

· 论著摘要 ·

C-12 多种肿瘤标志物蛋白芯片对食管癌转移及预后的研究

冯笑山, 单探幽, 高社干, 曲智峰, 王战会, 张洛, 韩晶

关键词: 肿瘤标志物; 蛋白芯片; 食管癌; 转移; 预后

中图分类号: R735.1 文献标识码: D

文章编号: 1000-8578(2007)09-0730-02

0 引言

肿瘤标志物 (Tumor marker, TM) 是指在恶性肿瘤的发生和增殖过程中, 由肿瘤细胞的基因表达而合成分泌的或是由机体对肿瘤反应而异常产生或升高的, 反映肿瘤存在和生长的一类物质^[1]。多种 TM 蛋白芯片 (C-12 系统) 技术是基于双抗体夹心法的化学发光检验技术, 对 TM 进行定量检测^[2]。食管癌患者病情变化及预后的评估目前尚缺乏明确的指标。我们对 113 例食管癌患者进行了检测, 并对其预后进行了随访, 现将其报道如下:

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集 2003 年 4 月~2004 年 6 月河南科技大学第一附属医院 113 例食管鳞癌患者血清。平均年龄 63.7 岁, 年龄范围 38~87 岁。男 88 例, 女 25 例。其中淋巴结转移和 (或) 脏器转移 40 例, 无转移 73 例。随访 2 年, 32 例死亡, 73 例存活, 失访 8 例。

1.2 仪器和试剂

仪器为上海数康生物科技有限公司生产的 HD-2001A 型生物芯片检测仪, 试剂为其生产的 C-12 肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒。

1.3 检测方法

采集患者空腹不抗凝静脉血 2 ml, 分离血清, 取待检血清或倍比稀释的标准品各 100 μl, 滴加到芯片分格内, 37 孵育振荡 30 min, 弃去液体; 用洗涤液洗涤芯片, 37 振荡洗涤 8 min, 共 4 次; 加反应液 100 μl, 37 孵育振荡 30 min, 弃去液体; 洗涤液洗涤芯片 4 次; 在每个芯

表 1 转移组和未转移组 TM 单项表达情况 (例)

TM	CA19-9	NSE	CEA	CA242	Fer	-HCG	AFP	f-PSA	PSA	CA125	HCG	CA15-3
转移	5	1	12	0	7	5	0	5	7	9	2	3
未转移	1	0	2	0	1	1	0	0	1	1	0	0

片膜表面加检测液 A 和 B 混合液 20 μl, 静置 1 min; 用 HD-2001A 生物芯片检测仪对蛋白芯片成像、读取数据、作标准曲线、分析打印结果。

1.4 结果判读

各项目正常参考值为: CA19-9 < 35 U/ml, NSE < 13 ng/ml, CEA < 5 ng/ml, CA242 < 20 U/ml, Fer < 219 ng/ml, -HCG < 3 ng/ml, AFP < 20 ng/ml, f-PSA < 1 ng/ml, PSA < 5 ng/ml, CA125 < 35 U/ml, HCG < 75 ng/ml, CA15-3 < 35 U/ml。检测数值高于正常参考值为阳性。

1.5 统计学处理

统计软件采用 SPSS11.0 版本, 组间阳性率比较用 ² 检验。

2 结果

2.1 113 例食管癌患者 TM 单项在转移组和未转移组的表达情况, 见表 1。

2.2 转移组 40 例中 25 例检测结果阳性, 阳性率为 62.5%; 未转移组 73 例患者中 5 例阳性, 阳性率为 6.9%。统计学处理, ² 检验结果显示转移组的阳性率明显高于未转移组 ($P < 0.001$)。

2.3 随访发现 30 例检测结果阳性患者中 14 例死亡, 失访 3 例, 死亡率为 51.9%; 83 例检测结果阴性患者中 18 例死亡, 失访 5 例, 死亡率为 23.1%, 见表 2, 统计学处理, ² 检验结果显示 $P =$

0.005 ($P < 0.01$), 差异具有统计学意义。

2.4 检测系统结果显示, 7 例患者血清 TM 3 项以上阳性, 随访两年死亡 6 例, 1 例患者病情危重, 正接受治疗, 死亡率为 85.7% (6/7)。

3 讨论

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之

表 2 TM 阳性组患者死亡率与阴性组患者死亡率比较

组别	病人总数 (例)	死亡人数 (例)	死亡率 (%)	失访人数 (例)
阳性组	30	14	51.9	3
阴性组	83	18	23.1	5

一, 对其临床分期及预后的正确判断是临床医师采取合理治疗方案的重要依据。自 20 世纪 60~70 年代发现甲胎蛋白 (AFP)、癌胚抗原 (CEA) 并在临床上得到应用以来, TM 检测已经成为常规的肿瘤检测手段之一, 为肿瘤的诊断和疗效观察起到一定的作用。目前肿瘤标记物的种类已达百余种, 但至今仍没有一种理想的标志物可用于临床上作为食管癌转移和预后判断的指标^[3]。单一标志物检测始终存在着特异性不强、阳性率较低等不足^[4]。C-12 系统为近年来发展起来的一项新技术, 具有高通量、高灵敏度、高特异性和微量化的优点^[5], 作为肿瘤诊断的一种方法广泛应用于临床, 与单一 TM 相比对肿瘤诊断的敏感性和特异度均明显提高。

本实验采用的 C-12 系统对 113 例食管癌患者进行转移及预后研究, 检测结果显示: 转移组的阳性率为 62.5%, 明显高于未转移组 6.9%。随访结果显示: 标志物阳性患者的 2 年死亡率为 51.9%, 明显高于标志物阴性患者 23.1%。提示 TM 联合检测在食管癌的转移及其预后的评估具有重要意义, 可以作为临床判断食管癌转移及预后评估

收稿日期: 2006-08-28; 修回日期: 2007-01-29

作者单位: 471003 河南洛阳, 河南科技大学第一附属医院肿瘤科

作者简介: 冯笑山 (1957-) 男, 博士, 教授, 主要从事消化道肿瘤的研究



上皮性卵巢癌中内皮抑素与血管内皮生长因子的表达

程 丽¹, 隋丽华¹, 刘梅梅², 李文辉³

关键词: 内皮抑素; 血管内皮生长因子; 卵巢肿瘤; 免疫组织化学

中图分类号: R737.31 文献标识码: D

文章编号: 1000-8578(2007)09-0731-02

0 引言

肿瘤侵袭和转移与肿瘤新生血管的生成密切相关。内皮抑素(Endostatin)是近期发现的血管生成抑制剂,它能选择性地抑制内皮细胞的增殖并可诱导其凋亡^[1]。血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前发现的最为关键的血管形成刺激因子,在实体瘤的发生发展中发挥着重要作用^[2],它能提高血管的通透性,引起血浆蛋白外渗,为新生血管提供必需的基质。本试验采用免疫组化方法对上皮性卵巢癌的 Endostatin 和 VEGF 蛋白的表达进行检测,旨在探讨两者在上皮性卵巢癌中的表达和意义。

1 资料与方法

1.1 标本来源

48 例标本取自哈尔滨医科大学附属第三医院 1995~1999 年卵巢癌肿瘤细胞减灭术手术切除标本,包括浆液性腺癌 30 例,粘液性腺癌 12 例,子宫内膜样癌 6 例。标本按国际妇产科联盟(IF-

GO)分期,Ⅰ期 18 例,Ⅱ期 30 例。标本按组织学分级分为 G1 11 例, G2 21 例, G3 16 例。所有患者术前均未接受化疗和(或)放疗。另取 18 例良性卵巢瘤组织和 18 例正常卵巢组织标本作为对照,所有标本均经 100 ml/L 中性甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm 厚连续切片。

1.2 免疫组化染色(SP法)

兔抗人 Endostatin 多克隆抗体为美国 Neomarkers 公司产品,鼠抗人 VEGF 单克隆抗体购自北京晶美生物技术开发公司。SP 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。用已知阳性标本切片和磷酸盐缓冲液分别作阳、阴性对照,DAB 显色,苏木精对比染色,光镜观察。

1.3 判定标准

1.3.1 Endostatin 光镜下细胞胞浆显示为棕色,判断标准以高倍镜下随机选择 5 个视野中平均阳性细胞比例 ≥ 50% 为高表达, < 50% 为低表达。

1.3.2 VEGF 阳性细胞胞浆显示为棕黄色,也有的病例细胞膜同时表达。

判断标准以高倍镜下随机选择 5 个视野中平均阳性细胞数所占比例计,阳性细胞比例 ≥ 10% 为阳性表达, < 10% 为阴性表达。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件包处理数据;率的检验采用 χ^2 检验;预后分析采用多因素 COX 比例风险模型以及单因素分析。

2 结果

2.1 各类卵巢组织中 Endostatin 和 VEGF 表达的比较

恶性肿瘤内的 Endostatin 高表达率明显高于良性肿瘤和正常卵巢,差异有统计学意义($\chi^2 = 25.42, P < 0.01$)。VEGF 在恶性肿瘤中的表达率明显高于良性肿瘤及正常卵巢,相比较差异有统计学意义($\chi^2 = 40.49, P < 0.01$)。良性与正常组织 Endostatin 的高表达率和 VEGF 的阳性表达率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 Endostatin 和 VEGF 在卵巢上皮性癌中的表达及其与临床病理的关系 见表 2。

2.3 各临床、病理因素对卵巢恶性肿瘤预后的影响

COX 模型结果显示,在各因素中,仅临床分期与患者的总生存期密切相关,是一项独立的预后因素($P = 0.022$),相关系数为 0.959,晚期卵巢癌患者(Ⅲ、Ⅳ期)的预后差,而 Endostatin 高表达以及 VEGF 阳性表达与预后无关($P = 0.91, P = 0.68$)。从相关系数来看 Endostatin($r = 0.212$)和 VEGF($r = 0.198$)蛋白的表达对生存时间的影响均无显著性。

收稿日期:2006-07-24;修回日期:2007-01-22

基金项目:黑龙江省科技厅重大攻关项目(20060619)

作者单位:1. 150040 哈尔滨医科大学附属第三医院妇科;2. 哈尔滨医科大学附属第二医院妇产科;3. 检验科

作者简介:程丽(1976-),女,博士,主治医师,主要从事卵巢癌诊治的研究

的方法。可以为临床医师不同阶段肿瘤患者治疗方案的选择及预后的判定提供线索。并且 TM 阳性的数目与患者的预后密切相关,阳性数目越多死亡率越高,三项以上 TM 阳性患者的两年死亡率高达 85.7%。

本研究还发现食管癌患者未转移组患者(大部分为临床分期较早的 I、II 期患者)的阳性率为 6.9%,初步证实了 C-12 系统对早期食管癌的敏感性很低,不

能作为食管癌早期诊断的指标。

参考文献:

- [1] 陈燕. 肿瘤标志物临床应用原则[J]. 医学检验与临床, 2006, 7(1): 1-3.
- [2] 杨琴, 于本章, 许静. 多肿瘤标志物蛋白芯片技术临床应用价值探讨[J]. 上海预防医学杂志, 2005, 17(6): 282.
- [3] 沈华, 杨霞, 付佩芬. 多种肿瘤标志物联合检测在食管癌早期诊断中的价值[J]. 医学临床研究, 2005, 22(2):

186-188.

- [4] Kayaba H. Tumor markers: essential diagnostic tools for radiologists [J]. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi, 2003, 63(4): 133-139.
- [5] Eggeling F, Davies H, Lomas L, et al. Tissue-specific microdissection coupled with proteinchip array technologies: applications in cancer research [J]. Biotechniques, 2000, 29(5): 1066-1070.

[编辑:刘红武;校对:杨 卉]