

血浆可溶性 c-Met 水平在鼻咽癌患者中的临床意义

袁霞, 李金高, 黄敏, 龚晓昌

(江西省肿瘤医院, 江西 南昌 330029)

摘要: [目的] 探讨肝细胞生长因子受体(c-Met)可溶性形式(sMet)在鼻咽癌患者血浆中的水平变化及临床意义。[方法] 收集 84 例鼻咽癌患者和 84 名正常人的血浆标本, ELISA 检测血浆中 sMet 水平, 并以 ROC 曲线评价 sMet 水平对鼻咽癌发生风险的临床预测价值。[结果] 鼻咽癌 I~II 期患者血浆中 sMet 的水平 $[(293.6\pm 15.8)\text{ng/ml}]$ 及鼻咽癌 III~IV 期患者血浆中 sMet 的水平 $[(343.8\pm 12.6)\text{ng/ml}]$ 分别为正常对照组表达水平 $[(224.2\pm 13.5)\text{ng/ml}]$ 的 1.31、1.53 倍($P<0.01$)。ROC 曲线分析显示, 血浆 sMet 水平和发生鼻咽癌的风险存在密切相关性, 具有明显的临床诊断价值。[结论] sMet 可能是鼻咽癌早期诊断的一个潜在的血浆标志物。

关键词: 可溶性 c-Met; 鼻咽肿瘤; ROC 曲线

中图分类号: R739.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)03-0179-04

Clinical Significance of Plasma Soluble c-Met in Nasopharyngeal Carcinoma

YUAN Xia, LI Jin-gao, HUANG Min, et al.

(Jiangxi Provincial Cancer Hospital, Nanchang 330029, China)

Abstract: [Purpose] To study the plasma level of soluble c-Met (sMet) in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC) and its clinical significance. [Methods] The prospective study was performed by using plasma derived from 84 NPC cases and 84 normal controls. Plasma concentration of sMet was measured by specific enzyme-linked immunosorbent assay. Data were analyzed by SPSS software, and the predictive values were determined based on the ROC curves analysis. [Results] Plasma concentrations of sMet were $(293.6\pm 15.8)\text{ng/ml}$ and $(343.8\pm 12.6)\text{ng/ml}$ in patients with NPC stage I~II and stage III~IV, respectively. Plasma concentration of sMet in patients with NPC was significantly higher than that in normal controls $(224.2\pm 13.5)\text{ng/ml}$ ($P<0.01$). The ROC curve analysis revealed a significant correlation between plasma sMet level and the risk of NPC. [Conclusion] Plasma sMet could serve as a potential biomarker for predicting NPC at early stage.

Subject words: soluble c-Met; nasopharyngeal neoplasms; ROC curve

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是原发于鼻咽黏膜上皮的恶性肿瘤,是常见的头颈部肿瘤之一。鼻咽癌临床表现多变,早期症状不典型,不易早期诊断。因此,寻找高度敏感而特异的血清或血浆标志物,对于提高鼻咽癌的诊治水平具有重要临床意义。鼻咽癌是一种血管丰富的实体肿瘤,在鼻咽癌的整个发生、发展过程中血管生成几乎贯穿于始终^[1,2]。作为强有力的促血管形成因子之一的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)可以促进肿瘤组织的新生血管生成^[3],一系列研究证实

HGF 与其受体 c-Met 构成的信号系统与鼻咽癌细胞的增殖、浸润行为密切相关^[4,5],提示 HGF/c-Met 信号系统可能与鼻咽癌发生、发展密切相关。而有意思的是有研究结果证实多种肿瘤细胞培养液以及异种移植人类肿瘤的小鼠血浆和尿液中都能检测到 HGF 受体(c-Met)可溶性形式(soluble c-Met, sMet)的存在^[6,7],提示 sMet 与肿瘤发生、恶变过程密切相关。本实验通过前瞻性研究,收集 84 例鼻咽癌患者和 84 名正常人的血浆标本,ELISA 检测血浆中 sMet 水平,以 ROC 曲线评价 sMet 水平对鼻咽癌发生风险的临床预测价值。

基金项目: 江西省卫生厅资助课题(20123105)

收稿日期: 2012-08-27; **修回日期:** 2013-01-03

1 资料与方法

1.1 研究对象

2011年1月至2011年8月江西省肿瘤医院经病理明确诊断为鼻咽低分化鳞癌的84例患者(Table 1),完善临床检查均无远处转移,收集这些患者的血浆标本(其中I、II期鼻咽癌患者24例,III、IV期鼻咽癌患者60例);选择无家族遗传史,无肿瘤、传染病、慢性疾病等病理症状且3个月内未接受药物治疗的正常人84名作为对照。所有纳入研究标本经患者知情同意,并获医院伦理委员会批准。

Table 1 General characteristics of 84 NPC cases and 84 controls

Features	Normal controls	NPC patients	P
Sex			
Male	55	55	
Female	29	29	
Age(years)	40.6±12.8	40.2±11.4	0.32
BMI(kg/m ²)	21.2±2.3	22.0±2.2	0.28
Clinical staging			
I~II		24(28.6%)	
III~IV		60(71.4%)	
T staging			
T ₁₋₂		41(48.8%)	
T ₃₋₄		43(51.2%)	
N staging			
N ₀₋₁		31(36.9%)	
N ₂₋₃		53(63.1%)	
Distant metastasis		No	

1.2 方法

1.2.1 标本处理

研究对象在例行检查时,我们收集了每个对象2ml外周血,于12h内分离血浆,保存于-80℃。

1.2.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)

严格按照 Human HGF R/c-MET ELISA (DY358; R&D Systems)试剂盒说明书操作,血浆用量为0.5μl,所有血浆样品重复3次。标准曲线由4000pg/ml的标准品做不同稀释,最后得到7个不同标准浓度绘制而成,最小浓度为62.5pg/ml。酶标仪上读取450nm波长的吸光值,并换算为浓度值。

1.2.3 统计学处理

统计分析使用SPSS13.0软件,Kolmogorov-Smirnov test检验所有数据的正态分布情况,将实验结果进行Student t-Test统计分析,P<0.05为差异有

统计学意义。ROC曲线评价疾病临床预测价值,并计算临床诊断临界点。

2 结果

2.1 鼻咽癌患者血浆中sMet水平的变化情况

鼻咽癌I~II期患者血浆中sMet的水平为(293.6±15.8)ng/ml,鼻咽癌III~IV期患者血浆中sMet的水平为(343.8±12.6)ng/ml,分别为正常对照组表达水平[(224.2±13.5)ng/ml]的1.31、1.53倍(P<0.01)(Table 2)。

Table 2 Concentrations of sMet in plasma

Groups	n	sMet concentration (ng/ml)
Normal controls	84	224.2±13.5
NPC patients		
I~II	24	293.6±15.8*
III~IV	60	343.8±12.6*

Note: compared with normal controls, *P<0.01.

2.2 不同临床特征鼻咽癌患者血浆中sMet水平的变化情况

本研究中的实验对象均无远处转移,鼻咽癌T₁₋₂期患者血浆中sMet的水平为(311.5±13.7)ng/ml,T₃₋₄期患者血浆中sMet的水平为(313.6±14.1)ng/ml,两者差异无统计学意义(P>0.05);鼻咽癌N₀₋₁期患者血浆中sMet的水平为(322.4±10.9)ng/ml,N₂₋₃期患者血浆中sMet的水平为(324.9±12.2)ng/ml,两者差异无统计学意义(P>0.05)(Table 3)。

Table 3 Concentrations of sMet in NPC cases with different clinical features

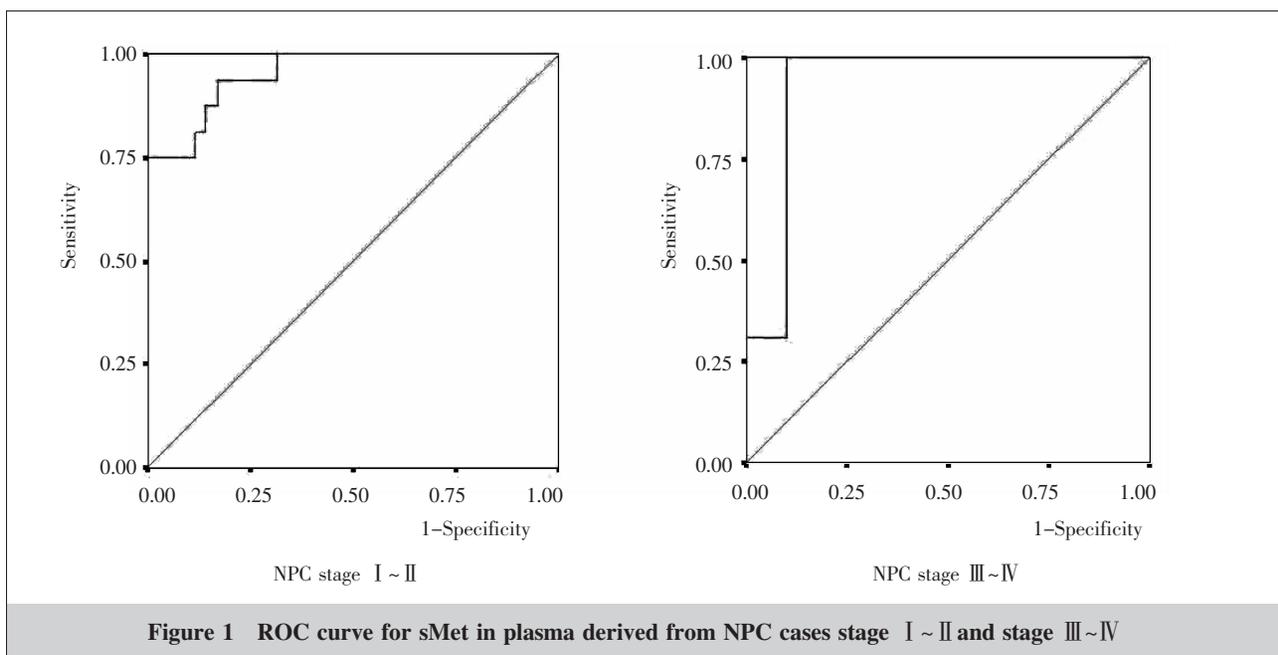
Features	n	sMet concentration (ng/ml)	P
T staging			
T ₁₋₂	41	311.5±13.7	0.85
T ₃₋₄	43	313.6±14.1	
N staging			
N ₀₋₁	31	322.4±10.9	0.77
N ₂₋₃	53	324.9±12.2	

2.3 血浆sMet水平临床预测价值

结果显示,鼻咽癌I、II期临床诊断阈值为248.3ng/ml,鼻咽癌III、IV期临床诊断阈值为285.7ng/ml,鼻咽癌临床分期两个阶段AUC均在0.9之上,并且灵敏度和特异性均较高,具有明显的临床诊断价值(Table 4, Figure 1)。

Table 4 Report of the receiver operating characteristics(ROC) analysis for sMet level in plasma derived from NPC cases

NPC clinical staging	Threshold values (ng/ml)	Area under the curve (AUC)	Std.error	95%CI	Sensitivity (%)	Specificity (%)	P
I ~ II	248.3	0.957	0.033	0.890~1.027	95	83	<0.001
III ~IV	285.7	0.934	0.061	0.830~1.054	93	90	<0.001



3 讨论

通过前瞻性研究,本实验运用 ELISA 检测鼻咽癌患者血浆中的 sMet 水平,分析其与正常人血浆中表达量的差异,以及与鼻咽癌临床分期等的关系,发现鼻咽癌患者血浆中的 sMet 水平明显增高,远高于正常对照组水平,临床分期越晚 sMet 水平越高。运用 ROC 曲线分析,我们确定鼻咽癌 I ~ II 期 sMet 切值为 248.3ng/ml,鼻咽癌 III ~ IV 期 sMet 切值为 285.7ng/ml。由此可见,血浆 sMet 水平对于鼻咽癌早期诊断可能是较有力的标志物。

同时我们也分析了 sMet 水平与鼻咽癌 TNM 分期之间的关系,纳入本实验的对象均无远处转移,比较了 T₁₋₂ 和 T₃₋₄ 以及 N₀₋₁ 和 N₂₋₃ 间 sMet 水平的变化,发现在 TN 分期中 sMet 水平没有统计学差异,提示 sMet 水平可能与鼻咽癌原灶肿瘤的大小没有关系。鼻咽癌临床分期 III ~ IV 期也有部分按 TNM 分期是归属 T₁₋₂ 和 N₀₋₁ 期的,这也可部分解释上面的结果。

HGF/c-Met 信号可通过自分泌和旁分泌方式激活,促进肿瘤细胞的生长、增殖,抑制肿瘤细胞凋亡及死亡,诱导肿瘤细胞迁移和扩散,促进肿瘤的浸润和转移^[8,9],也逐渐成为癌症早期诊断、预后判断、治疗靶向药物研究的焦点^[10,11]。一些研究结果提示 HGF/c-Met 信号在鼻咽癌发生、发展过程中起重要作用^[4,12]。并且有研究运用 RNA 干扰 Met 或 Met 特异抑制物 (PHA665752 等) 观察了它们对鼻咽癌细胞的存活、增殖和浸润行为的调控作用,提示它们可能可以作为鼻咽癌治疗靶向药物^[5,13]。

在本实验基础上,我们提出一系列问题,鼻咽癌组织局部 sMet 水平是否存在升高? sMet 是否参与鼻咽癌细胞浸润和增殖的调控,抑制血管发生和血管形成过程,以及是否可以作为鼻咽癌治疗的小分子靶点药物? 这些仍存在的诸多问题也是本研究的下一步研究计划。

总之,本研究首次证实了鼻咽癌患者血浆 sMet 水平远远高于正常对照组,并且临床分期越晚 sMet 水平越高,提供了一个潜在的无创性鼻咽癌早期诊

断血浆标志物。为深入了解 HGF/c-Met 信号在鼻咽癌发生发展过程中的作用奠定了基础,也为研究鼻咽癌治疗的小分子靶点药物提供新的思路。

参考文献:

- [1] Meng CD,Zhu DD,Jiang XD,et al. Overexpression of interleukin-17 in tumor-associated macrophages is correlated with the differentiation and angiogenesis of laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Chin Med J (Engl),2012,125(9):1603-1607.
- [2] Obika M,Ogawa H,Takahashi K,et al. The tumor growth inhibitory effect of ADAMTS1 is accompanied by the inhibition of tumor angiogenesis[J]. Cancer Sci,2012,103(10):1889-1897.
- [3] Takeuchi S,Wang W,Li Q,et al. Dual inhibition of Met kinase and angiogenesis to overcome HGF-induced EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer[J]. Am J Pathol,2012,181(3):1034-1043.
- [4] Sun R,Zhang Q,Guo L,et al.HGF stimulates proliferation through the HGF/c-Met pathway in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Oncol Lett,2012,3(5):1124-1128.
- [5] Li Y,Zhang S,Tang Z,et al.Silencing of c-Met by RNA interference inhibits the survival,proliferation,and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Tumour Biol,2011,32(6):1217-1224.
- [6] Athauda G,Giubellino A,Coleman JA,et al.c-Met ectodomain shedding rate correlates with malignant potential[J]. Clin Cancer Res,2006,12(14 Pt 1):4154-4162.
- [7] Lee JH,Gao CF,Lee CC,et al. An alternatively spliced form of Met receptor is tumorigenic[J]. Exp Mol Med,2006,38(5):565-573.
- [8] Shojaei F,Simmons BH,Lee JH,et al. HGF/c-Met pathway is one of the mediators of sunitinib-induced tumor cell type-dependent metastasis[J]. Cancer Lett,2012,320(1):48-55.
- [9] Lin HC,Lai PY,Lin YP,et al. Fas ligand enhances malignant behavior of tumor cells through interaction with met, hepatocyte growth factor receptor,in lipid rafts[J]. J Biol Chem,2012,287(24):20664-20673.
- [10] Sierra JR,Tsao MS.c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer[J]. Ther Adv Med Oncol,2011,3(1 Suppl):S21-S35.
- [11] Oh YM,Song YJ,Lee SB,et al.A new anti-c-met antibody selected by a mechanism-based dual-screening method: therapeutic potential in cancer[J]. Mol Cells,2012,34(6):523-529.
- [12] Xie LQ,Bian LJ,Li Z,et al.Co-elevated expression of hepatocyte growth factor and Interleukin-8 contributes to poor prognosis of patients with primary nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncol Rep,2010,23(1):141-150.
- [13] Lau PC,Wong EY.Targeting MET by tyrosine kinase inhibitor suppresses growth and invasion of nasopharyngeal carcinoma cell lines[J]. Pathol Oncol Res,2012,18(2):357-363.

