

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.01.018

河南地区电化学发光法 CEA、CYFRA21-1、NSE 参考值的建立

侯艳丽, 闫春宇, 陈 秀, 付海雁, 齐振普[△]

郑州迪安医学检验所检验实验室, 河南郑州 450000

摘要:目的 建立河南地区电化学发光法癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)的参考值,为临床诊断提供有价值的参考依据。方法 采用罗氏电化学发光分析系统检测并进行性能验证,按照 WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定要求筛选符合标准的参考个体组成参考人群。进行 CEA 检测男 1 517 例,女 923 例;进行 CYFRA21-1 检测男 1 456 例,女 1 049 例;进行 NSE 检测男 1 494 例,女 1 295 例。以 40 岁为界分别统计 ≤ 40 岁和 >40 岁的参考值。性别间差异比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,差异无统计学意义时,合并统计参考值,差异有统计学意义时,则分别统计参考值。以单侧 95%百分位数法确定参考值。结果 参考值如下。CEA:男(≤ 40 岁)0.60~5.09 $\mu\text{g/L}$,男(>40 岁)0.60~7.86 $\mu\text{g/L}$,女(≤ 40 岁)0.60~2.95 $\mu\text{g/L}$,女(>40 岁)0.60~9.24 $\mu\text{g/L}$ 。CYFRA21-1:(≤ 40 岁)0.30~3.93 $\mu\text{g/L}$,(>40 岁)0.30~5.02 $\mu\text{g/L}$ 。NSE:男(≤ 40 岁)0.15~19.83 $\mu\text{g/L}$,男(>40 岁)0.15~23.06 $\mu\text{g/L}$,女(≤ 40 岁)0.15~19.73 $\mu\text{g/L}$,女(>40 岁)0.15~21.95 $\mu\text{g/L}$ 。经小样本验证,全部通过。除 ≤ 40 岁女性 CEA 低于罗氏说明书提供的参考值上限外,其他均高于罗氏说明书提供的参考值上限($P < 0.001$)。结论 国内使用罗氏电化学发光法检测 CEA、CYFRA21-1、NSE 的实验室不宜直接使用罗氏说明书提供的参考值,而应该先验证罗氏参考值是否适用于该实验室服务的人群,必要时建立自己实验室的参考值。

关键词:电化学发光; 癌胚抗原; 细胞角蛋白 19 片段; 神经元特异性烯醇化酶; 参考值

中图分类号:R446.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)01-0079-04

**Establishment of reference values of CEA, CYFRA21-1 and NSE
by electrochemiluminescence in Henan area**HOU Yanli, Yan Chunyu, CHEN Xiu, FU Haiyan, QI Zhenpu[△]Department of Inspection Laboratory, Zhengzhou Dian Medical Laboratory,
Zhengzhou, Henan 450000, China

Abstract: Objective To establish the reference values of carcinoembryonic antigen (CEA), cytokeratin19 (CYFRA21-1) and neuronspecific enolase (NSE) by electrochemiluminescence in Henan area to provide valuable reference basis for clinical diagnosis. **Methods** The Roche electrochemiluminescence analysis system was used to conduct the detection and performance validation, the reference population meeting the standard was selected according to the formulation requirement of clinical laboratory test items reference interval in WST 402-2012. The CEA detection was performed in 1 517 males and 923 females; the CYFRA21-1 was performed in 1 456 males and 1 049 females; the NSE detection was performed in 1 494 males and 1 295 females. The reference values in ≤ 40 years old and >40 years old conducted the statistics with 40 years old as the boundary. The Mann-Whitney *U* test was used to compare the differences between genders. If there were no statistically significant differences between gender, the statistical reference values were combined; if the differences were statistically significant, the reference values were counted separately. The reference value was determined by the unilateral 95% percentile method. **Results** CEA: male (≤ 40 years old) 0.60–5.09 $\mu\text{g/L}$, male (>40 years old) 0.60–7.86 $\mu\text{g/L}$, female (≤ 40 years old) 0.60–2.95 $\mu\text{g/L}$, female (>40 years old) 0.60–9.24 $\mu\text{g/L}$. CYFRA21-1: (≤ 40 years old) 0.30–3.93 $\mu\text{g/L}$, (>40 years old) 0.30–5.02 $\mu\text{g/L}$. NSE: male (≤ 40 years old) 0.15–19.83 $\mu\text{g/L}$, male (>40 years old) 0.15–23.06 $\mu\text{g/L}$, female (≤ 40 years old) 0.15–19.73 $\mu\text{g/L}$, female (>40 years old) 0.15–21.95 $\mu\text{g/L}$. After the small sample verification, all passed. Except that the CEA in female ≤ 40 years old was lower than the upper limit of the reference value provided by the Roche manual, all the others were higher than the upper limit of the reference value provided by the Roche manual. **Conclusion** The domestic laboratories that using the Roche electrochemical luminescence method to detect CEA, CYFRA21-1 and NSE should not directly use the reference values provided by Roche's instructions, but

should first verify whether the Roche reference values are applicable to the people served by the laboratory. The reference values for your own laboratory should be established if necessary.

Key words: electrochemiluminescence; carcinoembryonic antigen; cytokeratin19; neuronspecific enolase; reference value

血清肿瘤标志物的检测方法众多,尤以发光法多见。基于免疫学原理建立各检测系统间的结果一般不具可比性,特别是国外的检测系统提供的参考值是否适合国人都需要验证,当验证未通过时则需要建立自己的参考值^[1]。故不同厂家的说明书几乎都建议各实验室建立自己的参考值^[2-4]。在工作中,笔者经常发现肿瘤标志物水平轻度升高(超过说明书给出的参考值上限),常引起临床医师及患者质疑。为了解肿瘤标志物水平轻度增高者的比例,本研究前期对健康体检者癌胚抗原(CEA, 2 076 例)、血清细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1, 1 896 例)、神经元特异性烯醇化酶(NSE, 841 例)的结果进行统计,超过罗氏参考值上限者分别为 CEA 383 例(18.45%)、CYFRA21-1 408 例(21.52%)、NSE 314 例(37.34%)。故质疑厂家罗氏参考值不适合本实验室检测人群。罗氏电化学发光分析系统检测性能稳定,精密度高,特别是其定标可溯源至国际标准^[5-7],在国内实验室应用较为普遍。但厂家提供的参考值是否有效,需要评估,若不适当的参考值出现在检验报告上,会误导临床医生和患者,甚至导致患者到多家医院复查,浪费医疗资源并增加医疗成本。为此,在对罗氏 Cobas E601 电化学发光分析系统性能验证的基础上,本研究对肺癌相关血清标志物 CEA、CYFRA21-1、NSE 进行参考值调查,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 参考人群:参照文献^[1]筛选符合标准的参考个体组成参考人群。选择 2021 年 6—8 月河南省 59 家医疗单位(包括豫北 10 家、豫东 10 家、豫南 7 家、豫西 9 家和郑州地区 23 家)体检人群,纳入参考值统计的数据每组不少于 120 例,年龄为 8~80 岁。其中进行 CEA 检测男 1 517 例,女 923 例;进行 CYFRA21-1 检测男 1 456 例,女 1 049 例;进行 NSE 检测男 1 494 例,女 1 295 例。本研究通过本单位医学伦理委员会审批(YXLL-ZZDA-081)。

1.2 仪器与试剂 仪器:罗氏 Cobas E601 电化学发

光分析系统。试剂:罗氏配套试剂和校准品。质控品:伯乐 BIO-RAD 定值质控品。

1.3 方法

1.3.1 检测系统性能验证与质控 按照文献^[2-4]方案进行。性能验证参数包括:测量精密度(包括重复性和中间精密度)、测量正确度、线性区间(包括检出限)、临床可报告区间、参考区间等。室内质控采用伯乐正常值和异常值质控品和质控程序,每天质控通过后检测受检者样本。验证后的检测系统参加国家卫生健康委员会临床检验中心与河南省临床检验中心室间质量评价成绩合格。

1.3.2 确定参考值 以 40 岁分界,分别统计≤40 岁和>40 岁的参考值。性别间比较差异无统计学意义时,合并统计参考值,差异有统计学意义时,则分别统计参考值。以单侧 95%百分位数法确定参考值。

1.3.3 参考值验证 按照文献^[1]小样本验证方案,随机选取男、女性≤40 岁和>40 岁每组 20 例进行验证。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel2003 和 SPSS21.0 统计软件进行数据处理和分析。由专人收集符合标准的参考个体结果,参照文献^[1]方法剔除离群值。性别间差异比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,自建参考值与罗氏参考值比较采用单样本 Wilcoxon 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 个项目的基本统计量 不同性别间 CEA、NSE 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),需要分性别统计参考值。不同性别间 CYFRA21-1 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),故合并统计参考值。见表 1。

2.2 参考值确定 以罗氏说明书确定的检出限作为下限,单侧 95%百分位数为上限,确定的参考值。与罗氏说明书提供的参考值比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 不同年龄、性别人群 CEA、CYFRA21-1、NSE 水平比较($\mu\text{g/L}$)

年龄	性别	CEA					CYFRA21-1				
		<i>n</i>	<i>M</i> (min~max)	单侧 95 百分位数	<i>Z</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>M</i> (min~max)	单侧 95 百分位数	<i>Z</i>	<i>P</i>
≤40 岁	男	634	2.17(0.55~8.83)	5.09	-10.436	<0.001	250	1.84(0.29~3.49)	3.02	-1.647	0.522
	女	363	1.19(0.22~7.27)	2.95			341	1.62(0.76~3.27)	2.34		
>40 岁	男	883	2.75(0.41~14.82)	7.86	-8.377	<0.001	1206	2.14(0.23~12.40)	4.76	-6.967	0.846
	女	560	1.97(0.02~12.91)	9.24			708	2.18(0.48~12.99)	6.41		

续表 1 不同年龄、性别人群 CEA、CYFRA21-1、NSE 水平比较(μg/L)

年龄	性别	NSE				
		n	M(min~max)	单侧 95 百分位数	Z	P
≤40 岁	男	648	13.27(4.01~25.80)	19.83	-4.131	<0.001
	女	516	11.89(6.95~21.25)	19.73		
>40 岁	男	846	14.02(4.04~28.50)	23.06	-2.544	0.011
	女	779	13.09(4.09~28.26)	21.95		

表 2 CEA、CYFRA21-1、NSE 3 个项目的参考值(μg/L)

项目	特征	罗氏说明书检出限	罗氏说明书参考值	本研究确定的参考值	与罗氏参考值比较(P)
CEA	男(≤40 岁)	0.60	0.60~4.70	0.60~5.09	<0.001
	男(>40 岁)	0.60	0.60~5.20	0.60~7.86	<0.001
	女(≤40 岁)	0.60	0.60~4.70	0.60~2.95	<0.001
	女(>40 岁)	0.60	0.60~5.20	0.60~9.24	<0.001
CYFRA21-1	≤40 岁	0.30	0.30~3.30	0.30~3.93	<0.001
	>40 岁	0.30	0.30~3.30	0.30~5.02	<0.001
NSE	男(≤40 岁)	0.15	0.15~16.30	0.15~19.83	<0.001
	男(>40 岁)	0.15	0.15~16.30	0.15~23.06	<0.001
	女(≤40 岁)	0.15	0.15~16.30	0.15~19.73	<0.001
	女(>40 岁)	0.15	0.15~16.30	0.15~21.95	<0.001

2.3 参考值验证 采用小样本验证方案,本研究建立的参考值全部通过验证。

3 讨 论

随着科学技术的发展,越来越多的检验新方法、新技术应用于临床。但很多项目的生产厂家特别是国外厂家提供的参考值并不适合中国人群。虽然自 2012 年以来,原国家卫生部陆续建立了部分血液学、生物化学、免疫学检验等数十个检验项目的参考值^[5-9],但与临床检验的发展和新项目的应用相比,仍有较多新的检验项目没有建立国人的参考值。目前第三方实验室开展的检验项目达到或超过 2 000 项,检测这些项目的仪器和试剂由国外厂家生产的占很大比例,提供的参考值基本不适合中国人群^[2-4]。但建立参考区间的研究工作量、成本高,若不建立国人的参考值,会导致这些项目的临床应用价值大打折扣^[9]。肿瘤标志物虽然应用于临床已有几十年,但由于检验方法和检测系统较多,至今只有部分项目建立了参考值^[9],大多数肿瘤标志物仍使用试剂说明书提供的参考值。

血清肿瘤标志物主要采用发光法检测,分为化学发光法和电化学发光法 2 种。罗氏电化学发光分析系统的精密度和灵敏度高,但其提供的参考值并不针对中国人群。其说明书声明“CEA 参考范围来源于 352 例健康人的调查,各实验室应调查期望值对自身人群的适用性,如有必要应建立各自的参考范围^[2]”。针对 CYFRA21-1 和 NSE,罗氏说明书也有类似声

明,应“根据 526 例良性肺病患者得到的特异度为 95%,每个实验室应考虑参考值对患者人群的适用性,如有必要,应自行确定参考范围”“一项多中心研究对 NSE 进行了评估,共检测了 3 个临床中心 547 份健康人群的样品,结果如下:16.3 ng/mL(95%百分位数),15.7~17.0 ng/mL(95%CI)。每个实验室必须调查各自患者群体的参考范围变异性,必要时根据具体情况制订自己的参考范围”。国内众多第三方检验机构及多数三级甲等医院普遍使用的罗氏检测系统肺癌标志物的临床检验结果可能存在以下问题:一是提供的参考值研究例数较少;二是其参考人群并非中国人群,故对中国人群不宜直接使用。而应该按照文献[10]及说明书声明的“各实验室应调查期望值对其自身人群的适用性,建立各自的参考范围”。在临床实践中,笔者经常发现有的健康体检者的检测结果轻度超出说明书给出的参考值上限,但既没有相应症状也没有其他影像学证据,导致临床医生和患者质疑结果的准确性。为此,对肺癌相关的 CEA、CYFRA21-1、NSE 3 个项目进行参考值调查,建立适合国人的参考值显得尤为必要。

血清肺癌肿瘤标志物 CEA、CYFRA21-1、NSE 的检测对肺癌的早期诊断以及肺癌病理类型的鉴别诊断都有一定价值^[11-15],在老年肺部恶性肿瘤及在肺癌鉴别诊断中的应用价值也被临床认可^[13-14]。但各实验室在应用不同检测系统时必须评估厂家说明书提供的参考值的实用性,必要时建立各自实验室的参考

值,才能为临床提供有价值的诊断参考依据。

由于免疫学方法及检测系统众多的原因,不同检测系统的实验室检验结果往往缺乏可比性,在针对肿瘤标志物水平轻度增高的患者,笔者建议不能仅凭一次检验结果贸然决定进行医学干预。而应该建议患者多次重复检测(每两次检测之间至少相隔 1~2 周),根据重复检测结果进行判断。如果数次检测结果下降至参考值范围内,则说明是患者的生物学变异或实验误差导致,应判为正常结果。如果数次结果仍轻度增高且保持在一个小的范围内波动,则说明该患者的“个体参考值”高于“群体参考值”,也应判为正常。如果检测结果持续呈趋势性升高,则判为不正常,应密切关注临床症状和影像学变化,必要时结合病理学诊断进行医学干预。应注意重复检测尽量在检验质量符合要求的同一家实验室的同一个检测系统进行,以避免不同检测系统间的检测结果缺乏可比性。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 临床实验室检验项目参考区间的制定:WS/T 402-2012 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2012.

[2] 中国合格评定国家认可委员会. 临床化学定量检验程序性能验证指南:CNAS-GL037[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2019.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床检验定量测定室内质量控制:WS/T641-2018[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会,2018.

[4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床检验室间质量评价:WS/T644-2018[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会,2018.

[5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床常用生化检验项目参考区间:WS/T-404. 1-404. 9[S]. 北京:中华人

民共和国国家卫生健康委员会,2018.

[6] 中华人民共和国卫生部. 血细胞分析参考区间:WS/T 405-2012 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2012.

[7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床常用免疫学检验项目参考区间:WS/T 645-2018[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会,2018.

[8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童临床常用生化检验项目参考区间:WS/T780-2021[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会,2021.

[9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床常用免疫学检验项目参考区间第 2 部分:血清甲胎蛋白、癌胚抗原、糖链抗原 19-9、糖链抗原 15-3、糖链抗原 125:WS_T 645. 2-2018[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会,2018.

[10] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法(卫医发[2006]73 号)[EB/OL]. [2023-09-01]. http://wsjkw.gd.gov.cn/gkmlpt/content/2/2125/mpost_2125847.html#2569.

[11] 辛灵艳,宗晓福. ProGRP、CEA、SCC 和 NSE 在小细胞肺癌中诊断的联合检测意义[J]. 河南师范大学学报(医学版),2019,16(4):183-185.

[12] 田莹莹,张银铃,李新,等. CEA、CYFRA21-1、NSE 联合检测对于肺癌早期诊断的临床价值[J]. 癌症进展,2017,15(10):1206-1208.

[13] 高翔,陈艳炯. 血清肿瘤标记物 NSE、CEA、SCC、ProGRP 及 CYFRA21-1 对肺癌病理类型的鉴别诊断价值[J]. 检验医学与临床,2020,17(3):366-368.

[14] 杨宗桥,胡贡学,樊海琴. 联合检测 CEA、NSE、CYFRA21-1、CA72-4 在老年肺部恶性肿瘤中的临床价值[J]. 中国老年医学杂志,2022,42(7):3434-3436.

[15] 王茜,夏睿,董惠霞,等. ProGRP、NSE、CEA、CYFRA21-1、SCC 单独及联合检测在肺癌鉴别诊断中的价值[J]. 临床检验杂志,2020,38(12):930-932.

(收稿日期:2023-03-10 修回日期:2023-10-15)

(上接第 78 页)

[17] 左立旻,贺月秋,陈凌梅,等. 孟鲁司特钠与氢化可的松琥珀酸钠联合在小儿喘息性支气管炎中的应用分析[J]. 中国医院药学杂志,2016,36(24):2194-2198.

[18] WU X B, WANG M Y, ZHU H Y, et al. Overexpression of microRNA-21 and microRNA-126 in the patients of bronchial asthma[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(5): 1307-1312.

[19] LU T X, MUNITZ A, ROTHENBERG M E. MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression[J]. J Immunol, 2009, 182(8):4994-5002.

[20] LU T X, FABRY V, LIM E, et al. MicroRNA-21 deficiency leads to an attenuated asthma response in mice [J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127(2): AB220-

AB220.

[21] LEE H Y, LEE H Y, CHOI J Y, et al. Inhibition of MicroRNA-21 by an antagomir ameliorates allergic inflammation in a mouse model of asthma[J]. Exp Lung Res, 2017, 43(3):109-111.

[22] 厉兰,彭盼界,王刚祚,等. 丙卡特罗联合孟鲁司特对小儿支气管哮喘的疗效及其对相关血清指标及预后的影响研究[J]. 中南医学科学杂志,2019,47(3):285-287.

[23] WANG J Y, DONG X, YU Z, et al. Borneol inhibits CD4⁺ T cells proliferation by down-regulating miR-26a and miR-142-3p to attenuate asthma[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90:107223.

(收稿日期:2023-03-16 修回日期:2023-10-08)