

## · 医学检验前沿 ·

## 应用 ROC 曲线下面积比较血清胰蛋白酶原 -2 与 CA199 对胰腺癌的诊断价值

崔婷婷<sup>1</sup>, 张莉<sup>1</sup>, 曹建彪<sup>2▲</sup>, 郭汉斌<sup>2</sup>

(1 首都医科大学石景山教学医院北京市石景山医院消化内科, 北京 100043; 2 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心, 北京 100700)

【摘要】目的 比较血清胰蛋白酶原 -2 与 CA199 对胰腺癌诊断价值。方法 选取中国人民解放军北京军区总医院、石景山医院诊断为胰腺癌未经治疗的患者 25 例; 对照组随机选取体检中心健康体检者 35 例。入组者均留取血清标本, 采用 ELISA 法半定量检测血清胰蛋白酶原 -2、CA199 的含量。结果 胰腺癌组血清胰蛋白酶原 -2 中位数为 13.2  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为 2.25~49.15  $\mu\text{g/L}$ , CA199 中位数为 211.6  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为 42~326.7  $\mu\text{g/L}$ , 对照组血清胰蛋白酶原 -2 中位数为 0.8  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为 0.6~1.2  $\mu\text{g/L}$ , CA199 中位数为 12.8  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为 6.7~26.4  $\mu\text{g/L}$ 。以 1.85 ng/ml 为临界值, 此时血清胰蛋白酶原 -2 鉴别胰腺癌与正常人的敏感度和特异度分别为 96% 和 91.4%, ROC 曲线下的面积为 0.988。以 37.2 U/mL 为临界值, CA199 鉴别诊断胰腺癌与正常人的敏感度为 88%, 特异度为 82.9%, ROC 曲线下的面积为 0.906, 两者 ROC 曲线下面积差异无统计学意义。结论 血清胰蛋白酶原 -2 与 CA199 诊断胰腺癌价值差异无统计学意义, 可作为一种非侵入性筛选试验, 为临床联合肿瘤标志物筛查胰腺癌提供了手段。

【关键词】胰腺癌; 血清胰蛋白酶原 -2; CA199

【中图分类号】R735.9

【文献标识码】B

【文章编号】1004-6763 (2014) 10-0032-04

DOI:10.3969/J.ISSN.1004-6763.2014.10.016

## Area Under ROC Curves in Evaluation and Comparison of Serum Trypsinogen-2 and CA199 in Diagnosis of Pancreatic Cancer

CUI Tingting<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, CAO Jianbiao<sup>2▲</sup>, GUO Hanbin<sup>2</sup> (1 Digestive system department, Capital University of Medical Sciences Shijingshan Teaching Hospital Beijing Shijingshan Hospital, Beijing 100043, China, 2 Department of hepatology, General Hospital of Chinese PLA Beijing Command, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective To compare diagnostic value of serum trypsinogen-2 and CA199 in pancreatic cancer. Methods A total of 60 fresh serum samples were collected from the patients, including 25 cases of pancreatic cancer, 35 cases of normal control, detect the level of serum of trypsinogen-2 and CA199 by ELISA. Results The median level of serum trypsinogen-2 was 0.8  $\mu\text{g/L}$  in the controls, interquartile Range was 0.6~1.2  $\mu\text{g/L}$ , 13.2  $\mu\text{g/L}$  and 2.25~49.15  $\mu\text{g/L}$  in pancreatic cancer. The median level of serum CA199 was 12.8  $\mu\text{g/L}$  in the controls, interquartile Range was 6.7~26.4  $\mu\text{g/L}$ , 211.6  $\mu\text{g/L}$  and 42~326.7  $\mu\text{g/L}$  in pancreatic cancer. The sensitivity and specificity for differentiation between pancreatic cancer and control group was 91.4%, 96%, respectively, the area under the ROC curve was 0.989. It was 88% and 82.9%, 0.906 for CA199. There was no statistically differences between the area of ROC curve of trypsinogen-2 and C199. Conclusion There was no statistically differences between the area of ROC curve of trypsinogen-2 and C199 in diagnosis of pancreatic cancer. As a non-invasive screening test, detection of serum trypsinogen-2 can be used to combined tumor markers in screen prophase pancreatic cancer.

[Key words] Pancreatic Cancer, Serum Trypsinogen-2, CA199

胰腺癌是预后极差的恶性肿瘤, 每年的死亡例数接近新发病例数, 在美国居癌症死亡病例第 4 位, 5 年生存率仅

作者简介: 崔婷婷 (1984-), 女, 住院医师, 研究方向: 胰腺癌的早期诊断与治疗。

▲通讯作者: 曹建彪, E-mail: linana201@icloud.com

为 6% 左右, 为所有恶性肿瘤最低<sup>[1]</sup>。我国胰腺癌近几年来发病率明显上升, 也已经成为我国消化系统肿瘤的主要死亡原因之一。在胰腺癌早期诊断方法中, 肿瘤标志物检测方法简便, 费用低廉, 已在临床广泛应用, 其中 CA19-9 是目前最为有效的胰腺癌诊断标志, 但仅表达于 Lewis 血型抗原阳

性患者, 仍不能单独作为胰腺癌的诊断指标, 胰蛋白酶原-2, 由 T-8 氨基酸编码, 属于丝氨酸蛋白酶类, 绝大部分由胰腺腺泡分泌, 以酶原的形式分泌到胰液中。Hedstrom J<sup>[2]</sup> 等人于 2001 年发现胰腺癌患者胆汁中存在高浓度的胰蛋白酶原-2, 提示胰蛋白酶原-2 可能与胰腺癌相关, 我们之前的研究亦支持胰蛋白酶原-2 作为胰腺癌初筛指标, 本研究用 ELISA 法定量检测胰腺癌、正常对照者血清中胰蛋白酶原-2、CA199 含量, 比较二者在鉴别正常人与胰腺癌患者中的价值, 旨在为胰腺癌的筛查及早期诊断提供新的敏感性、特异性较高的无创指标。

1 材料和方法

1.1 材料

收集 2009 年 12 月 ~ 2011 年 6 月中国人民解放军北京军区总医院和 2011 年 6 月 ~ 2012 年 2 月北京市石景山医院就诊内、外科 25 例未经治疗胰腺癌住院患者为胰腺癌组, 以上患者入组前均未行手术及放化疗治疗, 均由术后病理或影像学资料 + 长期随访证实。随机选取同期于中国人民解放军北京军区总医院及石景山医院门诊行健康体检的就诊人员 35 例为健康对照, 入组者均无明显上消化道症状及胰腺疾病病史; 无高血压、糖尿病、高脂血症; 无严重心、肺、肝、肾和神经、精神疾病等; 并排除孕妇、酗酒者、药瘾者。胰蛋白酶原-2 检测试剂盒 (由北京永瀚星港生物技术有限公司惠赠), 酶标仪为全自动多功能酶标仪 (OLYMUS5421 全自动生化分析仪)。本研究经中国解放军北京军区总医院伦理委员会伦理审查批准, 所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本收集。所有入组患者均留取空腹静脉全血, 标本离心后取上清液分装至 EP (eppendorf) 管在 -70℃ 冻存, 统一检测。

1.2.2 血清胰蛋白酶原-2 定量检测。试验严格按照试剂盒说明书进行。(1) 离心: 全血标本经 1 000 × g 离心 10 分钟分离后取血清分装至 -70℃ 冻存备用。(2) ELISA 检测: 检测 8 h 前将冻存标本放置于 4℃ 冷藏室解冻, 检测 1 h 前取出至室温, 常规 ELISA 操作流程 (双抗体夹心法) 检测。(3) 测定: 采用全自动多功能酶标仪 (OLYMUS5421 全自动生化分析仪) 及检测统计软件, 分别记录标准品、样品、阳性对照、阴性对照和空白孔的 A 值, 取平均值进行结果计算和判断。

1.2.3 统计学处理。血清胰蛋白酶原-2、CA199 鉴别正常人及胰腺癌的敏感度和特异度: 应用 SPSS16.0 软件, 绘制受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC 曲线), 找出最佳截断点 (ROC 曲线上最左上方的点, 此时敏感度及特异度均较高, 或根据文献设定的临界值选取临界点), 计算 ROC 曲线下面积 AUC (area under curve), 两条曲线无交叉, 采用公式  $z = \frac{|A_{21} - A_{22}|}{\sqrt{SE_1^2 + SE_2^2 - 2rSE_1SE_2}}$  手工计算 Z 值, 比较条 ROC 曲线下面积差异有无统计学意义。

2 结果

2.1 血清胰蛋白酶原-2 鉴别正常人和胰腺癌的敏感度和特异度

如 ROC 曲线所示 (图 1 曲线 a): 以点 SEN 0.960 (1-SPE0.086), 为最佳临界点, 其对应的临界值为 1.85 ng/ml, 曲线下的面积为 0.988 ( $P < 0.001$ ), 此时血清胰蛋白酶原-2 鉴别胰腺癌与正常人的敏感度和特异度分别为 96% 和 91.4%。

CA199 鉴别正常人和胰腺癌的敏感度和特异度如 ROC 曲线所示 (图 1 曲线 b): 当前通常以 37 U/ml 作为胰腺癌诊断临界值, 本试验中选取最接近点 SEN 0.88 (1-SPE0.171), 相应临界值为 37.2 U/ml, 曲线下的面积为 0.906 ( $P < 0.001$ ), 此时 CA199 鉴别胰腺癌与正常人的敏感度和特异度分别为 88% 和 82.9%。

2.2 统计学分析

由图 1 见两条曲线无交叉, 可采用公式  $z = \frac{|A_{21} - A_{22}|}{\sqrt{SE_1^2 + SE_2^2 - 2rSE_1SE_2}}$  计算 Z 统计量, 以比较两个相关诊断试验 ROC 曲线下面积是否具有差异, 其中 Z 是正态离差值,  $A_{21}$  和  $A_{22}$  是两诊断试验的曲线下面积,  $SE_1$  和  $SE_2$  是其对应的标准误。r 是两

表 1 各组血清胰蛋白酶原-2 含量检测值 (ng/ml)

分组	n	M	QL-QU	Min-Max
正常对照	35	0.8	0.60~1.20	0.30~2.10
胰腺癌组	25	13.20	2.25~49.15	1.60~261.60

M: 中位数; QL-QU: 四分位数间距; Min-Max: 最小值-最大值

表 2 各组 CA199 含量检测值 (U/ml)

分组	n	M	QL-QU	Min-Max
正常对照	35	12.8	6.7~26.4	2.8~88
胰腺癌组	25	211.6	42~326.7	7.6~1600

M: 中位数; QL-QU: 四分位数间距; Min-Max: 最小值-最大值

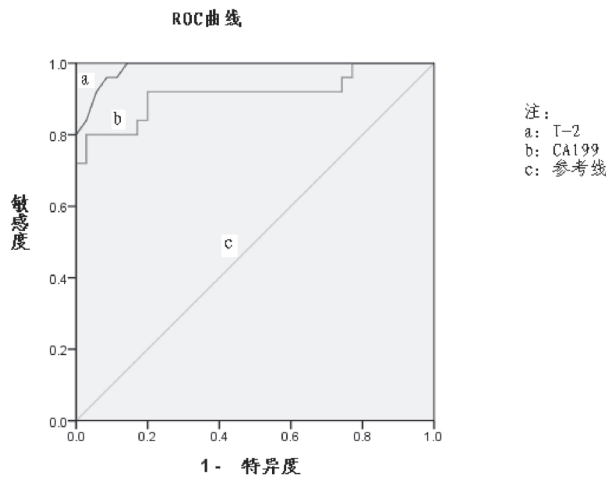


图 1 T-2 和 CA199 含量 ROC 曲线: T-2: AUC = 0.988,  $P < 0.001$ , 拒绝无效假设 ( $AUC = 0.5$ )。CA199: AUC = 0.906,  $P < 0.001$ , 拒绝无效假设 ( $AUC = 0.5$ )

个 ROC 曲线下面积间的相关系数, 它的计算需要首先求得正常组的两诊断试验间相关系数  $r_n$  和异常组的两诊断试验间的相关系数  $r_a$ 。两者的计算采用 Pearson 积差法, 以两诊断试验平均相关系数  $(r_n + r_a) / 2$  和平均面积  $(A_{Z1} + A_{Z2}) / 2$  查表得  $r$  值<sup>[3-4]</sup>。经计算,  $Z$  值: 1.92, 小于 1.96,  $P > 0.05$ , 在检验水准为 0.05 时, 两诊断方法无差异统计学意义。

### 3 讨论

胰腺癌是发生于胰腺组织的恶性肿瘤, 85% ~ 90% 起源于腺管上皮, 半数以上位于胰头部, 由于其解剖学位置和胰腺癌本身生物学特征, 胰腺癌容易侵犯周围组织器官并发生远处转移, 加之早期临床表现隐匿, 90% 以上胰腺癌确诊时已属中晚期, 失去了最佳治疗时机, 预后差<sup>[5]</sup>。因此, 当前研究热点在于提高胰腺癌早期诊断、治疗水平以便改善患者预后。胰腺癌发生时, 胰腺组织受损, 因此肿瘤分泌的一些细胞因子、致癌物质可释放至血液中, 理论上检测这些标志物有助于胰腺癌的诊断或筛查。糖类抗原 CA199 是当前国内外应用最多的胰腺癌肿瘤标志物, Goonetilleke 及 Siriwardena<sup>[6]</sup> 在 2007 年在 MEDLINE 数据库进行检索, 得出结果为: CA 199 诊断胰腺癌中位敏感性为 79% (70% ~ 90%), 中位特异性为 82% (68% ~ 91%), 其他的一些胰腺癌血清肿瘤标志物如 CA242、CA50、Span-1、Dupan-2 和 CEA 等的敏感性和特异性均不优于 CA199<sup>[6]</sup>。胰蛋白酶原 -2 是一种丝氨酸蛋白酶, 绝大部分以胰腺腺泡酶原的形式分泌到胰液中, 并在肠内被肠激酶激活, 近年来发现, 胰蛋白酶原 -2 在一些肿瘤细胞中, 呈高表达<sup>[7-10]</sup>。我们试验提示正常对照组血清中存在少量的胰蛋白酶原 -2, 胰腺癌组胰蛋白酶原 -2 含量明显高于正常组, 提示血清胰蛋白酶原 -2 与胰腺癌关系密切。本文采用 ROC 曲线对胰蛋白酶原 -2、CA199 诊断胰腺癌进行比较, 胰蛋白酶原 -2 鉴别胰腺癌与正常人曲线下面积 0.988, 以 1.85 ng/ml 为临界点, 敏感性 96%, 特异性 91.4%。CA199 鉴别胰腺癌与正常人曲线下面积 0.906, 以 37.2 U/ml 为临界点, 敏感性 88%, 特异性 82.9%, 两条曲线下面积差异无统计学意义, 提示二者在诊断胰腺癌价值无统计学差异。

尽管 CA199 是目前对胰腺癌敏感性最好的标志物<sup>[11]</sup>, 但其假阴性仍不容忽视, 因其抗原决定簇分子合成于 Lewis a 型基因, CA199 在 Lewis a 阴性基因人群中无法表达, 因此此血清型的肿瘤患者表现为 CA199 阴性。关于人群中 Lewis a 阴性基因型比例, 有文献报道约在 5%~10%<sup>[12]</sup>, 而 Lamerz<sup>[13]</sup> 发现 Lewis a 阴性基因型患者所占比例为 34%, 远远高于其他文献数据。此外, 随着 CA199 在临床上的广泛应用, 人们发现在肝脏炎症、胆管炎等良性疾病中, 尤其在胆管结石所致的阻塞性黄疸者中血清 CA199 的阳性率较高<sup>[14-15]</sup>, 与壶腹恶性肿瘤比较差异无显著性<sup>[16]</sup>, 同样 CA199 升高还可见于胰腺癌以外的恶性肿瘤<sup>[17-18]</sup>。CA199 因上述局限性限制了其在诊断胰腺癌中的应用, 并不是理想的肿瘤标志物。本实验中, 胰蛋白酶原 -2 用于诊断胰腺癌

与 CA199 效价差异无统计学意义, 且不依赖于 Lewis a 型基因表达, 提示其是对胰腺癌敏感性、特异性较好的标志物。但目前鲜有关于胰蛋白酶原 -2 与胰腺肿瘤大小、病情严重程度、病理分期相关性, 及是否能预测胰腺癌预后、评价治疗效果的研究报道, 且有文献报道胰蛋白酶原 -2 在急性胰腺炎患者血清中呈现高表达, 因此, 胰蛋白酶原 -2 也非胰腺癌绝对理想指标。目前尚未发现单一理想诊断胰腺癌的肿瘤标志物, 近年倾向于将敏感性、特异性较高的肿瘤标志物联合检测, 目前相关文献提示胰蛋白酶原 -2、CA199 假阴性人群、假阴性人群不尽相同, 理论上联合二者有助于早期胰腺癌的筛查, 尚待进一步研究证实。

### 参考文献

- [1] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2014 (64): 9-29.
- [2] Hedström J, Kempainen E, Andersen J. et al. A comparison of serum trypsinogen-2 and trypsin-2- $\alpha$ 1-antitrypsin complex with lipase and amylase in the diagnosis and assessment of severity in the early phase of acute pancreatitis[J]. Am J Gastroenterol, 2001(96): 424-30.
- [3] 王喜文, 董柏青, 刘飞鹰. 两相关诊断试验的 ROC 曲线下面积比较的 SAS 程序实现 [J]. 数理医药学杂志, 2010, 23(6): 671-674.
- [4] Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under a receiver operating characteristic curves derived from the same cases[J]. Radiology 1983(148): 839-843.
- [5] Long H, Li Q, Wang Y, et al. Effective combination gene therapy using Ceacam6-shRNA and the fusion suicide gene yCDgly TK for pancreatic carcinoma in vitro[J]. Exp Ther Med, 2013, 5(1): 155-161.
- [6] Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA199) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2007, 33 (3): 266-270.
- [7] Miyata S, Miyagi Y, Miyagi E, et al. Stimulation of cellular growth and adhesion to fibronectin and vitronectin in culture and tumorigenicity in nude mice by overexpression of trypsinogen in human gastric cancer cells[J]. Clin Exp Metastases, 1995(16): 613-622.
- [8] Miyata S, Koshikawa N. Expression of trypsin in human cancer cell lines and cancer tissues and its tight binding to soluble form of Alzheimer amyloid precursor protein in culture[J]. J Biochem, 1999(125): 1067-1076.

- [9] Hirahara F, Miyagi Y. Trypsinogen expression in human ovarian carcinomas[J]. Int J Cancer, 1995(63): 176-181.
- [10] Kawano N, Osawa H, Ito T, et al. Expression of gelatinase A, tissue inhibitor of metalloproteinases-2, matrilysin, and trypsin (ogen) in lung neoplasms: an immunohistochemical study[J]. Hum Pathol, 1997, 28(5): 613-622.
- [11] Szaja SD, Waszkiewicz N, Chojnowska S, et al. Carbohydrate markers of pancreatic cancer[J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(1): 340-343.
- [12] 蔡振华, 吴婷. 血清 CA199 对肝胆胰疾病的临床诊断价值[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2013, 22(11): 1155-1158.
- [13] Lamerz R. Role of tumor markers, cytogenetics[J]. Ann Oncol, 1999, 10(Suppl 4): 145-149.
- [14] 王继恒, 高革, 李浩然, 等. 血清 CA199 水平在胆总管结石中的临床意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2010, 19(7): 659-660.
- [15] 陈达, 樊艳华. CA199 在胰腺癌中的应用价值及局限性[J]. 临床肝胆病杂志, 2013, 29(3): 239-241.
- [16] 陈建明, 何穗, 龙国文, 等. 良性胆道疾病 CA199 检测的临床意义[J]. 中国医疗前沿, 2008, 3(13): 91-92.
- [17] Steinberg W. The clinical utility of the CA199 tumor associate antigen[J]. Am J Gastroenterol, 1990, 85(4): 350-355.
- [18] Goonellilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (ca199) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2007, 33(3): 266-270.

[收稿日期: 2014-09-22]

## 痰标本流感嗜血杆菌的分离培养及耐药性分析

刘建侠<sup>▲</sup>

(天津西青医院检验科, 天津 300380)

**【摘要】目的** 提高痰培养流感嗜血杆菌的检出率, 了解其耐药性, 为经验用药提供依据。**方法** 对本院近两年来痰标本分离的流感嗜血杆菌, 总结分离培养经验及药敏结果, 采用 WHONET5.6 软件处理数据。**结果** 痰培养共分离流感嗜血杆菌 61 株, 对复方新诺明、四环素、氨苄西林的耐药率较高, 分别是 50.8%、37.7% 和 27.9%, 对左氧氟沙星等耐药率小于 10%。**结论** 微生物室在痰培养中应从控制合格痰标本等环节提高流感嗜血杆菌的检出率。左氧氟沙星等大多数药物耐药率较低, 可作为治疗流感嗜血杆菌感染的经验药物, 复方新诺明、四环素不适合临床经验用药。

**【关键词】** 流感嗜血杆菌; 痰培养; 耐药性; 药敏试验

**【中图分类号】** R446.5 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1004-6763 (2014) 10-0035-03

DOI:10.3969/J.ISSN.1004-6763.2014.10.017

### The Isolated Culture and Analysis on the Antibiotic Resistance of Haemophilus Influenzae in Sputum

LIU Jianxia<sup>▲</sup> (Department of Clinical Laboratory, Tianjin Xiqing Hospital, Tianjin 300380, China)

**[Abstract] Objective** To increase the detection rate of Haemophilus Influenzae in sputum culture and investigate the antibiotic resistance of clinical isolates of haemophilus influenzae for providing basis of the empirical antibiotic use. **Method** The experience of isolated culture and the antimicrobial susceptibility result was summarized to Haemophilus Influenzae in sputum culture in the last two years. WHONET 5.6 software was used to process data. **Results** 61 strains haemophilus influenzae were separated from sputum culture, Resistant rate of haemophilus influenzae to TMP/SMZ, tetracycline, ampicillin were higher, they were 50.8%, 39.7% and 27.9%, respectively, while resistant rate of levofloxacin etc was less than 10%. **Conclusion** Microbiology lab should improve the detection rate from controlling the qualified sputum specimen etc in sputum culture. The resistant rate to the majority of antibiotic such as levofloxacin is low, they are suitable to treat infections caused by haemophilus influenzae for experiential therapy, TMP/SMZ, tetracycline are unsuitable.

**[Key words]** Putum culture, Haemophilus influenzae, Drug resistance, Antimicrobial susceptibility