

CMIA 法测定血清 DCP 与 AFP 对肝细胞癌的诊断价值*

毛丽萍¹, 王跃国², 王 健¹, 黄圣勇¹

(1. 南通市第三人民医院检验科, 江苏南通 226006; 2. 南通大学附属医院感染科, 江苏南通 226001)

摘要:目的 分析治疗前血清异常凝血酶原(DCP)和甲胎蛋白(AFP)在肝细胞癌(HCC)中的鉴别诊断价值。方法 采用微粒子化学发光免疫分析法(CMIA)测定2017年6月~2018年4月南通市第三人民医院住院的HBV感染相关的HCC患者110例(HCC组)、肝硬化(LC组)54例和慢性乙型肝炎(CHB组)63例治疗前血清DCP和AFP水平。两两比较采用Mann-Whitney U检验,多组比较采用Kruskal-Wallis H检验,率的比较采用 χ^2 检验,Spearman秩相关分析DCP与AFP相关性,分析DCP和AFP诊断HCC受试者工作曲线下面积(ROC-AUC)、灵敏度及特异度。结果 HCC组DCP和AFP水平均显著高于LC组和CHB组($Z=-8.75, -4.89, -9.24$ 和 -5.37 ,均 $P<0.001$)。DCP与AFP水平在LC组与CHB组间差异均无统计学意义($Z=-0.558, -0.077$; $P=0.577, 0.939$)。当对照组分别设为LC+CHB及LC组时,DCP诊断HCC的ROC-AUC均显著大于AFP(0.922 vs 0.741, $Z=4.56$; 0.921 vs 0.735, $Z=4.15$,均 $P<0.001$)。当对照组设为LC+CHB时,DCP诊断HCC的敏感度和特异度均显著高于AFP(88.18% vs 58.18%, $\chi^2=25.22$; 92.31% vs 75.21%, $\chi^2=12.57$,均 $P<0.001$)。DCP/AFP方案不能提高诊断HCC的敏感度($\chi^2=1.98, P=0.159$)。DCP+AFP方案对诊断HCC的特异度有所提高($P=0.019$)。当对照组设为LC组时,DCP诊断HCC的特异度显著高于AFP(94.17% vs 72.22%, $\chi^2=4.79, P<0.05$)。DCP与AFP具有弱相关性($r=0.367$)。DCP与肿瘤大小呈正相关($r=0.633$)。结论 DCP与AFP相比有较高的敏感度和特异度,两者联合检测能够提高HCC患者的检出率。

关键词:肝细胞癌;异常凝血酶原;甲胎蛋白

中图分类号:R735.7;R730.43 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)06-038-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.06.010

Diagnostic Value of the Serum DCP and AFP Determined by CMIA in Hepatocellular Carcinoma

MAO Li-ping¹, WANG Yue-guo², WANG Jian¹, HUANG Sheng-yong¹ (Department of Clinical Laboratory, the Third People's Hospital of Nantong, Jiangsu Nantong 226006, China)

Abstract: Objective To evaluate the diagnostic value of the Des-gamma-carboxyprothrombin (DCP) and alpha-fetoprotein (AFP) of serum from hepatocellular carcinoma (HCC) patients before therapy. **Methods** Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) was used to determine the serum DCP and AFP level from patients with HBV-associated HCC ($n=110$), liver cirrhosis (LC, $n=54$) and chronic hepatitis B (CHB, $n=63$) from June 2017 to April 2018 in the Third People's Hospital of Nantong. Two independent groups were analyzed by the Mann-Whitney U test. The difference among multi groups was analyzed by the Kruskal-Wallis H test. The rate comparison was analyzed by the chi-square test. The correlation between DCP and AFP was analyzed by the Spearman rank correlation analysis. Moreover, the area under the receiver operating characteristic curve (ROC-AUC), sensitivity and specificity of DCP or AFP in differentiating HCC were analyzed. **Results**

The DCP and AFP levels in patients with HCC were significantly higher than those of patients with LC and CHB ($Z=-8.75, -4.89$ and $-9.24, -5.37$, all $P<0.001$). There was no significant difference in the level of DCP and AFP between LC and CHB groups ($Z=-0.558, -0.077, P=0.577, 0.939$). When the control group was set as LC+CHB and LC group respectively, the ROC-AUC of DCP in the diagnosis of HCC was significantly greater than that of AFP (0.922 vs 0.741, $Z=4.56$; 0.921 vs 0.735, $Z=4.15$, all $P<0.001$). When the control group was set as LC+CHB, the sensitivity and specificity of DCP in the diagnosis of HCC were significantly higher than that of AFP (88.18% vs 58.18%, $\chi^2=25.22$ and 92.31% vs 75.21%, $\chi^2=12.57$, all $P<0.001$). DCP/AFP cannot improve the sensitivity in the diagnosis of HCC ($\chi^2=1.98, P=0.159$). DCP+AFP could improve the specificity in the diagnosis of HCC ($P=0.019$). When the control group was set up as LC, the specificity of DCP in diagnosing HCC was still significantly higher than that of AFP (94.17% vs 72.22%, $\chi^2=4.79, P<0.05$). There was a weak correlation between the level of serum DCP and AFP ($r=0.367$). There was a positive correlation between the level of serum DCP and tumor size ($r=0.633$). **Conclusion** DCP had higher sensitivity and specificity in the diagnosis of HCC than AFP. Combined detection of DCP and AFP can improve the diagnostic rate of HCC pa-

* 作者简介:毛丽萍(1970-),女,硕士,主任技师,主要从事分子生物学和免疫学研究,E-mail:maoliping70@163.com。
通信作者:王跃国(1967-),男,主任技师,E-mail:yueguowang@163.com。

tients.

Keywords: hepatocellular carcinoma; des-gamma-carboxyprothrombin; AFP

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的一种原发性肝癌^[1,2], 是男性罹患的第四大癌症^[3]。甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP) 是目前应用最广泛的血清标志物之一^[4]。但其敏感度仅为 39%~65%, 特异度仅为 76%~94%^[5], 因此, 需要寻找新的血液标志物。异常凝血酶原即脱- γ -羧基凝血酶原 (Des-gamma-carboxyprothrombin, DCP), 是一种异常的、无活性的凝血酶原, 又称为维生素 K 缺乏或拮抗剂- II 诱导产生的蛋白 (protein induced by vitamin K absence or antagonist- II, PIVKA- II), 为肝脏合成凝血酶原过程中凝血酶原前体未完全羧化形成的异常产物^[6]。临床研究资料表明, DCP 对 HCC 具有较高的诊断意义^[6,7]。本文回顾性分析自开展微粒子化学发光免疫分析法 (chemiluminescent microparticle immunoassay, CMIA) 检测 DCP 与 AFP 以来的相关临床资料, 旨在评价联合测定 DCP 与 AFP 在 HCC 中的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 统计 2017 年 6 月~2018 年 4 月南通市第三人民医院住院的 HBV 感染相关的 HCC 患者 110 例, 其中男性 91 例, 女性 19 例, 平均年龄 57.87 ± 9.53 岁, HCC 的诊断标准依据中华人民共和国卫生部颁发的 2011 年版《原发性肝癌诊疗规范》^[8] 的组织学或影像学典型表现。所有 HCC 患者均未接受肝癌相关治疗如化疗药物应用、肝胆外科切除术、射频消融等。根据中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会 2015 年联合修订的《慢性乙型肝炎防治指南 (2015 更新版)》^[9] 中的诊断标准随机选取一个肝炎病区患者

作为对照, 肝硬化组 (liver cirrhosis, LC) 54 例, 其中男性 43 例, 女性 11 例, 平均年龄 52.13 ± 10.84 岁。慢性乙型肝炎组 (chronic hepatitis B, CHB) 63 例, 其中男性 50 例, 女性 13 例, 平均年龄 46 ± 10.91 岁。所有患者均有乙肝病毒感染史。

1.2 方法 所有患者标本均在治疗前空腹采集, 当日尽快送检, AFP 和 DCP 测定均采用美国雅培 i2000 微粒子化学发光免疫分析系统检测, 试剂盒均由其配套提供。AFP 的诊断临界值为 $20 \mu\text{g/L}$, DCP 的诊断临界值为 32.01 AU/L 。

1.3 统计学分析 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析, DCP, AFP 采用中位数和四分位数 [M (P25, P75)] 表示, 两两比较用 Mann-Whitney U 检验, 多组之间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。根据受试者工作曲线下面积 (the area under the receiver operating characteristic curve, ROC-AUC) 评估诊断的敏感度和特异度, Z 检验比较 AUC 的差异, 率的比较采用 χ^2 检验, 相关性分析采用 Spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC, LC 和 CHB 三组 DCP 和 AFP 检测结果比较 见表 1。DCP, AFP 多组比较, 差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 120.69, P < 0.001; \chi^2 = 39.31, P < 0.001$)。HCC 组 DCP 和 AFP 水平均显著高于 LC 组和 CHB 组, 差异有统计学意义 ($Z = -8.75, -4.89, P = 0.000; Z = -9.24, -5.37, P = 0.000$)。DCP 与 AFP 水平在 LC 组与 CHB 组间差异均无统计学意义 ($Z = -0.558, P = 0.577; Z = -0.077, P = 0.939$, 均 $P > 0.05$)。

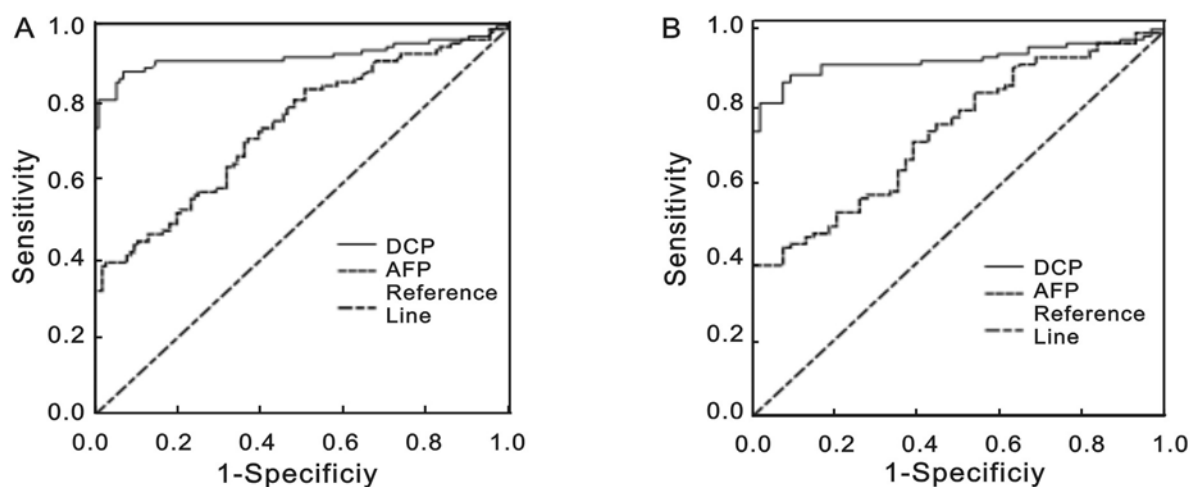
表 1 各组 DCP 和 AFP 检测结果的比较 [中位数 (M₂₅, M₇₅)]

组别	n	DCP(AU/L)	Z值	P值	AFP($\mu\text{g/L}$)	Z值	P值
HCC	110	617.86(81.49, 3168.51)*	-8.75*	0.000*	33.24(5.94, 2546.82)	-4.89*	0.000*
LC	54	19.45(14.86, 25.38)	-0.558**	0.577**	4.95(2.30, 27.32)	-0.077**	0.939**
CHB	63	20.42(16.81, 24.29)	-9.24***	0.000***	3.84(2.55, 16.24)	-5.37***	0.000***

注: * vs LC, ** vs CHB, *** vs HCC。

2.2 DCP 和 AFP 水平对 HCC 诊断价值的 ROC 曲线分析 当对照组设为 LC+CHB 组共 117 例时, DCP 诊断 HCC 的 ROC 曲线下面积为 0.922 (95% CI 0.879~0.965), SE=0.022。AFP 的曲线下面积为 0.741 (95% CI 0.677~0.805), SE=0.033, 见图 1A。DCP 诊断 HCC 的 ROC-AUC 值显著大于 AFP ($Z = 4.56, P = 0.000$)。根据 ROC 曲线 DCP 诊断 HCC 最佳 cutoff 值为 32.49 AU/L , 与试剂盒提供的诊断临界值 32.01 AU/L 非常

接近。所以我们采用 DCP 诊断 HCC 的临界值为 32.01 AU/L , AFP 的诊断临界值为 $20 \mu\text{g/L}$ 。当对照组设为 LC 组 54 例时, DCP 诊断 HCC 的 ROC 曲线下面积为 0.921 (95% CI 0.878~0.964), SE=0.022。AFP 的曲线下面积为 0.735 (95% CI 0.659~0.811), SE=0.039, 见图 1B。DCP 诊断 HCC 的 ROC-AUC 值亦显著大于 AFP ($Z = 4.15, P = 0.000$)。



A:对照组=LC+CHB;B:对照组=LC

图1 DCP与AFP诊断HCC的ROC曲线图

2.3 分析 DCP 与 AFP 两指标及联合检测对 HCC 的诊断效能 当对照组设为 LC+CHB 共 117 例时,参照文献[10]的多项目检测方案按并联试验即 DCP 与 AFP 两指标中有 1 项阳性即诊断为阳性,或串联试验即 DCP 与 AFP 两指标均阳性即诊断为阳性的方案进行诊断效能评价。结果见表 2。DCP 诊断 HCC 的敏感度显著高于 AFP($\chi^2 = 25.22, P < 0.001$)。DCP 与 AFP 的并联方案与 DCP 单独检测相比不能提高诊断 HCC 的敏感度

($\chi^2 = 1.98, P = 0.159$)。DCP 诊断 HCC 的特异度显著高于 AFP($\chi^2 = 12.57, P < 0.001$)。DCP 与 AFP 的串联方案与 DCP 单独检测相比诊断 HCC 的特异度有所提高($P = 0.019$)。以 54 例 LC 组为对照组时,DCP 诊断 HCC 的敏感度和特异度分别为 88.18% 和 94.17%,AFP 诊断 HCC 的敏感度和特异度分别为 58.18% 和 72.22%。DCP 诊断 HCC 的敏感度和特异度均高于 AFP($\chi^2 = 25.22, 4.79, 均 P < 0.05$)。

表 2

DCP 与 AFP 单项及联合检测对 HCC 的诊断效能

项目	阳性例数	敏感度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	准确度(%)
DCP	97	88.18	92.31	91.51	89.26	90.31
AFP	64	58.18	75.21	68.82	65.67	66.96
DCP+AFP	58	52.73	99.15	98.31	69.05	76.65
DCP/AFP	103	93.64	68.38	73.57	91.95	80.62

注:DCP+AFP 即 DCP 与 AFP 均阳性诊断为阳性,DCP/AFP 即 DCP 与 AFP 有 1 项阳性诊断为阳性。

2.4 DCP 和 AFP 两指标间的相关性分析 Spearman 秩相关分析 110 例 HCC 患者 DCP 与 AFP 水平,发现两指标间具有弱相关性($r = 0.367$)。39 例 HCC 患者 DCP 大于诊断临界值 32.01 AU/L 而 AFP 小于 20 $\mu\text{g/L}$ 。6 例 HCC 患者 AFP 大于诊断临界值 20 $\mu\text{g/L}$ 而 DCP 小于 32.01 AU/L。提示两指标在提高诊断 HCC 患者阳性率时可以互相补充。

2.5 DCP,AFP 与肿瘤大小的相关性分析 31 例 HCC 患者在本院进行了手术切除治疗,其最后诊断及肿瘤大小依据病理检查结果,超过一枚的按总体积计算肿瘤大小,多枚中以最大直径者定为肿瘤直径。DCP 与肿瘤大小具有正相关性($r = 0.633$)。在 16 例肿瘤直径 ≤ 3 cm 的 HCC 患者中有 12 例 DCP 阳性,其中仅 5 例 AFP 大于诊断临界值,即双阳性 5 例,有 3 例 AFP 阳性但 DCP 阴

性,仅 1 例双阴性。结果表明 DCP 在诊断肿瘤直径 ≤ 3 cm 的 HCC 患者中比 AFP 有较高的阳性率。两指标在提高诊断肿瘤直径 ≤ 3 cm 的 HCC 患者阳性率时可以互相补充。

3 讨论 随着蛋白质组学、分子生物学等技术的不断发展,对肝癌诊断的实验室标志物研究取得了很大进展。如 DKK1, TEMs, circRNAs, microRNA 等^[11~14],但是,大多数肝癌标志物的研究还只处于实验室阶段。有些需要组织样本,有些有较高的操作技术要求,有些局限于检测方法的敏感度和特异度,限制了他们的临床实际应用价值。

DCP 是一个已经进入临床应用阶段的肝癌血清标志物,目前已有商品化的自动化学发光酶联免疫检测试剂盒(LUMIPULSE G1200, FUJIRE-BIO)、微粒子化学发光免疫分析试剂盒(ARCHITECT i2000, Abbott)。本研究回顾性分析自科室

开展本项目以来 DCP 与 AFP 在 HCC 中的临床诊断价值, 研究结果显示, HCC 组 DCP 和 AFP 水平均显著高于 LC 组和 CHB 组 ($P < 0.001$)。当对照组设为 LC+CHB 组时, DCP 诊断 HCC 的 ROC 曲线下面积均显著大于 AFP (0.922 vs 0.741, $P < 0.001$)。表明, DCP 的检测效能优于 AFP, 与周淑燕等^[15]以肝硬化、慢性乙型肝炎和健康体检者为对照组的 DCP 诊断原发性肝癌 (PHC) 的 ROC 值 (0.776) 显著高于 AFP 的 ROC 值 (0.649) 的研究结果相似。

本研究中 AFP 诊断 HCC 的敏感度和特异度仅为 58.18% 和 75.21%。临床需要增加其它血液标志物以补充 AFP 诊断 HCC 的不足。以 LC+CHB 组为对照组时, DCP 诊断 HCC 的敏感度和特异度均显著高于 AFP (均 $P < 0.001$)。DCP 与 AFP 的并联方案与 DCP 单独检测相比不能提高诊断 HCC 的敏感度 ($P = 0.159$)。DCP 与 AFP 的串联方案与 DCP 单独检测相比诊断 HCC 的特异度有所提高 ($P = 0.019$)。与其它文献^[15]报道的两者联合检测时较各自单独检测的敏感度和特异度均升高的结果不一致。以 LC 为对照组时, DCP 诊断 HCC 的敏感度和特异度亦均显著高于 AFP (均 $P < 0.05$)。敏感度高于文献报道的以 LC 为对照组 DCP 诊断 HCC 的敏感度 (51%), 特异度与之报道的 91.2% 相似^[16]。可能与测定 DCP 的方法学差异有关, 该文献是以 ELISA 方法测定, 而本研究是以微粒子化学发光免疫分析系统测定的。其次可能与人群及样本量不同导致的统计偏差相关。

本研究通过 Spearman 秩相关分析发现 DCP 与肿瘤大小呈正相关 ($r = 0.633$)。与秦亚楠等^[17]的研究结果 ($r = 0.63$) 非常接近。DCP 在诊断肿瘤直径 ≤ 3 cm 的 HCC 患者中比 AFP 有较高的阳性率。同时, 相关性分析发现, DCP 与 AFP 两指标间具有弱相关性 ($r = 0.367$)。提示两指标在提高诊断 HCC 患者阳性率时可以互相补充。

目前, DCP 适用于 HCC 监测已经写入国家《原发性肝癌诊疗规范 (2017 年版)》^[18]。血清 DCP 作为一种新的诊断 HCC 的实验室诊断标志物, 与 AFP 相比有较高的敏感度和特异度, 两者联合检测能够提高 HCC 患者的检出率, 值得临床应用和推广。

参考文献:

[1] Sun HZ, Song YL, Wang XY. Effects of different anesthetic methods on cellular immune and neuroendocrine functions in patients with hepatocellular carcinoma before and after surgery [J]. J Clin Lab Anal, 2016, 30(6): 1175-1182.

[2] Bu Y, Jia QA, Ren ZG, et al. The herbal compound

So-nygyou Yin (SYY) inhibits hepatocellular carcinoma growth and improves survival in models of chronic fibrosis via paracrine inhibition of activated hepatic stellate cells [J]. Oncotarget, 2015, 6(37): 40068-40080.

[3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[4] Zhu WW, Guo JJ, Guo L, et al. Evaluation of midkine as a diagnostic serum biomarker in hepatocellular carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(14): 3944-3954.

[5] Daniele B, Bencivenga A, Megna AS, et al. Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma [J]. Gastroenterology, 2004, 127(5 Suppl 1): S108-112.

[6] 催儒涛, 王宝恩, 丁惠国, 等. 异常凝血酶 II 在肝细胞癌诊断价值的评价 [J]. 中华消化杂志, 2001, 21(11): 701-702.

Cui RT, Wang BE, Ding HG, et al. Evaluation of PIVKA-II in the diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Chin J Dig, 2001, 21(11): 701-702.

[7] 殷正丰, 崔贞福, 康晓燕, 等. 异常凝血酶原酶免疫测定法作为肝癌标志物的研究 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2001, 7(8): 503-504.

Yin ZF, Cui ZF, Kang XY, et al. Study on PIVKA-II tested by enzyme immunoassay as a marker for liver cancer [J]. Chin J Hepatobiliary Surg, 2001, 7(8): 503-504.

[8] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范 (2011 年版) 摘要 [J]. 中华肝脏病杂志, 2012, 20(6): 419-426.

Ministry of Health of the People's Republic of China. Diagnosis, management, and treatment of hepatocellular carcinoma (V2001) [J]. Chin J Hepatobiology, 2012, 20(6): 419-426.

[9] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 (2015 更新版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(12): 888-905.

Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infectious Disease, Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: a 2015 update [J]. Chin J Hepatology, 2015, 23(12): 888-905.

[10] 袁星星, 姜菲菲, 贾泳梅, 等. 血清铁蛋白和甲胎蛋白及甲胎蛋白异质体-L3 单项与联合检测对原发性肝癌辅助诊断的临床应用价值 [J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(8): 604-608.

Yuan XX, Jiang FF, Jia YM, et al. Diagnostic value of serum ferritin, alpha-fetoprotein and alpha-fetoprotein-L3 alone or in combination for diagnosis of primary hepatic carcinoma [J]. Chin J Lab Med, 2016, 39(8): 604-608.

[11] Shen Q, Fan J, Yang XR, et al. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicentre study [J]. Lancet Oncol, 2012, 13(8): 817-826.

[12] Matsubara T, Kanto T, Kuroda S, et al. TIE2-ex-

- pressing monocytes as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma correlates with angiogenesis [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4):1416-1425.
- [13] Zhang M, Xin Y. Circular RNAs: a new frontier for cancer diagnosis and therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1):21.
- [14] 任雪维, 张吉才. 肝细胞肝癌患者血浆 miR-29a 水平的变化及其临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(2):33-35, 40.
Ren XW, Zhang JC. Changes of plasma miR-29a levels in patients with hepatocellular carcinoma and its clinical significance [J]. *J Mod Lab Med*, 2017, 32(2):33-35, 40.
- [15] 周淑燕, 卓传尚, 柳丽娟, 等. PIVKA-II 和 AFP 联合检测对原发性肝癌的诊断价值 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(1):69-71, 76.
Zhou SY, Zhuo CS, Liu LJ, et al. Clinical value of serum PIVKA-II and AFP detection for primary hepatocellular carcinoma [J]. *J Mod Lab Med*, 2017, 32(1):69-71, 76.
- [16] Jang ES, Jeong SH, Kim JW, et al. Diagnostic performance of alpha-fetoprotein, protein induced by vitamin K absence, osteopontin, dickkopf-1 and its combinations for Hepatocellular Carcinoma [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0151069.
- [17] 秦亚楠, 洪雷, 宋正霞, 等. 血清 PIVKA-II 在原发性肝癌诊断中的应用 [J]. *肝脏*, 2017, 22(12):1103-1106.
Qin YN, Hong L, Song ZX, et al. Clinical application of serum PIVKA-II in diagnosis of primary liver cancer [J]. *Chin Hepatol*, 2017, 22(12):1103-1106.
- [18] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版) [J]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(12):886-895.
Bureau of Medical Administration, National Health and Family Planning Commission of the PRC. Standardization of diagnosis and treatment for hepatocellular carcinoma (2017 edition) [J]. *Chin J Dig Surg*, 2017, 25(12):886-895.