

血清微量元素水平与肝癌相关性的 Meta 分析

翦耀文¹,熊文婧²,刘也¹,刘洋¹,付由户¹,王雷¹,让蔚清^{1*}

(1.南华大学公共卫生学院疾病控制评价中心,湖南衡阳 421001;2.衡阳市中医医院)

摘要: **目的** 采用 Meta 分析法探讨肝癌患者血清微量元素水平。 **方法** 系统检索建库以来 2016 年 6 月前有关肝癌与血清微量元素水平的文献资料,采用 RevMan5.2 统计软件进行分析, Q 检验和 I^2 检验验证异质性大小,采用敏感性分析和亚组分析探讨异质性的来源,采用漏斗图法识别发表偏倚。 **结果** 共纳入文献 14 篇,肝癌组 636 例,对照组 851 例,血清铜、锌、铁水平合并标准化均数差和 95% 可信区间分别为 (1.65, 1.28~2.03)、(-1.52, -2.14~-0.91)、(-1.21, -1.79~-0.63), 差异有统计学意义 (Z 分别为 8.69、4.85、2.70, $P < 0.001$), Mn、Mg 水平在两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。 **结论** 肝癌患者存在微量元素异常,血清 Cu 升高,血清 Zn、Fe 降低, Mn、Mg 表现为不平衡状态,说明肝癌与微量元素水平有关,有必要开展更广泛和深入的微量元素研究。

关键词: 肝癌; 微量元素; Meta 分析

中图分类号:R735.7 文献标识码:A

Meta-analysis of the correlation between trace element levels and liver cancer

JIAN Yaowen, XIONG Wenjing, LIU Ye, et al

(Center for Disease Control and Evaluation, School of Public Health,
University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China)

Abstract: **Objective** To estimate the association between trace element levels and liver cancer by using Meta-analysis. **Methods** Searching and collecting Chinese and English literatures for articles on trace element levels of liver cancer including CNKI, Wanfang database and Weipu database, Medline, Database, Embase, Cochrane Library Database and Science Direct Database from the inception to/through June 2016. Statistical analysis was conducted using RevMan 5.2. Cochrane's Q test and I^2 statistic were used to explore the heterogeneity across studies while subgroup analysis and sensitivity analysis for the sources of heterogeneity. The possibility of publication bias was assessed by funnel plot. **Results** 14 eligible studies were identified which involved 636 cases of liver cancer and 851 cases in control group. The combined standardization mean difference (SMD) and 95% confidence intervals (95% CI) of Cu, Zn, Fe between two groups were (1.65, 1.28~2.03)、(-1.52, -2.14~-0.91)、(-1.21, -1.79~-0.63) respectively, and the difference was statistically significant ($Z = 8.69, 4.85, 2.70, P < 0.001$). **Conclusion** Our finding suggests that there was abnormality in trace elements of patients with hepatocellular carcinoma; compared to the control group, the concentration of serum Cu in liver cancer cases was increased, the concentration of serum Zn and Fe were decreased, while the concentration of serum Mn and Mg were unbalanced, indicating that the concentration of trace elements were related to the risk of liver cancer. Thus, it is necessary to carry out more extensive and in-depth studies of trace elements.

Key words: liver cancer; trace element; Meta-analysis

收稿日期:2016-09-18;修回日期:2016-12-29

基金项目:“公共卫生与预防医学”湖南省重点学科经费资助;“疾病控制评价中心”南华大学校级重点实验室经费资助(NHSYS04);湖南省教育厅科学研究重点项目资助(16A185),湖南省高层次人才“225”工程学科带头人项目基金资助。

* 通讯作者, E-mail: nhurwq@126.com.

《2012 年全球癌症统计》资料显示:全世界约有 78.2 万肝癌新发病例, 74.5 万死亡病例, 且已成为全球恶性肿瘤第 3 位的死因^[1], 其中, 中国的新发病例及死亡病例数均约占 50%。2015 年中国癌症登记中心数据报告显示:肝癌发病率占有恶性肿瘤 13.84%, 死亡率为 20.4/10 万, 占有恶性肿瘤死亡

的 19.6%^[2]。近年来研究证实,微量元素的贮积在恶性肿瘤的发生发展中起到非常重要的作用。但一些临床研究发现,血清微量元素与肿瘤之间成负相关^[3],与健康对照组相比,肿瘤患者血清微量元素含量较低,血清微量元素可能具有抗肿瘤作用;而某些研究表明,血清微量元素水平与肿瘤之间不相关^[4-5]。因而血清微量元素在肝癌的病因学及其病程进展仍存在争议^[6-7]。同时,肝患者体内微量元素代谢是否异常,从而影响患者的治疗、预后,也亟待深入研究。本文通过查询国内外相关文献资料,采用 Meta 分析法探求血清微量元素水平与肝癌关系,可为进一步探讨血清微量元素在肝癌发生中的作用机理、病因研究提供一个较为可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源及检索方法 检索数据为 Embase、Science direct、Medline、万方、中国知网、维普、中国生物医学文献数据库等数据库。语言限定为中文和英文。系统检索 2016 年 6 月前有关肝癌与血清微量元素的相关研究文献。检索策略:以中文“原发性肝癌、肝癌、微量元素、铜、锌、铁、锰、镁”为检索词,英文“Primary carcinoma of the liver、hepatic carcinoma、Liver cancer、Trace element、Copper、Zinc、Mn、Fe、Mg”为检索词。

1.2 纳入/排除标准 纳入标准:①选择国内外公开发表的有关血清微量元素水平与肝癌的文献;②纳入文献有肝癌患者和正常人血清微量元素的检测;③多次发表的文献选择最新发表论文;④血清微量元素的检测结果均用均数±标准差表示,单位统一用 μmol/L。排除标准:①不符合纳入标准中所列要求;②测定细胞内或其他组织的微量元素研究;③质量差,存在设计缺陷、信息、数据缺失的论文;④系统综述性、非病例对照研究文献;⑤重复报道的研究论文则排除质量较差和数据不完整的研究论文。

1.3 资料提取和质量评价 由两名研究者独立按照纳入和排除标准进行查阅及筛选文献资料,并按评价方法进行文献质量评价,如存在分歧讨论不能解决,与第三研究者共同商讨。纳入文献资料提取包括作者、发表时间、发表杂志、研究地区、设计类型、病例-对照例数、血清微量元素种类、检测方法基本信息。根据研究设计类型选择质量评价量表,采用纽卡斯尔-渥太华量表(The Newcastle-Ottawa

Scale, NOS) 评价,评价者按照量表评分点进行综合评价(8 项条目 9 个给分点),总分大于 6 分的资料为高质量文献。通过质量评价提高本 Meta 分析的可行性。

1.4 统计分析 采用 Cochrane 协作网提供的 RevMan 5.2 进行异质性检验,异质性采用 *Q* 检验和 *I*² 统计量进行评估,异质性小则采用固定效应模型,反之,采用随机效应模型,对异质性大的研究进行敏感性分析。此外,按照血样采集、微量元素的检测方法进行亚组分析,并采用漏斗图观察是否存在发表偏倚。

2 结果

2.1 纳入文献筛选 严格根据 PRISMA 声明进行文献检索,初筛检出相关文献共 2 632 篇(中文 1 896,英文 736)。剔除重复文献后得到的文献数量为 2 304 篇,根据研究主题,排除不符合研究的文献 2 271 篇,初步纳入 33 篇(中文 26,英文 7)。按纳入排除标准进行筛选,最终纳入文献 17 篇(图 1)。

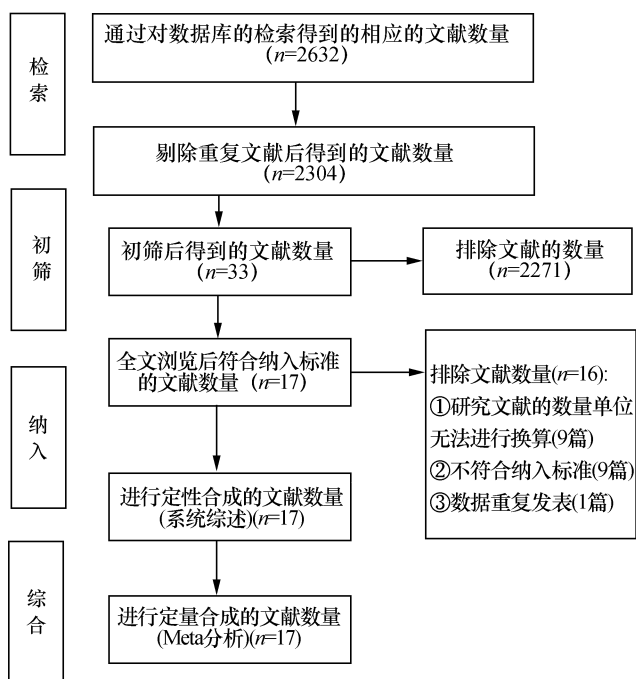


图 1 PRISMA 声明文献筛选四阶段流程

2.2 文献质量 NOS 量表评价(表 1) 通过纽卡斯尔-渥太华量表评价纳入文献质量,大于 6 分的文献有 14 篇,为高质量文献,其中剔除佟英、袁荣鑫、

表 1 纳入文献信息

作者	文献名称	期刊	年-卷-期-页	微量元素	血样采集	检测方法	质量评价
赵玉萍	原发性肝癌患者血中微量元素与氨基酸浓度的变化分析	临床肝病杂志	2015,31(6):915-918.	ABC	a	①	7
佟英	原发性肝癌患者血清中4种微量元素含量分析	中国临床实用医学	2009;3(7):94-95	ABC	b	①	7
龚群	肝癌、胆管癌患者血清微量元素及酶活性水平的研究	西南国防医药	1999,9(5):272-276.	AD	a	①	4
于瑞珍	肝癌患者化疗前后微量元素含量变化的研究	现代检验医学杂志	2004;19(5):38-39	ABD	a	①	7
袁荣鑫	肝癌患者血清中铜铁锌元素的测定研究	微量元素与健康研究	1997,14(4):26-35	AB	a	①	4
李玲	肝癌患者血清中微量元素的测定研究	实用癌症杂志	2006,21(2):203-207	ABD	a	①	7
刘春平	血清铜含量、铜蓝蛋白活性变化对肝癌诊断价值的研究	微量元素与健康研究	2000,17(2):17-52.	A	a	①	9
党俊	乙型肝炎、肝硬化和肝癌与血清微量元素的关系	河南医药信息	1997,5(7):29-30.	A	a	①	8
王俊雅	原发性肝癌患者血清多种微量元素、铜蓝蛋白、T淋巴细胞测定与分析	广东微量元素科学	1994,1(3):34-41	ABD	a	②	8
朱海燕	血清铜含量检测在肝脏疾病中的意义	中国厂矿医学	2006,19(1):76-83.	A	a	③	6
毕亮	32例原发性肝癌患者血清微量元素含量分析.	临床研究	2012,2(13):179-181	ABC	b	①	6
刘维强	肝癌肝硬化患者血清及腹水中铜锌测定的临床意义	微量元素与健康研究	1998,15(4):42-45	A	b	①	6
黄纳新	肝癌患者血清铜、锌的测定及其临床意义	广东医学院学报	1997,15(3):252-255	A	b	①	6
易斌	肝病患者血清铜、锌含量研究	湖南医科大学学报	2002,27(3):295-301	A	a	④	9
孟祥军	血清铜及铜/锌值对肝癌鉴别作用的研究	综合临床医学	1997,13(4):303-304	A	b	①	4
沈国钧	肝硬化和原发性肝癌患者血清铜锌测定的临床意义	江苏医药	1988,6(10):534-539.	A	b	①	6
熊建光	消化道恶性肿瘤患者血清微量元素水平研究	现代预防医学	2012,39(22):5918-5919	ABC	c	①	7

注:①:代表原子吸收光谱法(AAS);②:代表高频等离子体发射光谱法;③:比色法;④:全自动生化分析仪;A:Cu,Zn;B:Fe;C:Mg;D:Mn; a:空腹静脉血;b:空腹肘部静脉血;c:采集指尖血

孟祥军文献。袁荣鑫、孟祥军缺少对病例确诊的证据,佟英文献在描述Mg含量时单位与正常含量及其他文献相差1000倍。

2.3 肝癌与5种微量元素的Meta分析

2.3.1 同质性检验及不同血清微量元素Meta分析

(1)针对血清铜含量,纳入文献共有14篇,分析结果显示: $\chi^2 = 110.86, P < 0.01$,表明存在异质性,采用随机效应模型进行合并统计(图2)。合并标准化均数差及(95%CI):1.65, 1.28~2.03, $P < 0.01$,即原发性肝癌患者血清中铜含量较正常组高,可认为肝癌组的血清铜与正常的对照组存在差异。(2)针对血

清锌含量,纳入文献共有14篇,分析结果显示: $\chi^2 = 289.99, P < 0.01$,存在异质性,采用随机效应模型进行合并统计(图3)。合并标准化均数差及(95%CI):-1.52, -2.14~-0.91, $P < 0.01$ 。即原发性肝癌患者血清中锌含量较正常组低,可认为肝癌组的血清锌与正常的对照组存在差别。(3)针对血清铁含量,纳入文献共有6篇,异质性检验结果: $\chi^2 = 28.40, P < 0.01$,存在异质性,采用随机效应模型进行合并统计(图4)。合并标准化均数差及(95%CI):-1.21, -1.79~-0.63, $P < 0.05$ 。即原发性肝癌患者血清中铁含量较正常组高,可认为肝癌组的血清铁与正

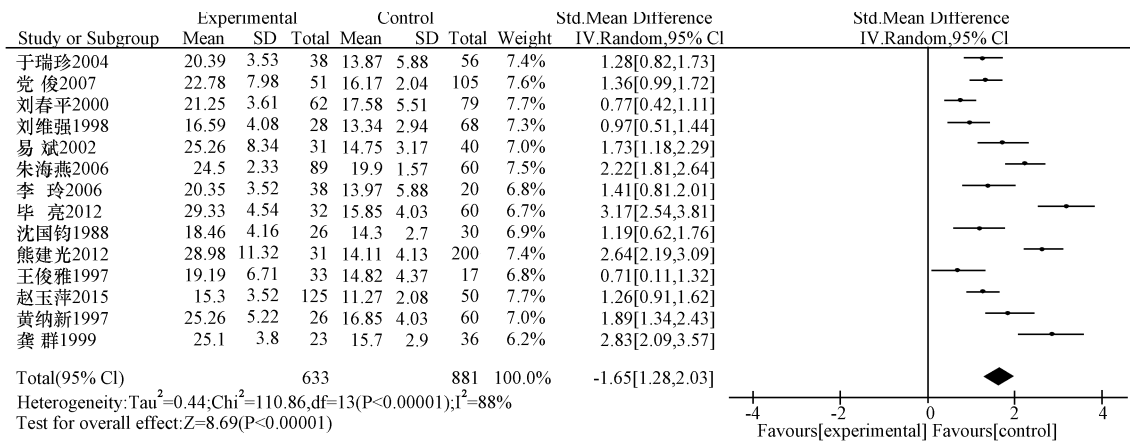


图 2 肝癌与血清 Cu 水平相关性的森林图

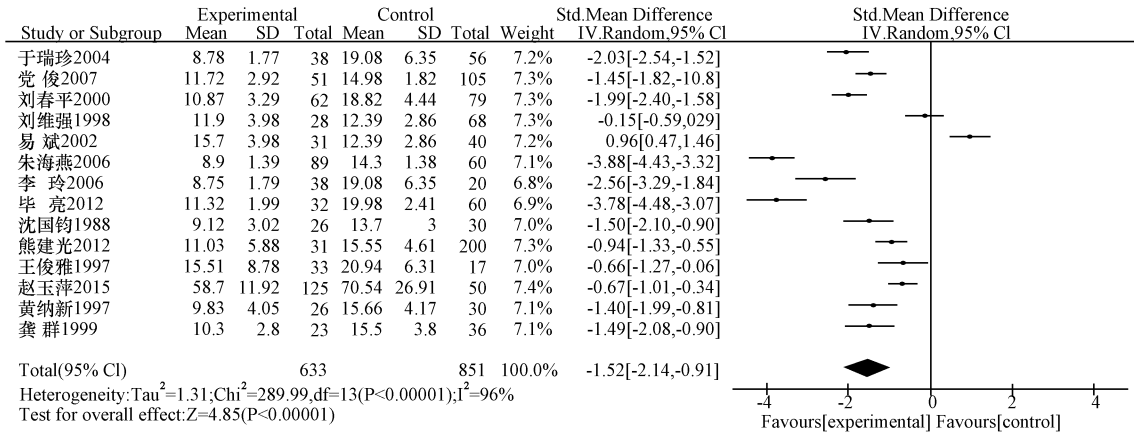


图3 肝癌与血清 Zn 水平相关性的森林图

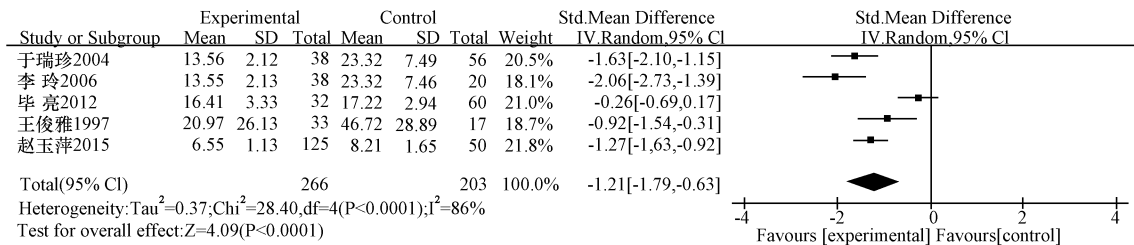


图4 肝癌与血清 Fe 水平相关性的森林图

常的对照组存在差别。(4) 针对血清锰含量, 纳入文献共有 5 篇, 异质性检验结果: $\chi^2 = 131.45, P < 0.01$, 存在异质性, 采用随机效应模型进行合并统计, 合并标准化均数差及 (95% CI): $-0.12, -1.53 \sim 1.28, P > 0.05$ 。(5) 针对血清镁含量, 纳入文献共有 3 篇, 异质性检验结果: $\chi^2 = 169.67, P < 0.01$, 存在异质性, 采用随机效应模型进行合并统计, 合并标准化均数差及 (95% CI): $-52, -2.85 \sim 1.81, P > 0.05$ 。

2.3.2 敏感性分析 敏感性分析: 采用逐一剔除法验证是否由某单一文献对本研究异质性的影响, 对余下的文献重新进行异质性分析, 均显示 $I^2 > 75\%$, 异质性显著性改变。因此下一步对不同的血样采集、检测方法进行亚组分析, 探索异质性的来源。

2.3.3 亚组分析 按照血样采集进行分层分组, 结果

见表 3, 血铜、血铁在排除空腹肘部静脉采血进行检测, 异质性有所下降, 血锌研究组异质性仍然明显, 说明空腹肘部静脉采血可能是影响异质性的原因之一, 本研究的异质性来源可能是血样采集。按照微量元素的检测方法分组, 剔除文献王俊雅、朱海燕、易斌, 结果见表 4, 分析结果显示: 异质性没改变, 仍属于高度异质性, 其异质性的来源不是由检测方法造成的。说明存在其他影响异质性的原因, 比如样本量的大小、肝癌的类型、药物使用情况、病程、疾病所处阶段等, 但由于纳入文献资料没有提及, 因此没有列出分析。

2.3.4 发表偏倚 根据肝癌组与对照组血清微量元素的 Meta 分析绘制漏斗图 (图 5), 血清铜、锌、铁漏斗图基本对称, 不存在发表偏倚。

表 3 按血样采集进行分层分析

组别	血样采集	篇数	异质性检验			效应估计值		
			Q	I ²	P	OR (95% CI)	Z	P
血铜	空腹静脉采血	9	49.57	84	<0.001	1.48 (1.10, 1.86)	7.58	<0.001
	空腹肘部静脉采血	4	33.52	91	<0.001	1.79 (0.87, 2.71)	3.83	<0.001
血锌	空腹静脉采血	9	225.31	96	<0.001	-1.52 (-2.34, -0.70)	3.64	0.0001
	空腹肘部静脉采血	4	74.24	96	<0.001	-1.69 (-3.11, -0.27)	2.33	0.02
血铁	空腹静脉采血	4	7.45	60	0.06	-1.45 (-1.85, -1.05)	7.06	<0.001
	空腹肘部静脉采血	1	—	—	—	—	—	—

表 4 按微量元素检测方法进行分层分析

组别	检测方法	篇数	异质性检验			效应估计值		
			Q	I^2	P	OR(95%CI)	Z	P
血铜	AAS	12	93.74	88	<0.001	1.63(1.25,2.02)	8.30	<0.001
血锌	AAS	12	135.48	92	<0.001	-1.52(-1.98,-1.05)	6.37	<0.001
血铁	AAS	4	27.86	89	<0.001	-1.28(-1.99-0.58)	3.56	0.0004

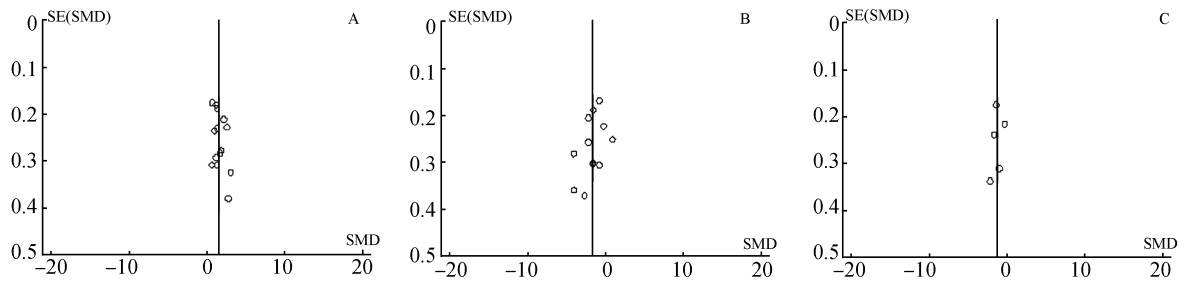


图 5 血清微量元素漏斗图 A:血清 Cu 的漏斗图;B:血清 Zn 的漏斗图;C:血清 Fe 的漏斗图

3 讨 论

全球微量元素水平缺乏严重,发展中国家血清微量元素含量缺乏更为常见。研究显示:微量元素的缺乏与恶性肿瘤有密切的关联,如肝癌、前列腺癌、肺癌等^[8-9],而血清微量元素水平是衡量营养状况和敏感性的指标。本研究证实了微量元素铜、锌、铁水平与肝癌具有相关性,血清铜、锌、铁水平合并标准化均数差和 95%可信区间分别为(1.65, 1.28~2.03)、(-1.52, -2.14~-0.91)、(-1.21, -1.79~-0.63),差别有统计学意义, Mg 和 Mn 的水平与健康对照组比较差别无统计学意义,综合研究表明:①肝癌患者血清 Cu 水平高于正常组,血清 Zn、Fe 水平低于正常组。其原因有可能是由于肝癌发生前血清中 Zn、Cu、Fe 含量就不同于正常人群,因而更易感或者是由于肝癌发生、发展过程中的血清中 Cu、Zn、Fe 的消耗异于正常人群。但研究表明,在一定的情况下铜的转运蛋白载体低分化性增加^[10],也可能是肝癌血清铜增加的原因。另外,肝癌患者的病情与血清铜有关,病情越严重血清铜水平相应增高,可将血清铜水平作为肝癌患者的预后指标^[11];肝癌患者机体处于缺锌状态时,可能使机体抗氧化功能和细胞修复机制受损,且与锌相关酶的功能下降,癌变生物信号的逆转失灵。另外缺锌与免疫功能低下有关,促进肿瘤的发生与发展^[12];血清铁的差别可能是由于铁转运受体、铁利用率或铁蛋白表达的变化。另外,据报道,Fe 过量或严重缺乏与肿瘤的发生有一定的关系^[13]。②尚不能确定肝癌患者与正

常人群血清中 Mg、Mn 含量是否有差别,无差异的原因可能是由于纳入文献太少或者肝癌患者和正常人群间的 Mg、Mn 含量确实没有差别,即肝癌患者和正常人群血清中 Mg、Mn 水平可能是一致的。

本研究发现肝癌患者血清铜上升,血清锌、铁下降,血清镁、锰可能处于不平衡状态。因此血清微量元素不平衡状态可能是影响肝癌的重要因素,应引起重视,并且加强监测肝癌患者的身体营养状况,对肝癌患者定期监测血清微量元素,发现低于正常应及时补充或开展预防性治疗,及时采取干预措施,也为进一步探索血清微量元素的健康效应提供了研究线索,同时对进一步研究肝癌的危险因素、预防和诊疗手段以及提供膳食指导都具有重要的科学意义。

本 Meta 分析的异质性检验提示均有较大异质性,针对每个血清微量元素分别进行敏感性分析,仍存在的异质。按微量元素的检测方法、血样采集进行亚组分析后,其中按血样采集进行分层分析时,血清铁的异质性降低至中度,推测血样采集可能是异质性的来源之一,但其他血清微量元素水平与肝癌仍存在异质性,不能充分解释微量元素水平与肝癌关系异质性来源。各个研究对象的年龄和性别不同、研究地区、肝癌患者所在地的经济状况和是否有微量元素污染源、家庭状况等特征有所差异,尚未考虑可能导致影响血清微量元素水平的因素,同时,很难获取某些“灰色文献”以及未提供详细数据的研究未被纳入,使得本研究的结果不大可能真实反应微量元素水平与肝癌的相关性,建议对影响微量元素水平的因素展开针对性的调查,以获取准确可靠的信息。

参考文献:

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 61(2): 69-90.

[2] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(2): 115-132.

[3] Wu HD, Chou SY, Chen DR, et al. Differentiation of serum levels of trace elements in normal and malignant breast patients [J]. Biol Trace Elem Res, 2006, 113(1): 9-18.

[4] Tiwari R, David CM, Mahesh DR, et al. Assessment of serum copper, iron and immune complexes in potentially malignant disorders and oral cancer [J]. Braz Oral Res, 2016, 30(1): 101-110.

[5] 孙国平, 潘跃银, 孙昕, 等. 微量元素铜、锌、硒与恶性肿瘤的关系探讨 [J]. 安徽医科大学学报, 2002, 37(5): 380-382.

[6] Tiwari R, David CM, Mahesh DR, et al. Assessment of serum copper, iron and immune complexes in potentially malignant disorders and oral cancer [J]. Braz Oral Res, 2016, 30(1): 101-110.

[7] Kolachi NF, Kazi TG, Afridi HI, et al. Investigation of essential trace and toxic elements in biological samples (blood, serum and scalp hair) of liver cirrhotic/cancer female patients before and after mineral supplementation

[J]. Clinical Nutrition, 2012, 31(6): 967-973.

[8] Costello LC, Franklin RB. Zinc is decreased in prostate cancer: An established relationship of prostate cancer [J]. Biol Inorg Chem, 2011, 16(1): 3-8.

[9] Christodoss P, Selvakumar R, Fleming JJ, et al. Zinc status of patients with benign prostatic hyperplasia and prostate carcinoma [J]. Indian J Urol, 2011, 27(1): 14-18.

[10] Aida T, Takebayashi Y, Shimizu T, et al. Expression of copper transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) as a prognostic factor in human endometrial carcinoma [J]. Gynecol Oncol, 2005, 97(1): 41-46.

[11] 潘跃银, 孙国平. 血清铜锌及硒水平与肝癌患者的预后 [J]. 微量元素与健康研究, 1998, 15(3): 40-41.

[12] Kalkan Ucar S, Coker M, Sozmen E. An association among iron, copper, zinc, and selenium, and antioxidant status in dyslipidemic pediatric patients with glycogen storage disease types IA and III [J]. J Trace Elem Med Biol, 2010, 24(1): 42-45.

[13] Maeda T, Shimada M, Harimoto N, Tsujita E, Maehara S, Rikimaru T, et al. Role of tissue trace elements in liver-cancers and non-cancerous liver parenchyma [J]. Hepato-gastroenterology, 2005, 52(61): 187-190.

(本文编辑: 蒋湘莲)

(上接第 34 页)

还需要验证 miR-195 对其它多种化疗药物敏感性的影响以及进行体内成瘤动物实验, 为 miR-195 用于临床打下实验基础。如果能够成功应用 miRNA 作为抗肿瘤治疗制剂于临床上, 虽然能够带来巨大的经济与社会效益, 但是将面临 miRNA 在体内的给药方式等障碍, 因此, 将基础研究工作应用到临床的生物治疗有待深入探讨。

参考文献:

[1] Josep M Llovet. Focal gains of VEGFA: candidate predictors of sorafenib response in Hepatocellular Carcinoma [J]. Cancer Cell, 2014, 25(5): 560-562.

[2] Seiple L, Jaruga P, Dizdaroglu M, et al. Linking uracil base excision repair and 5-fluorouracil toxicity in yeast [J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34(1): 140-151.

[3] Ye C, Rodrigo J, Marina K, et al. CXCR4 downregulation of let-7a drives chemoresistance in acute myeloid leukemia [J]. J Clin Invest, 2013, 123(6): 2395-2407.

[4] Pink RC, Samuel P, Massa D, et al. The passenger strand, miR-21-3p, plays a role in mediating cisplatin resistance

in ovarian cancer cells [J]. Gynecol Oncol, 2015, 137(1): 143-51.

[5] Wang M, Zhang J, Tong L, et al. miR-195 is a key negative regulator of hepatocellular carcinoma metastasis by targeting FGF2 and VEGFA [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11): 14110-20.

[6] De Nigris F. Epigenetic regulators: Polycomb-miRNA circuits in cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1859(5): 697-704.

[7] He XX, Kuang SZ, Liao JZ, et al. The regulation of microRNA expression by DNA methylation in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Biosyst, 2015, 11(2): 532-9.

[8] 虞佳, 唐正午, 杨晓燕, 等. MiRNA-122 对 5-氟尿嘧啶诱导 BEL-7402/5-FU 细胞凋亡的影响 [J]. 中南医学科学杂志, 2015, 43(2): 137-140.

[9] Gu H, Guo X, Zou L, et al. Upregulation of microRNA-372 associates with tumor progression and prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Cell Biochem, 2013, 375(1-2): 23-30.

[10] Wu WL, Wang WY, Yao WQ, et al. Suppressive effects of microRNA-16 on the proliferation, invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells [J]. Int J Mol Med, 2015, 36(6): 1713-1719.

(本文编辑: 蒋湘莲)