

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00407

甲胎蛋白异质体 AFP-L3 对肝癌切除术后复发的判断价值

张宗勤^{1,2}, 艾莉^{1,3}, 张小峰¹, 钱海华², 殷正丰², 施乐华^{1*}

1. 第二军医大学东方肝胆外科医院肝外四科, 上海 200438
2. 第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤实验室, 上海 200438
3. 空军 94826 部队医院门诊部, 上海 200433

[摘要] **目的** 通过分析肝癌患者术前、术后血清甲胎蛋白(AFP)及其糖链异质体 AFP-L3 含量的变化, 了解和评价 AFP-L3 对肝癌切除术后复发判断的价值。**方法** 2007年1月至12月接受首次肝细胞癌切除术的患者67例, 详细记录其临床资料, 同步连续测定手术前后患者血清 AFP 和 AFP-L3 含量, 并进行长期复查和随访。**结果** 全组1、2、3年总体复发率分别为23.9%(16/67)、38.8%(26/67)和50.7%(34/67)。患者术前血清 AFP-L3 含量与血清 AFP 水平之间无相关性($r_s=0.176, P=0.155$)。患者术前血清 AFP-L3 含量与肿瘤复发之间呈正相关($r_s=0.327, P=0.007$), 而 AFP 含量与肿瘤复发之间相关性尚不明确($r_s=0.240, P=0.051$)。**结论** AFP-L3 与肝癌的复发有关联, 对肝癌的复发判断有较高的价值, 可为临床医生判断肝癌疗效提供有用的信息。

[关键词] 甲胎蛋白类; 甲胎蛋白异质体 L3; 肝肿瘤; 肝细胞癌; 复发

[中图分类号] R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)04-0407-04

Value of serum AFP-L3 in predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy

ZHANG Zong-qin^{1,2}, AI Li^{1,3}, ZHANG Xiao-feng¹, QIAN Hai-hua², YIN Zheng-feng², SHI Le-hua^{1*}

1. The 4th Department of Hepatic Surgery, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China
2. Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China
3. Department of Outpatient, Hospital of No. 94826 Troup of PLA Air Force, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To identify the changes of serum alpha-fetoprotein (AFP) and AFP-L3 levels after surgical resection of hepatocellular carcinoma (HCC), so as to evaluate the role of AFP-L3 in predicting post-operative HCC recurrence. **Methods** A total of 67 HCC patients who received surgical resection from Jan. 2007 to Dec. 2007 were enrolled in the present study. The detailed clinical data were obtained for each patient. Pre- and post-operative serum AFP and AFP-L3 levels were measured continuously, and patterns of their post-operative changes were followed up for a long-term period. **Results** The overall 1-, 2- and 3-year recurrence rates of the patients were 23.9% (16/67), 38.8% (26/67) and 50.7% (34/67), respectively. There was no relationship between serum AFP and AFP-L3 level before operation ($r_s=0.176, P=0.155$). The pre-operation serum AFP-L3 level was significantly correlated with tumor recurrence ($r_s=0.327, P=0.007$), but the relation between pre-operation serum AFP level and tumor recurrence was not clear yet ($r_s=0.240, P=0.051$). **Conclusion** Serum AFP-L3 level is associated with HCC recurrence and therefore valuable for predicting HCC recurrence; it can provide clinicians with more information for judging the therapeutic efficacy of HCC patients.

[Key words] alpha-fetoproteins; alpha-fetoprotein-L3; liver neoplasms; hepatocellular carcinoma; recurrence

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(4):407-410]

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是我国常见的恶性肿瘤之一, 不仅死亡率高, 而且其发病率有增加的趋势, 早期诊断和早期治疗对改善患者的生存率具有重要意义^[1]。甲胎蛋白(alpha-fe-

[收稿日期] 2012-12-17 **[接受日期]** 2013-02-04

[基金项目] 国家传染病重大专项基金(2008ZX10002-021)。Supported by National Key Project for Infectious Disease of China (2008ZX10002-021)。

[作者简介] 张宗勤, 硕士生。E-mail: zhangzqx@yahoo.cn

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81875241, E-mail: slhehbh@126.com

toprotein, AFP)作为肝癌标记物用于肝癌诊断和疗效评价,已在临床上沿用多年,但仍有30%左右的患者呈阴性或低度阳性,给HCC诊断带来一些困难^[2]。近年来研究显示,对AFP糖链异质体AFP-L3测定不仅在良、恶性肝病的鉴别诊断及HCC的早期诊断方面比测定AFP更具特异性,而且AFP-L3与HCC转移复发有关,可作为一个独立的预后指标^[3]。但是,HCC经手术切除术后血清AFP-L3的变化与术后肝癌复发的关系则鲜为人知。我们检测了67例患者在HCC切除术前与术后血清AFP和AFP-L3含量的变化,试图了解和评价AFP-L3对肝癌切除术后复发判断的价值,探讨其临床意义。

1 材料和方法

1.1 研究对象 2007年1月至12月在第二军医大学东方肝胆外科医院肝外四科行首次肝癌手术切除并经病理证实为HCC的患者67例,入组的67例患者符合以下条件:(1)术前第一次经B超、CT和(或)MRI诊断为肝癌,无肝外转移灶;(2)术前未发现由肝外病因(如妇女妊娠、肝外恶性疾患等)引起血清AFP含量升高的证据;(3)术前未接受任何化疗、放疗和其他治疗;(4)首次行肝癌切除术,根治性手术切除距肿瘤边缘至少1cm以上,边缘无癌细胞。所有病例均经手术和病理学检查明确诊断。除临床常规检查外,还详细记录患者年龄、性别、病程、肝炎及肝硬化史、血清AFP含量、病毒标记物(HBsAg和HCVAb)、B超与CT和(或)MRI结果、临床分期、临床分级等。此项研究通过东方肝胆外科医院伦理委员会批准。

1.2 方法及诊断标准 术前测定患者血清AFP含量和AFP-L3百分含量。血清AFP含量测定采用放射免疫法,参照有关HCC的诊断标准:AFP<20 μg/L为阴性,≥20且<400 μg/L为低度阳性,≥400 μg/L为强阳性。采用改良的凝集素亲和电泳自显影法测定血清AFP-L3百分含量^[4],检测试剂盒由第二军医大学东方肝胆外科医院自制。根据与凝集素亲和力的差异,可将AFP分成结合型AFP和非结合型AFP,最后根据沉淀峰的面积计算结合力不同组分的百分比。凡AFP-L3(凝集素结合型AFP)>10%,即判断为AFP-L3阳性^[5]。

1.3 术后随访与复发的确定 随访内容包括临床检查、肝功能、肿瘤标记物测定、AFP-L3测定、B超

检查,2个月内每1~2周检查1次,6个月内每1~2个月检查1次,之后每4~6个月检查1次,可疑复发病例进一步做CT和(或)MRI检查。根据B超、CT、MRI等多种影像学检查结果并结合血清AFP和AFP-L3的检测数据判断肿瘤是否复发。通过骨扫描、胸部X线、腹部CT或MRI检查结果确定肿瘤是否发生远处转移。复发时间是指从第一次肿瘤切除术到发现复发之间的时间。患者肿瘤复发转移为无瘤生存的随访终点,患者死亡为随访总体生存终点。最后检查或随访时间到2011年12月截止。详细记录随访期内的肿瘤复发时间、复发部位等情况,随访时间3~46个月。

1.4 统计学处理 采用SPSS 15.0软件对数据进行统计学分析,计数资料的比较采用χ²检验,血清AFP-L3含量、血清AFP含量与肿瘤复发之间的关系采用Spearman相关分析,检验水平(α)为0.05。

2 结果

2.1 患者一般特征 67例患者中男性59例,女性8例;年龄13~74岁,中位年龄50岁;血清HBsAg阳性61例,HCVAb阳性1例;合并肝硬化53例。Child分级:A级57例,B级6例,C级4例;肿瘤直径1.6~15.2cm,其中≤3cm者16例,>3cm且≤5cm者32例,>5cm者19例;肿瘤数量1个、2个和≥3个者分别为47、14和6例。其他相关指标见表1。术后随访4年内共有41例患者复发,其中2例为肝外复发。随访1、2、3年的总体复发率分别为23.9%(16/67)、38.8%(26/67)、50.7%(34/67)。

表1 患者的部分临床特征

Tab 1 Partial clinical data of patients

N=67	
Variable	Median (25 th -75 th percentiles)
Age (year)	50(43-57)
TbIL c _B /(μmol·L ⁻¹)	23.5(12.3-31.1)
Alb p _B /(g·L ⁻¹)	41.0(39.0-43.5)
ALT z _B /(IU·L ⁻¹)	86.9(32.3-99.0)
AST z _B /(IU·L ⁻¹)	84.7(31.2-94.1)
Platelet count (×10 ⁹ , L ⁻¹)	139.9(99.0-166.0)

TbIL: Total bilirubin; Alb: Albumin; ALT: Alanine aminotransterase; AST: Aspartate aminotransterase

2.2 肝癌切除术前血清AFP与AFP-L3含量 患者术前血清AFP含量为3.3~1 210.00 μg/L,其中<20 μg/L 17例,≥20且<400 μg/L 30例,≥400 μg/L

20 例, 分别占总体的 25.4%、44.8%、29.8%。血清 AFP-L3 阳性 44 例, 阳性率为 65.7%。相关性分析表明, 本组患者术前血清 AFP-L3 含量与血清 AFP 水平之间无相关性($r_s=0.176, P=0.155$)。

2.3 血清 AFP、AFP-L3 含量与肿瘤复发的关系 肝癌切除术后随访期间有 41 例患者肿瘤复发(表 2), 其中 5 例术后复发者术前、术后 AFP 和 AFP-L3 均阴性, 经影像学检查证实复发。44 例术前 AFP-L3 阳性患者中有 12 例术后转阴, 随访期间未见复发; 另 32 例患者术后或随访一段时间后由阴性转为阳性, 并经证实术后复发, 其中 2 例测定为阳性的病例影像学检查未发现阳性病变, 经反复复查追踪, 于术后 10、14 个月经 CT 检查发现复发。另 1 例患者术前 AFP 低度阳性、AFP-L3 阴性, 术后 AFP 持续 $<400 \mu\text{g/L}$ 、AFP-L3 阳性, B 超、CT 均未发现阳性病变, 经抗病毒治疗后 AFP-L3 转阴, 随访期间未见复发。由图 1 可见, 患者术前血清 AFP-L3 的含量与肿瘤复发

之间呈正相关($r_s=0.327, P=0.007$), 而 AFP 与肿瘤复发之间相关性尚不明确($r_s=0.240, P=0.051$)。

表 2 患者术前血清 AFP 和 AFP-L3 含量与肿瘤复发的关系

Tab 2 Correlation of pre-operation serum AFP-L3 and AFP contents with tumor recurrence in HCC patients

Variable	N	Recurrence	Non-recurrence	χ^2	P
AFP-L3				7.18	0.007
Positive	44	32(72.7)	12(27.3)		
Negative	23	9(39.1)	14(60.9)		
AFP $\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$				3.97	0.137
<20	17	7(41.2)	10(58.8)		
20-400	30	21(70.0)	9(30.0)		
≥ 400	20	13(65.0)	7(35.0)		
Total	67	41(61.2)	26(38.8)		

AFP: Alpha-fetoprotein; AFP-L3: Alpha-fetoprotein L3; HCC: Hepatocellular carcinoma

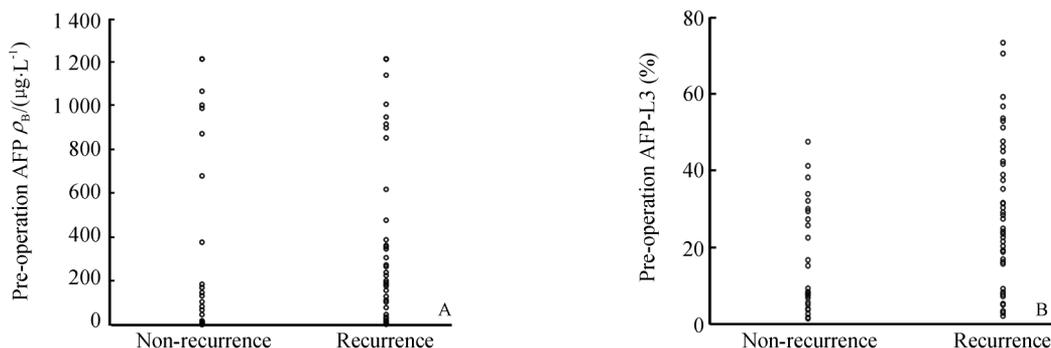


图 1 患者术前血清 AFP(A)和 AFP-L3(B)含量与肿瘤复发的关系图

Fig 1 Scatter plots of pre-operation serum AFP (A) and AFP-L3 (B) contents with tumor recurrence in HCC patients

AFP: Alpha-fetoprotein; AFP-L3: Alpha-fetoprotein L3; HCC: Hepatocellular carcinoma. Estimation was limited to the $\text{AFP} \leq 1\,210.00 \mu\text{g/L}$, because the $\text{AFP} > 1\,210.00 \mu\text{g/L}$ was not calculated

3 讨论

HCC 是我国常见的恶性实体瘤之一, 尽管近年来随着肿瘤诊断与治疗技术的不断发展, HCC 患者的平均生存期已有所延长, 但其预后仍然较差, 并没有从根本上改变肝癌高死亡率状况^[1]。AFP 是一个人们熟知的 HCC 标记物, 已被广泛地用于肝癌的临床诊断以及对各种治疗的反应监测^[2]。但是, AFP 作为 HCC 标记物存在非特异性问题, 仍有 30% 左右的 HCC 患者呈 AFP 阴性或低度阳性^[6]; AFP 与肝癌的大小、病理类型、血管浸润和复发转移间无明显相关性^[7], 我们在本研究中也观察到肝

癌根治性切除后, 有些患者血清 AFP 含量变化与疗效并不一致。比如, 尽管术后血清 AFP 未转阴, 但肝内未见转移、癌栓及残癌, 随访期间未见肝癌复发。因此, 仅仅根据 AFP 含量变化来判断预后和术后肝癌复发并不能真实反映疗效和病情。

AFP 是一种糖蛋白分子, 其糖链结构存在异质性。经小扁豆凝集素(LCA)亲和电泳, AFP 可分成 3 个条带, 根据电泳迁移率大小依次取名为 AFP-L1、AFP-L2 和 AFP-L3。AFP 糖链合成与降解过程是在细胞内经糖基转移酶和(或)水解酶协同作用而完成的。肝癌发生时 AFP 糖链结构可产生异质性, 与良性肝病产生的糖链结构存在显著差异, 具有

肝癌专一性,因而作为肝癌标记物,比 AFP 定量具有更高的特异性^[3]。研究表明,AFP-L3 的测定不仅在良恶性肝病的鉴别诊断及 HCC 的早期诊断方面比 AFP 测定更有价值,而且可以作为一个独立的预后指标^[8]。

本研究测定和随访了 67 例行肝癌切除术患者的血清 AFP 和 AFP-L3,结果未见术前 AFP-L3 与 AFP 含量之间有明显相关性;但是 AFP-L3 与肿瘤复发有关联,对肿瘤的复发判断有更高的价值。同时,我们还发现 2 例患者按术后 AFP-L3 阳性结果来判断复发病灶较影像学检测早 10 和 14 个月。Sato 等^[9]通过对慢性肝病患者的前瞻性研究发现,AFP-L3 升高能较影像学发现肝癌特征性占位病变早 3~18 个月。可见,术后复查 AFP-L3,特别是对 AFP 持续低度阳性病例,有助于早期预警肝癌的复发。但是,本研究中 1 例伴有活动性乙型肝炎的患者术前 AFP-L3 阴性术后转为阳性,AFP 持续低度阳性,而影像学缺乏肝癌复发的证据,行抗病毒治疗后 AFP-L3 转阴。提示对于这类 AFP-L3 假阳性的患者诊断较为困难时,可先排除是否合并有活动性肝炎。

我们先前的研究发现肝癌患者血清 AFP-L3 含量升高与外周血循环中存在的肝癌细胞有关^[10]。而且 AFP-L3 还与肝癌恶性程度有关,特别是门脉侵犯和肿瘤分化程度,并且 AFP-L3 的含量与肝癌复发率、生存率有关,但 AFP 浓度与恶性特征和预后无明显关系^[11-13]。加上 AFP-L3 是以百分含量表示,与 AFP 浓度及其半衰期无关,这就决定了 AFP-L3 在肝癌切除后具有与 AFP 不同的变化特点,这些特点能更真实地反映肿瘤存在与否。因此,我们认为对于 HCC 尤其是 AFP 低度阳性的患者,临床上检测 AFP-L3 并于术后定期复查以动态观察其变化,对早期发现肝癌和判断其复发较有意义,并可作为临床医生判断肝癌疗效提供更多有用的信息;但对于 AFP 阴性或 AFP 强阳性并已有肝癌影像学特征性占位病变证据的患者则不主张进行 AFP-L3 测定。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Rahbari N N, Mehrabi A, Mollberg N M, Müller S A, Koch M, Büchler M W, et al. Hepatocellular carcinoma:

current management and perspectives for the future [J]. *Ann Surg*, 2011, 253: 453-469.

[2] Spangenberg H C, Thimme R, Blum H E. Serum markers of hepatocellular carcinoma [J]. *Semin Liver Dis*, 2006, 26: 385-390.

[3] 殷正丰. 甲胎蛋白异质体作为肝癌标志物的临床应用 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2004, 19: 1-4.

[4] 钱海华, 虞紫茜, 康晓燕, 殷正丰. 应用改良的凝集素亲和免疫电泳自显影法检测甲胎蛋白异质体 [J]. *上海医学检验杂志*, 2003, 18: 78-80.

[5] Marrero J A, Feng Z, Wang Y, Nguyen M H, Befeler A S, Roberts L R, et al. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137: 110-118.

[6] Marrero J A, Lok A S. Newer markers for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127 (5 Suppl 1): S113-S119.

[7] Qin L X, Tang Z Y. Recent progress in predictive biomarkers for metastatic recurrence of human hepatocellular carcinoma: a review of the literature [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004, 130: 497-513.

[8] Li D, Mallory T, Satomura S. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Chim Acta*, 2001, 313(1-2): 15-19.

[9] Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein [J]. *N Engl J Med*, 1993, 328: 1802-1806.

[10] 康晓燕, 殷正丰, 钱海华, 吴宗娣, 虞紫茜, 吴孟超. 肝癌患者外周血甲胎蛋白异质体和转录物含量的相关分析 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2003, 11: 17-19.

[11] Oka H, Saito A, Ito K, Kumada T, Satomura S, Kasugai H, et al. Multicenter prospective analysis of newly diagnosed hepatocellular carcinoma with respect to the percentage of Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16: 1378-1383.

[12] Sterling R K, Jeffers L, Gordon F, Sherman M, Venook A P, Reddy K R, et al. Clinical utility of AFP-L3% measurement in North American patients with HCV-related cirrhosis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102: 2196-2205.

[13] Zhang X F, Yin Z F, Wang K, Zhang Z Q, Qian H H, Shi L H. Changes of serum alpha-fetoprotein and alpha-fetoprotein-L3 after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: prognostic significance [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2012, 11: 618-623.