

[5] J. Anaesth Intensive Care 1999 27 (2): 154-158

[6] Collis RF, Harding SA, Morgan BM. Effect of maternal ambulation on labour with low dose combined spinal-epidural analgesia. J. Anaesth 1999 54(6): 535-539.

[7] Bucklin BA, Chesnut DH, Hawkins JL. Intrathecal opioids versus epidural local anesthetics for labor analgesia. J. Reg Anesth Pain Med 2002 27(1): 23-30.

[8] Beilin Y, Galea M, Zahn J et al. Epidural ropivacaine for the

initiation of labor epidural analgesia. J. Anesth Analg 1999 88 (6): 1340-1345

[9] Owen MD, D'Angelo R, Genacher JC et al. 12% ropivacaine is similar to 12% bupivacaine for labor analgesia using patient controlled epidural infusion. J. Anesth Analg 1998 86(3): 527-531

[10] 朱 明, 郭锡恩. 不同浓度布比卡因复合曲马多用于硬膜外分娩镇痛的临床比较 [J]. 淮海医药, 2002 20(3): 195-196.

[文章编号] 1000-2200(2007)03-0375-02

· 综 述 ·

蛋白质芯片技术在肿瘤检测中的应用

秦学亮¹, 翁秋莎¹ 综述, 柯金山² 审校

[关键词] 肿瘤 / 诊断; 蛋白质芯片技术; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 730.43 [文献标识码] A

随着人类基因组全序列草图的完成, 从基因水平向蛋白质水平深化已成为生命科学研究的迫切需要和新的任务。蛋白质芯片技术的建立为研究蛋白质水平的生命活动开辟了更为广阔的前景, 提供了新型有效的研究手段。从蛋白质整体水平上研究肿瘤的发生与转移, 寻找与肿瘤发生及转移相关的新的蛋白质、肿瘤特异性的标志物及肿瘤药物治疗的靶标, 对肿瘤的诊治将起到重要作用。本文对蛋白质芯片技术在肿瘤检测中应用的最新进展作一综述。

1 蛋白质芯片技术基本原理

蛋白质芯片又名蛋白质阵列或蛋白质微阵列, 大致类似于基因芯片, 把成千上万种探针蛋白高密度排列在固相支持物表面, 通过探针蛋白特异性地捕获样品中的靶蛋白, 洗去未结合的其它蛋白后, 运用相应检测系统对靶蛋白进行定性、定量分析。蛋白质芯片选用抗体、抗原、受体、酶作为探针蛋白, 探针蛋白可事先合成或经纯化制备, 也可在芯片上直接合成。芯片载体常用玻璃载片, 另有纤维素膜、多孔凝胶块玻片以及微孔板等。检测靶蛋白的方法分直接检测法和蛋白质标记技术。直接检测法通常是利用生物传感器, 如基质辅助激光解析电离飞行时间、电喷雾质谱分析、表面等离子共振技术等来鉴定结合在芯片上的靶蛋白或小分子配体。表面增强激光解析及电离飞行时间质谱 (surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight SELDI-TOF), 因其具有方便、快速、灵敏度高、蛋白信息量多等优点, 是目前被广泛接受和应用的蛋白质芯片检测技术。蛋白质标记技术与基因芯片一样, 预先标记待测样品中的蛋白质, 如荧光物质或同位素, 并以类似基因芯片的标准扫描仪照相技术、激光扫描系统等检测芯片信号, 最后通过专门的计算机软件进行图像分析和结果解释。

2 蛋白质芯片技术在肿瘤标志物筛选中的应用

肿瘤细胞的基因突变和多态性是肿瘤分子生物学的重

要特征之一, 有研究表明^[1], 50%的乳腺癌, 56%的前列腺癌, 35%的结肠癌在转移之前, 用常用的检测方法难以检测, 而在肿瘤早期就在蛋白水平发生微小的变化。因此用高灵敏度的蛋白芯片技术寻找新的肿瘤标志物用于早期诊断和监测治疗效果, 已成为临床医学研究的一项热门趋向^[2,3]。

2.1 卵巢癌 用传统的卵巢癌标志物 CA125检测, 仅有50%~60%的I期卵巢癌患者其CA125浓度升高, 且阳性预测值低, 需与B超等其他诊断方法结合使用。Petricoin等^[4]根据卵巢内病理变化可以引起血清中蛋白质组的改变, 利用SELDI-TOF MS对50名健康女性及50例卵巢癌患者的血清进行分析, 发现荷质比为534.989, 231, 2251, 465处的5个波峰同时变化 (与健康人相比, 患者血清中2251波峰下降, 其余均升高)。将这一蛋白质波谱模型用于分析116个未标记的血清样本, 诊断卵巢癌敏感性为100%, 特异性为95%, 阳性预测值为94%, 而同样的样品用CA125检测, 阳性预测值为35%。由此可见, 该方法简单、迅速, 敏感性及特异性高, 用于高危人群筛查具有非常好的前景。

2.2 胰腺癌 Rosty等^[5]使用SELDI-TOF MS对胰液及血清中的微量表达蛋白质进行测定, 在67% (10/15)的胰腺癌及14% (1/7)的其他胰腺疾病患者中发现一个分子质量为16570 kDa的蛋白质。蛋白质芯片免疫测定技术证明该种蛋白质为HIPPAP I (hepatocarcinoma intestine pancreas pancreatitis associated protein I)。与对照组相比胰腺癌患者血清及胰液中该蛋白质水平都明显升高, 且胰液中HIPPAP I水平超出血清的1000倍。胰液中HIPPAP I水平超过20 mg/L者患胰腺癌的危险性是低于20 mg/L者的21.9倍, 预测胰腺癌的敏感性和特异性分别为75%和87%, 其浓度与肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤分期无关。由此说明, 在检测胰腺癌的标志物方面, 血清的敏感性不如胰液, 胰液中HIPPAP I的测定可能有助于胰腺癌的确诊。其局限性在于急性胰腺炎时该蛋白质水平亦升高。

2.3 大肠癌 Roboz等^[6]用胰岛素作为内标参照, 采用SELDI-TOF分析了大肠癌患者与正常对照之间的血清蛋白图谱之间的差异, 其中大肠癌患者高表达Mr8900蛋白, 而

[收稿日期] 2005-09-19

[作者单位] 1 蚌埠医学院 检验系 2001级, 安徽 蚌埠 233030

2 上海市浦东新区杨思医院 检验科, 200182

[作者简介] 秦学亮 (1984-), 男, 实习医师。

Mr9300的蛋白呈低表达,正常对照组上述两个蛋白的表达情况与患者组正好相反。根据质谱检测结果患者组 Mr8900表达量为正常对照组的3倍。结果表明 Mr8900和 Mr9300蛋白可作为检测大肠癌的肿瘤标志物。Zhao等^[7]用 SELDI-TOF建立结肠癌蛋白质组指纹库对结肠癌患者血清进行双盲检测,结果显示准确率为 96.8% (116/120),敏感性和特异性分别为 95.9% (70/73)和 97.9% (46/47)。

3 多种肿瘤标志物合成蛋白质芯片的应用

Veensra等^[8]认为,疾病发生时,其细胞的蛋白数量和结构均发生特征性变化,恶性肿瘤的生长是极其复杂的多病因过程,观察一系列的蛋白标志物的变化可提高疾病筛选和诊断的准确率和特异性。他提出用蛋白芯片来检测更多的蛋白标志物,从而对疾病作出早期明确诊断,尤其是对那些症状表现多样化或疾病早期症状不典型的患者更有意义。上海数康生物公司开发多种肿瘤标志物检测系统将最常见的12种肿瘤标志物集成在一张芯片上,使原来需要进行12次实验的操作一次完成。一次检测提供12种肿瘤标志物的信息,使医生可以更好的从相对全方位的信息角度作出准确判断。邓安梅等^[9,10]采用12种肿瘤标志物蛋白质芯片(CA125)对结肠癌、肺癌患者以及正常对照组、疾病对照组的血清进行检测分析,结果表明 CEA、CA19-9、CA242联合检测结直肠癌患者血清阳性率可达 83.3%;肺癌患者的 CA125阳性率显著高于正常对照、疾病对照组,其图像直观,易于鉴别,蛋白质芯片的反应强度与血清标本中含量具有较好的相关性。用蛋白质芯片试剂盒联合检测肺癌患者NSE、CEA、CA242和 CA19-9,达到 80%的阳性率,可为临床诊治提供有价值的依据。齐军等^[11]用 CA125分析 53例卵巢肿瘤患者、12例良性卵巢囊肿以及 98名正常对照人群血清,结果表明,单一 CA19-9检测各组差异无统计学意义,使用多种肿瘤标志物检测系统时,肿瘤组与健康组、良性肿瘤组与健康组差异均有统计学意义。张露等^[12]使用多种肿瘤标志物检测系统结合人工智能用于肝癌诊断的研究之中,使用单一指标检测肝癌组的阳性检出率为 66%,而使用多种肿瘤标志物检测系统后检出率提高为 92%,但存在假阳性,结合人工智能分析后,阳性降低,肝癌组的正确诊断率为 88%,特异性明显升高。王平等^[13]用多种肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统,对正常人、胰腺癌和胰腺良性疾病患者血清中的肿瘤标志物进行检测,结果表明肿瘤标志物 CA19-9和 CA242对胰腺癌的诊断意义最大,CA125虽然被广泛认为是诊断卵巢癌的肿瘤标志物,但在胰腺癌中也有阳性表达。运用蛋白质芯片系统联合检测,显著提高胰腺良、恶性疾病的敏感性和特异性,与传统的免疫化学发光法相比,结果差异均无统计学意义。在正常人组和胰腺良性疾病组,两种方法的检测结果一致率分别达 100%和 95%。而蛋白质芯片系统检测方法更加便捷、快速,说明蛋白质芯片检测系统对胰腺癌的诊断具有更高的临床意义。

4 存在问题和展望

蛋白质芯片技术仍有许多不足之处,许多重要蛋白质的信息可能会发生丢失。另一方面,蛋白质芯片技术研究所获得的数据极其丰富,如何验证、解释这些数据,并将它们与其它已知数据进行整合是研究者面临的难题。建立标准化的

数据分析方法和数理统计系统是蛋白质芯片研究的重要内容。目前,运用蛋白质芯片技术分离和检测肿瘤标志物的研究还处在初级阶段,那些被发现的新的肿瘤相关蛋白标志物还需进一步扩大样本量,通过严格的对照来评价其有效性。当然,蛋白质芯片技术的前景也是很好的,通过和基因组学研究数据结合,可以建立研究细胞分子通路的数学模型。利用这一模型,研究者可以发现新的蛋白质、分子通路并预测一些未知的相互作用,后者有望帮助人们降低肿瘤的发生和死亡率。总之,高通量分析平台蛋白芯片技术的建立将为蛋白质功能及其相关的研究提供快速、高信息量和更为直接的研究方法,与其他的分子生物学分析方法相比,蛋白芯片技术具有快速、平行的优越性。但有芯片制作方面存在的问题,目前用于临床检测的蛋白质芯片还比较单一,有待于进一步开发和改进,以提高疾病诊断的准确性和特异性。

[参 考 文 献]

- [1] Lötta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumor-host interface. *J. Nature* 2001, 411(6 835): 375-379
- [2] 李新华,张万岱,肖冰,等.微阵列技术及其在消化系疾病研究中的应用进展[*J.*世界华人消化杂志, 2003, 11(7): 1 054-1 058
- [3] 翁永强,邱双健,刘银坤,等.肿瘤标志物的蛋白质组学[*J.*世界华人消化杂志, 2004, 12(5): 1 188-1 190
- [4] Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, et al. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *J. Lancet* 2002, 359(9 306): 572-577
- [5] Rosy C, Christa L, Kuzdal S, et al. Identification of hepatocarcinoma, intestine, pancreas/pancreatitis-associated protein 1 as a biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma by protein biochip technology. *J. Cancer Res* 2002, 62(6): 1 868-1 875
- [6] Roboz J, Ma L, Sung M, et al. Protein Profiles of serum in colon cancer by SELDI-TOF mass spectrometry. *J. Proc Am Ass Cancer Res* 2002, 190, 3 643-3 647.
- [7] Zhao G, Gao CF, Song GY, et al. Identification of colorectal cancer using proteomic patterns in serum. *J. Ai Zheng* 2004, 23(6): 614-618
- [8] Veensra TD, Prieto DA, Conrads TP, et al. Proteomic patterns for early cancer detection. *J. Drug Discov Today* 2004, 9(20): 889-897
- [9] 邓安梅,仲人前,陈孙孝,等.用蛋白质芯片技术检测结直肠癌患者的肿瘤标志物[*J.*中华消化杂志, 2002, 22(8): 501-502
- [10] 邓安梅,仲人前,陈孙孝,等.用蛋白质芯片联合检测肺癌患者血清中的肿瘤标志物[*J.*中国免疫学杂志, 2002, 18(18): 701-702
- [11] 齐军,车轶群.使用多种肿瘤标志物蛋白质芯片诊断系统检测卵巢肿瘤[*J.*中华检验医学杂志, 2003, 26(6): 358-360
- [12] 张露,丛冠宁,杨小丽,等.多种肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统结合人工智能在肝癌诊断研究中的初步评价[*J.*中国医药导刊, 2003, 5(1): 35-37.
- [13] 王平,崔天益,刘涛,等.蛋白质芯片联合检测胰腺癌患者血清肿瘤标志物的意义[*J.*中华检验医学杂志, 2003, 26(11): 692-693