

细胞性肺癌中的变化,并认为 DKK1 在非小细胞性肺癌的诊断、治疗和预后判断中均有潜在的应用价值。Filipovich 等^[6]报道了 DKK1 异常升高与慢性淋巴细胞性白血病的发病相关。Granchi 等^[7]发现 DKK1 水平在神经细胞瘤中有明显升高,且与神经细胞瘤骨转移相关。

本组发现,116 例肺癌患者血清 DKK1 和 Cyfra21-1 水平均明显高于健康对照组($P < 0.05$);肺癌患者血清中 DKK1 和 Cyfra21-1 水平表现为广泛转移组、局限转移组、未转移组依次降低;疾病对照组与健康对照组比较,血清 DKK1 和 Cyfra21-1 水平均无明显差异。此结果提示,DKK1 可能与肺癌的发生有关,但与肺癌的骨转移无关。ROC 曲线分析结果显示,DKK1 和 Cyfra21-1 在肺癌诊断中有较高的准确性(AUC 分别是 0.794 和 0.738),两项联合测定的 AUC 为 0.854,与单项检测比较,联合测定能有效提高肺癌诊断的效率($P < 0.05$)。

DKK1 的表达变化可能是肺癌发生、发展的重要分子机制。研究血清 DKK1 水平在肺癌中的变化及其与骨转移的关系有利于进一步明确肺癌的发生、发展机制,联合测定血清 DKK1 和 Cyfra21-1 则有助于肺癌的早期诊断^[8-10]。

参考文献

[1] 杜红心,罗海峰,彭必江.联合检测 CEA、NSE 和 CYFRA21-1 在肺癌诊断中的价值[J].国际检验医学杂志,2010,31(5):109-112.

[2] 黄诚刚,苏莉,陈晓艳.67 例肺癌 ECT 全身骨显像及血清 Cyfra21-1、NSE、CEA、CA125 联合测定分析[J].国际检验医学杂志,2010,31(5):119-121.

[3] Licchesi JD, Van Neste L, Tiwari VK, et al. Transcriptional regulation of Wnt inhibitory factor-1 by Miz-1/c-Myc[J]. Oncogene, 2010, 29(44):5923-5934.

[4] von Marschall Z, Fisher L. Secreted frizzled-related protein-2 (sFRP2) augments canonical Wnt3a-induced signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 400(3):299-304.

[5] Wang J, Shou J, Chen X. Dickkopf-1, an inhibitor of the Wnt signaling pathway, is induced by p53[J]. Oncogene, 2000, 19(14):1843-1848.

[6] Filipovich A, Gandhirajan RK, Gehrke I, et al. Evidence for non-functional Dickkopf-1 (DKK-1) signaling in chronic lymphocytic leukemia(CLL)[J]. Eur J Haematol, 2010, 85(4):309-313.

[7] Granchi D, Corrias MV, Garaventa A, et al. Neuroblastoma and bone metastases: clinical significance and prognostic value of Dickkopf 1 plasma levels[J]. Bone, 2010, 48(1):152-159.

[8] Thompson MD, Monga SP. WNT/-catenin signaling in liver health and disease[J]. Hepatology, 2007, 45(2):1298-1305.

[9] Willert K, Brown JD, Danenberg E, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors[J]. Nature, 2003, 423(4):448-452.

[10] He X, Semenov M, Tamai K, et al. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way[J]. Development, 2004, 131(2):1663-1677.

(收稿日期:2010-11-15)

• 检验技术与方法 •

蛋白芯片法检测柯萨奇 B 组病毒 IgM 抗体的临床应用

贺建¹, 刘洁², 俞蕾¹, 陈国千¹, 唐建英¹, 胡志刚^{1△}
(江苏省无锡市人民医院:1. 检验科;2. 呼吸科 214023)

摘要:目的 分析蛋白芯片法检测柯萨奇 B 组病毒(CVB)IgM 抗体的临床应用价值。方法 收集 652 例呼吸道病毒性感染者、120 例非呼吸道感染患者及 30 例健康献血员的血清标本,同时采用蛋白芯片法和 ELISA 法检测,进行灵敏度和特异性比较。结果 蛋白芯片法的阳性检出率(40.34%)明显高于 ELISA 法(13.04%),2 种方法检测 CVB-IgM 的阳性率差异具有统计学意义($P < 0.05$);采用 ELISA 法检测 120 例非呼吸道感染的病毒性肝炎患者的血清,特异性为 88.3%,采用蛋白芯片法检测的特异性为 87.5%;采用 2 种方法检测 30 例健康献血员的血清,均未检出 CVB-IgM 抗体,特异性 100%。结论 蛋白芯片法检测 CVB-IgM 抗体灵敏度高、特异性强,值得推广应用。

关键词:酶联免疫吸附测定; 肠道病毒 B, 人; 蛋白芯片

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)03-0380-02

柯萨奇 B 组病毒(Coxsackie Virus B, CVB)是多种病毒性感染疾病的主要病原体,可引起广泛的临床症状,如发热、肺炎、上下呼吸道感染、病毒性心肌炎等,对人类健康造成严重侵害。快速、简便、可靠地检测出 CVB,有利于早期临床诊断和治疗。ELISA 法是目前临床最常用的检测柯萨奇病毒 B 组 IgM 型抗体(CVB-IgM)的方法,蛋白芯片技术则是近几年刚被采用的 1 种新的检测方法。现对蛋白芯片法检测 CVB-IgM 的临床应用价值进行分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 试剂与材料 蛋白芯片法检测 CVB-IgM 的试剂盒由深圳赛尔生物技术有限公司生产;ELISA 法检测 CVB-IgM 的诊断试剂盒由北京生物技术研究所生产。

1.2 标本来源 2009 年 1~3 月来本院就诊的呼吸道病毒性感染患者 652 例(男性 378 例,女性 374 例,平均年龄 34 岁);收集门诊和病房非呼吸道感染的病毒性肝炎患者 120 例(男性 61 例,女性 59 例,平均年龄 35 岁);健康献血人员 30 例(男性

△ 通讯作者, E-mail: jswxhgz@163.com.

16 例, 女性 14 例, 平均年龄 33 岁)。收集各组人员血清, -20 °C 保存待检。

1.3 方法 (1)蛋白芯片法:用标本稀释液以 1:20 稀释血清标本于试管中混匀,取 200 μL 稀释的标本加于芯片方格内,将芯片置于湿盒中,37 °C 温育 30 min 后甩去方格内液体,每个方格内加入 4 滴洗涤液,连续洗涤 3 次,用吸水纸吸干周围水滴,再向每格中加入 2 滴示踪物,湿盒中 37 °C 温育 30 min,洗涤 3 次,最后每格加入 2 滴显色液,孵育显色 10 min 后观察结果。(2)ELISA 法:在预包被板上设 1 个空白对照孔,不加任何试剂,设阴、阳性对照各 2 孔,每孔加阴、阳性标准液 100 μL,其余每个检测孔滴加 2 滴标本稀释液,然后直接加待测血清 10 μL,混匀,放置 37 °C 30 min,洗板后每孔加酶结合物 100 μL,混匀后置 37 °C 温育 20 min,洗板后每孔加 A、B 显色剂各 50 μL,37 °C 避光显色 10 min 后观察结果。

2 结 果

2.1 蛋白芯片法结果判断 在白色背景下观察各方格内显色情况,阳性显蓝色,阴性无色;A1、B1、C1、D1 代表质控点;A2、B2 代表 CoxV-B1 型显色位点;A3、B3 代表 CoxV-B2 型显色位点;A4、B4 代表 CoxV-B3 型显色位点;C2、D2 代表 CoxV-B4 型显色位点;C3、D3 代表 CoxV-B5 型显色位点;C4、D4 代表 CoxV-B6 型显色位点;每次试验质控点均显色,否则试验无效,本系统以双位点设计,若双位点中只有 1 个显色,则试验需重复,阳性结果见图 1,阴性结果见图 2。



图 1 蛋白芯片法阳性结果

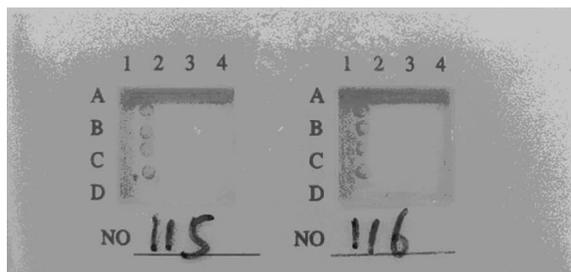


图 2 蛋白芯片法阴性结果

2.2 蛋白芯片法和 ELISA 法检测 CVB-IgM 阳性率比较 652 例呼吸道病毒性感染患者血清分别采用蛋白芯片和 ELISA 2 种方法定性检测 CVB-IgM。结果显示,ELISA 法检出阳性 85 例,阴性 567 例,阳性率为 13.04%;蛋白芯片法检出阳性 263 例,阴性 389 例,阳性率为 40.34%。2 种方法检测 CVB-IgM 的差异具有统计学意义($\chi^2 = 177.02, P < 0.05$),蛋白芯片法与 ELISA 法相比有较高的敏感性。

2.3 特异性试验 采用同一批号的蛋白芯片试剂和 ELISA 试剂检测 120 例非呼吸道感染的病毒性肝炎患者的血清 CVB-IgM,结果显示,ELISA 法检出阳性 14 例,阴性 106 例,特异性 88.3%;蛋白芯片法检出阳性 15 例,阴性 105 例,特异性 87.5%。检测 30 例健康献血员的血清,2 种方法均未检出 CVB-IgM,特异性 100%。2 种方法都具有较高的特异性。

3 讨 论

CVB 是引起呼吸道感染、病毒性心肌炎的重要病原,有 6 个血清型。在 CVB 感染早期产生的 IgM 抗体能够持续数周以上^[1],此抗体的出现可作为 CVB 的急性期或持续期感染的重要指标之一^[2]。IgM 抗体的检出代表近期感染,对早期病原诊断,治疗有重要意义。

本组结果显示,蛋白芯片法灵敏度高于 ELISA 法,两者的差异具有统计学意义($\chi^2 = 177.02, P < 0.05$)。这是因为蛋白芯片是利用抗原和相应抗体特异性结合的双抗体夹心法的原理,在固相载体上点布高密度的抗体,捕获待测样本中的抗原,然后再与标记了示踪标记物的第 2 抗体结合的方法来检测 CVB,这大大提高了 CVB 的检出率^[3]。蛋白芯片法的特异性也较高,120 例非呼吸道感染的病毒性肝炎患者的血清,ELISA 法检测特异性为 88.3%,蛋白芯片法检测特异性为 87.5%,说明 2 种方法都具有较高的特异性。蛋白芯片法还具有省时、高效、高通量平行检测的优点,无需特殊设备,操作简单。将高度纯化的基因工程 CVB 1~6 型的抗原固定于生物芯片基上后,只需要加入 10 μL 患者血清,1 次实验即可检测出 CVB 1~6 型 IgM 抗体的血清状况。检测结果既可肉眼定性观察,也可用扫描仪检测,结果可永久保存,是传统检测方法无可比拟的。蛋白芯片上有上万的密集排列的分子微阵列,能够在短时间内分析大量的生物分子,快速准确地获取样品中的生物信息,效率是传统检测手段的上千倍^[4-5]。

综上所述,蛋白芯片法检测 CVB-IgM 抗体灵敏度高、特异性强、标本用量少,值得推广应用。

参考文献

[1] Muir P, Nicholson F, Tilzey AJ, et al. Chronic relapsing pericarditis and dilated cardiomyopathy: serological evidence of persistent enterovirus infection[J]. Lancet, 1989, 1: 804-807.
 [2] 张霆, 马官福, 马连华, 等. 柯萨奇 B 组病毒 IgM 抗体特性研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2001, 15(1): 66-68.
 [3] Zhu H, Snyder M. Protein chip technology[J]. Curr Opin Chem Biol, 2003, 7(1): 55-63.
 [4] 齐军. 蛋白芯片技术及在肿瘤实验室诊断中的应用现状[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(10): 639-640.
 [5] Eggeling F, Davies H, Lomas L, et al. Tissue-specific microdissection coupled with proteinchip array technologies: applications in cancer research[J]. Curr Opin Chem Biol, 2002, 6(1): 86-91.

(收稿日期: 2009-11-30)