

C-12 蛋白芯片检测宣威地区肺癌的临床意义

李定彪¹⁾, 韩浩¹⁾, 王艳飞¹⁾, 黄韬²⁾, 邓勇军²⁾

(1) 昆明医科大学附属延安医院胸外科, 云南昆明 650051; 2) 昆明医科大学第一附属医院胸外科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨 C-12 蛋白芯片对云南省宣威地区肺癌患者的诊断价值. **方法** (1) 应用 C-12 蛋白芯片检测系统分别检测实验组 40 例肺癌患者, 对照组 38 例肺良性病变血清中 12 种肿瘤标志物 (CA-199、NSE、CEA、CA-242、CA-125、CA-153、AFP、Feritin、free-PSA、PSA、 β -HCG、HGH) 的水平. 分别计算出实验组和对照组血清 C-12 的阳性率及临床评价指标. **结果** 实验组的 C-12 的阳性率为 75% (30/40), 显著高于对照组的 36.84% (14/38), 肺癌组中 CEA、CA-199、CA-125、CA-242、CA-153 血清水平显著高于肺良性病变组. C-12 蛋白芯片检测的敏感度为 75% (30/40), 特异性为 63.16% (24/38), 准确度为 69.23% (54/78). **结论** 云南省宣威地区肺癌患者血清中 CEA、CA242、CA125、CA153、CA199 阳性率较高. C-12 蛋白芯片检测对其有重要的辅助诊断价值. C-12 蛋白芯片检测特异度较高, 操作方便, 费用低廉, 可以用于该地区高危人群、住院患者的筛查.

[关键词] 肺部肿瘤; 肿瘤标志物; C-12 蛋白芯片检测系统

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2013) 01-0096-05

Clinical Significance of C-12 Protein Chip in Detection of Lung Cancer in Xuanwei Region

LI Ding-biao¹⁾, HAN Hao¹⁾, WANG Yan-fei¹⁾, HUANG Tao²⁾, DENG Yong-jun²⁾

(1) Dept. of Thoracic Surgery, The Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650051; 2) Dept. of Thoracic Surgery, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the diagnostic value of C-12 protein chip in detecting lung cancer patients in Xuan Wei region, Yunnan province. **Methods** The serum levels of 12 tumor markers, including CA199, NSE, CEA, CA242, CA125, CA153, AFP, ferritin, free-PSA, PSA, β -HCG and HGH, were measured in 40 cases with lung cancer as trial group, 38 cases with benign pulmonary lesion by the C-12 protein chip. The positive rate and clinical evaluation indexes of C-12 in trial group and benign pulmonary lesion group were calculated. **Results** The positive rates of C-12 were 75% (30/40) and 36.84% (14/38) in trial group and benign pulmonary lesion group, respectively. The trial group had significantly higher positive rate than benign pulmonary lesion group. The serum levels of the tumor of markers, including CEA, CA-199, CA-125, CA-242, CA-153 in the trial group is significantly higher than the benign pulmonary lesion group. The sensitivity rate of C-12 was 75% (30/40), the specificity rate of C-12 was 63.16% (24/38), and the accuracy rate of C-12 was 69.23% (54/78). **Conclusions** The positive rates of CEA, CA242, CA125, CA153, CA199 is higher in lung cancer patients in Yunnan Xuanwei region. C-12 protein chip has important diagnostic value for lung cancer. C-12 protein chip has high specificity, easy operation, and low expense, so can be used to screen lung cancer in high risk population and hospitalized patients in this region.

[Key words] Lung cancer; Tumor marker; 12-tumor-marker protein biochip detective system

[作者简介] 李定彪 (1970~), 男, 云南景洪市人, 医学学士, 副教授, 主要从事胸外科临床工作.

肺癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤, 目前, 其在我国的发病率迅速增长, 并跃居城市人口恶性肿瘤死因第一位^[1]。尽管各种新的诊断、治疗方法不断出现, 肺癌的预后仍很差。

肿瘤标志物 (tumor marker, TM) 是由肿瘤组织产生或机体对肿瘤组织的反应而产生的物质, 这些物质可以存在于组织或细胞内, 也可释放至血液、体液中。目前, 尚未发现肺癌相对特异的标志物。大量的国内外文献报道, 在肺癌患者血清或肺癌组织内可检测到肿瘤标志物 CEA、CA125、CA199、CA242、CA153、等, 但单一标志物检测存在着特异性不强、阳性率较低等不足, 特别是对肺癌的早期检出率不高。为了提高肺癌的诊断敏感性, 临床上常对现有的肿瘤标志物进行联合检测。蛋白芯片技术是近几年在生命科学中迅速发展起来的一项高新技术, 是一种集微电子、机械化学物理技术、计算机技术为一体, 分析过程连续化、集成化、微型化的蛋白分析技术, 具有高速度、高通量、高灵敏的特性^[2], 其对多种疾病的早期诊断均有一定的诊断作用^[3,4]。肺癌的组织成分复杂, 其 TM 在常见肿瘤中较多, 而敏感性和特异性是评价 TM 的两个重要指标, 目前使用的肺癌相关肿瘤标志物单一检测敏感性欠佳, 准确率不高, 还没有一种肿瘤标志物对所有病理类型的肺癌有较高的阳性率和特异性。本课题利用肿瘤标志物 C-12 的联合检测, 探讨对云南省宣威地区肺癌患者的临床诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

实验组: 患者为昆明医科大学第一附属医院胸外科自 2009 年 6 月至 2010 年 7 月期间住院的宣威地区肺癌患者 40 例, 其中男性 28 例, 女性 12 例, 年龄 38 ~ 78 岁, 平均 58 岁。所有病例均经细胞学或组织病理学确诊的患者, 其中非小细胞肺癌 (NSCLC) 37 例 (鳞癌 20 例, 腺癌 17 例), 小细胞肺癌 (SCLC) 3 例。对照组 (肺部良性病变组) 38 例, 其中男性 26 例, 女性 12 例, 年龄 31 ~ 80 岁, 平均 55 岁, 其中包括肺炎, 肺结核, 急慢性支气管炎, 支气管扩张和支气管哮喘患者。纳入标准: 肺癌组所有患者均在云南宣威地区生活 20 a 以上。研究对象签署知情同意书, 所选对象的病例资料记录完整, 均经临床检查 (包括胸部 X 片, CT, 腹部 B 超, 全身骨扫描, 纤维支气管镜等检查) 及手术后最终取得病理依据和组织学诊断,

所有病例未经过放, 化疗和手术治疗, 无糖尿病, 无妊娠, 无肝肾功能不全, 无高血压和充血性心力衰竭等并发症。

1.2 仪器与试剂

电热恒温水浴箱 S648: 上海医疗器械, 七厂恒温摇床: HDYC-2004B 上海数康生物科技有限公司, HD-2001 系列生物芯片检测仪: 上海数康生物科技有限公司, 湖州数康生物科技有限公司生产的蛋白芯片仪及多种肿瘤标志物蛋白芯片诊断试剂。Abbott AXSYM system 全自动化学发光免疫分析仪 (美国雅培中国公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 血清标本收集 经肘静脉采集空腹静脉血 3 mL (对照组采集条件同肺癌组) 以 3 500 r/min 离心 5 min, 取血清 1.5 mL, 4 °C 条件下保存于冰箱, 7 d 内检测完毕。

1.3.2 方法 将各待测血清或不同浓度的标准品混合液各 100 μ L 滴加到不同的芯片分隔内, 将蛋白芯片在 37 °C 温育振荡 30 min, 倾倒入孔内液体, 吸取 200 μ L 洗涤液加入芯片格内, 振荡洗涤 8 min, 弃去洗涤液 4 次, 芯片小方格内各加入 100 μ L 反应液再次置 37 °C 温育振荡 30 min, 取出弃去孔内液体, 按上述方法重复洗涤两次, 剥离蛋白芯片集成块的上部在每个芯片的膜表面加入 20 μ L 已等体积混合 15 min 的检测液 A 和 B 混合液, 静置 2 min, 用 HD-2001A 蛋白芯片仪对蛋白芯片读取数据。

1.4 检测项目的正常参考值范围

由该试剂盒提供 (见表 1)。若某一样本中一项肿瘤标志物超过临界值则记为该指标阳性; 若某一样本中一项或一项以上肿瘤标志物阳性, 记为该样本 C-12 阳性; 总阳性率即为 C-12 阳性率。

1.5 统计学处理

使用 SPSS 统计软件上进行统计分析, 计量资料以均数值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验, 计数资料以百分率表示, 采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。临床意义评价指标分别为灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值和阴性预测值。

2 结果

2.1 血清肿瘤标志物单项检测水平值分析

12 项肿瘤标志物的检测水平见表 2, 将肺癌组与对照组 2 组的各项肿瘤标志物单项指标水平检测值进行比较, 肺癌组高于对照组有显著统计学

差异的是 CA-199 ($P=0.036$), CEA (P 值 =0.001), CA-242 ($P=0.002$), CA-125 (P 值 =0.001), CA-153 ($P=0.009$)。没有统计学差异的是 AFP、NSE、f-PSA、PSA、FER、HGH、 β -HCG ($P>0.05$)。

2.2 肺癌组与对照组 C-12 芯片检测阳性率比较

肺癌组的 C-12 芯片阳性率显著高于对照组

($\chi^2=11.54$, $P=0.001$), 见表 3。

2.3 血清肿瘤标志物单项检测指标对肺癌诊断的临床评价

单项肿瘤标志物对宣威地区肺癌诊断的灵敏度、特异性、准确度、阳性预测值、阴性预测值见表 4。评价指标显示对宣威地区肺癌患者诊断有一定效果的是 CA-199、CEA、CA-242、CA-125。

表 1 C-12 蛋白芯片肿瘤标志物正常参考值

Tab. 1 The normal reference values of tumor markers in C-12 protein chips

肿瘤标志物	参考值
糖类抗原 (CA199)	< 35.00 kU/L
糖类抗原 (CA153)	< 35.00 kU/L
癌胚抗原 (CEA)	< 5.00 μ g/L
糖类抗原 (CA242)	< 20.00 kU/L
糖类抗原 (CA125)	< 35.00 kU/L
生长激素 (HGH)	< 7.50 μ g/L
甲胎蛋白 (AFP)	< 20.00 μ g/L
铁蛋白 (ferritin)	* < 322/219 μ g/L
游离型前列腺特异性抗原 (f-PSA)	< 1.00 μ g/L
前列腺特异性抗原 (PSA)	< 5.00 μ g/L
人绒毛膜促性腺激素 (HCG)	< 3.00 μ g/L
神经原特异性烯醇化酶 (NSE)	< 13.00 μ g/L

注 * 表示男性 / 女性。

表 2 12 种肿瘤标志物和 CYFRA21-1 检测水平值分析 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The detection values of 12 tumor markers and CYFRA21-1 ($\bar{x} \pm s$)

肿瘤标志物	肺癌组 (n=40)	对照组 (n=40)
CA-199 (kU/L)	16.22 \pm 17.71*	10.83 \pm 12.16
AFP (μ g/L)	5.60 \pm 4.87	4.16 \pm 3.42
NSE (μ g/L)	3.27 \pm 1.34	2.88 \pm 1.38
F-PSA (μ g/L)	0.27 \pm 0.28	0.15 \pm 0.16
CEA (μ g/L)	12.80 \pm 21.76**	3.33 \pm 1.88
PSA (μ g/L)	1.00 \pm 0.87	0.60 \pm 0.77
CA-242 (kU/L)	7.12 \pm 8.97**	4.36 \pm 3.59
CA-125 (kU/L)	45.51 \pm 55.91**	20.91 \pm 18.82
FER (μ g/L)	150.19 \pm 108.85	140.99 \pm 97.28
HGH (μ g/L)	0.77 \pm 0.76	0.89 \pm 0.94
β -HCG (μ g/L)	0.63 \pm 0.35	0.58 \pm 0.41
CA-153 (kU/L)	14.56 \pm 16.33**	9.41 \pm 7.38

与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

表 3 肺癌组与对照组 C-12 芯片检测阳性率比较

Tab. 3 Comparison of the positive detection rate of C-12 chips between two groups

分 组	n	阳性例数	阴性例数	阳性率 (%)
肺癌组	40	30	10	75.00**
对照组	38	14	24	36.84

与对照组比较, ** $P<0.01$.

表 4 12 种肿瘤标志物单项指标对肺癌诊断的临床评价结果 (n)

Tab. 4 Role of single item of 12 tumor markers in clinical evaluation of lung cancer (n)

肿瘤标志物	肺癌组 阳性例数	对照组 阳性例数	χ^2	P 值	灵敏度 (%)	特异性 (%)	准确度 (%)	阳性预测 值 (%)	阴性预测 值 (%)
CA-199	6	2	2.01	0.157	15	94.74	53.85	75	10.29
AFP	1	0	0.96	0.33	2.5	100	50	100	49.35
NSE	0	0	-	-	-	-	-	-	-
F-PSA	0	0	-	-	-	-	-	-	-
CEA	15	6	4.67	0.031	37.5	84.21	60.26	71.43	56.14
PSA	0	0	-	-	-	-	-	-	-
CA-242	5	0	5.08	0.024	12.5	100	55.13	100	52.05
CA-125	14	5	5.05	0.025	35	86.84	60.26	73.68	55.93
FER	6	2	2.01	0.157	15	94.74	53.85	75	52.94
HGH	0	0	-	-	-	-	-	-	-
CA153	3	0	2.96	0.085	7.5	100	52.56	100	44.71

3 讨论

C-12 蛋白芯片检测系统检测对宣威地区肺癌患者诊断具有重要的辅助诊断价值. 该法与其他检查方法结合应用, 可提高对此地区肺癌定性诊断的敏感性和特异性, 具有重要的临床应用价值. 由于该法特异性较高, 因此也较适合于此地区无明显症状的门诊患者和高危人群的筛查.

肺癌的临床诊断必须依据临床表现和各种影像学结果进行综合分析, 但最后的确诊必须取得细胞学或病理组织学的证据. 但是由于影像学检查要结合临床症状的综合分析, 人为因素增加, 经验成分较多. 而较确切的纤维支气管镜则存在创伤不能普遍应用于临床. 正电子 CT 由于价格昂贵更不为广大患者所接受. 而 C-12 蛋白芯片检测系统联合 CYFRA21-1 既能解决创伤及价格的问题又有较高的精准度. 12 种肿瘤标志物蛋白芯片检测系统 (简称 C-12 蛋白芯片或 C-12) 运用蛋白芯片技术, 将 CEA、CA125、CA199、CA242、CA153、NSE、 β -HCG、HGH 等 12 种肿瘤标志物的抗体包被在一个基因芯片大小的载体上, 可一次性完成 12 种肿瘤标志物的检测, 具有高通量、微型化和自动化等特点.

3.1 糖链抗原 CA19-9

是一种粘蛋白型的糖类蛋白肿瘤标志物. CA19-9 在消化道腺癌病人的血清中的浓度明显升高, 而作为直肠癌和胰腺癌肿瘤标志, 主要用于消化道恶性肿瘤的诊断^[9]. 本研究利用 C-12 蛋白芯片检测系统检测 40 例宣威地区肺癌患者, CA199 的阳性率为 15%, 与相关文献报道相近^[6].

3.2 甲胎蛋白 AFP

AFP 是当前诊断肝细胞肝癌最特异的标志物. AFP 是胎儿时期肝脏合成的一种胚胎蛋白, 初生后消除, 但当肝细胞恶变后又可重新获得这一功能. 由于孕妇、新生儿及睾丸或卵巢的生殖腺胚胎癌也可出现, 故 AFP 对肝细胞肝癌仅有相对特异的诊断价值^[7,8]. 本文在 40 例病人中测得 1 例 AFP 阳性, 并且次患者合并肝炎.

3.3 神经元特异性烯醇酶 NSE

是一种酸性蛋白酶, 主要作用是催化 2-磷酸甘油变成烯醇式磷酸丙酮酸, 它是由两个 Y-亚单位组成的糖酵解酶, 仅存在于神经元和神经内分泌细胞中, 是小细胞肺癌最有价值的血清肿瘤标志物之一. 但与其对非小细胞肺癌影响相关的文献报道较少^[9]. 本文未在 40 例肺癌患者种检测到阳性患者.

3.4 前列腺特异性抗原 PSA

前列腺特异性抗原 (PSA) 是一种含有 237 个氨基酸的单链多肽. 游离 PSA (free PSA, f-PSA) 占总 PSA (total PSA, tPSA) 的 10%~30%, 虽然前列腺增生、前列腺炎也能引起血清 PSA 轻度升高. 但它仍是目前前列腺癌筛查、辅助诊断和监测疗效的最好指标^[10]. 本研究中为检测出阳性患者, PSA 和 f-PSA 可能对肺癌患者没有太大的临床意义.

3.5 癌胚抗原 CEA

是从结肠癌和胚胎组织中提取的糖蛋白, 是一种人类胚胎抗原决定簇的酸性糖蛋白. 在胚胎期表达, 正常成年人不表达, 伴随肿瘤发生又重新表达. 肺癌患者血清 CEA 水平明显升高^[11]. 本文研究表明, CEA 的阳性检测率为 37.5%, 为 12 项肿瘤标志物中最高的. 与文献报道一致. 对肺

癌诊断价值较高,可应用于临床。

3.6 糖链抗原 242

CA242 是一种唾液酸化的糖蛋白,在健康人和良性疾病人血清中含量很低,消化道恶性肿瘤时,CA242 明显升高^[12]。在本文研究中阳性率为 12.5%。

3.7 糖链抗原 125

CA125 是一种粘蛋白类物质,对卵巢癌的诊断,疗效以及预后有应用价值,同时也要用于其他肿瘤的诊断,例如肺癌的诊断^[13]。本研究显示,CA125 的阳性率为 35%,与相关文献的检测结果相近^[14]。

3.8 铁蛋白 ferritin

铁蛋白是 1950 年 Reissman 首先发现的,遍布于机体各器官,是一种无机铁化合物为辅基的大分子糖蛋白。患肝癌、肺癌、胰癌、白血病等时,癌细胞合成的铁蛋白增加,使血清铁蛋白升高。本研究中铁蛋白的阳性率为 15%,特异性为 94.74%,特异性较高,可作为宣威地区临床筛查的指标。

3.9 人生长激素 HGH

HGH 是诊断脑垂体瘤和垂体增生的一项指标,本研究没有发现阳性患者。

3.10 人绒毛膜促性腺激素 (β -HCG)

HCG 是由孕卵着床后,合体滋养层细胞分泌的一种糖蛋白激素,由 α 、 β 两条多肽链构成, α 链与其他多种激素(促黄体生成素、促卵泡激素、甲状腺激素等)的结构类似, β 链则具有特异性,可作为特异性抗原被检测。通常认为,血清或尿液 HCG 测定只在妊娠与滋养层细胞肿瘤时结果升高,故以往仅用作早孕、葡萄胎及绒毛膜上皮癌的诊断。后来发现部分肺癌患者的血清 HCG 出现增高。本研究未发现阳性患者。

3.11 糖链抗原 153

CA-153 是 1984 年 Hilkens 等从人乳脂肪球膜上糖蛋白 MAM-6 制成的小鼠单克隆抗体,同年 Kufu 等自肝转移乳腺癌细胞膜制成单克隆抗体 DF-3,两抗体均能与一类与肿瘤相关的糖类抗原起反应,该单抗所识别的抗原命名为糖类抗原 CA15-3。对乳腺癌的诊断和治疗后随访的价值已经得到临床的肯定^[15]。本研究提示 CA-153 的阳性率为 7.5%,阳性率较低,不适宜做单独的检测指标。

通过对外周血中肿瘤标志物的检测诊断肺癌的方法,具有简便,创伤小,费用小等优点,已经成为肺癌筛查的重要途径。但现仍未发现一种特异性

及敏感性均十分理想的肿瘤标志物,但是随着蛋白质组学、代谢组学、基因组学的发展,不断有新的候选标志物出现,人们有望能寻找出敏感性及特异性较高的标志物,或一系列的肿瘤标志物的联合检测,能有效地对肺癌进行早期诊断、早期治疗、降低病死率。

[参考文献]

- [1] 毛友生,高燕宁,赫捷,等. 肺癌分子生物学特性与转移和预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志,2006,8(8):632-634.
- [2] SANDERS GHW,MANZ A. Chip-based microsystems for genomic and proteomic analysis [J]. Trends And Chem, 2000,19(6):364-378.
- [3] WEINBERGER S R,DALMASSO E A,FUNG E T. Current achievements using protein chip array technology [J]. Curr Opin Chem Biol,2002,6(1):86-91.
- [4] RUBIN R B,MERCHANTM A. Rapid protein profiling system that speeds study of cancer and other diseases [J]. Am Clin Lab,2000,19(8):28-29.
- [5] MURAKI M,TOHDA Y. Assessment of serum CYFRA21-1 in lung cancer [J]. Cancer, 1996,77(7):1274-1277.
- [6] SCHNEDDER J,KATZN. Comparison of the tumor marker Mz-pk,CEA,CYFRA21-1,NSE and SCC in the diagnosis of Lung cancer [J]. Anticancer Res,2000,20(6):5053-5058.
- [7] 刘长庭,张进川. 现代纤维支气管镜诊断治疗学[M]. 第4版. 北京:人民军医出版社,1997:136-220.
- [8] SHURE D. Fiberoptic bronchoscopy-diagnostic applications [J]. Clinics in Chest Medicine,1987,8:1-3.
- [9] LAIN S,KENNEDY T,UNGER,et al. Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy [J]. Chest,1998,113:696-702.
- [10] BOECK S,STIEBER P,HOLDENRIEDER S,et al. Prognostic and therapeutic significance of carbohydrate antigen 19-9 as tumor marker in patients with pancreatic cancer [J]. Oncology,2006,70(4):255-264.
- [11] 郑三多. 肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对肺癌的诊断价值 [J]. 中国热带医学,2006,6(5):783-784,860.
- [12] NATIONAL EMPHYSEMA TREATMENT TRIAL RESEARCH GROUP. Patients at high risk of death after lung volume reduction surgery [J]. N Engl J Med, 2002,345(15):1075-1083.
- [13] YUSEN R D,LEFRACK S S,TRULOCK E P. Evaluation and preoperative management of lung volume reduction surgery candidate [J]. Clin Chest Med,1997,18(2):199-224.
- [14] SATO H,ISHIKAWA H,KURISHIMA K,et al. Cut-off levels of NSE to differentiate SCLC from NSCLC [J]. Oncol Rep,2002,9(3):581-583.
- [15] HOMMAS S,SATOH H,KAGOHASHI K,et al. Production of CA125 by human cancer cell lines [J]. Clin Exp Med,2004,4(3):139-141.

(2012-11-12 收稿)