

联合检测血清E-钙粘蛋白和AFP 在肝癌中的表达及术后复发的意义

袁林¹ 徐又先^{1*} 沈世强² 卢欣¹

1. 柳州市人民医院肝胆外科, * 妇科, 广西 柳州 545006 ;
2. 武汉大学人民医院普通外科, 湖北 武汉 430030

[摘要] **背景与目的:** E-钙粘蛋白(E-cadherin, EC)是维持上皮细胞的极性及细胞间连接的糖蛋白,被认为与肝细胞癌的发生、发展密切相关。本研究联合检测肝细胞癌患者手术前后血清可溶性E-钙粘蛋白(soluble E-cadherin, sEC)和甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)的表达,探讨其临床意义及在复发中的价值。**方法:** 采用酶联免疫吸附(ELISA)和放射免疫法检测(RIA)检测105例肝细胞癌患者手术前后及70例健康人sEC和AFP的水平,分析术前sEC和AFP的水平与临床病理特征的关系,并对手术后复发的47例肝癌患者的sEC和AFP水平进行分析。**结果:** 肝细胞癌患者术前sEC和AFP水平显著高于健康人,手术1周后sEC和AFP水平较术前显著下降。术前sEC水平与肝细胞癌TNM分期密切相关($P<0.01$),与肿瘤分级,有无门静脉癌栓、有无包膜相关($P<0.05$),与年龄、肿瘤大小无关($P>0.05$)。术前AFP水平与肝细胞癌TNM分期密切相关($P<0.05$),与年龄、肿瘤大小、肿瘤分级、有无门静脉癌栓、有无包膜无相关性($P>0.05$)。当确诊为肝癌复发时,sEC水平也明显高于术后($P<0.01$)。**结论:** 肝细胞癌术前sEC水平与临床分期有关,可作为一种肝细胞癌预后和复发预测因子。联合检测sEC、AFP可以更好地预测肝癌的复发。

[关键词] 可溶性E-钙粘蛋白; 甲胎蛋白; 肝细胞癌; 联合检测

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.06.008

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2013)06-0447-05

To study expression and recurrence significance of uniting soluble E-cadherin and AFP pre-and postoperative in hepatocellular carcinoma YUAN Lin¹, XU You-xian^{1*}, SHEN Shi-qiang², LU Xin¹ (1. Department of General Surgery, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou Guangxi 545006, China; 2. Department of General Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan Hubei 436000, China)

Correspondence to: YUAN Lin E-mail: yuanl135@sina.com

[Abstract] **Background and purpose:** E-cadherin (EC) is a type of glycoprotein, which could maintain epithelial polarity and cell-cell junction. It is thought to be associated with the development and progression of hepatocellular carcinoma (HCC). The study aimed to detect expression of uniting detection sEC and AFP before and after operation in patients, and to monitor recurrence of postoperative. **Methods:** The levels of sEC and AFP in 105 HCC patients were tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunoassay (RIA) before and after operation as well as in 70 healthy controls. Theirs correlation with clinical and pathological factors was analyzed. We analyzed the level of plasma sEC and AFP of 47 patients who had been suffered from the hepatocellular carcinoma operation and relapse. **Results:** The levels of sEC and AFP in HCC patients before operation were significantly higher than in controls, which declined significantly one week after operation. The sEC level before operation showed significant correlation with TNM staging ($P<0.01$), edmondson grade, the carcerous thrombi within the portal vein and the capsule of carcinoma ($P<0.05$), but not with age of patients or the tumor size ($P>0.05$). While AFP only correlation with TNM staging ($P<0.05$), not with others factors ($P>0.05$). When the recurrence was confirmed, the level of sEC was much higher significantly than the level postoperation ($P<0.01$). **Conclusion:** The levels of sEC in HCC patients before operation are closely related with prognosis and recurrence of HCC. The unites detection of sEC+AFP may be a predictive factor for recurrence of postoperation.

[Key words] Soluble E-cadherin; Alpha-fetoprotein; Hepatocellular carcinoma; United detection

原发性肝癌是常见的消化道恶性肿瘤之一, 其发病率居我国恶性肿瘤的第3位。早期诊断及预防术后复发是保障肝细胞癌治疗效果的关键^[1]。关于肝癌的早期诊断和复发研究中, 某些生长因子水平的变化是当前研究的新热点。我们的前期研究发现, E-钙粘连蛋白(E-cadherin, EC)的表达与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的浸润和转移密切相关。本研究联合测定肝癌患者血清可溶性E-钙粘连蛋白(soluble E-cadherin, sEC)和甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)水平, 进一步了解sEC和AFP对HCC早期诊断和复发监测意义。

1 资料和方法

1.1 临床资料

对象选自2007年9月—2009年12月在柳州市人民医院行HCC根治性切除术患者105例, 其中男性64例, 女性41例, 年龄27~70岁, 中位年龄49.8岁。HCC诊断以UICC^[2]为标准, 所有研究对象均为初治, 术前均未接受过任何药物治疗或放疗。收集同期健康体检者70例作为对照, 其中男性41例, 女性29例, 年龄25~64岁, 中位年龄48.1岁。健康体检者血细胞计数、血脂、肝肾功能均在正常范围。

1.2 血清样本收集与处理

患者手术前与手术后第7~9天的外周血采集后立即放入4℃冰箱静置20 min。4℃ 2 800 × g离心15 min分离血清, 离心机为北京医用离心机LD-2A。将血清转移到新的离心管中, 放入-80℃冰箱保存。检测前取出血清样品, 冰上融化后, 4℃ 8 377 × g离心10 min, 除去血清中的不溶物。AFP采用放射免疫法, sEC的血清水平采用ELISA方法检测, AFP试剂购自中国原子能科学院, ELISA试剂盒购自美国R & D公司。整个过程均由专人进行盲法测定, 操作按照仪器和试剂使用说明书进行。AFP正常值为0~20 ng/mL, 以AFP ≥ 100 ng/mL为阳性, 以

sEC ≥ 2 100 ng/mL为阳性。

1.3 随访

手术患者术后定期随访, 术后第1年每个月1次, 第2年后每2个月1次, 检查内容包括AFP、sEC、肝功能测定和影像学检查(肝脏B超、CT、MRI或血管造影等), 当AFP或sEC水平异常增高时, 则随访改为每个月1次。复发确诊的依据: 血清AFP较手术后明显升高, 并结合肝脏B超或CT或MRI或血管造影等提示肝脏占位性病变或再次手术后病理证实。随访采用门诊复查、电话及书信进行。

1.4 统计学处理

采用SPSS 17.0软件包分析, 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数用t检验, 率的比较采用 χ^2 检验, 相关性采用直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 随访结果

随访截止到2012年10月30日, 随访时间为3~58个月, 中位随访时间为25.2个月。其中有17例患者失访。最后确诊为HCC术后复发的患者47例, 其中1次手术后复发36例, 2次手术后复发8例, 3次手术后复发3例。复发时, AFP阳性(≥ 100 ng/mL)29例, AFP阴性(< 20 ng/mL)18例; 复发肿瘤与原发灶位于一侧半肝内27例, 位于对侧半肝或全肝受累9例, 位于同一肝段内11例。复发肿瘤单个或多个结节相加直径为1.3~4.5 cm, 平均为2.8 cm; 复发时间4~54个月, 平均为10.6个月。

2.2 血清sEC、AFP在HCC患者术前、后及复发与健康人中的表达比较

HCC患者术前sEC和AFP明显高于术后及健康对照者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。确诊复发患者血清sEC明显高于术后和健康对照, 差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。确诊复发患者血清AFP也高于术后和健康对照者, 但差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。

表1 健康人及HCC患者手术前后和确诊复发时AFP和sEC值的变化

Tab. 1 The serum values of AFP and sEC between pre-and postoperation and recurrence in HCC with healthy control

Group	Case	sEC/ng·mL ⁻¹	AFP/ng·mL ⁻¹
Preoperation	105	2 652.5±221.7**	609.7±53.3**
Postoperation	105	2 011.8±189.8*	56.5±42.4*
Recurrence	47	2 343.6±280.1* ^{△△}	103.6±28.7 ^{△#}
Healthy control	70	1 989.6±213.4	60.1±40.7

*: Compared with preoperation, $P<0.01$; [△]: Compared with postoperation, $P<0.05$; **: Compared with health control, $P<0.01$; [#]: Compared with health control, $P<0.05$.

2.3 HCC患者手术前和确诊复发时AFP和sEC阳性率

手术前AFP、sEC阳性分别为73例(69.5%)和93例(88.6%)，两者同时阳性59例(56.2%)。确诊为HCC复发时AFP、sEC阳性分别为54例(51.4%)和84例(80.0%)，两者同时阳性43例(41.0%)，与手术前相比，阳性率均有所下降；两者中任一项阳性病例，其中术前共98例(93.3%)，术后复发94例(89.5%)高于sEC($P<0.05$)或AFP($P<0.05$)单独的阳性率，sEC阳性率高于AFP($P<0.01$)。另6例术后复发的HCC患者，AFP一直为阴性，影像学检查已经发现肝占位病变，而sEC水平已在此前1~6个月明显增高。

表2 各标志物单独与联合检测对HCC诊断价值比较

Tab. 2 The clinical diagnostic significance of tumour marker sEC and AFP in HCC

Tumor marker	Sensitivity ($\times 10^{-2}$)	Specificity ($\times 10^{-2}$)	Positive predictive value ($\times 10^{-2}$)	Negative predictive value ($\times 10^{-2}$)
sEC	88.6	82.5	87.0	88.2
AFP	75.6	87.4	61.1	72.4
sEC+ AFP	98.0	80.7	83.8	95.6

3 讨论

AFP作为肝癌的辅助诊断指标已被公认^[3]，但仍有30%~40%的原发性肝癌患者血清AFP呈阴性^[4]。且某些良性肝病患者也出现AFP升高，给临床诊断带来一定困难。EC是维持上皮细胞的极性及其细胞间连接的糖蛋白，在肿瘤的发生、浸润和转移中起着重要作用^[5]，我们的前期研究也表明，EC参与了肝癌的发生、发展^[6]。EC在近跨膜区域有一酶切位点，可经胰酶作用形成相对分子质量为 80×10^3 的可

2.4 单独与联合检测对HCC术前的诊断价值

单独检测AFP、sEC时，灵敏度sEC高，特异度AFP高；将两者联合(以其中任一项阳性即判为阳性)后，灵敏度、特异度均有较大提高(表2)。

2.5 sEC与AFP对术前HCC诊断及术后复发诊断的相关性分析

相关分析表明，sEC、AFP水平在HCC术前呈正相关($r=0.631$, $P<0.01$)；在HCC术后复发也呈正相关($r=0.324$, $P<0.05$)；而HCC术后无相关性($r=0.198$, $P>0.05$)。

2.6 HCC术前血清sEC、AFP水平与临床病理特征的关系

结果显示，其表达与HCC临床分期及分级显著相关，分期较晚及低分化患者的血清sEC水平较早期患者明显升高，差异有统计学意义($P<0.01$)。此外，与有无门静脉癌栓、腹水、有无包膜的差异有统计学意义($P<0.05$)。但与不同年龄及肿瘤大小的差异无统计学意义($P>0.05$)。而术前AFP水平仅与HCC的TNM分期密切相关($P<0.05$)，与年龄、肿瘤大小、肿瘤分级、有无门静脉癌栓、有无包膜的差异无统计学意义($P>0.05$, 表3)。

溶性片段，该片段被认为是完整EC分子的降解形式，能在健康人的体液中检测到，称为可溶性EC(sEC)。与肿瘤组织标本相比，血清学指标具有简便、微创、重复性好及利于随访等优点。有研究发现，手术前和化疗前sEC的血清水平是多种上皮来源恶性肿瘤的独立预后因素，并能早期预测术后复发^[7-8]。

我们对HCC患者术前AFP、sEC血清学检测的水平作相关性研究，结果发现，AFP、sEC在术前血清水平呈正相关($r=0.631$, $P<0.01$)。因而推测，sEC可作为与AFP相同的肝癌血清检测标志物。本研究结果还显示，HCC患者术

表 3 HCC病理学参数与血清sEC和AFP水平的关系

Tab. 3 Correlation between sEC and AFP expression and clinicopathological factors in HCC

Variable	n	sEC		AFP	
		$\bar{x}\pm s$	P	$\bar{x}\pm s$	P
(ng/mL)					
Age/year					
<40	29	2711.1±181.3	1.033	700.2±141.5	1.273
≥40	76	2612.4±207.1		597.7±258.8	
Tumor size/cm					
<5	37	2602.5±213.6	0.374	609.7±153.3	0.799
≥5	68	2526.5±251.3		611.8±133.1	
Edmondson grade					
I	29	2097.1±306.9	0.009	405.9±171.8	0.105
II	21	2402.5±212.8		609.7±153.3	
III	35	2648.5±198.9		623.4±153.3	
IV	20	2699.5±259.7		719.7±123.9	
TNM stage					
I	26	2109.5±221.7	0.006	409.9±159.1	0.012
II	37	2501.1±202.7		600.7±135.7	
III	42	2902.5±191.0		729.7±181.3	
Capsule of tumor					
Yes	41	2252.5±177.9	0.032	488.1±133.8	2.211
No	64	2601.5±199.7		623.0±253.5	
Carceros thrombi of portal vein					
Yes	67	2792.4±278.2	0.027	919.4±99.9	0.942
No	38	2099.2±237.9		400.1±301.3	
Ascites					
Yes	74	2851.5±251.1	0.018	789.2±142.6	0.112
No	31	2212.3±206.6		447.7±167.5	

前血AFP、sEC的水平明显高于术后和健康者($P<0.05$)。手术前AFP、sEC阳性率分别为69.5%和88.6%，sEC术前检测HCC的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值均高于AFP，表明sEC诊断术前HCC可能有更高的价值。

本研究结果显示，HCC患者复发时血清中sEC、AFP水平明显高于术后和健康对照者，且在确诊复发患者血清sEC的水平明显高于术后和健康者差异均有统计学意义($P<0.05$)；而血清AFP的水平虽然也升高，但与术后和健康对照者相比差异无统计学意义($P>0.05$)，表明sEC较AFP能更好地预测肝癌的复发。对6例术后复发的AFP一直为阴性的HCC患者的sEC水平比较，也证实了这一点。

本研究还发现：HCC患者AFP阳性率为69.5%，尚有30%左右的患者被漏诊，因而，寻找与AFP有联合作用一种或多种肿瘤标志物，对HCC的诊断与鉴别诊断具有重要意义。单一的标志物作为诊断肝癌复发的指标均有不同程度的局限性，联合检测能提高其检出率，是解

决不同标志物假阳性和假阴性的有效途径，也是血清学诊断方法发展的必然趋势。对术前灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值的比较发现，灵敏度sEC高(88.6%)，特异度AFP高(87.4%)。将两者联合(以其中任一项阳性即判为阳性)后，灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值均有较大提高，尤其是灵敏度高达98.0%。因此，联合检测sEC、AFP能明显提高HCC的诊断率。

本研究未对术后复发进行联合检测的评价，且样本量较小，故需进一步行大样本、多方面的研究。

[参 考 文 献]

- [1] CARLOS R L, SILVIA T, ALEJANDRO F, et al. Management of HCC [J]. J Hepatology, 2012, 56(Suppl): 75-87.
- [2] NOVAK J, FABIAN P. Comments on the TNM classification of malignant tumours-7th edition [J]. Klin Onkol, 2011, 24(2): 149-150.
- [3] JIANG J, WU C, SHEN Y, et al. Clinical application of determining serum AFP-IgM complexes for diagnosis of small

hepatocellular carcinoma [J]. Anticancer Res, 2011, 31(2): 687-691.

[4] 陈浩, 李建生, 莫卫东, 等. 肝细胞癌患者血清细胞外基质蛋白1表达水平与术后复发及预后的关系 [J]. 中华普通外科杂志, 2012, 27(7): 582-585.

[5] SHIM H S, YOON B S, CHO N H, et al. Prognostic significance of paired epithelial cell adhesion molecule and E-cadherin in ovarian serous carcinoma [J]. Human Pathol, 2009, 40(5): 693-698.

[6] 袁林, 沈世强, 熊成龙, 等. E-钙黏蛋白在肝细胞癌中的表达及临床意义 [J]. 临床外科杂志, 2004, 12(7): 407-408.

[7] 李灿宇, 申爱荣, 张自森, 等. 检测血清可溶性E-钙粘连蛋白在卵巢癌手术前后的表达及其意义 [J]. 河南外科学杂志, 2012, 18(5): 6-7.

[8] 张自森, 吴敏, 巴楠, 等. 晚期胃癌血清可溶性E-钙粘连蛋白的表达及其意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(9): 820-822.

(收稿日期: 2012-12-11 修回日期: 2013-03-01)

欢迎订阅2013年《循证医学》杂志

《循证医学》是经国家新闻出版署批准, 广东省卫生厅主管, 由广东省循证医学研究中心、广东省人民医院和中山大学附属第三医院主办的医学学术期刊。现为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”, 《CNKI中国期刊全文数据库》、“万方数据—数字化期刊群”全文收录期刊, “中国学术期刊综合评价数据库”统计源期刊, 《中国科学引文数据库》、《中国生物医学文献数据库》、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中文生物医学期刊文献数据库》、《中文科技期刊数据库》来源期刊, 荣获首届《CAJ-CD规范》执行优秀期刊奖。

主编吴一龙(广东省人民医院副院长、广东省人民医院肿瘤中心主任、广东省肺癌研究所所长、广东省循证医学研究中心主任, 中山大学、南方医科大学、汕头大学、广东省心血管病研究所肿瘤学教授, 博士生导师)。本刊以广大医药卫生技术人员和医疗、教学、科研管理工作者为读者对象, 立足临床医学, 介绍循证医学(evidence-based medicine, EBM)的理念、方法及相关知识, 探讨符合中国国情的循证医学实践, 促进国内外医学学术交流和医学科学发展。

本刊以临床实践指导性为特色, 设置的主要栏目有: 先睹为快、述评、特别报告、循证评价、论著(包括诊断性研究、疗效研究、病因学研究、疾病的预后研究等)、证据的寻求与评价、循证医学中的医学统计学问题、循证医学理论与方法研究、综述与讲座、教育与争鸣、循证医学在线、循证病例讨论、临床指引与共识等。诚挚欢迎投稿。

《循证医学》杂志的国际标准刊号: ISSN 1671-5144, 国内统一刊号: CN 44-1548, 双月刊、大16开本、64页, 国内定价每期10元, 全年60元。欲订阅者请从全国各地邮局订购, 邮发代号 46-326, 也可直接从本刊编辑部邮购。欢迎新老朋友订阅本刊。

地址: 广州市中山二路106号广东省人民医院《循证医学》编辑部(510080)。

电话: 020-83844620, 020-83827812-51482;

传真: 020-83844620

网址: www.jebm.cn

E-mail: xzyxzz@163.net

《循证医学编辑部》