

• 论 著 •

甲胎蛋白异质体比率在原发性肝癌鉴别诊断中的应用

赵晓玲, 王晶晶, 赵巧玉, 黄梁镔

(重庆南桐矿业有限责任公司总医院检验科, 重庆 400802)

摘要:目的 探讨甲胎蛋白异质体比率(AFP-L3%)在乙型肝炎感染原发性肝癌和良性肝病鉴别诊断中的应用。方法 慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染 108 例,其中原发性肝癌 50 例、肝硬化 42 例、慢性肝炎 16 例。运用化学发光法检测甲胎蛋白(AFP)及 AFP-L3 水平,计算 AFP-L3%。结果 以 $AFP \geq 400$ ng/mL 作为原发性肝癌诊断阈值时,灵敏度及特异度分别为 36%、84%;以 $AFP-L3\% \geq 10\%$ 作为原发性肝癌诊断阈值时,灵敏度及特异度分别为 62%、83%。结论 AFP-L3%更能区分原发性肝癌和良性肝病。临床上可结合 AFP-L3%作为鉴别诊断 HBV 感染原发性肝癌和良性肝病的指标。

关键词:甲胎蛋白; 原发性肝癌; 良性肝病; 鉴别诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)09-1228-03

The application of lentil lectin-reactive alpha-fetoprotein ratio in the differential diagnosis of primary liver cancer

Zhao Xiaoling, Wang Jingjing, Zhao Qiaoyu, Huang Liangbin

(Department of Clinical Laboratory, Chongqing Nantong Mining Co., LTD General Hospital, Chongqing 400802, China)

Abstract: Objective To explore the application of lentil lectin-reactive alpha-fetoprotein ratio (AFP-L3%) applied in the differential diagnosis between hepatitis B infection of primary liver cancer and benign liver disease. **Methods** We included 108 cases of chronic HBV infection, including 50 cases of primary liver cancer, 42 cases of cirrhosis, 16 cases of chronic hepatitis. Chemiluminescence detection was used to detect alpha-fetoprotein (AFP) and AFP-L3 content, AFP-L3 and the ratio of AFP (AFP-L3%) was calculated. **Results** $AFP \geq 400$ ng/mL as primary liver cancer diagnostic threshold, the sensitivity and specificity were 36%, 84%, when used $AFP-L3\% \geq 10\%$ as primary liver cancer diagnostic threshold, the sensitivity and specificity were 62%, 83%. **Conclusion** AFP-L3% is a better clinical indicator to distinguish between primary liver cancer and benign liver disease. AFP-L3% can be used as a clinical indicator to differential diagnosis between HBV infection of primary liver cancer and benign liver disease.

Key words: alpha-fetoprotein; primary liver cancer; benign liver disease; differential diagnosis

慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染是原发性肝癌的重要原因。甲胎蛋白(AFP)是当前诊断原发性肝癌常用的血清标志物,但患者在 HBV 感染的慢性活动肝炎阶段以及肝硬化阶段也可存在 AFP 升高的现象^[1]。这导致与原发性肝癌早期鉴别诊断带来了一定的困难。近年来,研究发现 AFP 存在多种异质体^[2],其中小扁豆凝集素亲和型甲胎蛋白异质体(AFP-L3)仅由肝癌细胞分泌产生,2005 年美国食品药品监督管理局(FDA)批准甲胎蛋白异质体(AFP-L3)用于原发性肝癌临床预警^[3]。本研究主要通过检测 HBV 感染原发性肝癌、良性肝病中的 AFP-L3 水平,并通过公式计算 AFP-L3 占 AFP 的百分比即甲胎蛋白异质体比率,以探讨 AFP-L3%在 HBV 感染相关原发性肝癌早期诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 1~10 月本院门诊及住院常规检测 AFP 阳性(≥ 20 ng/mL)的患者 108 例,其中原发性肝癌组 50 例,男 44 例,女 6 例,年龄 29~78 岁;肝硬化组 42 例,男 28 例,女 14 例,年龄 25~80 岁;慢性肝炎组 16 例,男 9 例,女 7 例,年龄 19~57 岁。诊断标准:原发性肝癌诊断以 CT、MRI、肝动脉造影等影像学诊断为标准,符合中国抗癌协会肝癌专业委员会修订本的《原发性肝癌诊断规范(2011 版)》;肝硬化诊断以血清清蛋白小于 35 g/L,影像学提示肝硬化和门脉高压为标准;慢性乙型肝炎诊断以乙型肝炎表面抗原阳性持续 6 个月以上,影像学未见肝硬化、肝内占位性改变及门脉高压者为

标准。

1.2 仪器与试剂 AFP 和 AFP-L3 检测仪器为雅培 ISR2000 全自动电化学发光免疫分析仪,AFP 试剂由雅培公司提供;AFP-L3 试剂由北京热景生物技术有限公司提供;雅培 C16000 全自动生化分析仪检测肝功能;乙型肝炎两对半定量检测采用时间分辨法,仪器及配套质控品、试剂均为上海新波。以上所有检测项目均按标准操作程序进行,且保证室内质控在控。

1.3 方法 AFP-L3%测定采用亲和吸附原理,取 1 份目标血清 A, A 经稀释处理、去除保护液、清洗、洗脱等亲和吸附离心处理后再用雅培 ISR2000 测定离心管外的 AFP-L3。同时上机测定目标血清 B 的 AFP 水平。计算 AFP-L3%。计算公式: $AFP-L3\% = AFP-L3 \times 2.5 / AFP \times 100\%$ 。AFP-L3% $\geq 10\%$ 为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行统计学分析。正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布资料以四分位数($P_{25} \sim P_{75}$)表示; t 检验和非参数检验比较均值和中位数;以灵敏度和特异度作为基本实验评价指标,以 ROC 曲线分析指标的诊断价值,正确诊断指数为相应的灵敏度和特异度之差。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 AFP、AFP-L3%检测结果 原发性肝癌组 AFP 和 AFP-L3%水平显著高于其余两组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 AFP 在原发性肝癌诊断中的评价 为进一步评价本研究中 AFP 在原发性肝癌诊断中的价值,按照 AFP 检测值,分为大于或等于 400 ng/mL 和小于 400 ng/mL,按照是否为原发性肝癌分为原发性肝癌组和非原发性肝癌组(如肝硬化、慢性肝炎),见表 2。若以 $AFP \geq 400$ ng/mL 作为原发性肝癌的诊断标准,则 AFP 在诊断原发性肝癌中的灵敏度为 36%,特异度为 84%。AFP 诊断原发性肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.646,该检验方法有效,见图 1。

表 1 各组的 AFP 和 AFP-L3%检测结果比较			
组别	n	AFP(ng/mL)	AFP-L3%(%)
原发性肝癌组	50	220(69~627)	12.4(7.6~16.2)
肝硬化组	42	94(55~283)	8.0(7.0~9.4)
慢性肝炎组	16	58(43~111)	7.7(6.4~8.8)

表 2 AFP 诊断试验评价(n)			
组别	n	AFP $\geq$ 400 ng/mL	AFP<400 ng/mL
原发性肝癌组	50	18	32
非原发性肝癌组	58	9	49

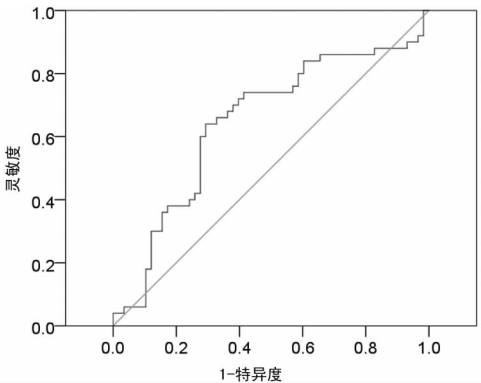


图1 AFP 诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

2.3 AFP-L3%在原发性肝癌诊断中的评价 为评价本研究中 AFP-L3%在原发性肝癌诊断中的价值,按照 AFP-L3%检测值,分为大于或等于 10%和小于 10%,按照是否为原发性肝癌分为原发性肝癌组和非原发性肝癌组,诊断实验评价见表 3。以 $AFP-L3\% \geq 10\%$ 作为原发性肝癌的诊断标准,则 AFP-L3%在诊断原发性肝癌中的灵敏度为 62%,特异度为 83%。AFP-L3%诊断原发性肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.706,该检验方法同样有效,见图 2。

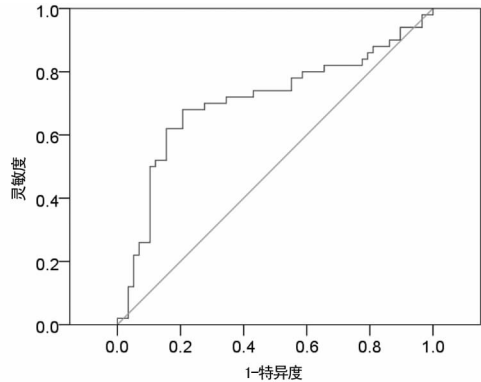


图2 AFP-L3%诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

表 3 AFP-L3%诊断试验评价(n)			
组别	n	AFP-L3 $\geq$ 10%	AFP-L3<10%
原发性肝癌组	50	31	19
非原发性肝癌组	58	10	48

3 讨 论

目前 AFP 仍是临床原发性肝癌诊断的主要评估指标,但在慢性肝炎或肝硬化患者中 AFP 也有不同程度的升高,这导致 AFP 鉴别诊断早期原发性肝癌上特异度及敏感度受到影响。因此,临床上将原发性肝癌的 AFP 诊断阈值提高到 400 ng/mL^[4],但在提高特异性的同时,却使其灵敏度降低,会导致一些原发性肝癌漏诊。目前临床主要通过腹部超声检查和血清 AFP 的检测进行肝癌的早期筛查。研究显示血清 AFP 对肝癌的阳性预测值是 32%,腹部超声的阳性预测值 54%;可见“超声+AFP”的临床肝癌早期筛查方法对原发性肝癌的并不能真正实现早期预测。研究发现^[5-6],通过检测 AFP-L3 能够在慢性乙型肝炎患者和肝硬化等高危人群中发现直径小于 2 cm 的肝癌,AFP-L3 比影像学可以提前 9~12 个月发现肝癌的存在。取 AFP-L3%的检测临界值为 10%诊断肝细胞肝癌,其准确度可达 94%^[7]。

本研究以影像学诊断明确的原发性肝癌为研究对象,符合我国目前诊断原发性肝癌的常规策略。一般而言,肝细胞肝癌占原发性肝癌的比例可达 90%左右,多数原发性肝癌在手术前不能明确病理诊断。此外,我国原发性肝癌患者中约 60%~90%有 HBV 感染的基础。因此,有必要在 HBV 感染人群中对 AFP-L3%和 AFP 在诊断原发性肝癌中的价值进行评估。本组研究对象在性别分布、年龄分布及临床特征均符合原发性肝癌、慢性肝炎及肝硬化的临床特点。

各组间 AFP 和 AFP-L3%水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),可见,单纯依据 AFP 水平并不能区分原发性肝癌组与肝硬化组,这提示 AFP-L3%更适合作为原发性肝癌的筛选指标,与其他研究报道一致^[8-9]。

本研究中,AFP-L3%诊断原发性肝癌的在保持特异度的同时,灵敏度大大提高。研究者进一步通过 ROC 曲线对 AFP 和 AFP-L3%在诊断原发性肝癌中的价值进行了评估。从曲线下面积看,二者均具有一定的诊断价值,AFP-L3%的诊断价值优于 AFP。贾志凌等^[10]在肝癌人群中的研究发现,AFP-L3 的诊断灵敏度是 75%,特异度达到 92%。本研究的灵敏度和特异度稍低于上述研究,可能与不同研究对象的选择有关。

总之,AFP-L3%可较好地鉴别诊断原发性肝癌、HBV 慢性感染者及肝硬化患者,且具有较高的灵敏度和特异度,可作为原发性肝癌的筛查及早期诊断指标。

参考文献

[1] 聂荣慧,刘元元. 肿瘤标志物 AFP、CA125、CA199 和 CEA 检测在肝炎、肝硬化患者诊断和治疗中的应用[J]. 吉林大学学报:医学版,2012,38(1):119-122.

[2] Hu BG, Liu LP, Chen GG, et al. Therapeutic efficacy of improved α -fetoprotein promoter-mediated tBid delivered by folate-PEI600-cyclodextrin nanopolymer vector in hepatocellular carcinoma[J]. Exp Cell Res, 2014, 324(2):183-191.

[3] Food US, Drug Administration. Guidance for (下转第 1231 页)

α -地贫复合 β -地贫有 12 例占 0.18%。

2.2 α -地贫基因检测 本次调查共检测出 α -地贫基因 412 例,试剂盒声明的 3 种缺失型和 3 种非缺失型都有检出,其中最常见的是 $\alpha\alpha$ /--SEA、- α 3.7/ $\alpha\alpha$ 两型分别占 α -地贫的 61.17% 和 17.48%,其次为 $\alpha\alpha$ CS/ $\alpha\alpha$ 、- α 3.7/--SEA、 α WS α /aa 这 3 种基因类型,分别占 α -地贫的 5.83%、4.85%、2.91%。本次还检测出 1 例 HK $\alpha\alpha$ /--SEA 混合型。

2.3 β -地贫基因检测 共检出 β -地贫 250 例,其中最常见的是 β CD41-42/ β N、 β IVS-II-654/ β N、 β CD17/ β N 这 3 型分别占 β -地贫基因型的 37.6%、23.2% 和 16.0%,其次为 β -28/ β N、 β E 杂合子、 β CD71-72/ β N 这 3 种基因型,分别占 8.80%、4.80%、4.00%。此外本研究还检测出基因型 β IVS-1-1、 β CD27/28、 β -29/ β N 和 β CD43/ β N 等少见基因型。

2.4 α -地贫复合 β -地贫基因检测 本次共检出 12 例复合型,其中 - α 3.7/ $\alpha\alpha$ 复合 β CD41-42/ β N 基因型 3 例, α WS α /aa 复合 β -28/ β N 基因型 2 例、- α 3.7/ $\alpha\alpha$ 复合 β E 杂合子、- α 3.7/ $\alpha\alpha$ 复合 β CD17/ β N α WS α /aa、 α WS α /aa 复合 β IVS-I-1、 $\alpha\alpha$ /--SEA 复合 β CD17/ β N、 $\alpha\alpha$ /--SEA 复合 β CD71-72/ β N、 $\alpha\alpha$ CS/ $\alpha\alpha$ 复合 β IVS-I-16 种基因型各 1 例。

3 讨 论

地贫是一种血红蛋白病,是由于调控珠蛋白合成的基因缺失或突变引起的一种单基因隐性遗传病。最常见的为 α -地贫和 β -地贫两种类型。

α -地贫基因位于 16 号染色体短臂 13 区 3 带(16 P13.3)。其缺陷主要为缺失型和非缺失型,缺失型主要包括左侧缺失(- α 4.2)、右侧缺失(- α 3.7)和缺失两个 α 珠蛋白基因的东南亚型(-SEA)。非缺失型主要为基因突变(α T α)。在中国人中常见的突变类型主要有 3 种,分别为 α QS α 、 α WS α 、 α CS α 。本研究中共发现了 412 例 α -地贫基因缺陷者,其中东南亚型(-SEA)占 61.17%,右侧缺失(- α 3.7)占 17.48%,点突变 $\alpha\alpha$ CS 占 5.83%、- α 3.7/--SEA 占 4.85%,这 4 种基因型占了 α -地贫基因基因总数的 89.33%。 α -地贫基因总缺陷率为 5.25%,这与相关研究报道结果相符。

β -地贫基因位于 11 号染色体短臂 1 区 2 带(11P1.2),其主要为点突变。我国常见的突变类型有 17 种,分别为 41-42M、654M、-28M、71-72M、17M、13EM、IVS-I-IM、27/28M、43M、-29M、31M、-32M、-30M、14-15M、CAPM、IntM、IVS-I-5M。在本次调查中共检出 β -地贫基因缺陷 250 例,其中 β CD41-42/ β N、 β IVS-II-654/ β N、 β CD17/ β N 这 3 种分别占 37.6%、23.20%、16.0%。 β -地贫基因总缺陷率为 3.19%。

本研究还检测出了 12 例 α -地贫复合 β -地贫和 1 例

HK $\alpha\alpha$ /--SEA 复合地贫。HK $\alpha\alpha$ 是种极少见的非平衡交叉连接,表现为在同一条染色体上同时含有 - α 3.7 缺失的交叉连接片段^[8-9]。基因型为 HK $\alpha\alpha$ /aa 的患者易被诊断为 - α 3.7/ $\alpha\alpha$,与健康者比较, HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$ 患者的球蛋白 mRNA 水平无明显不同。

地贫为染色体隐性遗传病,如果夫妇双方均为携带者,则他们的后代中有 1/2 的概率为地贫基因携带者,有 1/4 的概率为地贫患者。目前对于轻型地贫还没有有效的治疗方法,重症 α -地贫常出现死胎和出生后水肿随后死亡,重症 β -地贫在出生后 3~6 月出现贫血症状,只能通过造血干细胞移植能是患者得到长期的血液学疗效,否则需要长期输血来维持生命。无论是造血干细胞移植还是输血治疗对于一个家庭来说都是一个沉重的负担。因此加强婚前检查和遗传质询,提高地贫检出率,优生优育减少地贫患儿的出生率对于家庭和社会都有重要意义。

参考文献

- [1] 杜传书.地中海贫血研究的现在与未来[J].中华医学遗传杂志,1996,13(5):257.
- [2] Schwartz PE, Taylork J. Is early detecti on of ovari an can cer possible[J]. Ann Med,1995,27(5):519-528.
- [3] 梁华铭,黎金美.1 826 例育龄期妇女地中海贫血筛查结果分析[J].中国实用医药,2010,5(17):52-53.
- [4] 杜丽,尹爱华,张彦,等.2 171 例地中海贫血产前基因诊断回顾性分析[J].国际妇产科学杂志,2012,39(2):208-210.
- [5] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J]. Nature, 1999, 402 (6762):656-660.
- [6] 朱慧明.24 743 例婚检人群地中海贫血筛查情况分析[J].中国妇幼保健,2011,26(23):3598-3599.
- [7] 杨文姬,麦杰,樊锐全.出生缺陷干预及优生筛查体系的效果分析[J].中国优生与遗传杂志,2010,18(4):123-124.
- [8] Wang W, Chan AY, Chan LC, et al. Unusual rearrangement of the alpha-globin gene cluster containing both the alpha 3.7 and alpha alpha anti-4.2 crossover junctions; clinical diagnostic implications and possible mechanisms[J]. Clin Chem, 2005, 51(11):2167-2170.
- [9] Shang X, Li Q, Cai R, et al. Molecular characterization and clinical presentation of HK $\alpha\alpha$ and anti-HK $\alpha\alpha$ alleles in southern Chinese subjects[J]. Clin Genet, 2013, 83(5):472-476.

(收稿日期:2015-12-22)

(上接第 1229 页)

- industry and FDA staff class II special controls guidance document: AFP-L3% immunological test systems[EB/OL]. (2005-10-04) <http://www.fda.gov>.
- [4] 吴在德,吴肇汉.外科学[M].7 版.北京:人民卫生出版社,2008:518-522.
 - [5] 贾红莲,黄彩云,宋君利,等.血清 AFP-L3、GP73 检测联合 CT 扫描在肝细胞癌诊断中的价值[J].现代肿瘤医学,2015,23(1):101-103.
 - [6] 黄彩云,韩素桂,张景华,等.甲胎蛋白异质体/甲胎蛋白检测联合 CT 扫描在原发性肝癌诊断中的价值[J].肿瘤防治研究,2014,41(2):163-165.
 - [7] 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.
- [8] 徐飞,牛文彦.甲胎蛋白和甲胎蛋白异质体诊断原发性肝癌的价值[J].天津医科大学学报,2014,20(6):475-476.
 - [9] 杨收平,李海英,张丽.血清可溶性人类白细胞抗原 G 和甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J].临床荟萃,2014,29(8):888-891.
 - [10] 贾志凌,王莉,刘畅,等.甲胎蛋白异质体对肝癌诊断的临床意义[J].中国肿瘤,2010,19(10):686-688.

(收稿日期:2016-02-13)