

甲胎蛋白异质体L3对早期原发性肝癌的诊断价值

李贵, 赵莹莹, 段英, 杨松, 欧蔚妮, 王笑梅, 刘聪, 邢卉春 (首都医科大学附属北京地坛医院 肝病三科, 北京 100015)

摘要: 目的 探讨甲胎蛋白异质体L3 (alpha-fetoprotein heterogeneity L3, AFP-L3) 对早期原发性肝癌 (primary liver cancer, PLC) 的诊断价值。方法 选取2016年1月至2016年12月于首都医科大学附属北京地坛医院住院的150例患者为研究对象, 其中慢性肝炎 (chronic hepatitis, CH) 患者32例 (慢性乙型肝炎患者26例, 慢性丙型肝炎患者6例)、肝硬化 (liver cirrhosis, LC) 患者45例, 早期PLC患者73例, 比较各组患者的AFP及AFP-L3%水平并进行相关性分析。结果 PLC组患者AFP-L3%为 (19.70 ± 13.47)%, 显著高于肝硬化组 [(9.57 ± 5.28)%] 与慢性肝炎组 [(7.85 ± 4.41)%], 差异有统计学意义 ($F = 8.661, P = 0.001$)。在所有患者中, AFP > 20 ng/ml诊断早期PLC的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为67.1% (49/73)、62.3% (48/77)、62.8% (49/78) 和66.7% (48/72); AFP-L3% > 10%诊断早期PLC的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为72.6% (53/73)、83.1% (64/77)、80.3% (53/66) 和76.2% (64/84), AFP-L3%诊断早期PLC的特异性和阳性预测值均显著高于AFP, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.271, 4.390, P = 0.028, 0.047$)。结论 AFP-L3%诊断早期PLC的特异性及阳性预测值显著高于AFP, 对早期PLC的诊断及鉴别诊断具有重要意义。

关键词: 甲胎蛋白; 原发性肝癌, 早期; 诊断

Diagnostic value of alpha-fetoprotein heterogeneity L3 on early primary liver cancer

LI Ben, ZHAO Ying-ying, DUAN Ying, YANG Song, OU Wei-ni, WANG Xiao-mei, LIU Cong, XING Hui-chun (Department of Hepatology Division 3, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of alpha-fetoprotein heterogeneity L3 (AFP-L3) on early primary liver cancer (PLC). **Methods** A total of 150 patients in Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University from January 2016 to December 2016 were selected. There were 32 patients with chronic hepatitis (CH) (26 cases were with chronic hepatitis B and 6 cases were with chronic hepatitis C), 45 patients with liver cirrhosis (LC) and 73 patients with early PLC. AFP and AFP-L3% were compared among different groups. The correlation between AFP and AFP-L3% was also analyzed. **Results** AFP-L3% of patients in early PLC group was (19.70 ± 13.47)%, which was significantly higher than those in LC group [(9.57 ± 5.28)%] and CH group [(7.85 ± 4.41)%], the differences were statistically significant ($F = 8.661, P = 0.001$). In all patients, the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of AFP > 20 ng/ml on early PLC were 67.1%, 62.3%, 62.8% and 66.7%, respectively. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of AFP-L3% > 10% on early PLC were 72.6%, 83.1%, 80.3% and 76.2%, respectively. The specificity and positive predictive value of AFP-L3% were significantly higher than those of AFP ($\chi^2 = 5.271, 4.390; P = 0.028, 0.047$). **Conclusions** The specificity and predictive positive rate of AFP-L3% in the diagnosis of early primary liver cancer were higher than those of AFP. AFP-L3% played an important role in the diagnosis and differential diagnosis of early primary liver cancer.

Key words: Alpha-fetoproteins; Primary liver cancer, early stage; Diagnosis

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是常见的肿瘤之一^[1],是指生长在肝细胞或肝内胆管上皮的恶性肿瘤,其中肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占绝大多数,每年约60万~70万例患者死于HCC^[2]。乙型肝炎、丙型肝炎、各种原因导致的肝硬化、饮酒、遗传以及黄曲霉毒素污染等化学因素均可诱发PLC。中国约有1.2亿HBV携带者,80%~90% PLC患者携带HBV,慢性乙型肝炎是肝硬化的主要病因,HBV携带也是PLC发生最主要的独立危险因素。

PLC的发病机制目前尚未明确,其发病隐匿,恶性程度及病死率较高,预后差,早诊断、早治疗可改善预后^[3,4]。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是胎儿阶段合成的一种胚胎蛋白,由590个氨基酸残基组成,分子量为70 kD。在胚胎发育初期,肝脏细胞和卵黄囊可合成大量AFP,并在12~14周达到高峰,血清浓度最高可达1~3 g/L,胎儿出生后AFP的合成很快受到抑制,约在1周岁时逐渐下降至正常水平(5.8 μg/L)。肝细胞发生恶性病变时,合成AFP的能力再次恢复,血清中AFP水平逐渐升高。因此,AFP是目前诊断原发性肝癌临床应用最广泛的指标之一^[5,6]。慢性肝炎(chronic hepatitis, CH)和肝硬化(liver cirrhosis, LC)患者的AFP有时也会升高,急性肝功能损伤时,肝细胞的再生修复也可使AFP升高,在鉴别诊断时易出现混淆,故原发性肝癌的早期诊断需特异性更高的指标。现已证实不同患者的AFP与小扁豆凝集素(lens culinaris agglutinin, LCA)存在不同程度的亲和力,根据这种差异可将AFP分为3个亚型,慢性肝炎和肝硬化患者体内AFP的主要成分为AFP-L1,孕妇体内AFP的主要成分为AFP-L2,PLC患者体内AFP的主要成分为AFP-L3^[7,8]。AFP-L3对PLC诊断的特异性较高,目前美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准AFP-L3用于PLC的临床诊断^[9]。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集2016年1月至2016年12月于首都医科大学附属北京地坛医院住院的150例患者的血清标本,其中男性92例,女性58例,年龄22~73岁,平均48.36岁。150例患者中慢性肝炎患者32例(慢性乙型肝炎患者26例,慢性丙型肝炎患者6例),肝硬化患者45例,原发性肝癌患者73例。慢性肝炎和肝硬化患者的诊断符合《慢性乙型肝炎

防治指南(2015年版)》^[10]和丙型肝炎防治指南(2015年版)^[11];原发性肝癌患者均为早期,诊断均符合《原发性肝癌诊疗规范》^[12],即单发肿瘤<5 cm或多发肿瘤数目≤3个,直径≤3 cm。

1.2 研究方法 所有患者均空腹采集静脉血5 ml,3000 r/min离心5 min(离心半径为10 cm)分离血清,存于-80℃超低温冰箱备用。采用亲和吸附法从血清中分离AFP-L3,试剂由北京热景生物技术有限公司提供。将耦联了凝集素LCA的微球装入离心管,因微球与AFP-L3有特异性结合力,离心洗脱后可将AFP-L3分离^[13,14]。然后应用贝克曼Dx1800全自动微粒化学发光免疫分析仪及其配套试剂检测AFP及AFP-L3%。美国FDA 2005年建议的AFP-L3%诊断原发性肝癌阳性界值为>10%,故本研究将AFP-L3%异常升高的标准定为AFP-L3%>10%^[15]。

1.3 统计学处理 采用SPSS 16.0进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,计数资料以百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验,并对AFP和AFP-L3%进行相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者AFP-L3%的箱式分布图 慢性肝炎组和肝硬化组患者与早期PLC患者的AFP-L3%分布存在差异,慢性肝炎组和肝硬化组中多数患者AFP-L3%<10%,而原发性肝癌组中多数患者AFP-L3%>10%,见图1。

2.2 各组患者AFP和AFP-L3%水平的比较 慢性肝炎组、肝硬化组与原发性肝癌组患者AFP水平分别为

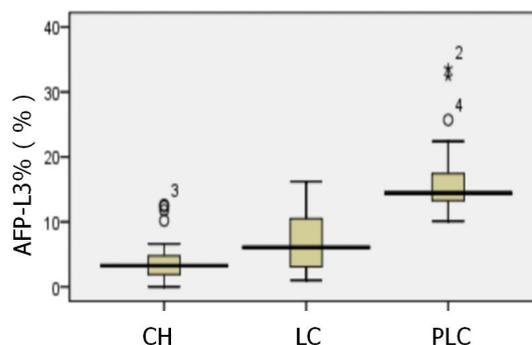


图1 慢性肝炎组、肝硬化组及原发性肝癌组患者AFP-L3%的箱式分布图

注:方框中线条表示每组AFP-L3%的中位数,方框上下两端分别表示上下四分位数,方框表示中间50%样本的数值范围

(145.27 ± 47.89) ng/ml、(169.45 ± 25.72) ng/ml 和 (343.29 ± 63.72) ng/ml, 差异无统计学意义 ($F=1.290, P=0.296$), AFP-L3% 分别为 (7.85 ± 4.41)%、(9.57 ± 5.28)% 和 (19.70 ± 13.47)%, 差异有统计学意义 ($F=8.661, P=0.001$), 见表 1。

2.3 原发性肝癌患者 AFP-L3% 与 AFP 的关系 原发性肝癌患者 AFP-L3% 与 AFP 水平无相关性 ($r=0.147, P=1.906$), 见图 2。

2.4 AFP 和 AFP-L3% 诊断原发性肝癌的价值 AFP-L3% 诊断原发性肝癌的特异性和阳性预测值分别为 83.1%、80.3%, AFP 诊断原发性肝癌的特异性和阳性预测值分别为 62.3%、62.8%, 差异有统计学意义 (χ^2 值分别为 5.271、4.390, P 值分别为 0.028、0.047)。

3 讨论

肝癌的发病率在世界各地存在差异, 85% 出现在发展中国家, 其中 50% 发生在中国。由于影像技术的快速发展, 血清标志物的检测在 PLC 诊断中的应用逐渐减少, 但超声造影、CT 或磁共振等影像学手段对于小病灶不易发现或难以定性, 易造成漏诊, 故血清学指标的检测仍是早期肝癌诊断的重要手段之一^[16-18]。目前早期 PLC 诊断的血清学标志物主要为 AFP^[19]。正常情况下, 人肝细胞失去合成 AFP 的能力, 血清 AFP 水平较低, 但在胚胎发育异常、原发性肝癌、生殖腺胚胎性肿瘤 (卵巢癌、睾丸癌和畸胎瘤等)、其他消化系肿瘤、转移性肝癌及部分良性肝病等疾病中 AFP 可有不同程度的升高, 如果 AFP 明显升高或维持在较高水平, 仍需结

表 1 慢性肝炎组、肝硬化组及肝细胞癌组患者 AFP 和 AFP-L3% 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AFP (ng/ml)	AFP-L3% (%)
慢性肝炎组	32	145.27 ± 47.89	7.85 ± 4.41
肝硬化组	45	169.45 ± 25.72	9.57 ± 5.28
原发性肝癌组	73	343.29 ± 63.72	19.70 ± 13.47
F 值	-	1.290	8.661
P 值	-	0.296	0.001

注: “-” 为无相关数据

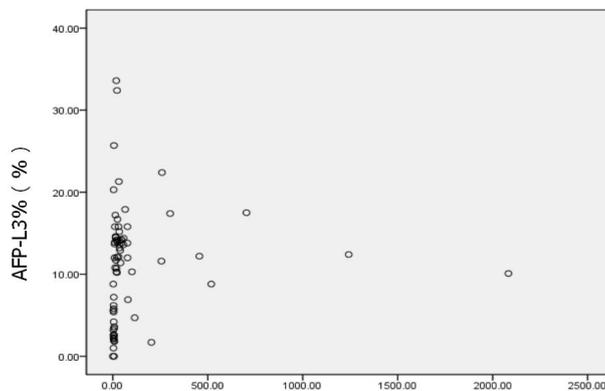


图 2 73 例 PLC 患者 AFP-L3% 与 AFP 的相关性分析

表 2 AFP 和 AFP-L3% 诊断原发性肝癌的价值 [例 (%)]

项目	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
AFP (> 20 ng/ml)	49/73 (67.1)	48/77 (62.3)	49/78 (62.8)	48/72 (66.7)
AFP-L3% (> 10%)	53/73 (72.6)	64/77 (83.1)	53/66 (80.3)	64/84 (76.2)
χ^2 值	0.356	5.271	4.390	0.771
P 值	0.529	0.028	0.047	0.325

合慢性肝病背景和影像学检查结果并排除其他因素,才可做出原发性肝癌的临床诊断。但部分早期PLC患者、单发肿瘤或诊断尚未明确的肝癌患者,其血清AFP仅轻微升高或为正常水平,易出现漏诊,因此仅采用AFP诊断PLC有一定的局限性^[20,21],寻找一个经济有效、敏感、特异的血清学标志物十分重要。

1970年, Purves等根据AFP分子与外源性凝集素亲和力的不同特性,首先应用淀粉凝胶电泳法分离出人AFP异质体,其中AFP-L3的主要来源为肝癌患者。早先AFP-L3常用的检测方法为植物凝集素免疫交叉电泳法,但该方法过程繁琐,试剂费用及对技术的要求均较高,在一定程度上限制了AFP-L3的应用。近年来已研制出AFP-L3的全自动机器检测方法,先通过高压液相柱层析法进行分离,然后与游离的AFP蛋白进行结合,最后对抗原与抗体间液相结合反应的含量进行测定,结果准确,易操作,已在国内外医院逐步应用。

早诊断和早治疗是改善PLC患者预后的重要因素,早期PLC患者可选择外科切除或射频消融治疗等根治性治疗方法,但大部分患者发现时已为晚期,出现肝功能失代偿或多发肝癌,甚至已出现远处转移,失去手术治疗的最佳时机。在本研究中,肝硬化组和慢性肝炎组中多数患者AFP-L3% < 10%,而原发性肝癌组中多数患者AFP-L3% > 10%,慢性肝炎组和肝硬化组患者AFP-L3%的分布与早期PLC患者差异显著,说明可以AFP-L3% > 10%作为区分良、恶性肝病的阈值。本研究慢性肝炎组中慢性丙型肝炎患者仅6例,样本量较小,故未将慢性乙型肝炎和慢性丙型肝炎患者单独进行分析,以免出现偏倚。另外,在本研究中对73例早期PLC患者AFP-L3%与AFP水平的相关性比较,发现二者分布离散($r = 0.147$, $P = 1.906$),说明AFP-L3%的升高不依赖于AFP的升高,二者无相关性,因此AFP-L3%可作为早期PLC的独立预测指标。

有研究表明,在慢性乙型肝炎患者、丙型肝炎患者、不同原因肝硬化患者和大量饮酒者高危人群中,检测AFP-L3%可发现直径< 2 cm的PLC,特异性高达80%以上,2005年FDA批准AFP-L3%可作为PLC检测的血清学指标,并越来越被公认为是灵敏度高于AFP的诊断标志物^[22,23]。本研究表明,AFP诊断早期PLC的特异性为62.3%,阳性预测值为62.8%,而AFP-L3%的诊断特异性为83.1%,阳性预测值为80.3%,AFP-L3%的特异性和阳性预测值均显著高于AFP。有文献报道,当以AFP-L3% >

10%作为临界值时,其灵敏度和特异度分别为63%和94%,AFP-L3%的诊断特异性显著高于AFP,这与本研究结果相符^[24]。鉴于AFP-L3%对早期PLC具有预警作用,在AFP-L3%升高的良性肝病中应警惕发生PLC的高风险性,加强随访有助于早期诊断,有利于改善患者预后^[25]。

综上所述,AFP-L3是检测PLC的一种新肿瘤标志物,具有更高的特异性和阳性预测值,可有效弥补AFP检测的不足,对早期PLC的诊断及预警具有重要价值^[26],对于AFP-L3阴性PLC患者,联合检测AFP准确性更佳,可有效避免漏诊。

参考文献

- [1] Mardomi A, Sabzichi M, Hussein Somi M, et al. Trafficking mechanism of bone marrow-derived mesenchymal stem cells toward hepatocellular carcinoma HepG2 cells by modulating Endoglin, CXCR4 and TGF- β [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand),2016,62(11):81-86.
- [2] Shang S, Sun L, Li W, et al. Rapid diagnosis of hepatocellular carcinoma using a haptoglobin ELISA assay based on AAL-coated magnetic beads[J]. Discov Med,2016,22(120):97-104.
- [3] Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, et al. AASLD guidelines for treatment of Chronic hepatitis B[J]. Hepatology,2016,63(1):261-283.
- [4] Sauzay C, Petit A, Bourgeois AM, et al. Alpha-fetoprotein (AFP): a multi-purpose marker in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Chim Acta,2016,463:39-44.
- [5] 李嘉妍, 宋金云, 王建芳, 等. AFP、CA19-9、CEA联合检测对原发性肝癌的早期诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志,2017,33(7):1291-1295.
- [6] Diaz P, Harris J, Rosario FJ, et al. Increased placental fatty acid transporter 6 and binding protein 3 expression and fetal liver lipid accumulation in a mouse model of obesity in pregnancy[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2015,309(12):R1569-R1577.
- [7] 章健, 叶迎宾, 黄秀香, 等. 高尔基体糖蛋白73与甲胎蛋白异质体百分比及总胆汁酸在原发性肝癌的表达及其临床应用[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(2):116-118.
- [8] Li J, Gao T, Gu S, et al. An electrochemical biosensor for the assay of alpha-fetoprotein-L3 with practical applications[J]. Biosens Bioelectron,2017,87:352-357.
- [9] Yi X, Yu S, Bao Y. Alpha-fetoprotein-L3 in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. Clin Chim Acta,2013,425:212-220.
- [10] 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(2015年版)[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3):1-18.
- [11] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南(2015年版)[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3):19-35.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版)摘要[J]. 临床肿瘤学杂志,2011,16(10):929-946.
- [13] 陈继梅, 丁雪芳, 周瑶. 探讨AFP异质体在良恶性肝病中的鉴别诊断价值[J]. 临床输血与检验,2015,17(6):548-551.
- [14] 赵晓玲, 王晶晶, 赵巧玉, 等. 甲胎蛋白异质体比率在原发性肝癌鉴别诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(9):1228-1229,1231.
- [15] Zhang Z, Zhang Y, Wang Y, et al. Alpha-fetoprotein-L3 and Golgi protein 73 may serve as candidate biomarkers for diagnosing alpha-

fetoprotein-negative hepatocellular carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*,2016,9(1):123-129.

[16] Kumar A. Current practices in management of hepatocellular carcinoma in India: results of an online survey[J]. *J Clinl Exp Hepatol*,2014,4(Suppl 3):140-146.

[17] Crissien AM, Frenene C. Current management of hepatocellular carcifnoma[J]. *Gastroenteol Hepatol(NY)*,2014,10(3):153-161.

[18] Song P, Tang Q, Feng X, et al. Biomarkers: evaluation of clinical utility in surveillance and early diagnosis for hepatocellular carcinoma[J]. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*,2016,245:S70-S76.

[19] 江金华, 严汀华. AFP-L3、AFP、SF、 β 2-MG联合检测对原发性肝癌诊断的临床价值研究[J]. *中国卫生标准管理*,2016,7(21):21-23.

[20] Lim TS, Kim DY, Han KH, et al. Combined use of AFP, PIVKA-II, and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients[J]. *Scand J Gastroenterol*,2016,51(3):344-353.

[21] Choi JY, Jung SW, Kim HY, et al. Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP[J]. *World J Gastroenterol*,2013,19(3):339-346.

[22] 陈俊, 王利健, 骆剑明, 等. 甲胎蛋白异质体在良、恶性肝病中的鉴别和在早期肝癌中的诊断价值[J]. *中国卫生检验杂志*,2015,25(3):368-370.

[23] Zhao Y, Wang M, Cui C, et al. Significance of combined tests of serumgolgi glycoprotein 73 and other biomarkers in diagnosis of small primary hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*,2015,15(5):677-683.

[24] Liu X, Wan X, Lu S, et al. Evaluation of a magnetic particles-based chemiluminescence enzyme immunoassay for Golgi protein 73 in human serum[J]. *Clin Chim Acta*,2015,445:54-59.

[25] Hu B, Tian X, Sun J, et al. Evaluation of individual and combined applications of serum biomarkers for diagnosis of hepatocellular carcinoma:a meta-analysis[J]. *Int J Mol Sci*,2013,14(12): 23559-23580.

[26] Hadziyannis E, Sialevis K, Georgiou A, et al. Analysis of serum α -fetoprotein-L3% and des- γ carboxyprothrombin markers in cases with misleading hepatocellular carcinoma total α -fetoprotein levels [J]. *Oncol Rep*,2013,29(2):835-839.

收稿日期: 2018-03-20

李贵, 赵莹莹, 段英, 等. 甲胎蛋白异质体L3对早期原发性肝癌的诊断价值[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2018,10(4):7-11.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于医学论文中的作者署名和志谢

我国著作权法公布以来, 已得到社会各界的广泛重视, 作为医学科技期刊必须严格执行著作权法。为此将本刊对作者署名和志谢的有关要求重申如下。

一、作者署名的意义和应具备的条件

(一) 署名的意义: ①标明论文的责任人, 文责自负; ②医学论文是医学科技成果的总结和记录, 是作者辛勤劳动的成果和创造智慧的结晶, 也是作者对医学事业作出的贡献, 并以此获得社会的尊重和承认的客观指标, 是应得的荣誉, 也是论文版权归作者的一个声明; ③作者署名便于编辑、读者与作者联系, 沟通信息, 互相探讨, 共同提高。作者姓名在文题下按序排列, 排序应在投稿时确定, 在编排过程中不应再作更改。作者单位名称及邮政编码脚注于同页左下方。

(二) 作者应具备下列条件: ①参与选题和设计, 或参与资料的分析 and 解释者; ②起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者; ③能对编辑部的修改意见进行核修, 在学术界进行答辩, 并最终同意该文发表者。以上3条均需具备。仅参与获得资金或收集资料者不能列为作者, 仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。其他对该研究有贡献者应列入志谢部分。对文章中的各主要结论, 均必须至少有1位作者负责。在每篇文章的作者中需要确定1位能对该论文全面负责的通讯作者。通讯作者应在投稿时确定, 如在来稿中未特殊标明, 则视第一作者为通讯作者。第一作者与通讯作者不是同一人时, 在论文首页脚注通讯作者姓名、单位及邮政编码。作者中如有外籍作者, 应附本人亲笔签名同意在本刊发表的函件。集体署名的论文于文题下列署名单位, 于文末列整理者姓名, 并于论文首页脚注通讯作者姓名、单位和邮政编码。集体署名的文章必须将对该文负责的关键人物列为通讯作者。通讯作者只列1位, 由投稿者决定。

二、志谢

在文后志谢是表示感谢并记录在案的意思。对给予实质性帮助而又不能列为作者的单位或个人应在文后给予志谢。但必须征得被志谢人的书面同意。志谢应避免以下倾向: ①确实得到某些单位或个人的帮助, 甚至用了他人的方法、思路、资料, 但为了抢先发表, 而不公开志谢和说明; ②出于某种考虑, 将被志谢人放在作者的位置上, 混淆了作者和被志谢者的权利和义务; ③以名人、知名专家包装自己的论文, 抬高论文的身份, 将未曾参与工作的, 也未阅读过该论文的知名专家写在志谢中。

被志谢者包括: ①对研究提供资助的单位和个人、合作单位; ②协助完成研究工作和提供便利条件的组织和个人; ③协助诊断和提出重要建议的人; ④给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者; ⑤作出贡献又不能成为作者的人, 如提供技术帮助和给予财力、物力支持的人, 此时应阐明其支援的性质; ⑥其他需志谢者。