

胆囊胆汁 CEA 放射免疫分析

杨军¹ 吴友胜¹ 龚少敏² 陈健¹ 周峰²

【摘要】 目的: 胆汁预处理测定癌胚抗原(CEA)并探讨胆囊胆汁 CEA 放射免疫分析的临床意义。方法: 取胆囊胆汁用无水乙醇处理, $38 \pm 2^\circ\text{C}$ 水浴吹干, 1g/LBSA 40 倍稀释(A-B 法), 去除胆汁中抑制物对 CEA 测定的干扰, 后用常规放免法测定 CEA, 同时分组观察结直肠良恶性疾病时 CEA 浓度的变化。结果: 重复实验和回收实验结果表明, 此法重复 5~6 次预处理胆汁样品后, 变异系数 $7.3\% \sim 11.8\%$, 回收率为 $56.7\% \sim 91.3\%$, 比不经处理胆汁样品直接加样测定, 检出值高出 4~19 倍。对临床结直肠良恶性疾病和结直肠肿瘤早期隐匿性肝转移具有较高的诊断价值。结论: 胆囊胆汁 CEA 测定 A-B 法预处理时间短, 方法简便, 是一般实验室都能开展的一种实用可靠的检测方法。

【关键词】 胆囊胆汁 癌胚抗原 结直肠肿瘤

Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in gallbladder bile Yang Jun, Wu Yousheng, Gong Shaomin, et al. Affiliated Hospital of Wuhan College for Medical Staff, Wuhan 430015

【Abstract】 Objective: To study the clinical significance of determining the level of Carcinoembryonic Antigen in gallbladder bile by RIA. **Methods:** Gallbladder bile was treated by absolute alcohol then was blown in $38 \pm 2^\circ\text{C}$ water tank for dry and was diluted by 1g/l Bovine Serum Albumin (A-B method). This new method may remove biliary inhibitors that may interfere the detection Carcinoembryonic Antigen (CEA). **Results:** Coefficient of variation was low ($7.3\% \sim 11.8\%$) and the rate of recovery high ($56.7\% \sim 91\%$). The result of detection rate with this method was markedly greater (4~19 times) than examining bile directly. It is of significant value in the diagnosis of colorectal neoplasma and early diagnosis of small latent liver metastasis from colorectal cancer. **Conclusion:** It is rapid and easy on methodology that gallbladder bile was treat by A-B method for the detection of CEA. This method is practical and reliable in ordinary laboratory.

【Key words】 Gallbladder bile Carcinoembryonic antigen Tumor, Colorectal

癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)是临床常用的诊断消化道肿瘤的指标之一。近年来,有人通过检测体液,特别是胆汁中 CEA 的含量来诊断胆囊的良、恶性疾病^[1],并作为判断结直肠肿瘤有否早期转移的重要指标^[2,3]。但是,应用放射免疫分析的常规方法时,因未对胆汁加以有效处理,胆汁中的某些成份可以抑制 CEA 的检测灵敏度。为此,我们对胆汁作放射免疫分析前预处理,以期提高检出率。

方 法

样品来源 选择胆道和结、直肠癌病人 35 例,于外科手术中抽取胆囊胆汁 5ml 左右。立即 $4\ 000\ \text{rpm}$ 离心 10min,取上层液待处理。

样品预处理 样品预处理采用两种方式进行。第一组取离心后胆汁上层液 0.1ml 置于青霉素小瓶中,加入无水乙醇 1ml,充分混匀,放置于 $38 \pm 2^\circ\text{C}$ 水浴吹干(约 1h 左右);再向青霉素小瓶中加不同量的 1g/l

牛血清白蛋白(BSA),即称为 A-B 法,取得 A-B 稀释曲线,根据稀释曲线选择合适的稀释度。第二组取离心后胆汁 0.1ml,直接用 1g/l BSA 作不同比例的稀释(称为 BSA 法),用以对比两种方法的灵敏度。

实验方法 作胆汁预处理 A-B 法回收和重复实验,检验方法学灵敏度和可靠性;比较胆汁预处理和不处理结果差异,比较胆汁预处理和不处理对血清比值的差异,并检测部分临床病人胆汁。放免药盒采用 3V 放免诊断技术公司的产品。处理后胆汁加样量 0.2ml,标准管容量差用蒸馏水补齐,全部双管平行测定,其它操作按药盒说明书进行。DFM-96 型多管放免 γ 计数器测样,Log-Logit 方式拟合曲线并计算结果。

结 果

1. 胆汁 CEA 两种预处理方法稀释曲线结果比较
胆汁 CEA A-B 预处理和 BSA 预处理稀释曲线见图1。由图1可以看出:两种方法稀释度在 40 倍时,检测浓度基本达到峰值,加大稀释倍数,检出浓度不再提高,稀释到 70 倍左右时,样品 CEA 浓度不可测。表1是两种方法稀释度曲线比较。由表1可见: A-B 法检测灵

¹ 430015 武汉市职工医学院附属医院核医学科

² 430015 武汉市职工医学院附属医院外科

敏度大于 BSA 法, 40倍时检测浓度高出46%, 50~ 60倍时则高出130%~ 160%。但由于峰值位于 40 倍左右, 故胆汁 CEA 预处理方法选用无水乙醇处理后, 40 倍 1g/l BSA 稀释即胆汁 CEA 测定预处理 A-B 法。

表 1 两种方法稀释曲线比较

稀释倍数	A-B(ng/ml)	BSA(ng/ml)	A-B/ BSA
10	177. 76	189. 86	0. 93
20	280. 97	253. 47	1. 11
30	329. 37	233. 43	1. 41
40	401. 95	275. 52	1. 46
50	411. 04	154. 53	2. 66
60	295. 91	126. 88	2. 33

2. 胆汁 CEA 重复实验和回收实验

4 组样品重复 5~ 6 次实验结果见表 2。其中无一份样品大于 ±2SD, 变异系数(CV%) 最大 11. 8%。说明此法重复性好。图 2 是胆汁 CEA A-B 预处理回收曲线。加入定量胆汁 0. 1ml, 加入已知含量 CEA 0. 1ml, 5ng/ml CEA 回收率为 56. 7%, 10ng/ml 为 82. 1%, 20ng/ml 为 91. 3%, 40ng/ml 为 88. 7%, 80ng/ml 为 89. 2%, 相关系数 r= 0. 9997, 说明回收较好, 检测结果可靠。未经处理的胆汁直接用于放免测定, 灵敏度极低, 经 A-B 法预处理后测定含量要高出不经处理的胆汁的测定含量 4~ 19 倍, 平均约 9 倍左右。

表 2 胆汁 CEA A-B 预处理重复实验结果(ng/ml)

组别	n	NR	M	SD	CV(%)
1	6	211. 80~ 258. 54	236. 64	17. 71	7. 4
2	6	24. 22~ 33. 61	28. 76	3. 41	11. 8
3	6	486. 41~ 608. 74	551. 53	54. 31	9. 8
4	5	297. 55~ 353. 93	318. 24	23. 22	7. 3

3. 病人样品 CEA 检测水平比较

表 3 是病人胆汁和血清 CEA 比值比较。预处理后的胆汁/ 血清与不处理胆汁/ 血清比较, 前者其比值远大于后者, 各组内都存在显著差异。

表 3 病人胆汁和血清 CEA 比值

疾病组	例数	预处理胆汁/ 血清	未处理胆汁/ 血清	P 值
胆囊炎	4	21. 93±7. 43	4. 25±3. 42	< 0. 01
胆道梗阻	6	55. 10±27. 03	9. 31±6. 92	< 0. 01
结直肠癌	11	81. 93±48. 21	9. 91±10. 05	< 0. 01
肝转移	6	47. 49±26. 94	4. 63±2. 58	< 0. 01

病人胆汁预处理和不处理测定 CEA 水平的结果见表 4。由表 4 可以看出: 经 A-B 法处理后的胆汁测定出的 CEA 含量远高于不处理的胆汁, 各组疾病内呈现显

著统计学差异。四组疾病间肝转移含量最高, 统计学分析除胆道梗阻与肝转移无统计差异外, 其余各组间均有显著差异, 但预处理后的胆汁测定结果其差异极显著, P 值< 0. 01, 而直接测定的胆汁结果 P 值< 0. 05。

表 4 病人胆汁预处理和未处理测定 CEA 水平(ng/ml)

疾病组	例数	预处理胆汁	未处理胆汁	P 值
胆囊炎	7	107. 10±33. 49	116. 43±8. 09	< 0. 01
胆道梗阻	9	697. 65±312. 40	117. 15±71. 66	< 0. 01
结直肠癌	13	378. 06±83. 08	144. 05±28. 54	< 0. 01
肝转移	6	960. 92±399. 06	105. 43±71. 88	< 0. 01

注: 四组疾病除胆道梗阻与肝转移组间比较 P> 0. 05 外, 其余各组间预处理胆汁 P< 0. 01; 未处理胆汁 P< 0. 05。

讨 论

CEA 是一种分子量 200 000 的糖蛋白, 胆汁中的 CEA 由于受到胆汁中胆酸、蛋白质和脂质等的抑制, 未经处理其检出浓度极低。又因为胆汁成份个体之间有明显差异, 抑制物成份越多, 检出浓度越低。因此不经处理时检出结果误差极大, 常给临床诊断带来困难^[2]。单用 BSA 稀释, 虽可调节等电点, 去除胆酸的抑制^[1], 但无法去除其它大分子蛋白质和脂质的抑制。我们用无水乙醇使胆汁中抑制蛋白变性, 使脂质溶解, 而糖蛋白在乙醇中不会变性, 且即使有部分变性也能在适当的溶剂中恢复原来特性。结果证明, 用乙醇处理后再用 BSA 稀释, 检出含量高。重复实验和回收实验证明, 此法结果可靠。

近年认为浸浴于肿瘤部位的体液中相关肿瘤标志物浓度增高, 当结直肠肿瘤发生肝转移时, 胆汁中 CEA 含量增高^[3], 血清不一定能相应增高。本文结直肠肿瘤高于胆囊炎, 结直肠癌肝转移时胆汁 CEA 含量最高, 与无转移者相比具有显著统计学差异, 有胆道梗阻时, 由于胆汁淤积, 其胆汁中 CEA 浓度亦增高。结果显示, 胆汁 CEA 浓度测定, 对于结直肠肿瘤是否存在小的隐匿性肝转移灶, 即亚临床型肝转移具有明显的临床价值。

胆囊胆汁 CEA 测定 A-B 预处理方法是一种快速(1h)、高灵敏度的检测方法, 它比国内有人采用的单纯 BSA 稀释法检出灵敏度高, 比国外采用的过氯酸处理法简便、快速, 且无需过多的设备, 在目前国内一般实验室条件有限的情况下, 它是一种实用可靠的检测方法。

参考文献

1 吕德明, 梁力建, 彭宝岗, 等. 胆囊胆汁 CEA 测定诊断胆囊良恶性病变的价值. 中华消化杂志, 1994, 14: 79-81.
2 Yeatman TJ, Bland KI, Hollenbeck JJ, et al. Relationship between colorectal

liver metastases and CEA levels in gallbladder bile. Ann Surg, 1989, 201: 505

3 Yeatman TJ, Kimura AK, Copeland EM, et al. Rapid analysis of Carcino-

bryonic antigen levels in gallbladder bile. Ann Surg, 1991, 213: 113.

(1999-04-14 收稿)

• 短篇报道 •

先天性肩胛骨高位症 4 例报告

谭光喜 张晓磷 王晓鹏 陆蓬

先天性肩胛骨高位症又称肩胛骨下降不全,为一种先天畸形。国内文献报道不多,笔者报告我院 4 例。

病例报告

例 1,男,24 岁。咳嗽,发热 3 天来院就诊。检查:发育良好、营养中等、智力正常。左肩明显高于右肩,上举及外展度小、斜颈。心肺听诊无异常。X 线胸片示两肺清晰,胸廓对称,肋骨无畸形,左锁骨近端较右侧细,左侧肩胛骨明显升高内移,内上角平第 7 颈椎,颈₇左侧横突与胸₁₂椎左侧横突融合为一体,与肩胛骨内上角形成假关节(图 1)。

例 2,女,14 岁。因发现左侧胸廓畸形来院就诊。检查:发育智力正常。左胸廓上部凹陷,左肩明显升高,左上肢上举困难并有疼痛感,呈轻度斜颈。心肺听诊无异常。胸片示左肺透亮度降低,心脏肺动脉段稍饱满,左侧第 3、4、5、6 后肋纤细,第 3 肋呈叉状畸形,左肩胛骨上升内移,内上角平颈₇椎平面,左肩关节孟变浅。左侧胸锁关节较右侧高,左侧胸锁乳突肌较右侧肥大(图 2)。

例 3,女,20 岁。因咳嗽、左侧胸痛就诊。检查:发育智力正常。胸廓无畸形,左肩及左锁骨较高,左上肢上举困难。心肺听诊正常。X 线胸片心肺无异常,左侧肩胛骨明显升高内移,内上角达第 6 颈椎水平,左侧第 1、2 肋变细,脊椎未见异常,左肩胛骨关节孟变浅。

例 4,男,43 岁。因消化道出血来院就诊。检查:发育良好,营养中等。胸廓对称,左肩较右肩高,左上肢外展稍受限,上举不到位。X 线胸片示左侧肩胛骨上升内移,内上角达第 7 颈椎平面,内缘与胸椎横突重叠,左肩胛骨较右肩胛骨小,右侧肩胛骨最大垂直纵径 15.5cm,左肩胛骨最大垂直纵径 14cm,左侧关节孟较右侧小,左侧肩胛骨密度较右侧低。左侧锁骨中外段增粗,远端骨密度不均匀。两侧胸锁关节不对称,左侧低、右侧高,左侧第 1 肋变粗长,第 2 肋变细短。第 6、7 颈椎发育不良,可见椎裂及脊柱侧弯畸形。左颈部软组织较右侧发达,密度较高。心肺无异常(图 3)。

讨 论

先天性肩胛骨高位症由 Eulenburg 1863 年首先报道,1891 年

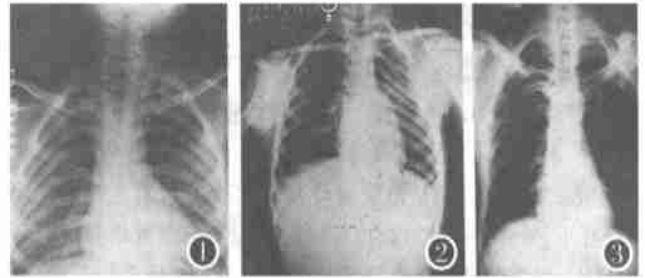


图 1 左侧肩胛骨升高,第 7 颈椎左侧横突与第 1、2 胸椎左侧横突融合。图 2 左侧肩胛骨明显升高内移,左侧第 3 肋呈叉状,第 3、4、5、6 后肋变细。图 3 左侧肩胛骨明显升高内移,双侧肩锁关节及胸锁关节不对称。左侧第 1 肋粗长,第 2 肋细短。

Sprengel 将其命名为 Sprengel 氏畸形^[1],系罕见先天畸形,有遗传性。原因是胚胎发育过程中肩胛骨下降和发育不良所致,因此,又称肩胛骨下降不全。正常胚胎第 5 周肩胛骨分别对应于颈₄₆椎体平面,9~12 周下降至 2~7 肋间的正常位置。当肩胛骨及肩胛带肌肉发育不良,肩胛骨与脊椎之间有异常组织连接而发生下降障碍致肩胛骨下降中断,终止于胸后较高位置。文献报道女性多于男性,本组男女各 2 例,绝大多数为单侧,双侧发病约占 10%^[1],由于是先天性的,故在出生就能发现。

临床主要表现为患侧上肢功能障碍,肩部畸形,活动受限,有的伴有胸廓畸形、脊柱侧弯、斜颈等。

X 线检查是诊断本症的唯一方法,主要表现为肩胛骨位置较高,形态较对侧小,发生内移,肩胛骨内上角可达颈₆₇平面,肩锁关节及胸锁关节与健侧不对称,锁骨、肋骨、脊椎都可出现变异,如肋骨发育小、叉状肋,脊椎畸形可为融合椎、蝴蝶椎、半椎、椎裂等各种畸形。典型表现为在肩胛骨与颈椎之间见到“肩胛脊椎骨”^[2]。诊断本症时应注意有否其它复合畸形。

参考文献

- 1 陈乙信.先天性肩胛骨高位症(附 9 例报告).中华放射学杂志,1998,22:234
- 2 上海第一医学院《X 线诊断学》编写组.X 线诊断学.上海:上海科学技术出版社,1978.432

(1999-03-26 收稿)