



(21) 申请号 202310141156.0

(22) 申请日 2023.02.21

(71) 申请人 河北医科大学第二医院

地址 050000 河北省石家庄市和平西路215号

(72) 发明人 薛晓英 周欢娣 侯柳冰 苏琳琳
孙薇 肖志清 田磊

(74) 专利代理机构 北京德和衡律师事务所
11405

专利代理师 李国聪 甄伊宁

(51) Int.Cl.

G01N 33/574 (2006.01)

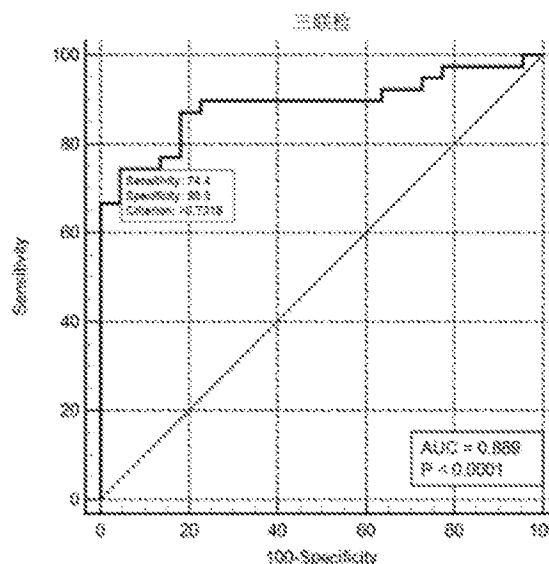
权利要求书1页 说明书7页 附图4页

(54) 发明名称

一种用于脑胶质瘤早期筛查和诊断的三种血清标志蛋白联合检测ELISA试剂盒

(57) 摘要

本发明提供血清蛋白质GFAP、CNTN1和NCAM1用于脑胶质瘤早期筛查和早期诊断的联合检测。通过检测与分析患者血清中CNTN1、GFAP、NCAM1蛋白质的浓度,结果提示三种血清蛋白的联合应用对于脑胶质瘤的早期诊断具有重要意义。本发明还提供GFAP、CNTN1和NCAM1在制备用于脑胶质瘤早期筛查和诊断试剂中的用途。



1. GFAP、CNTN1和NCAM1在制备用于脑胶质瘤早期筛查和诊断试剂中的用途。
2. 一种用于脑胶质瘤早期筛查和诊断的ELISA试剂盒,所述试剂盒含有3种血清蛋白质标志物,分别为GFAP、CNTN1和NCAM1。
3. 如权利要求2所述的ELISA试剂盒,其特征在于所述试剂盒含有GFAP、CNTN1和NCAM1的ELISA检测试剂盒。
4. 如权利要求3所述的ELISA试剂盒,其特征在于所述的GFAP、CNTN1和NCAM1的ELISA检测试剂盒分别为abcam公司,Novus公司,Cusabio公司的ELISA。
5. 如权利要求4所述的ELISA试剂盒,其特征在于所述的GFAP检测试剂盒为abcam公司型号ab223867的试剂盒,所述的CNTN1检测试剂盒为Novus公司型号NBP2-75801的试剂盒,所述的NCAM1的ELISA检测试剂盒为Cusabio公司型号Catalog No.CSB-EL015511HU的试剂盒。
6. 如权利要求2所述的ELISA试剂盒,其特征在于所述ELISA试剂盒由以下部分组成:
(1) 96孔酶标板,(2) 标准品,(3) 生物素标记抗体及稀释液,(4) 辣根过氧化物酶标记亲和素及稀释液,(5) 样本稀释液,(6) 底物溶液,(7) 洗涤液,(8) 显色液,(9) 终止液,(2) 标准品为人GFAP、CNTN1、NCAM1的标准蛋白。
7. 使用如权利要求2-6中任一项所述ELISA试剂盒早期筛查和早期诊断脑胶质瘤的方法,其特征在于所述方法含有如下步骤:
 - (1) 待检血清样本制备:将采集血液用离心机4℃,2500rpm离心15min,留上清,弃下面沉淀,取上清液进行分装,将标本放于-80℃保存,检测时,解冻后再次离心取上清使用;
 - (2) 加样:按三种ELISA试剂盒说明书,分别加标准品和待检血清样本至96孔板中;设计参照组及实验组,CNTN1、NCAM1的标准品及待检血清样本每孔加入100u1,GFAP的标准品及待检血清样本每孔加入50u1,37℃孵育60-120分钟;
 - (3) 加酶标抗体:参照组和实验组均加入生物素标记的CNTN1、NCAM1抗体液,每孔加入100u1,生物素标记的GFAP抗体液每孔加入50u1;
 - (4) 清洗抗体液:分别用试剂盒对应洗涤液洗涤数次,甩干后进行下一步操作;
 - (5) 参照组和实验组,用底物溶液按说明书等比例稀释辣根过氧化物酶标记亲和素原液制成辣根过氧化物酶标记亲和素工作液,每孔加入辣根过氧化物酶标记亲和素工作液100u1 (CNTN1、NCAM1)、50u1 (GFAP),37℃孵育1小时;
 - (6) 清洗工作液:分别清洗辣根过氧化物酶标记的亲和素工作液3-5次并甩干;
 - (7) 显色及终止:将显色液加入96孔板100u1/孔,室温下或35~38℃显色15~30分钟;再加终止液,
 - (8) 标准曲线:根据标准品OD值绘制标准曲线,在标准曲线上查出待检血清样本的含量并进行统计。
8. 使用如权利要求2-6中任一项所述试剂盒或权利要求7所述方法早期筛查和早期诊断脑胶质瘤的方法,其特征在于当检测结果,GFAP浓度高于13.43ng/ml,CNTN1浓度高于105.04ng/ml,NCAM1浓度高于1522.57ng/ml时,判断样品来源的对象患脑胶质瘤的概率更大。

一种用于脑胶质瘤早期筛查和诊断的三种血清标志蛋白联合检测ELISA试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于分子生物学及肿瘤学领域,具体涉及GFAP、CNTN1和NCAM1在制备脑胶质瘤早期筛查和诊断的联合检测ELISA试剂盒中的应用。

背景技术

[0002] 脑胶质瘤是成人中最常见的原发性脑肿瘤,约占恶性脑肿瘤的81%。我国脑胶质瘤发病率5-8/10万人,在恶性肿瘤5年病死率中,仅次于胰腺癌和肺癌,位列第三位。其预后差,恶性程度高,且具有高侵袭性,高复发率特点高。在脑胶质瘤病人中,往往伴随着脑部症状,如癫痫,颅内高压,甚至脑疝,给患者的健康带来严重威胁,心理带来极大负担。以往的脑胶质瘤的诊断多依赖于影像学和病理,但大多数肿瘤影像学被发现时,都已经进入中晚期,治疗费用高且疗效差。因此对于肿瘤的早期发现,早期治疗是患者获得长期生存的关键所在。

[0003] 近年来,分子病理的引入在胶质瘤研究和临床诊疗中具有革命性意义,越来越多的分子标记物的发现增加了我们对脑胶质瘤发生、发展机制的认识,使得临床诊断、病理分型和预后评估更加精准,也促进了胶质瘤治疗的个体优化。但其依然离不开术后病理切片,不能摆脱活检或手术给患者带来的巨大创伤及经济压力。因此,寻找简单、快速且经济的脑胶质瘤早筛早诊方法是目前亟需解决的难题。

[0004] 血清肿瘤标志物的检测为众多肿瘤的早期筛查提供了有效途径,例如:甲胎蛋白AFP已成为临床诊断原发性肝癌的特异性血清蛋白标志物,PSA为诊断前列腺癌的特异性标志物,NSE为筛查神经内分泌肿瘤的重要分子指标。但迄今为止,尚未出现用于脑胶质瘤早期筛查和早期诊断较成熟的血清分子标志物。

[0005] 胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein,GFAP)是一种Ⅲ型中间丝状蛋白,以单体形式存在。在人类当中发现有8种同源异构体,相对分子质量介于 $(40-53) \times 10^3$ 。人类GFAP基因定位于17号染色体长臂2区1带上,由9个外显子和8个内含子组成,GFAP是星形胶质细胞骨架的主要成分,具有高度的形态可塑性,能够快速组装和改变聚合状态,是脑胶质细胞来源肿瘤的标志性蛋白,常用于脑胶质瘤病理诊断时的组织来源鉴别。近年来研究发现GFAP的异常表达与多种良、恶性中枢神经系统疾病进展相关,如早发型阿尔茨海默病患者的血浆GFAP水平明显高于晚发型患者;GFAP在转移性粘液乳头状室管膜瘤患者血浆中表达升高。Aida等通过检测胶质瘤患者血清中GFAP的表达水平发现,GFAP与IDH1野生型、高Ki-67增殖指数及较差的无进展生存期相关,提示其可作为脑胶质瘤潜在的生物标志物。

[0006] 接触蛋白-1(contactin-1,CNTN1)基因定位于12q12,是一种神经细胞黏附因子,最初被发现表达在多种神经元细胞表面,属于神经接触分子免疫超家族中的一员。目前,针对CNTN1的研究主要集中在两方面:(1)CNTN1参与神经细胞分化、迁移、轴突生长、突触形成、髓鞘形成和神经冲动传导等神经系统的生长发育以及多种神经细胞功能;(2)CNTN1是

近年来发现的一个与肿瘤侵袭转移能力相关的基因,已有研究表明CNTN1基因在前列腺癌、肺癌、胃癌等癌症转移中发挥重要作用,并且近年来国外学者研究证实CNTN1也参与神经系统星形细胞胶质瘤中的发生和发展,研究表明,CNTN1在正常星形细胞胶质中并不表达.相反,CNTN1在星形细胞胶质瘤呈高表达,调控胶质细胞的侵袭能力,并且CNTN1表达与星形细胞胶质瘤的恶性程度相关.这提示CNTN1对脑胶质瘤的早期筛查具有重要意义。

[0007] 神经细胞黏附分子1(neural cell adhesion molecule 1,NCAM1)为细胞黏附分子中的一员,属免疫球蛋白超家族,主要在神经系统中表达,参与调节神经细胞功能,在神经迁移过程起关键作用。人NCAM1基因定位于11q22-23,是一种膜蛋白,包括NCAM-120、NCAM-140、NCAM-180三种亚型,其中NCAM140显著促进细胞增殖、运动和迁移,NCAM1-180主要表达于神经纤维中、NCAM1-140既表达于神经纤维中也表达于脑胶质细胞中,NCAM1-120则主要表达于胶质细胞中。

[0008] 据报道,血清GFAP在诊断单发胶质母细胞瘤中的敏感度及特异度分别为76%和100%,而尚未检索到血清CNTN1及NCAM1在筛查或诊断脑胶质瘤方面的相关数据。

发明内容

[0009] 本发明旨在克服现有技术不足,提供血清蛋白质GFAP、CNTN1和NCAM1用于脑胶质瘤早期筛查和早期诊断的联合检测。通过检测与分析患者血清中CNTN1、GFAP、NCAM1蛋白质的浓度,结果提示三种血清蛋白的联合应用对于脑胶质瘤的早期诊断具有重要意义。发明人在利用正常人与不同级别脑胶质瘤血清和组织样本进行蛋白质组学分析的基础上,发现GFAP、CNTN1及NCAM1三种蛋白质联合检测诊断脑胶质瘤,存在较高的特异度和敏感度。

[0010] 本发明提供GFAP、CNTN1和NCAM1在制备用于脑胶质瘤早期筛查和诊断试剂中的用途。

[0011] 本发明提供一种用于脑胶质瘤早期筛查和诊断的ELISA试剂盒,所述试剂盒含有3种血清蛋白质标志物,分别为GFAP、CNTN1和NCAM1。

[0012] 在一些实施方案中,上述的ELISA试剂盒,其特征在于所述试剂盒含有GFAP、CNTN1和NCAM1的ELISA检测试剂盒。

[0013] 在一些实施方案中,上述的ELISA试剂盒,其特征在于所述的GFAP、CNTN1和NCAM1的ELISA检测试剂盒分别为abcam公司,Novus公司,Cusabio公司的ELISA。

[0014] 在一些实施方案中,上述的ELISA试剂盒,其特征在于所述的GFAP检测试剂盒为abcam公司型号ab223867的试剂盒,所述的CNTN1检测试剂盒为Novus公司型号NBP2-75801的试剂盒,所述的NCAM1的ELISA检测试剂盒为Cusabio公司型号Catalog No.CSB-EL015511HU的试剂盒。

[0015] 在一些实施方案中,上述的ELISA试剂盒,其特征在于所述ELISA试剂盒由以下部分组成:(1) 96孔酶标板,(2) 标准品,(3) 生物素标记抗体及稀释液,(4) 辣根过氧化物酶标记亲和素及稀释液,(5) 样本稀释液,(6) 底物溶液,(7) 洗涤液,(8) 显色液,(9) 终止液,(2) 标准品为人GFAP、CNTN1、NCAM1的标准蛋白。

[0016] 本发明提供使用如前述ELISA试剂盒早期筛查和早期诊断脑胶质瘤的方法,其特征在于所述方法含有如下步骤:

[0017] (1) 待检血清样本制备:将采集血液用离心机4℃,2500rpm离心15min,留上清,弃

下面沉淀,取上清液进行分装,将标本放于-80℃保存,检测时,解冻后再次离心取上清使用,

[0018] (2) 加样:按三种ELISA试剂盒说明书,分别加标准品和待检血清样本至96孔板中,设计参照组及实验组,CNTN1、NCAM1的标准品及待检血清样本每孔加入100u1,GFAP的标准品及待检血清样本每孔加入50u1,37℃孵育60-120分钟;

[0019] (3) 加酶标抗体:参照组和实验组均加入生物素标记的CNTN1、NCAM1抗体液,每孔加入100u1,生物素标记的GFAP抗体液每孔加入50u1;

[0020] (4) 清洗抗体液:分别用试剂盒对应洗涤液洗涤数次,甩干后进行下一步操作;

[0021] (5) 参照组和实验组,用底物溶液按说明书等比例稀释辣根过氧化物酶标记亲和素原液制成辣根过氧化物酶标记亲和素工作液,每孔加入辣根过氧化物酶标记亲和素工作液100u1 (CNTN1、NCAM1)、50u1 (GFAP),37℃孵育1小时;

[0022] (6) 清洗工作液:分别清洗辣根过氧化物酶标记的亲和素工作液3-5次并甩干;

[0023] (7) 显色及终止:将显色液加入96孔板100u1/孔,室温下或35~38℃显色15~30分钟,再加终止液;

[0024] (8) 标准曲线:根据标准品OD值绘制标准曲线,在标准曲线上查出待检血清样本的含量并进行统计。

[0025] 本发明提供使用如前述ELISA试剂盒早期筛查和早期诊断脑胶质瘤的方法,其特征在于基于目前检测结果,当GFAP浓度高于13.43ng/ml,CNTN1浓度高于105.04ng/ml,NCAM1浓度高于1522.57ng/ml时,判断样品来源的对象患脑胶质瘤的概率更大。

[0026] 本发明通过ELISA法检测正常人、脑胶质瘤患者和其它癌种患者的血清中GFAP、CNTN1及NCAM1的表达水平,通过统计学方法分别分析GFAP、CNTN1、NCAM1以及三者联合与脑胶质瘤的相关性,发现血清GFAP、CNTN1和NCAM1是脑胶质瘤一组较好的检测指标。且样本获取简便、快捷、经济,患者创伤小,检测方法简单易行。这一发明有望为脑胶质瘤早期筛查和诊断带来新的曙光,提高脑胶质瘤的早诊率,进而改善预后、降低病死率。本发明公开了一种非侵入性早期筛查脑胶质瘤的血清分子标志物,特别是血清蛋白质CNTN1、GFAP、NCAM1三者联合检测对于脑胶质瘤的早期筛查和早期诊断具有特别重要的作用和临床应用价值。

附图说明

[0027] 图1:正常成人(22例)、脑胶质瘤患者(39例)及其他癌肿(12例)患者血清GFAP(图1A)、CNTN1(图1B)、NCAM1(图1C)浓度散点图,及两两独立样本T检验结果。作图和统计均由统计学软件GraphPad Prism 8完成。*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001,ns表示无统计学差异。

[0028] 图2:正常成人对比脑胶质瘤患者的ROC曲线(图2A)GFAP单检;(图2B)CNTN1单检;(图2C)NCAM1单检。

[0029] 图3:GFAP、CNTN1和NCAM1三联检的正常成人对比脑胶质瘤患者的ROC曲线。

具体实施方式

[0030] 下面结合实施例对本发明做进一步说明,但并不限制本发明的保护范围。除非特别说明,以下实施例所用试剂和材料均为市购商品(GFAP,abcam;CNTN1,Novus;NCAM1,

Cusabio)。

[0031] 一、研究对象

[0032] 39例脑胶质瘤患者(男性:25例,平均年龄48.0岁;女性:14例,平均年龄52.1岁)和12例其他癌种(脑转移:3例;肺癌:3例;食管癌:3例;宫颈癌:3例)(男性:4例;平均年龄58.5岁;女性:8例,平均年龄:66.1岁)的血液样本由本中心提供,22例正常血液样本为同期进行社区体检的健康个体(男性:11例,平均年龄59.0岁;女性:11例,平均年龄57.8岁)。用于研究的样本为同期收取,采样、分装及保存条件均一致。

[0033] 二、实验仪器和试剂

[0034] 1.仪器:Infinite M200 Pro多功能酶标仪(Tecan品牌,瑞士),高速冷冻离心机(Thermo Fisher公司,美国)恒温箱,移液器,冰箱,计时器。

[0035] 2.试剂:使用GFAP、CNTN1和NCAM1的ELISA检测试剂盒,分别来自abcam公司,Novus公司,Cusabio公司,型号分别是ab223867、NBP2-75801、Catalog No.CSB-EL015511HU。

[0036] 3.试剂盒内设有:

[0037] (1) 96孔酶标板

[0038] (2) 标准品

[0039] (3) 生物素标记抗体及稀释液

[0040] (4) 辣根过氧化物酶标记亲和素及稀释液

[0041] (5) 样本稀释液

[0042] (6) 底物溶液

[0043] (7) 洗涤液

[0044] (8) 显色液

[0045] (9) 终止液

[0046] 其中(2)标准品为人GFAP、CNTN1、NCAM1的标准蛋白。

[0047] 三、实验方法:

[0048] 1.样本收集

[0049] 在取得患者知情同意后,收集河北医科大学第二医院在院患者39例脑胶质瘤患者和12例其他癌肿的血液样本作为实验组,22例正常血液样本为同期进行社区体检的健康个体提供作为对照组。用于研究的样本为同期收取,采样、分装、保存条件均一致。

[0050] 2.样品制备和样本稀释

[0051] (1)待检血清样本制备:待检血清样本制备:将采集血液用离心机4℃,2500rpm离心15min,留上清,弃下面沉淀,取上清液进行分装,将标本放于-80℃保存。检测时,解冻后再次离心取上清使用。血清样本稀释比例为GFAP(1:5稀释),CNTN1(1:10稀释),NCAM1(1:10稀释)。冰上或4℃暂存。

[0052] (2)标准品制备:GFAP、CNTN1、NCAM1的ELISA试剂盒中的标准品用1ml样本稀释液溶解,并且分别按照3个试剂盒的要求对标准品进行倍比稀释。

[0053] 3.实验步骤

[0054] (1)复温:先从-80℃冰箱取出血清样本冰上解冻,再分别从4℃冰箱取出GFAP、CNTN1、NCAM1血清蛋白的ELISA试剂盒。

[0055] (2)加样:按三种ELISA试剂盒说明书,分别加标准品和待检血清样本至96孔板中。

设计参照组(标准品16孔/96孔)及实验组(待检血清样本39+12+22个样品,80孔/96孔),CNTN1、NCAM1的标准品及待检血清样本每孔加入100u1,GFAP的标准品及待检血清样本每孔加入50u1。37℃孵育60-120分钟。

[0056] (3) 加酶标抗体:参照组(标准品16孔/96孔)和实验组均加入生物素标记抗体及稀释液,生物素标记的CNTN1、NCAM1抗体液,每孔加入100u1,生物素标记的GFAP抗体液每孔加入50u1。

[0057] (4) 清洗抗体液:分别用试剂盒对应洗涤液洗涤数次,甩干后进行下一步操作。

[0058] (5) 参照组(标准品16孔/96孔)和实验组,用底物溶液按说明书等比例稀释辣根过氧化物酶标记亲和素原液制成辣根过氧化物酶标记亲和素工作液,每孔加入辣根过氧化物酶标记亲和素工作液100u1 (CNTN1、NCAM1)、50u1 (GFAP),37℃孵育1小时。

[0059] (6) 清洗工作液:分别清洗辣根过氧化物酶标记的亲和素工作液3-5次并甩干。

[0060] (7) 显色及终止:将显色液加入96孔板100u1/孔,根据3个试剂盒分别的要求在适宜温度下显色15~30分钟,再加终止液。

[0061] (8) 标准曲线:根据标准品OD值绘制标准曲线,在标准曲线上查出待检血清样本的含量并进行统计。

[0062] 4. 数据处理

[0063] 本研究数据包括正常血液样本、脑胶质瘤血液样本和其他癌肿血液样本,依据实验检测得到的血清样本中GFAP、CNTN1、NCAM1浓度值进行作图和统计,由统计学软件GraphPad Prism 8完成。使用MedCalc软件完成受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)数据统计及ROC标准曲线的绘制。

[0064] 5. 结果分析:

[0065] 脑胶质瘤患者血清中CNTN1平均浓度(107.17ng/ml)比正常人血清中平均浓度(101.62ng/ml)高(表1-1),具有显著的统计学意义($P=0.0051$);GFAP平均浓度(38.55ng/ml)比正常人血清中平均浓度(12.35ng/ml)高(表1-2),且具有显著的统计学意义($P=0.0031$);NCAM1平均浓度(2217.90ng/ml)比正常人血清中平均浓度(1356.82ng/ml)高(表1-3),具有显著的统计学意义($P=0.0075$)。

[0066] 下述表1-1至1-3为正常成人、脑胶质瘤患者及其他癌肿患者血清CNTN1、GFAP和NCAM1的两两比较的平均值、标准差及其矫正P值。

[0067] 表1-1

样本	CNTN1		
	Mean1±SD	Mean2±SD	Adjusted P Value
[0068] 正常成人 vs. 脑胶质瘤	101.62±6.14	107.17±6.31	0.0051
正常成人 vs. 其他癌种	101.62±6.14	98.99±6.45	0.4927
脑胶质瘤 vs. 其他癌种	107.17±6.31	98.99±6.45	0.0007

[0069] 表1-2

	样本	GFAP		
		Mean1±SD	Mean2±SD	Adjusted P Value
[0070]	正常成人 vs. 脑胶质瘤	12.35±2.75	38.55±46.29	0.0031
	正常成人 vs. 其他癌种	12.35±2.75	23.61±30.34	0.2119
	脑胶质瘤 vs. 其他癌种	38.55±46.29	23.61±30.34	>0.9999

[0071] 表1-3

	样本	NCAM1		
		Mean1±SD	Mean2±SD	Adjusted P Value
[0072]	正常成人 vs. 脑胶质瘤	1356.82±268.88	2217.90±1176.74	0.0075
	正常成人 vs. 其他癌种	1356.82±268.88	1392.18±536.26	>0.9999
	脑胶质瘤 vs. 其他癌种	2217.90±1176.74	1392.18±536.26	0.0130

[0073] 表2结果显示,GFAP、CNTN1及NCAM1单一血清蛋白检测脑胶质瘤的特异度分别为86.36%、72.73%、81.82%,灵敏度分别为66.67%、71.79%、64.10%,三联检的特异度为95.45%,灵敏度为74.36%,均比单一检测有所提高。同时在GFAP、CNTN1、NCAM1单一血清蛋白质检测脑胶质瘤的ROC曲线中,其AUC值分别是0.735、0.744、0.740,P值分别为0.0002、0.0002、0.0001,具有显著的统计学意义;而在GFAP、CNTN1、NCAM1三联检的ROC曲线中,其AUC值高达0.889,P<0.0001,具有显著统计学意义,且较单一检测显著提高。

[0074] 表2:三种血清蛋白分别检测和联合检测的结果(Normal-Glioma)

	变量	灵敏度	特异度	AUC	P	临界值 (ng/ml)
[0075]	GFAP 单检	66.670	86.360	0.735	0.0002	13.43
	CNTN1 单检	71.790	72.730	0.744	0.0002	105.04
	NCAM1 单检	64.100	81.820	0.740	0.0001	1522.57
	GFAP+CNTN1+NCAM1 三联检	74.360	95.450	0.889	<0.0001	

[0076] 由图1可知,在正常成人(22例)、脑胶质瘤(39例)及其他癌肿(12例)患者血清GFAP、CNTN1、NCAM1浓度散点图及两两独立样本T检验中可看出,脑胶质瘤患者的GFAP、CNTN1、NCAM1血清浓度值均比正常人显著增高,且有统计学差异,而在其他肿瘤与正常人相比三者的血清浓度值均无统计学差异,进而说明三种蛋白在脑胶质瘤筛查中的预测价值。

[0077] 由图2及图3可知,三种血清蛋白联合检测脑胶质瘤时,ROC曲线下面积升至0.889, P 值 <0.0001 ,具有显著的统计学意义,说明三联检ELISA试剂盒对脑胶质瘤具有较高的诊断价值,进一步证明了该方法-血清蛋白质GFAP、CNTN1和NCAM1三联检可以作为脑胶质瘤早期筛查的手段。

[0078] 实验结果证明,血清蛋白GFAP、CNTN1和NCAM1是脑胶质瘤较好的检测指标,特别是三者联合检测具有早期筛查和诊断价值,发挥了早期预警的作用,有潜在的临床应用价值。

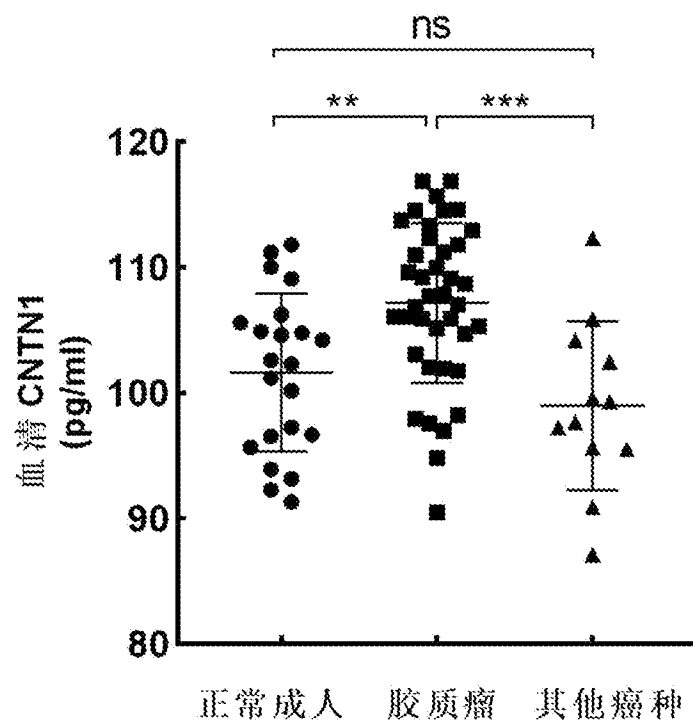


图1A

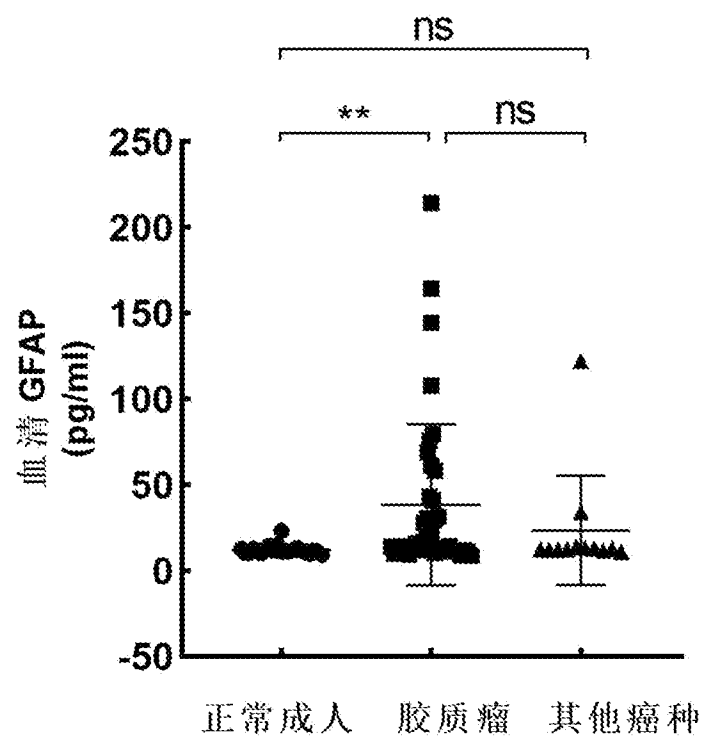


图1B

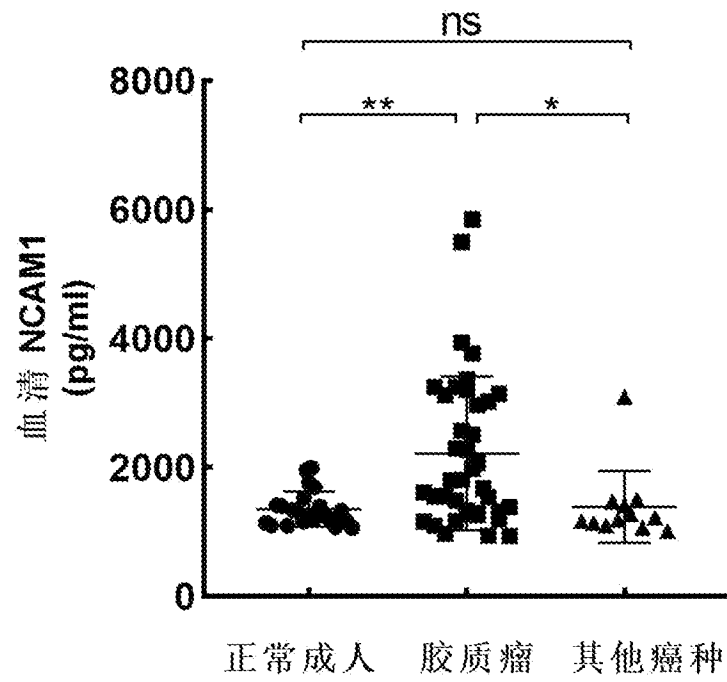


图1C

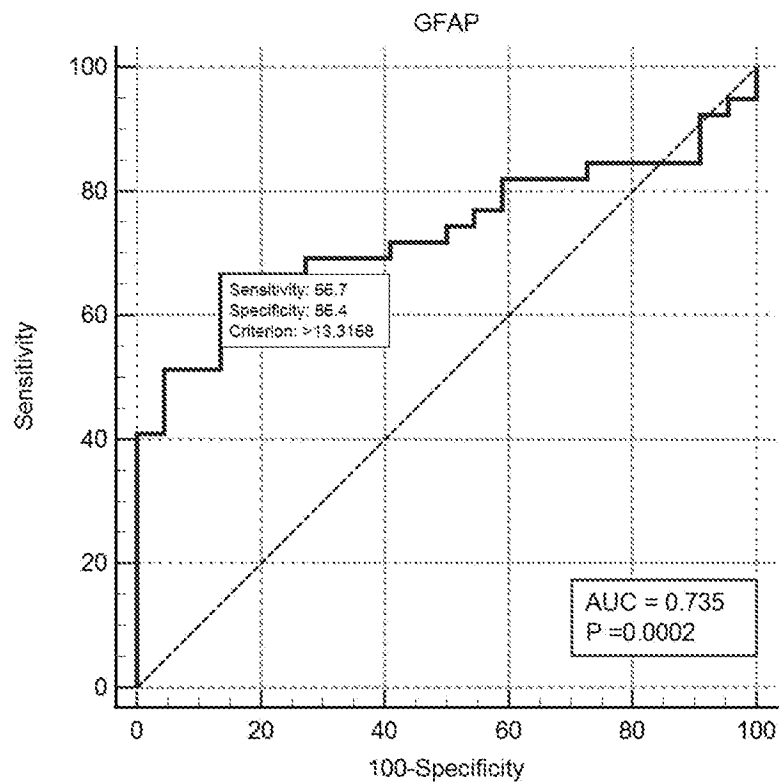


图2A

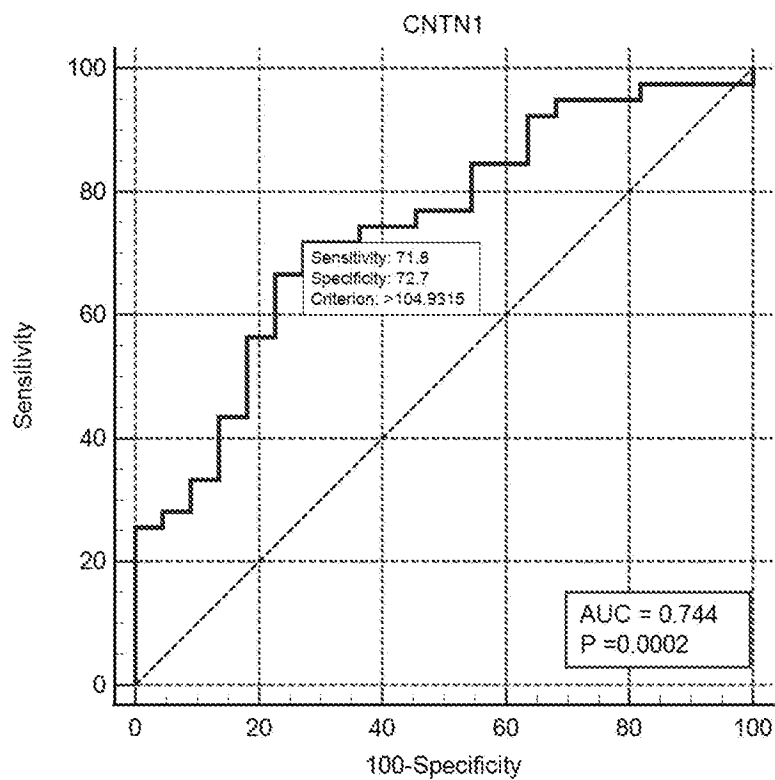


图2B

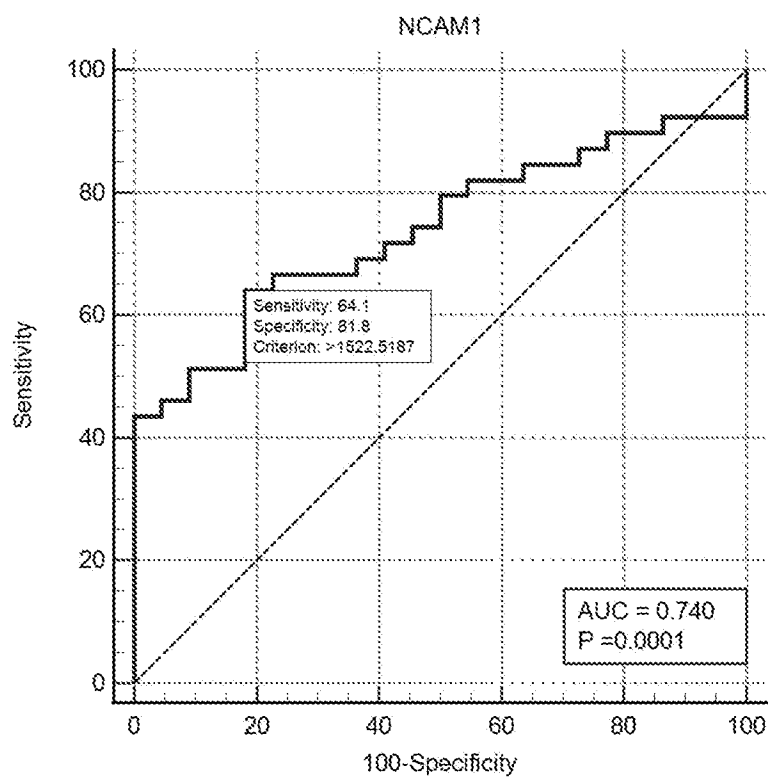


图2C

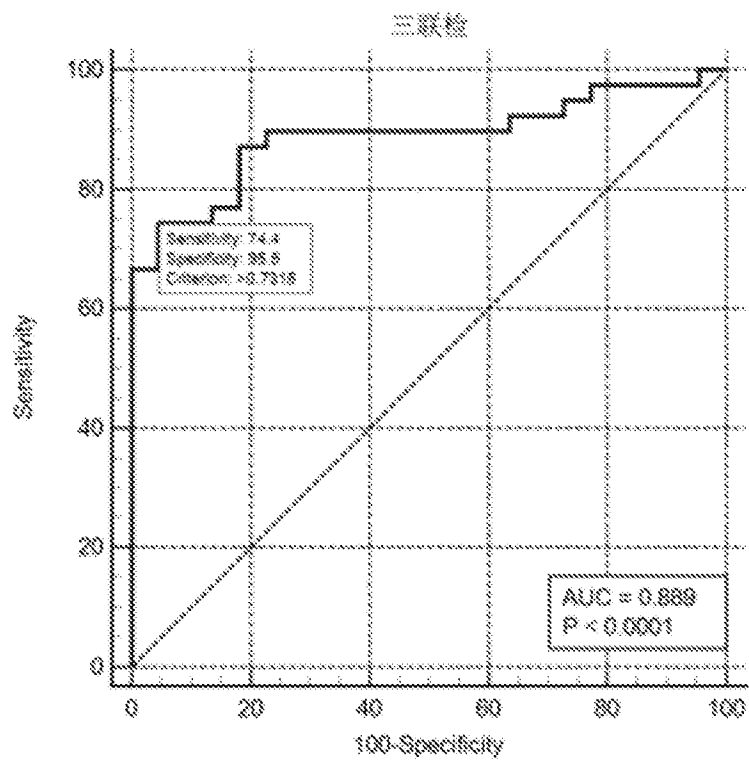


图3