

血清 AFP、AFP-L3 联合检测在原发性肝癌中的诊断价值

徐恩君¹ 陈秋莉¹ 李 涛¹ 郝 丽¹ 肖春红¹ 徐元宏¹ 周 敏² 徐胜前³

摘要 目的 探讨甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体(AFP-L3)以及 AFP-L3 比率在原发性肝癌(HCC)中的诊断价值。方法 选取患者共 354 例,原发性肝癌(HCC)110 例,良性肝病(BLD)244 例(其中肝炎 94 例,肝硬化 126 例,肝良性肿瘤 24 例),采用亲和吸附离心管分离 AFP-L3,用电化学发光法测定 AFP 和 AFP-L3 含量,计算 AFP-L3 比率。结果 110 例 HCC 患者中,有 32 例 AFP < 20 ng/ml, 30 例 AFP 20 ~ 200 ng/ml, 48 例 AFP > 200 ng/ml; 244 例 BLD 患者中,196 例 AFP < 20 ng/ml。HCC 组 AFP、AFP-L3 和 AFP-L3 比率明显高于 BLD 组($P < 0.01$)。AFP、AFP-L3 和 AFP-L3 比率 ROC 曲线下面积(AUC)分别是 0.809、0.819、0.800,而联合 3 种指标检测的 AUC 是 0.829($P < 0.01$)。AFP-L3 比率的

Cut-off 值在 5%、10% 和 15% 时,诊断的灵敏度分别是 59.1%、50.9% 和 40.9%,特异度分别是 86.1%、94.7% 和 98.4%。结论 AFP 和 AFP-L3 联合检测对 HCC 的诊断效能大于单独检测 AFP。AFP-L3 比率的最佳 Cut-off 值是 5%。

关键词 原发性肝癌;甲胎蛋白;甲胎蛋白异质体
中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)07-1066-05

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,发病率位居第五位,病死率位居第三位^[1]。甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)虽作为 HCC 的诊断以及疗效观察指标,但在部分良性肝病、消化系统和生殖系统的部分恶性肿瘤中也升高,部分肝癌患者始终保持 AFP 低浓度阳性,故其敏感性和特异性不够理想。研究^[2]表明根据不同肝细胞组织分泌的 AFP 糖链结构不同,AFP 分为 AFP-L1、AFP-L2、AFP-L3,其中 AFP-L1 主要由良性病变的肝细胞产生,AFP-L2 主要来自孕妇,而 AFP-L3 为肝癌细胞特异性产生,对 HCC 的诊断有很高

2016-04-14 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:30801088、81201488、81571572);卫生部应用研究项目“高通量 ELISA 检测系统化、标准化系列研究”(编号:28-1-50)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院¹ 检验科、²ICU、³风湿免疫科,合肥 230022

作者简介:徐恩君,男,硕士研究生;

李 涛,男,副教授,副主任技师,硕士生导师,责任作者,
E-mail: limedical1974@126.com

old) undergoing hip replacement operation were randomly divided into three groups, and there were 40 patients in each group: general anesthesia group (group A), intraspinal anesthesia group (B), intraspinal anesthesia and sedation with low-dose of Dexmedetomidine group (C). All patients received incision local anesthesia plus patient controlled intravenous analgesia (PCIA). The blood loss and transfusion volume and operating time were recorded. Patient comfort levels were investigated; the occurrence of stroke, postoperative delirium, respiratory and cardiovascular complications were also recorded. Simultaneously, pain was evaluated using VAS score after operation; early ambulation time, side effects during recovery time, days of hospitalization after operation, length of ICU stay, postoperative 30 day mortality were also recorded. **Results** There was no difference in the blood loss, transfusion and operating time in the three groups. Compared with the group B, patient comfort levels were better in the group C and the group A ($P < 0.05$), and it has no statistical significance between group C and group A. Delirium occurrence, VAS score and early ambulation time in group A was significantly higher than patients in group C and group B ($P < 0.05$). There were no differences in the occurrence of stroke, postoperative respiratory complications, cardiovascular complications, side effects during recovery time, days of hospitalization after operation and mortality in 30 days among the three groups. **Conclusion** The method of intraspinal anesthesia and sedation with low dose of Dexmedetomidine is better than general anesthesia or intraspinal anesthesia for elderly patients with hip replacement.

Key words anesthesia methods; elderly patients; hip replacement; postoperative outcome

的敏感度和特异度。美国食品药品监督管理局 (FDA) 2005 年批准 AFP-L3 检测用于肝癌预警,并把诊断肝癌的阳性阈值定为 10%,我国卫计委也于 2011 年推荐 AFP-L3 作为 HCC 诊断的特异性指标^[3]。该研究拟通过检测 HCC 患者中的 AFP 含量以及 AFP-L3 比率,探讨 AFP 和 AFP-L3 单独和联合检测在 HCC 诊断中的价值。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学第一附属医院 2014 年 11 月~2015 年 7 月住院患者共 354 例血清, HCC 110 例,其中男 92 例,女 18 例,年龄 19~89 (55.0 ± 12.7) 岁; 良性肝病 (benign liver disease, BLD) 244 例 (肝炎 94 例,肝硬化 126 例,肝良性肿瘤 24 例),其中男 176 例,女 68 例,年龄 17~90 (49.6 ± 14.1) 岁。疾病诊断符合 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的“病毒性肝炎防治方案”^[4]及中华人民共和国卫生部医政司组织并由全国肿瘤防治办公室与中国抗癌协会合编的“新编常见恶性肿瘤诊治规范”中的诊断标准^[5]。

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 (北京热景生物技术有限公司); 罗氏 Cobas E601 全自动电化学发光免疫分析仪 (瑞士罗氏诊断公司)。

1.3 测定方法 患者晨起抽取静脉血 3~4 ml, 3 500 r/min 离心 5 min, 取血清备用。AFP-L3 的分离采用亲和吸附离心管法,管中预装有亲和介质,该亲和介质能特异性结合 AFP-L3。取待测患者血清严格按照试剂盒说明书操作,吸取血清 400 μl 加入 600 μl 清洗液中,混匀。将亲和吸附离心管的上部离心管装入离心外管中,3 000 r/min 离心 20 s 去除保护液,吸取稀释后的血清 600 μl 加入到上部离心管中,室温静置 10 min; 加入清洗液 1.2 ml, 3 000 r/min 离心 20 s, 弃上清液。加入 600 μl 洗脱液, 3 000 r/min 离心 20 s, 收集离心柱外管中的液体, 获得含 AFP-L3 的样本,然后用电化学发光法检测总的 AFP 和 AFP-L3 的含量,计算 AFP-L3 占 AFP 总量的百分比。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。各组标本检测数据呈偏态分布,用中位数 (四分位数间距) [$M(P_{25} \sim P_{75})$] 表示,采用非参数检验,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验; 率的比较采用 χ^2 检验; Logistic 回归分析用于各种预测值

以及联合检测 ROC 曲线下面积 (AUC) 的计算。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC 组与 BLD 组 AFP 结果分布 HCC 组患者平均年龄显著高于 BLD 组,并且男性比例明显高于 BLD 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。110 例 HCC 患者中有 32 例 (29.1%) 患者 AFP < 20 ng/ml,而在 244 例 BLD 患者中有 11 例 (4.5%) 患者 AFP > 200 ng/ml。具体 HCC 组与 BLD 组 AFP 结果分布情况见表 1。

表 1 HCC 组与 BLD 组 AFP 结果分布

项目	HCC 组	BLD 组	t/χ^2 值	P 值
年龄 (岁 $\bar{x} \pm s$)	55.0 ± 12.7	49.6 ± 14.1	3.507	0.001
男性 [n(%)]	92 (83.6)	176 (72.1)	5.457	0.019
AFP < 20 ng/ml [n(%)]	32 (29.1)	196 (80.3)	-	-
AFP 20 ~ 200 ng/ml [n(%)]	30 (27.3)	37 (15.2)	-	-
AFP > 200 ng/ml [n(%)]	48 (43.6)	11 (4.5)	-	-

2.2 HCC 组与 BLD 组实验室检查指标的比较

HCC 组血清谷草转氨酶 (aspartate transaminase, AST) 表达水平明显高于 BLD 组,而白蛋白却显著低于 BLD 组 ($P < 0.01$)。谷丙转氨酶 (alanine transaminase, ALT)、血小板计数、总蛋白和凝血酶原时间国际化比率 (international normalized ratio of-prothrombin time, PT-INR) 在两组间差异无统计学意义。HCC 组患者血清 AFP、AFP-L3 和 AFP-L3 比率的表达水平明显高于 BLD 组 ($U = 5\ 118, 4\ 857, 5\ 370$ $P < 0.01$)。HCC 组与 BLD 组实验室检查指标的比较见表 2。

2.3 不同 AFP 表达水平组之间 AFP-L3 以及 AFP-L3 比率的比较 HCC 组 AFP 总体水平高于 BLD 组 ($P < 0.01$)。见图 1。在 AFP < 20 ng/ml 的患者中, HCC 组的 AFP-L3 和 AFP-L3 比率明显高于

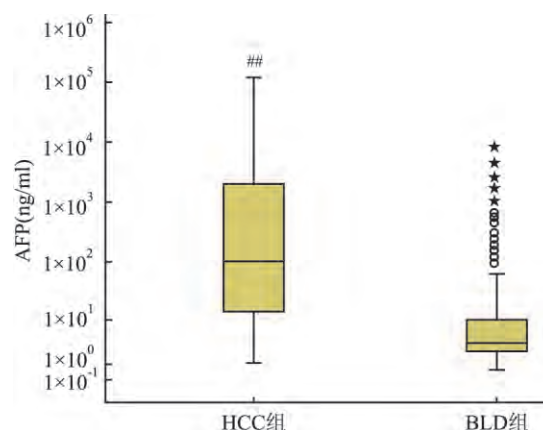


图 1 HCC 组和 BLD 组 AFP 总体水平的比较
与 BLD 组比较: ## $P < 0.01$

表2 HCC组与BLD组实验室检查指标的比较 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

项目	HCC组	BLD组	U值	P值
AST(IU/L)	45.0(30.1~80.5)	34(27.1~51.2)	3 578	0.001
ALT(IU/L)	31.2(21.0~52.8)	29.8(19.8~41.9)	24	0.587
白蛋白(g/dl)	3.9(3.5~4.3)	4.5(3.9~4.5)	2 351	0.001
总胆红素(mg/dl)	0.9(0.6~1.2)	0.8(0.7~1.1)	896	0.013
PT-INR	1.0(1.0~1.1)	1.0(1.0~1.1)	78	0.505
血小板($\times 10^3/\text{mm}^3$)	122(85.5~161.5)	120.0(83.0~162.0)	43	0.572
AFP(ng/ml)	103.45(13.84~2 236.50)	3.53(2.29~10.21)	5 118	<0.001
AFP-L3(ng/ml)	14.18(1.51~138.75)	0.00*(0.00*~0.00*)	4 857	<0.001
AFP-L3比率(%)	10.29(0.00*~24.94)	0.00*(0.00*~0.00*)	5 370	<0.001

* : AFP-L3 检测数值 < 0.605 , 低于检测下限; #: AFP-L3 检测数值 < 1 , AFP-L3 比率为阴性

BLD组($U=2\,414.2\,254$, $P<0.01$)。在 AFP 20~200 ng/ml 的患者中, HCC组 AFP-L3 的表达水平高于 BLD组($U=387.5$, $P=0.035$) , AFP-L3 比率的表达水平显著高于 BLD组($U=296$, $P=0.001$)。在 AFP>200 ng/ml 的患者中, HCC组 AFP-L3 的表达水平明显高于 BLD组($U=124$, $P=0.006$) , AFP-L3 比率也显著高于 BLD组($U=151$, $P=0.027$)。见图2、3。

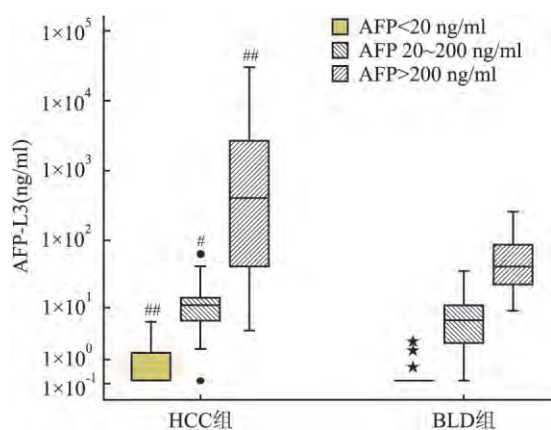


图2 不同AFP表达水平亚组之间AFP-L3的比较
与同一AFP浓度的BLD组比较: # $P<0.05$, ## $P<0.01$

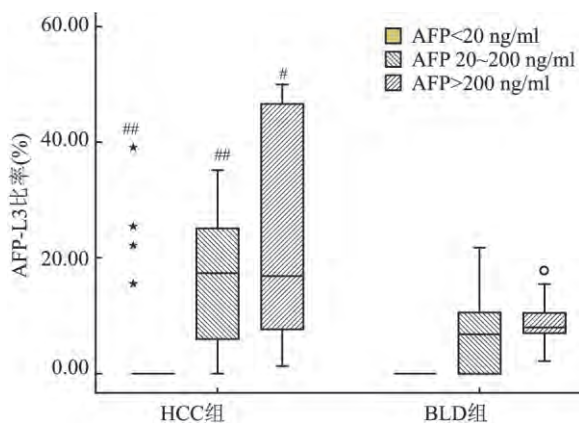


图3 不同AFP表达水平亚组之间AFP-L3比率的比较
与同一AFP浓度BLD组比较: # $P<0.05$, ## $P<0.01$

2.4 AFP和AFP-L3单独检测及联合检测对HCC诊断效能的比较 由ROC曲线分析得出, AFP、AFP-L3和AFP-L3比率ROC曲线下面积[AUC(95%CI)]分别是0.80(0.757~0.862)、0.819(0.766~0.872)、0.800(0.744~0.856), 而联合3种指标检测的ROC曲线面积[AUC(95%CI)]是0.829(0.776~0.881), P 值均小于0.01; 3种指标联合检测的诊断效能大于每种指标单独检测的诊断效能(图4)。每种指标单独检测以及联合检测在不同Cut-off值下对HCC诊断效能的比较见表3。AFP、AFP-L3和AFP-L3比率单独检测对HCC的总有效率分别是77.40%、77.68%和81.64%, 而3种指标联合检测对HCC诊断的总有效率是82.77%(表4)。

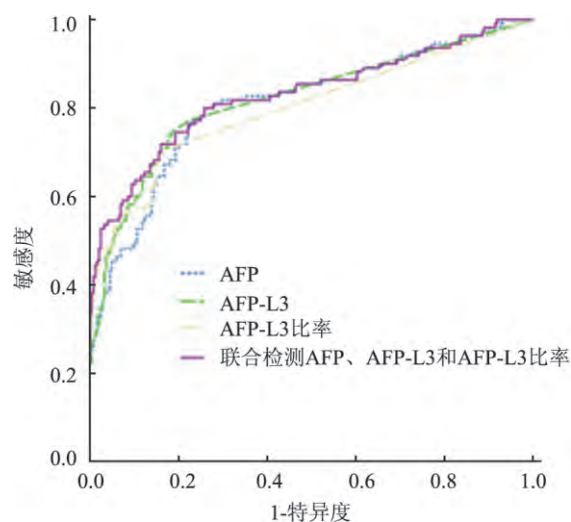


图4 AFP、AFP-L3和AFP-L3比率鉴别诊断
HCC的ROC曲线分析

3 讨论

HCC是一种恶性程度高、进展快、预后差的恶性肿瘤, AFP作为筛查和诊断HCC最常用的血清肿

表3 3种指标不同Cut-off值对HCC诊断效能的比较

项目	AUC(95% CI)	Cut-off 值	灵敏度(%)	特异度(%)
AFP	0.809(0.757~0.862)	20 ng/ml	70.9	80.1
		200 ng/ml	43.6	95.5
		400 ng/ml	36.2	97.1
AFP-L3	0.819(0.766~0.872)	10 ng/ml	57.9	91.4
		20 ng/ml	46.5	95.9
		50 ng/ml	31.5	98.1
AFP-L3 比率	0.800(0.744~0.856)	5%	59.1	86.1
		10%	50.9	94.7
		15%	40.9	98.4
AFP + AFP-L3 + AFP-L3 比率	0.829(0.776~0.881)	-	71.8	84.0

表4 血清AFP与AFP-L3联合检测对HCC的诊断价值(%)

项目	阳性预测值	阴性预测值	总有效率
AFP	89.89(34/38)	75.95(240/316)	77.40(274/354)
AFP-L3	87.80(36/41)	76.36(239/313)	77.68(275/354)
AFP-L3 比率	80.82(59/73)	81.85(230/281)	81.64(289/354)
AFP + AFP-L3 + AFP-L3 比率	84.51(60/71)	82.33(233/283)	82.77(293/354)

瘤标志物已被临床广泛认可,但AFP用于诊断早期HCC的假阴性率达到40%以上,进展期HCC的AFP假阴性率也达到15%~20%^[6],容易造成临床误诊或是漏诊。本研究110例HCC患者中有29.1%患者AFP<20 ng/ml,27.3%患者AFP在20~200 ng/ml;而244例BLD患者中有15.2%患者AFP在20~200 ng/ml,4.5%患者AFP>200 ng/ml,说明AFP对HCC的诊断缺乏有效的灵敏度和特异性,这与文献^[6-8]报道相符,所以本研究以AFP不同表达水平(AFP<20 ng/ml、AFP 20~200 ng/ml和AFP>200 ng/ml)分为3个亚组,分别单独和联合检测AFP和AFP-L3对HCC的诊断价值。

本研究HCC组患者血清总体AFP、AFP-L3和AFP-L3比率的表达水平明显高于BLD组,提示AFP和AFP-L3对肝癌的诊断有重要意义。AFP-L3和AFP-L3比率在不同亚组间的表达,HCC组均显著性高于BLD组,AFP低中度升高时,AFP-L3以及AFP-L3比率已明显升高,升高幅度远高于AFP;HCC患者的AFP-L3和AFP-L3比率多集中在高值区,而BLD患者多集中在低值区,二者重叠较少,有利于早期HCC和BLD的鉴别诊断。AFP-L3的浓度与AFP相关,受AFP的假阳性和假阴性影响较大,而AFP-L3比率与AFP无相关性,可以作为HCC诊断的一种独立预测指标。本研究显示AFP、AFP-L3和AFP-L3比率联合检测的ROC曲线面积(AUC)是0.829,总有效率是82.77%,显著高于各种指标单独检测的诊断效能,所以临床上应该建立有效的多指标、多参数联合检测模型以提高对HCC

诊断的准确性。

关于AFP和AFP-L3比率对HCC诊断的最佳Cut-off值一直存在争议,不同实验研究证实AFP诊断HCC的最佳Cut-off值为20 ng/ml^[9]、108.5 ng/ml^[10]或400 ng/ml^[11]。早期文献^[9]报道AFP-L3比率对HCC诊断的Cut-off值为10%,近年来更多学者认为AFP-L3比率的Cut-off值应该是在5%~10%^[12-13]。本研究显示AFP的Cut-off值在20、200和400 ng/ml时,诊断的灵敏度分别是70.9%、43.6%、36.2%,特异度分别是80.1%、95.5%、97.1%;AFP-L3比率的Cut-off值在5%、10%、15%时,诊断的灵敏度分别是59.1%、50.9%、40.9%,特异度分别是86.1%、94.7%、98.4%。为了提高诊断早期HCC的准确性,本研究数据提示AFP-L3比率对HCC的最佳Cut-off值是5%。

当然,本研究存在局限,部分标本的检测指标超出仪器的检测范围,在数据处理时会造成偏差。在AFP<20 ng/ml时,AFP-L3比率在HCC和BLD两组间没有差别,但是数据统计差异有统计学意义的,可能是因为这个亚组中,多数标本的AFP-L3浓度低于检测下限,AFP-L3比率直接视为阴性,所以临床上应该提高检测的灵敏度,尤其是提高对AFP<20 ng/ml的低水平升高患者诊断的准确性。本研究初诊HCC的病例较少,缺乏随机的相关短期随访研究,因此进一步收集大量临床数据,并研究AFP-L3对治疗后HCC患者存活率的影响,可以得出更有价值的结论。

综上所述,AFP-L3作为诊断HCC的一个新的

肿瘤标志物 联合 AFP 检测可以有效的弥补 AFP 单独检测的不足,再结合临床影像学 and 病理学诊断方法,可以提高对 HCC 诊断的准确性。

参考文献

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin* 2013, 63(1): 11–30.
- [2] Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, et al. AFP, AFP-L3, DCP, and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of HCC [J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45(12): 1272–82.
- [3] 中华人民共和国卫生部(卫办医政发[2011]121号). 原发性肝癌诊疗规范(2011年版) [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(10): 929–46.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6): 324–9.
- [5] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2001, 9(6): 324.
- [6] 李润青, 姜菲菲, 赵秀英, 等. Logistic 回归及 ROC 曲线综合评价 AFP、AFU、VEGF 联合检测对原发性肝癌的诊断价值 [J]. *北京医学*, 2010, 32(12): 961–4.
- [7] Bae J S, Park S J, Park K B, et al. Acute exacerbation of hepatitis in liver cirrhosis with very high levels of alpha-fetoprotein but no occurrence of hepatocellular carcinoma [J]. *Korean J Intern Med*, 2005, 20(1): 80–5.
- [8] Chu C W, Hwang S J, Luo J C, et al. Clinical, virologic, and pathologic significance of elevated serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C [J]. *J Clin Gastroenterol* 2001, 32(3): 240–4.
- [9] Durazo F A, Blatt L M, Corey W G, 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): 1541–8.
- [10] 赵运胜, 王 猛, 李军良, 等. 血清高尔基体蛋白 73、异常凝血酶原、磷脂酰乙醇蛋白聚糖-3 和甲胎蛋白联合检测对原发性肝癌的早期诊断价值研究 [J]. *中国全科医学*, 2012, 15(11): 3730–3.
- [11] 戴亚新, 张时良, 袁 豪, 等. 肝癌和肝病患者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): 296–8.
- [12] Lim T S, Kim do Y, Han K H, et al. Combined use of AFP, PIV-KA-II, and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients [J]. *Scand J Gastroenterol* 2016, 51(3): 344–3.
- [13] 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): 23559–80.

Diagnosis value of AFP and AFP-L3 combined detection in hepatocellular carcinoma

Xu Enjun, Chen Qiuli, Li Tao, et al

(Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the diagnostic value of alpha fetoprotein (AFP), alpha fetoprotein L3 (AFP-L3) and ratio of AFP-L3 to AFP in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** In 354 patients, 110 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) and 244 patients with benign liver disease (BLD) (including 94 patients with hepatitis, 126 patients with liver cirrhosis and 24 patients with benign liver tumors). AFP and AFP-L3 which was separated by affinity adsorption centrifugal tube were measured by electrochemiluminescence immunoassays, following calculation ratio of AFP-L3 to AFP. **Results** In 110 patients with HCC, the patients of AFP < 20 ng/ml, AFP 20 ~ 200 ng/ml and AFP > 200 ng/ml were 32 cases, 30 cases and 48 cases respectively. In 244 patients with BLD, the patients of AFP < 20 ng/ml were 196 cases. Levels of AFP, AFP-L3 and ratio of AFP-L3 to AFP in patients with HCC were significantly higher than that in patients with BLD ($P < 0.01$). According to ROC curve, areas under the curve (AUC) of AFP, AFP-L3 and ratio of AFP-L3 to AFP were 0.809, 0.819 and 0.800 respectively, and AUC of combination three markers was 0.829 ($P < 0.01$). When the cut-off values of ratio of AFP-L3 to AFP were 5%, 10% or 15%, the sensitivities were 59.1%, 50.9% or 40.9%, and the specificities were 86.1%, 94.7% or 98.4%. **Conclusion** Diagnostic value of combination AFP and AFP-L3 is higher than AFP in diagnosis of hepatocellular carcinoma. The best cut-off value of ratio of AFP-L3 to AFP is 5%.

Key words hepatocellular carcinoma; alpha fetoprotein; alpha fetoprotein L3