

原发性肝癌诊断中肿瘤生物标志物不同组合检测的意义

孔银波, 王浩, 李鹏, 王刚, 刘天才

南方医科大学检验与生物技术学院抗体工程研究所, 广东 广州 510515

摘要: **目的** 研究并探讨化学发光免疫法 (CLIA) 在原发性肝癌 (PHC) 患者肿瘤生物标志物检验中的应用。**方法** 入组对象选择 2017 年 1 月至 12 月期间云南省临沧市人民医院收治的 104 例 PHC 患者 (肝癌组) 与同时间段同一医院接受健康体检的 104 例健康志愿者 (对照组), 用 CLIA 对两组进行血清肿瘤生物标志物测定, 包括甲胎蛋白 (AFP)、癌胚抗原 (CEA)、糖类抗原 (CA)125、糖类抗原 (CA)19-9, 比较两组测定结果。应用 Logistic 二元回归分析, 根据入选标准: $\alpha_{\text{入}} = 0.05$, 剔除标准 $\alpha_{\text{出}} = 0.10$, 筛选出诊断 PHC 的有效指标, 通过 ROC 曲线分析, 探讨这几项肿瘤标志物单项及联合检测在 PHC 诊断中的应用价值, 筛选出有效的指标组合。**结果** 肝癌组的血清 AFP、CEA、CA125、CA199 表达水平平均高于对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。应用 Logistic 二元回归分析, CEA 被剔除; ROC 曲线分析显示, AFP、CA125、CA19-9 诊断 PHC 的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.911、0.847、0.754, AFP + CA125 两项联合检测 AUC 为 0.938, AFP + CA19-9 两项联合检测 AUC 为 0.961, AFP + CA125 + CA19-9 三项联合检测 AUC 为 0.964, 以三项联合检测的 AUC 最高。**结论** AFP、CA125、CA19-9 检测在 PHC 患者诊断中有重要价值, 三项肿瘤标志物联合检测能够提高诊断的准确性, 减少漏诊。

关键词: 化学发光免疫法; 原发性肝癌; 甲胎蛋白; 癌胚抗原; 糖类抗原 125; 糖类抗原 19-9; 联合检测

中图分类号: R 446.11 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2018)07-0957-03

Significance of different combinations of tumor biomarkers in diagnosis of primary liver cancer

KONG Yin-bo, WANG Hao, LI Peng, WANG Gang, LIU Tian-cai

*Institute of Antibody Engineering, School of Laboratory Medicine and Biotechnology, Southern Medical University,
Guangzhou, Guangdong 510515, China*

Corresponding author: LIU Tian-cai, E-mail: liutc@smu.edu.cn

Abstract: Objective To explore the application of chemiluminescence immunoassay (CLIA) in the detection of tumor biomarkers of patients with primary hepatic cancer (PHC). **Methods** A total of 104 PHC patients (hepatic cancer group) from January to December 2017 and 104 healthy volunteers (control group) at the same period were enrolled. The determination of serum tumor biomarkers by CLIA was conducted in two groups. The examined indexes that included alpha fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen (CA)125, carbohydrate antigen (CA)19-9 were compared between two groups. Bivariate logistic regression analysis was used to screen effective indicators for PHC diagnosis according to the selection criteria ($\alpha = 0.05$ for inclusion, $\alpha = 0.10$ for exclusion). By receiver operating characteristics (ROC) curve, the application value of single assay and combined detection in PHC diagnosis was explored to obtain the effective combination of indicators. **Results** The expression levels of AFP, CEA, CA125 and CA19-9 were significantly higher in hepatic cancer group than those in control group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Bivariate logistic regression analysis excluded CEA detection. ROC analysis showed that area under curve (AUC) of AFP, CA125 and CA19-9 were 0.911, 0.847, 0.754 respectively; AUCs of combined detection of AFP plus CA125, AFP plus CA19-9 were 0.938 and 0.961 respectively; AUC of combined detection of AFP, CA125 and CA19-9 was 0.964. The co-detection AUC of three indexes was the highest. **Conclusion** Detection of AFP, CA125 and CA19-9 has an important value in diagnosis of PHC, and the co-detection of three indexes can improve the accuracy of diagnosis and reduce missed diagnosis.

Key words: Chemiluminescence immunoassay; Primary hepatic cancer; Alpha fetoprotein; Carcinoembryonic antigen; Carbohydrate antigen 125; Carbohydrate antigen 19-9; Combined detection

恶性肿瘤是导致病理性死亡的主要疾病^[1-2],临床上主张对其进行早期诊断、早期治疗,血清肿瘤生物标志物是常用的长期筛查指标^[3-4]。原发性肝癌(primary hepatic carcinoma,PHC)是原发于肝脏的恶性肿瘤^[5-6]。根据国家癌症防控中心的数据指出,PHC 居于我国常见恶性肿瘤的第四位及肿瘤致死病因的第三位^[7],严重影响我国居民的健康。本研究综合评价检测甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA)125、糖类抗原(CA)19-9 四种肿瘤生物标志物在 PHC 临床诊断中的应用价值,旨在筛选出有价值的检测指标组合。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1 月至 12 月云南省临沧市人民医院收治的 104 例 PHC 患者(肝癌组)与同时间段同一医院接受健康体检的 104 例健康志愿者(对照组)。肝癌组男 88 例,女 16 例;年龄 31~80(54.96±11.13)岁,依据《PHC 诊断标准(2011)版》,均经手术或肝穿刺活检病理诊断明确为 PHC。对照组男性 86 例,女性 18 例;年龄 29~79(55.75±8.61)岁,均经全身体检未发现各系统器质性病变。肝癌组患者与对照组体检者均对检查方法和目的知情,配合检查。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 实验方法 采用化学发光免疫法检测两组血清

肿瘤生物标志物:AFP、CEA、CA125、CA19-9。采集待测者肘静脉血液 5 ml,待凝固后,以 3 000 rpm 的转速离心 10 min 后,取血清待检。采用西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光测定仪及配套检测试剂进行测定,严格按试剂盒说明书操作。

1.3 统计学方法 用 SPSS19.0 软件进行数据处理。定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述,对符合正态分布数据,及偏态数据经自然对数转换为近似正态后,采用成组 t 检验;运用二元 Logistic 逐步回归和 ROC 曲线分析各血清肿瘤生物标志物与 PHC 的关系及其诊断效能。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组各项血清肿瘤生物标志物测定结果比较 肝癌组血清 AFP、CEA、CA125、CA19-9 水平高于对照组($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 1。

2.2 Logistic 回归分析 以病理确诊结果为因变量(分为肝癌组和对照组),以 AFP、CEA、CA125、CA19-9 测定结果作为自变量,进行 Logistic 回归逐步分析(入选标准: $\alpha_{入} = 0.05$,剔除标准 $\alpha_{出} = 0.10$),剔除指标 CEA;进入回归方程的自变量设 $X_1 = \text{AFP}$ 、 $X_2 = \text{CA125}$ 、 $X_3 = \text{CA19-9}$,Logistic 回归方程为:Logit(P) = $-4.558 + 0.187X_1 + 0.043X_2 + 0.092X_3$ 。结果显示,除 CEA 外,AFP、CA125、CA19-9 均为诊断 PHC 的有效指标($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 1 两组血清 AFP、CEA、CA125、CA19-9 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AFP($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	CEA($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	CA125($\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$)	CA19-9($\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$)
肝癌组	104	628.79 ± 456.82	6.46 ± 17.49*	113.10 ± 157.01*	49.75 ± 111.55*
对照组	104	2.61 ± 2.19	2.01 ± 1.32	10.87 ± 6.61	10.16 ± 8.01
t 值		13.98	2.59	6.63	3.61
P 值		<0.01	<0.05	<0.01	<0.01

注:*表示行自然对数转换为近似正态后进行检验。

表 2 Logistic 回归分析结果

协变量	回归系数	标准误	Wald	P 值	OR 值	95% CI
AFP	0.187	0.089	4.366	0.037	1.206	1.012~1.437
CA125	0.043	0.023	3.714	0.045	1.044	1.000~1.092
CA19-9	0.092	0.027	11.512	0.001	1.097	1.040~1.157
常量	-4.558	0.779	34.217	0.000	-	-

表 3 血清 AFP 与 CA125、CA19-9 及其不同组合对 PHC 诊断效能的 ROC 曲线结果

检验结果变量	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC	标准误	P 值	95% CI
AFP ^①	80.8	97.1	0.911	0.02	0.00	0.87~0.96
CA125 ^②	59.6	99.8	0.847	0.03	0.00	0.79~0.90
CA19-9 ^③	76.9	64.4	0.754	0.03	0.00	0.69~0.82
①+②	88.5	98.2	0.938	0.02	0.00	0.90~0.98
①+③	90.4	98.1	0.961	0.01	0.00	0.93~0.98
①+②+③	93.3	98.1	0.964	0.01	0.00	0.93~0.99

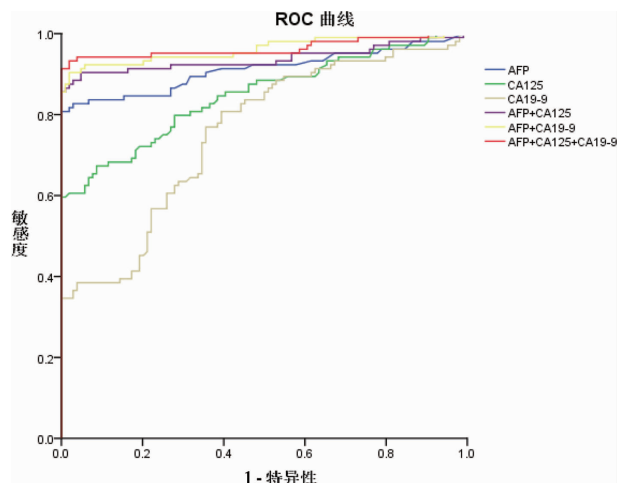


图 1 血清 AFP、CA125、CA19-9 及其不同组合联合检测的 ROC 曲线

2.3 血清 AFP、CA125、CA19-9 及其不同组合测定对 PHC 诊断效能的 ROC 曲线分析 对血清 AFP、CA125、CA19-9 分别进行单项检测,并对 AFP + CA125 联合检测、AFP + CA19-9 联合检测,以及 AFP + CA125 + CA19-9 三项联合检测对 PHC 的诊断效能进行 ROC 曲线分析,结果显示,AFP + CA125 + CA19-9 三项联合检测诊断的曲线下面积(AUC)为 0.964,大于各指标单项检测的 AUC,也大于 AFP 与其它指标两项联合检测的 AUC,提示三项联合检测的诊断准确性最高。见表 3、图 1。

3 讨论

由于 PHC 的临床表现早期缺乏典型症状,自行就诊患者多处于中晚期^[8],尽早诊断和治疗是降低 PHC 患者死亡率的重要手段^[9-10]。血清肿瘤生物标志物检测辅助 PHC 的诊断具有快速、无创等优点,因此受到临床的关注。《PHC 断标准(2011 版)》指出,AFP 是诊断 PHC 较为特异的指标^[11-12]。但近年来发现,AFP 阴性的 PHC 患者越来越多^[13]。本研究通过应用 Logistic 二元回归分析和 ROC 绘制,综合评价 AFP、CEA、CA125、CA19-9 几种肿瘤生物标志物检测在 PHC 诊断中的价值。研究结果显示,PHC 患者血清 AFP、CEA、CA19-9、CA125 表达水平高于对照组,说明血清 AFP、CEA、CA125、CA19-9 检测在 PHC 临床诊断中有一定意义。Logistic 回归分析显示,单项检测时 AFP 灵敏度为 80.8%,特异度为 97.1%;CA19-9 灵敏度为 76.9%,特异度为 64.4%;CA125 灵敏度为 59.6%,特异度为 99.8%,CEA 被剔除,AFP、CA125、CA19-9 为 PHC 诊断的有效指标。建立 Logistic 回归方程为: $\text{Logit}(P) = -4.558 + 0.187X_1 + 0.043X_2 + 0.092X_3$,将 AFP、CA125、CA19-9 对 PHC 的诊断价值进行 ROC 曲线分析。结果显示,AFP + CA19-9 两项联合检测灵敏度为 90.4%,特异度为 98.1%;AFP + CA125 两项联合检测灵敏度为 88.5%,特异度为 98.2%;AFP + CA125 + CA19-9 三项联合检测的灵敏度为 93.3%,特异度为 98.1%。AFP、CA125、CA19-9 的 AUC 分别为 0.911、0.847、0.754,单项检测中,AFP 的 AUC 最大;AFP + CA125 + CA19-9 三项联合检测的 AUC 为 0.964,大于各指标单项检测的 AUC,也大于 AFP 与其它指标两项联合检测的 AUC,提示三项联合检测的诊断准确性最高。Baba 等^[14]研究指出 AUC > 0.9 时,表示诊断有较高的准确性,AUC 在 0.93 ~ 0.99,表示诊断准确性

较高。

综上所述,本研究结果显示 AFP、CA125、CA19-9 三项联合检测对 PHC 的诊断效能优于单项检测和两项联合检测,可提高 PHC 的诊断准确性,减少漏诊。

参考文献

- [1] Yu JP, Xu XG, Ma RJ, et al. Development of a clinical chemiluminescent immunoassay for serum GPC3 and simultaneous measurements alone with AFP and CK19 in diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Lab Anal, 2015, 29(2): 85-93.
- [2] 卫丽, 庄国芳. 多肿瘤标志物芯片检测法与化学发光分析法的对比研究[J]. 临床医药实践, 2012, 21(6): 445-447.
- [3] Moreno-Campoy EE, Mérida-De la Torre FJ, Martos-Crespo F, et al. Letter to the Editor in reply to Dayyani and Morgenstern's comment on the article "Identifying risk in the use of tumor markers to improve patient safety" [J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54(12): e385-e386.
- [4] Suresh MR. Classification of tumor markers [J]. Anticancer Res, 1996, 16(4B): 2273-2277.
- [5] Ananthakrishnan A, Gogineni V, Saeian K. Epidemiology of primary and secondary liver cancers [J]. Semin Intervent Radiol, 2006, 23(1): 47-63.
- [6] Goma AI, Khan SA, Leen EL, et al. Diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(11): 1301-1314.
- [7] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [8] Attwa MH, El-Etreby SA. Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma [J]. World J Hepatol, 2015, 7(12): 1632-1651.
- [9] Kim JU, Shariff MI, Crossey MM, et al. Hepatocellular carcinoma: Review of disease and tumor biomarkers [J]. World J Hepatol, 2016, 8(10): 471-484.
- [10] Stefaniuk P, Cianciara J, Wiercinska-Drapalo A. Present and future possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(4): 418-424.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011 年版) [J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(10): 929-946.
- [12] Petroskiopoulos C, Flevaris L, Lambropoulos L, et al. The behaviour of alpha-fetoprotein (AFP) in benign liver disease [J]. J Hepatol, 1998, 28(98): 216.
- [13] Bellissimo F, Pinzone MR, Cacopardo B, et al. Diagnostic and therapeutic management of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(42): 12003-12021.
- [14] Baba Y, Kubo T, Yamanka S, et al. Clinical significance of high-sensitivity cardiac troponin measurement in the diagnosis of acute coronary syndrome: Comparison of AUC value by ROC curve analysis [J]. Int Heart J, 2015, 56(3): 309-313.

收稿日期: 2018-03-07 修回日期: 2018-05-21 编辑: 王国品