

3678 - 3682

- 6 王利平,高文艳,林一帆,等. 溃疡性结肠炎患者中西医维持治疗的对比研究及 101 例病例随访分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2016,24(4):257-261
- 7 姚惠,郑培奋,李希诗,等. 益气愈溃汤对溃疡性结肠炎 IL-33、IL-10 及肠道菌群紊乱的纠正作用[J]. 中华中医药学刊,2013,31(6):1449-1451
- 8 Pastorelli L. Epithelial-derived IL-33 and its receptor ST2 are dys-regulated in ulcerative colitis and in experimental Th1/Th2 driven enteritis[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2010,107: 8017-8022
- 9 Tripathi MK,Jain AK,Dixit VK, *et al.* Inflammatory cytokine IL-10 polymorphism in patients of ulcerative colitis and irritable bowel syn-

drome[J]. J Clin Exp Hepatol,2013,13(1):124-129

- 10 王卫峰,周峰,郑培奋,等. 连理汤加味对活动期溃疡性结肠炎 TNF- α 和 IL-10 表达的影响[J]. 中华中医药学刊,2015,33(2):381-383
- 11 张伟,杨银利,吴洁琼,等. 溃疡性结肠炎患者血清肿瘤坏死因子- α 与 C 反应蛋白水平变化及意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2013,27(7):681-682
- 12 谢晶日,许明月,刘朝霞. 肿瘤坏死因子- α 在溃疡性结肠炎中的作用[J]. 辽宁中医杂志,2012,39(10):1887-1888

(收稿日期:2016-09-09)

(修回日期:2016-10-18)

血清载脂蛋白 A-1 检测在 HBV 相关肝癌中的临床价值

高国生 董飞波 颜卫华

摘 要 **目的** 探讨血清载脂蛋白 A-1 (Apo A-1) 检测在乙型肝炎病毒 (HBV) 相关肝癌中的临床价值。**方法** 选取 2010 年 1 月~2014 年 12 月笔者医院慢性 HBV 感染患者 362 例,包括 88 例慢性乙型肝炎(以下简称慢乙肝)、94 例乙型肝炎肝硬化、18 例乙型肝炎(无肝硬化基础)和 162 例乙型肝炎肝硬化合并肝癌,另选取 45 例健康体检者作为正常对照组,检测所有入选者的血清 Apo A-1、AFP 和其他实验室指标,对检测结果进行统计学处理。**结果** 血清 Apo A-1 和 AFP 水平在所有组别中的总体差异均有统计学意义 ($F=29.86, \chi^2=112.53, P$ 均 $=0.000$)。随着疾病进展,血清 Apo A-1 水平逐步明显下降 (P 均 <0.05),但正常对照组与乙型肝炎组(无肝硬化基础)、慢乙肝组与乙型肝炎肝硬化合并肝癌组、肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并肝癌组的 Apo A-1 水平差异均无统计学意义 (P 均 >0.05)。Child-Pugh 评分 A、B、C 级肝癌患者血清 Apo A-1 水平之间的比较,差异均有统计学意义 (P 均 <0.05)。肝癌患者 Child-Pugh 评分 A 级患者显著高于相对应的肝硬化患者 ($t=-3.02, P=0.003$),而 B、C 级患者之间的血清 Apo A-1 水平比较,差异无统计学意义 ($t=0.52, 1.19, P=0.610, 0.240$)。TNM 分期 I + II 肝癌患者血清 Apo A-1 水平显著高于 TNM 分期 III + IV 肝癌患者 ($t=3.85, P=0.000$)。**结论** HBV 相关肝癌患者血清 Apo A-1 水平与是否合并肝硬化、Child-Pugh 评分及 TNM 分期相关,肝功能储备情况和机体的应激反应等多个因素影响血清 Apo A-1 的表达。

关键词 乙型肝炎 载脂蛋白 A-1 甲胎蛋白 肝癌

中图分类号 R446

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.04.029

Clinical Value of Serum Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) Detection in HBV-related Liver Cancer. Gao Guosheng, Dong Feibo, Yan Weihua. School of Laboratory Medicine and Life Sciences, Wenzhou Medical University, Zhejiang 325035, China

Abstract Objective To investigate the clinical value of serum apolipoprotein A-1 (Apo A-1) detection in HBV-related liver cancer. **Methods** Totally 362 cases of patients with chronic HBV infection were enrolled from January 2010 to December 2014 in our hospital, including 88 cases of chronic hepatitis B, 94 cases of HBV-related liver cirrhosis, 18 cases of HBV-related liver cancer (without cirrhosis) and 162 cases of liver cirrhosis merged cancer. At the same time, 45 cases of healthy people were selected for normal control. The serum Apo A-1, AFP and other laboratory markers were detected, and the test results were statistically analyzed. **Results** The difference of Serum Apo A-1 and AFP levels in all groups was statistically significant ($F=29.86, \chi^2=112.53, P=0.000$). As the disease progressed, the serum levels of Apo A-1 gradually decreased ($P<0.05$). But the difference of Apo A-1 level between normal

基金项目:浙江省宁波市社发重大项目(2016C51005);浙江省宁波市医学科技计划项目(2013A11)

作者单位:325035 温州医科大学检验医学院、生命科学学院(高国生);315010 宁波市第二医院检验科(高国生、董飞波);317000 温州医科大学附属台州医院中心实验室(颜卫华)

通讯作者:颜卫华,电子邮箱:yanwh@tzhospital.com

control and HBV – related liver cancer group (without cirrhosis), chronic hepatitis B and liver cirrhosis merged cancer group, liver cirrhosis and liver cirrhosis merged cancer group was not statistically significant (all $P > 0.05$). The liver cancer patients with Child – Pugh score A, B, C had different serum Apo A – 1 levels (all $P < 0.05$); The serum Apo A – 1 level of liver cancer patients with Child – Pugh score A was significantly higher than that of liver cirrhosis ($t = -3.02, P = 0.003$), but the differences of serum Apo A – 1 levels between liver cancer and liver cirrhosis patients with Child – Pugh score B and C were not statistically significant ($t = 0.52, 1.19, P = 0.610, 0.240$). The serum Apo A – 1 levels of liver cancer patients with TNM stage I and II were significantly higher than those with TNM stage III and IV ($t = 3.85, P < 0.001$). **Conclusion** The serum Apo A – 1 levels of HBV – related liver cancer patients are related with cirrhosis, Child – Pugh score and TNM stage, and the liver reserve function, the body's stress response and many other factors may contribute to the expression of serum Apo A – 1.

Key words Hepatitis B; Apolipoprotein A – 1; AFP; Hepatic carcinoma

近年来,蛋白组学相关技术(如二维凝胶电泳、电喷雾串联质谱和基质辅助激光解析电离飞行时间质谱等)的迅猛发展为肿瘤相关蛋白标志物的检测和筛选提供了精确可行的方法。有多个研究结果提示载脂蛋白 A – 1 (Apo A – 1) 与肿瘤(包括肝癌)密切相关,但既往的结论并不完全一致^[1-3]。本研究基于较大样本量,通过检测血清 Apo A – 1 在慢性 HBV 感染患者中的表达情况,为该指标在 HBV 相关疾病特别是肝癌中的临床价值提供循证医学依据。

材料与方法

1. 一般资料:所有血清标本 362 例均来源于笔者医院 2010 年 1 月 ~ 2014 年 12 月的住院患者。HBV 感染患者仅为单纯 HBV 感染,同时排除其他肝炎病毒感染、酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病等。所有患者依据病情分为慢乙肝组 88 例、乙肝肝硬化组 94 例、乙肝肝癌(无肝硬化基础)组 18 例和乙肝肝硬化合并肝癌组 162 例,诊断标准均符合中华医学会制定的《慢性乙型肝炎防治指南》^[4] 及第 4 届全国肝癌学术大会讨论通过的原发性肝癌诊断标准^[5],根据肝性脑病的有无及其程度、腹腔积液、血清胆红素、血清白蛋白、凝血酶原时间等 5 个指标对肝硬化和肝癌患者进行 Child – Pugh 评分,对肝癌患者进行 TNM 分期,肝癌患者根据有无肝硬化分为两组(无肝硬化基础和有肝硬化基础)^[4-7]。另选取 45 例健康体检者作为正常对照组。本研究经医院伦理

委员会批准,所有对象均签署知情同意书。

2. 血清学指标检测:所有病例均于入院当日检测甲胎蛋白(AFP)。血清 AFP 检测采用西门子公司 Centaur XP 化学发光免疫分析仪,配套试剂。血清 Apo A – 1 检测采用西门子公司 ADVIA2400 全自动生化分析仪,试剂盒购自宁波普瑞柏生物技术有限公司,采用免疫比浊法。

3. 统计学方法:计量资料如为正态分布采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布采用四分位数表示。正态分布的两组均数比较采用 t 检验,多组均数比较采用方差分析和 LSD 检验;非正态分布的两组均数比较采用 Mann – Whitney U 法检验,多组均数比较采用非参数检验 Kruskal – Wallis H 法检验。计数资料的比较采用 χ^2 检验。采用 SPSS 16.0 软件,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 正常对照组和不同疾病组血清 Apo A – 1 和 AFP 水平比较:血清 Apo A – 1 和 AFP 水平在所有组别中的总体差异均有统计学意义($F = 29.86, \chi^2 = 112.53, P$ 均 $= 0.000$)。随着疾病进展(正常对照组、慢乙肝、乙肝肝硬化组),Apo A – 1 水平逐步明显下降(P 均 < 0.05)。但正常对照组与乙肝肝癌组(无肝硬化基础)、慢乙肝组与乙肝肝硬化合并肝癌组、肝硬化与乙肝肝硬化合并肝癌组的 Apo A – 1 水平差异均无统计学意义(P 均 > 0.05 , 表 1, 图 1)。

表 1 正常对照组和不同疾病组血清 Apo A – 1 和 AFP 水平比较

组别	n	性别(男性/女性)	年龄(岁)	Apo A – 1 (g/L)	AFP (ng/ml)
正常对照	45	26/19	39.00 ± 13.29	1.50 ± 0.21	5.15(3.00 ~ 7.85)
慢乙肝	88	60/28	38.93 ± 11.76	1.02 ± 0.34	8.04(3.88 ~ 40.77) *
肝硬化	94	64/30	55.97 ± 10.70	0.87 ± 0.38 *#	8.98(4.43 ~ 42.03) *
乙肝肝癌(无肝硬化基础)	18	15/3	55.50 ± 9.54	1.30 ± 0.29 #△	30.05(5.08 ~ 406.89) *
乙肝肝硬化合并肝癌	162	138/24	56.27 ± 11.03	0.94 ± 0.38 *▲	130.62(15.08 ~ 3734.00) *#△▲

与正常对照组比较, * $P < 0.05$; 与慢乙肝组比较, # $P < 0.05$; 与肝硬化组比较, △ $P < 0.05$; 与肝癌组(无肝硬化基础)比较, ▲ $P < 0.05$; 随着疾病进展, AFP 水平逐渐升高($P < 0.05$)

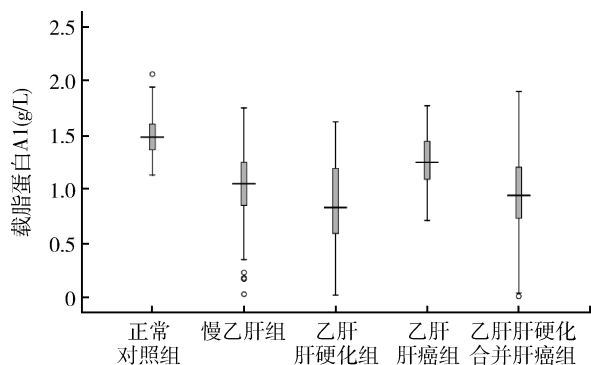


图 1 正常对照组和不同疾病组血清 Apo A-1 水平变化

2. 不同 Child-Pugh 评分肝硬化和肝癌患者 Apo A-1 水平比较: Child-Pugh 评分 A、B、C 级肝硬化患者 Apo A-1 水平分别为 0.97 ± 0.34 、 0.98 ± 0.36 、 0.69 ± 0.36 g/L, A 级和 B 级患者显著高于 C 级患者 (P 均 < 0.05); Child-Pugh 评分 A、B、C 级肝癌患者 Apo A-1 水平分别为 1.18 ± 0.34 、 0.93 ± 0.31 、 0.59 ± 0.32 g/L, A、B、C 级之间比较差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05); 肝癌患者 Child-Pugh 评分 A 级患者显著高于相对应的肝硬化患者 ($t = -3.02$, $P = 0.003$), 而 B、C 级患者之间的 Apo A-1 水平差异不大 ($t = 0.52$ 、 1.19 , $P = 0.61$ 、 0.24)。

3. 肝癌 TNM 分期对血清 Apo A-1 水平的影响: TNM 分期 I + II 肝癌患者血清 Apo A-1 水平为 1.11 ± 0.38 g/L, TNM 分期 III + IV 肝癌患者的血清 Apo A-1 水平 0.89 ± 0.37 g/L, 前者显著高于后者 ($t = 3.85$, $P = 0.000$)。

讨 论

肝癌作为世界范围内病死率排名第 2 位的肿瘤^[6], 多与病毒感染相关, 而我国则主要是乙型肝炎病毒 (HBV) 为主。肝癌的诊断一般借助于每半年的超声检查和血清 AFP 检测, 但超声对于 < 3 cm 的肿瘤难以发现, 而且不能完全准确的分辨良性和恶性肿瘤^[8]。传统经典的生物学标志物 AFP 虽然与肿瘤直径密切相关, 但其也可在其他慢性肝病中轻度升高^[9]。

ApoA-1 是血浆高密度脂蛋白 (HDL) 的主要蛋白成分, 由于 ApoA-1 编码基因高甲基化状态导致蛋白的表达具有高度组织特异度, 其主要在肝脏和小肠中合成。ApoA-1 在胆固醇的逆向转运和细胞的胆固醇动态平衡中发挥着重要作用, 近来的研究认为其还在免疫力、炎症、细胞凋亡、病毒和细菌感染方面发挥多种功能^[10]。蛋白组学的多项研究认为载脂蛋

白 A-1 (ApoA-1) 可以作为潜在的新的肿瘤标志物, 但其在肝癌患者体内的表达水平存在争议^[11-13]。

本研究结果表明, HBV 感染者 (特别是慢乙肝、肝硬化患者) 的血清 ApoA-1 表达水平相较于正常对照组均呈下降趋势, 这与既往国内的研究结论一致^[14,15]。一方面因为肝脏是 ApoA-1 合成的主要器官, HBV 感染者肝脏功能受损必然导致前者的合成下降; 另一方面, 笔者已在前期的研究中证实, HBV 自身可以通过抑制 ApoA-1 启动子活性来下调 ApoA-1 的表达, 两者的联合作用导致慢性 HBV 感染者血清 ApoA-1 水平明显下降^[16]。

但进一步的分析发现, 针对 HBV 相关肝癌其 ApoA-1 水平表现出很有趣的现象: 正常对照组与乙肝肝癌组 (无肝硬化基础) 的血清 ApoA-1 水平相当, 乙肝肝硬化合并肝癌组的 ApoA-1 水平介于慢乙肝组和乙肝肝硬化之间, 肝癌患者的血清 ApoA-1 水平出现与疾病进程不一致的升高趋势。Kim 等^[17]在研究人参皂苷 Rp1 (G-Rp1) 的抗癌机制时, 发现其通过上调 ApoA-1 来达到抑制肿瘤细胞的增殖和增强肿瘤细胞的坏死等抗癌活性。实际上 ApoA-1 被认为是肿瘤生长和转移的调节器^[18]。所以, ApoA-1 在肝癌的高表达很可能是因为参与了修复恶性细胞到正常细胞的过程, 是机体自身的一种保护性应激反应。而另一方面, 由于肝癌患者 (特别是有肝硬化基础的) 肝功能严重受损导致蛋白合成能力下降, 最终导致不同病情的肝癌患者血清 ApoA-1 水平变化不一。

Gao 等^[11]分析 HCC 和正常对照的血清差异表达蛋白, 发现 ApoA-1 并未列为候选指标。而 Pleguezuelo 等^[13]则认为血浆 ApoA-1 上调是 HCC 发生的独立影响因素; Mustafa 等^[19]通过质谱分析发现 HCC 患者血清 ApoA-1 水平相较于肝炎患者下降 22%, 而 Fye 等^[3]认为 LC 和 HCC 患者 (包括 HBV 和 HCV 感染) 血清 ApoA-1 水平均高于正常对照组。这些报道结论不一致的原因可能与选取的肝癌患者病情轻重不一有关。Mogilenko 等^[20]在体外实验中发现 ApoA-1 被转录因子 HNF4 α (hepatocyte nuclear factor) 调控, HNF4 α 低表达导致 ApoA-1 高表达。那么肝癌患者体内 ApoA-1 表达上调是否通过与 HNF4 α 相关的途径来实现将是下一步需要研究的目标。

笔者还比较了不同 Child-Pugh 评分肝硬化和肝癌患者 ApoA-1 水平差异, 结果发现随着 Child-P

Pugh 评分的升高,血清 Apo A - 1 水平逐渐下降,但肝癌患者 Child - Pugh 评分 A 级患者显著高于相对应的肝硬化患者,而两组的 B、C 级患者 Apo A - 1 水平差异不大。而且早期肝癌(TNM 分期 I + II)患者的血清 Apo A - 1 水平显著高于中、晚期肝癌(TNM 分期 III + IV)患者。这说明在肝储备功能尚可时,尚有足够的肝细胞来合成 Apo A - 1 来对抗癌细胞的增殖,但及至肝储备功能严重受损时肝细胞合成能力衰竭,Apo A - 1 水平不再升高,这与临床上常见的胆酶分离有异曲同工之处。Xu 等^[21]通过质谱技术分析了合并癌栓和无癌栓的肝癌患者的蛋白差异表达情况,结果发现 Apo A - 1 低者更容易发生血管侵犯(肝癌晚期的表现),这与笔者的研究观点一致。

综上所述,慢性 HBV 感染患者(慢性乙肝、乙型肝炎肝硬化组)的血清 Apo A - 1 水平高低与病情轻重密切相关,但 HBV 相关肝癌患者受肝功能储备情况和机体的应激反应等多方面因素的影响。由于本研究的样本量仍偏小,对肝癌患者血清 Apo A - 1 水平升高的分析缺乏基础实验的理论支持,更确切的结论需要开展多中心、大样本的临床数据及深入的机制研究予以确认。

参考文献

- 1 李常颖,李宏杰,张婷,等.载脂蛋白 - A1 在膀胱尿路上皮癌早期诊断及分类中的意义[J].中华劳动卫生职业病杂志,2013,31(4):266 - 270
- 2 Zamanian - Daryoush M, DiDonato JA. Apolipoprotein A - I and cancer[J]. Front Pharmacol, 2015, 6(11):265
- 3 Fye HKS, Wright - Drakesmith C, Kramer HB, et al. Protein profiling in hepatocellular carcinoma by label - free quantitative proteomics in two west african populations[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e68381
- 4 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J].中国肝脏病杂志:电子版,2011,3(1):40 - 56
- 5 中国抗癌协会肝癌专业委员会.原发性肝癌诊断标准[J].中华肝脏病杂志,2000,8(3):135
- 6 Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62:394 - 399
- 7 耿明凡,高方媛,谷莉莉,等.终末期肝病的模型与评价指标的研究进展[J].中国肝脏病杂志:电子版,2014,6(3):98 - 100

- 8 Vullierme MP, Paradis V, Chirica M, et al. Hepatocellular carcinoma - what's new? [J]. J Visc Surg, 2010, 147:1 - 12
- 9 Saffroy R, Pham P, Reffas M, et al. New perspectives and strategy research biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45:1169 - 1179
- 10 Mangaraj M, Nanda R, Panda S. Apolipoprotein A - I: molecule of diverse function[J]. Indian J Clin Biochem, 2015, 7:1 - 7
- 11 Gao HJ, Chen YJ, Zuo D, et al. Quantitative proteomic analysis for high - throughput screening of differential glycoproteins in hepatocellular carcinoma serum[J]. Cancer Biol Med, 2015, 12:246 - 254
- 12 Dillon ST, Bhasin MK, Feng XX, et al. Quantitative proteomic analysis in HCV - induced HCC reveals sets of proteins with potential significance for racial disparity[J]. J Translat Med, 2013, 11:239:1 - 14
- 13 Pleguezuelo M, Lopez - Sanchez LM, Rodriguez - Ariza A, et al. Meta proteomic analysis for developing new biomarkers of hepatocellular carcinoma [J]. World J Hepatol, 2010, 2(3): 127 - 135
- 14 李亚琴,陈晓怡,任慧子.肝病检测血清载脂蛋白的临床价值[J].甘肃医药,2012,31(1):33 - 34
- 15 金雷,朱峰,秦锡虎.原发性肝癌患者血脂检测的临床意义[J].中国医师进修杂志,2011,34(10):39 - 40
- 16 祝成亮,李艳,高国生,等.乙型肝炎病毒对载脂蛋白 A1 表达的影响及其机制探讨[J].中华微生物学和免疫学杂志,2012,32(6):504 - 507
- 17 Kim MY, Yoo BC, Cho JY. Ginsenoside Rp1 - induced apolipoprotein A - 1 expression in the LoVo human colon cancer cell line[J]. J Ginseng Res. 2014, 38(4):251 - 255
- 18 Zamanian - Daryoush M, Lindner D, Tallant TC, et al. The cardioprotective protein apolipoprotein A1 promotes potent anti - tumorigenic effects[J]. J Biol Chem, 2013, 288:21237 - 21252
- 19 Mustafa MG, Petersen JR, Ju H, et al. Biomarker discovery for early detection of hepatocellular carcinoma in hepatitis C - infected patients [J]. Mol Cell Proteomics, 2013, 12(12):3640 - 3652
- 20 Mogilenko DA, Dizhe EB, Shavva VS, et al. Role of the nuclear receptors HNF4 α , PPAR α , and LXRs in the TNF α - mediated inhibition of human apolipoprotein A1 gene expression in HepG2 cells[J]. Biochemistry, 2009, 48:11950 - 11960
- 21 Xu X, Wei X, Ling Q, et al. Identification of two portal vein tumor thrombosis associated proteins in hepatocellular carcinoma: protein disulfide - isomerase A6 and apolipoprotein A - I[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(12):1787 - 1794

(收稿日期:2016 - 08 - 29)

(修回日期:2016 - 09 - 17)