

两种肺炎支原体抗体检测方法的临床应用研究

张健 徐瑞亮 刘栋 陈新科 李雷生

作者单位: 272029 济宁市, 济宁医学院附属医院检验科(张健 刘栋 陈新科)

273200 泗水县, 泗水县第一人民医院(徐瑞亮)

272000 济宁市, 济宁医学院(李雷生)

通讯作者: 张健, E-mail: zhangjianjiayun308@163.com

【摘要】 目的 探讨两种实验室检测方法—被动颗粒凝集法(凝集法)和 ELISA 法检测在肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)诊断中的临床应用价值。**方法** 选择 191 份 MP 感染疑似患者血清, 采用凝集法检测各样本中 MP 抗体的水平, 同时采用 ELISA 法对各样本中的 MP IgM、IgA、IgG 特异性抗体进行分型检测, 并对检测结果进行统计学分析。**结果** 两种方法检测结果的阳性符合率为 88.4%, 阴性符合率为 75.8%, 总符合率为 84.3%。两种方法检测结果一致性 $Kappa=0.642(P=0.001)$, 且检测结果存在相关性($r=0.642, P=0.025$)。随着凝集法中抗体滴度由低到高, IgM、IgA 亚型阳性的样本比例增加, 且各滴度组间的比例差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。凝集法阳性样本中既往感染比例为 26.4%, 现症感染率为 58.1%。特异性 IgM 抗体在幼儿组(43.3%)及青少年组(36.1%)患者中检出率最高, 而 IgG (100.0%)及 IgA(66.7%)在老年组患者中检出率最高。**结论** 凝集法与 ELISA 法检测结果的符合性较好, 较之凝集法, ELISA 法检测 IgM、IgA、IgG 亚型可提示病程, 区分现症感染和既往感染, 对不同年龄段 MP 感染都具有诊断价值。建议同时参考抗体各亚型的检测结果来确定现症感染。

【关键词】 肺炎支原体; 被动颗粒凝集法; ELISA; IgM; IgA; IgG

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2013.03.005

The clinical application research of two methods in detecting *Mycoplasma pneumoniae* antibody

ZHANG Jian¹, XU Rui-liang², LIU Dong¹, et al. ¹Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining 272029, China ²Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Sishui, Sishui 273200, China

【Abstract】 Objective To investigate the diagnostic value of both passive particle agglutination (PPA) test and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on *Mycoplasma pneumoniae* (MP) infection. **Methods** 191 patients with respiratory symptoms were selected. The level of MP antibody was detected by PPA method, and the levels of MP specific antibody including IgM, IgA and IgG were detected by ELISA method. The results were analyzed statistically. **Results** The positive coincidence rate between PPA and ELISA was 88.4%, and negative coincidence rate was 75.8%, and total coincidence rate was 84.3%. The results of concordance for two methods was $Kappa=0.642(P=0.001)$, and there was correlation between the results of two methods ($r=0.642, P=0.025$). The sample proportion with IgM, IgA positive increased along with the upgrade of antibody titer, and there were all had statistical significance in the differences of proportion among different titer groups (P all <0.05). In PPA positive sample, the past infection proportion was 26.4%, and the current infection proportion was 58.1%. The prevalence of MP IgM antibody was the highest in the children group (43.3%) and teenager group (36.1%), while the elder group had a relatively higher percentage in IgG (100.0%) and IgA (66.7%) antibody. **Conclusion** The concordance between PPA and ELISA is good for MP antibody detection. ELISA method can detect antibody isoform which can indicate disease progression, thus to discriminate current infection from past, and can have important diagnostic role for infection in different ages. It is suggested that antibody isoform detecting is critical for confirmation of a current MP infection.

【Key words】 *Mycoplasma pneumoniae*; Passive particle agglutination; ELISA; IgM; IgA; IgG

肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)是常见的社区获得性肺炎的致病原, 占肺炎发病率的

15%~20%, 占非细菌性肺炎的 50%^[1]。MP 可导致严重的上呼吸道、支气管和肺部感染^[2]。儿童感染 MP

多发支气管肺炎,并伴随肺外多种并发症,治愈后也易反复感染。MP 感染秋冬季较多见,通过呼吸道传播,可引发地方性或流行性扩散,通常 4、5 年间会有一次爆发性感染^[3]。

MP 感染过程中产生的抗体亚型主要为 IgM、IgA、IgG,特异性的抗体亚型和疾病进程之间有良好的对应关系^[4]。IgM 出现最早,在病程起始 1 w 后至一个月内迅速升高,随后逐渐下降直至消失,被认为是急性期感染的标志。IgG 通常在病程起始一个月后产生,继而持续上升^[5];在既往感染者中该抗体亚型的阳性率高达 80%,很多患者 IgG 抗体终身阳性。IgA 的出现晚于 IgM,显著升高的时间也晚于 IgM,但持续时间长于 IgM。间隔 2~4 w 的双份血清中检测到的抗体亚型转化或 IgG 抗体水平的显著变化(4 倍及以上增加或降低),可用于确诊急性感染^[6-8]。

MP 没有细胞壁,对作用于细胞壁的抗生素耐受,但对大环内脂类的红霉素和四环素敏感。因此鉴别 MP 感染和细菌感染对疾病的确诊以及后续抗生素的目标性治疗都极具指导意义。然而 MP 感染后的临床症状并不典型,很难直接通过症状与细菌性肺炎、病毒性肺炎区分,故而实验室检测具有重要的辅助诊断意义。

目前实验室检测 MP 的常用方法包括支原体培养、血清学检测、PCR 法等^[9]。直接分离培养病原体是实验室诊断 MP 的金标准。痰液和咽喉拭子中都能分离获得 MP,培养物在琼脂上形成典型的煎蛋样克隆。然而培养分离阳性率低,培养基条件要求高,培养确认耗时长(2 w 左右),这些客观因素都限制了支原体培养在临床检测中的实际运用^[10]。血清学检测通过检测患者血清中特异抗体间接判断患者是否感染及感染状况,是目前最常用的实验室检测方法,包括早期的冷凝集法、补体固定试验、间接红细胞血凝试验和现在常规开展的被动颗粒凝集试验(凝集法)、ELISA 法、间接免疫荧光法等^[11,12]。目前国内常用的凝集法是采用 MP(Mac 株)细胞膜成分致敏的人工明胶颗粒来检测血清中 MP 特异性抗体,该方法检测灵敏度高、价格适中,因而在日常临床检测中广泛开展^[13];然而该法检测的抗体水平实际是各种亚型抗体的总和。而 ELISA 法不但可进行特异性抗体的定量检测,而且还能做到特异性 IgM、IgA、IgG 抗体的分型检测,因此具有独特的优势。

本文研究对我院 191 例疑似 MP 感染住院患者的血清,同时进行凝集法检测和 ELISA 法检测,比较两种方法在 MP 感染实际诊断中的意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 血清样本分别来源于儿科、呼吸科、血液科、风湿免疫科。样本采集时间集中在 MP 感染高发期,从 2010 年 11 月至 2011 年 5 月。采集无污染样本后置于 -20℃ 冻存。191 例患者,女性 95 例,男性 96 例,起始症状多为咳嗽合并发热,自行服药或门诊治疗后症状无缓解而入院治疗。入院时平均咳嗽发热时间在 1 w 以上,通过体征和症状初步判断为疑似 MP 感染。采用红霉素、阿奇霉素、罗红霉素等抗生素治疗,患者病情得到不同程度的缓解,住院平均时间为 10 d 以上。

1.2 方法

1.2.1 被动颗粒凝集试验 (以下简称“凝集法”) SERODIA-MYCO II 检测试剂盒购自 FUJIREBIO INC,操作严格按试剂盒说明书进行,同时设立阴性、阳性对照孔,结果以滴度表示(样本稀释倍数范围:1:40~1:2560),临界值为 1:160。

1.2.2 抗 MP 抗体亚型(IgM/IgA/IgG)检测 抗 MP 抗体 IgM、IgA、IgG 检测试剂盒均购自德国欧蒙公司(EUROIMMUN AG),均为 ELISA 法。实验操作按试剂盒说明书进行。同一样本中 IgM、IgA 和 IgG 任意一项阳性,即为 ELISA 检测结果阳性。

1.2.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行分析。两种血清学检测方法的结果一致性用 Kappa 检验计算,采用 Spearman 相关分析进行两种检测结果的相关性分析。不同滴度组下各亚型阳性率的比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 凝集法和 ELISA 法检测结果的符合性研究 凝集法的检测结果显示(表 1),样本的抗体滴度分布于 1:40~1:2560 间。以滴度大于等于 1:160 为阳性结果,其中 129 例(67.5%)样本为 MP 抗体阳性,62 例为阴性(32.5%)。MP 抗体 ELISA 检测结果显示,114 例为阳性,15 例为阴性。两种方法检测结果的阳性符合率为 88.4%(114/129),阴性符合率 75.8%(47/62),总符合率 84.3%(161/191)。两者一致性检验, $Kappa = 0.642$ ($P = 0.001$),表明两试剂盒检测结果一致。Spearman 相关性分析表明两种方法检测结果存在相关性($r = 0.642$, $P = 0.025$)。见表 2。

2.2 不同滴度样本中特异性抗体亚型的分布 将凝集法检测结果阳性的样本分成三组,低滴度组(1:160 及 1:320, $n = 65$ 例),中滴度组(1:640 及 1:1280, $n = 36$ 例)和高滴度组(1:2560 及以上, $n = 28$ 例),三

个滴度组样本的 IgM、IgA、IgG 抗体的 ELISA 法检测结果分别见表 3 和图 1。

表 1 被动凝集法检测结果

组别	阴性区	阳性区	凝集法滴度				
			1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
例数	62	129	38	27	20	16	28

表 2 凝集法和 ELISA 法检测结果一致性比较

组别		凝集法		
		阳性	阴性	合计
ELISA	阳性	114	15	129
	阴性	15	47	62
	合计	129	62	191
χ^2 检验		$\chi^2=78.67, P<0.05$		
一致性检验		Kappa= 0.642, P= 0.001		

表 3 不同滴度区间下 ELISA 法阳性样本的分布

组别	IgM	IgA	IgG	IgM/IgA/IgG*
低滴度组 (n=65)	7	24	49	54
中滴度组 (n=36)	14	15	27	31
高滴度组 (n=28)	25	20	23	28
阳性区 (n=129)	46	59	99	113
χ^2 值	52.402	9.646	0.581	5.219
P 值	0.000	0.008	0.748	0.074

注：*IgM/IgA/IgG：三项检测结果中一项或多项阳性的样本例数

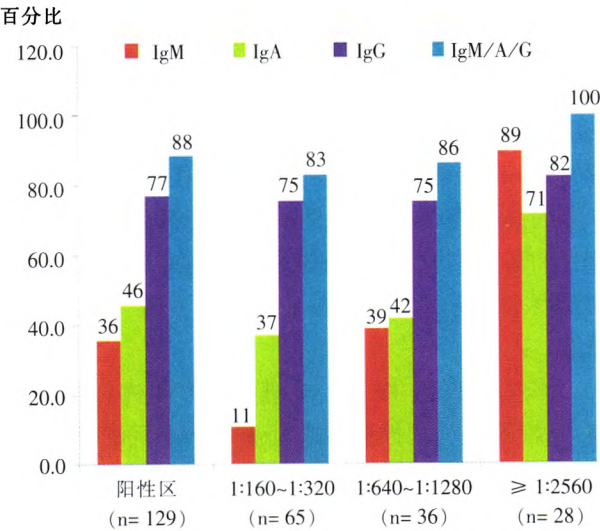


图 1 不同区组下 ELISA 法阳性率

由图 1 可知,阳性区间内,ELISA 法检测 IgM、IgA、IgG 和 IgM/IgA/IgG 阳性的样本比例分别为 36% (46/129)、46% (59/129)、77% (99/129) 和 88% (113/129)。比较低、中、高各滴度组之间各抗体亚型阳性的样本比例,Kruskal-Wallis 秩和检验结果显示

(表 3),其中 IgM 及 IgA 阳性的样本在不同滴度组中的比例差异均有统计学意义(P 均 <0.05),即随着抗体滴度由低到高,IgM 及 IgA 亚型阳性的样本比例增加;而 IgG 亚型及亚型组合 IgM/A/G 阳性的样本比例在不同滴度组之间差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。

2.3 各滴度组中样本的病程分析 根据抗体亚型产生的时间规律及半衰期的差异,抗体亚型的检测结果可提示疾病进程。一般情况下,血清中只有 IgM 抗体阳性则提示早期感染,只有 IgM 及 IgA 阳性提示初次感染,只有 IgG 抗体阳性提示既往感染,IgM、IgA 及 IgG 均为阳性、IgM 及 IgG 阳性或 IgA 及 IgG 阳性均提示初次感染或现症感染,且不能排除再次感染的可能。

ELISA 抗体分型检测的结果提示,凝集法检测阳性样本中可能的现症感染样本数合计 75 例 (58.1%),既往感染 34 例 (26.4%) (表 4)。

其中凝集法高滴度组样本中初次或现症感染占 96.4%,既往感染只有 3.6%。而在凝集法的低、中滴度组样本中既往感染病例分别占 38.5%和 22.2%。可见既往感染的病例主要集中在低、中滴度的样本中,现症感染主要集中在高滴度的样本中(图 2)。临床病历资料也显示,28 例高滴度患者中,确诊 MP 感染病例 26 例。

根据抗体亚型判断为现症感染的患者中两名有间隔 1 w 以上的两次血清学检测。其中一位患者双份血清的凝集法滴度均为 1:2560,ELISA 法 IgM 抗体检测也均为阳性,而 ELISA 法定量检测 IgG 的浓度分别为 25.98 RU/mL 及 96.64 RU/mL。另一患者双份血清凝集法的滴度为 1:640 及 1:2560,IgM 抗体检测仅第二次为阳性,但 IgG 的浓度分别为 78.99 RU/mL 及 272.78 RU/mL。这两名患者前后双份血清中的 IgG 抗体浓度的上升幅度均为 3~4 倍左右,并且一人有 IgM 抗体阳性转变,因此依据血清学的诊断标准,可确诊为 MP 的现症感染。双份血清 IgG 定量结果与依据亚型所提示的病程一致。

2.4 特异性抗体亚型在不同年龄段中的分布 图 3 显示不同年龄群存在抗体亚型的差异。IgM 阳性率在幼儿组及青少年组中最高 (43.3%、36.1%),在老年组中最低 (0.0%)。IgG 和 IgA 在老年组中的阳性率均为最高,分别为 100.0%和 66.7%。

3 讨论

凝集法因其灵敏度高,操作简单,结果稳定,在日常检测中广泛应用。与凝集法相比,ELISA 法的优

表 4 凝集法阳性区间内 ELISA 法结果对应的疾病窗口期

组别	凝集法滴度 ≥ 1:160 阳性率[n(%)]	可能的疾病窗口期
IgM	6(4.7)	早期感染
IgM+IgA	4(3.1)	初次感染
IgM+IgA+IgG	22(17.1)	初次感染或现症感染
IgM+IgG	14(10.9)	初次感染或现症感染
IgA+IgG	29(22.5)	初次感染或现症感染
IgG	34(26.4)	既往感染
IgA	4(3.1)	-
全阴	15(11.6)	无感染
合计	129(100.0)	-

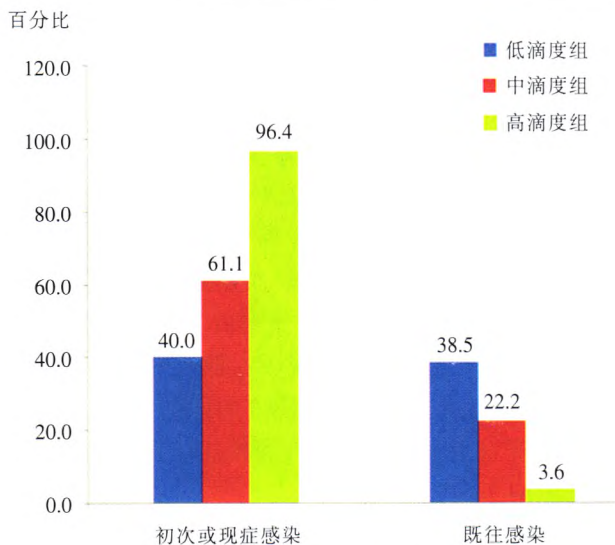


图 2 不同滴度组下的疾病进程

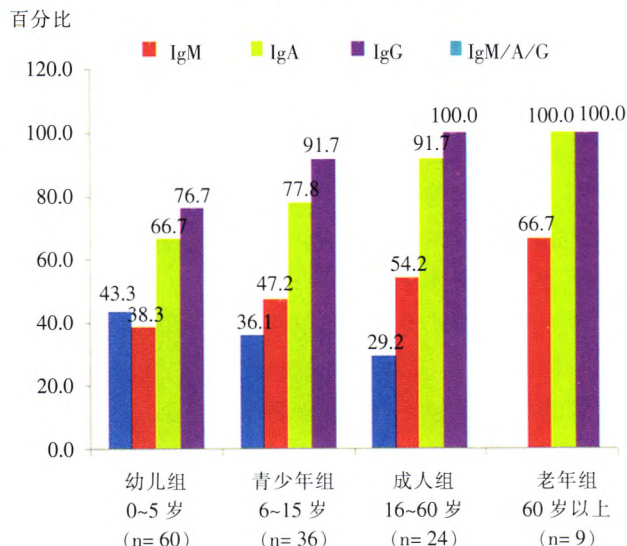


图 3 不同年龄段中亚型抗体的结果

势是可以鉴别抗体的亚型，而这些亚型与感染的病程相关。本文研究对 191 例 MP 感染疑似病例同时进行凝集法和 ELISA 法的检测，比较总抗体滴度水平与抗体分型的相关性，探讨两种血清学检测方法

的临床诊断意义，以期更好的解读实验室检测结果。

本文研究结果显示，凝集法和 ELISA 法的检测总符合率为 84.3%，129 份凝集法阳性样本中，IgM/IgA/IgG 三种亚型任一阳性的 ELISA 结果与凝集法检测的阳性符合率为 88%。两种方法之间符合率的差异，可能是两种方法灵敏度上的差异，也可能是凝集法方法学上存在的非特异性，如对生殖期支原体的交叉反应。

凝集法阳性的 129 例样本中，MP 特异性 IgM，IgA 和 IgG 抗体的阳性检出率分别为 36%、46%和 77%。结果表明，凝集法阳性样本中检测到的特异性抗体主要亚型是 IgG。然而，很多情况下临床上会把凝集法的阳性结果等同于 IgM 抗体的阳性检出，显然会造成相当程度的 IgM 假阳性^[14]。IgM 抗体产生于急性感染期，而单独的 IgG 阳性血清提示既往感染，凝集法结果的错误解读将直接导致既往感染与急性感染或现症感染的混淆，进而会带来不必要的抗生素治疗。这也可能是目前 MP 血清学检测阳性率明显高于实际感染率的原因之一。本文研究病例的临床诊断资料亦说明了这点。最终 129 例凝集法阳性患者中，临床确诊为 MP 感染的只有 76 例，确诊比例仅占 58.9%，其余患者主要确诊为急性上呼吸道感染、化脓性扁桃体炎、传染性单核细胞增多症、病毒性发热、支气管肺炎、肺炎等其他疾病。

针对阳性样本间存在的特异性 IgM、IgA 和 IgG 分布差异，本文研究发现 IgM 及 IgA 抗体阳性的样本数随着凝集法滴度的上升而明显增加，而 IgG 抗体阳性样本数变化不明显。在低、中、高滴度组中 IgM 阳性的样本比例增加尤为明显，分别为 11%、39%、89%，两者呈正相关。特别是在凝集法 1:2560 以上的高滴度区，IgM 阳性的样本比例达到 89%。因此我们建议，若要以凝集法来替代 IgM 检测，只有在高滴度水平下二者相关性才更好，可用于提示急性感染。

本文研究以 ELISA 法对 MP 抗体进行分型检测，分析凝集法阳性样本中处于不同病程的比例。结果表明，在凝集法阳性的 129 例样本中，既往感染率 26.4%，现症感染率 58.1%。现症感染率随着滴度上升而增加，在高滴度组内，现症感染率高达 96.4%。因此本文研究提示如以凝集法检测结果来确诊现症感染，高滴度下才有参考意义。临床病历的分析结果也支持这一结论，129 例凝集法阳性患者中确诊为 MP 感染的实际为 76 例，确诊率仅为 58.9%。而 28 例高滴度患者中，确诊 MP 感染病例 26 例，确诊率

达 92.8%。

关于凝集法的临界值,以往的研究^[15]分别采用了不同滴度,即 1:40,1:80,1:160。根据本文研究数据,建议以滴度 1:160 为凝集法筛查 MP 感染的临界值,此滴度以上的样本中 IgM 抗体阳性的样本比例为 36%,显著高于 1:160 滴度以下阳性样本的比例(8%),且该滴度以上的样本中 MP 的确诊率也达到 58.9%,高于 1:160 滴度以下的 11%。同时,建议以滴度 1:2560 作为确诊现症感染的参考值,此时凝集法结果与 IgM 结果的阳性符合率达到 89%,而综合 IgM、IgA、IgG 三亚型结果提示的初次或现症感染可高达 96.4%。但是本文研究提出的凝集法临界值问题还需要多中心大样本的研究进一步探讨及验证。

比较 MP 抗体各亚型阳性的样本在四个年龄组的比例发现,幼儿组及青少年组人群中的 IgM 阳性样本的比例(43.3%和 36.1%)高于成年组(29.2%)和老年组(0.0%)人群,结果提示急性感染的标志性抗体 IgM,在老年人中检出率低,而在儿童、青少年中检出率高;特异性 IgG 阳性的样本比例则随着年龄相应上升,分别为幼儿组 66.7%,青少年组 77.8%,成人组 91.7%,老年组 100%;而老年人中特异 IgA 抗体阳性的样本比例也高达 66.7%,明显高于其他三个年龄组。上述结果与以往的研究^[16]报道一致。急性感染后 IgM 的水平和持续时间在不同个体中差异较大,MP 感染在幼儿及儿童中引起更强的免疫应答。随着年龄增长,成人免疫系统完善及对病原体暴露增多,应答产生的 IgM 水平降低,或者不产生,部分成人患者无法在 MP 感染后观察到 IgM 的显著升高。MP 特异性 IgA 的免疫反应与 IgM 类似,但其在成年人尤其是老年人中的反应水平更高。因此联合检测抗 MP 抗体 IgM、IgA、IgG,可以更早且全面诊断 MP 感染。

定量 ELISA 法可检测患者间隔 2 w 的双份血清中 IgG 抗体水平的变化,此项检测是 MP 感染确诊的国际标准,虽然不能及时指导急性期治疗,但可作为延迟性或回顾性诊断。单次 IgG 抗体阳性或混合亚型抗体阳性仅表明有过病原体感染,不一定是现症感染,而目前临床上还是多采用单份血清的检测,这也可能是国内报道中的社区获得性肺炎患者中实际感染率要明显小于血清学抗体检测阳性率的原因。本文研究中也仅有两名患者提供双份血清,且两名确诊患者前后双份血清中的 MP IgG 抗体浓度的上升幅度均在 3~4 倍左右,符合 MP 感染的诊断标

准。因此,如情况允许,临床检测特异 IgG 抗体时应尽量采用双份血清,或者同时参考抗体 IgM、IgA、IgG 的检测结果判断 MP 感染。

总之,凝集法的结果无法区分抗体亚型,因而也不能区分现症感染和既往感染。凝集法的滴度不能代表 IgM 亚型抗体的水平,特别是在低滴度水平下占主导的主要是 IgG 抗体,只有在高滴度下凝集法结果与 IgM 抗体的检测结果才有良好的对应。本文研究建议分别以滴度 1:160 作为凝集法的筛查临界值,而以高滴度 1:2560 为确诊现症感染的参考值。凝集法的临界值实际上是在疾病人群和健康群体上得出的一个统计性结论,考虑到个体的差异,如年龄和既往感染史等,建议判断现症感染需要同时参考抗体 IgM、IgG 和 IgA 亚型的检测结果,这尤其有助于对无双份血清的患者的临床诊断。

4 参考文献

- 1 刘又宁,陈民钧,赵铁梅,等.中国城市成人社区获得性肺炎 665 例病原学多中心调查.中华结核和呼吸杂志,2006,29:3-8.
- 2 汤文红,曹秀章.小儿呼吸道肺炎支原体感染发病趋势及临床分析.临床儿科杂志,2005,23:562-563.
- 3 Cunha BA. The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance. Clin Microbiol Infect, 2006, 12:12-24.
- 4 马敏,曹兰芳,陆伟蓉.血清 MP-IgM、MP-IgA 和 MP-IgG 在儿童肺炎支原体感染诊断中的意义.中华国际医学杂志,2003,3:4-6.
- 5 张蓓,余晓刚,沈立崧.小儿肺炎支原体感染的血清学检测及临床应用.上海医学检验杂志,2001,16:35-36.
- 6 张爱丽,季伟,王宇清,等.双份血清抗体检测在小儿肺炎支原体感染中的临床意义.苏州大学学报(医学版),2008,28:638-639.
- 7 赵茹,黄莉,季伟.双份血清 MP 抗体及痰 MP-PCR 检测在儿童肺炎支原体感染诊断中的价值.江苏医药,2008,34:1282-1283.
- 8 Liu CL, Wang GQ, Zhang B, et al. Mycoplasma pneumoniae pneumonia in hospitalized children diagnosed at acute stage by paired sera. Chin Med J(Engl), 2010, 123:3444-3450.
- 9 Templeton KE, Scheltinga SA, Graffelman AW, et al. Comparison and evaluation of real-time PCR, real-time nucleic acid sequence-based amplification, conventional PCR, and serology for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae. J Clin Microbiol, 2003, 41:4366-4371.
- 10 Loens K, Goossens H, Ieven M. Acute respiratory infection due to Mycoplasma pneumoniae: current status of diagnostic methods. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010, 29:1055-1069.
- 11 翟燕,虞人杰.血清特异性抗体测定在肺炎支原体感染早期诊断的意义.中华儿科杂志.1993,31:101-102.
- 12 杨曙光,黄波,江吉富.肺炎支原体抗体阳性与临床关系的探讨.遵义医学院学报,1997,20:50-51.

(下接第 178 页)

结构域的缺失和突变能导致 PI3K 的激活^[5,6]。本研究检测了大肠癌组织中 PI3K 的蛋白表达情况和基因表达水平,结果表明:PI3K 蛋白在大肠癌旁正常黏膜组织中呈局灶性低表达或阴性,而在大肠癌组织中表达的阳性率显著升高;通过基因表达水平的统计学分析,发现大肠癌组织中的 PIK3R1 基因表达水平显著高于癌旁正常黏膜组织。结果提示 PI3K/Akt 信号通路在正常组织中即存在,行使正常的信号转导功能,维持细胞增殖、分化、凋亡等生理过程,只是在某些因素的刺激下才被异常激活,PI3K/Akt 信号通路的异常活化可能在大肠癌发生发展过程中起关键作用。这与国外在人类大肠癌方面的研究^[7,8]发现相似。

3.2 VEGF 在大肠癌中的表达及临床意义 肿瘤组织的血管形成与肿瘤生长、浸润及转移密切相关,VEGF 是一种特异性的内皮细胞有丝分裂原,能促进内皮细胞增殖,诱导新生血管形成,在肿瘤的血管形成中起主要作用,也是最有效的促血管生长因子。

本研究检测了大肠癌组织中 VEGF 的蛋白表达情况和基因表达水平,结果表明:VEGF 蛋白在大肠癌旁正常黏膜组织中呈低水平表达或阴性,而在大肠癌组织中表达的阳性率显著升高,并且与 PI3K 蛋白的表达呈正相关;通过基因表达水平的统计学分析,发现大肠癌组织中的 VEGFA 基因表达水平显著高于癌旁正常黏膜组织。结果提示正常成人体内 VEGF 水平维持在一个较低水平,只有在生理需要或病理的情况下,如胚胎形成、骨骼生长等以及肿瘤形成的过程中出现 VEGF 的过度表达,促使血管生成急剧增加。现有研究^[9,10]表明,VEGF 通过选择性地与血管内皮细胞上高亲和力的受体酪氨酸激酶结合,使受体磷酸化而刺激内皮细胞迁移与增殖,其作用通过 PI3K/Akt 信号通路来实现,这可以很好的解释 VEGF 与 PI3K 表达正相关的结果。其作用机制可能是 VEGF 通过 PI3K 通路激活抗凋亡激酶 Akt/PKB 而发挥抗凋亡作用^[10]。

综上所述,本文研究结果表明在大肠癌组织中,PI3K 和 VEGF 表达水平均明显高于癌旁正常黏膜

组织,提示 PI3K 和 VEGF 在大肠癌的发生、发展过程中起重要作用。进一步扩大研究对象、采用多种标本类型及指标深入地研究 PI3K 和 VEGF 与大肠癌发生、发展的临床意义,将有助于寻找大肠癌早期诊断的敏感标志物,为进一步基因诊断和治疗提供分子依据。

4 参考文献

- 1 Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science*, 2004, 304:554.
- 2 HASHMOTO I, KODAMA J, SEKIN et al. Vascular endothelial growth factor C expression and its relationship to pelvic lymph node status in invasive cervical cancer. *Br J Cancer*, 2001, 85:93-97.
- 3 Ferrar N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*, 2003, 9:669-676.
- 4 Osaki M, Oshimura M, Ito H. PI3K-Akt pathway. Its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis*, 2004, 9:667-676.
- 5 Chang F, Lee JT, Navolanic PM, et al. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Leukemia*, 2003, 17:590-603.
- 6 Philp AJ, Campbell IG, Leet C, et al. The phosphatidylinositol3-kinase p85 alpha gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors. *Cancer Res*, 2001, 61:7426-7429.
- 7 Colakoglu T, Yildirim S, Kayaselcuk F, et al. Clinicopathological significance of PTEN loss and the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in sporadic colorectal neoplasms is PTEN loss predictor of local recurrence. *Am J Surg*, 2008, 195:719-725.
- 8 Ollikainen M, Gylling A, Puputti M, et al. Patterns of PI3KCA alterations in familial colorectal and endometrial carcinoma. *Int J Cancer*, 2007, 121:915-920.
- 9 Li CY, Shan S, Huang Q, et al. Initial stage of tumor cell-induced angiogenesis: Evaluation via skin window chambers in rodent models. *Natl Cancer Inst*, 2000, 92:143-147.
- 10 Conde E, Angulo B, Tang M, et al. Molecular context of the EGFR mutations: evidence for the activation of mTOR/S6K signaling. *Clin Cancer Res*, 2006, 12:710-717.

(收稿日期:2013-07-31)

(本文编辑:张志成)

(上接第 155 页)

13 张化涛,张磊. 196 例呼吸道感染患儿血清中肺炎支原体抗体滴度测定及意义. *山东医药*, 2010, 50:66-68.

14 姚雯颖,赵军. 抗肺炎支原体抗体 IgM 检测的临床应用. *检验医学与临床*, 2009, 6:1679.

15 顾敏,刘佳强,蒋最明. 血清肺炎支原体抗体效价测定的临床应用.

国际医药卫生导报, 2009, 15:88-90.

16 刘引,王子才,方浩,等. 肺炎支原体 IgM 测定的临床意义. *临床儿科杂志*, 2005, 23:560-561.

(收稿日期:2013-07-31)

(本文编辑:陈淑莲)