

• 论 著 •

胃癌患者血清 P53 蛋白与抗体检测的比较*

刘辉琦¹, 刘 慧², 刘 杰¹, 王生兰¹

(1. 青海大学医学院病理生理教研室, 西宁 810001; 2. 青海省西宁市第一人民医院消化内科 810001)

摘 要:目的 比较胃癌患者血清 P53 蛋白与抗体检测的敏感性。方法 采用间接 ELISA 法检测胃癌患者血清 P53 抗体, 夹心 ELISA 法检测胃癌患者血清 P53 蛋白。结果 胃癌患者血清 P53 蛋白阳性率为 14.0%, 抗体阳性率为 32.0%, 二者差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 胃癌患者血清 P53 抗体的检测比 P53 蛋白的检测更敏感。

关键词:胃肿瘤; 肿瘤抑制蛋白质 P53; P53 抗体; 检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.008 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)14-1548-02

Detection of serum P53 protein and P53 antibody in patients with gastric carcinoma*

Liu Huiqi¹, Liu Hui², Liu Jie¹, Wang Shenglan¹

(1. Department of Pathophysiology, Qinghai University Medical College, Xining 810001, China; 2. Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Xining City, Xining 810001, China)

Abstract: **Objective** To compare the detection sensitivity of serum P53 protein and P53 antibody in patients with gastric carcinoma. **Methods** Indirect ELISA was adopted to detect serum P53 antibody, and double antibodies sandwich ELISA technique was used to measure serum P53 protein. **Results** The positive rates of serum P53 protein and P53 antibody were 14.0% and 32.0% respectively, which were with significant difference. **Conclusion** P53 antibody detection could be more sensitive than P53 protein in patients with gastric carcinoma.

Key words: stomach neoplasms; tumor suppressor protein P53; P53 antibody; detection

胃癌是中国常见病和多发病, 位居消化系统肿瘤之首。近年来, 其发病率和死亡率不断升高, 每年胃癌新发病例及死亡率分别占全部恶性肿瘤的 17% 和 20%^[1-3]。青海是中国胃癌高发区, 其死亡率在全国最高^[4], 许多患者在就诊时已经到了中晚期, 丧失了最佳治疗时机。因此, 胃癌的早诊断、早治疗是降低其死亡率、提高存活率的主要手段。p53 基因的突变、蛋白的表达及抗体的产生是多种肿瘤包括胃癌发生中的事件, 对血清中 P53 蛋白或其抗体的检测在某种程度上可以作为肿瘤的辅助诊断及预后的判定。目前研究显示, P53 蛋白及其抗体在胃癌患者血清中均可被检测到^[5-7], 但二者谁更敏感, 更有助于胃癌的诊断尚未见有报道。本研究旨在通过同时检测胃癌患者血清中 P53 蛋白及其抗体, 判断在胃癌的诊断中二者的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 经病理诊断为原发胃癌的患者 50 例, 其中男 38 例, 女 12 例, 年龄 36~74 岁。健康对照组 40 例, 其中男 22 例, 女 18 例, 年龄 28~56 岁。以上人员均在检查时或手术前及放、化疗前取肘静脉血约 3 mL, 待血液充分凝固后 2 h 内, 以 8 cm 离心半径, 2 000 r/min 离心 10 min, 收集血清, 贮存于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2 仪器与试剂 人 P53 抗体检测 ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司, 人 P53 蛋白检测 ELISA 试剂盒购自美国 US CNLIFE 公司。采用 Modern 450 BIU-RAD 酶标仪进行比色分析。

1.3 方法

1.3.1 血清 P53 蛋白的测定 待测血清用标本稀释液 1:1

稀释后, 每孔内加入 50 μL (每个样本做复孔), 标准品系列稀释后, 每孔内加入 50 μL (每个稀释浓度做复孔), 加入 50 μL 生物素标记的抗体, 盖上膜板, 轻轻振荡混匀, 37 ℃ 温育 1 h。甩去孔内液体, 每孔加满洗涤液, 洗板机振荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干, 重复操作 4 次。每孔加入 80 μL 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记物亲和链霉素, 轻轻振荡混匀, 37 ℃ 温育 30 min。甩去孔内液体, 每孔加满洗涤液, 洗板机振荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干, 重复操作 4 次。每孔加入底物 A、B 各 50 μL, 轻轻振荡混匀, 37 ℃ 避光显色 10 min。加入 50 μL 终止液, 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

1.3.2 血清 P53 抗体的测定 待测血清用标本稀释液 1:5 稀释后, 每孔内加入 50 μL (每个样本做复孔), 标准品每孔内加入 50 μL (每个稀释浓度做复孔), 37 ℃ 温育 30 min。甩去孔内液体, 每孔加满洗涤液, 洗板机振荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干, 重复操作 4 次。每孔加入酶标工作液 50 μL, 37 ℃ 温育 30 min。甩去孔内液体, 每孔加满洗涤液, 洗板机振荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干。每孔先加入显色剂 A 液 50 μL, 再加入显色剂 B 液 50 μL, 混匀 30 s, 37 ℃ 避光显色 15 min。每孔加终止液 50 μL, 终止反应, 450 nm 波长测定各孔的 OD 值。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件处理, 采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 血清 P53 蛋白检测情况 健康对照组血清中 P53 蛋白浓度为 (112.4 ± 14.2) pg/mL, 以此确定 P53 蛋白 cutoff 值为 140.8 pg/mL。胃癌组血清中 P53 蛋白阳性率高于健康对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 1。

* 基金项目: 青海大学医学院中青年科技基金资助项目 (qy-2008-03)。

2.2 血清 P53 抗体检测情况 健康对照组血清中 P53 抗体浓度为 (22.3±1.2)pg/mL, 以此确定 P53 抗体 cutoff 值为 24.7 pg/mL。胃癌组血清中 P53 抗体阳性率高于健康对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 2。

表 1 各组血清 P53 蛋白检测结果

组别	n	P53 蛋白		
		阴性例数	阳性例数	阳性率(%)
胃癌组	50	43	7	14.0
健康对照组	40	40	0	0.0*

* : $P<0.05$, 与健康对照组比较。

表 2 各组血清 P53 抗体检测结果

组别	n	P53 抗体		
		阴性例数	阳性例数	阳性率(%)
胃癌组	50	34	16	32.0*
健康对照组	40	39	1	2.5

* : $P<0.05$, 与健康对照组比较。

2.3 血清 P53 蛋白与抗体检测情况的比较 胃癌组血清中 P53 抗体阳性率高于 P53 蛋白, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 血清 P53 蛋白与抗体检测情况的比较

指标	n	阴性例数	阳性例数	阳性率(%)
P53 抗体	50	34	16	32.0
P53 蛋白	50	43	7	14.0*

* : $P<0.05$, 与 P53 抗体阳性率比较。

2 讨 论

p53 基因在肿瘤的发生、发展中扮演者非常重要的角色, 主要参与细胞内 DNA 损伤修复, 细胞增殖和凋亡^[8-9]。p53 基因有野生型和突变型, 野生型 P53 蛋白半衰期短, 产生后很快衰减, 突变型 P53 蛋白半衰期延长, 可在肿瘤组织中积累, 激发机体免疫系统产生抗体, 当肿瘤增长到一定程度后, 肿瘤细胞中积累的突变型 P53 蛋白可因肿瘤细胞的崩解死亡而释放入血^[10-11], 因而通过 ELISA 法可检测血清中 P53 蛋白及其抗体浓度的变化。实验中 P53 蛋白与抗体在胃癌患者血清中均可检测到, 且与健康对照组均有显著性差异, 表明二者都可以用于胃癌的早期诊断, 但二者之间的阳性率也有显著性差异, P53 抗体阳性的 16 例胃癌患者中, 全部包括 P53 蛋白阳性的

患者, 而另外 9 例则是 P53 蛋白阴性而抗体阳性, 这表明 P53 抗体的敏感性高于 P53 蛋白, 而在肿瘤的早期筛查中敏感性更重要, 筛查的可疑病例通过进一步的检查可最大限度避免漏诊, 这对于肿瘤的早期诊断尤为重要。

基因改变是肿瘤的早期事件^[12-13], 其所导致的表达蛋白的改变只有在肿瘤负荷达到一定程度并释放入血后才可被检测, 而表达蛋白的改变在其发生之时就可诱导机体通过免疫反应产生抗体而可被检测, 因此通过对胃癌患者血清 P53 抗体的检测能够更早地反映 P53 基因的改变, 从而有助于胃癌的早期诊断。

参考文献

[1] Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(1): 17-20.

[2] 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.

[3] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(4): 225-249.

[4] 赵久达, 李豪, 曹成珠, 等. 1 962 例胃癌流行病学分析[J]. 现代预防医学, 2008, 35(3): 439-440.

[5] 朱颖蔚, 成金罗, 钱科卿, 等. 胃癌患者血清 VEGF、p53 的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2007, 3(15): 375-376.

[6] 张琳, 孙明, 赵金伟. 血清 VEGF、VEGF-C 及 P53 水平与胃肠道肿瘤复发转移的相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(7): 955-956.

[7] 沈建根, 林洁, 朱永良. 胃癌患者血清 P53 抗体的临床意义[J]. 医学理论与实践, 2004, 17(6): 633-635.

[8] 杨金新. 肿瘤患者血清 P53 抗体的测定分析[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(10): 2294-2295.

[9] 张晓峰, 肖华龙, 虞竞峰, 等. 肺癌患者血清 P53 抗体水平的临床诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(11): 977-978.

[10] Ohshio G, Suwa H, Imamura M. Clinical implication of anti-p53 antibodies and p53-protein in pancreatic disease[J]. Int J Gastrointest Cancer, 2002, 31(1/3): 129-135.

[11] 魏波, 刘迎龙, 于存涛, 等. 肺动脉灌注低温肺保护液抑制肺内实质细胞凋亡的研究[J]. 中华外科杂志, 2004, 42(4): 227-229.

[12] 朱珊, 刘运秋, 刘金梅, 等. 血清 P53 抗体与肺癌早期诊断、判定疗效、预测复发及预后[J]. 中国综合临床, 2004, 20(4): 319-321.

[13] 孙力超, 冉宇靓. 自身抗体与肿瘤[J]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 34(3): 164-166.

(收稿日期: 2011-02-15)

(上接第 1547 页)

[2] 许文荣, 王建中. 临床血液学和血液学检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 7.

[3] 李亚红, 梁玉全, 岑妙珍, 等. 地中海贫血基因携带者产前筛查及实验室指标的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(8): 673-677.

[4] 张万胜, 陈亚君, 邓明凤, 等. 多指标检测对恶性浆膜腔积液的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(6): 502-504.

[5] 施鹏飞, 钱申贤. 血清转铁蛋白受体在缺铁性贫血诊断中的临床意义[J]. 浙江临床医学, 2006, 7(8): 688-690.

(收稿日期: 2010-07-28)

[6] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 10-16.

[7] 韩巍. 铁负荷与人体健康[J]. 国外医学卫生学分册, 2008, 35(1): 52-56.

[8] 张文龙, 王曼萍, 张骥, 等. 慢性病贫血的铁代谢研究[J]. 临床血液学杂志, 2008, 11(21): 588-589.