

呼吸系统疾病患者血清 PTPr 含量分析

王天然, 马布仁, 陈 莉, 曾祥元

Quantification of O-Phospho-L-tyrosine Protein (PTPr) in the Sera of Respiratory Patients

WANG Tian-ran, MA Bu-ren, CHEN Li, ZENG Xiang-yuan

Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China

Abstract: Objective The quantities of serum O-phospho-L-tyrosine protein (PTPr) in groups of respiratory patients and its value were studied. **Methods** An ELISA was applied to detect serum PTPr of the groups of patients, and then the results of each group were statistically analyzed and compared. **Results** The serum PTPr in lung cancer group was (36.4 ± 27.8) ng/ml; 36 (66.7%) in the 48 cases were positive (PTPr > 30ng/ml); and the both were significantly higher than those in the following groups ($P < 0.001$). The PTPr amounts and positives in pneumo-tuberculosis, pneumonia and other respiratory diseases groups were respectively (7.9 ± 14.1) ng/ml and 8.3% (4/48), (11.6 ± 16.6) ng/ml and 7.1% (4/56), and (8.1 ± 15.6) ng/ml and 7.4% (4/54). **Conclusion** In lung cancer patients the serum PTPr were increased evidently; it suggested that the activation of signaling molecules be enhanced in lung cancer cell generation and growth, and assaying PTPr may be of value in lung cancer diagnosis.

Key words: O-phospho-L-tyrosine protein (PTPr); ELISA; Lung cancer; Tuberculosis; Pneumonia

摘要:目的 研究呼吸系统疾病患者血清 PTPr 含量及其意义。方法 用 ELISA 法测患者血清 PTPr, 然后分组统计分析。结果 48 例肺癌 PTPr 含量 (36.4 ± 27.8) ng/ml, 阳性 (> 30ng/ml) 32 例 (66.7%), 十分显著高于以下各组 ($P < 0.001$); 肺结核病 48 例 PTPr 含量 (7.9 ± 14.1) ng/ml, 阳性 4 例 (8.3%); 肺炎 56 例 PTPr 含量 (11.6 ± 16.6) ng/ml, 阳性 4 例 (7.1%); 其他疾病 54 例 PTPr 含量 (8.1 ± 15.6) ng/ml, 阳性 4 例 (7.4%)。结论 肺癌患者血清 PTPr 含量显著增高。提示肺癌发生发展中信号传导分子活化增强; 测定 PTPr 对肺癌诊断可能具有临床价值。

关键词: 磷酸酪氨酸蛋白 (PTPr); 酶联免疫检测; 肺癌; 肺结核病; 肺炎

中图分类号: R734.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2005)01-0040-02

0 引言

磷酸酪氨酸蛋白 (o-phospho-L-tyrosine protein, PTPr) 是酪氨酸蛋白激酶 (PTK) 催化反应的产物, 是多种细胞活化、增殖、生长、分化和恶性变的关键信号传导分子^[1-8]。因此, 检测 PTPr 对研究 PTK 活性及恶性肿瘤发生和增长, 对癌症诊断均可能有意义。我们已建立了测定 PTPr 的 ELISA 法, 并发现对肝癌诊断有明显临床价值^[9]。现报告肺癌和其他呼吸系统疾病患者血清 PTPr 含量测定的初步研究结果。

1 资料和方法

1.1 研究资料 (1) 肺癌 48 例。男 38 例、女 10 例, 年龄 34~94 岁 (65.9 ± 13.7 岁)。(2) 肺结核病 (含结核性胸膜炎) 48 例。男 39 例、女 9 例, 年龄 18~87 岁。(3) 肺炎 56 例。男 50 例、女 6 例, 年龄 23~83 岁。(4) 其他 (老年慢性支气管炎、肺气肿、肺心病等) 54 例。男 44 例、女 10 例, 年龄 41~83 岁。

病例均经过 X 光片和/或 CT 检查及临床确诊, 并排除已治疗好转者; 其他肿瘤患者除外。

1.2 PTPr 测定 采用 ELISA 法^[9]: 用蒸馏水稀释纯化抗 PTPr IgG 成 10 μ g/ml, 100 μ l/孔包被 96 孔反应板, 37 $^{\circ}$ C 包被约 3h, 甩干。加待测血清 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 反应 1h, 以 Tris-HCl 缓冲液 (20mM, pH7.4, 含 0.05% Tween20) 洗涤。加 IgG HRP 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 反应 30min, 洗涤, 甩干。加底物液^[8] 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 显色 20min, 立即加 2M H₂SO₄ 50 μ l/孔终止。以 BIORAD450 型酶标比色计测 492nm 处 A 值。每份血清均设 3 复孔, 取其平均值; 每个反应板均带标准曲线。

1.3 统计学处理 *t* 检验。

2 结果

患者血清 PTPr 测定结果, 见表 1, 多数肺癌患者血清 PTPr 显著增加, 该组 PTPr 及其阳性率 (> 30ng/ml) 显著高于其他组。结核组 4 例 PTPr 阳性, 其中 3 例为结核性胸膜炎伴大量胸水, 入院时疑为癌症, 但经抗结核治疗明显好转后出院继续治

收稿日期: 2003-09-28; 修回日期: 2004-03-17

作者单位: 610083 成都军区总医院临床实验科

疗。肺炎组 4 例 PTPr 阳性,均为 70 岁以上男性,X 光片发现肺部阴影,CT 检查未确切定性,经抗炎治疗明显好转。其他疾病组 4 例 PTPr 阳性,均为老年慢性支气管炎急性期,X 光或 CT 检查未发现占位病变。

表 1 呼吸系统疾病患者血清 PTPr 测定结果

| 组别 | 例数 | <8 数 | <30 数 | >30 数 (%) | PTPr 含量 (ng/ml) |
|-----|----|------|-------|-----------|-----------------|
| 肺癌 | 48 | 4 | 12 | 32(66.7)* | 36.4 ±27.8* |
| 结核病 | 48 | 34 | 10 | 4(8.3) | 7.9 ±14.1 |
| 肺炎 | 56 | 26 | 26 | 4(7.1) | 11.6 ±16.6 |
| 其他 | 54 | 34 | 16 | 4(7.4) | 8.1 ±15.6 |

*与其余各组比较, $P < 0.001$ 。

肺癌中,腺癌 15 例,PTPr (35.1 ±25.4) ng/ml,8 例阳性(53.3%);鳞癌 10 例,PTPr (37.2 ±30.0) ng/ml,7 例阳性(70%);未分化癌 5 例,PTPr (40.7 ±22.5) ng/ml,4 例阳性(80%);另 18 例未分类,PTPr (35.8 ±27.2) ng/ml,13 例阳性(72.2%)。48 例肺癌中 9 例未发现转移,PTPr (33.4 ±28.7) ng/ml,4 例阳性(44.4%);39 例已有转移,PTPr (37.1 ±27.3) ng/ml,28 例阳性(71.8%)。

3 讨论

国内外研究结果显示,细胞活化、增殖、诱导转化(恶性变)过程中,常伴随原癌基因激活,且与 PTK 活性增强及多种细胞内信号分子上酪氨酸磷酸化密切相关^[1-81]。这些磷酸化的信号分子即为 PTPr。检测 PTPr 对研究 PTK 活性,研究恶性肿瘤发生、生长及诊断可能具有重要意义。我们建立了测定 PTPr 的 ELISA 方法,其最低检出浓度约为 8ng/ml;初步临床应用结果显示:绝大多数健康成人血清未检测到 PTPr(即 < 8ng/ml),极少数(3/77)检测到的也低于 30ng/ml;而肝癌患者 66 例中,多数(52 例,78.8%)血清 PTPr 超出正常值,对肝癌诊断具有明显临床应用价值^[9]。

本组检测结果中,肺癌患者多数血清 PTPr 超过 30ng/ml,阳性率达到 66.7%;而肺结核病、肺炎及其他呼吸系统疾病均仅有极少数(< 10%)患者 PTPr 升高为阳性。说明多数肺癌发生和生长中可能有原癌基因活化及信号分子酪氨酸磷酸化(激活)增加^[1-61]。根据本组结果,检测血清 PTPr 对肺癌诊断的敏感度为 66.7%,特异度为 92.4%(146/158),准确度为 86.4%,诊断效率为 61.6%;说明对肺癌诊断亦具有一定临床应用价值^[9]。

本组中肺癌各组织学类型肺癌血清 PTPr 含量

和阳性率虽尚无统计学差异,但初步显示未分化癌 > 鳞癌 > 腺癌倾向。另外,肺癌已转移者血清 PTPr 含量和阳性率也显示高于未发现转移者的倾向。国内有研究发现,小鼠诱发肝癌细胞中 PTK 活性显著增高^[81];也有研究结果认为大肠癌的发生、发展,是由包括癌基因、抑癌基因在内的多种因素作用的结果^[10]。这些研究提示,不同癌症的发生发展过程中,基因活化及分子机理可能有所不同。少部分肺癌患者血清 PTPr 未见增加,各组织类型肺癌及肺癌转移与否与 PTPr 的关系,都值得进一步研究。

在肺结核、肺炎、老年慢性支气管炎患者中也有极少数血清 PTPr 升高为阳性。其原因尚不清楚。李奇志等^[11]研究发现肺支气管粘膜上皮不典型增生的部分患者 NF- κ B 之 p65 和原癌基因 C-myc 表达为阳性。因而可以推测,结核、肺炎、慢性支气管炎患者可能也有少数病变组织发生原癌基因活化和信号分子酪氨酸磷酸化增加,从而造成血清 PTPr 增加。

参考文献:

- [1] Gilmer T, Rodribuez M. Peptide inhibitors of src SH3-SH2-phosphoprotein interactions[J]. J Biol Chem, 1994,269(23):31711-31714.
- [2] Borg J P. Biochemical characterization of two isoforms of FL T4, a VEGF receptor related tyrosine kinase[J]. Oncogen, 1995,10(3):973-979.
- [3] Fournel M, Davidson D, Weil R, et al. Association of tyrosine protein kinase Zap-70 with the protooncogene product p120^{cbl} in T lymphocytes[J]. J Exp Med, 1996,183(2):301-306.
- [4] Carlesso N, Frank D A, Griffin J D. Tyrosyl phosphorylation and DNA binding activity of signal transducers and activators of transcription (STAT) proteins in hematopoietic cell lines transformed by Bcr/ Abl[J]. J Exp Med, 1996,183(3):811-820.
- [5] Tezuka T, Umemori H, Fusaki N, et al. Physical and functional association of the cbl protooncogene product with an Src-family protein tyrosine kinase, p53/56, in the B cell antigen receptor-mediated signaling[J]. J Exp Med, 1996,183(3):675-680.
- [6] Henning O, Mathias D, Luiza B, et al. Identification of Tyrosine-phosphorylated Proteins Associated with the Nuclear Envelope[J]. Eur J Biochem, 2001,268(21):420-431.
- [7] Brdiccka T, Imridh M, Angelisova N, et al. Non-T Cell Activation Linker (NTAL): A Transmembrane Adaptor Protein Involved in Immunoreceptor Signaling[J]. J Exp Med, 2002,196(12):1617-1626.
- [8] 汤华,陈惠黎. 正常鼠肝和诱发肝癌中酪氨酸蛋白激酶的研究[J]. 生物化学与生物物理学报,1993,27(3):217-222.
- [9] 王天然,马布仁,陈莉,等. 肝癌患者血清磷酸酪氨酸蛋白含量[J]. 世界华人消化杂志,2001,9(12):1467-1468.
- [10] 孙哲,高鹤立. p21^{ras},p16 在大肠癌中的表达及临床意义[J]. 世界华人消化杂志,2001,9(12):1399-1403.
- [11] 李奇志,张胜名,毛永荣,等. 非小细胞肺癌中 p65 和 C-myc 的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究,2003,30(5):359-360.

[编辑:刘红武;校对:安凤]