

(医学版),2015,36(6):825-829.
[9] 董永学. 宫颈病变 PCNA、Ki-67 表达检测及其与 HPV 感染相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36 (21): 3083-3085.
[10] 易韦,张著学,吴倩,等. IMP3, Ki-67 和 P16 INK4a 表达
• 临床研究 •

与宫颈上皮内瘤变发生发展相关性[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30 (25): 4379-4381.

(收稿日期:2017-02-02 修回日期:2017-04-06)

血清 AFU 联合 GP73 在原发性肝癌诊断中的应用价值*

杨 涛¹, 刘 侃², 邹继华³, 贾江花³, 黎 鹏³

(1. 湖北省荆州市中医医院, 湖北荆州 315104; 2. 哈尔滨二四二医院检验科, 哈尔滨 150060;
3. 美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315104)

摘 要:目的 探讨血清 a-L-岩藻糖苷酶(AFU)、高尔基体蛋白 73(GP73)在原发性肝癌(HCC)早期诊断中的应用价值及其与临床病理特征的关系。方法 2014 年 6 月至 2016 年 6 月应用 ELISA 法测定 120 例 HCC 患者, 120 例肝硬化患者, 120 例慢性乙型肝炎患者及 100 例健康对照者血清 AFU、GP73 水平, 比较各组血清 AFU、GP73 阳性表达情况, 分析血清 AFU、GP73 阳性表达与 HCC 患者临床特征的关系, 应用受试者特异度曲线(ROC)分析血清 AFU、GP73 在肝癌中的应用价值。结果 HCC 组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率高于肝硬化组、慢性肝炎组及对照组($P<0.05$), 而肝硬化组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率高于慢性肝炎组及对照组($P<0.05$), 而慢性肝炎组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。HCC 组中, 不同浸润程度、临床分期、淋巴转移、血管侵犯、Child-Pugh 分级患者的血清 AFU 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$), 不同肿瘤分期、血管侵犯、淋巴结转移、Child-Pugh 分级的患者 GP73 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 AFU 诊断肝癌灵敏度为 93.33%, 特异度为 96.00%, 准确率为 94.54%; GP73 诊断肝癌的灵敏度为 90.00%, 特异度为 96.00%, 准确率为 92.73%。结论 血清 AFU、GP73 表达水平升高与 HCC 发生及病情进展有密切的关系。通过测定血清 AFU、GP73 水平将有助于评价 HCC 发生及病情进展情况。

关键词: a-L-岩藻糖苷酶; 高尔基体蛋白 73; 原发性肝癌; 临床病理

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.030 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)13-1808-04

原发性肝癌(HCC)被认为是临床上恶性程度最高的肿瘤之一,其具有病情进展快、侵袭性强、预后差、病死率高等特点^[1]。早期 HCC 临床症状不典型,当患者觉察不适时大多数病情已经发展到一定程度,已失去最佳手术时机,因此尽早诊断及预防以提高患者生存期限具有重要的意义。目前 HCC 诊断方法除了依靠病理学、影像学检查外,肿瘤血清标记物检测在 HCC 早发现、早诊断中也起到重要的作用^[2]。血清 a-L-岩藻糖苷酶(AFU)主要存在于哺乳动物体细胞内,参与机体中各种糖蛋白、糖脂、黏多糖等大分子分解,近年相关研究认为 AFU 异常表达与恶性肿瘤的发生、侵袭、转移等病理生理过程有密切的关系^[3]。高尔基体蛋白 73(GP73)属于高尔基体Ⅱ型跨膜蛋白,在正常生理状况下,GP73 主要存在胆管上皮细胞中,而在肝脏细胞中基本不表达或表达量极低,但在肝脏病变或肝组织损伤中,肝细胞会大量释放 GP73 至血液中,使血清中 GP73 水平明显升高。近年国内外已开展 GP73 在肝癌诊断方面的研究^[4]。因此本研究应用 ELISA 法测定肝癌患者血清 AFU、GP73 水平,并结合临床病理特征,探讨 AFU、GP73 表达与肝癌侵袭、转移及预后的关系及其对肝癌诊断的临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 6 月至 2016 年 6 月选取荆州市中医医院肿瘤科收治的 120 例 HCC 患者为 HCC 组,纳入标准:患者 Karnofsky 功能状态评分(KPS)≥60 分;患者均经病理组织学、影像学确诊;均签署知情同意书。排除标准:免疫系统抑制

者;预计生存期限小于 6 个月者;活动性胃肠出血、凝血功能障碍者;合并其他部位恶性肿瘤者。其中男 65 例,女性 55 例,年龄为 48~74 岁,平均(56.8±3.2)岁。肿瘤直径小于 5 cm 62 例,≥5 cm 58 例;血管侵犯 75 例;分化程度:低分化 48 例,中分化癌 32 例,高分化癌 40 例;TNM 分期:Ⅰ期 42 例,Ⅱ期 33 例,Ⅲ期 28 例,Ⅳ期 17 例;淋巴结转移 68 例,无淋巴结转移 52 例;肿瘤浸润:T1~T2 62 例,T3~T4 58 例;Child-Pugh 分级:A 级 50 例,B 级 70 例。另选取 120 例肝硬化患者纳入肝硬化组,符合《肝硬化的诊断标准和治疗方案》相关诊断,经影像学及病理组织学确诊,其中男 54 例,女 66 例,年龄 42~78 岁,平均(56.5±3.7)岁。选取 120 例慢性乙型肝炎患者纳入慢性肝炎组,符合《慢性乙型肝炎防治指南》中相关诊断标准,患者经血清学确诊,其中男 58 例,女 62 例,年龄 52~76 岁,平均(57.2±2.8)岁。选取 100 例健康体检者为对照组,其中男 48 例,女 52 例,年龄 48~78 岁,平均(56.9±3.4)岁。各组性别构成比、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 检测方法 所有入组人群均在治疗前或是体检时进行外周静脉血的空腹采集,采集外周静脉血 4 mL,放置 30 min 后进行离心,采用北京同德创业科技有限公司提供的 TD4ZWS 型号离心机,离心速率为 3 000 r/min,离心半径为 5 cm,分离血清。利用电化学发光法对 AFU、GP73 进行检测,检测结果放入全自动免疫分析仪中分析(罗氏 Cobas e601 美国贝克曼),实验遵守说明书上的操作严格进行,试剂选择罗氏原装进

* 基金项目:国家海洋经济创新发展区域示范项目(2014-09)。

口配套试剂,并且采用试剂说明书的阳性临界值进行阴性和阳性的判断。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行数据处理及统计学分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,2 组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,多组间比较采用 χ^2 检验,2 组间比较采用 Fisher 检验。血清 AFU、GP73 在肝癌中的诊断性能采用受试者工作特征曲线(ROC)分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。灵敏度=真阳性/病例数 $\times 100\%$;特异度=真阴性数/病例数 $\times 100\%$;准确率=(真阳性数+真阴性数)/(病例数+对照组) $\times 100\%$;阳性预测值=真阳性/(真阳性+假阳性) $\times 100\%$;阴性预测值=真阴

性/(真阳性+假阴性) $\times 100\%$ 。

2 结 果

2.1 各组研究对象血清 AFU、GP73 表达水平及阳性率比较
HCC 组、肝硬化组、慢性肝炎组、对照组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。HCC 组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率高于肝硬化组、慢性肝炎组及对照组,而肝硬化组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率高于慢性肝炎组及对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。而慢性肝炎组血清 AFU、GP73 水平及阳性表达率与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 各组研究对象血清 AFU、GP73 表达水平及阳性率比较

组别	n	AFU		GP73	
		血清水平($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)	阳性率[n(%)]	血清水平($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)	阳性率[n(%)]
HCC 组	120	33.58 $\pm$ 4.52	112(93.33)	212.25 $\pm$ 22.85	108(90.00)
肝硬化组	120	27.98 $\pm$ 3.47*	52(43.33)*	152.96 $\pm$ 15.12*	64(53.33)*
慢性肝炎组	120	20.15 $\pm$ 4.23*#	8(6.67)*#	65.85 $\pm$ 8.98*#	5(4.17)*#
对照组	100	19.45 $\pm$ 3.96*#	4(4.00)*#	63.98 $\pm$ 7.92*#	5(5.00)*#
F/ χ^2		315.58	255.78	158.60	250.02
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 HCC 组比较,* $P<0.05$;与肝硬化组比较,# $P<0.05$ 。

2.2 血清 AFU、GP73 表达阳性率与 HCC 临床病理特征的关系 HCC 组中,不同浸润程度、临床分期、淋巴结转移、血管侵犯、Child-Pugh 分级患者的血清 AFU 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$),不同肿瘤分期、血管侵犯、淋巴结转移、Child-Pugh 分级的患者 GP73 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 血清 AFU、GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线分析 经 ROC 分析可知,AFU 诊断肝癌的最佳诊断临界值为 29.12 $\mu\text{g/L}$,ROC 曲线下面积(AUC)为 0.702,95%CI(0.689~0.912), $P=0.001$;GP73 诊断肝癌的最佳诊断临界值为 178.25 $\mu\text{g/L}$,AUC 为 0.682,95%CI(0.642~0.882), $P=0.001$,见图 1。

2.4 血清 AFU、GP73 诊断肝癌的应用价值分析 血清 AFU 诊断肝癌灵敏度为 93.33%、特异度为 96.00%、准确率为 94.54%;GP73 诊断肝癌的灵敏度为 90.00%、特异度为

96.00%、准确率为 92.73%,见表 3。

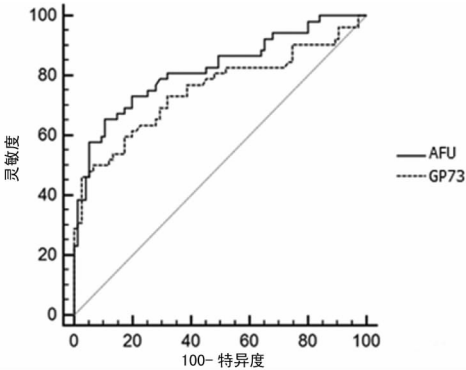


图 1 血清 AFU、GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线分析

表 2 血清 AFU、GP73 表达阳性率与 HCC 临床病理特征的关系[n(%)]

临床特征	n	AFU(n=112)			GP73(n=108)		
		阳性率	χ^2/Z	P	阳性率	χ^2/Z	P
性别							
男	65	62(95.38)	0.959	0.327	58(89.23)	0.093	0.760
女	55	50(90.91)			50(90.91)		
年龄(岁)							
≥ 60	58	56(96.55)	1.869	0.172	52(89.66)	0.015	0.903
< 60	62	56(90.32)			56(90.23)		
肿瘤直径							
$< 5\text{ cm}$	62	58(93.55)	0.009	0.922	54(87.10)	1.201	0.273
$\geq 5\text{ cm}$	58	54(93.10)			54(93.10)		
分化程度							
高分化	40	38(95.00)	0.402	0.818	36(90.00)	0.833	0.659
中分化	32	30(93.75)			30(93.75)		
低分化	48	44(91.67)			42(87.50)		
浸润深度							

续表 2 血清 AFU、GP73 表达阳性率与 HCC 临床病理特征的关系[n(%)]

临床特征	n	AFU(n=112)			GP73(n=108)		
		阳性率	χ^2/Z	P	阳性率	χ^2/Z	P
T1+T2	62	62(100.00)	9.163	0.003	54(100.00)	1.201	0.273
T3+T4	58	50(86.21)			54(93.10)		
TNM 分期							
I+II	75	67(88.24)	5.143	0.023	63(84.00)	6.545	0.010
III+IV	45	45(100.00)			45(100.00)		
淋巴结转移							
有	68	60(84.00)	6.555	0.010	56(82.35)	10.196	0.001
无	52	52(100.00)			52(100.00)		
血管侵犯							
是	68	68(100.00)	11.209	0.000	66(97.06)	8.688	0.003
否	52	44(84.62)			42(80.77)		
Child-Pugh 分级							
A 级	50	42(84.00)	12.000	0.001	40(80.00)	9.524	0.002
B 级	70	70(100.00)			68(97.14)		

表 3 血清 AFU、GP73 诊断肝癌的应用价值分析[% (n/n)]

指标	灵敏度	特异度	准确率	阳性预测值	阴性预测值
AFU	93.33(112/120)	96.00(96/100)	94.54(208/220)	96.55(112/116)	92.31(96/104)
GP73	90.00(108/120)	96.00(96/100)	92.73(204/220)	96.43(108/112)	88.89(96/108)

3 讨 论

一直以来寻求具有较高应用价值的肝癌血清标志物对提高早期肝癌诊断灵敏度及特异度具有重要的意义。既往研究显示,糖类抗原(CA)、癌胚抗原(CEA)及肿瘤相关蛋白(TAG)在肝癌诊断中有一定的临床意义^[5],但这些血清肿瘤标志物在肝癌诊断方面灵敏度及特异度较差,不适合临床推广应用。

AFU 属于溶酶体酸性水解酶,广泛存在于肾、肝、脑等组织中^[6]。目前多项研究均指出,当肝细胞发生癌变时,血清中 AFU 水平明显升高,其可能机制由于癌症会导致机体出现炎症浸润,在炎症环境刺激下会导致机体释放多种炎症细胞因子,从而刺激 AFU 分泌,使血清中 AFU 水平升高^[7-8]。有研究指出,血清 AFU 作为新型肿瘤标记物,可作为 HCC 诊断标记物,可建议与传统超声、CT 等检查一起进行,以提高诊断准确性^[9]。Fawzy 等^[10]研究指出,AFU 在肝癌组织中过量表达,且在肝癌发生早期,其表达水平已明显升高。本研究中 HCC 组血清 AFU 水平及阳性表达率高于肝硬化组、慢性肝炎组及对照组,而肝硬化组血清 AFU 水平及阳性表达率高于慢性肝炎组及对照组,提示在肝硬化患者中已经出现血清 AFU 水平升高的情况。目前普遍认为肝硬化是肝癌发生的独立危险因素,由于大部分肝硬化患者进展为肝癌的过程比较隐匿^[11-12],因此对于肝硬化合并早期肝癌临床上容易出现漏诊或误诊,通过测定血清 AFU 水平可尽早鉴别肝硬化合并早期肝癌,有助于临床对该类患者尽早采取有效的治疗措施。本研究中 HCC 组血清 AFU 表达与浸润程度、临床分期、淋巴转移、血管侵犯、Child-Pugh 分级有密切的关系,表明通过测定血清 AFU 有助于判断肝癌病情发展。经分析可知,血清 AFU 诊断肝癌灵敏度为 93.33%、特异度为 96.00%、准确率为 94.54%,表明血清 AFU 在肝癌诊断中具有较高的应用价值。

GP73 属于跨膜蛋白,在健康的肝细胞中几乎不表达,而在肝癌细胞中血清 GP73 水平明显升高,且可参与肝癌细胞侵

袭、浸润、转移等恶性病理过程^[13]。有研究指出,血清 GP73 对肝癌的诊断优于传统肿瘤标志物,且有望成为新型的肝癌血清肿瘤标志物并被广泛在临床上推广应用^[14]。崔再亮等^[15]的研究显示 GP73 不仅可作为肝癌肿瘤标志物,而且可促进机体炎症细胞因子释放,促使机体炎症浸润,并介导弗林蛋白酶释放,在弗林蛋白酶作用下可促使肝细胞裂解并释放 GP73,导致血清中 GP73 水平升高。本研究中 HCC 组血清 GP73 水平及阳性表达率均高于其余各组,而肝硬化组血清 GP3 水平及阳性表达率高于慢性肝炎及对照组,提示 GP73 不仅可参与肝癌的发生,在肝硬化发生过程中也起到重要的作用。GP73 表达与肿瘤分期、血管侵犯、淋巴结转移、Child-Pugh 分级有关,表明 GP73 可介导肝癌病情发生及进展。GP73 诊断肝癌的灵敏度为 90.00%、特异度为 96.00%、准确率为 92.73%,表明血清 GP73 在肝癌诊断中具有较高的应用价值。

综上所述,血清 AFU、GP73 表达水平升高与 HCC 发生及病情进展有密切的关系。通过测定血清 AFU、GP73 水平将有助于评价 HCC 发生及病情进展情况。

参考文献

[1] 赵运胜,王猛,崔辰莹,等. 评价 8 种血清标志物在原发性肝癌诊断中的临床价值[J]. 重庆医学,2014,4(2):214-216.

[2] 万豪光,徐浩,顾玉明,等. GP73 和 AFP 单项与联合诊断对原发性肝癌诊断应用的 Meta 分析[J]. 中华检验医学杂志,2014,2(5):357-361.

[3] 赵小云,尚守亮. 血清 3 项肿瘤标志物联合检测在原发性肝癌诊断中的意义[J]. 检验医学与临床,2013,5(24):3279-3280.

[4] 袁明生,唐富英,王影,等. 高尔基体蛋白 73 诊断原发性肝癌的临床评价[J]. 中国实验诊断学,2013,17(5):844-846.

- [5] 姜艳红. 联合检测三项指标在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(4): 828-829.
- [6] 霍群, 郑泽辉, 刘杰, 等. 高尔基体蛋白 73 及去 γ -羧基凝血酶原联合甲胎蛋白检测对肝癌的诊断价值[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(10): 757-760.
- [7] 郑建建, 董繆武, 董培红, 等. 原发性肝癌血清中高尔基体蛋白 73 的表达及其与预后的关系[J]. 中华消化杂志, 2013, 33(2): 132-133.
- [8] Mossad NA, Mahmoud EH, Osman EA, et al. Evaluation of squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complex (SCCA-IGM) and alpha-L-fucosidase (AFU) as novel diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. Tumour Biol, 2014, 35(11): 11559-11564.
- [9] Zhu J, Jiang F, Ni HB, et al. Combined analysis of serum γ -glutamyl transferase isoenzyme II, α -L-fucosidase and α -fetoprotein detected using a commercial kit in the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Exp Ther Med, 2013, 5(1): 89-94.
- [10] Fawzy M M, Amin SM, Omar KM. Alpha-L-fucosidase as a tumour marker of hepatocellular carcinoma[J]. Arab J Gastroenterol, 2012, 13(1): 9-13.
- [11] Wang K, Guo W, Li N, et al. Alpha-1-fucosidase as a prognostic indicator for hepatocellular carcinoma following hepatectomy: a large-scale, long-term study[J]. Br J Cancer, 2014, 110(7): 1811-1819.
- [12] 肖蕾, 毛睿, 杨颖, 等. 高尔基体糖蛋白 73、 α -L-岩藻糖苷酶、甲胎蛋白单项检测与联合检测对原发性肝癌的诊断价值研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(14): 1581-1583.
- [13] 陈霖, 刘振红, 徐军, 等. 血清标志物 GP73 在原发性肝癌诊断中的作用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2013, 27(6): 446-448.
- [14] 徐伟红, 姚怡婷, 曹华, 等. 血清 GP73、AFP-L3、AFP 及 AFU 检测在原发性肝癌诊断中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(4): 262-266.
- [15] 崔冉亮, 李悦国, 张鹏宇, 等. 血清高尔基体蛋白 73 联合甲胎蛋白检测在原发性肝癌患者中的诊断价值[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 2(4): 222-225.

(收稿日期: 2017-02-13 修回日期: 2017-04-13)

• 临床研究 •

感染解脲脲原体不育者血清性激素及精液参数的变化^{*}

刘 鹏, 孙建明[△]

(上海中医药大学附属第七人民医院男性病科, 上海 200137)

摘要:目的 探讨解脲脲原体(UU)感染不育患者血清性激素水平及精液参数的变化。方法 对 72 例不育者精液进行 UU 培养, 采用化学发光微粒子免疫分析(CMIA)技术测定血清性激素, 计算机辅助精液分析(CASA)检测精液参数。结果 UU 阳性不育组精子浓度、存活率、前向运动、非前向运动、血清黄体生成素、催乳素、睾酮与 UU 阴性不育组、对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); UU 阴性不育组精子存活率与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 其余各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 UU 感染不育患者血清性激素水平有明显异常, 对生育功能有一定影响。

关键词: 男性不育; 性激素; 精液质量; 前向运动; 解脲脲原体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)13-1811-03

解脲脲原体(UU)是人类泌尿生殖道最常见微生物之一, 有很高的携带率^[1]。引起男性不育症有诸多因素, 泌尿生殖道感染引起的不育症已上升为不育症的首要因素, UU 感染是导致不育症最常见的病因之一。对于 UU 感染造成不育的机制, 各研究报道不一。本文通过对 UU 感染患者血清性激素水平及精液参数变化比较, 旨在对 UU 引起男性不育机制作进一步探讨。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 72 例男性不育者均来自 2015 年 10 月至 2016 年 9 月本院男性科门诊就诊者, 年龄 23~45 岁, 婚后未采取避孕措施正常性生活 1 年以上不育, 其配偶经妇科检查排除女方不孕因素, 经查无其他器质性生殖系统疾病, 无外伤及家族遗传病史, 性功能正常, 血清衣原体抗体阴性, 精液细菌培养和淋球菌培养阴性, 排除血清和精浆抗精子抗体阳性者。对

72 例不育者精液 UU 培养, 根据 UU 是否感染分为 UU 阳性不育组(A 组, $n=38$), UU 阴性不育组(B 组, $n=34$)。有生育能力 UU 检测为阴性健康者 28 例为对照组(C 组, $n=28$)。

1.2 方法

1.2.1 精液采集和分析 禁欲 2~7 d 后手淫法取精液于清洁无菌塑料容器内, 置 37℃ 恒温金属浴液化、待检。采用奥林巴斯 CX31 型生物显微镜及清华同方彩色精子自动分析系统, 按 WHO 精液参数检测方法^[2]分析精子浓度、存活率、前向运动(PR)、非前向运动(NP)等。

1.2.2 UU 感染鉴定 按试剂盒(珠海迪尔生物工程有限公司)说明书进行培养鉴定。经 35℃ 培养, 24 h 和 48 h 分别观察颜色变化, 24 h 相对应的小孔由黄变红或橙色提示 UU 生长, 仍为黄色为阴性。

1.2.3 血清性激素测定 采用美国雅培全自动 ARCHITECT

^{*} 基金项目: 上海市浦东新区名中医及名中医工作室建设项目(PDZYXK-3-2014011); 上海市浦东新区科技发展基金(PKJ2014-Y17); 上海市科委项目(14401972300)。

[△] 通信作者, E-mail: shsqdqmynk@sina.com。