

【实验研究】

甲胎蛋白异质体对肝癌患者术后预后价值的应用研究

高锦¹ 徐爱芳¹ 王妙婵¹ 娄国强^{2*}

(1. 杭州市第六人民医院 杭州 310014; 2. 杭州师范大学附属医院 杭州 310015)

【摘要】 目的: 探讨甲胎蛋白异质体对肝癌患者术后的预后判断价值。方法: 采集临床确诊的 24 例肝癌患者术前及术后第 2 个月、第 6 个月、第 12 个月、第 18 个月和第 24 个月的血清, 应用装有耦联了小扁豆凝集素(LCA)的微量离心柱分离血清中的甲胎蛋白异质体(AFP-L3), 采用化学发光法检测 AFP 及 AFP-L3 的含量, 计算 AFP-L3 占总 AFP 的比率(判断标准以 AFP-L3 ≥ 10% 者为阳性), 同时跟踪随访, 将检测结果与调查结果作生存分析图, 比较两者对肝癌术后患者的预后判断价值。结果: 术后 2~3 个月 AFP-L3 阳性患者在未来 30 个月内的生存几率明显降低, AFP-L3 阴性患者生存几率高; 术后 6 个月 AFP-L3 阳性患者在未来 24 个月内的生存几率明显降低, AFP-L3 阴性患者生存几率是 100%; 术后第 12 个月 AFP-L3 阳性患者在未来 18 个月内的生存几率明显降低, AFP-L3 阴性患者生存几率是 100%。结论: AFP-L3 对肝癌患者的术后预后判断具有重要的临床意义。

【关键词】 甲胎蛋白异质体; 肝癌; 预后标志物

【中图分类号】 R735.7

【文献标识码】 A

【文章编号】 1004-8685(2011)07-1672-03

Study on the evaluation of Lens culinaris agglutinin - reactive fraction of AFP as a prognostic biomarker for survival after hepatic resection for HCC

GAO Jin¹, XU Ai-fang¹, WANG Miao-chan¹, LOU Guo-qiang^{2*}

(The Sixth People's Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310014, China; 2. The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, China)

【Abstract】 Objective: To explore the clinical significance of α FP-L3 in prognosis predictor in patients with hepatocellular carcinoma, as well as the differentiation diagnosis between benign and malignant liver diseases and evaluate the clinical value of the microspin column method. **Methods:** Serum alpha-fetoprotein variants from 24 cases of hepatocellular carcinoma patients at preoperation and the second month, the 6th month, the 12th month, the 18th month and the 24th month of postoperation were isolated with micro-spin column equipped with lens culinaris agglutinin(LCA), the total AFP and AFP-L3 were then detected by chemiluminescence, and the proportions of AFP-L3 were calculated (with cut-off value $\geq 10\%$ for AFP-L3 is positive) and the follow up of two years for 24 HCC patients were performed to make the long term survival curves to compare the prognosis value of AFP and AFP-L3 for postoperative patients with HCC. **Results:** The results of AFP-L3 of 24 HCC patients who underwent operation and therapy show that the survival rates of AFP-L3 positive cases at 2, 6, 12 months degraded, and the survival rates of AFP-L3 negative cases at 2, 6, 12 months were 100%. **Conclusion:** AFP-L3 can be used as a predictor of prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment.

【Key words】 AFP-L3; Hepatocellular carcinoma; Prognosis biomarker

肝细胞癌(HCC)是全球最常见的恶性肿瘤之一,每年肝癌新发患者约有 100 万,全世界每年约有 25 万人死于该病,在我国其死亡率位居恶性肿瘤第二位,且 5 年生存率不到 10%。手术切除是治疗这种疾病最有效的方法,但很多患者临床诊断时多属中晚期,已发生肝内或肝外组织转移而失去了最佳

治疗时机,即便行使手术切除术,预后也不佳,因此需一合适的血清标志物用于临床肝癌患者治疗方案的选择及术后生存率的判断。甲胎蛋白异质体(AFP-L3)因其主要存在于肝癌患者细胞中,具有一定的特异性,故近年来 AFP-L3 成为研究热点,本文就 AFP-L3 对肝癌患者的术后价值进行研究,现将研究结果报告如下:

【基金项目】 浙江省科技厅项目(2008C23078);浙江省医药卫生科学研究基金(2007A163)

【作者简介】 高锦(1981-),女,硕士,主管技师,主要从事免疫学和微生物学检验。

* 通讯联系人, E-mail: louguoqiang2008@126.com

1 材料与方法

1.1 研究对象

24 例肝癌患者均为杭州市第六人民医院 2006 年 6 月 - 2007 年 6 月收治的住院患者,疾病诊断符合 2000 年中华医学

会传染病与寄生虫学分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》^[1]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^[2]。

1.2 试剂与仪器

AFP 检测试剂为雅培 I2000 化学发光仪原装备套, AFP - L3 分离试剂由北京热景生物技术有限公司提供。仪器为雅培 I2000 化学发光仪。

1.3 方法

采集 24 例患者术前及术后不同时间段的血清标本, 参照 AFP - L3 试剂说明书采用微量离心柱法分离血清 AFP - L3 后, 应用化学发光法检测血清总 AFP 和 AFP - L3 的含量, 并计算 AFP - L3 占总 AFP 的百分含量, 以 AFP - L3% $\geq 10\%$ 作为阳性判断标准。

2 结果

24 例肝癌患者术后及化疗后 AFP 和 AFP - L3 的跟踪检测结果:

将 24 例肝癌患者术前及术后血清总 AFP 和 AFP - L3 的实验数据结合跟踪随访结果作生存分析图, 结果如图 1 - 6 所示。图 1 显示术后两个月 AFP - L3% 阳性患者在未来 28 个月内的生存几率明显降低, AFP - L3% 阴性患者生存几率高, 经统计学分析 $P = 0.001 < 0.05$, 有显著性差异; 图 2 显示术后两个月 AFP 阳性与阴性患者在未来 28 个月内的生存几率, 经统计分析 $P = 0.3484 > 0.05$, 两者无显著性差异。图 3 显示术后 6 个月 AFP - L3% 阳性患者在未来 24 个月内的生存几率明显降低, AFP - L3% 阴性患者生存几率为 100%, 经统计学分析 $P = 0.0002 < 0.05$, 有显著性差异; 图 4 显示术后 6 个月 AFP 阳性与阴性患者在未来 24 个月内的生存几率, 经统计分析 $P = 0.0683 > 0.05$, 两者无显著性差异。图 5 显示术后 12 个月 AFP - L3% 阳性患者在未来 18 个月内的生存几率明显降低, AFP - L3% 阴性患者生存几率为 100%, 经统计学分析 $P = 0.0023 < 0.05$, 有显著性差异; 图 6 显示术后 12 个月 AFP 阳性与阴性患者在未来 18 个月内的生存几率, 经统计分析 $P = 0.0994 > 0.05$, 两者无显著性差异。

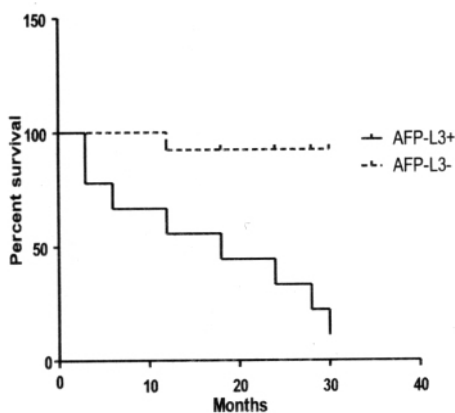


图 1 术后两个月 AFP - L3 阳性及阴性患者的生存率分析图 ($P = 0.001$)

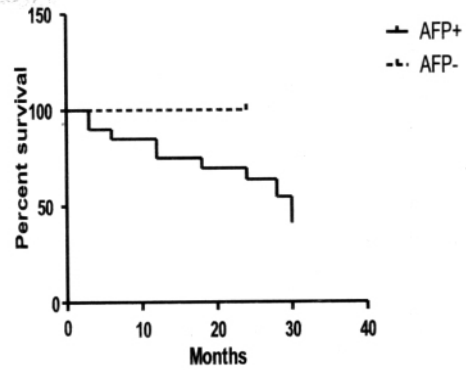


图 2 术后两个月 AFP 阳性及阴性患者的生存率分析图 ($P = 0.3484$)

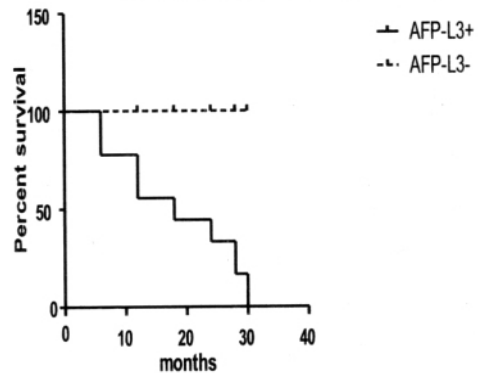


图 3 术后 6 个月 AFP - L3 阳性及阴性患者的生存率分析图 ($P = 0.0002$)

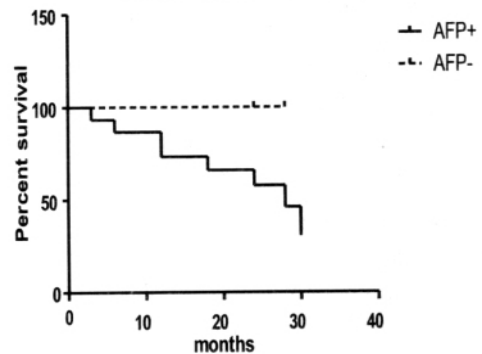


图 4 术后 6 个月 AFP 阳性及阴性患者的生存率分析图 ($P = 0.0683$)

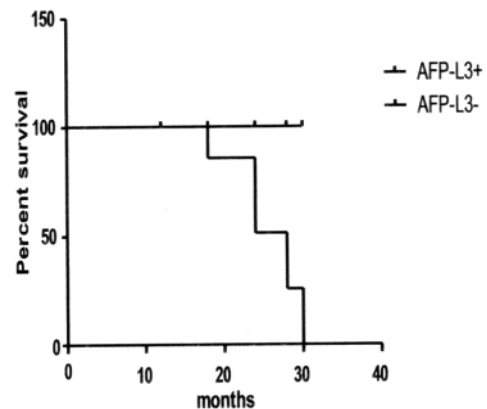


图 5 术后 12 个月 AFP - L3 阳性及阴性患者的生存率分析图 ($P = 0.0023$)

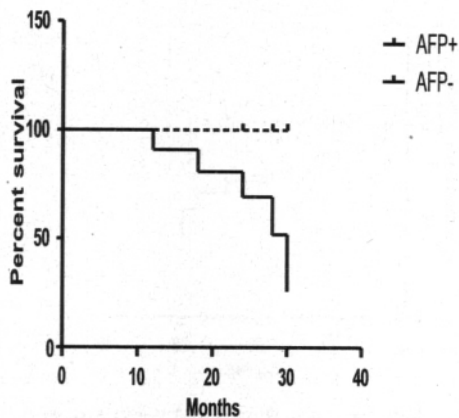


图 6 术后 12 个月 AFP 阳性及阴性患者的生存率分析图 ($P=0.0994$)

3 讨论

临床治疗肝癌的手段主要有肝切除术、经皮射频消融、经皮酒精烧灼、冷冻消融、微波消融、激光消融术以及肝移植等。肝切除术是最佳的治疗手段,但因患者个体差异,如手术切除时间、恶性程度等因素的影响,预后情况各不相同。治疗后复发是影响预后的关键因素,血管入侵是 HCC 复发后预后不良的先兆^[3,4],所以临床需选择一合适的血清标志物预测 HCC 患者治疗后效果及术后的生存率。Yamashita^[5] 等研究表明 AFP-L3 阳性与门静脉入侵有关,若血清 AFP-L3 强阳性即提示存在肝内转移。一些日本学者通过研究发现,在预后较差的 HCC 患者中,其 AFP-L3 的阳性率均较高^[6]。Kobayashi^[7] 等研究发现,AFP-L3 阳性的肝癌患者生存率明显低于 AFP-L3 阴性患者,特别是在血清 AFP 浓度低的肝癌亚组中差异更显著。Zhang XF^[8] 等研究发现术前血清 AFP-L3 阳性和术后 AFP-L3 持续阳性或者由阴转阳的肝癌患者肿瘤复发率较高,预后较差。上述资料均提示 AFP-L3 可作为一个有用的指标用于肝癌患者的术后预后判断。本次研究通过采集 24 例肝癌患者术前及术后不同时间段的血清标本,进行 AFP 及 AFP-L3 的检测,同时跟踪随访两年,作生成分析后结果如图 1-6 所示,患者在术后两个月、6 个月及 12 个月的血清 AFP 水平对生存的预示无显著性差异,而 AFP-L3 水平对生存的预示有显著性差异,提示术后检测 AFP-L3% 对预后的判断价值高于单独检测 AFP。

AFP-L3 检测常用的方法有植物凝集素交叉免疫电泳技术,是将人血清先加入含扁豆凝集素的凝胶中电泳,然后电转

至膜上进行放射显影,测量 AFP-L3 的百分含量。该方法操作繁琐,耗时、技术要求高、试剂昂贵,限制了 AFP-L3 在临床上的广泛应用。国内研制的微量离心柱法是利用装有耦联了 LCA 的琼脂微球,可以特异结合 AFP-L3,当血清流过离心柱时,与 LCA 亲和力强的 AFP-L3 结合于柱中,经过清洗除去不结合的 AFP,再经过浸泡洗脱离心获得 AFP-L3,弥补了上述不足,具有高通量、稳定性好、对设备要求低、缩短了实验时间等优势,故本次研究选用微量离心柱法分离血清标本中的 AFP-L3 后应用电化学发光法进行检测。

综上所述,AFP-L3 作为新的肝癌诊断的血清学标志物,具有较高的特异性和敏感性,对于肝癌患者术后的预后判断具有一定的临床应用意义;同时随着新的微量离心柱法试剂盒的开发,也便于其在临床上推广应用。

[参考文献]

- [1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学分会. 病毒性肝炎防治办法[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-329.
- [2] 中国抗癌协会. 新编常见恶性肿瘤诊治规范(原发性肝癌分册). 北京: 北京医科大学与中国协和医科大学联合出版社, 1999: 22-23.
- [3] Izumi R, Shimizu K, Li T, et al. Prognostic factors of hepatocellular carcinoma in patients undergoing hepatic resection[J]. Gastroenterology, 1994, 106: 720-727.
- [4] Poon RT, Fan ST, Ng IO, et al. Different risk factors and prognosis for early and late intrahepatic recurrence after resection of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 2000, 89: 500-507.
- [5] Yamashita F, Tanaka M, Satomura S, et al. Prognostic significance of Lens culinaris agglutinin a-reactive a-fetoprotein in small hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 1996, 111: 996-1001.
- [6] Tada T, Kumada T, Toyoda H, et al. Relationship between lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein and pathologic features of hepatocellular carcinoma[J]. Liver Int, 2005, 25: 1-6.
- [7] Kohayashi Makoto, Kuroiwa et al. Fucosylated fraction of alpha-fetoprotein-L3 as a useful prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma with special reference to low concentrations of serum alpha-fetoprotein[J]. Hepatol Res, 2007, 37(11): 914-922.
- [8] Zhang XF, Lai EC, Kang XY, et al. Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein as a marker of prognosis and a monitor of recurrence of hepatocellular carcinoma after curative liver resection[J]. Ann Surg Oncol, 2011, Feb 20.

(收稿日期: 2011-04-07)