

## 肝脏疾病生物学标志物在肝癌早期诊断中的应用

苗莉 韩卫

作者单位: 225800 江苏扬州, 宝应县人民医院检验科(苗莉)

221006 江苏徐州, 徐州医科大学第二附属医院 徐州矿业集团总医院输血科(韩卫)

通信作者: 韩卫, Email: xkzyjyk@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.03.008

**【摘要】** 目的 探讨白细胞介素-33(IL-33)、高尔基体 73(GP73)、总胆汁酸(TBA)和异常凝血酶原(PIVKA-II)在原发性肝癌(PHC)早期诊疗中的应用。方法 应用回顾性研究模型,选择 2019 年 1 月—2021 年 1 月在宝应县人民医院及徐州医科大学第二附属医院住院治疗的 150 例肝病患者作为研究对象,其中 50 例 PHC 患者为肝癌组,50 例肝硬化患者为肝硬化组,50 例乙肝患者为肝炎组;另外选择宝应县人民医院同期 50 名健康体检者作为健康对照组。所有入组人员均进行血清肝脏疾病生物学标志物(包括 IL-33、GP73、TBA、PIVKA-II)检测,收集、比较并分析各组研究对象的检测结果。采用受试者工作特征曲线(ROC),并通过 ROC 曲线下面积(AUC)的计算值以比较相应检测指标在肝癌早期诊断中的诊断效能。结果 肝癌组 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 水平均明显高于肝硬化组、肝炎组和健康对照组[IL-33(ng/L):  $51.76 \pm 8.61$  比  $46.56 \pm 16.34$ 、 $11.32 \pm 5.73$ 、 $5.34 \pm 2.24$ , GP73 ( $\mu\text{g/L}$ ):  $269.62 \pm 43.42$  比  $215.54 \pm 26.15$ 、 $123.42 \pm 14.67$ 、 $55.60 \pm 25.67$ , TBA( $\mu\text{mol/L}$ ):  $41.57 \pm 17.64$  比  $30.42 \pm 9.74$ 、 $15.47 \pm 7.64$ 、 $3.24 \pm 1.64$ , PIVKA-II (U/L):  $96.54 \pm 42.31$  比  $26.09 \pm 3.57$ 、 $24.64 \pm 3.24$ 、 $21.39 \pm 5.46$ , 均  $P < 0.05$ ]。IL-33 诊断 PHC 的 AUC 在各指标中最大,为 0.935 [95% 可信区间(95%CI)为 0.882 ~ 0.987],其次为 TBA(AUC 为 0.914, 95%CI 为 0.862 ~ 0.966)、PIVKA-II(AUC 为 0.904, 95%CI 为 0.833 ~ 0.975)、GP73(AUC 为 0.842, 95%CI 为 0.762 ~ 0.921)。单一指标中,IL-33 诊断 PHC 的特异度最高,为 100.0%;PIVKA-II 的敏感度最高,为 88.0%。结论 血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 等肝脏疾病相关生物学标志物检测在 PHC 的早期诊断中均有一定临床意义,可用于 PHC 的诊断和肝脏受损程度的临床评估。

**【关键词】** 白细胞介素-33; 高尔基体 73; 总胆汁酸; 异常凝血酶原; 原发性肝癌

### Application of combined detection of liver disease related biological indicators in early diagnosis of liver cancer

Miao Li, Han Wei. Department of Clinical Laboratory, Baoying County People's Hospital, Yangzhou 225800, Jiangsu, China (Miao L); Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, General Hospital of Xuzhou Mining Group, Xuzhou 221006, Jiangsu, China (Han W)

Corresponding author: Han Wei, Email: xkzyjyk@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the significance of detection of interleukin-33 (IL-33), Golgi protein 73 (GP73), total bile acid (TBA) and prothrombin induced by vitamin K absence-II (PIVKA-II) in the early diagnosis and treatment of primary hepatic carcinoma (PHC). **Methods** A retrospective research model was used, and 150 cases of liver disease patients hospitalized in Baoying County People's Hospital and the Second Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University from January 2019 to January 2021 were selected as the research objects, including 50 patients with PHC as liver cancer group, 50 patients with liver cirrhosis as liver cirrhosis group, 50 patients with hepatitis B as hepatitis group, and 50 healthy subjects with physical examination at the same time period in Baoying County People's Hospital were as healthy control group. All enrolled subjects were tested for liver disease biological indicators such as serum IL-33, GP73, TBA and PIVKA-II, and the relevant experimental data were collected, compared and analyzed. The receiver operator characteristic curve (ROC) was used, and the area under curve (AUC) was calculated. The diagnostic efficacies of each index in the early diagnosis of PHC were compared. **Results** The levels of IL-33, GP73, TBA and PIVKA-II in the liver cancer group were significantly higher than those in the liver cirrhosis group, hepatitis group and healthy control group [IL-33 (ng/L):  $51.76 \pm 8.61$  vs.  $46.56 \pm 16.34$ ,  $11.32 \pm 5.73$ ,  $5.34 \pm 2.24$ , GP73 ( $\mu\text{g/L}$ ):  $269.62 \pm 43.42$  vs.  $215.54 \pm 26.15$ ,  $123.42 \pm 14.67$ ,  $55.60 \pm 25.67$ , TBA ( $\mu\text{mol/L}$ ):  $41.57 \pm 17.64$  vs.  $30.42 \pm 9.74$ ,  $15.47 \pm 7.64$ ,

3.24±1.64, PIVKA-II (U/L): 96.54±42.31 vs. 26.09±3.57, 24.64±3.24, 21.39±5.46, all  $P < 0.05$ ]. The AUC of IL-33 for the PHC diagnosis was 0.935 [95% confidence interval (95%CI) was 0.882–0.987,  $P < 0.05$ ], followed by TBA (AUC was 0.914, 95%CI was 0.862–0.966), PIVKA-II (AUC was 0.904, 95%CI was 0.833–0.975) and GP73 (AUC was 0.842, 95%CI was 0.762–0.921). Among the single indexes, IL-33 had the highest specificity (100.0%) for the PHC diagnosis, and PIVKA-II had the highest sensitivity (88.0%). **Conclusion** The detection of related biomarkers of liver diseases such as serum IL-33, GP73, TBA and PIVKA-II has certain clinical significance in the early diagnosis of PHC, and can be used for the diagnosis of PHC and the evaluation of liver injury in clinic.

**【Key words】** Interleukin-33; Golgi protein 73; Total bile acid; Prothrombin induced by vitamin K absence-II; Primary hepatic carcinoma

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是在我国常见的一种恶性肿瘤,由于发病隐匿、恶性程度高等原因导致 5 年生存率极低且预后较差,这对 PHC 的早期诊疗提出了更高的要求<sup>[1-3]</sup>。对疾病的早期发现、诊断和治疗能有效提高 PHC 患者的生存率。目前,用于特异性 PHC 早期诊断的临床指标并不多,多数确诊患者已到达病程的中晚期。近年来,白细胞介素-33(interleukin-33, IL-33)<sup>[4-6]</sup>、高尔基体 73(Golgi protein 73, GP73)<sup>[7]</sup>、总胆汁酸(total bile acid, TBA)<sup>[8]</sup>和异常凝血酶原(prothrombin induced by vitamin K absence-II, PIVKA-II)<sup>[9-10]</sup>等生物学标志物在肝脏疾病的诊疗中被广泛应用,这也为临床 PHC 的早期诊疗提供了新的思路和方向。本研究通过血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 等肝脏疾病相关生物学标志物检测在 PHC 诊疗中的临床研究,以期对临床 PHC 诊疗提供理论依据,在 PHC 患者提高生存率、提升生活质量、改善预后等方面提供临床指导,现将结果报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 应用回顾性研究模型,选择 2019 年 1 月—2021 年 1 月在宝应县人民医院和徐州医科大学第二附属医院住院治疗的 150 例肝病患者作为研究对象,其中 50 例 PHC 患者作为肝癌组,50 例肝硬化患者作为肝硬化组,50 例乙肝患者作为肝炎组;另外选择宝应县人民医院同期 50 名健康体检者作为健康对照组。

**1.1.1 纳入标准** ① 肝癌组患者符合 2019 年版《原发性肝癌诊疗规范》中肝癌的临床诊断标准<sup>[11]</sup>; ② 肝炎组患者符合 2019 年版《慢性乙型肝炎防治指南》和(或)2019 年版《丙型肝炎防治指南》中的临床诊断标准<sup>[12-13]</sup>; ③ 肝硬化组患者符合 2014 年版《乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理》中的临床诊断标准<sup>[14]</sup>; ④ 患

者或家属均知晓本研究内容并同意配合参与。

**1.1.2 排除标准** ① 患有自身免疫系统疾病和相关系统恶性肿瘤等疾病者; ② 患有严重慢性肾脏疾病、血液系统疾病等相关疾病者; ③ 资料信息不完全及中途退出者。

**1.1.3 伦理学** 本研究符合医学伦理学标准,并取得宝应县人民医院医学伦理委员会批准(审批号: 20191212),入组人员均对本研究内容知情同意。

**1.2 观察指标及检测方法** 所有实验标本采集均符合检验科标本采集规范要求,且均为研究对象的晨起空腹静脉血,依据临床诊疗需要,进行血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 的实验室检测,并入库分析实验数据。应用美国雅培公司的 I 2000 SR 免疫化学发光检测系统,采用化学发光微粒子免疫分析法进行 PIVKA-II 测定;应用美国贝克曼库尔特公司的 AU 5800 全自动生化分析仪进行 TBA 测定;应用北京热景生物技术有限公司的 UPT-3A 上转发光免疫分析仪进行 GP73 测定;应用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)双抗体夹心法进行 IL-33 测定。所有试剂均采用原装试剂盒,并按照本实验室质量控制手册及程序文件中相关仪器和试剂的要求进行实验操作。

**1.3 统计学方法** 应用 SPSS 25.0 统计软件对实验数据进行分析。计量资料符合正态分布,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析(ANOVA)进行多组间比较,采用 LSD 法进行两两比较;以例(百分比)表示计数资料,应用  $\chi^2$  检验。采用受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC),通过计算 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)以评估 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 对 PHC 的诊断效能,计算约登指数以确定最佳截断值,并得出敏感度和特异度。数据统计分析均采用双侧检验,差异具有统计学意义以  $P < 0.05$  表示。

## 2 结果

**2.1 一般资料** 不同肝病各组与健康对照组的性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ ),有可比性。见表 1。

表 1 不同肝病各组和健康对照组的一般资料比较

组别	例数(例)	性别(例)		年龄(岁)	
		男性	女性	范围	均数( $\bar{x} \pm s$ )
肝癌组	50	31	19	43~65	55.85 ± 10.41
肝硬化组	50	32	18	49~69	55.23 ± 16.32
肝炎组	50	36	14	40~60	55.32 ± 10.58
健康对照组	50	30	20	49~66	57.13 ± 8.26

**2.2 不同肝病各组与健康对照组血清肝脏疾病相关生物学标志物水平比较** 肝癌组的 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 水平均明显高于肝硬化组、肝炎组和健康对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ );肝硬化组的 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 水平均明显高于肝炎组和健康对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ );肝炎组的 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 水平均明显高于健康对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 不同肝病各组和健康对照组的血清肝脏疾病相关生物学标志物水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(例)	IL-33 (ng/L)	GP73 ( $\mu\text{g/L}$ )
肝癌组	50	51.76 ± 8.61 <sup>abc</sup>	269.62 ± 43.42 <sup>abc</sup>
肝硬化组	50	46.56 ± 16.34 <sup>ab</sup>	215.54 ± 26.15 <sup>ab</sup>
肝炎组	50	11.32 ± 5.73 <sup>a</sup>	123.42 ± 14.67 <sup>a</sup>
健康对照组	50	5.34 ± 2.24	55.60 ± 25.67
F 值		679.683	1 752.740
P 值		0.000	0.000

组别	例数(例)	TBA ( $\mu\text{mol/L}$ )	PIVKA-II (U/L)
肝癌组	50	41.57 ± 17.64 <sup>abc</sup>	96.54 ± 42.31 <sup>abc</sup>
肝硬化组	50	30.42 ± 9.74 <sup>ab</sup>	26.09 ± 3.57 <sup>ab</sup>
肝炎组	50	15.47 ± 7.64 <sup>a</sup>	24.64 ± 3.24 <sup>a</sup>
健康对照组	50	3.24 ± 1.64	21.39 ± 5.46
F 值		2 043.071	141.086
P 值		0.000	0.000

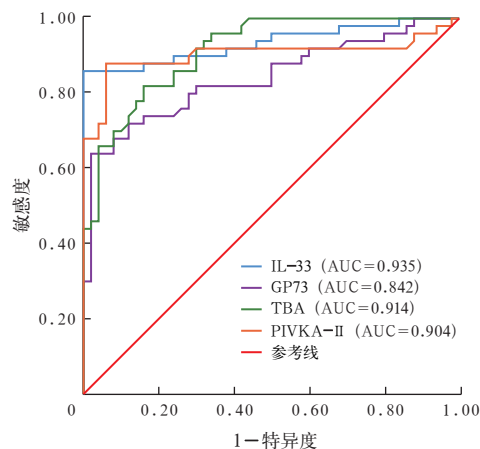
注: IL-33 为白细胞介素 -33, GP73 为高尔基体 73, TBA 为总胆汁酸, PIVKA-II 为异常凝血酶原;与健康对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肝炎组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与肝硬化组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

表 3 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 对 PHC 的诊断效能

指标	AUC	95%CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数	截断值	P 值
IL-33	0.935	0.882 ~ 0.987	86.0	100.0	0.860	42.50	0.000
GP73	0.842	0.762 ~ 0.921	64.0	98.0	0.620	174.40	0.000
TBA	0.914	0.862 ~ 0.966	82.0	84.0	0.660	15.65	0.000
PIVKA-II	0.904	0.833 ~ 0.975	88.0	94.0	0.820	62.44	0.000

注: IL-33 为白细胞介素 -33, GP73 为高尔基体 73, TBA 为总胆汁酸, PIVKA-II 为异常凝血酶原, PHC 为原发性肝癌, AUC 为受试者工作特征曲线下面积, 95%CI 为 95% 可信区间

**2.3 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 对 PHC 的诊断效能** IL-33 诊断 PHC 的 AUC 最大,为 0.935 [95% 可信区间(95% confidence interval, 95%CI) 为 0.882 ~ 0.987], 特异度高于其他指标,为 100.0%。PIVKA-II 诊断 PHC 的敏感度高于其他检测指标,为 88.0%。见表 3,图 1。



注: IL-33 为白细胞介素 -33, GP73 为高尔基体 73, TBA 为总胆汁酸, PIVKA-II 为异常凝血酶原, PHC 为原发性肝癌, ROC 为受试者工作特征曲线, AUC 为受试者工作特征曲线下面积

图 1 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 诊断 PHC 的 ROC 曲线

## 3 讨论

PHC 作为高发病率和高病死率的恶性肿瘤,早期诊断率极低,通常发现时患者已错过最佳治疗时机<sup>[15]</sup>。本研究通过血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 等相关肝脏疾病生物学标志物在 PHC 诊疗中的临床研究,为 PHC 的早期诊疗提供理论依据,同时可为 PHC 患者提高生存率、提升生活质量、改善预后等诸多方面提供临床指导。

本研究结果显示,血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 水平在肝炎组、肝硬化组和肝癌组中均逐渐升高,且各组间比较差异均有统计学意义,说明血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 等肝脏疾病相关生物学标志物在 PHC 诊疗中均具有一定的临床意义,且随着肝脏受损程度的加重,各指标水平逐渐升高,这与其病理生理过程有关。

IL-33 是肿瘤微环境中的一类细胞因子,主要由成纤维细胞分泌并表达于肝癌组织及癌旁组织细胞的细胞质中,这与崔建健等<sup>[16]</sup>和李

凡等<sup>[17]</sup>研究结果一致,说明其对 PHC 的增值、侵袭及迁移等过程均有一定影响,在 PHC 的早期诊疗中具有一定的临床意义。PIVKA-II 是由于缺乏维生素 K 或拮抗剂 II 诱导产生的异常凝血酶原,在肝癌患者血清中水平升高。这与本课题组前期研究结果互相印证<sup>[18]</sup>,同时与董静肖等<sup>[19]</sup>研究结果相呼应,提示 PIVKA-II 可作为 PHC 诊疗的敏感性指标。GP73 作为与肝病进程相关的蛋白,主要表达于胆管上皮细胞,在肝细胞中的表达较少。当肝脏受损时,GP73 水平特异性升高,这可能与 PHC 发生发展中小胆管上皮细胞受到破坏和内皮细胞异常增殖有关。而 TBA 作为常用肝功能指标,随着肝脏损伤程度加重,其水平相应升高,这也与多数学者的研究结果一致,提示血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 可作为 PHC 早期诊断检测的生物学指标,对临床早期 PHC 诊疗具有一定的指导意义。

本研究 ROC 曲线分析结果显示,IL-33 对 PHC 诊断的 AUC 最大,且有效性较高,但受其检测方法学的影响,在单一指标诊断 PHC 时具有一定的局限性,PIVKA-II 诊断 PHC 的敏感度最高,这与其病理生理活性相关。本研究结果显示,合理地选择敏感度和特异度高的肝脏疾病生物学标志物能较好地评估肝脏损伤程度以及合成代谢功能,并在一定程度上提高单一生物学标志物检测对早期肝脏相关疾病的诊断效能,提示血清 IL-33、GP73、TBA 和 PIVKA-II 水平在临床 PHC 早期诊疗中具有较好的临床意义。

综上所述,血清 IL-33、GP73、TBA、PIVKA-II 等肝脏疾病相关生物学标志物在 PHC 的早期诊断中均有一定的临床意义,对诊断 PHC 及评估肝脏受损程度具有较好的临床指导价值,可在 PHC 患者生存率的提高、生活质量的提升、预后的改善等方面提供指导,并可用于 PHC 的诊断和肝脏受损程度的临床评估。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- 中华预防医学会肝胆胰疾病预防与控制专业委员会,中国研究型医院学会肝病专业委员会,中华医学会肝病学分会,等.原发性肝癌的分层筛查与监测指南(2020 版)[J].中华肿瘤杂志,2021,43(1):60-77. DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20201109-00970.
- 中华医学会肝病学分会.原发性肝癌二级预防共识(2021 年版)[J].中华肝病杂志,2021,29(3):216-226. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20210210-00082.
- 高洪元.原发性肝癌患者炎性细胞因子检测的临床诊断价值[J].

- 实用检验医师杂志,2015,7(2):86-89. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.005.
- 张杰,张峰,鲍传庆.白细胞介素 33 及其在肝脏疾病中作用的研究进展[J].中华肝胆外科杂志,2019,25(9):715-720. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2019.09.021.
- 邱丽芳,韦忠恒,黄赞松,等.白细胞介素 33 对人肝癌 Hep3B 细胞与 Huh-7 细胞的增殖、迁移和侵袭的影响[J].广西医学,2020,42(10):1267-1270,1313. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2020.10.19.
- 黄珊珊,杨舟鑫,郭冬阳,等.白细胞介素-33 及其受体 ST2 在脓毒症中的作用研究进展[J].中华危重病急救医学,2020,32(11):1399-1402. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200526-00406.
- 梁芳,张昊,郜辉,等.外周血 NLR 联合血清 AFP、GP73、DKK1 检测对原发性肝癌的诊断价值[J].现代肿瘤医学,2021,29(6):989-993. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2021.06.017.
- 赵蓉,石亚玲,江笑文,等.血清甘胆酸检测在肝脏疾病诊断中的临床意义[J].检验医学与临床,2019,16(13):1823-1825,1828. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.009.
- 张珈玮,关连越,鄂长勇,等.血清异常凝血酶原在肝细胞肝癌临床应用中的价值[J].中华外科杂志,2020,58(10):776-781. DOI: 10.3760/cma.j.cn112139-20200313-00219.
- 杨唯唯,刘铭,游小芳,等. PIVKA-II 与 AFP 对原发性肝癌诊断性能的验证及荟萃分析[J].标记免疫分析与临床,2020,27(10):1683-1689,1705. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2020.10.011.
- 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局.原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)[J].传染病信息,2020,33(6):481-500. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2020.06.001.
- 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J].国际流行病学传染病学杂志,2019,46(6):423-446. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4149.2019.06.001.
- 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.丙型肝炎防治指南(2019 年版)[J].中华传染病杂志,2020,38(1):9-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6680.2020.01.004.
- 科技部十二五重大专项联合课题组专家.乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理[J/CD].中国肝病杂志(电子版),2014,6(2):72-82. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2014.02.023.
- 黄作超,曾庆芳,李明娥,等.复方苦参注射液联合含奥沙利铂化疗方案对原发性肝癌患者临床疗效的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2018,25(5):542-545. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.05.023.
- 崔建健,辛磊,王琦,等.原发性肝癌患者 CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T 细胞、IL-15 和 IL-33 的动态变化及临床意义[J].宁夏医科大学学报,2018,40(3):271-276. DOI: 10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2018.03.005.
- 李凡,夏兵祥,徐健,等.白细胞介素-33 对肝癌细胞迁移、侵袭能力和细胞骨架的影响[J].东南大学学报(医学版),2018,37(3):365-371. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2018.03.001.
- 韩卫,国世星,张晓彤,等.生物学标志物联合检测在早期原发性肝癌诊断中的应用价值[J].肿瘤研究与临床,2020,32(10):705-710. DOI: 10.3760/cma.j.cn115355-20200403-00171.
- 董静肖,杨晓欢,王琦,等.异常凝血酶原和甲胎蛋白对肝细胞癌诊断价值的比较研究[J].标记免疫分析与临床,2019,26(10):1633-1637. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.10.004.

(收稿日期:2021-07-20)

(本文编辑:郜文)