

多肿瘤标志物联合检测在消化系统肿瘤诊断中的应用评价

蒋丽华, 曹进平(安徽省芜湖市第二人民医院检验科 241000)

【摘要】 目的 探讨多肿瘤标志物蛋白芯片(简称 C12)技术在消化系统肿瘤诊断中的应用价值。**方法** 应用 C12 检测系统检测 90 例消化系统肿瘤患者血清中 12 项肿瘤标志物,包括糖类抗原(CA)125、人绒毛膜促性腺激素(HCG)、CA242、铁蛋白、CA15-3、游离前列腺特异性抗原(Free-PSA)、人生长激素、CA19-9、癌胚抗原(CEA)、甲胎蛋白(AFP)、神经元特异性烯醇化酶、前列腺特异性抗原,分析和比较不同组合肿瘤标志物在诊断中的应用价值。**结果** 90 例消化系统肿瘤患者肿瘤标志物阳性率较高的有 CA19-9 66.7%,CA242 55.6%,CA125 50.0%,CEA 41.1%,AFP 23.3%,铁蛋白 20.0%;CA19-9+CA242+CA125+CEA 组合与 C12 联合检测差异无统计学意义($P<0.05$),再增加测试组合并未明显提高检出阳性率。**结论** C12 对消化系统肿瘤的临床诊断有一定辅助作用,有必要开发和制备具有较强针对性、经济实用的新型多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统,以增强其临床实际应用价值。

【关键词】 肿瘤标记;生物学;蛋白质阵列分析;消化系统肿瘤

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.17.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)17-2074-02

Application evaluation of multi-tumor markers combination detection in diagnosis of alimentary system tumor JIANG Li-hua, CAO Jin-ping (Department of Clinical Laboratory, Wuhu Second People's Hospital, Wuhu, Anhui 241000, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the application value of multi-tumor markers protein biochip technology in the diagnosis of alimentary system tumors. **Methods** 12 kinds of tumor remarks in 90 patients with alimentary system tumor were detected by means of multi-tumor markers detecting system. Meanwhile the diagnostic values of different combinations of tumor remarks were analyzed and compared. **Results** The higher positive rates of tumor remarks were CA19-9 (66.7%), CA242 (55.6%), CA125 (50.0%), CEA (41.1%), AFP (23.3%), ferritin (20.0%). There were no statistical difference between CA19-9 + CA242 + CA125 + CEA and C12 combination detection ($P<0.05$). Reincreasing the detection combinations did not elevate the positive detection rate significantly. **Conclusion** C12 multi-tumor markers protein biochip has some clinical value in diagnosing alimentary tumors. But it is necessary to develop new multi-tumor markers protein biochip system which is more direct and pragmatic in order to improve its clinical pragmatic value.

【Key words】 tumor markers, biological; protein array analysis; digestive system neoplasms

消化系统肿瘤是我国最常见的恶性肿瘤,早期发现、早期诊断是防治的重要手段之一,目前常用的诊断措施有病理学检查、影像学检查、血清生化指标检测等^[1]。其中临床最方便常用的方法是血清肿瘤标志物检测,常规检测方法主要有酶联免疫法、放射免疫法、电化学发光法等。这些方法只能分析单项指标,从实验诊断角度来评价特异性和灵敏度均不理想,且用这些方法对每份标本进行多指标分析费用昂贵,标本用量大。近年来具有高灵敏度、高特异性和高通量等特点的肿瘤标志物蛋白芯片(简称 C12)检测系统的应用^[2-5],为肿瘤标志物的联合检测提供了良好的技术平台,已广泛应用于临床肿瘤的辅助诊断、疗效和预后判断以及病情监测。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 10 月至 2009 年 7 月本院住院初诊患者 90 例,所有患者均经手术、病理、影像学检查和实验室检测确诊。其中男 52 例,女 38 例,年龄 31~87 岁,中位年龄 64 岁。肝癌 24 例,胃癌 35 例,胰腺癌 11 例,结肠癌 6 例,直肠癌 5 例,胆管癌 9 例。

1.2 血清收集 患者入院次日清晨空腹采集静脉血 3 mL,分离血清于 4℃ 冰箱保存,去除溶血和高脂血标本,3 d 内检测。操作步骤严格按试剂盒说明书操作。

1.3 仪器与检测方法 HD-2001A 蛋白芯片检测仪和检测试剂盒均为上海数康生物科技有限公司生产和提供,检测时每批用试剂盒提供的标准品稀释成 6 个梯度不同浓度做标准曲线,与患者血清一起检测。取患者血清 100 μ L 加入芯片的小方格内,蛋白芯片置 37℃、100 r/min 摇床振荡 30 min,取出芯片弃去孔内液体,用洗液冲洗各孔,然后将芯片放入洗盒,注满洗液,置 37℃、250 r/min 摇床振荡洗涤 8 min,取出芯片弃去盒内液体,重复洗涤 4 次。芯片小方格内加 100 μ L 反应液,置 37℃、100 r/min 摇床振荡 30 min,再同前操作洗涤 4 次,将检测液 A 和 B 等量混合,在膜表面加 20 μ L 混合的检测液,放入蛋白芯片检测仪,反应 60 s 后拍摄图像,对照标准曲线,分析数据。

1.4 结果判断 根据说明书提供的参考值范围,一项指标超出临界值即为阳性(铁蛋白单独升高不计为阳性)。12 种肿瘤标志物的临界值为:糖类抗原(CA)125<35 kU/L,人绒毛膜促性腺激素(HCG)<3 μ g/L,CA242<20 kU/L,铁蛋白小于 322 μ g/L,CA15-3<35 kU/L,游离前列腺特异性抗原(Free-PSA)<1 μ g/L,人生长激素(hGH)<7.5 μ g/L,CA19-9<35 kU/L,癌胚抗原(CEA)<5 μ g/L,甲胎蛋白(AFP)<20 μ g/L,神经元特异性烯醇化酶(NSE)<13 μ g/L,前列腺特异

性抗原(PSA) < 5 μg/L。

1.5 统计学处理 百分率比较用 SPSS16.0 统计软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

90 例胃肠道肿瘤患者 C12 检测系统阳性结果见表 1。其中阳性率较高的分别是 CA19-9 66.7%, CA242 55.6%, CA125 50.0%, CEA 41.1%, AFP 23.3%, 铁蛋白 20.0%, 其余各项指标阳性率均较低。阳性率较高的指标组合分别与 C12 联合检测阳性率比较见表 2。

表 1 90 例胃肠道肿瘤患者 C12 检测系统阳性结果

检测指标	参考范围	阳性例数	阳性率(%)
CA125(kU/L)	<35	45	50.0
HCG(μg/L)	<3	4	4.4
CA242(kU/L)	<20	50	55.6
铁蛋白(μg/L)	<322	18	20.0
CA15-3(kU/L)	<35	8	8.9
Free-PSA(μg/L)	<1	3	3.3
hGH(μg/L)	<7.5	2	2.2
CA19-9(kU/L)	<35	60	66.7
CEA(μg/L)	<5	37	41.1
AFP(μg/L)	<20	21	23.3
NSE(μg/L)	<13	0	0.0
PSA(μg/L)	<5	3	3.3

表 2 各指标组合与 C12 检测系统阳性率比较

检测指标	测试组合	阳性例数/ 检查例数	诊断 符合率(%)	P
A;CA19-9	A	60/90	66.7 [☆]	0.003
B;CA242	A+B	61/90	67.8 [☆]	0.005
C;CA125	A+B+C	66/90	73.3 [☆]	0.042
D;CEA	A+B+C+D	72/90	80.0 [▲]	0.324
E;AFP	A+B+C+D+E	74/90	82.2 [▲]	0.543
F;铁蛋白	A+B+C+D+E+F	75/90	83.3 [▲]	0.691
C12	12 种肿瘤标志物	75/90	83.3	0.691

注:与 C12 检测系统阳性率比较, [☆] $P < 0.05$; [▲] $P > 0.05$ 。

3 讨 论

早期诊断是胃肠道恶性肿瘤二级预防的核心内容之一,寻找高敏感性、高特异性的肿瘤标志物一直是研究者的重要目标,目前临床上常用的肿瘤标志物多为单项监测,为提高其辅助诊断价值,中华医学会检验医学分会肿瘤标志物专家委员会建议进行肿瘤标志物的联合监测^[6]。

我国自主研发的 C12 是一种较成功的肿瘤标志物联合检测系统,已在我国各地区得到广泛的应用^[7]。其基本原理是基于双抗体夹心法的化学发光监测方法,将 12 种肿瘤标志物的单克隆抗体固定在同一芯片上,捕捉被检者血清中对应的肿瘤标志物,再结合第二抗体(标有示踪标记物),催化化学反应产生光信号,使用专门的芯片阅读仪读取光信号,达到同时定量监测多种肿瘤标志物的目的。

本研究使用 C12 检测 90 例胃肠道肿瘤患者术前血清肿瘤标志物水平,结果显示,肿瘤标志物的升高主要集中在 CA19-

9、CA242、CA125、CEA、AFP 及铁蛋白 6 项指标,表明这组指标对消化系统肿瘤的诊断具有参考价值,将这些指标分别组合检测并与 C12 联合检测结果进行比较显示,CA19-9 单项检测,CA19-9+CA242,CA19-9+CA242+CA125 组合分别与 C12 检测系统结果比较差异有统计学意义($P < 0.05$),C12 明显优于单项检测或少数几项组合检测,但当再增加测试项目组合时,其检测阳性率与 C12 相比差异无统计学意义。从表 2 可以看出,CA19-9+CA242+CA125+CEA4 项联合检测的阳性率达 80%,已基本可以替代 C12(83.3%)检测,CA19-9+CA242+CA125+CEA+AFP+铁蛋白 6 项组合的阳性率与 C12 相当,说明对胃肠道肿瘤的辅助诊断而言,这 6 项组合已完全可以替代 C12 检测系统。因此,可以在此芯片的基础上,优化选择,设计出各种肿瘤相关的小型标志物组合,这样既可以提高检测阳性率,又可以减轻患者的经济负担。

同一肿瘤可含一种或多种肿瘤标志物,而不同肿瘤或同种肿瘤的不同组织类型,既可有同种肿瘤标志物,也可有不同的肿瘤标志物。采用多肿瘤标志物联合检测固然可以提高诊断的敏感度,但也应注意检测的敏感度与特异性统一的问题。由于目前医学科学发展水平的局限和制约,多肿瘤标志物检测仍然存在假阳性、假阴性等问题^[8]。为提高肿瘤标志物检测的阳性率,逐步达到敏感度和特异性的统一,选择科学、合理的优化组合,对提高肿瘤标志物的临床应用价值具有非常重要的意义。本研究为开发和制备针对性较强的小型多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统提供了思路,同时也为临床选择更为合理、经济实用的消化系统肿瘤标志物提供了参考依据。

参考文献

[1] 郭天利,焦同立.血清肿瘤标志物在消化系统恶性肿瘤诊断中的价值[J].肿瘤基础与临床,2010,23(5):427-428.

[2] 齐军,车铁群.使用多肿瘤标志物蛋白质芯片诊断系统检测卵巢肿瘤[J].中华检验医学杂志,2003,26(6):358-360.

[3] Paweletz CP,Gilesbie JW,Ornstein DK,et al. Rapid protein display profiling of cancer progression directly from human tissue using a protein biochip [J]. Drug Dev Res, 2000,49(1):34-42.

[4] von Eggeling F,Davies H,Lomas L,et al. Fissue-specific microdissection coupled with protein chip array technologies: applications in cancer research [J]. Biotechniques, 2000,29(5):1066-1070.

[5] 涂学亮,朱冲,王坤,等.多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对前列腺癌的诊断价值[J].检验医学与临床,2008,5(14):863-864.

[6] 中华医学会检验医学分会肿瘤标志物专家委员会.肿瘤标志物监测临床应用的基本原则(讨论稿)[J].中华检验医学杂志,2004,27(6):393-394.

[7] 左强,李爱民,缪景霞,等.多种肿瘤标志物蛋白芯片监测系统对消化道肿瘤的诊断价值[J].中国肿瘤临床,2004,31(6):337-339.

[8] 邹红云,余伍忠,何江,等.多肿瘤标志物联合检测在肝癌诊断中的应用价值评价[J].现代检验医学杂志,2008,23(5):84-86.