

## 甲胎蛋白异质体 L3 预警原发性肝癌的研究

李永利, 马洪滨, 郭静霞, 史佳彬, 徐军, 刘爱霞, 杨丽华, 李伯安, 毛远丽

**【摘要】** 目的 探讨甲胎蛋白异质体(AFP-L3)的检测在预警原发性肝癌中的作用。方法 对 100 例 AFP 升高肝病者血清,应用甲胎异质体微量离心柱分离并洗脱获得 AFP-L3,再同时检测原始血清中的 AFP 以及 AFP-L3 含量,计算 AFP-L3 在 AFP 中的比例,对 AFP-L3 异常升高者、正常者进行跟踪,结合 6 个月后临床诊断结果,分析 AFP-L3 升高在鉴别良性肝脏病变与预警肝癌中的作用。结果 肝癌、疑似肝癌患者与良性肝病者中的 AFP-L3 阳性率差异有统计学意义(分别为 81.80%、73.68%、11.80%, $P < 0.05$ )。未确诊肝癌(疑似 HCC、肝病)的患者中,AFP-L3 阳性的 21 例中有 12 例在 6 个月内被诊断为 HCC,而且有 6 例是通过 B 超、CT 等影像学手段被早期确诊的单发性小肝癌。AFP-L3 阴性的 62 例标本中,6 个月内有 3 例发生肝癌,AFP-L3 阳性发生肝癌的危险率增加了 11.9 倍。结论 AFP-L3 与 AFP 值无相关性,可以作为一个独立肝细胞癌诊断因子。AFP-L3 的测定对于 AFP 升高时良、恶性肝病的鉴别及肝癌的早期预警诊断具有重要意义。

**【关键词】** 甲胎蛋白类; 癌,肝细胞

**The studies on early warning of Lens culinaris-reactive  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP-L3) detecting in primary hepatocellular carcinoma** Li Yong-li, MA Hong-bin, GUO Jing-xia, SHI Jia-bin, XU Jun, LIU Ai-xia, YANG Li-hua, LI Bo-an, MAO Yuan-li. Center of Clinical Laboratory, The No.302 Hospital of the PLA, Beijing 100039, China

Corresponding author: LI Bo-an, E-mail: lba@263.net; MAO Yuan-li, E-mail: maoyuanlee@yahoo.com

**【Abstract】 Objective** To explore the significance of Lens culinaris-reactive  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP-L3) detection in primary hepatocellular carcinoma. **Methods** AFP-L3 was isolated by using microspin column coupled with lens culinaris agglutinin (LCA), AFP and AFP-L3 were detected with chemiluminescent immunoassay, the proportion of AFP L3 levels were calculated, and the relationship between the elevated AFP-L3 (%) levels and benign and malignant liver disease was analyzed. **Results** There were significant differences in positive rate between the patients of HCC, suspected HCC and other liver disease (81.80%, 73.68%, 11.80%, respectively,  $P < 0.05$ ). Among the undetermined HCC (suspected HCC, liver disease) patients, 12 out of 21 cases of AFP-L3 positive were diagnosed to be HCC within 6 months, and 6 of them were diagnosed to be the single small HCC at the early stage through B-Ultrasonic Diagnosis or CT. Among 62 cases of AFP-L3 negative, 3 cases were diagnosed to be HCC within 6 months and the risk of occurrence of HCC for AFP-L3 positive increased 11.9 times. **Conclusion** AFP-L3 has no correlation with AFP value, and it can be used as an independent HCC diagnosis factor. The detection of AFP-L3 has a significant implication for the identification of benign or malignant liver disease and the early stage predictive diagnosis of HCC while AFP increases.

**【Key words】** Alpha-fetoproteins; Carcinoma, hepatocellular

肝细胞癌(HCC)是世界上最常见的 10 种恶性肿瘤之一,全世界每年约有 25 万人死于本病<sup>[1]</sup>;其中我国肝癌死亡人数占全球死亡人数的 45% ~ 50%。我国的肝细胞癌绝大部分基于长期的慢性肝

炎、肝硬化,在这些高危患者中,早期发现肝癌并及时治疗可以提高 5 年生存率。甲胎蛋白(AFP)定量检测结合影像学检查是目前早期发现肝癌的主要手段,但影像学检查有时很难区分良恶性病变,如肝癌和肝硬化结节;而且对于超声成像技术,因为肝脏中肿块的尺寸至少为 3 cm 能被探测到,而这种情况通常发生在预后极差的阶段。AFP 可以在影像学发现肝癌组织之前异常升高,但是 AFP 在一些良性肝病患者中也会有不同程度的升高<sup>[1,2]</sup>,如慢性肝炎、肝

基金项目:北京市首都医学发展基金重点支持项目(2005-2038)

作者单位:100039 北京,解放军第三〇二医院临检中心

通讯作者:李伯安, E-mail: lba@263.net; 毛远丽, E-mail:

maoyuanlee@yahoo.com

硬化等,导致在高危人群中在影像学阳性之前早期预警存在困难,寻找肝癌早期诊断高特异性的鉴别指标具有重要的临床意义。

近年研究发现,良性肝病时肝细胞坏死后再生性 AFP 与恶性肝细胞产生的 AFP 在糖链结构上有差异<sup>[3]</sup>,因此根据与植物外源性凝集素亲和性不同,可对 AFP 的来源进行判断。以小扁豆凝集素(LCA)作为外源性凝集素可将 AFP 分为 LCA 非结合型 AFP(AFP-L1、AFP-L2)及 LCA 结合型 AFP(AFP-L3)。其中 AFP-L3 既通常所说的甲胎蛋白异质体,来源于恶性肝细胞。

我们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 100 例 AFP 异常升高的肝病患者的血清进行了检测,对 AFP-L3% 异常的患者、AFP-L3% 正常患者跟踪 6 个月,然后结合临床诊断,探索 AFP-L3 检测对于良恶性肝病鉴别、肝癌预警发生的临床意义,现将结果报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 以 2006 年 10 月至 2007 年 2 月解放军第三〇二医院住院患者中 AFP 阳性(20 ng/ml 以上)的 100 例患者作为研究对象,男性 78 例,女性 22 例,年龄 22 ~ 68 岁,平均年龄 50 岁。其中诊断为肝细胞癌(HCC)的 22 例;疑似 HCC 的 19 例中慢性肝炎(CH)2 例、肝硬化(LC)17 例;单纯 AFP 升高但是诊断为非肝癌的肝病患者的 59 例,其中急性肝炎(AH)1 例、慢性肝炎(CH)22 例、肝硬化(LC)36 例。诊断标准符合 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学会、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 方法 AFP-L3 亲和吸附离心管由北京热景生物技术有限公司惠赠。这种离心管内预先装有耦联了凝集素 LCA 的微球,可以特异结合 AFP-L3,经过离心洗脱后收集的洗脱液中含有 AFP-L3,然后使用罗氏 E170 仪器及配套 AFP 试剂盒对处理前样本和处理后样本进行定量检测,通过计算可获知 AFP-L3 占总 AFP 的比率。按 AFP-L3 ≥ 10% 为 AFP-L3 异常升高者。具体步骤严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 统计学处理采用 GraphPad Prism 4.0 软件进行。

2 结果

2.1 HCC、疑似 HCC、单纯 AFP 升高患者的 AFP-L3 百分含量分布 结果如图 1 所示。

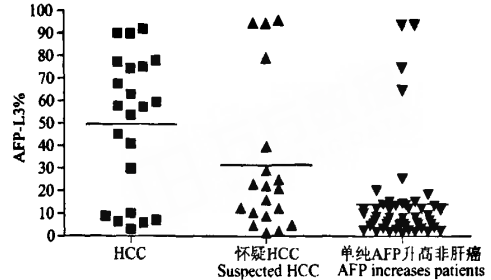


图 1 HCC、疑似 HCC 及单纯 AFP 升高患者 AFP-L3 百分含量分布  
Fig.1 Comparison of results of the AFP-L3 assays in HCC, suspected HCC and AFP increases patients

2.2 以 AFP-L3% ≥ 10 判断为阳性,不同组的 AFP-L3 阳性率 见表 1。

表 1 100 例肝病患者的 AFP-L3 阳性率

Tab.1 Comparison of the positive rate of AFP-L3 in 100 liver disease patients

诊断 Diagnosis	例数 No. of patients	阳性例数 No. of positive	阴性例数 No. of negative	阳性率(%) Positive rate
肝细胞癌 HCC	22	18	5	81.80
疑似 HCC Suspected HCC	19	14	5	73.68
非肝癌 Non-HCC 单纯 AFP 升高 AFP increases	59	7	52	11.80

2.3 AFP-L3 值与 AFP 值的关系 同时测定的 100 例 AFP-L3 值与 AFP 的关系见图 2。两者的相关系数  $r = 0.16$ ,无相关性。其中 22 例 HCC 的 AFP-L3 与 AFP 值的关系系数更低,仅为  $r = 0.11$ ,  $r_{0.005(22)} = 0.499$ ,  $P > 0.05$ 。

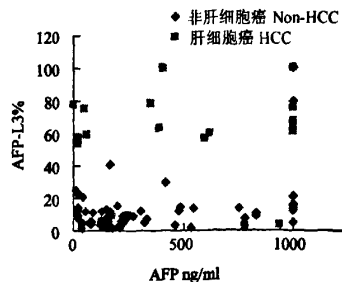


图 2 血清中的 AFP 与 AFP-L3 含量相关性比较  
(注:AFP 为稀释 2.5 倍后结果)

Fig.2 The relationship of AFP and AFP-L3

2.4 非肝癌、AFP-L3 阳性患者 6 个月后随访诊断结果见表 2。经计算在首诊为非肝癌患者中, AFP-L3 升高组与 AFP-L3 正常组比较, 6 个月后肝癌发生率相差 11.9 倍。

表 2 非肝癌阳性患者 6 个月随访诊断结果  
Tab.2 Clinical diagnosis after 6 months of AFP increases patients without HCC

临床诊断 Clinical diagnosis	AFP 阳性、AFP-L3% 异常 No. of patients of AFP and AFP-L3 increases	AFP 阳性、AFP-L3% 正常 No. of patients of AFP increases singleness
初次诊断非肝癌 Original diagnosis without HCC	21	62
6 个月后肝癌 Diagnose HCC after 6 months	12	3
肝癌发生率(%) Occur rate of HCC	57.1	4.8

3 讨论

目前临床诊断肝癌的血清标志物主要依靠 AFP, 但 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, 因此甲胎蛋白诊断肝癌只有相对特异性<sup>[4]</sup>。AFP 是一个单链糖蛋白, 不同的肝病患者产生的血清 AFP 的糖链结构不同, 根据与小扁豆凝集素亲和力不同, AFP 可以分成 3 种类型: AFP-L1 由良性病变肝细胞分泌, AFP-L2, 来自孕妇; 而 AFP-L3 则为恶性癌细胞产生, 即通常所说的甲胎蛋白异质体。AFP-L3 是肝癌诊断的高特异指标, 被称为新一代肝癌标志物<sup>[5]</sup>

AFP-L3 检测常用的方法有植物凝集素免疫交叉电泳技术, 该方法将人血清先加入含小扁豆凝集素的凝胶中电泳, 然后电转至含鼠抗人 AFP 单抗的硝酸纤维素薄膜上, 加入酶标抗体, 膜上形成免疫复合物, 加入酶催化底物用反射光扫描, 测量 AFP-L3 的百分含量。该方法技术要求高, 操作繁琐、试剂昂贵, 限制了 AFP-L3 检测在临床的应用。FDA 于 2005 年批准检测该指标应用于肝癌预警, 并把 AFP-L3 诊断肝癌的阳性界定值为 10%。如果患者血清中总 AFP 升高而 AFP-L3 所占的比例超过 10%, 肝癌发生危险率增加 7 倍<sup>[6]</sup>。

我们采用了新的一种微量离心柱法对 AFP-L3 进行分离, 该方法所采用的离心柱中装有 LCA 微球, 当血清流过时, AFP-L3 会留在离心管内, 然后离

心洗脱, 获得处理后样本, 此样本中含有 AFP-L3。采用该方法检测, HCC 患者的 AFP-L3 的阳性率显著高于其他良性肝病组, 肝癌中 AFP-L3% 异常达到 81.8%, 临床诊断良性肝病 AFP-L3% 异常比率为 11%。这种 AFP-L3 对 HCC 诊断的敏感性与朱丽影<sup>[7]</sup> 报告的很相近; 另外初次诊断为疑似 HCC、单纯 AFP 升高肝病的 AFP-L3% 阳性 21 例中, 有 12 例在 6 个月内被诊断为肝癌, 而且有 6 例通过影像学早期诊断为单发型小肝癌, AFP-L3 的测定对于 HCC 具有早期预警功能。AFP 阳性、AFP-L3% 正常的 62 例肝病患者在在接下来的 6 个月内有 3 例发展成肝癌, AFP-L3% 异常对于肝癌发生危险率提高了 13.1 倍。肝癌早期诊断并及时治疗可以显著提高 5 年生存率, 可见 AFP-L3% 检测对于 AFP 升高的良性肝病预警肝癌具有重要意义。

一般情况下认为, 血清中的 AFP 如果长期的保持一定的高值以及 AFP 升高程度的增加, 诊断为肝癌的可能性也随之增高。但是本研究结果表明 AFP-L3 值与 AFP 无相关性, 与国外报道一致。可见 AFP-L3 是独立的 HCC 诊断因子。

此外, 在临床主诊断为非肝癌(疑似肝癌患者、单纯 AFP 升高肝病)并且 AFP-L3 呈阳性的 21 例患者中, 有 9 例在 6 个月内 CT 影像学仍旧未发现癌变, FDA 有关研究认为 AFP-L3 可以提前 21 个月预警<sup>[6]</sup>, 根据 AFP-L3% 的预警作用, 不排除其在近期罹患肝癌的可能, 目前尚在临床观察中。

4 参考文献

- [1] 青柳豊. 肿瘤标志物的临床诊断意义及展望——甲胎蛋白 (AFP) L3 组分. 日本医学介绍, 2005, 26: 49-50.
- [2] Hu KQ, Kyulo NL. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma. Am J Gastroenterol. 2004, 99: 860-865.
- [3] Yoshida S, Kurokohchi K, Arims K, et al. Clinical significance of lens culinaris agglutinin-lectin fraction of serum alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma. Int J Oncol, 2002, 20: 105-111.
- [4] 王永忠, 罗立波, 吴国祥, 等. 微量离心柱分离检测甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 及其临床意义. 中华实验和临床病毒学杂志, 2007, 21: 135-137.
- [5] Li D, Mallory T. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma. Clin Chim Acta, 2001, 313: 15-19.
- [6] FDA. Class II Special Controls Guidance Document: AFP-L3% Immunological Test Systems Document Issued on October 4, 2005.
- [7] 朱丽影. 甲胎蛋白异质体 AFP-L3 测定的临床意义. 铁道医学杂志, 1999, 27: 77-79.

(收稿日期: 2008-02-12)