

• 论 著 •

肿瘤标志物蛋白芯片用于肿瘤筛查的实用性研究*

杜金龙¹, 吴卫华¹, 武 强²

(1. 上海市奉贤区奉城医院检验科 201411; 2. 上海市第五人民医院检验科 200240)

摘要:目的 探讨肿瘤标志物蛋白芯片(C12)快速检测系统进行肿瘤早期筛查及诊断的实用性。方法 应用 C12 检测系统,对 2011 年 11 月至 2015 年 12 月在奉城医院健康体检人群和临床检验标本中涉及高危人群的血清 10 736 例,进行 12 种常见肿瘤标志物(AFP、CEA、CA125、CA15-3、CA19-9、CA242、NSE、fPSA、PSA、 β -HCG、HGH、Ferritin)定量检测,并对结果进行统计分析。结果 10 736 例标本中共检出阳性 967 例,其中男 496 例,阳性检出率 4.62%(496/10 736);女 471 例,阳性检出率 4.39%(471/10 736);967 例阳性标本经临床病理学确诊为肿瘤患者 473 例,阳性诊断率 48.91%(473/967)。结论 C12 检测系统联合检测多种肿瘤标志物,减少了多项目分别单一检测的繁琐流程,达到快速检测多项指标的目的,对提高肿瘤的检出率及恶性肿瘤的早期快速筛查具有一定的临床价值。

关键词:肿瘤标志物; 蛋白芯片; 肿瘤筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2833-03

Application of multi-tumor marker protein chip for tumor screening*

DU Jinlong¹, WU Weihua¹, WU Qiang²

(1. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Fengcheng Hospital, Shanghai 201411, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Fifth People's Hospital, Shanghai 200240, China)

Abstract: **Objective** To study the application of multi-tumor marker protein chip for early tumor screening and diagnosis. **Methods** From Nov. 2011 to Dec. 2015, 10 736 samples, including people receiving physical examination and with high risk of cancer in Fengcheng Hospital were collected. Twelve tumor markers in serum (AFP, CEA, NSE, CA125, CA153, CA242, CA199, PSA, f-PSA, FER, β -HCG and HGH) were measured by multi-tumor markers protein chip detective system, and the results were analyzed. **Results** We found out 967 samples with positive markers in the 10 736 samples. Of which, 496 were male and 471 were female, the positive rate were 4.62% and 4.39% respectively. Totally 473 were diagnosed with tumor confirming by clinical pathology, positive diagnosis rate was 48.91%. **Conclusion** The multi-tumor marker protein chip (C12 system) can detect multiple tumor markers simultaneously to improve screening process and achieve rapid detection, which has higher positive detection rate and clinical value on diagnosing malignant tumor in early stage.

Key words: tumor marker; protein chip; screening

肿瘤标志物的检测在肿瘤诊断中起非常重要的参考价值,其比机体的反应和实体影像学特征出现得更早。近年来更多的健康体检人群接受并进行检测,但肿瘤相关的单指标项目检测存在特异性不强、阳性率低、检测成本高等缺点。肿瘤标志物蛋白芯片分析技术是一门由生命科学和微电子学科相交叉的技术,通过该技术可以高灵敏、高通量及高特异性地进行蛋白质的微量分析^[1]。肿瘤标志物蛋白芯片 C12 检测系统利用生物芯片技术,在固相膜上包被 12 种肿瘤标志物相对应的单克隆抗体,同时获得 12 项肿瘤标志物的含量,从而对肿瘤的发生作出评估和诊断。现对 C12 检测系统肿瘤标志物筛查结果及临床资料进行综合分析,探讨该检测系统的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 11 月至 2015 年 12 月奉城医院健康体检人群和就诊的无症状肿瘤高危人群,共计 10 736 例,男 5 560 例,女 5 176 例,年龄 30~70 岁(平均年龄 57.5 岁),阳性病例的确诊最终以病理组织细胞学检验结果为金标准,并结合影像学 and 手术资料。

1.2 仪器与试剂 上海数康生物芯片有限公司提供的 HD-2001A 生物芯片检测仪及多肿瘤标志物定量检测试剂盒(蛋白芯片-化学发光法);美国雅培 i2000SR 全自动化学发光仪及原装配套试剂;罗氏 e411 全自动电化学发光仪及原装配套试剂。

1.3 方法 采集所有研究对象静脉血 4 mL,分离血清-20℃保存待检,严格按照 C12 检测系统操作说明书进行,采用双抗夹心法对肿瘤标志物进行定量分析。蛋白芯片法检测为初筛阳性的标本使用雅培 i2000SR、罗氏 e411 全自动化学发光仪及配套试剂进行相关项目复检,检测结果仍为阳性者判断为复核阳性,复核结果为阴性者根据实际情况排除干扰因素,3 周后芯片法复查结果仍为阳性的作为阳性结果数据统计。

1.4 判断标准 指标数值大于临界值即为初筛阳性,正常参考值由上海数康生物科技有限公司蛋白芯片检测试剂盒提供:甲胎蛋白(AFP)小于 20.00 ng/mL;癌胚抗原(CEA)小于 5.00 ng/mL;CA125 < 35.00 U/mL;CA15-3 < 35.00 ng/mL;CA19-9 < 35.00 U/mL;CA242 < 20.00 U/mL;神经元特异性

* 基金项目:上海市奉贤区科学技术委员会科学技术发展基金项目(奉卫 2012-09)。

作者简介:杜金龙,男,副主任技师,主要从事临床免疫及分子生物学 PCR 技术检测研究。

烯醇化酶(NSE) 小于 13.00 ng/mL;前列腺特异性抗原(TP-SA)小于 5.00 ng/mL;游离前列腺特异性抗原(FPSA)小于 1.00 ng/mL;人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)小于 3.00 mIU/mL;铁蛋白(Ferritin)男性小于 322 ng/mL,女性小于 219 ng/mL;人生长激素(HGH)小于 7.50 ng/mL。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件对数据进行分析,计数资料以率或百分比表示,组间比较使用 χ^2 检验;计量资料采用独立样本 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 蛋白芯片检测结果 10 736 例芯片法检测阳性率显示,男性为 4.79%(515/10 736),女性 4.48%(481/10 736);10 736 例初筛检测阳性 996 例,复核检测阳性 967 例。化学发

光法阳性复核例数与芯片法初筛阳性例数比较,男性为 96.31%(496/515),女性 97.92%(471/481),差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 恶性肿瘤患者检测结果 967 项阳性结果经临床病理学结合影像学确诊为恶性肿瘤者 473 例,确诊率 48.91%(473/967)。肝癌单项 AFP 的阳性检出率最高,为 81.0%(64/79),联合阳性检出率 87.3%(69/79);肺癌单项 CEA 的阳性检出率最高[70.3%(45/64)],联合阳性检出率 82.8%(53/64);胃癌单项 CEA 阳性检出率最高[77.6%(45/58)],联合阳性检出率 81.0%(47/58);乳腺癌单项 CA15-3 阳性检出率最高[48%(24/50)],联合阳性检出率 80.0%(40/50)。见表 2。

表 1 10 736 例 C12 蛋白芯片阳性检测结果比较(n/n)

性别	复核阳性/ 初筛阳性	AFP	CEA	CA125	CA15-3	CA19-9	CA242	NSE	PSA	fPSA	β -HCG	Ferritin	HGH
男性	496/515	59/63	113/116	53/55	30/34	83/86	55/55	15/17	36/36	36/36	0	15/16	1/1
女性	471/481	30/32	70/71	128/130	28/30	94/95	60/60	14/14	0	0	16/18	26/26	3/3

表 2 473 例各类恶性肿瘤患者 C12 蛋白芯片检出阳性结果分布(n)

项目	肝癌	肺癌	胃癌	乳腺癌	直肠癌	卵巢癌	前列腺癌	结肠癌	食管癌	胰腺癌	子宫癌	绒癌
联合检出数/总例数	69/79	45/64	45/58	40/50	36/47	33/44	36/36	25/31	19/24	17/19	13/15	5/5
AFP	64	2	2	0	8	6	0	2	0	5	0	0
CEA	19	48	45	11	19	1	0	23	11	3	2	1
CA125	31	45	25	19	16	28	0	3	0	2	12	0
CA15-3	1	15	5	24	0	4	0	0	0	0	9	0
CA19-9	46	14	38	3	23	4	0	20	14	15	0	0
CA242	14	10	23	0	25	2	0	19	9	13	0	0
NSE	6	17	4	0	0	2	0	0	0	0	0	0
PSA	0	0	0	0	0	0	36	0	0	0	0	0
fPSA	0	0	0	0	0	0	36	0	0	0	0	0
β -HCG	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	7	5
Ferritin	17	10	5	6	2	0	0	1	0	0	0	0
HGH	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3 讨 论

肿瘤早期症状隐匿,多数患者就诊时已发展为晚期,防治的关键在于对疾病的早期诊断。目前,肿瘤诊断主要依靠血清学、影像学、病理学^[2]。血清学肿瘤标志物的检测可对肿瘤的早期诊断提供重要依据,然而单一标志物的特异性较差,阳性检出率低于实际值,不能作为恶性肿瘤临床诊断的唯一依据^[3]。但多项肿瘤标志物检测技术能弥补单一标志物检测在临床诊断中的缺陷,其准确性、检测效率均优于单一标志物,在临床已得到广泛应用^[4-5]。肿瘤标志物虽各有优势,但其非器官特异性,且对于不同病理类型的肺癌敏感性差异较大。汪广杰等^[6]研究发现在联合检测过程中,随着肿瘤标志物联合检测项目的增加,其敏感性下降,但特异性较高,达 98%以上,多项联合检测时特异性达 100%。

蛋白质芯片系统对肿瘤标志物检测已被广泛认为是肿瘤

检测手段之一,为提高对恶性肿瘤诊断的准确性,临床常用蛋白质芯片系统对肿瘤标志物进行综合检测,可对恶性肿瘤诊断的敏感性有显著提高,减少漏诊率。而且除胰腺癌之外,生物芯片系统对多种恶性肿瘤的综合检测的准确性也明显高于单一标志物检测。该方法特异性及阳性预测值偏高,所以更加适合对无症状人群的筛查,尤其对肿瘤高发人群具有临床意义。

化学发光法与芯片法的阳性检出率比较,男性为 96.31%(496/515),女性 97.92%(471/481),说明芯片法的敏感性高于化学发光法,在肿瘤早期筛查中能降低漏检率,但在判断肿瘤标志物检测结果的实际应用中应紧密结合临床表现,特别是影像和组织病理学结果进行综合判断,排除个体良性疾病、身体生理变化等因素。本研究结果显示,恶性肿瘤的检出率为 48.91%(473/967),提示芯片法联合检测有 51.09%的良性肿瘤、增生、炎性体征等结果,健康人群的 C12 阳性,可能为某些

生理情况下可致机体产生肿瘤标志物,但这种升高是一过性的,一般 3 个月内会降至正常,因此对 C12 阳性且无病灶的人群应动态监测。

本研究结果表明,CA19-9+AFP+FER+CEA 对肝癌诊断的价值较大,CA19-9+CA242+CEA 对消化道恶性肿瘤的诊断阳性率较高,以及 NSE+CEA+CA125+CA15-3 联合检测提高了肺癌患者的早期诊断,肿瘤标志物组合检测为多种肿瘤的早期诊断提供了实验室依据。蛋白芯片 C12 具有敏感性高、损伤小、易操作、高通量等特点,易于被患者接受。本研究结果显示,除前列腺癌、绒癌外,其他肿瘤标志物单项检出阳性率均低于联合检出率。健康体检人群和无症状人群的早期肿瘤筛查时,对检测结果要综合考虑,避免造成经济负担及思想负担。

目前我国肺癌是发病率最高的肿瘤,也是癌症死因之首,胃癌、食管癌和肝癌也是发病率和病死率较高的常见肿瘤^[7]。本研究统计上海奉贤东部地区癌症患病率前 3 位分别为肝癌 16.7%(79/473)、肺癌 13.5%(64/473)、胃癌 12.3%(58/473)。上海 CDC 最新监测数据显示,癌症发病率达到 418/100 000,每年新发病例 5.9 万;癌症患病率为 2.1%,男性为 1.8%,女性为 2.4%。本研究数据显示,奉贤地区癌症发病率为 4.4%(473/10 736),远高于 CDC 统计结果,可能与调查人群的选取倾向于肿瘤高危人群有关。国内恶性肿瘤性别差异与全球基本相同,均为男性显著高于女性。全球男性恶性肿瘤发病率为 202.8/100 000,我国为 220.33/100 000;女性为 164.4/100 000,我国为 166.04/100 000^[8]。本研究资料表明,10 736 例人群中阳性检出率男性为 4.79%(515/10 736),女性 4.48%(481/10 736);男性肿瘤发病率略高于女性,与有关文献报道基本一致。

综上所述,肿瘤标志物蛋白芯片联合检测在肿瘤筛查中具有重要意义,且检测成本仅为同类化学发光法的 1/4。早期肿瘤筛查采用 C12 蛋白芯片法动态联合检测进行防癌健康体检,经济、实惠、简单、易行,能提高早期癌症的检出率^[9]。适用范围和优越性可用于大规模的体检筛查,如高危人群、易发地区的可疑肿瘤患者的辅助诊断;监测肿瘤患者病情动态观察疗效及跟踪随访,提高肿瘤检测的敏感性和特异性,降低漏检

率^[10-11]。

参考文献

- [1] Eggeling F,Davies H,Lomas L,et al. Tissue-specific microdissection coupled with Protein Chip array technologies: applications in cancer research[J]. Biotechniques, 2000,29(5):1066-1070.
- [2] 孙伟莉,袁媛,李卫鹏,等. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统的临床应用[J]. 蚌埠医学院学报,2014,39(10):1422.
- [3] 原佩贤,张江宇,巫剑雄,等. 多种肿瘤标志物联合检测对非小细胞肺癌早期诊断的临床意义[J]. 北京医学,2014,50(7):578-580.
- [4] 李爱丽,黄丽芳,成君俐,等. 多种肿瘤标志物联合检测在常见恶性肿瘤诊治中的价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(5):521-522.
- [5] Duffy MJ. Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers[J]. Med Princ Pract, 2012,22(1):4-11.
- [6] 汪广杰,王东,张涛. 血清多种肿瘤标志物联合检测对肺癌的诊断价值[J]. 重庆医学,2015,44(13):1759-1761.
- [7] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
- [8] 陈万青,张思维,郑荣寿,等. 中国 2009 年恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤,2013,22(1):2-12.
- [9] 郭晓英,王晓静,李剑华,等. 体检者及患者多肿瘤标志物蛋白芯片检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(1):125-126.
- [10] 李清茹,李顺东. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测在老年人健康体检中的应用价值及其临床意义[J]. 吉林大学学报(医学版),2016,42(3):535-540.
- [11] 包珂涵. 老年人健康体检中的应用联合检测肿瘤标志物的效果分析[J]. 系统医学,2016,1(4):52-54.

(收稿日期:2016-03-15 修回日期:2016-05-21)

(上接第 2832 页)

kinase connections in insulin and growth-factor signaling[J]. Blood,1993,296:15-19.

- [2] Frame S,Cohen P. GSK3 takes centre strage more than 20 years after its discovery[J]. Biochem J,2001,359:1-16.
- [3] Fang XYS,Tanyi JL,Lu Y,et al. Convergence of multiple signaling cascades at glycogen synthase kinase 3:Edg receptor-mediated phosphorylation and inactivation by lysophosphatidic acid through a protein kinase C-dependent intracellular pathway[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(7): 2099-2110.
- [4] Liang MH. Differential roles of glycogen sythase kinase-3 isoforms in the regulation of transcriptional activation[J]. J Biol Chem,2006,281(41):30479-30484.
- [5] 杨莉莉,刘章锁. GSK-3 β 在高糖环境下足细胞转分化效应中的作用[J]. 重庆医学,2015,44(12):1609-1612.

- [6] Pearce NJ,Arch JR,Clapham MP,et al. Development of glucose intolerance in male transgenic mice overexpressing human glycogen synthase kinase-3 on a muscle-specific promoter[J]. Metabolism,2004,53(11):1322-1330.
- [7] Satish P,Bradley W,Doble A,et al. Tissue-specific role of glycogen synthase kinase 3 in glucose homeostasis and insulin action[J]. Mol Cell Biol,2008,29(12):6314-6328.
- [8] 凌振芬,赵永波,沈翔. 糖尿病患者外周血白细胞 GSK-3 及 MMSE 的测定[J]. Nervous Diseases and Mental Health,2006,6(3):172-174.
- [9] 谭婕,吴建华. 2 型糖尿病患者外周血有核细胞糖原合成酶激酶 β (GSK- β) 基因表达研究[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(3):58-60.

(收稿日期:2016-04-06 修回日期:2016-06-11)