· 临床研究 ·

甲胎蛋白异质体在老年肝癌诊断与肝动脉化疗栓塞治疗中的临床意义

黄天从　李新丰　刘德鑫　王高雄　苏永利

【摘要】 **目的**　研究甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、甲胎蛋白(AFP)、血管内皮生长因子(VEGF)在老年人原发性肝癌(PHC)的诊断及肝动脉化疗栓塞(TACE)治疗的临床意义。**方法**　选择 2014 年 6 月至 2016 年 12 月就诊于福建医科大学附属第二医院普通外科的 60 岁以上老年患者,共 72 例,其中 PHC 组 42 例,肝良性肿瘤组患者 30 例。采用双抗体夹心酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清 VEGF 水平,电化学发光法检测 AFP 和 AFP-L3 水平,微量离心柱法分离 AFP-L3,并计算 AFP-L3%。**结果**　42 例 PHC 患者中肝硬化组 AFP、VEGF 表达高于无肝硬化组(t =6.38,12.10;均P <0.05);肿瘤直径>5 cm 组AFP、AFP-L3、VEGF 表达高于肿瘤直径≤5 cm 组(t =17.30,10.72,6.21;均P <0.05);肿瘤多发组 AFP、AFP-L3、VEGF 表达高于肿瘤单发组(t =9.07,13.83,9.44; 均P <0.05)。PHC 组 AFP、AFP-L3、VEGF 水平高于肝良性肿瘤组(t =19.06,17.90,20.20;均P <0.01)。AFP 在 TACE 后 1 个月的表达水平明显低于术前(q =9.04,P <0.01)。VEGF 术后 1 周的表达水平低于术前(q =11.62,P <0.01)。AFP-L3 术后 1 周和术后一个月的表达水平均低于术前(q =13.30,9.03;均P <0.01)。将 PHC 患者按照 AFP 浓度分为 2 组,比较 2 组间 AFP-L3%阳性率,差异无统计学意义(χ^2 =2.88,P >0.05)。AFP-L3、AFP 和 VEGF ROC 曲线下面积分别为 0.83,0.79,0.68,AFP-L3 线下面积最大;AFP-L3、AFP、VEGF 三项单独检测的敏感度分别为 82.1%、67.3%、59.7%,特异度分别为 76.7%、72.5%、80.1%。AFP-L3 的敏感度和特异度均显著高于 AFP(χ^2 =5.92,P <0.05);将 AFP 及 AFP-L3 联合检测后发现,敏感度为 94.1%,特异度为 55.6%。三者联合诊断的敏感度为 97.6%,特异度为47.6%。**结论**　血清 AFP-L3 诊断 PHC 的价值优于 AFP,多种血清标志物联合检测可相互弥补单一检测的不足,从而提高 PHC 诊断的阳性率;尤其是对于 PHC 的早期诊断,具有更好的临床应用价值。

【关键词】 甲胎蛋白异质体 3;　甲胎蛋白类;　原发性肝癌

Clinical significance of AFP-L3 in the diagnosis and treatment of transcather arterial chemoembolization in elderly patients with primary hepatic carcinoma

Huang Tiancong, Li Xinfeng, Liu Dexin, Wang Gaoxiong, Su Yongli. Department of Hepatobilliary Surgery, The second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: Li Xinfeng, Email: surgone-0107@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the clinical significance of alpha-fetoprotein (AFP) variant (AFP-L3), AFP and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the diagnosis of elderly primary hepatic carcinoma (PHC) and the treatment of transcatheter arterial chemoembolization (TACE). **Methods**　Sevnty-two cases of elderly hepatic lesions in the second Affiliated Hospital of Fujian Medical University were enrolled. Forty-two cases of PHC elder patients (PHC group), 30 cases of benign tumor of liver (benign tumor liver group) were selected. VEGF was detected by double antibody sandwich ELISA, AFP and AFP-L3 were detected with electrochemical luminescence immunoassay (ECLIA), AFP-L3 was isolated with lens

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-655X.2017.04.007

基金项目:福建省自然科学基金(2015JO1444)

作者单位:362000 泉州,福建医科大学附属第二医院肝胆胰外科

通讯作者:李新丰,Email: surgone-0107@163.com

culinaris agglutinin (LCA)-coupled spin column(ACSC). **Results** The serum levels of AFP and VEGF in hepatic cirrhosis group were significantly higher than those in no cirrhosis group (t =6.38, 12.10, P <0.05). The serum levels of AFP, AFP-L3 and VEGF in tumor diameter >5 cm group were higher than those in tumor diameter ≤5 cm group (t = 17.30, 10.72, 6.21, P <0.05). The serum levels of AFP, AFP-L3 and VEGF in multiple tumor group were higher than those in tumor single tumor group (t =9.07, 13.83, 9.44, P <0.05). The serum levels of AFP, AFP-L3 and VEGF in PHC group were significantly higher than those in benign tumor of liver group (t = 19.06, 17.90, 20.20, P <0.01). The serum level of postoperative AFP was significantly lower than that of preoperative level (q =9.04, P <0.01). The serum level of postoperative VEGF was significantly lower than that of preoperative level (q =11.62, P <0.01). One week and one month after operation, the serum levels of AFP-L3 were lower than that before the surgery level (q =13.30, 9.03, P < 0.01). The areas of AFP, AFP-L3, VEGF under the ROC curve in the differential diagnosis of PHC were 0.83, 0.79, 0.68, and the area of AFP-L3 was the largest. The sensitivity and specificity of AFP-L3 were 82.1% and 76.7%, the sensitivity and specificity of AFP were 67.3% and 72.5%, the sensitivity and specificity of VEGF were 59.7% and 80.1%. Compared with the single detection, the sensitivity and specificity of AFP+ AFP-L3 were 94.1% and 55.6%, the sensitivity and specificity of AFP+AFP-L3+VEGF were 97.6% and 47.6%. **Conclusions** The diagnostic value of AFP-L3 is better than that of AFP. The allied combination of serum AFP, AFP-L3 and AFP makes up for the insufficient clinical applications of individual serum makers.

【**Key words**】 Alpha-fetoprotein heterogeneity 3; Alpha-fetoprotein; Primary hepatic carcinoma

甲胎蛋白(AFP)在淀粉凝胶电泳试验时,其分子存在异质性,根据与小扁豆凝集素亲和力的不同,分为三类,其中甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)为肝癌细胞特有,越来越多的研究表明,AFP-L3 在原发性肝癌(PHC)诊断中比 AFP 具有更高的特异性及敏感度[1]。肝动脉化疗栓塞(TACE)是目前对不能切除的 PHC 较为有效的治疗方法[2-3]。本研究选自 2014 年 6 月至 2016 年 12 月福建医科大学附属第二医院普通外科收治的老年肝占位患者,根据所获的数据,探讨 AFP-L3、AFP 及 VEGF 对老年 PHC 的诊断及 TACE 治疗前后的变化情况。

对象与方法

一、研究对象

为 2014 年 6 月至 2016 年 12 月福建医科大学附属第二医院普通外科收治的老年肝占位患者,共 72 例。肝占位均经皮穿刺病理确诊,并无其他器官恶性肿瘤史,其中男性 40 例,女性 32 例,年龄为 60~76 岁,平均年龄为(63.5±5.7)岁。PHC 患者 42 例,男性 20 例,女性 22 例,年龄为 60~75 岁,平均年龄为(64.2±6.1)岁;良性肿瘤 30 例,男性 20 例、女性 10 例,年龄为 60~76 岁,平均年龄为(64.3±5.0)岁;以卫生部《原发性肝癌诊断规范(2011 版)》为诊断标准[4],选择以 TACE 治疗,并在 TACE 治疗前后检测血清 AFP、VEGF 及 AFP-L3 的水平。本组 72 例均签署知情同意书,并经医院伦理委员会核准。

二、研究方法

1.AFP-L3 测定:北京热景生物技术有限公司提供的试剂盒;AFP-L3 分离采用微量离心柱法,罗氏 Cobas 601 全自动生化免疫分析仪。血清 VEGF 测定:试剂购于上海铭睿生物科技有限公司,检验方法采用双抗体夹心 ELISA 法。灵敏度:最低检测浓度小于 1.0 ng/L。血清 AFP 测定:瑞士罗氏公司Cobas 6000 全自动生化免疫分析仪,试剂盒为仪器原装配套试剂。以上检测方法严格按照仪器和试剂使用说明书进行,高、低质控品值均在要求范围内。本组 42 例均按 TACE 常规方法,并在 TACE 前、1 周后及 1 个月后行血清 AFP、VEGF 及 AFP-L3 测定,获得的数据行前后比较。

2.统计学分析方法:使用 SPSS 13.0 统计软件分析,血清 AFP-L3、AFP、VECF 水平等计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验;多组间的比较采用 F 检验,两两比较采用 SNK-q 检验;两组间 AFP-L3%阳性率的比较用卡方检验;ROC 曲线分析 AFP-L3、AFP、VEGF 检测的效能;根据 cut-off 值计算 3 个指标诊断的敏感度和特异度,评价 3 个单独诊断及联合诊断的价值。以 P <0.05 为差异有统计学意义。

结　果

一、PHC 患者血清 AFP-L3、AFP、VEGF 表达水平的比较

42 例 PHC 患者在年龄、性别各组之间血清 AFP-L3、AFP、VEGF 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；有合并乙肝病毒携带组 VEGF 表达高于无合并乙肝病毒携带组患者（$t=4.38$，$P<0.05$）；肝硬化组患者 AFP、VEGF 表达高于无肝硬化组患者（$t=6.38$，12.10；均 $P<0.05$）；肿瘤直径>5 cm 组患者 AFP、AFP-L3、VEGF 表达高于肿瘤直径≤5 cm 组患者（$t=17.30$，10.72，6.21；均 $P<0.05$）；肿瘤多发组患者 AFP、AFP-L3、VEGF 表达高于肿瘤单发组患者（$t=9.07$，13.83，9.44；均 $P<0.05$），见表 1。

二、PHC 组患者与肝脏良性肿瘤组患者血清 AFP、AFP-L3、VEGF 水平的比较

PHC 组患者 AFP、AFP-L3、VEGF 水平明显高于肝良性肿瘤组患者（$t=19.06$，17.90，20.20；均 $P<0.01$），见表 2。

三、PHC 组患者 TACE 前、TACE 后 1 周、TACE 后 1 个月血清 AFP-L3、VEGF、AFP 水平比较

AFP 在 TACE 后 1 个月的表达水平明显低于术前（$q=9.04$，$P<0.01$）。VEGF 术后 1 周的表达水平低于术前（$q=11.62$，$P<0.01$），术后 1 个月表达水平同术前相比，差异无统计学意义（$q=1.93$，$P>0.05$）。AFP-L3 术后 1 周和术后 1 个月的表达水平均低于术前（$q=13.30$，9.03；均 $P<0.01$），见表 3。

表 1　42 例 PHC 患者血清 AFP-L3、AFP、VEGF 水平的比较（μg/L，$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	AFP	AFP-L3	VEGF
年龄				
>70 岁	8	358.26± 88.52	116.13±34.17	156.44±32.13
≤70 岁	34	362.12±123.45	125.11±39.53	162.17±29.86
t 值		0.08	0.59	0.48
P 值		0.93	0.55	0.63
性别				
男	14	392.13± 99.13	88.16±33.13	166.47±25.17
女	28	371.86±106.15	71.13±35.49	154.23±29.27
t 值		0.60	1.53	1.32
P 值		0.55	0.13	0.19
肿瘤大小				
>5 cm	27	699.17±134.13	188.17±55.13	310.32±44.13
≤5 cm	15	88.43± 29.16	33.68±12.07	222.27±44.78
t 值		17.30	10.72	6.21
P 值		0.00	0.00	0.00
乙肝病毒携带				
有	26	355.15±114.23	67.37±31.26	235.16±44.17
无	16	328.16±155.16	82.27±27.17	181.28±28.14
t 值		0.65	1.60	4.38
P 值		0.52	0.12	0.00
肝硬化				
有	22	499.30±159.11	77.17±35.25	231.26±44.66
无	20	268.13± 33.18	70.15±33.64	100.29±22.17
t 值		6.38	0.67	12.10
P 值		0.00	0.35	0.00
肿瘤数量				
单发	28	166.23± 22.17	33.23±12.21	122.01±33.11
多发	14	544.12±221.21	155.11±44.14	225.21±34.13
t 值		9.07	13.83	9.44
P 值		0.00	0.00	0.00

注：PHC 为原发性肝癌；AFP 为甲胎蛋白；AFP-L3 为甲胎蛋白异质体 3；VEGF 为血管内皮生长因子

表 2　PHC 组与肝脏良性肿瘤组患者血清 AFP-L3、AFP、VEGF 水平比较(μg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AFP	AFP-L3	VEGF
PHC 组	42	651.39±184.87	135.04±41.97	231.06±29.69
良性肿瘤组	30	9.34± 2.74	0.57± 0.24	110.73±18.72
t 值		19.06	17.90	20.20
P 值		0.00	0.00	0.00

注:PHC 为原发性肝癌;AFP 为甲胎蛋白;AFP-L3 为甲胎蛋白异质体 3;VEGF 为血管内皮生长因子

表 3　PHC 组患者 TACE 治疗前、后血清 AFP-L3、VEGF、AFP 水平比较(μg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AFP	AFP-L3	VEGF
TACE 治疗前	42	651.39±184.87	135.04±41.97	231.06±29.69
TACE 治疗后 1 周	42	578.56±267.25	88.38±33.23 *	165.07±45.27 *
TACE 治疗后 1 月	42	348.56±189.11 *	66.33±22.26 *	220.13±33.64
F 值		22.27	46.13	38.79
P 值		0.00	0.00	0.00

注:与 TACE 前比较, * *P* <0.01;TACE 为肝动脉化疗栓塞;PHC 为原发性肝癌;AFP 为甲胎蛋白;AFP-L3 为甲胎蛋白异质体 3;VEGF 为血管内皮生长因子

四、PHC 组患者不同血清 AFP 水平 AFP-L3%阳性率比较

以 AFP-L3%>10%为阳性比较两组间 AFP-L3%阳性率,差异无统计学意义(χ^2=2.88, *P* =0.09),见表 4。

表 4　PHC 组患者不同血清 AFP 水平 AFP-L3%阳性率比较

组别(μg/L)	阳性(例)	阴性(例)	阳性率(%)
AFP≥400	14	5	45.24
AFP<400	11	12	54.76
χ^2 值		2.88	
P 值		0.09	

注:PHC 为原发性肝癌;AFP 为甲胎蛋白;AFP-L3 为甲胎蛋白异质体 3

五、血清 AFP-L3、AFP 和 VEGF 水平在 PHC 诊断中的敏感度及特异度比较

AFP-L3、AFP、VEGF 三项单独检测的敏感度分别为 82.1%、67.3%、59.7%,特异度分别为 76.7%、72.5%、80.1%.将 AFP 及 AFP-L3 并联检测后发现,敏感度为 94.1%,特异度为 55.6%。三者联合诊断的敏感度升高到 97.6%,特异度为 47.6%,。

六、血清 AFP-L3、AFP 和 VEGF 水平对 PHC 的诊断意义

AFP-L3、AFP 和 VEGF ROC 曲线下面积分别为 0.834,0.790,0.681;AFP-L3 线下面积最大。Youden 指数最大点确定为截断点,通过计算,AFP-L3、AFP、VEGF 三项单独检测的敏感度分别为 82.1%、67.3%、59.7%,特异度分别为 76.7%、72.5%、80.1%,见表 5,图 1。

表 5　AFP-L3、AFP、VEGF 诊断肝癌的 ROC 曲线分析

变量	面积	标准误	Sig	95%置信区间	
				下限	上限
AFP	0.79	0.052	0.000	0.687	0.893
AFP-L3	0.83	0.046	0.000	0.743	0.924
VEGF	0.68	0.063	0.009	0.558	0.804

注:AFP 为甲胎蛋白;AFP-L3 为甲胎蛋白异质体;VEGF 为血管内皮生长因子

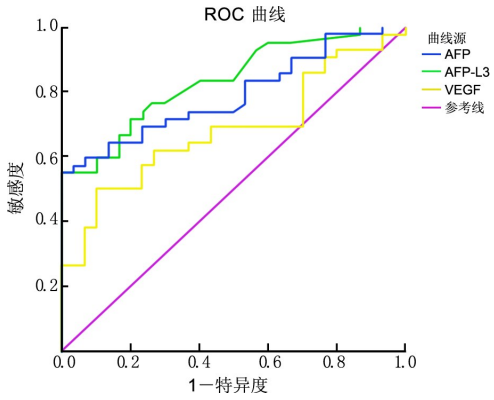


图 1　AFP-L3、AFP、VEGF 诊断老年人原发性肝癌的 ROC 曲线

讨　论

我国原发性肝癌死亡率仅次于胃癌居第二位[5]。AFP 是目前检测 HCC 最常用的标记物,但存在敏感度和特异度不够理想的问题,有学者认为 AFP-L3 有望成为早期诊断 PHC 的新标志物[1,6],

APF 结构上是单一多聚体肽链的糖蛋白,目前在临床上广泛应用于 PHC 的普查和诊断。本研究结果提示,PHC 组血清水平明显高于肝良性肿瘤组,AFP 诊断 PHC 的敏感度分别为 67.3%,特异度分别为 72.5%,具有一定的敏感度。AFP ROC 曲线下面积为 0.79,提示其可用于 PHC 的诊断及鉴别诊断。本研究相关结果也提示存在 32.7% 的漏诊率,与 Ruoslahti 等[7]的数据相似;经过 TACE 后 1 周的水平同术前相比差异无统计学意义,可能与 AFP 复查时间短[8]、肿瘤分期、年龄等有关;而在 1 月后的表达水平明显低于 TACE 前。

VEGF 具有诱导新生管生成、促进血管内皮细胞增殖等作用,大量研究提示其与肿瘤的生长、浸润、转移和复发关系密切[9-10]。本研究 PHC 组 VEGF 水平明显高于肝良性肿瘤组;VEGF 单独用于诊断 PHC 具有一定的敏感度,特异度较高。VEGF ROC 曲线下面积为 0.681,提示其在 PHC 诊断中有一定价值。经过 TACE 治疗后,VEGF 术后 1 周的表达水平明显低于术前,但术后 1 个月 VEGF 的表达水平同术前相比,差异无统计学意义;由于缺血、缺氧等微环境可刺激 VEGF 表达上调,且栓塞后侧支循环建立或栓塞血管的再通,发生缺血再灌注损伤,诱导肿瘤细胞大量分泌 VEGF,同时 VEGF 的增加可以诱导大量新生血管的生成,促进肿瘤细胞大量增殖,表现为 VEGF 水平升高。故认为如果 PHC 患者经 TACE 治疗后 VEGF 水平在术后短时间内明显上升,则肿瘤复发和转移的可能性大,预后差[11]。

AFP-L3 型为肝癌细胞特有[1,12],本研究结果提示 PHC 组 AFP-L3 水平明显高于肝良性肿瘤组;AFP-L3 ROC 曲线下面积为 0.83,优于 AFP;AFP-L3 诊断 PHC 的敏感度为82.1%,特异度分别为 76.7%,优于 AFP,这三组数据均提示 AFP-L3 优于 AFP。而在 AFP ≥ 400 μg/L 组 AFP-L3% 阳性率和 AFP < 400 μg/L 相比,差异无统计学意义,可能血清 AFP 水平高低与 AFP-L3%之间无相关性。TACE 术后 1 周和 1 个月,AFP-L3 的水平均低于术前,故在判断 PHC 经 TACE 后的效果及预后方面,与国外学者研究结果相似,认为 TACE 后 AFP-L3% 可作为预测 TACE 术后疗效的独立因子。

本组研究数据显示 AFP 联合 AFP-L3 联合检测敏感度为 94.1%,再联合 VEGF 的敏感度可达 97.6%,同时也提高了特异性。故认为:AFP 与 AFP-L3、VEGF 联合检测 PHC 诊断准确率均高于单种血清标志物,对于低 AFP 阴性的 PHC 患者具有更高的临床价值,对经 TACE 治疗后的老年 PHC 疗效判断,具有实际的临床意义。

参 考 文 献

[1] Tamura Y, Igarashi M, Kawai H, et al. Clinical advantage of highly sensitive on-chip immunoassay for fucosylated fraction of alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(12): 3576-3583.

[2] 熊锦华,范公忍,陈力强,等.肝动脉化疗栓塞联合经皮射频治疗中晚期老年肝癌的临床观察[J],中国现代普通外科进展,2013,16(5):355-358.

[3] Li X, Lu G, Liu D, et al. Combination therapy of multiple micro trauma technology on hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Ther, 2013, 4(3): 695-697.

[4] 中华人民共和国卫生部.原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)[J].临床肝胆病杂志,2011,27(11):1141-1159.

[5] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74-108.

[6] 周文瑞,李新丰,林奇忆,等.血清甲胎蛋白异质体、高尔基体糖蛋白-73 及甲胎蛋白检测在老年人原发性肝癌的诊断价值[J/CD].中华诊断学电子杂志,2016,4(4):222-225.

[7] RuoslahtiE, SeppäläM. Studies of carcino-fetal proteins. Ⅲ. Develo Pment of a Radioimmunoassay for-fetoprotein. Demonstration of α-fetoprotein in serum of healthy human adults[J]. Int J Cancer, 1971, 8(3): 374-383.

[8] Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF) [J]. J Cell Mol Med, 2005, 9(4): 777-794.

[9] Ernens I, Léonard F, Vausort M, et al. Adenosine up-regulates vascular endothelial growth factor in human macrophages [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 392(3): 351-356.

[10] 徐安涛.TACE 对肝癌患者血清 VEGF 和 CTGF 表达水平的影响及意义[D].济南:山东大学,2012.

[11] Donati M, BrancatoG, DonatiA, et al. Clinical biomarkers in hepatocellular carcinoma (PHC) [J]. Front Biosci (Schol Ed), 2010, 1(2): 571-577.

[12] Song BC, Suh DJ, Yang SH, et ai. Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein as a prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization[J]. J Clin Gastroenterol, 2002, 35(5): 398-402.

(收稿日期:2017-07-23)
(本文编辑:崔芬)

黄天从,李新丰,刘德鑫,等.甲胎蛋白异质体在老年肝癌诊断与肝动脉化疗栓塞治疗中的临床意义[J/CD].中华诊断学电子杂志,2017,5(4):243-247.