

• 临床检验研究论著 •

采用 ROC 曲线评价 β 珠蛋白生成障碍性贫血 杂合子血液学指标诊断价值

喻 晶, 刘美莉, 刘晓翌, 张银汉, 刘小平

(北京大学深圳医院检验科, 广东深圳 518036)

摘要:目的 采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价 β 珠蛋白生成障碍性贫血(β 地中海贫血, 简称 β 地贫)杂合子血液学指标, 确定平均红细胞体积(MCV)、红细胞脆性(EF)、血红蛋白(Hb)A2 及 HbF 的最佳截断值(cutoff 值)。方法 以基因诊断结果为金标准, 采用 ROC 曲线分析 MCV、EF、HbA2 及 HbF 最佳 cutoff 值; 评价单项及多项指标联合检测的诊断价值。结果 与健康对照组比较, β 地贫组 MCV、EF 明显降低, HbA2、HbF 明显增高($P < 0.05$)。HbA2、EF、MCV、HbF 的 ROC 曲线下面积依次为 0.989、0.926、0.919、0.734, 最佳 cutoff 值分别为 3.45%、63.5%、68.25 fl、0.45%, 灵敏度分别为 98.00%、91.10%、87.10%、77.20%; 特异度分别为 100.00%、81.10%、84.90%、65.10%。HbA2 灵敏度和特异度最高($P < 0.05$)。与单项检测比较, 平行联合检测明显提高诊断灵敏度, 系列联合检测明显提高特异度($P < 0.05$)。结论 以 ROC 曲线分析得到的 MCV、EF、HbA2 最佳 cutoff 值对 β 地贫杂合子筛查具有较好的诊断价值, HbA2 诊断价值最高。联合检测法可提高诊断灵敏度和特异度。

关键词: ROC 曲线; 地中海贫血杂合子; 红细胞平均体积; 红细胞脆性; 血红蛋白 A2

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0530-02

Evaluation of hematological parameters of β -thalassemia heterozygote by ROC curve

Yu Jing, Liu Meiju, Liu Xiaoyi, Zhang Yinhan, Liu Xiaoping

(Department of Laboratory Medicine, Beijing University Shenzhen Hospital, Shenzhen Guangdong 518036, China)

Abstract: Objective To explore the optimal cutoff value of mean corpuscular volume(MCV), erythrocyte fragility(EF), hemoglobin A2(HbA2) and hemoglobin F(HbF) by ROC curve for screening β -thalassemia(β -Thal) heterozygote. **Methods** Optimal cutoff values of MCV, EF, HbA2 and HbF were analyzed by ROC curve. Taking gene analysis as gold standard, the diagnostic value of single and combined detection was evaluated. **Results** Compared with healthy control group, MCV and EF were lower in β -Thal group, and HbA2 and HbF were higher($P < 0.05$). The area under ROC curve of HbA2, EF, MCV and HbF were 0.989, 0.926, 0.919 and 0.734, the optimal cutoff values were 3.45%, 63.5%, 68.25 fl and 0.45%, the sensitivity were 98.00%, 91.10%, 87.10% and 77.20%, and the specificity were 100.00%, 81.10%, 84.90% and 65.10%. The sensitivity and specificity of HbA2 were the highest($P < 0.05$). Compared with single test, parallel combined test could increase diagnostic sensitivity, while serial combined test could increase specificity ($P < 0.05$). **Conclusion** The optimal cutoff values of MCV, EF and HbA2 might have good diagnostic application for screening β -Thal, and HbA2 could be the best. Combined detection could improve the diagnostic sensitivity and specificity.

Key words: ROC curve; thalassemia heterozygote; mean corpuscular volume; erythrocyte fragility; hemoglobin A2

β 珠蛋白生成障碍性贫血又称 β 地中海贫血(简称 β 地贫), 是由于 β 珠蛋白基因突变或缺失导致 β 珠蛋白链合成受抑而引起的遗传性溶血性贫血, 是广东省常见单基因遗传病^[1]。轻型 β 地贫是 2 个 β 珠蛋白基因中的 1 个发生了突变, 即 β 地贫杂合子(β^+ 或 β^0/β), 表现为轻度贫血, 主要依靠实验室检查诊断。两种不同或同种基因型 β 地贫杂合子个体婚配, 有 1/4 的机会生育纯合子或双重杂合子重型 β 地贫患儿。目前尚无有效的 β 地贫根治方法, 产前筛查及诊断是控制重型 β 地贫患儿出生的最有效方法。分子生物学技术可确诊 β 地贫杂合子的基因型, 但基因诊断费用高、耗时长, 不适合常规、大规模筛查。目前普遍采用平均红细胞体积(MCV)、红细胞脆性(EF)及血红蛋白(Hb)电泳检测筛查 β 地贫携带者^[2-3]。本研究采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析基因确诊 β 地贫杂合子患者血液学指标, 寻找最适合的 MCV、EF、HbA2 和 HbF 截断值(cutoff 值), 以提高 β 地贫筛查灵敏度和特异度, 减少漏诊和误诊, 降低重症患儿出生率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 6 月至 2010 年 12 月本院就诊者和体检者 207 例, 平均 31 岁; 健康对照组 106 例, 平均 29 岁。

1.2 方法

1.2.1 MCV 测定 采集受试者空腹 EDTA-K₂ 抗凝静脉血 2 mL, 采用 Sysmex XE-2100 全自动血细胞计数仪进行检测, 严格按仪器操作规程操作。

1.2.2 EF 检测 采用一管定量法, 试剂购自广州米基科技贸易发展有限公司, 严格按试剂说明书操作。

1.2.3 Hb 电泳检测 采用 Sebia Capillarys2 全自动毛细管电泳仪及配套试剂。标本无需洗涤和溶血, 直接将 2 mL EDTA-K₂ 抗凝全血离心沉淀, 取红细胞加入试管上机检测。

1.2.4 基因分析 采用 24 条探针 RDB 技术, 同时检测 8 个常见位点和 9 个少见位点突变; 试剂购自深圳益生堂生物企业有限公司, 严格按试剂说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行计量资料配对 t 检验、ROC 曲线绘制和分析, 组间灵敏度和特异度的比较采用卡方检验, 检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各指标检测结果 经基因分析确诊 β 地贫杂合子 101 例(β 地贫组), 共检出 8 种基因型: CD41-42(-CTTT) 37 例(36.6%), IVS-2nt654(C->T) 35 例(34.7%), CD17(A->T)

19 例(18.8%), TATA box nt-28(A->G) 6 例(5.9%), CD71-72(+A)、TATA box nt-29(A->G)、CD27-28(+C)、CD26(G->A, βEM) 各 1 例(1.0%)。101 例 β 地贫杂合子 MCV(fl)、EF(%)、HbA2(%), HbF(%) 的测定结果($\bar{x} \pm s$) 分别为 63.50 ± 5.15、50.44 ± 11.36、5.42 ± 0.68、1.45 ± 1.44; 健康对照组测定结果分别为 83.43 ± 12.11、76.31 ± 12.62、2.51 ± 0.46、0.68 ± 1.19; 与健康对照组比较, β 地贫组 MCV 及 EF 明显降低($P < 0.05$, t 值分别为 15.54、15.48), HbA2 及 HbF 含量明显增高($P < 0.05$, t 值分别为 -36.19、-4.21)。

2.2 MCV、EF、HbA2、HbF ROC 曲线分析 以基因诊断结果为金标准, 采用 SPSS13.0 软件绘制 ROC 曲线。ROC 曲线

下面积(AUC) 从大到小依次为 HbA2(0.989)、EF(0.926)、MCV(0.919)、HbF(0.734), 与参照线下面积 0.5 相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 表明诊断价值较高。

2.3 HbA2、EF、MCV 及 HbF 单项或联合检测诊断价值分析 HbA2、EF、MCV 以及 HbF 的 cutoff 值分别为 3.45%、63.5%、68.25 fl、0.45% 时, 其单独检测筛查 β 地贫的灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值、阴性预测值见表 1。各指标平行联合检测(两项或两项以上指标同时检测, 任何一项出现阳性结果即判为阳性)及系列联合检测(两项或两项以上指标同时检测时, 所有检测指标均出现阳性结果即判为阳性)筛查 β 地贫杂合子的诊断价值见表 1。

表 1 单项或联合检测对 β 地贫杂合子筛查的诊断价值(%)

| 检测方式 | 项目 | 灵敏度 | 特异度 | 准确度 | 阳性预测值 | 阴性预测值 |
|------|-------------|----------|-----------|-------|--------|-------|
| 单项检测 | HbA2 | 98.00*#△ | 100.00*#△ | 99.00 | 100.00 | 98.15 |
| | EF | 91.10 | 81.10 | 85.00 | 81.80 | 88.70 |
| | MCV | 87.10 | 84.90 | 85.00 | 83.00 | 87.10 |
| | HbF | 77.20# | 65.10*# | 71.00 | 67.80 | 75.00 |
| 平行联合 | MCV+EF | 97.00*# | 73.60 | 85.00 | 77.80 | 96.30 |
| | MCV+HbF | 97.00*#△ | 52.80* | 74.40 | 66.20 | 94.90 |
| | EF+HbF | 97.00*#△ | 47.20*#△ | 71.50 | 63.60 | 94.30 |
| | MCV+EF+HbA2 | 99.00*#△ | 41.60*#△ | 70.30 | 62.90 | 97.70 |
| 系列联合 | MCV+EF | 81.20 | 94.30*# | 87.40 | 92.10 | 83.90 |
| | MCV+HbF | 68.20* | 83.90△ | 76.30 | 80.20 | 73.60 |
| | EF+HbF | 71.30# | 82.10△ | 76.80 | 79.10 | 75.00 |
| | MCV+EF+HbA2 | 64.40*#△ | 99.10*#△ | 82.20 | 98.50 | 74.67 |

#: 与 EF 相比, $P < 0.05$; *: 与 MCV 相比, $P < 0.05$; △: 与 HbF 相比, $P < 0.05$ 。

3 讨 论

β 地贫是中国南方常见单基因遗传病, β 地贫杂合子个体婚配可能生育纯合子或双重杂合子重型 β 地贫患儿, 给社会和家庭带来极大的经济和精神负担。本研究采用 ROC 曲线分析 β 地贫杂合子确诊患者血液学指标, 分别确定了 MCV、EF、HbA2 和 HbF 最佳 cutoff 值, 为提高 β 地贫检测灵敏度和特异度, 减少漏诊和误诊奠定了基础, 有利于通过产前干预, 防止重症 β 地贫患儿的出生。

本研究中确诊的 106 例 β 地贫杂合子患者基因型包括 CD41-42、IVS-2nt654、CD17、TATA box nt-28、CD71-72(+A)、TATA box nt-29、CD27-28、CD26(βEM), 以 CD41-42 和 IVS-2nt654 检出率较高, 与文献报道基本一致^[4-10]。与健康对照组比较, β 地贫患者 MCV 和 EF 检测结果明显降低($P < 0.05$), HbA2 和 HbF 明显增高($P < 0.05$)。

ROC 曲线分析显示, AUC_{MCV} 、 AUC_{EF} 、 AUC_{HbA2} 均大于 0.9, 表明 3 项指标均有较高的诊断价值^[5]。 AUC_{HbA2} 最大(0.989), 诊断灵敏度(98.00%) 和特异度(100.00%) 最高, 是最好的初筛指标, 可用于人群普查, 降低重症患儿出生率。 AUC_{HbF} 为 0.734, 具有一定的诊断价值^[11], 但灵敏度和特异度较低。在 101 例 β 地贫杂合子中, 有 99 例的 HbA2 高于本研究确定的最佳 cutoff 值(3.45%), 但只有 78 例的 HbF 高于最佳 cutoff 值(0.45%)。本研究表明, HbA2 筛查 β 地贫杂合子的诊断价值明显优于 HbF, 与相关研究结果基本一致^[12]。

为进一步提高 MCV、EF 和 HbF 的诊断灵敏度和特异度, 本研究评价了 3 项指标联合检测对 β 地贫杂合子筛查的诊断价值, 结果表明, 与单项检测比较, 平行联合检测可明显提高诊断灵敏度, 减少漏检, 但特异度无明显改变或有所降低; 系列联合检测可明显增高诊断特异度, 减少误诊, 但灵敏度降低。

对于能同时开展血液学指标筛查和基因诊断的医疗机构, 笔者建议采用 MCV、EF、HbA2 平行联合检测, 可使诊断灵敏度提高至 99.00%, 达到最大筛查效能, 有利于减少漏诊; 对于仅能开展血液学指标筛查的医疗机构, 建议采用 MCV、EF、HbA2 系列联合检测, 可使诊断特异度提高至 99.10%, 达到最大诊断效能, 有利于降低误诊。

总之, 以 ROC 曲线分析得到的 MCV、EF 和 HbA2 最佳 cutoff 值是筛查 β 地贫杂合子的较好指标。HbA2 对 β 地贫的诊断价值最高; 联合检测优于单项检测。不同医疗机构应根据实际情况, 采用不同的联合检测方式, 最大限度提高诊断灵敏度和特异度, 降低重症地贫儿出生率, 提高人口素质。

参考文献

[1] Chen WQ, Zhang XH, Shang X, et al. The molecular basis of beta-thalassemia intermedia in southern China: genotypic heterogeneity and phenotypic diversity[J/OL]. BMC Med Genet, 2010-02-25 [2011-12-10], <http://www.biomedcentral.com/1471-2350/11/31>.

本研究中 AOPP 患者发病时间为(6.0±2.5) h,不同中毒程度组发病时间差异无统计学意义。本研究显示,AOPP 患者轻、中、重度组 AKI 发病率依次为68.6%(24/35)、92.1%(35/38)、100.0%(32/32),而血清 NAGL 水平均在入院 1 d 后开始下降,且无 AKI 新发病例。故笔者认为 AOPP 患者可能在入院后 3.5~32.5 h 内发生 AKI。

NGAL 主要参与早期原始肾脏上皮的发生、生长、而不参与其转化,是早期诊断 ATN 的重要标志物。健康成人肾脏组织 NGAL 表达水平较低。肾脏缺血或缺血再灌注损伤后,近曲小管上皮细胞大量表达 NGAL,远曲小管上皮细胞也有少量表达,NGAL 的量与缺血程度、持续时间呈正比。NGAL 具有维持肾小管基底膜极性和完整性的功能,可通过凋亡途径促进肾脏上皮细胞的再生或修复。小鼠体内试验显示,肾近曲小管细胞在损伤后可高表达 NGAL,且体内注射重组 NGAL 可减轻小鼠肾脏缺血和再灌注所引起的肾小管损伤。本研究结果显示,入院时、入院后 1 d 内不同中毒程度组 NGAL 浓度均高于对照组;轻、中、重中毒组 NGAL 阳性率分别是 51.4%、78.9%、100.0%,总阳性率为 76.2%;NGAL 诊断 AKI 的灵敏度分别是 75.0%、85.7%、100.0%,总灵敏度为 87.9%,特异度为 100.0%;NGAL 浓度、阳性率与中毒程度呈高度正相关。说明在 AOPP 患者中,NGAL 诊断 AKI 灵敏度高、特异性强,是早期诊断 AOPP 致 AKI 的良好指标,将其应用于 AOPP 患者可提高早期诊断 AKI 的阳性率。笔者也认为 NGAL 可作为 AOPP 中毒程度分级指标,指导 AOPP 患者的抢救治疗。

本研究显示,NGAL 浓度、阳性率在 AOPP 患者入院后 1 d 达峰值,随后开始下降,表明入院 1 d 后随患者病情控制,肾组织修复、功能好转。轻度组患者入院 3 d 后 NAGL 阳性者,表明 AOPP 轻度患者 AKI 病情轻、恢复快。随时间推移,不同中毒程度组 NGAL 浓度及阳性率下降幅度较大,提示肾小管损伤再修复,且修复功能强大。

综上所述,AOPP 患者 AKI 发病率高,NGAL 是诊断 AOPP 早期 AKI 的理想指标,特异度可达 100.0%,灵敏度也较高,且 NGAL 水平、阳性率与中毒程度呈正相关。

参考文献

[1] 郭欣,于永光,王丹,等.急性有机磷农药中毒患者血尿酸素 C

的变化及意义[J].中国急救医学,2010,30(2):159-161.
 [2] 庄清武,刘利青.急性有机磷农药中毒对肾脏的影响[J].医师进修杂志,2005,28(9):40-41.
 [3] 徐良志,聂茂伟,张其俊.急性有机磷农药中毒对肾脏损害临床特点分析[J].浙江实用医学,2007,12(3):183-184.
 [4] 钟志强,杨靖,余进胜.168 例急性有机磷农药中毒对肾脏影响的临床探讨[J].中国现代医生,2008,46(11):56-57.
 [5] 李亚琴,胡红莲,马成霞.血清 cys-c 在糖尿病诊断中的意义[J].国际检验医学杂志,2011,32(4):462-463.
 [6] 沈东惠,杨贤明,杨毅华.NGAL 糖尿病肾病的早期标志物[J].国际检验医学杂志,2010,31(9):1289-1290.
 [7] Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin reflects the severity of renal impairment in subjects affected by chronic kidney disease[J]. Kidney Blood Press Res, 2008, 31(4): 255-258.
 [8] Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL): a new marker of kidney disease[J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 2008, 241(1): 89-94.
 [9] Michael Z, Kimberly K, Ayse A, et al. Urine neutrophilgelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study[J]. Critical Care, 2007, 11(4): 84-94.
 [10] Ronco C. N-GAL: Diagnosing AKI as soon as possible[J]. Critical Care, 2007, 11(6): 173-174.
 [11] Mishra J, Mori K, Ma Q, et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15(12): 3073-3082.
 [12] Ishani A, Xue JL, Himmelfarb J, et al. Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(1): 223-228.
 [13] 叶任高,陆再英.内科学[M].6 版,北京:人民卫生出版社,2006: 961-962.
 [14] Tarbah FA, Shaheen AM, Benomran FA, et al. Distribution of dimethoate in the body after a fatal organophosphate intoxication [J]. Forensic Sci Int, 2007, 170(2-3): 129-132.

(收稿日期:2011-11-04)

(上接第 531 页)

[2] Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia[J/OL]. Orphanet J Rare Dis, 2010-05-21 [2011-12-10], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20492708>.
 [3] 代宏剑,温柏平,杨俊逸.地中海贫血的实验诊断进展[J].国际检验医学杂志,2011,32(2):251-252.
 [4] 罗史科,张松,邹汉良,等.应用液态基因芯片技术对 132 例 β-地中海贫血基因检测分析[J].国际检验医学杂志,2009,30(7):647-649.
 [5] 黄烁丹,张惠琴,邹婕,等.广东省梅州地区地中海贫血的分子流行病学调查[J].热带医学杂志,2011,11(7):788-790,798.
 [6] 邓国生,罗宇迪,张宁. SH2020 全自动琼脂糖凝胶电泳仪在地中海贫血筛查中的应用价值[J].中国妇幼保健,2011,26(13):2049-2051.
 [7] 曾桂胜,陈肇杰,李志刚,等.中山市黄圃地区 92 例地中海贫血

者基因型分析[J].热带医学杂志,2011,11(2):171-172,188.
 [8] 蓝柳燕,王君,林漫燕.822 例地中海贫血患者基因检测结果分析[J].实验与检验医学,2011,29(3):212-214.
 [9] 韦莹慧,韦建华.桂西南地区贫血儿童地中海贫血筛查及基因分析[J].中国妇幼保健,2010,25(19):2740-2742.
 [10] 陈碧,唐棣,宋丽君,等.湛江地区地中海贫血基因携带率及产前基因诊断的研究[J].实用医技杂志,2009,16(7):512-513.
 [11] 杨友业,张秀明.临床检验方法学评价[M].北京:人民卫生出版社,2009:352-355.
 [12] 张新华,周英杰,李平萍,等.广西南宁市农村育龄人群地中海贫血筛查及基因型和血液学参数分析[J].中华流行病学杂志,2006,27(9):769-772.

(收稿日期:2011-12-09)