

· 临床研究 ·

血清多肿瘤标志物胃癌诊断判别方程的建立及其临床意义

余国行¹, 卿毅², 顾咸庆², 廖玲², 杨宇馨², 王东^{2Δ}

(1. 北京军区天津疗养院肝胆肿瘤科, 天津 300381; 2. 第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心, 重庆 400042)

摘要:目的 建立多肿瘤标志物 C12 检测系统诊断胃癌的判别方程以提高多肿瘤标志物 C12 检测系统诊断胃癌的准确率。方法 对 135 例初治胃癌患者、212 例胃部良性疾病患者及 6 741 名健康体检者的 12 种常见肿瘤标志物检测结果及临床资料进行回顾性分析, 通过 SPSS18.0 统计软件采用 Fisher 二分类判别分析建立判别诊断方程, 比较 12 种肿瘤标志物和判别诊断函数对肿瘤诊断的准确率差异。结果 成功建立胃癌诊断判别方程, 诊断正确率总体为 95.0%, 在正常组为 96.1%, 在胃癌组为 43.7%, 较 12 种肿瘤标志物单项检测均明显提高 ($P < 0.05$)。结论 用 C12 多肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统判别方程可提高胃癌诊断的准确率, 具有较高灵敏度和特异度, 优于单项肿瘤标志物检测, 具有一定的临床参考价值。

关键词: 胃肿瘤; 诊断; 多肿瘤标志物

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.03.015

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)03-0249-03

The establishment and clinical significance of discriminant equation for diagnosis of gastric cancer according to serum multiple tumor markers

Yu Guohang¹, Qing Yi², Gu Xianqing², Liao Ling², Yang Yuxin², Wang Dong^{2Δ}

(1. Hepatobiliary and Tumor Department, Tianjing Sanatorium of PLA, Beijing Military Area, Tianjin 300381, China; 2. Cancer Center, Daping Hospital and Surgery Research Institute, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To establish the discriminant equation for diagnosis of gastric cancer according to serum multiple tumor markers, that were detected by C-12 multiple tumor markers protein chip detection system, and raise the diagnostic accuracy of gastric cancer. Methods Link the tumor markers detection results and the clinical information of 135 initial treatment patients of gastric cancer, 212 digestive system benign disease patients and 6741 health examinations by retrospective study. To adopt to Fisher discriminatory analysis, the discriminant equation for diagnosis of gastric cancer was established by SPSS18.0, and analyzed the difference of diagnostic accuracy of gastric cancer. Results The discriminant equation for diagnosis of gastric cancer was established successfully. The total diagnostic accuracy was 95.0% (the healthy population control group: 96.1%; gastric cancer group: 43.7%), and it was raised significantly compare to single tumor marker. Conclusion The discriminant equation for diagnosis of gastric cancer can increase the diagnostic accuracy, which is significantly better than the single serum tumor marker, and are helpful in clinic.

Key words: gastric neoplasms; diagnosis; multiple tumor marker

胃癌在全球范围内均是最常见的恶性肿瘤之一。据统计, 全球胃癌年发病率为 13.86/10 万, 仅次于肺癌居第 2 位。中国是胃癌的高发区, 虽近年来发病率有下降趋势, 但每年仍有约 40 万新发胃癌患者, 占世界胃癌患者的 42%, 而且死亡率高。中国胃癌患者调整死亡率分别为男性 30.1/10 万、女性 13.8/10 万, 同时存在明显的地区和城乡差异, 城市 19.4/10 万、农村 27.2/10 万, 农村是城市的 1.4 倍^[1]。根据上海市 2002~2004 年统计数据, 胃癌粗死亡率男性为 52.24/10 万, 居恶性肿瘤的第 2 位, 女性为 29.26/10 万, 居恶性肿瘤的第 3 位^[2]。胃癌死亡率水平与治疗效果有明显关系。目前, 胃癌治疗效果关键在于早期发现和合理规范的治疗。肿瘤血清学标志物蛋白芯片检测是一种高通量的、高灵敏度的临床肿瘤检测手段, 有助于肿瘤的早期诊断和多种肿瘤的鉴别诊断^[3-4]。本研究在前期工作的基础上^[5-6], 增加样本例数, 对本院肿瘤中心 2004 年 2 月至 2011 年 6 月所检测的初治胃癌和胃部良性疾病患者及健康体检人群的蛋白芯片检测结果进行回顾性分析, 根据 C12 检测系统血清多肿瘤标志物联合检测建立胃癌的诊断判别方程并进行优化改进以提高其诊断准确率, 取得较高的灵敏度和特异度。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 胃癌组 为本院 2004 年 2 月至 2011 年 6 月住院的初治胃癌患者 135 例, 其中男 83 例, 女 52 例; 年龄 19~93 岁, 平均 59 岁。所有患者均经组织学或细胞学检查确诊。

1.1.2 胃部良性病变组 为本院 2004 年 2 月至 2011 年 6 月住院的胃部良性疾病患者 212 例, 其中男 127 例, 女 85 例; 年龄 27~93 岁, 平均 54 岁。其中急性胃炎 52 例, 慢性胃炎 90 例, 胃溃疡 55 例, 胃息肉 12 例, 胃食管反流 1 例, 胃平滑肌瘤 2 例。

1.1.3 健康体检组 为 2004 年 2 月至 2011 年 6 月在本院的健康体检者 6 741 名, 其中男 4 453 名, 女 2 288 名; 年龄 18~94 岁, 平均 51 岁。无重要心、肝、肺、肾等脏器疾病。

1.2 检测方法

1.2.1 血清标本收集与检测 血清标本均为患者或体检者未经任何治疗前应用无热源、无内毒素试管抽取的 2 mL 空腹外周静脉血离心后收集。血清标本置 4℃ 冰箱保存, 在 3 d 内检测, 测试前平衡至室温。标本检测严格按蛋白芯片检测仪说明书操作。

1.2.2 仪器和试剂 由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)和 HD22001A 生物芯片检测仪检测。

1.2.3 评价方法和标准 本研究所检测的 12 种肿瘤标志物及其正常参考值范围:糖类抗原 199(CA199) <35 U/mL、神经元特异性烯醇化酶(NSE) <13 ng/mL、癌胚抗原(CEA) <5 ng/mL、糖类抗原 242(CA242) <20 U/mL、糖类抗原 125(CA125) <35 U/mL、糖类抗原 153(CA153) <35 U/mL、甲胎蛋白(AFP) <20 ng/mL、铁蛋白(ferritin) <219 ng/mL(女)、 <322 ng/mL(男)、游离型前列腺特异性抗原(f-PSA) <1 ng/mL、前列腺特异性抗原(PSA) <5 ng/mL、生长激素(HGH) <7.5 ng/mL 及绒毛膜促性腺激素(β -HCG) <3.00 ng/mL 等,超过临界值为阳性,在正常参考值范围内者为阴性。

1.3 统计学处理 使用软件 SPSS18.0 软件包进行统计分析。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。胃癌诊断判别方程采用 SPSS 软件 Fisher 二分类线性判别分析建立。合并胃良性病变组和健康体检组为正常组,以提高判别方程的诊断和分类效能。方程建立采取逐步回归方法纳入影响因素,因胃癌组患者人数较少采用交互式验证。

2 结果

2.1 各项肿瘤标志物阳性率组间比较统计学分析 胃癌组 135 例、胃部良性病变组 212 例及健康体检组 6 741 名血清肿瘤标志物检测各指标单项阳性率(表 1)。结果显示胃癌组与胃部良性病变组及健康体检组阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤标志物从高到低依次为 CA199(25.19%)、CA242(24.44%)、CEA(23.70%)、CA125(20.74%) 和 AFP(8.89%)。

表 1 3 组中 12 项肿瘤标志物阳性率 [% (n)]

项目	胃癌组 (n=135)	胃部良性病变组 (n=212)	健康体检组 (n=6 741)
CA199	25.19(34)*#	8.96(19)	1.19(80)
NSE	1.48(2)#	0.94(2)	0.04(3)
CEA	23.70(32)*#	7.55(16)	1.13(76)
CA242	24.44(33)*#	4.72(10)	0.74(50)
CA125	20.74(28)*#	4.72(10)	1.10(74)
CA153	2.96(4)	1.42(3)	1.39(94)
AFP	8.89(12)*#	1.89(4)	0.55(37)
ferritin	5.19(7)#	5.19(11)	0.33(22)
F-PSA	3.70(5)	3.77(8)	1.74(117)
PSA	2.22(3)	1.89(4)	1.11(75)
HGH	5.93(8)#	1.89(4)	0.10(7)
β -HCG	3.70(5)#	0.94(2)	0.47(32)

*: $P<0.05$,与胃良性病变组比较;#: $P<0.05$,与健康体检组比较。

2.2 肿瘤标志物联合检测平行试验阳性率 单项阳性率较高的前 5 种肿瘤标志物不同组合方式平行试验的阳性率见表 2。单项指标检测首选 CA199(阳性率 25.19%),2 项指标联合检测首选 CA199+CEA(阳性率 36.30%),3 项指标联合检测首选 CA242+CEA+CA125(阳性率 40.74%),4 项指标联合检测首选 CA199+CA242+CEA+CA125(阳性率 41.48%),5 项指标联合检测阳性率最高 42.96%。与单项指标检测阳性率最高的 CA199 相比联合检测均能提高其阳性率,部分 3 项联合及全部 4 项和 5 项联合检测平行试验能显著提高胃癌诊

断的灵敏度($P<0.05$)。

表 2 几项重要指标联合检测平行试验阳性率 [% (n)]

肿瘤标志物	阳性率
CA199+CA242	27.41(37)
CA199+CEA	36.30(49)
CA199+CA125	31.85(43)
CA199+AFP	29.63(40)
CA242+CEA	33.33(45)
CA242+CA125	32.59(44)
CA242+AFP	28.15(38)
CEA+CA125	33.33(45)
CEA+AFP	27.41(37)
CA125+AFP	25.19(34)
CA199+CA242+CEA	36.30(49)
CA199+CA242+CA125	34.07(46)
CA199+CA242+AFP	31.11(42)
CA242+CEA+CA125	40.74(55)*
CA242+CEA+AFP	37.78(51)*
CEA+CA125+AFP	35.56(48)
CA199+CA242+CEA+CA125	41.48(56)*
CA199+CA242+CEA+AFP	39.26(53)*
CA242+CEA+CA125+AFP	40.74(55)*
CA199+CA242+CEA+CA125+AFP	42.96(58)*

*: $P<0.05$,与单项指标 CA199 比较。

2.3 胃癌诊断判别方程的建立及判别效果评价 诊断判别函数方程,胃癌组: $Y_{\text{肿瘤}} = -17.362 + 0.437X_1 + 5.959X_2 + 4.126X_3 + 7.164X_4 + 3.368X_5 + 6.717X_6 - 6.098X_7 + 8.910X_8 + 24.546X_9 - 1.549X_{10}$ 。正常组: $Y_{\text{正常}} = -9.186 + 0.365X_1 - 0.628X_2 - 2.242X_3 + 0.366X_4 - 3.456X_5 + 1.237X_6 - 4.146X_7 + 0.645X_8 + 4.630X_9 + 0.741X_{10}$ 。其中 X_1 为年龄, X_2 为 CA199, X_3 为 CEA, X_4 为 CA242, X_5 为 Fer, X_6 为 AFP, X_7 为 PSA, X_8 为 CA125, X_9 为 HGH, X_{10} 为 CA153。判定标准: $Y_{\text{正常}} > Y_{\text{肿瘤}}$,则判定为正常; $Y_{\text{肿瘤}} > Y_{\text{正常}}$,则判定为肿瘤。判别函数的诊断正确率在正常组为 96.1%,在胃癌组为 43.7%,总正确率为 95.0%,与各单项指标比较,能显著提高胃癌诊断准确率($P<0.01$),与部分 3 项联合及全部 4 项和 5 项联合检测平行试验比较胃癌检出率稍有增加,差异无统计学意义($P>0.05$),但对健康人错判率明显减少($P<0.05$)。

3 讨论

肿瘤标志物是指肿瘤细胞合成、分泌、脱落到体液或组织中的生物活性物质,这些物质达到一定的水平就能揭示某种肿瘤的存在。由于肿瘤组织浸润正常组织,引起机体免疫功能和代谢异常,产生的一些生物活性物质,与肿瘤发生和发展相关,也称为肿瘤标志物,但这类物质特异性较低,多用于肿瘤的监测^[7]。早期诊断理想肿瘤标志物应该是存在于体液特别是血液中便于检测且敏感性和特异性均高的物质,这一直是研究的热点,但目前尚未发现符合上述要求检测方便且完全特异的肿瘤标志物。一种肿瘤可有一种或多种肿瘤标志物,合理选择某些肿瘤标志物并组合检测可提高诊断特异性或敏感性^[8-9]。目

前,胃癌治疗效果关键在于早期发现和合理规范的治疗,因此,在寻找和发现新的合适肿瘤标志物同时,还应将现有肿瘤标志物加以合理选择与应用以达到筛选和早期诊断的目的。这也是目前和今后一段时间内的研究方向之一。

蛋白芯片技术是近年来蛋白质组学研究中产生的新方法,它具有高通量、高敏感度的特点,大大提高了工作效率。这对肿瘤标志物进行组合检测提供了技术手段。本研究采用中国开发的多肿瘤标志物 C12 蛋白芯片检测系统,检测每个标本仅需要 100 μ L 血清,可同时检测 CA199、CEA、CA125、CA242、CA153、Fer、AFP、HCG、f-PSA、PSA、HGH、NSE 等 12 种肿瘤标志物。本研究结果表明胃癌患者血清中单项肿瘤标志物检出阳性率显著高于正常健康体检者及胃部良性疾病患者,与 C12 蛋白芯片检测系统开发者的研究结果相似 CA19-9 (21.59%)、CA242 (25.00%)、CEA (20.45%)、CA125 (25.00%)、AFP (10.23%)^[8],与陈创等^[9]的研究结果 CA199 (23%)、CA242 (22%)、CEA (14%)、CA125 (7%)、AFP (4%) 也基本一致。联合检测平行试验较单项指标能显著提高阳性检出率,可减少对胃癌的漏诊,对诊断具有一定的临床价值。目前,研究报告的总体阳性率差异显著,在 35.90%~77.78%^[9-10]。本研究联合检测平行试验最高阳性率为 42.96%。陈创等^[9]分析了不同临床分期患者阳性检出率,分别为:Ⅰ期 7.8%、Ⅱ期 29.4%、Ⅲ期 35.5%、Ⅳ期 50.0%。杨雪琴等^[10]也研究了阳性检出率与临床分期的关系,其研究总体诊断率为 35.90%,Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期患者的诊断率分别是 15.00%、25.00%、36.00% 和 47.72%。陈创等^[9]和杨雪琴等^[10]因此认为 C12 诊断系统对胃癌患者总体诊断率各家报道不一致的原因与入选病例各期比例不同有关。

通过对多肿瘤标志物 C12 蛋白芯片检测系统单项肿瘤标志物与胃癌的关系分析,并不是每一项指标都对胃癌的诊断具有显著意义,而单纯联合各种阳性指标平行试验虽然能够显著提高诊断灵敏度,但同时也降低了特异度。判别方程依据每一个指标对诊断的相关性而分配相应的权重,既充分考虑检测指标的全面性,又避免了由于简单联合阳性指标造成的特异度降低^[11],因此比单纯联合阳性指标检测有更高的正确率。本研究通过 Fisher 二分类判别分析 C12 系统多肿瘤标志物联合目前认为与胃癌发生有关的性别和年龄因素采用逐步回归方法建立诊断判别方程,诊断正确率在正常组为 96.1%,在胃癌组为 43.7%,总正确率为 95.0%,与各单项指标对比,能显著提高胃癌诊断准确率,与普通联合检测比较能减少对正常人的错判率,与仲召阳等^[6]所建立的诊断判别函数相比,大大提高了对胃癌的诊断准确率(43.7% vs 20.69%),与卿毅等^[5]建立的诊断判别函数相比,胃癌诊断正确率下降(43.7% vs 73.7%),但对健康人的错判率也明显下降(5.0% vs 15.0%)。另外,卿毅等的研究中胃癌患者未注明是否包含有大量术后或化疗后复发转移晚期胃癌患者。在本研究中为了探讨多肿瘤标志物 C12 蛋白芯片检测系统在胃癌诊断方面的价值,本文严格挑选研究对象,所有胃癌患者均在未做任何治疗前进行抽血检测。

目前,研究认为诊断胃癌灵敏性和特异性均较高的肿瘤标志物除 C12 系统中的部分肿瘤标志物外,还有 CA72-4 和 MG-Ag 等^[12-14]。今后可以在 C12 基础上联合检测 CA72-4 和 MG-Ag 等其他灵敏性和特异性均较高的肿瘤标志物,再对诊断判

别函数进行优化和改进,提高其判别准确率。另外,利用蛋白质组学理论和技术进一步寻找具有胃癌高度特异性且便于检测的新肿瘤标志物及其与现有标志物的最佳联合检测将是目前与今后研究肿瘤标志物诊断胃癌的方向之一^[15]。

参考文献:

- [1] 孙秀娣,牧人,周有尚,等. 中国胃癌死亡率 20 年变化情况分析及其发展趋势预测[J]. 中华肿瘤杂志,2004,26(1):4-9.
- [2] Wu CX, Zheng Y, Bao PP. Pattern of changing incidence of gastric cancer and its time trend in Shanghai[J]. J Sur Concepts Prat,2008,13(1):24-29.
- [3] Eggeling F, Davies H, Lomas L, et al. Tissue specific microdissection couple with proteinchip array technologies: applications in cancer research[J]. Biotechniques,2000,29(5):1066-1070.
- [4] Sreekumar A, Chinnaiyan AM. Using protein microarrays to study cancer[J]. Biotechniques,2002,23(1):46-53.
- [5] 卿毅,仲召阳,李增鹏,等. 血清多肿瘤标志物判别方程建立及其对胃癌诊断与分类的意义[J]. 重庆医学,2007,36(20):2046-2048.
- [6] 仲召阳,王东,李梦侠,等. 基于 Bayes 法的 C-12 蛋白芯片联合检测判别函数的建立及临床意义分析[J]. 解放军医学杂志,2009,34(1):34-37.
- [7] Rai AJ, Chan DW. Cancer proteomics: Serum diagnostic for tumor marker discovery[J]. Ann NY Acad Sci,2004,1022(3):286-294.
- [8] Sun ZH, Fu XL, 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(9):1159-1165.
- [9] 陈创,杨国梁,李雁,等. 肿瘤标志物在胃癌诊断和监测中的价值和改进策略(附 100 例报道)[J]. 医学新知杂志,2007,17(1):15-19.
- [10] 杨雪琴,陈创,候晋轩,等. 多肿瘤标志物 C12 检测系统在胃癌诊断中的价值分析[J]. 中国肿瘤临床,2008,35(4):184-188.
- [11] Darcy KM, Schilder RJ. Relevant molecular markers and targets[J]. Gynecol Oncol,2006,103(1):6-13.
- [12] 吴瑾,刘丹,吴华星,等. 血清 MG7-Ag 与 PG 联合检测对胃癌早期诊断的临床应用价值[J]. 现代肿瘤医学,2008,16(3):390-393.
- [13] 宋琳琳,刘培,姜相君. 血清胃癌相关抗原 MG7-Ag 的检测对胃癌的诊断价值[J]. 中国癌症杂志,2010,20(4):312-313.
- [14] 周琦,张琼,魏来. 联合检测 CA19-9、CEA、CA72-4、MG-Ag 对胃癌的诊断价值[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(25):2698-2701.
- [15] 夏吉荣,陈宏础. 蛋白质组学在肿瘤标志物研究中的应用[J]. 重庆医学,2005,34(12):1899-1901.