

用蛋白质芯片联合检测 卵巢癌患者血清的肿瘤标志物

邓安梅,仲人前,陈孙孝,周 晔,孔宪涛

摘要:目的 应用蛋白质芯片联合检测卵巢癌患者血清中肿瘤标志物 CA125、CEA、CA153 和 CA242。方法 将血清与蛋白质芯片在 37℃ 反应 30min, 再依次与反应液、检测液孵育, 用生物芯片检测仪读取 AFP、铁蛋白和 CEA 反应点。结果 卵巢癌患者的蛋白质芯片检测阳性率为 90%, 显著高于正常对照、疾病对照组。蛋白质芯片的反应强度与血清标本中 CA125、CEA、CA153 含量具有较好的相关性。结论 采用蛋白质芯片联合检测多种肿瘤标志物, 有助于提高肿瘤诊断的灵敏性。

关键词:蛋白质芯片; 卵巢癌; 肿瘤标志物

中图分类号: R737.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578 (2002) 06-0475-02

United detection of tumor markers in

patients with ovarian cancer with protein chip

DENG An-mei, ZHONG Ren-qian, CHEN Sun-xiao, et al

Clinical Immunology Center, Changzhen Hospital, Shan ghai 200003, China

Abstract: **Objective** In view of united detection of tumor markers such as CA125, CEA, CA153 and CA242 in patients with ovarian cancer with protein chip. **Methods** These serum samples were incubated with protein chip pat37 for 30 min, then incubated with reaction solution and detection solution. Finally, the reactions spots of AFP, Ferritin and CEA were read by biochip analysis. **Results** The positive rate of CA125 protein chip were 90% in ovarian cancer patients, which was markedly higher than those of normal and disease controls. The response intensity of protein chip was well correlated to the contents of CA125, CEA, CA153. **Conclusion** United detection of tumor markers with protein chip is helpful for improving the sensitivity of tumor diagnosis.

Keywords: Protein chip; Ovarian cancer; Tumor marker

卵巢癌占妇科恶性肿瘤的第 3 位。由于卵巢癌深藏于盆腔, 患病初期很少有症状, 以致确诊时 60% ~ 70% 的卵巢癌已属晚期, 其死亡率较高^[1]。寻找早期诊断方法, 探索有效的综合疗法是降低卵巢癌死亡率的关键。但是, 肿瘤标志物的检测往往存在特异性和灵敏性不足的问题, 联合检测有助于提高其诊断价值。

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, 是把多种纯化的探针蛋白高密度排列在固定支持物表面上, 样品中的靶蛋白可特异性地与探针结合, 因而可对样品中的待测蛋白进行定性、定量和功能分析^[2,3]。本实验采用肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒, 对卵巢癌患者、正常人及疾病对照组血清中的多种肿瘤标志物 CA125、CA153、CA242 和 CEA 进行联合检测, 以便为临床上肿瘤的早期诊断和治疗提供更准确、快捷的实验室检查依据。

1 对象和方法

1.1 血清样品取自 卵巢癌组: 40 例经临床病理确诊但都未经治疗的卵巢癌患者; 正常对照组: 159 例年龄小于 30 岁的健康体检者、206 例年龄在 30 岁至 60 岁的健康体检者、92 例年龄大于 60 岁的健康体检者; 疾病对照组: 炎症 89 例、良性肿瘤 61 例、肺癌 40 例、前列腺癌 30 例。

1.2 仪器和试剂盒 肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒为上海数康生物科技有限公司生产的 C-12 型肿瘤并行诊断用蛋白芯片试剂盒 (简称 C-12), 采用其提供的 HD-2001A 生物芯片检测仪分析结果。

1.3 实验方法 将各待测血清及不同浓度的标准品混合液各 100μl 滴加到不同的芯片分格内; 将蛋白芯片在 37℃ 温浴振荡反应 30min, 倾倒入孔内液体; 吸取 200μl 洗涤液加入芯片分格内, 振摇洗涤 5min, 弃去洗涤液; 重复洗涤 2 次; 每个芯片分格内加入 100μl 反应液, 然后蛋白芯片在 37℃ 温浴振荡反应 30min, 倾倒入孔内液体; 将检测液 A 和 B 等体积混合, 打开蛋白芯片 (使上部与中下部脱离), 在膜表

收稿日期: 2001-10-30; 修回日期: 2002-03-26

作者单位: 200003 上海, 第二军医大学长征医院全军临床免疫中心

面加入 30 μ l 已混合的检测液,反应 30s,经洗涤 4 次后,用生物芯片检测仪对蛋白芯片读取数据,使用设定的软件进行数据分析。

2 结果

2.1 正常对照组的肿瘤标志物检测结果 采用蛋白质芯片检测正常对照组血清,结果表明,约 0.9% 正常人表现为 CA125 阳性,0.66% 为 CEA 阳性,0.44% 为 CA153 阳性,1.8% 为 CA242 阳性。其中大于 60 岁组的阳性较高,但与低年龄组相比,没有显著差异,见表 1。

表 1 采用蛋白质芯片检测正常对照组的阳性结果

年龄	n	CA125	CEA	CA153	CA242	阳性	%
		+	+	+	+	(n)	
<30 岁	159	0	0	0	2	2	1.3
30~60 岁	206	2	1	1	4	6	2.9
>60 岁	92	2	2	1	2	6	6.5
合计	457	4	3	2	8	14	3.1

注:阳性人数中有的人是两项同时阳性。

2.2 卵巢癌患者和正常人对照、疾病对照组血清的检测结果 采用蛋白质芯片检测正常对照组血清,在炎症性疾病和良性肿瘤血清中,C12 阳性率分别为 7.9% 和 6.6%,而在卵巢癌患者中 C12 阳性率为 90%,在肺癌和前列腺癌患者中分别为 12.5% 和 20%。经秩和检验表明,卵巢癌患者的 C12 阳性率显著高于正常对照、疾病对照组,见表 2。

表 2 采用蛋白质芯片检测卵巢癌患者、正常人对照、疾病对照组血清的阳性结果

疾病分类	n	CA125	CEA	CA153	CA242	阳性	%
		+	+	+	+	(n)	
正常对照组	457	4	3	2	8	14	3.1
炎症性疾病	89	6	1	1	7	13	14.6
良性肿瘤	61	3	4	2	2	10	16.4
卵巢癌	40	30	8	8	5	36	90.0
肺癌	40	1	5	1	5	12	30.0
前列腺癌	30	0	6	2	2	8	26.7

在正常人和炎症性疾病、良性肿瘤组中,阳性点较恶性肿瘤组较小,即其半定量值低于恶性肿瘤组。而且炎症性疾病组的阳性点为普遍阳性,与肿瘤的阳性表现有所不同。其图象直观,易于鉴别病情。

2.3 采用常规检测仪器定量与蛋白质芯片检测的比较 抽取 100 份临床检测血清,用美国雅培第三代仪器 Axym 和 C-12 蛋白芯片多肿瘤诊断系统进行双盲检测 CA125、CEA、CA153,结果显示,常规检测 CA125、CEA、CA153 量高于正常值时,蛋白质芯片检测也显示阳性,而且随着含量增高,蛋白质芯片的阳性吸光度越高,表明蛋白质芯片的反应强度与血清标本中含量具有较好的相关性。常规检测 CA125、CA153 和 CEA 的联合阳性率为 87.5% (35/40),用蛋白芯片试

剂盒联合检测 CA125、CEA、CA153 和 CA242,可达到 90% (36/40) 的阳性率。

3 讨论

卵巢癌是恶性程度最高的妇科癌症之一,其 5 年生存率仅为 30%。CA125 升高与肿瘤的发展和预后有关,居高不降常见于癌症晚期,为不祥之兆。血清 CA125 持续增高常与进行性恶性疾病和治疗效果不佳有关;反之,CA125 水平的下降则视为预后良好和治疗有效的标志。CA125 是迄今检测残余性上皮型卵巢癌的最灵敏标记。CEA 及 CA153 水平也是用作癌症病人的监测、确定治疗效果好坏及是否复发的标志。

C12 型肿瘤并行诊断用蛋白芯片试剂盒是将多种肿瘤标志物的抗体固定于同一张蛋白质芯片上,能同时检测多种肿瘤标志物。本实验采用此产品对卵巢癌患者血清、正常对照组以及疾病对照组进行检测分析,结果表明,卵巢癌患者的 C12 阳性率显著高于正常对照、疾病对照组,其图象直观,易于鉴别,蛋白质芯片的反应强度与血清标本中含量具有较好的相关性。用蛋白芯片试剂盒联合检测 CA125、CEA、CA153 和 CA242,对于卵巢癌患者血清可达到 90% 的阳性率。而且采用蛋白质芯片检测,更为快捷,可同时检测多种肿瘤标志物,提高检测对于肿瘤诊断的灵敏性。

在传统的蛋白质研究方法中,通常是一次只能研究单一蛋白质的活性,既费时又昂贵。近年来蛋白质芯片技术发展很快,为分析蛋白质-蛋白质、蛋白质-DNA、蛋白质-RNA、蛋白质-配体之间的交互作用提供了一个强大、多功能的研究手段^[4,5]。将蛋白质芯片技术应用到临床肿瘤的辅助诊断上,具有巨大的应用潜力,在临床疾病诊断中将会发挥越来越大的作用。

参考文献:

- [1] 巴德年.当代免疫学技术与应用[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998.927-937.
- [2] Eggeling F, Davies H, Lomas L, et al. Tissue-specific microdissection coupled with ProteinChip[®] pArra y technologies: applications in cancer research[J]. Biotechniques, 2000, 29 (10): 1066-1070.
- [3] Wright GL Jr, Cazares LH, Leung S-M, et al. ProteinChip[®] surface enhanced laser desorption/ionization (SELDI) mass spectrometry: a novel protein biochip technology for detection of prostate cancer biomarkers in complex protein mixtures[J]. Prostate Cancer and Prostatic Diseases, 2000, 2 (3): 264-276.
- [4] Vlahou A, Mendrinos S, Kondylis F, et al. Identification of protein changes in bladder cancer patient urine by ProteinChip[®] SELDI affinity mass spectrometry[J]. Proc Amer Assoc Cancer Res, 2000, 41 (8): 852-853.
- [5] Xiao Z, Jiang X, Beckett ML, et al. Generation of baculovirus recombinant prostate-specific membrane antigen and its use in the development of a novel protein biochip quantitative immunoassay protein[J]. Exp Purif, 2000, 19 (1): 12-21.

(李奇明校对)