

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00674

良恶性腹水鉴别诊断的实验室检查指标

罗蕾蕾^{1,2}, 陈建², 邵建国^{2*}

1. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210046
2. 南通市第三人民医院消化内科, 南通 226006

[摘要] 良恶性腹水的鉴别诊断在临床上具有极其重要的意义,尤其是恶性腹水的早期诊断相对更困难。临床上常规应用细胞学检查寻找癌细胞而确诊,但漏诊率较高,且阴性结果并不能排除肿瘤可能。越来越多新的检查方法和指标在临床工作中得到应用,取得初步成效,为良恶性腹水的鉴别诊断提供了依据。本文就良恶性腹水鉴别诊断的实验室检查指标研究进展作一综述。

[关键词] 腹水;鉴别诊断;端粒酶;DNA 倍体分析

[中图分类号] R 442.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)06-0674-04

Laboratory indicators for differential diagnosis of benign and malignant ascites

LUO Lei-lei^{1,2}, CHEN Jian², SHAO Jian-guo^{2*}

1. The First College of Clinical Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu, China
2. Department of Gastroenterology, The Third People's Hospital of Nantong, Nantong 226006, Jiangsu, China

[Abstract] The differential diagnosis of benign and malignant ascites is of great significance in clinic; the early diagnosis of malignant ascites is especially difficult. Definite diagnosis is usually based on conventional cytology to find cancer cells in the ascites in clinic, but the rate of missed diagnosis is high, and the negative outcome cannot exclude the presence of tumors. Currently, many new laboratory methods and indicators have been used clinically and have demonstrated primary efficiency in providing evidences for differential diagnosis of benign and malignant ascites. This article reviews the progress in laboratory indicators for differential diagnosis of benign and malignant ascites.

[Key words] ascites; differential diagnosis; telomerase; DNA ploidy analysis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(6):674-677]

腹腔积液或称腹水是由多种疾病引起的腹腔内液体积聚过多。一些肝脏、肾脏、心脏疾病和肿瘤等可引起腹水;因积液性质不同,可分为漏出液(非炎症性)、渗出液(炎症性)及乳糜样积液(淋巴液漏出),而渗出液又可分为脓性(细胞性感染)或血性(结核性或恶性肿瘤性等)两种。腹水常规检查包括一般物理性状的检查,如颜色、透明度、比重和凝固性;化学检查,如蛋白定量定性、葡萄糖、乳酸及乳酸脱氢酶;细菌学检查等。通过这些检查可鉴别腹水是漏出液还是渗出液,初步判别腹水的性质^[1]。

良恶性腹水的鉴别诊断一直是临床重视的问题。正常人腹腔内的游离液体不超过 200 ml,病理性腹水量要多于 1 500 ml,才会引起较明显的腹胀、腕腹膨大等临床症状与体征。但是对一些不明原因的腹水,临床症状与体征不明显,传统细胞学检查对恶性腹水诊断的阳性率低^[2],易致漏诊,

常延误治疗。实验室检查对鉴别腹水的性质,提供病原诊断具有重要意义,因此,本文就良恶性腹水鉴别诊断的实验室检查指标研究进展作一综述。

1 酶学指标及肿瘤标志物

腹水的酶学指标及肿瘤标志物已被认为是鉴别良恶性腹水的重要指标,一些酶学指标及肿瘤标志物的检测可以为良恶性腹水的鉴别提供重要依据。目前已经有多种酶学指标和肿瘤标志物在良恶性腹水鉴别诊断中的作用得到了广泛的证实。

1.1 乳酸脱氢酶 乳酸脱氢酶(LDH)是一种糖酵解酶,细胞损伤会释放大量的 LDH。人组织中的 LDH 用电泳法可以分离出 5 种同工酶区带,根据其电泳迁移率的快慢,依次命名为 LDH-1、LDH-2、LDH-3、LDH-4、LDH-5,不同组织的

[收稿日期] 2010-01-02 **[接受日期]** 2010-05-20

[基金项目] 南通市社会发展计划项目(S2008040)。Supported by Social Development Program of Nantong(S2008040)。

[作者简介] 罗蕾蕾,硕士生。E-mail: wood20022002@163.com

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel: 0513-85116115, E-mail: shaojianguo4144@yahoo.com.cn

LDH同工酶分布不同,存在明显的组织特异性。恶性肿瘤患者因组织破坏增加,血清和胸腹水中LDH的水平常升高,LDH及其同工酶LDH-5已被证实是评价某些恶性肿瘤预后的重要指标^[3-6]。通过对良恶性腹水LDH同工酶的比较,发现恶性腹水中LDH-4、LDH-5的比例明显高于良性腹水,而LDH-1的比例则完全相反。肝硬化腹水则以LDH-2为主。LDH也已经成为鉴别良恶性腹水的重要指标之一。癌性腹水LDH总活力远高于肝硬化腹水LDH总活力。若LDH腹水/血清比值 >1.0 ,则高度提示恶性腹水(须排除血性腹水和感染性腹水的影响)^[7]。

1.2 腺苷酸脱氢酶 腺苷酸脱氢酶(ADA)是一种与机体细胞免疫活性有重要关系的核酸代谢酶,广泛存在于人体细胞和体液中,其中T淋巴细胞的活性最高。在结核性腹水中,结核杆菌能激活T淋巴细胞系统,ADA的活性升高,ADA是结核性腹水的诊断性指标之一,灵敏度可达94%,特异性可达92%,而在恶性腹水中,ADA的变化常无明显特异性^[8]。另外胸苷激酶、 α -抗胰蛋白酶在恶性腹水的诊断中的作用也初步得到了证实,但其敏感性及其特异性需要进一步验证。

1.3 端粒酶 端粒酶是一种特殊的DNA聚合酶,由RNA和相关蛋白组成,含有引物特异识别位点,它能够以自身携带的RNA为模板,逆转录合成端粒DNA并添加于染色体末端,从而维持了端粒的稳定甚至使其永生^[9]。在正常体细胞中,端粒酶活性受限制,但在癌细胞和永生细胞系中其将被再激活。正常细胞的分裂次数有限,端粒酶的激活是细胞走向永生化的必要途径,而永生化又被认为是肿瘤恶化的必要步骤。肿瘤细胞的端粒长度很短,其继续缩短将导致染色体融合、细胞死亡,而端粒酶的激活可以维持端粒的长度,从而维持肿瘤的继续分裂、增殖和生存。端粒酶的激活,可能是肿瘤形成和发展的共同途径。目前的研究表明:端粒酶活性与肿瘤的发生密切相关,人类90%的肿瘤组织存在异常端粒酶活性,而正常组织细胞端粒酶活性低,甚至无端粒酶活性,因此端粒酶是一个不受组织器官限制的肿瘤标志物^[10-11]。由于端粒酶是通过维持端粒长度使细胞变成癌细胞,所以比其他肿瘤标志物更直接,特异性更强,恶性腹水的常见来源为肝癌、胃癌、直肠癌、卵巢癌等,而以上癌细胞均有检测出端粒酶被激活。研究表明,端粒酶活性的检测,对胃癌引起的腹水检出率(77%)要高于肝癌(25%),而在肝硬化引起的腹水中阳性率仅4%^[12]。Braunschweig等^[13]研究发现70%的细胞学阳性恶性腹水的端粒酶活性检测阳性,在细胞学阴性17例晚期肿瘤病例的腹水标本有11例端粒酶活性阳性。通过对腹水脱落细胞的端粒酶活性进行检测,有助于良恶性腹水的鉴别诊断。

1.4 肿瘤标志物 肿瘤标志物AFP、CEA及其CA19-9、CA125、CA15-3、CA50等是良恶性腹水的重要指标。血清AFP在原发性肝细胞癌(HCC)的阳性率为70%~90%,已被广泛用于HCC的普查、诊断、疗效判断和复发预测。Miédougé等^[14]研究发现腹水AFP明显低于血清AFP,而当血清AFP >18.9 mg/L,同时腹水AFP >4.0 mg/L时,HCC的诊断特异性达97%,而灵敏度也有67.7%。CEA是主要

存在于胃、直肠、结肠癌组织和胚胎肠黏膜上的一种糖蛋白抗原,腹水CEA的检测可以为良恶性腹水鉴别提供依据,特别胃肠道肿瘤的腹腔转移所致的腹水,CEA往往呈不同程度的升高。Jung等^[15]对进展期胃癌伴腹水患者的血清和腹水CEA值进行了对比研究,结果显示中位数腹水CEA值显著高于血清CEA值(130.5 ng/ml vs 2.1 ng/ml),当腹水CEA >5 ng/ml时提示预后不佳,故腹水CEA值可成为判断腹水性质及相关预后的标志物。而CA19-9、CA125、CA15-3、CA50也对良恶性腹水的鉴别及其原发肿瘤的来源提供了依据^[16-17]。

2 DNA倍体分析

人体正常的体细胞均具有比较稳定的DNA二倍体含量,当人体发生癌变或具有恶性潜能的癌前病变时,在其发生、发展过程中可伴随细胞DNA含量的异常改变。非整倍体是恶性肿瘤的特征性标志之一。测量和分析细胞核DNA含量与倍体对恶性肿瘤的病理诊断、恶性程度判定、疗效估价、预测预后具有重要价值^[18]。恶性腹水有一定数量癌细胞分裂像,并有明显的染色体异常改变DNA,DNA非整倍体细胞峰的存在是恶性腹水诊断的依据之一。通过对腹水脱落细胞DNA检测可以为良恶性腹水的诊断提供有力的依据^[19-20]。流式细胞术(FCM)是目前较常用DNA定量分析的实验室技术之一,流式细胞术是利用流式细胞仪对微小生物颗粒物的多种物理、生物学特性进行定量分析检测的技术,FCM可精确定量DNA含量的改变,是诊断恶性肿瘤一个非常有价值的实验室方法,有助于良恶性的鉴别诊断^[21]。目前的报道都证实FCM的DNA定量分析可作为细胞学的辅助手段,其特异性高达79.0%,而灵敏度为75.6%,准确率为77.6%,若与其他方法联合检测,则可提高灵敏度,大大提高其在良恶性腹水鉴别诊断中的价值^[22]。

3 免疫细胞化学

免疫细胞化学是利用抗原与抗体特异性结合的原理,通过化学反应使标记抗体的显色剂(荧光素、酶、金属离子、同位素)显色来确定细胞内抗原的成分(主要是多肽和蛋白质),对其进行定位、定性及定量研究。通过腹水脱落细胞的免疫细胞化学检测,不但可以对良恶性腹水进行鉴别诊断,而且通过对脱落细胞的免疫细胞化学分析可以帮助确定恶性细胞的来源,为寻找原发灶提供依据。CEA、BerEp4和上皮细胞膜抗原(EMA)是区分腺癌和间皮瘤的重要标志抗原,BerEp4⁻、CEA⁻和mEMA⁺一般为间皮瘤,敏感度为47%,而BerEp4⁺、CEA⁺和mEMA⁻一般为腺癌,敏感度达80%^[23]。Dejmek等^[24]还通过增加弹性蛋白、HBME-1、血栓调节蛋白、CA125、sialyl-Tn及透明质酸等标志抗原可以大大提高鉴别间皮瘤和腺癌的灵敏度和特异性。通过细胞角蛋白(cytokeratin,CK)CK7、CK20可初步判断腺癌的来源,CK7⁻/20⁺表明肿瘤来源于结肠,CK7⁺/20⁻则表明肿瘤可能来源于肺、卵巢、子宫内膜等^[25]。目前已经涌现了越来越多的抗原应用于良恶性腹水的鉴别,而这些抗原和更多更多的抗原将得到进一步的验证,成为良恶性腹水鉴别的新

的有效手段。

4 其他指标

血清腹水白蛋白梯度(SAAG)是血清白蛋白与腹水白蛋白之间的差值。通常认为 SAAG \geq 11 g/L 提示腹水为门脉高压引起(肝硬化常见),而 SAAG \leq 11 g/L 则为非门脉高压性腹水(恶性肿瘤、结核性腹膜炎等)。恶性腹水 SAAG 较低的原因是肿瘤细胞释放的血管活性物质使得腹腔表面血管通透性增加,从而使得较多蛋白进入腹腔。然而,结核性腹膜炎、肾病综合征通常 SAAG $<$ 11 g/L,而当肝硬化患者合并原发性腹膜炎时,其 SAAG 也可以 $<$ 11 g/L。Khandwalla 等^[26]研究认为,当肝硬化腹水患者 SAAG $<$ 11 g/L 时,其对腹水性质的诊断价值较非肝硬化腹水患者小。

胆固醇在良恶性腹水鉴别诊断中的价值也得到了证实,恶性肿瘤组织的异常增殖导致了机体胆固醇代谢紊乱。通过对血清腹水白蛋白梯度(SAAG)、腹水 pH 值、腹水葡萄糖含量、腹水血清蛋白比例、腹水白细胞计数及腹水胆固醇等指标的比较发现,腹水胆固醇 $>$ 700 mg/L,诊断效率可以达到 94%(灵敏度 100%、特异性 88%),而 SAAG 的诊断效率仅 86%,其他指标的诊断效率均低于 80%^[27]。

恶性胸腹水中 cell-free BIRC5 mRNA 的表达明显高于良性胸腹水,其对恶性胸腹水检出的灵敏度和准确率分别为 79.0%、81.3%,若结合 CEA 检测,则灵敏度、准确率可达 86.4%、88.4%^[28]。Bala 等^[29]研究认为腹水¹H NMR 光谱测定亦可作为分辨良恶性腹水的一种方法,它通过定量检测某些代谢产物的浓度予以区分良恶性,研究结果显示:恶性腹水中 β -羟基丁酸酯、乳酸等的浓度明显高于良性腹水中的浓度,而柠檬酸、酪氨酸等浓度在良性腹水中较高,在恶性腹水中则较低,其灵敏度和特异性为 100%、97.9%,而试验中腹水蛋白检测及 SAAG 测定的灵敏度和特异性分别为 53.3%和 76.6%、60%和 87.2%。另有试验者提出血清、腹水中瘦素(leptin)水平及比值在恶性腹水组中明显低于肝硬化腹水、结核腹水组及健康组^[30],但确切价值仍有待进一步验证。

综上所述,虽然酶学指标、肿瘤标志物、DNA 分析、端粒酶活性测定及免疫细胞化学等方法已经得了广泛或初步的应用,但目前对良恶性腹水的鉴别诊断临床工作仍缺乏一套可行的标准。在未来的研究中可以通过联合一些较为成熟的指标建立一套适用于临床的实用方法。

[参考文献]

[1] 袁帅,张焜和. 恶性胸/腹水的实验诊断研究现状[J]. 中国实验诊断学,2008,12:815-817.

[2] 吕永晨,黄维莉. CA125 端粒酶及细胞学联合诊断良恶性腹水的临床研究[J]. 中国民康医学,2009,21:1921-1944.

[3] Lossos I S, Intrator O, Berkman N, Breuer R. Lactate dehydrogenase isoenzyme analysis for the diagnosis of pleural effusion in haemato-oncological patients[J]. Respir Med, 1999, 93: 338-341.

[4] Cobben N A, van Belle A F, Pennings H J, Mulder P G, van Diejen-Visser M P, Wouters E F, et al. Diagnostic value of lac-

tate dehydrogenase isoenzyme pattern in pleural effusions[J]. Eur J Clin Chem Clin Biochem, 1997, 35: 523-528.

[5] Koukourakis M I, Giatromanolaki A, Winter S, Leek R, Sivridis E, Harris A L. Lactate dehydrogenase 5 expression in squamous cell head and neck cancer relates to prognosis following radical or postoperative radiotherapy[J]. Oncology, 2009, 77: 285-292.

[6] Kolev Y, Uetake H, Takagi Y, Sugihara K. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) expression in human gastric cancer: association with hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) pathway, angiogenic factors production and poor prognosis[J]. Ann Surg Oncol, 2008, 15: 2336-2344.

[7] Sevinc A, Sari R, Fadillioglu E. The utility of lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in the diagnostic evaluation of malignant and nonmalignant ascites[J]. J Natl Med Assoc, 2005, 97: 79-84.

[8] Burgess L J, Swanepoel C G, Taljaard J J. The use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for peritoneal tuberculosis[J]. Tuberculosis (Edinb), 2001, 81: 243-248.

[9] Hiraoka Y, Haraguchi T. Mechanism of chromosome protection by telomere and telomerase[J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 2010, 55: 104-107.

[10] Rodriguez-Brenes I A, Peskin C S. Quantitative theory of telomere length regulation and cellular senescence. [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 5387-5392.

[11] Herbert G S, Sohn V Y, Mulcahy M J, Champeaux A L, Brown T A. Prognostic significance of reactivation of telomerase in breast core biopsy specimens[J]. Am J Surg, 2007, 193: 547-550.

[12] Li C P, Huang T S, Chao Y, Chang F Y, Whang-Peng J, Lee S D. Advantages of assaying telomerase activity in ascites for diagnosis of digestive tract malignancies[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10: 2468-2471.

[13] Braunschweig R, Yan P, Guilleret I, Delacretaz F, Bosman F T, Mihaescu A, et al. Detection of malignant effusions: comparison of a telomerase assay and cytologic examination[J]. Diagn Cytopathol, 2001, 24: 174-180.

[14] Miédougé M, Salama G, Barange K, Vincent C, Vinel J P, Serre G. Evaluation of alpha-fetoprotein assay in ascitic fluid for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Clin Chim Acta, 1999, 280(1-2): 161-171.

[15] Jung M, Jeung H C, Lee S S, Park J Y, Hong S, Lee S H, et al. The clinical significance of ascitic fluid CEA in advanced gastric cancer with ascites[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136: 517-526.

[16] 吴福敢. 检测腹水中 AFP、CEA、CA125 及 CA153 对恶性腹水的诊断价值[J]. 中国医学创新, 2009, 6: 134-135.

[17] Topalak O, Saygili U, Soyuturk M, Karaca N, Batur Y, Uslu T, et al. Serum, pleural effusion, and ascites CA-125 levels in ovarian cancer and nonovarian benign and malignant diseases: a comparative study[J]. Gynecol Oncol, 2002, 85: 108-113.

[18] 王书奎, 周振英, 王自正, 杜同信, 傅雷. 恶性肿瘤细胞 DAN 倍体分类方法的改进及其临床应用[J]. 标记免疫分析与临床 2005, 12: 87-92.

[19] Motherby H, Pomjanski N, Kube M, Boros A, Heiden T,

- Tribukait B, et al. Diagnostic DNA-flow-*vs.* - image-cytometry in effusion cytology[J]. *Anal Cell Pathol*, 2002, 24; 5-15.
- [20] Lazcano O, Chen L M, Tsai C, Li C Y, Katzmann J A, Sebo T J, et al. Image analysis and flow cytometric DNA studies of benign and malignant body cavity fluids: reappraisal of the role of current methods in the differential diagnosis of reactive *versus* malignant conditions[J]. *Mod Pathol*, 2000, 13; 788-796.
- [21] D'Urso V, Collodoro A, Mattioli E, Giordano A, Bagella L. Cytometry and DNA ploidy: clinical uses and molecular perspective in gastric and lung cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2010, 222; 532-539.
- [22] Zhang W, Tong Q, Wang X, Wang Q, Li S. T lymphocyte subsets determination and DNA ploidy analysis in the differential diagnosis between benign and malignant ascites[J]. *Cancer Invest*, 2009, 27; 67-69.
- [23] Dejmek A, Hjerpe A. Reactivity of six antibodies in effusions of mesothelioma, adenocarcinoma and mesotheliosis: stepwise logistic regression analysis[J]. *Cytopathology*, 2000, 11; 8-17.
- [24] Dejmek A, Hjerpe A. The combination of CEA, EMA, and BerEp4 and hyaluronan analysis specifically identifies 79% of all histologically verified mesotheliomas causing an effusionP[J]. *Diagn Cytopathol*, 2005, 32; 160-166.
- [25] Blumenfeld W, Turi G K, Harrison G, Latuszynski D, Zhang C. Utility of cytokeratin 7 and 20 subset analysis as an aid in the identification of primary site of origin of malignancy in cytologic specimens[J]. *Diagn Cytopathol*, 1999, 20; 63-66.
- [26] Khandwalla H E, Fasakin Y, El-Serag H B. The utility of evaluating low serum albumin gradient ascites in patients with cirrhosis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2009, 104; 1401-1405.
- [27] Rana S V, Babu S G, Kocchar R. Usefulness of ascitic fluid cholesterol as a marker for malignant ascites[J]. *Med Sci Monit*, 2005, 11; CR136-CR142.
- [28] Wang T, Qian X, Wang Z, Wang L, Yu L, Ding Y, et al. Detection of cell-free BIRC5 mRNA in effusions and its potential diagnostic value for differentiating malignant and benign effusions [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125; 1921-1925.
- [29] Bala L, Sharma A, Yellapa R K, Roy R, Choudhuri G, Khetrapal C L. ¹H NMR spectroscopy of ascitic fluid: discrimination between malignant and benign ascites and comparison of the results with conventional methods[J]. *NMR Biomed*, 2008, 21; 606-614.
- [30] Buyukberber M, Koruk M, Savas M C, Gulsen M T, Pehlivan Y, Deveci R. Leptin levels in the differential diagnosis between benign and malignant ascites[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13; 398-402.

[本文编辑] 贾泽军

· 书 讯 ·

《有机化学学习指导(第2版)》已出版

本书由吴秋业等主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0018-8,32开,定价:26.00元。

本书是配合《有机化学》(二军大第2版)编写的配套用书。为方便使用,本书在章节编排上与教材一致。每章均由内容精讲、重点难点、习题及习题参考答案4部分组成。本书最后还选编了6套综合测试题(附参考答案)供练习、巩固以提高综合解题能力。书中多数习题是根据现行课程标准要求并结合编者多年教学实践,从历年的课堂练习和考题中精选而得。

本书可作为高等医学院校临床医学、麻醉学、护理学、中医学等本科专业学生的教学辅助用书,也可供相关专业人员参考。

该书由第二军医大学出版社出版发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.com>