

# 血清壳多糖酶 3 样蛋白 1 和甲胎蛋白及铁蛋白检测在原发性肝癌诊断中的应用评价

毛玉环, 谭黎明, 李建英, 张晓

湖南省人民医院检验科, 湖南 长沙 410002

**摘要:** **目的** 探讨血清壳多糖酶 3 样蛋白 1(CHI3L1)、甲胎蛋白(AFP)和铁蛋白(FER)单一及联合检测在原发性肝癌诊断中的临床应用价值。**方法** 选取 HCC 患者 61 例,肝硬化患者 31 例,慢性肝炎患者 31 例以及健康体检者 32 例作为研究对象,采用定量酶联免疫吸附法检测血清中 CHI3L1 的水平,化学发光法检测血清 AFP 及 FER 水平。采用非参数秩和检验进行差异分析,通过 ROC 曲线下面积分析,比较单项及联合检测的诊断价值。**结果** HCC 组、肝硬化组、肝炎组及健康组的血清 CHI3L1 水平分别为 258.60(215.61~296.75)、227.40(127.10~285.20)、145.40(79.60~198.70)、39.40(31.67~45.80)ng/ml;AFP 水平分别为 9.99(4.20~81.13)、4.34(1.16~26.22)、1.00(0.86~1.87)、1.12(1.00~1.96)ng/ml;FER 水平分别为 176.27(125.56~201.53)、151.74(81.46~202.59)、119.55(45.70~147.75)、106.67(79.47~147.15)ng/ml,四组三项指标差异均有统计学意义( $H=92.39, 52.08, 33.25, P<0.001$ )。CHI3L1、AFP 及 FER 三项指标单项检测时 AUC 分别(0.822±0.033)、(0.796±0.037)、(0.749±0.039)。三指标联合检测时 AUC 为(0.877±0.027),高于三指标单项检测。**结论** CHI3L1 在肝癌诊断方面具有一定的潜在价值,CHI3L1、AFP 及 FER 联合诊断能提高诊断效能。

**关键词:** 肝癌;壳多糖酶 3 样蛋白 1;甲胎蛋白;铁蛋白;肿瘤标记物

**中图分类号:** R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2018)04-0401-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.04.005

## Evaluation on application of serum chitinase-3-like protein 1, alpha-fetoprotein and ferritin detection to diagnosing hepatocellular carcinoma

MAO Yu-huan, TAN Li-ming, LI Jian-ying, ZHANG Xiao

Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410002, China

Corresponding author: TAN Li-ming, E-mail: tanliming838@163.com

**Abstract:** **Objective** To explore the clinical application values of detecting serum chitinase-3-like protein 1(CHI3L1), alpha-fetoprotein(AFP) and ferritin(FER) alone or in combination for the diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Sixty-one patients with HCC, 31 patients with liver cirrhosis, 31 patients with chronic hepatitis and 32 physical examinees were selected as the research subjects. Quantitative enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the serum level of CHI3L1. Serum levels of AFP and FER were measured by chemiluminescence assay. CHI3L1, AFP and FER levels of the four groups were analyzed using the nonparametric tests. Receiver operating characteristic (ROC) curve and the area under ROC curve (AUC) were employed to assess the diagnostic values of the above-mentioned indexes applied alone or in combination. **Results**

Serum levels of CHI3L1 in HCC, liver cirrhosis, chronic hepatitis and control groups were 258.60 (215.61-296.75) ng/ml, 227.40 (127.10-285.20) ng/ml, 145.40 (79.60-198.70) ng/ml and 39.40 (31.67-45.80) ng/ml respectively. The serum levels of AFP in the four groups were 9.99 (4.20-81.13) ng/ml, 4.34 (1.16-26.22) ng/ml, 1.00 (0.86-1.87) ng/ml and 1.12 (1.00-1.96) ng/ml respectively. The serum levels of FER in the four groups were 176.27 (125.56-201.53) ng/ml, 151.74 (81.46-202.59) ng/ml, 119.55 (45.70-147.75) ng/ml and 106.67 (79.47-147.15) ng/ml respectively. The serum levels of CHI3L1, AFP and FER of the four groups showed statistically significant differences ( $H=92.39, H=52.08, H=33.25$ , all  $P<0.001$ ). The AUC of CHI3L1, AFP and FER alone was (0.822±0.033), (0.796±0.037) and (0.749±0.039) respectively. The AUC of combination of CHI3L1, AFP and FER was (0.877±0.027), which was higher than the AUC of CHI3L1, AFP and FER alone. **Conclusions** CHI3L1 is a potential marker for HCC diagnosis. The combination of CHI3L1, AFP and FER detection can improve the diagnosis of HCC.

**Key words:** HCC; chitinase-3-like protein 1; alpha-fetoprotein; ferritin; tumor marker

**基金项目:** 湖南省卫生计生委科研课题(B2017079)

**作者简介:** 毛玉环(1992-),女,湖南人,研究生,检验师,主要从事临床检验诊断工作。

**通信作者:** 谭黎明, E-mail: tanliming838@163.com。

原发性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是目前我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。侵袭力强、恶性程度高及难以早期发现等原因使疾病被诊断时多已达中、晚期,错过最佳治疗时机,预后也差。临床诊断原发性肝癌除影像学及细胞病理学方法外,检测血清中的肿瘤标志物也是一种快速、便捷并有效的方法。目前,甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是临床原发性肝癌早期筛查应用最为广泛的血清肿瘤标志物,但敏感度与特异度在不同研究中差异较大<sup>[2]</sup>,且在肝癌早期假阴性率高,易漏诊。据报道,铁蛋白(ferritin, FER)与 AFP 有密切关系,尤其是对 AFP 阴性的肝癌患者,FER 被称为第二血清学标志物<sup>[3]</sup>。近年来有研究显示,壳多糖酶 3 样蛋白 1(chitinase-3-like protein 1, CHI3L1)在肝癌组织及肝癌患者血清中均高表达<sup>[4]</sup>,CHI3L1 可作为 HCC 的预后标志物<sup>[5]</sup>,但目前 CHI3L1 作为一种肿瘤标志物用于 HCC 诊断方面的研究较少。临床应用提示单项血清学指标在诊断 HCC 时都存在局限性,因此本研究将探讨血清 CHI3L1、AFP 及 FER 单一及联合检测在原发性肝癌诊断中的价值与意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 4-9 月湖南省人民医院住院的 HCC 患者 61 例,男 35 例,女 26 例,年龄 34~74 岁;肝硬化患者 31 例,男 17 例,女 14 例,年龄 23~74 岁;慢性肝炎患者 31 例,男 19 例,女 12 例,年龄 31~73 岁;健康体检者 32 例,男 12 例,女 20 例,年龄 21~62 岁。各组在性别、年龄等一般情况方面差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具可比性。

1.1.1 入选标准 ①HCC、肝硬化及慢性肝炎的诊断符合卫生部“原发性肝癌诊断规范(2011 版)诊断标准”和“病毒性肝炎防治指南(2010 版)”<sup>[6-7]</sup>。②年龄大于 18 岁。

1.1.2 排除标准 ①女性孕期患者。②重度认知障碍、失语、智能损害、意识不清者。③合并心、肾、脑血管、内分泌系统等严重原发性疾病者。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 血清 CHI3L1 检测采用定量酶联免疫吸附法,采用杭州普望生物技术有限公司的 CHI3L1 检测试剂盒及上海科华的酶联免疫比色仪;血清 AFP 和 FER 采用电化学发光法,检测使用雅培化学发光仪及配套检测试剂,严格按照相关标准操作程序进行检测。

1.2.2 标本采集及检测 各组受试者均在清晨空腹

采集静脉血 3 ml,不抗凝,室温静置 15~30 min 后,2 800×g 离心 5 min,将血清转移至干净的 EP 管中,-80 ℃冰箱内冻存。在联合检测项目中,用并联试验诊断时,三指标中有一个阳性即诊断为阳性;串联试验诊断时,三指标均为阳性才能诊断为阳性。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析。血清 CHI3L1、AFP 及 FER 水平为非正态分布的计量资料,用  $M(P_{25} \sim P_{75})$  表示,采用非参数 Kruskal-Wallis  $H$  检验,判断各组间总体差异的显著性,各组间两两比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验。采用 logistic 回归分析产生三指标联合预测概率的新变量,绘制 ROC 曲线并计算曲线下面积,评价三指标单项及联合检测的诊断价值,采用  $Z$  检验比较联合检测与单项检测 ROC 曲线下面积(AUC)差异显著性(Medcalc 15.2 软件)。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 CHI3L1、AFP 及 FER 检测水平 血清 CHI3L1、AFP 及 FER 的检测水平在 HCC、肝硬化组、肝炎组和健康组间差异均有统计学意义( $H=92.39、52.08、33.25, P<0.001$ )。HCC 组 CHI3L1 水平显著高于肝炎组及健康组( $U=1\ 597.5、1\ 949.0, P<0.001$ ),但与肝硬化组相比差异无统计学意义( $U=1\ 164.5, P=0.07$ ),肝硬化组 CHI3L1 水平显著高于健康组及肝炎组( $U=989.0、687.0, P<0.05$ ),肝炎组 CHI3L1 水平显著高于健康组,差异有统计学意义( $U=976.0, P<0.001$ );HCC 组 AFP 水平显著高于健康组、肝炎组及肝硬化组( $U=1\ 734.5、1\ 597.0、1\ 234.5, P<0.05$ ),肝硬化组 AFP 水平显著高于肝炎组及健康组( $U=708.0、740.5, P<0.05$ ),肝炎组与健康组差异无统计学意义( $U=570.5, P=0.30$ );FER 水平在 HCC 组显著高于健康组、肝炎组及肝硬化组( $U=1\ 198.0、1\ 504.5、1\ 592.5, P<0.05$ ),FER 水平在肝硬化组显著高于健康组,差异有统计学意义( $U=649.0, P<0.05$ ),肝炎组 FER 水平与肝硬化组及健康组相比差异均无统计学意义( $U=604.0、499.0, P=0.08、0.97$ ),结果见表 1。

表 1 各组血清 CHI3L1、AFP 及 FER 检测结果比较 [ $M(P_{25} \sim P_{75})$ ]

组别	例数	CHI3L1 (ng/ml)	AFP (ng/ml)	FER (ng/ml)
HCC 组	61	258.60 (215.61~296.75)	9.99 (4.20~81.13)	176.27 (125.56~201.53)
肝硬化组	31	227.40 (127.10~285.20)	4.34 (1.16~26.22)	151.74 (81.46~202.59)
肝炎组	31	145.40 (79.60~198.70)	1.00 (0.86~1.87)	119.55 (45.70~147.75)
健康组	32	39.40 (31.67~45.80)	1.12 (1.00~1.96)	106.67 (79.47~147.15)

2.2 血清 CHI3L1、AFP 及 FER 单项及联合检测的 ROC 曲线分析

CHI3L1、AFP 及 FER 三项指标单项检测时,曲线下面积 (AUC) 分别 (0.822±0.033)、(0.796±0.037)、(0.749±0.039),95%可信区间分别为 0.757~0.886、0.727~0.868、0.672~0.826,均  $P<0.001$ 。通过 ROC 曲线分析将 CHI3L1、AFP 及 FER 辅助诊断 HCC 的临界值分别定为 206.40、9.0、170.89 ng/ml。以 CHI3L1、AFP 及 FER 三项指标的检测结果为协变量,以诊断结果为因变量,做 logistic 回归分析,得 HCC 的概率预测模型:

$$P=1/[1+e^{-(-4.213+0.012CHI3L1+0.014AFP+0.007FER)}]$$

同时计算出各对应新变量。预测概率模型行似然比检验,显示差异有统计学意义 ( $\chi^2=71.27, P<0.001$ )。将新变量做三指标联合检测的 ROC 曲线分析,得 AUC 为 (0.877±0.027),95%可信区间为 0.823~0.930,  $P<0.001$ ,见图 1 及表 2。三指标联合检测时 AUC 高于 CHI2L1、AFP 及 FER 单项检测,差异有统计学意义 ( $Z=2.30、2.24、3.25$ ,均  $P<0.05$ )。

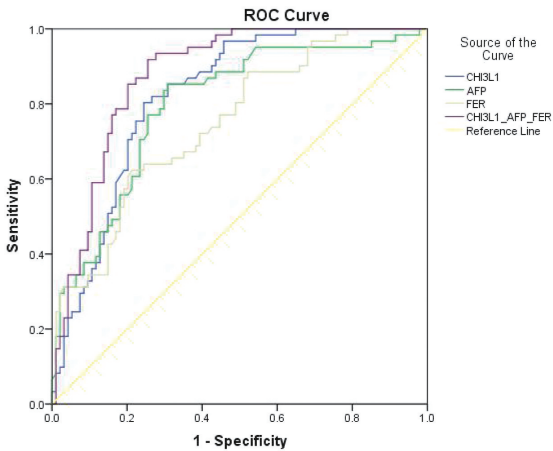


图 1 血清 CHI3L1、AFP 及 FER 单项及联合检测的 ROC 曲线分析

表 2 血清 CHI3L1、AFP 及 FER 诊断 HCC 的 ROC 曲线 AUC 分析

指标	AUC	SE	P 值	95%CI
CHI3L1	0.822	0.033	<0.001	0.757~0.886
AFP	0.796	0.037	<0.001	0.727~0.868
FER	0.749	0.039	<0.001	0.672~0.826
CHI3L1+AFP+FER	0.877	0.027	<0.001	0.823~0.930

2.3 血清 CHI3L1、AFP 及 FER 单项及联合检测对 HCC 的诊断价值比较

单项指标检测中,AFP 的特异度最高,为 81.98%,CHI3L1 的敏感度和准确度最高,分别为 80.33%、77.91%;两项指标检测中,

CHI3L1/FER 敏感度最高,为 93.44%,CHI3L1+AFP 的特异度,为 90.43%,CHI3L1/AFP 的准确度最高,为 77.41%;三项指标检测时,CHI3L1/AFP/FER 的敏感度及准确度最高,分别为 98.36%、76.13%,CHI3L1+AFP+FER 特异度最高,为 92.63%,见表 3。

表 3 血清 CHI3L1、AFP 及 FER 单项及联合检测对 HCC 的诊断价值比较

指标	敏感度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)
CHI3L1	80.33	75.53	77.91
AFP	55.74	81.91	72.14
FER	62.30	78.72	72.77
CHI3L1+AFP	45.90	90.43	72.90
CHI3L1+FER	47.54	90.42	73.54
AFP+FER	36.07	89.36	68.39
CHI3L1/AFP	90.16	69.14	77.41
CHI3L1/FER	93.44	64.89	76.12
AFP/FER	80.32	71.58	75.48
CHI3L1+AFP+FER	31.15	92.63	69.03
CHI3L1/AFP/FER	98.36	61.05	76.13

3 讨论

壳多糖酶 3 样蛋白 1 (CHI3L1) 又名 YKL-40,是一种含 383 个氨基酸,分子量为 42.6 kD 的单糖基化蛋白,是糖基水解家族成员之一,可与壳多糖相结合,却无壳多糖酶的活性。人类 CHI3L1 基因位于 1 号染色体 q31-32 上<sup>[8]</sup>,既可在免疫细胞中表达并分泌,如巨噬细胞、中性粒细胞,也可在非免疫细胞,如纤维母细胞、血管平滑肌细胞及内皮细胞;另外在肿瘤细胞系中也可见高表达<sup>[9-10]</sup>。目前,CHI3L1 具体的生物学机制还未完全明确,有研究表明,CHI3L1 可以与 RAGE 结合,促进肿瘤的发生,并可以通过激活 ERK1/2-MAPK 细胞信号通路,诱导肿瘤细胞的增殖<sup>[8]</sup>。Xiao 等<sup>[4]</sup>研究发现,CHI3L1 在肝细胞癌分子、细胞及组织水平高度表达。另外在急慢性炎症患者中也可见 CHI3L1 水平升高<sup>[9]</sup>。本研究中各组结果显示,随着疾病的进展,CHI3L1 水平逐渐升高,HCC 组患者显著高于健康组和肝炎组,差异有统计学意义,HCC 组与肝硬化组患者血清中的 CHI3L1 水平并无差异,这与 Xiao 等研究结果一致。可能是 CHI3L1 参与到了机体炎症、组织重塑及肿瘤发生的病理生理过程



中,而且 CHI3L1 的水平与病变的性质相关,组织重塑与肿瘤发生所引起的 CHI3L1 升高可能比炎症反应更明显,所以 CHI3L1 的水平对病变性质的判断有一定的作用,在 HCC 的诊断方面有很大的潜在价值。在预后方面,Pan 等<sup>[5]</sup>研究发现,CHI3L1 的表达与 HCC 肿瘤的大小、包膜侵犯、分期及转移有明显的相关性,HCC 中 CHI3L1 表达阳性的患者比阴性患者的生存期及疾病缓解期更短。

FER 是在肝脏合成的,且肝脏中含量最多,近年来研究发现,部分肿瘤细胞也可以合成分泌 FER,当肝细胞损伤或是发生肿瘤时会出现升高。在本实验中 FER 水平在 HCC 组显著高于健康组、肝炎组及肝硬化组,且差异有统计学意义,与袁星星等<sup>[11]</sup>结果相同,说明 FER 在 HCC 诊断方面有一定临床意义。AFP 是临床原发性肝癌早期筛查应用最为广泛的血清肿瘤标志物,其灵敏度为 39%~64%,特异度为 76%~91%<sup>[2]</sup>。AFP 在健康成人血中水平很低,HCC 患者体内因肝癌细胞可以合成分泌 AFP,所以血液中水平会升高,但不是所有肝癌细胞都会分泌 AFP。本实验 AFP 单项检测的灵敏度为 55.74%,特异度为 81.91%,灵敏度较低,应该是部分肝癌患者血中 AFP 水平不升高,呈假阴性所致。

近来大量研究显示,单项理想的肿瘤标志物现实中是不存在的,单项指标的检测总有其局限性,而多项指标的联合虽检测费用增加,却具有更好的互补作用。本研究中,在单项指标进行诊断时,CHI3L1 灵敏度和准确度最高。AFP 和 FER 都有较好的特异度,但灵敏度却较低,这与之前的研究相似<sup>[12]</sup>。因而临床采用 AFP 进行肝癌筛查时,漏诊率较高,但当检测水平超过临界值,诊断为肝癌的误诊率就会相应降低。三项指标在两两组合并联时,灵敏比单项指标都有提高,其中 CHI3L1/FER 最高,为 93.44%;而与 AFP 两两串联时,CHI3L1/AFP 的灵敏度达 90.16%,比 AFP 单项检测明显升高。相关研究表明 FER 与 AFP 关系密切,尤其在 AFP 阴性的可疑患者中,FER 可作为一项补充检查提高检出阳性率,可用于 HCC 的诊断<sup>[11]</sup>,而本实验中 AFP/FER 灵敏度较 AFP 单项检测确有较大升高。三项指标在两两组合串联时,CHI3L1+AFP 的特异度最高,为 90.43%,比 AFP 单项检测明显升高。三指标联合串联诊断的特异度(92.63%),并联诊断的灵敏度(98.36%),均明显高于单指标检测。ROC 曲线

分析显示 CHI3L1、AFP 及 FER 单项检测的 AUC 分别为(0.822±0.033)、(0.796±0.037)、(0.749±0.039),其中 CHI3L1 最大。logistic 回归分析预测三指标联合检测诊断的 ROC 曲线下 AUC 为(0.877±0.027),显著高于单项检测。可见联合检测在肝癌的诊断方面比单指标检测更有优势。

总体而言,CHI3L1 在肝癌诊断方面具有一定的潜在价值。AFP 与 FER 有较高的特异性,误诊率较低。与单项指标检测诊断 HCC 相比,联合诊断能弥补单项检测的不足之处,提高诊断效能,但本研究的病例数量有限,还需进一步的研究证明。

#### 参考文献

- [1] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer Statistics in China, 2015[J]. Ca Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [2] 喻超,黄早早,杨盛力,等.磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 联合甲胎蛋白检测对原发性肝癌诊断价值的 Meta 分析[J].中华肝胆外科杂志,2014,20(8):566-571.
- [3] Facciorusso A, Del Prete V, Antonino M, et al. Serum ferritin as a new prognostic factor in hepatocellular carcinoma patients treated with radiofrequency ablation[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2014, 29(11):1905-1910.
- [4] 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.
- [5] Pan JJ, Ge YS, Xu GL, et al. The expression of chitinase 3-like 1; a novel prognostic predictor for hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2013, 139(6):1043-1054.
- [6] 中华人民共和国卫生部.原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)[J].临床肝胆病杂志,2011,27(11):1141-1159.
- [7] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染学分会.病毒性肝炎防治指南(2010 版)[J].中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.
- [8] Kzhyskowska J, Yin S, Liu T, et al. Role of chitinase-like proteins in cancer[J]. Biol Chem, 2016, 397(3):231-247.
- [9] Libreros S, Iragavarapucharyulu V. YKL-40/CHI3L1 drives inflammation on the road of tumor progression[J]. J Leukoc Biol, 2015, 98(6):931-936.
- [10] Hamilton G, Rath B, Burghuber O. Chitinase-3-like-1/YKL-40 as marker of circulating tumor cells[J]. Transl Lung Cancer Res, 2015, 4(3):287-291.
- [11] 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.
- [12] 赵运胜,崔辰莹,张丽娜.血清 GP73 联合 AFP、CEA 及 FER 检测在肝癌诊断中的临床意义[J].实用医学杂志,2012,28(20):3465-3467.

收稿日期:2017-03-15