

浓度稀释后复查可以达到 800~1 000 U/mL)和假阳性的问题。雅培和罗氏 Anti-CCP 试剂盒的线性范围上限分别为 700 U/mL 和 1 000 U/mL,而国内试剂盒线性范围上限均不大于 200 U/mL。在假阳性方面,部分未诊断为 RA 的患者出现 Anti-CCP 检测结果为阳性,罗氏检测结果正常。选取 2017 年 2 月 9 日至 2017 年 2 月 21 日本院收集的健康体检及 RA 确诊患者样本的复查数据,符合率为 66.4%。乳胶增强免疫比浊法 Anti-CCP 试剂盒线性范围上限和假阳性问题,直接影响了临床医生对病情的判断。

针对日常检测中存在的问题,本研究选择了美康生物科技股份有限公司的新一代 Anti-CCP 试剂盒,并就准确度、批内精密密度、批间精密密度、线性范围、与罗氏和雅培检测方法的阴性符合率对比做了评价。结果显示新一代的试剂盒线性范围上限达到 980 U/mL,可以有效避免出现钩状效应。从体检样本阴性符合率来看,阴性符合率能够满足临床需求。另外从试剂盒准确度、精密密度来看,该试剂盒在延长线性范围后,准确度和精密密度仍然符合其试剂说明书的要求。

参考文献

[1] 吕民林, RF, CRP 和抗 CCP 抗体联合检测对类风湿性关节炎的诊断意义[J]. 中国实用医药, 2013, 8(36): 27-28.  
 [2] 李磊, 孟令征. CCP 及 RF 的检测在类风湿性关节炎中的意义[J]. 中外健康文摘, 2013, 10(35): 63-65.  
 [3] 苏青, 王乙, 王亚男, 等. 联合检测抗 CCP 抗体与 RF 在类风湿性关节炎中的临床意义[J]. 中国医疗前沿, 2011, 6(4): 69-70.  
 [4] Vincent C, Simon M, Sebbag M, et al. Immunoblotting detection of autoantibodies to human epidermis filaggrin: a new diagnostic test for rheumatoid arthritis[J]. J Rheumatol, 1998, 25(5): 838-846.  
 [5] Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in

rheumatoid arthritis: a systematic literature review[J]. AnnRheum Dis, 2006, 65(7): 845-851.  
 [6] Nishimura K, Sugiyama D, Kogata YA, et al. Meta-analysis: Diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis [J]. Ann Intern Med, 2007, 146(11): 797-808.  
 [7] Whiting PF, Smidt N, Sterne JA, et al. Systematic review: accuracy of Anti-Citrullinated peptide antibodies for diagnosing rheumatoid arthritis[J]. Ann Intern Med, 2010, 152(7): 456-W166.  
 [8] Zintzaras E, Papathanasiou AA, Ziogas DC, et al. The reporting quality of studies investigating the diagnostic accuracy of anti-CCP antibody in rheumatoid arthritis and its impact on diagnostic estimates[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2012, 13(13): 113.  
 [9] Clinical and Laborator Standard Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.  
 [10] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.  
 [11] 戴婉如, 周欢, 伍严安. 新一代脂蛋白(a)颗粒单位检测法的性能评价及临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 22(36): 3257-3259.  
 [12] Kroot EJ, De Jong BA, Van Leeuwen MA, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(8): 1831-1835.

(收稿日期: 2017-06-26 修回日期: 2017-09-16)

• 临床研究 •

## 比较两种方法检测 GGT-Ⅱ 对肝细胞肝癌的诊断价值

尤小燕<sup>1</sup>, 吴建华<sup>1</sup>, 江 枫<sup>2△</sup>

(1. 江苏省如皋博爱医院检验科, 江苏如皋 226500; 2. 南通大学附属医院消化病研究室, 江苏南通 226001)

**摘要:**目的 比较两种方法检测  $\gamma$ -谷氨酰转移酶同工酶 II (GGT-Ⅱ) 对肝细胞肝癌的诊断价值。方法 使用传统实验室自配试剂聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 手工法和商品化试剂盒 PAGE 法检测 GGT-Ⅱ, 检测 113 例肝细胞肝癌、51 例肝硬化、21 例慢性肝炎及 30 例健康对照组血清样本中 GGT-Ⅱ。结果 传统手工法检测 GGT-Ⅱ 较之试剂盒法费时费力, 完成全程检测时间 (26.5±2.5)h 明显多于试剂盒法 (6.5±0.5)h, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 手工法平均重现率 (94.4%) 相比于试剂盒法 (100%), 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。试剂盒法在肝细胞肝癌组 GGT-Ⅱ 检出敏感度 (84.1%) 相比于手工法 (74.3%), 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 商品化 PAGE 提供了一个简单、重复性好的 GGT-Ⅱ 检测方法, 且对肝细胞肝癌有较好的诊断敏感度。

**关键词:**  $\gamma$ -谷氨酰转移酶同工酶 II; 方法学比较; 肝细胞肝癌; 诊断

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.055

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2017)24-3490-03

$\gamma$ -谷氨酰转移酶同工酶 II (GGT-Ⅱ) 是诊断肝细胞肝癌的一项敏感的生物标志物<sup>[1-3]</sup>。传统手工法存在许多缺点, 如所有试剂均由各实验室自行配制, 室内误差大, 且操作步骤繁琐、

费时, 影响了其应用。商品化试剂盒提供了一个方便、快捷的 GGT-Ⅱ 定性检测方法。本文比较了使用传统手工聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法和商品化试剂盒 PAGE 法检测 GGT-Ⅱ 所

△ 通信作者, E-mail: jf6665@126.com.

需时间及重现率,并就检测 GGT-II 对肝细胞肝癌的诊断价值进行了分析。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 选取南通大学附属医院及如皋博爱医院 2015 年 1 月到 2016 年 12 月收治的 185 例患者为研究对象。其中肝细胞肝癌组 113 例,中位年龄 55.3 岁,男性 95 例,女性 18 例;肝硬化组 51 例,中位年龄 53.0 岁,男 33 例,女 18 例;慢性病毒性肝炎组 21 例,中位年龄 44.0 岁,男 16 例,女 5 例。另收取健康体检者 30 例作为正常对照组,中位年龄 45.0 岁,男 15 例,女 15 例。患者在采集血液标本前没有接受过任何治疗。研究对象一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 传统手工 PAGE 法检测** 参照文献[2,4]所有检测试剂均预先手工制备,包括丙烯酰胺溶液、分离胶缓冲液、浓缩胶缓冲液、电泳缓冲液、底物缓冲液及呈色液等。聚丙烯酰胺分离凝胶分为三层,从阴极向阳极浓度依次为 7.7%、11.5% 及 15.4%,最上一层为浓缩凝胶(4.2%)从顶部注入垂直胶板。聚丙烯酰胺凝胶胶板制备好后装入垂直平板电泳槽并分别注入阴极和阳极缓冲液。取 20  $\mu$ L 血清加 GGT-II 20  $\mu$ L 40%蔗糖溴酚蓝溶液混合上样。然后恒压 60 V 电泳 4 h 后,改恒压 100 V 电泳 12 h。电泳结束后从电泳槽中取出聚丙烯酰胺凝胶板,将用底物液(含 24 mg  $\gamma$ -L-谷氨酰-P-硝基苯胺-水合物,100  $\mu$ L 20%的 Tween-20,100  $\mu$ L 5%聚乙烯吡咯烷酮,5.0 mL 0.1 mol/L 的 Tris-甘氨酸缓冲液和 100  $\mu$  10%亚硝酸钠溶液)打湿的醋酸纤维素膜覆盖于凝胶上,在 37  $^{\circ}$ C 下孵育 60 min 后将醋酸纤维素膜置入 5 mL 的染色溶液(含有 10%三氯乙酸和 25%甘油),2 min 内 GGT-II 的红色条带将出现在醋酸纤维素薄膜上。

**1.3 商品化试剂盒 PAGE 法检测 GGT-II** 商品化试剂盒购自江苏纵横工贸有限公司,严格按照说明书进行操作。

**1.4 手工法及试剂盒法检测 GGT-II 重现率** 分别取手工法制备的电泳胶板及试剂盒电泳胶板各 6 块,3 块用于检测 GGT-II 阳性对照样本,3 块用于检测阴性对照样本,每块胶板加样 9 次,分别计算单个胶板的胶内阳性重现率及胶内阴性重现率,再计算平均重现率。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件处理相关数据。计量资料采用  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验。计数资料采用百分率(%)表示,组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 传统手工法及试剂盒法检测 GGT-II 所需时间比较** 传统手工法全程平均花费时间为(26.5 $\pm$ 2.5)h,而试剂盒法完成全程检测仅需(6.5 $\pm$ 0.5)h,2 种方法比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.2 传统手工法及试剂盒法检测 GGT-II 重现率比较** 以传统手工法及试剂盒法分别检测 GGT-II 阳性和阴性对照样本,试剂盒法检测结果的胶内重现率及平均重现率均为 100%。手工法检测 GGT-II 阳性对照样本时有两块胶板的重现率略有下降(77.8%、88.9%),平均重现率(94.4%),与试剂盒法比较,胶内及平均重现率之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3 传统手工法及试剂盒法检测血清 GGT-II 对肝细胞癌诊断价值比较** 两种方法分别检测肝细胞肝癌、肝硬化、慢性肝炎及正常对照组血清样本中 GGT-II,结果显示肝细胞肝癌组两种方法 GGT-II 检出敏感度分别为 74.3%和 84.1%,与良性

肝脏疾病组和正常对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。但手工法及试剂盒法间血清 GGT-II 检出率差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

**表 1 两种方法同时检测 GGT-II 在各组中的检出率比较[n(%)]**

组别	n	手工法	试剂盒
肝细胞肝癌组	113	84(74.3)*#	95(84.1)
肝硬化组	51	3(5.9)#	4(7.8)#
慢性病毒性肝炎组	21	1(4.8)#	1(4.8)#
对照组组	30	0(0.0)#	0(0.0)#

注:与试剂盒法比较,\* $P<0.05$ ;与肝细胞肝癌组比较,# $P<0.05$ 。

**3 讨论**

$\gamma$ -谷氨酰胺转氨酶(GGT)是一种膜结合酶,可水解  $\gamma$ -谷氨酰基,或者将其转运到一个合适受体上,用于降解谷胱甘肽及其结合物。作为一种重要的并且广泛分布的参与核酸代谢与生物转化的酶,GGT 的改变能够敏感地反映肝细胞膜的损伤。某些研究已经注意到在肝癌生物模型中肝脏的 RNA 水平和肝脏 GGT 基因的表达高度正相关[5]。在受损的肝细胞中,尤其是肝癌,由于 GGT 从肝组织中被释放到血液中,GGT 活性会发生显著变化[6],然而,GGT 的活性变化在各种肝病中都会发生,这就限制了其对肝癌的诊断价值。肝癌特异性标志物 GGT-II 是肝癌诊断的有效血清标记物,它被认为是癌变前期及癌变期的早期标记物。

GGT-II 作为一种异二聚体糖蛋白,在肝癌患者的血清中有不同的电泳迁移率,并且可以通过 PAGE 从正常 GGT 同工酶中分离[7]。大量的研究报道根据不同的分离系统能够鉴别出不同的肝癌特异性的 GGT 同工酶,起初阳性率只有 27%~63%[8-9]。Xu 等[2]随后报道通过垂直板 PAGE 的技术能够将 GGT 同工酶分为 9~11 个亚型,这些亚型中的几个亚型(I、II 和 II 带)的阳性率达到了 90%。在目前的研究中,Cui 等[3]应用传统的手工 PAGE 的方法做过相似的研究,肝癌中 GGT-II 的阳性率为 77.6%。先前的研究表明 GGT-II 是诊断肝癌的重要标记物,但是传统手工方法的一些缺点影响了 GGT-II 的检测敏感度。很难保持一致性,因为所有的实验试剂,都是在每个实验室内人工制备。此外,由于丙烯酰胺的粉末及液体状态是一种强烈的神经毒素,在制备凝胶时必须小心谨慎。Yao 等[10]也证明了 GGT-II 是一种很有优势的标记物,但是却缺乏简单可行的检测方法。商业 PAGE 试剂盒已经解决了这些问题,同时将电泳运行时间缩短为 4 h。国内一些学者使用试剂盒法检测 GGT-II,其检测敏感度为 70.5%~82.2%,联合其他肝癌血清标志物还可进一步提高诊断的敏感度[11-12]。本研究中,商用 PAGE 试剂盒检测 GGT-II 的重现率(100%)、敏感度(84.1%)均高于手工方法,表明商用试剂盒是传统手工检测的良好替代,为临床提供了一个操作简便、重复性好的 GGT-II 检测方法。

**参考文献**

[1] 赵敏星,倪润洲,肖明兵,等. HS-AFP GGT-II 及 AFP 预测肝硬化癌变的临床价值[J]. 中国肿瘤临床,2009,36(11):601-604.  
 [2] Xu K, Meng XY, Wu JW, et al. Diagnostic value of serum

gamma-glutamyl transferase isoenzyme for hepatocellular carcinoma: a 10-year study[J]. Am J Gastroenterol, 1992, 87(8): 991-995.

[3] Cui R, He J, Zhang F, et al. Diagnostic value of protein induced by vitamin K absence (PIVKAII) and hepatoma-specific band of serum gamma-glutamyl transferase (GGTII) as hepatocellular carcinoma markers complementary to alpha-fetoprotein[J]. Br J Cancer, 2003, 88(12): 1878-1882.

[4] 肖明兵, 姚登福, 黄中伟, 等. 肝癌特异性 GGT 区带的定量检测[J]. 临床检验杂志, 1994, 38(3): 127-128.

[5] Ikeda Y, Taniguchi N. Gene expression of gamma-glutamyltranspeptidase [J]. Methods Enzymol, 2005, 401(90): 408-425.

[6] Yao DF, Dong ZZ, Yao DB, et al. Abnormal expression of hepatoma-derived gamma-glutamyltransferase subtyping and its early alteration for carcinogenesis of hepatocytes [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2004, 3(4): 564-570.

[7] Bellini M, Tumino E, Giordani R, et al. Serum gamma-glutamyl-transpeptidase isoforms in alcoholic liver disease

[J]. Alcohol Alcohol, 1997, 32(3): 259-266.

[8] Sawabu N, Nakagen M, Ozaki K, et al. Clinical evaluation of specific gamma-GTP isoenzyme in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 1983, 51(2): 327-331.

[9] Kew MC, Wolf P, Whittaker D, et al. Tumour-associated isoenzymes of gamma-glutamyl transferase in the serum of patients with hepatocellular carcinoma[J]. Br J Cancer, 1984, 50(4): 451-455.

[10] Yao DF, Dong ZZ. Hepatoma-related gamma-glutamyl transferase in laboratory or clinical diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2007, 6(1): 9-11.

[11] 李艳明, 彭敏源, 简子娟, 等. 甲胎蛋白和 GGT-II 联合检测在肝癌患者诊断中的意义[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(6): 507-510.

[12] 陈贻斌, 莫毅毅. 原发性肝癌患者血清 AFP、GGTII 和 GP73 检测的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(8): 1310-1312.

(收稿日期: 2017-06-22 修回日期: 2017-09-13)

• 临床研究 •

## 应用 TCT、HPV 基因检测对早期宫颈癌筛查的价值分析

王禄梅<sup>1</sup>, 王海鸥<sup>1</sup>, 王少云<sup>1</sup>, 王欣苇<sup>2</sup>

(海南省澄迈县妇幼保健院: 1. 妇产科; 2. 检验科, 海南澄迈 571900)

**摘要:**目的 分析薄层液基细胞学检查(TCT)、人乳头瘤病毒(HPV)基因检测对早期宫颈癌筛查的价值。方法 选取 2014 年 6 月至 2015 年 6 月于该院就诊的疑似宫颈癌患者 150 例, 根据病理学诊断结果分析 TCT、HC2-HPV 检测的诊断价值。结果 TCT 诊断阳性率为 48.67%(73/150), HC2-HPV 诊断阳性率为 42.67%(64/150), 病理学诊断阳性率为 52.67%(79/150), HC2-HPV 诊断结果与 TCT 诊断结果比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); TCT 诊断结果与病理学结果比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同病理学分期、TCT 分型患者 HC2-HPV 阳性率差异较大。采用单一 TCT 与 HC2-HPV 检测发现, 灵敏度、特异度、阳性预测率及准确率均低于 90.00%, 而 TCT 联合 HC2-HPV 检测具有 97.33% 的准确率、97.18% 的特异度与 95.16% 的阴性预测率。结论 采用 TCT 联合 HC2-HPV 基因检测, 可以准确诊断早期宫颈癌, 具有较高的特异度及阴性预测值, 有较高的诊断价值。

**关键词:** TCT; HPV; HC2-HPV; 宫颈癌

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.056

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2017)24-3492-03

宫颈癌已经成为第 2 大女性恶性肿瘤, 发病率仅次于乳腺癌, 临床较常见, 严重危害女性健康。宫颈癌病变的关键危险因素是高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)长期感染<sup>[1]</sup>。近年来, 相关临床研究证明 99% 以上的宫颈癌患者主要病因是 HR-HPV 感染。目前, 薄层液基细胞学检查(TCT)在宫颈癌的诊断、治疗等方面得到普遍应用, 成为筛查宫颈癌的常规方法<sup>[2]</sup>。而第 2 代杂交捕获试验(HC2)能够对宫颈癌 HR-HPV 及癌前病变实施有效临床分析检测, 由于宫颈癌的发生发展过程时间较长, 在癌前病变期若能够尽早发现并尽早治疗, 可以有效预防宫颈癌的恶化, 提高患者的生存率<sup>[3-4]</sup>。TCT 与 HPV-DNA 基因检查是妇女宫颈疾病方面较为前沿的诊断技术, 具有较高的灵敏度与特异度<sup>[5]</sup>。本文旨在研究 TCT 与 HC2-HPV 基因检查对早期宫颈癌筛查的临床应用价值, 为临床提供一定的参考依据。现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 6 月至 2015 年 6 月于本院就诊

的 150 例疑似宫颈癌患者作为研究对象, 平均年龄(38.37 ± 4.78)岁。入选患者均同时进行 TCT、HC2-HPV 及宫颈活检 3 项检测。患者均在知情且自愿的情况下参加此次研究分析。

**1.2 方法** (1) TCT 细胞学检查: 严格按照 TCT 取样要求制成薄层涂片, 经巴氏染色后送到病理科检测。宫颈细胞学诊断根据国际癌症协会核定的贝塞斯达系统(TBS)分类标准<sup>[6]</sup>: 正常范围(NR)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)、意义不明的不典型鳞状细胞(ASCUS)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)、鳞状细胞癌(SCC)和腺癌。恶变程度在 ASCUS 以上诊断为阳性。(2) 高危型 HC2-HPV 检测: 采用美国 Digene 公司提供的 HC2-HPV 技术进行严格制样并检测 14 种高危型 HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 与 68 型), 相对光单位(RLU)/Cutoff(阈值) ≥ 1.0 诊断为阳性。(3) 病理组织活检: 操作医师在阴道镜下对可疑位多点活检, 将组织送病理科检测。根据 2006 版 WHO 子宫颈肿瘤组织学标准: 慢性炎症、不典型增生轻度(CIN-I)、中度(CIN-II)、重度(CIN-III)、鳞