

• 论 著 •

AFP 与 DNA 倍体检测对原发性肝癌的预后价值

李连欢¹, 邓传娣²

(1. 惠州市博罗县中医医院检验科, 广东惠州 516100; 2. 中山大学附属肿瘤医院放疗科, 广东广州 510000)

摘要:目的 研究惠州市博罗地区原发性肝癌(PHC)患者血清甲胎蛋白(AFP)水平和 DNA 倍体类型与 PHC 患者 5 年生存率及生存期的关系, 评价其对 PHC 的预后价值。方法 选取 80 例 PHC 患者纳入观察组, 根据病理分级分为 I、II、III、IV 级; 另选取 80 例体检健康者纳入对照组。采集所有受试者的外周静脉血 2 mL, 采用电化学发光分析法测定血清 AFP 水平, 流式细胞术测定 DNA 倍体类型、DNA 指数及 S 期细胞比率。结果 不同病理分级 PHC 患者 AFP 水平均高于对照组, 组间比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且随着 PHC 患者病理分级的增加而升高; 患者血清 AFP 的升高、DNA 倍体类型的不同和 PHC 的病理分级对患者的 5 年生存率和生存期都有很大的影响。结论 惠州市博罗地区人群中, PHC 患者血清 AFP 水平与 DNA 异倍体阳性率的检测对 PHC 的早期诊断和预后判断具有重要作用。

关键词: 甲胎蛋白; DNA 倍体; 原发性肝癌; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.046

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)08-1115-03

The study of prognosis value of AFP and DNA ploidy detection in primary hepatic carcinoma

Li Lianhuan¹, Deng Chuandi²

(1. Department of Clinical Laboratory, the Chinese Medicine Hospital of Boluo County, Huizhou, Guangdong 516100, China;

2. Department of radiotherapy, the Affiliated Cancer Hospital of Zhongshan University, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the serum level of AFP, types of DNA ploidy and 5 year survival rate, survival time in patients with primary hepatic carcinoma (PHC) in Boluo area in Huizhou City, and evaluate the prognosis value of these indexes in PHC. Methods 80 cases with PHC were enrolled in observation group and divided into grade I, II, III and IV according to pathological grading. Other 80 cases of healthy individuals, conducted physical examination, were enrolled in control group. Peripheral venous blood samples (2 mL) were collected from all subjects. The serum level of AFP and types of DNA ploidy were measured by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) and flow cytometry, respectively. Results The serum levels of AFP were significantly higher in patients in different pathological grade groups compared to that in the control group ($P < 0.05$). In addition, accompany increase of pathological grade, the levels of AFP in patients with PHC were increased. The increased level of AFP, difference of DNA ploid types and pathological grade of PHC contributed great influences on the 5 year survival rate and survival time of patients. Conclusion The serum level of AFP and the DNA heteroploid rate may play important roles in the early diagnosis and assessing prognosis of patients with PHC in Boluo area in Huizhou City.

Key words: α -fetoprotein; DNA ploidy; primary hepatic carcinoma; prognosis

原发性肝癌(PHC)是指原发灶发生在肝细胞与肝内胆管上皮细胞的恶性肿瘤, 是国内常见的肝部恶性肿瘤及恶性肿瘤之一, 其恶性度较高、进展较快、预后较差。PHC 的发病较为隐匿, 缺乏早期症状。临床研究发现, 早期肿瘤不伴转移且容易切除, 在治疗手段上相对晚期肿瘤有更多的选择, 并可为患者赢得更多的存活机会、更好地改善预后, 但多数病例一经发现已是中(晚)期, 因此对于 PHC 的早期诊断显得尤为重要^[1-2]。甲胎蛋白(AFP)是胎儿的一种特异性球蛋白, 主要由肝细胞粗面内质网上的核糖体合成。AFP 在成人血清中浓度极微, 但在肝细胞功能发生异常, 特别在 PHC 患者的血清中可出现 AFP 升高。同时有研究结果表明, 细胞核内 DNA 水平是反映肿瘤生物学恶性程度的重要指标之一, 而 DNA 倍体、S 期细胞比率(SPF)则从分子生物学水平对恶性肿瘤的判定、分化、分级及预后具有重要意义^[3-6]。为探讨 AFP 与 DNA 倍体检测对 PHC 的预后价值, 本研究收集了 80 例 PHC 患者的血液进行分析, 现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 80 例于博罗县中医医院就诊治疗的

PHC 患者纳入观察组, 其中男 64 例, 女 16 例; 年龄 45~64 岁, 平均(55.0 $\pm$ 3.0)岁; 所有研究对象均为初治病例, 均经实验室检查、B 超、CT 或磁共振成像(MRI)、手术及病理确诊。临床分期标准(参照肝癌 TNM 分期): I 期 12 例, II 期 54 例, III 期 14 例; 病理分级标准(参照 Edmondson 病理分级): I 级 12 例, II 级 24 例, III 级 32 例, IV 级 12 例; 术后随访平均(64 $\pm$ 10)个月。另选取性别、年龄构成无明显差异的体检健康者作为对照组, 排除肝、肾功能异常等疾病。所有受试者相互间无血缘关系, 抽血前均签署知情同意书, 填写一般资料调查表。

1.2 方法

1.2.1 AFP 测定 采集研究对象的外周静脉血 2 mL, 注入无抗凝剂的真空采血管中, 血液凝固后以 1 000 $\times$ g 的离心速度离心分离出血清, 于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。血清 AFP 浓度采用电化学发光免疫分析法测定, 所使用仪器为电化学分析仪(瑞士 Roche 公司), 试剂为配套 AFP 检测试剂盒(南京蓝基生物科技有限公司)。

1.2.2 DNA 倍体检测 取 PHC 组织, 严格按照流式细胞术样品制备要求操作, 制备成单个细胞悬液, 细胞浓度控制在

10⁶ 个/升。按 DNA Prep 试剂(美国 Beckman Culter 公司)操作说明操作,碘化丙啶(PI)染色。使用 EPICS XL4 color 型流式细胞仪(美国 Beckman Culter 公司)检测细胞 DNA 水平。

1.2.3 观察指标 DNA 倍体分类判定标准^[7]:二倍体(D)、四倍体(T)、非整倍体(AN)、多异倍体(M),样品出现后 3 种倍体类型之一者为 DNA 异倍体样品。DNA 指数(DI):是一组细胞 DNA 平均水平与正常细胞相比较的数值。正常二倍体细胞的 DNA 指数是 1。SPF:是细胞周期中处于 S 期细胞所占的比例,表示细胞的增殖活性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理与统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验或方差分析;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Logistic 回归分析对影响因素进行回归分析;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肝癌病理分级与 AFP 和 DNA 倍体的相关性 各病理分级组 AFP 水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义(*P* < 0.05),同时 PHC 患者病理等级越高血清 AFP 水平越高。对观察组和对照组的 DNA 倍体检测结果表明,DI 及 SPF 与 AFP 的变化趋势一致,除病理等级为 I 级的患者 DI 与对照组比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),其余各病理分级组中 DI 与 SPF 均明显高于对照组,差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 肝癌病理分级与血清 AFP 和 DNA 倍体的关系					
病理等级	<i>n</i>	AFP (ng/mL)	DI	SPF (%)	异倍体率(%)
I级	12	368.89±232.41*	1.32±0.44	26.82±4.72*	57.14
II级	24	567.59±277.96*	1.44±0.38*	28.05±6.71*	66.67
III级	32	683.91±206.79*	1.61±0.36*	29.79±4.63*	80.00
IV级	12	764.60±111.43*	2.06±0.81*	30.76±2.40*	83.33
对照组	80	51.62±12.33	1.00±0.00	10.10±3.55	—

*:*P* < 0.05,与对照组比较;—:无数据。

表 2 80 例肝癌患者预后影响因素的回归分析				
组别	<i>n</i>	5 年生存率 (%)	生存期 (月)	OR(95%CI)
AFP				
+	56	45.83	40.40±20.06	0.6(0.55~0.85)
—	24	80.00	70.80±6.98	1.00
DNA 倍体				
异倍体	53	20.69	36.86±21.11	0.7(0.61~0.91)
二倍体	27	87.13	63.64±18.34	1.00
病理分级				
I 级	12	71.43	59.86±19.27	0.4(0.51~0.75)
II 级	24	50.00	51.58±15.33	0.6(0.44~0.81)
III 级	32	33.33	43.73±18.95	0.7(0.61~0.91)
IV 级	12	0.00	11.50±6.63	1.54(1.15~1.87)

2.2 PHC 患者预后影响因素的回归分析 AFP、DNA 倍体和不同病理分级对肝癌患者预后影响多因素 Logistic 回归分

析如表 2 所示。AFP 阳性患者的 5 年生存率和生存期均小于 AFP 阴性患者,差异均有统计学意义(*P* < 0.05),AFP 对患者的 5 年生存率和生存期具有明显的影响。二倍体患者的 5 年生存率和生存期均高于异倍体患者,差异均有统计学意义(*P* < 0.05),DNA 倍体类型对患者的 5 年生存率和生存期有影响。PHC 不同病理分级术后生存曲线表明,随着病理分级的升高,患者的 5 年生存率逐渐降低,不同病理分级间比较差异有统计学意义(*P* < 0.05);随着病理分级的增加,患者的生存期逐步缩短,病理分级的 IV 级其 5 年生存率为 0,术后生存期仅为 10 个月,且相对危险度(OR)大于 1,是肝癌预后的重要因素。PHC 不同病理分级患者术后生存曲线见图 1。

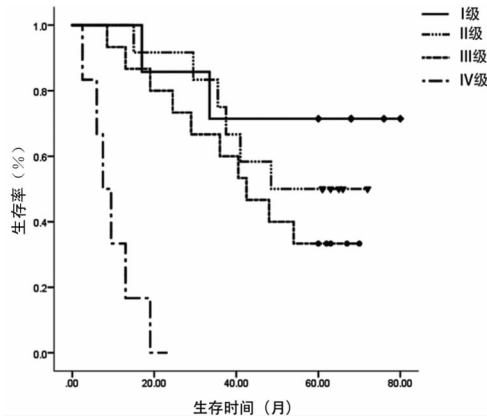


图 1 PHC 不同病理分级患者术后生存曲线

3 讨 论

PHC 是恶性程度最高的肿瘤之一,其发病率及死亡率均较高,对人类健康造成了极大的威胁。目前世界各地 PHC 的发病率仍处于上升趋势。PHC 的病因和发病机制较为复杂,目前认为与病毒性肝炎、肝硬化、黄曲霉毒素、饮用水污染、遗传因素及其他因素(偶氮芥类、酒精等)有关^[8]。

本研究针对观察组(80 例确诊 PHC 患者)和对照组(80 例体检健康者)血清中 AFP 水平及 DNA 倍体的检测结果说明,各不同病理分级组患者 AFP 水平明显高于对照组(*P* < 0.05),同时 PHC 患者病理分级越高,患者血清 AFP 水平越高,病理分级 IV 级的患者 AFP 水平达到(764.60±111.43)ng/mL。DNA 倍体检测结果与 AFP 呈相同的趋势,不同病理分级组明显高于对照组(*P* < 0.05)。病理 I 级 DNA 异倍体阳性率最低,为 57.14%;而 IV 级达到 83.33%。本试验结果与侯振江等^[9]和袁林等^[10]的研究结果相近。

本试验研究结果还显示,AFP 阳性患者的 5 年生存率(45.83%)和生存期[(40.40±20.06)个月]明显小于 AFP 阴性患者的 80.00%和(70.80±6.98)个月;二倍体患者的 5 年生存率和生存期均高于异倍体患者,且随着 PHC 病理分级的增加,患者的生存率和生存期逐步减小。上述结果表明 AFP 的升高、DNA 倍体类型的不同和 PHC 的病理分级对患者的 5 年生存率和生存期都有很大的影响,AFP 水平 DI 的检测对患者的预后判断有重要意义,这与 Sinicrope 等^[11]和 Araujo 等^[12]的研究结果相近。

综上所述,通过对该地区 PHC 患者血清 AFP 水平及 DNA 倍体类型进行检测,可以为 PHC 的早期诊断和疾病治疗提供更灵敏、更准确的依据,同时对高危人群的筛查、个体化治疗、判断预后具有重要的意义。

(下转第 1119 页)

综上所述,本研究结果表明该地区 5 年来 hVISA 的检出率呈逐年上升趋势,因 hVISA 是糖肽类药物不断选择性压力条件下的产物,最终可导致万古霉素治疗失败,应引起临床高度重视,并严格控制糖肽类药物的使用。该地区 hVISA 菌株主要流行克隆为 ST239-SCCmecIII-t030-agrI 型,医疗卫生部门应采取有效措施控制 hVISA 的传播。

参考文献

[1] Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility[J]. J Antimicrob Chemother, 1997, 40: 135-136.

[2] Lodise TP, Miller CD, Graves J, et al. Predictors of high vancomycin MIC values among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia[J]. J Antimicrob Chemther, 2008, 62(5): 1138-1141.

[3] Maor Y, Hagin M, Belasov N, et al. Clinical features of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia versus those of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia[J]. J Infect Dis, 2009, 199(5): 619-624.

[4] Ariza J, Pujol M, Cabo J, et al. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin[J]. The Lancet, 1999, 353(9164): 1587-1588.

[5] Howden BP, Davies JK, Johnson PD, et al. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications[J]. Clin Microbiol Rev, 2010, 23(1): 99-139.

[6] Wootton M, Howe RA, Hillman R, et al. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero. resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 47(4): 399-403.

[7] Milheirico C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in *Staphylococcus aureus*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(9): 3374-3377.

[8] Enright MC, Day NP, Davies CE, et al. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(3): 1008-1015.

(上接第 1116 页)

参考文献

[1] 胡树珍, 廖明, 钟结兴. 血清前白蛋白预测原发性肝癌患者肝储备功能的价值[J]. 现代医院, 2013, 13(11): 31-33.

[2] 徐春娥. AFP 与 AFU 联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 中国保健营养, 2013, 23(2): 989-990.

[3] 袁林, 徐又先, 刘振. 血清 AFP、CG、SF 在原发性肝癌早期诊断和预后中的价值[J]. 右江民族医学院学报, 2013, 35(1): 3-5.

[4] 张苏坚, 潘雨晖. 血清细胞间黏附分子-1 和甲胎蛋白检测在原发性肝癌诊断中的临床价值[J]. 现代医院, 2007, 7(5): 38-39.

[5] 晁鹏丽, 刘莉莉, 张忠英. 原发性肝癌癌细胞 DNA 倍体类型对预后的影响[J]. 实用肝脏病杂志, 2006, 9(6): 340-342.

[6] 张爱军, 许琳, 李文利, 等. DNA 倍体分析与癌胚抗原检测对良、恶性腹水鉴别诊断的意义[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 17(7): 724-728.

[7] 沈关心, 周汝麟. 现代免疫学实验技术[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998: 195-200.

[9] Harmsen D, Claus H, Witte W, et al. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(12): 5442-5448.

[10] Wang WY, Lee SY, Chiueh TS, et al. Molecular and phenotypic characteristics of methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates from patients with septic arthritis[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(11): 3617-3623.

[11] 宏宏斌, 王辉, 孙闻嘉, 等. 2007 年中国 14 个城市异质性万古霉素中介耐药的金黄色葡萄球菌分子特征[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(11): 1223-1227.

[12] Lin SY, Chen TC, Chen FJ, et al. Molecular epidemiology and clinical characteristics of hetero-resistant vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia in a Taiwan Medical Center[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2012, 45(6): 435-441.

[13] Khatib R, Jose J, Musta A, et al. Relevance of vancomycin-intermediate susceptibility trends and prevalence of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in clinical methicillin-resistant *S. aureus* isolates[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49: 269-274.

[14] Sun W, Chen H, Liu Y, et al. Prevalence and Characterization of Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* Isolates from 14 Cities in China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(9): 3642-3649.

[15] Sakoulas G, Moellering RC Jr. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(Suppl 5): S360- S367.

[16] Novick RP. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence[J]. Mol. Microbiol, 2003, 48(6): 1429-1449.

[17] Howden BP, Johnson PD, Ward PB, et al. Isolates with low-level vancomycin resistance associated with persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia[J]. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2006, 50(9): 3039-3047.

[18] Ko KS, Lee JY, Suh JY, et al. Distribution of Major Genotypes among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in Asian Countries[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(1): 421-426.

(收稿日期: 2015-01-02)

[8] 王强, 谢跃文, 夏洁. 血清 TK1、AFP、CEA 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, 2013, 34(9): 1101-1102.

[9] 侯振江, 王秀文, 张丽华, 等. 原发性肝癌患者血清 VEGF 和 AFP 检测及其相关性分析[J]. 现代预防医学, 2007, 34(5): 975-977.

[10] 袁林, 徐又先, 刘振. 血清 AFP、CG、SF 在原发性肝癌早期诊断和预后中的价值[J]. 右江民族医学院学报, 2013, 35(1): 3-5.

[11] Sinicrope FA, Rego RL, Halling KC, et al. Prognostic impact of microsatellite instability and DNA ploidy in human colon carcinoma patients[J]. Gastroenterology, 2006, 131(3): 729-737.

[12] Araujo SE, Bernardo WM, Habr-Gama A, et al. DNA ploidy status and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis of published data[J]. Dis Colon Rectum, 2007, 50(11): 1800-1810.

(收稿日期: 2014-12-25)