经验交流

文章编号:1000-5404(2008)07-0662-02

SELDI飞行质谱技术检测结直肠癌患者血清肿瘤转移相关蛋白

赵 艇,高春芳,魏 东 (济南军区150医院外五科,全军肛肠外科研究所,河南 洛阳 471031)

结直肠癌的淋巴结转移和远处转移是决定患者预后的主要原因,早期结直肠癌的5年生存率明显优于中晚期患者。目前对大肠癌侵袭转移的分子机制仍不清楚。本研究采用表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)技术检测结直肠癌Duckes B、C、D期患者血清中的差异表达蛋白,筛选与结直肠癌转移相关的蛋白质,为指导临床治疗和判断预后提供依据。

1 资料与方法

选取我院2004-2006年结直肠癌Dukes B、C、D期住院患者(经病理学检查确诊)血清108例,其中Dukes B期结直肠癌40例,男性28例,女性12例,年龄(57±14)岁,Dukes C期结直肠癌36例,男性22例,女性14例,年龄(56±13)岁。Duckes D期结直肠癌32例,男性18例,女性14例,年龄(55±13)岁。两组均无影响血清中蛋白质含量的其他相关疾病。

主要试剂、仪器及方法 参考文献[1]。

2 结果

2.1 结直肠癌Dukes B期与C期患者血清蛋白质

设有意义峰的噪音过滤值为2,用Biomarker Wizard软件对所测得两组血清蛋白质图谱标准化后进行比较,结果显示在共捕获的53个蛋白质峰中,B期与C期患者血清中在质荷比1 500~20 000范围内20个蛋白质质荷比位点处的波峰强度有统计学意义(表1)。比较20个差异蛋白在血清中的相对含量,结果显示在Dukes B期患者血清中均呈高表达,在Dukes C期患者血清中均呈低表达。

表1 Dukes B期与C期患者血清差异蛋白的波峰强度($\bar{x}\pm s$)

质荷比	波峰强度		P
	Dukes B期	Dukes C期	
6 136	2.94±1.38	1.27±0.67	1.62E-06
5 931	13.61±7.68	5.34±3.22	2.57E-06
5 347	8.22±4.06	2.91±2.58	4.45E-06
5 972	8.37±4.04	3.28±1.94	6.36E-06
5 364	2.94±1.90	1.10±0.59	8.28E-06
5 998	4.62±2.13	1.86±1.16	8.28E-06
5 816	1.45±0.64	0.55±0.47	1.23E-05
6 121	4.67±2.11	1.87±1.21	1.39E-05
5 913	28.63±15.01	11.75±8.78	7.82E-05
5 880	2.07±1.74	1.03±1.17	0.000 1
5 955	4.95±2.57	2.21±1.64	0.000 1
6 027	2.30±1.32	1.43±1.71	0.000 2
5 556	1.14±0.65	0.48±0.30	0.000 3
2 967	2.30±2.32	0.83±0.81	0.001 2
7 835	2.18±1.19	1.23±0.75	0.005 1
11 915	0.22±0.15	0.15±0.20	0.001 0
14 620	1.42±0.53	1.01±0.43	0.014 4
1 523	1.27±0.70	0.80±0.52	0.025 9
11 740	0.90±0.70	0.53±0.50	0.029 1
7 574	1.08±1.88	0.52±0.56	0.042 2

2.2 结直肠癌Dukes C期与D期患者血清蛋白质

设有意义峰的噪音过滤值为2,用Biomarker Wizard软件对所测得两组血清蛋白质图谱标准化后进行比较,结果显示在共捕获的29个蛋白质峰中,C期与D期患者血清的波峰强度在7 874、9 300、7 932、7 983、7 840共5个蛋白质的质荷比位点处差异有统计学意义(表2),比较这5个差异蛋白分别在Dukes C期与D期血清中的相对含量,结果显示在C期患者血清中均呈高表达,在D期患者血清中均呈低表达。

表2 Dukes C期与D期患者血清差异蛋白的波峰强度($\bar{x}\pm s$)

质荷比	波峰强度		P
	Dukes C期	Dukes D期	
7 874	0.86±0.56	0.60±0.75	0.008 1
9 300	1.63±1.04	0.91±0.47	0.012 0
7 932	1.65±0.74	1.29±1.28	0.012 8
7 983	1.42±0.59	1.01±0.43	0.014 5
7 840	1.27±0.74	0.79±0.54	0.026 7

3 讨论

有关结直肠癌术前分期的方法众多,但血清学标志目前尚无统一的意见。传统的血清标记物对判断肿瘤分期没有明确的指导意义。我们采用不同批次同类的芯片、相同的方法和相同的仪器参数对随机采取的样品进行重复性实验,不同批次同类芯片间样品测定结果基本一致,受非实验因素影响较小。本研究采用SELDI技术分析结直肠癌Dukes B、C期血清蛋白,共筛选出20个差异蛋白,说明这些蛋白可能与肿瘤淋巴结转移的分子机制有关。结直肠癌手术中有些肿大淋巴结可能为慢性炎症或反应性增生,而未触及肿大的淋巴结可能已有转移,术中仅靠肉眼判定是否有淋巴结转移往往比较困难,因此以术前筛选出的结直肠癌Dukes B、C期血清差异蛋白为转移依据,就可以在术前对结直肠癌患者有无淋巴结转移做出诊断,为术前分期、术中淋巴结清扫范围提供的参考。分析结直肠癌Dukes C、D期患者血清中蛋白质的相对含量,共检测出5个蛋白质存在差异,说明其可能与结肠癌的远处转移有关。术前对上述差异蛋白监测,可能有助于判断结直肠癌患者有无远处转移。

分析Dukes B、C期20个差异蛋白,其在B期患者血清中均呈高表达,而在C期患者血清中均呈低表达,而Dukes C、D期5个差异蛋白在C期患者血清中呈高表达,而在D期患者血清中呈低表达,说明这些差异蛋白有可能是抑癌基因的表达产物,在转移的过程中其基因表达可能被抑制,由于表达产物的降低,因此在血清中不易检测出来。比较DukesB、C、D期差异蛋白的数量,可以看出从肿瘤侵袭浆肌层到淋巴结转移再到远处转移,其差异蛋白的数量在减少,说明DukesB、C期20个差异蛋白中有些差异蛋白可能参与了淋巴结转移和远处转移的全过程,而Dukes C、D期5个差异蛋白可能只与远处转移这一

作者简介:赵 艇,男,河南省荥阳市人,硕士,主治医师,主要从事胃肠肿瘤方面的研究。电话:(0379)64181784-69306

收稿日期:2007-08-30;修回日期:2007-12-08

过程有关。上述研究结果也表明,肿瘤的发展、转移不是由个别蛋白质的持续性变化所致,不同的发展阶段,其参与或产生的蛋白质是不同的。

结合以往的研究结果[1],大肠癌患者与正常人比较,利用相对分子质量 5 972、5 927、6 113、5 908 和 4 292 这 5 个蛋白质组成的模板,可将大肠癌与正常人分组。其中,相对分子质量为 5 972 的蛋白质在 DukesB、C 期患者血清中含量有统计学意义。说明该分子量的蛋白质对于大肠癌的诊断和分期具有重要意义。

传统的蛋白质数据库是建立在二维电泳基础上的,我们利用 SELDI 技术筛选出的差异蛋白由于含量较低,无法与肽质量指纹图谱(PMF)结果匹配,也不能进行蛋白质数据库检索,因此还不能对其进行鉴定,也不清楚其结构和功能,但本研究结果体现出 SELDI-TOF-MS 技术在分析低分子量蛋白质这一领域中具有独特优势,并为该技术在结直肠癌转移的研究中提供了新的思路和方法[2,3]。以后可增大样本量对这些差异蛋白进行验证,通过建立判别模型扩大其应用范围或进一步将其分离纯化,制备成标准化试剂,并将其用于临床检测、指导手术和判断预后,同时对其进行鉴定也有助于了解结直肠癌发生、进展及转移的机制,为深入进行肿瘤的蛋白质组研究提供新的有效的方法。

关键词:结直肠肿瘤;蛋白质组学;表面增强激光解吸附离子化时间飞行质谱
中图法分类号:R730.43 文献标识码:B

参考文献:

[1] 王全晖,高春芳,王秀丽,等. 利用 SELDI-TOF 质谱技术分析大肠癌患者血清蛋白质谱的变化[J]. 中国病理生理杂志, 2005,21(10):1896 - 1900.
[2] Kolch W, Mischak H, Pitt A R. The molecular make-up of a tumour: proteomics in cancer research[J]. Clin Sci (Lond), 2005, 108(5): 369 - 383.
[3] Wulfkuhle J D, Liotta L A, Petricoin E F. Proteomic applications for the early detection of cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(4): 267 - 275.

(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2008)07-0663-01

个案与短篇

心肺复苏后迟发性心脏填塞 3 例

李 明,李 华,钟雪梅 (第三军医大学军职干休所卫生所,重庆 400038)

例 1,患者,女,43 岁,1990 年 10 月 5 日被人重拳击中心前区,当即倒地,意识丧失,5 min 后送入急诊 ICU,查呼吸、心跳已停,血压不可测及,双侧瞳孔散大固定,对光反射消失,心电监护示心室颤动,立即采取胸外心脏按压,气管插管及机械通气等抢救措施,1 min 后心脏复跳,但心电活动不稳,反复出现心室颤动,均立即行胸外心脏按压,电除颤,之后心电活动趋于稳定。次日,患者意识恢复,自主呼吸、血压稳定,血气分析等实验结果正常。第 3 日,突然出现难以纠正的心率快(160 ~ 190 次/min),血压低(50 ~ 80/30 ~ 45 mmHg),少尿。而心、肺听诊,全导联心电图等检查均无明显异常。尚未查明原因,患者死于循环功能衰竭。死后尸检发现心包内大量血凝块,前壁心肌表层有 1.0 cm × 1.5 cm 大小裂口。

例 2,患者,男,4 岁。1996 年 5 月 16 日因玩耍时掉进沙堆窒息,3 min 后送入 ICU 急救,呼吸、心跳已停,血压不可测及,双侧瞳孔散大固定,对光反射消失,立即行胸外心脏按压,因一时不易建立输液通道,紧急中行心内注射给药,2 min 后,患儿心脏复跳,血压回升,次日,患儿意识恢复,循环功能稳定,血气分析等检查正常。第 3 日,出现难以纠正的心律加快(170 ~ 200 次/min),血压低(40 ~ 50/30 ~ 40 mmHg),少尿,而心、肺听诊,全导联心电图等检查均无明显异常,吸取例 1 的教训,行心包穿刺顺利抽出不凝血 10 ml,立即床旁开胸,清除积血及血凝块约 350 ml,前壁心肌有一针尖大小破口缓慢渗血,予以缝合,术后 30 d 痊愈出院。

例 3,患者,男,72 岁。1999 年 1 月 20 日因心悸、头晕入急诊 ICU。患者既往有冠心病史 20 余年,2 年前曾发生广泛前壁心肌梗死。入院后心电监护示窦性心动过缓(30 ~ 50 次/min),频发室性期前收缩。次日患者心率快(140 ~ 160 次/min),血压低(45 ~ 85/40 ~ 50 mmHg),少尿。超声心动图示心包积血,当即开胸,切开心包,清除积血约 300 ml,表层有 0.5 cm × 0.5 cm 大小裂口,予以修补,术后 15 d 痊愈出院。

讨论

我校第一附属医院 ICU 近 10 年来对 306 例患者施行了心肺复苏。3 例发生迟发性心脏填塞,占 0.98%。例 1 的心脏在外力重击后,可能已有损伤,经过长时间反复胸外心脏按压,致使损伤加重,伤口愈合延迟。例 2 在紧急中行心内注射给药,心脏针刺伤是出血的根本原因。例 3 因陈旧性前壁心肌梗死梗死区心肌纤维组织瘢痕组织代替,反复胸外心脏按压后发生破损出血。值得注意的是,3 例迟发性心脏填塞患者的临床表现均以难以纠正的心率快、血压低、少尿、无尿为突出表现,而无奇脉、颈静脉怒张、中心静脉压急剧升高、心音遥远、X 胸片纵隔心脏移位、血块影等典型心脏填塞表现。这与 Sahni 等[1]的报道一致。究其原因,可能与迟发性心脏填塞时,心脏损伤大多为局部浅层而非贯穿性损伤破裂有关。因此,对于心肺复苏后,患者已处恢复期而病情再度恶化,出现其他原因难以解释和难以纠正的心率快、血压低、少尿时,应考虑迟发性心脏填塞的可能。本组例 1 正是由于当初缺乏这方面的经验,使患者丧失了救治的机会。

关键词:心肺复苏;心脏填塞
中图法分类号:R654.2 文献标识码:B

参考文献:

[1] Sahni J, Ivert T, Herzfeld I, *et al*. Late cardiac tamponade after open-heart Surgery[J]. Scand J Thorac Cardiovasc Surg, 1991, 25(1): 63 - 68.

(编辑 邓强庭)

作者简介:李 明,男,湖北省沙洋县人,主治医师,主要从事老年病医学方面的研究。电话:(023)68775328
收稿日期:2008-01-05;修回日期:2008-03-02