

很难发现的,在临床能发现肿块前,肿瘤的隐匿阶段平均为 12 年,等到有明显症状时大都已是晚期,只能选择手术切除或是放射治疗,对于患者来说,痛苦大并且可能影响到生活质量,因此如何早期发现一直是研究的热点问题。

Iorio 等比较了 10 例正常乳腺组织和 76 例新生乳腺癌组织中 miRNA 的表达谱,发现 miR-125b、miR-145、miR-21 和 miR-155 的表达在乳腺癌组织中显著降低^[12],其中 miR-155 降低的程度尤为明显,miRNA 的表达与乳腺癌的病理生理学特征,如分期、增殖指数、雌激素和孕甾酮受体^[13]的表达以及血管受侵有关^[14]。

乳腺癌作为一种人群中高发恶性肿瘤,在早期诊断方面缺少决定性的实验室检测依据。原癌基因与抑癌基因的测定缺少特异性,而 CA153 等糖类抗原标记物一方面特异性不是很高,另一方面在早期敏感度也较低。近年来发现的一些蛋白标记物及激素受体由于测定方法受限,而成为该项方法的瓶颈。miRNA 的检测手段如 qRT-PCR、基因芯片技术近年来获得飞速发展,在样本中即使含量只有几个拷贝也能准确检出,这就为临床的早期诊断提供了可能^[15]。

miR-155 是一种已经被证实与乳腺癌发病相关的 miRNA^[12],其在乳腺癌组织中的表达与正常组织相比明显下调,且这种差异具有显著性。而 Tewari 研究组关于 miRNA 可以在血液中稳定存在的发现为在血液中检测 miR-155 提供了可能。

3 展 望

现今,研究血中 miRNA 的差异表达及其表达谱的变化与肿瘤间的相互关系^[13-15]成为各国学者的研究热点,该研究成果必将具有划时代的意义,也将带来新一轮的检验革命。

参考文献

[1] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proceedings National Academy Sci, 2008, 105: 10513-10518.
 [2] Hunter MP, Ismail N, Zhang X, et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. [J]PLoS One, 2008, 3(11):3694-3701.
 [3] Hagan JP, Croce CM. MicroRNAs in carcinogenesis[J]. Cytogenet Genome Res, 2007, 118:252-259.
 [4] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of

tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2008, 110:13-21.
 [5] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum; a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10):983-984.
 [6] Gilad S, Meiri E, Yegorov Y, Benjamin S, Lebanony D, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers[J]. PLoS ONE, 2008, 3:e3148-e3152.
 [7] Lawrie CH, Gal S, Duncop HM, et al. Detection of elevated levels of tumor-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. Br J Haematol, 2008, 141:672-675.
 [8] Chim SS, Shing TH, Hung EC, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma [J]. Clin Chem, 2008, 54(3):482-490.
 [9] Tsang JC, Lo YM. Circulating nucleic acids in plasma/serum[J]. Pathology, 2007, 39:197-207.
 [10] 丁倩, 钟雪云. miRNA 在肿瘤研究中的应用[J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(6):1204-1206.
 [11] 万菁. 外周血 miRNA 作为肿瘤标志物的研究进展[J]. 肿瘤, 2009, 29(6):597-599.
 [12] Jiang S, Zhang HW, Lu MH, et al. MicroRNA-155 functions as an OncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene[J]. Cancer Res, 2010, 70(8):3119-3127.
 [13] Li H, Bian C, Liao L, et al. miR-17-5p promotes human breast cancer cell migration and invasion through suppression of HBP1[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 5: 27-31.
 [14] Wright JA, Richer JK, Goodall GJ. microRNAs and EMT in mammary cells and breast cancer [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 45(2):213-223.
 [15] O'Day E, Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(2):201-206.

(收稿日期:2010-05-08)

即时检验在免疫学检测中的应用

余明杰, 王 萍, 韩媛媛, 王 坤(安徽省亳州市人民医院检验科 236800)

【关键词】 即时检验; 免疫学; 实验室技术和方法; 快速诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.063

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)18-2027-03

即时检验(point-of-care testing, POCT)作为临床检验领域新出现的一种检验手段,正日益受到人们的重视。特别是近几年随着免疫学技术和自动化技术的发展,POCT 被广泛应用在免疫学试验中,为很多临床疾病的快速诊断提供了有效的辅助手段。2007 年,美国有近 80% 的实验室工作在 POCT 上完成^[1],因此就目前的发展趋势来看,在不远的将来,随着免疫检

测 POCT 方法的进一步开发应用,POCT 有可能覆盖整个一般小实验室的所有免疫检测项目。POCT 的目的是提供准确的、可信的、低成本的、并且能在短时间反馈患者情况的信息系统。近年来,POCT 也用于急诊检验和其他的门诊检验,以提高检测速度和减少人工操作。

1 免疫项目的 POCT 检测技术

1.1 斑点免疫渗滤法(DIGFA) 氯金酸(HauCl_4)在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下,聚合成特定大小的金颗粒,这些颗粒由于静电作用成为一种稳定的胶体状态,故称胶体金^[2]。免疫金标记技术主要有 DIGFA 和斑点免疫层析法(DICA)。DIGFA 是将包被有特异性待测物抗原(抗体)的醋酸纤维素膜放置于吸水材料上,当标本滴加到膜上后,样品中的待测物质结合到膜上的抗原(抗体)上,洗去膜上未结合的成分后,再滴加金标抗体,若样品中含有目标物质,膜上则呈现 Ab-Ag-Ab 金复合物红色斑点^[3]。

1.2 DICA 将免疫反应局限于测试板或测试条中,利用多孔基质作为反应池,在非均相免疫检测(渗滤)中作为固相;或者沿着多孔材料(利用横流原理)分离待测成分,凭借固定在层析带表面的特异性抗体捕获目标分析物,然后加入标记(彩色胶乳或金胶颗粒)二抗,同已经结合有一抗的分析物形成夹心^[4]。与固定于测试板或测试条中的可测项目(包括感染性疾病的衣原体、肿瘤标志物、心肌标志物、D-二聚体、激素、毒品、尿清蛋白以及药物等)反应来进行检测^[5]。

1.3 免疫荧光技术 由于医疗诊断技术的发展,对灵敏度的要求有了新的提高。而金标法因为没有类似于酶标、荧光等的二次放大系统,灵敏度上有一定程度的缺陷。因此新一代 POCT 仪器有不少使用了免疫荧光技术,通过检测板上激光激发的荧光,可同时定量检测以 pg/mL 为单位的检测板上单个或多个标志物。检测系统由一个荧光读数仪和检测板组成,检测板使用的是层析法,分析物在移动的过程中形成免疫复合物的形式,通过检测区域/质控区域的值与分析物不同的浓度获得的定标曲线,可检测未知样本中分析物的浓度。

2 POCT 在免疫检测中的应用及注意事项

2.1 应用

2.1.1 心肌标志物 心肌标志物检测的主要应用是能够及时准确地反映心肌受损的严重程度。随着心脏事件[顽固性心绞痛、急性心肌梗死(AMI)、心源性猝死、急性冠脉综合征、心力衰竭等]发生率增高,心肌标志物得到越来越广泛的应用。目前心肌标志物中的肌红蛋白(MYO 是早期反映心肌损伤敏感的血清标志物,是早期诊断 AMI 最重要的指标)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、B 型钠尿肽(BNP)等指标都可以用 POCT 方法测定,这对于心肌损伤性疾病特别是心肌梗死的早期诊断和及时采取有效的治疗措施具有非常重要的意义。

2.1.2 肿瘤标志物 肿瘤标志物测定在临床上已应用了许多年,为临床诊断肿瘤和疗效观察起到重要的作用,是判断肿瘤治疗效果和复发的主要依据。通过对肿瘤患者治疗前后及随访中肿瘤标志物浓度变化的监测,可以了解肿瘤治疗效果,并判断其预后,为进一步治疗提供有效帮助。目前可以用 POCT 方法测定的^[6]肿瘤标志物包括:癌胚抗原、甲胎蛋白、前列腺特异抗原等,其中甲胎蛋白仍然是诊断肝癌的最佳标志物。

2.1.3 感染性疾病的检测 由于从感染开始到抗体反应可被检测到之间有数天至数周的滞后,而且血清中 IgG 抗体的出现还有可能是既往的感染而非当前的感染,因此特异性的短期分析以及快速出现的 IgM 抗体对诊断当前感染具有更大的潜力^[7]。目前可以做的项目有:肺炎支原体、解脲支原体、衣原体、幽门螺杆菌等。

2.1.4 病毒抗原抗体的检测 由于新的《医疗事故处理条例》实行举证责任倒置,为了防止发生医疗纠纷,同时也为了避免和预防患者院内感染和医护人员的职业感染^[8],许多医院已经对患者进行手术前、输血前、产前病毒抗原抗体的检测。而大多数的病毒抗原抗体都可以用 POCT 快速检测出结果,为合理地抢救患者争取时间。比较常见的有:甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒抗体、梅毒螺旋体抗体的检测等。

2.1.5 激素的检测 主要有诊断早早孕的人绒毛膜促性腺激素(HCG)和检测排卵的促黄体生成素(LH)及促卵泡激素(FSH)等。血液 HCG 检测临床已应用多年,并且是一个非常具有价值的指标,特别是血 HCG 对诊断临床急腹症——宫外孕更需要及时性、准确性,否则可能危及患者生命^[9]。而 POCT 检测能更快的为临床提供参考。

2.2 注意事项 POCT 检测可由检验科人员操作,也可由医师、护士和其他非专业人员操作,但必须经过一定的训练^[9-10],按照一定的操作要求,并符合一定的质量控制要求来进行。开展 POCT 管理人员安排模式,由专人担任 POCT 委员会负责人,明确床边检验协调人的职责,多方面综合考虑选购仪器,严格按仪器说明书进行定标、质量控制及检验,并定期与中心实验室进行比对。对于某些定性试验的弱阳性结果要注意用一些鉴别试验才能最终报告。

参考文献

- [1] 杨振华, 检验医学自动化及临床应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1.
- [2] 赵卫国. 即时检验 POCT[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 173.
- [3] 丛玉隆. 临床应用与存在的问题[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(12): 1325-1328.
- [4] Oh SW, Moon JD, Park SY, et al. Evaluation of fluorescence hs-CRP in-munoassay for point-of-care testing[J]. Clin Chin Acta, 2005, 356 (1-2): 172-175.
- [5] Hallani H, Leung DY, Newland E, et al. Use of a quantitative point-of-care test for the detection of serum cardiac troponin T in patients with suspected acute coronary syndromes[J]. Intem Med J, 2005, 35(9): 560-566.
- [6] 孙艳虹, 姜悦. 肿瘤标志物在临床上的应用[J]. 新医学, 2008, 39(3): 201.
- [7] 张文兰, 胡同平, 王树平, 等. 输血前及术前感染性疾病标志物的检测与意义[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(1): 78-79.
- [8] 陈鸣放, 王亚华. 斑点金定量法和 RIA 法测定血清 HCG 方法学比较[J]. 中国医药指南, 2009, 7(16): 116-117.
- [9] 吴建芳. 重点照顾检验技术研究现状及进展[J]. 九江医学, 2009, 24(2): 88-90.
- [10] 李静, 王小中. POCT 的发展及其应用[J]. 江西医药, 2008, 43(1): 56-58.