

# 微量离心柱法分离检测甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 及其临床意义

王永忠, 罗立波, 吴国祥, 陈敏, 阮丽花, 濮翔科, 杭双荣

**【摘要】目的** 探讨甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 在肝细胞癌诊断中的意义。**方法** 应用预装有耦联小扁豆凝集素 (LCA) 的琼脂糖微量离心柱分离 AFP-L3, 采用双抗体夹心、化学发光法检测 AFP 和 AFP-L3, 并计算 AFP-L3 值, 以 AFP > 20  $\mu\text{g/L}$ , AFP-L3 > 10% 作为阳性判断标准。**结果** 肝细胞癌患者血清中 AFP、AFP-L3 水平明显高于其他肝病患者,  $P$  值均 < 0.001, 肝癌患者以 AFP、AFP-L3 作为诊断指标的敏感度分别是 85.1%、72.3%, 特异度分别是 55.4%、97.2%; 8 例肝病患者 AFP-L3 > 10%, 影像诊断未发现肝癌, 至少三个月以后确诊肝癌。**结论** 甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 在肝细胞癌诊断及与良性肝病的鉴别诊断中具有重要价值。

**【关键词】** 甲胎蛋白类; 癌, 肝细胞; 诊断

**Clinical significance of AFP-L3 variants determined by micro centrifugal column** WANG Yongzhong, LUO Li-bo, WU Guoxiang, CHEN Min, RUAN Lihua, PU Xiangke, HANG Shuangrong. The Third People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213001, China

Corresponding author: WANG Yongzhong, E-mail: wyz0003@163.com

**【Abstract】Objective** To evaluate the clinical significance of AFP-L3 in the patients with hepatocellular carcinoma and other chronic hepatitis. **Method** Serum AFP-L3 variants were separated by micro centrifugal column, and detected by chemiluminescence. **Results** AFP and AFP-L3 levels were higher in hepatocellular carcinoma than that in other chronic hepatitis ( $P < 0.001$ ); as a diagnosis target, the sensitivity and specificity of AFP-L3 were 72.3% and 97.2%. Eight patients with hepatitis have higher AFP-L3, but none of them were found carcinoma by CT three months later. **Conclusion** AFP-L3 is very useful in the diagnosis of patients with hepatocellular carcinoma.

**【Key words】** alpha-fetoproteins; Carcinoma, hepatocellular; Diagnosis

近年来肝癌的发病率呈明显的上升趋势。甲胎蛋白 (AFP) 作为肝细胞癌的诊断及疗效观察指标已应用多年, 但在一些良性肝病患者, 如慢性肝炎、肝硬化患者中也会有不同程度的升高, 使得在这些高危人群中肝细胞恶性癌变预警带来困难, 因此寻找一个特异性的鉴别诊断指标具有重要的意义。有文献表明<sup>[1]</sup>, 肝细胞坏死后再生性 AFP 与癌产生性 AFP 在糖链结构上存在差异, 以小扁豆凝集素 (Lens culinaris lectin, LCA) 作为外源性凝集素, AFP 可以分为 LCA 非结合型 (AFP-L1、AFP-L2)、LCA 结合型 (AFP-L3)。其中 AFP-L1 主要存在于良性肝病中, AFP-L2 来自孕妇, AFP-L3 为肝癌细胞所特有。此前检测 AFP-L3 缺乏简便的方法, 导致 AFP-L3 无法常

规化应用于临床。本研究使用国产的微量离心柱分离甲胎蛋白异质体 (AFP-L3), 应用化学发光法对本院 130 例包括肝癌、肝硬化和慢性肝炎的患者血清进行了检测。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 130 份血清标本取自本院 2005 年 11 月至 2006 年 8 月住院患者血清资料库, 年龄 (47.3  $\pm$  13.7) 岁, 男性 89 例, 女性 41 例。其中肝癌 47 例, 均经临床、B 超、病理检查确诊, 肝硬化 28 例、慢性肝炎 55 例, 诊断标准符合 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”中病毒性肝炎诊断标准。所有血清标本分离后冻存在 -80 超低温冰箱。

**1.2 主要试剂及方法** AFP、AFP-L3 检测试剂由北京热景生物技术有限公司提供。AFP-L3 的分离采

作者单位: 213001 江苏, 常州市第三人民医院肝病研究所

通讯作者: 王永忠, E-mail: wyz0003@163.com

用微量离心纯化柱,柱内预先装有耦联了小扁豆凝集素 LCA 的琼脂糖,可以特异结合 AFP-L3,经过离心清洗洗去不结合的 AFP,然后加入洗脱液,离心柱在关闭情况下由于内部负压使得洗脱液充分浸泡柱子,再经过离心后收集的洗脱液中含有 AFP-L3,然后应用双抗体夹心化学发光法检测总 AFP 和 AFP-L3 的含量,并计算 AFP-L3 占 AFP 总量的百分比,以 AFP-L3 10% 作为阳性判断标准。

**1.3 统计学方法** 应用 SPSS11.0 软件进行统计分析,不同组别间 AFP、AFP L3 含量的比较采用单因素方差分析。

## 2 结果

**2.1 血清 AFP 测定结果及阳性率比较** 肝癌患者血清中 AFP 水平明显高于肝硬化、慢性肝炎患者 ( $F = 55.69, P < 0.001$ ),见表 1。

**表 1** 不同类型肝病患者的血清中 AFP 检测结果  
**Tab. 1** Results of serum AFP detection in patients with different types of liver diseases

组别 Group	例数 No. cases	AFP 中位数值 (μg/L) Median AFP (μg/L)	AFP 阳性率 (%) Positive rate of AFP (%)
肝癌 Liver cancer	47	308.87 (2.55 ~ 711.68)	85.1
肝硬化 Cirrhosis	28	39.21 (0.41 ~ 222.73)	35.7
慢性肝炎 Chronic hepatitis	55	35.82 (0.92 ~ 341.1)	37.8

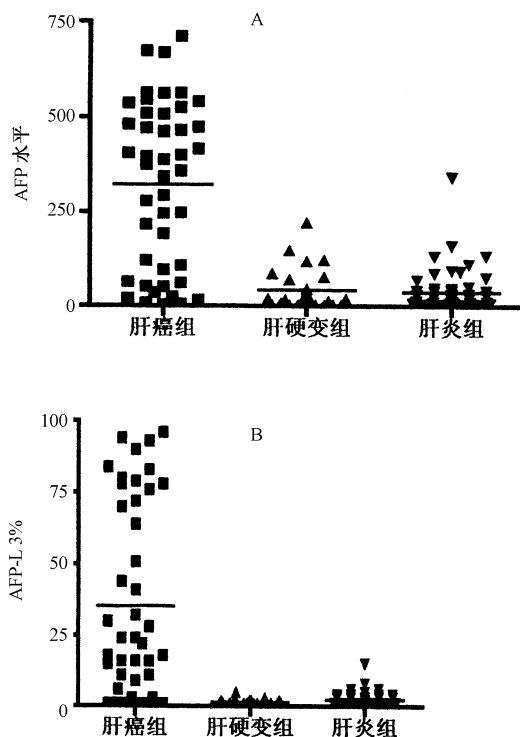
**2.2 血清 AFP L3 测定结果及阳性率比较** 肝癌患者血清中 AFP L3 水平明显高于其他组别 ( $F = 18.992, P < 0.001$ ),以 AFP L3 > 10% 作为阳性判断,结果见表 2。

**表 2** 不同类型肝病患者的血清中 AFP L3 检测结果  
**Tab. 2** Results of serum AFP L3 detection in patients with different types of liver diseases

组别 Group	例数 No. cases	AFP L3 中位数值 (μg/L) Median AFP (μg/L)	AFP L3 阳性率 (%) Positive rate of AFP (%)
肝癌 Liver cancer	47	160.04 (0.07 ~ 561.25)	72.3
肝硬化 Cirrhosis	28	0.84 (0.04 ~ 3.48)	0
慢性肝炎 Chronic hepatitis	55	1.37 (0.04 ~ 8.73)	1.8

**2.3 肝癌、肝硬化及慢性肝炎 AFP、AFP L3 水平分布特征** 见图 1-A, 1-B。从图中可以看出,仅以 AFP

水平作为肝癌诊断指标时,大量的肝硬化和慢性肝病者会被高度怀疑为肝癌,而以 AFP-L3 为诊断指标时,肝癌和慢性肝病得到明显区分。



**图 1** 肝癌、肝硬化及慢性肝炎 AFP(A)、AFP L3(B) 水平分布  
**Fig. 1** Levels of AFP(A) and AFP-L3(B) in patients with liver cancer, cirrhosis and chronic hepatitis.

**2.4 AFP、AFP-L3 诊断肝细胞癌的灵敏度、特异度及约登指数结果** AFP 是肝细胞癌诊断的敏感指标 (85.1%),但缺乏较高的特异性 (55.4%);AFP L3 诊断肝细胞癌灵敏度略低于 AFP (72.3%),但特异性较高 (97.2%)。约登指数值为灵敏度与特异度相加再减去 1,反映诊断疾病总的的能力,AFP 组约登指数为 0.41,AFP L3 % 组为 0.70,可以看出 AFP L3 是一项较好的肝细胞癌诊断指标。

**2.5 8 例 AFP-L3 阳性的非肝癌患者追踪观察结果** 见表 3。

## 3 讨论

AFP 在一些良性肝病中也有不同程度的升高,特别是在高危人群如慢性肝炎和肝硬化患者中有 20% ~ 50% 的 AFP 升高者<sup>[2,3]</sup>,这主要是在肝细胞的再生过程中可以产生一定量的 AFP,尤其在慢性肝炎或肝硬化患者急性恶化时会产生较高水平的 AFP。本研究实验结果显示,以 > 20 μg/L 为临界值,

表 3 AFP-L3 阳性的肝病患者的追踪观察结果

Tab. 3 Results of follow-up of patients with AFP-L3-positive liver diseases

住院号 Inpatient No.	年龄(岁) Age	出院主诊断 Diagnosis on discharge	AFP(ng/ml)	AFP-L3(ng/ml)	AFP-L3(%)	病理诊断结果 Result of pathological Diagnosis
1271 × ×	59	肝炎后肝硬化 post-hepatitis chrrhosis	107.81	17.77	16	3 个月后确认肝细胞癌 HCC confirmed 3 months later
1273 × ×	38	肝炎后肝硬化 post-hepatitis chrrhosis	64.58	15.69	24	12 个月后确认肝细胞癌 HCC confirmed 12 months later
1287 × ×	32	慢性活动性乙型肝炎 chronic active hepatitis B	564.28	450.58	80	6 个月后确认肝细胞癌死亡 HCC confirmed 6 months later and died
1277 × ×	54	慢性重型病毒性肝炎 chronic severe viral hepatitis	51.68	7.57	15	6 个月追踪确认肝细胞癌 HCC confirmed 6 months later
1279 × ×	54	肝炎后肝硬化 post-hepatitis chrrhosis	526.43	409.70	78	3 个月后确认肝细胞癌 HCC confirmed 3 months later
1285 × ×	60	慢性重型病毒性肝炎 chronic severe viral hepatitis	472.62	446.23	94	3 个月后检查确认肝细胞癌 HCC confirmed 3 months later
1299 × ×	55	肝炎后肝硬化 post-hepatitis chrrhosis	400.62	97.01	24	9 个月后检查确认肝细胞癌 HCC confirmed 9 months later
1296 × ×	53	肝炎后肝硬化 post-hepatitis chrrhosis	462.66	444.61	96	6 个月后检查确认肝细胞癌 HCC confirmed 6 months later

肝癌患者血清中 AFP 阳性率高达 85.1%,但在肝硬化和慢性肝炎患者中也分别有 35.7%、37.8% 的病例 AFP 升高,显然 AFP 并不能认定为肝癌诊断的特异指标。AFP-L3 则与肝癌恶性特征相关,能比较客观地反映肝细胞恶变的情况,以 AFP-L3 为指标,肝癌患者中 AFP-L3 能达到 10% 以上。本研究中,肝癌患者血清 AFP-L3 最高达到了 96%,慢性肝炎中有 1 例重型肝炎患者 AFP-L3 升高,已经纳入随访对象,肝硬化患者中未发现 AFP-L3 升高病例,显然 AFP-L3 可以作为肝癌诊断的特异性指标。肝硬化患者在影像学检查中,往往会发现肝硬化结节,如果伴有 AFP 升高,很容易被怀疑为肝癌,AFP-L3 可以用来区分肝硬化结节和肝癌占位。而且采用 AFP-L3 为指标则不受肝癌诊断标准(AFP > 400 μg/L)的限制,当 AFP-L3 超过 10% 时,表明恶性肝细胞在增多,其肝恶变的概率非常大。从表 1、表 2 分析,肝癌患者 AFP 及其异质体水平均明显高于肝硬化和慢性肝炎患者,图 1 反映的数据则显示在肝硬化和慢性肝炎患者中,如果仅以 AFP 作为肝癌的诊断指标,会出现较高的假阳性结果,而以 AFP-L3 作为指标,则具有较高的特异性。文献[4]显示,如果患者血清中总 AFP 只有轻微的升高而 AFP-L3 所占的比例超过 10%,就可以提示肝癌发生的可能性很大,此时影像学甚至没能在肝脏中检测到病变,表 3 的数据也证实了这一点,所以对血清中 AFP-L3 超过 10% 的患者进行随访和严密的监控是很有必要的,另外从反映肝癌总的诊断能力的约登指数结果分

析,AFP-L3 优于 AFP,而联合检测对肝癌的诊断可能更有意义。

目前 AFP-L3 检测常用的方法有植物凝集素亲和层析法、聚丙烯酰胺凝胶电泳法、亲和印迹法、亲和免疫交叉电泳技术等。这些方法对于技术的要求较高、操作繁琐、试剂昂贵,限制了 AFP-L3 在临床的应用。汪子伟等<sup>[5]</sup>对用亲和吸附法检测 AFP-L3 进行了有意义的尝试,但仍然需要自行购买进口琼脂糖介质,试剂价格较高,不能很方便地应用于实验室常规检测。本研究采用该商品化的微量离心柱法试剂,该试剂以 LCA 耦联的琼脂糖作为亲和介质,然后利用半抗原糖基进行特异性洗脱,并结合离心技术,可以快速简便的获得样品中的 AFP-L3 组分,然后应用化学发光方法进行定量检测,方法简单、结果准确,成本较低,可以在临床推广应用。

#### 4 参考文献

- [1] Ruoslahti E, Engvall E, Pekkala, et al. Developmental changes in carbohydrate moiety of human alpha-fetoprotein. *Int J Cancer*, 1978, 22:515-518.
- [2] Fujiyama S, Tanaka M, Maeda S, et al. Tumor markers in early diagnosis, follow-up and management of patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology*, 2002, 62(Suppl 1):57-63.
- [3] Kreczko S, Lipska A, Wysocka J. Alfa-fetoprotein: diagnostic value in hepatic disorders. *Pbl Merkurisuz Lek*, 2000, 8:420-423.
- [4] Shimauchi Y, Tanaka M, Kuromatsu R, et al. A simultaneous monitoring of Lens culinaris agglutinin A-reactive alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin as an early diagnosis of hepatocellular carcinoma in the follow-up of cirrhotic patients. *Oncol Rep*, 2000, 7:249-256.
- [5] 汪子伟,卓广超,冷建杭,等.亲和吸附法在甲胎蛋白异质体检测中的应用. *中华检验医学杂志*, 2005, 28:203-205.

(收稿日期:2006-11-18)