

血清 α_1 -抗胰蛋白酶检测对多种恶性肿瘤的诊断价值

崔 行 王 鑫 于清水 王 媛 王文霞 肖 伟

摘要 作者对测定血清 α_1 -抗胰蛋白酶(α_1 -AT)常用的胰酶活性抑制法和免疫电泳法进行了比较,并用两法同时测定了肺癌及非癌性肺疾病和肝癌、胰腺癌等五种消化系统恶性肿瘤患者血清 α -AT 含量。结果显示,肺癌及非癌性疾病组血清 α -AT 水平均显著高于正常对照组($P < 0.001$),肺癌组明显高于非癌性肺病组($P < 0.05$);测定各消化系统肿瘤组血清 α_1 -AT 含量均明显比对照组升高($P < 0.001$)。结果表明恶性肿瘤发生时, α_1 -AT 作为急性相反应物可非特异性上升,高于非癌性疾病,对恶性肿瘤的诊断及鉴别有一定临床价值。两种测定方法相比免疫电泳法为较好的临床血清 α_1 -AT 测定法。

关键词 α_1 -抗胰蛋白酶;肺癌;消化系统肿瘤

α_1 -抗胰蛋白酶(α_1 -Antitrypsin α_1 -AT)是人体最主要的蛋白酶抑制剂,为含糖链的糖蛋白。 α_1 -AT 可抑制胰蛋白酶、组织蛋白酶及中性粒细胞释放的弹性蛋白酶,后者分解组织中弹性蛋白、胶原蛋白,对组织有较强破坏作用。 α_1 -AT 则有对抗此种损坏保护正常组织的重要作用。

近年来发现, α_1 -AT 是一种急性相反应物,在恶性肿瘤、感染、炎症等病理情况下可迅速升高,故 α_1 -AT 可作为肿瘤相关血清成分用于高危人群肿瘤筛选或临床诊断^[1,2]。

血清 α_1 -AT 测定,常用的方法有胰酶活性抑制法和免疫测定法,我们对两种方法的精确性进行了比较,为临床应用选择 α_1 -AT 测定方法提供参考。

肺癌和消化系统肝、胰等脏器的癌症均为我国常见多发的肿瘤,其临床确诊问题仍远未解决,探讨血清 α_1 -AT 在上述肿瘤中表现及临床价值,有助于提高肿瘤诊断的准确性。为此,我们同时用两种方法检测了多种癌症患者血清 α_1 -AT 水平,并对结果进行了分析比较。

1 材料和方法

1.1 标本

肿瘤患者血清,肺癌 23 例,肝癌 28 例,胰腺

癌 12 例,食管癌 13 例,胃、肠癌各 10 例,年龄 35~68 岁。所有病例均经医院病理学、细胞学检查确诊。非癌性肺病血清 15 例(肺气肿、肺心病、肺结核各 5 例)均为临床确诊入院治疗者。正常对照血清 34 例。血清标本于 -30°C 保存、备测。

1.2 方法

1.2.1 胰酶活性抑制测定法

参照 Deitz 等^[3]方法进行,用苯甲酰精氨酸对硝基苯胺(BAPNA,上海生化所产)为胰酶底物,酶反应在 37°C 进行 10min 后,400nm 波长比色计算产物对硝基苯胺(PNA)含量,表示酶活性($\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{ml}$)每次测定设酶标准管,标本管血清与酶同时温育,两者光密度差为 ΔA ,据 Deitz 公式 $13.33 \times \Delta A$ 计算胰酶活性被抑制的程度,反映血清 α -AT 水平。

1.2.2 免疫火箭电泳测定法

参照文献方法^[4]加以改良,10ml 1%琼脂糖(日本进口分装),加入 α_1 -AT 抗血清(上海生物制品研究所生产)0.3ml,制成 $6 \times 8\text{cm}$ 凝胶板,标准血清(α_1 -AT 含量 $250\text{mg}/\text{dl}$)用缓冲液系列稀释为 1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/60 浓度,每板作标准曲线,标本血清按 1/40 稀释。孔径 2mm,每孔加样 8ul,电泳缓冲液为 0.2mol/L 巴比妥缓冲液(pH 8.6), 25°C ,端压 3V/cm 电泳 8 小时,以沉淀峰高对 α_1 -AT 浓度作标准曲线,计算被测标本 α_1 -AT 含量。

作者单位:250012 济南,山东医科大学(崔行、王鑫、于清水);山东省医科院临床部(王媛、王文霞);山东医科大学附属医院(肖伟)

2 结果

2.1 两种测定方法比较

免疫火箭电泳测定以沉淀峰高为 $Y(\text{cm})$, α -AT 浓度为 $X(\text{mg/dl})$, 对各板标准曲线行直线回归, 计算 r 值。各凝胶板 r 值均大于 0.95, 表明测定值呈良好的线性关系。

用变异系数($CV=S/\bar{x} \times 100\%$)比较两种方法的稳定性及准确性。胰酶活性抑制法测定的 34 个正常标本, 其变异系数为 19.77%。火箭免疫电泳法测定 20 个正常标本, 其变异系数为 11.92%, 显示免疫电泳法测定结果的离散程度较小。

2.2 胰酶活性抑制法测定

所测各组标本血清 α_1 -AT 含量, 测定结果见表 1 所示。

表 1 胰酶活性抑制法测定血清 α -AT 含量比较

组 别	例数	$\bar{x} \pm s(\text{umol/min} \cdot \text{ml})$
正常对照组	34	2.63 ± 0.52
肺癌组	21	4.11 ± 1.20
非癌性肺病组	14	4.06 ± 1.13
肝癌组	28	5.47 ± 2.10
胰腺癌组	12	4.53 ± 1.13
食管癌组	13	4.48 ± 1.10
胃癌组	10	4.42 ± 1.36
肠癌组	10	4.36 ± 1.48

由表 1 结果分析, 肺癌组和非肺癌组 α_1 -AT 含量明显高于正常对照组($P < 0.001$), 且两组无明显差异。肝癌、胰腺癌等消化系统肿瘤组血清 α_1 -AT 水平均与正常对照组有明显差异($P < 0.001$), 各肿瘤组间差异不明显。

2.3 免疫火箭电泳法测定

各实验组血清 α -AT 水平见表 2 所示。

表 2 火箭免疫电泳法测定血清 α -AT 含量比较

组 别	例数	$\bar{x} \pm s(\text{mg/dl})$
正常对照组	20	256.7 ± 30.6
肺癌组	23	419.3 ± 127.9
非癌性肺病组	15	340.1 ± 92.9
肝癌组	20	435.6 ± 128.8
胰腺癌组	10	478.6 ± 114.5
食管癌组	11	404.5 ± 92.4
胃癌组	10	331.4 ± 54.8
肠癌组	10	622.1 ± 149.5

由表 2 结果可以看出, 肺癌组和非癌性肺病组用免疫电泳法测定血清 α -AT 水平均明显高于正常对照组($P < 0.001$), 肺癌组高于非肺癌组, 两者之间有明显差异($P < 0.05$)。各消化系统肿瘤组血清 α -AT 水平均明显高于正常对照组($P < 0.001$), 各组

之间无明显差异。

3 讨论

目前对肿瘤的临床诊断, 仍以多种影像学检查结合肿瘤相关成分的检测为常用手段。血清肿瘤相关成分虽已发现多种, 但诊断阳性率都不够理想, 研究对肿瘤诊断有价值的血清指标仍很必要。肺癌、肝癌、胰腺癌、食管癌都是国内发病率很高的肿瘤, 特别是肺癌、肝癌的诊断极受关注。

国外文献报道了肝癌、肺癌等肿瘤患者的血清 α -AT 高于正常人^[5-7]。本文用胰酶活性抑制法及免疫电泳法比较测定, 证实在六种呼吸、消化系统恶性肿瘤发生时, 血清 α_1 -AT 水平比正常人显著升高, 但缺乏对肿瘤的特异性, 说明 α_1 -AT 可做为恶性肿瘤的血清相关成分用于癌症的筛选性诊断。

肿瘤患者中血清 α_1 -AT 非特异性增高的原因尚未明确, 目前倾向于认为在癌变时细胞大量增殖, 以及并发的组织细胞坏死和炎症, 可刺激溶酶体蛋白酶类释放, 导致 α_1 -AT 代偿性增高, 另外, 化疗期间, 大量肿瘤细胞被破坏, 机体急性反应增强, 亦使 α_1 -AT 含量增加。也有人提出胰蛋白酶是一种淋巴刺激原, 在 α_1 -AT 增高时可加强其免疫抑制作用, 使机体失去对突变细胞的免疫监视作用而导致肿瘤的发生^[9]。

研究者将 α -AT 测定用于肝癌、肺癌与相应非恶性疾病鉴定诊断。已有报道, 急慢性肝炎, 慢性胰腺炎及非癌性肺病发生时血清 α -AT 水平上升, 这可能由于研究对象多处于发作期, 有不同程度感染, 炎症引起溶酶体酶活性上升, 继而刺激 α -AT 保护性增高, 但增高幅度低于相应癌症^[4,6,7]。我们也证实, 非癌性肺病血清 α_1 -AT 虽升高, 但肺癌增高更为显著。该结果说明血清 α_1 -AT 测定对肺癌和非癌性肺病的鉴别有一定参考价值。

Sekine 等发现, 肝癌患者血清 α -AT 与小扁豆凝集素(LCA)反应性组分有特异明显增加^[10], 说明癌变可引起 α_1 -AT 糖链结构变化, 可被 LCA 所特异识别。可作为肝癌和良性肝病的鉴别指标^[2]。血清 α_1 -AT 等电聚焦电泳时, 糖链不同的 α -AT 三条区带相对含量的特异改变, 可用于胰腺癌与慢性胰腺炎的鉴别诊断^[7]。因此, 研究 α_1 -AT 在癌变时糖蛋白结构的特异改变在肿瘤诊断中更有参考价值。

我们对常用的血清 α_1 -AT 两种测定方法的操作及测定结果进行比较, 认为免疫火箭电泳法测定结果离散趋势小, 标准曲线精确度高, 结果可信度

大,且操作更简便,应为临床应用的较好方法。

参 考 文 献

- 1 张强华, α_1 抗异蛋白酶(综述). 国外医学微生物分册, 1992, 14(4): 180.
- 2 李定国, 阎兰. α_1 抗异蛋白酶异质体的检测及其诊断价值. 中华医学检验杂志, 1990, 13(3): 141.
- 3 Dietz AA, Rubinstein HM, Hodges LH. Measurement of alpha-1-antitrypsin in serum by immunodiffusion and by enzymatic assay. Clin. Chem, 1974, 20: 396.
- 4 关赛芳, 徐世康, 陈复华. 火箭免疫电泳法检测人血清 α_1 抗胰蛋白酶. 中华医学检验杂志, 1984, 7(2): 88.
- 5 Chio LF, Oon CJ. Changes in serum alpha-1-antitrypsin, alpha-1-acidglycoprotein and beta-2-glycoproteins with malignant hepatocellular carcinoma. Cancer, 1979, 43(2): 596.
- 6 胡连林, 沈寒放, 刘昕. 肺癌患者血清 α_1 抗胰蛋白酶检测临床意义. 第三军医大学学报, 1992, 14(2): 188.
- 7 宋茂民, 何三光, 田雨霖, 等. 等电聚焦血清 α_1 抗胰蛋白酶诊断胰腺癌和肝外胆道癌的研究. 中国医科大学学报, 1994, 23(增刊): 46.
- 8 Goetz IE, Weinstein G, Roberts E. Effects of protease inhibitions of growth of hamster tumour cells in culture. Cancer Res, 1972, 32: 2469.
- 9 Arora PK, Miller HC, Aronson LD. α_1 -antitrypsin is an effector of immunological Stasis. Nature, 1978, 274: 589.
- 10 Sekine C, Aoyagi Y, Suzuki Y. The reactivity of alpha-1-antitrypsin with lens culinaris agglutinin and its usefulness of the liver. Br. J. Cancer, 1987, 56: 371.

The diagnosis value of the determination of serum Alpha-1-antitrypsin of lung and varied digestive cancers

Cui Xing, et al

Dept. of Biochemistry, Shandong Medical University, Jinan, 250012

In this experiment we compare two test emthods to determine the serum alpha-1-antitrypsin (α_1 -AT) level, the enzymatic and immunoelectrophoresis methods. With the both methods we measure the α_1 -AT concentration in the serum of neoplastic and non-neoplastic lung diseases and varied digestive cancers including hepatic, pancreatic, esophageal cancers. The results from both test methods give identical finding, which indicate that the serum α_1 -AT level of lung cancer is significantly higher than that of normal control ($P < 0.001$) and it is also higher than that of non-neoplastic lung diseases according to only immunological method ($P < 0.05$). The serum α_1 -AT level of all determined five sorts of digestive cancers are higher than that of normal control nonspecificly ($P < 0.001$). The results show that, as a sort of acut phase reactants, serum α_1 -AT level may elevate in varied cancers non-specificly, and may be higher than that of non-neoplastic disease so it may have clinical meaning for diagnosis or screen of these cancers. Comparing the both test methods of serum α_1 -AT we think the immunoelectrophoresis method may be better selection for clinical usage.

Key words: α_1 -antitrypsin; digestive cancers