

血清肿瘤标志物联合检测 在早期原发性肝癌诊断的应用

曹国磊, 胡小云, 耿伟明, 陈泽玲 (深圳市人民医院 检验科, 广东 深圳 518020)

摘要: 目的 探讨血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、高尔基体蛋白73(golgi protein 73, GP73)、 α -L-岩藻糖苷酶(alpha-L-fucosidase, AFU)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)和糖类抗原(carbohydrate antigen 199, CA199)联合检测在早期原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)诊断中的应用。方法 选取2015年1月至2017年10月于深圳市人民医院经影像学、实验室以及病理学确诊的90例早期PLC患者为PLC组, 另选择同期于本院治疗的90例肝硬化患者为肝硬化组, 90例健康体检者为健康对照组。采集各研究对象清晨空腹静脉血5 ml, 采用酶联免疫法检测血清GP73, 采用罗氏e602电化学发光仪及其配套试剂检测血清AFP、CA199及CEA, 采用罗氏701全自动生化分析仪检测血清AFU, 评估上述指标单项及联合检测在早期PLC诊断的应用价值。结果 PLC患者血清AFP、GP73、AFU、CA199和CEA水平较肝硬化及健康体检者均显著升高(P 均 < 0.05)。血清AFP、GP73、AFU、CA199和CEA单项检测与5项联合检测在PLC诊断中特异性及阳性预测值的差异无统计学意义(P 均 > 0.05), 但单项指标的准确性、敏感性及阴性预测值均显著低于5项联合检测, 差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。结论 血清AFP、GP73、AFU、CA199及CEA联合检测可显著提高早期PLC的诊断率, 具有重要的临床指导价值。

关键词: 肿瘤标志物; 联合检测; 诊断; 原发性肝癌; 预后

Application of multiple serum tumor markers on the diagnosis of early primary liver cancer

CAO Guo-lei, HU Xiao-yun, GENG Wei-ming, CHEN Ze-ling (Department of Clinical Laboratory, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China)

Abstract: Objective To investigate the application value of combined detection of serum alpha-fetoprotein (AFP), golgi protein 73 (GP73), alpha-L-fucosidase (AFU), carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 199 (CA199) on the diagnosis of early primary liver cancer (PLC). **Methods** Total of 90 cases with early PLC confirmed by imaging examination, laboratory examination and pathological examination in Shenzhen People's Hospital from January 2015 to October 2017 were selected as PLC group. In addition, 90 patients with liver cirrhosis and 90 healthy controls were selected as cirrhosis group and healthy controls, respectively. Fasting venous blood (5 ml) of each subject were collected. Serum GP73 was detected by enzyme-linked immunosorbent assay; AFP, CA199 and CEA were detected by Roche 2010 electrochemiluminescence analyzer and matching reagent; serum AFU was detected by Hitachi 7600 automatic biochemical analyzer. The value of single and combined detection of the above indexes on the diagnosis of early PLC were evaluated. **Results** The levels of serum AFP, GP73, AFU, CA199 and CEA in patients with PLC were significantly higher than those in cirrhosis group and healthy controls ($P < 0.05$). The specificity and positive predictive value of single and combined detection of AFP, GP73, AFU, CA199 and CEA in the diagnosis of PLC had no statistically significant differences ($P < 0.05$). However, the accuracy, sensitivity and negative predictive value of single detection were significantly lower than those of combined detection, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Combined detection of serum AFP, GP73, AFU, CA199 and CEA can significantly improve the diagnostic rate of early PLC and has important clinical guiding value.

Key words: Tumor markers; Combined detection; Diagnosis; Primary liver cancer; Prognosis

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是世界范围内最常见恶性肿瘤之一,其发病率在消化系统恶性疾病中居第3位,仅次于胃癌及食管癌。PLC患者约占全球肝癌患者的55%,早期症状隐匿,临床漏诊率为30%~40%,绝大多数发现时已是中晚期^[1,2]。有数据显示,中国平均每年约11万人死于肝癌,占全球肝癌死亡人数的近45%,已严重危及国民生命健康^[3]。PLC病情进展快,临床治疗预后差,病死率高,早期诊断和治疗是延长患者存活时间的关键。目前临床主要通过影像学及血清肿瘤标志物诊断PLC,对于肿瘤体积较小的PLC,影像学检查漏诊率较高;甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是最常用的血清标志物,在肝癌早期诊断与疗效评估方面均有十分重要的作用,但仍有约30%的PLC患者AFP呈阴性,其临床特异性与敏感性不能满足现有需求^[4]。近年来,肿瘤标志物联合检测已逐渐应用于肿瘤的诊断,AFP与其他肿瘤标志物联合检测应用于恶性肿瘤疾病的诊断逐渐成为首选,对恶性肿瘤的发生、发展及预后具有重要作用^[5]。本文对血清AFP、高尔基体蛋白73(golgi protein 73, GP73)、 α -L-岩藻糖苷酶(alpha-L-fucosidase, AFU)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)和糖类抗原(carbohydrate antigen 199, CA199)联合检测在早期原发性肝癌诊断中的应用进行探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取深圳市人民医院2015年1月至2017年10月经影像学、实验室以及病理学确诊的90例早期PLC患者(按巴塞罗那分期标准为0期和A期)为PLC组,患者均为首次确诊,且此前未经任何治疗。另选择同期于本院治疗的90例肝硬化患者为肝硬化组,90例健康体检者为健康对照组。

1.2 诊断标准 PLC诊断标准:①临床表现:患者普遍存在食欲下降、肝区疼痛、餐后上腹饱胀、嗝气、恶心、消化不良以及下肢水肿、躯体消瘦乏力和发热等;②实验室检查,血清AFP > 200 ng/ml;③影像学:患者肝脏部位存在> 2 cm高血供实性包块物质;④病理学:肝脏占位病灶及肝外转移灶病理组织活检或手术切除组织病理检查均显示原发性肝癌,是临床诊断PLC的金标准。镜下多见梁索状排列,癌细胞为多边形,细胞质嗜酸性,细胞核呈圆形,也可见特殊的组织结构如假腺管结构^[6,7]。肝硬化的诊断依据《内科学》第7版中的相关标准:患者有肝功能不全和门脉高压表现,伴有蜘蛛痣、面色黧黑、男性乳房增大及肝掌等特征,临床肝功

能检查结果异常,超声、CT和磁共振等临床影像学检查均显示肝硬化,病理特征为存在肝细胞坏死、小叶结构塌陷、肝脏部分结构破坏以及弥漫性纤维化等。健康对照者应无肝、肾及心脑血管系统严重疾病,既往无肿瘤病史,各项实验室指标均无明显异常。

1.3 研究方法 所有患者均在治疗前采集清晨空腹静脉血5 ml,离心分离血清并置于-20℃冰箱待用。GP73采用酶联免疫法检测,试剂盒为美国Abcam公司生产;AFP、CA199及CEA采用罗氏e602电化学发光仪及其配套试剂进行检测;AFU通过罗氏701全自动生化分析仪进行测定。正常参考范围:AFP < 20 μ g/L、AFU < 40 U/L、GP73 < 80 μ g/L、CA199 < 39 U/ml、CEA < 5 μ g/L,高于此范围即为阳性,联合检测时任一项目符合阳性标准即为阳性^[8]。敏感性 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性),特异性 = 真阴性 / (假阳性 + 真阴性),阳性预测值 = 真阳性 / (真阳性 + 假阳性),阴性预测值 = 真阴性 / (真阴性 + 假阴性)。

1.4 统计学处理 采用SPSS 19.0统计软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析进行多组间比较,多组间两两比较采用TUKEY检验;计数资料以百分比表示,采用 χ^2 检验。通过ROC特征曲线分析血清AFP、GP73、AFU、CEA和CA199联合检测在PLC早期诊断中的价值。ROC特征曲线下面积(AUC) > 0.5且越趋近于1,表示临床诊断价值越高,0.5 < AUC < 0.7为准确性较低,0.7 < AUC < 0.9为具有一定准确性,AUC > 0.9表示准确性较高,AUC < 0.5说明该诊断方式准确性较差,无诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 PLC组中男性69例,女性21例,年龄29~71岁,平均(50.42 \pm 6.53)岁,其中78例为肝细胞型肝癌,10例为胆管细胞型肝癌,2例为混合型肝癌。肝硬化组中男性60例,女性30例,年龄38~71岁,平均(51.52 \pm 5.62)岁。健康对照组中男性60例,女性30例,年龄35~75岁,平均(50.42 \pm 6.62)岁。三组间年龄和性别差异无统计学意义($\chi^2 = 0.000$, $P = 1.000$; $t = 0.429$, $P = 0.617$)。

2.2 血清肿瘤标志物水平 与健康对照组相比,肝硬化组患者血清AFP、GP73和AFU水平显著升高,差异有统计学意义(t 值分别为24.495、11.613、17.716, P 均 < 0.001),两组血清CA199和CEA水平差异无统计学意义(t 值分别为0.924、1.851, P 值分别为0.357、0.066)。PLC组患者血清

AFP、GP73、AFU、CA199 和 CEA 水平均显著高于肝硬化组患者，差异有统计学意义（ t 值分别为 16.403、27.756、26.267、20.837、13.114， P 均 < 0.001 ），见表 1。

2.3 血清肿瘤标志物单项检测及联合检测在 PLC 诊断中的价值 血清 AFP、GP73、AFU、CA199 和 CEA 单项检测与 5 项指标联合检测在 PLC 诊断中特异性及阳性预测值的差异无统计学意义（ P 均 > 0.05 ），但单项检测的准确性、敏感性及阴性预测值均显著低于 5 项联合检测，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），见表 2。5 项血清指标联合检测的 ROC 曲线见图 1。

3 讨论

PLC 病因复杂，多与 HBV 感染、亚硝胺类物质、性激素、酒精、黄曲霉及肝硬化等因素密切相关^[9]。目前 PLC 治疗仍以外科手术切除病灶为首选，可快速有效清除原发灶和转移灶，初次肿瘤细胞减灭术的治疗效果及患者生存率逐年提高，但外科手术主要适用于中早期肝癌患者，对于初次就诊就已为晚期的肝癌患者，手术治疗往往难以达到预期效果，患者预后及五年生存率均不理想。因此，选择科学合理的指标在 PLC 的早期诊断中至关重要。

表 1 PLC 患者、肝硬化患者和健康对照血清 AFP、CA199 和 CEA 水平（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	AFP (μg/L)	GP73 (μg/L)	AFU (U/L)	CA199 (U/L)	CEA (μg/ml)
健康对照组 (n=90)	11.18 ± 9.63	50.52 ± 13.43	15.23 ± 4.03	23.65 ± 5.58	2.82 ± 1.18
肝硬化组 (n=90)	67.45 ± 19.55	91.36 ± 30.54	43.37 ± 14.52	24.47 ± 6.30	3.20 ± 1.55
PLC 组 (n=90)	698.95 ± 397.65	384.53 ± 113.37	224.63 ± 75.52	55.43 ± 13.35	17.53 ± 10.25
F 值	19.023	21.509	19.347	10.984	7.602
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001

注：PLC 组与健康对照组相比，AFP $t = 24.495$ ， $P < 0.001$ ；GP73 $t = 11.613$ ， $P < 0.001$ ；AFU $t = 17.716$ ， $P < 0.001$ ；CA199 $t = 0.924$ ， $P = 0.357$ ；CEA $t = 1.851$ ， $P = 0.066$ ；PLC 组与肝硬化组相比，AFP $t = 16.403$ ， $P < 0.001$ ；GP73 $t = 27.756$ ， $P < 0.001$ ；AFU $t = 26.267$ ， $P < 0.001$ ；CA199 $t = 20.837$ ， $P < 0.001$ ；CEA $t = 13.114$ ， $P < 0.001$

表 2 血清肿瘤标志物单项检测及联合检测在 PLC 诊断中的价值分析（%）

项目	准确性	特异性	敏感性	阳性预测值	阴性预测值
AFP	65.63	91.74	55.64	94.45	45.74
GP73	73.75	89.46	65.74	94.37	52.74
AFU	63.73	89.63	69.85	94.41	55.02
CA199	64.37	92.73	53.64	95.11	45.52
CEA	62.73	90.62	55.74	92.34	44.63
五项联合检测	94.53*	89.83	96.74*	95.37	90.68%*
χ^2 值	3.409	0.716	4.835	0.379	5.623
P 值	0.012	0.251	0.006	0.510	< 0.001

注：* 与单项血清 AFP、GP73、AFU、CA199 和 CEA 检测比较， P 均 < 0.05

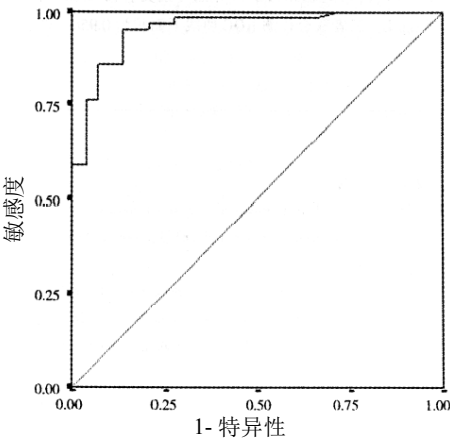


图 1 血清 AFP、GP73、AFU、CA199 和 CEA 联合检测的 ROC 曲线

肿瘤标志物是特异性存在于肿瘤细胞表面的分子,多种肿瘤标志物联合检测在恶性肿瘤的诊断鉴别、治效预测和预后评估均有较高的应用价值^[10]。血清AFP是目前临床公认的肝癌特异性诊断指标,其由癌细胞分泌生成,然后进入周围组织及血液循环,可敏感地反映患者肿瘤进展及治疗效果。肿瘤晚期、局部复发或向远端转移时,血清AFP水平越高,但AFP对早期、较小PLC诊断的敏感性欠佳^[11,12]。徐日等研究表明,单项血清AFP检测在PLC早期诊断中的敏感性仅为57.14%^[13],本研究中为55.64%,与上述观点基本一致,提示AFP单项检测的敏感性不足以满足临床需求。研究表明,慢性肝病患者的体内AFP表达可呈一过性升高,易出现假阳性,使其临床应用受到限制^[14]。

AFU是溶酶体酸性水解酶类,主要参与含岩藻糖基的糖脂和糖蛋白等的分解代谢,在人体肝、肺、胰腺和脑等组织中均有表达,在肝脏中的表达最高,其升高机制可能与肝癌发生发展过程中伴有蛋白质合成、AFU大量合成入血且伴有含岩藻糖基糖脂和糖蛋白代谢紊乱有关;另外,癌细胞能够抑制AFU活性,消减其底物水解能力,造成底物积聚,进而引起AFU代偿性异常升高^[15,16]。有研究表明,PLC患者肝组织中存在大量AFU,血清AFU异常升高,在PLC早期及肝硬化后期,血清AFU水平显著增加,常被作为肝癌诊断的非特异性指标^[17]。本研究表明,PLC患者血清AFU水平显著高于肝硬化患者和健康对照者,提示AFU水平异常升高在PLC诊断中具有一定提示作用,可作为诊断PLC的一项参考指标。

GP73是一种在高尔基体表达的跨膜糖蛋白,主要由正常肝组织中的胆管上皮细胞分泌,在肝细胞中几乎不表达,但在肝细胞癌变过程中,患者血清GP73水平显著升高^[18,19]。多项研究已证实,GP73高表达普遍存在于肝癌患者中,并参与机体炎症反应、免疫调节及细胞黏附等过程,影响机体内蛋白质稳定性及分泌过程^[20]。本研究显示,肝硬化患者及PLC患者血清GP73水平均异常升高,且GP73在PLC诊断的敏感性为65.74%,提示GP73表达异常升高在PLC诊断中具有重要参考价值。

CEA是消化系统特有的一种抗原物质,虽对于肿瘤诊断的特异性不强,但对于观察肿瘤消长具有重要价值^[21]。CEA主要经消化系统代谢,正常在血清中含量较低,发生异常时可进入血液循环与淋巴循环,导致血清CEA水平升高^[22]。在大肠癌和胰腺癌等患者中CEA均有较高的阳性检出率,PLC患者

CEA的表达与癌细胞数量、转移及复发均密切相关^[23],提示CEA在PLC诊断中也具有一定的指导作用。

CA199是由消化系统肿瘤细胞分泌形成的一种低聚糖类抗原,健康人血清CA199水平极低,常被用于诊断及监测胆管细胞型肝癌^[24]。本研究中CA199诊断PLC的敏感性仅为53.64%,分析原因可能与胆管细胞型肝癌患者病例数较少有关。

研究表明,早期PLC患者血清AFP、GP73、AFU、CA199和CEA水平较肝硬化患者和健康对照者均显著升高,且单项指标在PLC诊断中的准确性、敏感性及阴性预测值均较低,而上述5项指标联合检测在PLC诊断中的准确性、敏感性及阴性预测值均达到90%以上,且特异性及阳性预测值均较高。提示血清AFP、GP73、AFU、CA199及CEA水平在PLC诊断中具有不同程度的参考价值,单项检测敏感性较低,可能存在较高的漏诊率,联合检测能够显著提升诊断率,降低漏诊率,与既往研究基本相符^[25,26]。综上所述,在早期PLC诊断中联合检测血清AFP、GP73、AFU、CA199及CEA可显著提高诊断率,具有重要的临床指导价值。

参考文献

- [1] 王述莲,呼建民,何光伦,等.血清肿瘤标志物联合血常规指标检测在原发性肝癌诊断中的应用研究[J].标记免疫分析与临床,2017,24(1):4-7.
- [2] 戚素银,孙泽林,戚晓渊,等.血清肿瘤标志物联合检测对早期肝癌诊断的临床价值[J].国际检验医学杂志,2017,38(8):1092-1094.
- [3] 左婷婷,郑荣寿,曾红梅,等.中国肝癌发病状况与趋势分析[J].中华肿瘤杂志,2015,37(9):691-696.
- [4] 王婧涵,李嘉,赵新颜,等.慢性乙型肝炎和乙型肝炎肝硬化及原发性肝癌血清肿瘤标志物的检测意义[J].临床和实验医学杂志,2013,12(21):1702-1705.
- [5] 吴凤霞.血清肿瘤标志物AFP、CK19、PEG10和IQGAP1在肝癌中表达的研究[D].开封:河南大学,2014.
- [6] 中国抗癌协会肝癌专业委员会,中华医学会肝病学会肝癌学组,中国抗癌协会病理专业委员会,等.原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015年版)[J].中华肝脏病杂志,2015,23(5):321-327.
- [7] 中国抗癌协会肝癌专业委员会,中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会,中华医学会肝病学会肝癌学组,等.原发性肝癌规范化病理诊断方案专家共识[J].中华肝脏病杂志,2011,19(4):254-256.
- [8] 杨森,赖钊,王学文,等.手术切除联合肝动脉化疗栓塞术后血清肿瘤标志物含量及肿瘤复发过程中干细胞特性的影响[J].海南医学院学报,2017,23(9):1244-1247.
- [9] 张素芬,王强,胡兰英,等.3种血清肿瘤标志物联合检测诊断肝癌的应用价值[J].国际检验医学杂志,2016,37(2):271-272.
- [10] 王虎明,巴彩霞,丽敏,等.血清肿瘤标志物检测对肝癌及转移患者的临床意义[J].标记免疫分析与临床,2016,23(8):881-884.
- [11] 张涛,秦晓峰,程根宏,等.肝癌血清蛋白质标志物的研究进展[J].中华肝脏病杂志,2015,23(2):158-160.
- [12] 朱波,肖亚雄,彭宇生,等.GPC3和AFP联合检测在原发性肝癌诊断

- 中的价值[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2016,8(2):110-112.
- [13] 徐日, 徐凤亮, 康从利, 等. 血清肿瘤标记物联合检测在原发性肝癌早期诊断中的研究与临床应用[J]. 中国医师进修杂志,2014,37(35):47-50.
- [14] 刘永伟, 吴向民. 血清AFP、CA199和CEA水平在肝癌诊断和预后中的作用[J]. 检验医学,2017,32(5):406-409.
- [15] 杨燕, 姚敏, 方淼, 等. 分子标志物监测肝细胞恶性转化及肝癌早期诊断[J]. 中华肝脏病杂志,2017,25(5):325-328.
- [16] 聂庆东, 黄鹤, 李艳君, 等. 血清AFP联合GP73在原发性肝癌的诊断中的意义[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2011,3(4):22-25.
- [17] 何肖敏, 黄坚. 肝纤维化血清学标志物研究新进展[J]. 中华肝脏病杂志,2015,23(11):874-877.
- [18] 王莉, 贾志凌, 刘畅, 等. 3种血清肿瘤标志物检测在原发性肝癌诊断中价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2013,27(8):759-761.
- [19] 王瑾. 肿瘤标志物AFP与CEA的联合检测在肝癌诊断中的临床价值[J]. 临床和实验医学杂志,2011,10(16):1258-1259.
- [20] 邓广博. AFP和高尔基体糖蛋白-73联合检测诊断原发性肝癌临床评价[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2014,6(4):68-70.
- [21] 刘源, 倪渐凤, 尹先哲, 等. 消癌平注射液对肝癌患者血清肿瘤标志物水平的影响[J]. 肿瘤药学,2017,7(1):83-86.
- [22] 张小南, 朱跃进, 卢祥珍, 等. 血清肿瘤标志物联合检测在原发性肝癌诊断中的临床价值[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(11):1492-1493,1496.
- [23] 李锦貌. 血清肿瘤标志物在原发性肝癌与转移性肝癌鉴别诊断中的意义[J]. 湖北民族学院学报(医学版),2015,32(1):21-23.
- [24] 庞敏红, 卢志红. 多项瘤标记物联合检测对原发性肝癌诊断的价值[J]. 海南医学院学报,2015,21(11):1581-1583.
- [25] 肖作汉, 孟冈, 王立志, 等. 血清4项肿瘤标志物联合检测在原发性肝癌诊断中的应用价值[J]. 实用癌症杂志,2015,30(3):345-347,351.
- [26] 李嘉妍, 宋金云, 王建芳, 等. AFP、CA19-9、CEA联合检测对原发性肝癌的早期诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志,2017,33(7):1291-1295.
- 收稿日期: 2018-04-17

曹国磊, 胡小云, 耿伟明, 等. 血清肿瘤标志物联合检测在早期原发性肝癌诊断的应用[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2018,10(4):12-16.

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊来稿有关著作权事项

《中国肝脏病杂志(电子版)》为国家卫生和计划生育委员会主管、人民卫生出版社有限公司主办的国家级医学科技期刊。为了保护作者和杂志的合法权益, 避免引起著作权纠纷, 根据《中华人民共和国著作权法》和相关法规及人民卫生出版社有限公司相关规定, 在本刊刊登文章的作者(著作权人)必须在文章刊登前签署《人民卫生出版社系列杂志论文著作权转让协议书》, 否则不能采用。特此声明。

本刊《人民卫生出版社系列杂志论文著作权转让协议书》, 请见 <http://zggbzz.j-ditan.com/Articles/Show.aspx?Mid=1012101108558051257&ID=2248> 下载专区栏目。

作者对来稿的真实性及科学性负责。依照《中华人民共和国著作权法》有关规定, 本刊可对来稿做文字修改、删节。凡有涉及原意的修改, 则提请作者考虑。修改稿逾期2个月不寄回者, 视作自动撤稿。

来稿一经接受刊登, 由作者亲笔签署《人民卫生出版社系列杂志论文著作权转让协议书》, 专有使用权即归人民卫生出版社有限公司所有; 人民卫生出版社有限公司有权以电子期刊等方式出版刊登该论文, 未经人民卫生出版社有限公司同意, 该论文的任何部分不得转载他处。

本刊编辑部