

· 临床研究 ·

C-12 多肿瘤标志物蛋白芯片监测胃肠道肿瘤复发转移的临床评价

杨雪琴¹, 仲召阳¹, 王东¹, 王阁¹, 杨镇洲¹, 李增鹏², 杨宇馨¹, 沈奕播¹, 王正波¹

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所:1. 肿瘤中心;2. 病理科, 重庆 400042)

摘要:目的 研究 C-12 多肿瘤标记物蛋白芯片检测系统对胃肠道肿瘤监测的临床价值。方法 将近年来检测了 4 次以上肿瘤标记物的 29 例胃肠道肿瘤患者按临床疗效与病情分为 6 个等级, 采用统计学方法检验各肿瘤标志物表达水平与临床疗效与病情分级的关系, 并建立疾病复发转移的判别方程。结果 胃肠道肿瘤的临床疗效与病情分级与糖链抗原 19-9(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)、癌抗原 242(CA242)、甲胎蛋白(AFP)以及癌抗原 125(CA125)有关, 相关系数分别为 0.67、0.65、0.67、0.49、0.49。根据所建判别方程, 男、女性胃肠道肿瘤患者诊断正确率分别为 85.1%、91.9%。结论 肿瘤蛋白芯片的检测对于胃肠道肿瘤的监测具有重要临床价值。判别方程可用于胃肠道肿瘤患者复发转移的判定。

关键词: 胃肠道肿瘤; C-12 多肿瘤标志物蛋白芯片; 监测

中图分类号: R735.2; R730.43

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)04-0427-03

Clinical significance of C-12 multiple tumor marker protein chip in monitoring of gastrointestinal cancer and the establishing of the discriminated function for the recurrence and metastasis

YANG Xue-qin¹, ZHONG Zhao-yang¹, WANG Dong¹, et al.

(1. Cancer Center; 2. Department of Pathology, Daping Hospital and Research Institute of Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To evaluate the monitoring values of C-12 multiple tumor marker protein chip for gastrointestinal cancer and to establish the discriminated function for the recurrence and metastasis. **Methods** Twenty-nine patients, who had been detected at least 4 times on tumor markers, were selected. Based on the treatment effect and disease condition, patients were classified for six grades. The correlation of serum level of each tumor marker with the treatment effect and disease condition and the discriminated function were analyzed by the statistics. **Results** The treatment effect and disease condition of gastrointestinal cancer were correlated with CA19-9, CEA, CA242, AFP and CA125. The correlation coefficient was 0.67, 0.65, 0.67, 0.49, 0.49, respectively. Based on the discriminated function, the percent of "grouped" male and female cases correctly classified was 85.1% and 91.9% respectively. **Conclusion** There is important clinical significance of C-12 multiple tumor marker protein chip in monitoring of gastrointestinal cancer. The discriminated function can apply to gastrointestinal cancer for discriminating recurrence and metastasis.

Key words: gastrointestinal neoplasm; C-12 multiple tumor marker protein chip; monitoring

消化系统恶性肿瘤严重危害人体健康, 其中胃癌死亡率居恶性肿瘤之首, 而大肠癌虽在我国为第 4~6 位常见肿瘤, 但近年来随着人们高脂肪、高蛋白、低纤维、低粗粮等饮食结构改变, 使得我国大肠癌呈现一个高发态势。因此通过多种途径监测胃肠道肿瘤患者的发生发展过程具有重要的临床意义。多肿瘤标志物蛋白质芯片是一种高通量、高灵敏度、高特异性且微型化的蛋白质分析技术^[1-2]。有实验表明, 该项技术对胃肠道肿瘤的早期诊断有一定作用^[3]。但其在胃肠道肿瘤监测中的临床价值目前尚未见报道, 本文通过检测肿瘤标志物水平与临床疗效的相关性, 以及建立复发转移的判别方程, 探讨 C-12 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统对胃肠道肿瘤监测的临床意义。

1 临床资料

1.1 检测对象 第三军医大学大坪医院 2004 年 1 月至 2007 年 3 月住院的胃肠道肿瘤患者 29 例, 其中男 19 例, 女 10 例; 年龄 22~70 岁, 平均 56.5 岁。均经细胞学或组织学确诊, 其中胃癌 8 例, 直肠癌 15 例, 结肠癌 6 例。入选患者均为肿瘤标志物监测 4 次以上, 总检测例次 155 次。

1.2 检测方法 试剂盒为浙江湖州数康生物科技有限公司生产的 C-12 型肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒(简称 C-12), 12 种肿

瘤标志物包括糖链抗原 19-9(CA19-9)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、癌胚抗原(CEA)、癌抗原 242(CA242)、癌抗原 125(CA125)、癌抗原 15-3(CA15-3)、甲胎蛋白(AFP)、铁蛋白(Ferritin)、游离型前列腺特异性抗原(f-PSA)、前列腺特异性抗原(PSA)、生长激素(HGH)及绒毛膜促性腺激素 β (β -HCG)等, 并采用其提供的 HD-2001A 生物芯片检测仪分析结果。采空腹静脉血 2mL, 分离血清, -20℃ 保存待测。严格按说明书操作。正常参考值范围为: CA125 < 35u/mL, CA19-9 < 35u/mL, CA15-3 < 35u/mL, CA242 < 20u/mL, CEA < 5ng/mL, AFP < 20ng/mL, NSE < 13ng/mL, PSA < 5ng/mL, f-PSA < 1ng/mL, HGH < 7.5ng/mL, Ferritin < 219ng/mL(女)、322ng/mL(男)。

1.3 临床疗效及病情分级 采取影像学、临床及病理等多种方法进行疗效判定。判定方法: 痊愈=1, 好转=2, 稳定=3, 进展=4。初次检测时病情: 初治(Ⅲ期以下)=0, 复发(Ⅲ期以下)=1, 远处转移=2。两项相加, 将患者分为 1~6 个等级, 其中无论是否初治, 如全部病灶消失并稳定 4 周以上者分级均定为 1。1~6 级依次为: (1)痊愈; (2)Ⅲ期以下初治病例好转阶段; (3)Ⅲ期以下初治病例稳定阶段或复发病例好转阶段; (4)Ⅲ期以下病例进展阶段、复发病例稳定阶段或远处转移病例好

表 1 肿瘤标志物与临床疗效与病情分级的相关性分析

项目	CA19-9	NSE	CEA	CA242	Ferritin	HCG	AFP	f-PSA	PSA	CA125	HGH	CA15-3
r	0.67	0.19	0.65	0.67	0.39	0.3	0.49	0.16	0.14	0.49	0.35	0.17
P	<0.01	—	<0.01	<0.01	—	—	<0.01	—	—	<0.01	—	—
阳性率(%)	39	0	39	33	12	0	5	0	0	19	0	0

—:表示无此项。

表 2 各级患者 CA19-9、CEA、CA242、AFP、CA125 阳性表达情况(̄±s)

分级	CA19-9	CEA	CA242	AFP	CA125
1	11.09±7.48	1.84±1.58	4.34±2.44	1.79±1.39	8.85±6.60
2	21.77±14.12	2.39±1.43	8.24±5.26	2.23±1.26	20.64±13.39
3	25.76±18.23	4.39±3.56	15.25±10.27	5.24±3.37	22.74±16.41
4	41.65±51.54↑	10.56±19.88↑	30.08±49.91	9.56±7.11	34.47±52.11
5	96.52±90.88↑	29.97±30.46↑	66.45±61.64↑	9.64±11.16	61.92±108.20↑
6	161.73±106.14↑	34.00±36.16↑	95.12±62.30↑	8.37±6.82	58.33±72.36↑

↑:高于正常值。

转阶段;(5)远处转移病例稳定阶段;(6)远处转移病例进展阶段。

1.4 统计学方法 数据统计以检测例次为依据,并采用 SPSS13.00 统计软件进行分析。肿瘤标志物与临床疗效及病情分级相关性采用 Spearman 等级相关分析,各临床疗效及病情分级之间采用方差分析进行比较。判别方程采取二类判别分析的方法建立。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肿瘤标志物与临床疗效及病情分级相关性分析 胃肠道肿瘤的临床疗效及病情分级与 CA19-9、CEA、CA242、AFP 以及 CA125 有关,相关系数分别为 0.67、0.65、0.67、0.49、0.49。其中 CA19-9 与 CA242 之间本身存在较高相关性(r=0.90),CEA 与前两者亦高度相关(相关系数分别为 0.78、0.82),三者间 4~6 级与 1~3 级比较,差异均有统计学意义(P<0.05),而 4、5、6 级间比较,差异亦有统计学意义。因此 CA19-9、CEA、CA242 阳性表达提示患者处于复发进展或远处转移阶段,而表达高低能反映患者病情。AFP、CA125 的 4~6 与 1~3 级比较,差异有统计学意义(P<0.05),但 AFP 的 4、5、6 级比较以及 CA125 的 5、6 级比较差异无统计学意义(P>0.05)。因此 AFP 与 CA125 能大致反应病情发展,但在病情晚期阶段不能准确反映病情是恶化还是好转;Ferritin 在本实验中亦有较高的阳性表达,但其与胃肠道肿瘤的临床疗效与病情分级无相关性(P>0.05),见表 1、2。

2.2 胃肠道肿瘤复发进展及转移判别方程的建立 根据前面的相关性分析及各级均数比较,发现 1~3 级与 4~6 级之间存在明显界限,两者肿瘤标志物水平比较,差异多具有统计学意义,而各自内部比较,差异多无统计学意义,因此将 1~3 级合并为 1,将 4~6 级合并为 2,建立二类判别分析公式。因此 1 代表初治 III 期以下好转痊愈及稳定病例,2 代表复发进展及转移病例。Y<0,判为 1;Y>0,判为 2。所建判别方程如下:男: Y=0.001 513 211X₁+0.061 061 278X₂+0.008 164 448X₃+0.011 605 788X₄-0.001 969 338X₅-0.168 138 077X₆+0.049 056 625X₇+1.045 015 345X₈+0.047 134 574X₉+

0.000 392 391X₁₀+0.149 023 294X₁₁-0.011 181 462X₁₂-1.517 945 87;女:Y=-0.011 506 853X₁+0.027 117 366X₂+0.019 040 829X₃+0.022 546 604X₄+0.008 710 496X₅+0.458 145 069X₆-0.012 424 154X₇-43.458 320 17X₈+7.506 691 165X₉+0.010 556 28X₁₀+0.035 632 822X₁₁-0.040 861 205X₁₂-1.536 330 385(X₁为 CA19-9;X₂为 NSE;X₃为 CEA;X₄为 CA242;X₅为 Ferritin;X₆为 HCG;X₇为 AFP;X₈为 f-PSA;X₉为 PSA;X₁₀为 CA125;X₁₁为 HGH;X₁₂为 CA15-3)。

根据非标准化判别方程,胃肠道肿瘤女性患者的诊断正确率较高,达到 91.9%,而男性稍低,平均为 85.1%。其中男、女初治 III 期以下及好转痊愈病例诊断正确率分别为 100%、97.06%,而复发进展及转移病例诊断正确率男、女分别为 77.97%、85.71%,见表 3。

表 3 判别方程验证结果

项目	实际值	男		总计	女		总计
		预测值			预测值		
		1	2		1	2	
n	1	28	0	28	33	1	34
	2	13	46	59	4	24	28
%	1	100	0	100	97.06	2.94	100
	2	22.03	77.97	100	14.26	85.71	100
判断准确率(%)		85.1			91.9		

3 讨 论

肿瘤标志物是具有定性、定量等标志性意义的生物学活性物质,其检测损伤小,敏感性高,多年来被广泛应用,检测血清肿瘤标志物有助于消化道恶性肿瘤的诊断。CEA 是一种具有人类胚胎抗原决定簇的酸性糖蛋白,最早分离于人结肠癌,后发现孕 36 个月胎儿的肠、胰腺及肝均有 CEA 存在,其为一种非特异性肿瘤标志物,在胃肠道癌、乳腺癌、肺癌、甲状腺癌等多种恶性肿瘤中均可升高。CA19-9 亦称胃肠癌相关抗原,是从结肠癌细胞系筛选出来的单克隆抗体,该抗体与肿瘤相关的

糖类抗原起反应,属低聚糖类抗原。胚胎期间胎儿胰腺、胆囊、肝、肠等组织中存在这种抗原,但在正常人体组织中含量甚微。在消化系恶性肿瘤患者血清中 CA19-9 含量明显升高。CA125 是胚胎发育过程中体腔上皮表达的一种大分子糖蛋白,是一种似黏液蛋白复合物,最初认为有卵巢癌特异性,经深入研究为一种广谱标志物,近年来报道在胃癌、结直肠癌、胰腺癌有较高的阳性检出率。CA242 为一种与黏蛋白有关的肿瘤抗原,也是一种唾液酸化的糖脂类抗原。CA242 优点为恶性肿瘤时升高,而良性疾病时一般不高,据报道对晚期癌症其敏感性和特异性高于 CA125、CA19-9。AFP 是卵黄囊瘤、畸胎瘤、肝细胞癌等多种肿瘤的重要标志物。正常情况下 AFP 主要存在于胚胎早期血清中,出生 1 年后血清 AFP 降至正常成人水平。

由于胃癌与结直肠癌在肿瘤标志物的阳性表达方面具有高度相似性,因此作者将胃癌与结直肠癌合并研究。本研究结果显示,胃肠道肿瘤的肿瘤标志物阳性率普遍偏高,且与临床疗效及病情具有相关性,其中 CA19-9、CA242 与临床疗效及病情相关性最高,其次为 CEA,三者在胃肠道肿瘤患者中亦有较高的阳性率,因此三者联合应用将有助于胃肠道肿瘤患者临床疗效的监测。本研究还发现尽管 AFP 在本研究病例中仅有 5% 阳性表达,但其表达与胃肠道肿瘤患者的临床疗效及病情分级具有较高的相关性,尤其当出现复发进展与转移时,其数值明显升高。而事实上本研究 AFP 5% 阳性表达均出现于疾病发生远处转移过程中。据国外研究报道,胃癌患者可表达 AFP 受体,少数患者同时还可以高水平分泌 AFP,而 AFP 阳性的胃肠道肿瘤患者具有易转移、预后差等特点^[4-6]。因此 AFP 虽然不能作为胃肠道肿瘤的诊断指标,但可以用于胃肠道肿瘤患者临床疗效的监测,并指导预后。本研究 29 例患者中,有 9 例患者在反复检测中肿瘤标志物均为阴性,其中只有 1 例处于病情进展阶段,而其余均为术后或病情处于好转阶段。因此蛋白芯片检测能够监测胃肠道肿瘤病情的发展。

判别方程主要是针对以下目的建立的:(1)以较少成本监测患者有无复发或远处转移;(2)影像学上或临床表现不典型但又无法取得细胞学或病理学资料者。判别方程联合相关性较高的肿瘤标志物的变化水平将会增加判别的准确性。此外,

由于判别方程综合各肿瘤标志物的单独指示作用,所得 Y 值可以进行前后比较,因此也可用于临床疗效的观测,对于同一个患者,所得 Y 值增加,提示病情进展;所得 Y 值减少,提示病情好转。由于本判别方程是基于胃肠道肿瘤诊断明确患者在治疗过程中或治疗后肿瘤标志物变化的资料而建立的,因此只适用于判别有无复发、进展及远处转移或协助临床疗效的观测,而不能用于肿瘤的诊断,即对肿瘤和健康者进行鉴别^[7]。

参考文献:

- [1] Von Eggeling F, Dades H, Lomas L, et al. Tissue-specific microdissection coupled with protein chip array technologies; applications in cancer research [J]. *Biotechniques*, 2000, 29(5):1066.
- [2] Weinberger SR, Dalmaso EA, Fung ET. Current achievements using protein chip array technology [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2002, 6(1):86.
- [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.
- [4] Yachida S, Fukushima N, Nakanishi Y, et al. Alpha-fetoprotein-producing carcinoma of the colon: report of a case and review of the literature [J]. *Dis Colon Rectum*, 2003, 46(6):826.
- [5] Tsuboi S, Taketa K, Nouse K, et al. High level of expression of alpha-fetoprotein receptor in gastric cancers [J]. *Tumour Biol*, 2006, 27(6):283.
- [6] Ishigami S, Natsugoe S, Nakashima H, et al. Biological aggressiveness of alpha-fetoprotein (AFP)-positive gastric cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2006, 53(69):338.
- [7] 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肠癌诊断的临床意义 [J]. *重庆医学*, 2007, 36(23):2406.

(收稿日期:2009-07-11 修回日期:2009-08-06)

(上接第 426 页)

- current evidence in hospital and outpatient settings [J]. *J Perinat Med*, 2005, 33(6):491.
- [5] 盖铭英, 张建平, 李扬, 等. 控释前列腺素 E2 栓剂——普贝生用于足月引产的临床研究 [J]. *中华妇产科杂志*, 2003, 38(4):210.
 - [6] Witter FR. Prostaglandin E2 preparations for preinduction cervical Ripening [J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2000, 43(3):469.
 - [7] Bolnick JM, Velazquez MD, Gonzalez JL, et al. Randomized trial between two active labor management protocols in the presence of an unfavorable cervix [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 190(1):124.
 - [8] Lyrenäs S, Clason I, Ulmsten U. In vivo controlled release of PGE2 from a vaginal insert (0.8 mm, 10 mg) during induction of labour [J]. *BJOG*, 2001, 108(2):169.
 - [9] 余艳萍, 何淑明. 普贝生用于足月妊娠引产对胎心、宫缩及羊水性状的影响 [J]. *中山医科大学学报(医学科学版)*, 2007, 28(3S):182.
 - [10] Crane JM, Bennett KA. A meta-analysis of controlled-release prostaglandin for cervical ripening and labour induction [J]. *J SOGC*, 2000, 22(9):692.

(收稿日期:2009-08-16 修回日期:2009-09-10)