

壳多糖酶3样蛋白1与甲胎蛋白在肝细胞癌诊断中的比较*

张巧娣, 谢而付, 凌芸, 刘雁雁, 杨瑞霞, 徐华国

(南京医科大学第一附属医院检验学部, 南京 210029)

摘要:目的 比较壳多糖酶3样蛋白1(chitinase 3-like 1, CHI3L1)和甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)对肝细胞癌(HCC)的诊断的差异。方法 选取南京医科大学第一附属医院2015年12月份~2016年4月份收治入院且经病理学证实HCC患者100例,同时按性别和年龄配对选择慢性乙型肝炎患者100例和健康体检者59例作为对照组,分别检测HCC组、慢性乙型肝炎组和健康体检者的血清CHI3L1和AFP,使用STATA 12.0统计学软件,各组之间血清CHI3L1和AFP是否存在差异分别使用Kruskal-Wallis H检验和Mann-Whitney U检验,同时使用MedCal Ver 15.2.2软件的诊断效能分析比较CHI3L1和AFP对HCC的诊断价值。结果 多组之间血清CHI3L1水平存在显著差异($\chi^2 = 93.19, P = 0.000$),进一步进行两两比较,结果显示HCC组血清CHI3L1均显著高于慢性乙型肝炎组和健康体检组(P 值均为0.000, z 值分别为8.766和7.400);多组之间血清AFP水平存在显著差异($\chi^2 = 147.54, P = 0.000$),HCC组血清AFP均显著高于慢性乙型肝炎组和健康体检组($z = 10.938, 9.033$; P 值均为0.000);将HCC与慢性乙型肝炎组的CHI3L1和AFP做ROC曲线,CHI3L1的AUC为0.859(95%可信区间:0.803~0.904),临界值为76.8 pg/ml,敏感度和特异度分别为85%和79%;AFP的AUC为0.948(95%可信区间:0.904~0.974),临界值为7.6 ng/ml,敏感度和特异度分别为85%和98%,AFP的诊断效能优于CHI3L1($P = 0.006$);HCC与健康对照组之间ROC曲线结果比较,CHI3L1的AUC为0.852(95%可信区间:0.787~0.903),临界值为76.8 pg/ml,敏感度和特异度分别为85%和76%;AFP的AUC为0.929(95%可信区间:0.878~0.964),临界值为7.8 ng/ml,敏感度和特异度分别为84%和100%;AFP的诊断效能也优于CHI3L1,差异有统计学意义($P = 0.045$)。结论 CHI3L1和AFP对HCC均具有很高的诊断效能,但AFP的诊断效能优于CHI3L1。

关键词:壳多糖酶3样蛋白1;甲胎蛋白;肝细胞癌;慢性乙型肝炎;诊断价值

中图分类号:R735.7;R730.43 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)01-045-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.01.013

Comparative Diagnostic Value of Chitinase 3-Like 1 Protein and AFP in the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma

ZHANG Qiao-di, XIE Er-fu, LING Yun, LIU Yan-yan, YANG Rui-xia, XU Hua-guo

(Department of Laboratory Medicine,

the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

Abstract: Objective To investigate the different diagnostic value of serum Chitinase 3-like 1 protein(CHI3L1) and Alpha-fetoprotein(AFP) in diagnosing hepatocellular carcinoma (HCC). Methods One hundreds HCC patients confirmed by histopathology were recruited between December, 2015 to April, 2016 from the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University. Simultaneously, 100 patients with chronic hepatitis B and 59 healthy individuals, matched by sex and age with HCC patients, were recruited as control groups. Serum CHI3L1 and AFP were measured in different groups and the difference were analyzed by STATA 12.0 Statistical software. The ability of these two items in differentiating different group was analyzing by ROC curve using MedCal Ver 15.2.2 software. Results Serum CHI3L1 were significantly differences in the three groups using Kruskal-Wallis analysis ($\chi^2 = 93.19, P = 0.000$), the differences were further compared in different two groups using Mann-Whitney analysis. The results showed that serum CHI3L1 in HCC group were significantly higher than in chronic hepatitis B and healthy control group ($P = 0.000, z = 8.766, 7.400$). Serum AFP were significantly differences in the three groups using Kruskal-Wallis analysis ($\chi^2 = 147.54, P = 0.000$), and the differences were further compared in different two groups using Mann-Whitney analysis. The results showed that serum AFP in HCC group were significantly higher than in chronic hepatitis B and healthy control group ($P = 0.000, z = 10.938, 9.033$). The ROC curve analysis of serum CHI3L1 and AFP for differentiating HCC group from CHB group showed that CHI3L1 yield AUC of 0.859 (95% CI: 0.803~0.904) with 85% sensitivity, 79% specificity and 76.8 pg/ml cut-off value, AFP yield AUC of 0.948 (95% CI: 0.904~0.974) with 85% sensitivity, 98% specificity and 7.6 ng/ml cut-off value, in distinguishing HCC with CHB group, the power of AFP

* 基金项目:江苏省实验诊断学重点实验室基金(XK201114);江苏高校优势学科建设工程资助项目。

作者简介:张巧娣(1970-),女,本科,副主任技师,主要从事免疫学研究与临床工作, E-mail:kiddy1010@sohu.com。

通讯作者:谢而付, E-mail:xieerfu791010@163.com。

was superior to that of CHI3L1 ($P=0.006$). The ROC curve analysis of serum CHI3L1 and AFP for differentiating HCC group from healthy individuals group showed that CHI3L1 yield AUC of 0.852 (95% CI: 0.787~0.903) with 85% sensitivity, 76% specificity and 76.8 pg/ml cut-off value, AFP yield AUC of 0.929 (95% CI: 0.878~0.964) with 84% sensitivity, 100% specificity and 7.8 ng/ml cut-off value, in distinguishing HCC with healthy individuals group, the power of AFP was also superior to that of CHI3L1 ($P=0.045$). **Conclusion** Serum CHI3L1 similar to AFP has much power ability to diagnosis HCC, but AFP was superior to CHI3L1.

Keywords: chitinase 3-like 1 protein; alpha-fetoprotein; hepatocellular carcinoma; chronic hepatitis B; diagnostic value

壳多糖酶 3 样蛋白 1 (chitinase 3-like 1, CHI3L1), 又名几丁质酶 3 样蛋白 1, 该蛋白属于哺乳动物几丁质酶样蛋白家族^[1]。许多研究表明多种细胞可以表达分泌 CHI3L1, 如巨噬细胞、中性粒细胞、软骨细胞、成纤维细胞、肿瘤细胞、呼吸道上皮细胞。研究证实 CHI3L1 能够参与炎症、细胞增殖和分化、保护细胞凋亡、促进血管生成及细胞外基质重构等病理过程^[2]。在临床上有广泛的应用前景。

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是常见的消化系统肿瘤之一, 其具有发病率高、恶性程度高、侵袭力强、早期发现困难等特点, 多数患者被诊断出时已处于中晚期, 预后不佳^[3]。目前, 实验室对筛查 HCC 主要使用血清甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP), 然而有报道显示该指标敏感度和阳性预测值均偏低, 不是一个良好的筛选试验指标^[4], 需结合超声技术才可以达到早期诊断^[5]。有研究报道 CHI3L1 在 HCC 患者肝癌组织中增高^[6], 并可以作为 HCC 预后的评估指标^[7]。因此, 本研究通过分别检测健康体检者、慢性乙型肝炎和 HCC 患者血清 CHI3L1 和 AFP 水平, 比较 CHI3L1 和 AFP 用于 HCC 诊断效能是否存在差异。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取我院 2015 年 12 月份~2016 年 4 月份收治入院 HCC 患者 100 例, 其中男性 81 例, 女性 19 例, 年龄 31~87 岁, 中位年龄 59 岁, 所有患者均符合 HCC 诊断标准且经病理学证实。选取同期性别和年龄匹配的慢性乙型肝炎患者 100 例和健康体检者 59 例。

1.2 仪器与试剂 血清 CHI3L1 定量检测使用杭州普望生物技术有限公司生产的 ELISA 试剂盒, 严格按照试剂盒说明书进行操作检测。ELISA 检测结果判读使用 Thermo Multiskan FC 酶标仪。血清 AFP 检测使用罗氏 Cobas e 602 电化学发光仪以及配套试剂和校准品, 质控物使用 BIO-RAD 公司产品, 批号为 54560。

1.3 方法 所有 HCC 患者、慢性乙型肝炎患者和健康对照均抽取清晨空腹静脉血, 放入真空干燥采血管中, 3 000 r/min 离心 5 min, 分离血清后进

行检测。CHI3L1 检测过程中操作均按照仪器和试剂厂家的说明书进行, 每次检测均使用试剂厂家提供标准品和质控品, 标准品每次使用前当天复溶, 质控品和待测样本同步在酶标板进行检测, 质控在控为本次检测结果有效。AFP 采用罗氏公司配套的试剂进行检测, 测定过程严格按照试剂盒和仪器操作说明书进行。

1.4 统计学分析 统计学处理采用 STATA 12.0 软件进行处理, 两组样本间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义, 不同指标的诊断效能比较, 使用 MedCal Ver 15.2.2 进行诊断效能分析, 并绘制 ROC 曲线。

2 结果

2.1 HCC 组、慢性乙型肝炎组和健康对照组 CHI3L1、AFP 的比较 见表 1。对 HCC 组、慢性乙型肝炎组和健康对照组的 CHI3L1 结果进行 Kruskal-Wallis H 检验, 结果显示差异有统计学意义 ($\chi^2=93.19$, P 值为 0.00), 进一步采用 Mann-Whitney U 检验进行两两比较, 显示 HCC 组显著高于慢性乙型肝炎组和健康对照组, 差异有统计学意义 ($z=8.766, 7.400$, 均 $P=0.000$), 而慢性乙型肝炎组和健康对照组差异无统计学意义 ($P=0.670, z=-0.426$)。

表 1 HCC 组、慢性乙型肝炎组和健康对照组 CHI3L1 和 AFP 浓度比较 [中位浓度 (范围)]

组别	<i>n</i>	CHI3L1 (pg/ml)	AFP (ng/ml)
健康对照组	59	53.5 (15.5~275.4)	3.3 (1.4~8.4)
慢性乙型肝炎组	100	48.8 (23.5~666.7)	3.6 (0.9~19.2)
HCC 组	100	160.5 (18.5~1 487.5)	190.4 (1.3~121 000)

对 HCC 组、慢性乙型肝炎组和健康对照组的 AFP 结果进行 Kruskal-Wallis H 检验, 结果显示差异有统计学意义 ($\chi^2=147.54$, P 值为 0.00)。进一步采用 Mann-Whitney U 检验进行两两比较, 显示 HCC 组显著高于慢性乙型肝炎组和健康对照组, 差异有统计学意义 ($z=10.938, 9.033$, 均 $P=0.00$), 而慢性乙型肝炎组高于健康对照组, 差异有统计学意义 (P 值=0.00, z 值=-3.369)。

2.2 血清 CHI3L1 和 AFP 在 HCC 与慢性乙型肝炎

炎之间的鉴别效能比较 见图1。为了评估血清 CHI3L1 和 AFP 两个指标对 HCC 与慢性乙型肝炎的鉴别效能,将 HCC 与慢性乙型肝炎组的 CHI3L1 和 AFP 浓度做 ROC 曲线。CHI3L1 的 ROC 曲线结果显示:AUC 为 0.859(95%可信区间:0.803~0.904),临界值为 76.8 pg/ml,敏感度和特异度分别为 85%和 79%;AFP 的 ROC 曲线结果显示:AUC 为 0.948(95%可信区间:0.904~0.974),临界值为 7.6 ng/ml,敏感度和特异度分别为 85%和 98%;AFP 优于 CHI3L1 ($P=0.006$)。

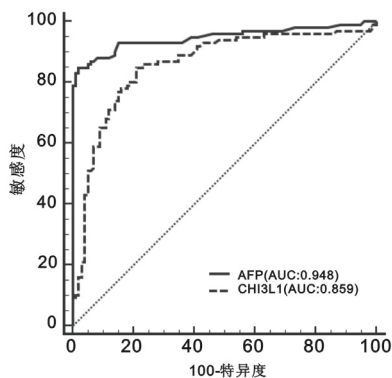


图1 血清 CHI3L1 和 AFP 对 HCC 与慢性乙型肝炎的鉴别效能

2.3 血清 CHI3L1 和 AFP 在 HCC 与健康对照的鉴别效能比较 见图2。为了评估血清 CHI3L1 和 AFP 两个指标对 HCC 与健康对照的鉴别效能,将 HCC 与健康对照的 CHI3L1 和 AFP 浓度做 ROC 曲线。CHI3L1 的 ROC 曲线结果显示:AUC 为 0.852(95%可信区间:0.787~0.903),临界值为 76.8 pg/ml,敏感度和特异度分别为 85%和 76%;AFP 的 ROC 曲线结果显示:AUC 为 0.929(95%可信区间:0.878~0.964),临界值为 7.8 ng/ml,敏感度和特异度分别为 84%和 100%;AFP 也优于 CHI3L1,差异有统计学意义($P=0.045$)。

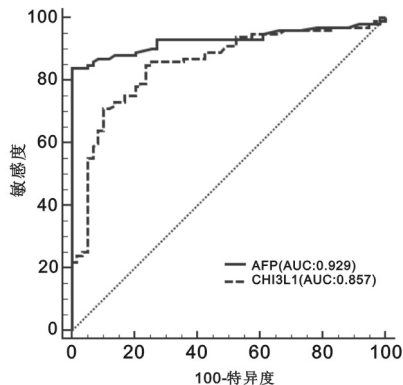


图2 血清 CHI3L1 和 AFP 对 HCC 与健康对照的鉴别效能

3 讨论 HCC 是消化系统高发恶性肿瘤之一,慢性病毒性肝炎是其重要的危险因素^[8],而我国慢性病毒性肝炎具有很高的感染率,尤其因乙型肝炎病毒导致的慢性病毒性肝炎,因此,在我国 HCC 具

有较高的发病率和死亡率。由于 HCC 恶性程度高、侵袭性强,且早期缺乏典型临床症状,大多数患者临床确诊时已是中晚期,错过了最佳治疗时期^[9]。目前,临床上诊断 HCC 主要依靠影像学和肝部穿刺病理结果。然而,影像学在患者病变早期不易检出病变,而病理学又受条件限制,无法进行普查^[10]。

AFP 是目前临床上最为常用的 HCC 诊断辅助标志物,但其筛查 HCC,尤其早期 HCC,敏感度不高。CHI3L1 是最近发现的一种由巨噬细胞、中性粒细胞、软骨细胞、平滑肌细胞和肿瘤细胞等分泌的蛋白。CHI3L1 被认为参与急慢性炎症及细胞外基质重构等病理过程,在临床上有广泛的应用前景。既往研究表明,CHI3L1 蛋白水平与乳腺癌、胃癌、肺癌和肝癌等多种肿瘤相关^[3]。到目前为止,CHI3L1 参与 HCC 的肿瘤生物学行为的详细机制尚不清楚。Xiao 等^[6]报道血清 CHI3L1 可以作为一种潜在的标志物用于鉴别诊断 HCC 和肝硬化疾病。迄今为止,尚未见比较 CHI3L1 和 AFP 对 HCC 的临床诊断价值比较的研究。

为了评估 CHI3L1 和 AFP 对 HCC 的临床价值,本研究中分别检测 HCC、慢性乙型肝炎组和健康对照组的血清 CHI3L1 和 AFP 浓度,并进行比较,结果 HCC 时血清 CHI3L1 和 AFP 均会出现升高,均可以作为潜在的诊断指标。

为了比较血清 CHI3L1 和 AFP 对 HCC 的诊断效能是否存在差别,分别将 HCC 与慢性乙型肝炎组和健康对照组的两个指标分别进行 AUC 比较。HCC 与慢性乙型肝炎组间 AUC 比较结果,显示两个指标均具有好的敏感度和特异度,具有较高的诊断效能,但 AFP 优于 CHI3L1。而对于 HCC 与健康对照组之间 ROC 曲线比较结果 AFP 也优于 CHI3L1。对于 HCC 的诊断价值,与慢性乙型肝炎组和健康对照组比较,AFP 均优于 CHI3L1,可能的原因是 CHI3L1 由巨噬细胞、中性粒细胞、软骨细胞、平滑肌细胞和肿瘤细胞等分泌,AFP 主要有肝癌细胞所分泌,而在慢性乙型肝炎时,中性粒细胞和巨噬细胞可能会分泌增加,从而导致诊断效能 CHI3L1 低于 AFP,有研究显示,使用不同的指标,可以起到对 HCC 的诊断互补作用^[11],后续研究将结合两个指标,评估是否能够提高诊断效能。

本研究为横断面研究,分别检测 HCC、慢性乙型肝炎组和健康对照组的血清 CHI3L1 和 AFP 浓度,并进行两者诊断效能的比较,初步研究结果显示血清 CHI3L1 和 AFP 均可以对 HCC 具有一定的辅助诊断,但 CHI3L1 低于 AFP。(下转 52 页)

(上接 47 页)

后续可以将两个指标进行联合检测,评估对 HCC 的诊断效能是否有提高。同时,该研究为 CHI3L1 作为联合使用肿瘤标志物用于 HCC 的诊断奠定了基础。

参考文献:

- [1] Hakala BE, White C, Recklies AD. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family[J]. J Biol Chem, 1993, 268(34):25803-25810.
- [2] Johansen JS, Jensen BV, Roslind A, et al. Serum YKL-40, a new prognostic biomarker in cancer patients? [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006, 15(2):194-202.
- [3] Ryder SD. Guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) in adults [J]. Gut, 2003, 52(Suppl 3):iii1-8.
- [4] Evdokimova VN, Butterfield LH. Alpha-fetoprotein and other tumour-associated antigens for immunotherapy of hepatocellular cancer[J]. Expert Opin Biol Ther, 2008, 8(3):325-336.
- [5] Sherman M. Alphafetoprotein: an obituary[J]. J Hepatol, 2001, 34(4):603-605.
- [6] Rich N, Singal AG. Hepatocellular carcinoma tumour markers: current role and expectations[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2014, 28(5):843-853.
- [7] Xiao XQ, Hassanein T, Li QF, et al. YKL-40 expression in human hepatocellular carcinoma: a potential biomarker[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2011, 10(6):605-610.
- [8] 王宗泽. 乙型肝炎病毒 X 蛋白对患者发展为肝癌的影响[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(3):91-93.
Wang ZZ. The development of hepatic cancer influence by the hepatitis B virus X protein[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2008, 23(3):91-93.
- [9] 左 铎, 罗 艺, 郭 华, 等. 联合检测血清 miR-125b 和 AFP 对原发性肝细胞癌的诊断价值[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(10):662-666.
Zuo D, Luo Y, Guo H, et al. The diagnosis value of combined detection of serum miR-125b and alpha-fetoprotein for primary hepatocellular carcinoma [J]. Chin J Clin Oncol, 2014, 41(10):662-666.
- [10] Ahmed S, de Souza NN, Qiao W, et al. Quality of life in hepatocellular carcinoma patients treated with transarterial chemoembolization [J]. HPB Surg, 2016, (2016):6120143.
- [11] 徐 斌, 蒋敬庭, 吴昌平. AFP-IgM 复合物联合 AFP 对诊断肝癌的互补作用[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(1):71-73.
Xu B, Jiang JT, Wu CP. Complementary effect between AFP and AFP-IgM in the process of hepatocellular carcinoma diagnosis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2010, 25(1):71-73.

收稿日期:2016-08-17

修回日期:2016-11-28