DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.02.018

抗肺癌单抗 $3C_9$ 识别的抗原检测及其血清诊断价值初步探讨

白雪峰 王登顺* 郭先健 (第三军医大学新桥医院呼吸中心实验室) 630037

提 要 采用单克隆抗体 BA—ELISA 结合抑制法,检测了血清中抗肺癌单抗 $3C_9$ 识别的抗原($3C_9Ag$),共检测肺癌 50 例,健康成人 40 例,肺部非肿瘤疾病 21 例。同时用放免法测定血清 CEA。研究发现:$3C_9Ag$ 对肺癌诊断敏感性为 76%,特异性 90.5%,准确性为 80.3%;在 NSCLC 具有较高阳性率,其明显升高见于Ⅰ、Ⅱ期肺癌病人。与 CEA 相比,$3C_9Ag$ 在诊断肺癌的敏感性、准确性方面更为优越;二者联合检测可提高肺癌检出率。

关键词 肺肿瘤;肿瘤标志物,生物;抗体,单克隆

肿瘤单抗技术为发现新的肿瘤标志物提供了很好的方法。目前发现的许多肿瘤标志物,如 CA_{19-9}、CA_{15-3}、SLX、SCC-Ag 等对各种恶性肿瘤的诊断有一定价值,但它们大都为消化系癌肿及乳腺癌的肿瘤相关抗原(TAA),有关肺癌 TAA 用于临床血清诊断的报道较少。本文报告用抗肺癌单抗 $3C_9$,检测血清中相应 TAA 的结果,并对其临床诊断意义进行了初步探讨。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 肺癌组(LCG),共 50 例,男 44 例,女 6 例,年龄 38～71 岁,平均年龄为 55.9 岁。其中鳞癌 23 例,腺癌 16 例(包括 2 例肺泡细胞癌),小细胞癌 8 例,大细胞癌 1 例,腺鳞癌 1 例,分类不明者 1 例。根据国际 TNM 分期标准,Ⅰ期 3 例,Ⅱ期 6 例,Ⅲ期 23 例,分期不明者 18 例。本组全部病例均为我院住院患者。诊断均经支纤镜或手术病理证实。

1.1.2 肺部良性疾病组(BDG),共 21 例,均为我院住院病人(包括肺炎、慢支炎、肺气肿、肺心病、结核性胸膜炎、肺脓肿、支扩等),男 15 例,女 6 例,平均年龄 43 岁。

1.1.3 健康组(VTG),共 40 例,均为我院献血员,男 21 例,女 19 例,年龄 20～45 岁,平均年龄 31.5 岁。对上述全部人员均抽取晨血 3ml,离心分离血清,冻存于－30℃备检。

1.2 方法

1.2.1 单克隆抗体的制备:抗肺癌单抗 $3C_9$,是以肺泡细胞癌株 A_{549} 为免疫原,免疫 BALB/C 小鼠制备的鼠源性单抗,属 IgM 亚型。常规制备的腹水抗体,冻存于－30℃冰箱中备用。

1.2.2 $3C_9$ 粗提抗原的制备:取外科切除的新鲜肺癌组织块,经免疫组化证实与 $3C_9$ 呈阳性反应者,去除坏死组织,剪碎,去除纤维组织,滤过细胞并经－30℃反复冻融 5 次,超声破碎 2min,40000 r、4℃离心 30min,上清即为 $3C_9$ 粗提抗原,冻存于－30℃冰箱备用。

1.2.3 单抗 $3C_9$ 工作浓度的确定:用上述之 $3C_9$ 粗提抗原包被 ELISA 板(天津软板),BA-间接 ELISA 法测定 $3C_9$ 的饱和稀释度,取其 50%作为 $3C_9$ 的工作浓度。所用的 Biotin 标记的羊抗鼠 Ig(1∶1000) Avidin—HRP(1∶1000)均购自军事医学科学院。

1.2.4 BA—ELISA 结合抑制法测定血清中 $3C_9$ 识别的抗原($3C_9Ag$):基本参照 koprowski 等[1]的方法,用 $3C_9$ 粗提抗原包板代替细胞抗原板。对全部受试者血清进行 $3C_9Ag$ 检测,所得结果用结合抑制率(RBI)表示。

1.2.5 CEA 放射免疫测定:用 RIA 法对检测过 $3C_9Ag$ 的血清同时检测 CEA。所用 RIA 试剂盒购自中国北方同位素公司。大于 15ng/ml 为阳性标准。

2 结果

2.1 抗肺癌单抗 $3C_9$ 的工作浓度为 1∶1000 以 VTG 的 RBI 均数与二倍标准差之和(47%)

* 北京 514 医院肿瘤研究室

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

作为判断血清 $3C_9Ag$ 的阳性标准，计算各组阳性率。所得结果见表 1。由此表可以看出，血清 $3C_9Ag$ 及 CEA 阳性率在肺癌组显著高于其他两组（$P<0.01$）。LCG 组与 BDG 组患者合并计算，$3C_9Ag$ 对肺癌诊断的敏感性为 76%，特异性为 90.5%，准确性为 80.3%。而 CEA 的相应值分别为 44.0%、90.6%、62.2%。相关分析表明，肺癌血清 $3C_9Ag$、CEA 水平间无相关关系（$r=0.159$，$P>0.05$），以 $3C_9Ag$ 与 CEA 联合检测肺癌血清标本，其中之一阳性者即判为阳性，则肺癌检出率可提高至 84%。

表 1 各组 $3C_9Ag$、CEA 阳性率（%）

Tab 1 The postive rate of $3C_9Ag$ and CEA in each group (%)

	LCG		BDG		VTG	
	N	R	N	R	N	R
$3C_9Ag$	38/50	76★	2/21	9.5	3/40	7.5
CEA	22/50	44☆	2/21	9.5	4/40	10

N: positvie numbers; R: positive rates (%);

★ *vs* BDG and VTG, $P<0.01$;

☆ *vs* BDG and VTG, $P<0.01$.

2.2 肺癌各型的血清 $3C_9Ag$、CEA 阳性率

由表 2 可见，$3C_9Ag$ 在非小细胞肺癌（NSCLC）患者血清中表达阳性率高于小细胞肺癌（SCLC）患者血清，41 例 NSCLC 患者血清中 36 例阳性，阳性率高达 87.8%，而 SCLC 阳性率仅为 25%。CEA 血清表达情况与 $3C_9Ag$ 类似，在 NSCLC 中表达阳性率高（48.8%）而在 SCLC 中表达阳性率低（25%）。

表 2 血清 $3C_9Ag$、CEA 在肺癌各型的阳性率（%）

Tab 2 The positive rates of serum $3C_9Ag$ and CEA in each types of lung cancer

lung cancer type	$3C_9Ag$		CEA	
	N	R	N	R
Squamous cell carcinoma	20/23	86.9	8/23	34.8
Adenocarcinoma	15/16	93.8	10/16	62.5
Small cell lung Carcinoma	2/8	25	2/8	25
Large cell lung Carcinoma	0/1	0	1/1	100
Adeno-Squamous Carcinoma	1/1	100	1/1	100
Unclassified	0/1	0	0	0

N: positive numbers; R: positive rates, %

2.3 血清 $3C_9Ag$、CEA 表达与 NSCLC 分期的关系（见表 3）

表 3 血清 $3C_9Ag$、CEA 水平与 NSCLC 分期关系

Tab 3 The relationship between the levels of $3C_9Ag$, CEA and stages of NSCLC

Stages	$3C_9Ag$ (RBI, %)	CEA (ng/ml)
I	39.9± 4.3	13.5± 3.15
II	85.7±15.4☆	13.9± 3.7
III	72.4±18.6★	32.4±43.5▲

☆、★ *vs* stage I, $P<0.05$;

▲ *vs* stages I, II, $P>0.05$.

由表 3 可以看出，血清中 $3C_9Ag$ 水平在 II、III 期肺癌显著高于 I 期（$P<0.05$）；CEA 仅在 III 期肺癌有升高趋势，I、II 期肺癌未见明显升高。

3 讨论

近 10 年来，由于单克隆抗体技术的应用，有关肿瘤标志物的研究日趋活跃，发现了一些新的肿瘤标志物，但目前能用于肺癌诊断者仍主要为 CEA，因其不是肺癌特异性标志物，在诊断价值上有一定局限性，特别是在肺癌与肺部良性疾病的鉴别诊断上不够理想[2]。本室采用单抗技术制备了抗肺癌单抗 $3C_9$，为 IgM 亚型抗体，初步研究表明，其识别的抗原 $3C_9Ag$ 为 53.5KD 的糖蛋白[3]，在肺癌组织中表达率高达 91%，在类型上，主要表达于高分化的 NSCLC 组织中[3]。因此，$3C_9Ag$ 可能为一有价值的、与肺癌分化有关的肿瘤标志物。本文采用结合抑制法，检测肺癌血清 50 例，肺部良性疾病血清 21 例，发现 $3C_9Ag$ 对肺癌诊断的敏感性为 76%、特异性 90.5%，准确性为 80.3%，与 CEA 检测的相应值比较，敏感性和准确性优于 CEA，特异性也不逊于 CEA。相关分析进一步证明 $3C_9Ag$ 可能是不同于 CEA 的新的肿瘤标志物。联合检测 $3C_9Ag$、CEA 可将肺癌检出率

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

提高至84%，揭示二者联合检测有助于提高肺癌检出率。

研究发现，$3C_9Ag$ 在 NSCLC 患者血清中有更好的表达（阳性率 87.8%），而在 SCLC 患者血清表达率仅为25%，与免疫组化观察结果相符，揭示 $3C_9Ag$ 可能主要是 NSCLC 的标志物，与 CEA 有相似之处[2,4]。对分期不同的肺癌血清 $3C_9Ag$ 水平比较发现，Ⅰ、Ⅱ期肺癌患者血清中 $3C_9Ag$ 水平显著高于Ⅰ期者（$P<0.05$），提示 $3C_9Ag$ 血清表达与肺癌分期有关，分期越高者血清水平越高，提示对血清 $3C_9Ag$ 水平测定可用于肺癌监测。本研究发现Ⅰ期肺癌患者血清 $3C_9Ag$ 水平高于Ⅲ期患者，考虑原因主要为：①TNM 分期并非单纯依靠肿瘤的大小，有时肿瘤不大但因其位置靠近隆突也可诊断为Ⅲ期，而血清中 $3C_9Ag$ 水平，主要取决于肿瘤的凋谢（shed）、分泌入血，因此肿瘤的大小可能是决定其水平高低的主要因素，分期并不能准确反映肿瘤的大小；②本研究涉及的Ⅰ期病人例数较少，因而尚未能确切反映出其真实的水平。3例Ⅰ期肺癌患者，1例 $3C_9Ag$ 升高（达阳性标准），提示 $3C_9Ag$ 可能对肺癌早期检出有帮助。CEA 在Ⅲ期患者血清中水平高于Ⅰ、Ⅱ期患者，但尚未达到显著水平，可能是由于例数较少所致，有待进一步研究。

总之，单抗 $3C_9$ 识别的抗原—$3C_9Ag$，可能是一个不同于 CEA 的 NSCLC 标志物，其水平检测在肺癌诊断敏感性、特异性、准确性上，不逊于 CEA，$3C_9Ag$ 检测可能用于肺癌监测，其是否对早期肺癌的检出有帮助，尚需进一步扩大病例数，进一步观察。

参考文献

1. Koprowski H, Herlyn M, Michell K, et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. Science, 1981; 212: 53～55
2. Lombardi C, Tassi GF, Pizzocolo G, et al. Clinical significance of a multiple biomarker assay in patients with lung cancer. Chest, 1990; 97: 639～644
3. 王登顺 李新元 白雪峰，等。抗人肺癌单克隆抗体 $3C_9$ 的制备及血清学诊断。医药卫生，1992; 2: 7～10
4. Stehel RA, Martz G. Prognostic and diagnostic usefulness of serm markers in lung cancer. Eur J Clin Oncol, 1987; 23: 893～894

（收稿：1992-06-08；修回：1993-02-10）

Assay of antigens with anti-lung cancer McAb $3C_9$ and preliminary evaluation of serological diagnosis for lung cancer

Bai Xuefeng, Wang Dengshun, Guo Xianjian (Department of Respiratory Diseases, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630037)

Abstract The antigens ($3C_9Ag$) which could be recognized by the anti-lung cancer monoclonal antibody $3C_9$ were assayed with BA-ELISA immunobinding inhibition test in 50 lung cancer patients, 21 patients with non-cancerous pulmonary diseases and 40 normal subjects. Meanwhile radioimmunoassay was used to determine serum CEA. It was found that the sensitivity, specificity and accuracy for $3C_9Ag$ to diagnose lung cancer were 76%, 90.5% and 80.3% respectively. Much higher positive rates could be found in NSCLC patients and in those with stage Ⅰ or Ⅱ cancer. $3C_9Ag$ was superior to CEA in its sensitivity and accurracy. Combined assay with $3C_9Ag$ and CEA could increase the positive rate.

key words lung neoplasms; tumor markers, biological; antibodies, monoclonal

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net