

·临床研究·

血浆游离甲氧基肾上腺类物质对嗜铬细胞瘤和副神经节瘤的诊断价值

姚瑶, 冯绮玲, 李永洁, 张小云, 唐菊英, 郭颖, 张少玲, 严励
(中山大学孙逸仙纪念医院内分泌科, 广东广州, 510120)

摘要:【目的】探讨血浆游离甲氧基肾上腺素类物质(包括甲氧基肾上腺素MN、甲氧基去甲肾上腺素NMN, 合称MNs)在嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(PPGL)中诊断的价值及影响因素。【方法】选择2014年12月-2020年12月中山大学孙逸仙纪念医院疑诊PPGL的病人,采用高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)检测患者手术前血浆游离MNs水平,用受试者工作曲线(ROC)评价NMN和MN的诊断能力,并分析出现假阳性结果的影响因素。【结果】研究纳入108例病理确诊PPGL的病人,1523例诊断明确的非PPGL病人作为对照组。两组病人血浆MN中位数[0.54(0.17~4.48) nmol/L vs. 0.15(0.11~0.21) nmol/L, $P<0.001$], NMN中位数[7.48(2.12~15.01) nmol/L vs. 0.32(0.22~0.46) nmol/L, $P<0.001$]差异具有统计学意义。血浆MN如以0.395 nmol/L为切点,其灵敏性为60.2%,特异性为97.8%;NMN切点值为1.105 nmol/L,其诊断灵敏性为87.0%,特异性为98.7%,二者联合时灵敏性和特异性分别为91.7%、99.8%。血浆MN、NMN及两者联合诊断PPGL的ROC曲线下面积及95%置信区间分别为0.800(0.743, 0.858)、0.959(0.932, 0.985)、0.970(0.944, 0.996)。分析假阳性情况,发现在对照组出现3%的假阳性病例,其肾小球滤过率(eGFR)中位数较真阴性组更小[74.42(51.04~96.96) mL/min vs. 88.51(72.80~101.83) mL/min, $P=0.001$]。在212例eGFR<60 mL/min的患者中,假阳性率明显增加,为8%。将血MNs参考区间上限增加25%时,特异性增加至96.7%;参考区间上限增加50%时,特异性为98.6%。【结论】血浆游离MNs诊断PPGL具有很高的可靠性,其阴性预测值极高,接近100%。同时测定MN和NMN,可进一步提高诊断灵敏性和特异性。极少数可出现假阳性,需注意肾功能不全的影响。在eGFR<60 mL/min的患者中,假阳性率明显升高,参考区间上限需要增加25%~50%,以保证较高的特异性。

关键词:嗜铬细胞瘤;副神经节瘤;甲氧基肾上腺素;甲氧基去甲肾上腺素;诊断

中图分类号:R586.9

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2022)01-0107-10

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0113

Value of Plasma Free Metanephrine and Normetanephrine in the Diagnosis of Pheochromocytoma and Paraganglioma

YAO Yao, FENG Qi-ling, LI Yong-jie, ZHANG Xiao-yun, TANG Ju-ying,
GUO Ying, ZHANG Shao-ling, YAN Li

(Department of Endocrinology and Metabolism, Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Correspondence to: ZHANG Shao-ling; E-mail: zhshaol@mail.sysu.edu.cn

Abstract: 【Objective】 To explore the value of plasma free metanephrines, including metanephrine (MN) and normetanephrine (NMN), collectively referred to as MNs in the diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma (PPGL). 【Methods】 The study included 1631 patients suspected of PPGL from December 2014 to December 2020 in Sun Yat-sen Memorial Hospital. In these subjects, Plasma free MNs were measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) before surgery. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to determine the sensitivity

收稿日期:2021-08-04

基金项目:国家自然科学基金(81970683);广东省自然科学基金(2020A1515010245, 2018A030313596)

作者简介:姚瑶,硕士生, E-mail: 1511141428@163.com;冯绮玲,共同第一作者,主管护师, E-mail: 36841894@qq.com;张少玲,通信作者,主任医师, E-mail: zhshaol@mail.sysu.edu.cn

ty and specificity of plasma MN and NMN in the diagnosis of PPGL.【Results】Of the screened patients, 108 patients had pathologically confirmed PPGL and 1 523 patients had definitive diagnoses other than PPGL as a control group. The median value of plasma MN [0.54(0.17~4.48) nmol/L vs. 0.15(0.11~0.21) nmol/L, $P<0.001$] and NMN [7.48(2.12~15.01) nmol/L vs. 0.32(0.22~0.46) nmol/L, $P<0.001$] were significant higher in the PPGL group than in the control group. Using an upper cut-off of 0.395 nmol/L for MN, the sensitivity was 60.2% and the specificity was 97.8%; when using a cut-off of 1.105 nmol/L for NMN, the diagnostic sensitivity was 87.0%, and the specificity was 98.7%. The area under the ROC curve and 95% confidence interval of plasma MN and NMN combined were 0.800(0.743, 0.858), 0.959(0.932, 0.98) and 0.970(0.944, 0.996), respectively. Analyzing the false-positive results, it was found that in the control group, 3% of the false-positive cases appeared. The estimated glomerular filtration rate(eGFR) were significantly lower in the false-positive group than in the true-negative group [74.42(51.04~96.96) mL/min vs. 88.51(72.80~101.83) mL/min, $P=0.001$]. In 212 patients with eGFR lower than 60 mL/min, the false positive rate was increased to 8%. If the upper limit of the reference interval was increased by 25%, the specificity was increased to 96.7%; when the upper limit of the reference interval was increased by 50%, the specificity was 98.6%.【Conclusions】Plasma free MNs has a great reliability in the diagnosis of PPGL. The negative predictive value is extremely high and close to 100%. Combination analysis of plasma MN and NMN can further improve diagnostic performance. However, a few false positive cases may appear and might be influenced by impaired renal function. In patients with eGFR lower than 60 mL/min, the false positive rate is significantly increasing, which need a 25%~50% increase in the expected upper limit of a reference range to guarantee high specificity.

Key words: pheochromocytoma; paraganglioma; metanephrine; normetanephrine; diagnosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2022, 43(1): 107-116]

嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(pheochromocytoma and paraganglioma, PPGL)是分泌儿茶酚胺的神经内分泌肿瘤,分别起源于肾上腺和肾上腺外的嗜铬组织。儿茶酚胺分泌过多会导致阵发性高血压、心悸、大汗、头痛等心血管症状以及影响糖脂代谢、骨代谢等^[1-3],其临床表现复杂且多变,易造成诊断延误,可能引起心、脑、肾等靶器官的致命性损伤^[4]。因此,快速、简便、高效的诊断方法十分必要。传统的PPGL生化筛查指标包括尿液和血浆中的儿茶酚胺(肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺)以及尿液中儿茶酚胺的代谢物,如高香草酸、香草扁桃酸。然而,应激状态下会增加来自交感神经儿茶酚胺的释放,出现假阳性的结果。在PPGL患者中儿茶酚胺分泌是异质的,具有多种分泌模式,这些指标的准确度不高。多个研究表明目前血浆甲氧基肾上腺素(metanephrine, MN)和甲氧基去甲肾上腺素(normetanephrine, NMN),合称甲氧基肾上腺素类物质(metanephrines, MNs)是诊断PPGL最优的定性诊断指标,其灵敏性接近100%、特异性介于85%~95%^[5-9]。此外,血浆游离MNs对于PPGL的术前准备、随访监测及预后判断,也有重要意义^[10]。儿茶酚胺及代谢产物的检测经历了多种方法:生物分析法、荧光法、放射酶法、化学发光法均易受到多种其他内源性化合物的干扰,操作繁琐,

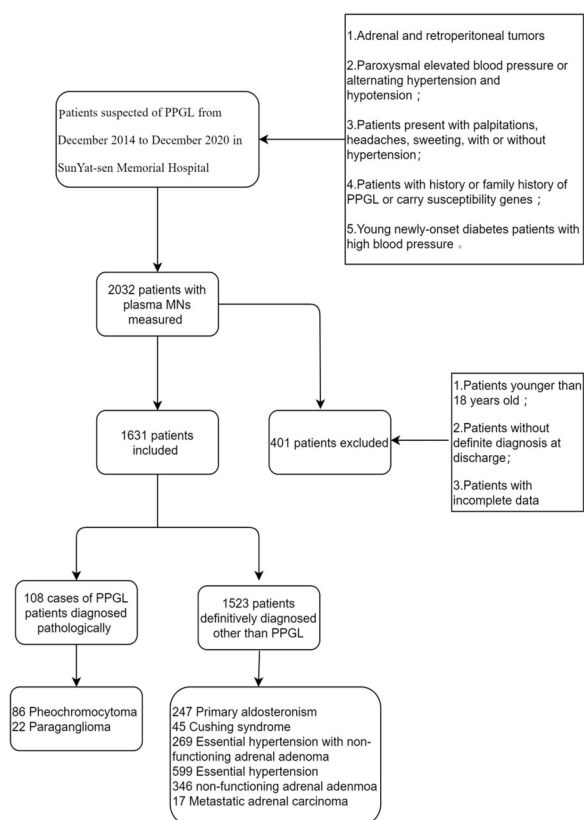
灵敏性和特异性不能满足临床的需求。而液相色谱与电化学联用,虽然灵敏性较高,但耗时长,也易受到多种物质干扰。随着质谱技术的发展,高效液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测量血浆MNs是目前指南推荐的首选生化检测方式^[8,11],其灵敏性和特异性均高,可应用于临床的大样本快速检测。尽管国内也已经开始使用,但相关国内报道不多,据此,本文回顾性分析了孙逸仙纪念医院108名PPGL病人,并选取了1 523名非PPGL病人作为对照,采用LC-MS/MS检测血浆游离MNs,回顾性探讨其在真实世界中诊断PPGL的价值,并分析年龄、肾功能等可能的影响因素。

1 材料与方法

1.1 研究对象

纳入标准:中山大学孙逸仙纪念医院2014年12月-2020年12月因怀疑PPGL而住院检查、采用LC-MS/MS测量血浆游离MNs的病人,包括健康体检意外发现肾上腺区及腹膜后肿瘤;临床表现为阵发性血压升高或高血压和低血压交替;存在心悸、头痛、多汗表现,伴或不伴高血压;既往有PPGL病史或家族史或携带易感基因;年轻的新发糖尿病伴

有高血压患者。排除标准:年龄小于18岁;出院时无明确诊断;资料不完整。所有诊断为PPGL的患者均为病理确诊。非PPGL作为对照组,按“高血压查因”诊断流程进行有关内分泌性高血压、肾性高血压、颅内肿瘤、大血管性疾病等诊断步骤,最后综合临床症状、生化检查和肾上腺影像学得到明确的临床诊断,排除PPGL的诊断(图1)。本研究经患者知情同意,已获本院伦理委员会批准实施。



PPGL: pheochromocytoma and paraganglioma

图1 研究对象的纳入与排除

Fig. 1 Inclusion and exclusion of subjects

1.2 样本检测方法

所有研究对象抽血前2周内均未服用三环类抗抑郁药、抗精神病药、5-羟色胺再摄取剂、左旋多巴、去甲肾上腺素再摄取剂;抽血前日未服用咖啡、可乐等含有咖啡因的食物,禁食12 h后于前臂静脉埋置套管针,进行抽血;采集全血置于肝素化的试管中,立即分离血浆;或者放置在冰浴中,并须在2 h内于4℃条件下离心分离血浆,后立即冷藏保存。所有样本均采集于术前,当天送金域检验公司采用LC-MS/MS检测MN、NMN的质量浓度(正常值参考

区间 MN: 0~0.5 nmol/L; NMN: 0~0.9 nmol/L)。LC-MS/MS操作方法:血浆样本经过固相萃取前处理后^[12],采用ABSciexTripleQuad5500LC-MS/MS进行MN、NMN的检测。定量限均为0.08 nmol/L,线性范围分别是0.08~13.23、0.08~13.28,批内、批间精密密度均在5%以内,MN的加标回收率为91.0%~105.0%,NMN的加标回收率为93.8%~105.2%。同时为保证该项目检测结果的准确性,定期参与了澳洲RCPA组织的EQA项目。

1.3 数据收集

录入研究对象性别、年龄、身高、体质量、体质量指数(body mass index; BMI)、空腹血糖、糖基化血红蛋白、肝肾功能、甘油三酯、胆固醇、肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)(根据CKD-EPI公式计算)、血浆游离MNs、心电图、心脏彩超、肾上腺影像学(彩超、电子计算机断层扫描、磁共振成像)、抽血前服药情况、出院诊断。

1.4 统计学分析

采用SPSS25.0统计软件进行数据处理;正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)描述,非正态分布者则采用中位数(下四分位数~上四分位数) $M(P_{25} \sim P_{75})$ 描述,两组定量资料比较时,采用成组 t 检验,非正态分布的定量资料采用Mann-Whitney U 检验。正态分布样本不满足方差齐性时则采用校正 t 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。所有的统计检验均为双侧概率检验;以 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。应用单因素及多因素的Logistic回归分析计算OR及95%置信区间,探索影响血浆游离MNs测量的独立因素。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价诊断灵敏性和特异性。采用Medclae19.0.4比较不同ROC曲线下面积差异是否具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般情况

108例病理证实的PPGL患者和1523例诊断明确的非PPGL患者作为对照组最终入选本次研究。其中对照组患者,包括了原发性醛固酮增多症、库欣综合征、原发性高血压、肾上腺无功能腺瘤及肾上腺转移癌。一般情况如表1所示。两组的年龄、性别、肌酐、eGFR差异无统计学意义。

表1 研究对象的一般情况
Table 1 Patient characteristics

[n/n or M(P₂₅~P₇₅)]

Characteristics	Groups		Z/ χ^2	P
	PPGL(n=108)	Control(n=1 523)		
Gender(men/women)	55/53	769/754	0.008	0.931
Age/years	51.00(39.25~59.00)	49.00(37.00~58.00)	-0.986	0.324
BMI/(kg/m ²)	22.60(20.13~24.99)	24.81(22.42~27.30)	-5.869	<0.001
Diabetes(present/absent)	31/77	297/1226	5.316	0.021
Paroxysmal symptoms (present/absent)	28/80	53/1470	107.656	<0.001
Systolic blood pressure/mmHg	131.50(120.00~147.75)	142.00(128.00~159.00)	-4.206	<0.001
Diastolic blood pressure/mmHg	80.50(74.50~92.25)	85.00(77.00~97.00)	-2.416	0.016
Heart Rate/bpm	81.00(74.25~92.75)	81.00(73.00~91.00)	-1.129	0.259
Antihypertensive drugs(present/absent)	62/46	1 097/426	10.484	0.001
Fasting plasma glucose/(mmol/L)	6.00(5.00~7.18)	5.10(4.70~5.80)	-5.557	<0.001
Glycosylated hemoglobin/%	5.95(5.40~7.20)	5.60(5.20~6.10)	-3.478	0.001
Triglycerides/(mmol/L)	1.32(0.98~1.91)	1.39(1.03~1.96)	-0.863	0.388
Cholesterol/(mmol/L)	5.07(4.37~6.22)	4.81(4.16~5.61)	-2.505	0.012
Creatinine/(μ mol/L)	78.00(67.25~90.25)	80.00(67.00~95.00)	-1.085	0.278
eGFR/(ml/min)	88.15(72.34~101.70)	89.73(72.86~103.31)	-0.830	0.407
CO ₂ -CP/(mmol/L)	25.00(22.00~26.00)	25.00(23.00~27.00)	-0.653	0.513

PPGL: pheochromocytoma and paraganglioma; BMI: Body Mass Index; eGFR: Estimated glomerular filtration rate; CO₂-CP: Carbon dioxide combining power.

2.2 PPGL患者血浆MNs结果

PPGL组血浆游离MNs明显高于对照组,其差异具有统计学意义[MN 0.54(0.17~4.48) nmol/L vs. 0.15(0.11~0.21) nmol/L, $P < 0.001$, NMN 7.48(2.12~15.01) nmol/L vs. 0.32(0.22~0.46) nmol/L, $P < 0.001$]. PPGL组中22例副神经节瘤病人中12例表现为仅血浆NMN升高,6例血浆MN和NMN均升高,其余4例表现为生化沉默(本文中定义为2次及以上生化检测包括血浆游离MNs、24h尿香草扁桃酸、尿香草扁桃酸/肌酐等儿茶酚胺及其代谢物的检测均在正常范围内)。86例嗜铬细胞瘤中8例为血MN单项升高,44例血MNs均升高,32例血NMN

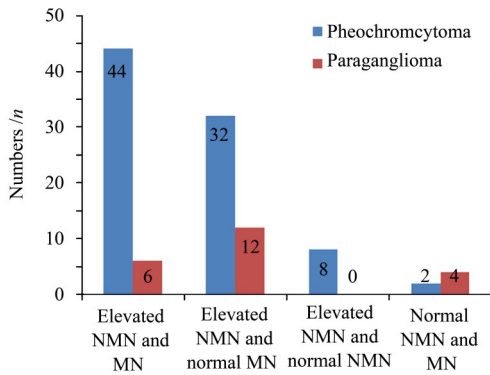
单项升高,2例生化沉默(图2)。

2.3 敏感性和特异性分析

目前临床上认为血浆MNs测量值超过参考值上限时即应高度怀疑PPGL。本实验分别选取正常值上限1、2、3、4倍,计算其灵敏性和特异性(表2)。当MNs大于三倍正常上限时,诊断的特异性100%,假阳性率为0。

2.4 假阳性结果分析

对照组1 532例患者中共50例出现假阳性结果,一般情况见表3,其MNs全部为轻度升高(1-3倍参考上限),并以NMN升高为主,其MN及NMN结果分别为0.20(0.14~0.33) nmol/L、1.05(0.96~



PPGL: pheochromocytoma and paraganglioma; MN: metanephrine; NMN: normetanephrine.

图2 副神经节瘤和嗜铬细胞瘤的儿茶酚胺分泌类型比例

Fig. 2 Catecholamine secretion types in PPGL

表2 MN和NMN的灵敏性和特异性
Table 2 Sensitivity and Specificity of MN and NMN for diagnosis of PPGL (%)

MNs/(nmol/L)	Sensitivity	Specificity
MN(>0.5, 1×ULN)	56.48	99.73
NMN(>0.9, 1×ULN)	87.04	96.91
MN(>1.0, 2×ULN)	45.37	100.00
NMN(>1.8, 2×ULN)	80.55	99.93
MN(>1.5, 3×ULN)	44.44	100.00
NMN(>2.7, 3×ULN)	73.15	100.00
MN(>2.0, 4×ULN)	38.89	100.00
NMN(>3.6, 4×ULN)	70.37	100.00

ULN: upper limit of normal value; MN: metanephrine; NMN: normetanephrine.

1.24) nmol/L。其中年龄在假阳性和真阴性两组比较,差异无统计意义($P=0.784$)。相较于假阴性组,假阳性组患者的血肌酐更高[93.00(77.45~119.50) $\mu\text{mol/L}$ vs. 80.00(67.00~95.00) $\mu\text{mol/L}$, $P<0.001$], eGFR 更低 [74.42 (51.04~96.96) mL/min vs. 88.51 (72.80~101.83) mL/min, $P=0.001$]。

在假阳性组中,34%(17/50)的患者 eGFR<60 mL/min,而仅13%(195/1473)的假阴性组患者 eGFR<60 mL/min。在212例 eGFR<60 mL/min的非PPGL患者中:假阳性率约8%,特异性为92.0%。将血浆MNs参考区间上限增加25%时,其特异性增加至96.7%;参考区间上限增加50%,特异性为98.6%。相较于1311例 eGFR>60 mL/min的患者,血浆NMN在 eGFR<60 mL/min的患者中更高[0.43

(0.30~0.60) mL/min vs. 0.31(0.22~0.44) mL/min, $P<0.001$],而MN在两组中差异无统计学意义[0.15(0.11~0.22) mL/min vs. 0.15(0.11~0.21) mL/min, $P=0.505$](supplement table)。

2.5 血浆MNs假阳性结果的多因素分析

在非PPGL患者的血浆MNs结果中,以是否发生假阳性结果(是=“1”,否=“0”)为因变量,纳入年龄、性别、BMI、血肌酐值、eGFR、空腹血糖、糖基化血红蛋白、胆固醇、甘油三酯、收缩压、舒张压、心率、术前是否使用降压药物及临床表现是否为阵发性为自变量分别进行单因素 Logistic 回归分析,血肌酐(OR=1.003, $P=0.001$)、eGFR(OR=0.980, $P<0.001$)、胆固醇(OR=1.190, $P=0.034$)、收缩压(OR=1.024, $P<0.001$)、舒张压(OR=1.004, $P=0.058$)及临床表现是否为阵发性(OR=7.129, $P<0.001$)的 P 值较小($P<0.10$)。将上述 P 值较小者纳入多因素回归模型,结果显示(表4),患者临床表现为阵发性症状、eGFR降低、收缩压高及胆固醇高是血浆MNs在非PPGL患者中出现假阳性结果的影响因素($P<0.05$)。

2.6 ROC曲线分析

图3A示血浆MN、NMN、MN联合NMN,其诊断PPGL的ROC曲线下面积及95%置信区间分别为0.800(0.743, 0.858)、0.959(0.932, 0.985)、0.970(0.944, 0.996)。MN与NMN、MN联合NMN的曲线下面积比较差异均具有统计学意义(P 分别为<0.001; <0.001)。而NMN与MN联合NMN的曲线下面积比较差异无统计学意义($P=0.06$)。MN的切点值取0.395 nmol/L时,诊断灵敏性为60.2%,特异性为97.8%。NMN切点值为1.105 nmol/L,诊断灵敏性为87.0%,特异性为98.7%。两者联合诊断时,最优灵敏性和特异性分别为91.7%、99.8%。结合eGFR分析后(图3B),血浆MN、NMN、MN联合NMN诊断PPGL的ROC曲线,其曲线下面积及95%置信区间分别为0.835(0.786, 0.884)、0.967(0.947, 0.987)、0.982(0.966, 0.998)。其中,MN、MN联合NMN纳入eGFR分析前后的曲线下面积相比,差异具有统计学意义(P 值分别为0.01、0.04)。然而,NMN纳入eGFR分析前后的曲线下面积比较差异并无统计学意义($P=0.06$)。对于嗜铬细胞瘤患者(如图3C),血浆MN、NMN、MN联合NMN,其诊断嗜铬细胞瘤的ROC曲线下面积及95%置信区间分别为0.848(0.792, 0.904)、0.967(0.941, 0.992)、0.983(0.960, 1.000)。根据ROC曲线,MN的切点值

表3 假阳性组和真阴性组的一般情况

Table 3 Patient characteristics of false-positive group and true-negative group in the non-PPGL patients

[n/n or M(P₂₅~P₇₅)]

Characteristics	Groups		Z/ χ^2	P
	¹⁾ False-positive(n=50)	²⁾ True-negative (n=1 473)		
Gender(men/women)	31/19	738/735	2.739	0.098
Age/years	47.50(35.75~59.25)	49.00(37.00~58.00)	-0.275	0.784
BMI/(kg/m ²)	24.79(23.16~27.42)	24.81(22.41~27.30)	-0.050	0.960
Diabetes(present/absent)	11/39	286/1 187	0.206	0.650
Paroxysmal symptoms (present/absent)	9/41	44/1 429	32.450	<0.001
Systolic blood pressure/mmHg	158.50(137.00~183.00)	141.00(128.00~158.00)	-4.279	<0.001
Diastolic blood pressure/mmHg	99.50(83.75~111.00)	85.00(77.00~96.00)	-4.669	<0.001
Heart Rate/bpm	87.00(77.50~102.00)	80.00(73.00~91.00)	-2.825	0.005
Antihypertensive drugs(present/absent)	42/8	1 055/418	3.677	0.055
Fasting plasma glucose/(mmol/L)	5.35(4.75~6.45)	5.10(4.70~5.70)	-1.392	0.164
Glycosylated hemoglobin/%	5.70(5.20~6.90)	5.60(5.20~6.10)	-0.804	0.421
Triglycerides/(mmol/L)	1.70(1.12~2.29)	1.38(1.02~1.94)	-1.922	0.055
Cholesterol/(mmol/L)	4.88(4.14~5.65)	4.80(4.16~5.59)	-0.142	0.887
Creatinine/(μ mol/L)	93.00(77.45~119.50)	80.00(67.00~95.00)	-3.616	<0.001
eGFR/(mL/min)	74.42(51.04~96.96)	88.51(72.80~101.83)	-3.299	0.001
CO ₂ -CP/(mmol/L)	25.00(21.50~26.50)	25.00(23.00~27.00)	-0.982	0.326
MN/(nmol/L)	0.20(0.14~0.33)	0.15(0.11~0.21)	-4.157	<0.001
NMN/(nmol/L)	1.05(0.96~1.24)	0.31(0.22~0.44)	-11.729	<0.001

PPGL: pheochromocytoma and paraganglioma; BMI: body mass index; eGFR: estimated glomerular filtration rate; CO₂-CP: carbon dioxide combining power; ¹⁾false positive group: Composition of patients with plasma MN and/or NMN values exceed the upper limit of normal value; ²⁾true negative group: Composition of patients with plasma MN and NMN values within the reference range.

表4 血浆MNs在非PPGL患者中出现假阳性结果的多因素Logistic回归分析

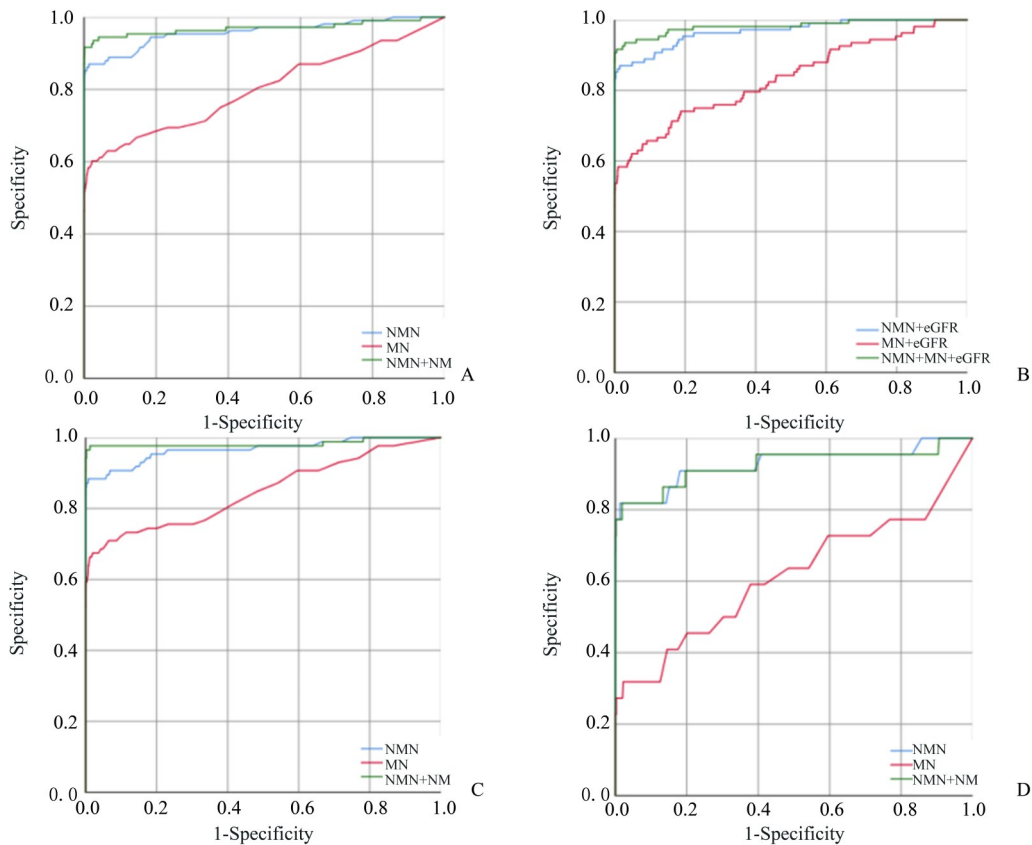
Table 4 Multivariate Logistic regression analysis of risk factors related with false-positive results of plasma MNs in non-PPGL patients

Variables	b	S _b	Wald χ^2	P	\widehat{OR}	OR 95%CI
Constant	-6.382	1.261	25.619	<0.001	—	—
Creatinine/(μ mol/L)	0.001	0.002	0.315	0.575	1.001	(0.998, 1.004)
eGFR/(mL/min)	-0.016	0.008	4.335	0.037	0.984	(0.970, 0.999)
Systolic blood pressure/mmHg	0.016	0.006	7.994	0.005	1.106	(1.005, 1.027)
Paroxysmal symptoms (present/absent)	2.175	0.430	25.536	<0.001	8.804	(3.787, 20.469)
Cholesterol/(mmol/L)	0.211	0.085	6.122	0.013	1.234	(1.045, 1.459)

PPGL: pheochromocytoma and paraganglioma; eGFR: estimated glomerular filtration rate.

为0.405 nmol/L, 最优诊断灵敏性67.4%, 特异性为98.0%。NMN切点值为1.245 nmol/L, 诊断灵敏性88.4%, 特异性为99.2%。两者联合诊断时, 最优灵

敏性和特异性分别为97.7%、98.8%。采用血浆MN、NMN、MN联合NMN分别诊断副神经节瘤时(如图3D), 其ROC曲线下面积及95%置信区间分



A showed ROC curves of plasma free NMN, MN and the combination of both for diagnosing PPGL. B showed ROC curves of plasma free MNs combining eGFR for diagnosing PPGL. C showed ROC curves of plasma free NMN, MN and the combination of both for diagnosing pheochromocytoma. D showed ROC curves of plasma free NMN, MN and the combination of both for diagnosing paraganglioma.

图3 血浆MN_s诊断PPGL的ROC曲线

Fig. 3 ROC curves of plasma free MNs for diagnosing PPGL

别为 0.615 (0.463, 0.767)、0.928 (0.848, 1.000)、0.925 (0.840, 1.000)。根据ROC曲线MN的切点值取 0.395 nmol/L, 诊断灵敏性 31.8%, 特异性为 97.8%。NMN切点值为 1.105 nmol/L时, 诊断灵敏性 81.8%, 特异性为 98.7%。两者联合诊断的最优灵敏性和特异性分别为 81.8%、98.1%。

3 讨论

嗜铬细胞瘤和副神经节瘤是阵发性或持续性分泌儿茶酚胺的肿瘤, 血尿儿茶酚胺及代谢产物是必不可少的诊断指标。多项研究表明血浆游离MN_s诊断PPGL具有较高的灵敏性和特异性^[5,13-14], 比尿游离MN_s、尿香草基杏仁酸和血儿茶酚胺更具有诊断优势, 而联合尿和血游离MN_s的检查灵敏性不会增加, 反而会减低特异性^[7,9,13,15-17]。因此, 血浆游离MN_s已经成为2021年NCCN临床实践指南及

2021年中国嗜铬细胞瘤和副神经节瘤诊断治疗专家共识推荐的首选^[11,18]。但实际应用上, 国内报道不多^[19-22], 大部分研究样本量较少, 并未分析临床上出现假阳性病例的原因。于是, 我们回顾性分析了本医院108例病理诊断的PPGL病例和1523例非PPGL病例的临床资料。结果表明, 本研究血浆MN_s诊断PPGL的灵敏性和特异性均较高, 当超过参考上限时即需高度怀疑PPGL, 其特异性接近100%, 超过正常上限3倍时, 几乎可以诊断为PPGL, 对于生化检测阴性且无影像学证据的患者可基本排除PPGL。其中, 血浆NMN的灵敏性、诊断能力均明显高于血浆MN, 在副神经节瘤患者中尤为显著。联合MN和NMN诊断价值更高, 其灵敏性和特异性分别为91.7%和99.8%。本研究的最佳切点也与参考上限大致相仿, 与其他研究结果相一致^[5,8-9,23]。结合eGFR分析后, 血浆游离MN_s的诊断能力进一步提高, 提示肾功能可能是影响其测量

的重要因素,与 Bokuda 等的研究结果一致^[24]。

血浆 MN 和 NMN 分别是肾上腺素和去甲肾上腺素的代谢产物。肾上腺素和去甲肾上腺素产生后经存储囊泡中渗漏到细胞质后,嗜铬组织细胞膜或 PPGL 肿瘤细胞膜上高浓度的儿茶酚-O-甲基转移酶(catechol-O-methyltransferase, COMT)将其代谢为游离 MN 和 NMN。其浓度可达到血浓度的 10 000 倍,而肿瘤细胞上的 COMT 水平明显高于正常的嗜铬组织,因此患者的血浆游离 MNs 主要来源于肿瘤细胞内的儿茶酚胺激素,这个过程是持续且独立的^[6,17]。所以相较于检测儿茶酚胺如肾上腺素及去甲肾上腺素,降低了由于交感神经兴奋引起的生理性升高导致的假阳性率;同时, MNs 在血浆中半衰期较长,血浆浓度波动较小,影响因素更少,因此可靠性优于肾上腺素和去甲肾上腺素。

本研究也发现,嗜铬细胞瘤和副神经节瘤分泌儿茶酚胺组分比例有较大差异,副神经节瘤约 55% 的患者以单纯分泌去甲肾上腺素,而嗜铬细胞瘤中一半同时分泌去甲肾上腺素和肾上腺素。这是由于发生在肾上腺的嗜铬细胞瘤附近有较高的皮质醇浓度,可提高甲基转移酶的活性,将去甲肾上腺素转化为肾上腺素,故 MN 水平较高,而副神经节瘤多起源于胸、腹、盆腔,该酶活性低,故以 NMN 升高为主^[6]。与文献报道中的分泌组分比例相一致^[14]。当然,还有人报道,基因突变类型也与肿瘤分泌的儿茶酚胺组分有关^[25]。

1 523 例对照组中共 50 例患者出现了假阳性结果,全部表现为轻度升高(1~3 倍参考值上限),并以 NMN 升高为主。2021 年中国嗜铬细胞瘤和副神经节瘤诊治专家共识中同样认为以 NMN 或 MN 单项升高 3 倍做判断标准则假阳性率降低,目前指南认为 NMN 或 MN 超过 1.5~2 倍参考上限时可提示 PPGL 诊断^[11,18]。本研究结果印证了该结论,对于血 MNs 轻度升高的患者(1~3 倍参考上限)需要排除影响检测的因素,联合多次多种其他生化检测和影像学检查避免误诊的发生。既往有研究证实不同实验室测量的方法,年龄,肾功能,体位变化,采血前服用药物情况,血样储存送检过程也会影响测量值的结果^[26-27]。本研究中出现血浆 MNs 异常升高的非 PPGL 患者,较 MNs 正常的非 PPGL 患者,其肌酐更高,eGFR 更低,而年龄在两组中并未表现出差异。在 eGFR<60 mL/min 的患者中,假阳性率明显升高,这提示肾功能是导致血浆 MNs 假性升高的因素之一;此外,详细分析这些患者的情况,发

现:其中 4 例病理确诊为皮质腺瘤,其病理免疫组化均有突触素表达阳性,具有髓质成分,既往有研究证实肾上腺皮质也可分泌儿茶酚胺,这些皮质腺瘤具有髓质特性的细胞是否分泌儿茶酚胺,还需要进一步研究;1 例假阳性为原醛患者,可能与交感神经激活,儿茶酚胺大量增加,进而导致血浆 MNs 升高^[28-29];另有 1 例为库欣综合征患者,有研究证实皮质醇可旁分泌上调髓质细胞儿茶酚胺的表达^[30]。其他一半以上为血压明显升高的原发性高血压患者,推测与患者精神紧张、或者采血未能严格按照卧位 30 min 后执行有关^[27]。单因素及多因素分析假阳性结果的影响因素,显示临床表现为阵发性症状、收缩压越高、eGFR 越小时,更易出现假阳性结果。这可能是由于血压偏高及有阵发性头痛、心悸、大汗等症状表现的患者可能长期存在交感神经的激活,儿茶酚胺分泌增加;而 eGFR 的水平可能通过影响血 MNs 的排泄影响其测量结果。

PPGL 组病人中也出现 6 例出现 MNs 两项均正常(6/108),其中 4 例为副神经节瘤,2 例为嗜铬细胞瘤。一些研究也表明 PPGL 出现类似情况,可能原因如下:肿瘤以分泌多巴胺为主;肿瘤表现为微小复发灶^[6,23];肿瘤不能将肾上腺素和去甲肾上腺素转化为 MNs;携带琥珀酸脱氢酶 B(succinate dehydrogenase complex iron sulfur subunit B, SDHB)基因突变,导致络氨酸羟化酶的缺失,影响儿茶酚胺的合成过程,可能表现为生化沉默^[31],即无过量儿茶酚胺的分泌。这些结果提示,临床上高度怀疑 PPGL,而生化正常时,需要联合检测包括肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺及 MNs、3-甲氧基酪胺、高香草酸、香草扁桃酸等多种激素及代谢产物,并定期随访监测。

本研究纳入样本量较大,也采用了国际上公认的检测方法(LC-MS/MS)检测血浆游离 MNs,检测公司也具备国际认证的相关资质(supplement material),得到了国际的认证,检测结果具有较高的可靠性。本研究也是国内首次探讨肾功能对血浆 MNs 测量的影响,并分析了假阳性结果可能的影响因素,为 PPGL 临床诊治提供了有价值的参考意义,也推动 PPGL 生化检测技术的推广。作为一个单中心的回顾性研究,本研究也存在着以下不足之处:① PPGL 的发生与致病基因突变有关,也影响了 MNs 分泌种类和水平^[4,8],指南也推荐所有 PPGL 患者均应到有条件的正规实验室进行基因检测,本组 PPGL 病例进行了基因检测的例数较少,无法分析

基因突变与血浆 MNs 关系;② PPGL 还有单纯分泌多巴胺的类型,本研究中同时检测 3 甲基-甲氧酪胺(3-methoxytyramine, 3-MTY)例数少,因 3-MTY 是新近开展的项目,而本组多数病例在诊断时还没此项检测项目开展,后续我们将继续开展相应研究;③ 血浆游离 MNs 的测量还受采血体位、运输储存条件等其他因素的影响,但本中心一直按照 2008 年制定的统一的“高血压查因”诊治流程,包括标本送检的标准流程、在内分泌科住院病房完成、均送同一实验室使用相同方法检测,能最大限度保证标本检测前影响因素的干扰。当然,作为回顾性研究,病历资料中缺乏关于采血条件、运输和保存条件的详细记录,因此我们也不能完全排除存

在没有按照规范化流程采血送检的可能,不能排除诸如体位、精神紧张、温度等影响因素。

总之,本研究属于国内较大样本量的回顾性研究,再次在临床实践中证实了血浆游离 MN 和 NMN 在诊断 PPGL 中具有很高的可靠性,联合测定可进一步提高诊断灵敏性和特异性,是诊断 PPGL 首选指标。尽管如此,临床上仍需要关注假阳性的情况,特别是合并肾功能不全患者,它们通常都是正常上限 3 倍以内,对于 eGFR<60 mL/min 的患者,血 MNs 参考范围上限提高 25%~50% 可保证较高的特异性。未来需进一步探索根据肾功能调整的血 MNs 参考值范围。

参考文献

- [1] Stolk RF, Bakx C, Mulder J, et al. Is the excess cardiovascular morbidity in pheochromocytoma related to blood pressure or to catecholamines? [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(3): 1100-1106.
- [2] Komada H, Hirota Y, So A, et al. Insulin secretion and insulin sensitivity before and after surgical treatment of pheochromocytoma or paraganglioma [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(9): 3400-3405.
- [3] 刘鹭, 高莹, 张俊清, 等. 甲氧基肾上腺素类物质、3-甲氧酪胺及嗜铬粒蛋白 A 在 PPGL 诊断中的作用 [J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2021, (2): 96-99.
Liu L, Gao Y, Zhang JQ, et al. The role of metanephrines, 3-methoxytyramine and chromogranin A in the diagnosis of PPGL [J]. *Int J Endocrinol Metab*, 2021, (2): 96-99.
- [4] Koopman K, Gaal J, de Krijger RR. Pheochromocytomas and paragangliomas: new developments with regard to classification, genetics, and cell of origin [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(8): 1070.
- [5] Lenders JW, Karel P, Walther MM, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? [J]. *JAMA*, 2002, 287(11): 1427-1434.
- [6] van Berkel A, Lenders JW, Timmers HJ. Diagnosis of endocrine disease: biochemical diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma [J]. *Eur J Endocrinol*, 2014, 170(3): R109-119.
- [7] Eisenhofer G, Prejbisz A, Peitzsch M, et al. Biochemical diagnosis of chromaffin cell tumors in patients at high and low risk of disease: plasma versus urinary free or deconjugated o-methylated catecholamine metabolites [J]. *Clin Chem*, 2018, 64(11): 1646-1656.
- [8] Neumann HPH, Young WF Jr, Eng C. Pheochromocytoma and paraganglioma [J]. *N Engl J Med*. 2019, 381(6): 552-565.
- [9] 孙青凤, 郭宁宁, 关平, 等. 嗜铬细胞瘤患者肾上腺素和去甲肾上腺素和糖耐量异常的相关分析 [J]. *微创泌尿外科杂志*, 2021, (1): 31-34.
Sun QF, Guo NN, Guan P, et al. Correlation analysis of adrenaline, norepinephrine and impaired glucose tolerance in patients with pheochromocytoma [J]. *J Minim Invasive Urol*, 2021, (1): 31-34.
- [10] Chen Y, Xiao H, Zhou X, et al. Accuracy of plasma free metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma: a systematic review and meta-analysis [J]. *Endocr Pract*, 2017, 23(10): 1169-1177.
- [11] Shah MH, Goldner WS, Benson AB, et al. NCCN Guidelines insights: neuroendocrine and adrenal tumors, version 2.2021, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021, 19(7): 839-868.
- [12] Davies SL, Davison AS. Liquid chromatography tandem mass spectrometry for plasma metadrenalines [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 495: 512-521.
- [13] Peitzsch M, Butch ER, Lovorn E, et al. Biochemical testing for neuroblastoma using plasma free 3-O-methyldopa, 3-methoxytyramine, and normetanephrine [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2020, 67(2): e28081.
- [14] Eisenhofer G, Peitzsch M. Laboratory evaluation of

- pheochromocytoma and paraganglioma [J]. *Clin Chem*, 2014, 60(12): 1486–1499.
- [15] Olson SW, Yoon S, Baker T, et al. Longitudinal plasma metanephrines preceding pheochromocytoma diagnosis: a retrospective case-control serum repository study[J]. *Eur J Endocrinol*, 2016, 174(3): 289–295.
- [16] Weismann D, Peitzsch M, Raida A, et al. Measurements of plasma metanephrines by immunoassay vs liquid chromatography with tandem mass spectrometry for diagnosis of pheochromocytoma[J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 172(3): 251–260.
- [17] Eisenhofer G, Lenders JWM. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma, a rediscovered catecholamine-metabolizing tumor[J]. *Clin Chem*, 2018, 64(12): 1780–1781.
- [18] 嗜铬细胞瘤和副神经节瘤诊断治疗专家共识(2020版)[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2020, (9): 737–750.
Expert consensus on the diagnosis and treatment of pheochromocytoma and paraganglioma (2020 edition) [J]. *Chin J Endocrinol Metab*, 2020, (9): 737–750.
- [19] 高云朝, 陆汉魁, 罗全勇, 等. 血浆游离甲氧基肾上腺素水平在诊断嗜铬细胞瘤中的价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2009, (5): 535–537.
Gao YC, Lu HK, Luo QY, et al. The value of plasma free metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma[J]. *Chin J Lab Med*, 2009, (5): 535–537.
- [20] 赵海鹰, 王浩, 崔淑娟, 等. 血浆游离3甲氧基去甲肾上腺素和3甲氧基肾上腺素在嗜铬细胞瘤诊断中的意义[J]. *中华高血压杂志*, 2013, (11): 1057–1060.
Zhao HY, Wang H, Cui SX, et al. Significance of plasma free 3-normetanephrine and 3-metanephrine in the diagnosis of pheochromocytoma[J]. *Chin J Hypertens*, 2013, (11): 1057–1060.
- [21] 苏颀为, 王卫庆, 周薇薇, 等. 血浆甲氧基肾上腺素和甲氧基去甲肾上腺素诊断嗜铬组织来源肿瘤的意义[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2010, (5): 489–492.
Su TW, Wang WQ, Zhou WW, et al. Significance of plasma normetanephrine and metanephrine in the diagnosis of chromaffin tissue-derived tumors[J]. *J Shanghai Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2010, (5): 489–492.
- [22] 左明. 随机尿和血浆游离型甲氧基肾上腺素类物质对PPGLs的诊断和预后评估[D]. 重庆医科大学, 2016.
Zuo M. Diagnosis and prognostic evaluation of random urine and plasma free metanephrines for PPGLs [D]. Chongqing Med Univ, 2016.
- [23] Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, et al. A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(2): 553–558.
- [24] Bokuda K, Yatabe M, Seki Y, et al. Clinical factors affecting spot urine fractionated metanephrines in patients suspected pheochromocytoma/paraganglioma [J]. *Hypertens Res*, 2020, 43(6): 543–549.
- [25] Eisenhofer G, Lenders JW, Timmers H, et al. Measurements of plasma methoxytyramine, normetanephrine, and metanephrine as discriminators of different hereditary forms of pheochromocytoma [J]. *Clin Chem*, 2011, 57(3): 411–420.
- [26] Pamporaki C, Bursztyn M, Reimann M, et al. Seasonal variation in plasma free normetanephrine concentrations: implications for biochemical diagnosis of pheochromocytoma[J]. *Eur J Endocrinol*, 2014, 170(3): 349–357.
- [27] Casey R, Griffin TP, Wall D, et al. Screening for pheochromocytoma and paraganglioma: impact of using supine reference intervals for plasma metanephrines with samples collected from fasted/seated patients [J]. *Ann Clin Biochem*, 2017, 54(1): 170–173.
- [28] Eisenhofer G, Goldstein DS, Walther MM, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: how to distinguish true- from false-positive test results [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(6): 2656–2666.
- [29] Grassi G, Seravalle G, Calhoun DA, et al. Cigarette smoking and the adrenergic nervous system [J]. *Clin Exp Hypertens A*, 1992, 14(1–2): 251–260.
- [30] Busceti CL, Ferese R, Bucci D, et al. Corticosterone upregulates gene and protein expression of catecholamine markers in organotypic brainstem cultures [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 2901.
- [31] Timmers HJ, Pacak K, Huynh TT, et al. Biochemically silent abdominal paragangliomas in patients with mutations in the succinate dehydrogenase subunit B gene [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(12): 4826–4832.