

• 述 评 •

科学合理应用肿瘤标志物 全面保证检测质量

张传宝

(卫生部北京医院/卫生部临床检验中心, 北京 100730)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)04-0385-02

肿瘤是世界上病死率最高的疾病之一,平均每 4 个死亡病例中就有 1 例死于肿瘤。而在发病率前 10 位的恶性肿瘤中,早期和晚期的生存率存在巨大差别。例如:早期(局灶性)肺癌、结肠癌和乳腺癌的 5 年生存率分别为 50%、90% 和 98%,而一旦发展至晚期,5 年生存率仅为 3%、10% 和 27%。因此,早期诊断对肿瘤的治疗和预后具有举足轻重的作用,也是降低病死率的最有效办法。自 1978 年,Herberman 博士首次提出肿瘤标志物(tumor markers, TM)的概念后,许多肿瘤相关的生化、免疫指标不断被发现,为实现肿瘤的早发现、早治疗提供了可能。20 世纪 80 年代以来,已经发现百余种 TM,其中几十种已经在临床上得到了广泛应用,有助于临床对肿瘤的诊断、辅助诊断及鉴别诊断,还能指导治疗、分析病程、判断疗效及预后、监测复发或转移等。因此,稳定的 TM 检测质量是为临床诊治提供可靠依据的关键。本文以 2013 年卫生部临检中心 TM 室间质评的报告分析为主,从检测平台、检测方法、检测试剂对质量评价结果的影响探讨可能影响质评结果的因素。

1 科学合理应用 TM, 确保检测质量

TM 是指在恶性肿瘤的发生和增殖过程中,由肿瘤细胞的基因表达而合成分泌的、或由机体对肿瘤反应而异常产生和(或)升高的、反映肿瘤存在和生长的一类物质,包括蛋白质、激素、酶(同工酶)、多胺及癌基因产物等。TM 存在于患者的血液、体液、细胞或组织中,可用生化、免疫及分子生物学等方法进行检测。

理想的 TM 应满足以下标准:特异性、灵敏度均高达 100%;反映一种器官病变,具有器官特异性;与肿瘤大小或临床分期呈正相关;浓度与疗效相关,能监测治疗,评估肿瘤的预后。尽管随着人类基因组测序和蛋白质组学的快速发展,新的 TM 不断出现,但医学界至今尚未有完全理想的 TM,科学合理应用成为优化 TM 使用的重要手段。

鉴于 TM 对于肿瘤的重要临床意义,美国临床肿瘤学会(ASCO)、美国临床生化学会(NACB)、欧洲肿瘤标志物协作组(EGTM)等国外权威组织机构都对 TM 的科学合理应用给出了明确的指南。2012 年,中华医学会检验分会/卫生部临床检验中心也出台了《肿瘤标志物的临床应用建议》。根据国内外指南,科学合理选择和使用 TM 是确保 TM 检测质量的可靠保证。

2 参与室间质评, 提高实验室检测质量

在样本分析前、中、后 3 个阶段, TM 检测都可能受到诸多因素的影响。据统计,分析前相关因素导致的错误比例(30%~75%)远远高于分析中(13%~31%)。样本分析前的错误主

要为样本处理错误,例如采样时间不当、样本溶血、样本量不足和样本污染等,可以通过完善的实验室操作规程和有效的审核机制避免,包括建议临床医生选择正确的 TM 项目,特别注意患者临床疾病、治疗药物、生活方式等对于检测结果的影响来选择合适的采样时间等。在样本分析中阶段,影响检测的因素主要和检测平台、方法及试剂、溯源性、定标、质控等相关。实验室可以自行对工作进行监控,保证正确使用分析仪并确认每种方法都按照说明进行,实行严格的内部质量控制(internal quality control, IQC)。同时,实验室可以通过参加实验室室间质评(proficiency testing, PT),进行外部质量评估(external quality assessment, EQA)来提升检测质量。在样本分析后阶段,影响因素主要集中在临床信息、参考值范围、方法学、TM 的显著改变及半衰期。此外, TM 的溯源性、检测方法、送检频率以及实验室和临床的沟通也会影响分析后的结果解读。

由卫生部临检中心组织的全国临床检验室间质量评价活动已开展逾 30 年。作为临床实验室全面质量管理的重要组成部分, TM EQA 于 2000 年开始进行, 2013 共有 1 169 家实验室参加该 EQA 计划。TM EQA 能确定实验室进行 TM 检测的能力,识别问题并制定补救措施,有效确定测量方法的有效性和可比性,极大的增强实验室工作人员的信心,为患者提供准确结果提供有力保证。今年, TM EQA 的测定项目有:癌胚抗原(CEA)、甲胎蛋白(AFP)、绒毛膜促性腺激素(HCG)、前列腺特异抗原(PSA)、胃肠癌相关抗原(CA199)、糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 153(CA153)、2-微球蛋白、铁蛋白、游离-HCG 亚单位以及游离 PSA。

对大部分的肿瘤标志物检测项目而言,实验室间检测结果的可比性差,变异系数较大。但是,有一部分肿瘤标志物项目的检测结果在同一组内的变异还是水平比较低的,如肿瘤标志物 PSA 的检测,在批号为 201312 的检测样本中,由 474 家实验室组成的“罗氏组”的检测值的中位数为 15.4,实验室间的变异系数仅为 5.4%,这表明该组的实验室检测结果具有较高的一致性。

3 控制干扰因素, 保证 TM 检测结果

在免疫分析中,检测结果容易受到嗜异性抗体(HA)和血清人抗小鼠抗体(HAMA)干扰。免疫检测系统中大量使用单克隆抗体, HA 或 HAMA 可与啮齿类动物 IgG 的 Fc 段结合。这样 HA 既可与检测系统中的捕获抗体结合、又可和标记抗体结合,造成检测结果假阳性或假性升高。随着肿瘤靶向单克隆抗体药物的使用日益广泛, HAMA 干扰可能导致监测结果的错误分类、非必要的随访监测、错误的治疗(下转第 389 页)

作者简介:张传宝,男,医学硕士,副研究员,北京协和医学院硕士生导师,现就职于卫生部临床检验中心,任生化室主任。主要研究方向为临床化学质量管理、临床化学检验标准化及一致化。

溯源性的要求之一是用参考测量体系中的酶校准品和质控品具有互通性。长期以来,临床实验室普遍使用厂家的校准品,由于厂家校准品缺乏互通性以及实验室选用校准品的随意性,使酶学结果产生较大差异;在酶学参考系统尚未建立及应用的条件下,甄别检测系统的正确性存在一定困难,消除差异成为难题。

北京市临床检验中心以参考方法实验室网络赋值的新鲜冰冻人血清为互通性校准品,相对目前多数实验室使用的厂家校准品,此赋值血清在溯源链中具有较高的级别。因此,将其直接用于常规检测系统的校准,可减少中间环节,缩短溯源链,减少结果的不确定度,提高正确性。此项研究结果显示:使用赋值血清检出的调查实验室检测系统偏移,CK、LDH 项目,约 1/2 检测系统的偏移小于或等于 5%;1/2 检测系统的偏移小于或等于 10%。三级医院 LDH 项目的偏移略小于二级医院,见表 2、3。用赋值血清校准后,2 个水平患者样本 CK 项目系统间 CV 分别从 5.15% 和 5.98% 下降至 1.93% 和 1.81%;LDH 项目系统间 CV 分别从 5.86% 和 5.50% 降至 3.39% 和 3.53%,见表 4。依医院等级分组的统计结果显示:校准后,三级、二级医院室内精密度均有相当程度的改善,两者 CV 无差异。并且两者的组均值较校准前更趋接近,见表 5、6。因此,使用参考方法实验室网络赋值的新鲜冰冻人血清作校准品,可以在很大程度上改善结果可比性,并使检测结果溯源至参考方法。

赋值血清适用于单点校准模式的开放的检测系统。其他检测系统,如:采用摩尔消光系数进行校准、多点校准模式和封闭的检测系统均不适用。此次调查显示:有少数(10/82)检测系统属此类检测系统。对于不适用的检测系统,本课题组使用了定值血清验证了其系统偏移,CK 项目各系统的偏移为 -7.0%~8.8%,系统间 CV 为 5.18%;LDH 项目的偏移为 -21.9%~12.7%,系统间 CV 达 11.30%。研究结果显示,对于这些不适用定值血清进行校准的检测系统,应进行正确度的验证,若系统存在较大的偏移,应予以修正,否则将给结果互认带来困难,这是需要着手解决的关键问题。有关部门应该制

定相应的正确度判定标准,并敦促生产厂家予以改进。

志谢:原卫生部临床检验中心杨振华教授对本项研究的全面指导与悉心帮助;首都医科大学附属北京朝阳医院、北京航天总医院、首都医科大学附属北京世纪坛医院、北京协和医院、北京利德曼生化股份有限公司、四川迈克生物科技股份有限公司的参考方法实验室为本项研究所做的血清赋值工作。

参考文献

- [1] Jansen R, Schumann G, Baadenhuijsen H, et al. Trueness verification and traceability assessment of results from commercial systems for measurement of six enzyme activities in serum[J]. Clin Chim Acta, 2006, 368(1/2):160-167.
- [2] Xia C, Tong Q, Wang Q, et al. Application of five frozen human-pooled serum samples assigned by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine reference procedure in a traceability investigation of γ -glutamyltransferase catalytic concentration measurements in China[J]. Ann Clin Biochem, 2010, 47(Pt 3):189-194.
- [3] 陈宝荣,孙慧颖,邵燕,等.血清 CK 常规方法测量结果的正确性评价与系统偏移的修正[J].中华检验医学杂志,2011,34(12):1078-1080.
- [4] Infusion I, Schumann G, Ceriotti F, et al. Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability[J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(3):301-307.
- [5] Panteghini M. Traceability, reference systems and result comparability[J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(3):97-104.
- [6] Infusino I, Bonora R, Panteghini M. Traceability in clinical enzymology[J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(4):155-161.
- [7] International Organization for Standardization. ISO 18153 In vitro diagnostic medical devices: Measurement of quantities in biological sample, metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to calibrators and control materials[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2003.

(收稿日期:2013-10-26)

(上接第 385 页)

决策、不当的疾病预后等临床结果,尤其需要引起重视。因此,当可能存在 HAMA 干扰时,尤其当结果与临床情况不一致时,应当采取以下方法重新检测:使用已商业化的抗体阻断试剂进行处理;加入其他正常的、不发生免疫反应的固相清蛋白或球蛋白;用聚乙二醇(PEG)沉淀免疫球蛋白;换用不同的方法检测;多次稀释以评估稀释的线性关系。此外,还可以采用不同的检测方法来保证高质量的检测结果。同时,还要加强与临床的沟通,判断是否需要采用鼠单克隆抗体进行成像或治疗。

在免疫学检测中,尤其是 ELISA(一步法)检测中,由于待检标本中抗原浓度的显著升高,而导致捕获抗体不足造成检测结果假阴性或假低测定值,这种现象称之为钩状效应。由于 TM 浓度可达到多个数量级,而且任何一种 TM 都可能超过固相抗体结合数量,对于非常严重但是能治愈的疾病(如儿童期肝母细胞瘤和妊娠期滋养层肿瘤),如果不能识别非常高的 TM(AFP 和 HCG),将会导致严重的临床错误。在临床检测

中,AFP、HCG 和 CA125 这 3 个 TM 需要密切关注钩状效应。实验室应依据患者的临床诊断或关注患者的其他实验室检查结果,准备好能鉴定发生钩状效应样本的明确方案,不放过任何异常的检测值或模式。

另外,还需注意的是,在目前不同检验系统结果难以标准化的情况下,应先要求同一检验系统内检测结果的通用。由于目前 TM 不同方法或试剂盒检测结果缺乏可比性,在对患者进行病情评估和治疗监测而需要对 TM 水平进行动态监测的情况下,必须使用相同的检测方法或试剂盒。如需要改变检测方法,则必须先使用新方法检测病人的 TM 的基础水平。此外,对于不同方法或试剂盒 TM 检测结果,也应该使用不同的正常参考区间。如果可能,每个实验室应该制定自己的参考区间,如果没有条件,至少应该对实验室使用方法的参考区间进行验证实验。

(收稿日期:2013-06-08)