

原发性肝癌凝血及抗凝指标检测结果分析

徐献群,杜 艳,刘 芳

摘 要:目的 探讨肝癌患者凝血及抗凝指标与肝癌病情及预后的关系。方法 对 49 例肝癌患者(其中 23 例术后复查)的部分凝血及抗凝指标进行检测。结果 肝癌合并肝硬化组 PT、APTT、TT 与正常组比较均显著延长;肝癌组术前 FIB 显著高于正常对照组,肝癌并肝硬化组 FIB 则显著降低;肝癌患者 TF 活性均显著高于正常对照组;各组肝癌患者 AT-III 活性均显著降低。结论 肝癌患者明显存在凝血及抗凝血激活状态,TF 和 AT-III 可作为肝癌诊断和判断预后的指标。

关键词: 原发性肝癌;凝血;组织因子(TF);抗凝血酶-III 活性

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2002)06-0471-02

Variation of coagulation and anticoagulation markers in patients with primary liver carcinoma

XU Xian-qun, DU Yan, LIU Fan-g

Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To investigate the variation of coagulation and anticoagulation in patients with primary liver carcinoma (PLC) and their relationship with tumor incidence and development. **Methods** Partial coagulation and anticoagulation markers were measured in 49 patients with PLC. **Results** The length of PT, TT and APTT in group of PLC with cirrhosis were significantly longer than that of normal controls ($P < 0.05 \sim 0.01$). The decreased level of FIB and AT-III were found in samples from 26 patients with cirrhosis. In contrast, increased level of FIB and AT-III were detected in 23 liver cancer, and were significantly decreased after operation. The level of TF in three groups were higher than that of normal controls. **Conclusion** Action of coagulation and anticoagulation existed in patients with PLC. TF and AT-III: A might also be a clinically useful marker for PLC determination and prognosis.

Keywords: Primary liver carcinoma; Coagulation; Tissue factor; Antithrombin-III

原发性肝癌(primary liver carcinoma, PLC)指自肝细胞或肝内胆管发生的癌肿,是我国常见的恶性肿瘤之一,严重威胁着人类的健康。肝癌患者早期常伴有恶性肿瘤的高凝状态表现,但到中期或晚期,肝细胞遭受广泛破坏,则会发生凝血及抗凝机制的异常。为探讨肝癌患者凝血及抗凝指标与肝癌病情及预后的关系,我们对 49 例肝癌患者常规凝血项目凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、及组织因子(tissue factor, TF)、抗凝血酶-III 活性(antithrombin-III active, AT-III:A)进行检测,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源与分组 正常对照组(NC 组):30 例,

男女各 15 例,年龄 18~55 岁,平均 37.4 岁,为我院门诊体检正常的健康人;经临床及相关辅助检查确诊原发性肝癌 49 例,按内科学第五版,以临床检查有无肝硬化表现分为肝癌术前组(23 例,男 15 例,女 8 例,年龄 24~52 岁,平均 35.7 岁)、肝癌术后组及肝癌合并肝硬化组(26 例,男 17 例,女 9 例,年龄 21~56 岁,平均 38.5 岁)。

1.2 检测方法 空腹采取静脉血 1.8ml,用 0.2ml 3.8% 枸橼酸钠抗凝,3000r/min 离心 10min,分离血浆,所有标本先做 PT、APTT、TT、FIB,另取部分血浆保存于-30℃,集中做 TF 及 AT-III 活性检测。TF 试剂盒由美国 ADI 公司提供,采用发色底物法。定标血浆、PT、APTT、TT、FIB、AT-III 活性试剂盒及通用定标标准血浆(UCRP)试剂盒均由美国太平洋公司提供。PT 试剂 ISI=1.18,APTT 激活剂为白陶土。PT、APTT、TT 用凝固法,FIB 测定用凝血酶法;AT-III:A 用发色底物法。仪器为 Thromboscreen 400C 半自动血凝仪及芬兰 MULTISKAN MS352 型酶标仪。具体操

收稿日期:2002-03-28;修回日期:2002-09-15
作者单位:430071 武汉大学中南医院检验科

作操作严格参照仪器和试剂盒说明书进行。

2 结果

1.3 统计学处理 数据用均数 ±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,与正常对照组比较,用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

肝癌患者及正常对照组凝血与抗凝指标检测结果,见表 1。

表 1 三组肝癌患者凝血及抗凝指标检测结果与正常对照组比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PT (S)	APTT (S)	TT (S)	Fib(g/L)	TF(mU/ml)	AT-III:A (%)
肝癌组术前	23	12.53 ±1.11	34.24 ±5.94	413.18 ±2.31	5.49 ±1.61 **	24.52 ±12.35 **	69.31 ±21.74 *
肝癌组术后	23	13.63 ±1.24 *	33.41 ±3.93	15.17 ±2.72 *#	3.25 ±0.41 #	20.6 ±11.42 *#	78.74 ±19.45 *#
肝癌并肝硬化	26	15.35 ±1.84 *	38.73 ±3.98 *	15.74 ±3.24 *	2.19 ±0.32 **	28.18 ±16.53 **	54.51 ±23.67 **
正常对照组	30	12.47 ±0.86	34.16 ±2.61	12.54 ±2.42	3.02 ±0.52	13.46 ±7.22	98.43 ±14.56

注:与对照组比较,*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$; 术后与术前比较,#表示 $P < 0.05$, ##表示 $P < 0.01$

早期肝癌患者 PT、APTT、TT 与正常组比较差异无显著性 ($P > 0.05$),而肝癌合并肝硬化组,以上各指标均显著延长 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);早期肝癌组纤维蛋白原显著高于正常对照组 ($P < 0.01$),肝癌并肝硬化病人 FIB 则显著降低 ($P < 0.01$);各组肝癌患者 TF 活性均显著高于正常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);术后相对于术前上述各指标有所降低。各组肝癌患者 AT-III 活性均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),术后相对于术前有所升高,肝癌合并肝硬化组 AT-III 活性降低最显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

肝脏是除钙离子及因子 VIIa 链以外的所有凝血因子及抗凝物质 AT-III 的重要合成场所,肝病患者凝血及抗凝指标的改变已有很多报道,但原发性肝病患者具有肝病患者的某些凝血特点的同时,又具有恶性肿瘤患者常有的高凝特征,这二者相互矛盾。一方面,肿瘤细胞激活凝血因子,另一方面肝细胞的破坏又造成凝血因子及抗凝成分的合成不足。肝癌患者凝血及抗凝指标的异常常与肝癌的病情及预后有关。

在常规凝血指标中,PT 是反映血浆中 II、V、VII、X 以及 FIB 在血浆中的水平的试验。APTT 的测定是内源途径凝血因子 VIII、IX、XI、XII 的活性,同时受因子 II、V、X 及纤维蛋白原减少或血循环中有抗凝物质的影响,影响 APTT 结果的因素比 PT 多。TT 则受类肝素物质增多,纤维蛋白原减少,FDP 增多的影响。PT、APTT、TT 是多种因素综合作用的结果。肝癌早期,由于癌肿只存在局部,肿瘤外有假包膜形成^[1],加之肝脏代偿能力非常强,各凝血因子活性减少并不明显,另肿瘤细胞恶性增殖,分泌癌促凝物质如 TF^[2],早期肝癌患者 PT、APTT、TT 与正常组比较均无显著性差异,有的患者甚至缩短,表现出肿瘤病人典型的高凝状态。而肝癌合并肝硬化组,以上各指标均显著延长,与肝细胞受损范围和程度有关,也提示随着肝癌病情的发展,累及更多的肝细胞,严重损伤肝脏功能,导致肝脏合成各凝血因子

严重不足。

纤维蛋白原是血浆中分子量最大的一种急性反应性蛋白质,在病理状态下如恶性肿瘤、急性感染时均可增高。早期肝癌组纤维蛋白原显著高于正常对照组,这与癌症患者恶性增殖及高凝状态有关。借助纤维蛋白原的粘附作用,附着在血小板或内皮上,促使肿瘤细胞转移。手术后,纤维蛋白原可恢复正常水平。而肝癌复发的病人,或手术效果不佳,FIB 再趋升高或不降反升。FIB 是肝癌恶性程度较敏感的指标。肝癌并肝硬化病人 FIB 则显著降低,肝癌病人 FIB 一旦持续减少,提示肝癌转变为肝硬化的可能。我们在检测中还发现 PT、APTT、TT 延长的病人,其 FIB 都减少。

TF 是丝氨酸蛋白酶凝血因子 VII/VIIa 的细胞膜受体,在肿瘤组织中可广泛表达于肿瘤细胞和新生血管内皮细胞,参与肿瘤血管生成,促进肿瘤生长、浸润与转移。TF 除作为外源凝血系统的启动者外,其促进细胞增生,肿瘤形成及转移方面的作用备受关注^[3]。恶性肿瘤细胞组织因子高表达,是造成血液高凝状态的重要原因。本文结果表明,各组肝癌患者 TF 活性均显著高于正常对照组,术后相对于术前有所降低,但仍然高于正常对照组。肝癌合并肝硬化组 TF 活性升高最为明显,提示 TF 与肝癌的生长和血管高度增生有关,TF 可作为肝癌早期诊断的指标,也为肝癌病人高凝状态提供有利证据。

AT-III 为丝氨酸蛋白酶抑制物,是由肝脏和内皮细胞合成的人体最重要的抗凝因子之一,占整个抗凝作用的 70%。肝癌患者 AT-III 的减少主要原因是严重肝损害而获得性合成减少。AT-III 活性的降低也与肝癌的高凝状态有关。肝癌患者 AT-III 活性均显著降低,术后相对于术前有所升高,肝癌合并肝硬化组 AT-III 活性降低最为明显。在临床检测中发现,AT-III 活性低于 30% 的患者,凝血指标均显著延长,表明 AT-III 活性与肝癌病情和预后密切相关,与文献报道一致^[4]。

(下转第 474 页)

5.1%, 高剂量组肿瘤细胞凋亡率明显高于其他剂量组。

表 1 参桃软肝丸对小鼠腹水型肝癌(H₂₂)细胞的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量	腹水量(ml)		H ₂₂ 细胞($10^{12}/L$)		H ₂₂ 细胞核分裂数(个)	
高剂量组	30/k g	3.53 \pm 0.96 ^{***#}	3.67 \pm 1.67 ^{***#}	0.177 \pm 0.05 ^{***#}	0.19 \pm 0.008 ^{***#}	6.5 \pm 1.72 ^{***#}	6.7 \pm 1.67 ^{***#}
中剂量组	20/k g	4.31 \pm 1.93 ^{***#}	3.86 \pm 1.83 ^{***#}	0.16 \pm 0.03 ^{***#}	0.29 \pm 0.11 ^{***#}	6.9 \pm 1.52 ^{***#}	7.1 \pm 2.13 ^{***#}
低剂量组	10/k g	4.42 \pm 1.48 ^{***#}	4.93 \pm 1.48 ^{***#}	0.20 \pm 0.07 ^{***#}	0.33 \pm 0.40 ^{***#}	7.6 \pm 0.97 ^{***#}	8.2 \pm 2.15 ^{***#}
F-207 组	0.2 g/k g	2.86 \pm 0.87 ^{***}	2.84 \pm 0.90 ^{***}	0.15 \pm 0.08 ^{***}	0.26 \pm 0.08 ^{***}	5.3 \pm 1.16 ^{***}	5.4 \pm 1.84 ^{***}
生理盐水组	0.2ml/10 g	5.96 \pm 1.38	6.13 \pm 2.40	0.27 \pm 0.05	0.43 \pm 0.09	9.4 \pm 2.11	10.3 \pm 1.49

注:与生理盐水组比较: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。与 FT-207 组比较: # $P>0.05$; ## $P<0.05$; ### $P<0.01$; #### $P<0.001$

表 2 参桃软肝丸对肝癌(H₂₂)细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂 量	H ₂₂ 细胞凋亡率(%)	
高剂量组	30g/k g	9.5 \pm 2.89 ^{***###}	9.2 \pm 1.62 ^{***#}
中剂量组	20g/k g	7.7 \pm 3.77 ^{***#}	6.9 \pm 1.73 ^{***#}
低剂量组	10g/k g	6.6 \pm 1.57 ^{***#}	5.1 \pm 1.10 ^{#####}
FT-207 组	0.2 g/k g	14.2 \pm 3.71 ^{***}	11.1 \pm 3.48 ^{***}
生理盐水组	0.2ml/10 g	4.4 \pm 2.00	3.7 \pm 1.16

注:与生理盐水组比较: * $P<0.05$; * $P<0.01$; * $P<0.001$ 。与 FT-207 组比较: # $P>0.05$; ## $P<0.05$; ### $P<0.01$; #### $P<0.001$

2.3 光镜观察

各用药组肿瘤细胞形态略为规则,肿瘤细胞核分裂数明显减少,部分肿瘤细胞体积缩小,核固缩,染色质浓缩边集,有的染色质断裂形成大小不一的胞内核小体,小部分细胞核膜消失,胞浆浓缩,有空泡形成。同时还可以看到肿瘤细胞周围有大量的淋巴细胞浸润。

3 讨论

本研究发现,参桃软肝丸高、中、低剂量组腹水量和肿瘤细胞数以及细胞核分裂数均明显低于生理盐水组,部分肿瘤细胞体积缩小,核固缩,染色质浓缩边集,有的肿瘤细胞核断裂形成大小不一的胞内核小体,有的细胞核膜消失。肿瘤细胞凋亡率明显升高,与生理盐水组比较有显著差异($P<0.05$ 或 0.01 、 0.001),同时还发现肿瘤间质淋巴细胞明显增多。提示:本药有抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,增强机体免疫

功能的作用。

细胞增殖与凋亡是机体维持自身稳定的基础,大量研究表明:恶性肿瘤无限增殖与肿瘤细胞凋亡减少和分裂增加有关。许多实验已证实细胞凋亡的减少可引起肿瘤的发生,并且通过逃避凋亡而促进肿瘤细胞的恶性转化及演变和进展。本实验结果表明,参桃软肝丸可能是通过抑制肿瘤细胞核分裂,使肿瘤无限增殖得到控制,另外,还可能通过诱导肿瘤凋亡,使恶性肿瘤细胞凋亡减少现象得到调整。从而达到抗肿瘤作用。

参考文献:

[1] 应妩. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社, 1992.4.
[2] 凌启. 实用病理特殊染色和组化技术[M]. 广州:广东高等教育出版社,1989.195.
[3] 许良中. 实用肿瘤病理方法学[M]. 上海:上海医科大学出版社, 1997.611.

(李奇明校对)

(上接第 472 页)

综上所述,PT、APTT、TT 是多种凝血因子、TF、AT-III 活性共同作用的结果,只在肝癌晚期才表现出异常,而 FIB、TF、AT-III 在肝癌的发生、发展、恶化过程中均有明显变化,可作为肝癌患者病情进展,治疗效果及预后较敏感和有效的判断指标。TF 活性升高,AT-III 活性降低与肿瘤的增殖和高凝密切相关。

参考文献:

[1] 雷杰,左宝昌,韩志国,等. 原发性肝癌 MRI 的特异性诊断[J]. 临床肝胆病杂志,1999,15 (1):44-45.
[2] 王振义,李家增,阮长耿. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海:上海科学技术出版社,1995.518-519.
[3] 王学锋,赵维莅,璩斌,等. 肝病患者凝血及纤溶分子标志物变化[J]. 中华检验杂志,2000,23 (6):331-333.
[4] 储海燕,王鸿利,王学锋,等. 病毒性肝炎患者凝血纤溶系统的研究[J]. 血栓与止血学,2001,7 (2):62-66.

(李奇明校对)