

• 临床检验研究论著 •

多肿瘤标志物蛋白芯片技术在人群健康体检中的应用*

匡红¹, 孙晨¹, 李静², 贾淑芳¹, 曾琳¹, 周琳瑶¹, 孙慧¹, 钟国成¹, 钟梁¹, 呼永河^{2△}

(1. 中国人民解放军第四五二医院中心实验室, 成都 610021; 2. 中国人民解放军成都军区总医院中心实验室, 成都 610083)

摘要:目的 探讨多肿瘤标志物蛋白芯片技术在人群防癌普查中的应用价值。方法 采用多肿瘤标志物蛋白芯片技术对 4 624 例接受健康体检的人员进行癌胚抗原(CEA)、甲胎蛋白(AFP)、糖链抗原 242(CA242)、CA199、CA125、CA153、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、铁蛋白、β 人绒毛膜促性腺激素(β-hCG)、游离前列腺特异性抗原(fPSA)、PSA、人生长激素(hGH) 12 种肿瘤相关抗原物检测。结果 4 624 例体检人员中筛查出 133 例血清肿瘤标志物水平升高, 其中 18 例经内窥镜、病理学、影像学检查确诊为早期或中期肿瘤, 肿瘤检出率为 0. 39%。男、女受检者血清 CEA、铁蛋白、β-hCG、fPSA、PSA、CA125 的差异, <55 岁年龄组、≥55 岁年龄组受检者血清 β-hCG、fPSA、PSA 的差异以及肿瘤与非肿瘤受检者血清 CA199、NSE、CA242、CEA、AFP、CA125 的差异有统计学意义($P < 0. 05$)。结论 多肿瘤标志物蛋白芯片检测技术适用于人群的防癌普查。

关键词:肿瘤; 生物学标记; 芯片分析技术; 体格检查

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 09. 007

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)09-1074-03

Application of protein microarray technologies for the detection of multiple tumor biomarkers in people's health examination*

Kuang Hong¹, Sun Chen¹, Li Jing², Jia Shufang¹, Zeng Lin¹, Zhou Linyao¹,

Sun Yi¹, Zhong Guocheng¹, Zhong Liang¹, Hu Yonghe^{2△}

(1. Central Laboratory, the 452th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Chengdu 610021, China;

2. Central Laboratory, Chinese People's Liberation Army General Hospital of

Chengdu Military Region, Chengdu 610083, China)

Abstract: **Objective** To discuss the application value of protein microarray technologies for the detection of multiple tumor biomarkers in anti-cancer screening in population. **Methods** Protein microarray technologies for the detection of multiple tumor biomarkers was employed to detect 12 tumor-associated antigens of 4 624 people who had undergone health examination, such as serum carcinoembryonic antigen(CEA), alpha-fetoprotein(AFP), carbohydrate antigen 242(CA242), CA199, CA125, CA153, neuron-specific enolase(NSE), ferritin, β human chorionic gonadotrophin(β-hCG), free prostate specific antigen(fPSA), PSA, human growth hormone(hGH). **Results** Among 4 624 people, serum levels of tumor biomarkers were found to be increased in 133 people, including 18 cases diagnosed as early or mid-term cancer through endoscopy, pathological and imageological examination, with detection rate of 0. 39%. Differences of serum CEA, ferritin, β-hCG, fPSA, PSA, CA125 between male and female, β-hCG, fPSA, PSA between <55 years old group and ≥55 years old group, as well as CA199, NSE, CA242, CEA, AFP, CA125 between people with tumor and without tumor showed statistical significance($P < 0. 05$). **Conclusion** Protein microarray technologies for the detection of multiple tumor biomarkers is suitable for anti-cancer screening in population.

Key words: neoplasms; biomarkers; microchip analytical procedures; physical examination

目前肿瘤标志物除前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)有相对较好的特异性外,其他均无严格的组织器官特异性,部分肿瘤标志物受多因素影响在健康人群的组织中浓度也出现升高,因而其在恶性肿瘤诊断和鉴别诊断中的应用价值受到一定限制。但多种肿瘤标志物联合检测与超声、病理、影像等手段结合,能大大提高恶性肿瘤的诊断率,多项联合检测越来越为临床所推崇^[1]。多肿瘤标志物蛋白芯片检测是将多项肿瘤标志物的抗体集成在一块很小的膜上,利用生物芯片技术的并行检测能力,在固相基质上预置了 12 项肿瘤标志物单克隆抗体,用于捕获被测血清中对应的肿瘤标志物,及其在免疫反应中形成的抗原抗体复合物,通过光化学反应产生光信号,测光系统根据光信号强度对各项肿瘤标志物进行定量分析,一次检测可以获得 12 项指标的含量。从无症状体检者中

筛出早期肿瘤患者一直是临床的一个难题,多肿瘤蛋白芯片技术可同时对多肿瘤标志物进行一次性检测,弥补了单项指标检测敏感性低、漏检率高的不足,对无症状人群的早期肿瘤筛查具有重要的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 4 624 例被检测者为 2009 年至 2011 年于中国人民解放军第四五二医院进行健康体检的人员,其中,男 2 676 例,女 1 948 例;年龄 14~95 岁,平均 46 岁。

1.2 仪器与试剂 仪器为上海数康生物科技有限公司生产的 HD2001A 型生物芯片检测仪,试剂为湖州数康生物科技有限公司生产的 C12 型肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒。

1.3 检测方法 多肿瘤标志物蛋白芯片的检测原理是基于化学发光酶联免疫方法,在固相基质上包被 12 项肿瘤标志物的

* 基金项目:四川省卫生计生基金资助项目(120395)。 作者简介:匡红(1979~),女,硕士,主管技师,主要从事分子生物、基因芯片及生物材料方面的研究。 △ 通讯作者, E-mail: huyonghe@vip. 126. com。

单克隆抗体,捕捉被检者血清中对应的肿瘤标志物抗原,利用各种肿瘤标记物的酶标记抗体来测定样品中各肿瘤标记物浓度,对肿瘤标志物进行定量检测。具体操作步骤:(1)实验前准备,将标准品和质控品各用 120 μ L 蒸馏水复溶,浓缩洗涤液用蒸馏水稀释 15 倍;(2)分别吸取 100 μ L 待测标本、标准品复溶液、质控品复溶液,加于不同的芯片表面;(3)37 $^{\circ}$ C 温育振荡 30 min,然后弃去芯片表面的液体;(4)芯片表面加满稀释后的洗涤液,温育振荡 8 min,弃去洗涤液,共洗涤 4 次;(5)每个芯片表面各加入 100 μ L 反应液;(6)温育、振荡同步步骤(3);(7)洗涤同步步骤(4);(8)检测,剥离蛋白芯片集成块的上部,在每个芯片的膜表面加入 20 μ L 已混合 15 min 的检测液 A 和 B 混合液,静置 1.5 min;(9)阅读、分析,将蛋白芯片集成块放入 HD2001A 型生物芯片检测仪,软件自动读取图像(时间 60 s),作标准曲线,分析各被测标本的测试结果并打印数据报表。

1.4 判定标准 指标数值不低于临界值即为阳性。正常参考值由数康生物科技有限公司蛋白芯片检测试剂盒提供:癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA) <5.00 ng/mL;甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP) <20.00 ng/mL;糖链抗原(carbohydrate antigen,CA)242 <20.00 kU/L;CA199 <35.00 kU/L;

CA125 <35.00 kU/L;CA153 <35.00 kU/L;神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE) <13.00 ng/mL;铁蛋白,男: <322.00 ng/mL,女: <219.00 ng/mL; β 人绒毛膜促性腺激素(β human chorionic gonadotrophin, β -hCG) <3.00 mU/mL;游离 PSA(free PSA,fPSA) <1.00 ng/mL;PSA <5.00 ng/mL;人生长激素(human growth hormone,hGH) <7.50 ng/mL。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,定性变量统计描述采用频数和百分比,定性变量组间比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

4 624 例体检人员中筛查出 133 例血清肿瘤标志物水平升高,其中 18 例被病理学、内窥镜、影像学确认为早期或中期肿瘤,肿瘤检出率为 0.39%;其余均为非肿瘤患者。18 例确诊为肿瘤的患者中胰腺癌 3 例,卵巢癌 2 例,前列腺癌 2 例,肠癌 3 例,胃癌 2 例,肺癌 3 例,肝癌 3 例;其多肿瘤标志物蛋白芯片检测的阳性结果见表 1。

表 1 肿瘤确诊患者的肿瘤标志物蛋白芯片检测的阳性结果(n)

肿瘤类别	n	AFP	CEA	NSE	CA125	CA153	CA199	CA242	铁蛋白	β -hCG	hGH	fPSA	PSA
胰腺癌	3	0	1	0	1	0	3	3	0	0	0	0	0
卵巢癌	2	1	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0
前列腺癌	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	2
肠癌	3	0	2	0	2	1	3	3	2	0	0	0	0
胃癌	2	1	2	0	1	0	2	2	1	0	0	0	0
肺癌	3	0	2	1	3	0	0	0	1	0	0	0	0
肝癌	3	3	2	0	2	1	2	2	0	0	0	0	0

表 2 男、女受检者 12 种肿瘤标志物检测结果的比较(%)

性别	AFP	CEA	NSE	CA125	CA153	CA199	CA242	铁蛋白	β -hCG	hGH	fPSA	PSA
男												
正常	96.67	67.78	98.89	91.11	92.22	83.33	88.89	74.44	98.89	98.89	61.11	62.22
异常	3.33	32.22	1.11	8.89	7.78	16.67	11.11	25.56	1.11	1.11	38.89	37.78
女												
正常	90.70	88.37	100.00	53.49	95.35	74.42	76.74	90.70	90.70	97.67	100.00	100.00
异常	9.30	11.63	0.00	46.51	4.65	25.58	23.26	9.30	9.30	2.33	0.00	0.00

表 3 不同年龄受检者 12 种肿瘤标志物检测结果的比较(%)

年龄	AFP	CEA	NSE	CA125	CA153	CA199	CA242	铁蛋白	β -hCG	hGH	fPSA	PSA
<55 岁												
正常	97.14	75.71	100.00	72.86	92.86	82.86	87.14	84.29	92.86	97.14	88.57	90.00
异常	2.86	24.29	0.00	27.14	7.14	17.14	12.86	15.71	7.14	2.86	11.43	10.00
\geq 55 岁												
正常	92.06	73.02	98.41	85.71	93.65	77.78	82.54	74.60	100.00	100.00	57.14	57.14
异常	7.94	26.98	1.59	14.29	6.35	22.22	17.46	25.40	0.00	0.00	42.86	42.86

男、女受检者血清 CA199、NSE、CA242、AFP、hGH、CA153 检测结果的差异无统计学意义($P>0.05$),而二者

CEA、铁蛋白、 β -hCG、fPSA、PSA、CA125 检测结果的差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。<55 岁年龄组、 ≥ 55 岁年龄组受检者血清 CA199、NSE、CA242、CEA、AFP、铁蛋白、hGH、CA153、CA125 检测结果的差异无统计学意义($P > 0.05$),而二者 β -hCG、fPSA、PSA 检测结果的差异有统计学意义($P <$

0.05),见表 3。肿瘤与非肿瘤受检者血清 fPSA、PSA、铁蛋白、 β -hCG、hGH、CA153 检测结果的差异无统计学意义($P > 0.05$),而二者 CA199、NSE、CA242、CEA、AFP、CA125 检测结果的差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 肿瘤与非肿瘤受检者血清 12 种肿瘤标志物检测结果的比较 (%)

诊断	AFP	CEA	NSE	CA125	CA153	CA199	CA242	铁蛋白	β -hCG	hGH	fPSA	PSA
肿瘤												
正常	98.26	78.26	100.00	84.35	94.78	86.09	91.30	81.74	97.39	98.26	71.30	72.17
异常	1.74	21.74	0.00	15.65	5.22	13.91	8.70	18.26	2.61	1.74	28.70	27.83
非肿瘤												
正常	72.22	50.00	94.44	44.44	83.33	44.44	44.44	66.67	88.89	100.00	88.89	88.89
异常	27.78	50.00	5.56	55.56	16.67	55.56	55.56	33.33	11.11	0.00	11.11	11.11

3 讨论

肿瘤标志物大多无器官特异性,为广谱标志物。单项指标检测往往存在特异性不强、阳性率偏低,特别是对早期肿瘤的检出率不高。近年采用的肿瘤标志物蛋白质芯片技术具有高通量、微型化和自动化的特点,更适于多种标志物的联合检测,故选择相关肿瘤标志物进行联合检测在早期诊断和预后判断中具有重要参考价值^[2]。

AFP 是诊断原发性肝癌的首选肿瘤标志物,有较高的特异性,但是 AFP 单项检测阳性率较低,且肝硬化和肝炎患者的血清检测也有很高的阳性率。对早期原发性肝癌,AFP 假阴性率可达 40% 以上。虽然 AFP 对原发性肝癌的诊断与治疗作出了不可替代的重大贡献,但完全依赖 AFP 将增加原发性肝癌的漏诊率和假阳性率。原发性肝癌组、良性肝病组与健康对照组比较,肝癌患者血清 AFP、CA199、铁蛋白、CEA 明显升高,而其他标志物的差异无统计学意义。

最初认为 CEA 是结、直肠癌的特异性标志物,其后发现在由内胚层细胞分化而来的其他恶性肿瘤、一些良性肿瘤和非肿瘤性疾病中也可呈阳性。CEA 是一种广谱肿瘤标志物,是最常用的具有广泛意义的肿瘤标志物,虽然其在肿瘤筛查中阳性率不高,但许多文献报道 CEA 水平与预后有一定的关系^[3],Jung 等^[4]报道腹水 CEA 可作为判断胃癌患者预后的一种标志物。

正常 NSE 分布于神经元和胺前体摄取和脱羧(amine precursor uptake and decarboxylation, APUD)细胞。NSE 是一种神经样内分泌细胞的标志物,NSE 浓度与胶质瘤良、恶性程度有关,脑肿瘤中分化差的神经外胚层肿瘤细胞 NSE 明显升高,NSE 高,则患者预后差。小细胞肺癌患者 NSE 水平明显高于非小细胞肺癌,NSE 可用于二者的鉴别诊断。本文中 1 例小细胞肺癌患者血清 NSE 升高。另外,需注意的是,NSE 也存在于正常红细胞中,标本溶血会影响测定结果。

铁蛋白是一种非特异性指标,单独升高时无特殊意义,要结合其他指标才能做出相应的判断。各种恶性肿瘤、良性炎症疾病及感染均可呈阳性。

CEA、CA199、CA242、CA125 联合检测是诊断胃肠道肿瘤的最佳组合,能够较好地反映肿瘤的分期、淋巴结转移、远处转移,估计治疗效果,预测肿瘤复发和转移。CEA、CA199 在转移性肝癌和胆道恶性疾病中应用价值较大。本研究中胃肠道

恶性肿瘤患者上述 4 种指标均有不同程度升高,但需注意的是,检测 AFP、CEA、CA199 对预防胃肠道恶性肿瘤的作用不大,肿瘤标志物浓度的轻度升高会导致过度检查^[5]。

CA199 由腺癌细胞产生,是一种特异性较高的肿瘤标志物。临床上常用于胰腺癌、大肠癌、胃癌的诊断,特别是胰腺癌诊断^[6]。本研究中消化系统恶性肿瘤患者的血清 CA199 均有不同程度升高。

CA125 是由半乳糖 N-乙酰氨基葡萄糖和 N-乙酰氨基半乳糖链组成的高分子糖蛋白。CA125 在胚胎发育过程中的体腔上皮细胞稳定表达,出生后表达消失。CA125 是糖蛋白复合物,主要用于对卵巢癌的诊断、疗效评价及预后判断,在卵巢癌一线化疗后水平明显下降^[7],在肺癌中也有较高的阳性率。因为肝炎、妊娠及某些妇科炎症也可致血清 CA125 升高,故存在一定的假阳性^[8]。

CA153 升高主要见于乳腺癌和肺癌。在乳腺癌发病初期敏感性较低,转移性乳腺癌阳性率可达 80%。CA153 可作为原发性乳腺癌的辅助诊断指标。

hGH 对肾癌、肺癌、垂体瘤的检测有一定意义,慢性肝病、肝硬化及某些药物均可导致血清 hGH 升高。 β -hCG 浓度在绒毛膜上皮癌及生殖系统的恶性肿瘤患者中可见升高,经手术或化疗后降低,故可作为临床治疗的监测指标,在乳腺癌、肝癌、卵巢癌等疾病中均可出现不同程度升高。

PSA 是由男性前列腺和尿道周围腺体柱状上皮细胞分泌的一种糖蛋白,并非前列腺癌的特异性抗体,正常情况下,PSA 蛋白几乎全分泌到精液内,而前列腺癌时 PSA 将会渗漏至血液,因此,作为一种血液标志物,血清 PSA 对于前列腺癌的诊断具有价值,影响 PSA 水平的因素还包括直肠指诊,膀胱镜检查,前列腺穿刺,急性前列腺炎,前列腺缺血、坏死及上皮内增生等^[9]。但血清 PSA 升高并不能确诊为前列腺癌,研究发现前列腺癌患者血清 PSA 水平超过正常值,有的甚至可达正常值的数百倍,但其特异性及敏感性仍饱受争议^[10-11]。研究表明,良性前列腺增生症和前列腺癌患者的血清 PSA 参考值区间有很大重叠,约 20% 的前列腺癌患者血清 fPSA 在正常范围($< 410 \mu\text{g/L}$),约 20% 的前列腺癌患者血清 fPSA 为 $4 \sim 10 \mu\text{g/L}$ 。

本研究表明多肿瘤蛋白芯片检测技术具有信息量大、操作简单、快速、非创伤性特点,适用于无症状人(下转第 1079 页)

损伤的标志性蛋白。

U_{α_1} -MG 相对分子质量约 27 000~33 000。正常状态下, 可自由通过肾小球滤过膜而滤出, 但绝大部分被肾近曲小管重吸收而分解; 病理状态下, 当近曲小管受损时, 因重吸收减少, U_{α_1} -MG 浓度明显增加。因此, U_{α_1} -MG 被认为是肾小管损伤的特异性标志蛋白^[9-10]。

本研究在此基础上选择尿常规检测提示蛋白定量为阴性的高血压、糖尿病患者作为研究对象, 检测其尿液中 UmAlb、TRU、IGU、 U_{α_1} -MG 浓度, 并与传统肾功能检测指标(Scr、BUN)比较, 以观察这 4 项指标在早期肾损伤诊断中的价值。209 例高血压患者, 有 84 例 U_{α_1} -MG 异常, 54 例 IGU 异常, 88 例 TRU 异常, 84 例 UmAlb 异常, 均为高血压 II、III 期患者。何世安等^[11]认为高血压患者 UmAlb 与同型半胱氨酸正相关。140 例糖尿病患者, 有 60 例 U_{α_1} -MG 异常, 72 例 TRU 异常, 42 例 IGU 异常, 88 例 UmAlb 异常, 与对照组比较, 差异有统计学意义; 而 Scr、BUN 与对照组比较, 差异无统计学意义。由此, 笔者认为 Scr 与 BUN 检测评估早期肾功能损伤缺乏敏感性, 只有当肾小球滤过功能明显下降时, BUN、肌酐浓度才会升高, 而且肾外因素也会造成 BUN 升高, BUN 测定并不是肾脏功能损伤的特异指标^[12]。颗粒增强散射免疫比浊法联合检测 U_{α_1} -MG、TRU、IGU、UmAlb 是监测糖尿病及高血压肾损伤的简便、可行方法, 本实验表明, 联合检测能提高检出率, 与报道相一致^[13-15]。有利于高血压和糖尿病继发性肾损害的早期诊断和治疗。尿肾功能监测 4 项分析已实现全自动化。由于尿肾功能监测 4 项的组成在临床不同个体及疾病所处的不同阶段变化较大, 联合检测还有助于判断肾脏损害类型, 确定是肾小球、肾小管或混合性蛋白尿, 有助于尽早确定治疗方案及评价疗效, 评估预后。

参考文献

[1] 崔红云, 王宗谦, 王准证. 339 例慢性肾衰竭的病因分析[J]. 医学信息: 手术学分册, 2008, 21(11): 982-983.
 [2] Larsson A, Flodin M, Hansson LO, et al. Patient selection has a strong impact on cystatin C and Modification of Diet in Renal Dis-

ease (MDRD) estimated glomerular filtration rate[J]. Clin Biochem, 2008, 41(16/17): 1355-1361.
 [3] Bonnet F, Marre M, Halimi JM, et al. Waist circumference and the metabolic syndrome predict the development of elevated albuminuria in non-diabetic subjects: the DESIR Study[J]. J Hypertens, 2006, 24(6): 1157-1163.
 [4] 陈燕, 赵敏, 张家红, 等. 尿微量蛋白检查对糖尿病早期肾损伤的诊断价值[J]. 中华医学检验杂志, 2003, 26(9): 562-564.
 [5] 李超, 姜宝法. 老年性高血压患者微量白蛋白尿与血管内皮功能的关系[J]. 山东大学学报: 医学版, 2008, 46(9): 901-903.
 [6] 张晔, 黎明新. 尿微量白蛋白检测的临床应用[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2008, 25(1): 98-99.
 [7] 刘亚娟. 尿微量蛋白联合检测在糖尿病早期肾损害诊断中的价值[J]. 中国实用医药, 2012, 7(16): 183-184.
 [8] 秦旻, 田浩明, 梁蕊忠. 2 型糖尿病患者血浆和尿纤维连接蛋白与尿转铁蛋白测定的临床意义[J]. 华西医科大学报, 2002, 33(3): 421-423.
 [9] 杨丽华. 尿 NAG、微量白蛋白、 α_1 -微球蛋白检测在早期诊断肾脏损伤中的应用[J]. 华中华医学杂志, 2004, 28(4): 271-272.
 [10] 陆小梅, 黎四平, 邹建铭. 联合检测尿微量白蛋白、转铁蛋白和 α_1 -微球蛋白在窒息新生儿早期肾损伤的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(3): 436-438.
 [11] 何世安, 卢华文, 刘铁牛, 等. 老年 H 型高血压和非 H 型高血压尿微量蛋白研究[J]. 中国临床保健杂志, 2012, 15(4): 358-360.
 [12] 韩志钧, 黄志锋, 卢业成, 等. 临床化学常用项目自动分析法[M]. 3 版. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005.
 [13] 高军, 张婧, 张静, 等. 尿肾功早期损害检测指标在慢性肾病诊断、监测中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(2): 144-146.
 [14] Vieitez P, Gómez O, Uceda ER, et al. Systemic and local effects of angiotensin II blockade in experimental diabetic nephropathy[J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2008, 9(2): 96-102.
 [15] 吕娟, 张冬青, 唐秀英. 尿微量蛋白联合检测对糖尿病肾脏早期损害的诊断价值[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(12A): 3426-3427.

(收稿日期: 2012-12-10)

(上接第 1076 页)

群的防癌普查。早发现、早诊断是治愈癌症的关键, 普查一旦出现阳性指标, 则可提示临床进一步检查, 提高肿瘤患者的治愈率和生存率。

参考文献

[1] 谢跃文, 王强, 夏洁. 肿瘤标志物检测在恶性肿瘤诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 107-109.
 [2] 孙长义. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测技术对卵巢癌的诊断价值分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(16): 1818-1819.
 [3] 王彦, 张彩云, 黄晶. 手术前 CA153 和 CEA 血清水平与乳腺癌患者临床病理因素的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 567-568.
 [4] Jung M, Jeung HC, Lee SS, et al. The clinical significance of ascitic fluid CEA in advanced gastric cancer with ascites[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(4): 517-526.
 [5] 何思春, 庞红全, 焦鑫, 等. 胃液肿瘤标志物 CEA、CA199 及 CA724 在胃癌诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 857-858.

[6] Eleftheriadis N, Papaloukas C, Pisteveu-Gompaki K. Diagnostic value of serum tumor markers in asymptomatic individuals[J]. J BUON, 2009, 14(4): 707-710.
 [7] Woelber L, Mueller V, Eulenburg C, et al. Serum carbonic anhydrase IX during first-line therapy of ovarian Cancer[J]. Gynecol Oncol, 2010, 117(2): 183-188.
 [8] 郭满盈, 罗媛姘, 陈扬, 等. 血清肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12): 1426-1427.
 [9] Sayre EC, Bunting PS, Kopec JA. Reliability of self-report versus chart-based prostate cancer, PSA, DRE and urinary symptoms[J]. Can J Urol, 2009, 16(1): 4463-4471.
 [10] Payne H, Cornford P. Prostate-specific antigen: an evolving role in diagnosis, monitoring, and treatment evaluation in prostate cancer[J]. Urol Oncol, 2011, 29(6): 593-601.
 [11] Barry MJ. Screening for prostate cancer—the controversy that refuses to die[J]. N Engl J Med, 2009, 360(13): 1351-1354.

(收稿日期: 2012-12-13)