

三种血清标志物联合检测在早期肝细胞肝癌中的诊断价值*

陈特¹, 毕小云¹, 徐华建¹, 谌海兰¹, 侯玉磊¹, 李德涛¹, 张莉萍¹, 吴燕^{2△}

(重庆医科大学附属第一医院:1. 医学检验科;2. 输血科 400016)

[摘要] **目的** 探讨血清高尔基体蛋白 73(GP73)、 α -L 岩藻糖苷酶(AFU)和甲胎蛋白(AFP)联合检测对早期肝细胞癌(HCC)的诊断价值。**方法** 收集 2016 年 3 月至 2017 年 3 月该院肝病患者 222 例,根据疾病类型分为早期 HCC 组(74 例)、晚期 HCC 组(27 例)、肝硬化组(74 例)、慢性乙型肝炎组(47 例),另选取同期体检健康者 49 例作为健康对照组。分别测定各组血清 AFP、AFU 和 GP73 水平,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评价 3 项指标单独和联合检测对早期 HCC 的诊断价值。**结果** 早期 HCC 组 GP73、AFU 和 AFP 水平均明显高于肝硬化组、慢性乙型肝炎组和健康对照组($P < 0.05$)。在肝癌筛查时,AFP 单独诊断的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.910(95%CI:0.864~0.936),两项指标联合时 GP73 和 AFP 联合诊断的 AUC 最大[0.925(95%CI:0.889~0.950)],灵敏度最高(95.0%)。在鉴别诊断早期 HCC 与肝硬化时,单独诊断以 GP73 的 AUC 最大[0.842(95%CI:0.746~0.879)],特异度最高(86.5%);两项指标联合时 GP73 和 AFU 联合诊断的 AUC 最大[0.901(95%CI:0.788~0.907)]。**结论** GP73 与 AFP 联合检测可以提高 HCC 筛查的诊断效能,GP73 和 AFU 联合诊断能够提高早期 HCC 诊断效能,对于早期 HCC 和肝硬化的鉴别诊断具有重要意义。

[关键词] 癌,肝细胞;高尔基体蛋白 73; α -L 岩藻糖苷酶;甲胎蛋白;早期诊断**[中图法分类号]** R446.11+2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)35-4923-04

Diagnostic value of GP73, AFP and AFU combined detection in early hepatocellular carcinoma*

Chen Te¹, Bi Xiaoyun¹, Xu Huajian¹, Shen Hailan¹, Hou Yulei¹, Li Detao¹, Zhang Liping¹, Wu Yan^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Blood Transfusion, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the diagnostic value of combination detection of alpha-fetoprotein (AFP), Golgi protein 73 (GP73) and α -L-fucosidase (AFU) for early hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 222 patients with liver diseases in this hospital from March 2016 to March 2017 were collected and divided into the early stage HCC group (74 cases), late stage HCC group (27 cases), liver cirrhosis group (74 cases) and chronic hepatitis B group (47 cases), and contemporaneous 49 individuals undergoing physical examination were selected as the healthy control group. The levels of serum GP73, AFP and AFU were detected in each group. The ROC curve was drawn. The diagnostic values of single detection and combined detection of 3 indicators for diagnosing early HCC were evaluated. **Results** The serum GP73, AFP and AFU levels in the early stage HCC group were significantly higher than those in the liver cirrhosis group, chronic hepatitis B group and healthy control group ($P < 0.05$). In the HCC screening, the area under the curve (AUC) of AFP ROC curve for singly diagnosing HCC was 0.910(95%CI:0.864-0.936), AUC of GP73 and AFP combined diagnosis was maximal[0.925(95%CI:0.889-0.950)] and the sensitivity was the highest (95.0%). In the differentiation diagnosis between early HCC and liver cirrhosis, AUC of GP73 for single diagnosis was maximal [0.842(95%CI:0.746-0.879)] and the specificity was the highest (86.5%); AUC of GP73 and AFU combined diagnosis was maximal[0.901(95%CI:0.788-0.907)]. **Conclusion** GP73 and AFP for combined detection of HCC can increase the diagnostic efficiency of HCC screening. GP73 and AFU combined diagnosis can increase the diagnosis efficiency of early HCC, which has an important significance for the differentiation diagnosis between early HCC and liver cirrhosis.

[Key words] carcinoma, hepatocellular; Golgi membrane protein 73; α -L-fucosidase; alpha-fetoprotein; early diagnosis

早发现、早诊断、早治疗一直是提高肝癌疗效的关键^[1]。我国现行的筛查手段主要是监测血清甲胎蛋白(AFP)水平和 B 型超声检查^[2]。超声检查鉴别能力弱、灵敏度低,尤其对慢性肝病基础上常见的良性病变与小肝癌鉴别困难;AFP 同样对早期肝细胞癌(HCC)的诊断灵敏度低,约 30%的 HCC 患者血清 AFP 水平正常^[3]。因此,新的、可靠的肝癌标志物或将作为对 AFP 检测性能的补充,用以联合诊断 HCC。本研究采用横断面研究方法,以巴塞罗那临床肝癌(BCLC)分期策略为分类标准,定量检测早期 HCC、晚期 HCC、肝硬化、慢性乙型肝

炎及健康体检者血清高尔基体蛋白 73(GP73)、 α -L 岩藻糖苷酶(AFU)和 AFP 水平,探讨独立及联合检测对早期 HCC 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 3 月至 2017 年 3 月在本院住院的肝病患者 222 例,其中:(1)早期 HCC 组 74 例,男 59 例、女 15 例,年龄 34~61 岁,中位年龄 56 岁,均符合《原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)》的肝癌诊断标准,同时满足 BCLC 分期 0~A 期[即体能状态(PS)评分为 0 分,Child-Pugh A~B 级,

表 1 各组一般资料比较

基本资料	早期 HCC 组 (n=74)	晚期 HCC 组 (n=27)	肝硬化组 (n=74)	慢性乙型肝炎组 (n=47)	健康对照组 (n=49)	P
性别(男/女,n/n)	59/15	24/3	50/24	34/15	36/13	0.791
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	24.0±2.6	23.1±4.3	23.5±3.3	23.3±3.6	23.7±4.1	0.676
年龄[M(Min,Max),岁]	56.0(34.0,61.0)	64.0(56.0,68.0)	61.0(53.0,66.0)	59.0(54.0,65.0)	59.0(52.0,66.0)	0.966
ALT[M(Min,Max),U/L]	40.0(22.0,300.0)	37.0(21.0,248.0)	33.5(24.0,441.0)	23.5(13.0,48.0)	21.4(13.0,28.0)	0.352
AST[M(Min,Max),U/L]	39.6(20.0,365.0)	37.0(28.0,198.0)	22.3(22.0,464.0)	24.5(13.0,47.0)	20.6(11.0,25.0)	0.121
APTT[M(Min,Max),s]	39.6(35.0,41.0)	42.1(39.0,44.0)	46.6(32.0,50.0)	32.3(29.0,38.0)	32.6(30.0,38.0)	0.769
PT[M(Min,Max),s]	14.7(13.0,15.0)	15.1(14.0,17.0)	18.8(15.0,19.0)	12.6(12.0,13.0)	13.1(12.0,13.0)	0.983
TBIL[M(Min,Max), μ mol/L]	19.1(9.3,44.5)	20.8(9.1,64.6)	27.9(14.8,348.0)	10.6(7.6,13.8)	8.4(6.2,9.6)	0.655

表 2 各血清 GP73、AFP 及 AFU 水平比较[M(Min,Max)]

组别	n	GP73(ng/mL)	AFU(U/L)	AFP(ng/mL)
早期 HCC 组	74	157.1(132.2,202.4)	32.0(26.8,36.2)	37.6(11.0,598.1)
晚期 HCC 组	27	227.3(133.1,286.4)*	32.7(28.0,57.9)	998.6(357.7,10 648.0)*
肝硬化组	74	117.6(99.8,143.7)*	26.6(22.0,32.4)*	6.4(3.0,17.6)*
慢性乙型肝炎组	47	83.5(64.7,104.5)*#	24.8(15.9,30.4)*	4.1(1.6,5.7)*#
健康对照组	49	46.5(27.8,59.3)*#	26.5(14.0,34.0)*	1.6(1.1,2.3)*#
H		136.302	36.169	158.891
P		0.000	0.000	0.000

*: $P < 0.05$, 与早期 HCC 组比较; #: $P < 0.05$, 与肝硬化组比较

单一病灶小于或等于 5 cm 或者 3 个结节以内且均小于或等于 3 cm]且术后经病理检查明确诊断为早期 HCC;(2)晚期 HCC 组 27 例,男 24 例、女 3 例,年龄 56~68 岁,中位年龄 64 岁,均符合(1)中相同肝癌诊断标准,同时满足 BCLC 分期 B~D 期(大的、多发结节,有血管侵犯或肝外转移,Child-Pugh A~C 级);(3)肝硬化组 74 例,男 50 例、女 24 例,年龄 53~66 岁,中位年龄 61 岁,排除肝脏占位性病变后根据 B 型超声检查和临床表现等(例如尾状叶扩大、门静脉高压、静脉曲张等)确诊;(4)慢性乙型肝炎组 47 例,男 32 例、女性 15 例,年龄 54~65 岁,中位年龄 59 岁,肝功能正常,乙肝两对半检测中乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性及乙型肝炎病毒(HBV)DNA 定量结果大于 1×10^3 copies/mL。另选取同期健康体检者 49 例为健康对照组,男 36 例、女 13 例,年龄 52~66 岁,中位年龄 59 岁,要求血、尿、便三大常规正常,血肝肾功正常,腹部 B 型超声正常。分别收集各组对应的基础信息[年龄、性别、体质指数(BMI)、生化[丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)]和凝血象[活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)]检测结果,组间一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1,具有可比性。本研究所需血清标本采集均在手术之前或者相关药物治疗之前完成。本研究方案经本院伦理委员会审核批准,严格遵守 1975 年赫尔辛基宣言的道德准则。

1.2 方法 各肝病组及健康对照组标本均为该院住院患者检测后残留血清,排除明显溶血、脂血、黄疸或有其他微生物污染等标本,收集后于 -80°C 编号保存待检。采用罗氏 Cobas e602 全自动免疫分析仪电化学发光法检测血清 AFP 水平;采用 RL7600 全自动生化分析仪利用速率法测定血清 AFU 水

平;采用 R&D Systems 公司酶联免疫吸附试验试剂盒检测血清 GP73 水平。上述指标检测均严格按照试剂说明书操作,完善质控等常规操作程序。

1.3 统计学处理 所有数据均采用 SPSS17.0 统计学软件进行统计分析。GP73、AFU 和 AFP 检测结果呈偏态分布,以中位数(最小值,最大值)[M(Min,Max)]表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验;正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线对 3 种指标进行检测效能分析,分别确定各自的最佳临界值,计算 AUC 以评估各个标志物单独诊断和联合诊断 HCC、早期 HCC 的检验性能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 GP73、AFU 和 AFP 水平比较 各组血清 GP73、AFU 和 AFP 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。早期 HCC 组与晚期 HCC 组比较,血清 GP73 和 AFP 水平差异有统计学意义($P < 0.05$);AFU 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。早期 HCC 组与非 HCC 组(包括肝硬化组、慢性乙型肝炎组和健康对照组)比较,GP73、AFU、AFP 水平差异均有统计学意义($P < 0.05$)。肝硬化组与慢性乙型肝炎组比较,GP73、AFP 水平差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.2 血清 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对 HCC 的诊断价值 根据 ROC 曲线结果,选择 Youden 指数最大的切点作为最佳临界值,血清 GP73、AFU 和 AFP 诊断 HCC 的临界值分别为 117.5 ng/mL、28.0 U/L 和 10.5 ng/mL。3 项指标单独和联合检测 HCC 的 ROC 曲线见图 1。诊断价值见表 3,3 项指标在 HCC 筛查中,AFP 的 ROC 曲线下面积(AUC)最大,

GP73 和 AFP 联合诊断的 AUC 为 0.925,灵敏度高达95.0%。

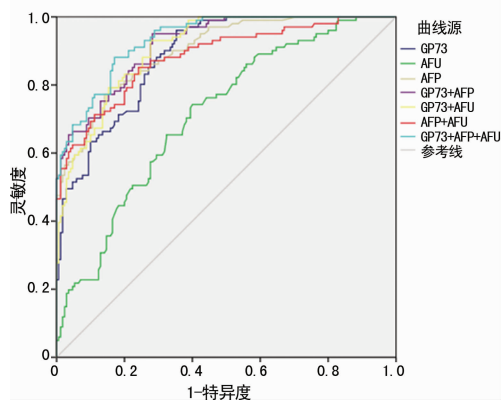


图 1 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合诊断 HCC 的 ROC 曲线

表 3 血清 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测 HCC 的诊断价值

检验结果变量	AUC	标准误	渐近 95%置信区间		灵敏度 (%)	特异度 (%)
			下限	上限		
GP73	0.855	0.019	0.848	0.922	88.1	80.6
AFU	0.712*	0.031	0.650	0.773	74.3	60.0
AFP	0.910	0.018	0.864	0.936	79.2	84.1
GP73+AFP	0.925	0.016	0.889	0.950	95.0	71.8
GP73+AFU	0.909	0.017	0.877	0.942	93.1	72.4
AFP+AFU	0.883	0.022	0.841	0.926	85.1	75.9
GP73+AFP+AFU	0.935*	0.014	0.908	0.961	88.1	82.9

* : $P < 0.05$, 与 AFP 比较

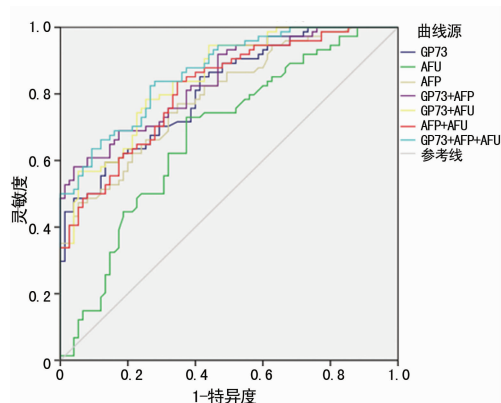


图 2 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 和肝硬化的鉴别诊断 ROC 曲线

2.3 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 和肝硬化的鉴别诊断价值比较 ROC 曲线分析显示,GP73、AFU 和 AFP 鉴别诊断早期 HCC 和肝硬化的 AUC 分别为 0.842 (95%CI:0.746~0.879)、0.676(95%CI:0.590~0.763)、0.793(95%CI:0.723~0.863)。选择 Youden 指数最大的切点作为最佳临界点,血清 GP73、AFU 和 AFP 鉴别诊断 HCC 与肝硬化的临界值分别为 151.5 ng/mL、28.0 U/L 和 11.55 ng/mL。3 项指标单独和联合检测对早期 HCC 和肝硬化的 ROC 曲线见图 2。诊断价值见表 4,单独诊断时 GP73 的 AUC 最大,特异度最高;GP73 与 AFU 联合检测灵敏度较 GP73 单

独检测明显升高($P < 0.05$);2 项指标联合诊断时 GP73 联合 AFU 的 AUC 最大,AFU 联合 AFP 的灵敏度最高,GP73 联合 AFP 的特异度最高。

表 4 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 和肝硬化的鉴别诊断价值

检验结果变量	AUC	标准误	渐近 95%置信区间		灵敏度 (%)	特异度 (%)
			下限	上限		
GP73	0.842	0.014	0.746	0.879	59.5	86.5
AFU	0.676*	0.044	0.590	0.763	73.0	62.4
AFP	0.793	0.036	0.723	0.863	74.3	68.2
GP73+AFP	0.857	0.021	0.779	0.902	68.9	82.9
GP73+AFU	0.901*	0.030	0.788	0.907	78.4*	74.7
AFP+AFU	0.814	0.034	0.747	0.881	83.8	65.3
GP73+AFP+AFU	0.923*	0.028	0.812	0.922	82.4	73.5

* : $P < 0.05$, 与 GP73 比较

2.4 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 和晚期 HCC 的鉴别诊断价值比较 3 项指标在早期 HCC 与晚期 HCC 的单独和联合诊断中,AFP 的 AUC 最大,具有较高的特异度和灵敏度;3 项指标的联合诊断性能无明显提升。3 项指标单独和联合检测对早期 HCC 和晚期 HCC 的 ROC 曲线见图 3,诊断价值见表 5。

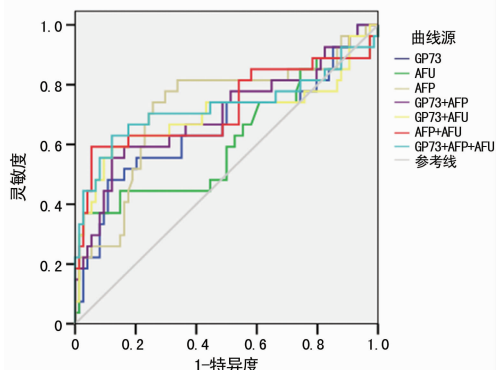


图 3 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 和晚期 HCC 的鉴别诊断 ROC 曲线

表 5 GP73、AFU 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 和肝癌的鉴别诊断价值

检验结果变量	AUC	标准误	渐近 95%置信区间		灵敏度 (%)	特异度 (%)
			下限	上限		
GP73	0.657	0.069	0.522	0.791	79.7	55.6
AFU	0.607	0.072	0.466	0.747	85.1	55.6
AFP	0.720	0.063	0.597	0.843	74.3	74.1
GP73+AFP	0.698	0.072	0.556	0.840	87.8	59.3
GP73+AFU	0.700	0.066	0.571	0.829	83.8	59.3
AFP+AFU	0.721	0.069	0.586	0.856	94.6	59.3
GP73+AFP+AFU	0.725	0.071	0.585	0.864	87.8	63.0

2.5 GP73 在 AFP 阴性早期 HCC 中的诊断价值 在 19 例 AFP 阴性的早期 HCC 患者(AFP 阴性早期 HCC 组)中,GP73

阳性 10 例(阳性率 52.6%);在 49 例健康对照中,GP73 阳性 4 例(阳性率 8.2%),其他肝病组($n=121$,包括肝硬化组和慢性乙型肝炎组)患者中,GP73 阳性 14 例(阳性率 11.6%)。AFP 阴性早期 HCC 组与健康对照组 GP73 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=3.927, P=0.047$);健康对照组与其他肝病组 GP73 阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.428, P=0.513$);早期 HCC 组与其他肝病组 GP73 阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=3.044, P=0.081$)。

2.6 AFU 在 AFP 阴性早期 HCC 中的诊断价值 AFP 阴性早期 HCC 组 AFU 阳性 14 例(阳性率 73.7%),健康对照组 GP73 阳性 20 例(阳性率 40.8%),其他肝病组($n=121$,包括肝硬化组和慢性乙型肝炎组)GP73 阳性 47 例(阳性率 38.8%)。AFP 阴性早期 HCC 组 AFU 阳性率与健康对照组、其他肝病组比较,差异均有统计学意义($\chi^2=5.916, P=0.015$; $\chi^2=8.108, P=0.004$);健康对照组与其他肝病组 AFU 阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.057, P=0.812$)。

3 讨论

我国的 HCC 患者绝大多数来源于长期慢性肝炎、肝硬化患者,在这些高危人群中早期发现 HCC 并及时治疗可明显提高 5 年生存率。血清肿瘤标志物可以在影像学发现 HCC 之前异常表达,对恶性肿瘤起到监测和预警作用。AFP 作为目前应用最为广泛的肿瘤标志物在 HCC 早期诊断中的价值仍非常有限,约 1/3 的慢性肝病、肝纤维化和肝硬化患者出现 AFP 水平不同程度的升高,但 1/3 的 HCC 患者 AFP 水平不升高^[4]。因此,探讨 AFP 联合多种肿瘤标志物检测提高 HCC 早期筛查的检出率非常必要。

GP73 是存在于高尔基体的一种跨膜蛋白,正常情况下主要由胆管上皮细胞表达,而肝细胞表达很少甚至不表达。GP73 在 HCC 高表达,主要表达在细胞质,HCC 血清 GP73 水平升高的原因之一可能是 GP73 增量表达使其回收达到饱和,导致剩余 GP73 向高尔基体顺面远侧移动,肿瘤细胞释放 GP73 进入血液循环^[5-6]。AFU 是一种溶酶体酸性水解酶,广泛分布于人体各种细胞的溶酶体内。当肝细胞癌变时,酶合成增加并释放入血,使血清 AFU 水平升高。发生肝癌时 AFU 活性增高的机制尚不清楚,可能与肝癌细胞的酶蛋白合成增加及降解减慢有关,或与肿瘤细胞坏死破裂酶释放过多有关^[7]。有报道表明,对 AFP 阴性和 AFP 水平低下而不足以诊断 HCC 者,其血清 AFU 的阳性率为 80.8%,而且 AFU 活性与肿瘤大小无关^[8]。因此,AFU 可作为诊断肝癌的有用指标,可能对小细胞肝癌诊断价值更优。

本研究发现,3 项肿瘤标志物独立诊断 HCC 时,AFP 的 AUC 为 0.910(95%CI:0.864~0.936),高于 GP73 和 AFU,提示 AFP 独立诊断 HCC 的性能最高,用作 HCC 的筛查具有较好的临床价值。但是,GP73 和 AFP 联合诊断 HCC 的 AUC 为 0.925(95%CI:0.889~0.950),灵敏度高达 95.0%,相较于 AFP 独立诊断 HCC 的灵敏度(79.2%),二者联合诊断灵敏度明显提高。由此可见,GP73 和 AFP 对于肝癌初筛可功能互补,是临床价值较大的标志物。

在早期 HCC 与肝硬化的鉴别诊断中,GP73 独立诊断的 AUC 为 0.842(95%CI:0.746~0.879),特异度为 86.5%,明显高于 AFP 和 AFU,鉴别诊断性能最高。因此,虽然有学者

提出 GP73 并不适用于术后及无肝硬化的 HCC 患者,但这并不影响其在肝癌早期诊断中的重要作用^[9]。GP73 和 AFU 联合诊断 AUC 为 0.901(95%CI:0.788~0.907),明显高于 GP73 联合 AFP[0.857(95%CI:0.779~0.902)]和 AFP 联合 AFU[0.814(95%CI:0.747~0.881)],说明 GP73 和 AFU 联合诊断对于早期 HCC 和肝硬化的鉴别诊断具有重要意义,其鉴别诊断性能优于 AFP 及 AFP 联合其他指标的诊断组合,但其内在机制有待进一步探索和论证。另外,在早期和晚期 HCC 的鉴别诊断中,AFP 水平在晚期 HCC 患者中显著升高,且其诊断性能优于 AFU 和 GP73,3 项指标联合诊断 HCC 的性能无明显提升。说明 AFP 在肝癌筛查,尤其是发现晚期肝癌的诊断性能较其他两项标志物更好。

本研究还发现,在 19 例 AFP 阴性的早期 HCC 患者中,GP73 阳性病例有 10 例,AFU 阳性病例为 14 例,说明 AFU 在 AFP 阴性的早期 HCC 患者中具有更高的灵敏度,与以往报道一致^[10]。但是在健康对照组及其他肝病组中的假阳性病例数 GP73 相对 AFU 显著减少,分别为 18 例和 67 例。从社会经济学的角度,GP73 的使用更有利于 HCC 筛查工作的推广。

综上所述,GP73 可作为 HCC 筛查的理想标志物,与 AFP 联合检测能提高 HCC 的筛查性能。在早期 HCC 与肝硬化的鉴别诊断中,GP73 联合 AFU 的鉴别诊断性能优于 AFP。本研究尚需更大样本量的验证,以进一步明确 3 种标志物在 HCC 筛查中的诊断性能。

参考文献

- [1] Tunisslioli NM, Castanhole-Nunes MM, Biselli-Chicote PM, et al. Hepatocellular carcinoma: a comprehensive review of biomarkers, clinical aspects, and therapy[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017, 18(4): 863-872.
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)[J]. *传染病信息*, 2017, 30(3): 111-127.
- [3] Ertle JM, Heider D, Wichert M, et al. A combination of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin is superior in detection of hepatocellular carcinoma[J]. *Digestion*, 2013, 87(2): 121-131.
- [4] Li B, Li B, Guo T, et al. The clinical values of serum markers in the early prediction of hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 5358615.
- [5] Zhang Y, Xi Y, Fang J, et al. Identification and characterization of monoclonal antibodies against GP73 for use as a potential biomarker in liver cancer screening and diagnosis[J]. *J Immunoassay Immunochem*, 2016, 37(4): 390-406.
- [6] Gao G, Dong F, Xu X, et al. Diagnostic value of serum Golgi protein 73 for HBV-related primary hepatic carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 11379-11385.
- [7] Zhang SY, Lin BD, Li BR. Evaluation of the diagnostic value of alpha-L-fucosidase, alpha-fetoprotein and thymidine kinase 1 with ROC and logistic regression for hepatocellular carcinoma[J]. *FEBS Open Bio*, 2015, 5: 240-244.

测结果差异无统计学意义($P>0.05$),表明荧光 PCR 核酸扩增法的准确性高。而 PCR 核酸扩增法直接将阴道炎分泌物提取不进行菌落培养,节省培养时间 1~2 d,并且可一次鉴定出常见的致病念珠菌菌种,从而有利于缩短诊断周期,并能准确地诊断念珠菌阴道炎。这对于减轻患者痛苦,提高治疗效果起到十分重要的作用。

本研究中有 32 份标本镜检阳性而荧光 PCR 核酸扩增法检测为阴性,经标本来源及检测方法分析,可能是由于该 32 份镜检阳性标本所感染的真菌并非本研究 PCR 法检测的 3 种真菌,而使得镜检和 PCR 核酸扩增检测结果不一致,因此,两种方法结果可以互为补充。

在 500 例患者常规镜检阳性标本中通过荧光 PCR 核酸扩增法检测,有 3 例为白色念珠菌和光滑念珠菌混合感染,分析原因可能为:(1)荧光 PCR 核酸扩增法灵敏度高,不能区分标本中的活菌与死菌,当真菌死亡后有可能残留一些 DNA,也能被检测出来,但不一定说明被检者感染了念珠菌,导致假阳性结果的出现;(2)反应体系中存在外源 DNA 片段,也可能导致假阳性结果;(3)患者的确为两种念珠菌混合感染。念珠菌本是人体正常菌群之一,但其与阴道内其他正常菌株相互制约的平衡被打破,可能导致阴道念珠菌病的发生^[13]。故应结合患者的具体病史、临床症状和体征进行分析,必要时重新采样。

从以上念珠菌检测方法的方法学上分析,3 种方法各有利弊。盐水涂片法操作简单、方便快捷,由于阴道分泌物标本细胞干扰成分较多,涂片镜检法不易观察到芽生孢子和假菌丝,易造成漏检和误检,但是适合大规模早期检查。显色培养法阳性率和准确度最高,不同酵母菌菌落呈现不同的颜色及形态,而且能做鉴定和药敏试验,指导临床针对性用药,尤其对顽固性复发的念珠菌感染更为有用。但是,其缺点是操作繁琐,耗时长,需要 2~4 d,不利于早期诊断和治疗,且费用较贵。若实验室洁净度不达标,或培养箱 CO₂ 浓度、温度不达标,则结果容易产生误差。但对于迁延不愈的耐药性念珠菌阴道炎患者却有着重要意义。因此可根据需要采用不同的检测手段。若将常规镜检、真菌培养方法和 PCR 技术相结合使用,那么对阴道念珠菌病的检测将会更加有效,有利于解决临床诊断滞后于治疗的问题。

综上所述,白色念珠菌仍然是念珠菌性阴道炎患者最常见致病菌。3 种检测方法各有利弊,荧光 PCR 核酸扩增法能快速准确检测和鉴定出临床最常见的致病念珠菌。但在门诊检验和筛查中,真菌涂片镜检操作简单、快速,有利于早期诊断,仍为首选,但漏检率高。显色培养法阳性检出率高且能进行药敏试验。检验师应结合患者的临床症状和体征,协助医师综合分析检验报告,做出早期诊断和鉴别诊断,促使真菌性阴道炎患者早日康复。

参考文献

[1] Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis[J]. Am Fam Physician,

2011,83(7):807-815.

[2] Quan M. Vaginitis: diagnosis and management[J]. Postgrad Med, 2010, 122(6): 117-127.

[3] Nwokolo NC, Boag FC. Chronic vaginal candidiasis. Management in the postmenopausal patient[J]. Drugs Aging, 2000, 16(5): 335-339.

[4] Koehler P, Cornely OA. Contemporary strategies in the prevention and management of fungal infections[J]. Infect Dis Clin North Am, 2016, 30(1): 265-275.

[5] Erdogan A, Rao SS. Small intestinal fungal overgrowth [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2015, 17(4): 16.

[6] Mendling W. Vaginal microbiota[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 902: 83-93.

[7] Demkin VV, Koshechkin SI, Slesarev A. A novel real-time PCR assay for highly specific detection and quantification of vaginal lactobacilli [J]. Mol Cell Probes, 2017, 32: 33-39.

[8] Seider K, Brunke S, Schild L, et al. The facultative intracellular pathogen *Candida glabrata* subverts macrophage cytokine production and phagolysosome maturation[J]. J Immunol, 2011, 187(6): 3072-3086.

[9] Abdelaziz ZA, Ibrahim ME, Bilal NE, et al. Vaginal infections among pregnant women at Omdurman Maternity Hospital in Khartoum, Sudan [J]. J Infect Dev Ctries, 2014, 8(4): 490-497.

[10] Martens MG, Hoffman P, El-Zaatari M. Fungal species changes in the female genital tract[J]. J Low Genit Tract Dis, 2004, 8(1): 21-24.

[11] Payne MS, Cullinane M, Garland SM, et al. Detection of *Candida* spp. in the vagina of a cohort of nulliparous pregnant women by culture and molecular methods; Is there an association between maternal vaginal and infant oral colonisation? [J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2016, 56(2): 179-184.

[12] Weissenbacher T, Witkin SS, Ledger WJ, et al. Relationship between clinical diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis and detection of *Candida* species by culture and polymerase chain reaction[J]. Arch Gynecol Obstet, 2009, 279(2): 125-129.

[13] Darvishi M, Jahdi F, Hamzegardeshi Z, et al. The Comparison of vaginal cream of mixing yogurt, honey and clotrimazole on symptoms of vaginal candidiasis[J]. Glob J Health Sci, 2015, 7(6): 108-116.

(收稿日期:2017-06-15 修回日期:2017-09-15)

(上接第 4926 页)

[8] Waidely E, Al-Yuobi AR, Bashammakh AS, et al. Serum protein biomarkers relevant to hepatocellular carcinoma and their detection[J]. Analyst, 2016, 141(1): 36-44.

[9] Liu T, Yao M, Liu S, et al. Serum golgi protein 73 is not a suitable diagnostic marker for hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8(10): 16498-16506.

[10] Dai M, Chen X, Liu X, et al. Diagnostic value of the combination of golgi protein 73 and Alpha-Fetoprotein in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0140067.

(收稿日期:2017-07-11 修回日期:2017-09-15)