

## 胰腺癌患者循环肿瘤细胞及血清凋亡促进、抑制因子的表达与预后的关系

杨姣,张克纯,尚鹏

安康市中心医院检验科,陕西 安康 725000

**【摘要】** 目的 探究胰腺癌患者循环肿瘤细胞、血清凋亡促进、抑制因子的表达情况及其与预后的关系。方法 选取2016年6月至2018年1月期间安康市中心医院收治的70例胰腺癌患者作为观察组,同时期的70例体检健康同龄者作为对照组。检测与比较两组受检者的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子(Caspase-3及Caspase-9)、凋亡抑制因子(Bcl-2、sFas及sFasL)的表达情况,同时比较观察组中不同分期、分化程度及远处转移者的表达情况,研究上述指标对胰腺癌患者预后的影响。结果 观察组患者的血清Caspase-3及Caspase-9分别为(9.65±0.98) pmol/L及(13.84±1.82) pmol/L,均明显低于对照组的(12.21±1.36) pmol/L及(18.26±2.23) pmol/L,血清Bcl-2、sFas及sFasL分别为(105.12±10.78) U/mL、(18.51±1.98) ng/mL及(1.21±0.26) ng/mL,均明显高于对照组的(42.23±5.63) U/mL、(8.42±1.56) ng/mL及(0.30±0.06) ng/mL,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );观察组患者中不同分期、分化程度及远处转移者的血循环肿瘤细胞、血清凋亡促进因子及凋亡抑制因子表达水平比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );COX模型分析结果显示,血循环肿瘤细胞、血清Caspase-3、Caspase-9、Bcl-2、sFas及sFasL均与腺癌患者预后明显相关( $P<0.05$ )。结论 胰腺癌患者循环肿瘤细胞及血清凋亡促进、抑制因子表达情况相对异常,疾病分期、分化程度及远处转移情况均对其表达影响较大,且均与预后明显相关。

**【关键词】** 胰腺癌;循环肿瘤细胞;血清;凋亡促进因子;凋亡抑制因子;预后

**【中图分类号】** R735.9 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)17-2181-04

**Relationship between the expression of circulating tumor cells, serum apoptosis-promoting and inhibitory factors and prognosis in patients with pancreatic cancer.** YANG Jiao, ZHANG Ke-chun, SHANG Peng. Department of Clinical Laboratory, Ankang Central Hospital, Ankang 725000, Shaanxi, CHINA

**【Abstract】 Objective** To detect the expression of circulating tumor cells, serum apoptosis-promoting and inhibitory factors in patients with pancreatic cancer and its relationship with prognosis. **Methods** From June 2016 to January 2018, 70 patients with pancreatic cancer admitted to the Ankang Central Hospital were chosen as observation group, and 70 healthy persons with the same age at the same period were chosen as control group. The expression of circulating tumor cells, serum apoptosis promoting factors (Caspase-3 and Caspase-9), and apoptosis inhibitory factors (Bcl-2, sFas and sFasL) were detected and compared between the two groups. The expressions in the observation group were compared at different stages, degrees of differentiation and distant metastasis; and the effects of indicators mentioned above was studied on the prognosis of patients with pancreatic cancer. **Results** The serum levels of Caspase-3 and Caspase-9 in the observation group were (9.65±0.98) pmol/L and (13.84±1.82) pmol/L, respectively, which were significantly lower than corresponding (12.21±1.36) pmol/L and (18.26±2.23) pmol/L in the control group; the serum levels of Bcl-2, sFas and sFasL in the observation group were respectively (105.12±10.78) U/mL, (18.51±1.98) ng/mL and (1.21±0.26) ng/mL, which were significantly higher than corresponding (42.23±5.63) U/mL, (8.42±1.56) ng/mL and (0.30±0.06) ng/mL in the control group (all  $P<0.05$ ). There were significant differences in the expression levels of circulating tumor cells, serum apoptosis promoting factors, and apoptosis inhibitory factors in the observation group with different stages, degrees of differentiation and distant metastasis ( $P<0.05$ ). COX model analysis showed that circulating tumor cells, serum Caspase-3, Caspase-9, Bcl-2, sFas and sFasL were significantly associated with prognosis in patients with adenocarcinoma ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression of circulating tumor cells, serum apoptosis promoting and inhibitory factors in patients with pancreatic cancer are relatively abnormal. The stage of disease, degrees of differentiation and distant metastasis have a great influence on their expression, and they are all correlated with prognosis.

**【Key words】** Pancreatic cancer; Circulating tumor cells; Serum; Apoptosis promoting factors; Apoptosis inhibitory factors; Prognosis

胰腺癌是消化科的常见恶性肿瘤,本病的恶性程度较高,预后较差,治疗需求较高。临床中与胰腺癌相关的研究不断增多,其中关于某些指标在疾病发生发展过程中的变化是研究重点<sup>[1]</sup>。与肿瘤相关的研究指标众多,凋亡促进与抑制因子作为与细胞调控密切相关的指标,其在患者血液中的表达情况是恶性肿瘤的研究热点,对于肿瘤的凋亡状态具有一定的反映价值。另外,循环肿瘤细胞作为反应恶性肿瘤存在的有效直观指标,其在胰腺癌患者中的检出率较高<sup>[2-3]</sup>,但是关于循环肿瘤细胞及血清凋亡促进、抑制因子对胰腺癌患者预后的检测意义并不明确。因此,本研究就胰腺癌患者血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进、抑制因子表达情况及其与预后的关系进行探究,现将结果总结报道如下:

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年6月至2018年1月期间安康市中心医院收治的70例20~75岁胰腺癌患者为观察组,同时期的70例健康体检同龄者为对照组。排除标准:合并慢性基础疾病者;合并代谢性疾病者;合并心脑血管肺肝等功能不全者;认知障碍者;妊娠期与哺乳期者。对照组中男性34例,女性36例,年龄30~73岁,平均(57.0±8.3)岁。观察组中男性33例,女性37例;年龄31~74岁,平均(57.2±8.5)岁;疾病分期:I期16例,II期18例,III期20例,IV期16例;分化程度:高分化者30例,中分化者20例,低分化者20例;远处转移者23例,无远处转移者47例。两组受检者的性别与年龄比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 观察指标与检测方法

1.2.1 血清凋亡促进、抑制因子检测 采集对照组和观察组治疗前的空腹静脉血,采集部位为肘静脉,采集量为4.0 mL,将采集的血标本以医用离心机进行离心

处理,离心半径为15 cm,离心速度为3 000 r/min,离心时间为5.0 min,离心后取血清部分进行血清凋亡促进因子(Caspase-3及Caspase-9)、凋亡抑制因子(Bcl-2、sFas及sFasL)表达情况的检测,凋亡促进因子以比色法检测试剂盒进行检测,凋亡抑制因子采用酶联免疫吸附测定试剂盒进行检测。

1.2.2 循环肿瘤细胞检测 采集对照组和观察组治疗前的空腹静脉血,采集部位为肘静脉,采集量为4.0 mL。首先将血标本进行静置离心,弃上清液,制备单核细胞细胞悬液,然后进行免疫磁性标记及磁性分选,再进行免疫细胞化学染色处理,由两名经验丰富的检验科人员进行阅片,检出者说明恶性肿瘤病灶肿瘤细胞脱落进入血液循环,并对检出肿瘤细胞者进行计数。

1.3 研究方法 比较两组受检的血循环肿瘤细胞及血清Caspase-3及Caspase-9、Bcl-2、sFas及sFasL表达情况,同时比较观察组中不同分期、不同分化程度及是否有远处转移者的表达情况,研究上述指标对胰腺癌患者预后的影响。

1.4 统计学方法 应用SPSS22.0统计学软件进行数据分析,计数资料以百分率(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验,计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验,重复测量的计量资料进行方差分析,COX模型分析胰腺癌患者预后因素,检验水准 $\alpha=0.05$ ,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组受检者的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子、凋亡抑制因子表达水平比较 观察组患者的血清Caspase-3及Caspase-9表达水平均低于对照组,血清Bcl-2、sFas及sFasL均高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),对照组未检出血循环肿瘤细胞,见表1。

表1 两组受检的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子、凋亡抑制因子表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	循环肿瘤细胞 (个/mL)	凋亡促进因子		凋亡抑制因子		
			Caspase-3 (pmol/L)	Caspase-9 (pmol/L)	Bcl-2 (U/mL)	sFas (ng/mL)	sFasL (ng/mL)
对照组	70	-	12.21±1.36	18.26±2.23	42.23±5.63	8.42±1.56	0.30±0.06
观察组	70	1.82±0.23	9.65±0.98	13.84±1.82	105.12±10.78	18.51±1.98	1.21±0.26
$t$ 值		-	12.777	12.847	43.265	33.490	28.533
$P$ 值		-	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 观察组患者中不同分期、分化程度及是否远处转移者的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子、凋亡抑制因子表达水平比较 观察组患者中分期较高、分化程度较低及存在远处转移者的血清凋亡促进因子表达水平均低于分期较低、分化程度较高及无远处转移者,血循环肿瘤细胞及血清凋亡抑制因子表达

水平均高于分期较低、分化程度较高及无远处转移者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表2~表4。

2.3 胰腺癌患者预后的影响因素 COX模型分析结果显示,血循环肿瘤细胞、血清Caspase-3、Caspase-9及Bcl-2、sFas及sFasL均与胰腺癌患者预后呈明显相关( $P<0.05$ ),见表5。

表2 不同分期者的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子、凋亡抑制因子表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

疾病分期	例数	循环肿瘤细胞(个/mL)	凋亡促进因子		凋亡抑制因子		
			Caspase-3 (pmol/L)	Caspase-9 (pmol/L)	Bcl-2 (U/mL)	sFas (ng/mL)	sFasL (ng/mL)
I期	16	0.65±0.13	11.31±1.28	16.56±2.10	52.45±6.10	10.17±1.63	0.45±0.10
II期	18	1.60±0.20 <sup>a</sup>	10.18±1.10 <sup>c</sup>	14.10±1.92 <sup>c</sup>	89.79±8.79 <sup>c</sup>	15.65±1.86 <sup>c</sup>	0.93±0.21 <sup>c</sup>
III期	20	2.03±0.25 <sup>b</sup>	8.82±0.87 <sup>b</sup>	12.32±1.77 <sup>b</sup>	110.32±10.87 <sup>b</sup>	19.23±2.02 <sup>b</sup>	1.30±0.28 <sup>b</sup>
IV期	16	2.78±0.31 <sup>a</sup>	7.10±0.63 <sup>a</sup>	10.45±1.37 <sup>a</sup>	132.27±12.53 <sup>a</sup>	22.87±2.23 <sup>a</sup>	1.67±0.33 <sup>a</sup>
F值		7.236	8.101	9.012	8.357	7.876	7.992
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与I~III期患者比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与I~II期患者比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与I期患者比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

表3 不同分化程度者的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子、凋亡抑制因子表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

分化程度	例数	循环肿瘤细胞(个/mL)	凋亡促进因子		凋亡抑制因子		
			Caspase-3 (pmol/L)	Caspase-9 (pmol/L)	Bcl-2 (U/mL)	sFas (ng/mL)	sFasL (ng/mL)
高分化	30	0.72±0.15	11.20±1.26	15.87±2.13	55.10±6.03	10.38±1.66	0.50±0.12
中分化	20	1.80±0.22 <sup>b</sup>	9.75±0.99 <sup>b</sup>	13.63±1.85 <sup>b</sup>	103.23±10.97 <sup>b</sup>	18.36±1.97 <sup>b</sup>	1.26±0.28 <sup>b</sup>
低分化	20	2.82±0.33 <sup>a</sup>	6.99±0.60 <sup>a</sup>	10.15±1.25 <sup>a</sup>	134.23±12.66 <sup>a</sup>	23.10±2.37 <sup>a</sup>	1.73±0.35 <sup>a</sup>
F值		8.117	8.673	9.268	10.798	11.236	9.560
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与高分化及中分化患者比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与高分化患者比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

表4 是否远处转移者的血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进因子、凋亡抑制因子表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

远处转移情况	例数	循环肿瘤细胞(个/mL)	凋亡促进因子		凋亡抑制因子		
			Caspase-3 (pmol/L)	Caspase-9 (pmol/L)	Bcl-2 (U/mL)	sFas (ng/mL)	sFasL (ng/mL)
否	47	0.70±0.13	11.15±1.18	14.63±2.09	59.72±6.16	11.11±1.68	0.52±0.13
是	23	2.66±0.29	7.32±0.66	10.45±1.28	128.87±12.31	22.62±2.28	1.65±0.32
t值		39.182	14.463	8.799	31.441	23.868	21.035
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表5 胰腺癌患者预后的影响因素

观察指标	$\beta$	SE	WALD	P值	RR	95%CI
循环肿瘤细胞	0.934	0.289	10.439	<0.05	2.381	1.299~12.123
Caspase-3	-0.993	0.329	9.108	<0.05	2.699	1.278~10.775
Caspase-9	-0.798	0.310	6.625	<0.05	2.169	1.135~8.425
Bcl-2	0.825	0.335	6.061	<0.05	2.242	1.121~7.983
sFas	0.929	0.351	7.001	<0.05	2.525	1.156~8.876
sFasL	0.876	0.297	8.696	<0.05	2.538	1.203~10.252

### 3 讨论

胰腺癌的恶性程度较高,预后较差。本类患者的早期诊断率较低,导致治疗难度加大,死亡率升高,因此胰腺癌的诊治一直是临床研究的重点<sup>[4]</sup>。临床中与胰腺癌相关的研究显示,疾病发生发展过程中,对于较多指标变化规律的掌握有助于疾病诊断及治疗措施制定的指导,也可作为患者预后了解的参考指标,因此对胰腺癌患者进行疾病发生发展相关指标的研究具有较高的临床意义<sup>[5-6]</sup>。循环肿瘤细胞作为恶性肿瘤研究中极为重要的一个方面,其以播散的形式存在于外周血,在胰腺癌患者循环血中的表达研究可见,但研究结果的差异也普遍存在<sup>[7-8]</sup>,与此同时,循环肿瘤细胞与胰腺癌预后的关系研究却不足。本研究结果显示,不同分期、分化程度及远处转移情况胰腺癌患者的循环血循环肿瘤细胞差异有统计学意义,且

COX模型分析结果显示,其为胰腺癌患者预后的独立因素,说明胰腺癌患者循环肿瘤细胞的检测意义较高,同时对于疾病分期、分化程度及远处转移情况具有积极的临床价值,且在胰腺癌患者预后了解方面具有指导作用。这可能与疾病越为严重,越为具有侵袭及转移性的患者,其肿瘤细胞的脱落及血循环中含量越高有关。因此对于胰腺癌患者的分期、分化程度及远处转移等多方面具有检测价值<sup>[9-10]</sup>,进而对于患者的预后具有一定预估作用,其中的循环肿瘤细胞检测值越高则说明病灶的血行转移情况越为突出,

另外,凋亡促进及抑制因子作为反应细胞凋亡情况的直观指标,在肿瘤抑制的过程中,Caspase-3及Caspase-9等凋亡促进因子处于相对低下的状态,因此肿瘤的抑制作用相对较差,而Bcl-2、sFas及sFasL等凋亡抑制因子则是与肿瘤的浸润等方面密切相关<sup>[11-12]</sup>。本类指标正常表达时,表示细胞的生理性分化处于维持平衡的状态,而异常表达状态,尤其是高表达状态,则可延长细胞的存活时间,导致细胞与癌基因的协同作用概率升高<sup>[13-14]</sup>,同时本类指标对细胞凋亡的逃避作用突出,在肿瘤细胞转化中具有明显的影响作用<sup>[15-16]</sup>,因此认为关于此方面在胰腺癌患者中的进一步研究极为必要。而本研究结果显示,胰腺癌患者的血清

Caspase-3 及 Caspase-9 均低于健康者,血清 Bcl-2、sFas 及 sFasL 均高于健康者,且不同分期、分化程度及远处转移情况胰腺癌患者的血清凋亡促进因子及凋亡抑制因子表达水平差异有统计学意义。COX 模型分析结果显示,凋亡促进因子及凋亡抑制因子均为胰腺癌患者预后的独立因素,说明胰腺癌患者凋亡促进、抑制因子表达情况对于胰腺癌诊断及分期、分化程度、远处转移情况均具有一定反映意义。分析原因,可能细胞的凋亡逃避作用随着凋亡促进、抑制因子表达情况而变化,当凋亡促进、抑制因子表达异常时,对于肿瘤细胞的凋亡逃避有较大影响,胰腺癌细胞的凋亡逃避作用增强,肿瘤细胞的更新与增殖受到影响,过度增殖的同时,肿瘤细胞的正常生理过程受到破坏,细胞周期失控<sup>[17-18]</sup>。同时有研究认为,此类因子还对细胞的侵袭、转移及耐药性等方面有影响作用<sup>[19-20]</sup>,导致恶性肿瘤危害增强,而分期较高、分化程度较低及存在远处转移者的循环血肿瘤细胞检出较多,其危害也更为突出,这可能也是上述指标在胰腺癌患者中表达与检测结果异常的重要原因之一,也是其对预后的检测价值所在。

综上所述,笔者认为胰腺癌患者血循环肿瘤细胞及血清凋亡促进、抑制因子表达情况相对异常,且均与预后明显相关。

#### 参考文献

- [1] 陈颀,刘霄宇,颜志平,等.晚期胰腺癌患者门静脉血循环肿瘤细胞检测的临床应用价值[J].复旦学报:医学版,2018,45(5):689-695,702.
- [2] 陈伟伟,刘承利.循环肿瘤细胞在胰腺癌诊疗中的研究进展[J].中国肿瘤临床与康复,2018,25(7):890-893.
- [3] 李森娟,王晓光,吴斌,等.胰腺癌患者外周血循环肿瘤细胞与其术后复发及预后的关系[J].中华胰腺病杂志,2018,18(2):90-94.
- [4] 杨静,周颖,金咏梅,等.胰腺癌患者循环肿瘤细胞及TLR4、TLR9、myd88的表达水平与其化疗效果及转移、复发的关系[J].现代生物医学进展,2017,18(28):5524-5527,5556.
- [5] 王洋,周家华.外周和门静脉血中循环肿瘤细胞在胰腺癌诊治中的研究现状及应用前景[J].东南大学学报:医学版,2017,36(4):673-677.
- [6] 马刚,刘宁,徐亮,等.程序性细胞死亡因子4与5-氟尿嘧啶对胰腺癌细胞凋亡的协同作用[J].中国医科大学学报,2018,47(5):431-434.
- [7] XU Y, QIN T, LI J, et al. Detection of circulating tumor cells using negative enrichment immunofluorescence and an in situ hybridization system in pancreatic cancer [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(4): E622.
- [8] SATO T, MURAMATSU T, TANABE M, et al. Identification and characterization of transforming growth factor beta-induced in circulating tumor cell subline from pancreatic cancer cell line [J]. Cancer Sci, 2018, 109(11): 3623-3633.
- [9] 王伟福,宁晓燕,陈晓武,等.维生素D<sub>3</sub>对胰腺癌PANC-1细胞中PTCH、Gli-1基因表达及细胞增殖凋亡的影响[J].广东医学,2016,37(6):815-819.
- [10] 江艳,刘炜,陈志宇.肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体联合雷公藤甲素诱导胰腺癌细胞凋亡的机制研究[J].中华消化外科杂志,2015,14(4):321-328.
- [11] 赵立新,辛瑞强,李胜利,等.胰腺导管腺癌中miR-21、Bcl-2、c-Myc及PTEN表达水平及临床意义[J].中国实验诊断学,2018,22(3):471-473.
- [12] 陈爱华,于皆平.胰腺癌组织中Survivin和Caspase-3蛋白的表达与患者临床病理特征及生存期的关系[J].现代中西医结合杂志,2015,24(15):1625-1627,1635.
- [13] 赵魁,崔卫东,宋伟华. survivin和caspase 3蛋白在胰腺癌组织中的表达及与胰腺癌患者临床特征的关系[J].癌症进展,2018,16(10):1275-1277,1287.
- [14] 张菊英,张亚衡.免疫磁珠阳性筛选联合流式细胞术对胰腺癌外周血循环肿瘤细胞的诊断价值[J].中国实验诊断学,2016,20(4):551-554.
- [15] 刘忆华,成善原,李丽,等.外周血循环肿瘤细胞在胰腺癌患者中的表达及临床病理诊断意义[J].河北医药,2017,39(10):1502-1503,1507.
- [16] 刘超,孙如玉,黄健,等. DPF2 基因 RNA 干扰对人胰腺癌细胞 PANC-1 增殖、凋亡和细胞周期的作用研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(5): 647-653.
- [17] 毕大明,张洁,史卫红,等.乳腺非特殊型浸润性癌和非典型导管增生组织中Caspase-3、P53及Ki-67表达变化[J].临床和实验医学杂志,2018,17(19):2082-2086.
- [18] YOUNG MR, WAGNER PD, GHOSH S, et al. Validation of biomarkers for early detection of pancreatic cancer: summary of the alliance of pancreatic cancer consortia for biomarkers for early detection workshop [J]. Pancreas, 2018, 47(2): 135-141.
- [19] 任丽平,李先佳,金少举.槐定碱通过Caspase-3介导的人胰腺癌细胞株capan-1凋亡机制研究[J].河南科技大学学报:医学版,2017,35(1):1-3.
- [20] 宋海岩,张毅敏,周志新,等.奥巴克拉联合5-氟尿嘧啶对低氧性胰腺癌细胞凋亡的作用研究[J].中国临床药理学与治疗学,2017,22(8):887-891.

(收稿日期:2019-05-10)