

血清甲胎蛋白和三叶因子1水平 对原发性肝癌的诊断及预后价值

孙恒亮¹, 濮忠建² (1.海安市中医院 检验科, 江苏 海安 226600; 2.海安市中医院 肿瘤科, 江苏 海安 226600)

摘要: **目的** 探讨血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)和三叶因子1(trefoil factor 1, TFF1)水平在原发性肝癌诊断及预后中的价值。**方法** 选取2015年1月至2019年1月于海安市中医院就诊的87例原发性肝癌患者、40例病毒性肝炎患者、40例肝硬化患者及40例健康体检者为研究对象。采用UniCel DxI 800全自动化学发光分析仪检测AFP水平, 采用酶联免疫吸附试验检测TFF1水平。根据是否复发将原发性肝癌患者分为复发组和未复发组, 比较两组不同时间点AFP和TFF1水平差异。采用受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线评估AFP和TFF1对原发性肝癌的诊断价值。采用Spearman秩相关分析各组患者血清AFP与TFF1的相关性。根据血清AFP水平将有完整随访资料的患者分为AFP高水平组($\text{AFP} > 400 \mu\text{g/L}$)、AFP低水平组($20 \mu\text{g/L} \leq \text{AFP} < 400 \mu\text{g/L}$)和AFP阴性组17例($\text{AFP} < 20 \mu\text{g/L}$); 根据TFF1诊断原发性肝癌的截断值将患者分为TFF1高水平组($\text{TFF1} \geq 1.75 \mu\text{g/L}$)和TFF1低水平组($\text{TFF1} < 1.75 \mu\text{g/L}$)。采用Kaplan-Meier法进行生存分析, 采用Log-rank法分别比较3组患者的无复发生存率。**结果** 原发性肝癌组患者血清AFP水平均显著高于肝硬化组、病毒性肝炎组和健康对照组(中位数: $110.45 \mu\text{g/L}$ vs $7.15 \mu\text{g/L}$ vs $3.23 \mu\text{g/L}$ vs $2.73 \mu\text{g/L}$), 差异均有统计学意义(z 值分别为-6.732、-8.270、-11.135, P 均 < 0.001)。原发性肝癌组患者血清TFF1水平均显著高于肝硬化组、病毒性肝炎组和健康对照组(中位数: $3.76 \mu\text{g/L}$ vs $0.61 \mu\text{g/L}$ vs $0.45 \mu\text{g/L}$ vs $0.37 \mu\text{g/L}$), 差异均有统计学意义(z 值分别为-4.274、-5.313、-5.471, P 均 < 0.001)。在AFP阴性患者中, TFF1阳性率为46.15% (12/26)。AFP、TFF1、联合检测(并联)和联合检测(串联)诊断原发性肝癌的ROC曲线下面积分别为0.747、0.754、0.862、0.889, 联合检测(并联)和联合检测(串联)的曲线下面积均显著高于AFP和TFF1 (P 均 < 0.05)。单项检测时AFP的敏感度为70.11%, TFF1的敏感度为65.52%, 联合检测(并联)可将敏感度提高至83.90%, 联合检测(串联)可将特异度提高至97.50%。健康对照组、肝硬化组、病毒性肝炎组和原发性肝癌组患者血清AFP与TFF1均无显著相关性(r_s 值分别为0.130、0.064、-0.044、-0.031, P 值分别为0.216、0.483、0.811、0.875)。共76例原发性肝癌患者有完整的随访资料, 随访时间为5~13个月, 中位随访期为9.6个月, 随访期间27例复发。复发组与未复发组患者术前、术后1周、术后4周和术后8周血清AFP(术前: $183.47 \mu\text{g/L}$ vs $97.45 \mu\text{g/L}$; 术后1周: $25.34 \mu\text{g/L}$ vs $22.35 \mu\text{g/L}$; 术后4周: $32.18 \mu\text{g/L}$ vs $26.78 \mu\text{g/L}$; 术后8周: $90.57 \mu\text{g/L}$ vs $26.54 \mu\text{g/L}$)与TFF1(术前: $5.82 \mu\text{g/L}$ vs $3.54 \mu\text{g/L}$; 术后1周: $0.69 \mu\text{g/L}$ vs $0.72 \mu\text{g/L}$; 术后4周: $0.71 \mu\text{g/L}$ vs $0.84 \mu\text{g/L}$; 术后8周: $1.93 \mu\text{g/L}$ vs $0.87 \mu\text{g/L}$)水平差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。复发组患者术后8周血清AFP与TFF1水平均显著高于未复发组($z = 2.116$ 、 2.820 , $P = 0.024$ 、 0.005)。复发组患者术后8周血清AFP和TFF1水平均显著高于术后1周和术后4周(P 均 < 0.05)。AFP高水平组、AFP低水平组和AFP阴性组患者的无复发生存率分别为58.8% (17/30)、62.1% (18/29)和82.4% (14/17),

差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2 = 5.117$, $P = 0.031$), AFP高水平组和AFP低水平组无复发生存率显著低于AFP阴性组(Log-rank $\chi^2 = 6.289$, $P = 0.012$; Log-rank $\chi^2 = 5.373$, $P = 0.023$)。TFF1高水平组(TFF1 $\geq 1.75 \mu\text{g/L}$)共45例, TFF1低水平组(TFF1 $< 1.75 \mu\text{g/L}$)共31例, TFF1高水平组无复发生存率显著低于TFF1低水平组[53.3% (24/45) vs 80.7% (25/31)], 差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2 = 5.411$, $P = 0.020$)。Cox单因素分析表明肿瘤直径、肿瘤数目、血管侵犯、AFP及TFF1水平与患者术后无复发生存有关(P 均 < 0.05); Cox多因素分析表明肿瘤直径 $\geq 5 \text{ cm}$ ($HR = 4.137$, 95%CI: 1.352~8.573, $P = 0.017$)、肿瘤数目 ≥ 2 个($HR = 3.232$, 95%CI: 1.395~6.447, $P = 0.023$)以及有血管侵犯($HR = 4.635$, 95%CI: 1.676~9.352, $P = 0.009$)是患者术后无复发生存的独立危险因素。结论 血清AFP、TFF1联合检测可有效提高原发性肝癌的诊断效能, TFF1对于AFP假阴性诊断有一定价值, 两种血清肿瘤标志物对原发性肝癌患者术后预后判断有一定临床价值。

关键词: 原发性肝癌; 甲胎蛋白; 三叶因子1

Value of serum alpha-fetal protein and trilateral factor 1 levels on the diagnosis and prognosis of primary liver cancer

Sun Hengliang¹, Pu Zhongjian² (1.Department of Laboratory, Haian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Haian 226600, Jiangsu Province, China; 2.Department of Oncology, Haian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hai'an 226600, Jiangsu Province, China)

Abstract: Objective To investigate the value of serum alpha-fetal protein (AFP) and trilateral factor 1 (TFF1) on the diagnosis and prognosis of primary liver cancer. **Methods** Total of 87 cases with primary liver cancer, 40 cases with viral hepatitis, 40 cases with liver cirrhosis and 40 cases of healthy controls in Haian Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2015 to January 2019 were selected. AFP level was detected by UniCel DxI 800 fully automated chemiluminescence analyzer and TFF1 level was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Receiver operator characteristic (ROC) curve was used to assess the diagnostic value of AFP and TFF1 for primary liver cancer. Spearman rank correlation was used to analyze the association of serum AFP and TFF1. Patients with complete follow-up data were classified into AFP high-level group (AFP $\geq 400 \mu\text{g/L}$), AFP low-level group ($20 \mu\text{g/L} \leq \text{AFP} < 400 \mu\text{g/L}$) and AFP negative group (AFP $< 20 \mu\text{g/L}$); the above patients were also classified into TFF1 high-level group (TFF1 $\geq 1.75 \mu\text{g/L}$) and TFF1 low-level group (TFF1 $< 1.75 \mu\text{g/L}$) based on the cut off value of TFF1 in diagnosis of primary liver cancer. Survival analysis was performed using Kaplan-Meier method and Log-rank was used to compare the relapse-free survival among the three groups. **Results** Serum AFP level of patients in primary liver cancer group was significantly higher than those of liver cirrhosis group, viral hepatitis group and healthy control group (median: 110.45 $\mu\text{g/L}$ vs 7.15 $\mu\text{g/L}$ vs 3.23 $\mu\text{g/L}$ vs 2.73 $\mu\text{g/L}$), respectively, the differences were statistically significant ($z = -6.732, -8.270, -11.135$; all $P < 0.001$). The serum TFF1 level of patients in primary liver cancer group was significantly higher than those in liver cirrhosis group, viral hepatitis group and healthy control group (median: 3.76 $\mu\text{g/L}$ vs 0.61 $\mu\text{g/L}$ vs 0.45 $\mu\text{g/L}$ vs 0.37 $\mu\text{g/L}$), respectively, the differences were statistically significant ($z = -4.274, -5.313, -5.471$; all $P < 0.001$). The positive rate of TFF1 in patients with AFP negative was 46.15% (12/26). The area under ROC curve of AFP, TFF1, joint detection (in parallel) and joint detection (in series) were 0.747, 0.754, 0.862 and 0.889, respectively. The area under ROC curve of joint detection (parallel) and joint detection (series) were significantly higher than those of AFP and TFF1 (all $P < 0.05$). The sensitivity of AFP and TFF1 were 70.11% and 65.52%, respectively, while joint detection (in parallel) could increase the sensitivity to

83.90%, and joint detection (in series) could increase the specificity to 97.50%. There were no association between serum AFP and TFF1 in healthy control group, liver cirrhosis group, viral hepatitis group and primary liver cancer group, respectively ($r_s = 0.130, 0.064, -0.044, -0.031$; $P = 0.216, 0.483, 0.811, 0.875$). A total of 76 patients had complete follow-up data, the follow-up period was 5~13 months (median time 9.6 months). Total of 27 cases relapsed during the follow-up period. There were significant differences in serum AFP (before operation: 183.47 $\mu\text{g/L}$ vs 97.45 $\mu\text{g/L}$; 1 week after operation: 25.34 $\mu\text{g/L}$ vs 22.35 $\mu\text{g/L}$; 4 weeks after operation: 32.18 $\mu\text{g/L}$ vs 26.78 $\mu\text{g/L}$; 8 weeks after operation: 90.57 $\mu\text{g/L}$ vs 26.54 $\mu\text{g/L}$) and TFF1 (before operation: 5.82 $\mu\text{g/L}$ vs 3.54 $\mu\text{g/L}$; 1 week after operation: 0.69 $\mu\text{g/L}$ vs 0.72 $\mu\text{g/L}$; 4 weeks after operation: 0.71 $\mu\text{g/L}$ vs 0.84 $\mu\text{g/L}$; 8 weeks after operation: 1.93 $\mu\text{g/L}$ vs 0.87 $\mu\text{g/L}$) levels of patients in relapsed group and non-relapsed group before operation, 1 week after operation, 4 weeks after operation and 8 weeks after operation (all $P < 0.05$). Both serum AFP and TFF1 levels of patients in relapsed group were significantly higher than those in non-relapsed group 8 weeks after operation. Serum AFP and TFF1 levels of patients in relapsed group 8 weeks after operation were significantly higher than those of 1 week and 4 weeks after operation (all $P < 0.05$). The relapse free survive rate of patients in AFP high-level group, AFP low-level group and AFP negative group were 58.8% (17/30), 62.1% (18/29) and 82.4% (14/17), respectively, the difference was statistically significant (Log-rank $\chi^2 = 5.117$, $P = 0.031$). The relapse free survive rate of patients in AFP high-level group and AFP low-level group were significantly lower than that in AFP negative group (Log-rank $\chi^2 = 6.289$, $P = 0.012$; Log-rank $\chi^2 = 5.373$, $P = 0.023$). The relapse free survive rate of patients in TFF1 high-level group was significantly lower than that in TFF1 low-level group [53.3%(24/45) vs 80.7%(25/31)], the difference was statistically significant (Log-rank $\chi^2 = 5.411$, $P = 0.020$). Cox univariate analysis showed that tumor diameter, tumor number, vascular invasion, AFP and TFF1 were related to postoperative relapse free survival (all $P < 0.05$); multivariate analysis showed that tumor diameter ≥ 5 cm ($HR = 4.137$, 95%CI: 1.352~8.573, $P = 0.017$), tumors number ≥ 2 ($HR = 3.232$, 95%CI: 1.395~6.447, $P = 0.023$) and vascular invasion ($HR = 4.635$, 95%CI: 1.676~9.352, $P = 0.009$) were independent risk factors affecting postoperative relapse free survival. **Conclusions** The combined detection of serum AFP and TFF1 can effectively improve the diagnostic efficacy of primary liver cancer. TFF1 is valuable in the diagnosis of false AFP negative, and the two serum tumor markers have a certain clinical value on the prognosis of postoperative primary liver cancer patients.

Key words: Primary liver cancer; Alpha fetoprotein; Trefoil factor 1

原发性肝癌病死率高, 在国内发病率呈上升趋势。肝癌患者早期无明显症状, 发现时多为中晚期, 且易转移和复发^[1-3]。因此, 有效的肿瘤血清标志物对肝癌的早期诊断、病情发展及预后评估具有重要意义。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是目前临床诊断原发性肝癌最常用的肿瘤标志物, 但灵敏度欠佳, 易造成早期原发性肝癌的漏诊^[4]。因此, 寻找新的血清肿瘤标志物用于原发性肝癌的辅助诊断及预后评估具有重要意义。三叶因子1(trefoil factor 1, TFF1)是一种胃肠道激素, 主要通过消化道黏液细胞分泌。有研究表明TFF1在肝癌组织中阳

性率显著高于正常组织, 且在肝癌组织中高表达, 提示其可能成为一种新的肝癌血清标志物。本研究检测了血清TFF1在病毒性肝炎、肝硬化及原发性肝癌患者体内的表达水平, 分析AFP与TFF1联合检测对原发性肝癌的诊断价值, 同时还对术后两种标志物的动态变化进行了分析, 以评价其对原发性肝癌的预后价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2015年1月至2019年1月在海安市中医院肿瘤科及介入科诊治的87例原发性肝癌患者为原发性肝癌组。分别选取同期在本院诊治的

40例病毒性肝炎患者为病毒性肝炎组(其中乙型肝炎32例,丙型肝炎8例)、40例肝硬化患者作为肝硬化组(其中肝硬化失代偿期22例,肝硬化代偿期18例)以及同期在本院体检者40例为健康对照组。本研究获得海安市中医院伦理委员会审批(2015K-020),患者均签署知情同意书。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 原发性肝癌组 纳入标准:①患者的诊断符合《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》^[5];②术前未接受放射治疗、化学治疗及介入治疗;③临床资料完整。排除标准:①排除HCC以外的其他恶性肿瘤;②排除甲状腺功能亢进、严重心血管病、糖尿病等疾病;③妊娠期妇女。

1.2.2 病毒性肝炎组 纳入标准:①诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)》^[6]和《丙型肝炎防治指南(2019年版)》^[7];②资料完整;③年龄和性别与原发性肝癌患者组匹配。排除标准:①排除丁型病毒性肝炎等其他肝炎病毒感染者;②排除人类免疫缺陷病毒感染;③排除合并肝硬化及其他疾病患者。

1.2.3 肝硬化组 纳入标准:①符合中华医学会肝病学分会《肝硬化诊治指南》^[8];②年龄和性别与原发性肝癌组匹配;③无临床资料缺失。排除标准:①伴有其他类型疾病者;②无法正常沟通交流或存在精神疾病者。

1.2.4 健康对照组 体检合格,年龄和性别与原发性肝癌组匹配,均无肾脏、肝脏、心血管及其他疾病。

1.3 方法 原发性肝癌组患者在术前及门诊定期复查时静脉采血,其他组于体检当日采静脉血,及时分离血清,置于-80℃冰箱保存,检测患者肿瘤标志物水平,严格按照说明书进行操作。AFP采用UniCel DxI 800全自动化学发光分析仪检测,各组血清TFF1水平采用酶联免疫吸附试验检测。TFF1试剂盒购于Abcam公司。阳性标准:AFP > 20 μg/L, TFF1 ≥ 1.75 μg/L (ROC曲线截断值)。

1.4 随访 原发性肝癌患者在肝癌切除术后进行随访。随访形式采用门诊定期复查和电话相结合,随访至术后13个月,随访终点为术后首次复发。肝癌的复发诊断参考《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》^[5],以动态增强影像学如增强计算机断层扫描、磁共振、正电子发射计算机断层显像及肝动脉造影等检查为主要依据。根据是否复发将有完整随访资料的原发性肝癌患者分为复发组和未复发组,比较两组不同时间点AFP和TFF1水平的差异。根据血清AFP水平将有完整随访资料

的患者分为AFP高水平组(AFP > 400 μg/L)、AFP低水平组(20 μg/L ≤ AFP < 400 μg/L)和AFP阴性组17例(AFP < 20 μg/L);根据TFF1诊断原发性肝癌的截断值将患者分为TFF1高水平组(TFF1 ≥ 1.75 μg/L)和TFF1低水平组(TFF1 < 1.75 μg/L)。采用Kaplan-Meier法进行生存分析,采用Log-Rank法分别比较3组患者的无复发生存率。

1.5 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计分析。年龄为正态分布的计量资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析;AFP和TFF1为非正态分布的计量资料,以 $M(p_{25}, p_{75})$ 表示,多组间比较采用Kruskal-Wallis H 检验,两两比较采用Mann-Whitney U 检验。性别为计数资料,以例数表示,采用Pearson χ^2 检验。采用MedCalc软件绘制受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线评估AFP、TFF1、联合检测(串联)及联合检测(并联)对原发性肝癌的诊断价值,曲线下面积比较采用 z 检验。其中联合检测(串联)中AFP和TFF1均为阳性则判定为阳性,联合检测(并联)中AFP和TFF1有1项为阳性即判定为阳性。采用Spearman秩相关分析各组患者血清AFP与TFF1的相关性。采用Cox回归分析原发性肝癌患者无复发生存率的影响因素。以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 原发性肝癌组中TNM I/II期者50例, TNM III/IV期者37例。4组研究对象性别和年龄的差异无统计学意义(P 均> 0.05),见表1。

2.2 血清AFP和TFF1水平 健康对照组、肝硬化组、病毒性肝炎组和原发性肝癌组患者血清AFP和TFF1水平差异均有统计学意义($H = 26.534, 18.327, P$ 均< 0.001),原发性肝癌组患者血清AFP和TFF1水平均显著高于肝硬化组、病毒性肝炎组和健康对照组,差异有统计学意义(P 均< 0.001)。见表2。在AFP阴性的26例肝癌患者中,有12例TFF1检测阳性,阳性率为46.15%;AFP阳性的61例肝癌患者

表1 健康对照组、肝硬化组、病毒性肝炎组和原发性肝癌组患者一般资料

组别	例数	男/女(例)	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)
健康对照组	40	20/20	51.8 ± 12.4
肝硬化组	40	21/19	52.7 ± 14.2
病毒性肝炎组	40	21/19	51.1 ± 12.2
原发性肝癌组	87	46/41	52.3 ± 11.2
统计量值		$\chi^2 = 0.119$	$F = 0.019$
P 值		0.943	0.964

中,有45例TFF1检测阳性,阳性率为73.77%。

2.3 血清AFP、TFF1单项检测及联合检测诊断原发性肝癌的价值 AFP、TFF1、联合检测（并联）、联合检测（串联）诊断原发性肝癌的ROC曲线下面积分别为0.747、0.754、0.862、0.889,联合检测（并联）和联合检测（串联）的曲线下面积均显著高于AFP和TFF1 (P 均 < 0.05), AFP和TFF1间差异无统计学意义 ($z = 0.980, P = 0.327$)。联合检

测（并联）和联合检测（串联）间差异无统计学意义 ($z = 1.048, P = 0.294$)。单项检测时AFP敏感性达70.11%, TFF1敏感性为65.52%; 联合检测时并联试验可将敏感性提高至83.90%, 串联试验可将特异性提高至97.50%。见图1、表3、表4。

2.4 AFP与TFF1的相关性 健康对照组、肝硬化组、病毒性肝炎组和原发性肝癌组患者血清AFP与TFF1均无显著相关性 (r_s 值分别为0.130、0.064、

表2 健康对照组、肝硬化组、病毒性肝炎组和原发性肝癌组患者血清 AFP 和 TFF1 水平 [$M(p_{25}, p_{75})$, $\mu\text{g/L}$]

组别	例数	AFP	TFF1
健康对照组	40	2.73 (2.05, 5.49)	0.37 (0.13, 0.78)
肝硬化组	40	7.51 (2.95, 96.53)	0.61 (0.27, 4.25)
病毒性肝炎组	40	3.23 (2.09, 18.90)	0.45 (0.19, 2.69)
原发性肝癌组	87	110.45 (7.86, 2423.70)	3.76 (0.52, 21.33)
H 值		26.534	18.327
P 值		< 0.001	< 0.001

注: 健康对照组与肝硬化组相比, AFP $z = -2.315, P = 0.032$, TFF1 $z = -2.955, P = 0.002$; 健康对照组与病毒性肝炎组相比, AFP $z = -2.137, P = 0.041$, TFF1 $z = 2.541, P = 0.027$; 健康对照组与原发性肝癌组相比, AFP $z = -11.135, P < 0.001$, TFF1 $z = -5.471, P < 0.001$; 肝硬化组与病毒性肝炎组相比, AFP $z = 2.449, P = 0.022$, TFF1 $z = 1.377, P = 0.085$; 肝硬化组与原发性肝癌组相比, AFP $z = -6.732, P < 0.001$, TFF1 $z = -4.274, P < 0.001$; 病毒性肝炎组与原发性肝癌组相比, AFP $z = -8.270, P < 0.001$, TFF1 $z = -5.313, P < 0.001$ 。

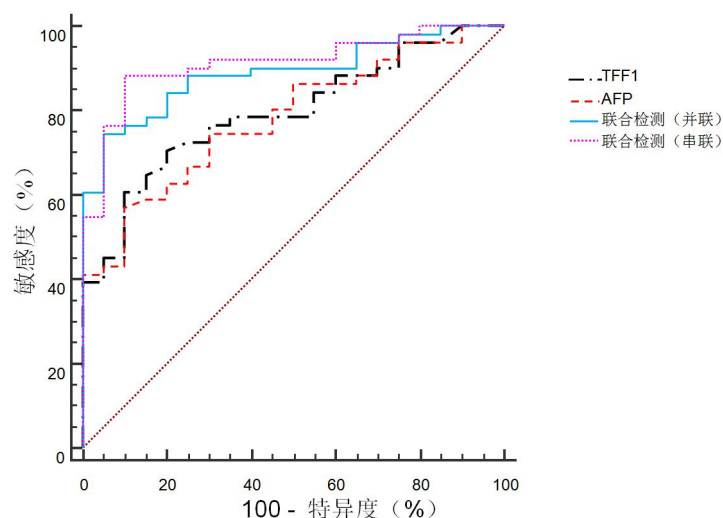


图1 血清 AFP、TFF1 单项检测及联合检测诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

表3 血清 AFP、TFF1 单项检测及联合检测诊断原发性肝癌的 ROC 曲线下面积

检测指标	曲线下面积	95%CI	SE	P 值	截断值 ($\mu\text{g/L}$)
AFP	0.747	0.637~0.848	0.0632	0.001	20
TFF1	0.754	0.629~0.842	0.0627	0.001	1.75
联合检测 (并联)	0.862	0.735~0.924	0.0380	< 0.001	-
联合检测 (串联)	0.889	0.793~0.947	0.0349	< 0.001	-

注: 曲线下面积 AFP 和 TFF1 相比, $z = 0.980, P = 0.327$; AFP 和联合检测 (并联) 相比, $z = 2.598, P = 0.009$; AFP 和联合检测 (串联) 相比, $z = 2.762, P = 0.006$; TFF1 和联合检测 (并联) 相比, $z = 2.356, P = 0.018$; TFF1 和联合检测 (串联) 相比, $z = 2.954, P = 0.003$; 联合检测 (并联) 和联合检测 (串联) 相比, $z = 1.048, P = 0.294$; “-” 为无相关数据。

-0.044、-0.031, P 值分别为0.216、0.483、0.811、0.875)。见图2。

2.5 复发组与未复发组原发性肝癌患者血清AFP、TFF1水平 共76例患者有完整的随访资料,随访时间为5~13个月,中位随访期为9.6个月,随访期间27例复发。复发组与未复发组患者术前、术后1周、术后4周和术后8周血清AFP与TFF1水平差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。复发组患者术后8周血清AFP与TFF1水平均显著高于未复发组($z = 2.116$ 、 2.820 , $P = 0.024$ 、 0.005)。复发组患者术后8周血清AFP和TFF1水平均显著高于术后1周和术后4周(P 均 < 0.05)。见表5。

2.6 不同AFP和TFF1水平原发性肝癌患者的无复发生存率 AFP高水平组、AFP低水平组和AFP阴性组患者的无复发生存率分别为58.8% (17/30)、62.1% (18/29)和82.4% (14/17),差异有统计学意义

(Log-rank $\chi^2 = 5.117$, $P = 0.031$), AFP高水平组和AFP低水平组患者无复发生存率显著低于AFP阴性组(Log-rank $\chi^2 = 6.289$, $P = 0.012$; Log-rank $\chi^2 = 5.373$, $P = 0.023$),见图3。TFF1高水平组(45例)和TFF1低水平组(31例)患者无复发生存率分别为53.3% (24/45)、80.7% (25/31), TFF1高水平组无复发生存率显著低于TFF1低水平组(Log-rank $\chi^2 = 5.411$, $P = 0.020$),见图4。

2.7 原发性肝癌患者无复发生存影响因素的Cox回归分析 将年龄、性别、肿瘤直径、肿瘤数目、血管侵犯、AFP及TFF1纳入Cox单因素分析,结果表明肿瘤直径、肿瘤数目、血管侵犯、AFP及TFF1与患者术后无复发生存有关(P 均 < 0.05),见表6;将上述指标纳入Cox多因素分析,结果表明肿瘤直径 ≥ 5 cm、肿瘤数目 ≥ 2 个以及有血管侵犯是患者术后无复发生存的独立影响因素(P 均 < 0.05),见表7。

表4 血清AFP、TFF1单项检测及联合检测诊断原发性肝癌的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度[例(%)]

检测指标	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确度
AFP	61/87 (70.11)	31/40 (77.50)	61/70 (87.14)	31/57 (54.38)	92/127 (72.44)
TFF1	57/87 (65.52)	35/40 (87.50)	57/62 (91.93)	35/65 (53.85)	92/127 (72.44)
联合检测(并联)	73/87 (83.90)	27/40 (67.50)	73/86 (84.88)	27/41 (65.85)	100/127 (78.74)
联合检测(串联)	41/87 (47.13)	39/40 (97.50)	41/42 (97.62)	39/85 (45.88)	80/127 (62.99)

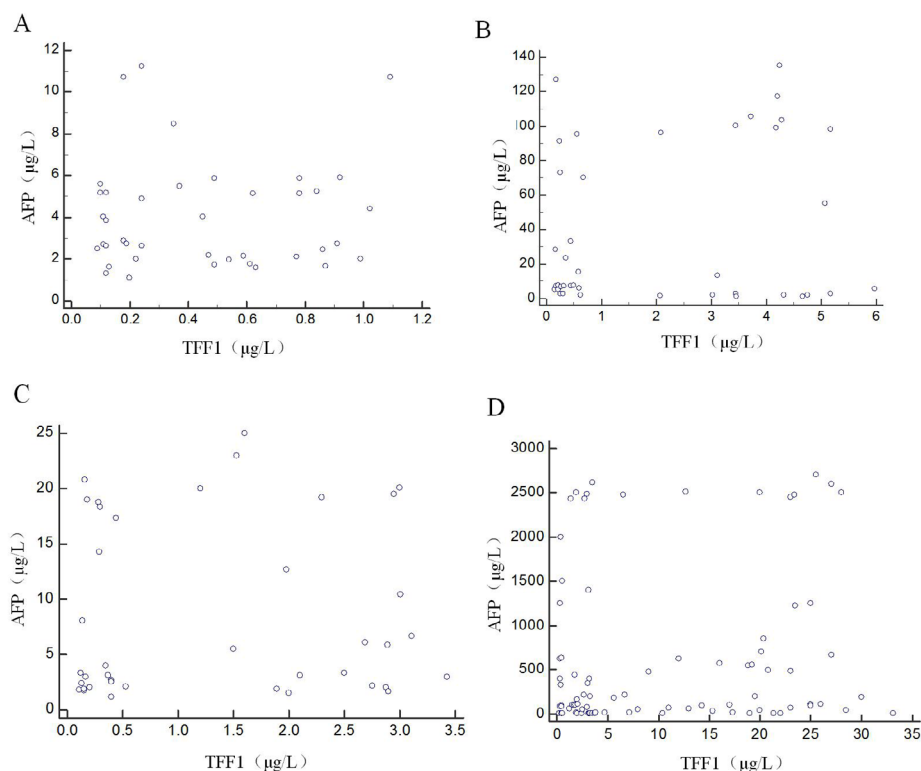


图2 健康对照组、肝硬化组、病毒性肝炎组和原发性肝癌组患者血清AFP与TFF1相关性散点图
注: A为健康对照组, B为肝硬化组, C为病毒性肝炎组, D为原发性肝癌组

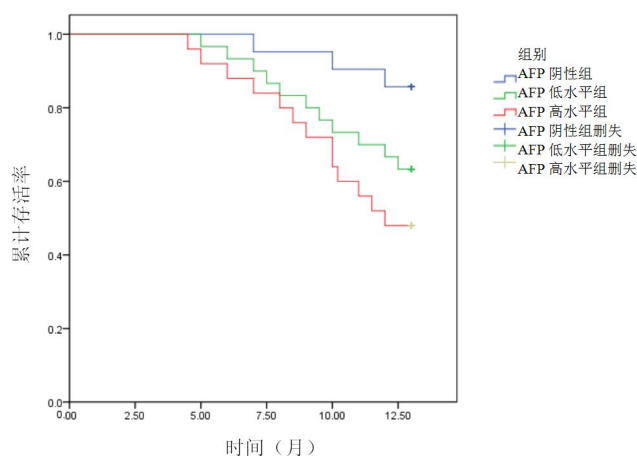
表5 复发组与未复发组原发性肝癌患者血清 AFP、TFF1 水平 [$M(p_{25}, p_{75})$, $\mu\text{g/L}$]

组别	例数	AFP	TFF1
未复发组	49		
术前		97.45 (8.46, 2130.35)	3.54 (0.49, 21.15)
术后1周		22.35 (3.21, 56.75)	0.72 (0.24, 2.13)
术后4周		26.78 (6.32, 64.48)	0.84 (0.36, 2.98)
术后8周		26.54 (5.98, 67.55)	0.87 (0.45, 2.89)
H值		12.776	10.835
P值		< 0.001	< 0.001
复发组	27		
术前		183.47 (12.45, 2513.76)	5.82 (0.94, 24.37)
术后1周		25.34 (4.18, 63.85)	0.69 (0.27, 2.64)
术后4周		32.18 (7.47, 78.59)	0.71 (0.49, 3.19)
术后8周		90.57 (9.38, 215.46)	1.93 (0.79, 9.48)
H值		8.377	10.150
P值		< 0.001	< 0.001

注：未复发组术前和术后1周相比，AFP $z = -6.863$, $P < 0.001$, TFF1 $z = -5.524$, $P < 0.001$ ，术前与术后4周相比，AFP $z = -6.180$, $P < 0.001$, TFF1 $z = -4.532$, $P < 0.001$ ，术前与术后8周相比，AFP $z = -6.245$, $P < 0.001$, TFF1 $z = -4.235$, $P < 0.001$ ，术后1周与术后4周相比，AFP $z = 1.351$, $P = 0.255$, TFF1 $z = 0.935$, $P = 0.327$ ，术后1周与术后8周相比，AFP $z = 1.175$, $P = 0.239$, TFF1 $z = 1.076$, $P = 0.283$ ，术后4周与术后8周相比，AFP $z = -0.135$, $P = 0.890$, TFF1 $z = 0.353$, $P = 0.764$ ；

复发组术前和术后1周相比，AFP $z = -7.175$, $P < 0.001$, TFF1 $z = -4.771$, $P < 0.001$ ，术前与术后4周相比，AFP $z = -6.442$, $P < 0.001$, TFF1 $z = -4.338$, $P < 0.001$ ，术前与术后8周相比，AFP $z = -2.179$, $P = 0.023$, TFF1 $z = -3.017$, $P = 0.001$ ，术后1周与术后4周相比，AFP $z = 0.585$, $P = 0.632$, TFF1 $z = 0.724$, $P = 0.430$ ，术后1周与术后8周相比，AFP $z = 2.447$, $P = 0.011$, TFF1 $z = 2.849$, $P = 0.003$ ，术后4周与术后8周相比，AFP $z = 2.251$, $P = 0.019$, TFF1 $z = 2.633$, $P = 0.009$ ；

未复发组与复发组术前相比，AFP $z = 1.910$, $P = 0.038$, TFF1 $z = 2.040$, $P = 0.025$ ，术后1周相比，AFP $z = 0.342$, $P = 0.733$, TFF1 $z = -0.813$, $P = 0.417$ ，术后4周相比，AFP $z = -0.774$, $P = 0.465$, TFF1 $z = -0.669$, $P = 0.574$ ，术后8周相比，AFP $z = 2.116$, $P = 0.024$, TFF1 $z = 2.820$, $P = 0.005$ 。



无复发例数	17	17	17	16	15	14
AFP 阴性组	29	29	29	25	22	18
AFP 低水平组	30	30	28	26	22	17
AFP 高水平组						

图3 不同 AFP 水平原发性肝癌患者的无复发生存曲线

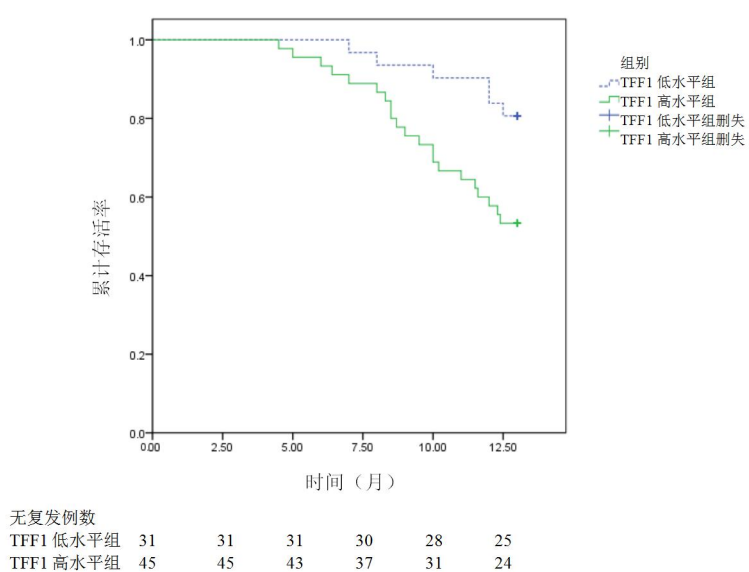


图4 不同 TFF1 水平原发性肝癌患者的无复发生存曲线

表6 原发性肝癌患者无复发生存的 Cox 单因素分析

因素	例数	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
年龄							
≥ 50岁	41	0.314	0.386	0.665	0.944	0.296~1.914	0.491
< 50岁	35	Ref					
性别							
男	42	-0.153	0.399	0.148	0.852	0.435~1.819	0.724
女	34	Ref					
肿瘤直径							
≥ 5 cm	37	1.550	0.465	11.129	4.711	1.895~11.711	< 0.001
< 5 cm	39	Ref					
肿瘤数目							
1个	31	Ref					
≥ 2个	45	1.360	0.441	9.522	3.859	1.335~9.238	0.002
血管侵犯							
有	18	1.792	0.543	10.899	6.003	2.071~17.395	< 0.001
无	58	Ref					
AFP							
≥ 400 μg/L	30	1.324	0.565	5.498	3.458	1.243~8.366	0.019
20~400 μg/L	29	1.137	0.563	4.082	3.118	1.035~7.398	0.043
< 20 μg/L	17	Ref					
TFF1							
≥ 1.75 μg/L	45	1.324	0.497	7.112	3.759	1.420~9.947	0.008
< 1.75 μg/L	31	Ref					

注：Ref 为参考项。

表 7 原发性肝癌患者无复发生存的 Cox 多因素分析

因素	<i>B</i>	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
肿瘤直径						
≥ 5 cm	1.622	0.788	4.236	4.062	1.080~9.415	0.020
< 5 cm	Ref					
肿瘤数目						
1个	Ref					
≥ 2个	1.302	0.593	4.828	3.677	1.551~8.745	0.028
血管侵犯						
有	-1.741	0.492	8.540	5.775	0.967~10.460	0.009
无	Ref					

注: Ref 为参考项。

3 讨论

原发性肝癌的发病率与病死率均较高,全世界每年有数十万患者病死^[9]。原发性肝癌早期不易被发现,确诊时大多处于中晚期,常伴有肝内外转移,影响治愈率和患者的生活质量^[10,11]。因此,在早期对原发性肝癌做出诊断对提高患者的治愈率和生存率十分重要。血清肿瘤标志物在肿瘤早期即可达到一定水平,对早期肿瘤的诊断具有重要价值,也越来越受到临床医生的重视。

AFP大多产生于胚胎干细胞,而肝癌患者的部分癌细胞可重新获得合成这种蛋白的能力,相关研究认为在非妊娠生殖胚胎恶性肿瘤后,若持续2个月血清AFP > 200 μg/L则可明确诊断为肝癌^[12,13]。AFP作为诊断肝癌最常用的血清学标志物,在原发性肝癌的诊断中仍存在一定不足:在瘤体较小的肝癌和早期肝癌中,阳性检出率较低;某些疾病如病毒性肝炎、肝硬化及卵巢畸胎瘤等也可表达一定水平的AFP,假阳性率较高^[14,15]。TFF1是三叶因子家族成员之一,是一种小分子多肽,主要来源于胃肠道黏液细胞^[16,17]。TFF1是一种重要的癌基因,可高表达于结肠癌、乳腺癌和卵巢癌等多种肿瘤组织和患者血清中,参与肿瘤细胞增殖和凋亡的调控,且在癌细胞转移和肿瘤血管形成中也发挥重要作用^[18-20]。田文玲等^[21]研究表明TFF1在正常胃黏膜中主要以TFF1复合物形式存在,对胃黏膜有良好的保护和修复作用,TFF1的高表达与抑制胃癌的发生和分化有关。与胃癌不同,TFF1在其他多种肿瘤组织和患者血清中高表达,有研究表明TFF1在乳腺癌患者血清中高表达,其参与了乳腺癌的发生发展,在乳腺癌的诊断及预后评估方面具有一定价值^[22]。Komprat等^[23]研究表明,TFF1在原发性和转移性胆囊癌中的表达显著高于正常胆囊黏膜和有炎症的胆囊黏膜。

Emami等^[24]发现TFF1在结肠癌组织中高表达。尚允利等^[25]研究表明TFF1在肝癌组织中阳性率显著高于癌旁组织,其与肝癌的发生发展有关。

本研究表明,原发性肝癌组患者血清AFP和TFF1水平显著高于其他组,提示两种标志物可能对原发性肝癌具有诊断价值。通过ROC曲线来判断各指标的诊断效能,根据曲线下面积判断某种检测方法可行性,最小可接受面积为0.7^[26]。本研究中TFF1、AFP单独诊断原发性肝癌的ROC曲线下面积分别为0.754、0.747,提示TFF1和AFP可作为诊断原发性肝癌的有效标志物,但两指标单独检测时,敏感性、特异性及准确度均较低,易造成漏诊。联合检测多种血清肿瘤标志物有助于提高临床诊断水平^[27]。本研究中TFF1和AFP联合检测(并联)的曲线下面积为0.862,联合检测(串联)的曲线下面积为0.889,联合检测(并联)时敏感度可提高至83.89%,串联试验可显著提高特异度至97.19%,应用串并联试验联合分析可补充单项检测的不足,提高诊断准确性。在本研究中原发性肝癌患者血清TFF1与AFP水平无相关性,提示血清TFF1 > 1.75 μg/L时,可提供独立于AFP的诊断信息。此外,26例AFP阴性的肝癌患者中,有12例TFF1检测阳性,提示血清TFF1检测可能对AFP假阴性肝癌的诊断有一定价值。研究表明,异常凝血酶原(protein induced by vitamin K absence or antagonist-II, PIVKA-II)对诊断原发性肝癌的敏感性较高,虽然TFF1诊断原发性肝癌的敏感性低于PIVKA-II,但有着更高的特异性。大多数研究中PIVKA-II诊断原发性肝癌的特异性为75%~85%,PIVKA-II联合AFP的特异性为87%~95%^[28-30],本研究中,AFP、TFF1联合检测的特异性也高于PIVKA-II联合AFP方案。因此,当临床医生选择AFP、TFF1诊断原发性肝癌时可使用

串联试验,具有较高的特异性和阳性预测值。

肝癌切除术后的高复发率严重影响疗效,特别是肝癌切除术后早期复发病例,预后显著差于晚期复发病例,接受再次手术或其他治疗效果均欠佳^[31,32]。对肝癌术后复发的预测一直是研究热点,但目前尚缺少有效手段对术后复发进行预测。虽然已发现多种引起术后复发的危险因素,但因异质性的存在,其对术后复发的预测也面临巨大的挑战^[33,34]。本研究中复发组与未复发组患者术后血清AFP和TFF1水平均显著低于术前,复发组和未复发组患者术后第1周和第4周血清AFP和TFF1水平无差异,但术后8周复发组患者AFP和TFF1水平均高于术后第1周和第4周,且术后8周复发组AFP和TFF1水平也均高于未复发组,表明原发性肝癌患者无论术前血清AFP和TFF1水平高低,术后早期这两种标志物水平一般均有显著下降,但对于复发患者,AFP和TFF1可能会在术后8周再次显著增高。提示血清AFP和TFF1对原发性肝癌有较好的预后评估作用,是较为理想的肝癌术后随访血清标志物。Kaplan-Meier生存分析提示术前AFP和TFF1水平较高的患者在短期随访中更可能出现复发,术前血清AFP和TFF1水平对原发性肝癌的早期复发具有重要的预测价值。Cox分析提示术前AFP、TFF1水平可能与无复发生存相关,但其并不是患者无复发生存的独立影响因素,肿瘤直径 ≥ 5 cm、肿瘤数目 ≥ 2 个以及有血管侵犯是术后无复发生存的独立影响因素。

综上,血清AFP、TFF1两种血清肿瘤标志物在原发性肝癌诊断中有一定的应用价值。串联试验提高了诊断的特异性,血清TFF1检测可能对AFP假阴性肝癌的诊断有一定意义。此外,对患者术后血清AFP和TFF1水平进行动态检测将有助于及早发现预后不良情况,提高生存率,术前血清AFP和TFF1水平对患者的预后有一定预测价值。本研究尚存在一定不足:样本量小、研究时限过短、取样和地域等原因对结果可能有所影响;对照组选取时进行了年龄和性别的匹配,因而研究结果仅适用于相关年龄段和性别的人群,不能代表总体原发性肝癌患者的情况,尚需进行更多的试验对本研究结果进行验证。

参考文献

- [1] RUAN D Y, LIN Z X, WANG T T, et al. Nomogram for preoperative estimation of long-term survival of patients who underwent curative resection with hepatocellular carcinoma beyond Barcelona clinic liver cancer stage A1[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 61378-61389.
- [2] 程书蕙, 陈波, 李晔雄. 原发性肝癌术后辅助治疗的研究进展[J]. 中

- 华放射肿瘤学杂志, 2019, 28(3): 233-237.
- [3] 曹学冬, 孙明瑜, 张海阳, 等. 原发性肝癌的分子发病机制研究进展[J]. *肝胆外科杂志*, 2019, 27(2): 153-156.
- [4] 安云飞, 蔡蓓, 苏真珍, 等. 血清AFP、AFP-L3和PIVKA-II在诊断肝癌中的临床应用评估[J]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2019, 7(2): 75-79.
- [5] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J/CD]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2017, 3(4): 14-30.
- [6] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2019, 13(6): 441-466.
- [7] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(12): 2670-2686.
- [8] 中华医学会肝病学分会. 肝硬化诊治指南[J]. *现代医药卫生*, 2020, 36(2): 320, 后插1-后插18.
- [9] 李友炳, 江家骥. 原发性肝癌系统治疗新进展[J]. *肝脏*, 2021, 26(4): 349-352.
- [10] 陈世发, 赵礼金. 肝癌发生发展机制的研究进展及其治疗现状[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(7): 910-923.
- [11] ZHANG Q, LOU Y, BAI X L, et al. Immunometabolism: a novel perspective of liver cancer microenvironment and its influence on tumor progression[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(31): 3500-3512.
- [12] XU R, WANG J, HUANG X, et al. Clinical value of spectral CT imaging combined with AFP in identifying liver cancer and hepatic focal nodular hyperplasia[J]. *J BUON*, 2019, 24(4): 1429-1434.
- [13] TZARTZEVA K, SINGAL A G. Testing for AFP in combination with ultrasound improves early liver cancer detection[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 12(10): 947-949.
- [14] FUJIWARA N, FRIEDMAN S L, GOOSSENS N, et al. Risk factors and prevention of hepatocellular carcinoma in the era of precision medicine[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(3): 526-549.
- [15] WANG K, BAI Y, CHEN S, et al. Genetic correction of serum AFP level improves risk prediction of primary hepatocellular carcinoma in the Dongfeng-Tongji cohort study[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(6): 2691-2698.
- [16] ISHIBASHI Y, OHTSU H, IKEMURA M, et al. Serum TFF1 and TFF3 but not TFF2 are higher in women with breast cancer than in women without breast cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4846.
- [17] VOCKA M, LANGER D, PETRYL J, et al. Trefoil factor family (TFF) proteins as potential serum biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Neoplasma*, 2015, 62(3): 470-477.
- [18] ARUMUGAM T, BRANDT W, RAMACHANDRAN V, et al. Trefoil Factor 1 Stimulates Both Pancreatic Cancer and Stellate Cells and Increases Metastasis[J]. *Pancreas*, 2011, 40(6): 815-822.
- [19] CHAIYARIT P, JARESITTHIKUNCHAI J, PHAONAKROP N, et al. Proteolytic effects of gingipains on trefoil factor family peptides[J]. *Clin Oral Investig*, 2018, 22(2): 1009-1018.
- [20] 王慧慧, 金仁顺. 三叶因子家族1和细胞周期蛋白D1在胃癌组织中的表达及意义[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(3): 660-662.
- [21] 田文玲, 王宏. TFF1保护胃黏膜的作用机制及其与胃癌关系的研究[J]. *中国现代普通外科进展*, 2016, 19(9): 695-697.
- [22] 张志锋, 孙业富, 沈预程. 血清TFF1检测在乳腺癌诊断及预后评估中的价值[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(13): 1627-1630.
- [23] KORNPRAT P, REHAK P, LEMMERER M, et al. Analysis of trefoil factor family protein 1 (TFF1, pS2) expression in chronic cholecystitis and gallbladder carcinoma[J]. *Virchows Arch*, 2005, 446(5): 505-510.

- [24] EMAMI S, RODRIGUES S, RODRIGUE C M, et al. Trefoil factor family (TFF) peptides and cancer progression[J]. Peptides, 2004, 25(5): 885-898.
- [25] 尚允利, 钱叶本. TFF1在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. 肝胆外科杂志, 2018, 26(6): 453-456.
- [26] 倪俊, 顾海峰, 张杏梅, 等. 乳腺癌常用诊断方法的ROC曲线分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(13): 1025-1028.
- [27] 刘凌云, 何沙, 卢永刚. 联合检测血清AFU、AFP、 β 2-MG、CA199及CEA对原发性肝癌诊断的临床意义[J]. 海南医学, 2013, 24(13): 1948-1950.
- [28] 文小艳, 欧明林, 陈洁晶, 等. 血清PIVKA-II与AFP联合检测在原发性肝癌临床诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(13): 1594-1597.
- [29] 秦燕, 肖毅, 王曦, 等. AFP、PIVKA-II联合AFP-L3诊断肝硬化患者合并肝癌的价值研究[J]. 成都医学院学报, 2016, 11(5): 585-588, 591.
- [30] 吕春燕, 裴豪, 戴亚萍, 等. 血清AFP、AFP-L3及PIVKA-II联合检测在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(7): 1159-1162.
- [31] WANG D, ZHENG X, FU B, et al. Hepatectomy promotes recurrence of liver cancer by enhancing IL-11-STAT3 signaling[J]. EBioMedicine, 2019, 46: 119-132.
- [32] NIO K, YAMASHITA T, KANEKO S. The evolving concept of liver cancer stem cells[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 4.
- [33] 程张军, 周家华, 沈锋. 影响肝癌肝切除术后远期预后的手术相关因素[J]. 腹部外科, 2018, 31(2): 73-76, 81.
- [34] 吕少诚, 潘冰, 李立新, 等. 原发性肝癌肝移植患者预后评价及相关影响因素分析[J]. 中华肝胆外科杂志, 2019, 25(7): 493-496.

收稿日期: 2020-05-18

孙恒亮, 濮忠建. 血清甲胎蛋白和三叶因子1水平对原发性肝癌的诊断及预后价值[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2021, 13(4): 27-37.

· 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, 或参与资料的分析和解释者; (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致谢部分。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, 将应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。