

· 论 著 ·

广西防城港地区壮族健康成年男性血清癌胚抗原参考区间调查*

林丽文¹, 李 山¹, 吕 慧¹, 黄 珊¹, 高 勇³, 谭爱花², 杨晓波⁴, 秦 雪^{1△}, 莫曾南²

(广西医科大学第一附属医院: 1. 临床医学实验部; 2. 泌尿外科, 南宁 530021;

广西医科大学: 3. 基因组与个性化医学研究中心; 4. 公共卫生学院, 南宁 530021)

摘 要:目的 建立广西防城港地区壮族健康成年男性血清癌胚抗原(CEA)的参考值范围。方法 采集广西防城港地区健康成年男性空腹血清, 使用罗氏 Cobas E601 型全自动电化学发光免疫分析系统测定血清 CEA 水平。结果 符合纳入标准并排除极端值后, 共纳入研究对象 282 例, 血清 CEA 浓度呈正偏态分布, 单侧 95% 置信区间为不大于 5.12 ng/mL(非参数法)或不大于 5.16 ng/mL(参数法)。血清 CEA 值与年龄和吸烟存在相关, 而与体质指数(BMI)和饮酒不相关。将研究对象按年龄或是否吸烟进行分层分别建立参考区间。结论 该研究结果与国外报道的血清 CEA 的 95% 置信区间不尽相同, 各地区实验室应该建立各自健康人群的参考值范围。

关键词:血清癌胚抗原; 成年男性; 参考区间

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.17.001

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)17-1673-02

Reference values for serum levels of carcinoembryonic antigen in Zhuang ethnic adult males from Fangchenggang area*

Lin Liwen¹, Li Shan¹, Lv Hui¹, Huang Shan¹, Gao Yong², Tan Aihua², Yang Xiaobo³, Qin Xue^{1△}, Mo Zengnan²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Urology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical

University, Nanning 530021, China; 3. Center for Personalized and Genomic Medicine;

4. School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract:Objective To establish the normal reference values for serum carcinoembryonic antigen(CEA) among the male Zhuang people of the Fangchenggang area in Guangxi. **Methods** Fasting serum samples were collected from adult males and the levels of serum CEA were detected by Roche Cobas E601 electrochemical immunoassay system. **Results** 282 subjects were selected in final analysis after screening and eliminating outlier. The distribution of serum CEA values was positively skewed and the one-side upper 95% reference values for serum CEA were ≤ 5.12 ng/mL(non-parametric method) or ≤ 5.16 ng/mL(parametric method). Age and smoking, but not BMI or drinking, were associated with serum CEA values. Therefore, age- or smoking-dependent reference values were established. **Conclusion** The reference values for serum CEA in current study are different from previous study. It is suggested that every region should establish respective normal reference values for healthy persons.

Key words: serum carcinoembryonic antigen; adult male; reference values

癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是首先从结肠癌患者的血清中发现的一种糖蛋白, 在健康胎儿 3~6 个月的血清中也可以检测到。在多种肿瘤, 特别是消化系统肿瘤患者的血清中可以检测到 CEA 水平的升高, 是临床上常用的广谱性肿瘤标志物。然而正确判断血清 CEA 水平是否升高必须依赖健康人参考区间的建立。意大利学者 Ceriotti 等^[1]认为正常参考区间需要定期进行更新, 尤其是当检测中或检测前处理发生改变的时候。美国临床实验室标准化研究所(Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI)亦指出每个实验室应该建立自己的参考区间^[2]。目前, 国内外很少有实验室做到这一点, 而只是简单的套用试剂说明书提供的参考区间或参照发达国家采用的参考值。本研究调查了广西防城港地区健康成年男性血清 CEA 水平, 并分析其与年龄、吸烟、饮酒的关系, 为该地区健康成年男性血清 CEA 参考区间的建立提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 9~12 月广西防城港地区 4 303 名成年健康男性参与调查, 均提供了知情同意书, 该研究获当地伦理委员会的批准。本研究选择南方壮族这样一个特定人群进行分析, 并按照 CLSI 的建议制定了纳入和排除标准^[2]。

纳入标准: (1)受检者及其父母均为壮族; (2)调查前一个月内身体健康。排除标准: (1)急、慢性消化系统疾病患者; (2)调查前 24 h 内饮酒者; (3)过去半个月服用过处方药; (4)过去半年内曾献血者。经过筛选, 共纳入 282 例健康男性进行下一步筛选。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 采集空腹静脉血液 10 mL, 2 h 内低温运送到广西医科大学第一附属医院, 1 500 g 离心 15~25 min, -80℃保存备用。

1.2.2 实验室检测 血清标本在室温下解冻, 并在 4 h 内完成检测。采用德国罗氏 COBAS 6000 system E601 (Elecys module)免疫分析仪及其配套试剂进行测定, 仪器检测范围 0.200~1 000 ng/mL。

1.2.3 质量控制 检测前对仪器调试和校正, 并应用 Elecys 低值和高值质控血清对每一批样本分析进行质量控制, 其批内变异系数(coefficient of variation, CV)值分别为 3.4% 和 4.8%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件包进行统计学分析。极端值的排除采用 Horn 等^[3]推荐的 Box-Cox 法。正态

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30945204); 广西财政教育资助基金资助项目(2009GJCJ150)。△ 通讯作者, Tel: 13977163919; E-mail: qinxue919@yahoo.com。

性检验采用单样本 Kolmogorov-Smirnov 法。单因素方差分析用来比较不同组别 CEA 值的差异。年龄、吸烟、体质质量指数 (body mass index, BMI) 和饮酒对血清 CEA 值的影响采用多元回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。参考区间的计算采用 95% 置信区间。

2 结 果

2.1 样本人群基本情况 此次调查共抽样 4 303 名, 年龄 17~88 岁, 经过实验室检查和体格检查, 按照纳入和排除标准筛选后, 最后纳入健康壮族男性 282 名, 年龄 22~69 岁, 平均 (37.9±9.9) 岁, 采用 Box-Cox 法未检测出极端值。

2.2 正态性检验 单样本 Kolmogorov-Smirnov 法检测结果显示血清 CEA 值呈正偏态分布 ($Z = 2.071, P < 10^{-5}$), 进行对数转换后符合正态分布 ($Z = 0.818, P = 0.515$)。

2.3 多元回归分析与参考区间的计算 多元回归分析结果显示血清 CEA 值与年龄和吸烟存在相关, 而与 BMI 和饮酒不相关 (表 1)。单因素方差分析结果也显示血清 CEA 值在吸烟和不吸烟组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而在饮酒与不饮酒组差异没有统计学意义 ($P = 0.984$)。Spearman 秩相关分析结果显示血清 CEA 值与年龄存在较弱的正相关 ($r_s = 0.139, P < 0.05$)。因此将研究对象按年龄分为两组: 20~44 岁、45~69 岁; 按是否吸烟分为吸烟和不吸烟组, 分别计算单侧 95% 置信区间 (表 2)。

表 1 282 例壮族健康成年男性血清 CEA 的多元回归分析

变量	标准化系数	t	P
年龄	0.177	2.848	0.005
BMI	-0.003	-0.053	0.958
吸烟	0.152	2.510	0.013
饮酒	0.002	0.027	0.979

表 2 不同组别血清 CEA 单侧 95% 置信区间 (ng/mL)

分组因素	组别	n	中位数	参考区间 (非参数法)	参考区间 (参数法*)
年龄		282	2.00	≤5.12	≤5.16
	20~44 岁	212	1.91	≤4.63	≤4.79
	45~69 岁	66	2.44	≤6.44	≤5.58
烟草	不吸烟	163	1.98	≤4.76	≤4.71
	吸烟	119	2.12	≤6.93	≤5.48

*: 参数法参考区间的计算是基于对数转换后的血清 CEA 值。

3 讨 论

CEA 广泛存在于内胚叶起源的消化系统中, 如大肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌, 也可存在于小细胞肺癌、乳腺癌、甲状腺髓样癌中。因此, 检测血清中 CEA 含量对上述癌症的诊断具有辅助价值。良性肿瘤、炎症和退行性疾病, 如结肠息肉、溃疡性结肠炎、胰腺炎和酒精性肝硬化患者血清 CEA 也有部分升高, 但远远低于恶性肿瘤。

由于血清 CEA 水平过低在临床上的意义不大, 因此, 本研究采用单侧 95% 置信区间进行计算, 共纳入广西防城港地区壮族健康成年男性 282 例, 并采用电化学发光法进行检测。血清 CEA 95% 置信区间不大于 5.12 ng/mL (非参数法) 或不大于 5.16 ng/mL (参数法), 这与国外报道的血清 CEA 的 95% 置信区间不尽相同。国外报道健康成人血清 CEA 参考区间研究人群来自北欧^[4]、科威特^[5-6]、美国^[7], 而 95% 置信区间最低的不大于 3.4 ng/mL, 最高的不大于 6.9 ng/mL。造成这种差

异的因素是多方面的, 检测方法、研究人群 (包括地域、民族、生活习惯等) 的不同可能导致了研究结果的不同。因此, 每个临床实验室应该根据所处地区的特殊性建立属于自己的正常参考值范围。

经过多元回归分析发现血清 CEA 值与年龄和吸烟存在较弱的相关, 而与 BMI 和饮酒不相关。吸烟能够导致血清 CEA 水平的升高已经得到许多学者的认可^[8-10], 而随着年龄的增加机体的许多生理指标都会发生改变, 患癌症的概率也会大大增加^[11-12]。因此有必要对血清 CEA 水平的参考区间进行分层分析, 按照是否吸烟分别建立参考区间已经广泛应用于临床, 而按年龄分层则还未被认可。挪威学者 Bjerner 等^[4]在研究中也发现血清 CEA 水平与年龄存在正相关, 本研究中以年龄 45 岁为分界点进行分组, 计算血清 CEA 参考区间, 但由于壮族人群人群血清样本较难收集, 45~60 岁年龄组例数未达到 CLSI 规定的 120 例, 该结果需要更多的样本例数来进行验证。

随着社会的不断发展, 人们的生活水平提高很快, 生活环境也在慢慢得发生变化, 外在环境的改变必然会在一定程度上引起内环境的变化, 因此参考值范围的亦需要定期地进行更新。本研究调查了广西防城港地区壮族健康成年男性血清 CEA 参考值水平, 并强调根据年龄分组建立参考区间, 为该地区血清 CEA 参考值范围的建立提供参考。

参考文献:

[1] Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward[J]. Ann Clin Biochem, 2009, 46(Pt 1): 8-17.

[2] Institute CALS. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline[M]. 3rd ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

[3] Horn PS, Feng L, Li Y, et al. Effect of outliers and non-healthy individuals on reference interval estimation[J]. Clin Chem, 2001, 47(12): 2137-2145.

[4] Bjerner J, Hogetveit A, Wold AK et al. Reference intervals for carcinoembryonic antigen(CEA), CA125, MUC1, Alfa-foeto-protein (AFP), neuron-specific enolase (NSE) and CA19.9 from the NORIP study[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2008, 68(8): 703-713.

[5] Behbehani AI, Mathew A, Farghaly M, et al. Reference levels of the tumor markers carcinoembryonic antigen, the carbohydrate antigens 19-9 and 72-4, and cytokeratin fragment 19 using the Elecsys Relecsys 1010 analyzer in a normal population in Kuwait. The importance of the determination of local reference levels[J]. Int J Biol Markers, 2002, 17(1): 67-70.

[6] al-Sayer H, al-Bader A, Hussein T, et al. A profile of tumor markers in the population of Kuwait[J]. Anticancer Res, 1999, 19(3B): 2369-2372.

[7] Kratz A, Ferraro M, Sluss PM, et al. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Laboratory reference values[J]. N Engl J Med, 2004, 351(15): 1548-1563.

[8] Sajid KM, Parveen R, Durr-e-Sabih, et al. Carcinoembryonic antigen (CEA) levels in hookah smokers, cigarette smokers and non-smokers[J]. J Pak (下转第 1677 页)

0.881 $\mu\text{mol/L}$ (图 2)。在外面向外式膜片下,BK_{Ca}的特异性阻断剂 IbTX(200 nmol)能明显抑制该电流(IbTX 作用于通道外口)。

2.3 Ca^{2+} 对BK_{Ca}的动力学调控 为研究 Ca^{2+} 对通道的动力学调控,选择了 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}}=0.1\ \mu\text{mol/L}$ 和 $0.5\ \mu\text{mol/L}$ 进行分析。从图 3 可以看出, $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}}=0.5\ \mu\text{mol/L}$ 时,BK_{Ca}的开放时间常数明显降低 $[(2.599\ 0\pm 0.452\ 6)\ \text{vs}\ (1.596\ 0\pm 0.357\ 3)\ \text{ms},P<0.05,n=5]$,但是通道的关闭时间常数没有明显改变 $[(1.041\ 0\pm 0.231\ 4)\ \text{vs}\ (0.952\ 0\pm 0.186\ 3)\ \text{ms},P>0.05,n=5]$ (图 3)。进一步采用开放和关闭两个状态分析通道的动力学, $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}}$ 由 $0.1\ \mu\text{mol/L}$ 增加到 $0.5\ \mu\text{mol/L}$ 时,通道的开放速率明显增加(由 $384.72\ \text{s}^{-1}$ 增加到 $626.71\ \text{s}^{-1}$)然而,通道的关闭速率没有明显影响,见图 3。表明胞内 Ca^{2+} 通过促进了 BK_{Ca}由关闭向开放状态的转变而激活 BK_{Ca},但是没有改变通道从开放状态向关闭状态的转变。

3 讨 论

钾通道及他们携带的 K⁺ 电流在血管张力的调节中十分重要。血管平滑肌上的钾通道主要有钙激活钾通道(K_{Ca}),ATP 敏感钾通道(K_{ATP}),延迟整流钾通道和电压依赖性钾通道。其中主要为大电导钙激活钾通道,携带约 70%~80%的外向电流,其功能状态及变化对平滑肌的紧张性调节起重要作用^[4]。本研究旨在研究小鼠脑动脉平滑肌细胞 BK_{Ca}基本电生理特性,包括钙敏感性、电压依赖性、K⁺ 选择性、大电导特性、IbTX 依赖性等,结果表明小鼠脑动脉平滑肌细胞 BK_{Ca}具有与人肠系膜动脉平滑肌、人奥迪括约肌、支气管平滑肌、猪冠状动脉平滑肌、大鼠主动脉平滑肌等组织 BK_{Ca}类似的电生理学特性^[5-7]。平滑肌细胞全胞性胞内钙浓度的增加激活肌质网上的纳诺定受体,引起胞内钙库释放钙(Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release, CICR),产生钙火花,这种局部 Ca^{2+} 浓度升高激活邻近的 BK_{Ca}通道产生 STOCs,引起细胞膜的超极化,导致细胞舒张。STOCs 是胞内钙火花事件在膜电流变化上的体现。因此,STOCs 是反应 BK_{Ca}通道胞内钙敏感性的指标之一^[3,8-9]。STOCs 只在细胞功能活动正常时才能记录到。通过 STOCs 电流的记录可以看出,通道电流非常容易记录,细胞具有较好的活性,利于研究通道功能调控和血管活性药物的作用机制。

通道动力学调控机制是通道功能调控的重要组成部分。随着研究的深入,探讨药物作用的门控动力学机制、分析药物作用的离子通道靶点已成为目前药物研究的热点之一。研究表明,不同药物对 BK_{Ca}的门控动力学机制可能表现不一,不同的动力学特征表明药物作用位点的不同。如中药厚朴则对 BK_{Ca}的开放和关闭状态均起作用,一方面促进了通道由关闭向开放状态的转变,另一方面抑制了通道由开放向关闭状态的

转变^[10]。本研究得出 Ca^{2+} 对通道的门控动力学主要表现为促进了通道由关闭状态向开放状态的转变,这与在其他标本的研究结果一致。表明小鼠脑动脉血管平滑肌 BK_{Ca}可以作为通道门控动力学调控研究的理想标本之一。

参考文献:

[1] Latorre R, Brauchi S. Large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} (BK) channel: activation by Ca^{2+} and voltage[J]. Biol Res, 2006, 39(3): 385-401.

[2] Ledoux J, Werner ME, Brayden JE, et al. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone [J]. Physiology(Bethesda), 2006, 21: 69-78.

[3] Jaggar JH, Porter VA, Lederer WJ, et al. Calcium sparks in smooth muscle[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2000, 278(2): C235-256.

[4] Ko EA, Han J, Jung ID, et al. Physiological roles of K^{+} channels in vascular smooth muscle cells [J]. J Smooth Muscle Res, 2008, 44(2): 65-81.

[5] Yang Y, Cai F, Li PY, et al. Activation of high conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels by sodium tanshinoneII-A sulfonate (DS-201) in porcine coronary artery smooth muscle cells[J]. Eur J Pharmacol, 2008, 598(1/3): 9-15.

[6] Sorensen MV, Matos JE, Sausbier M, et al. Aldosterone increases KCa1.1(BK) channel-mediated colonic K^{+} secretion[J]. J Physiol, 2008, 586(Pt17): 4251-4264.

[7] Pluznick JL, Sansom SC. BK channels in the kidney: role in K^{+} secretion and localization of molecular components [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2006, 291(3): F517-529.

[8] Wellman GC, Nathan DJ, Saundry CM, et al. Ca^{2+} sparks and their function in human cerebral arteries[J]. Stroke, 2002, 33(3): 802-808.

[9] Furstenau M, Lohn M, Ried C, et al. Calcium sparks in human coronary artery smooth muscle cells resolved by confocal imaging [J]. J Hypertens, 2000, 18(9): 1215-1222.

[10] Wu SN, Chen CC, Li HF, et al. Stimulation of the BK_{Ca} channel in cultured smooth muscle cells of human trachea by magnolol[J]. Thorax, 2002, 57(1): 67-74.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2011-11-22)

(上接第 1674 页)

Med Assoc, 2007, 57(12): 595-599.

[9] Stevens DP, Mackay IR. Increased carcinoembryonic antigen in heavy cigarette smokers [J]. Lancet, 1973, 2(7840): 1238-1239.

[10] Alexander JC, Silverman NA, Chretien PB. Effect of age and cigarette smoking on carcinoembryonic antigen levels [J]. JAMA, 1976, 235(18): 1975-1979.

[11] Anisimov VN. Biology of aging and cancer. Cancer Control [J]. Cancer Contril, 2007, 14(1): 23-31.

[12] Anisimov VN, Sikora E, Pawelec G. Relationships between cancer and aging: a multilevel approach[J]. Biogerontology, 2009, 10(4): 323-338.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2011-11-22)