

电化学发光法检测胃泌素肽前体(ProGRP)影响因素分析*

舒放,王海峰 (西安市第三医院检验科,西安 710018)

摘要:目的 分析胃泌素肽前体(ProGRP)电化学发光法检测结果的可能影响因素,为检测准确性提供依据。方法 选取西安市第三医院2017年1月~7月呼吸科住院患者检测ProGRP,按0~50,51~100和>100 pg/ml三个浓度范围分别收集血浆及血清样本,每个浓度范围各筛选10例,共30例。室温放置0,2,4,8和24 h后对30例血浆样本分别进行检测,同时对0 h血清样本进行检测,分析不同放置时间、不同样本类型检测结果差异性以及不同样本类型检测结果的相关性;收集同期健康体检人群吸烟成瘾者及不吸烟者血浆样本各30例,比较两组检测结果的差异性。结果 室温不同放置时间组(0,2,4,8,24 h)ProGRP检测结果(pg/ml)均值分别为76.29±48.06,75.55±47.19,75.59±47.17,75.99±47.07和74.64±46.57,组间比较差异无统计学意义($F=1.93, P=0.11$);血清和血浆不同样本类型组间检测结果(pg/ml)均值分别为99.30±42.40和99.10±42.60,组间差异无统计学意义($t=0.22, P=0.82$),两组结果相关系数 $r=0.98$;吸烟组与不吸烟组间ProGRP检测结果(pg/ml)均值分别为34.91±12.51和36.80±12.49,组间差异无统计学意义($t=0.74, P=0.47$)。结论 样本室温下放置24 h内电化学发光法检测ProGRP结果稳定可靠且不受血浆或血清样本类型的干扰并有良好相关性;吸烟与否对其检测结果无明显影响。

关键词:胃泌素肽前体(ProGRP);肿瘤标志物;电化学发光

中图分类号:Q503 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)06-140-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.06.036

Analysis of Influence Factors of Detecting Pro-Gastrin-Releasing Peptide(ProGRP) by Electrochemiluminescence

SHU Fang, WANG Hai-feng

(Department of Clinical Laboratory, Xi'an No. 3 Hospital, Xi'an 710018, China)

Abstract: Objective To analyze the possible factors affecting the detection of ProGRP by electrochemiluminescence and provide basis for detecting accuracy. **Methods** The detected values of plasma ProGRP were divided into three successive concentration gradients. Patients from January to July 2017 in pneumology department were selected, and 10 cases of 30 patients were screened for each concentration, whose plasma and serum samples were collected. Detected the plasma samples at the time point of 0, 2, 4, 8 and 24 hours respectively at room temperature, the simultaneous detection serum samples at 0 h, and compared the result of different laying time, different types of samples by t test and analysed the correlation of the two types specimens. Collected 30 serum samples of smoking addiction and nonsmokers respectively and compared the difference of the two groups with t test. **Results** The sample average of different time group placed at room temperature (0, 2, 4, 8, 24 hours) were 76.29±48.06, 75.55±47.19, 75.59±47.17, 75.99±47.07 and 74.64±46.57 pg/ml respectively, and there was no statistically significant difference between the groups ($F=1.93, P=0.11$). The average of different sample types were 99.30±42.40 and 99.10±42.60 pg/ml respectively, and there was no statistically significant difference between the group ($t=0.22, P=0.82$). The correlation coefficient $r=0.98$. Test results between smoking group and non-smoking group average respectively were 34.91±12.51 and 36.80±12.49 pg/ml respectively, and there was no statistically significant difference between the group ($t=0.74, P=0.47$). **Conclusion** The ProGRP results were tested by chemiluminescence method within 24 hours at room temperature without interference from plasma or serum sample types and had good correlation. Smoking or not had no significant effect on the test results.

Keywords: pro-gastrin-releasing peptide(ProGRP); tumor markers; electrochemiluminescence

肺肿瘤标志物广泛应用于肺癌研究领域,为临床诊疗工作提供重要依据^[1~5]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占新发肺癌病例的80%,小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)约占20%^[6,7]。胃泌素肽前体(ProGRP)是近年来逐渐被临床重视的肺癌相关肿瘤标志物,有助于SCLC患者进行疗效监测及预后评

价^[8,9]。电化学发光免疫分析法检测ProGRP因快速、便捷、结果稳定,近几年为众多检测机构所青睐。作为一项相对新颖的检测指标,室温下的稳定性少有报道。其次,因血清标本中凝血酶能够灭活ProGRP,造成检测值的降低,一般推荐采集血浆样本。另外,笔者日常工作中发现临界值附近的结果标本来源中吸烟者较多,是否该因素可对该指标的

* 作者简介:舒放(1983—),女,硕士研究生,主管检验师(中级),主要从事临床免疫学及分子生物学研究工作, E-mail: shufang518@sina.com。

电化学发光法检测造成干扰。本文对 ProGRP 检测结果可能存在的以上几种影响因素进行分析,为提高检测准确性及应用于临床提供参考价值。

1 方法

1.1 研究对象 收集 2017 年 1~7 月西安市第三医院呼吸科住院患者血浆及血清标本,排除脂血、溶血、黄疸、肾功能不全以及自身免疫性疾病等影响因素。按 ProGRP 值 0~50, 51~100 和 >100 pg/ml 划分三个浓度范围,每个浓度范围各筛选 10 例,共 30 例。每份标本采集 3 ml;收集同时期我院健康管理中心查体人群血浆样本,分为吸烟成瘾组及不吸烟组采集血浆样本各 30 例,每份标本采集 3 ml。排除脂血、溶血、黄疸、肾功能不全以及自身免疫性疾病等,影像学排除肺部占位性病变。

1.2 仪器与试剂 采用电化学发光法检测方法,罗氏 cobas® E601 全自动电化学发光分析仪,罗氏 ProGRP 原装试剂,严格按照仪器的 SOP 操作。检测当日仪器运行正常,质控在控。

1.3 方法

1.3.1 室温放置时间对结果的影响:将来源于呼吸科住院患者的 30 份血浆及血清样本按每份 500 μ l/EP 管分装, -20℃ 冻存。检测前,冻存标本需室温放置 30 min 并充分混匀,并以此为 0 h 进行计时检测。同上方法检测血浆样本室温放置 2, 4, 8, 24 h 后的 ProGRP 值。

1.3.2 血清、血浆标本测定结果比较:1.3.1 中 0 h 测定 30 例血浆样本的同时检测相同来源的 30 份血清样本的 ProGRP 值。

1.3.3 吸烟与否对检测结果的影响:将来源于健康管理中心吸烟成瘾组和不吸烟组各 30 例血浆样本按每份 500 μ l/EP 管分装, -20℃ 冻存。检测前,冻存标本需室温放置 30 min 并充分混匀,同一批次检测两组 ProGRP 值。

1.4 统计学分析 SPSS10.0 软件进行相关统计学分析。室温不同放置时间组检测结果比较采用多样本间比较的 *F* 检验;血清、血浆组测定结果采用独立样本 *t* 检验,并对两组结果进行相关性分析,计算两组间 Pearson 积差相关系数。吸烟成瘾组与不吸烟组差异比较采用独立样本 *t* 检验。

2 结果

2.1 室温不同放置时间组结果比较 三种浓度范围覆盖了 ProGRP 低、中、高三个水平。0, 2, 4, 8 和 24 h 组 ($n=30$) 测定均值 (pg/ml) 分别为 76.29 \pm 48.06, 75.55 \pm 47.19, 75.59 \pm 47.17, 75.99 \pm 47.07, 74.64 \pm 46.57。差异无统计学意义 ($F=1.93, P>0.05$)。室温放置 24 h 之内随时间改变

浓度值无明显变化,显示罗氏电化学发光法检测该项肿瘤标志物的良好稳定性。

2.2 血清、血浆标本测定结果比较及相关性分析

同等实验条件下 (0 h, 室温) 血清、血浆两组 ($n=30$) ProGRP 测定均值分别为 99.30 \pm 42.40 pg/ml 和 99.10 \pm 42.60 pg/ml。两组比较,差异无统计学意义 ($t=0.22, P>0.05$)。两组结果相关系数 $r=0.98$, 相关性良好。

2.3 吸烟对结果的影响 吸烟成瘾组与不吸烟组 ($n=30$) ProGRP 测定均值分别为 34.91 \pm 12.51 pg/ml 和 36.80 \pm 12.49 pg/ml, 结果比较差异无统计学意义 ($t=0.74, P>0.05$)。

3 讨论 通常来讲,病理活检是肿瘤诊断的主要标准,但一般病程早期取样困难从而无法通过活检确诊^[10]。肿瘤标志物检测在对 SCLC 的早期发现以及提高生存率方面相比组织学能够提供更明确的诊断依据。GRP 最早是由 McDonald 等^[11]从猪的胃组织中分离出的一种具有促胃泌素分泌作用的胃肠道激素,是有效的促胃泌素或调节肽,但易分解。ProGRP 是其前结结构,在血浆中稳定存在,其浓度水平可以代表 GRP 水平和基因表达^[12]。采用电化学发光法检测 ProGRP 与 ELISA 法等其他方法相比检测范围更宽,检测时间更短,具有更大的临床应用价值^[14]。

一般来说,标本在实验室内冷藏状态下的稳定性是研究人员较多关注的问题,但采集后至送检前的标本储存状态多为室温,而 ProGRP 室温下检测结果的稳定性鲜有报道。从本研究结果可以看出,室温下 ProGRP 测定值在 24 h 之内的差异无统计学意义,显示了该指标在室温下的良好稳定性,说明检测结果受检验前周转时间 (turnaroundtime, TAT) 影响不大,为检验前质量控制提供相应依据。

ProGRP 的检测一般推荐采集血浆样本,而本研究结果表明罗氏电化学发光法在检测该项指标时不受标本类型的影响,血清及血浆标本结果差异无统计学意义且相关性好 ($r=0.98$)。其原因可能为®Elecsys ProGRP 电化学发光法检测系统相对于其他检测试剂和方法区别在于胃泌素肽抗体结合位点的差异。Elecsys ProGRP 检测系统的两种单克隆抗体的结合表位相对来讲处于抵抗肽酶裂解区域^[13],而其它检测系统捕获抗体的结合位点位于凝血酶裂解位点上。这使得 ProGRP 与其他肿瘤标志物采集一管血清样本同时检测成为可能,既方便采集及检测,又节约成本。

日常工作中笔者在对参考范围上限临界值附

(下转 145 页)

(上接 141 页)

近的结果分析解释过程中发现该类样本来源多为吸烟者,故本研究纳入吸烟是否是影响 ProGRP 检测结果甚至造成检验结果假阳性的因素之一。然而从本次实验结果看,吸烟成瘾组与不吸烟组的 ProGRP 结果无明显差异。

综上所述,罗氏电化学发光法检测 ProGRP,常温下放置 24 h 内结果稳定可靠且不受血浆或血清样本类型影响。吸烟与否不是影响 ProGRP 检测结果的影响因素,对于参考范围上限附近值的分析尚需考虑纳入其他影响因素或考量是否应设定适合中国人群的参考范围。

参考文献:

- [1] Hensing T, Chawla A, Batra R, et al. A personalized treatment for lung cancer: molecular pathways, targeted therapies, and genomic characterization[J]. *Adv Exp Med Biol* 2014, 799: 85-117.
- [2] Pass HI, Beer DG, Joseph S, et al. Biomarkers and molecular testing for early detection, diagnosis and therapeutic prediction of lung cancer[J]. *Thorac Surg Clin*, 2013, 23(2): 211-224.
- [3] Rosell R, Bivona TG, Karachaliou N. Genetics and biomarkers in personalisation of lung cancer treatment[J]. *Lancet* 2013, 382(9893): 720-731.
- [4] Moran C. Importance of molecular features of non-small cell lung cancer for choice of treatment[J]. *Am J Pathol* 2011, 178(5): 1940-1948.
- [5] Kulesza P, Ramchandran K, Patel JD. Emerging concepts in the pathology and molecular biology of advanced non-small cell lung cancer[J]. *Am J Clin Pathol* 2011, 136(2): 228-238.
- [6] Nisman B, Biran H, Ramu N, et al. The diagnostic and prognostic value of ProGRP in lung cancer[J]. *Anti-cancer Res*, 2009, 29(11): 4827-4832.

- [7] Kalemkerian GP, Akerley W, Bogner P, et al. Small cell lung cancer[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2013, 11(1): 78-98.
- [8] Zarogoulidis K, Zarogoulidis P, Darwiche K, et al. Treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *J Thorac Dis* 2013, 5(suppl 4): S389-396.
- [9] 杨兴, 孙桂荣, 丛培珊, 等. 胃泌素释放肽前体对小细胞肺癌的诊断价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(8): 736-741.
Yang X, Sun GR, Cong PS, et al. The significance of pro-gastrin-releasing peptide for small cell lung cancer diagnosis[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2012, 35(8): 736-741.
- [10] Harmsma M, Schutte B, Ramaekers FC. Serum markers in small cell lung cancer: opportunities for improvement[J]. *Biochim Biophys Acta* 2013, 1836(2): 255-272.
- [11] McDonald TJ, Nilsson G, Vagne M, et al. A gastrin releasing peptide from the porcine nonantral gastric tissue[J]. *Gut*, 1978, 19(9): 674-767.
- [12] Micke P, Hengstler JG, Ros R, et al. C-erbB-2 expression in small cell lung cancer is associated with poor prognosis[J]. *Int J Cancer*, 2009, 92(4): 474-479.
- [13] Nordlund MS, Warren DJ, Laerdahl JK, et al. Studies on multiple forms of proGRP in serum from small cell lung cancer patients[J]. *Tumour Biol* 2009, 30(5/6): 265-275.
- [14] 沈隽霏, 吴文浩, 周佳烨, 等. 电化学发光法检测胃泌素释放肽前体的性能评价及临床应用评估[J]. *检验医学*, 2018, 33(3): 222-227.
Shen JF, Wu WH, Zhou JY, et al. Performance of pro-gastrin-releasing peptide assay by electrochemiluminescence immunoassay[J]. *Laboratory Medicine*, 2018, 33(3): 222-227.

收稿日期: 2017-07-03

修回日期: 2018-11-15