

肿瘤患者与健康对照人群半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 水平的比较研究

宋昊岚¹, 贺 勇¹, 张 宇¹, 王 莉², 贾成瑶^{1△}

1. 四川大学华西医院 实验医学科临床生化室(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 中国循证医学中心(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(cystatin C)浓度水平与肿瘤的关系。**方法** 颗粒增强免疫比浊法测定 273 例实体恶性肿瘤患者(肿瘤组)和 185 例健康体检者(对照组)的血清 cystatin C 浓度,比较两组血清 cystatin C 浓度水平的差异并分析其影响因素。**结果** 肿瘤组、对照组 cystatin C 水平差异无统计学意义($P=0.075$);但去除混杂因素年龄的影响后两者差异有统计学意义($P<0.01$);且多元回归分析显示 cystatin C 水平对照组比肿瘤组高、男性比女性高,且随年龄增长、肾小球滤过率(eGFR)水平下降而升高。**结论** Cystatin C 可能在肿瘤的发生发展中起到一定作用。

【关键词】 肿瘤 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C

The Levels of Serum Cystatin C in Patients with Tumors and Healthy Controls SONG Hao-lan¹, HE Yong¹, ZHANG Yu¹, WANG Li², JIA Cheng-yao^{1△}. 1. Department of Clinical Biochemistry of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. The Chinese Evidence-based Medicine Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: jcyhx@163.com

【Abstract】 Objective To determine the association between serum cystatin C and tumors. **Methods** Serum samples were obtained from 273 patients with tumors and 185 healthy volunteers. Serum cystatin C was determined by particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA). Student *t*-test, covariance analysis and multiple linear regressions were performed to examine the differences in the levels of cystatin C between the two groups. **Results** The student *t*-test did not show significant statistical differences in the serum cystatin C levels between the two groups ($P=0.075$). However, such differences became statistically significant ($P<0.01$) after adjustment of age. The multiple liner regression demonstrated that healthy volunteers and men had higher levels of cystatin C than those with tumors and women. Cystatin C also increased with age and decreases with estimating glomerular filtration rate. **Conclusion** Cystatin C may be associated with the genesis and development of tumors.

【Key words】 Tumor Cystatin C

随着近年来对肿瘤发病机制研究的不断深入,已有研究发现半胱氨酸蛋白酶抑制剂与某些肿瘤的发生、发展、浸润和转移密切相关。半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(cystatin C)是一种小分子蛋白质,在血清中有较高的浓度和很强的抑制半胱氨酸蛋白酶的性,是一种主要的细胞外半胱氨酸蛋白酶抑制剂。研究显示 cystatin C 可能与头颈部肿瘤、肺癌、卵巢癌和胃肠道肿瘤的发生发展有重要联系^[1]。本研究拟比较实体恶性肿瘤患者与正常对照者的血清 cystatin C 水平,以探讨 cystatin C 与肿瘤发生发展的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象

收集 2009 年 9 月至 2010 年 2 月四川大学华西

医院住院实体恶性肿瘤(以下简称肿瘤)患者 273 例,均为初诊且病理确诊的肿瘤患者;排除肾脏肿瘤患者。随机抽取 2010 年 2~3 月华西体检中心健康体检者 185 例为对照。

1.2 研究方法

所有样本均为空腹血,由护士采血、专人运送到实验室,2 h 内分离血清,4 h 内完成测定。

Cystatin C 测定试剂盒为迈克公司胶乳增强免疫比浊法 cystatin C 检测试剂盒,采用试剂盒配备的校准物和质控品,所用仪器为 ROCHE P800 全自动生化分析仪。

血清肌酐(Crea)测定试剂盒为罗氏诊断公司 Crea 检测试剂盒,采用试剂盒配备的校准物和质控品,所用仪器为 ROCHE P800 全自动生化分析仪。

1.3 数据收集与统计学方法

收集纳入患者和体检者的性别、年龄及血 Crea、cystatin C 浓度等资料。肾小球滤过率

(eGFR)采用改良的 MDRD 公式估算^[2]: $eGFR=186\times Crea^{-1.154}\times Age^{-0.203}\times(0.742,女性)$ 。

比较两组基线资料和 cystatin C 浓度、eGFR 的差异;计量资料均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示(如年龄、cystatin C 浓度等),采用成组设计的 t 检验比较肿瘤组与对照组的差异;分类资料(如性别)采用卡方检验比较两组差异。采用多元线性回归分析 cystatin C 与年龄、性别、患病状态(是否患肿瘤)、eGFR 等的关系。采用协方差分析去除可能混杂因素的影响,比较两组 cystatin C 的均数是否有差异。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组性别、年龄、eGFR 分布

对照组男性 108 例、女性 77 例,肿瘤组男性 169 例、女性 104 例,卡方检验显示两组性别构成比差异无统计学意义($P=0.449$)。肿瘤组平均年龄比对照组大,且差异有统计学意义($P<0.001$)。对照组与肿瘤组 eGFR 差异无统计学意义($P=0.208$)。见表 1。

表 1 各组的性别、年龄、eGFR 分布

Table 1 Gender, age and eGFR of participants

Group	<i>n</i>	Age (yr.)	Male/female (case)	eGFR [mL/(min·1.73 m ²)]
Control	185	45.48±14.69	108/77	0.65±0.12
Tumor	273	55.52±11.44	169/104	0.66±0.14
<i>P</i>	—	<0.001	0.449	0.208

eGFR; Estimating glomerular filtration rate

2.2 肿瘤组与对照组的 cystatin C 浓度水平比较

肿瘤组 cystatin C 浓度水平(0.8820 ± 0.1886)

表 2 多元线性回归结果

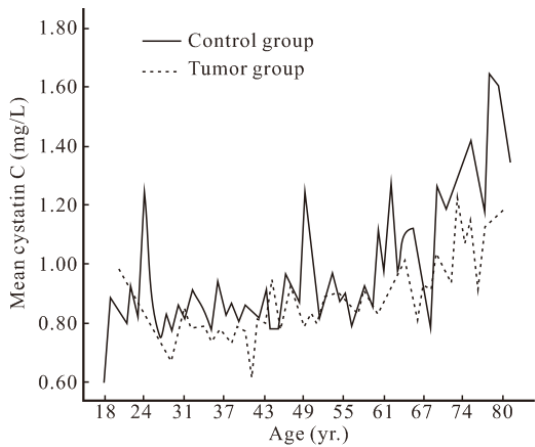
Table 2 Multiple variable regression analysis on factors that influenced serum cystatin C

Model	Unstandardized coefficient		Standardized coefficient beta	<i>t</i>	<i>P</i>
	<i>B</i>	<i>SE</i>			
Constant	1.129	0.058		19.607	0.000
Group (X1)	−0.070	0.016	−0.176	−4.385	0.000
Sex (X2)	−0.093	0.015	−0.232	−6.307	0.000
Age (X3)	0.004	0.001	0.298	6.911	0.000
eGFR (X4)	−0.566	0.060	−0.381	−9.468	0.000

3 讨论

Cystatin C 是半胱氨酸蛋白酶抑制剂家族中的一员,广泛存在于植物、动物及原虫中,由有核细胞产生,在人体大部分组织中稳定表达,cystatin C 可以从肾小球自由滤过,不被肾小管分泌,几乎都在近端小管中被代谢。其生理功能是调节半胱氨酸蛋白

mg/L 与对照组(0.9151 ± 0.2036) mg/L 的差异无统计学意义($t=1.783,P=0.075$)。附图显示随着年龄增长,cystatin C 浓度水平升高,可能两组年龄差异对 cystatin C 浓度水平有一定影响,采用协方差分析去除年龄影响后,两组 cystatin C 浓度水平的差异有统计学意义($F=32.838,P<0.01$)。



附图 不同年龄肿瘤与对照组的 cystatin C 浓度水平

Fig Serum cystatin C levels by age

2.3 Cystatin C 与年龄、性别、患病状态、eGFR 的多元线性回归

多元线性回归分析: $cystatin\ C=1.129-0.070X_1-0.093X_2+0.004X_3-0.566X_4$ (表 2),发现 cystatin C 与患病状态(是否患肿瘤)、性别、年龄、eGFR 均有关,其中 cystatin C 与年龄呈正相关,与 eGFR 呈负相关,其水平男性高于女性,健康体检者高于肿瘤患者。

酶的活性,在细胞内肽类和蛋白质的代谢中起重要作用^[3]。Cystatin C 是细胞外含量最丰富的半胱氨酸蛋白酶抑制剂之一,体外实验发现能有效抑制癌细胞降解细胞外基质和浸润,Kopitz 等^[4]发现 cystatin C 的过表达能显著降低小鼠肺癌转移的几率。Sokol 等^[5]指出 cystatin C 能拮抗癌细胞中转化生长因子 β 信号途径,cystatin C mRNA 在恶性

肿瘤尤其是胃、子宫、结肠和肾的恶性肿瘤中表达下调,过表达的 cystatin C 抑制 HT1080 纤维肉瘤细胞通过半胱氨酸蛋白酶相关途径的侵袭生长。Strojan 等^[6]提出组织或血清中的 cystatin C 水平可以提示头颈部肿瘤的预后,与肾功能无关的高水平 cystatin C 能改善肿瘤患者的生存率。Yano 等^[7]也发现组织蛋白酶 B-cystatin C 复合体表达水平的减少预示乳腺癌转移的可能。还有报道称, cystatin C 参与了阻止肿瘤新生血管形成的过程^[8-11]。

本研究纳入的肿瘤组与对照组性别构成比差异无统计学意义,其 eGFR 比较差异亦无统计学意义。而两组的年龄组成差异有统计学意义。Cystatin C 与年龄、性别、患病状态、eGFR 的多元线性回归发现,其中 eGFR 与 cystatin C 有较强的负相关关系,这与既往研究^[12-15]结果相符;随着年龄的增长,血清 cystatin C 也逐渐增加,但是年龄是否影响血清 cystatin C 浓度尚存在争议^[16,17]。本研究还发现男性较女性 cystatin C 浓度水平更高,肿瘤组比正常体检对照组 cystatin C 浓度低;消除年龄因素影响后的协方差分析也发现两组的 cystatin C 差异有统计学意义($F=32.838, P<0.001$)。

因此,本研究认为肿瘤组的血清 cystatin C 水平低于对照组,这在一定程度上提示了 cystatin C 与肿瘤间存在某种相关关系:cystatin C 在肿瘤发生发展中可能起到了某种作用,恶性肿瘤的生长方式的特点之一是具有侵袭性,而这种侵袭性生长必然破坏周围基质,这个过程离不开组织蛋白水解酶的作用,cystatin C 则是一种很强的组织蛋白水解酶抑制剂,所以高水平的 cystatin C 可能有抑制肿瘤细胞破坏周围基质的作用。但 cystatin C 是否有以上作用还需要更直接的证据证实,其中的作用机制也还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 王 蕾,陈凌燕,高 锋.半胱氨酸蛋白酶抑制剂C在肿瘤研究中的进展. 检验医学,2008;23(2):199-201.
- 2 Levey AS, Greene T, Kusek JW, *et al.* A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine [Abstract]. J Am Soc Nephrol,2000;11:A0828.
- 3 Shlipak MG, Praught ML, Sarnak MJ. Update on cystatin C: new insights into the importance of mild kidney dysfunction. Curr Opin Nephrol Hypertens,2006;15(3):270-275.

- 4 Kopitz C, Anton M, Gansbacher B, *et al.* Reduction of experimental human fibrosarcoma lung metastasis in mice by adenovirus-mediated cystatin C overexpression in the host. Cancer Res,2005;65(19):8608-8612.
- 5 Sokol JP, Schiemann WP. Cystatin C antagonizes transforming growth factor beta signaling in normal and cancer cells. Mol Cancer Res,2004;2(3):183-195.
- 6 Strojan P, Oblak I, Svetic B, *et al.* Cysteine proteinase inhibitor cystatin C in squamous cell tumor of the head and neck: relation to prognosis. Br J Cancer,2004;90(10):1961-1968.
- 7 Yano M, Hirai K, Naito Z, *et al.* Expression of cathepsin B and cystatin C in human breast cancer. Surg Today,2001;31(5):385-389.
- 8 孟令华, 刘 巍, 宋丽楠. BCSGI、C-erbB-2、VEGF 表达与乳腺癌临床病理因素相关性研究. 中华乳腺病杂志(电子版), 2007;1(4):82-86.
- 9 Zsebk B, Symonowicz K, Saleh Y, *et al.* Photodynamic therapy combined with a cysteine proteinase inhibitor synergistically decrease VEGF production and promote tumour necrosis in a rat mammary carcinoma. Cell Prolif,2007;40(1):38-49.
- 10 刘 晔, 郭 晔, 吴慧娟等. 凋亡诱导因子介导顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡. 中华肿瘤杂志,2010;32(3):173-178.
- 11 王明婕, 刘彦信, 张锦春等. 8-氯腺苷增强肿瘤细胞对 TRAIL 杀伤作用敏感性的研究. 中华肿瘤杂志,2005;27(10):586-590.
- 12 Maillard N, Mariat C, Bonneau C, *et al.* Cystatin C-based equations in renal transplantation: moving toward a better glomerular filtration rate prediction? Transplantation,2008;85(12):1855-1858.
- 13 方一卿, 马 骏, 沈汉超等. 血清胱抑素 C 评价慢性肾脏病患者早期肾损害的临床研究. 中国中西医结合肾病,2007;8(3):145-148.
- 14 Hoek FJ, Korevaar JC, Dekker FW, *et al.* Estimation of residual glomerular filtration rate in dialysis patients from the plasma cystatin C level. Nephrol Dial Transplant,2007;22(6):1633-1638.
- 15 Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. American Journal of Kidney Diseases,2002;40(2):221-226.
- 16 Groesbeck D, Kottgen A, Parekh R, *et al.* Age, gender, and race effects on cystatin C levels in US adolescents. Clin J Am Soc Nephrol,2008;3(6):1777-1785.
- 17 杜晓英. cystatin C 在肾移植领域的研究进展. 国际移植与血液净化,2006;4(2):28-31.

(2011-12-27 收稿,2012-04-16 修回)

编辑 汤 洁