

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.18.007

流式荧光法检测胃蛋白酶原 I 与 II 的评价及应用分析*

何忠发¹, 骆安德¹, 卢彦蕙¹, 陈耀良¹, 蒙顺武¹, 罗雪林¹, 覃 聪²

(1. 广西壮族自治区来宾市人民医院检验科 546100; 2. 广西壮族自治区来宾市中医医院检验科 546100)

摘要:目的 探讨流式荧光法检测血清胃蛋白酶原(PG I、PG II)的方法学评估及其与化学发光法的对比分析。方法 收集来宾市人民医院 2013 年 12 月至 2015 年 9 月确诊浅表性胃炎,萎缩性胃炎,早、晚期胃癌患者 155 例和无胃部疾病健康者 145 例血清标本。采用流式荧光法与化学发光法进行 PG I、PG II 检测,评估流式荧光法的准确度和精密度、检测上下限等指标,以胃镜和病理诊断作为金标准,对两种方法的灵敏度、特异度进行比较。结果 流式荧光法检测的 PG I、PG II 最低限分别为 0.65 ng/mL 和 0.22 ng/mL,上限为 190 ng/mL 和 110 ng/mL;PG I、PG II 的相对标准偏差(RSD%)为 2.96%和 3.65%;PG I、PG II 不同浓度的回收率均在 95.8%~100.1%;200 mg/mL 三酰甘油、20 mg/mL 胆红素和 20 mg/mL 血红蛋白对流式荧光法检测 PG I、PG II 水平没有干扰;胃癌患者 PG I、PG II 水平与其他胃部疾病差异有统计学意义($P < 0.05$);流式荧光法检测 PG I、PG II 灵敏度和特异度分别为 74.85%、79.02%,而化学发光法检测 PG I、PG II 灵敏度和特异度分别为 63.81%、63.75%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。流式荧光法检测 PG I、PG II、PG I/PG II 比值与化学发光法存在线性关系,线性方程分别为 PG I: $Y = 0.5485X + 2.241$, $r = 0.9882$; PG II: $Y = 0.5587X + 1.005$, $r = 0.9876$; PG I/PG II: $Y = 0.6241X + 0.325$, $r = 0.9846$ 。结论 流式荧光法检测 PG I、PG II 的方法学性能良好,与化学发光法有良好的相关性,检测患者血清 PG I、PG II 对于胃癌的筛查具有重要意义。

关键词:流式荧光法; 化学发光法; 胃蛋白酶原; 相关性

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)18-2707-04

Serum pepsinogen I / II methodology evaluation of streaming fluorescence detection and analysis of its comparability with chemiluminescence methodology*

HE Zhongfa¹, LUO Ande¹, LU Yanhui¹, CHEN Yaoliang¹, MENG Shunwu¹, LUO Xuelin¹, QIN Cong²

(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Laibin City, Laibin, Guangxi 546100, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Laibin City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Laibin, Guangxi 546100, China)

Abstract: Objective To study the methodology evaluation of streaming fluorescence detection serum pepsinogen I / II and its comparative analysis with chemiluminescence methodology. **Methods** From December 2013 to September 2015, 155 cases superficial gastritis, atrophic gastritis (HP+, HP- distinguish), gastric cancer (for early and late clinical stage) samples, used streaming fluorescence technology and methodology of chemiluminescence to detect, flow fluorescence detecting all PG I, PG II of the patients. And with no stomach diseases by physical examination serum samples of healthy subjects for preliminary built a lab reference range, assessed flow fluorescence methodology on the accuracy and precision, detection of floor indicators, such as technology and chemical luminescence and convection fluorescence correlation analysis methodology, the sensitivity and specificity of the two methods were compared by using gastroscopy and pathological diagnosis as the gold standard. **Results** Through the current fluorescent methodology detection, PG I, PG II could be tested from the minimum of 0.65 ng/mL and 0.22 ng/mL, up to 190 ng/mL and 110 ng/mL; PG I, PG II relative standard deviation (RSD%) were 2.96% and 3.65%; PG I, PG II recovery rate were 95.8%—100.1%; Three acyl glycerin, bilirubin, and hemoglobin for convection fluorescence technique to detect the contents of PG I, PG II had no interference; The content of PG I and PG II in patients with gastric cancer was significantly different from other gastric diseases ($P < 0.05$); The sensitivity and specificity of PG I and PG II were 74.85%, 79.02%, while the sensitivity and specificity of PG I and PG II were 63.81% and 63.75% by chemilumines-

* 基金项目: 广西来宾市科学研究与技术开发计划项目(来科转 143716)。

作者简介: 何忠发, 男, 副主任技师, 主要从事临床检验诊断学方面的研究。

cence, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); Streaming fluorescence detection PG I, PG II and chemiluminescence methods had linear relationship, linear equation respectively, PG I: $Y = 0.5485X + 2.241$, $r = 0.9882$; PG II: $Y = 0.5587X + 1.005$, $r = 0.9876$; PG I / PG II: $Y = 0.6241X + 0.325$, $r = 0.9846$.

Conclusion The streaming fluorescence detection PG I, PG II methodology performance is good, and there is a strong correlation between the two methods, streaming fluorescence and chemiluminescence methodology, on the detection of PG I, PG II. Testing patient's serum PG I, PG II has valid effect for gastric cancer screening.

Key words: streaming fluorescence technology; chemiluminescence methodology; pepsinogen; the correlation

胃癌组织分泌物中含有胃蛋白酶原 I、II (PG I、II), 测定 PG 有助于分析胃的分泌能力。血清 PG I、PG II 水平的变化可以反映胃黏膜的功能, 因此对其准确的测定在胃癌早期的筛查与疗效监测上具有重要意义。流式荧光法是基于荧光编码微球和流式技术的一种临床应用型高通量发光检测技术, 具有通量高、配套试剂多、应用领域广、重复性好, 既能检测蛋白质又能检测核酸等优点^[1]。因此, 流式荧光法被广泛应用于胃部疾病的检查。化学发光法也是临床常用检测方法之一。有研究显示, 流式荧光法与化学发光法检测 PG I、PG II 的结果在中等浓度方面基本一致^[2-3]。但是对低浓度检测的研究也是分析该方法的重要方面, 本研究对流式荧光法检测 PG I、PG II 的方法学进行评估, 并与化学发光法检测的结果进行对比分析, 探讨两种检测方法检测 PG I、PG II 上的差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 12 月至 2015 年 9 月来宾市人民医院收治的胃疾病患者 155 例(患者纳入例数参考文献[4]), 其中浅表性胃炎 44 例, 萎缩性胃炎 42 例(幽门螺杆菌感染 29 例, 无幽门螺杆菌感染 13 例), 胃癌 69 例(早期 39 例, 晚期 30 例); 年龄 22~79 岁, 平均(39.9±22.9)岁。选取同期在来宾市人民医院体检健康者 145 例, 年龄 23~80 岁, 平均(40.3±12.6)岁, 无胃部疾病。两组研究对象一般资料比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 仪器与试剂 PG I、PG II 流式荧光定量测定试剂盒(上海透景生命科技有限公司), Luminex 200 多功能流式点阵仪(上海透景生命科技有限公司); PG I、PG II 化学发光微粒子免疫测定试剂盒(美国 Abbott 公司), i-2000 全自动化学发光免疫分析仪(美国 Abbott 公司)。

1.3 方法

1.3.1 PG I、PG II 检测 流式荧光法严格按照流式荧光定量测定试剂盒的说明书进行操作, 采用 Luminex 200 多功能流式点阵仪进行 PG I、PG II 定量测定; 化学发光微粒子免疫检测法按 Abbott 公司试剂盒说明书操作。

1.3.2 标准曲线的制作 测定 0.4、1.0、5.0、10.0、50.0、200.0 ng/mL PG I、PG II 混标液中 PG I、PG II 水平, 建立回归方程, 计算回归方程及相关系数(r)。

1.3.3 流式荧光法检测 PG I、PG II 的评价试验 取 10 ng/mL PG I、PG II 混标溶液进行重复性试验, 根据峰面积计算 PG I、PG II 检测结果的相对标准偏差(RSD)^[5]; 取 9 份浅表性胃炎患者血清样本进行回收试验, 参考王绍亮等^[6]的回收试验方法, 计算 9 个样本 PG I、PG II 的水平, 以平均值表示样品中 PG I、PG II 的初始水平; 取同一胃炎患者血清样本 4 份分别加入 0.4、10.0、200.0 ng/mL 的 PG I、PG II 混标液, 然后测定 PG I、PG II 的水平, 计算回收率 = [(测定待测回收样本浓度均值 - 测定基础样本浓度均值) / 加入浓度] × 100%; 在不同水平的 PG I、PG II 中加入干扰剂三酰甘油 200 mg/mL、胆红素 20 mg/mL、血红蛋白 20 mg/mL, 计算回收率以分析抗干扰能力。

1.3.4 灵敏度和特异度实验 以胃镜和病理诊断作为金标准, 对两种方法的灵敏度、特异性进行比较, 灵敏度 = 真阳性人数 / (真阳性人数 + 假阴性人数) × 100%, 特异度 = 真阴性人数 / (真阴性人数 + 假阳性人数) × 100%。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较采用方差分析; 两组间比较采用 t 检验。采用多重线性回建立回归方程。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流式荧光法检测 PG I、PG II 基本参数分析 流式荧光法检测 PG I、PG II 线性回归方程为 $Y = 62.49X + 1.61$ 和 $Y = 41.18X + 2.85$, $r = 0.9985$ 、 0.9988 , 线性范围为 0.35~190.00 ng/mL 和 0.32~200.00 ng/mL 检出限为 0.02 ng/mL 和 0.04 ng/mL。

2.2 流式荧光法检测 PG I、PG II 评价试验 流式荧光法检测 10 ng/mL 的 PG I、PG II 结果分别为 9.3、9.1、9.5、9.8、9.2 ng/mL 和 9.5、9.0、9.2、9.9、9.3 ng/mL, 相对标准偏差为 2.96% 和 3.65%; 流式

荧光法检测 PG I、PG II 在基础浓度 4.51 ng/mL 和 2.74 ng/mL,加入浓度为 0.4、10.0 和 200.0 ng/mL 的平均回收率为 98.3%~100.1% 和 95.8%~100.0%; 流失荧光法在 PG I 和 PG II 基本浓度为 15.66、22.65、23.69 ng/mL 和 5.69、5.50、5.68 ng/mL,三酰甘油、胆红素和血红蛋白水平为 200、20、20 mg/mL 情况下,回收率分别为 99.1%、98.7%、97.0% 和 91.2%、96.5%、103.5%。

2.3 流式荧光法检测 PG I、PG II 灵敏度和特异度分析 流式荧光法检测 PG I、PG II 灵敏度和特异度分别为 74.85%、79.02%,而化学发光法检测 PG I、PG II 灵敏度和特异度分别为 63.81%、63.75%,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两种方法检测 PG I、PG II 灵敏度和特异度比较

检测方法	检测结果 (n)	金标准检测结果		灵敏度 (%)	特异度 (%)
		阳性(n)	阴性(n)		
流式荧光法	阳性	125	30	74.85	79.02
	阴性	113	42		
化学发光法	阳性	97	58	63.81	63.75
	阴性	102	53		
χ^2				3.905	8.545
P				0.048	0.003

2.4 不同胃部疾病 PG I、PG II 结果分析 不同胃部疾病患者 PG I、PG II 结果见下表 2 和图 1,胃癌患者 PG I、PG II 水平与其他胃部疾病患者比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.5 流式荧光技术与化学发光法检测结果比较 两种方法线性回归方程 PG I 为 $Y=0.5485X+2.241$, $r=0.9882$; PG II 为 $Y=0.5587X+1.005$, $r=0.9876$ 。PG I / PG II 为 $Y=0.6241X+0.3250$, $r=0.9846$,见表 3。

表 2 不同胃部疾病患者 PG I、PG II 检测结果($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

疾病类型	n	PG I	PG II
浅表性胃炎	44	4.51±0.32	2.74±0.21
HP 感染萎缩性胃炎	29	6.11±0.45	4.02±0.26
无 HP 感染萎缩性胃炎	13	4.56±0.78	2.99±0.08
早期胃癌	39	8.39±0.69	6.21±1.02
晚期胃癌	30	5.89±1.06*	4.89±1.04*
健康人群	145	10.32±2.30	8.32±2.30
F		2.153	2.012
P		0.025	0.026

注: * $P<0.05$,与其他类型比较,HP 为幽门螺杆菌

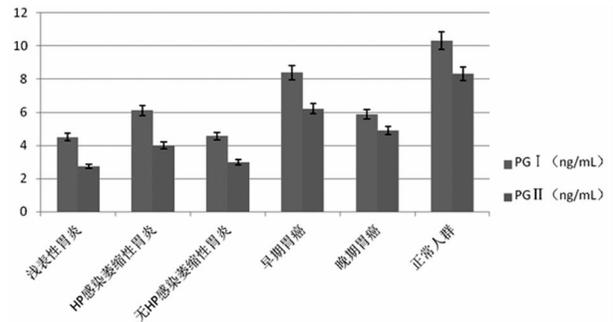


图 1 不同胃部疾病 PG I、PG II 检测结果

表 3 流式荧光法与化学发光法检测 PG I、PG II 结果比较($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

疾病类型	n	流式荧光法		化学发光法		t	P	t	P
		PG I	PG II	PG I	PG II				
浅表性胃炎	44	4.51±0.32	2.74±0.21	4.51±0.32	2.74±0.21	122.2	0.652	122.2	0.652
HP 感染萎缩性胃炎	29	6.11±0.45	4.02±0.26	4.51±0.32	2.74±0.21				
无 HP 感染萎缩性胃炎	13	4.56±0.78	2.99±0.08	6.11±0.45	4.02±0.26				
早期胃癌	39	8.39±0.69	6.21±1.02	4.56±0.78	2.99±0.08				
晚期胃癌	30	5.89±1.06*	4.89±1.04*	3.39±0.69	1.21±1.02				

注:HP 为幽门螺杆菌

3 讨论

胃癌是比较常见的恶性肿瘤。目前对胃癌的诊断依然采用胃镜活检组织病理学进行检查,也是确诊胃癌的金标准,但是该方法在使用过程需要花费的人力及经济成本比较高,而且对患者也会造成比较大的痛苦,不少人便放弃了对胃部疾病的检查^[6]。PG 流式荧光技术因其具有高通量、检测效率高的特点,在临床上常用于胃癌的筛查。此方法对患者造成的痛苦比较小,而且准确性比较高,受到了广大患者及学

者的关注。PG 是胃液中胃蛋白酶的非活性前体,在免疫原性上分为 PG I、PG II 2 种,PG I 由胃底腺分泌,PG II 由胃底腺、贲门腺、幽门腺和十二指肠的 Brunner,S 腺分泌,胃底腺黏膜萎缩过程中,分泌 PG I 的主细胞减少,分泌 PG II 的幽门腺细胞增多,PG I / PG II 比值降低^[7-8]。

检测 PG 的方法目前报导的有酶联免疫吸附试验(ELISA)、放射免疫分析法(RIA)、乳胶增强免疫比浊法(PETIA)、时间分辨荧光免疫分析法(TR-

FIA)^[9-10]、光激化学发光免疫分析法(LICA)及化学发光法(CLIA),检测PG的参考方法是化学发光免疫分析法^[10]。本研究的PG流式荧光发光免疫测定方法,其分析血清中PG的精密度、准确度、检出限、线性,和参考方法Abbott公司化学发光法相关性良好,两法测定的结果具有一致性^[10]。本研究通过流式荧光法检测PG I、PG II灵敏度和特异度为74.85%、79.02%,而化学发光法检测PG I、PG II灵敏度和特异度为63.81%、63.75%,流式荧光法检测灵敏度和特异度高。本研究通过试验,结果发现采用流式荧光技术检测PG I、PG II的线性范围分别为0.65~190.00 ng/mL和0.22~110.00 ng/mL,和其他研究的结果基本一致^[11]。可能由于两种检测方法的原理不同,灵敏度和特异度的差距等,导致两种检测方法的线性范围差别较大。而且流式荧光法精密度和回收率均比较好,可以准确测定标本中的PG I、PG II。与化学发光法进行对比分析,两种方法检测PG I、PG II、PG I/PG II相关性良好,存在较好的可比性。

综上所述,流式荧光技术检测PG I、PG II的方法学性能比较好,与化学发光法具有良好的相关性,可在临床上推广应用。

参考文献

- [1] 李洪涛,高庭.流式荧光发光法检测多肿瘤标志物的方法学评价[J].国际检验医学杂志,2014,35(2):203-204.
- [2] 李萌,吴诗琴.两种胃蛋白酶原检测方法比较及偏倚评估

[J].国际检验医学杂志,2015,36(18):2706-2707.

- [3] 徐燕萍,李敏,赵荣平.流式荧光技术检测血清胃蛋白酶原 I / II 方法学性能评价与应用评估[J].临床检验杂志,2014,32(6):474-477.
- [4] 王绍亮.流式荧光法检测胃蛋白酶原在临床的应用[D].石河子:石河子大学,2015.
- [5] 田峰,齐素文.基于量子点荧光标记技术检测 SCCa 方法的研究[J].激光杂志,2015,36(4):52-55.
- [6] 王绍亮,程江.流式荧光法检测血清胃蛋白酶原 I / II 的应用评价[J].国际检验医学杂志,2015,36(13):1839-1841.
- [7] 周伟,金磊,孟伟,等.胃蛋白酶原光激化学发光免疫测定方法的建立[J].中国医药指南,2013,11(12):64-66.
- [8] 邱志奇,温少磊,谭智毅.胃蛋白酶原 I、II 及其比值在胃癌筛查中的应用[J].检验医学与临床,2013,10(14):1806-1807.
- [9] CHO E J, KIM H K, JEONG T D, et al. Method evaluation of pepsinogen I / II assay based on chemiluminescent immunoassays and comparison with other test methods[J]. Clin Chim Acta, 2016(452):149-154.
- [10] 朱国民,邱峰.三种血清胃蛋白酶原检测方法在胃癌筛查中的比较分析[J].检验医学,2012,27(11):961-962.
- [11] 丁娟,郑桂喜,杜鲁涛,等.外周血 sHLA-G 与 PGR、GPR 联合检测在胃癌诊断中的效能评估[J].山东大学学报(医学版),2015,53(11):59-63.

(收稿日期:2018-02-07 修回日期:2018-04-22)

(上接第 2706 页)

疗 BPH 更为适合^[10]。同时工艺简单,价格低廉,使用安全方便。本研究初探蒲黄抗 BPH 作用机制,如能推广临床,具有显著的社会效益。

参考文献

- [1] 王晓峰.男科疾病诊治进展[M].北京:人民军医出版社,2012:234.
- [2] 张杰,潘永军,黄捷,等.肥胖与良性前列腺增生的相关性研究[J].检验医学与临床,2016,13(16):2258-2259.
- [3] 苗明三.实验动物和动物实验技术[M].北京:中国中医药出版社,1997:349.
- [4] TURNER H E, NAGY Z, GATTER K C, et al. Proliferation, bcl-2 expression and angiogenesis in pituitary adenomas: relationship to tumour behaviour[J]. Br J Cancer, 2000, 82(8):1441-1445.
- [5] WEIDNER N, SEMPLE J P, WELCH W R, et al. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma[J]. N Engl J Med, 1991, 324(1):1-8.

- [6] 秦兆江,朱成彬,张克辉,等.蒲黄颗粒抗小鼠前列腺增生的实验研究[J].实用中医药杂志,2017,33(9):1004-1006.

- [7] GERDES J, SCHWAB U, LEMKE H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation[J]. Int J Cancer, 1983, 31(1):13-20.
- [8] ZHANG Y I, XU Y, MA J, et al. Adrenomedullin promotes angiogenesis in epithelial ovarian cancer through upregulating hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor[J]. Sci Rep, 2017, 7(7):40524.
- [9] TANIGAWA N, AMAYA H, MATSUMURA M, et al. Extent of tumor vascularization correlates with prognosis and hematogenous metastasis in gastric carcinomas[J]. Cancer Res, 1996, 56(11):2671-2676.
- [10] 李芳,陈佩东,丁安伟.蒲黄化学成分研究[J].中草药,2012,43(4):667-669.

(收稿日期:2018-02-09 修回日期:2018-04-24)