

· 临床论著 ·

血清白细胞介素-6对乙型肝炎病毒相关
原发性肝癌的预测价值研究

吴丛霞 邹美银 朱勇根 汪美华 吴月平 凌勇武

【摘要】 目的 探讨白细胞介素(IL)-6对乙型肝炎病毒(HBV)相关原发性肝细胞癌(PHC)的临床诊断价值。方法 选择2008年5月至2012年6月南通市第三人民医院收治的36例HBV相关PHC及32例HBV相关肝硬化患者为研究对象,采用酶联免疫吸附试验检测血清IL-6表达水平,分析其与甲胎蛋白(AFP)的相关性及对HBV相关PHC发生的判断。结果 HBV相关PHC患者血清IL-6表达水平显著高于肝硬化患者,肝硬化患者高于健康对照组($t = 6.442, 6.069, P$ 均= 0.000);血清IL-6与AFP呈正相关关系($r = 0.262, P = 0.047$),二者预测HBV相关PHC发生ROC面积分别为0.859和0.904;二者均能较好预测HBV相关PHC发生($Z = 7.917, 10.008, P$ 均= 0.000);以血清IL-6和AFP为参数,拟合预测HBV相关PHC发生的Logistic二元回归方程,模型方程拟合优度高($\chi^2 = 0.434, P = 0.999$),准确率达89.7%。结论 IL-6在预测HBV相关PHC发生方面与AFP具有同等临床价值,若将两者联合作为预测HBV相关PHC发生的指标,则具有更高的准确性。

【关键词】 乙型肝炎病毒;原发性肝细胞癌;白细胞介素-6;甲胎蛋白

Analysis on the predictive value of interleukin-6 for hepatitis B virus related primary hepatocellular carcinoma Wu Congxia, Zou Meiyin, Zhu Yonggen, Wang Meihua, Wu Yueping, Ling Yongwu. Department of Infectious Diseases, The Third Hospital of Nantong, Nantong 226006, China
Corresponding author: Ling Yongwu, Email: lyw_lmm@163.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical value of interleukin (IL)-6 for hepatitis B virus (HBV) related primary hepatocellular carcinoma (PHC). **Methods** Total of 36 patients with HBV related PHC in the Third Hospital of Nantong, from May 2008 to June 2012 were collected, among whom, 32 patients with HBV related liver cirrhosis and 20 healthy controls were enrolled. IL-6 was detected by ELISA. The relationship between IL-6 and AFP and their predicting value for the happening of HBV related PHC were analyzed, respectively. **Results** The level of serum IL-6 in the patients with HBV related PHC was higher than that in HBV related liver cirrhosis and healthy controls ($t = 6.442, 6.069; P = 0.000$). There was positive correlation between IL-6 and AFP ($r = 0.262, P = 0.047$). The area under the ROC curve of IL-6 and AFP predicting HBV related PHC were 0.859 and 0.904, respectively ($Z = 7.917, 10.008; P = 0.000$). When IL-6 and AFP were both taken as parameters predicting occurrence of HBV related PHC, the Logistic binary regression equation had high goodness-of-fitting ($\chi^2 = 0.434, P = 0.999$), the accuracy was 89.7%. **Conclusions** IL-6 and AFP have the equivalent clinical value for predicting HBV related PHC. If taken them as predictors together, they had very high accuracy.

【Key words】 Hepatitis B virus; Primary hepatocellular carcinoma; Interleukin-6; Alpha-fetoprotein

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是世界范围内常见肿瘤之一,慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染被认为是引起PHC的重要因素,当然,非HBV和非HCV感染引起的PHC亦呈上升趋势^[1]。虽然在临床上推荐患者定期

进行肝脏影像学、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)以及肝功能、纤维化指标检查,但这些措施并不能检测到早期PHC的发生,其灵敏度和特异性均较低。至目前为止,我国仍为慢型乙型肝炎的高发区,我国1~59岁一般人群HBsAg携带率仍达到7.18%,HBeAg阳性和(或)HBV DNA > 2 000 IU/ml是肝硬化和HCC发生的显著危险因素^[2]。因此,寻求新的生化学指标筛选出HBV相关性PHC高危人群以尽早启动相关治疗措施对改善患者预后,节省治

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.03.005

基金项目:南通市社会发展项目(No. HS20120019)

作者单位:226006 南通市,南通市第三人民医院感染科

通讯作者:凌勇武, Email: lyw_lmm@163.com

疗费用有着现实的意义。

白细胞介素(interleukin, IL)-6是分子量为21~28 kD的一种糖蛋白,其在促进造血以及不同组织细胞分化方面起到重要作用^[3];同时,在肝脏炎症阶段,IL-6可通过调节多种肝脏特异性基因转录诱导急性期炎症反应,并促进肝细胞生长和再生^[4]。IL-6能否作为预测HBV相关PHC发生的一种新的细胞因子呢?本研究针对该假设进行了相关研究。

资料与方法

一、研究对象

选择2008年5月至2012年6月在南通市第三人民医院住院的HBV相关肝硬化和PHC患者共68例。其中男性52例,女性14例,年龄(52 ± 11)岁。HBV相关肝硬化32例,均为静止性、代偿期肝硬化;HBV相关PHC患者36例,均为静止性、代偿期肝硬化基础。诊断标准均符合2011年美国修订的《原发性肝细胞癌管理指南》^[5]和我国2010年《慢性乙型肝炎防治指南》^[2];同时排除合并HIV、真菌和细菌等其他病原体感染。随机抽取20例健康体检正常病例作为对照组,其中男性11例,女性9例,年龄15~77岁。

二、方法

入选病例于入院后第2天清晨从研究对象肘静脉采取空腹血标本约5 ml,分离血清保存在-70℃冰箱内,集中用于检测IL-6。同步留取血清标本检测丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBil)和白蛋白(albumin, ALB)等肝功能指标以及凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、甲胎蛋白(AFP)和HBV标志物等指标。7170A型全自动生化分析检测ALT、AST、TBil和ALB等肝功能指标,试剂盒由上海科华公司提供;BE COMPACT-X型血凝仪检测PT,试剂盒由

Biopool International公司提供;AXSYM化学发光仪检测AFP,试剂盒由雅培公司提供。IL-6采用上海精美公司和美国BD公司提供的试剂盒,以ELISA法进行检测,用ELX800酶标仪读取A值。操作严格按试剂盒使用说明进行。

三、统计学处理

应用SPSS 16.0软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数比较用 t 检验,多组均数比较用方差分析,计量资料如呈偏态分布,以中位数(四分位数间距)[M(QR)]表示,多样本比较采用秩和检验,变量间相互关系采用Spearman秩相关分析;计数资料两组资料比较使用Fisher确切概率法;应用MedCalc 9.5.5.0统计软件绘制受试工作者特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线,计算最佳预测值、灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值;预测相关事件发生采用Logistic二元回归,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、入选患者的一般情况

入选HBV相关肝硬化、PHC组ALT、TBil、ALB和PT等指标差异无统计学意义($P > 0.05$);AST和AFP表达水平差异具有统计学意义($P = 0.000$),详见表1。

二、HBV相关PHC、肝硬化及对照组患者血清IL-6水平的比较

HBV相关PHC组血清IL-6为(354.4 ± 127.7) ng/ml,肝硬化组为(167.9 ± 111.0) ng/ml,健康对照组为(48.6 ± 4.6) ng/ml。PHC组、肝硬化组与健康对照组相比,差异具有统计学意义($t = 14.34$ 、 6.069 , $P = 0.000$ 、 0.000);PHC组显著高于肝硬化组($t = 6.442$, $P = 0.000$)。

三、血清IL-6与AFP的相关性分析

入选68例的患者中,IL-6与AFP呈正相关性关系($r = 0.262$, $P = 0.047$)。

表1 入选HBV相关肝硬化和PHC患者的一般资料

指标	PHC患者(36例)	肝硬化患者(32例)	统计量	P
性别(例)			$\chi^2 = 0.003$	0.958
男	28	26		
女	8	6		
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	51.8 ± 9.2	52.3 ± 12.7	$t = 0.203$	0.840
ALT [M(QR), U/L]	49.5 (39.0)	49.5 (48.8)	$Z = 0.753$	0.452
AST [M(QR), U/L]	45.5 (30.2)	108 (132.2)	$Z = 4.031$	0.000
TBil [M(QR), $\mu\text{mol/L}$]	23.2 (21.7)	37 (80.7)	$Z = 1.773$	0.076
ALB (g/L, $\bar{x} \pm s$)	34.19 ± 7.24	36.86 ± 4.69	$t = 1.750$	0.086
PT (s, $\bar{x} \pm s$)	15.69 ± 3.67	15.00 ± 2.15	$t = 0.962$	0.340
AFP (ng/ml)	9.2 (17.6)	973.2 (3 530.9)	$Z = 5.269$	0.000

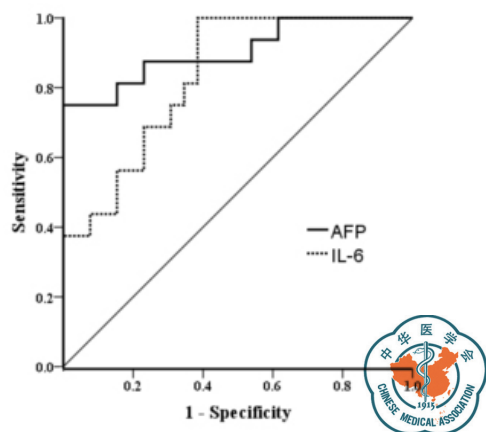


图1 IL-6和AFP预测HBV相关PHC发生的ROC曲线

四、血清IL-6和AFP对HBV相关PHC发生的ROC分析

血清IL-6和AFP均能较好预测HBV相关PHC发生 ($P < 0.05$)。二者相比,差异无统计学意义 ($Z = 1.137, P = 0.256$), 详见图1和表2。

五、血清IL-6和AFP预测HBV相关PHC发生的Logistic分析

以血清IL-6和AFP为参数,拟合Logistic二元回归方程,模型方程拟合优度高 ($\chi^2 = 0.434, P = 0.999$),准确率达到89.7%。对HBV相关PHC发生的测拟合方程为:

$$\ln \left(\frac{p}{1-p} \right) = -12.077 + 0.029 \times \text{IL-6} + 0.137 \times \text{AFP}$$

讨 论

鉴于我国是慢性乙型肝炎的高流行区,PHC主要由HBV感染引起,而HBV相关PHC患者大部分均发生在肝硬化基础上,本研究通过检测HBV相关肝硬化和PHC患者血清IL-6的表达水平,探讨了IL-6对HBV相关肝硬化基础上PHC的预测价值。本研究发现,血清IL-6在HBV相关PHC和肝硬化患者中表达水平显著高于健康对照组;IL-6表达水平的高低可预测HBV相关PHC的发生,特异性较高,IL-6联合AFP预测PHC的准确率较高。

IL-6是一种多效应细胞因子,在免疫应答、细胞再生和凋亡等过程中起到重要作用,在肿瘤的微环境中,其主要由炎性和基质细胞诱导产生,与gp80/gp130复合体结合,导致JAK活化和STAT3磷酸化调节原癌基因表达,调节细胞增殖和阻止凋亡发生^[6]。既往研究表明,HBV X蛋白参与了PHC的肿瘤形成过程,而HBV X蛋白可调节IL-6的表达^[7];由于雌激素可以抑制Kupffer细胞产生IL-6,在动物实验中,雌性小鼠产生的IL-6低于雄性小鼠,且雄性小鼠PHC的发生率明显高于雌性小鼠^[8],此项研究结果也被在IL-6高水平表达可预测女性HBV、HCV感染者PHC发生的研究中证实^[9-10],提示IL-6在PHC发生发展过程中起到一定的作用。早期研究也发现,IL-6介导的STAT3磷酸化不仅参与了PHC的发生过程,还参与了肺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌以及血液系统肿瘤的发生^[11]。还有研究表明,IL-6水平升高可导致胰岛素抵抗发生,从而使胰岛素样生长因子-1表达减少^[12],而胰岛素样生长因子-1的表达减少则与PHC的发生密切相关;因此,IL-6从另一途径促进了PHC的发生^[13]。本研究中,HBV相关PHC患者IL-6表达水平高于HBV相关肝硬化和健康对照组,进一步提示IL-6在PHC的发生发展过程中起到作用。本研究还发现,HBV相关肝硬化患者IL-6的表达水平亦有升高,这主要与HBV感染后发生慢性炎症,肝脏慢性炎症可通过NF- κ B途径激活诱导Kupffer细胞表达IL-6,肝清除能力的降低有关^[14]。

目前,筛选PHC临床最常见的指标仍为AFP,但其灵敏度及特异性均不高,有研究表明,如AFP以20 ng/ml为界限,其灵敏度仅为60%,即使以400 ng/ml为界限,灵敏度为66%,特异性为82%,其阳性预测值仅为60%^[15]。本研究认为,血清IL-6与AFP呈正相关关系,IL-6与AFP在预测HBV相关PHC发生方面,差异无统计学意义。如以AFP > 60.5 ng/ml为标准,虽特异性高达95%,阳性预测值97%,但灵敏度仍仅有75%;而以IL-6 > 161.3 ng/ml为标准,特异性和阴性预测值均达到98%,但灵敏度仅为68.7%,表明这两项指标在预测HBV相关PHC发生方面有着互补作用。采用Logistic二元回归方法将两者联合作为HBV相关PHC的预测指标,其预测

表2 IL-6和AFP预测HBV相关PHC发生的ROC分析指标

指标	C-statistic 值	95%CI	Z statistic	^a P	最佳临界值 (ng/ml)	灵敏度 (%)	特异性 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	准确性 (%)
IL-6	0.859	0.754 ~ 0.932	7.917	0.000	161.3	68.7	98.0	78.3	98.0	73.5
AFP	0.904	0.797 ~ 0.965	10.008	0.000	60.5	75.0	95.0	97.0	77.0	82.8

注: ^a 与 ROC = 0.5 相比较

HBV相关PHC的准确性高达89.7%，二元回归方程的拟合优度高。

综上所述，IL-6在预测HBV相关PHC发生方面与AFP有着同等临床价值，如将两者联合作为预测HBV相关PHC发生的指标，则有更高的准确性。

参考文献

- 1 Ohishi W, Cologne JB, Fujiwara S, et al. Serum interleukin-6 associated with hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study[J]. *Int J Cancer*,2014,134(1):154-163.
- 2 中华医学会肝病学会, 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]. *中华肝脏病杂志*,2011,19(1):13-24.
- 3 Metwaly HA, Al-Gayyar MM, Eletreby S, et al. Relevance of serum levels of interleukin-6 and syndecan-1 in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Pharm*,2012,80(1):179-188.
- 4 Mantovani G. Circulating interleukin-6 as a tumor marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Oncol*,2008,19(7):1355.
- 5 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update[J]. *Hepatology*,2011,53(3):1020-1022.
- 6 Bromberg J, Wang TC. Inflammation and cancer: IL-6 and STAT3 complete the link[J]. *Cancer Cell*,2009,15(2):79-80.
- 7 Kim JS, Rho BY, Lee TH, et al. The interaction of hepatitis B virus X protein and protein phosphatase type 2 C α and its effect on IL-6[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2006,351(1):253-258.
- 8 Naugler WE, Sakurai T, Kim S, et al. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production[J]. *Science*,2007,317(5834):121-124.
- 9 Nakagawa H, Maeda S, Yoshida H, et al. Serum IL-6 levels and the risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients: an analysis based on gender differences[J]. *Int J Cancer*,2009,125(10):2264-2269.
- 10 Wong VW, Yu J, Cheng AS, et al. High serum interleukin-6 level predicts future hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis B[J]. *Int J Cancer*,2009,124(12):2766-2770.
- 11 Grivennikov S., Karin M. Autocrine IL-6 signaling: a key event in tumorigenesis?[J]. *Cancer Cell*,2008,13(1):7-9.
- 12 Daniele G, Guardado Mendoza R., Winnier D, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus[J]. *Acta Diabetol*,2014,51(1):123-131.
- 13 Hung TM, Ho CM, Liu YC, et al. Up-regulation of microRNA-190b plays a role for decreased IGF-1 that induces insulin resistance in human hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*,2014,9(2):e89446.
- 14 Szuster-Ciesielska A, Daniluk J, Kandefer-Zerszen M. Serum levels of cytokines in alcoholic liver cirrhosis and pancreatitis[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*,2000,48(4):301-307.
- 15 邹美银, 朱勇根, 汪美华, 等. 白细胞介素-32和基质金属蛋白酶-2对原发性肝癌的诊断价值[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2014,7(6):821-824.

(收稿日期: 2014-07-24)

(本文编辑: 孙荣华)

吴丛霞, 邹美银, 朱勇根, 等. 血清白细胞介素-6对乙型肝炎病毒相关原发性肝癌的预测价值研究 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2015, 9 (3): 318-321.