

联合检测 4 种肿瘤标志物对诊断原发性肝癌的意义^{*}

魏雪菲,徐佩,陈载融,郭万华(江苏省南京市鼓楼医院核医学科 210008)

【摘要】 目的 探讨血清甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、铁蛋白(FER)和 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)的联合检测在原发性肝癌(PHC)中的诊断价值。**方法** 选取鼓楼医院 2012 年 1 月至 2013 年 12 月住院患者 200 例,包括良性肝病组 87 例和 PHC 患者 113 例,并选择同期健康体检者 80 例为健康对照组,对其 AFP、AFP-L3 水平进行检测,同时检测标本中 FER 和 AFU 的水平,判断其之间的关系。**结果** PHC 患者 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 水平明显高于良性肝病组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。经 ROC 曲线分析,AFP 405.4 ng/mL、AFP-L3 36.6 ng/mL、FER 321.6 ng/mL 和 AFU 40.2 U/L 联合应用的临界值,敏感度可达 84%,特异度可达 82%,均高于单项指标诊断。**结论** 联合检测血清 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 在诊断 PHC 中有重要价值,可提高临床诊断准确性。

【关键词】 甲胎蛋白; 甲胎蛋白异质体 3; 血清铁蛋白; α -L-岩藻糖苷酶; 原发性肝癌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.24.001 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)24-3393-02

Value of combined detection of four tumor markers in the diagnosis of primary hepatic cancer^{*} WEI Xue-fei, XU Pei, CHEN Zai-rong, GUO Wan-hua (Department of Nuclear Medicine, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

【Abstract】 Objective To explore the value of combined detection of α -fetoprotein (AFP), AFP heteroplasmon 3 (AFP-L3), ferritin (FER) and α -L-fucosidase (AFU) in the diagnosis of primary hepatic cancer (PHC). **Methods** During Jan. 2012 and Dec. 2013, the levels of AFP, AFP-L3, FER and AFU were detected and compared among 87 cases with benign liver diseases (benign liver diseases group), 113 cases with PHC, and 80 healthy subjects (control group). Then, the diagnostic performance was analyzed. **Results** The levels of AFP, AFP-L3, FER and AFU were significantly increased in patients with PHC, compared with benign liver diseases group and control group ($P<0.05$). Analysis of receiver operating characteristic (ROC) curve indicated that the diagnostic sensitivity and specificity of combined detection of AFP, AFP-L3, FER and AFU were 84% and 82%, which were higher than single detection of these four parameters, when taking the cut-off values of 405.4 ng/mL, 36.6 ng/mL, 321.6 ng/mL and 40.2 U/L for each marker respectively. **Conclusion** Combined detection of AFP, AFP-L3, FER and AFU might be with important value for the diagnosis of PHC.

【Key words】 α -fetoprotein; α -fetoprotein heteroplasmon 3; ferritin; α -L-fucosidase; primary hepatic cancer

目前临床普遍开展的原发性肝癌(PHC)早期筛查方法主要为血清检测甲胎蛋白(AFP)浓度,但其具有较高的假阳性率,且敏感性和特异性均不够理想^[1-2]。因此临床迫切需要一种更加准确的方法对 PHC 进行早期诊断。近年来,有研究显示,甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)为肝细胞癌所特有,是监测 PHC 的一项特异性生物学标志物^[3];铁蛋白(FER)是肝实质性损伤的敏感指标^[4];PHC 患者 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)明显升高。因此本文对患者血清中 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 指标进行检测,探讨其联合检测对 PHC 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2012 年 1 月至 2013 年 12 月住院患者 200 例。其中病理诊断为良性肝病者(包括肝海绵状血管瘤、肝囊肿、肝细胞腺瘤、局灶性结节性增生等)87 例,男 48 例,女 39 例,年龄 43~69 岁,平均(63.2±6.7)岁;病理诊断为 PHC 者 113 例,男 63 例,女 50 例,年龄 39~71 岁,平均(56.3±8.6)岁,PHC 的诊断符合 2001 年 9 月全国肝癌学术

会议修订的 PHC 的临床诊断与分期标准^[5]。PHC 组的患者参考美国癌症研究委员会与国际抗癌联盟联合制定的病理学分期标准分为:肿瘤 I 期 45 例,肿瘤 II 期 35 例,肿瘤 III 期 33 例,癌细胞转移患者 34 例。健康对照组 80 例,为本院同期健康体检人群。

1.2 方法 患者晨起空腹抽取静脉血 3 mL,分离血清后 4℃保存待测,未能及时检测的置-20℃保存(保存时间小于 1 周)。AFP、FER 检测使用西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪及配套试剂;AFU 采用日立 7600 全自动生化分析仪检测,试剂由四川迈克生物科技股份有限公司提供;快速分离微量离心柱法 AFP-L3 检测试剂由北京热景生物技术有限公司提供。

1.3 评价标准 AFP 正常范围:0~10 ng/mL;AFP-L3 正常范围:<1 ng/mL 或 AFP-L3/AFP<10%;FER 正常范围:22~290 ng/mL;AFU 正常范围:0~33 U/L。超出正常范围上限即为阳性,否则为阴性。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171363)。

作者简介:魏雪菲,女,本科,技师,主要从事临床免疫的研究。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组标本血清 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 检测结果 PHC 患者血清 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 水平均较健康对照组有显著升高($P < 0.05$);良性肝病组患者与健康对照组相

比除 AFP 升高比较明显($P < 0.05$),AFP-L3、FER 和 AFU 水平较健康对照组无明显差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 PHC 组 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 与病理参数分析结果 肿瘤Ⅱ、Ⅲ期患者 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 均明显高于肿瘤Ⅰ期患者,癌细胞转移患者 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 均明显高于未转移患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组标本血清 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	AFP(ng/mL)	AFP-L3(ng/mL)	FER(ng/mL)	AFU(U/L)
PHC 组	113	405.42±256.19 ^a	36.61±13.35 ^a	321.55±139.18 ^a	40.18±21.60 ^a
良性肝病组	87	53.64±47.83 ^a	0.68±0.26 ^b	164.80±42.24 ^b	13.52±4.48 ^b
健康对照组	80	8.10±3.24	0.59±0.13	157.77±55.47	12.23±3.20

注:与健康对照组相比,^a $P < 0.05$,^b $P > 0.05$ 。

表 2 PHC 组 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 与病理参数分析($\bar{x} \pm s$)

病理分期		<i>n</i>	AFP(ng/mL)	AFP-L3(ng/mL)	FER(ng/mL)	AFU(U/L)
肿瘤分期	Ⅰ期	45	251.30±134.30	20.32±14.25	232.47±109.50	28.17±17.36
	Ⅱ期	35	437.60±142.10 ^a	34.85±12.34 ^a	301.61±132.43 ^a	33.28±14.54 ^a
	Ⅲ期	33	653.70±122.40 ^a	56.61±16.17 ^a	501.07±164.08 ^a	59.15±20.27 ^a
癌细胞转移	无	79	287.10±131.80	24.57±11.35	191.72±99.78	31.98±10.76
	有	34	675.20±142.50 ^b	57.35±13.45 ^b	521.63±145.70 ^b	57.75±24.52 ^b

注:与Ⅰ期相比,^a $P < 0.05$;与无转移相比,^b $P < 0.05$ 。

2.3 PHC 组 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 及四者联合检测的 ROC 曲线 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 的曲线下面积(AUC)分别为 0.855、0.892、0.775 和 0.774,而四者联合检测的 AUC 为 0.928,四者联合检测具有最好的诊断效能。

2.4 ROC 曲线确定 PHC 患者单项 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 检测与联合检测的敏感度、特异度和临界值 以 96%为最大特异度、96%为最大敏感度确定临界值,见表 3。在 84%敏感度和 82%特异度时确定联合应用的临床界值为 AFP 405.4 ng/mL、AFP-L3 36.6 ng/mL、FER 321.6 ng/mL 和 AFU 40.2 U/L 最佳。

表 3 PHC 患者 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 单项检测的评价结果

检测指标	临界值	敏感度(%)	特异度(%)
AFP	392.1 ng/mL	68	68
AFP-L3	38.5 ng/mL	70	67
FER	381.0 ng/mL	74	76
AFU	42.5 U/L	68	67

3 讨 论

AFP 是 PHC 患者最常用的血清肿瘤标志物,但有文献报道,早期 PHC 的 AFP 假阴性率可达 40%以上,进展期 PHC 的 AFP 假阴性率可达 15%~20%^[6]。因此,临床一般采用联合检测的方法。AFP-L3、FER 和 AFU 是近年来被深入研究的鉴别 PHC 的血清标志物。

由于 AFP-L3 只能来源于肿瘤细胞,因此测定甲胎蛋白异质体对于 PHC 的早期诊断具有重要价值。FER 是细胞内贮铁蛋白质,主要由肝脏合成,其升高机制可能为肝细胞受损导

致 FER 清除率下降,外周血 FER 水平升高。AFU 是一种溶酶体酸性水解酶,广泛存在于各种组织细胞和体液中,尤以肝、肾组织中的含量最高,肝细胞癌变时酶合成增加并释放入血,血清 AFU 水平升高。本研究显示,PHC 患者血清 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 浓度均较健康对照组有显著升高($P < 0.05$),且随着病情的发展,越晚期升高越明显,提示 AFP-L3、FER 和 AFU 可作为 AFP 低于 PHC 诊断临界值时的重要补充指标,为早期 PHC 诊断提供参考。

ROC 曲线是临床医学和流行病学领域常用的统计学方法,主要用于评价诊断的正确性及疾病的筛查效果,通常用 AUC 来评价 ROC 曲线,AUC 取值范围为 0.5~1.0,0.5 表示完全无诊断价值,1.0 为最理想。AUC 取值在 0.7 以下,临床价值很低,0.7~0.9 之间诊断价值中等,在 0.9 以上时诊断价值较高^[7]。本研究显示,单项检测时 AFP-L3 的曲线下面积最大,达 0.892,高于董怀平等^[8]报道的 0.845,可能与研究中患者数量与检测方法不同有关。采用逐步 Logistic 回归分析模型预测变量联合检测的 AUC 达到 0.928,高于各单项指标检测,同时标准误最低,为 0.033,表明四者联合检测诊断效能优于各单项指标检测,应用 AFP、AFP-L3、FER 和 AFU 联合检测有助于提高 PHC 的诊断敏感性和诊断准确率。

ROC 曲线截断点的选择,应使得灵敏度与特异度之和最大,误诊率与漏诊率之和最小,其所对应的标志物浓度为最佳截断点^[9]。本研究显示,当研究指标具有最大敏感度时特异度最低,其特异度最高时敏感度最低,因此单项检测时,选择 AFP 392.1 ng/mL、AFP-L3 38.5 ng/mL、FER 381.0 ng/mL 和 AFU 42.5 U/L 作为其最佳截断点,此时灵敏度与特异度之和最大。而联合检测时 AFP 405.4 ng/mL、AFP-L3 36.6 ng/mL、FER 321.6 ng/mL 和 AFU 40.2 U/L(下转第 3397 页)

份(0.99%),以及多种混合基因型 30 份,1b/2a、1b/3b、1b/3a 和 2a/3b 型分别占比 2.27%、1.56%、0.28% 和 0.14%,这可能与检测方法灵敏有关,同时也说明江苏地区的 HCV 基因型分布既有和全国相一致的特征,又有其自身特点,与以往研究相比基因型种类在增多,基因型更加多样和复杂。本研究检出的 1a 型、1b/3a 型和 2a/3b 型在江苏地区较为罕见,3 型比例呈上升趋势,3 型和 6 型在我国华南、西南和港澳地区较为普遍,也是静脉吸毒人群的主要流行基因型,说明静脉吸毒人群所流行的 HCV 基因型正在向普通人群扩散^[5]。本研究中慢性丙肝患者男性多于女性,年龄以小于 50 岁的青、中年居多,提示现代社会中青年人流动增加、社会活动复杂性增加、HCV 传播方式呈现多元化等多种因素导致了江苏地区基因型的多样化和复杂化。

HCV RNA 含量反映了病毒复制的活跃程度和患者的病程变化,是衡量抗病毒疗效的病毒学应答指标,而基因分型检测在决定疗程方面有特殊价值,因此监测 HCV 基因型和血清病毒载量对慢性丙肝治疗有重要的临床意义。对不同基因型病毒载量取对数值进行两两均数间比较,显示 1b 和 2a 之间,1b 和 1b/2a 之间,3a 和 2a 之间,3a 和 1b/2a 之间,差异均有统计学意义($P<0.05$),1b 型病毒载量明显高于 2a 基因型和 1b/2a 混合基因型的病毒载量。聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林是目前慢性丙肝抗病毒治疗的标准方案。从我国流行的基因型 1b 和 2a 来看,1b 基因型属于难治型,对干扰素的应答率低,易复发,疗程长,而基因 2a 型对干扰素的应答好,复发率低,抗病毒疗效理想。基因 1b 型的病毒含量水平明显高于 2a 型,这可能是基因 1b 型患者对干扰素应答不良的原因之一^[6]。

本研究通过对 704 例江苏地区慢性丙肝患者 HCV 进行基因分型发现,目前江苏地区 HCV 分型呈多样化,以 1b 型占主导地位,其次是 2a、3b 型等多种单基因型,并且存在多种混合基因型。HCV 基因型和血清病毒载量之间存在相关性,1b 型和 3a 型病毒载量明显高于 2a 型和 1b/2a 混合基因型。HCV 基因型与 HCV RNA 载量是影响抗病毒疗效的最重要的指标^[7]。将继续深入研究,以期对本地区 HCV 的治疗策略

提供帮助。

参考文献

- [1] Xia X, Luo J, Bai JL, et al. Epidemiology of hepatitis C virus infection among injection drug users in China: systematic review and meta-analysis [J]. Public Health, 2008, 122(10):990-1003.
- [2] Fu Y, Wang Y, Xia W, et al. New trends of HCV infection in China revealed by genetic analysis of viral sequences determined from first time volunteer blood donors [J]. J Viral Hepat, 2011, 18(1):42-52.
- [3] 饶慧瑛,李洪,魏来,等.中国汉族人群慢性丙型肝炎患者病毒基因型和传播高危因素的演变[C].中华医学会第十六次全国病毒性肝炎及肝病学术会议论文汇编,2013, 267.
- [4] Zhang CY, Wu NN, Liu J, et al. HCV subtype characterization among injection drug users; implication for a crucial role of Zhenjiang in HCV transmission in China [J]. PLoS One, 2011, 6(2):e16817.
- [5] Xia XS, Lu L, Tee KK, et al. The unique HCV genotype distribution and the discovery of a novel subtype 6u among IDUs co-infected with HIV-1 in Yunnan, China [J]. J Med Virol, 2008, 80(7):1142-1152.
- [6] Dieterich DT, Rizzetto M, Manns MP. Management of chronic hepatitis C patients who have relapsed or not responded to pegylated interferon alpha plus ribavirin [J]. J Viral Hepat, 2009, 16(12):833-843.
- [7] Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence [J]. Hepatology, 2013, 57(4):1333-1342.

(收稿日期:2014-04-14 修回日期:2014-07-25)

(上接第 3394 页)

时,其检测的敏感度可达 84%,特异度可达 82%,均高于各单项检测,但与文献^[8,10]报道的临界值有一定的差异,可能与本实验测量误差及研究例数不足有关,有待于完善实验方法进一步研究。

综上所述,联合检测为 PHC 的早期诊断提供了参考,但还需结合病理、CT 等结果综合考虑,提高准确率。

参考文献

- [1] Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y, et al. Prognostic value of pretreatment levels of tumor markers for hepatocellular carcinoma on survival after curative treatment of patients with HCC [J]. J Hepatol, 2008, 49(2):223-232.
- [2] Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, et al. AFP, AFP-L3, DCP, and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of HCC [J]. J Gastroenterol, 2010, 45(12):1272-1282.
- [3] 韩鹏,褚瑞海,张彩彩,等. AFP-L3 在肝细胞癌诊断中的临床价值 [J]. 中国现代医药杂志, 2012, 14(2):26-27.
- [4] 原永明,张菁,周雪颖,等. 肝癌患者血清铁含量检测的临

床意义 [J]. 检验医学, 2013, 28(6):534-535.

- [5] 杨秉辉,夏景林. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准 [J]. 肿瘤防治研究, 2002, 9(1):83.
- [6] 李润青,姜菲菲,赵秀英,等. Logistic 回归及 ROC 曲线综合评价 AFP、AFU、VEGF 联合检测对原发性肝癌的诊断价值 [J]. 北京医学, 2010, 32(12):961-964.
- [7] 范海燕,孟凡云,章阳,等. 应用 ROC 曲线分析评价肿瘤标志物糖类抗原 15-3、癌胚抗原在乳腺癌诊断与术后监测中的价值 [J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2010, 4(6):676-682.
- [8] 董怀平,王力,赵歧刚,等. AFU、AFP-L3、HCY 联合检测对原发性肝癌早期诊断临床价值的研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(6):573-576.
- [9] 刘磊,刘彬,朱莉莉,等. 肺鳞癌患者血清 CYFRA21-1 和 SCC 检测及 ROC 曲线和截断点的理论分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(4):280-283.
- [10] 王健,张慧,吴月平. 多指标联合检测对原发性肝癌的诊断价值分析 [J]. 检验医学与临床, 2013, 10(11):1379-1380.

(收稿日期:2014-03-25 修回日期:2014-06-26)