论著

文章编号:1000-5404(2008)17-1658-03

# 多肿瘤标志物蛋白质芯片检测对肿瘤诊断的临床意义

仲召阳[1],王 东[1],李增鹏[2],李梦侠[1],戴 楠[1],曹晓静[1],王 佳[1],关 伟[1] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]肿瘤中心,[2]病理科,重庆 400042)

**摘 要**:**目的** 研究多肿瘤标记物蛋白芯片检测系统对肿瘤筛选的临床意义,并建立辨别诊断函数,以提高肿瘤诊断的准确率。**方法** 检测对象:体检组1 209例,临床确诊良性病变组660例,临床确诊肿瘤组3 731例,共5 600例。通过检测12种常见肿瘤标志物结果和对临床资料进行回顾性研究,建立肿瘤判别诊断函数,比较12种肿瘤标志物和判别诊断函数对肿瘤诊断的准确率差异。**结果** ①1 209例体检者中,128例结果异常,阳性率为10.59%,显著低于肿瘤组($P<0.01$)。②12项肿瘤标志物检测结果显示其在体检组的诊断准确率为89.66%,肿瘤患者的诊断准确率为62.77%,灵敏度为66.11%,特异度为48.68%。③肿瘤辨别诊断函数对体检者的诊断准确率为93.7%,对肿瘤患者诊断准确率为75.7%。**结论** 肿瘤标记物蛋白芯片检测系统具有较高灵敏度和特异度,对肿瘤的早期诊断具有重要临床价值。辨别肿瘤的函数可提高肿瘤诊断准确性。

**关键词**:C-12多肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统;肿瘤;诊断
**中图法分类号**:R318.04;R446.9;R730.43 **文献标识码**:A

# C-12 multiple tumor marker protein chip detection system in diagnosis of tumor

ZHONG Zhao-yang[1], WANG Dong[1], LI Zeng-peng[2], LI Meng-xia[1], DAI Nan[1], CAO Xiao-jing[1], WANG Jia[1], GUAN Wei[1] ([1]Cancer Center, [2]Department of Pathology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

**Abstract**: **Objective** To evaluate the clinical values of C-12 multiple tumor marker protein chip detection system in diagnosis of tumor, and establish the diagnostic function to evaluate the accuracy rate of diagnosis. **Methods** Totally 5 600 subjects were recruited, including 1 209 physical examiners, 660 benign patients and 3 731 patients of malignant tumors. Their clinical data were retrospectively studied and 12 tumor markers (CA199, NSE, CEA, CA242, CA125, CA153, AFP, Fer, F-PSA, PSA, HGH and β-HCG) were detected by protein chip technology, then the diagnostic function was established to compare the accuracy rate made according to the diagnostic result with 12 tumor markers. **Results** ①At least one kind of tumor marker was found positive in 128 subjects out of 1 209 physical examiners, with the positive rate of 10.59% that was significantly lower than that of the two tumor groups. ②The accuracy rate in the physical examiners was 89.66% by C-12 multiple tumor marker protein chip detection system, while 62.77% in tumor patients. The sensitivity by this method was 66.11% and the specificity was 48.68%. ③The accuracy rate in physical examiners was 93.7% by the diagnostic function, while 75.7% in tumor patients. **Conclusion** The combined use of the selected biomarkers in diagnosis has higher sensitivity and specificity, and is of great potential for the early detection of cancer. The diagnostic function can promote the diagnostic accuracy rate of cancers to some extent.

**Key words**: C-12 multiple tumor marker protein chip detective system; cancer; diagnosis

近年来,肿瘤发病率呈逐年上升趋势,是人类的主要死因之一,肿瘤的早期发现和诊断对肿瘤的预防和治疗至关重要[1]。目前肿瘤实验室诊断尚缺乏高敏感性和高特异性的检测手段。多肿瘤标志物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,对肿瘤的早期诊断具有辅助作用[2]。本研究通过对体检者、良性病变患者和恶性肿瘤患者12项肿瘤标志物的联合检测和对临床资料回顾性分析,并建立联合诊断函数,探讨C-12多肿瘤标志物蛋白芯

作者简介:仲召阳,男,江苏省连云港市人,主治医师,讲师,主要从事肿瘤分子靶向治疗及DNA损伤修复方面的研究。电话:(023)68757150
收稿日期:2007-11-08;修回日期:2007-12-16

片检测系统在肿瘤早期诊断的临床意义。

## 1　资料与方法

### 1.1　检测对象

体检组:第三军医大学大坪医院野战外科研究所 2004 年 1 月至 2007 年 3 月体检人群 1 209 例,其中男性 856 例,女性 353 例,平均年龄 47 岁(20 ~ 89 岁)。

良性病变组:第三军医大学大坪医院野战外科研究所 2004 年 1 月至 2007 年 3 月住院的良性疾病患者 660 例,平均年龄 57.3 岁(14 ~ 89 岁),其中男性 397 例,女性 263 例。

恶性肿瘤组:第三军医大学大坪医院野战外科研究所 2004 年 1 月至 2007 年 3 月住院和门诊患者 3 731 例,平均年龄为 59.8 岁(3 ~ 91 岁),其中男性 2 366 例,女性 1 365 例。所有恶性肿瘤患者均经细胞学或组织学确诊。

### 1.2　仪器和试剂

C-12 肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒(简称 C-12)、HD-2001A 生物芯片检测仪、生物芯片图像分析系统软件均由浙江湖州数康生物科技有限公司提供。

### 1.3　方法

应用无热源无内毒素试管抽取空腹静脉血 2 ml,离心后收集无溶血的血清标本。血清分装后置 4 ℃冰箱保存,5 d 内检测,测试前平衡至室温。严格按蛋白芯片检测仪说明书操作。试剂盒提供的 12 种肿瘤标志物的正常参考值为:糖类抗原19-9(carbohydrate antigen19-9,CA199) <35 U/ml,神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase,NSE) < 13 ng/ml,癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA) <5 ng/ml,糖类抗原 242(carbohydrate antigen 242,CA242) <20 U/ml,糖类抗原 125(carbohydrate antigen125,CA125) <35 U/ml,糖类抗原 15-3(carbohydrate antigen153,CA153) <35 U/ml,甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP) < 20 ng/ml,铁蛋白(Ferritin, Fer) < 219 ng/ml(女)、322 ng/ml(男),游离型前列腺特异性抗原(free prostate specific antigen,F-PSA) <1 ng/ml,前列腺特异性抗原(prostate specific antigen,PSA) <5 ng/ml、生长激素(human growth hormone,HGH) <7.5 ng/ml 及绒毛膜促性腺激素 β(β-HCG) < 3.00 ng/ml。超过临界值者为阳性,在正常参考值范围内者为阴性。

### 1.4　数据处理

1.4.1　评价标准　　芯片上的信号值超过临界值者为阳性,在正常参考值范围内者为阴性。

1.4.2　各项值的判断　　灵敏度 =(真阳性样本数/(真阳性样本数 + 假阴性样本数)] ×100%;特异度 = [真阴性样本数/(真阴性样本数 + 假阳性样本数)] ×100%;准确率 = [真阳性样本数 + 真阴性样本数/(真阳性样本数 + 假阳性样本数 + 真阴性样本数 + 假阴性样本数)] ×100%。

### 1.5　统计学处理

使用 SPSS 10.0 软件进行统计分析。计数结果以百分比表示,采用 $\chi^2$ 检验,统计数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析和 $t$ 检验。

## 2　结果

### 2.1　体检组蛋白芯片结果

对 1 209 例体检者进行多肿瘤标志物筛查,各项指标统计结果见表 1,其中有 128 例结果有不同程度的升高,占总筛查人数的 10.59%,阳性标记物依次为铁蛋白、CA19-9、CA125、CEA、HGH、AFP 等。其中 5 例经病理、内窥镜、影像学确诊为恶性肿瘤,肿瘤检出率 0.4%,特异度为 89.78%,灵敏度为 80.00%。

表 1　1 209 例体检者 12 项肿瘤标志物指标统计结果

| 指标 | 阳性例数 | $\bar{x} \pm s$ | 最大值 | 最小值 |
|---|---|---|---|---|
| CA199 (U/ml) | 20 | 9.88 ± 13.20 | 276.96 | 0.53 |
| NSE(ng/ml) | 1 | 2.30 ± 2.35 | 65.49 | 0.32 |
| CEA(U/ml) | 18 | 1.97 ± 3.55 | 83.68 | 0.20 |
| CA242 (U/ml) | 9 | 4.18 ± 6.03 | 129.72 | 1.00 |
| FE(ng/ml) | 55 | 182.62 ± 58.74 | 600.00 | 2.08 |
| HCG(ng/ml) | 10 | 0.89 ± 1.72 | 30.66 | 0.02 |
| AFP(ng/ml) | 14 | 3.09 ± 11.64 | 261.14 | 0.20 |
| FPSA(ng/ml) | 10 | 0.18 ± 0.28 | 6.56 | 0.02 |
| PSA(ng/ml) | 4 | 0.83 ± 0.13 | 25.01 | 0.04 |
| CA125(U/ml) | 20 | 13.65 ± 30.56 | 483.44 | 1.00 |
| HGH(ng/ml) | 16 | 1.78 ± 2.36 | 26.83 | 0.01 |
| CA153(U/ml) | 13 | 10.55 ± 8.88 | 75.11 | 0.20 |

### 2.2　体检组与良性疾病组、恶性肿瘤组阳性率比较

体检组阳性率为 10.59%,良性疾病组的阳性率为 51.32%,肿瘤组阳性率为 66.11%,体检组和良性疾病组的阳性率显著低于肿瘤组($P < 0.05$),12 项多肿瘤标志物具体数值见表 2。

表 2　12 项肿瘤标志物在各组中的表达

| 肿瘤标志物 | 肿瘤组 | 良性病变组 | 体检组 | $P$ |
|---|---|---|---|---|
| CA19-9(U/ml) | 37.40 ± 72.63 | 13.98 ± 62.53 | 9.88 ± 13.20 | 0.000 |
| CEA (ng/ml) | 10.87 ± 21.93 | 3.22 ± 7.24 | 1.97 ± 3.55 | 0.000 |
| CA242(U/ml) | 20.88 ± 0.86 | 4.79 ± 9.20 | 4.18 ± 6.03 | 0.000 |
| NSE(ng/ml) | 2.89 ± 5.47 | 2.58 ± 4.08 | 2.30 ± 2.35 | 0.676 |
| Ferritin(ng/ml) | | | | |
| 男 | 206.80 ± 122.20 | 223.75 ± 104.37 | 185.25 ± 53.66 | 0.511 |
| 女 | 195.50 ± 124.67 | 192.83 ± 118.12 | 179.62 ± 62.86 | 0.602 |
| HCG (ng/ml) | 1.09 ± 2.19 | 0.93 ± 1.62 | 0.89 ± 1.72 | 0.067 |
| AFP (ng/ml) | 17.42 ± 37.76 | 8.98 ± 10.38 | 3.09 ± 11.64 | 0.015 |
| f-PSA(ng/ml) | 0.29 ± 1.28 | 0.21 ± 2.02 | 0.18 ± 0.28 | 0.077 |
| PSA (ng/ml) | 1.25 ± 3.24 | 1.00 ± 3.09 | 0.83 ± 0.13 | 0.011 |
| CA125(U/ml) | 46.49 ± 91.40 | 28.89 ± 32.18 | 13.65 ± 30.56 | 0.000 |
| HGH (ng/ml) | 2.72 ± 5.19 | 2.13 ± 4.10 | 1.78 ± 2.36 | 0.185 |
| CA15-3(U/ml) | 12.58 ± 14.04 | 10.19 ± 12.34 | 10.55 ± 8.88 | 0.067 |

### 2.3　判别诊断函数的建立

利用现有病例通过二分类判别函数建立对肿瘤的诊断判别方程。合并良性病变组和正常体检组为正常组,以提高判别方程的诊断和分类效能。将所有病例随机化后,抽取 85% 作为训练集,以建立判别方程,并以 15% 作为测试集以检验判别效能。

$$Y = -0.774 + 0.009X_1 + 0.010X_2 - 0.004X_3 - 0.019X_4 + 0.158X_5 + 0.004X_6 + 0.002X_7 - 0.088X_8 + 0.003X_9 + 0.336X_{10}$$

$-0.146X_{11}-0.001X_{12}-0.014X_{13}-0.033X_{14}$。（其中 $X_1$ 为性别（男性值为 1，女性为 0），$X_2$ 为年龄，$X_3$ 为 CA19－9，$X_4$ 为 NSE，$X_5$ 为 CEA，$X_6$ 为 CA242，$X_7$ 为 Ferritin，$X_8$ 为 β-HCG，$X_9$ 为 AFP，$X_{10}$ 为 f-PSA，$X_{11}$ 为 PSA，$X_{12}$ 为 CA125，$X_{13}$ 为 HGH，$X_{14}$ 为 CA15-3。

当 $Y\geqslant 0$，判定为正常；当 $Y<0$，判定为肿瘤。

### 2.4 12 项肿瘤标志物和肿瘤判别诊断函数的检测结果分析比较

12 项肿瘤标志物检测结果显示其在体检组的诊断准确率为 89.66%，肿瘤患者的诊断准确率为 62.77%，灵敏度为 66.11%，特异度为 48.68%。而肿瘤判别诊断函数在体检组中的诊断准确率为 93.7%，对肿瘤患者诊断准确率为 75.7%，灵敏度为 67.42%，特异度为 89.41%，表明肿瘤判别诊断函数能显著提高肿瘤诊断的正确率（$P<0.05$）和诊断的灵敏度及特异度。

## 3 讨论

肿瘤标志物已成为早期发现肿瘤和疗效观察的手段之一。研究结果表明[3]，肿瘤细胞生物学特性的复杂性及多态性，肿瘤的多步骤及多基因的癌变过程，肿瘤病理类型的差异，肿瘤细胞的异质性和肿瘤细胞基因型及细胞表型的差异等导致肿瘤标志物的不同。单一肿瘤标志物检测作为诊断手段其灵敏度和特异度均有限，目前多数学者提出联合、动态监测多肿瘤标志物，以提高检测肿瘤的敏感性和特异性[4,5]。多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统（C12 系统）利用 C-12 蛋白芯片利用抗原抗体特异性结合的免疫学原理，在固相基质上结合多种肿瘤标志物的抗体，捕捉被检者血清中的对应肿瘤标志物，通过特定的化学反应产生光信号，实现对肿瘤标志物定量检测的目的[6]。

本研究采用的 C12 检测系统同时定量分析多个被检者血清中的 12 种肿瘤标志物的含量，对正常体检、良性病变患者和恶性肿瘤患者行联合检测分析。结果表明，体检组和良性疾病组的阳性率显著低于肿瘤组，同时发现联合检测可提高恶性肿瘤的诊断准确率，减少漏诊率，表明多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统结果支持最后临床诊断或者与实际临床结果较一致。提示 C12 可作为诊断肿瘤重要辅助检查手段，具有一定的诊断意义。但同时发现联合检测随着肿瘤标志物检测项目的增多，检测灵敏度下降，出现较多假阳性和假阴性，主要为铁蛋白、CA199、CA125、CEA、HGH、AFP 等。假阳性原因可能为[4,5,7]：①正常人和良性疾病患者也有不同程度表达，如铁蛋白为非特异性指标，单独出现无特殊意义；②肿瘤标志物的产生和体内理化因素有关 如肝肾功能异常会导致 CEA、AFP 升高，风湿病会导致 CA199 升高。假阴性原因可能为[6,7] ①肿瘤数目和状态有关；②肿瘤免疫复合物的形成；③肿瘤组织循环差，肿瘤标志物不能分泌到外周血中；④高浓度的钩状效应。另外，不排除少数由于操作和技术上的失误引起检测结果的偏差。因此，在肿瘤标志物检测中要注意假阳性和假阴性的问题。

目前联合诊断大多是扩大观察指标的项目数，简单地将各指标阳性率相加，这样的联合诊断虽然能提高灵敏度，但诊断的特异度却在下降，即诊断的总准确率未必提高[8]。我们通过回顾分析将每个病例的各项肿瘤标志物水平与其临床诊断关联，利用统计学软件进行二分类判别分析，按照对结果影响的强度为每个指标分配系数，建立判别方程，从而建立了较为完善的诊断系统。本研究建立的函数是经统计学处理，既充分考虑检测指标的全面性，又避免了由于简单叠加各项指标阳性率造成的特异度降低。研究结果表明，其在体检组中的诊断准确率为 93.7%，对肿瘤患者诊断准确率为 75.7%，灵敏度为 67.42%，特异度为 89.41%，表明肿瘤判别诊断函数能显著提高肿瘤诊断的正确率和诊断的灵敏度及特异性。且能避免单指标唯一判断的偏差，最大程度避免 C-12 蛋白芯片产生的假阳性和假阴性。

总之，多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对临床肿瘤的检测具有较高准确性，可适用于临床肿瘤的辅助诊断和无明显症状的门诊患者的筛查，尤其对肿瘤高危人群的防癌普查具有一定意义。针对 12 项指标检测结果建立的函数，解决了这 12 项指标综合分析的困难，为多肿瘤标志物联合诊断提供了一种新的思路和手段，将会在临床疾病诊断中发挥越来越重要的作用。

## 参考文献：


[1] 杨 琴，于本章，许 静，等. 多肿瘤标志物蛋白芯片技术临床应用价值探讨[J]. 上海预防医学杂志，2005，17(6)：282.

[2] Sun Z，Fu X，Zhang L，*et al*. A protein chip system for parallel analysis of multi-tumor markers and its application in cancer detection[J]. Anticancer Res，2004，24(2C)：1159－1165.

[3] Sreekumar A，Chinnaiyan A M. Using protein microarrays to study cancer[J]. Biotechniques，2002，Suppl：46－53.

[4] Dacic S. Molecular profiling of lung carcinoma：identifying clinically useful tumor markers for diagnosis and prognosis[J]. Expert Rev Mol Diagn，2007，7(1)：77－86.

[5] Ni X G，Bai X F，Mao Y L，*et al*. The clinical value of serum CEA，CA19-9，and CA242 in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer[J]. Eur J Surg Oncol，2005，31(2)：164－169.

[6] Weinberger S R，Dalmasso E A，Fung E T. Current achievements using ProteinChip Array technology[J]. Curr Opin Chem Biol，2002，6(1)：86－91.

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

[8] Darcy K M，Schilder R J. Relevant molecular markers and targets[J]. Gynecol Oncol，2006，103(2 Suppl 1)：S6－S13.


（编辑 栾 嘉）