

乙醛脱氢酶 1 在良恶性腹水鉴别诊断中的价值

万诚诚¹, 刘梅¹, 柴烁¹, 张强¹, 梅传忠²

[摘要] **目的:**通过检测病人腹水乙醛脱氢酶 1 (ALDH1) 的水平,探讨 ALDH1 在良恶性腹水鉴别诊断上的价值和意义。**方法:**随机收集恶性腹水 32 例和良性腹水 22 例,采用酶联免疫吸附法检测腹水中 ALDH1 水平,分析 ALDH1 水平在良恶性腹水中的差异,以及在不同原发疾病中的情况。**结果:**恶性腹水组年龄较良性腹水组高($P < 0.05$),但 2 组间性别分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。良性及恶性腹水组 ALDH1 水平在不同年龄和性别间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。恶性腹水中 ALDH1 的水平明显高于良性腹水组($P < 0.05$)。腹水 ALDH1 在几种不同原发肿瘤中的水平在肝癌中最高($P < 0.05$),在消化道癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胰腺癌组之间的水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。良性腹水中肝硬化腹水 ALDH1 水平较结核性腹膜炎腹水明显升高($P < 0.05$)。**结论:**ALDH1 在良恶性腹水的鉴别诊断中有重要意义,对临床寻找不明原因腹水的原发疾病具有重要指导意义。

[关键词] 腹水;乙醛脱氢酶 1;鉴别诊断

[中图分类号] R 442.5 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.09.020

The value of ALDH1 in the differential diagnosis of benign and malignant ascites

WAN Cheng-cheng¹, LIU Mei¹, CHAI Shuo¹, ZHANG Qiang¹, MEI Chuan-zhong²

(1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004;

2. Department of Clinical Laboratory Medicine, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the level of acetaldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) of ascites, and explore the value and significance of ALDH1 in differential diagnosis of benign and malignant ascites. **Methods:** The levels of ALDH1 in 32 malignant ascites cases and 22 benign ascites cases were detected using ELISA. The levels of ALDH1 in benign and malignant ascites, and different primary diseases were analyzed. **Results:** The age in malignant ascites group was higher than that in benign ascites group ($P < 0.05$), but the difference of the gender distribution between two groups was not statistically significant ($P > 0.05$). The differences of the levels of ALDH1 in two groups among different ages and genders were not statistically significant ($P > 0.05$). The levels of ALDH1 in malignant ascites group was significantly higher than that in benign ascites group ($P < 0.05$). Among few primary tumors, the level of ALDH1 in malignant ascites of liver cancer was the highest, and the differences of the levels of ALDH1 among digestive tract cancer, endometrial cancer, ovarian cancer and pancreatic cancer were not statistically significant ($P > 0.05$). Among the benign ascites, the level of ALDH1 in liver cirrhosis ascites significantly increased compared with tuberculous peritonitis ascites ($P < 0.05$). **Conclusions:** ALDH1 has important significance in the differential diagnosis of benign and malignant ascites, and identifying the primary disease of ascites.

[Key words] ascites; aldehyde dehydrogenase 1; differential diagnosis

正常状态下,人腹腔内存在少量液体,在肠蠕动时起润滑作用,其产生和吸收处于动态平衡。病理状态下,腹腔内液体平衡被打破,可异常增多, > 200 mL 时,即形成腹水。不同病因所致的腹水其治疗方法和预后差异甚大,如恶性腹水病人预后差,中位生

存时间仅约为 20 周^[1],因此及时、准确地判断腹水性,将直接影响病人的诊断、治疗和预后,对良恶性腹水的鉴别诊断在临床上具有重要的现实意义。乙醛脱氢酶 1 (aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1) 是催化内源性及外源性醛类物质为相应羧酸的细胞溶质酶,大量实验证明 ALDH1 在很多实体瘤中表达升高,如乳腺癌、食管癌等^[2-3],ALDH1 是新近发现的肿瘤干细胞标志物,参与肿瘤的发生发展。ALDH1 在腹水中的表达以及其对腹水性质的鉴别在临床相关疾病诊治中的意义目前罕有报道。因此,本研究采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测病人腹水中 ALDH1 的表达水平,分析 ALDH1 在良恶性腹水及不同原发疾病中的表达情况。现作报道。

[收稿日期] 2017-12-09 [修回日期] 2018-06-05

[基金项目] 安徽省高校自然科学基金研究重点项目 (KJ2016A467, KJ2017A226)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 检验科,安徽 蚌埠 233004; 2. 蚌埠医学院 医学检验系,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 万诚诚 (1991-),女,硕士研究生。

[通信作者] 梅传忠,硕士研究生导师,副教授。E-mail: 305644380@qq.com; 张强,硕士研究生导师,副教授。E-mail: bbyxyzq@163.com

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集蚌埠医学院第一附属医院 2016 年 12 月至 2017 年 6 月收治的 54 例腹水病人标本,其中恶性腹水 32 例,男 17 例,女 15 例,年龄 42~85 岁;按原发肿瘤分组,肝癌 6 例,消化道癌 6 例,子宫内膜癌 4 例,卵巢癌 3 例,胰腺癌 2 例,其他 5 例,原发灶不明 6 例。良性腹腔积液 22 例,男 9 例,女 13 例,年龄 25~84 岁;按原发疾病分组,肝硬化 10 例,结核性腹膜炎 6 例,其他 6 例。恶性腹水为腹水穿刺脱落细胞学阳性或经病理诊断,并排除其他可以引起腹水的良性疾病。良性腹水组经由临床症状、实验室检测及影像学检查等综合判断,并不伴有恶性肿瘤。恶性腹水组年龄高于良性腹水组年龄($t' = 2.62, P < 0.05$),但 2 组间性别分布差异无统计学意义($\chi^2 = 0.19, P > 0.05$)。

1.2 标本采集 采集病人入院后经腹腔穿刺取得的腹腔积液 10 mL,立即置于离心机中 1 500 r/min,离心 10 min,取上清液置 -70 °C 冰箱备用。

1.3 检测方法 ELISA 试剂盒购自苏州卡尔文生物有限公司。严格按照说明书操作,设置标准孔和样本孔,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体,经温育并彻底洗涤,加终止液后立即用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度,以标准品浓度作横坐标,对应的吸光度值作纵坐标,绘制标准曲线性回归曲线,根据曲线方程计算各个样本中 ALDH1 水平。

1.4 统计学方法 采用 t (或 t') 检验、方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 良恶性腹水 ALDH1 的表达情况 良、恶性腹水 ALDH1 表达水平在不同年龄和性别间差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1);恶性腹水 ALDH1 水平(175.0 ± 223.6) U/L 高于良性腹水的水平(72.1 ± 29.6) U/L($t' = 2.43, P < 0.05$)。恶性腹水中肝癌腹水 ALDH1 水平远远高于非肝癌恶性腹水、肝硬化腹水和非肝硬化腹水的水平($P < 0.01$),非肝癌恶性腹水、肝硬化腹水和非肝硬化腹水 ALDH1 的水平 3 组之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 2)。

2.2 腹水 ALDH1 在几种原发疾病中的表达情况 腹水 ALDH1 在不同原发肿瘤中的表达水平在肝癌中最高($P < 0.05$),在消化道癌、子宫内膜癌、卵巢

表 1 不同年龄、性别间 2 组腹水 ALDH1 水平的比较 ($\bar{x} \pm s; U/L$)

分组	<i>n</i>	ALDH1	<i>t</i>	<i>P</i>
恶性腹水组				
年龄/岁				
<50	7	108.6 ± 28.1	1.09	>0.05
≥50	25	93.6 ± 33.1		
性别				
男	17	101.3 ± 37.2	0.88	>0.05
女	15	92.0 ± 26.0		
良性腹水组				
年龄/岁				
<50	9	65.7 ± 28.8	0.84	>0.05
≥50	13	76.6 ± 30.5		
性别				
男	9	68.3 ± 24.9	0.67	>0.05
女	13	77.7 ± 36.4		

表 2 肝源性及非肝源性腹水 ALDH1 水平比较 ($\bar{x} \pm s; U/L$)

分组	<i>n</i>	ALDH1	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i> _{组内}
肝癌腹水	6	449.4 ± 347.9	26.63	<0.01	9 634.288
非肝癌恶性腹水	26	84.5 ± 19.2 **			
肝硬化	10	87.9 ± 30.1 **			
非肝硬化良性腹水组	12	61.0 ± 23.0 **			

q 检验:与肝癌组比较 ** $P < 0.01$

癌、胰腺癌组之间的表达水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 3)。良性腹水按原发疾病,比较了肝硬化和结核性腹膜炎腹水 ALDH1 水平,结果显示 10 例肝硬化组 ALDH1 水平(87.9 ± 30.1) U/L 高于 6 例结核组的水平(59.5 ± 11.81)($t = 2.18, P < 0.05$)。

表 3 恶性腹水中 ALDH1 表达水平在不同肿瘤中的比较 ($\bar{x} \pm s; U/L$)

分组	<i>n</i>	ALDH1	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i> _{组内}
肝癌	6	449.4 ± 347.9	3.75	<0.05	37 955.100
消化道癌	6	71.9 ± 16.5 *			
子宫内膜癌	4	111.4 ± 11.7 *			
卵巢癌	3	81.6 ± 12.8 *			
胰腺癌	2	85.9 ± 2.9 *			

q 检验:与肝癌组比较 * $P < 0.05$

3 讨论

腹水仅是一种病征,产生腹水的病因很多,如肝脏病、肿瘤、结核性腹膜炎、心血管病等^[4]。国内报道病因不明的腹水中恶性肿瘤是其常见的病变,约

占 39.5%^[5],但也有研究认为肝硬化比例高^[6]。目前临床上常用的腹水鉴别诊断方法包括联合肿瘤标志物检测、脱落细胞学检测和腹膜穿刺等,但都有其局限性。其中脱落细胞学是诊断恶性腹水金标准,其特异度高,可达 100%,但是其灵敏度仅 50%~70%^[7],其主要原因为原发肿瘤渗透腹膜但不脱落,导致细胞学检测结果呈阴性。脱落细胞学易漏检,影响因素多,包括检测医生经验、标本等都可影响实验结果,阳性率低^[8]。肿瘤标志物检测应用广泛,但敏感性和特异性较差,检测价格也较高。

ALDH1 是具有氧化作用的含锌酶,广泛分布于消化系统、内分泌系统和生殖系统,其中在肝脏组织中呈现高表达状态^[9]。本实验研究发现 ALDH1 高表达于肝癌及肝硬化腹水中,与文献报道相符。近年来研究发现,肿瘤组织中 ALDH1 较癌旁组织表达升高,并与肿瘤的分期、转移及预后呈明显相关性。如在胃癌中 ALDH1 在胃癌组织较癌旁组织表达升高,ALDH1 蛋白表达越高其临床分期越高,预后越差,越易发生淋巴结转移^[10]。有研究^[11-12]发现 ALDH1 与肿瘤上皮间质转换和血管内皮生成因子有关,通过上皮间质转换、血管生成介导肿瘤细胞浸润、转移。王静等^[13]从宫颈癌组织中分离出 ALDH1 阳性和 ALDH1 阴性细胞,分别进行裸鼠成瘤实验,结果发现当接种 100 个 ALDH1 阳性细胞时小鼠体内即可形成移植瘤,但需达到 10⁴ 个 ALDH1 阴性细胞数才可以形成移植瘤,且 ALDH1 阳性细胞较 ALDH1 阴性细胞成瘤时间早、体积大。KATSUNO 等^[14]在弥漫性胃癌的研究中发现,ALDH1 阳性细胞的高致瘤特性与 ALDH1 阳性细胞中再生基因 4 基因的上调有关,通过基因检测发现 ALDH1 阳性细胞再生基因 4 基因表达上调,约为 ALDH1 阴性细胞的 2~5 倍,上调胃癌细胞系再生基因 4 表达发现细胞表现出更强的集落形成能力,相反抑制再生基因 4 表达后 ALDH1 阳性细胞无论是在集落形成能力上,还是在肿瘤形成能力上均与 ALDH1 阴性细胞无显著差异。在化疗耐药方面,ALDH1 蛋白高表达可使肿瘤细胞对化疗药物敏感性降低,ALDH1 可将化疗药物环磷酰胺的中间代谢产物醛磷酰胺形成无毒的羧基磷酰胺,从而减少了环磷酰胺对细胞的毒性作用,导致肿瘤细胞对环磷酰胺耐药^[12]。2007 年 GINESTER 等^[15]从乳腺癌中分离出 ALDH1 阳性细胞,发现 ALDH1 阳性细胞具有与肿瘤干细胞相似的自我更新、多向分化以及致瘤能力,而 ALDH1 阴性细胞则无上述干细胞特性,

首次提出 ALDH1 可作为乳腺癌干细胞标志物。随后大量实验证明 ALDH1 是多种肿瘤干细胞标志物,如结肠癌、子宫内膜癌等^[16-17]。恶性腹水是恶性肿瘤侵袭至腹腔时所导致的腹腔内液体异常聚集,通常是中晚期癌症病人的严重并发症之一,治疗疗效及预后差。本实验研究发现恶性腹水中 ALDH1 浓度水平较良性腹水中 ALDH1 浓度水平显著升高,提示 ALDH1 可能在肿瘤转移、耐药中起重要作用,并与病人预后密切相关。段昱^[18]用 ELISA 法检测了 101 例乳腺癌病人、29 例乳腺纤维瘤病人和 70 名健康女性血清中乙醛脱氢酶 1 的表达水平,发现乳腺癌病人血清 ALDH1 水平明显高于乳腺纤维瘤及正常健康者,其高表达与淋巴结转移相关。CAO 等^[19]采用 ELISA 法检测了 100 例非小细胞肺癌病人、60 例肺部良性病变和 60 名健康者的血清 ALDH1A1 表达水平,结果发现肺癌病人中有 55 例血清 ALDH1 升高,晚期肺癌者较早期明显升高。本研究发现,腹水中 ALDH1 的水平在不同原发疾病中存在差异,恶性腹水中肝癌病人腹水 ALDH1 水平最高,子宫内膜癌次之,良性腹水中肝硬化腹水 ALDH1 水平显著高于结核性腹膜炎性腹水,推测腹水 ALDH1 的检测对寻找原发疾病方面具有重要指导意义。

综上所述,ALDH1 在恶性腹水中的水平显著高于良性腹水,在良恶性腹水鉴别诊断中具有重要意义。ALDH1 在不同原发疾病中的表达水平存在差异,恶性腹水中肝癌腹水 ALDH1 水平明显升高,子宫内膜癌次之,良性腹水中肝硬化腹水 ALDH1 水平明显升高,因此腹水 ALDH1 水平在腹水原发疾病的临床鉴别上也具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] GARRISON RN, KAELIN LD, GALLOWAY RH, *et al.* Malignant ascites. Clinical and experimental observations [J]. *Ann Surg*, 1986, 203: 644.
- [2] SARKAR P, BASU K, SARKAR P, *et al.* Correlations of aldehyde dehydrogenase-1 (ALDH1) expression with traditional prognostic parameters and different molecular subtypes of breast carcinoma [J]. *Clujul Med*, 2018, 91(2): 181.
- [3] CHEN H, ZHANG ZQ, ZHAO B, *et al.* Clinical significance of ALDH1 combined with DAPI expression in patients with esophageal carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4): 4878.
- [4] ANGISETTY SL. Malignant ascites: a review of prognostic factors, pathophysiology and therapeutic measures [J]. *World J Gastrointestinal Surg*, 2012, 4(4): 87.
- [5] 孙艳丽, 李家斌. 不明原因腹水患者 266 例病因及临床特点分析 [J]. *中国社区医师*, 2017, 30(33): 69.
- [6] 陈莉莉, 范玉梅, 张宇恒, 等. 200 例腹水病例分析 [J]. *中国实用医刊*, 2012, 39(5): 69.

- [7] MOTHEBY H, NADJARI B, FRIEGEL P, *et al.* Diagnostic accuracy of effusion cytology [J]. *Diagn Cytopathol*, 1999, 20(6):350.
- [8] YU H, STAVAS JM. The role of interventional radiology in management of benign and malignantynecologic diseases[J]. *Obstet Gynecol Surv*, 2013, 68(10):691.
- [9] DENG S, YAng X, LASSUS H, *et al.* Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers[J]. *PLoS One*, 2010, 5(4):e10277.
- [10] 赵艳, 金鑫, 李楠, 等. ALDH1、Twost 在胃腺癌组织中的表达及临床意义[J]. *四川大学学报*, 2016, 47(1):54.
- [11] UEDA K, OGASAWARA S, AKIBA J, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1 identifies cells with cancer stem cell-like properties in a human renal cell carcinoma cell line[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e75463.
- [12] 马圣伟, 黄江平, 崔丰和, 等. 老年食管鳞癌病人术后组织中乙醛脱氢酶 1 和血管内皮生长因子表达的临床意义[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(2):522.
- [13] 王静, 赵冬梅. 乙醛脱氢酶 1 作为宫颈癌干细胞标记物的试验研究[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2017, 10(2):234.
- [14] KATSUNO Y, EHATA S, YASHIRO M, *et al.* Coordinated expression of REG4 and aldehyde dehydrogenase 1 regulating tumourigenic capacity of diffuse-type gastric carcinoma-initiating cells is inhibited by TGF- β [J]. *J Pathol*, 2012, 228(3):391.
- [15] GINESTIER C, HUR MH, CHARAFE-JAUFFRET E, *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(5):555.
- [16] HOLAH NS, AIAD HA, ASAAD NY, *et al.* Evaluation of the role of ALDH1 as cancer stem cell marker in colorectal carcinoma: an immunohistochemical study[J]. *JCDR*, 2017, 11(1):EC17.
- [17] WANG Y, JIANG Y, IKEDA J, *et al.* Roles of histamine on the expression of aldehyde dehydrogenase 1 in endometrioid adenocarcinoma cell line[J]. *Cancer Med*, 2014, 3(5):1126.
- [18] 段昱. 乙醛脱氢酶 1 在乳腺癌病人血清及组织中的表达及其意义[D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [19] CAO YT, LI JH, WANG YT, *et al.* Serum ALDH1A1 is a tumor marker for the diagnosis of non-small cell lung cancer [J]. *Tumori*, 2014, 100(2):214.

(本文编辑 刘璐)

关于处理一稿两投和重复发表的声明

为维护学术研究的严谨性,营造良好的学术氛围,切实维护《蚌埠医学院学报》杂志声誉和广大读者的利益,尊重本刊审稿专家及编辑人员的劳动,本刊特对一稿两投和重复发表问题的处理声明如下:

一稿两投(一稿多投)是指同样的文稿或实质性内容相同的文稿投寄给两个或两个以上的媒体。重复发表是指同样的文稿或实质性内容相同的文稿在两个或两个以上的媒体发表,无论是印刷版媒体还是电子媒体。

作者向本刊投稿,在收到稿件回执满 3 个月后仍然未收到退稿或者退修通知,作者如欲改投他刊,应事先与本刊编辑部联系并说明理由。如作者未与本刊联系而改投他刊并发表,均视同一稿两投或重复发表。

如果出现一稿两投现象,且作者在投稿时没有作这方面的说明,编辑部将立即退稿;如果编辑部在发表前没有了解一稿两投的情况而造成重复发表,编辑部将在本刊发表有关该文稿系重复发表的声明。

对于一稿两投或重复发表的情况,编辑部将向作者所在单位和该领域的其他科技期刊进行通报,同时,本刊 2 年内将拒绝接受该论文第一作者所撰写的其他文稿。

特此声明。