

- [11] Itakura E, Kishi C, Inoue KJ, et al. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG[J]. *Mol Bio Cell*, 2008, 19(12):5360-5372.
- [12] Liang CY, Jung JU. Autophagy genes as tumor suppressors[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 22(1):1-8.
- [13] Liang C, Sir D, Lee S, et al. Beyond autophagy: the role of UVRAG in membrane trafficking[J]. *Autophagy*, 2008, 4(6):817-820.
- [14] Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, et al. Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy antumorigenesis[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(10):1142-1151.
- [15] Matsunaga K, Noda T, Yoshimori T. Binding Rubicon to cross the Rubicon[J]. *Autophagy*, 2009, 5(6):876-877.
- [16] Chengyu Liang, Donna Sir, et al. Beyond autophagy: The role of UVRAG in membrane trafficking[J]. *Autophagy*, 2008, 4(6):817-820.
- [17] Zhong Y, Wang QJ, Yue ZY. Atg14L and Rubicon: yin and yang of Beclin 1-mediated autophagy control[J]. *Autophagy*, 2009, 5(6):890-891.
- [18] Sun Q, Zhang J, et al. The RUN domain of rubicon is important for hVps34 binding, lipid kinase inhibition, and autophagy suppression[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(1):185-191.
- [19] Yun Zhong, Qing Jun Wang, et al. Distinct regulation of autophagic activity by Atg14L and Rubicon associated with Beclin 1-phosphatidylinositol 3-kinase complex[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(4):468-476.
- [20] Zhong Y, Wang QJ, et al. Atg14L and Rubicon: yin and yang of Beclin 1-mediated autophagy control[J]. *Autophagy*, 2009, 5(6):890-891.
- [21] Fan W, Nassiri A, Zhong Q. Autophagosome targeting and membrane curvature sensing by Barkor /At- g14(L)[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(19):7769-7774.
- [22] Koneri K, Goi T, Hirono Y, et al. Beclin 1 gene inhibits tumor growth in colon cancer cell lines[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(3B):1453-1457.
- [23] Wang ZH, Xu L, Duan ZL, et al. Beclin 12mediated macroautophagy involves regulation of caspase29 expression in cervical cancer HeLa cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 107(1):107-113.
- [24] Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2006, 10(1):51-64.
- [25] Karantza-Wadsworth V, Patel S, Kravchuk O, et al. Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(13):1621-1635.
- [26] Mathew R, et al. Autophagy suppresses tumor progression by limiting chromosomal instability[J]. *Genes Dev*, 2007, 21:1367-1381.
- [27] Huang X, Bai HM, Chen L, et al. Reduced expression of LC3B-II and Beclin 1 in glioblastoma multiforme indicates a down-regulated autophagic capacity that relates to the progression of astrocytic tumors[J]. *J Clin Neurosci*, 2010, 17(12):1515-1519.
- [28] Kong XX, Zhang HY, Chen ZQ, et al. Inhibition of Beclin 1 enhances apoptosis by H₂O₂ in glioma U251 cells[J]. *J Sheng Li Xue Bao*, 2011, 63(3):238-244.
- [29] FU Jun, LIU Zhi-gang. Glioblastoma stem cells resistant to temozolomide-induced Autophagy[J]. *Chinese Medical Journal*, 2009, 122(11):1255-1259.

(收稿日期:2012-10-16)

• 综 述 •

粪便潜血检测方法学的研究进展

罗俭权 综述, 潘彩英 审校

(广东省四会市人民医院检验科 526200)

关键词:粪便潜血试验; 消化道出血; 分析方法与原理

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.04.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)04-0460-02

粪便潜血试验(FOBT)是临床诊断多种疾病引起的消化道出血的一项重要常规检查,对胃癌和结肠癌等消化道肿瘤,持续的消化道出血可能是其早期出现的唯一特征,FOBT对早期监测方法最有帮助^[1-3]。为解决FOBT的特异性问题及鉴别消化道出血部位,国内外临床实验室不断探索和改进多种检测方法,现就各种方法学的应用原理和优缺点研究进展予以概述。

1 化学法

化学法的反应原理是利用血红蛋白含亚铁血红素具有过氧化物酶活性,催化过氧化氢释放出新生态氧,使试剂色原显色,从颜色深浅也可以判断出血程度定量。根据试剂色原分为还原酚酞法、联苯胺法、邻甲苯胺法、无色孔雀绿法、愈创木酯法、匹拉米洞法。目前国内外生产应用四甲基基础联苯胺和愈创木酯为显色基质的潜血试带,替代具有致癌性的联苯胺法,增加安全性和敏感度^[4]。

2 免疫法

免疫学方法以其抗原抗体反应原理的特异性和灵敏度,是当前发展最快也最有临床实用价值的潜血实验方法。免疫学

方法有三类抗体可用于粪便的潜血实验:一种为抗人血红蛋白抗体,一种抗人红细胞基质抗体,另一种为抗血液中其他成分如 α 1-AT、Tf、Hb-Hp等^[5]。

2.1 血红蛋白胶体金标检测法 是检测抗人血红蛋白抗体,利用血液中Hb的亚铁血红素特异性结合人Hb抗原,最常用的单克隆抗体胶体金标检测法^[6]。大多数厂家研发推出单克隆抗体一步法试验,如三明治夹心免疫检验法,操作简便,适合临床广泛应用。据Herzog和Cameron等研究,正常人24h胃肠道生理性失血量为0.6mL,若每日在于2mL,则属于病理性出血。由于血红蛋白胶体金标检测法的高度敏感性,可造成假阳性,血红蛋白胶体金标检测法是主要检测下消化道出血的优点,目前被大多研究者^[7-8]认为是大肠癌普查最适用的试验,约有40%~50%的上消化道出血不能检出。原因是:(1)血红蛋白或红细胞经过消化酶降解变性或消化耗尽已不具有原来免疫原性;(2)过量出血而致反应体系中抗原过剩出现前带现象;(3)患者血红蛋白的抗原与单克隆抗体不配。因此笔者从临床经验分析认为,出现外观为柏油样便的结果阴性或

弱阳性,需再次稀释的粪便 50~100 倍重做或用化学法复检。

2.2 转铁蛋白检测法 是从检测血红蛋白与人红细胞基质扩展到测定粪便中其它随出血而出现的带有良好的抗原性而又不宜迅速降解的蛋白质,如白蛋白、转铁蛋白等的免疫方法。转铁蛋白是血浆中的含铁蛋白质,研究发现转铁蛋白在健康人粪便中几乎不存在,而在消化道出血时大量存在,它的抗菌能力强,稳定性强,且活性持续时间长,根据文献报道^[9-10],既可消除化学法的假阳性问题,又可避免胶体金法的后带现象和血红蛋白被消化而出现的假阴性。

2.3 联合免疫法 即联合血红蛋白/转铁蛋白单克隆抗体检测法。国内外都有研究报道^[11-13],用两种免疫学方法,针对上消化道出血,在检测 Hb 的同时检测 Tf,能够减少假阴性结果的出现。同时检测两种抗原,能够起到互补作用。

3 荧光法

即卟啉试验近年来某些实验室还采用卟啉荧光法血红蛋白定量试验,利用草酸试剂使血红素变为卟啉进行荧光检测,即可检测粪便中未降解的血红蛋白,还可测血红素衍化物卟啉,从而克服了化学法和免疫法受血红蛋白降解影响缺点,可对上、下消化道出血同样敏感^[5]。

4 同位素方法

原理 ⁵¹Cr-红细胞经静脉注射后,正常不进入消化道,消化道出血时则进入并不被吸收,随大便排出。将大便中的放射性与每毫升血液中放射性比较计算可求出胃肠道出血量^[5]。

5 色谱法

它利用因混合物各组分在性质与结构上的差异而在流动相携带混物流经固定相时,混合物中各组分与固定相相互作用的强弱而实现混合物各组分的分离。是一种经典的流动相分离技术,目前,利用色谱法和质谱法建立的分析方法有气相色谱法、高效液相色谱法、质谱法、色谱-质谱联用技术等^[5]。

6 粪便基因检测

编译基因芯片技术要求极高,不能作常规应用,故国内外少见相关研究报道。

7 讨论

临床实验室开展粪便潜血检测方法学的选择上既要考虑敏感性、特异性,也要考虑经济适用性,便于临床推广和标准化的建立。

多数文献研究表明^[14-15],化学法受影响因素最多,缺乏特异准确性。邻苯甲胺法、邻甲胺法、还原酚酞法最灵敏,可检测出 0.2~1 mg/L 的血红蛋白。愈创木酯法灵敏度差,但假阳性很少。但目前国内外尚无统一公认的推荐的化学方法,不能建立实验室的标准化。

由于免疫胶体金法只特异性地针对人血红蛋白抗原表位,基本排除饮食和药物干扰,灵敏度与特异性均优于传统化学法,被世界卫生组织和世界胃肠镜检查协会推荐作为粪便潜血试验的一种较为确认的方法^[16],对消化道出血疾病的动态监测,或受检人群开展序贯粪潜血试验^[17],免疫法比化学法试剂成本高^[18]。

联合免疫法,抗干扰性更强,是临床判断是否存在出血,而且帮助鉴别消化道出血上下部位的最有价值方法^[19]。

荧光法方法操作繁琐,结果也受外源性血红素、卟啉类物质具有干扰性,应用性不强。

同位素方法,尽管灵敏度和特异性无可非议,甚至还可以对出血点进行准确的定位,存在放射物污染源,临床很难接受,也缺乏没有特异性的指标的检验。

潜血试验免疫学方法的灵敏度、准确性和特异性都优于化

学法,快速被临床推广应用,提高诊断消化道出血疾病的特异性及鉴别出血部位,是潜血试验方法学不断探索和改进的目的,所以联合免疫法、集合更多方法学优点的卡式方法、一步法等技术,都是有利于将来普及应用和标准化的发展方向。

参考文献

- [1] 蔡宏,莫善娟. 重视大肠癌的早期诊断[J]. 中华全科医师杂志, 2005, 4(6): 332-335.
- [2] Parente F, Marino B, DeVecchi N, et al. Faecal occult blood test-based screening programme with high compliance for colonoscopy has a strong clinical impact on colorectal cancer[J]. Br J Surg, 2009, 96(5): 533-540.
- [3] Mandel JS, Bond JH, Church TR, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota Colon Cancer Control Study[J]. N Engl J Med, 1993, 328(19): 1365-1371.
- [4] 高茂旭,束国防. 免疫法与化学法测定潜血的比较[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(1): 69-70.
- [5] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 310-311.
- [6] 王大光,杨晓枫,张进华,等. 血红蛋白与转铁蛋白检测在消化道出血筛查中的应用[J]. 中华全科医师杂志, 2009, 8(6): 413-414.
- [7] Mikhailova E, Pimanov S, Voropaev E. Fecal oncomarkers in the diagnostics of colorectal cancer [J]. Klin Med (Mosk), 2007, 85(12): 62-67.
- [8] Niv Y, Lev-EI M, Fraser G, et al. Protective effect of fecal occult-blood test screening for colorectal cancer: Worse prognosis for screening refusers[J]. Gut, 2002, 50(1): 33-37.
- [9] 杨明,丛玉隆,章子其,等. 转铁蛋白与血红蛋白同时检测消化道出血[J]. 临床检验杂志, 2003, 21(2): 83-85.
- [10] 原砚,郭春涛. 粪便潜血单克隆抗体法假阴性原因探讨[J]. 中国误诊学杂志, 2003, 3(11): 1686-1687.
- [11] Lowenfels AB. Fecal occult blood testing as a screening procedure for colorectal cancer[J]. Ann Oncol, 2002, 13(1): 40-43.
- [12] Oono Y, Ifiguchi Y, Doi Y, et al. A retrospective study of immunochemical fecal occult blood testing for colorectal cancer detection [J]. Clin Chim Acta, 2010, 41(1): 802-805.
- [13] 孙建珍. 双法便潜血的临床应用评价[J]. 中华现代内科学杂志, 2005, 2(12): 1126-1127.
- [14] 杨海芸,戈之铮,戴军,等. 免疫法和化学法粪便隐血试验对下消化道易出血疾病筛查价值的对照研究[J]. 中华消化内镜杂志, 2008, 25(1): 26-30.
- [15] 高萍,张绍刚,张美艳,等. 两种粪隐血试验在消化道出血诊断中的意义[J]. 中华消化杂志, 2009, 29(8): 518-520.
- [16] Young GP, St John DJ, Winawer SJ, et al. Choice of fecal occult blood tests for colorectal cancer screening: recommendations based on performance characteristics in population studies: a WHO (World Health Organization) and OMED (World organization for Digestive Endoscopy) report [J]. Am J Gastroenterol, 2002, 97(10): 2499-2507.
- [17] 李世荣,田素丽,武子涛,等. 序贯粪潜血试验在自然人群连续性大肠癌普查中的应用[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(1): 137-139.
- [18] 李世荣,王化虹,胡继春,等. 三种粪潜血试验在结直肠癌筛查中的效率与费用分析[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(10): 697-700.
- [19] Allison JE. Colon Cancer Screening Guidelines 2005: the fecal occult blood test option has become a better FIT [J]. Gastroenterology, 2005, 129(2): 745-748.