

# M2 型丙酮酸激酶在肝内胆管细胞癌组织中的表达及临床意义

朱泽斌, 张昆松, 殷晓煜, 赖佳明, 汪 谦, 梁力建, 郑朝旭  
(中山大学附属第一医院 胆胰外科, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】探讨 M2 型丙酮酸激酶(PKM2)在肝内胆管细胞癌(ICC)组织中表达以及临床意义。【方法】对中山大学附属第一医院 2008 年 1 月至 2010 年 9 月期间行手术治疗的 86 例 ICC 患者的癌组织及癌旁组织运用免疫组化方法检测 PKM2 的表达水平,统计学分析 PKM2 的表达与 ICC 患者临床病理特征之间的关系,并作生存分析及预后因素评估。【结果】ICC 组织中 PKM2 的表达明显高于癌旁组织( $P < 0.001$ )。癌组织中淋巴结转移患者中 PKM2 的表达明显高于非淋巴结转移患者( $P < 0.001$ );无远处转移患者中 PKM2 的表达明显低于远处转移者( $P = 0.002$ );发生低分化肿瘤的 PKM2 的表达明显高于中、高分化肿瘤( $P = 0.048$ );临床分期 IV 期的患者中 PKM2 表达明显高于 I、II、III 期患者( $P = 0.006$ );肿瘤有神经束侵犯的患者 PKM2 表达明显高于无神经束侵犯患者( $P = 0.024$ )。生存分析提示 ICC 患者中 PKM2 高表达组的 5 年生存率(0%)明显低于 PKM2 低表达组(15%),差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。单因素和多因素分析均表明 PKM2 的表达( $P < 0.001$ )和神经束侵犯( $P = 0.012$ )为 ICC 患者的不良预后因素。【结论】PKM2 与 ICC 的恶性特征密切相关,PKM2 为 ICC 患者不良预后的独立因素。

**关键词:**肝内胆管细胞癌;M2 型丙酮酸激酶;预后

**中图分类号:**R33      **文献标志码:**A      **文章编号:**1672-3554(2016)02-0242-06

## Expression and Clinical Significance of Pyruvate Kinase M2 in Intrahepatic Cholangiocarcinoma

ZHU Ze-bin, ZHANG Kun-song, YIN Xiao-yu, LAI Jia-ming, WANG Qian, LIANG Li-jian, ZHENG Chao-xu  
(Department of Biliary-pancreatic Surgery, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)  
Corresponding to: ZHENG Chao-xu, E-mail:zhengchaoxu@yahoo.com

**Abstract:**【Objectives】To investigate the expression and clinical significance of pyruvate kinase M2 (PKM2) in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC). 【Methods】A total of 86 ICC patients who underwent surgical treatment between January 2008 and September 2010 were involved in this study. The expression of PKM2 in 86 pairs of ICC tissues and adjacent non-carcinomatous tissues was detected by immunohistochemistry. Then the correlation between the expression of PKM2 and the clinicopathological characteristics of ICC patients was analyzed by statistical methods. Kaplan-Meier survival analysis was performed to evaluate the prognostic factors in ICC patients. 【Results】The expression of PKM2 in ICC tissues was significantly higher than that in adjacent non-carcinomatous tissues ( $P < 0.001$ ). PKM2 levels were significantly higher in ICC cases with lymphatic metastasis than that without lymphatic metastasis ( $P < 0.001$ ), likewise in poorly differentiated adenocarcinomas than that in well and moderately differentiated adenocarcinomas ( $P = 0.048$ ). PKM2 expression in ICC patients without distant metastasis was significantly lower than that in patients with distant metastasis ( $P = 0.002$ ). PKM2 expression in ICC patients with clinical stage IV was significantly higher than that in the patients with clinical stage I, II and III ( $P = 0.006$ ). PKM2 levels were also significantly higher in ICC cases with perineural invasion than that without perineural invasion ( $P = 0.024$ ). The 5-years overall survival rate in high PKM2 expression group (0%) was significantly lower than that in low PKM2 expression group (15%) of ICC patients ( $P < 0.001$ ). Univariate and multivariate analysis demonstrated that PKM2 expression ( $P < 0.001$ ) and perineural invasion ( $P = 0.012$ ) were adverse significant prognostic

收稿日期:2015-10-23

基金项目:广东省科技计划项目(2012B031800284)

作者简介:朱泽斌,医学硕士,研究方向:胆管恶性肿瘤的侵袭、转移机制研究,E-mail:18826431159@163.com;郑朝旭,通信作者,主任医师,E-mail:zhengchaoxu@yahoo.com

factors for ICC patients.【Conclusions】 PKM2 high expression was associated with malignant characteristics of ICC. PKM2 could be used as an independent prognostic factor for ICC patients.

**Key words:** intrahepatic cholangiocarcinoma; pyruvate kinase M2; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci),2016,37(2):242-247]

肝内胆管细胞癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 占有胆管恶性肿瘤不足 10% 的比例<sup>[1]</sup>, 根治性手术切除和肝移植术为 ICC 的主要治疗手段, 但由于其早期侵犯周围组织和淋巴结转移的特性, 患者预后往往很差, 国外报道 ICC 术后 5 年生存率在 30% 左右<sup>[2]</sup>。肿瘤的转移和复发是 ICC 患者死亡的主要原因。近年来, M2 型丙酮酸激酶 (pyruvate kinase M2, PKM2) 在各种人实体恶性肿瘤中的作用和临床意义逐渐被研究者们重视。PKM2 在恶性肿瘤中的研究开始于 Warburg 效应的发现。Warburg 效应是指肿瘤细胞在有氧条件下糖酵解代谢 (无氧代谢) 依然明显活跃的特征。一般情况下, 人体正常细胞在有氧条件下会进行氧化磷酸化代谢 (有氧代谢) 途径, 而在相对缺氧条件下正常细胞可通过糖酵解途径活动提供自身所需的能量。研究报道 PKM2 能够促进恶性肿瘤细胞的侵袭和转移, 包括肝癌<sup>[3]</sup>、胃癌<sup>[4]</sup>、胰腺癌<sup>[5]</sup>、结直肠癌<sup>[6]</sup> 等消化系统肿瘤, 并且指出 PKM2 可作为预测癌症患者不良预后的独立因素。至今为止, 国内外有关 PKM2 在 ICC 中的研究为数不多, 其中 PKM2 对 ICC 患者的预后作用未见报道。本研究中, 我们探讨 PKM2 在 ICC 中的表达和其临床意义, 有助于了解 PKM2 在 ICC 进展过程中的作用, 从而为 ICC 的诊断、治疗、预后评估提供新思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 患者和样本

选取在中山大学附属第一医院 2008 年 1 月至 2010 年 9 月期间进行根治性手术治疗的 ICC 患者, 共收集到 86 例癌组织标本和癌旁组织标本。癌旁组织为距肿瘤边缘 2 cm 以上的正常组织, 经我院病理科证实切缘阴性, 并且镜下观察证实无肿瘤细胞存在。本次研究中纳入的 ICC 患者术前均未行放、化疗, 无罹患其他恶性肿瘤。根据第七版 AJCC 肿瘤分期指南, 对 ICC 进行 TNM 分期。86 例患者中位年龄为 57 岁 (31 ~ 76 岁), 肿瘤大小 (测量手术标本的直径) 的中位数为 6 cm (2 ~

18 cm)。患者的一般情况和临床资料见表 1。术后通过电话方式进行随访, 生存时间定义为从手术日期计算到截止最后一次随访日期或者死亡日期。截止到 2015 年 7 月 1 日, 共随访到 65 例患者资料并计算出生存时间, 随访率为 75.6%, 5 年生存率为 8.0%, 中位生存期为 7.2 月 (2 ~ 81 月)。

表 1 ICC 患者的一般情况和临床资料

Table 1 The general condition and clinicopathologic characteristics of ICC patients

		No. of cases (%)
Gender	Male	53 (61.6)
	Female	33 (38.4)
Age /years	≤57	44 (51.2)
	>57	42 (48.8)
Tumor stage	T1	37 (43.0)
	T2	23 (26.7)
	T3	9 (10.5)
	T4	17 (19.8)
Distant metastasis	Negative	68 (79.1)
	Positive	18 (20.9)
Lymphatic metastasis	Negative	44 (51.2)
	Positive	42 (48.8)
Vital status	Alive	5 (7.7)
	Death	60 (92.3)
Expression of PKM2	Low expression	51 (59.3)
	High expression	35 (40.7)
Tumor diameter	≤6 cm	36 (60)
	>6 cm	24 (40)
Clinical stage	I	16 (18.6)
	II	13 (15.1)
	III	5 (5.8)
	IV	52 (60.5)
Differentiation	Poor	34 (39.5)
	Moderate	44 (51.2)
	Well	8 (9.3)
Perineural invasion	Negative	69 (80.2)
	Positive	17 (19.8)

### 1.2 免疫组化实验

标本经过甲醛溶液固定、石蜡包埋, 5 mm 厚

的标本切片行免疫组化实验。切片经过脱蜡、水化后利用  $H_2O_2$  溶液封闭内源性过氧化物酶活性, 然后行抗原修复, 封闭非特异性抗原后在湿盒中滴加兔抗人 PKM2 抗体 (1:1000, Cell Signaling Technology), 一抗稀释液购自北京中杉金桥公司。放入  $4\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱孵育过夜, 第二天室温孵育二抗(迈新公司, 中国福州)15 min, 利用 DAB 染色试剂盒(迈新公司, 中国福州)进行 DAB 显色, 并在显微镜下控制染色时间。然后利用苏木素复染, 再经过脱水, 最后用中性树脂胶进行封片。

### 1.3 结果和评分

光学显微镜下观察到黄褐色颗粒即为阳性表达, 本次研究中 PKM2 蛋白主要表达于肿瘤细胞的胞浆。由经验丰富的两名病理科医师观察每张切片的染色强度和染色面积, 并根据以下标准<sup>[7]</sup>对染色强度进行评分: 0 分代表无阳性染色; 1 分代表染色部位为淡黄色(弱染色); 2 分代表染色部位为棕黄色(中度染色); 3 分代表染色部位为棕褐色(强染色)。染色面积根据以下标准进行评分: 0 分代表无阳性染色; 1 分代表阳性染色面积  $< 30\%$ ; 2 分代表阳性染色面积达到  $30\% \sim 60\%$ ; 3 分代表阳性染色面积  $> 60\%$ 。将染色强度评分与染色面积评分的乘积作为最终 PKM2 在组织中的表达评分, 即有 7 种结果, 分别为: 0, 1, 2, 3, 4, 6, 9 分。评分经过统计学分析后选取 4 分(中位数)为临界值, 则  $> 4$  分为高 PKM2 表达,  $\leq 4$  分为低 PKM2 表达。

### 1.4 统计学分析

本次研究中所有数据经过 SPSS16.0 软件(SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)进行统计学分析。卡方检验用于比较分类变量间差异, 对于不服从

正态分布的计数资料运用 Wilcoxon 秩和检验, 利用 Kaplan-Meier 法进行生存分析, 运用 Cox 回归模型对患者预后因素进行单因素和多因素分析。当  $P < 0.05$  时, 认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PKM2 在 ICC 患者癌组织及癌旁组织中的表达

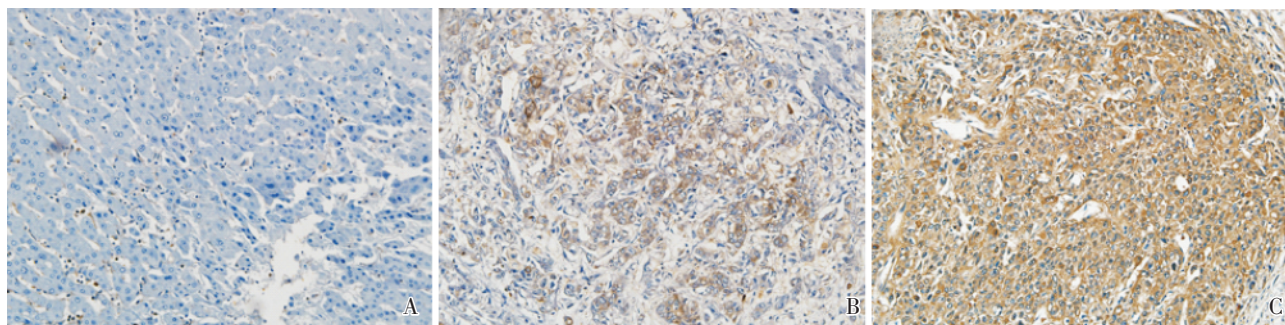
PKM2 明显表达于 ICC 患者癌组织中的肿瘤细胞中, 而在癌旁非肿瘤组织中很少表达或无表达(图 1)。统计学分析表明 PKM2 的表达评分在癌组织中明显高于癌旁组织(评分中位数分别 4 和 1,  $Z = -8.064$ ,  $P < 0.001$ ; 图 2)。

### 2.2 PKM2 的表达与 ICC 患者的临床特征有关

统计学分析显示淋巴结转移患者中 PKM2 的表达明显高于非淋巴结转移患者 ( $P < 0.001$ ); 无远处转移患者中 PKM2 的表达明显低于远处转移者 ( $P = 0.002$ ); 发生低分化肿瘤的 PKM2 的表达明显高于中、高分化肿瘤 ( $P = 0.048$ ); 临床分期 IV 期的患者中 PKM2 表达明显高于 I、II、III 期患者 ( $P = 0.006$ ); 肿瘤有神经束侵犯的患者 PKM2 表达明显高于无神经束侵犯患者 ( $P = 0.024$ )。而 PKM2 的表达与 ICC 患者性别、年龄、T 分级以及肿瘤大小无明显相关性(表 2)。

### 2.3 PKM2 的表达对 ICC 患者的预后作用分析

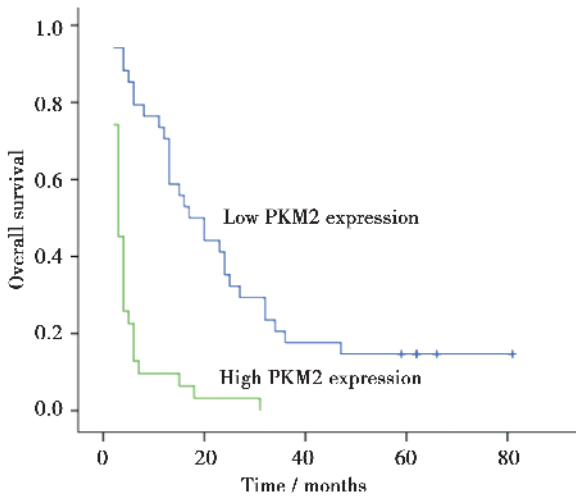
生存分析提示 ICC 患者中 PKM2 高表达组的 5 年生存率 (0%) 明显低于 PKM2 低表达组 (15%), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。我们进一步单因素和多因素分析 PKM2 的表达与临床病理因素对 ICC 患者预后的影响。临床病理因素包



A: ICC adjacent non-carcinomatous tissues, no expression of PKM2; B: ICC tissues without lymphatic metastasis, low expression of PKM2; C: ICC tissues with lymphatic metastasis, high expression of PKM2.  $\times 200$

图 1 ICC 患者癌组织及癌旁组织中的 PKM2 表达

Fig.1 Expression of PKM2 in ICC tissues and adjacent non-carcinomatous tissues



Kaplan-Meier plots of 5-years overall survival in high PKM2 expression groups and low PKM2 expression groups. The overall survival rate in high PKM2 expression groups was significantly lower than that in low PKM2 expression groups ( $P < 0.001$ ).

图 3 ICC 患者中 PKM2 高表达组和低表达的总生存率比较

Fig.3 Comparison of overall survival in high PKM2 expression groups and low PKM2 expression groups of ICC patients

括:性别、年龄、T 分级、淋巴结转移、远处转移、临床分期、肿瘤分化、肿瘤大小和神经束侵犯情况。在单因素分析中,当该因素的  $P$  值小于 0.1 时,则纳入多因素分析中。单因素和多因素分析均表明 PKM2 的表达 ( $P < 0.001$ ) 和神经束侵犯 ( $P = 0.012$ ) 为 ICC 患者的不良预后因素(表 3)。

### 3 讨论

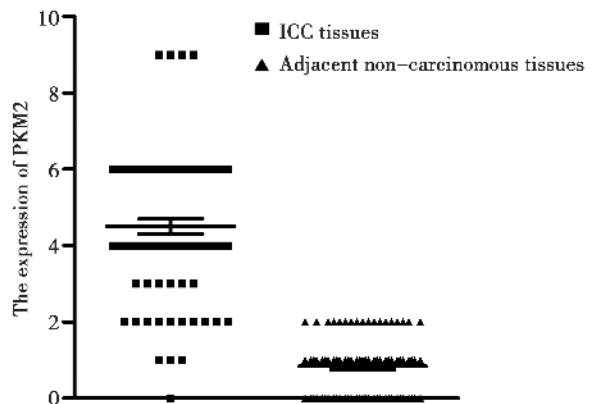
近些年来,全世界范围内 ICC 的发病率逐年上升<sup>[8]</sup>,日益威胁人类的健康。积极探究 ICC 的侵袭、转移机制有助于发现新的肿瘤生物标记分子,能够为将来的肿瘤分子靶向治疗提供可靠的理论基础。目前,肿瘤与机体糖代谢异常相互关系的研究成为热点。

研究表明,糖代谢异常的人群更容易罹患肿瘤,且糖代谢异常的肿瘤患者的死亡风险高于糖代谢正常的肿瘤患者<sup>[9]</sup>。其中的机制包括糖代谢异常患者存在高糖血症及高脂血症<sup>[10]</sup>,体内的氧自由基增多,损伤正常细胞及易发生基因突变;另外体内的胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth

表 2 PKM2 的表达与 ICC 患者临床病理特征的关系  
Table 2 Relationship of PKM2 expression with clinicopathologic characteristics of ICC patients

Characteristics	PKM2 expression		$P$ value <sup>1)</sup>	
	High	Low		
Gender	Male	25	28	0.122
	Female	10	23	
Age/years	≤57	18	26	0.967
	>57	17	25	
Tumor stage	T1	17	20	0.632
	T2	9	14	
	T3	2	7	
	T4	7	10	
Lymphatic metastasis	Negative	9	35	<0.001
	Positive	26	16	
Distant metastasis	Negative	22	46	0.002
	Positive	13	5	
Clinical stage	I	3	13	0.006
	II	2	11	
	III	1	4	
	IV	29	23	
Differentiation	Poor	15	19	0.048
	Moderate	20	24	
	Well	0	8	
Tumor size	≤6 cm	19	17	0.399
	>6 cm	10	15	
Perineural invasion	Negative	24	45	0.024
	Positive	11	6	

1) Chi-square test.



Wilcoxon test, the scores of PKM2 expression in ICC tissues were significantly higher than that in adjacent non-carcinomatous tissues (the medium of PKM2 scores in ICC tissues was 4, the medium of PKM2 scores in adjacent non-carcinomatous tissues was 1,  $Z = -8.064, P < 0.001$ )

图 2 ICC 癌组织和癌旁组织中 PKM2 的表达评分情况  
Fig.2 The scores of PKM2 expression in ICC tissues and adjacent non-carcinomatous tissues

表 3 ICC 患者预后因素的单因素和多因素分析

Table 3 Univariate and multivariate analyses for prognostic factors in ICC patients

Prognostic factors	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	<i>P</i> value	Regression coefficient (SE)	<i>P</i> value	Relative risk (95%CI)
Gender	0.773	0.077 (0.267)	-	-
Age	0.162	-0.017 (0.012)	-	-
PKM2 expression	<0.001	1.540 (0.299)	<0.001	3.995 (1.960-8.142)
T	0.567	0.065 (0.113)	-	-
N	0.003	0.824 (0.276)	0.515	-
M	0.005	0.824 (0.293)	0.876	-
Clinical stage	0.007	0.347 (0.129)	0.731	-
Differentiation	0.264	0.215 (0.193)	-	-
Tumor size	0.273	-0.341 (0.311)	-	-
Perineural invasion	0.002	1.060 (0.348)	0.012	2.495 (1.223-5.090)

Once the *P* value of factors was less than 0.1 in the univariate analyses, the factors were then brought into the multivariate analyses

factor-1, IGF-1)生成增多,可促进细胞增殖及抑制凋亡。

本次研究中我们发现 PKM2 在 ICC 组织中存在异常高表达,并且淋巴结转移及远处转移患者中 PKM2 表达高于非转移者,有神经束侵犯的患者 PKM2 表达明显高于无神经束侵犯患者。这些结果提示 PKM2 在 ICC 的侵袭、转移过程中发挥重要作用。有关 PKM2 促进 ICC 细胞的侵袭、转移机制研究还有待于通过分子生物学实验进一步阐明。

丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)参与催化糖酵解的最后一步反应,使磷酸烯醇丙酮酸和 ADP 反应生成丙酮酸和 ATP,PKM2 作为 PK 的一种亚型,近些年来研究表明其多表达于胚胎和肿瘤组织中。PKM2 基因的表达受多种细胞信号分子和通路的调节,包括 HIF-1 $\alpha$ <sup>[11]</sup>、NF- $\kappa$ B<sup>[12]</sup>、STAT6<sup>[13]</sup>等。PKM2 在恶性肿瘤细胞的糖酵解途径中发挥重要作用,以满足其迅速增殖和高代谢的能量需求。最近几年,PKM2 在人体恶性肿瘤中的作用和临床意义越来越受重视。Navaneethan 等<sup>[14]</sup>在 34 例恶性胆道狭窄患者的胆汁中发现 PKM2 异常高表达,并提出胆汁 PKM2 水平在临床上可作为鉴别胆道良、恶性狭窄的一项有用的指标。Suzuki 等<sup>[15]</sup>在 19 例 ICC 患者组织的免疫组化研究中发现 PKM2 与 ICC 淋巴结转移相关,但关于 PKM2 对 ICC 患者的预后作用未做分析。蔡观福等<sup>[16]</sup>研究发现结肠癌患者粪便中 PKM2 水平明显高于正常者,

PKM2 水平可作为结直肠癌的检测指标。Li 等<sup>[17]</sup>在 115 例胆管癌(ICC,肝外胆管癌和混合型胆管癌)的研究中发现患者血浆中 PKM2 水平明显高于正常者及良性疾病患者,并指出 PKM2 对胆管癌的早期诊断价值优于 CA-199。本次研究中,我们分析了 86 例 ICC 患者癌组织标本中 PKM2 的表达与其临床病理特征之间的关系,发现 PKM2 表达与 ICC 的淋巴结转移,远处转移,临床分期,肿瘤分化以及神经束侵犯有关。并且发现 PKM2 的表达可作为 ICC 患者不良预后的独立因素。这些研究均表明,PKM2 在 ICC 中存在异常高表达,将来有望成为评估 ICC 患者预后的生物学指标。

综上所述,我们发现 ICC 癌组织中 PKM2 的表达明显高于癌旁组织,PKM2 与 ICC 的恶性特征密切相关,另外 PKM2 可作为 ICC 患者不良预后的独立因素。这为进一步研究 PKM2 在 ICC 发生、发展中的机制研究提供基础,也为 ICC 的诊断、治疗、预后评估提供新思路。

#### 参考文献

- [1] RAZUMILAVA N, GORES GJ. Cholangiocarcinoma[J]. *Lancet*, 2014, 383(9935): 2168-2179.
- [2] DE JONG MC, NATHAN H, SOTIROPOULOS GC, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: an international multi-institutional analysis of prognostic factors and lymph node assessment [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(23): 3140-3145.
- [3] LIU WR, TIAN MX, YANG LX, et al. PKM2 promotes

- metastasis by recruiting myeloid-derived suppressor cells and indicates poor prognosis for hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(2): 846-861.
- [4] WANG LY, LIU YP, CHEN LG, et al. Pyruvate kinase M2 plays a dual role on regulation of the EGF/EGFR signaling via E-cadherin-dependent manner in gastric cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67542.
- [5] FENG J, MA T, GE Z, et al. PKM2 gene regulates the behavior of pancreatic cancer cells via mitogen-activated protein kinase pathways [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(3): 2111-2117.
- [6] ZHOU CF, LI XB, SUN H, et al. Pyruvate kinase type M2 is upregulated in colorectal cancer and promotes proliferation and migration of colon cancer cells [J]. *IUBMB Life*, 2012, 64(9): 775-782.
- [7] CHANG B, LI S, HE Q, et al. Deregulation of Bmi-1 is associated with enhanced migration, invasion and poor prognosis in salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects*, 2014, 1840(12): 3285-3291.
- [8] DOUSSOT A, GROOT-KOERKAMP B, WIGGERS JK, et al. Outcomes after Resection of Intrahepatic Cholangiocarcinoma: External Validation and Comparison of Prognostic Models [J]. *J Am Coll Surg*, 2015, 221(2): 452-461.
- [9] SALVATORE T, MARFELLA R, RIZZO MR, et al. Pancreatic cancer and diabetes: A two-way relationship in the perspective of diabetologist[J]. *Int J Surg*, 2015, 21 Suppl 1: S72-S77.
- [10] FEDIRKO V, LUKANOVA A, BAMIA C, et al. Glycemic index, glycemic load, dietary carbohydrate, and dietary fiber intake and risk of liver and biliary tract cancers in Western Europeans [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(2): 543-553.
- [11] LUO W, HU H, CHANG R, et al. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1[J]. *Cell*, 2011, 145(5): 732-744.
- [12] YANG W, XIA Y, CAO Y, et al. EGFR-induced and PKCepsilon monoubiquitylation-dependent NF-kappaB activation upregulates PKM2 expression and promotes tumorigenesis[J]. *Mol Cell*, 2012, 48(5): 771-784.
- [13] SAJIC T, HAINARD A, SCHERL A, et al. STAT6 promotes bi-directional modulation of PKM2 in liver and adipose inflammatory cells in rosiglitazone-treated mice [J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 2350.
- [14] NAVANEETHAN U, LOURDUSAMY V, POPTIC E, et al. Comparative effectiveness of pyruvate kinase M2 in bile, serum carbohydrate antigen 19-9, and biliary brushings in diagnosing malignant biliary strictures [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(4): 903-909.
- [15] SUZUKI H, KOMUTA M, BOLOG A, et al. Relationship between 18-F-fluoro-deoxy-d-glucose uptake and expression of glucose transporter 1 and pyruvate kinase M2 in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Dig Liver Dis*, 2015, 47(7): 590-596.
- [16] 蔡观福,汪建平,黄奕华,等. 粪便中肿瘤 M2 型丙酮酸激酶联合潜血试验检测结直肠癌的效率分析 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2006(03): 350-353.
- CAI GF, WANG JP, HUANG YH, et al. Evaluation of fecal tumor M2 Pyruvate Kinase combined with fecal occult blood test as a detecting tool for color ectal cancer [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci)*, 2006(03): 350-353.
- [17] LI YG, ZHANG N. Clinical significance of serum tumour M2-PK and CA19-9 detection in the diagnosis of cholangiocarcinoma [J]. *Dig Liver Dis*, 2009, 41(8): 605-608.

(编辑 王晓鹰)