

肺、食道癌患者血清中大分子碱性磷酸酶同工酶测定的临床意义

山东医科大学生化教研室 邓景惕 康鲁东 刘清明

山东医科大学附属医院 胡国强 王德江 泮其兴

〔摘要〕利用特异性大分子碱性磷酸酶(HMAP)的单克隆抗体,采用免疫催化测定方法,检测了30例食道癌和21例肺癌病人血清中HMAP的含量。发现HMAP在这类病人血清中出现的机率较高,特别是食道癌,其阳性率可达73.3%。说明HMAP可能是一种癌相关同工酶,测定患者血清中的HMAP含量对肿瘤有一定的辅助诊断价值。

大分子碱性磷酸酶同工酶(HMAP)是一种病理同工酶,常出现在各种肿瘤及肝胆疾病患者血清中^[1]。由于其测定方法受限,对其确切临床价值尚了解不多。本文叙述了HMAP的特异性单克隆抗体的免疫测定方法。利用此方法,我们测定了肺、食道癌患者血清中HMAP的水平,发现此同工酶的测定,可以作为这类肿瘤的一个辅助诊断指标。

材料和方法

1. 临床资料:采集了21例肺癌和30例食道癌病人血清,血清取后贮存于-20℃,在一个月内进行测定。病人有男性35例,女性16例,年龄自26—66岁。所有病人都进行了手术并得到了病理学证明,其中肺鳞癌8例,腺癌6例,未分化癌4例、雀斑细胞癌3例,食管鳞癌22例、腺癌3例,所有病例均为肝功正常者,并证明无肝转移情况。另取献血员血清104份作为正常对照。

2. 单克隆抗体的固相化——硝酸纤维素膜片的制备:抗体的产生与纯化如前所述^[2],然后把已纯化的抗HMAP的单克隆抗体结合到硝酸纤维素膜片上。先把硝酸纤维素膜片(0.5g 6mm直径)放入含有5mg纯化抗体的溶液中(pH7.4 Tris缓冲液),25℃震荡培养3个小时,再用2%BSA封闭并冲洗后放入少量Tris缓冲液中低温保存。

3. 血清中HMAP的免疫催化测定:所有样品都做复管。每个膜片与100ul荧光底物液(0.5mmol/L 7-羟基-4-甲基香豆素,50mmol/L 2-氨基-1,3-丙二醇 1mmol/L MgCl₂, pH9.4振荡培养30分钟(37℃),然后加2ml 10

/L磷酸钾缓冲液(pH10.4),终止反应,用荧光分光光度计(岛津F3000型)测定荧光强度,(激发光波长为360nm,发射光波长为450nm)。

4. 碱性磷酸酶总活性测定:把5ul血清与200ul荧光底物液混合培养37℃,15分钟后,用荧光分光光度计测定其荧光强度,然后采用标准曲线法计算酶活性,方法同Wenger等所述^[3]。

5. CEA测定:CEA测定采用了上海第二医科大学制备的CEA酶联免疫测定试剂盒,方法如说明书要求操作。血清中CEA含量大于15ug为阳性。

结 果

1. 碱性磷酸酶的总活性测定:104例健康人血清中ALP总活性测定结果:均值为95.0u/L,标准差为29.1,与原方法所测正常值结果相似,把健康人与两组肿瘤患者血清中ALP活性进行比较,发现肺癌组病人血清中ALP活性偏低,但其差异无显著意义。

2. HMAP的测定:因为HMAP是一种病理同工酶,所以健康人血清中不出现HMAP。在104例献血员中,仅发现一例血清中HMAP为阳性(0.5u/L),经随访发现此人长期酗酒,可能有一定程度的酒精中毒。在21例肺癌患者中,有10例HMAP阳性(0.5u/L—7u/L),其阳性率为47.6%,而在30例食道癌患者中,有22例为HMAP阳性(0.5u/L—15u/L),其阳性率为73.3%。

3. 癌胚抗原测定:104例健康人血清中CEA测定发现有1例阳性,21例肺癌患者血清中,发现有6例CEA阳性,其阳性率为28.6%,而食道癌患

者仅有7例为CEA阳性,其阳性率为23.3%,结果如下表所示:

表 I 155例样品中ALP总活性和HMAP及CEA阳性率比较

	例数	ALP总活性 u/L	HMAP阳性率	CEA阳性率
健康人	104	95.2±29.1	0.96%	0.96%
肺癌	21	87.2±22.6	47.6%	28.6%
食道癌	30	92.6±30.2	73.3%	23.3%

在所有病例中, HMAP 的出现均与肿瘤的病理分型无关。

讨 论

HMAP是一个分子量为 5×10^6 的 ALP 同工酶,它与其他ALP同工酶不同,仅出现在病理情况下,故为一种病理性同工酶。最初 HMAP的出现被认为是阻塞性肝胆疾病的指征 [4,5],近几年来许多作者 [1,6]发现它的出现与肿瘤有关,把它作为一种测定继发性肝癌的敏感指标。但由于其测定方法所限,对其确切临床价值尚了解不多。在我们的实验中,利用特异的抗HMAP的单克隆抗体建立了敏感的免疫催化测定方法,测定了肺癌和食道癌患者血清中的HMAP,发现HMAP在这两类病人血清中出现的阳性率分别为47.6%和73.3%,但其活性均较低(肺癌 <7 u/L,食道癌 <15 u/L)。这种HMAP轻度升高的情况很难用电泳方法测出,所以有些作者认为HMAP仅出现在有些阻塞性肝胆疾病或肿瘤,特别是肝转移性肿瘤病人血清中,因为这类病人血清中HMAP明显升高,易用电泳方法测出。本实验结果显示,采用特异单克隆抗体的免疫催化测定方法,可提高测血清中 HMAP 的

含量灵敏度,对肺癌特别是食道癌有一定的诊断价值。

癌胚抗原(CEA)的研究,国内外屡有报导,但检测方法及试剂不同,结果常不一致。已发现,血清CEA检测有助于恶性肿瘤的诊断,主要作为下消化道癌的测定指标,所以对于肺癌和食道癌,CEA测定敏感性较低。与CEA的测定相反,在这类患者中HMAP测定阳性率较高分别为47.6%和73.3%,因此,测定HMAP有较大意义。而且本实验所选病例均为肝功正常者,也没发现有肝转移的情况,其碱性磷酸酶的总活性均在正常范围,故HMAP的升高不是肝功损伤所致,这证明HMAP是一种癌相关同工酶。虽然其出现的原因尚不清,但对肿瘤的辅助诊断有一定的价值。

参 考 文 献

1. Ehrmeyer S L et al, Cancer Res 1978; 38. 599—601
2. Deng J T and Parsons P G. Clin Chem Acta 1988; 176. 291—302
3. Kaplan L A and Papce A I. Clinical Chemistry; theory, analysis and correlation. 1984 P 1094
4. Karmen O C, et al. J. Clin Pathol 1984; 37: 212—217
5. Ricci O. E. et al, Boll Soc It Sper 1984; 60: 1363—1368
6. Nishio H, Sakuma T. et al. Cancer 1986; 57: 1815—1819.
7. 鲁中原等, 实用肿瘤杂志 1988. 3 (1). 33.