技术方法 文章编号:0253-3626(2009)06-0760-03

多肿瘤标志物蛋白芯片技术在原发性肝癌诊断中的评价

张 曙[1],张先瑞[2],殷 跃[1]

(1.湖南省人民医院核医学科,长沙 410005;2. 湖南省人民医院药剂科,长沙 410005)

【摘 要】目的:探讨多肿瘤标记物蛋白芯片对原发性肝癌的诊断价值。方法:以病理检查或至少 1 年的临床随访结果为金标准,将 2005~2007 在我院就诊患者分为原发性肝癌组、良性肝病组和正常对照组,采用蛋白芯片测量技术检测其血清肿瘤标记物。结果:PHC 组患者血清 CA199、CEA、CA242、FER、AFP、CAl25 和 CA153 7 项显著高于健康对照组和良性肝病组($P<0.05$)。Logistic 回归剔除 FER,由其他 6 项指标诊断 PHC 的模型为:Logit P=1.357+0.851 CA199 +1.164 CEA +2.573 CA242+3.241 AFP +2.647 CAl25+2.846 CA153。6 项肿瘤标志物单独检测时,AFP 的 AUC 最大($P<0.05$);而 6 项肿瘤标志物联合检测的 AUC 要大于各项肿瘤标志物单项检测结果($P<0.05$)。结论:应用多肿瘤标志物蛋白芯片技术确定 CA199、CEA、CA242、AFP、CAl25 和 CA153 6 项的联合检测是筛检原发性肝癌的优化组合,对原发性肝癌的早期诊断有较高临床应用价值。

【关键词】原发性肝癌;肿瘤标记物;蛋白芯片;联合诊断

【中国图书分类法分类号】R735.7 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-03-10

Diagnostic value of multi-tumor marker protein biochip detective system for primary hepatic cancer

ZHANG Shu, et al

(*Department of Nuclear Medicine, the Hunan Provincial People's Hospital*)

【Abstract】*Objective*: To explore the diagnostic value of multi-tumor marker protein biochip detective system for primary hepatic cancer. *Methods*: Using pathological examination, or at least one-year clinical follow-up results for the gold standard, we divided patients with liver disease into three two groups: primary liver cancer group, benign liver disease group and normal group, using protein chip technology to detect the measurement serum tumor markers. *Results*: CA199, CEA, CA242, FER, AFP, CAl25 and CA153 were significantly higher in PHC group than those in benign liver disease group and normal group ($P<0.05$). Logistic regression excluding FER, from the other six indicators for the diagnosis of PHC model: *Logit* P=1.357 +0.851 CA199 +1.164 CEA +2.573 CA242 +3.241 AFP +2.647 CAl25 +2.846 CA153. Six tumor markers detected separately, the AUC of AFP is the largest ($P<0.05$); Combined measure of six tumor markers has greater AUC than the single tumor marker test ($P<0.05$). *Conclusion*: Combined CA199, CEA, CA242, AFP, CAl25 and CA153 is the optimum combination for early diagnosis of primary liver cancer, it has a high clinical value.

【Key words】Primary liver cancer; Tumor markers; Protein chip; Combined measure

蛋白芯片是近年来伴随着基因芯片迅速发展起来的一项新技术。它是一种自动快捷、高灵敏度、高通量的蛋白组学研究方法,已成功地运用于自身抗体、肿瘤标志物等的检测[1]。蛋白芯片技术解决了以往检测方法每次只能分析单项指标、费用昂贵、需要的血清量较大等缺点,在临床有较为广泛的应用前景。本实验利用蛋白芯片技术同时检测原发性肝癌(Primary hepatic carcinoma, PHC)、良性肝病和健康查体者血清中常见 12 种肿瘤标记物的水平,探讨其对 PHC 的诊断价值。

作者介绍:张 曙(1972-),男,主治医师,

研究方向:放射免疫、控素、治疗、SPECT 诊断。

1 资料与方法

1.1 纳入标准与排除标准

纳入标准为 2005 年 1 月至 2007 年 12 月住本院或就诊于消化科门诊的 PHC 患者或疑似患者。排除标准:①妊娠者;②生殖系胚胎肿瘤者;③不愿意参加本研究者。

1.2 PHC 诊断金标准

具备其一者即可确诊:①病理检查;②至少 1 年的临床随访结果。

1.3 入选患者临床资料

PHC 组 93 例,男 59 例,女 34 例,年龄 38~75 岁,平均年龄 51.6 岁。其中Ⅰ期 12 例,Ⅱ期 16 例,Ⅲ期 25 例,Ⅳ期 40 例;肝细胞癌 69 例,胆管细胞癌 13 例,混合癌 11 例。良性肝病组 78 例,男性 41 例,女性 37 例,年龄 25~72 岁,平均年龄

45.6 岁。其中肝硬化 41 例,慢性乙肝 25 例,肝囊肿 5 例,肝血管瘤 4 例,肝脓肿 3 例。另设正常对照组 85 例,均为同期我院体检中心确定的正常者。无心、肝、肺和肾等重要器官疾病,肝肾功能正常,无吸烟史及良性消化道疾病史。男性 46 例,女性 39 例,平均年龄 48.7 岁。

1.4 检测方法

采用上海数康生物科技有限公司的 C-12 型肿瘤诊断用蛋白芯片及 HD-2001A 蛋白芯片仪进行检测。检测步骤严格参照说明书要求进行。

1.5 统计学方法

计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析进行多组比较,两两比较采用 q 检验。计数资料比较采用卡方检验进行。采用向前逐步 Logistic 回归法计算诊断模型,ROC 曲线及曲线下面积分析诊断价值。以双侧的 P=0.05 为检验标准。统计软件为 SPSS 17.0。

2 结 果

2.1 C-12 检测结果

PHC 组患者血清 CA199、CEA、CA242、FER、AFP、CAl25 和 CA153 7 项显著高于健康对照组和良性肝病组,差异有统计学意义;而 NSE、β-HCG、Free-PSA、PSA、HGH 5 项 3 组间差异均无统计学意义(见表 1)。

2.2 PHC 的多肿瘤标志物的 Logistic 回归诊断模型

以 CA199、CEA、CA242、FER、AFP、CAl25 和 CA153 7 项指标作为变量,Logistic 回归结果最终 FER 被剔除,其它 6 项进入方程(见表 2)。根据该 6 项指标对 PHC 的诊断模型为:Logit P=1.357+0.851 CA199 +1.164 CEA +2.573 CA242+3.241 AFP +2.647 CAl25+2.846 CA153。

2.3 6 项肿瘤标志物对 PHC 的诊断价值

当 6 种肿瘤标志物单独检测时,AFP 的 AUC最大,有统计学意义;而 CA199、CEA、CA242、AFP、CAl25 和 CA153 6 项肿瘤标志物联合检测的 AUC 要大于各项肿瘤标志物单项检测结果,有统计学意义(见图 1 和表 3)。

3 讨 论

在我国每年约有 14 万人死于 PHC,其发生率约为 30.3/10 万,占全世界肝癌死亡人数的 50%以上[2]。临床上仅以 AFP 一种蛋白作为血清学诊断指

表 1 PHC 组、良性肝病组和正常对照组 C-12 检测结果

标志物	PHC 组(n=93)	良性肝病组(n=78)	正常对照组(n=85)
CA199(kU/L)	85.1 ± 23.1*△	19.2 ± 8.2	11.2 ± 5.3
NSE(ng/ml)	3.2 ± 1.4	2.8 ± 1.2	3.1 ± 1.1
CEA(ng/ml)	5.6 ± 1.4*△	1.9 ± 0.7	1.3 ± 0.5
CA242(kU/L)	21.2 ± 3.5*△	4.2 ± 1.5	2.9 ± 1.2
Ferritin(ng/ml)	231.2 ± 31.4*△	156.7 ± 20.1	152.7 ± 22.5
β-HCG(ng/ml)	1.5 ± 0.6	1.2 ± 0.5	1.1 ± 0.4
AFP(ng/ml)	181.4 ± 22.4*△	30.1 ± 8.6	1.2 ± 0.6
Free-PSA(ng/ml)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
PSA(kU/L)	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1
CA125(ng/ml)	182.1 ± 25.1*△	18.5 ± 6.4	3.4 ± 1.2
HGH(kU/L)	3.1 ± 1.3	1.5 ± 0.7	2.1 ± 0.9
CA153(ng/ml)	16.5 ± 2.3*△	9.5 ± 2.4	7.8 ± 2.6

注:* 和良性肝病组相比 P<0.05;△和正常对照组相比 P<0.05

表 2 诊断模型的相关统计量

变量	估计系数	P 值	OR
CA199	0.851	0.018	2.34
CEA	1.164	0.035	3.20
CA242	2.573	0.036	13.11
FER	1.008	0.149	2.74
AFP	3.241	0.002	25.56
CAl25	2.647	0.014	14.11
CA153	2.846	0.011	17.22

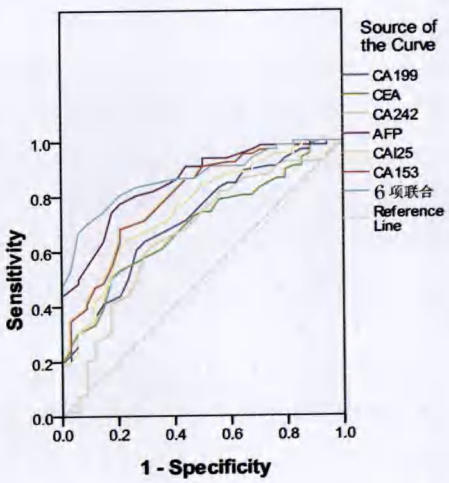


图 1　6 项肿瘤标志物对 PHC 诊断的 ROC 曲线

表 3　6 项肿瘤标志物检测的 AUC 指标

标志物	AUC	SE	*P* 值	95%CI
CA199	0.61	0.020	0.0001	0.572~0.650
CEA	0.624	0.026	0.0001	0.573~0.675
CA242	0.691	0.024	0.0001	0.644~0.738
AFP	0.811	0.021	0.0001	0.770~0.852
CAl25	0.654	0.029	0.0001	0.597~0.711
CA153	0.701	0.032	0.0001	0.638~0.764
6 项联合	0.921	0.035	0.0001	0.852~0.990

标在敏感性和特异性上是远远不足的。本实验探讨 C12 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统的诊断价值。本研究证实 PHC 组患者血清 CA199、CEA、CA242、FER、AFP、CAl25 和 CA153 7 项显著高于健康对照组和良性肝病组。而多种标记物单独检测时，AFP 的诊断效能最高，曲线下面积可达 0.770~0.852。但 AFP 诊断 PHC 仍有一定的局限性，因为有相当多的肝硬化及病毒性肝炎患者的血清 AFP 也有不同程度的升高，特异度不高。CA199、CA242、CAl25 和 CA153 则较多的应用于胰腺癌的诊断中[3]。而 Schniger 等[4]则发现 CA199 与 CA125 协同升高对重度肝纤维化有较好的诊断作用。本研究提示 CA199、CA125 等也可作为 PHC 肿瘤标记物。CEA 是检测胃肠道肿瘤复发较好的标记物。陈周峰等[5]研究表明 CEA 对 PHC 是否有远处转移有良好的提示作用。这一结论和本研究的 CEA 可以作为 PHC 的标记物也有类似之处。而 FER 是一种特异度很差的标记物，在胃肠道肿瘤、卵巢癌等恶性肿瘤中都可以出现非特异性增高。本研究 Logistic 回归模型 FER 被剔除，可见 FER 对 PHC 的诊断价值不大。

当然，单独应用某种标记物诊断 PHC 时，其效能均较低。本研究提示 CA199、CEA、CA242、AFP、CAl25 和 CA153 6 项肿瘤标志物联合检测的 AUC 要大于各项肿瘤标志物单项检测结果。周秀艳[6]、齐正蓉[7]等类似的研究也证实 AFP 对 PHC 的诊断效率在单项指标中居首位（79.6%），AFP+FER 和 AFP+FER+CAl25 的诊断效率最高（均为 83.9%）。AFP、FER、CAl25 是肝癌联合诊断的理想指标，其联合检测有利于提高 PHC 的诊断率。结论和本研究类似。联合检测虽可明显提高 PHC 诊断的灵敏度，但却是以牺牲特异度为代价的。而本实验提示联合检测的 AUC 要大于各项肿瘤标志物单项检测结果，诊断效能最高。这说明改 6 项肿瘤标志物联合检测对诊断的特异度影响不大。因此，多肿瘤标志物蛋白芯片技术在 PHC 筛查中应用效果尤佳。

总之，我们的研究发现：应用多肿瘤标志物蛋白芯片技术确定 CA199、CEA、CA242、AFP、CAl25 和 CA153 6 项的联合检测是筛检原发性肝癌的优化组合，对原发性肝癌的早期诊断有较高临床应用价值。

参 考 文 献

[1] Yuk CS, Lee HK, Kim HT, et al. Development and evaluation of a protein micro arrays chip for diagnosis of hepatitis C virus[J]. Biotechnol Lett, 2004, 26(20):1563-1568.

[2] 叶家才，崔书中，巴明臣. 原发性肝癌的流行病学特征及其危险因素[J]. 实用医学杂志，2008，24（10）:1839-1841.

[3] Koopmann J, Rosenz weig C N, Zhang Z, et al. Serum markers in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma: macrophage inhibitory cytokine 1 versus CA19[J]. 9. Clin Cancer Res, 2006, 15, 12(2):442-446.

[4] Schniger-Hekele M, M ü ller C. The combined elevation of tumor markers CA 199 and CA 125 in liver disease patients is highly specific for severe liver fibrosis[J]. DIG DIS, 2006, 51(2):338-345.

[5] 陈周峰，黄智铭，陈旭艳. 原发性肝癌患者血清 CEA 测定及其意义[J]. 浙江临床医学，2008，10(6):846.

[6] 周秀艳，侯振江，邢桂芝. 蛋白芯片检测多肿瘤标志物对原发性肝癌的诊断价值评价[J]. 世界华人消化杂志，2007，15(9):1016-1019.

[7] 齐正蓉. 甲胎蛋白与癌胚抗原肿瘤标志物联合检测在原发性肝癌鉴别诊断中的应用[J]. 重庆医学，2008，37(12):1333-1335.

（责任编辑：冉明会）