荧光 PCR 肿瘤检测试剂

名　称	英文缩写	产　品　简　介	优惠价
甲胎蛋白	AFP mRNA	原发性肝癌患者血中 AFPmRNA 阳性率 36%（23/64），对照组 48 例无一阳性（急慢性肝病和健康志愿者），肝外转移组阳性率 100%（6/6）。统计表明，AFP mRNA 的检出率与肿瘤大小、临床分期、AFP 血浆水平、门脉血栓形成及肝内外转移密切相关，血清 AFP 不能反应上述变化。	1200RMB/20 人份
细胞角蛋白 20	CK20 mRNA	结肠癌、胃癌、乳腺癌等许多上皮来源的癌细胞保留了上皮细胞的部分特征，Ck20 仅在结肠癌等细胞中表达，正常外周血为阴性。因此，可以作为结肠癌患者血中或骨髓中癌细胞转移的标志。	1200 RMB /20 人份
细胞角蛋白 19	CK19 mRNA	CK19 mRNA 可以作为乳腺癌患者骨髓及血中瘤细胞的标志。19 例临床 IV 期患者 4 例血中阳性，其中 1 例出现瘤性脑膜炎，且脑脊液中 CK19 mRNA 也阳性，6 例经过系统化疗，在自体骨髓移植前检测其骨髓，发现 5 例阳性，而细胞学检查均为阴性。以上结果表明，应用 RT-PCR 检测乳腺癌患者骨髓及血中 CK19 mRNA 对于判断乳腺癌转移、评价治疗效果有重要意义。	1200 RMB /20 人份
癌胚抗原	CEA mRNA	血清 CEA 蛋白的检测曾经广泛用于结直肠、胃癌、肺癌和肝癌的辅助诊断。最近发现，检测外周血中 CEAmRNA 可以确定结直肠癌等病人是否发生转移。另外，检测淋巴结中 CEAmRNA 可以确定各种消化肿瘤、乳腺癌是否发生转移。	1200 RMB /20 人份
尿激酶型纤溶酶原激活物	uPA mRNA	恶性实体瘤的侵袭、转移是治疗失败和病人死亡的主要原因，尿激酶型纤溶酶原激活因子 uPA 主要参与纤溶酶原的激活和细胞外基质的降解，是介导肿瘤转移侵袭、转移的主要因子之一。	1200 RMB /20 人份
基质金属蛋白酶	MMP9 mRNA		1200 RMB /20 人份
多药耐药基因	MDR1 mRNA	MDR1 的蛋白产物定位于细胞膜上的分子量为 170 kDa 的 P 糖蛋白（P-gp），可以将细胞内的药物排至细胞外，从而使细胞产生耐药。	1200 RMB /20 人份

一、 什么是肿瘤标志物?

肿瘤标志物可被定义为肿瘤细胞合成和释放的生物性物质或宿主响应肿瘤组织而产生的物质。目前临床上应用的肿瘤标志物的分类大致有：

1、癌胚抗原

2、胎盘蛋白

3、作为肿瘤标志物的酶和同功酶

4、激素

5、类固醇受体

6、免疫素型

7、DNA 分析

二、 肿瘤标志物检测的临床价值

肿瘤标志物项目测量是肿瘤有抗原或患者体内存在的有助于诊断分期、病情进展，对治疗有响应的检测和复发指示的物质。国外学者认为肿瘤标志物的潜在应用有以下几方面：

1、 一般人群中疾病的检查

2、 有症状患者的诊断

3、 临床分期中辅助诊断

4、 肿瘤体积的指示

5、 有助于选择适宜的治疗

6、 对治疗响应的监测

7、 预后的指示

8、 疾病复发早期测定

目前肿瘤标志物的主要临床价值是肿瘤分期、监测治疗响应、预测患者结果和检测恶性肿瘤的复发。

三、 为什么要开发肿瘤标志物的核酸检测?

国外学者认为，理想的肿瘤标志物其临床需要的特点是：

1、 对疾病的高灵敏度（没有假阴性结果，能检测微转移）

2、 对疾病的高特异性（没有假阳性结果，在无病个体中阴性）

3、 水平应反映出肿瘤的大小

4、 在病情稳定的患者中水平保持相对地恒定并且没有波动

5、 在完全缓解的患者中应该检测不到或是最低的

6、 在病因稳定的患者中应能预测结果

临床上，一种理想的肿瘤标志物应对疾病是高度灵敏的。换而言之，该肿瘤标志物对患特定癌的所有患者应是阳性。存在微转移时肿瘤标志物的检出水平应明显高于正常值，并且应具有预警性。肿瘤标志物应对某疾病具有高特异性，并且在健康人群、良性病患者和不同类的癌瘤中检测呈阴性或处于低水平上。在病情稳定的患者中，其表达水平应无波动，而在疾病的活动期应与临床和病理生理学改变相平行。例如：肿瘤标志物水平应与肿瘤负载相关，当肿瘤负载增加时肿瘤标志物应超过时段增加；经历成功地化疗病人应减少。在完全缓解的患者中应像无病状态般长时间的呈阴性或低水平状态，反之指标升高则预示有复发的可能。最后，当对恶性病的医疗处置无效时，初始及其系列肿瘤标志物的水平应具有预后价值。

但国内外专家普遍认为：目前尚无理想的肿瘤早期诊断及判断肿瘤转移的标志物，蛋白型肿瘤标志物可能难以解决这个问题，基因标志物应该是一个方向。

随着分子生物学技术的飞速发展及其在医学研究中的广泛应用，基因检测技术已为人们所熟知并接受，通过逆转录聚合酶链反应（RT-PCR）技术检测恶性肿瘤细胞标志物 mRNA 的表达，检测外周血中微量肿瘤细胞已成为可能并被尝试。RT-PCR 有着比病理学或 ELISA/RIA 等方法无法比拟的高灵敏度极相对的高特异性，为外周血中微量肿瘤细胞的检测带来希望。同时，如果对标本进行定量检测，将对监控病程、治疗效果、转移状况等方面提供更多的临床信息。无疑，这将是一个很有意义的工作。

四、 为什么要以外周血为恶性肿瘤标志物的核酸为检测标本?

目前肿瘤转移的发现和确定，主要靠临床及病理资料，根据影像学（X 光片、CT、磁共振、PET 等）或病理形态来诊断。但要使影像学检查中能够发现病灶，需要一定大小转移灶的形成、能够被仪器成像且有效分辨；要是病理形态上判断出细胞恶变与否，则一定要取到合适的检测标本，且有相当数量的可观察到的肿瘤细胞存在。从这一点上讲，无论是影像学诊断还是病理学诊断，都是肿瘤形成及转移后相当晚期、有了大量恶变细胞积累的极端，如果在肿瘤发生转移早期，在病理上可观察到或转移灶形成前就发现，并确定转移，则可以指导临床治疗方案的设计，并提供有力的预后依据。

血道转移是肿瘤扩散的主要途径之一，因才在患者外周血中进行肿瘤细胞特异性表达基因检测是

了解肿瘤转移情况的一个有效的方式，因此肿瘤标志物的检测对肿瘤形成及转移的诊断具有极大的帮助。但是在肿瘤转移发生的早期，外周血中的肿瘤细胞常常很少，无法完成依赖病理形态检查，同时肿瘤特异性抗原的含量也很少，也很难通过常用的酶标免疫吸附分析（ELISA）或放射免疫分析（RIA）等方法检测到，因此，对循环血中的微量肿瘤细胞基因表达和一些特异性产物检测的研究，已经引起人们的广泛关注。

五、核酸检测肿瘤标志物中，为什么要采用实时荧光定量 PCR 技术?

在实时荧光定量 PCR 检测技术出现之前，人们对 PCR 模板的定量不论是直接 PCR 还是竞争性 PCR，基本上都要通过 PCR 产物电泳，再将电泳结果经计算机图像处理，根据电泳条带的亮度来确定最终 PCR 产物量的多少，或将带标记的 PCR 产物以 ELISA 的方式进行检测，再由此推测起始模板的量的多少，但这些方法实际上属于半定量水平，因为即使 PCR 条件已最优化，电泳及后续步骤的操作的不稳定性仍会给结果分析带来影响，从而影响定量这一目的。随着实时荧光定量 PCR 技术的出现，人们可以真正地做到对 PCR 模板的精确定量，这种定量不仅保持了常规 PCR 的高灵敏性，而且由于特异性荧光探针杂交技术的应用，使得被检测基因的特异性大大提高。

六、AFP mRNA 表达水平检测的临床意义

AFP 是 1956 年由 Bregstrand 等首次发现的血清蛋白成分。1963 年 Abelev 等首先报道了它与肝细胞的密切关系。

原发性肝癌细胞大量表达的 AFP 也是一种较为特异的肿瘤标记物。有大量的文献报道利用 RT-PCR 技术检测肝癌患者外周血中 AFP mRNA 的表达。结果表明，AFP mRNA 在健康志愿者、非肝癌恶性肿瘤患者外周血中均为阴性；在肝细胞癌组外周血中 AFP mRNA 的检出率（61.5-67.7%）明显高于对照性乙型肝炎或肝硬化组（0-13.3%）。AFP mRNA 检出率与临床分期、门静脉癌栓、肝外转移显著相关。经 1 年的随访发现治疗后外周血 AFP mRNA 阳性与肝癌患者预后有显著相关。在血清 AFP<25 ug/L 的肝癌病人血中，58.3%可检出 AFP mRNA。AFP mRNA 可作为血循环中有肝癌细胞或肝细胞的标志物，在肝癌患者，用此方法可以较目前其他检查方法更早发现肝癌患者体内的血行微转移灶，阳性预示有血源性转移的可能，可作为预测肝癌复发、转移的参考指标；AFP mRNA 可作为定性诊断原发性肝癌的血液学指标，也可作为肝癌细胞转移的标志，并可判断肝癌临床分期、转移倾向、预后和复发。并且 AFP mRNA 对血清 AFP 阴性或低值的肝癌患者能起到补充诊断作用。该方法在 1 ml 血中含有≥5 个干癌细胞时即可检测到 AFP mRNA。

另有文献报道，应用巢式 RT-PCR 方法检测肝癌患者手术和 TAE 术前后外周血中 AFP mRNA 的表达，结果表明，手术术前 AFP mRNA 阳性患者术后有 57.1%转阴，随访观察术前或术后 AFP mRNA 阳性患者中发生肝内复发率为 50.0%，而术前或术后 AFP mRNA 均为阴性患者中除肝内转移者仅为 14.3%，随访期间未发现患者术后发生远处转移。TAE 患者术前阳性者依然全部阳性，未发现有转阴者；阴性患者中有 18.2%转为阳性。随访观察发现 AFP mRNA 阳性患者肝内、肝外转移发生率和 AFP mRNA 阴性患者差异显著。手术切除原发灶可消除播散肝癌细胞的来源，但手术亦可能激活癌细胞而产生血道播散；而 TAE 可能促使原发性肝癌发生血道播散，临床可给予积极治疗，预防肝外转移的发生。同时，检测肝癌患者外周血中的 AFP mRNA，是一种灵敏的预后诊断方法。

七、CK19、CK20 mRNA 表达水平检测的临床意义

细胞角蛋白是一类细胞结构蛋白的总称，根据相对分子量、等电点等不同可分为 1-20 种片段。其中肿瘤细胞中含量最丰富者为 18（CK18）和 19（CK19）片段。CK19、CK20 等细胞角蛋白为上皮来源的细胞所特异性表达，在外周血及淋巴结中应无表达这些蛋白的细胞。如果在外周血或淋巴结中检测到 CK19、CK20 的 mRNA，则表明有上皮来源的细胞存在，如果是肿瘤患者，则应考虑通过血道和淋巴结发生微转移的可能。早期诊断和及时发现微转移现象对于临床治疗和判断预后有着重要意义，在这一方面已积累了大量的研究文献。

有文献报道，采用 RT-PCR 技术检测肿瘤患者外周血 CK19、CK20 mRNA 的表达，40%肺癌外周血标本中 CK19 mRNA 阳性，6.6%肺良性病变中阳性，正常人为阴性。有转移的肺癌患者，其外周血 CK19 mRNA 均为阳性，20%检测时尚无转移证据者为阳性。胃癌病人外周血中检测出 CK19 mRNA 阳性率 30.9%，阳性结果与肿瘤大小、浸润深度和肿瘤分期密切相关。正常人外周血中 CK20 mRNA 阴性，大肠癌患者 CK20 mRNA 检出率达 40.4%，其中 Dukes B,C,D 期患者外周血 CK20 mRNA 检出率分别为 25.0%，41.2%和 87.5%。肝转移患者 CK20 mRNA 检出率为 87.5%，无肝转移患者检出率为 30.8%。CK19、CK20 mRNA 检测可作为上皮来源肿瘤患者外周血微转移指标，有助于预测肿瘤复发及转移，识别高危患者。

另外一项以 CK20 mRNA 为指标检测手术治疗的大肠癌患者血液中结肠癌细胞。结果 59.63%病人外周血、75.9%的门静脉血中阳性，阳性检出与 Duke’s 分期、淋巴转移显著相关。门静脉血 CK20 扩增阳性者，术后发生肝转移机会增加，外周血 CK20 的检测可帮助综合判断疾病恶性程度及患者预后，研究大肠癌患者外周血微转移对化疗的反应及其与相关基因的关系，有助于知道辅助治疗药物的选择和治疗方案的确定，可作为临床个体化治疗的重要参考。为指导辅助治疗提供了理论依据。

在大量对乳腺癌、胃癌、食管癌、肺癌和大肠癌患者的淋巴结中检测 CK19、CK20 mRNA 表达

的研究中，正常对照淋巴结 RT-PCR 结果均为阴性，病理检查有转移的淋巴结 RT-PCR 结果均为阳性，病理检查阴性的淋巴结中有 9.1-25%为 RT-PCR 结果阳性，说明 RT-PCR 法检测 CK19、CK20 mRNA 结果较病理组织学检出淋巴结敏感性更高，其结果可能对改进分期和治疗方案具有积极的临床意义。

八、CEA mRNA 表达水平检测的临床意义

癌胚抗原最初是大肠癌组织中抽提的抗原，也存在于胎儿的肠管中。1965 年，Gold 等发现 CEA 之初，曾认为它对于大肠癌等消化道肿瘤是特异性的标志物，其后的研究表明不仅消化道肿瘤，其他肿瘤也可不同程度地表达 CEA。

CEA 是在胃肠道肿瘤细胞中表达的较为特异的肿瘤标记物。有作者报道应用巢式 RT-PCE 检测肿瘤组织及此肿瘤标本的远端边缘组织、良性消化道疾病组织的 CEA mRNA 表达，结果肿瘤组织 37 例（84.1%），肿瘤远端边缘组织 13 例（29.5%），良性疾病组织 3 例（12.5%）CEA mRNA 阳性。CEA mRNA 指标诊断消化道恶性肿瘤的特异性为 87.5%、敏感性为 84.1%。由此认为检测组织 CEA mRNA 指标诊断消化道恶性肿瘤的特异性和敏感性均较高，尤其在检测组织远端微小瘤灶方面有较大优势。

在探讨应用巢式 RT-PCR 技术检测胸水标本 CEA mRNA 指标鉴别诊断恶性胸水的应用价值方面，有研究表明，恶性胸水 CEA mRNA 的阳性检测率达 79.5%、而良性胸水仅为 5.9%。CEA mRNA 指标的特异性为 94.1%、敏感性为 79.5%，因此在诊断和鉴别诊断恶性胸水方面，CEA mRNA 是一个特异性和敏感性较好的实用指标，具有应用价值。另外，用 RT-PCR 方法测定腹腔冲洗中游离细胞的 CEA mRNA 表达，同时做冲洗液细胞学检查（PLC）的研究表明，腹腔冲洗液游离细胞的 CEA mRNA 表达量随病期的进展、浸润程度的加深而逐渐升高；因胃浆膜类型和大体类型的不同其阳性级别亦存在明显差异。该方法对于检测腹腔微量游离癌细胞较 PLC 有更高的灵敏性和特异性，是一种检测胃癌腹膜微转移的较好方法。

在用 RT-PCR 方法检测正常人及肿瘤病人外周血有核细胞成分中的 CEA mRNA 的研究中，肿瘤患者的阳性率为 54.35%，而正常对照者均为阴性。肿瘤临床分期为 III、IV 期的患者血清 CEA mRNA 检出率明显高于 I、II 期的病人，临床有远处转移者 CEA mRNA 阳性率明显高于无远处转移者。但外周血检测 CEA mRNA 与血清 CEA 水平无显著性关系。CEA mRNA 的检出率随病程的进展而升高，而 CEA 与病程无明显的相关性。RT-PCR 是肿瘤微循环检测的灵敏方法，血中 CEA mRNA 阳性提示肿瘤的早期转移。

九、uPA mRNA 表达水平检测的临床意义

恶性实体瘤的侵袭、转移是治疗失败和病人死亡的主要原因，尿激酶型纤溶酶原激活因子 uPA 主要参与纤溶酶原的激活和细胞外基质的降解，是介导肿瘤转移侵袭、转移的主要因子之一。

通过核酸杂交技术检测胃癌及其癌旁组织中 uPA mRNA 表达的研究表明，癌与癌周比较，uPA 阳性表达率明显升高，在伴有淋巴结转移的病例 uPA 阳性率为 65.5%，无转移的则为 28.6%。在浸润至基层、浆膜层的病例 uPA 阳性率为 65.8%，浸润到黏膜和黏膜下层病例阳性率为 15.4%和 26.9%。另一项类似研究表明，胃癌、近癌旁和远癌胃组织 uPA mRNA 表达阳性率分别为 85%、31%和 10%。早期胃癌为阳性表达，进展期胃癌、有浆膜侵袭和淋巴结转移的胃癌呈显著高表达。这些研究均说明 uPA 表达在胃癌中明显升高，与胃癌浸润转移密切相关。

检测涎腺肿瘤组织 uPA mRNA 表达的研究表明，良性肿瘤组织 uPA mRNA 表达无明显升高，恶性肿瘤组织 uPA mRNA 含量显著高于相应癌旁组织和良性肿瘤组织，uPA 的表达水平与淋巴结转移关系密切，伴有淋巴结转移和肺转移的癌组织 uPA 高于无转移者。涎腺肿瘤组织 uPA 表达明显增强，表达水平与肿瘤的转移能力相关。

在对人脑胶质瘤的临床研究中发现，高级别胶质瘤较低级别和正常脑组织 uPA mRNA 表达水平明显增高，低级别胶质瘤与正常脑组织的表达无显著差异，术后 18 个月内复发和生存期小于 3 年者，uPA mRNA 表达显著高于术后 18 个月无复发及生存期大于 3 年者，uPA mRNA 表达水平与胶质瘤微血管数量呈显著相关，与患者性别、年龄及肿瘤大小无显著相关。UPA 基因表达与人脑胶质瘤恶性度、侵袭性及血管生成有关，对胶质瘤的复发和预后有一定的意义。

另外，伴肝内浸润和转移癌组织中 uPA mRNA 水平明显高于无肝内浸润和转移肝组织，高分化 HCC 癌组织与中、低分化 HCC 相比，uPA 差异显著，这些结果表明癌组织内 uPA 与 HCC 浸润、转移机细胞分化密切相关。

值得注意的是，肾癌组织 uPA mRNA 表达水平低于癌旁组织，并与病理分级呈负相关。导致这一现象的原因仍在研究中。

目前还未有系统研究肿瘤患者尤其是有转移的患者外周血中 uPA mRNA 表达的数据，但这也是很值得研究的一个方面。

十、MDR1 mRNA 表达水平检测的临床意义

MDR1 的蛋白产物定位于细胞膜上的分子量为 170 kDa 的 P 糖蛋白（P-gp），可以将细胞内的药物排至细胞外，从而使细胞产生耐药。

一项研究表明，对不同类型白血病患者 MDR1 mRNA 的表达进行 RT-PCR 检测，ANLL 的初始敏感、完全缓解和复发难治组 mdr-1 阳性表达分别为 0%、4.54%、59.09%，在 ALL 则分别为 0%、0%、33.33%。另有研究表明，初治组 mdr-1 的阳性表达率为 35.00%，复发、难治组 mdr-1 阳性表达率

为 84.62%，正常骨髓对照均为阴性表达，mdr-1 阳性与 mdr-1 阴性患者的完全缓解率分别为 21.00-22.22%和 73.33-82.00%，临床耐药与非耐药组 mdr-1 阳性检测率分别为 77.78%和 26.67%。因此 mdr-1 表达可作为一个临床化疗耐药指标，有助于白血病个体化疗方案制定。

MDR1 的表达与许多实体瘤如肝癌、肺癌、大肠癌等的多药耐药也密切相关，与其他多药耐药相关基因如 MRP、GST-π、LRP 等共同构成临床耐药的基础，但一般情况下 MDR1 的表达与细胞分化程度，临床分期及病理类型无关。MDR1 表达的定量检测对肿瘤患者的个体化化疗有很重要的指导意义。

上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市北桥镇吴河路328号A座2楼

邮编：201109

联系：市场部

电话：021-54460832 800-988-1995

E-mail:master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn