文章编号:1000-5404(2012)01-0013-03

论著

血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测结果在结直肠癌诊断中的价值

龙 驰,胡义德,曹正怀 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院全军肿瘤诊治研究所)

[摘要] **目的** 探讨血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统(C-12)检测结果对结直肠癌(CRC)的诊断价值。**方法** 采用C-12对130例住院CRC患者(CRC组)和108例门诊体检人员(对照组)血清进行检测,分析C-12在两组人群之间、CRC不同TNM分期之间、C-12包含的12种肿瘤标志物之间、不同肿瘤标志物联合检测之间的阳性率差异。**结果** CRC组C-12阳性率显著高于对照组($P<0.01$),随CRC分期升高而上升($P<0.01$),其中CEA、CA242、CA19-9阳性率显著高于其余9项肿瘤标志物($P<0.01$),CEA联合CA242、CA19-9检测能提高敏感度,但它们之间联合检测或12项肿瘤标志物联合检测与单项肿瘤标志物CEA相比差异无显著性($P>0.05$)。**结论** C-12有助于CRC诊断,临床分期越晚诊断价值越高,其中CEA、CA242、CA19-9的诊断价值优于其余9项肿瘤标志物,多肿瘤标志物联合检测能提高检测敏感度,但并不显著优于单项肿瘤标志物CEA。

[关键词] 蛋白芯片;肿瘤标志物;结直肠癌;癌胚抗原CEA;糖类抗原CA242;糖类抗原CA19-9
[中图法分类号] R446.112; R730.4; R735.35 [文献标志码] A

Value of protein chip system-detected multi-tumor markers for diagnosis of colorectal cancer

Long Chi, Hu Yide, Cao Zhenghuai (Cancer Research Center, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the value of protein chip system-detected multi-tumor markers for the diagnosis of colorectal cancer (CRC). **Methods** Serum tumor markers were detected with C-12 in 130 CRC patients (CRC group) and 108 normal adults (control group). TNM staging of CRC, C-12 containing 12 tumor markers and their positive rate between the two groups were analyzed. **Results** The positive rate of C-12 was significantly higher in CRC group than in control group and increased with the TNM staging ($P<0.01$). The positive rates of CEA, CA242 and CA19-9 were significantly higher than those of the other 9 tumor markers ($P<0.01$). Combined CEA and CA242 or CA19-9 increased the diagnosis rate of CRC. However, no significant difference was found in the diagnosis rate of CRC between combined CEA and 12 tumor markers or single CEA ($P>0.05$). **Conclusion** C-12 contributes to the diagnosis of CRC. The later the TNM staging of CRC is, the higher the value of tumor markers is. The diagnosis value of CEA, CA242 and CA19-9 for the diagnosis of CRC is better than that of the other 9 tumor markers. Detection of multiple tumor markers is not advantageous to the detection of single CEA for the diagnosis of CRC.

[**Key words**] protein chip; tumor marker; colorectal cancer; CEA; CA242; CA19-9

Corresponding author: Hu Yide, Tel:86-23-65524249, E-mail: huyide_mit@yahoo.com.cn

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)是最常见的恶性肿瘤之一,占我国恶性肿瘤的第4位,其发病率和死亡率有逐年上升的趋势[1]。随着诊治技术的提高,CRC总体5年生存率已达56%,其中肿瘤标志物检测的广泛应用起了重要作用[2]。由于一种肿瘤可以分泌多种肿瘤标志物,多种肿瘤也可分泌同一种肿瘤标志物,临床上多采取同时检测几项肿瘤标志物来提高对某一肿瘤的敏感度。血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统[3](protein chip system-detected multi-tumor markers,C-12)是我国自主开发,应用较成功的检测系统,包含常用的12种肿瘤标志物,具有高通量、方便、快捷等优点。但将其应用于CRC的诊断时,并非12项肿瘤标志物都同时呈现阳性表达,因此对其结果判读时应有所侧重,同时,与单项肿瘤标志物CEA相比,多肿瘤标志物联合检测对是否显著提高CRC的敏感度意见仍不统一。因此,我们收集了我院收治的部分CRC初治患者和门诊体检人群C-12检测数据,对其包含的肿瘤标志物和不同联合检测方式进行分析。

[通信作者] 胡义德,电话:(023)65524249,E-mail: huyide_mit@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

HD-2001A生物芯片阅读仪、C-12型多肿瘤标志物定量检测试剂盒及配套生物芯片图像分析系统软件均由湖州数康生物科技有限公司提供。

1.2 研究对象与方法

CRC组:本院2007年5月至2011年10月住院CRC患者130例,均经细胞学或组织学确诊,进行C-12检测前未经手术、化疗、放疗、生物治疗等任何抗肿瘤治疗。其中结肠癌患者46例,直肠癌患者84例;男性患者82例,女性患者48例;年龄36~87岁,平均59.7岁;按UICC/AJCC第7版结直肠癌分期标准(2010)进行分期,其中Ⅰ期24例,Ⅱ期48例,Ⅲ期22例,Ⅳ期36例。

对照组:本院2008年12月至2009年4月门诊体检人员108例,其中男性80例,女性28例,年龄26~80岁,平均47岁。

两组均在清晨空腹状态下采取外周不抗凝静脉血2 ml,离心分离血清,置4 ℃待用。严格按试剂盒使用说明书操作测定。

1.3 测量指标与正常参考值

由该试剂盒提供各检测项目的参考临界值,具体如下:甲胎蛋白(AFP)<20 ng/ml,神经特异性烯醇化酶(NSE)<13 ng/ml,铁蛋白(SF)<219 ng/ml(女)、<322 ng/ml(男),癌胚抗原(CEA)<5 ng/ml,糖类抗原(CA125)<35 U/ ml,糖类抗原(CA15-3)<35 U/ml,糖类抗原(CA19-9)<35 U/ml,糖类抗原(CA242)<20 U/ml,前列腺特异抗原(PSA)<5 ng/ml,游离前列腺特异抗原(FPSA)<1 ng/ml,人绒毛膜促性腺激素(β-HCG)<3 ng/ml,人生长激素(HCG)<7.5 ng/ml。若某1样本中1项肿瘤标志物超过正常参考值则记为该指标阳性;若某样本中1项或1项以上肿瘤标志物阳性,记为该样本C-12阳性。

1.4 统计学分析

计数资料以率表示,采用SPSS 10.0统计软件,行χ^2检验。

2 结果

2.1 C-12在CRC组与对照组检测情况

CRC组C-12阳性67例,阴性63例,阳性率51.54%;对照组C-12阳性33例,阴性75例,阳性率30.56%,两组之间差异非常显著($\chi^2=10.661$, $P<0.01$)。C-12灵敏度为51.54%,特异度69.44%,阳性预测值67.00%,阴性预测值54.35%,正确度59.66%。

2.2 C-12在CRC不同TNM分期检测情况

C-12阳性率在CRC不同TNM分期之间差异非常显著,随CRC分期升高而上升($P<0.01$,表1)。

表1 130例CRC患者C-12检测不同TNM分期比较

CRC分期	阳性例数	阴性例数	阳性率(%)	χ^2	P
Ⅰ期	8	16	33.33	15.935	0.001
Ⅱ期	19	29	39.58		
Ⅲ期	12	10	54.55		
Ⅳ期	28	8	77.78		

2.3 C-12对CRC诊断效能情况

所有肿瘤标志物特异度较高,敏感度较低。对敏感度进行比较,CEA、CA242、CA19-9较高,三者之间无显著差异,可以合并为一组($\chi^2=5.491$, $P=0.064$);CA125、AFP、β-HCG、SF次之,四者之间无显著差异,可以合并为一组($\chi^2=7.376$, $P=0.061$);PSA、FPSA、NSE、CA15-3、HGH较低,五者之间无显著差异,可以合并为一组($\chi^2=1.396$, $P=0.845$)。3组之间比较差异非常显著($\chi^2=232.52$, $P<0.01$)。见表2。

表2 130例CRC患者C-12检测各肿瘤标志物诊断效能比较(%)

肿瘤标志物	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	正确度
CEA	40.77	94.44	89.83	56.98	65.13
CA242	30.77	96.30	90.91	53.61	60.50
CA19-9	27.69	90.74	78.26	51.04	56.30
CA125	10.77	91.67	60.87	46.05	47.48
AFP	5.38	98.15	77.78	46.29	47.48
β-HCG	4.17	96.43	66.67	36.99	38.16
SF	3.08	84.26	19.05	41.94	39.92
PSA	2.44	100.00	100.00	50.00	50.62
FPSA	2.44	100.00	100.00	50.00	50.62
NSE	2.31	99.07	75.00	45.73	46.22
CA15-3	1.54	100.00	100.00	45.76	46.22
HGH	0.77	100.00	100.00	45.57	45.80

2.4 C-12部分肿瘤标志物联合检测情况

由于CEA、CA242、CA19-9的敏感度最高,我们挑选该3项肿瘤标志物进行联检组合与CEA进行阳性率比较,同时还将12项标志物联检与CEA比较。结果显示:CEA联合其他肿瘤标志物后阳性率有所上升,但所有联检方式与CEA相比均无显著差异($P>0.05$),并且这种无显著差异性与TNM分期、性别、年龄、部位等因素无关(表3)。

表3 130例CRC患者C-12不同联检方式阳性率比较(%)

标志物	分期		性别		年龄(岁)		部位	
	Ⅰ+Ⅱ	Ⅲ+Ⅳ	男性	女性	<60	≥60	结肠	直肠
A	27.78	56.90	41.46	39.58	45.31	36.36	45.65	38.09
A+B	33.33	67.24	50.00	45.83	56.25	40.91	58.70	42.86
A+C	33.33	69.00	52.44	43.75	57.81	40.91	58.70	44.05
B+C	19.44	53.45	28.05	41.67	39.06	27.27	41.30	28.57
A+B+C	34.72	68.97	52.44	45.83	57.81	42.42	60.87	44.05
D	37.50	68.97	54.88	45.83	57.81	45.45	63.04	45.24

A:CEA;B:CA242;C:CA19-9;D:12项标志物

3 讨论

3.1 肿瘤标志物与C-12在肿瘤检测中的应用原理

肿瘤标志物是指在肿瘤发生和增生过程中,由肿瘤细胞合成、释放或者是机体对肿瘤细胞反应而产生的一类物质,可出现于血液、细胞、组织或体液中[4]。它们或不存在于正常成人组织而仅见于胚胎组织,或在肿瘤组织中的含量大大超过在正常组织里的含量,检测其含量可以帮助肿瘤的诊断、分类、指导治疗以及预后判断[5]。C-12基于化学发光酶联免疫方法、蛋白芯片技术检测血清中的多种肿瘤标志物。将12种肿瘤标志物的单克隆抗体固定在膜上制备成蛋白芯片,用来捕捉被测样本中上述肿瘤标志物抗原,并利用各肿瘤标志物的酶标记抗体来定量测定样本中各肿瘤标

志物的浓度。C-12 已是一项成熟的检测技术,能正确反映肿瘤标志物的水平,与其他多种检测系统检测结果符合率显著相关,灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等均有很高的一致性[6-7],被广泛应用于临床和医学科学研究。

3.2 C-12 用于 CRC 诊断时的指标挑选

C-12 包含了常用的 12 项肿瘤标志物。CEA 是由一种从结肠腺癌中提出的酸性糖蛋白,为消化道恶性肿瘤中应用最广泛且被美国国立癌症综合网络(NCCN)唯一推荐用于 CRC 监测的肿瘤标志物。CA19-9 是一种应用结肠癌细胞株 SWM6 免疫 BALB/c 小鼠,并与骨髓瘤细胞杂交得到的一种单延酸神经节苷酯,在多种腺癌中升高。CA242 是一种唾液酸化鞘糖酯类抗原,常用于胰腺癌、CRC 的辅助诊断,在肺癌、肝癌、卵巢癌患者血清中也可见升高。AFP 主要用于肝癌的筛查和诊断,联合使用 AFP 和 B 超,可以发现早期肝癌。NSE 为烯醇化酶的一种二聚体同工酶,常用于小细胞肺癌的鉴别诊断、疗效观察和复发监测。SF 是血液去铁蛋白和 Fe^{3+} 形成的复合物,常用于缺铁性贫血的诊断,在肝癌、肺癌、胰腺癌、白血病等疾病中可见增高。CA125 主要用于卵巢上皮癌的诊断,但其他妇科肿瘤、良性妇科疾病和早期妊娠也可升高。CA15-3 主要作为乳腺癌诊断、评估指标,在肺癌、结肠癌、胰腺癌、卵巢癌、子宫颈癌等也呈不同程度的阳性率。PSA 具有器官特异性,主要存在于前列腺组织,FPSA/PSA 比值是鉴别前列腺癌和良性前列腺疾病的有效指标。HCG 是由胎盘的滋养层细胞分泌的一种糖蛋白,在早期妊娠、葡萄胎、绒毛膜上皮癌、睾丸畸胎癌等可显著增高。

本研究发现 C-12 阳性率在 CRC 中显著高于对照组,并随临床分期升高而上升,到晚期时可达 77.78%,有助于 CRC 的诊断。其包含的 12 项肿瘤标志物特异度都较高(84.26% ~100%),因此主要从敏感度的角度进行分析,其中 CEA、CA242、CA19-9 敏感度显著高于其他 9 项肿瘤标志物,为 CRC 诊断的重点观察指标。

3.3 C-12 不同联合检测对 CRC 的诊断意义

由于一种肿瘤可分泌多种肿瘤标志物,不同的肿瘤也可有相同的肿瘤标志物,因此通常认为合理选择几项灵敏度、特异性互补的肿瘤标志物联合检测,有利于提高阳性检出率[8]。联合检测包括平行联检和系列联检,平行联检是指多种标志物的检测结果中,只要有一项阳性就认为结果阳性,它可以提高检测的灵敏度,系列联检是指多种标志物全部阳性才认为结果阳性,它可以提高检测的特异度。我们发现 C-12 包含的 12 项肿瘤标志物用于 CRC 诊断时特异度较高但灵敏度不理想,因此采用平行联检进行分析。至于 C-12 联合检测对 CRC 的诊断价值,仍存在一定分歧,陈创等[9]和杨雪琴等[10]认为联合检测与单项指标 CEA 相比无显著差异,但是也有研究[1,11]认为两者之间差异显著,本研究结果与前者一致,而且进一步分析显示这种无显著差异性与 CRC 的分期、性别、年龄、部位等因素无关。此外,仲召阳等[12]在研究 C-12 对肿瘤筛选的临床意义中通过二分类判别函数建立对肿瘤的诊断判别方程,结果显示肿瘤判别诊断函数能提高肿瘤诊断的正确率、灵敏度及特异度,而且能较大程度避免单指标判断的偏差和 C-12 产生的假阳性和假阴性。

综上,C-12 有助于 CRC 诊断,临床分期越晚诊断价值越高,其中 CEA、CA242、CA19-9 的诊断价值优于其余 9 项肿瘤标志物,多肿瘤标志物联合检测能有限的提高检测敏感度。在实际临床工作中,针对 CRC 高危患者(高脂肪饮食、有家族史、大肠慢性炎症、腺瘤病史等)或高度怀疑 CRC 的患者(便血、排便习惯改变、直肠指诊肿物等)进行 CEA、CA242、CA19-9 联合检测筛查既可以节约资源又可得到相对较高的检出率。

参考文献:

[1] 王兵济, 范彪, 熊斌. 血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在结直肠癌诊断中的价值[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2010, 31(1): 83-86.

[2] 周伟, 黄林平, 韦佳明, 等. CEA、CA199 和 CA242 动态变化评判 82 例结直肠癌治疗效果及预后分析[J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(6): 556-558.

[3] 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): 1159-1162.

[4] 陈辉, 刘武军. 肿瘤标志物的临床分析[J]. 中国疗养医学, 2010, 19(2): 169.

[5] 贺宇. 肿瘤标志物临床应用研究现状[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(7): 1205-1206.

[6] 娄加陶, 顾军, 高春芳, 等. 蛋白芯片检测肿瘤标志物及其与其他方法的比较[J]. 检验医学, 2009, 24(6): 466-469.

[7] 黄琛, 汤汉红, 王敏民. 蛋白质芯片技术与电化学发光技术检测多肿瘤标志物结果的评价[J]. 天津医药, 2008, 36(12): 942-944.

[8] 王建军, 于芹. 常见肿瘤标志物的应用及其探讨[J]. 基层医学论坛, 2010, 14(28): 928-930.

[9] 陈创, 陈利琴, 杨国梁, 等. 肿瘤标志物在结直肠癌诊断和监测中的价值[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2007, 28(2): 207-211.

[10] 杨雪琴, 陈创, 侯晋轩, 等. C12 多肿瘤标志物检测系统在结直肠癌诊断中的价值[J]. 江苏医药, 2009, 35(1): 5-7.

[11] 仲召阳, 王东, 李增鹏, 等. 多肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统对结直肠癌诊断的临床意义[J]. 重庆医学, 2007, 36(23): 2406-2408.

[12] 仲召阳, 王东, 李增鹏, 等. 多肿瘤标志物蛋白质芯片检测对肿瘤诊断的临床意义[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(17): 1658-1660.

(**收稿**:2011-09-16;**修回**:2011-11-04)

(编辑 汪勤俭)