维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2007年第16卷第5期
J Regional Anat & Operative Surg, 2007, Vol. 16, No. 5

荧光分析在临床实验诊断中的应用

Application of flouresence analysis to clinical experimental diagnosis

赵先英，刘毅敏，赵华文，杨 旭 （第三军医大学药学院化学教研室，重庆 400038）

[关键词] 荧光分析；实验诊断；临床应用
[中图分类号] R692.12 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2007)05-0355-02

临床实验诊断主要是运用物理、化学和生物学等实验技术和方法，通过试剂反应、仪器分析等手段，对病人的血液、体液以及组织细胞等标本进行定量测定，以获得反映机体功能状态、病理变化及病因等重要数据。荧光分析法具有灵敏度高、取样量少、样品可进行无损分析等特点，现已广泛用于氨基酸、蛋白质、酶、核酸、微量元素、维生素等的分析测定。本文就近年来荧光分析法在临床实验诊断中的应用作一简要综述。

1 癌症患者体内卟啉类物质的荧光分析

癌症是严重威胁人类生命健康的常见病和多发病。据统计，全球每年约有500万人死于癌症，我国每年的癌症死亡人数已超过百万[1]。在目前癌症尚无十分有效治疗措施的情况下，癌症的早期诊断和治疗非常重要。荧光诊断恶性肿瘤的方法，是把光谱学技术引入到临床实验诊断领域，把在细胞水平上识别恶性肿瘤的方法提高到了分子水平。是目前国内外对恶性肿瘤早期诊断的极大进步。卟啉类物质因其具有光敏活性，并与癌症细胞具有特殊的亲和力，在临床诊断中可作为荧光检测的光敏剂[2]。

陈丽娜等[3]采用光致发光的荧光光谱技术，对中晚期胃癌患者体内的卟啉类物质进行了检测。结果显示106例中晚期胃癌患者，锌卟啉、原卟啉均有明显升高，与对照组进行阳性率的t检验，差异具有显著性（$P<0.01$）。证实胃癌时，体内原卟啉升高具有普遍意义。另外，实验中还发现8例食道癌患者体内血卟啉也明显增加。有作者用CSF-1血型荧光癌症诊断仪对271例包括呼吸系统、消化系统、淋巴系统、泌尿生殖系统和神经系统在内的恶性肿瘤患者体内的血卟啉衍生物进行了定量检测，结果显示，呈阳性反应者为93.5%[4]。Dolphin报道[5]，内镜紫外诱导自体荧光用于早期食道癌诊断，以390 nm处与450 nm处的荧光比值作为组织特征的标记，肿瘤组织相对正常组织有下降，此判定标准的灵敏度为97%。林孟戈等[6]采用光致发光的荧光光谱技术，测定了67例恶性肿瘤、28例良性肿瘤和38例正常对照者血清在505 nm波长的可见光激发下的荧光发射光谱。结果提示，恶性肿瘤患者血清在635 nm处出现一特征性荧光发射峰，阳性率为83.6%，显著高于良性肿瘤组（$P<0.01$）和正常对照组（$P<0.01$）。孟继武等[7]通过对血清中与癌症相关分子标志物的荧光光谱进行研究，从而在分子、电子水平上建立了对恶性肿瘤的筛选方法。实验采取肘静脉血并制备血清，采用光致发光的方法研究血清的发光中心，由于血清中的主要发光分子是类胡萝卜素、卟啉等，观察到癌症患者的卟啉、类胡萝卜素等出现代谢异常。在早期阶段随着肿瘤的发展癌患者血液中的卟啉水平升高；在进展期随着肿瘤的发展癌患者血液中卟啉水平逐渐下降而类胡萝卜素代谢升高。采用I = IA/IB - 1的经验公式开展了恶性肿瘤的临床检测，其诊断符合率达90%。

恶性肿瘤时，可发生肿瘤部位卟啉类物质的聚积或血卟啉含量升高。有人认为与癌症组织周围毛细血管的增殖有关。癌细胞发展过程中，释放出“肿瘤血管生长因子”，刺激周围毛细血管内皮细胞，长出新的毛细血管使癌症组织内血流量增多，导致血红蛋白分泌产物——卟啉在癌症组织中聚积。当然肿瘤细胞分化异常，增殖速度加快，竞争性地利用卟啉作为能量来源载体，也能引起血中卟啉类物质的增加[8]。

2 微量元素失衡患者体内的荧光分析

微量元素是人体重要的组成部分，它们在人体中的含量虽少，但对人类生命却有着重要的作用。微量元素的生理功能通常是通过由它们参与形成的生物大分子来实现的，这些生物大分子表达、组成、结构方面的异常才是相关疾病发生发展的真正原因[9]。因此，对微量元素的检测是临床实验诊断的一个重要指标。微量元素定量检测常用的方法有：分光光度法、原子吸收法、电感耦合高频等离子体原子发射光谱法等。荧光分析法因其具有灵敏度高、取样量少、样品可进行无损分析、可进行多种元素的同时测定等特点而倍受关注。

邓勇军等[10]用X射线荧光分析法测定了30例复发性口腔溃疡患者体内的Zn、Fe、Cu的含量，结果显示口腔溃疡患者头发中Zn、Fe的含量低于健康对照（$P<0.01$），而Cu则无显著性差异（$P>0.05$）。陆文栋等[11]用X射线荧光分析法对乳腺癌患者头发中的钙及其它微量元素进行了检测，结果提示：与健康对照组相比，乳腺癌患者组中的Ca、Sr、Zn、Cu、Mn均较对照组下降，并具有显著意义（$P<0.01$）。这与早期报道胃癌患者头发中Sr、Zn、Cu含量有明显下降的结果相符。由于乳腺疾病多为激素依赖性，并与内分泌功能紊乱有关，且乳腺肿瘤细胞本身分泌降钙素，故引起钙的下降；同时，Cu的下降使血液中胆固醇和类胆固醇含量升高，致使血液中雌二醇升高，促使乳腺肿瘤细胞进一步“增生”，乳腺细胞因此释放出更多的降钙素，使人体内钙含量进一步下降[12]。郑树等[13]用X射线荧

[收稿日期] 2007-03-25 [修回日期] 2007-05-20

维普资讯 http://www.cqvip.com

光分析对直肠癌组织中的多种微量元素进行了检测,结果显示直肠癌组织中Cu、Zn、Mn含量显著下降,Cl含量明显升高。并认为Zn含量下降与亮氨酸氨基肽酶缺失呈一致性关系;Mn下降与Mn-SOD含量降低有关,而癌组织中Cl含量升高,推测可能与癌细胞代谢酸性中毒有关。尹庆顺等[14]观察了头发中微量元素与龋病之间的关系,对120例龋病患儿头发中微量元素含量进行了检测,结果显示,患者组头发中的Zn、Ca、Fe、Cu含量明显低于正常对照组($P<0.01$),Pb含量明显高于正常对照组。龋病的发生与多种因素有关,通过对头发中微量元素的含量检测发现,Zn、Ca、Fe、Cu含量均与小儿龋病存在一定关系,微量元素的增多或减少在一定程度上促进或影响了龋病的发生和发展。因此,检测头发中Zn、Ca、Fe、Cu等微量元素的含量,可以帮助判断龋病患儿体内微量元素的状态,探索通过调整体内微量元素的含量来防治龋病的可能性。

3 其他

高级糖基化终末产物(AGEs)是蛋白质、脂类和生物大分子物质发生非酶糖基化反应的产物。近年来的研究证明,AGEs在糖尿病并发症、尿毒症、白内障等疾病的发生发展过程具有重要作用。因此,检测血清和组织中的AGEs的浓度对多种疾病的诊断、治疗及预后有重要意义。由于AGEs具有发射荧光的特性,因此可以用荧光法测定其荧光值,从而反映AGEs在循环或组织中的水平。用于测定AGEs的激发光谱为350~390 nm,发射光谱为440~470 nm[15]。抗-HCV是HCV感染机体后出现的特异性抗体,它是HCV感染和具有一定传染性的标志。由于丙型肝炎可经输血、母婴垂直传播、血制品等多种途径传播,且与肝硬化、肝细胞癌密切相关,因而早发现、早治疗对于控制HCV的传播具有重要的意义。肖华龙等[16]利用时间分辨荧光分析技术,建立了抗-HCV抗体时间分辨免疫荧光分析法。结果表明批内和批间的CV分别为3.64%和4.39%,平均回收率为105.58%,可测范围为1.01~17.34 μmol/ml。周宇波等[17]借助免疫荧光分析成功地对人分泌蛋白的进行筛选,分泌蛋白是一类功能非常重要的蛋白,参与了信号途径、形态发生、细胞凋亡、细胞分化、血液凝固、免疫防御、癌症发生等多种过程,因此这项工作的开展对临床实验诊断也具有非常重要的意义。

综述所述,荧光分析法以灵敏度高、选择性好、方法简便、重现性好、取样量少等特点,已广泛应用于临床实验诊断中。相信,随着荧光分析方法和技术的不断完善和发展,荧光分析必将在今后的临床实验诊断中发挥更加重要的作用。

[参考文献]

[1] 王永飞,马兰梅,聂 红.蔬菜的抗癌作用研究进展[J].北方园艺,2004,14(2):7-8.

[2] 孟 斌,温博贵,李冠斌,等.肿瘤光动力学疗法诱导细胞凋亡机制研究进展[J].生理科学进展,2002,33(3):269-272.

[3] 陈丽娜,王育新,许 艳,等.肝功能障碍及胃癌患者体内血卟啉特征光谱研究[J].中国医学物理杂志,1995,12(4):203-205.

[4] 甘 雄.卟啉类物质做为抗癌光敏剂的研究进展[J].齐齐哈尔医学院学报,2005,26(4)422-423.

[5] Dolphin D. Porphyrin based hotosensitizers for use in photodynamic therapy[J]. Terahedron,1998,54:4151-4154.

[6] 林孟戈、朱元贵.恶性肿瘤患者血清特异可见荧光光谱的初步研究[J].福建医科大学学报,1998,32(2):160-163.

[7] 孟继武,郑荣儿,掌蕴东,等.血清荧光法筛选恶性肿瘤的研究[J].中国激光医学杂志,2003,12(1):43-45.

[8] Ochsner M. Photodynamic therapy of tumours:value of quantum chemical procedures for characterization of new drugs[J]. Eur Journal of Med Chem,1996,31(12):939-950.

[9] Ender L. Recurrent aphthous ulceration with zinc deficiency and cellar immune deficiency [J]. Oral Surg, 1991,72(5):559-561.

[10] 邓勇军,张一云,吴莉萍.复发性口腔溃疡与头发中微量元素的关系[J].成都中医药大学学报,2003,25(1),50-53.

[11] 陆文栋,何广仁.乳腺癌和乳腺增生患者头发中的钙及其它微量元素的初步研究[J].核技术,2004,27(1):53-55.

[12] Hanifin JM, Chan S. Biochemical and immunologic mechanisms in atopic dermatitis[J]. J Am Acad Dermatol ,1999,41(1):72-77.

[13] 郑 树,陈丽荣,蔡心涵,等.同步辐射对直肠癌组织中微量元素测定的意义探讨[J].科技通报,2004,20(1):1-5.

[14] 尹庆顺,高玉芳.龋病患儿头发中微量元素含量分析[J].临沂医学专科学校学报,2004,26(6):435-437.

[15] Gopalkrishnapilai B, Nadanathangam V, Karmakar N. Evaluation of autofluorescent property of hemoglobin-advanced glycation end product as a long term glycemic index of diabetes[J]. Diabetes,2003,52(4):1041-1046.

[16] 肖华龙,黄 飙,朱利国,等.丙型肝炎病毒抗体时间分辨免疫荧光分析及应用评价[J].核技术,2001,24(11):891-894.

[17] 周宇波,刘 锋,朱智东,等.生物信息学预测与实验验证相结合策略筛选鉴定新的人分泌蛋白基因[J].中国生物工程学杂质,2004,24(12):1-5.

(编辑:蒋登金)

关于化学元素及核素的使用

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号,都是拉丁字母正体大写。离子态是右上角用数字加"-"或"+"表示。例如Na^{+}、Ca^{2+}、P^{3-}等等,不采用Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2}表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角,例如:^{131}I、^{32}P。表示激发状态的m写在右上角,例如:$^{99}Tc^{m}$、$^{133}In^{m}$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称,即不能写成^{131}碘、^{133m}铟、P^{32}、Tc^{99m}。

(本刊编辑部)