

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.11.031

甲胎蛋白异质体在肝细胞癌中的诊断价值分析*

张佳斌 纪旭 任辉 孟令展 张晓峰 王洪波 刘振文[△]

(解放军 302 医院肝胆外科二中心 北京 100039)

摘要 目的:探讨甲胎蛋白异质体(AFP-L3)的检测对肝细胞肝癌(HCC)的诊断价值。**方法:**选取 2009 年 2 月至 2012 年 11 月在本医院治疗的 90 例 HCC 患者为研究组,另选择同期接受治疗的慢性乙型肝炎患者 30 例和肝炎肝硬化患者 30 例作为对照组。观察三组患者的 AFP、AFP-L3 阳性率。**结果:**肝癌患者 AFP 和 AFP-L3 阳性率显著高于乙肝和肝硬化患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。乙肝和肝硬化两组患者的 AFP 及 AFP-L3 阳性率无显著差异($P>0.05$)。AFP>400 ng/mL;肝癌组 AFP-L3 阳性率显著高于乙肝组和肝硬化组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**AFP-L3 在 HCC 中的诊断价值较甲胎蛋白大,更适合在临床诊断中应用。

关键词:甲胎蛋白异质体;肝细胞癌;恶性肿瘤;诊断价值

中图分类号:R735.7;R730.45 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)11-2112-03

Study on Diagnostic Value of AFP-L3 in Hepatocellular Carcinoma*

ZHANG Jia-bin, JI Xu, REN Hui, MENG Ling-zhan, ZHANG Xiao-feng, WANG Hong-bo, LIU Zhen-wen[△]

(Division II of Department of Hepatobiliary Surgery, 302 Hospital of PLA, Beijing, 100039, China)

ABSTRACT Objective: To explore the diagnostic value of AFP-L3 in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** 90 HCC patients hospitalized in our hospital from February 2009 to November 2012 were enrolled as research group. 30 cases with chronic hepatitis B and 30 cases with hepatitis liver cirrhosis from the same period were chosen as control group. The positive rates of AFP and AFP-L3 in two groups were observed. **Results:** The positive rates of AFP and AFP-L3 was 81.1% in research group and 43.3% in control group, and the differences were significant ($P<0.05$). The positive rate of was 76.7% in research group and 16.7% in control group, and the differences were significant ($\chi^2=51.988$, $P<0.05$). Based on the tumor size, the research group was divided into three subgroups (≤ 5 , $5<$ tumor diameter < 10 , ≥ 10). The differences of positive rate of AFP-L3 among three subgroups were not significant ($P>0.05$). **Conclusion:** Compared detection of AFP and AFP-L3 could be better for the diagnosis and prognosis of HCC.

Key words: AFP-L3; Hepatocellular carcinoma; Malignant tumor; Diagnostic value

Chinese Library Classification (CLC): R735.7; R730.45 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)11-2112-03

前言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床常见的恶性肿瘤之一,死亡率居全球恶性肿瘤的第三位,主要是由肝脏慢性疾病演化的肝硬化而发展为肿瘤^[1-3]。近年来 HCC 的发病率及死亡率呈逐年升高的趋势,严重威胁着人类健康^[4]。因此,开发一种有效的靶向治疗方法是当前肿瘤治疗的主要任务。随着现代分子生物学及基因组学的迅猛发展,基因治疗逐渐成为研究的热点,有研究表明,肝癌的发生与发展与抑癌基因的失活密切相关^[5-7]。

甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein, AFP)是一种含有 2 条复合糖链的胚源性糖蛋白,因其灵敏度和特异性均较低,在肝脏恶性肿瘤的诊断中受到限制^[8-10]。甲胎蛋白异质体(AFP-L3)与 AFP 在亚结构上存在些差异,有研究表明其灵敏度和特异性增强使得其在肝脏恶性肿瘤中的诊断价值提高^[11]。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2009 年 2 月至 2012 年 11 月在本医院接受治疗的肝癌患者 90 例,其中男 64 例,26 例,年龄 33-72 岁,平均(47.1 ± 11.9)岁。患者均符合中华医学会传染病与寄生虫病学会与肝病学会联合修订的肝癌诊断标准;经 CT、肝穿刺活检及术后病理学检查确诊为肝细胞肝癌;本研究均取得患者家属的知情同意。另选择同期在我院接受治疗的慢性乙肝患者 30 例,其中男 21 例,女 9 例,年龄 35-69 岁,平均(45.4 ± 13.8)岁;以及肝炎肝硬化患者 30 例,其中男 19 例,女 11 例,年龄 32-70 岁,平均(48.1 ± 10.2)岁。三组患者的年龄、性别等一般资料无显著差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 主要试剂及仪器

甲胎蛋白异质体(AFP-L3)亲和吸附离心管(北京热景生物

* 基金项目:302 医院院长创新课题(YNKT2013020)

作者简介:张佳斌(1980-),主治医师,主要研究方向:肝癌肝移植

[△] 通讯作者:刘振文,男,主任医师,硕士生导师,研究方向:肝脏移植、肝癌外科治疗

(收稿日期:2014-11-09 接受日期:2014-11-29)

技术公司);Epponderf 离心机(Bender 公司);ELISA 试剂盒(上海逸哈生物科技专业公司);罗氏 Elecsys 2010 全自动电化学发光免疫分析仪(Invitro-gen 公司)。

1.3 方法

1.3.1 血清收集 晨取空腹静脉血 5 ml,1500 r/min 离心 10 min,吸取血清,Bradford 法测定血清蛋白浓度,每 EP 管 500 μ l 分装,保存于 -80℃ 备用,避免反复冻融。

1.3.2 AFP-L3 分离 取待测患者血清依据试剂盒说明书操作,吸取血清 200 μ L,加入 300 μ L 清洗液,摇匀。取稀释后的血清 300 μ L 加入离心管,室温静置 10 min,加入清洗液 300 μ L,4000 rpm 离心 2 min,弃上清。加入 400 μ L 洗脱液,4000 rpm 离心 2 min,收集洗脱液体备用。

1.3.3 AFP 化学发光检测 采用拜耳 ACS:180SE 全自动化学发光免疫分析仪,按照罗氏甲胎蛋白检测试剂盒说明书进行操作。取 10 μ L 标本,生物素化的特异性 AFP 抗体和钉复合物标记特异性 AFP 抗体孵育,形成抗原抗体夹心复合物。添加包被链霉亲和素的磁珠微粒再次孵育,复合体与磁珠结合。通过电磁作用,将磁珠吸附在电极表面,加以电压,使复合体化学发光。仪器自动通过 2 点校正的定标曲线计算检测结果。

1.3.4 ELISA 法检测 AFP-L3 酶联免疫吸附试验法对 AFP-L3 进行检测,计算 AFP-L3 与 AFP 比值,将 AFP>25 ng/ml、AFP-L3/AFP>10% 定义为阳性。

1.4 统计学方法

采用 SPSS15.0 统计软件统计处理及分析,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清中 AFP 及 AFP-L3 的阳性率比较

表 2 各组不同 AFP 值范围内的 AFP-L3 阳性率比较

Table 2 Comparison of positive rates of AFP-L3 within different AFP in three groups

Group		HCC (n=90)	Hepatic B (n=30)	Hepatic cirrhosis (n=30)	χ^2	P
AFP<25 (ng/ml)	AFP-L3(+)	76.2%	71.4%	70.3%	2.219	0.136
	AFP-L3(-)	23.8%	28.6%	29.7%	39.231	0.000
25 $\leq$ AFP $\leq$ 400 (ng/ml)	AFP-L3(+)	80.8%	80.5%	79.8%	2.667	0.102
	AFP-L3(-)	19.2%	19.5%	20.2%	13.326	0.000
AFP>400 (ng/ml)	AFP-L3(+)	46.7%	3.3%	5.6%	32.611	0.000
	AFP-L3(-)	53.3%	96.7%	94.4%	1.698	0.192

2.3 AFP-L3 阳性与肿瘤直径大小的关系

按肿瘤直径大小,将研究组划分为直径 ≤ 5 、 $5 < \text{直径} < 10$ 、直径 ≥ 10 三亚组,其 AFP-L3 阳性率分别为 64.7%、78.9%、

肝癌患者的 AFP 阳性率为 81.1%,乙肝患者的 AFP 阳性率为 43.3%,肝硬化患者的 AFP 阳性率为 35.6%。肝癌患者 AFP 阳性率显著高于乙肝和肝硬化患者,差异具有统计学意义 ($\chi^2=22.896, P < 0.05$)。肝癌患者的 AFP-L3 阳性率为 76.7%,乙肝患者的 AFP-L3 阳性率为 16.7%,肝硬化患者的阳性率为 12.3%,肝癌患者的 AFP-L3 阳性率显著高于乙肝和肝硬化患者,差异具有统计学意义 ($\chi^2=51.988, P < 0.05$)。乙肝和肝硬化两组患者的 AFP 及 AFP-L3 阳性率无显著差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组患者血清 AFP 及 AFP-L3 阳性率对比

Table 1 Comparison of positive rates of AFP and AFP-L3 in different groups

Group	Cases	AFP positive rate	AFP-L3 positive rate
HCC	90	81.1%	76.7%
Hepatic B	30	43.3%	16.7%
Hepatic cirrhosis	30	35.6%	12.3%
χ^2		22.896	51.988
P		0.000	0.000

2.2 AFP-L3 阳性与 AFP 的关系

25 ng/mL $\leq$ AFP $\leq$ 400 ng/mL: 肝癌组 AFP-L3 阳性率为 76.2%,乙肝组为 71.4%,肝硬化组为 70.3%,三组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。AFP>400 ng/mL: 肝癌组 AFP-L3 阳性率为 80.8%,乙肝组为 80.5%,肝硬化组为 79.8%,三组 AFP-L3 阳性率无显著差异 ($P > 0.05$)。AFP>400 ng/mL: 肝癌组 AFP-L3 阳性率为 46.7%,乙肝组为 3.3%,肝硬化组为 5.6%,肝癌组 AFP-L3 阳性率显著高于乙肝组和肝硬化组,差异具有统计学意义 ($\chi^2=51.988, P < 0.05$)。见表 2。

75.0%,三亚组间 AFP-L3 阳性率差异不显著, $P > 0.05$,无统计学意义,见表 3。

表 3 AFP-L3 阳性与肿瘤直径大小的关系

Table 3 Correlation between AFP-L3 positive and tumor size

Tumor size(cm)	Cases	Ratio	AFP-L3 positive cases	AFP-L3 positive rate
Diameter ≤ 5	17	18.9%	11	64.7%
5 < Diameter < 10	57	63.3%	46	78.9%
Diameter ≥ 10	16	17.8%	12	75.0%

3 讨论

目前,临床普遍以持续 2 个月 AFP>400 ng/mL 作为肝细胞癌的诊断标准^[12]。虽然 AFP 具有较高的灵敏度和特异性,但在肝炎、肝硬化及肝损伤等情况也会检出 AFP 阳性,而这些假阳性和假阴性对于肝癌的诊断易造成临床误诊或漏诊^[13-15]。因此,我们需要开发一种灵敏度更高、特异性更强的标志物以提高诊断的准确率。

甲胎蛋白(AFP)是一种单链糖蛋白,产生于中胚叶起源的细胞。AFP 存在多种异质体,根据其与小扁豆凝集素(LCA)亲合程度的不同,将 AFP 分为 AFP-L1 型、AFP-L2 型和 AFP-L3 型,其中 AFP-L1 是 AFP 的主要组成部分,常见于各种良性肝病,AFP-L2 主要见于妊娠及部分卵黄囊肿,而 AFP-L3 主要存在于肝细胞癌患者的血清中。AFP-L3 是新的高灵敏度和特异性好的肝癌标志物,它是在 AFP 的结构基础上发生了异常糖基化,其正常值是 10%~15%,若 >15%即可诊断为肝癌^[16-19]。据文献报道,AFP-L3 对于诊断肝癌的敏感性和特异性分别为 60%和 90.3%^[20]。

本文研究结果显示,肝癌患者 AFP 阳性率及 AFP-L3 阳性率均显著高于乙肝和肝硬化患者($\chi^2=22.896, P<0.05$)。结果提示,肝细胞癌患者血清中 AFP、AFP-L3 均处于较高水平。AFP>400 ng/mL 时,肝癌患者血清中 AFP-L3 阳性率显著高于乙肝患者和肝硬化患者($\chi^2=51.988, P<0.05$)。结果提示,AFP-L3 也可作为诊断肝细胞肝癌的一项指标。

综上所述,甲胎蛋白异质体对肝细胞肝癌具有较高的诊断价值,更适合在临床诊断中推广应用。此外,为了避免 AFP-L3 诊断的假阳性和假阴性,我们在临床实践中应结合患者自身情况,辅助 CT、超声等影像学技术进行综合分析。

参考文献(References)

- [1] Wu CS, Lee TY, Chou RH, et al. Development of a highly sensitive glycan microarray for quantifying AFP-L3 for early prediction of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99959
- [2] Crissien AM, Frenette C. Current management of hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterol Hepatol (N Y), 2014, 10(3): 153-161
- [3] Sun Y, Qin L, Liu D, et al. Fast detection of alpha-fetoprotein-L3 using lens culinaris agglutinin immobilized gold nanoparticles[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2014, 14(6): 4078-4081
- [4] Guo X, Xiong L, Zou L, et al. Upregulation of bone morphogenetic protein 4 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Pathol Oncol Res, 2012, 18(3): 635-640
- [5] 邱晓辉, 郑绯, 徐娟, 等. 亲和离心法检测甲胎蛋白异质体在肝癌诊断中的临床应用[J]. 武警医学, 2012, 23(11): 947-949
- [6] Di Xiao-hui, Zheng Fei, Xu Juan, et al. The detection of alpha-fetoprotein isoforms using with centrifugal column method in diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Medical Journal of the Chinese People's Armed Police Forces, 2012, 23(11): 947-949
- [6] Wang NY, Wang C, Li W, et al. Prognostic value of serum AFP, AFP-L3, and GP73 in monitoring short-term treatment response and recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(4): 1539-1544
- [7] 孔祥豆, 韩绍磊, 郑昭敏, 等. 高尔基体蛋白 73 联合甲胎蛋白异质体在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 山东大学学报(医学版), 2011, 49(4): 110-114
- [8] Kong Xiang-gen, Han Shao-lei, Zheng Shao-min, et al. Values of Golgi protein 73 and Alpha-fetoprotein-L3 in the diagnosis of primary hepatic carcinoma [J]. Journal of Shandong University (Health Science), 2011, 49(4): 110-114
- [8] 程田, 刘献华, 张清萍, 等. 甲胎蛋白异质体在肝细胞癌早期诊断中的价值[J]. 实用医院临床杂志, 2014, 11(2): 94-96
- [9] Cheng Tian, Liu Xian-hua, Zhang Qing-ping, et al. Clinical value of α -Fetoprotein variants in early diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2014, 11(2): 94-96
- [9] Cheng J, Wang W, Zhang Y, et al. Prognostic role of pre-treatment serum AFP-L3% in hepatocellular carcinoma: systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87011
- [10] 熊海燕, 赵桦. 甲胎蛋白异质体在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(6): 399-401
- [10] Xiong Hai-yan, Zhao Ping. Value of Alpha-fetoprotein-L3 in the Diagnosis of Primary Hepatic Carcinoma [J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2013, 20(6): 399-401
- [11] Kumada T, Toyoda H, Tada T, et al. High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol, 2014, 49(3): 555-563
- [12] 戴亚新, 张时良, 裴豪, 等. 肝癌和肝病患者的血清甲胎蛋白异质体的检测及临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(2): 296-298
- [12] Dai Ya-xin, Zhang Shi-liang, Pei Hao, et al. The Significance of Measurement of AFP-L3 Variant in Patients with hepatocellular carcinoma and liver diseases [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2013, 17(2): 296-298
- [13] Yi X, Yu S, Bao Y. Alpha-fetoprotein-L3 in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. Clin Chim Acta, 2013, 425: 212-220
- [14] 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
- [15] Zhang XF, Yin ZF, Wang K, et al. Changes of serum alpha-fetoprotein and alpha-fetoprotein-L3 after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: prognostic significance [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2012, 11(6): 618-623
- [16] Hiraoka A, Nakahara H, Kawasaki H, et al. Huge pancreatic acinar cell carcinoma with high levels of AFP and fucosylated AFP (AFP-L3)[J]. Intern Med, 2012, 51(11): 1341-1349
- [17] Fox R, Berhane S, Teng M, et al. Biomarker-based prognosis in hepatocellular carcinoma: validation and extension of the BALAD model[J]. Br J Cancer, 2014, 15, 110(8): 2090-2098
- [18] Toyoda H, Kumada T, Tada T, et al. Changes in highly sensitive alpha-fetoprotein for the prediction of the outcome in patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy [J]. Cancer Med, 2014, 3(3): 643-651
- [19] Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, et al. Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively [J]. Hepatol Res, 2011, 41(11): 1036-1045
- [20] Durazo FA, Blatt LM, Corey WG, et al. Des-gamma-carboxyprothrombin, alpha-fetoprotein and AFP-L3 in patients with chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23(10): 1541-1548