

多种肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对恶性肿瘤的临床应用价值

罗荣城,左强,张军一,廖旺军,李爱民,秦斌

Clinical Value of Multiple Tumor Markers Protein Biochip Detective System for Malignant Tumor

LUORongcheng, ZUOQiang, ZHANGJunyi, LIAOWangjun, LI Ai-min, QIN Bin

Cancer Center, Nanfang Hospital, The First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical significance of multiple tumor markers protein biochip detective system for malignant tumor diagnosis. **Methods** The serum level of 12 common tumor markers, including CA199, NSE, CEA, CA242, CA125, CA153, AFP, Ferritin, free β -PSA, PSA, β -HCG and HGH, were measured with the detective system in 469 malignant tumor patients, 130 patients with benign disease and 1448 healthy examinations. **Results** The positive rates were 81.45%, 50.00% and 29.77% in malignant tumor, benign disease and healthy groups, respectively. The malignant tumor group had significantly higher positive rate than that of the controls ($P < 0.05$). Except for pancreatic cancer, combined measurement had higher sensitivity than single tumor marker for the other 14 kinds of malignant tumors ($P < 0.05$). **Conclusion** Combined measurement of multiple serum tumor markers using protein biochip technique can significantly increase the diagnostic sensitivity for malignant tumor, but also can be used as an earlier period tumor surveying tool to symptomless people, especially to high risk people.

Keywords: Malignant tumor; Tumor marker; Multiple tumor markers protein biochip detective system; Protein biochip

摘要:目的 研究多种肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对恶性肿瘤诊断的临床意义。方法 用该检测系统测定分析 469 例恶性肿瘤患者, 130 例良性疾病患者和 1448 例健康查体者血清中 12 种常见肿瘤标志物(CA199, NSE, CEA, CA242, CA125, CA153, AFP, Ferritin, free β -PSA, PSA, β -HCG 及 HGH)的水平。结果 恶性肿瘤组的阳性率为 81.45%, 显著高于良性疾病组(50.00%)和健康查体组(29.77%)($P < 0.05$)。除胰腺癌之外, 联合检测对其余 14 种恶性肿瘤的敏感性均显著高于单一标志物检测($P < 0.05$)。结论 运用蛋白芯片技术联合检测多种肿瘤标志物可以明显提高恶性肿瘤诊断的敏感性, 同时也可以作为无症状人群的早期肿瘤普查手段之一, 尤其对肿瘤高危人群的防癌普查具有一定意义。

关键词: 恶性肿瘤; 肿瘤标志物; 多种肿瘤标志物蛋白芯片检测系统; 蛋白芯片

中图分类号: R730.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)05-0290-03

0 引言

蛋白质芯片是一种高通量、高灵敏度、高特异性且微型化的蛋白质分析技术^[1], 实验表明, 该项技术对多种疾病的早期诊断均有一定的作用^[2,3]。我院肿瘤标志物实验室自 2002 年 4 月至今, 已经应用多种肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对 2000 余名恶性肿瘤、良性疾病及健康查体者进行了 12 种肿瘤标志物(CA199, NSE, CEA, CA242, CA125, CA153, AFP, Ferritin, free β -PSA, PSA, β -HCG 及 HGH)的联合检测, 现将结果报告如下, 旨在探讨其对恶性肿瘤诊断的临床意义。

1 资料与方法

1.1 检测对象 恶性肿瘤组均为本院 2002 年 4 月~2003 年 3 月住院患者, 均经临床手术及病理检查或有关实验室检查(如 B 超、CT、MRI 等)确诊, 男性 253 例, 女性 216 例, 平均年龄 55 岁。良性疾病组为同期住院病人 130 例, 男性 71 例, 女性 59 例, 平均年龄 49 岁。健康查体组 1448 例, 均为门诊健康查体者, 男性 956 例, 女性 492 例, 平均年龄 43 岁。

1.2 实验方法 各组均采集空腹血 2ml 分离血清, -20℃ 保存待测。试剂盒为浙江湖州数康生物科技有限公司生产的 C-12 型肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒(简称 C-12), 按说明书操作, 并采用其提供的 HD-2001A 生物芯片检测仪分析结果。正常参考值范围为: CA125 < 35U/ml, CA199 < 35U/ml, CA153 <

收稿日期: 2003-05-07; 修回日期: 2003-07-30

作者单位: 510515 广州, 第一军医大学附属南方医院肿瘤中心

35U/ml,CA242<20U/ml,CEA<5n g/ml,AFP<20ng/ml,NSE<13n g/ml,PSA<5n g/ml,f - PSA<1ng/ml,HGH< 7.5n g/ml,Ferritin<219n g/ml (女)、322ng/ml (男) , - HCG<3n g/ml 。

1.3 统计学方法 使用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析,显著性检验使用 χ^2 检验 ($P < 0.05$) 。

2 结果

2.1 恶性肿瘤组与良性疾病组、健康查体组阳性率比较 恶性肿瘤组的阳性率显著高于良性疾病组及健康查体组 ($P < 0.05$)。C-12 蛋白芯片对恶性肿瘤检测的灵敏度为81.45% ,特异性为68.57% ,阳性预测值为50.53% ,阴性预测值为86.64% ,有效性为71.52% ,见表 1。

表 1 C-12 蛋白芯片对各组的检测阳性率(%)

组别	例数	阳性数	阴性数	阳性率 (一项以上阳性)
恶性肿瘤组	469	382	87	81.45 **
良性疾病组	130	65	65	50.00
健康查体组	1448	431	1017	29.77

注: *恶性肿瘤组与健康查体组比较 $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 良性疾病组与恶性肿瘤组比较 $P < 0.05$ $P < 0.01$

表 3 12 种肿瘤标志物在各组中的阳性率(%)

组别	n	CA199	NSE	CEA	CA242	Ferritin	HCG	AFP	Free-PSA	PSA	CA125	HGH	CA153	阳性率(%) (一项以上)
肺癌	108	15.74	10.19	38.89	24.07	33.33	7.41	2.78	4.63	6.83	31.48	5.56	21.30	83.33 **
肝癌	76	42.11	6.58	22.37	32.89	47.37	7.89	51.32	6.58	5.26	36.84	7.89	22.37	86.84 **
结直肠癌	41	31.71	7.32	36.59	34.15	31.7	2.44	4.88	2.44	0	17.07	4.88	29.27	80.49 **
食管癌	14	21.43	0	7.24	0	28.57	7.14	0	0	0	7.14	0	14.28	78.57 **
胃癌	27	33.33	3.70	18.52	22.22	25.93	0	0	0	0	33.33	3.70	25.93	77.78 **
胰腺癌	17	76.47	0	41.18	64.71	29.41	0	0	11.76	0	29.41	0	0	88.24 **
鼻咽癌	19	15.79	0	0	31.58	42.11	15.79	5.26	5.26	10.52	36.84	15.79	26.32	73.68 **
乳腺癌	33	27.27	6.06	18.18	30.3	39.39	9.09	9.09	3.03	0	39.39	6.06	42.42	78.79 **
卵巢癌	22	13.64	4.55	13.64	4.55	31.82	13.64	4.55	0	0	40.90	4.55	31.82	86.36 **
宫颈癌	24	16.67	0	8.33	8.33	16.67	0	0	0	0	29.17	0	25.00	75.00 **
绒癌	8	0	0	0	0	50	100	0	0	0	0	0	0	100.00 **
肾癌	18	27.78	5.56	11.11	11.11	33.33	33.33	22.22	11.11	11.11	27.78	11.11	11.11	77.78 **
前列腺癌	20	10.00	0	0	0	35.00	10.00	0	55.00	70.00	10.00	0	20.00	85.00 **
淋巴瘤	16	12.50	0	0	25.00	43.75	12.50	0	12.50	0	31.25	12.50	25.00	75.00 **
口咽癌	12	0	0	0	8.33	41.67	0	0	0	0	8.33	0	0	58.33 *
良性肝病	58	27.59	6.90	10.34	13.79	29.31	6.90	6.90	10.34	10.34	37.93	6.90	10.34	51.72
良性肺病	48	22.92	6.25	8.33	14.58	27.08	8.33	2.08	4.17	4.17	25	2.08	8.33	52.08
妇科肿瘤	24	16.67	0	8.33	16.67	29.17	8.33	0	0	0	8.33	0	8.33	41.67 *
健康查体	1448	2.00	0.41	1.38	1.17	22.51	2.21	0.97	0.14	0.28	1.73	1.59	7.45	29.77

注: *与健康查体组比较, $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 肺癌组与良性肺病组比较, $P < 0.05$ $P < 0.01$; 肝癌组与良性肝病组比较, $P < 0.05$ $P < 0.01$

2.2 剔除不同指标后 C-12 蛋白芯片对恶性肿瘤检测结果的变化 在分别剔除 Ferritin、CA153 以及 Ferritin 和 CA153 之后,C-12 蛋白芯片对恶性肿瘤的检测结果显示见表 2。

表 2 剔除不同指标后 C-12 蛋白芯片对恶性肿瘤检测结果变化(%)

组别	灵敏度	特异性	有效性	阳性 预测值	阴性 预测值
剔除 Ferritin	70.58	86.69	82.99	59.53	84.50
剔除 CA153	74.41	70.28	71.23	50.29	83.17
剔除 Ferritin 和 CA153	63.11	89.92	83.78	60.91	81.22

2.3 15 种恶性肿瘤的检测结果显示 15 种恶性肿瘤的阳性率均显著高于健康查体组,肝癌组的阳性率显著高于良性肝病组,肺癌组的阳性率显著高于良性肺病组,除胰腺癌之外,联合检测对其余 14 种恶性肿瘤的阳性率均高于单一标志物检测 ($P < 0.05$) ,见表 3。

3 讨论

恶性肿瘤的早期诊断和早期治疗是提高疗效的

最有效手段之一。自 20 世纪六、七十年代发现 AFP、CEA 以及 SCC 并在临床上得到应用以来,肿瘤标志物检测已经成为常规的肿瘤检测手段之一,为肿瘤的诊断和疗效观察起到一定的作用。但单一标志物检测始终存在着特异性不强、阳性率较低等不足,特别是对早期肿瘤的检测率不高^[4]。因此,为了提高恶性肿瘤的诊断敏感性,临床上常对现有的肿瘤标志物进行联合检测。但是,按照普通方法对每份血清进行多项标志物的测定在人力、物力和财力上都不现实。

生物芯片是近几年发展起来的用于分析 DNA 多态性、DNA 测序、蛋白质表达等的一种大规模集成化、简单快速的分析方法,已广泛用于基础研究、疾病诊断等领域^[5,6]。蛋白芯片是继基因芯片之后,作为基因芯片功能的补充发展起来的。它是在一个基因芯片大小的载体上,点布高密度不同种类的蛋白质,然后再用标记了荧光染料的已知抗体或配体等与待测样本中的抗体或配体一起同芯片上的蛋白质竞争结合,在扫描仪上读出荧光强弱,计算机分析计算出待测结果^[7,8]。Eggeling 等^[9]利用该技术对 8 例肾癌患者进行了检测,结果显示,该技术可以在蛋白质水平上反映肿瘤的变化。我们采用的 C-12 检测系统就是运用蛋白芯片技术,通过同时定量分析被检者血清中的 12 种肿瘤标志物的含量,对常见的 15 种恶性肿瘤进行联合检测分析。研究结果表明,联合检测可以提高恶性肿瘤的诊断敏感性(81.45%)和阴性预测值(86.64%),减少漏诊率。而且,除胰腺癌之外,联合检测对其余 14 种恶性肿瘤的敏感性均显著高于单一标志物检测($P < 0.05$)。我们同时注意到,联合检测在提高诊断敏感性的同时,特异性有所下降,所以诊断时需排除假阳性。我们认为在应用 C-12 蛋白芯片检测出现可疑阳性结果时,应采用 ELISA 法或免疫发光法再次确认检测结果,同时应结合病史及有关实验室、影像学及病理组织学检查,最后作出正确的诊断。由于该法特异性及阳性预测值偏低,所以更适合于无明显

症状的门诊病人的筛查,尤其对肿瘤高危人群的防癌普查具有一定意义。

另外,研究结果显示, Ferritin 和 CA153 假阳性率偏高,在剔除上述 2 项指标后, C-12 蛋白芯片对恶性肿瘤诊断的敏感性有所下降,但特异性明显升高,特别是在剔除 Ferritin 后,敏感性由 81.45% 下降至 70.58%,特异性却由 68.57% 升高至 86.69%,显示出更好的临床应用价值,而且在 469 例恶性肿瘤患者中有 87 例患者未发现这 12 种标志物升高,因此该检测系统还需进一步通过剔除某种标志物,增加其他标志物来加以改进,不断提高诊断敏感性和准确度。

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] Weinberger SR, Dalmaso EA, Funke ET. Current achievements using Protein Chip Array technology [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2002, 6 (1): 86-91.
- [3] Rubin RB, Merchant M. Array-based protein profiling system that speeds study of cancer and other diseases [J]. *Am Clin Lab*, 2000, 19 (8): 28-29.
- [4] Kayaba H. Tumor markers: essential diagnostic tools for radiologists [J]. *Nippon Ika Gaku Hoshasen Gakkai Zasshi*, 2003, 63 (4): 133-139.
- [5] Sosnowski RG, Tu S, Butler WF, et al. Rapid determination of single base mismatch mutations in DNA hybridization by direct electric field control [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1997, 94 (4): 1119-1123.
- [6] Livache T, Bazin H, Caillat P, et al. Electroconductive polymers for the construction of DNA or peptide array on silicon chips [J]. *Biosens Bioelectron*, 1998, 13 (6): 629-634.
- [7] Chapman K. The Protein Chip Biomarker System from Ciphergen Biosystems: a novel proteomics platform for rapid biomarker discovery and validation [J]. *Biochem Soc Trans*, 2002, 30 (2): 82-87.
- [8] 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.
- [9] Eggeling F, Junker K, Fiedler W, et al. Mass spectrometry meets chip technology: a new proteomic tool in cancer research [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22 (14): 2898-2902.

[编辑: 李奇明; 校对: 周永红]