

可溶性 MICA 抗原在湖南地区汉族恶性肿瘤患者血清中的分布及临床意义

姜孝新¹, 蒋 艳², 李艳雯¹, 谢小平¹, 伍小平³

(1. 南华大学附属第一医院检验科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第一医院药剂科;
3. 南华大学附属第一医院肿瘤科)

摘要: **目的** 研究湖南地区汉族人群中可溶性 MHC I 类链相关基因 A (sMICA) 分子在恶性肿瘤中的分布及诊断价值。 **方法** 双抗体夹心法检测 512 例恶性肿瘤患者和 141 例正常对照血清中 sMICA 浓度含量, 分析 sMICA 含量在不同疾病中含量变化及其与疾病的相关性。 **结果** sMICA 含量在恶性肿瘤中只有肝癌有诊断价值 ($AUC = 0.843$), 而其他恶性肿瘤的诊断价值意义不大。肝癌患者血清中的 sMICA 含量最高, 为 743.4 ± 304.1 pg/mL ($P = 0.003$), 明显高于其他恶性肿瘤, 胃癌次之, 最差的为女性生殖系统肿瘤和恶性淋巴瘤, 分别为 162.5 ± 116.1 pg/mL ($P = 0.115$) 和 140.9 ± 137.6 pg/mL ($P = 0.205$)。 **结论** 肝癌患者血清 sMICA 含量明显增加, sMICA 含量可应用于肝癌的诊断, 而对其他恶性肿瘤的诊断价值意义不大。

关键词: 可溶性 MHC I 类链相关基因 A; 肝癌; 恶性肿瘤

中图分类号: R73-3 **文献标识码:** A

The Distribution and Clinical Significance of sMICA Antigens in Malignant Tumor in Han Population in Hunan Province

JIANG Xiaoxin, JIANG Yan, LI Yanwen, et al

(Clinical Lab of the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: **Objective** To study the distribution and the diagnosis value of sMICA molecules in malignant tumor in Hunan province Han population. **Methods** The serum level of sMICA in 512 patients with malignant tumor and 141 cases of normal controls was detected by double-antibody sandwich assay method and the content changes in different diseases and correlation were analyzed. **Results** We found that the serum levels of sMICA exhibited diagnosis value only in liver cancer ($AUC = 0.843$). We also found that patients with liver cancer had the highest level of sMICA (743.4 ± 304.1 pg/mL) ($P = 0.003$) in all the patients with different types of malignant cancers. In addition, patients with gastric cancer had the second highest. The patients with female reproductive system tumors and malignant lymphoma had the lowest serum levels of sMICA (162.5 ± 116.1 pg/mL, $P > 0.05$; 140.9 ± 137.6 pg/mL, $P > 0.05$). However, only the serum levels of sMICA in the patients with liver cancer showed statistic significance. **Conclusion** We found that the the serum levels of sMICA were significantly increased in liver cancer. sMICA level can be applied to the diagnosis of liver cancer and cannot be applied to other malignancies.

Key words: sMICA; liver cancer; malignant tumor

MHC I 类链相关基因 A (MHC class I chain-re-

lated gene A, MICA) 分子是一种高度糖基化由主要组织相容性复合物 (MHC) 基因编码的跨膜糖蛋白, 具有与 MHC I 类分子重链相似的结构, 但它不与微球蛋白相连, 缺少 CD8 结合区, 且不行使抗原递呈功能, 其组织分布局限, 主要表达在胸腺和胃肠上皮组织; 肿瘤、应激、病毒或细菌感染可上调其表

达^[1-2]。MICA 分子作为 NKG2D 配体分子,能迅速激活自然杀伤细胞(natural killer cell,NK)、CD8⁺T 细胞的细胞毒作用,在天然免疫系统中发挥重要的生物学功能^[3]。NK 细胞的效应功能取决于活化信号与抑制性信号的综合,膜型 MICA 是 NK 细胞的活化信号,可溶性 MICA(soluble MICA,sMICA)是 NK 细胞的抑制信号^[4]。本文主要探讨湖南汉族人群的不同恶性肿瘤患者血清中 sMICA 的含量分布及其诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2007 年 10 月~2009 年 12 月本院和湖南省肿瘤医院的住院恶性肿瘤患者共 512 例,男/女为 293/219,平均年龄 53.4 ± 13.0 岁(12~89 岁),均经临床确诊,符合 TNM 临床恶性肿瘤的诊断标准。对照组 141 例,男/女为 81/60,平均年龄 44.0 ± 11.4 岁(22~70 岁),均为衡阳中心血站、株洲中心血站和长沙中心血站健康献血者。用于检测 MICA 抗原的标本均为血液标本。

1.2 双抗体夹心法

双抗体夹心法检测血清中可溶性 MICA 含量^[5]用俘获抗体 MICA mAb AMO-1 5 ng/mL 包被空白 ELISA 板,4℃ 包被过夜,PBST 洗涤 3 次后,加入 15% BSA-PBS 缓冲液封闭,37℃ 孵育 2 h 后,用 PBST 洗涤 1 次;加入患者血清(用 15% BSA-PBS 缓冲液稀释 3 倍),37℃ 孵育 2 h 后,用 PBST 洗涤 5 次,再加入 1 μg/mL 6-B3(IgG2α)100 μL^[6],37℃ 孵育 2 h 后,洗涤 5 次,加入酶标二抗(HRP 羊抗鼠 IgG2α)100 μL,37℃ 孵育 2 h 后,用 PBST 洗涤 5 次,加入底物 TMB 37℃ 孵育显色,显色 15 min 后用酶标仪测定 450 nm 吸光度值(OD 值)。另外将标准 sMICA(MICA * 008 系 MICA 重组可溶性蛋白)按不同浓度配制,同患者血清标本同时检测,作为绘制标准曲线的标准浓度。每份样本平行试验 3 次,所得结果取平均值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,疾病组与对照组以及疾病组间 sMICA 含量比较均进行秩和检验。

2 结果

2.1 s-MICA 在不同肿瘤患者血清中含量的比较

肝癌患者血清中 sMICA 含量最高(743.4 ± 304.1 pg/mL),明显高于其他恶性肿瘤,胃癌次之,最低的为女性生殖系统肿瘤和恶性淋巴瘤,分别为 162.5 ± 116.1 pg/mL 和 140.9 ± 137.6 pg/mL,但仅肝癌患者有统计学意义(表 1)。

ROC 诊断图显示 sMICA 含量应用于恶性肿瘤的诊断只对肝癌有诊断价值(AUC = 0.843),而对其他恶性肿瘤的诊断价值意义不大(图 1),这与国外的研究有差别^[7]。

表 1 sMICA 在不同肿瘤患者血清中含量的比较

Table 1 Levels of soluble MICA in different cancer patients

疾病	n	男/女	年龄(岁)	sMICA 浓度(pg/mL)
肝癌	141	118/23	52.7 ± 11.2 (24~75)	743.4 ± 110.8 ^a
肺癌	70	54/16	59.5 ± 10.5 (39~79)	192.3 ± 258.2
乳腺癌	57	0/57	50.0 ± 11.5 (29~72)	162.5 ± 116.1
胃癌	77	63/14	52.4 ± 12.4 (20~78)	264.4 ± 524.8
肠癌	58	39/19	58.8 ± 16.3 (13~89)	176.4 ± 147.9
宫颈癌与 卵巢癌	46	0/46	46.3 ± 8.9 (23~70)	168.3 ± 173.3
鼻咽癌	21	19/2	47.1 ± 10.9 (30~74)	238.2 ± 318.6
淋巴瘤	25	13/12	48.2 ± 13.6 (17~70)	140.9 ± 137.6
健康人群	141	81/60	44.0 ± 11.4 (22~70)	168.5 ± 56.7

a:与健康人群比较,P=0.003

2.2 HBV/HCV 感染对非肝癌肿瘤患者血清 sMICA 水平的影响

HBV/HCV 感染与非感染的非肝癌肿瘤患者血清中 sMICA 分子含量分别为 274.2 ± 407.1 pg/mL 和 195.8 ± 229.3 pg/mL,两组间比较差异无显著性(P=0.426)。

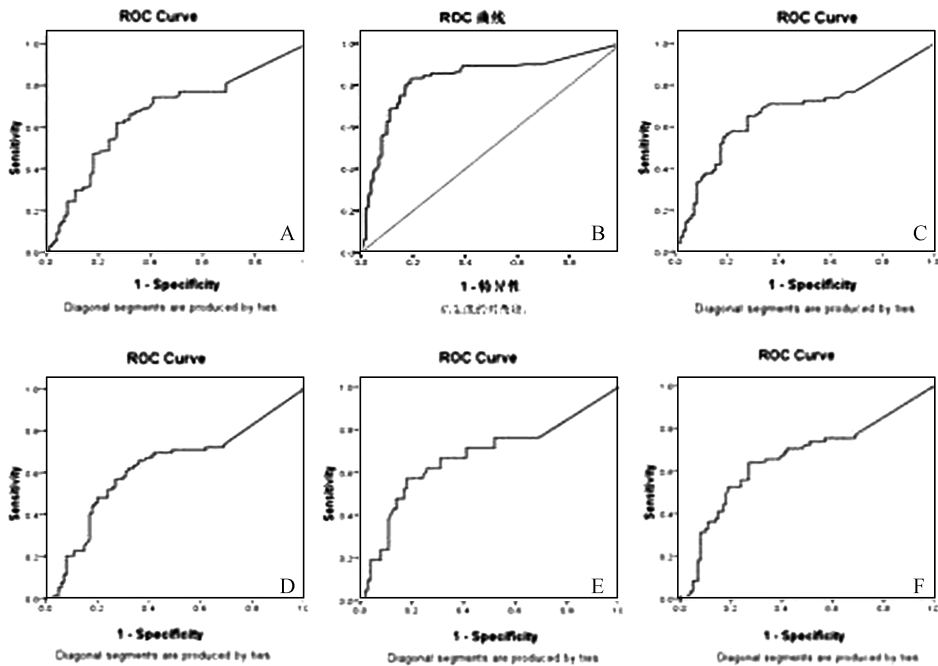


图1 恶性肿瘤患者 sMICA 含量的 ROC 曲线 A:胃癌,AUC=0.668;B:肝癌,AUC=0.843;C:肺癌,AUC=0.673;D:女性生殖系统恶性肿瘤,AUC=0.626;E:鼻咽癌,AUC=0.673;F:大肠癌,AUC=0.660

Fig.1 ROC curves of sMICA for malignant tumor

2.3 HBV/HCV 患者和肝癌患者血清 sMICA 含量的比较

肝癌组、乙肝组和丙肝组 sMICA 含量分别为 743.4 ± 110.8 pg/mL、 472.4 ± 103.6 pg/mL 和 474.9 ± 123.1 pg/mL,HBV/HCV 患者和肝癌患者之间血清 sMICA 含量差异存在显著性 ($P < 0.05$),乙肝和丙肝患者之间差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.4 sMICA 分子在恶性肿瘤中的诊断敏感度

根据相对健康人群百分位数的第 95 位数 (300 pg/mL),计算诊断敏感性,表明 sMICA 分子对肝癌 (45.6%) 有一定的诊断敏感度 (见表 2)。

表 2 恶性肿瘤的诊断敏感度

Table 2 Sensitivities of sMICA for cancer

组别	敏感度
肝癌组	45.6%
胃癌组	16.5%
肺癌组	17.7%
肠癌组	9.7%

3 讨 论

恶性肿瘤是临床的常见病、多发病,已有研究表

明包括肿瘤在内的多种疾病的发生与个体的遗传背景有密切关系,这其中的一些相关的分子机制已得到证实^[3,8]。细胞表面的膜型 MICA 分子可与 NK 细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞表面的 NKG2D 结合,激活 NK 细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞杀伤效应,在天然免疫中起着重要作用^[3],这种调节机制在肿瘤免疫、自身免疫和抗感染免疫等研究领域得到了广泛关注。MICA 基因的产物——sMICA 分子存在于各种恶性肿瘤患者和感染性患者的血清中^[9],sMICA 分子竞争性地与 NKG2D 结合,抑制 NK 细胞和 CD8⁺ T 细胞活化,是肿瘤细胞和感染细胞等逃避免疫反应的重要原因之一。研究表明 sMICA 分子与多种肿瘤的发生发展相关,是 sMICA 分子作为肿瘤免疫诊断的重要依据^[10-11]。研究发现,可溶性 MICA 是多发性骨髓瘤的独立诊断因子^[12]。前期研究也发现 38% (19/50) 的肝癌患者在移植前检出高 sMICA 血症,但在接受肝移植后,其 sMICA 分子含量可恢复到正常水平^[5],说明肿瘤细胞可分泌 sMICA 分子或促进膜型 MICA 分子脱落形成 sMICA 分子,ROC 曲线图下面积 (AUC) 在 0.5 ~ 0.7 时对疾病的诊断有较低准确性,AUC 在 0.7 ~ 0.9 时对疾病的诊断有一定准确性,AUC 在 0.9 以上时对疾病的诊断有较

高准确性。研究发现 sMICA 分子含量对于湖南籍汉族人群的肝癌有一定的辅助诊断价值或评价疗效价值 ($AUC = 0.843$), 而对于其他恶性肿瘤的诊断价值不大。以健康人群对照组百分位数的第 95 位数 (sMICA 含量为 300 pg/mL, 和国外文献[7] 相似) 为诊断标准, 恶性肿瘤患者中以肝癌的诊断敏感性最高, 为 45.6%, 其次为肺癌、胃癌, 最低为肠癌和女性生殖系统肿瘤, 均未到 10%, 和国外研究相差较大^[7]。

sMICA 分子与 NKG2D 受体结合, 能抑制 NK 细胞 $CD8^+T$ 细胞的活性。肿瘤患者血清中 sMICA 分子升高可下调 NK 细胞和 $CD8^+T$ 细胞的 NKG2D 受体表达^[7]。因此, sMICA 含量与肿瘤的进展与转移相关^[5]。本研究通过比较 495 例恶性肿瘤患者和健康人群 sMICA 分子含量, 发现在肿瘤性疾病中肝癌患者血清中的 sMICA 分子含量明显高于其他恶性肿瘤; 胃癌次之, 最低为女性生殖系统肿瘤和恶性淋巴瘤。上述结果与 Stefan 等^[7]的研究有所区别, 这可能与地域、人种的差异相关。通过研究 sMICA 分子含量在诊断不同肿瘤中的特异性和灵敏度, 发现 sMICA 分子在肝癌的诊断中具有较高的特异性和敏感性, 可以作为辅助诊断肝癌和观察肝癌治疗效果的辅助手段。

参考文献:

- [1] Kopp R, Glas J, Lau-Werner U, et al. Association of MICA-TM and MICB C12A microsatellite polymorphisms with tumor progression in patients with colorectal cancer [J]. J Clin Immunol, 2009, 29(4): 545-554.
- [2] Keisuke K, Tetsuo T, Tomohide T, et al. Serum levels of soluble major histocompatibility complex (MHC) class I-related chain A in patients with chronic liver diseases and changes during transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Sci, 2008, 99(8): 1643-1649.
- [3] Bauer S, Gron V, Wu J, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress inducible

- MICA[J]. Science, 1999, 285 (5428): 727-729.
- [4] Groh V, Wu J, Yee C, et al. Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation[J]. Nature, 2002, 419(6908): 734-738.
- [5] Zou YZ, Yang XL, Jiang XX, et al. High levels of soluble major histocompatibility complex class I related chain A (MICA) are associated with biliary cast syndrome after liver transplantation[J]. Tra Immunol, 2009, 21(4): 210-214.
- [6] Zou YZ, Stastny P. Alternatively spliced forms of MICA and MICB lacking exon 3 in a human cell line and evidence of presence of similar RNA in human peripheral blood mononuclear cells[J]. Immunogenetics, 2002, 54(9): 671-674.
- [7] Stefan H, Petra S, Andrea P, et al. Soluble MICA in malignant diseases [J]. Int J Cancer, 2006, 118(3): 684-687.
- [8] 王佑权, 谢文彪. HLA-G 分子在乳腺癌中的表达及意义[J]. 南华大学学报(医学版), 2007, 35(4): 551-553.
- [9] Chen Y, Cheng M, Tian Z. Hepatitis B virus down-regulates expressions of MHC class I molecules on hepatoplasoma cell line [J]. Cellular Molecular Immunology, 2006, 5(3): 373-378.
- [10] Mair T, Jessica MB, Sarah F, et al. Down-regulation of NKG2D and NKp80 ligands by Kaposi sarcoma-associated herpesvirus K5 protects against NK cell cytotoxicity [J]. PNAS, 2008, 105(5): 1656-1661.
- [11] Naela A, Adrian D, Alicia T, et al. Augmented serum level of major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) protein and reduced NKG2D expression on NK and T cells in patients with cervical cancer and precursor lesions[J]. BMC Cancer, 2008, 8(16): 1-10.
- [12] Salih HR, Antropius H, Gieseke F, et al. Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia [J]. Blood, 2003, 102(4): 1389-1396.