

化学发光免疫法在肿瘤生物标志物检测中的应用价值

范艳佳, 陈美红, 颜林林

福建省立金山医院, 福建 福州 350008

摘要: **目的** 评价化学发光免疫法应用于肿瘤生物标志物检验时的临床价值, 为肿瘤患者早发现提供参考依据。 **方法** 采用病例对照研究方法, 选择 50 例临床病理确诊的恶性肿瘤患者纳入观察组, 选择 50 例同期在本院接受体检的健康人群纳入对照组, 收集基本流行病学和临床背景资料, 采集静脉血标本。采用化学发光免疫法同时检测两组人群血液中的癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA)、甲胎蛋白 (α -fetoprotein, AFP)、糖链抗原-199 (carbohydrate antigen 199, CA-199)、糖链抗原-125 (carbohydrate antigen 125, CA-125) 和糖链抗原-153 (carbohydrate antigen 153, CA-153) 五种肿瘤生物标志物含量, 并统计分析各项检测结果及阳性率。 **结果** 观察组患者 CEA、AFP、CA-199、CA-125 和 CA-153 五种水平分别为 (78.52 ± 76.11) ng/ml、 (143.83 ± 157.47) ng/ml、 (82.50 ± 74.92) U/ml、 (92.64 ± 117.39) U/ml 和 (55.95 ± 45.70) U/ml, 明显高于对照组健康人群的 (2.46 ± 0.94) ng/ml、 (3.27 ± 1.77) ng/ml、 (15.64 ± 6.11) U/ml、 (19.55 ± 8.84) U/ml 和 (14.21 ± 6.11) U/ml, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。观察组患者五种肿瘤标志物阳性检出率分别为 66.00% (33 例)、68.00% (34 例)、64.00% (32 例)、50.00% (25 例) 和 54.00% (27 例), 对照组仅在 AFP 检测出 1 例阳性, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。五种肿瘤生物标志物在不同恶性肿瘤中均有检出, 其中最特异的标志物, 肠癌为 CEA, 肝癌为 AFP, 乳腺癌为 CA153, 卵巢癌为 CA125。 **结论** 化学发光免疫法应用于肿瘤生物标志物检验具有较高准确度, 可为临床肿瘤疾病的诊断提供有效的参考依据。

关键词: 化学发光免疫法; 肿瘤生物标志物; 肿瘤诊断

中图分类号: R730.43 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2021)11-1397-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.11.033

恶性肿瘤发病率逐年升高, 且呈年轻化趋势, 同时恶性肿瘤早期诊断相对困难, 其死亡率高, 对人类健康造成严重威胁^[1]。诊断肿瘤的传统方法有病理组织活检、核磁共振成像、电子计算机断层扫描、B 超、X 线胸片、内镜检查等。但这些检查对于肿瘤早期的检测效果十分有限, 部分检测方法不仅价格昂贵, 且会给患者带来痛苦^[2]。肿瘤标志物 (tumor marker, TM) 是指恶性肿瘤在发生、发展过程中由机体对肿瘤细胞做出反应或者由肿瘤细胞直接合成、分泌而产生的一种具有生物活性、正常细胞中含量很低或不存在的特异性物质^[3]。肿瘤标志物检测具有操作便捷、标本易获取、价格低廉、灵敏、特异、易于动态监测疾病等优点^[2], 肿瘤标志物的筛检对于肿瘤早期检测具有重要意义^[4]。众多的肿瘤标志物的发现和临床应用, 已成为肿瘤患者疾病诊断的重要参考指标。例如, 癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA)、甲胎蛋白 (α -fetoprotein, AFP)、糖链抗原-199 (carbohydrate antigen 199, CA-199)、糖链抗原-125 (carbohydrate antigen 125, CA-125) 和糖链抗原-153 (carbohydrate antigen 153, CA-153) 作为常规肿瘤标志物在肿瘤的筛查、诊断、预后和转归等方面有很大的实用价值^[5-6]。

作者简介: 范艳佳 (1989-), 女, 本科学历, 初级检验师, 主要从事临床生化免疫检验工作。

肿瘤标志物的种类繁多, 检测方法也各异。例如, 放射免疫分析方法, 虽然灵敏度高、易于商品化等优势, 但试剂盒使用寿命短、有放射性污染风险等缺点, 目前越来越少用了; 酶联免疫吸附试验灵敏度高、操作简单, 但结构相似的化合物还会出现不同程度的交叉反应; 蛋白组学和分子生物学技术, 虽然能高通量、微型化和自动化, 但检测成本昂贵, 目前还难以普遍应用于临床; 而化学发光免疫法是利用化学发光物质经催化氧化形成一个处于激发态的中间体, 当该中间体重新回归至稳定的基态水平时, 可同时发射出光子, 使用发光信号测量仪器, 对产生的光量子数量进行测定, 即可检测出目标检测物质的真实含量。此方法具有灵敏、特异、快速、无放射性危害等优点, 得到不断发展^[7-8]。因此, 本文采用病例对照研究方法, 以组织病理学检查为金标准, 评价化学发光免疫法检测 5 种肿瘤生物标志物, 用于肿瘤诊断的应用价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2019 年 8 月—2020 年 8 月福建省立金山医院收治的原发性恶性肿瘤患者作为观察组, 同时选取同期在该院接受体检的健康志愿者作为对照组。本文涉及的相关实验研究, 经过该单位医学伦理学委员会审核批准, 需要入选的病例和健康志愿

者,均获得知情同意。纳入标准:①观察组,经过临床诊断、影像学检查和组织病理学等相关检查确诊为原发性恶性肿瘤患者;入院时维持清醒意识,自愿签署知情同意书;依从性好,能够有效调整自身情绪,听从医护人员指引并全程配合。②对照组,为在本院接受体检、排除恶性肿瘤、愿意参与本地研究、自愿签署知情同意书的健康志愿者。排除标准:①临床或影像学疑似,但通过组织病理学检查排除恶性肿瘤的患者;②合并重症心脑血管疾病,受外力作用导致机体出现损伤的患者;③情绪控制不佳,无法有效配合采样检测者;④对本研究不予认同者。

1.2 方法

1.2.1 样本及资料收集 无菌管采取试验参与者清晨空腹静脉血液 3~5 ml,3 000 转/min 离心,取血清,备用。收集纳入试验者的一般流行病学和临床学资料,影像学检查和组织病理学检查结果。

1.2.2 肿瘤标志物检测 采用化学发光免疫检测技术,罗氏 cobas 8000 全自动化学发光免疫分析仪,使用罗氏公司提供的原装配套试剂、质控品和定标液,标准化操作技术,检验并统计两组受检者血清标本中的五种肿瘤生物标志物指标水平,分别为 CEA、AFP、CA-199、CA-125 和 CA-153。

1.2.3 结果判断 根据罗氏公司提供的试剂检测说明书,检测值大于参考范围判定为阳性。分别统计五种肿瘤生物标志物的阳性检出率和五种肿瘤生物标志物在不同恶性肿瘤中的阳性检出率,见表 1。

表 1 五种肿瘤生物标志物参考值范围

标志物	参考值范围
CEA(ng/ml)	0~5
AFP(ng/ml)	0~7
CA-199(U/ml)	0~27
CA-125(U/ml)	0~35
CA-153(U/ml)	0~25

1.3 统计学分析 本研究产生的所有数据均纳入 SPSS 23.0 统计学软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以例数(%)表示,采用 χ^2 检验;当 $P<0.05$ 时,结果差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本情况 研究共纳入被观察者数量为 100 例,原发性恶性肿瘤患者作为观察组和健康者作为对照组,各 50 例。其中观察组男女各 25 例,年龄 33~58 岁,平均(47.24±4.62)岁;对照组男性 26 例,女性 24 例,年龄 32~59 岁,平均(47.14±4.50)岁。两

组人群年龄及性别的分布差异均无统计学意义($t_{\text{年龄}}=0.627, \chi^2_{\text{性别}}=0.04$,均 $P>0.05$)。

2.2 两组受检者的五种肿瘤标志物水平分析 观察组的五种肿瘤标志物均明显超过正常值,对照组健康人群仅在 AFP 指标中检测出 1 例阳性,检测值为 12.11 ng/ml,其余指标均处于正常范围。观察组五种肿瘤标志物水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组受检者静脉血中五种肿瘤标志物水平比较

标志物	观察组($\bar{x}\pm s$)	对照组($\bar{x}\pm s$)	t 值	P 值
CEA(ng/ml)	78.52±76.11	2.46±0.94	7.042	<0.001
AFP(ng/ml)	143.83±157.47	3.27±1.77	6.291	<0.001
CA-199(U/ml)	82.50±74.92	15.64±6.11	6.411	<0.001
CA-125(U/ml)	92.64±117.39	19.55±8.84	4.350	<0.001
CA-153(U/ml)	55.95±45.70	14.21±6.11	6.448	<0.001

2.3 两组受检者的五种肿瘤标志物阳性检出率分析 观察组患者 CEA、AFP、CA-199、CA-125 和 CA-153 五种肿瘤标志物阳性检出率分别为 66.00%、68.00%、64.00%、50.00%和 54.00%;对照组健康人群仅在 AFP 指标中检测出 1 例阳性,检出率为 2.00%。观察组五种肿瘤标志物阳性检出率高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 两组受检者静脉血中五种肿瘤标志物检测结果比较($n, \%$)

标志物	观察组	对照组	χ^2 值	P 值
CEA	33(66.00)	0(0.00)	49.254	<0.001
AFP	34(68.00)	1(2.00)	47.868	<0.001
CA-199	32(64.00)	0(0.00)	47.059	<0.001
CA-125	25(50.00)	0(0.00)	33.333	<0.001
CA-153	27(54.00)	0(0.00)	36.986	<0.001

2.4 五种肿瘤生物标志物在不同恶性肿瘤中的阳性检出率分析 五种肿瘤生物标志物在不同恶性肿瘤中均有检出,其中,最特异的标志物,肠癌为 CEA;肝癌为 AFP,乳腺癌为 CA-153;卵巢癌为 CA-125,见表 4。

表 4 五种肿瘤生物标志物在不同恶性肿瘤中的阳性检出情况

恶性肿瘤	例数	CEA(%)	AFP(%)	CA-199(%)	CA-125(%)	CA-153(%)
肠癌	15	15(100.00)	8(53.33)	12(80.00)	6(40.00)	2(13.33)
肝癌	15	9(60.00)	15(100.00)	10(66.67)	4(26.67)	10(66.67)
乳腺癌	8	5(62.50)	2(25.00)	4(50.00)	4(50.00)	8(100.00)
卵巢癌	8	2(25.00)	6(75.00)	3(37.50)	8(100.00)	5(62.50)
其他	4	2(50.00)	3(75.00)	3(75.00)	3(75.00)	2(50.00)
合计	50	33(66.00)	34(68.00)	32(64.0)	25(50.00)	27(54.00)

3 讨论

目前,恶性肿瘤检查方法较多,在选择诊断方法

时,不仅要考虑准确率,还需考虑操作的便捷性和无创性。病理检查通常是诊断恶性肿瘤的“金标准”,然而这一方法属于有创性检查,会给患者造成一定痛苦,且部分患者在取材时有一定难度。影像学检查可显示部分肿瘤病灶,但价格较高,受分辨率影响大,在微小病灶诊断中存在困难,且特异性不佳。肿瘤标志物属于无创性检查方法之一,与影像学检查相比,血清肿瘤标志物异常在癌症中出现的时间更早,且更便宜、操作方便,能够重复操作^[9],并具有良好的特异性。

肿瘤生物标志物一般指存在于恶性肿瘤细胞之中或由恶性肿瘤细胞异常产生的物质。通常而言,肿瘤标志物在人体内的剂量远远超过正常水平时,便提示机体已经出现恶性肿瘤。例如 AFP 是目前临床应用最广泛的肝癌早期筛查及监测标志物,其诊断敏感度为 0.600~0.700^[10];CA153 水平升高能够准确预示 80%以上的乳腺转移癌^[11]。CEA 是在癌、胚胎组织内存在的高分子糖蛋白,属于非器官特异性肿瘤相关抗原,在人体内的最大正常值为 5 ng/ml,除结直肠癌外的多种恶性肿瘤(约 55%胰腺癌、50%胃癌、45%肺癌、40%乳腺癌、40%尿道癌、25%卵巢癌)患者血清 CEA 水平呈现不同程度的升高^[12-13]。

目前,已知的肿瘤生物标志物较多,如果围绕单一标志物进行检测,由于敏感性和特异性均处于较低水平,无法及时且准确地检出^[14]。因此,现代医学理论和临床实践检验均认为一次性围绕多个肿瘤生物标志物进行检测,可有效提高敏感性和特异性,进而及时确定患者机体内的该类物质含量是否异常增多。需要注意的是,肿瘤生物标志物不可单独作为肿瘤疾病是否确诊的唯一根据,必须结合患者症状及影像学,组织病理学检测结果,进行综合判断。

化学发光免疫技术具有高度敏感性和高度特异性^[15],是公认的快速、精确、重复性好且安全无毒的方法。其用于检测多种肿瘤生物标志物、抗原、半抗原、抗体、激素、酶、脂肪酸、维生素和药物时,能够得出较为准确的结果。与常规的放射免疫分析法相比,化学发光免疫分析法具备其所有优势的同时,不会受放射性防护及同位素污染问题的影响,且试剂价格成本较低,可在基层医疗机构普及。

本研究采用化学发光免疫法对五种肿瘤生物标志物进行了检测,结果显示,以组织病理学检查为金标准,观察组患者五种肿瘤标志物阳性检出率分别为 66.00%、68.00%、64.00%、50.00%和 54.00%,对照组仅在 AFP 检测出 1 例阳性。由于肿瘤是单一变异细胞多次克隆结果,细胞生物学特性呈现多态性和复杂

性,表现为肿瘤细胞表型差异、病理类型差异、异质性等,故同一种肿瘤可含有一种或多种标志物,不同肿瘤或同种肿瘤不同组织类型可有不同肿瘤标志物,亦可有共同肿瘤标志物^[16]。本次研究的五种肿瘤生物标志物在不同恶性肿瘤中均有检出,其中最特异的标志物,肠癌为 CEA,肝癌为 AFP,乳腺癌为 CA153 和卵巢癌为 CA125,阳性检出率均为 100%。对照组健康受检人群的五种肿瘤指标除 1 例 AFP 检测值为 12.11 ng/ml,轻度阳性外,其余均处于参考范围之内。根据 AFP 与小扁豆凝集素(lens culinaris agglutinin, LCA)的亲和力,可将 AFP 分为 AFP-L1、AFP-L2 和 AFP-L3。AFP-L1 常见于肝脏良性疾病,AFP-L2 常见于孕妇,AFP-L3 主要来源于肝癌细胞,也被称为甲胎蛋白异质体^[12]。日本肝病学会推荐将 AFP、AFP-L3 和异常凝血酶原(des-gammacarboxyprothrombin, DCP)同时作为肝癌的筛查指标,建议高危人群每半年进行一次超声检查及 AFP/AFP-L3/DCP 检测,超高危人群及预后随访者每 3~4 个月进行一次 AFP/AFP-L3/DCP 检测及影像学检查^[17],因此建议此受检者进一步检测 AFP-L3/DCP。

综上,观察组肿瘤患者的五种指标均有处于异常状态项目,明显超过正常值,结合病理及其他检测结果,均确诊为早期癌症。由此可见,化学发光免疫法应用于肿瘤生物标志物检验具有较高准确度,可为临床肿瘤疾病的诊断提供有效的参考依据。

参考文献

- [1] Smith RA, Manassaram-Bapliste D, Brooks DT, et al. Cancer screening in the United States. A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 30-51.
- [2] 张颖聪. 肿瘤标志物检测方法研究进展[J]. 检验医学, 2018, 33(11): 1036-1042.
- [3] 李策, 聂彩辉, 张力君, 等. 肿瘤标志物的应用及其筛选技术研究进展[J]. 药学进展, 2014, 38(1): 1-13.
- [4] Gerdtsen AS, Wingren C, Persson H, et al. Plasma protein profiling in a stage defined pancreatic cancer cohort - implications for early diagnosis[J]. Mol Oncol, 2016, 10(8): 1305-1316.
- [5] Wang WJ, Tao Z, Gu W, et al. Clinical observations on the association between diagnosis of lung cancer and serum tumor markers in combination[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(40): 4369-4371.
- [6] Jansen N, Coy JF. Diagnostic use of epitope detection in monocytes blood test for early detection of colon cancer metastasis[J]. Future Oncol, 2013, 9(4): 605-609.
- [7] Chang Y, Xu J, Zhang Q. Microplate magnetic chemiluminescence immunoassay for detecting urinary survivin in bladder cancer[J]. Oncol Lett, 2017, 14(4): 4043-4052.
- [8] Nakagawa M, Karashima T, Kamada M, et al. Development of a fully automated chemiluminescence immunoassay for urine monomeric laminin-γ2 as a promising diagnostic tool of non-muscle invasive bladder cancer[J]. Biomark Res, 2017, 5: 29.
- [9] 焦鑫, 何思春, 万绍恒, 等. 肿瘤标志物在肺癌诊断、预后预测中的临床价值[J]. 中国老年学杂志, 2019, 2(39): 811-814.