

论著·临床研究

## IL-6 联合 CA125、HE4 在早期卵巢癌患者诊断中的临床价值\*

李娜,尹晶晶,刘懿,邓凯,习文,刘军辉<sup>△</sup>

(西安交通大学医学院第一附属医院检验科,陕西西安 710061)

**摘要:**目的 探讨白细胞介素-6(IL-6)联合血清糖类抗原 125(CA125)、人附睾蛋白 4(HE4)检测作为新的缔合物在早期卵巢癌诊断中的临床应用价值。方法 采用罗氏全自动免疫化学发光分析仪(电化学发光法)测定 21 例早期卵巢癌(I~II 期)患者、36 例晚期卵巢癌(III~IV 期)患者,40 例卵巢良性疾病患者及 40 例体检合格的健康女性血清中 IL-6、CA125 和 HE4 的表达水平,并进行统计学分析。结果 卵巢癌患者(早、晚期)血清中 IL-6、CA125 和 HE4 水平明显高于卵巢良性疾病组和健康对照组,各组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ );IL-6 联合 CA125、HE4 在早期卵巢癌(I~II 期)患者诊断中的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 85.7%、90.0%、81.8%、92.3%,在晚期卵巢癌(III~IV 期)患者诊断中的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 94.4%、97.5%、97.1%、95.1%,均高于单项检测和 CA125+HE4 联合检测;IL-6 联合 CA125、HE4 在早期卵巢癌(I~II 期)和卵巢癌(I~IV 期)患者诊断中的受试者工作特征(ROC)曲线下面积分别为 0.955 4 和 0.974 0,明显高于任一单项检测和 CA125+HE4 联合检测。结论 IL-6 联合 CA125、HE4 检测具有较高的灵敏度、阳性预测值和 ROC 曲线下面积,是诊断早期卵巢癌(I~II 期)较为理想的生物标志物组合,可提高对早期卵巢癌的诊断效率。

**关键词:**卵巢癌; 白细胞介素-6; 人附睾蛋白 4; 糖类抗原 125; 早期诊断

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.008 **中图分类号:**R446.6;R737.31

**文章编号:**1673-4130(2019)03-0285-05

**文献标识码:**A

## Clinical value of IL-6 combined with CA125 and HE4 in the diagnosis of early ovarian cancer\*

LI Na, YIN Jingjing, LIU Yi, DENG Kai, XI Wen, LIU Junhui<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of the Medical School, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

**Abstract: Objective** To discuss the clinical value of IL-6 combined with CA125 and HE4 as a new association marker in the diagnosis of early ovarian cancer. **Methods** The expression of IL-6, CA125 and HE4 in 21 cases of early ovarian cancer (stage I - II), 36 cases of advanced ovarian cancer (stage III - IV), 40 cases of benign ovarian tumor and 40 healthy women were measured by the Roche automatic chemiluminescence analyzer (electrochemiluminescence). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and ROC curves were used to evaluate the diagnostic value. **Results** The serum levels of IL-6, CA125 and HE4 in patients with ovarian cancer were significantly higher than those in the benign ovarian tumor and the healthy control ( $P < 0.05$ ). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of IL-6 combined with CA125 and HE4 were respectively 85.7%, 90%, 81.8%, 92.3% in the diagnosis of early ovarian cancer (stage I - II) patients and respectively 94.4%, 97.5%, 97.1% and 95.1% for advanced ovarian cancer (stage III - IV) patients. For IL-6 combined with CA125 and HE4, the ROC AUC was respectively 0.955 4 and 0.974 0 for early ovarian cancer (stage I - II) patients and advanced ovarian cancer (stage III - IV) patients. It performed significantly better than any single test of IL-6, CA125 and HE4 and the 2-marker combination of CA125 + HE4. **Conclusion** The marker panel, IL-6, CA125 and HE4, shows higher sensitivity, positive predictive value and ROC AUC. It is an ideal serum marker combination for the diagnosis of early ovarian cancer (stage I - II) patients, which can improve the diagnostic efficiency of early ovarian

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81500219);陕西省科学技术研究发展计划项目(2016SF-217)。

作者简介:李娜,女,主管技师,主要从事临床血液学与免疫学研究。△ 通信作者,E-mail:liu1109@xjtu.edu.cn。

本文引用格式:李娜,尹晶晶,刘懿,等. IL-6 联合 CA125、HE4 在早期卵巢癌患者诊断中的临床价值[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(3):

cancer.

**Key words:** ovarian cancer; interleukin-6; human epididymal protein 4; carbohydrate antigen 125; early diagnosis

卵巢癌是发病率仅次于宫颈癌和子宫体癌的女性生殖系统恶性肿瘤,盆腔检查、经阴道超声(TVUS)和血清糖类抗原 125(CA125)水平检测是诊断卵巢癌的主要模式<sup>[1]</sup>。但是,由于卵巢癌早期缺乏特异性的临床症状和有效的检测手段,只有大约 20% 的卵巢癌患者可以在早期(I~II 期)被发现<sup>[2]</sup>,而对于大多数卵巢癌患者都是在晚期(III~IV 期)被诊断<sup>[3]</sup>,致使 III 期和 IV 期卵巢癌患者的 5 年生存率仅为 36% 和 17%,相反,当卵巢癌在早期被诊断时,卵巢癌患者的 5 年生存率显著提高,特别是当肿瘤局限于卵巢时,患者的 5 年生存率能提高到 89%,10 年生存率能到 84%<sup>[4]</sup>。

鉴于早期诊断的临床意义,在过去的几十年里,已有多个预测模型被开发应用于卵巢癌的早期诊断中<sup>[5-6]</sup>。目前研究最多的是 CA125,其次是人附睾蛋白 4(HE4)。HE4 和 CA125 联合检测用于卵巢癌的诊断,有利于提高诊断的灵敏度和特异度。白细胞介素-6(IL-6)主要参与调节机体的免疫应答,最初被认为是一种炎症因子,后来在恶性肿瘤生物学功能的研究中发现,IL-6 和许多恶性肿瘤的癌变过程相关,IL-6 的高表达可以促进肿瘤的发展,并和多种恶性肿瘤的预后相关。

为了实现卵巢癌的早期诊断,有必要对多种生物标志物进行联合检测以提高对疾病诊断的灵敏度和特异度,更好地区分恶性和良性肿瘤。本研究中,笔者通过对早、晚期卵巢癌组,卵巢良性疾病组和健康对照组,进行 IL-6、CA125 和 HE4 的相关检测,分析这几个指标与卵巢癌临床分期和病理特征的相关性,进而评估 IL-6 联合 CA125、HE4 作为新的缔合物在早期卵巢癌诊断中的临床价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2017 年 1 月至 2017 年 12 月,在西安交通大学医学院第一附属医院住院的拟行手术治疗的盆腔肿物患者 137 例;根据术后病理结果将患者分为卵巢良性疾病组和卵巢癌组,其中卵巢良性疾病组 40 例,平均年龄(60.6±13.6)岁;卵巢癌分期采用国际妇产科联盟(FIGO)2014 年标准予以分期,其中早期卵巢癌(I~II 期)组 21 例,平均年龄(63.6±11.2)岁,晚期卵巢癌(III~IV 期)组 36 例,平均年龄(61.8±10.5)岁;另选本院 40 例体检合格的健康女性作为健康对照组,平均年龄(56.5±10.3)岁。所有研究对象均排除其他原发性恶性肿瘤,卵巢

良性疾病组排除严重内科器质性疾病。3 组一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 检测方法** 标本采集:住院拟行手术治疗的(术前)、体检者,均在早晨空腹状态下进行静脉采血,3~4 mL,室温静置 30 min,3 500 r/min,离心 10 min,分离血清检测。

**1.2.2 仪器与试剂** 采用为罗氏公司 cobas e602 全自动免疫化学发光分析仪及配套试剂,检测血清中 CA125、HE4 和 IL-6 的表达水平。检测过程严格按照仪器和试剂操作说明书进行,每日检测前执行配套质控,确认质控结果在允许范围内后开始常规标本检测。

**1.2.3 判定方法** 血清 IL-6、CA125 和 HE4 的参考范围分别为 0~6 pg/mL、0~35 U/mL 和 0~150 pmol/L,检测结果大于参考范围作为阳性判定标准,联合检测以任一指标升高判定为阳性。以病理结果作为诊断的金标准。

**1.3 统计学处理** 采用 Graphpad Prism5 软件行统计学分析,统计数据以  $\bar{x} \pm s$  来表示;多组间均数比较采用方差分析,以卵巢良性疾病组+健康对照组为参照绘制 ROC 曲线并计算曲线下面积(AUC),以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 卵巢病变组与健康对照组血清 IL-6、CA125 和 HE4 的表达水平** 晚期卵巢癌组(III~IV)、早期卵巢癌组(I~II)、卵巢良性疾病组和健康对照组四组间 IL-6、CA125 和 HE4 的表达水平比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );其中,卵巢癌组(早期、晚期)的 IL-6、CA125 和 HE4 的表达水平明显高于卵巢良性疾病组和健康对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );卵巢良性疾病组与健康对照组比较,IL-6、CA125 表达水平明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),HE4 水平则无显著变化( $P>0.05$ )。结果见表 1。

表 1 卵巢病变组与健康对照组血清 IL-6、CA125 和 HE4 的表达水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-6( $\mu\text{g/mL}$ )	CA125(U/mL)	HE4(pmol/L)
对照组	40	5.18±2.46	16.08±6.96	57.62±24.51
卵巢良性疾病	40	12.43±6.81	52.57±34.95	61.80±35.75
卵巢癌				
早期(I~II期)	21	20.73±10.29	150.91±72.69	190.84±103.87
晚期(III~IV期)	36	36.62±11.15	460.17±251.04	379.10±169.42

F	106.5	85.13	87.43
P	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

**2.2 血清 IL-6、CA125 和 HE4 及联合检测在早期、晚期卵巢癌中的诊断价值评价** 单独使用 IL-6、CA125 和 HE4 诊断早期卵巢癌(I~II), CA125 表现出较高的灵敏度(61.9%), HE4 则表现出较高的特异度(82.5%)和阳性预测值(63.2%), 多指标联合测定灵敏度、特异度、阳性预测值等相比单独测定均有所提升, IL-6+CA125+HE4 联合测定的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 85.7%、90.0%、81.8%、92.3%; 晚期卵巢癌(III~IV)的诊断中各生物标志物单独检测和联合测定均表现出较优异的诊断价值, 联合测定表现更佳。见表 2。

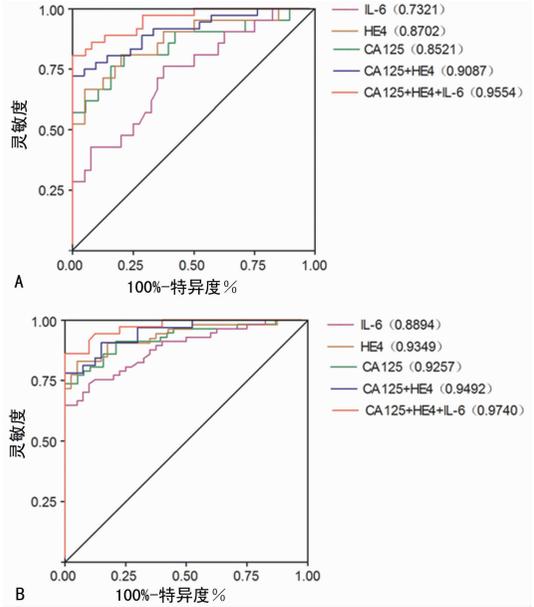
**表 2 血清 IL-6、CA125 和 HE4 水平及联合检测在早期、晚期卵巢癌中的诊断价值评价(%)**

组别	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
卵巢癌早期(I~II期)(n=21)				
IL-6	52.4	72.5	50.0	74.4
CA125	61.9	75.0	56.5	79.0
HE4	57.1	82.5	63.2	78.6
CA125+HE4	80.1	85.0	73.9	89.5
IL-6+CA125+HE4	85.7	90.0	81.8	92.3
卵巢癌晚期(III~IV期)(n=36)				
IL-6	83.3	80.0	79.0	84.2
CA125	88.9	87.5	86.5	89.1
HE4	86.1	92.5	91.2	88.1
CA125+HE4	91.7	95.0	94.3	92.7
IL-6+CA125+HE4	94.4	97.5	97.1	95.1

**表 3 血清 IL-6、CA125 和 HE4 及联合检测的 ROC 曲线分析**

组别	ROC (AUC)	SD of AUC	95%CI
卵巢癌早期(I~II期)(n=21)			
IL-6	0.732 1	0.067 98	0.598 9~0.865 4
CA125	0.852 1	0.058 00	0.738 4~0.965 8
HE4	0.870 2	0.051 75	0.768 8~0.971 7
CA125+HE4	0.908 7	0.037 22	0.835 8~0.981 7
CA125+HE4+ IL-6	0.955 4	0.021 40	0.913 5~0.997 4
卵巢癌(I~IV期)(n=57)			
IL-6	0.884 9	0.032 51	0.821 1~0.948 6
CA125	0.925 7	0.026 26	0.874 2~0.977 1
HE4	0.934 9	0.024 95	0.886 0~0.983 8
CA125+HE4	0.949 2	0.023 98	0.902 2~0.996 2
CA125+HE4+ IL-6	0.974 0	0.015 05	0.944 5~1.003 0

**2.3 血清 IL-6、CA125 和 HE4 及联合检测在早期卵巢癌诊断中的 ROC 曲线分析** 以卵巢良性疾病组+健康对照组为参照绘制 ROC 曲线并计算 AUC, CA125+HE4+IL-6 诊断早期卵巢癌(I~II期)和卵巢癌(I~IV期)的 AUC 分别为 0.955 4、0.974 0, 结果见表 3、图 1。



注:A为5种不同的生物标志物及组合在早期卵巢癌(I~II)诊断中的 ROC 曲线;B为5种不同的生物标志物及组合在卵巢癌(I~IV)诊断中的 ROC 曲线

**图 1 血清 IL-6、CA125 和 HE4 及联合检测的 ROC 曲线分析**

### 3 讨论

近年来,卵巢癌的发病率迅速上升,GLOBOCAN 统计数据显示,2012 年全球新增卵巢癌病例 238 719 例,死亡 151 917 例<sup>[7]</sup>;在中国,2012 年约有 34 575 名妇女被新诊断为卵巢癌,有近 14 676 名妇女死于这种疾病<sup>[8]</sup>。面对这种情况,卵巢癌的早期诊断和治疗就显得极为迫切与重要,卵巢癌早期诊断并获得最佳肿瘤细胞减灭术是影响卵巢癌患者预后和提高生存率的 2 个主要因素,这突出了敏感和可靠的策略对早期发现卵巢癌的关键性,以及尽早进行肿瘤细胞减灭术的重要性。

在过去的几十年中,诸多研究已经制定出相关策略,以通过早期检测来区分良性盆腔肿块和卵巢癌,并开发可应用的术前因素来预测原发性肿瘤细胞减灭术的效果,而其中,血清生物标志物一直是这些研究的重点。多年来,CA125 一直被用作诊断卵巢癌的生物标志物,并将其作为预测肿瘤细胞减灭术效果的潜在工具。但是,多个研究已证实其灵敏度和特异度不足以对卵巢癌进行早期的诊断和监测,主要原因是 CA125 在许多常见的良性妇科疾病和非妇科疾病中也会升高,而且,只有约 50% 的早期卵巢癌患者表现

为 CA125 升高,其余的并不升高<sup>[9]</sup>。另一项研究发现,HE4(基因名称 WFDC2)被认为是卵巢癌最有希望的新血清标志物之一,HE4 是最初发现于人附睾上皮细胞中的糖蛋白,在许多良性妇科肿瘤和内科疾病中并不升高,却在不表达 CA125 的卵巢癌中有升高;尽管 HE4 在评估盆腔肿块的恶性潜能方面看起来很有前景,但它并不是一个完美的生物标志物,事实上,影响 HE4 血清水平的因素很多,诸如年龄、吸烟、肾功能和非妇科癌症等<sup>[10-11]</sup>。而相比 CA125 用于检测卵巢恶性肿瘤,HE4 具有同等的灵敏度和较高的特异度,并且两个标记的组合可以互补,以提高卵巢癌诊断的灵敏度和特异度<sup>[12-13]</sup>;徐小娜<sup>[14]</sup>的研究结果显示单用 CA125 诊断卵巢癌的灵敏度为 75.6%、特异度为 86.2%,单用 HE4 诊断卵巢癌的灵敏度为 59.8%,特异度达到 96.5%。另有研究发现 CA125 在早期卵巢癌(I~II期)诊断中的灵敏度和阳性预测值分别为 64.29%和 53.57%,HE4 的灵敏度和阳性预测值分别 46.4%和 43.3%<sup>[15]</sup>,陈燕等<sup>[16]</sup>的研究结果显示 CA125 在 I 期卵巢癌中的阳性率仅为 36.36%,而 HE4 的阳性率为 60.61%,这些研究结果也说明,单独使用 CA125 或者 HE4 在卵巢癌的诊断中的价值,可能的主要贡献来源于晚期卵巢癌患者(III~IV期),而在早期卵巢癌(I~II期)诊断中的价值表现往往不佳。这也和本研究的结果相近,本研究结果显示单独使用 CA125 在早期卵巢癌(I~II期)诊断中,其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 61.9%、75.0%、56.5%、79.0%,而在晚期卵巢癌(III~IV期)诊断中,其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值明显提高,分别达到 88.9%、87.5%、86.5%、89.1%;若单独使用 HE4,其早期卵巢癌(I~II期)和晚期卵巢癌(III~IV期)中的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 57.1%、82.5%、63.2%、78.6%和 86.1%、92.5%、91.2%、88.1%。近年来,使用多种生物标志物的几种新算法已经被验证可用于区分良性卵巢肿块和卵巢癌,ROMA 就是一种利用 CA125、HE4 和绝经状态的生物标志物算法<sup>[17]</sup>,目前已在临床得到了较为广泛的应用,但这些不是真正的诊断测试,虽然可以使诊断灵敏度得到改善,但特异度和阳性预测值仍然具有一定的挑战。IL-6 是一种与多种病理状态相关的细胞因子,相关研究表明 IL-6 能增强卵巢癌肿瘤细胞的存活,调节肿瘤组织和腹水中的免疫细胞浸润,并增加对化疗的抵抗<sup>[18]</sup>;另有报道,IL-6 可以对内皮细胞增殖、迁移和血管生成产生直接影响,这是癌症发生、发展初期最为关键的事件之一<sup>[19]</sup>,这些结果均支持了本研究结果,即 IL-6 作为重要的生物标志物在早期卵巢癌诊断中可能存

在潜在的临床应用价值。本研究结果显示,当单独使用 IL-6 作为生物标志物诊断卵巢癌时,其所表现出的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值较低,但当 IL-6 联合 CA125、HE4 作为一种新的缔合物诊断卵巢癌时,无论是在早期(I~II期)还是晚期(III~IV期),其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值都大大提高,分别达到 85.7%、90.0%、81.8%、92.3%和 94.4%、97.5%、97.1%、95.1%。

本研究以卵巢良性疾病组+健康对照组为参照绘制 ROC 曲线并计算 AUC,CA125、HE4、IL-6 单独诊断卵巢癌(I~IV期)的 AUC 较低,特别是在早期卵巢癌(I~II期)中,但是当 CA125+HE4+IL-6 联合检测用于诊断早期卵巢癌(I~II期)和卵巢癌(I~IV期)时,其 AUC 显著升高,分别为 0.955 4 和 0.974 0,两者也较为接近,说明 CA125+HE4+IL-6 联合检测在早期卵巢癌(I~II期)和卵巢癌(I~IV期)中的诊断效能相当。

#### 4 结 论

IL-6 联合 CA125、HE4 检测具有较高的灵敏度、阳性预测值和 ROC 曲线下面积,是诊断早期卵巢癌(I~II期)较为理想的生物标志物组合,可提高对早期卵巢癌的诊断效率,有助于卵巢恶性肿瘤的早发现、早诊断和早治疗。

#### 参考文献

- [1] AZZAM A Z, HASHAD D I, KAMEL N. Evaluation of HE4 as an extra biomarker to CA125 to improve detection of ovarian carcinoma: Is it time for step forward? [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 288(1): 167-172.
- [2] CLIBY W A, POWELL M A, AL-HAMMADI N, et al. Ovarian cancer in the United States: Contemporary patterns of care associated with improved survival[J]. Gynecol Oncol, 2015, 136(1): 11-17.
- [3] JEMAL A, SIEGEL R, WARD E, et al. Cancer statistics [J]. JAMA, 2013, 310(9): 982.
- [4] BALDWIN L, WARE R, HUANG B, et al. Ten-year relative survival for epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2011, 121(1): S34-S35.
- [5] MENON U, RYAN A, KALSI J, et al. Risk algorithm using serial biomarker measurements doubles the number of screen-detected cancers compared with a single-threshold rule in the United Kingdom collaborative trial of ovarian cancer screening[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(18): 2062-2071.
- [6] PARTRIDGE E, KREIMER A R, GREENLEE R T, et al. Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial[J]. Obstet Gynecol, 2009, 113(4): 775-782.

- [7] WORLD HEALTH ORGANIZATION. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012[R]. Geneva: WHO, 2012.
- [8] WEI K, LI Y, ZHEN R, et al. Ovary cancer incidence and mortality in China, 2011[J]. Chin J Cancer Res, 2015, 27(1): 38-43.
- [9] SOLETORMOS G, DUFFY M J, ABU HASSAN S O, et al. Clinical use of cancer biomarkers in epithelial ovarian cancer updated guidelines from the European group on tumor markers[J]. Int J Gynecol Cancer, 2016, 26(1): 43-51.
- [10] FERRARO S, SCHIUMARINI D, PANTEGHINI M. Human epididymis protein 4: Factors of variation [J]. Clin Chim Acta, 2015, 438(1): 171-177.
- [11] ZENG Q, LIU M, ZHOU N, et al. Serum human epididymis protein 4 (HE4) May be a better tumor marker in early lung cancer[J]. Clin Chim Acta, 2016, 455(4): 102-106.
- [12] HELLSTRÖM I, RAYCRAFT J, HAYDEN-LEDBETTER M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma [J]. Cancer Res, 2003, 63(13): 3695-3700.
- [13] GALGANO M T, HAMPTON G M, FRIERSON H F. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues [J]. Mod Pathol, 2006, 19(6): 847-853.
- [14] 徐小娜. 人附睾上皮分泌蛋白 4 联合其他肿瘤标志物对卵巢癌的早期诊断价值[J]. 临床医学, 2017, 37(11): 93-94.
- [15] ZHENG X, CHEN S, LI L, et al. Evaluation of HE4 and TTR for diagnosis of ovarian cancer: Comparison with CA-125[J]. J Gynecol Obstet Hum Reprod, 2018, 47(6): 227-230.
- [16] 陈燕, 林莺莺, 郑瑜宏, 等. 血清 HE4、CA125 和 ROMA 指数评估卵巢癌风险性的初步评价[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(2): 168-174.
- [17] MOORE R G, MCMEEKIN D S, BROWN A K, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass[J]. Gynecol Oncol, 2009, 112(1): 40-46.
- [18] LO C W, CHEN M W, HSIAO M, et al. IL-6 Trans-Signaling in formation and progression of malignant ascites in ovarian cancer[J]. Cancer Res, 2011, 71(2): 424-434.
- [19] GOPINATHAN G, MILAGRE C, PEARCE O M, et al. Interleukin-6 stimulates defective angiogenesis[J]. Cancer Res, 2015, 75(15): 3098-3107.

(收稿日期: 2018-08-10 修回日期: 2018-10-27)

(上接第 284 页)

- deaminase level in tuberculous meningitis and validation of sensitivity and specificity[J]. Int J Res Med Sci, 2018, 6(2): 438-442.
- [8] LEE J, YOO S S, LEE S Y, et al. Pleural fluid adenosine deaminase/serum C- reactive protein ratio for the differentiation of tuberculous and parapneumonic effusions with neutrophilic predominance and high adenosine deaminase levels[J]. Infection, 2017, 45(1): 59-65.
- [9] BOTA A, GELLA F J, CANALIAS F. Purification of human adenosine deaminase for the preparation of a reference material[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2000, 737(1/2): 237-244.
- [10] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION(NCBI). NCBI reference sequence: Homo sapiens adenosine deaminase (ADA), mRNA[EB/OL]. (2018-12-15). [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM\\_000022.2](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_000022.2)
- [11] 中国标准化协会全国标准样品技术委员会. 标准样品实用手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [12] JOINT RESEARCH CENTER (JRC). ERM-AD457\_IFCC ASPARTATE TRANSAMINASE (AST) Certificate ERM-AD457 certificate. pdf[EB/OL]. (2018-12-15). [https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/AST/ERM-AD457-IFCC-ASPARTATE-TRANSAMINASE-AST-catalytic-activity-concentration/ERM-AD457\\_IFCC](https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/AST/ERM-AD457-IFCC-ASPARTATE-TRANSAMINASE-AST-catalytic-activity-concentration/ERM-AD457_IFCC)
- [13] JOINT RESEARCH CENTER (JRC). ERM-AD454k\_IFCC ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT). Certificate ERM-AD454k certificate. pdf[EB/OL]. (2018-12-15). [https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/ALT/ERM-AD454k-IFCC-ALANINE-AMINOTRANSFERASE-ALT-catalytic-activity-concentration/ERM-AD454k\\_IFCC](https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/ALT/ERM-AD454k-IFCC-ALANINE-AMINOTRANSFERASE-ALT-catalytic-activity-concentration/ERM-AD454k_IFCC)
- [14] JOINT RESEARCH CENTER (JRC). ERM-AD453k\_IFCC LACTATE DEHYDROGENASE ISOENZYME1 (LD1). Certificate ERM-AD453k certificate. pdf[EB/OL]. (2018-12-15). [https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/AD453K/ERM-AD453k-IFCC-LACTATE-DEHYDROGENASE-ISOENZYME-1-LD1-catalytic-activity-concentration/ERM-AD453k\\_IFCC](https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/AD453K/ERM-AD453k-IFCC-LACTATE-DEHYDROGENASE-ISOENZYME-1-LD1-catalytic-activity-concentration/ERM-AD453k_IFCC)
- [15] GOPAL G J, KUMAR A. Strategies for the production of recombinant protein in Escherichia coli [J]. Protein J, 2013, 32(6): 419-425.
- [16] WANG Z, LI N, WANG Y, et al. Ubiquitin-intein and SUMO2-intein fusion systems for enhanced protein production and purification[J]. Protein Expr Purif, 2012, 82(1): 174-178.

(收稿日期: 2018-08-21 修回日期: 2018-10-21)