

蛋白芯片技术检测多种肿瘤标志物对消化道恶性肿瘤的诊断价值分析

杜金郎(内蒙古医科大学第一附属医院,呼和浩特 010050)

【摘要】 目的 探讨蛋白芯片技术检测多种肿瘤标志物对消化道恶性肿瘤的诊断价值。**方法** 选择 132 例消化道恶性肿瘤患者、64 例消化道良性疾病患者和 60 例体检健康者,采用蛋白芯片技术进行 12 种常用肿瘤标志物的联合检测,并对检测阳性率进行比较。**结果** 恶性肿瘤患者各肿瘤标志物联合检测的阳性率明显高于良性疾病患者和健康者($P<0.05$)。就单项指标而言,恶性肿瘤患者癌胚抗原、糖类抗原 199、糖类抗原 242、糖类抗原 153、糖类抗原 125 和铁蛋白的阳性率明显高于良性疾病患者和健康者($P<0.05$)。**结论** 采用蛋白芯片技术进行多种肿瘤标志物的联合检测,对消化道恶性肿瘤的早期诊断具有较高的价值。

【关键词】 肿瘤标志物; 蛋白芯片; 消化道恶性肿瘤; 阳性率

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.04.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)04-0473-02

Diagnostic value of multiple tumor markers detected by protein biochip in digestive tract cancer DU Jin-lang (the First Hospital Affiliated to Inner Mongolia Medical University, Huhhot, Neimenggu 010050, China)

【Abstract】 Objective To explore the diagnostic value of multiple tumor markers detected by protein biochip in digestive tract cancer. **Methods** A total of 132 digestive tract cancer patients, 64 benign digestive disease patients and 60 healthy subjects were enrolled and detected for 12 types of tumor markers by protein biochip. **Results** The positive rate of malignant group was significantly higher than benign disease group and control group ($P<0.05$). The positive rates of carcino-embryonic antigen, carbohydrate antigen 199, carbohydrate antigen 242, carbohydrate antigen 153, carbohydrate antigen 125 and ferritin in malignant group were significantly higher than the benign disease group and control group ($P<0.05$). **Conclusion** Detection of multiple tumor markers by protein biochip could be with high value for the early diagnosis of digestive tract cancer.

【Key words】 tumor marker; protein chip; digestive tract cancer; positive rate

消化道肿瘤是临床常见恶性疾病之一,因其病理发展过程较为复杂,在临床诊断和预后判断方面存在一定的困难。肿瘤标志物检测是诊断消化道恶性肿瘤的重要参考依据,对于消化道肿瘤的诊治和预后判断具有重大意义^[1-2]。然而,单一标志物检测的诊断灵敏度低、特异性不强^[3]。化学发光法、酶联免疫吸附法等是用于血清肿瘤标志物水平检测的常用方法,但易受仪器、试剂和人为操作等因素影响,导致其在检测灵敏度和特异度方面存在一定的缺陷,不能完全满足临床的需求。近年来,随着生物科学技术的飞速发展,蛋白芯片技术的出现有效弥补了上述检测方法的不足^[4-5]。蛋白芯片技术具有高灵敏度和高特异性等特点,且较易实现微型化。相关研究表明,蛋白芯片检测技术在多种疾病的诊断中具有一定的作用^[5-7]。本研究对 132 例消化道恶性肿瘤患者和 64 例消化道良性疾病患者血清中的 12 种常用肿瘤标志物进行了蛋白芯片联合检测,旨在探讨蛋白芯片对消化道恶性肿瘤的诊断价值和临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1 月至 2013 年 1 月于本院住院治疗的 132 例消化道恶性肿瘤患者(恶性肿瘤组)和 64 例消化道良性疾病患者(良性疾病组)。同期于本院体检健康者 60 例纳入健康对照组。132 例消化道恶性肿瘤患者中,男 72 例、女 60 例,年龄 29~79 岁,平均(55.6±11.4)岁,均经病理学检查证实,包括胃癌 52 例、食管癌 45 例、结肠癌 35 例。64 例消化道良性疾病患者中,男 40 例、女 24 例,年龄 23~72 岁,平均(46.6±15.3)岁,包括消化性溃疡 28 例、慢性胃炎 16 例、食管炎 12 例、

食管平滑肌瘤 4 例、溃疡性结肠炎 4 例。60 例体检健康者中,男 40 例、女 20 例,年龄 22~81 岁,平均(45.3±13.2)岁。

1.2 方法 患者入院后 24 h 内、体检者于体检当日,以普通真空促凝管采集空腹静脉血 2 mL,常规方法离心后分离血清标本进行癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)、糖类抗原 242(CA242)、甲胎蛋白(AFP)、糖类抗原 153(CA153)、糖类抗原 125(CA125)、铁蛋白、 β -人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)、游离型前列腺特异性抗原(f-PSA)、前列腺特异性抗原(PSA)、人生长激素(HGH)和神经元特异性烯醇化酶(NSE)等 12 种肿瘤标志物联合检测。上述指标的检测均采用蛋白芯片技术。HD-2001 A 生物芯片检测仪及配套的多肿瘤标志物定量检测试剂盒(蛋白芯片-化学发光法)购自湖州数康生物科技有限公司。采用蛋白芯片技术进行多指标联合检测时,任一指标检测结果为阳性,即判为蛋白芯片检测阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以百分率表示,组间比较差异显著性检验采用卡方检验; $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各研究组蛋白芯片检测阳性率比较 各研究组蛋白芯片检测阳性率比较见表 1。恶性肿瘤组阳性率为 76.53%,明显高于良性疾病组的 21.88%和健康对照组的 8.33%(χ^2 值分别为 46.56 和 198.23, P 值均小于 0.05)。根据特异度的计算公式:特异度=真阳性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%,计算获得蛋白芯片检测结果对消化道恶性肿瘤的诊断

特异度为 88.5%。

表 1 各组蛋白芯片检测阳性率比较

组别	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
恶性肿瘤组	132	101	31	76.53
良性疾病组	64	14	40	21.88
健康对照组	60	5	55	8.33

2.2 不同肿瘤标志物在各研究组中的阳性率比较 12 种肿瘤标志物在各研究组的阳性率比较见表 2。恶性肿瘤组中,CEA、CA199、CA242、CA153、CA125 和铁蛋白的阳性率分别为 33.33%、40.15%、31.82%、15.15%、33.33% 和 25.00%,

表 2 各研究组 12 种肿瘤标志物阳性率比较(%)

组别	n	CEA	CA199	CA242	AFP	CA153	CA125	β-HCG	f-PSA	PSA	HGH	NSE	铁蛋白	联合检测
恶性肿瘤组	132	33.33	40.15	31.82	5.30	15.15	33.33	1.51	3.03	0.76	0.00	0.00	25.00	76.53
良性疾病组	64	7.81	10.94	9.38	3.13	9.38	14.06	3.13	3.13	1.56	0.00	0.00	12.50	21.88
健康对照组	60	3.13	3.13	3.13	1.67	1.67	3.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.13	8.33

3 讨 论

消化道恶性肿瘤是严重威胁人体健康的高发性恶性疾病之一。相关研究表明,在全世界范围内,恶性肿瘤的发病率约为 181.0/10 万,男性约为 211.0/10 万,女性约为 152.4/10 万,其中胃癌、食管癌、结肠癌的发病率分别排在第 2 位、第 5 位和第 6 位;2008 年,中国恶性肿瘤患者中,胃癌、食管癌、结肠癌患者分别占 16.5%、9.2% 和 7.9%^[8-10]。由此可见,消化道恶性肿瘤的诊治已是医学研究者不可忽视的重大课题之一。对恶性肿瘤而言,早期诊断和治疗具有重要的临床和预防意义。通常情况下,不同类型的肿瘤可能会有一种或多种相同的肿瘤标志物出现异常,而同一肿瘤标志物的异常也可能出现在不同类型的肿瘤中。因此,单一种类的血清肿瘤标志物检测有可能因为灵敏度较低而出现假阴性结果。然而,多肿瘤标志物联合检测能够提高对疾病的诊断灵敏度。

生物芯片最初是一种用于 DNA 测序和多态性分析的简单、快速的方法^[11]。蛋白芯片作为一种生物芯片,是在基因芯片载体上布满高密度的不同种类的蛋白质,采用荧光染料标记的已知抗体与标本中的靶蛋白竞争结合包被蛋白质的原理,最终由计算机读取和分析结果^[12]。本研究采用的 HD-2001 A 生物芯片检测技术可以同时对血清中的 CEA、CA199、CA242、AFP、CA153、CA125、铁蛋白、β-HCG、f-PSA、PSA、HGH 和 NSE 等 12 种肿瘤标志物进行联合检测。本研究结果显示,恶性肿瘤组各肿瘤标志物联合检测阳性率为 76.53%,明显高于良性疾病组的 21.88% 和健康对照组的 8.33%($P<0.05$),且各肿瘤标志物联合检测对消化道恶性肿瘤的诊断特异度达到了 88.5%;胃癌患者中,检测阳性率较高的肿瘤标志物为 CA199、CEA 和 CA242;食管癌患者中,检测阳性率较高的为 CA199、CEA 和 CA125;直肠癌患者中,检测阳性率较高的为 CEA、CA242 和 CA199。然而,良性疾病组和健康对照组的检测阳性率分别达到了 21.88% 和 8.33%,说明蛋白芯片检测存在一定程度的假阳性结果,表明蛋白芯片多肿瘤标志物联合检测技术尚需进一步改进,从而不断提高其诊断价值。对于消化道恶性肿瘤而言,部分肿瘤标志物无诊断价值,如 HGH 等,部分肿瘤标志物的假阳性率较高,如铁蛋白等,可以从蛋白芯片中剔除,并补充具有更高诊断特异度和灵敏度的其他肿瘤标志物^[13-15]。

综上所述,蛋白芯片联合检测技术用于消化道恶性肿瘤的

明显高于各肿瘤标志物在健康对照组和良性疾病组的阳性率($P<0.05$)。其余 6 项肿瘤标志物在各研究组的阳性率均较低,各组间阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。就具体疾病而言,胃癌患者阳性率由高到低前三位的肿瘤标志物分别为 CA199(40.15%)、CEA(25.00%) 和 CA242(25.00%);在食管癌患者中分别为 CA199(40.15%)、CEA(33.33%) 和 CA125(31.82%);在直肠癌患者中分别为 CEA(41.18%)、CA242(39.22%) 和 CA199(30.61%)。在恶性肿瘤组,12 种肿瘤标志物联合检测的阳性率明显高于任意单一标志物检测的阳性率($P<0.05$)。

早期诊断和预后评估,具有重要意义。

参考文献

[1] 李金明. 肿瘤标记的临床应用及思考[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2009,3(8):1272-1273.

[2] 靳晓亮,杨波,关方霞,等. 肿瘤与肿瘤标志物研究中证据的思考[J]. 医学与哲学,2009,30(2):48-50.

[3] Kayaba H. Tumor markers; essential diagnostic tools for radiologists[J]. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi, 2003,63(4):133-139.

[4] Pawelet CP, Giles pie 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.

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

[6] Weinberger SR, Dalmasso EA, Fung ET. Current achievements using ProteinChip Alray technologies[J]. Curr Opin Chem Biol, 2001,6(1):86-91.

[7] Rubin RB, Merchant M. A rapid protein profiling system that speeds study of cancer and other diseases[J]. Am Clin Lab, 2000,19(8):28-29.

[8] 代敏,任建松,李霓,等. 中国 2008 年肿瘤发病和死亡情况估计及预测[J]. 中华流行病学杂志,2012,33(1):56-59.

[9] Talar-Wojnarowska R, Gasiorowska A, Olakowski M, et al. Clinical value of serum neopterin, tissue polypeptide-specific antigen and CA19-9 levels in differential diagnosis between pancreatic cancer and chronic pancreatitis[J]. Pancreatolgy, 2010,10(6):689-694.

[10] 伏红霞. 肿瘤标志物联合检测在消化道肿瘤中的临床应用[J]. 内蒙医学杂志,2010,4(1):59-60.

[11] Livache T, Bazin H, Caillat P, et al. Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips[J]. Biosens Bioclectron, (下转第 484 页)

本相符。儿童免疫功能尚未健全,抵抗力弱,在 MP 流行季节极易被感染,因此 MP 感染率在 0~<15 岁人群中最高,达到 31.0%。MP 感染可导致发烧、畏寒、咳嗽等不适症状,严重时可引起脑膜炎、脑膜脑炎、多发性神经根炎、精神失常等,甚至危及患者生命^[2-3]。MP 感染机体后可引起体液免疫和细胞免疫反应,表现为外周血中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞等水平迅速增高,因此可通过血常规检查及补体结合试验等提高诊断率^[4]。

军团菌病是由 LP 引起的以肺炎为主的全身性疾病,主要通过气溶胶传播,中央空调冷却水系统是主要传染源。随着受重视程度不断提高及检测方法的发展,军团菌病在国内大中城市的确诊率有所上升。本研究中,15 岁以上人群 LP 感染率均较高,考虑与中央空调广泛使用有关。LP 的致病性主要与毒力基因有关。LP 核酸中存在多个毒力岛 (PAI) 基因座,如 dot/icm 复合体基因座及 CpxR、CpxA、rtxA、lvh、iraAB 和 lv-gA 基因座等,均对 LP 胞内生长繁殖和毒性作用有重要作用^[5-7]。对 LP 毒力岛基因座进行分子分型,有助于鉴定临床分离株与环境分离株之间的遗传相关性,准确追踪菌株来源,在军团菌病的预防、监测和流行病学调查方面具有重要意义。

根据核蛋白和基质蛋白的不同,流感病毒 (Flu) 可分为 4 个属,其中 FluA 又可根据病毒粒子血凝素 (HA) 和神经氨酸酶 (NA) 抗原性的不同分为不同亚型^[8-10]。HA 和 NA 极易发生变异,已知 HA 有 16 个亚类 (H1~H16),NA 有 9 个亚类 (N1~N9),相互之间随意组合后可形成多种亚型,各亚型之间无交叉免疫性,导致流感的诊断、预防和控制极为困难。FluA 主要经呼吸道由飞沫传播,感染潜伏期短,除感染人外^[11-12],还可感染猪、马、海洋哺乳动物和禽类 (禽流感病毒),曾多次引起世界性大流行。婴幼儿、中老年人及免疫力低下的患者因机体抵抗力弱,极易感染 Flu。早期诊断对流感患者得到及时有效的治疗具有重大的意义。

本研究显示上呼吸道症状阳性患者多重感染率较高,二重感染以 MP 合并 RSV、MP 合并 FluB 较为多见,三重感染以 MP、FluA、FluB 合并感染较为多见。导致混合感染的原因主要在于原发病原体 (如 MP) 感染损伤气道黏膜细胞,使其他病原体更易入侵,也可能与机体免疫功能低下、患者间交叉感染等因素有关。因此,对于呼吸道感染患者应有相应的隔离措施,避免交叉感染和医院感染的发生。本研究所得到的数据有利于了解本地区的呼吸道感染病原体分布特征,能够为本地区呼吸道感染的流行病学调查奠定一定的基础。

参考文献

[1] 刘又宁,陈民钧,赵铁梅,等. 中国城市成人社区获得性肺

炎 655 例病原学多中心调查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006,29(1):3-8.

[2] 林加斌,项跃林,宋显相. 肺炎支原体肺炎患儿合并哮喘外并发症 57 例分析[J]. 中国基层医药,2012,19(10):1502-1503.

[3] 陈小凤,肖水平,张卫. 儿童支原体肺炎 92 例临床分析[J]. 安徽医药,2011,15(4):480-481.

[4] 马爽,杜文莹,曹平生,等. 小儿肺炎支原体肺炎肺外合并症诊治分析[J]. 中国全科医学,2010,13(21):2395-2396.

[5] Bandyopadhyay P, Xiao H, Coleman HA, et al. Icm/dot-independent entry of *Legionella pneumophila* into amoeba and macrophage hosts[J]. Infect Immun, 2004, 72(8): 4541-4551.

[6] Viswanathan VK, Edelstein P, Dumais Pope C, et al. The *Legionella pneumophila* iraAB Locus is required for iron assimilation, intracellular infection, and virulence[J]. Infect Immun, 2000, 68(3):1069-1079.

[7] Edelstein P, Hu BF, Higa F, et al. lvgA, a novel *Legionella pneumophila* virulence factor[J]. Infect Immun, 2003, 71(5):2394-2403.

[8] 王勇,徐元勇,张传福,等. 甲型 H1N1 流感的研究进展[J]. 解放军医学杂志,2009,34(6):1651-654.

[9] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Swine in-fluenza A (H1N1) infection in two children-Southern California, March-April 2009[J]. Morb Mortal Wkly Rep, 2009,58(15):400-402.

[10] Yang SG, Wo JE, Li MW, et al. Expression of H5N1 influenza virus hemagglutinin protein fused with protein transduction domain in an alpha virus replication system[J]. J Virol Methods, 2010, 163(1):31-39.

[11] Gaaen RJ, Davis CT, Russell CA, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine origin 2009A(H1N1) influenza viruses circulating in humans[J]. Science, 2009, 325(5937):1197-1201.

[12] Eshaghi A, Bolotin S, Burton L, et al. Genetic microheterogeneity of H275Y influenza virus A(H1N1) in Toronto, Canada from the 2007-2008 respiratory season[J]. J Clin Virol, 2009, 45(1):142-145.

(收稿日期:2013-08-21 修回日期:2013-11-02)

(上接第 474 页)

1998,13(6):629-634.

[12] Lin S, Tornatore P, King D, et al. Limited acid hydrolysis as a means of fragmenting proteins isolated upon Protein-Chip array surfaces[J]. Proteomics, 2001, 1(9):1172-1184.

[13] Duraker N, Hot S, Polat Y, et al. CEA, CA 19-9 and CA 125 in the differential diagnosis of benign and malignant pancreatic diseases with or without jaundice[J]. J Surg Onco, 2007, 95(2):142-147.

[14] Sasakia T, Kawano K, Inomata M, et al. Value of serum

carbohydrate antigen 19-9 for predicting extrahepatic metastasis in patients with liver metastasis from colorectal carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 2005, 52(66):1814-1819.

[15] Qi XG, Li D, Wang LF, et al. The application of serum tumor markers for pancreatic cancer in clinical stage assessment and preoperative evaluation[J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2009, 18(8):692-694.

(收稿日期:2013-08-10 修回日期:2013-12-22)