 尿嘧啶核苷是戊糖的1位碳原子(C-1)与尿嘧啶1位氮原子(N-1)相连接, 而PU则是戊糖的1位碳原子(C-1)与尿嘧啶5位氮原子(N-5)相连接. PU是众多修饰核苷的一种, 主要存在于RNA中, 特别是tRNA中. 尿嘧啶及核糖在核苷磷酸化酶的作用下, 生成尿嘧啶核苷, 再经磷酸激酶生成尿嘧啶核苷酸. TRNA-假尿嘧啶核苷合成酶将tRNA分子链中某些位置上的尿嘧啶核苷转变成PU<sup>[9]</sup>. PU是tRNA降解的最终产物, 因为无代谢途径可使其重新利用, 所以只能直接从尿中排泄. 正常人血清中PU浓度为(2.2 ± 0.4) nmol/ml, 每日尿中排泄量较为恒定(23.8 nmol/μmol肌酐), 婴幼儿每日尿中排泄量略高于成人. 性别之间无明显差异.

## 2 假尿嘧啶核苷的测定方法

PU的测定方法, 现在有直接测定法、荧光分析法、

气相色谱法和高效液相色谱(HPLC)法. 目前多采用HPLC法, 因为他具有灵敏、准确、迅速等特点. 实际操作一份样品预处理和上机分析, 只需2h左右即可得到准确结果. 因为PU带有顺式-OH功能团, 能在C<sub>18</sub>Spherisorb色谱柱中通过键合反应使PU较好地分离. 基本过程及条件是: 将样品精确注入色谱柱顶部, 用0.01 mol/L NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> CH<sub>3</sub>OH(94:6, v/v, pH4.7-5.0)作为流动相, 流速1.0 ml/min. 在恒定的压力和柱温下, PU可迅速地色谱柱中被洗脱. 继之将洗脱液送入紫外光谱仪中检测, 通过比较血、尿及标准品中PU的保留时间和吸收率进行定性. PU在紫外光263 nm波长吸收最好, 故测定263 nm下的峰面积可以计算出PU的含量. 灵敏度在0.1 AUFS. 因PU主要从尿中排出, 加上肾脏的浓缩作用, 使尿中PU浓度比血中高. 又因尿样取材方便, 故常测定尿中PU. 但尿样本有时易受外界因素影响, 不如血PU精确. 故认为<sup>[5]</sup>, 血、尿PU联合测定较单相指标有益.

## 3 假尿嘧啶核苷测定的临床意义

PU作为肿瘤标志物用于肿瘤的早期诊断、鉴别诊断、肿瘤进展与复发的监测、疗效和预后的判断, 具有很好的应用价值.

3.1 用于肿瘤的诊断、鉴别诊断 Colonna et al<sup>[10]</sup>报道, 70-90%肝癌患者血清AFP升高. 近年来随着医学影像诊断技术的发展及其他检测手段的提高, 使得亚临床肝癌的检出率增多. 目前多数学者报告肝癌患者AFP阳性率仅在50%左右, 而且在其他良性肝病(如急、慢性肝炎、肝硬化)患者中也可有不同程度的升高. 因此, 寻找一种特异性高的肿瘤标志物, 用于发现早期肝癌, 区别良性是非常重要的.

Zhou et al<sup>[11]</sup>应用HPLC法对肝癌、肝良性占位病变、肝硬化和健康人血清PU进行对比研究. 他们测定了74例肝癌患者PU, 阳性率为71.6%, 而血清PU与AFP无相关性, 血清AFP阴性的患者中, PU阳性率反而更高. 因此, 血清PU的测定能弥补AFP的不足, 二者联合应用可使肝癌诊断阳性率提高到84.5%. 他们认为, 血清PU可作为诊断、监测肝癌的标志物. 应用HPLC测定了腹水和血清中PU, 以区分肝癌与肝硬化腹水. 试验采用双盲法, 肝硬化54例, 肝癌17例, 作为研究对象. 结果表明: 两组患者血清、腹水中的假尿嘧啶核苷平均含量和血清/腹水PU的比值有明显差异(P < 0.01), 可用以区分这两组的大多数病例. Prankel

et al<sup>[12]</sup>通过化学致癌剂诱发肝癌,也观察到类似现象.他认为连续1次/mo测定肝硬化患者血清PU,能早期发现肝癌、区别肝癌和其他良性肝病.因此,他们认为腹水PU是区别肝癌腹水和肝硬化腹水的最好标志物. Evans et al<sup>[6]</sup>也发现乳腺癌、甲状腺癌、胃癌、肺癌、食管癌、大肠癌和淋巴细胞性白血病等患者的血、尿PU浓度明显高于正常人,且具有统计学意义( $P < 0.05$ ),对肿瘤的诊断有应用价值.

3.2 用于对肿瘤进展与复发的监测、肿瘤疗效和预后的判断 血清PU的浓度随着肿瘤的发生、发展而逐步升高.有学者作随访观察发现<sup>[13]</sup>:31例血清PU阳性的肝癌患者,进行肿瘤切除后,29例血清PU浓度在术后2wk降至正常,临床症状也随之好转.2例血清PU浓度未降至正常者,是因为肿瘤过大,不能彻底切除的缘故.进一步随访该2例患者,血清PU持续阳性,在术后5mo时分别死于肝癌转移和肝癌复发肝功能衰竭.而术后2wk血清PU降至正常的29例肝癌患者,术后3mo复查的20例,其中2例血清PU再度阳性,被证实为肝癌复发.

Castaldo et al<sup>[14]</sup>对15例肝癌患者行肝动脉栓塞治疗,同时测定了栓塞前后血清AFP和PU的变化,栓塞前血清AFP $>400 \mu\text{g/L}$ 者4例,AFP低浓度6例,栓塞后均有下降.栓塞前PU阳性者11例,栓塞后10例PU浓度下降,症状好转,部分患者影像学检查可见肿瘤缩小.定期测定血清PU的浓度能较早地发现肿瘤的复发或再发,并能判断肿瘤的治疗反应和预后.

江晓肖 et al<sup>[15]</sup>应用HPLC法检测了不同病理分期和不同分化程度胃癌患者的尿PU浓度,发现胃癌患者尿PU的排泄水平与胃癌的生物学行为存在一定的联系.实验表明:晚期胃癌患者尿PU水平与早中期胃癌患者尿PU比较呈明显上升趋势,且具有统计学意义( $P < 0.05$ ).说明PU的水平与肿瘤的浸润深度及淋巴结转移可能有关,随着浸润深度的增加,远处转移的出现,PU水平呈上升趋势,其升高的程度可能与肿瘤的负荷,即疾病的阶段相关,反映了患者的病情状态.而低分化未分化胃癌患者的PU水平较高中分化胃癌患者的PU水平也有明显差异( $P < 0.05$ ),推测原因可能与分化较差的胃癌细胞具有较高tRNA转化以及修饰性活动增强有关.

总之,假尿嘧啶核苷作为一种肿瘤标志物用于多

种恶性肿瘤的诊断、鉴别诊断、监测发生发展、疗效和预后的判断具有一定价值,同时检测血清、尿及/或肿瘤组织中PU浓度,并联合应用一些相应的肿瘤标记物测定,可明显地提高其诊断率,尤其是早期诊断率.随着其应用的不断广泛与深入,对于进一步认识肿瘤,以推测其生物学行为,从而为肿瘤的诊治提供依据.

#### 4 参考文献

- 1 Waalkes TP, Cehrke CW, Zumwalt RW, Chang SY, Lakings DB, Tormey DC, Ahmann DL, Moertel CG. The urinary excretion of nucleosides of ribonucleic acid by patients with advanced cancer. *Cancer* 1975;36:390-398
- 2 Becker HF, Motorin Y, Sissler M, Florentz C, Grosjean H. Major identity determinants for enzymatic formation of ribotimidine and pseudouridine in the T psi-loop of yeast tRNAs. *J Mol Biol* 1997;12: 505-518
- 3 Newby MI, Greenbaum NL. A conserved pseudouridine modification in eukaryotic U2 snRNA induces a change in branch-site architecture. *RNA* 2001;7: 833-845
- 4 Hellmuth K, Grosjean H, Motorin Y, Deinert K, Hurt E, Simos G. Cloning and characterization of the Schizosaccharomyces pombe tRNA: pseudouridine synthase Pus1p. *Nucleic Acids Res* 2000;28:4604-4610
- 5 Peng Z, Wang C, Li C. Simultaneous determination of creatinine, pseudouridine and uric acid in serum and urine by high performance liquid chromatography. *Se Pu* 1998;16:146-148
- 6 Evans MD, Perrett D, Lunec J, Herbert KE. Analysis of urinary pseudouridine by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Ann Clin Biochem* 1997;34:527-533
- 7 张建华, 徐铃. 腹水假尿苷含量可用于肝癌与肝硬化腹水的鉴别. 国外医学临床生物化学与检验学分册 1998;19:45-46
- 8 Chen J, Patton JR. Mouse Pseudouridine synthase1: gene structure and alternative splicing of pre-mRNA. *Biochem J* 2000; 352 (Suppl 2): 465-473
- 9 Chen J, Patton JR. Pseudouridine synthase 3 from mouse modifies the anticodon loop of tRNA. *Biochemistry* 2000;39:12723-12730
- 10 Colonna A, Guadagnino V, Maiorano A, Stamile E, Costa C. Pseudouridine for monitoring interferon treatment of patients with chronic hepatitis C. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34: 697-700
- 11 Zhou J, Yuan Y, Xu D. Determination of uric acid, creatinine and pseudouridine in human urine by high performance capillary zone electrophoresis. *Se Pu* 1998;16:176-177
- 12 Prankel BH, Clemens PC, Burmester JG. Urinary excretion of nucleosides varies with age and protein metabolism. *Clin Chim Acta* 1995;31:181-183
- 13 Rasmuson T, Bjork GR. Urinary excretion of pseudouridine and prognosis of patients with malignant lymphoma. *Acta Oncol* 1995; 34:61-67
- 14 Castaldo G, Intrieri M, Calcagno G, Cimino L, Budillon G, Sacchetti L, Salvatore F. Ascitic pseudouridine discriminates between hepatocarcinoma derived ascites and cirrhotic ascites. *Clin Chem* 1996;42:1843-1846
- 15 江晓肖, 黄怀德, 曾贤铭, 陈剑, 彭杰. 高效液相色谱法检测胃癌假尿苷的研究. 医学研究通讯 1997;26:36-37