

· 述 评 ·

## 注重肝癌诊断模式研究——肝纤维化诊断模式带来的启发和思考

高春芳,吴孟超(第二军医大学东方肝胆外科医院,上海 200438)

**[摘要]** 原发性肝细胞癌(HCC)的早期诊断目前仍然是临床一大难题,以甲胎蛋白(AFP)为代表的肿瘤标志物及多种肝脏酶学、细胞因子、糖蛋白等的检测对 HCC 诊断具有一定价值,但实际应用中存在敏感性、特异性不高等诸多问题。多种肝纤维化(硬化)实验诊断模型的成功建立和运用提示,大样本临床研究是建立多参数数学诊断模型的前提条件,所建立的模型在临床大样本及随访病例中经过验证,具有较高的敏感性、特异性及可行性。因此,在 HCC 实验诊断中,建议重视合理、综合利用现有的多种实验室指标,这样既能提高早期诊断率,又能有效节约有限的医疗资源,是现阶段切实可行的提高原发性 HCC 诊断的有效手段。

**[关键词]** 癌,肝细胞;诊断;敏感性;特异性

**[中图分类号]** R 735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)12-1277-03

### More attention to be paid on diagnostic models of hepatocellular carcinoma: hint from liver fibrosis diagnostic models

GAO Chun-fang, WU Meng-chao (Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

**[ABSTRACT]** Early diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC) is still a great challenge in clinical practice. Tumor markers such as alpha-fetoprotein (AFP), liver enzymes, cytokines, and some special glycoproteins, though helpful, are not sensitive and specific enough for early diagnosis of HCC. The establishment of several interesting predictive diagnostic models on liver fibrosis/cirrhosis suggests that mathematic predictive model, which is developed based on large sample size and follow-up study, might be of higher sensitivity, specificity and feasibility in clinical application. Here we suggest that more attention should be paid to this kind of multi-parameter predictive diagnostic models clinically, so as to improve the early diagnosis of HCC in a more economical and feasible way.

**[KEY WORDS]** carcinoma, hepatocellular; diagnosis; sensitivity; specificity

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(12):1277-1279]

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是我国的高发病和常见病,在肝炎-肝纤维化(硬化)-肝癌的经典肝病发展模式,肝硬化及肝癌,特别是肝癌严重危害患者生存质量。以原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)为代表的原发性肝癌是我国男性的第二大死亡原因、女性的第五大死亡原因。在世界范围内每年 HCC 的发病人数约为 50 万人,占人类癌症发病人数的 6%,其中绝大多数病例出现在发展中国家,尤其是中国、东亚和非洲国家的发病率最高。HCC 患者的存活率非常低,通常由于诊断较晚而预后很差,当病变进展时,已失去了任何有效的治疗,因此早期诊断就显得尤为重要。目前以 HCC 为代表的肝脏恶性肿瘤的早期诊断仍然是临床一大难题。提高早期诊断率是从事肝癌实验诊断研究者的努力目标。

自 21 世纪初人类基因组计划完成以来,有关疾病蛋白组学的研究得到了蓬勃发展,疾病相关特异蛋白的研究也取得了长足进步。对 HCC 诊断具有意义的指标,主要包括以下几类:(1)胚胎抗原和糖

蛋白抗原类。以甲胎蛋白(AFP)为代表,其他还包括 AFP 异质体、糖链抗原 19-9(CA19-9)、磷脂酰肌醇(蛋白)聚糖 3(GPC3)<sup>[1]</sup>、高尔基体糖蛋白 73(Golgi protein-73, GP73)等。(2)酶和同工酶类。主要包括  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -glutamyl transferase, GGT)、脱  $\gamma$  羧基凝血酶原(des-gamma-carboxyprothrombin, DCP)、 $\alpha$ -岩藻糖苷酶(alpha-1-fucosidase, AFU)等<sup>[2]</sup>。本实验室的研究还发现碱性磷酸酶(ALP)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)及其比值(AST/ALT)与 HCC 及肿瘤大小具有一定相关性<sup>[3]</sup>。(3)细胞因子类。转化生

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30770994, 30571774);上海市科学委员会登山计划(064119522)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30770994, 30571774) and Mountaineering Program Foundation of Science and Technology Committee of Shanghai (064119522)。

**[作者简介]** 高春芳,博士,教授,博士生导师。  
E-mail: gaocf1115@yahoo.com

长因子- $\beta_1$  (transforming growth factor-beta 1, TGF- $\beta_1$ )是一种负性免疫调控因子,在 HCC 进程中参与肿瘤细胞的免疫逃逸,TGF- $\beta_1$  可作为一种潜在的肿瘤检测指标,联合 AFP 检测用于 HCC 诊断有良好的临床应用前景<sup>[4]</sup>。其他细胞因子包括肿瘤特异性生长因子(tumor-specific growth factor, TSGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF,主要为 IGF-I 和 IGF-II)<sup>[5]</sup>、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等也具有一定价值。(4)其他分子。外周血非细胞性 DNA、P28<sup>GANK</sup> 蛋白、组织多肽特异性抗原(tissue polypeptide specific antigen, TPSA)、血清 P53 抗原和 P53 抗体联合检测等均对 HCC 诊断具有一定价值<sup>[6-7]</sup>。目前应用蛋白质组学技术以及生物芯片技术分析血清蛋白质组来寻找 HCC 特异性分子,发现诸如 HSP27、C3a、细胞角质素 19(CK-19)、脂蛋白 Lp(a)、C 反应蛋白(CRP)等均可作为 HCC 的潜在肿瘤标志物<sup>[8]</sup>。2007 年本实验室与比利时根特大学实验室及北京大学附属医学院共同合作研究发现,N-糖组分析(GlycoHCC test)可辅助 HCC 的早期实验室诊断,与 AFP 联合应用后诊断敏感性和特异性从单纯用 AFP 的 71%、64% 分别提高至 74%、91%(*Hepatology*, 2007, in press),其中具体技术和数据在文献<sup>[9]</sup>中也有报道。

从上述诊断现状可以发现,到目前为止,HCC 的特异标志物仍处在艰苦的探索阶段。新的高特异性的肿瘤标志物的发现及应用需要经过长期的基础研究探索、检测方法考察、临床大样本的论证等漫长、艰苦的过程。理想的肝脏肿瘤标志物必须符合以下条件:(1)肝脏特异性,与其他组织器官无明确相关性;(2)不受肝、肾及网状内皮系统细胞廓清影响;(3)明确是病变肝组织或相关组织细胞产生;(4)具有明确的代谢半衰期及分泌途径;(5)有助于诊断、鉴别诊断、动态观察及疗效观察;(6)检测方法敏感、快速、简便,不需要特殊仪器;(7)由参考实验室进行标准化并有室间和室内质控,以保证结果的可比性。

非常遗憾的是目前尚没有符合理想标准的诊断指标可供临床使用。如何在现有诊断条件下合理选用相关指标并提高诊断敏感性和特异性是目前迫切需要解决的问题。

我们从另一大类肝病——肝纤维化的早期实验室诊断的多年研究中得到启示,多种诊断指标的综合运用,即综合诊断模型可弥补单个指标的不足,从而提高整体诊断敏感性和特异性。综合指标诊断模

型具备的优势特点是:(1)系多变量回归分析所获取的函数判别式;(2) $AUC > 0.8$ ,具有较高的使用价值;(3)指标易从临床实践中获取,方法学成熟,具有很强的可行性;(4)模型的建立先后经临床、病理验证,有一致性较高的诊断准确性(DA)、敏感性(Sens)、特异性(Spec)、阳性预测值(PPV)、阴性预测值(NPV)。

以肝纤维化的早期实验室诊断为例,自 2001 年以来,在国际一流杂志上发表的诊断模式超过 9 种,分别是:Fibrotest<sup>[10]</sup> (*Lancet*, 2001, 357: 1069-1075)、Forns 指数<sup>[11]</sup> (*Hepatology*, 2002, 36: 986-992)、APRI<sup>[12]</sup> (*Hepatology*, 2003, 38: 518-526)、FibroSpect<sup>[13]</sup> (*J Hepatol*, 2004, 41: 935-942)、纤维化可能性指数(FPI)<sup>[14]</sup> (*Hepatology*, 2004, 39: 1239-1247)、欧洲肝纤维化组模型(ELFG)<sup>[15]</sup> (*Gastroenterology*, 2004, 127: 1704-1713)、Fibrometer 模型<sup>[16]</sup> (*Hepatology*, 2005, 42: 1373-1381)、Hui 等预测模型<sup>[17]</sup> (*Am J Gastroenterol*, 2005, 100: 616-623)、上海肝纤维化组模型(SLFG)<sup>[18]</sup> (*Hepatology*, 2005, 42: 1437-1445)。分析这些模型中涉及的参数可以发现,多数参数是目前实验室常用的临床化学和临床免疫学或临床血液学检测指标,单独应用仅仅作患者的非特异性功能指标,但联合应用(可结合某些特殊项目)则诊断价值大大提高。其中 Fibrotest 诊断模型因适用于 HBV、HCV 感染后肝纤维化(硬化)的早期诊断,已在海外得到广泛认同和应用,并作为非创性诊断的参考体系。总之,这些诊断模型的建立无疑给临床疾病早期实验室诊断带来希望和可行性。如何在 HCC 的实验室诊断中借鉴肝纤维化的诊断模型,并建立具有较高诊断价值的诊断模型值得探索。如前所述,本实验室联合应用 GlycoHCC test 与 AFP,已经使我们初步看到了联合多项相关指标的优势,两者联合应用在相近诊断敏感性的前提下,诊断特异性提高近 30%。就临床常用指标而言,本实验室通过对临床近 1 000 例 HCC 大样本实验室多指标的回顾性研究,对 HCC 患者临床现有多项肝功能生物化学指标、血液学指标、肿瘤标志物、病毒标志物、病毒 DNA 水平进行了评价,分析了这些指标之间及其与 HBV 感染后 HCC 肿瘤大小、病理分级之间的相关性,发现了一些规律<sup>[3]</sup>,结果表明,HCC 肿瘤大小与患者的 AFP、CA19-9、AFU、ALP、GGT、AST、AST/ALT、白蛋白、白/球蛋白比值等多项指标有关,不同肿瘤大小的患者在 AFP、CEA、CA19-9、AFU、ALP、GGT、AST、AST/ALT、白蛋白、白/球蛋白比值上存在显著差异。肿

瘤的病理分级(分化程度)与 AFP、GGT、前白蛋白、AST/ALT 显著相关。不同病理分级(分化程度)的患者在前白蛋白、GGT 上存在显著差异。虽然上述指标除 AFP 等肿瘤标志物系癌变肝细胞直接产生外,白蛋白、前白蛋白、AST/ALT 等是肝功能指标,并不能直接反映肿瘤特征性改变,但由于肿瘤生长及大部分 HCC 患者存在肝硬化,可出现肝功能改变并与疾病程度相关,因此这些指标能从另一个侧面反映 HCC 患者的进展状况。2007 年 Ioannou 等<sup>[19]</sup>通过对 2 126 例肝硬化患者随访近 11 年,研究其 HCC 的发生并采用多参数模型分析,提出 BMI(体质指数)、HBV 核心抗体、血小板数量等是 HCC 发生的重要预测因素。因此,目前常用的多种临床指标的合理应用有望给临床诊断提供新的信息。这种合理组合并结合目前蛋白组、糖组的最新研究发现有望为临床 HCC 的早期诊断提供有效手段。

进行充分文献复习、大样本临床研究是建立多参数数学诊断模型的前提条件,所建立的模型在临床大样本及随访病例中进行验证,能客观考证诊断模型是否有效。我们相信建立适合我国国情的 HCC 实验室诊断模型,有利于提高临床 HCC 的早期诊断率,为改善这类患者以手术为主的综合治疗效果创造机会。由于慢性乙型病毒性肝病(CBH)在我国的高发性,以 HCC 为代表的肝胆系统的恶性肿瘤是危害我国人民健康的主要问题,早期诊断、早期治疗具有重要的现实意义,综合利用现有的多种实验室指标,既能提高早期诊断率,又能有效节约有限的医疗资源,是现阶段切实可行地提高 HCC 诊断率的有效手段。

## [参考文献]

[1] Capurro M, Wanless I R, Sherman M, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2003, 125: 89-97.

[2] Cui R, He J, Zhang F, et al. Diagnostic value of protein induced by vitamin K absence (PIVKA II) and hepatoma-specific band of serum gamma-glutamyl transferase (GGT II) as hepatocellular carcinoma markers complementary to alpha-fetoprotein[J]. *Br J Cancer*, 2003, 83: 1878-1882.

[3] 赵云鹏, 朱茜, 高春芳, 等. 原发性肝细胞癌 828 例临床实验室特征分析[J]. *第二军医大学学报*, 2007, 28: 1296-1301.

[4] Sacco R, Leuci D, Tortorella C, et al. Transforming growth factor beta 1 and soluble Fas serum levels in hepatocellular carcinoma[J]. *Cytokine*, 2000, 12: 811-814.

[5] Tsai J F, Jeng J E, Chuang L Y, et al. Serum insulin-like growth factor- II as a serologic marker of small hepatocellular carcinoma

ma[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2005, 40: 68-75.

[6] Iizuka N, Sakaida I, Moribe T, et al. Elevated levels of circulating cell-free DNA in the blood of patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(6C): 4713-4719.

[7] Higashitsuji H, Itoh K, Nagao T, et al. Reduced stability of retinoblastoma protein by gankyrin, an oncogenic gankyrin repeat protein overexpressed in hepatomas[J]. *Nature Med*, 2000, 6: 96-99.

[8] Marrero J A, Lok A S F. Newer markers for hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2004, 127: S113-S119.

[9] 赵云鹏, 高春芳, 房萌, 等. 原发性肝细胞癌患者血清 N-糖组的表达分析[J]. *第二军医大学学报*, 2007, 28: 1280-1283.

[10] Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, et al. MULTIVIRC Group. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study[J]. *Lancet*, 2001, 357: 1069-1075.

[11] Fornis X, Ampurdanès S, Llovet J M, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model[J]. *Hepatology*, 2002, 36: 986-992.

[12] Wai C T, Greenon J K, Fontana R J, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 2003, 38: 518-526.

[13] Patel K, Gordon S C, Jacobson I, et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients[J]. *J Hepatol*, 2004, 41: 935-942.

[14] Sud A, Hui J M, Farrell G C, et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index[J]. *Hepatology*, 2004, 39: 1239-1247.

[15] Rosenberg W M, Voelker M, Thiel R, et al. European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a Cohort study[J]. *Gastroenterology*, 2004, 127: 1704-1713.

[16] Calès P, Oberti F, Michalak S, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis[J]. *Hepatology*, 2005, 42: 1373-1381.

[17] Hui A Y, Chan H L, Wong V W, et al. Identification of chronic hepatitis B patients without significant liver fibrosis by a simple noninvasive predictive model[J]. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100: 616-623.

[18] Zeng M D, Lu L G, Mao Y M, et al. Prediction of significant fibrosis in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B by a noninvasive model[J]. *Hepatology*, 2005, 42: 1437-1445.

[19] Ioannou G N, Splan M F, Weiss N S, et al. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5: 938-945.

[收稿日期] 2007-09-24

[修回日期] 2007-10-17

[本文编辑] 邓晓群