



(12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 107315089 A

(43)申请公布日 2017. 11. 03

(21)申请号 201710487766.0

(22)申请日 2017.06.23

(71)申请人 江苏金貳生物技术有限公司

地址 211106 江苏省南京市江宁区将军大
道6号9栋107

(72)发明人 汪志友 郑荣 温天文

(51)Int.Cl.

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法

(57)摘要

本发明涉及一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法。在涉及多肿瘤标志物联合检测中,将其中二个特定性肿瘤标志物作为双标志物,通过免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系,以正信号和负信号互为内标,采用内标法再以该线性关系值消除检测系统误差,再进行检测其它肿瘤标志物。从而,大大降低检测的系统误差,提高肿瘤患者早期筛查的准确率;同时减少了检测周期,大大减少了检测多种肿瘤标志物每一种标志物所涉及的试剂、仪器,从而,大大降低临床诊断、分析成本。

1. 一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:在涉及多肿瘤标志物联合检测中,将其中二个特定性肿瘤标志物作为双标志物,通过免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系,以正信号和负信号互为内标,采用内标法再以该线性关系值消除检测系统误差,再进行检测其它肿瘤标志物。

2. 按权利要求1所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的二个特定性肿瘤标志物,是指不同肿瘤最具有特定性或为首选的肿瘤标志物,如肺癌为CEA、NSE、CYFRA21-1,乳腺癌为CA15-3、CEA,前列腺癌PSA、f-PSA。

3. 按权利要求1所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的通过荧光免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系,是指二个肿瘤标志物在规定时间内多次检测到的正信号值与负信号值差值的绝对值建立线性关系。

4. 按权利要求1、3所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的采用内标法是以正信号与负信号互为内标。

5. 按权利要求1、4所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的该线性关系值消除检测系统误差,是以是以正信号值与负信号值差值的绝对值建立线性关系系数作为消除检测系统误差的校正值。

6. 按权利要求1所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的检测其它肿瘤标志物,如肺癌为TPA、SCC、ACTH、降钙素、TSA,乳腺癌为CA549、hCG、降钙素、铁蛋白,前列腺癌为PAP。

7. 按权利要求1-6所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的消除肿瘤标志物检测系统误差的方法适用于肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、胃癌、结肠直肠癌、胰腺癌、宫颈癌的诊断检测,优选肺癌、乳腺癌、前列腺癌的诊断检测。

8. 按权利要求1-7所述的一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的消除肿瘤标志物检测系统误差的方法适用于放射免疫分析法、免疫放射分析法、酶标记免疫分析法、化学发光免疫分析法、时间分辨荧光免疫分析。

一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医疗检测技术及其应用领域。

背景技术

[0002] 肿瘤是危害人民健康的重大疾病,大量研究和防治资料证实早期诊断和早期治疗是防治肿瘤与降低死亡率的最有效的办法。大多数肿瘤早期往往无明显症状,影像诊断、细胞病理学诊断、X线检查都不能在肿瘤早期做出诊断,而肿瘤标志物的检测则可以在肿瘤的早期完成,这对肿瘤的早期发现、早期诊断、早期治疗起了重要作用。任何单一肿瘤标志物的独立使用不是存在敏感性低,就是特异性不高的问题;目前为止,还没有找到灵敏度、特异性100%的肿瘤标志物;单一肿瘤标志物、单一因子的检测很难准确的实现肿瘤早期检测、病程监控及预后治疗效果的评估等;因此,单一肿瘤标志物的检测不能满足临床应用。

[0003] 多项肿瘤标志物的联合应用能明显提高恶性肿瘤的检出率。

[0004] 目前临床上采用的肿瘤标志物联合检测方案有:

肿瘤	首选标志物	补充标志物
肺癌	CEA、NSE、CYFRA21-1	TPA、SCC、ACTH、降钙素、TSA
肝癌	AFP	AFU、 γ GT、CEA、ALP
乳腺癌	CA15-3、CEA	CA549、hCG、降钙素、铁蛋白
胃癌	CA72-4	CEA、CA19-9、CA242
前列腺癌	PSA、f-PSA	PAP
结肠直肠癌	CEA	CA19-9、CA50
胰腺癌	CA19-9	CA50、CEA、CA125
卵巢癌	CA125	CEA、hCG、CA19-9
睾丸肿瘤	AFP、hCG	
宫颈癌	SCC	CA125、CEA、TPA

但是,这些联合指标全部采用上调、正信号指标,具有很多缺点。最大的缺点是,系统误差大。肿瘤标志物的分泌来源于肿瘤微环境的基质细胞以及肿瘤细胞,存在于细胞、组织或体液中,能用化学或免疫方法定量证实肿瘤存在,监测肿瘤治疗和预后的物质;但这些物质在体液中存在的半衰期各异,其表达受到个体所处的环境例如炎症、情绪、饮食的影响极大,很多标志物会因不良的个人生活习惯(吸烟、嗜酒)而水平有差异,其在良性疾病中发生的异常也绝不同于肿瘤。例如,浆液性卵巢癌的敏感指标CA125,在各种良性疾病(如慢性肝炎、子宫内膜炎)和恶性疾病(如乳腺肿瘤)均升高。类似这样的指标,可根据其值升高速率或升高水平来鉴别良、恶性疾病。若全部采用上调指标,检测数据容易集体漂移。

[0005] 另外,盲目地将所有标志物都用于个性检测,不但昂贵,而且费时费力。如何将这些标志物进行科学合理地组合,以达到最佳效果,一直是肿瘤标志物应用所面临的难题。

[0006] 例如使用传统的Elisa方法,检测单一指标,仅能进行单一蛋白因子的检测。若要提高检测的准确性和特异性,需要进行多个Elisa实验检测不同的蛋白因子。以10个蛋白因

子检测为例,需要10个Elisa试剂盒,至少1ml的样本,一周时间才能得到结果。无论从人力、财力还是时间和样本量来说,都不是很好的选择。而且10个因子不是同时检测也可能造成结果的误差。

[0007] 本发明独创多肿瘤标志物正负信号差值对比检测法,实现肿瘤超微量免疫分析共性、关键技术突破,并将以上共性技术用于肺癌双标志物荧光正负信号差值比值法免疫分析试剂盒的研制,建立行业标准及产品生产示范工程,从而推动我国肿瘤检测的产业化进程。

[0008] 本发明可应用于多肿瘤标志物诊断试剂产品的研发,用于临床亟需的肿瘤早期发现、确诊、监测疗效、预测复发等精准医疗领域,以大大降低检测的系统误差,提高肿瘤患者早期筛查的准确率、并降低临床分析成本(与多标志物分析相比);世界卫生组织曾明确指出,癌症患者如能早期发现,治愈率可达80%以上;肿瘤标志物可以比影像学更早的发现肿瘤,对于诊断与治疗癌症意义深远。

发明内容

[0009] 本发明涉及一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法。在涉及多肿瘤标志物联合检测中,将其中二个特定性肿瘤标志物作为双标志物,通过荧光免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系,以正信号和负信号互为内标,采用内标法再以该线性关系值消除检测系统误差,再进行检测其它肿瘤标志物。从而,大大降低检测的系统误差,提高肿瘤患者早期筛查的准确率,并降低临床分析成本。

[0010] 本发明的技术方案是这样实现的:

一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:在涉及多肿瘤标志物联合检测中,将其中二个特定性肿瘤标志物作为双标志物,通过荧光免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系,以正信号和负信号互为内标,采用内标法再以该线性关系值消除检测系统误差,再进行检测其它肿瘤标志物。

[0011] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的二个特定性肿瘤标志物,是指不同肿瘤最具有特定性或为首选的肿瘤标志物,如肺癌为CEA、NSE、CYFRA21-1,乳腺癌为CA15-3、CEA,前列腺癌PSA、f-PSA。

[0012] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的通过荧光免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系,是指二个肿瘤标志物在规定时间内多次检测到的正信号值与负信号值差值的绝对值建立线性关系。

[0013] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的采用内标法是以正信号与负信号互为内标。

[0014] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的该线性关系值消除检测系统误差,是以是以正信号值与负信号值差值的绝对值建立线性关系系数作为消除检测系统误差的校正值。

[0015] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的检测其它肿瘤标志物,如肺癌为TPA、SCC、ACTH、降钙素、TSA,乳腺癌为CA549、hCG、降钙素、铁蛋白,前列腺癌为PAP。

[0016] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的消除肿瘤标志物检测系统误差的方法适用于肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、胃癌、结肠直肠癌、胰腺癌、宫颈癌的诊断检测,优选肺癌、乳腺癌、前列腺癌的诊断检测。

[0017] 更进一步地,一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法,其特征在于:所述的消除肿瘤标志物检测系统误差的方法适用于放射免疫分析法、免疫放射分析法、酶标记免疫分析法、化学发光免疫分析法、时间分辨荧光免疫分析。

[0018] 本发明的优点:

1、本发明可应用于多肿瘤标志物诊断试剂产品的研发,用于临床亟需的肿瘤早期发现、确诊、监测疗效、预测复发等精准医疗领域,大大降低或消除检测的系统误差,提高肿瘤患者早期筛查的准确率。

[0019] 2、本发明可应用于多肿瘤标志物诊断试剂产品的研发,同时减少了检测周期,并且大大减少了检测多种肿瘤标志物每一种标志物所涉及的试剂、仪器,从而,大大降低临床诊断、分析成本。

具体实施方式

[0020]

下面将描述本发明的实施例,但本发明的内容完全不限于此。

[0021] 实施例1:

以检测肺癌肿瘤标志物CEA、NSE为正负信号为内标,经校正得到系统数值后,检测肺癌其它肿瘤标志物SCC进行试验。

[0022] 方法:采集空腹静脉血5mL,离心半径15cm,3000r/min离心10min分离血清,室温待检。应用全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂,采用电化学发光法检测血清CEA、NSE水平,分别以正信号和负信号数值与二者差值的绝对值,建立内标校正工作曲线,得到校正参数值,根据这一校正参数值进一步采用化学发光法检测血清SCC水平。

[0023] 统计对照组3项指标的阳性率,计算3项指标单独及内标校正后联合检测诊断肺癌的灵敏性和特异性。统计学处理 应用SPSS 19.0软件进行统计分析,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[0024] 结果:见肺癌肿瘤标志物CEA、NSE、SCC内标校正前后诊断肺癌的灵敏性和特异性比较表。

3项指标单独及内标校正后联合检测诊断肺癌的灵敏性和特异性对比表

序号	检 测 项		敏感性/%	特异性/%
1	CEA	内标校正前	53.6	98.9
2		内标校正后	91.6	100
3	NSE	内标校正前	56.8	93.8
4		内标校正后	92.9	99.9
5	SCC	内标校正前	22.1	98.1
6		内标校正后	86.3	98.8

[0025] 由结果可知,经校正后肺癌肿瘤标志物电化学发光免疫分析法的灵敏性和特异性均大大提高,并且系统误差漂移值极小,大大提高了肺癌诊断的准确性;同时,不一定需要将肺癌的全部肿瘤标志物进行一一检测,大大减少了工作量和临床检测成本。

[0026] 实施例2:

以检测乳腺癌肿瘤标志物CA15-3、CEA正负信号为内标,经校正得到系统数值后,检测乳腺癌其它肿瘤标志物hCG、CA549进行试验。

[0027] 方法:采集空腹静脉血5mL,离心半径15cm,3000r/min离心10min分离血清,室温待检。应用型全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂,采用电化学发光法检测血清CA15-3、CEA水平,分别以正信号和负信号数值与二者差值的绝对值,建立内标校正工作曲线,得到校正参数值,根据这一校正参数值进一步采用化学发光法检测血清hCG水平。

[0028] 统计对照组3项指标的阳性率,计算3项指标单独及内标校正后联合检测诊断肺癌的灵敏性和特异性。统计学处理 应用SPSS 19.0软件进行统计分析,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[0029] 结果:见乳腺癌肿瘤标志物CA15-3、CEA、hCG内标校正前后诊断乳腺癌的灵敏性和特异性比较表。

3项指标单独及内标校正后联合检测诊断乳腺癌的灵敏性和特异性对比表

序号	检测项	敏感性/%	特异性/%
1	CEA	内标校正前	60.1
2		内标校正后	93.3
3	CA15-3	内标校正前	55.9
4		内标校正后	93.0
5	hCG	内标校正前	58.1
6		内标校正后	95.6

[0030] 由结果可知,经校正后乳腺癌肿瘤标志物电化学发光免疫分析法的灵敏性和特异性均大大提高,并且系统误差漂移值极小,大大提高了乳腺癌诊断的准确性;同时,不需要将乳腺癌的全部肿瘤标志物进行一一检测,大大减少了工作量和临床检测成本。

[0031] 实施例3:

以检测前列腺癌肿瘤标志物PSA、f-PSA正负信号为内标,经校正得到系统数值后,检测前列腺癌其它肿瘤标志物PAP进行试验。

[0032] 方法:采集空腹静脉血5mL,离心半径15cm,3000r/min离心10min分离血清,室温待检。应用型全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂,采用电化学发光法检测血清PSA、f-PSA水平,分别以正信号和负信号数值与二者差值的绝对值,建立内标校正工作曲线,得到校正参数值,根据这一校正参数值进一步采用化学发光法检测血清PAP水平。

[0033] 统计对照组3项指标的阳性率,计算3项指标单独及内标校正后联合检测诊断肺癌的灵敏性和特异性。统计学处理 应用SPSS 19.0软件进行统计分析,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[0034] 结果:见前列腺癌肿瘤标志物PSA、f-PSA、PAP内标校正前后诊断前列腺癌的灵敏性和特异性比较表。

[0035]

3 项指标单独及内标校正后联合检测诊断前列腺癌的灵敏性和特异性对比表

序号	检 测 项	灵敏度/%	特异性/%
1	PSA	内标校正前	52.7
2		内标校正后	93.2
3	f-PSA	内标校正前	61.5
4		内标校正后	94.8
5	PAP	内标校正前	55.6
6		内标校正后	92.9

由结果可知,经校正后前列腺癌肿瘤标志物电化学发光免疫分析法的灵敏性和特异性均大大提高,并且系统误差飘移值极小,大大提高了前列腺癌诊断的准确性;同时,不需要将前列腺癌的全部肿瘤标志物进行一一检测,大大减少了工作量和临床检测成本。

专利名称(译)	一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法		
公开(公告)号	CN107315089A	公开(公告)日	2017-11-03
申请号	CN2017110487766.0	申请日	2017-06-23
[标]发明人	汪志友 郑荣 温天文		
发明人	汪志友 郑荣 温天文		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/57407 G01N33/533 G01N2800/52		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种消除肿瘤标志物检测系统误差的方法。在涉及多肿瘤标志物联合检测中，将其中二个特定性肿瘤标志物作为双标志物，通过免疫分析检测法得到肿瘤标志物正信号和负信号差值的绝对值建立线性关系，以正信号和负信号互为内标，采用内标法再以该线性关系值消除检测系统误差，再进行检测其它肿瘤标志物。从而，大大降低检测的系统误差，提高肿瘤患者早期筛查的准确率；同时减少了检测周期，大大减少了检测多种肿瘤标志物每一种标志物所涉及的试剂、仪器，从而，大大降低临床诊断、分析成本。

3 项指标单独及内标校正后联合检测诊断前列腺癌的灵敏性和特异性对比表

序号	检测项		敏感性/%	特异性/%
1	PSA	内标校正前	52.7	97.7
2		内标校正后	93.2	100
3	f-PSA	内标校正前	61.5	96.6
4		内标校正后	94.8	100
5	PAP	内标校正前	55.6	96.3
6		内标校正后	92.9	98.9