

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.08.001

血清 S100 β 蛋白水平医学参考区间的建立*

谭延国,李卓敏[#],王新宇,亢 涛,王志阳,董一红,李 佩,郑芳芳,聂秋燕,刘 晴,
王晓宁,田 野,古 媛,车冬丽,林 红,张 岩[△]
(首都医科大学附属复兴医院检验科,北京 100038)

摘要:目的 依据美国临床和实验室标准协会(CLSI)文件 C28-A3,建立该院血清 S100 β 蛋白水平健康人群的参考区间。方法 选择 207 例不同年龄分布的健康男女,使用 Cobas e601 分析仪及配套 Elecsys S100 试剂盒测定血清 S100 β 蛋白水平。分别采用基于数据的参数拟合法及非参数有放回抽样方法(Bootstrap 法)估计参考区间。结果 (1)未见 S100 β 蛋白水平受性别和年龄因素的影响($P>0.05$),故合并性别和年龄后整体分析;(2)S100 β 蛋白水平不符合正态分布的规律,但以 10 为底对数转换后,符合正态分布;(3)参考区间的估计:基于数据的参数拟合法,其 97.5% 值分别为 0.126 6 $\mu\text{g/L}$ (数据未转换)和 0.126 5 $\mu\text{g/L}$ (经对数转换),基于非参数法,其 97.5% 值分别为 0.125 8 $\mu\text{g/L}$ (数据未转换)和 0.125 7 $\mu\text{g/L}$ (经对数转换)。结论 该院 S100 β 蛋白水平医学参考区间的建立,为其常规应用于临床实践活动奠定了基础。

关键词: S100 β 蛋白; 参考区间; 颅脑损伤

中图分类号: R446.62

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)08-1057-04

Establishment of the reference interval of serum protein S100 β level*

TAN Yanguo, LI Zhuomin[#], WANG Xinyu, KANG Tao, WANG Zhiyang, DONG Yihong, LI Pei,
ZHENG Fangfang, NIE Qiuyan, LIU Qing, WANG Xiaoning,
TIAN Ye, GU Yuan, CHE Dongli, LIN Hong, ZHANG Yan[△]
(Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical
University, Beijing 100038, China)

Abstract: Objective To establish the reference interval of serum level of protein S100 β (S100 β), based on local healthy population, according to CLSI C28-A3, developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process. **Methods** A total of 207 healthy subjects were enrolled, Roche Combas e601 analyzer and Elecsys S100 kits were used, for the detection of serum S100 β level. The non-parametric and parametric procedures were used for the ascertainment of reference interval. **Results** Neither significant difference in serum S100 β level between male and female ($P>0.05$), nor significant correlation between S100 β level and age was observed ($P>0.05$), so data of different genders and ages were combined and analyzed as a whole; the observed S100 β values were highly skewed, but after log transform, it followed normal distribution; estimation of reference interval: based on parametric method, the 97.5 percentile was 0.126 6 (original observed values) and 0.126 5 $\mu\text{g/L}$ (log transform), and based on the non-parametric method, the 97.5 percentile was 0.125 8 (original observed values) and 0.125 7 $\mu\text{g/L}$ (log transform), respectively. **Conclusion** The establishment of reference interval of serum S100 β protein level, has laid a foundation for its routinely clinical use.

Key words: protein S100 β ; reference interval; brain lesion

S100 蛋白属于钙结合蛋白家族,以 α_1 和 β 亚基构成的异型或同型二聚体的形式存在,因其中性 pH 值、100% 硫酸铵饱和溶液中的溶解性而得名。至今已至少有 21 种不同的 S100 蛋白家族成员得以

鉴定。

在中枢神经系统中, S100 β 蛋白主要由星形胶质细胞表达,同胶质纤维酸性蛋白一道,是星形胶质细胞活化的标志物。黑色素瘤,特别是 II、III 和 IV 期恶

* 基金项目:首都临床特色应用研究(吴阶平)基金资助项目(Z141107006614008)。

作者简介:谭延国,男,主任技师,主要从事临床检验诊断学的研究。 [#] 共同第一作者:李卓敏,女,技师,主要从事临床检验诊断学方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: fxjyk@sina.com。

性黑色素瘤,血清 S100 β 蛋白水平升高可预示疾病的进程,连续监测可评估治疗效果。此外,多种类型的大脑损伤,脑脊液 S100 β 蛋白水平可升高并释放入血,如脑外伤、出血或缺血性脑卒中等^[1-4]。目前,因为常规应用于临床、反映脑损伤的实验室指标仍为空白,S100 β 蛋白无疑最有潜在应用价值。S100 β 蛋白对上述疾病早期诊断、病情轻重的判断及预后上的价值,很大程度上取决于医学参考区间的准确确定,而我国鲜见相关研究^[5]。本研究使用电化学发光免疫分析检测系统,探索建立本院的血清 S100 β 蛋白水平医学参考区间,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 血清标本源自 2016 年 1 月至 2017 年 4 月在本院行健康体检的成年人 207 例,其中男 113 例,女 94 例。依据美国临床和实验室标准协会(CLSI) C28-A3 文件关于健康者的要求原则排除:(1)患自身免疫性疾病者;(2)吸烟、饮酒和药物滥用者;(3)怀孕或哺乳期妇女;(4)有家族遗传病史者;(5)近期进行过手术及住院治疗者;(6)肝、肾、心或肺功能不全者;(7)恶性黑色素瘤患者;(8)中枢神经系统病变,如脑梗死、脑出血、创伤性脑损伤等;(9)血清标本量不足以完成检测或出现严重溶血或脂血者。

1.2 仪器与试剂 使用德国罗氏公司 Cobas e601 全自动电化学发光酶免疫分析仪及其配套的 S100 测定试剂盒(Elecsys S100),基于双抗体夹心法的原理同时定量测定血清 S100 $\alpha_1\beta$ 和 S100 $\beta\beta$ 蛋白水平(以下称为 S100 β),并严格按照相关操作规程进行实验操作。

1.3 方法 所有被纳入的表现健康人群,清晨采集其空腹静脉血 3 mL,室温静置 15 min,4 100 r/min 离心 10 min,分离 1 mL 血清于冻存管中,注明健康人信息,-80 °C 冻存待检。

1.4 统计学处理 统计学描述、*t* 检验、两样本比较的秩和检验和线性相关等,采用 R3.3.2 统计软件处理。对参考区间的估计,使用 @RISK5.5 统计学软件,并参照 CLSI C28-A3 推荐的统计学方法进行。用夏皮罗-威尔克法(W 法)检验数据的正态性,柯尔莫哥洛夫(K-S)法进行基于数据的参数拟合法参考区间的估计,用有放回的抽样方法(Bootstrap 法)进行基于非参数法参考区间的估计。根据 CLSI C28-A3 的建议,如原始观察值不符合正态分布,可适当地转换(如对数转换)后,再做进一步的数据分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 性别与血清 S100 β 蛋白水平的关系 207 例健康人血清 S100 β 蛋白水平,见表 1。对未转换的数据,无论独立样本 *t* 检验,还是秩和检验,均显示男性和女性人群 S100 β 蛋白水平差异无统计学意义($P >$

0.05);经对数转换后,也得到类似结果($P > 0.05$)。

2.2 年龄与血清 S100 β 蛋白水平的关系 无论使用 *t* 检验,还是两样本比较的秩和检验,均显示不同性别人群的年龄构成差异无统计学意义($P > 0.05$)。无论是 Pearson 还是 Spearman 相关,全人群年龄和未转换的 S100 β 蛋白水平及与对数转换后的水平均无相关性($P > 0.05$)。

表 1 207 例健康人血清 S100 β 蛋白水平统计学描述($\mu\text{g/L}$)

项目	未转换			以 10 为底对数转换后		
	男	女	全人群	男	女	全人群
样本(<i>n</i>)	113	94	207	113	94	207
均数	0.05	0.06	0.06	-1.31	-1.27	-1.30
标准差	0.02	0.03	0.03	0.20	0.21	0.20
最小值	0.01	0.01	0.01	-1.85	-1.89	-1.89
第 25 百分位数	0.03	0.04	0.04	-1.47	-1.42	-1.44
中位数	0.05	0.05	0.05	-1.30	-1.29	-1.30
第 75 百分位数	0.07	0.07	0.07	-1.16	-1.13	-1.15
最大值	0.15	0.23	0.23	-0.84	-0.64	-0.64

2.3 血清 S100 β 蛋白水平的数据分布规律 无论未转换还是以 10 为底对数转换后,不同性别 S100 β 蛋白水平差异无统计学意义($P > 0.05$),且不同性别人群的年龄分布相匹配,因此将不同性别的 S100 β 蛋白数据合并后进行分析。依据 CLSI C28-A3 文件,要求最少 120 个观察值,本研究按性别合并后,入组例数共 207 例,符合要求。W 法正态性检验,全人群 S100 β 蛋白水平不符合正态分布($P = 1.85 \times 10^{-11}$);而经以 10 为底对数转换后,W 法检验提示全人群 S100 β 蛋白水平未显著偏离正态分布($P = 0.3424$),见图 1、2。

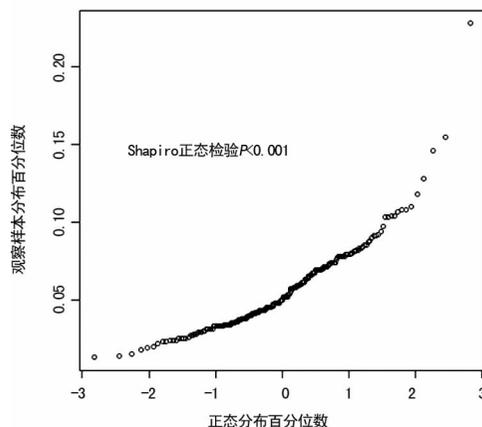


图 1 S100 β 蛋白水平全人群数据正态检验

2.4 医学参考区间的确定 由于血清 S100 β 蛋白水平不符合正态分布(但其对数符合正态分布),故本研究采用基于数据的参数拟合和基于非参数抽样的方法,以获取潜在医学参考区间值。(1)基于数据的参

数拟合方法:使用美国 Palisade 公司的 @RISK5.5 对全人群 S100 β 蛋白水平进行参数拟合。参数拟合规定,最小的观察值应大于或等于 0。参数估计采用 K-S 检验进行,选取统计值最小的参数分布及其估计值,并在此基础上选择 @RISK 所推荐的、最佳理论分布的 97.5% 值作为参考区间的上限值。根据 K-S 统计值,提示 Invgauss(0.056 3,0.231 1) 分布是对全人群 S100 β 蛋白水平的最佳拟合结果,参数估计的 97.5% 参考区间上限值是 0.126 6,见表 2。当以 10 为底对数转换后,K-S 统计值提示,Normal(-1.295 9,0.203 1) 分布是最佳拟合结果,采用其理论分布的第 97.5% 值 -0.897 8(经对数转换后为 0.126 5) 作为参考区间的上限值,见表 3。(2) 基于非参数的抽样方法:由于 S100 β 蛋白全人群原始数据不符合正态分布,参数拟合后的不同参数分布在不同百分位数上差别较大,本研究采用基于 Excel 的非参数 Bootstrap 法,模拟每次有放回地从观察值中抽取 100 和 1 000 个数值,分别抽取 10、100、200 次,计算每次抽取观察值的第 97.5% 值的第 97.5% 作为参考区间的上限值。

本研究显示,当每次抽样达到 1 000 个观察值、抽取 100 次以上,推断观察值的第 97.5% 值的第 97.5% 达到稳定。结果提示,未经转换前,所推断 S100 β 蛋白参考区间上限值为 0.125 8;以 10 为底对数转化后,则为 -0.900 5(0.125 7),见表 4。

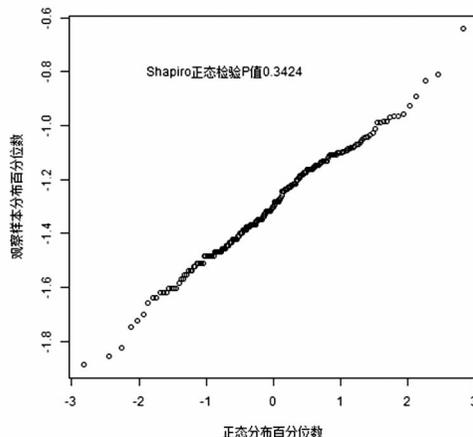


图 2 全人群 S100 β 蛋白水平正态检验 (以 10 为底的对数转换)

表 2 未经数据转换的 S100 β 蛋白水平基于参数拟合法参考区间的估计

序号	参数分布	K-S 统计值	P85	P90	P95	P97.5
1	RiskInvgauss(0.056 3,0.231 0)	0.054 3	0.082 6	0.092 7	0.109 7	0.126 6
2	RiskPearson6(7.803,12.830,0.085)	0.055 2	0.081 7	0.091 1	0.107 2	0.123 5
3	RiskLognorm(0.056 4,0.027 8)	0.056 2	0.082 0	0.092 0	0.109 0	0.126 2
4	RiskGamma(4.817,0.012)	0.060 2	0.082 3	0.090 7	0.104 1	0.116 6
5	RiskLoglogistic(0.0.051,3.724)	0.065 5	0.081 1	0.091 8	0.112 2	0.136 1

表 3 经以 10 为底对数转换后,基于参数拟合法 S100 β 蛋白水平参考区间的估计

序号	参数分布	K-S 统计值	P85	P90	P95	P97.5
1	RiskNormal(-1.296 0,0.203 1) ^a	0.055 7	-1.085	-1.036	-0.961 8	-0.897 8
2	RiskLogistic(-1.293 0,0.116 6)	0.065 5	-1.091	-1.037	-0.949 9	-0.866 0
3	RiskExtvalue(-1.398 0,0.207 5)	0.089 0	-1.021	-0.9314	-0.782 1	-0.635 6

注:^a 由于分布符合正态分布,其均数+1 倍标准差为 -1.092 82;均数+2 倍标准差为 -0.889 70;均数+3 倍标准差为 -0.686 58;均数+4 倍标准差为 -0.483 46

表 4 采用非参数抽样方法估计的 S100 β 蛋白水平参考区间上限值

迭代×拟合次数	未转换数据	以 10 为底的对数转换后
100×10	0.140 4	-0.970 6
100×100	0.177 4	-0.821 6
100×200	0.150 7	-0.822 0
1 000×10	0.155 4	-0.822 0
1 000×100	0.125 8	-0.900 5
1 000×200	0.128 0	-0.892 8

3 讨 论

S100 β 蛋白与中枢神经系统疾患和黑色素细胞瘤

的关系较为密切。而脑外伤、缺血缺氧性脑病、脑出血和缺血性脑卒中等则是临床最多见的脑部疾病。

S100 β 蛋白水平同上述脑部疾患关系的研究显示:(1)脑缺血后早期 S100 β 蛋白水平在脑脊液和血液中即显著升高,并且同梗死体积、临床状态和功能预后相关^[4,6]; (2)血清 S100 β 蛋白水平可作为判断缺氧缺血性脑病病情程度的客观依据,并作为其早期诊断和预后评估的主要指标^[7]; (3)血清 S100 β 蛋白水平可作为急性全脑缺血(心脏停搏)后 24 h 患者预后的可靠指标; (4)创伤性脑损伤后,S100 β 蛋白血清水平的升高同损伤严重程度和神经放射学表现相关,并

可作为创伤性脑损伤预后不良的指标^[1]; (5) S100 β 蛋白水平在其他中枢神经系统疾病如炎症、胶质细胞瘤和癫痫等也有不同程度的变化; (6) 另外, 血清 S100 β 蛋白也是非创伤性脑出血预后的指标^[8-9]。此外, 新近发现 S100 β 蛋白同脑部以外严重创伤的预后也显著相关^[10]。虽然该指标被研究多年, 但仍未被大规模应用于临床, 而大样本对照组的研究及参考区间的确定, 则是明确 S100 β 蛋白用于诊断及预后评估的效能, 并最终应用于临床实践的基础^[11-12]。

S100 β 蛋白的参考区间与其他实验室指标一样, 与所使用检测系统有关。但是否与参考人群的种族或地域有关, 仍不清楚。以下是基于外国人群的相关研究: Elecsys S100 试剂说明书中基于 206 例表观健康人群得到参考区间, 其 95% 上限值是 0.105 $\mu\text{g/L}$, 中位数为 0.046 $\mu\text{g/L}$, 共有 10 例 (4.9%) 高于 0.105 $\mu\text{g/L}$ 。BIBERTHALER 等^[13] 基于 540 例健康志愿者, 使用 Elecsys S100 试剂, 得到参考区间的 95% 上限值为 0.100 $\mu\text{g/L}$, 数据符合正态分布。MULLER 等^[14] 用 Elecsys S100 检测了 118 例健康志愿者, 均数为 0.05 $\mu\text{g/L}$, 95% 上限值为 0.07 $\mu\text{g/L}$, 每个观察值与另一种检测方法 (the Liaison Sangtec 100 test) 的平均偏差为 0.14 $\mu\text{g/L}$ 。ANDERSON 等^[15] 基于 459 例健康对照者, 得到第 97.5% 和 95% 参考区间分别为 0.13 $\mu\text{g/L}$ 和 0.10 $\mu\text{g/L}$ 。

本研究以 207 例表观健康人群为基础, 使用基于数据的参数拟合与非参数有放回的抽样等方法, 所得到的参考区间 97.5% 上限值都非常接近 0.126 $\mu\text{g/L}$, 而参考区间的 95% 上限值则为 0.110 $\mu\text{g/L}$, 中位数为 0.05 $\mu\text{g/L}$, 共有 4 例 (1.93%) 高于 0.126 $\mu\text{g/L}$, 这与上述文献结果十分接近。笔者还发现, 血清 S100 β 蛋白水平并不符合正态分布的规律, 而以 10 为底对数转化后则符合。这也提示, 不同种族 S100 β 蛋白水平, 使用性能类似检测系统所得到的参考区间应十分相近, 但数据分布类型似乎存在差别。

参考文献

[1] MANZANO S, HOLZINGER I B, KELLENBERGER C J, et al. Diagnostic performance of S100B protein serum measurement in detecting intracranial injury in children with mild head trauma[J]. *Emerg Med J*, 2016, 33(1): 42-46.

[2] ZHOU S, BAO J, WANG Y, et al. S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke[J]. *Neurol Res*, 2016, 38(4): 327-332.

[3] HAUPT W F, CHOPAN G, SOBESKY J, et al. Prognostic value of somatosensory evoked potentials, neuron-specific enolase, and S100 for short-term outcome in ischemic stroke[J]. *J Neurophysiol*, 2016, 115(3): 1273-1278.

[4] WANG L, JIANG J, DU L, et al. The prognostic value of serum pregnancy-associated plasma protein A, S100 and high sensitivity C-reactive protein in acute ischemic stroke patients without heparin administration[J]. *Clin Biochem*, 2014, 47(16/17): 187-191.

[5] LI S, ZUO Y, HUANG W. Establishment of a reference interval for high-sensitivity cardiac troponin I in healthy adults from the Sichuan area[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(14): e6252.

[6] KUMAR H, LAKHOTIA M, PAHADIIYA H, et al. To study the correlation of serum S-100 protein level with the severity of stroke and its prognostic implication[J]. *J Neurosci Rural Pract*, 2015, 6(3): 326-330.

[7] CHAPARRO-HUERTA V, FLORES-SOTO M E, MERIN SIGALA M E, et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns[J]. *Pediatr Neonatol*, 2017, 58(1): 70-76.

[8] SHI S, WANG G, ZHANG K, et al. Expression of S100 β protein in patients with vascular dementia after basal ganglia hemorrhage and its clinical significance[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(5): 1917-1921.

[9] JUNTILLA E K, KOSKENKARI J, OHTONEN P P, et al. Serum S100 β as a prognostic marker in patients with non-traumatic intracranial hemorrhage[J]. *Minerva Anestesiol*, 2016, 82(11): 1189-1198.

[10] PFORTMUELLER C A, DREXEL C, KRÄHENMANN-MÜLLER S, et al. S-100 β Concentrations are a predictor of decreased survival in patients with major trauma, independently of head injury[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152822.

[11] DENG C, ZHANG S, HU C, et al. Establishing a reference interval for serum anti-dsDNA antibody: a large Chinese Han population-based multi-center study[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0168871.

[12] KIM M, KIM T Y, KIM S H, et al. Reference interval for thyrotropin in a ultrasonography screened Korean population[J]. *Korean J Intern Med*, 2015, 30(3): 335-344.

[13] BIBERTHALER P, LINSSENMEIER U, PFEIFER K J, et al. Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury: a prospective multicenter study[J]. *Shock*, 2006, 25(5): 446-453.

[14] MULLER K, ELVERLAND A, ROMNER B, et al. Analysis of protein S-100B in serum; a methodological study [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44(9): 1111-1114.

[15] ANDERSON R E, HANSSON L O, NILSSON O, et al. High serum S100 β levels for trauma patients without head injuries[J]. *Neurosurgery*, 2001, 48(6): 1255-1260.