

# 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义

李 刚, 杨丽莉, 李 虎

李刚, 杨丽莉, 李虎, 河北省邯郸市第四医院内六科 河北省邯郸市 056200

李刚, 主治医师, 主要从事胃肠病的基础和临床研究.

作者贡献分布: 此课题由李刚、杨丽莉及李虎共同设计; 研究过程由李刚、杨丽莉及李虎操作完成; 研究所用试剂及实验工具由李虎提供; 数据分析由李刚与杨丽莉完成; 本论文写作由李刚与杨丽莉完成.

通讯作者: 李刚, 主治医师, 056200, 河北省邯郸市峰峰矿区通安路5号, 河北省邯郸市第四医院内六科. gghbmyyjs@163.com 电话: 0310-5187795

收稿日期: 2014-02-28 修回日期: 2014-03-15

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma

Gang Li, Li-Li Yang, Hu Li

Gang Li, Li-Li Yang, Hu Li, the Fourth Hospital of Handan, Handan 056200, Hebei Province, China

Correspondence to: Gang Li, Attending Physician, the Fourth Hospital of Handan, 5 Tongan Road, Handan 056200, Hebei Province, China. gghbmyyjs@163.com

Received: 2014-02-28 Revised: 2014-03-15

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of fecal lactoferrin in the screening of colorectal carcinoma (CRC).

**METHODS:** Thirty-five healthy people as controls, 63 patients with CRC, 59 patients with intestinal polyps, and 50 patients with functional gastroenteropathy were recruited. All of the patients were asked to collect 5-10 g fecal sample during three days after colonoscopy. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine fecal lactoferrin level.

**RESULTS:** The median fecal lactoferrin levels in CRC patients, healthy people, patients with intestinal polyps and those with functional gastroenteropathy were 59.30, 2.94, 17.63 and 3.22  $\mu\text{g/g}$ , respectively; there was no significant difference in fecal lactoferrin levels between patients with functional gastroenteropathy and healthy people ( $P > 0.05$ ), but statistical significances were

observed between patients with functional gastroenteropathy and those with CRC or intestinal polyps ( $P < 0.01$ ), between healthy people and patients with CRC or intestinal polyps ( $P < 0.01$ ), and between patients with CRC and those with intestinal polyps ( $P < 0.01$ ). The sensitivity, specificity, accuracy, Youden index, positive likelihood ratio and negative likelihood ratio of fecal lactoferrin for screening of CRC were 88.9%, 85.7%, 87.8%, 0.75, 6.22 and 0.13, respectively.

**CONCLUSION:** Fecal lactoferrin detection is a simple, non-invasive method for screening CRC, with a high sensitivity and specificity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Lactoferrin; Enzyme-linked immunosorbent assay; Colorectal carcinoma

Li G, Yang LL, Li H. Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1885-1889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1885>

## 摘要

**目的:** 探讨粪便乳铁蛋白(lactoferrin, LF)在大肠癌(colorectal carcinoma, CRC)筛查诊断中的临床意义.

**方法:** 选择大肠癌患者63例, 健康对照组35例, 结直肠息肉59例, 功能性胃肠病50例; 留取肠镜检查3 d内的粪便样本5-10 g, 应用酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)方法进行粪便乳铁蛋白检测.

**结果:** 大肠癌组粪便乳铁蛋白水平中位数为59.30  $\mu\text{g/g}$ , 健康对照组为2.94  $\mu\text{g/g}$ , 结直肠息肉组为17.63  $\mu\text{g/g}$ , 功能性胃肠病组为3.22  $\mu\text{g/g}$ ; 功能性胃肠病组和对照组之间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 功能性胃肠病组和对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ); 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ).

## ■背景资料

大肠癌早期由于缺乏特异性症状, 多在中、晚期才被发现, 故其严重危害人体健康. 目前常用的肿瘤筛查指标敏感度及特异度较低, 而肠镜检查的依从性又不高. 因此临床迫切需要一种较理想的大肠癌筛查诊断指标.

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

## ■ 研发前沿

虽然大多数关于粪便生物标志物乳铁蛋白的研究重点是针对炎症性肠病,但国外有研究显示他也可用于胃、肠道肿瘤的早期临床筛查,被认为有很好的临床应用前景。

粪便乳铁蛋白筛查诊断大肠癌的敏感度为88.9%、特异度为85.7%、准确度为87.8%、约登指数为0.75、阳性似然比为6.22及阴性似然比为0.13,明显优于临床其他检测指标。

**结论:** 粪便乳铁蛋白可做为一种大肠癌的筛查诊断指标,其检测方法简单、无创伤性、敏感度及特异度较高,有临床应用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 乳铁蛋白; 酶联免疫吸附测定; 结直肠肿瘤

**核心提示:** 粪便生物标志物乳铁蛋白(lactoferrin)在大肠癌患者粪便中是明显升高的,显著高于健康对照组;其检测方法简单、无创伤性、依从性好、敏感度及特异度较高,做为大肠癌的临床筛查诊断指标较为理想,有一定的临床应用价值。

李刚, 杨丽莉, 李虎. 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1885-1889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1885>

## 0 引言

大肠癌(包括结肠癌和直肠癌)是临床常见的消化系恶性肿瘤。有统计资料表明,我国大肠癌的发病率和死亡率位居恶性肿瘤的第3、4位。目前大肠癌的临床确诊方法主要是依靠肠镜检查及肠黏膜活检,但由于大肠癌的早期往往缺乏特异性症状,又多在中、晚期才能够被发现,故其治疗效果较差,严重危害人体健康,因此对于大肠癌的早期筛查诊断就显得尤为重要。如今临床用于大肠癌的筛查诊断方法主要是便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、肠癌相关抗原(colorectal carcinoma antigen, CCA)及肠镜检查等<sup>[1]</sup>。上述临床检验指标易受机体及外界多种因素的干扰,检验结果不稳定,有时需多次复查,且出现假阳性及假阴性的概率很大,故其敏感度、特异度较低,临床应用价值有限。而肠镜检查属于有创操作,要求技术高,禁忌症较多,有一定的风险,故患者一般不愿首先接受,尤其是对于那些没有临床症状而仅仅是接受大肠癌早期筛查的人群来说其依从性就更差。近年来国外有研究显示,人体肠道分泌的蛋白做为粪便生物标志物已经开始应用于肠道炎症的检测<sup>[2,3]</sup>,虽然大多数关于粪便生物标记物的研究重点是

针对炎症性肠病,但他们也可用于胃、肠道肿瘤的早期临床筛查<sup>[4]</sup>。本研究通过检测入选者的粪便乳铁蛋白水平,并与临床检验指标FOBT、ESR、CEA及CCA比较,目的在于评价其在大肠癌筛查诊断中的临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-01/2013-10于我院住院及门诊就诊的患者207例。其中大肠癌患者63例,男33例,女30例,平均年龄49岁(41-70岁);健康对照组35例,男18例,女17例,平均年龄38岁(23-64岁);结直肠息肉59例,男36例,女23例,平均年龄44岁(19-69岁);功能性胃肠病50例,男23例,女27例,平均年龄40岁(32-58岁)。要求所有入选者近期末服用过特殊药物。留取入选者肠镜检查3 d内的粪便,约1 h送达医院化验室,待密封后冷冻保存。于肠镜检查当日入选者行ESR、CEA、CCA化验及FOBT。人乳铁蛋白ELISA试剂盒由Netherlands HBT公司提供,酶标仪为USA Bio-Tek ELX800型。粪便萃取液严格按照试剂盒说明书来进行配置。

**1.2 方法** 将人粪便标本解冻后,用取样环取约100 mg,放入试管中一并称其质量,计算出粪便的净含量,按照质量/容积(kg/L) = 1 : 100的比例加入萃取液,旋转并充分过滤样本以除去其中较粗糙的颗粒(>0.6 mm),充分摇晃滤液20 min,最后混匀后取1 mL离心(10000 g, 20 min),取上清液0.5-1.0 mL留存备用,也可冷冻保存。严格按照ELISA试剂盒说明书来进行程序操作。将提取液在室温解冻后,首先以1 : 10的比例稀释,标准品包括8个质量浓度(100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56、0 μg/L),最高浓度标准液的光密度值为2.37,以1 : 10比例稀释的标本若超出标准曲线范围而没有被测出,则需进一步扩大稀释比例直至测出为止,将酶标仪设置在450 nm。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计软件进行分析。所有数据用mean±SD、中位数及全距来表示,组间比较采用非参数检验Mann-Whitney U检验或方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组粪便乳铁蛋白水平的比较** 功能性胃肠病组和健康对照组之间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );功能性胃肠病组和健康对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较,差异均有统

表 1 各组粪便乳铁蛋白水平的比较( $\mu\text{g/g}$ )

分组	n	中位数	范围
健康对照	35	2.94	(0.09, 7.42)
功能性胃肠病	50	3.22	(0.32, 8.05)
结直肠息肉	59	17.63 <sup>bd</sup>	(5.72, 39.33)
大肠癌	63	59.30 <sup>bdf</sup>	(6.90, 106.45)

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 健康对照; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 功能性胃肠病; <sup>f</sup> $P<0.01$  vs 结直肠息肉。

计学意义( $P<0.01$ ); 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义( $P<0.01$ )(表1)。

2.2 粪便乳铁蛋白、FOBT、ESR、CEA及CCA筛查诊断大肠癌的性能指标比较 粪便乳铁蛋白的临床参考界定值, 按照试剂盒说明书给予的推荐值, 认定为 $7.30 \mu\text{g/g}$ ; ESR的正常参考值为男 $0-15 \text{ mm/h}$ 、女 $0-20 \text{ mm/h}$ ; CEA的正常参考值为 $<5 \mu\text{g/L}$ ; FOBT和CCA结果阳性设定为阳性临界值。分别计算上述各项的敏感度、特异度、约登指数、准确度、阳性似然比及阴性似然比。结果显示: 粪便乳铁蛋白的敏感度为88.9%、特异度为85.7%、约登指数为0.75、准确度为87.8%、阳性似然比为6.22及阴性似然比为0.13, 明显优于其他检验指标。而FOBT的各项性能指标低于粪便乳铁蛋白, ESR的各项性能指标为最低(表2)。

### 3 讨论

乳铁蛋白被认为是一种存在于中性粒细胞颗粒中具有杀菌活性的单体糖蛋白, 其生物学活性和功能较为广泛。他最初由Sorensen于1939年在动物乳中发现, 并由Groves首先从牛乳中分离获得, 因与铁结合形成的复合物呈红色, 故又称之为“红蛋白”。有研究学者<sup>[5]</sup>将从人乳中分离获得的此种蛋白正式命名为乳铁蛋白。当机体的肠道黏膜发生炎症病变时, 中性粒细胞浸润增加, 从而使粪便乳铁蛋白水平升高, 由于其在外界具有较高的稳定性, 故可作为一种炎症标志物。大肠癌病变组织周围一般都有较多的炎症细胞浸润, 故可引起较高浓度的乳铁蛋白表达, 而该蛋白又能从肠道炎症部位跟随炎症细胞持续不断地漏至肠腔内, 因此他在大肠癌患者的粪便中可被轻易地检测到<sup>[6]</sup>。目前国外有研究表明, 大肠癌患者粪便中的乳铁蛋白水平是明显升高的, 其还能作为一种较理想的粪便肿瘤标

志物<sup>[7]</sup>。

当前粪便生物标志物越来越受到国内外诸多学者的关注, 被认为具有较高的临床应用价值, 而国内有关粪便乳铁蛋白的研究尚不多。本研究结果显示, 粪便乳铁蛋白水平在功能性胃肠病组和对照组之间比较, 差异无统计学意义; 功能性胃肠病组和对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统计学意义; 因此我们认为大肠癌组粪便中的乳铁蛋白水平是明显高于其他组的, 这与国外研究结果基本相同<sup>[8]</sup>。此外, 粪便乳铁蛋白筛查诊断大肠癌的敏感度88.9%、特异度85.7%、约登指数0.75、准确度87.8%、阳性似然比6.22是最高的, 而阴性似然比0.13为最低, 明显优于其他肿瘤筛查指标。虽然粪便乳铁蛋白检测并不复杂, 但有几点值得注意: 仔细阅读试剂盒说明书, 严格遵守ELISA操作流程; 采集粪便标本时必须考虑到实验对本收集及保存的特殊要求; 粪便预处理最关键, 其萃取液配置和加入比例要准确, 因其直接影响蛋白提取液质量; 避免内源性 & 外源性因素干扰如室温、仪器精准度及操作手法等。目前常用的肿瘤筛查指标之所以敏感度、特异度及准确度不能令人满意, 分析其原因主要认为, 易受到机体病变组织及外界环境等诸多因素的影响, 假阳性率及假阴性率较高。肠道肿瘤病变组织的出血情况有很大的不确定性, 一般很少表现为持续出血, 尤其是癌肿早期, 很可能由于没有肠道出血而引起FOBT阴性, 而只有当病情进展恶化、肿瘤组织出血量增多时, FOBT的阳性率才会增高, 这就使得FOBT在大肠癌早期筛查诊断中的价值有所降低, 很容易造成漏诊<sup>[9,10]</sup>。CEA和CCA是目前临床较为常用的而被普遍认可的肿瘤标志物, 但他们并非结、直肠癌所特有, 临床上有很多疾病均可引起其不同程度的升高, 故其筛查诊断大肠癌的作用有限, 不过有研究认为多次检查后观察其动态变化, 对大肠癌的预后估计及监测术后复发有一定的临床意义<sup>[11,12]</sup>。ESR是一种非特异性的指标, 在许多生理、病理情况下均可出现增快, 其中就包括恶性肿瘤病变, 他是多种因素互相作用的结果<sup>[13]</sup>, 本研究表明其对大肠癌的筛查诊断价值最小。我们还发现粪便乳铁蛋白在大肠癌组中的敏感度、特异度与机体肿瘤组织的生长部位、大小及其病理分型、分期均没有

### ■ 相关报道

国外有研究表明, 大肠癌患者粪便中的乳铁蛋白水平是明显升高的, 并且肿瘤的生长部位、大小及病理分型、分期对其表达影响很小, 认为是一种较理想的粪便肿瘤标志物。



## ■创新盘点

本研究通过检测入选者的粪便乳铁蛋白水平,并与临床检验指标便潜血试验、血沉、血清癌胚抗原及肠癌相关抗原进行比较,充分评价了其在结肠癌筛查诊断中的临床意义。

表 2 粪便乳铁蛋白、FOBT、ESR、CEA及CCA筛查诊断大肠癌的性能指标比较

筛查指标	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数	准确度(%)	阳性似然比	阴性似然比
粪便乳铁蛋白	88.9	85.7	0.75	87.8	6.22	0.13
FOBT	80.9	77.1	0.58	79.5	3.53	0.25
ESR	49.2	68.5	0.18	56.1	1.56	0.74
CEA	54.0	82.9	0.37	64.3	3.16	0.55
CCA	55.6	74.3	0.30	62.2	2.17	0.60

FOBT: 便潜血试验; ESR: 血沉; CEA: 血清癌胚抗原; CCA: 肠癌相关抗原。

明显关联,不受上述情况的影响,这正是当前常用的肿瘤筛查指标所无法比拟的,由此我们推断,粪便乳铁蛋白作为肿瘤标志物在结肠癌筛查诊断中的价值很大。当怀疑肠道有病变时,粪便检查无疑是首选,而在结肠癌的高危人群筛查当中,一旦发现粪便乳铁蛋白水平异常升高,则提示患者需进一步行肠镜检查,以求早期确诊。当然,粪便乳铁蛋白是一种炎性标志物,在肠道发生急、慢性炎性病变时也是明显升高的,这在很多研究中可以得到证实<sup>[14,15]</sup>,这也是其在筛查结肠癌时容易出现误差而引起假阳性的最主要原因。患者由于粪便乳铁蛋白水平升高而进行了肠镜检查,可能有部分患者仅被诊断为炎性或良性病变而非恶性病变,但这对患者来说也具有临床诊治意义。为了降低临床误诊及漏诊率,我们建议必要时可采取个体化的筛查手段,也就是应用包括粪便乳铁蛋白在内的多个肿瘤标志物联合进行结肠癌的筛查诊断,虽然各个标志物之间没有明显关联性,但他们却存在很大的互补性,故可最大程度地提高敏感度及特异度<sup>[16]</sup>。

随着近年来国内生活水平的不断提高及人们饮食习惯的改变,结肠癌的发病率逐年升高,且与年龄、性别、家族史及不同地域等因素有关。临床上如何做到早期筛查诊断并使患者得到及时治疗就显得尤为重要。目前常用的结肠癌筛查指标普遍敏感度、特异度较低,很容易出现漏诊及误诊,已经不能满足临床的需求。而诊断价值较高的内镜检查,由于其具有创伤性,风险大,费用较高等诸多不利因素,患者一般不愿将其作为首选检查,故临床目前迫切需要一种较为理想的结肠癌筛查诊断指标。通过本研究可看出,粪便乳铁蛋白应该是一个较好的选择,由于其检测方法简单,成本较低,没有创伤性,重复检测的依从性很好,敏感度及特异度较高,故完全可应用在结肠癌的筛查诊断当中,同

时也可利用其来对结肠癌的高危人群进行临床跟踪和随访。

## 4 参考文献

- 1 张会涛, 刘晓琨, 沈滨, 杜雅菊. 大肠癌外周血肿瘤标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 991-995
- 2 Sipponen T. Diagnostics and prognostics of inflammatory bowel disease with fecal neutrophil-derived biomarkers calprotectin and lactoferrin. *Dig Dis* 2013; 31: 336-344 [PMID: 24246984 DOI: 10.1159/000354689]
- 3 Langhorst J, Boone J. Fecal lactoferrin as a non-invasive biomarker in inflammatory bowel diseases. *Drugs Today (Barc)* 2012; 48: 149-161 [PMID: 22384454 DOI: 10.1358/dot.2012.48.2.1732555]
- 4 Hirata I, Hoshimoto M, Saito O, Kayazawa M, Nishikawa T, Murano M, Toshina K, Wang FY, Matsuse R. Usefulness of fecal lactoferrin and hemoglobin in diagnosis of colorectal diseases. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1569-1574 [PMID: 17461450]
- 5 Rousseau E, Michel PP, Hirsch EC. The iron-binding protein lactoferrin protects vulnerable dopamine neurons from degeneration by preserving mitochondrial calcium homeostasis. *Mol Pharmacol* 2013; 84: 888-898 [PMID: 24077968 DOI: 10.1124/mol.113.087965]
- 6 Ayling RM. New faecal tests in gastroenterology. *Ann Clin Biochem* 2012; 49: 44-54 [PMID: 22113956 DOI: 10.1258/acb.2011.011150]
- 7 Hirata I. [Topics of colorectal-cancer screening and surveillance]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 2007; 104: 987-993 [PMID: 17611374]
- 8 Sherwood RA. Faecal markers of gastrointestinal inflammation. *J Clin Pathol* 2012; 65: 981-985 [PMID: 22813730 DOI: 10.1136/jclinpath-2012-200901]
- 9 Steele RJ, McClements P, Watling C, Libby G, Weller D, Brewster DH, Black R, Carey FA, Fraser CG. Interval cancers in a FOBT-based colorectal cancer population screening programme: implications for stage, gender and tumour site. *Gut* 2012; 61: 576-581 [PMID: 21930729 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300535]
- 10 Chauvin P, Josselin JM, Heresbach D. Incremental net benefit and acceptability of alternative health policies: a case study of mass screening for colorectal cancer. *Eur J Health Econ* 2012; 13: 237-250 [PMID: 21305335 DOI: 10.1007/s10198-011-0300-8]
- 11 Laubert T, Bente V, Freitag-Wolf S, Voulgaris H, Oberländer M, Schillo K, Kleemann M, Bürk C, Bruch HP, Roblick UJ, Habermann JK. Aneuploidy

- and elevated CEA indicate an increased risk for metachronous metastasis in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 767-775 [PMID: 23296402 DOI: 10.1007/s00384-012-1625-1]
- 12 Selcukbiricik F, Bilici A, Tural D, Erdamar S, Soy-luk O, Buyukunal E, Demirelli F, Serdengeci S. Are high initial CEA and CA 19-9 levels associated with the presence of K-ras mutation in patients with metastatic colorectal cancer? *Tumour Biol* 2013; 34: 2233-2239 [PMID: 23625655 DOI: 10.1007/s13277-013-0763-6]
- 13 Keramidaris D, Koronakis N, Lagoudianakis EE, Pappas A, Koukoutsis I, Chrysikos I, Karavitis G, Toutouzas K, Manouras A. Procalcitonin in patients with colorectal cancer. *J BUON* 2013; 18: 623-628 [PMID: 24065474]
- 14 Abraham BP, Kane S. Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. *Gastroenterol Clin North Am* 2012; 41: 483-495 [PMID: 22500530 DOI: 10.1016/j.gtc.2012.01.007]
- 15 Sidhu R, Wilson P, Wright A, Yau CW, D'Cruz FA, Foye L, Morley S, Lobo AJ, McAlindon ME, Sanders DS. Faecal lactoferrin--a novel test to differentiate between the irritable and inflamed bowel? *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1365-1370 [PMID: 20331581 DOI: 10.1111/j.1365-2036]
- 16 珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚. 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2601-2605

## ■同行评价

该文设计合理, 结论可靠, 能够紧密联系临床, 具有较好的学术价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静

