

尿液对羟基苯丙氨酸检测在恶性肿瘤早期预测中的应用价值*

黄学梅¹, 吴立翔¹, 吕自兰¹, 李影², 郭变琴^{1△} (1. 重庆市肿瘤研究所检验科 400030; 2. 重庆医科大学第一附属医院临床分子医学检测中心, 重庆 400016)

【摘要】 目的 探讨尿液对羟基苯丙氨酸检测在恶性肿瘤预测中的临床应用价值。**方法** 采用比色法对重庆市肿瘤研究所 395 例尿液样本(其中 90 例健康者、92 例良性肿瘤、213 例病理确诊的恶性肿瘤)对羟基苯丙氨酸进行检测分析。**结果** 健康对照组、良性肿瘤组、恶性肿瘤组的阳性检出率分别为 8.89%、14.13%、68.54%;与健康对照组比较,良性肿瘤组的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),恶性肿瘤组的阳性率明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与良性肿瘤组比较,恶性肿瘤组的阳性率明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);恶性肿瘤组中的消化道恶性肿瘤、鼻咽癌、淋巴瘤、乳腺癌、妇科恶性肿瘤、肺癌及其他恶性肿瘤的阳性检出率分别是 78.82%、72.22%、71.42%、65.38%、62.50%、60.00%和 72.22%,不同病种间的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$);尿液对羟基苯丙氨酸对恶性肿瘤的检测灵敏度 68.54%,特异性 88.46%,准确度 77.72%,阳性预测值 87.00%,阴性预测值 71.00%。**结论** 尿液对羟基苯丙氨酸作为一种新的肿瘤标志物,适用于恶性肿瘤的广谱筛查;对良、恶性肿瘤的鉴别诊断具有重要的临床意义。

【关键词】 尿液对羟基苯丙氨酸; 恶性肿瘤; 筛查

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.16.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)16-2333-03

Application value of urine hydroxyl phenylalanine in early predicting malignant tumor* HUANG Xue-mei¹, WU Li-xiang¹, LYU Zi-lan¹, LI Ying², GUO Bian-qin^{1△} (1. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Tumor Institute, Chongqing 400030, China; 2. Molecular Testing Center of Clinical Medicine, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 Objective To discuss the clinical application value of urine hydroxyl phenylalanine in predicting malignant tumor. **Methods** Hydroxyl phenylalanine in 395 urine samples (90 healthy subjects, 92 patients with benign tumor, 213 patients with malignant tumor) was detected by the hydroxy phenylalanine kits. **Results** The positive detection rate was 8.89% in the normal group, 14.13% in the benign tumor group and 68.54% in the malignant tumor group. Compared with the normal group, the positive detection rate in the benign tumor group had no obviously difference ($P>0.05$); Compared with the benign tumor group, the positive detection rate in the malignant tumor group was obviously increased with statistical difference ($P<0.05$); the positive detection rate was 78.82% in digestive tract malignant tumor, 72.22% in nasopharyngeal carcinoma, 71.42% in lymphoma, 65.38% in breast cancer, 62.50% in gynecologic malignant tumors, 60.00% in lung cancer and 72.22% in other malignant tumors. The positive detection rates had no statistical differences among different types of tumor ($P>0.05$). The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of urine hydroxyl phenylalanine for predicting malignant tumor were 68.54%, 88.46%, 77.72%, 87.00% and 71.00%, respectively. **Conclusion** Urine hydroxy phenylalanine as a new tumor marker is suitable for the broad spectrum screening of malignant tumor, which has an important significance for the differentiation diagnosis of benign and malignant tumors.

【Key words】 urine hydroxy phenylalanine; malignant tumor; screening

在世界范围内,恶性肿瘤已超过其他疾病成为人类的第一大死亡病因,且发病率呈上升趋势,严重威胁人类健康。功能基因组学策略已被应用于检测肿瘤生物标志物,包括基因表达和蛋白谱。近年来,越来越多的代谢组学研究表明,体液代谢产物同样可能作为早期发现或监测多种肿瘤进程的标志物,如乳腺癌、结肠癌、肝癌、胃癌、前列腺癌等^[1-8]。多年来,对恶性肿瘤的早期发现与早期诊断已进行了大量的研究,发现了多种

血清肿瘤标志物,并将其作为肿瘤诊断的重要手段之一,但血清肿瘤标志物存在操作繁琐、成本高、有创性、早期检出率不理想等因素,不利于肿瘤的大规模筛查,因此,发现一种取材方便、操作易行、无创伤、且能用于早期广谱筛查恶性肿瘤的检测方法十分重要。尿液标本易于收集且无创伤,患者依从性高,目前尿液对羟基苯丙氨酸在恶性肿瘤早期筛查中的研究少见。本研究将采用吉林生物研究院研制的对羟基苯丙氨酸尿液检

* 基金项目:重庆市自然科学基金项目(cstc2014jcyjA1633)。

作者简介:黄学梅,女,副主任技师,本科,主要从事临床生化方面的研究。△ 通讯作者,E-mail:178098941@qq.com。

测试剂对 395 例尿液样本进行检测分析,以探讨其在恶性肿瘤早期筛查中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 3~8 月于重庆市肿瘤医院住院并经病理或临床诊断为良性肿瘤的患者 92 例(包括乳腺肿瘤 38 例、妇科肿瘤 21 例、肺部良性疾病 11 例、头颈部肿瘤 10 例及其他肿瘤 12 例),其中男 15 例,女 76 例,年龄 16~90 岁,平均(44.6±16.2)岁;诊断为恶性肿瘤的患者 213 例(包括乳腺癌 52 例、肺癌 45 例、消化道恶性肿瘤 47 例、卵巢癌和宫颈癌 16 例、恶性淋巴瘤 14 例、鼻咽癌 18 例、其他恶性肿瘤 21 例),其中男 106 例,女 107 例,年龄 25~85 岁,平均(55.1±13.4)岁。另选同期健康体检者 90 例作为健康对照组,其中男 55 例,女 35 例,年龄 22~70 岁,平均(39.2±11.3)岁。

1.2 方法 恶性肿瘤患者尿液标本 213 例,良性疾病患者尿液标本 92 例,健康体检者标本 90 例,均要求采取新鲜晨尿。采用吉林生物研究院研制提供的“预检一号”,即对羟基苯丙氨酸(酪氨酸)尿液检测试剂(YZB/吉 00005-2011),在室温下,取新鲜清洁尿液 5 mL 加入装有(0.60±0.03)mL 检测试剂的安培瓶中,振荡混匀后静置 5 min,将沉淀物颜色与标准色板对比以判定结果。对照标准色板,沉淀物白色或浅黄色为阴性(-),浅红色为弱阳性(±),红色为阳性(+),砖红色为强阳性(++)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件对数据进行处理及统计学分析,计数资料采用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 尿液对羟基苯丙氨酸检测结果比较 见表 1。

表 1 395 例尿液对羟基苯丙氨酸检测结果比较

组别	n	阳性(n)			阳性总数(n)	阳性率(%)	
		阴性(n)	强阳性	阳性			弱阳性
健康对照组	90	82	0	1	7	8	8.89
良性疾病组	92	79	0	2	11	13	14.13
恶性肿瘤组	213	67	5	72	69	146	68.54 Δ
合计	395	228	5	75	87	167	—

注:与健康对照组比较, $\Delta P<0.01$;与良性疾病组比较, $\nabla P<0.01$;—表示无数值。

2.2 恶性肿瘤组不同病种的检测结果比较 见表 2。

表 2 恶性肿瘤组不同病种的检测结果比较

组别	n	阳性(n)			阳性总数(n)	阳性率(%)	
		阴性(n)	强阳性	阳性			弱阳性
乳腺癌	52	18	20	14	0	34	65.38
肺癌	45	18	14	13	0	27	60.00
消化道肿瘤	47	10	11	22	4	37	78.72
NPC	18	5	6	7	0	13	72.22
妇科肿瘤	16	6	6	3	1	10	62.50
恶性淋巴瘤	14	4	4	6	0	10	71.42
其他肿瘤	21	6	8	7	0	15	71.42
合计	213	67	69	72	5	146	—

注:不同病种间比较, $\chi^2=4.5420, P>0.05$ 。—表示无数值。

2.3 对羟基苯丙氨酸尿液检测在恶性肿瘤诊断中的临床价

值 对羟基苯丙氨酸尿液检测对恶性肿瘤的检测灵敏度为 68.54%,特异性达 88.46%,准确度为 77.72%,阳性预测值为 87.00%,阴性预测值为 71.00%,提示对恶性肿瘤具有重要的诊断价值。

3 讨论

恶性肿瘤的发病率呈逐年上升趋势,而且趋于年轻化,严重威胁着人类健康。早发现、早诊断在恶性肿瘤的诊治中极为重要,其中肿瘤筛查是早期发现的重要手段之一。癌症组织代谢不同于正常组织代谢,通过代谢组学研究癌症可以找到新的肿瘤标志物,对癌症的诊断、治疗和预后具有重要价值,已有报道发现结肠癌、肝癌、乳腺癌、膀胱癌、前列腺癌的尿液生物标志物^[9]。人体细胞在发生癌变的早、中期,由于恶性肿瘤细胞的异常增殖会引起正常细胞的应激反应,导致人体内氨基酸类物质的代谢异常,异常代谢的反应产物中含有一类相对分子质量不大的蛋白质或多肽类物质(如酪氨酸),其浓度远远超过健康人,并可从尿液中排出。据相关文献报道,已知的特定氨基酸的代谢及其浓度变化影响着身体器官的新陈代谢,可通过分析尿液氨基酸以检测身体器官的代谢改变,这可能是应用于早期癌症诊断的方法之一。另外,有研究报道,与健康人比较,肺癌患者尿液中酪氨酸浓度明显升高^[10]。与健康人比较,前列腺癌患者尿液中的甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸和丙氨酸浓度明显减少^[11]。与相关的良性膀胱组织比较,膀胱癌组织的组氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸明显增加,且与低风险膀胱癌患者相比,高风险膀胱癌患者组氨酸和酪氨酸明显增加^[12]。史栋栋等^[13]用羽扇豆醇处理人乳腺癌细胞 MCF-7,发现羽扇豆醇可能通过改变亮氨酸、异亮氨酸等 11 种代谢产物抑制 MCF-7 细胞的增殖。因此,检测患者尿液中氨基酸及其代谢衍生物的浓度变化对肿瘤的早期诊断和治疗具有重要的临床意义。

根据化学反应原理,在汞盐和其他螯合剂的辅助下,在酸性介质中,汞盐和酪氨酸发生螯合反应,生成砖红色螯合物,通过螯合物的颜色不同即可判定受检者体内是否有相关的细胞代谢异常,以此早期发现恶性肿瘤。相对于血清肿瘤标志物,本研究检测标本为受检者尿液,取材方便、无创伤,检测时不需要昂贵的仪器、操作简单易行、反应快速,在肿瘤发生的早期即可进行检测,并且不存在器官特异性,满足了肿瘤诊断中广谱筛查、早期诊断的要求,适合大规模人群的肿瘤筛查。截至目前,以尿液为样本进行肿瘤筛查的报道并不多见。

在本研究中,表 1 显示恶性肿瘤组阳性检出率为 68.54%,明显高于良性疾病组和健康对照组($P<0.01$),健康对照组和良性肿瘤组的阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$),且健康对照组和良性肿瘤组中没有检测到强阳性结果,该 2 组共有阳性 3 例,弱阳性 18 例,提示该项检测对于良、恶性肿瘤的鉴别诊断有重要意义。恶性肿瘤组中的消化道恶性肿瘤(包括食道癌、胃癌、结肠癌、直肠癌)、鼻咽癌、淋巴瘤、乳腺癌、妇科恶性肿瘤(包括宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌)、肺癌及其他恶性肿瘤(包括肾癌、前列腺癌、甲状腺癌、腮腺癌、膀胱癌、胰腺癌、胆囊癌等)的阳性检出率分别是 78.82%、72.22%、71.42%、65.38%、62.50%、60.00%和 71.42%,各癌种阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$),提示本试验项目可作为一种广谱的肿瘤标志物。对羟基苯丙氨酸尿液检测对恶性肿瘤的检测灵敏度为 68.54%,特异性达 88.46%,准确度为 77.72%,阳性预测值为 87.00%,阴性预测值为 71.00%,提示对恶性肿瘤具

有重要的诊断价值。

对羟基苯丙氨酸尿液检测对恶性肿瘤的诊断价值表中可见特异性达 88.46%、阳性预测值为 87.00%，但阳性检出率(68.54%)、灵敏度(68.54%)、准确度(77.70%)、阴性预测值(71.00%)均不够理想，分析其原因可能有以下几点：(1)肿瘤患者手术治疗前后，体内的苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸等氨基酸代谢产物的浓度发生明显变化，故同一患者，治疗前后阳性率会有所下降^[10]。通过查询患者病历发现此次试验的患者中大部分患者已接受治疗，即在检测时患者体内的酪氨酸浓度可能已下降，从而降低了阳性检出率。(2)本方法采用尿液标本，在试验过程中，未排除患者服用食物、药物等因素，导致可能存在假阳性或假阴性结果。(3)检测前的样本采集，虽然交代过患者需采集晨尿，但不能排除部分标本不是晨尿，从而导致检测结果未能反映体内真实酪氨酸代谢情况。

在进行本研究的过程中，笔者发现本检测法存在一定的局限性。由于本法是根据汞盐与酪氨酸在酸性介质中发生螯合反应生成的沉淀物颜色来判定检测结果，要求被检测标本为新鲜清洁尿样，而尿液颜色较深者(比如尿胆红素浓度高、血红蛋白尿等)则不适合做该项检测，且由于本方法判定结果为肉眼观察比色，周围环境的光线、检验者的主观判断能力等都会对结果判断产生一定的影响，使得本法检测结果不易形成客观统一性；本法检测对象为机体排泄物尿液，患者服用的药物和食物是本试验的主要影响因素，若患者在食用大量分解氨基酸的食物或药物后，可导致检测结果出现假阳性^[14-15]。同样，若患者服用某些抑制氨基酸分解的药物时，尿中代谢物减少，可出现假阴性，故该法还有待进一步改良。建议做该检测者应以停药 3 d、晨尿(空腹 8 h)为宜，可以在很大程度上避免假阳性、假阴性的出现。因此，严把检验前、中、后的质量控制关可以进一步提高检测结果的准确性，如果与其他肿瘤标志物联合检测则可进一步提高恶性肿瘤的阳性检出率。

综上所述，尿液对羟基苯丙氨酸检测，取材方便且无创伤、操作简单易行、检测快捷，在恶性肿瘤广谱筛查、早期诊断以及良、恶性肿瘤的鉴别诊断中具有重要的临床价值。

参考文献

[1] Aboud OA, Weiss RH. New opportunities from the cancer Metabolome[J]. Clin Chem, 2013, 59(1):138-146.
 [2] O'Connell TM. Recent advances in Metabolomics in oncology[J]. Bioanalysis, 2012, 4(4):431-451.
 [3] Zhang AH, Sun H, Qiu S, et al. Metabolomics in noninvasive breast cancer[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424(5):3-7.

[4] Zhang A, Sun H, Yan G, et al. Metabolomics in diagnosis and biomarker discovery of colorectal cancer[J]. Cancer Lett, 2014, 345(1):17-20.
 [5] Chen JL, Fan J, Yan LS, et al. Urine metabolite profiling of human colorectal cancer by capillary electrophoresis mass spectrometry based on MRB[J]. Gastroenterol Res Pract, 2012, 2012:125890.
 [6] Wang X, Zhang A, Sun H. Power of metabolomics in diagnosis and biomarker discovery of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2013, 57(5):2072-2077.
 [7] Fan J, Hong J, Hu JD, et al. Ion chromatography based urine amino Acid profiling applied for diagnosis of gastric cancer[J]. Gastroenterol Res Pract, 2012, 2012:474907.
 [8] Zhang A, Yan G, Han Y, et al. Metabolomics approaches and applications in prostate cancer research[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2014, 174(1):6-12.
 [9] Armitage EG, Barbas C. Metabolomics in cancer biomarker discovery: current trends and future perspectives[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 87(1434):1-11.
 [10] 刘金泳, 臧林泉. 肺癌患者尿液生物标志物研究进展[J]. 广东医学, 2012, 33(14):2184-2186.
 [11] Struck LW, Kordalewska M, Bujak R, et al. Urine metabolic fingerprinting using LC-MS and GC-MS reveals metabolite changes in prostate cancer: a pilot study[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 111(7):351-361.
 [12] Alberice JV, Amaral AF, Armitage EG, et al. Searching for urine biomarkers of bladder cancer recurrence using a liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis-mass spectrometry metabolomics approach[J]. J Chromatogr A, 2013, 1318(22):163-170.
 [13] 史栋栋, 况媛媛, 王桂明, 等. 细胞代谢组学用于羽扇豆醇干预人乳腺癌细胞 MCF-7 的机制探究[J]. 色谱, 2014, 32(3):278-283.
 [14] 谢燮, 陈少秋, 吕颖芳, 等. 长期服用人参皂苷大鼠尿液代谢组学研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(23):4675-4679.
 [15] 姜辉, 吴芙蓉, 高家荣, 等. 疏肝健脾方对 CCl₄ 诱导的肝纤维化大鼠尿液代谢组学的影响[J]. 中成药, 2014, 36(12):2457-2462.

(收稿日期:2015-02-20 修回日期:2015-04-15)

(上接第 2332 页)

表达的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2010, 31(3):374-377.
 [12] 高立超, 张中冕, 李平, 等. Topo II 蛋白表达对晚期胃癌患者化疗后华蟾素维持治疗生存期的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(17):3388-3389.
 [13] 赵爱生. 复方苦参注射液联合华蟾素治疗 30 例消化道肿瘤患者疼痛的疗效观察[J]. 实用医技杂志, 2013, 20(3):

308-309.

[14] 余雪琴. 局部给予华蟾素对 H22 足部荷瘤小鼠癌痛行为的影响及其外周机制研究[D]. 宜昌:三峡大学, 2012.
 [15] 巩仔. 从 β-内啡肽的表达探讨华蟾素治疗癌痛的外周机制研究[D]. 宜昌:三峡大学, 2011.

(收稿日期:2015-01-25 修回日期:2015-03-15)