

• 论 著 •

血清 AFP、AFP-L3、HSP90α 表达水平在肝细胞癌诊断中的价值

段 云,杨颖卓,杨 雯,王 乔,徐蓉生[△]

四川省肿瘤医院核医学科,四川成都 610041

摘 要:**目的** 探讨血清中肿瘤标志物甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体(AFP-L3)及热休克蛋白 90a(HSP90α)单独及联合检测在肝细胞癌(HCC)诊断中的临床价值。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2019 年 10 月在该院住院治疗的 HCC 患者 191 例(观察组)作为研究对象,另选取同期的肝硬化(LC)患者 28 例作为对照组。各组血清 AFP、AFP-L3、HSP90α 进行检测比较,并采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析其在 HCC 诊断中的价值。**结果** 对照组天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平高于观察组,对照组清蛋白水平低于观察组,差异均有统计学意义($P<0.05$);两组肿瘤标志物 AFP、AFP-L3、HSP90α 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。AFP、AFP-L3、HSP90α 诊断 HCC 时,AFP+AFP-L3+HSP90α 联合检测诊断能力最佳。AFP-L3 是区分 HCC 早期和 LC 特异度较高的指标。AFP、AFP-L3、HSP90α 水平随着 HCC 的巴塞罗那临床肝癌分期发展,ROC 曲线下面积越大,诊断能力越明显。**结论** 血清 AFP、AFP-L3、HSP90α 联合检测对 HCC 的诊断具有较高的临床价值。

关键词: 甲胎蛋白; 甲胎蛋白异质体; 热休克蛋白 90a; 肝细胞癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.05.017 **中图法分类号:**R735.7

文章编号:1673-4130(2021)05-0590-04 **文献标志码:**A

The value of serum AFP,AFP-L3 and HSP90α in the diagnosis of hepatocellular carcinoma

DUAN Yun,YANG Yingzhuo,YANG Wen,WANG Qiao,XU Rongsheng[△]

Department of Nuclear Medicine,Sichuan Cancer Hospital,Chengdu,Sichuan 610041,China

Abstract: Objective To investigate the clinical value of alpha-fetoprotein(AFP),alpha-fetoprotein L3(AFP-L3) and heat shock protein 90a(HSP90α) in the diagnosis of hepatocellular carcinoma(HCC). **Methods** A total of 191 HCC patients(observation group) hospitalized in a hospital from January 2017 to October 2019 were selected as the study subjects,and 28 patients with liver cirrhosis(LC) during the same period were selected as the control group. The serum AFP,AFP-L3 and HSP90α were detected and compared in each group,and the value of the serum AFP,AFP-L3 and HSP90α in the diagnosis of HCC was analyzed by receiver operating characteristic curve(ROC curve). **Results** The levels of aspartate aminotransferase and total bilirubin in the control group were higher than those in the observation group,and the albumin levels in the control group were lower than those in the observation group,with statistical significance($P<0.05$). There were statistically significant differences in the levels of tumor markers AFP,AFP-L3 and HSP90α between the two groups($P<0.05$). AFP+AFP-L3+HSP90α had the best diagnostic ability when AFP,AFP-L3 and HSP90α were used in the diagnosis of HCC. AFP-L3 was a high specificity index to distinguish early HCC from LC. The levels of AFP,AFP-L3 and HSP90α developed with the stages of barcelona clinic liver cancer of HCC,and the larger the area under the ROC curve,the more obvious the diagnostic ability. **Conclusion** The combined detection of serum AFP,AFP-L3 and HSP90α has high clinical value in the diagnosis of HCC.

Key words: alpha-fetoprotein; alpha-fetoprotein L3; heat shock protein 90a; hepatocellular carcinoma

肝细胞癌(HCC)在全球癌症病死率中排第 4 位, 占有所有癌症死亡人数的 8.2%,在国内其主要风险因素是乙型肝炎病毒(HBV)^[1-3]。HCC 筛选是基于血清甲胎蛋白(AFP)及成像技术和组织学,在临床实践中许多医生使用 AFP 来诊断肝癌,但是多达 40%的 HCC 患者中 AFP 水平是正常的,尤其是在疾病的早

期阶段,这表明其灵敏度较低^[4]。甲胎蛋白异质体(AFP-L3)能区分由于 HCC 或良性肝病引起的 AFP 升高,AFP-L3 更特异性地诊断 HCC^[5-6]。热休克蛋白 90(HSP90)是进化上高度保守的细胞内分子伴侣,通常在细胞应激反应中被诱导。HSP90 家族由 4 个主要成员 HSP90α、HSP90β、Grp94 和 TRAP1 组成。

作者简介:段云,男,副主任医师,主要从事肿瘤免疫方面研究。 [△] 通信作者,E-mail:18908178890@163.com。

本文引用格式:段云,杨颖卓,杨雯,等.血清 AFP、AFP-L3、HSP90α 表达水平在肝细胞癌诊断中的价值[J].国际检验医学杂志,2021,42(5): 590-593.

HSP90 α 和 HSP90 β 主要位于细胞质中,其他两种蛋白质分别主要位于内质网和线粒体基质中。由于 HSP90 α 在调节信号传导,特别是在肿瘤细胞中的关键作用,已成为研究热点^[7]。许多研究探讨肿瘤标志物 AFP、AFP-L3 在诊断 HCC 中的价值,但 HCC 与肝硬化(LC)患者的肿瘤标志物之间比较却较少报道^[7-9]。本文通过对 HCC 患者与 LC 患者的肿瘤标志物 AFP、AFP-L3、HSP90 α 及其联合检测的灵敏度、特异度等进行检测,并探讨上述 3 个肿瘤标志物在 HCC 诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2019 年 10 月在本院住院治疗的 HCC 患者 191 例(观察组)作为研究对象,其中男 158 例、女 33 例,年龄 27~84 岁,平均(54.82 $\pm$ 12.27)岁。纳入标准:(1)均经病理证实 HCC;(2)无其他重要功能障碍。排除标准:(1)不符合纳入标准;(2)转移性肝癌;(3)合并有其他恶性肿瘤;(4)处于妊娠期或哺乳期的女性。另选取同期的 28 例 LC 患者作为对照组,根据组织学检查或门脉高压检测结果诊断 LC,对照组患者接受了影像学检查(MRI、B 超和 CT)已排除 HCC。所有患者均检查了其临床症状及血清肿瘤标志物水平。另外,在诊断时没有患者接受任何抗肿瘤治疗或手术切除治疗。临床特征是从电子记录中获得的。根据巴塞罗那临床肝癌(BCLC)分期对患者进行分类,分为 BCLC-A 期(早期,包含最早期 0 期)、BCLC-B 期(中期)、BCLC-C 期(晚期)、BCLC-D 期(终末期)^[8]。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法 所有受检者清晨空腹抽取静脉血 3 mL,分离血清,采用罗氏诊断医疗设备(上海)有限公司 cobas e 411 全自动化学发光免疫仪测定 AFP、AFP-L3 水平,如果样品的 AFP、AFP-L3>1 210 ng/mL,则根据制造商的说明根据先前的结果手动稀释原始样品。采用烟台普罗吉生物科技发展有限公司酶联免疫吸附试验测定 HSP90 α 水平。所用检测试剂均为相应配套试剂,严格按照说明书操作。各指标的正常参考范围:AFP 0~7 ng/mL、AFP-L3<1 ng/mL 为阴性,AFP-L3 $\geq$ 1 000 ng/mL 为阳性,其余由 AFP-L3/AFP 比值判定,HSP90 α <82.06 ng/mL。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布的计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,各指标组间比较采用 t 检验或秩和检验。比较肿瘤标志物的灵敏

度、特异度等,并进行受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床病理特征和肿瘤标志物水平比较 两组病因学中 HBV、酒精、原因不明、丙型肝炎病毒(HCV)占比比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。对照组天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)水平高于观察组,对照组清蛋白(ALB)水平低于观察组,差异均有统计学意义($P<0.05$);两组丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组肿瘤标志物 AFP、AFP-L3、HSP90 α 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 肿瘤标志物 AFP、AFP-L3 和 HSP90 α 的诊断 HCC 价值比较 3 种肿瘤标志物的 ROC 曲线分析结果显示,AFP+AFP-L3+HSP90 α 联合检测诊断 HCC 的曲线下面积(AUC)最大,高于各项指标单独检测。见表 2、图 1。在 191 例 HCC 患者中 BCLC-A 期 96 例(50.26%),BCLC-B 期 52 例(27.23%),BCLC-C 期 34 例(17.80%),BCLC-D 期 9 例(4.71%)。

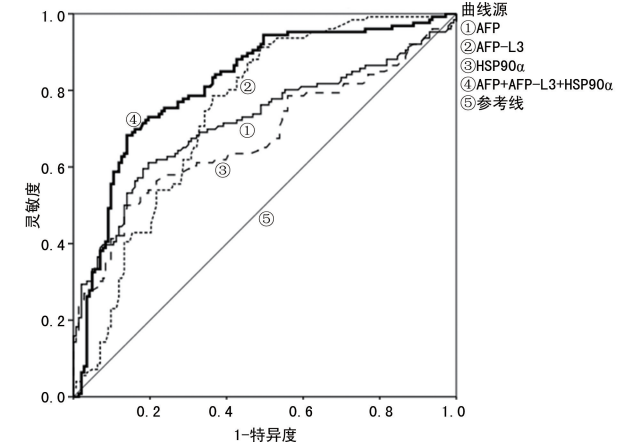


图 1 肿瘤标志物的 AUC 值比较

2.3 各肿瘤标志物对 HCC 患者 BCLC 分期的诊断能力比较 血清 AFP-L3 诊断 HCC 患者 BCLC-A 期的 AUC 最大,高于其他指标。3 个肿瘤标志物在 BCLC-A 期中 HSP90 α 灵敏度最高,AFP-L3 特异度最高,见表 3。ROC 曲线分析评估 AFP、AFP-L3、HSP90 α 在确定 HCC 患者 BCLC 各分期与 LC 的诊断效率,AFP、AFP-L3、HSP90 α 诊断 BCLC-D 期的 AUC 大于 BCLC-C 期 AUC;AFP、AFP-L3、HSP90 α 诊断 BCLC-C 期的 AUC 大于 BCLC-B 期 AUC;AFP、AFP-L3、HSP90 α 诊断 BCLC-B 期的 AUC 大于 BCLC-A 期 AUC,见图 2。

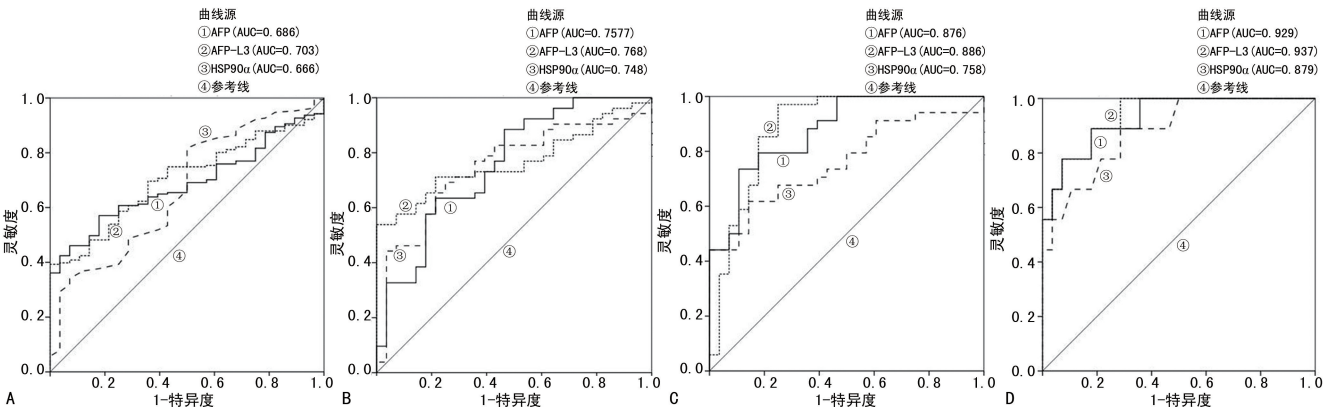
表 1 各组患者临床病理特征和肿瘤标志物水平比较

项目	合计(n=219)	观察组(n=191)	对照组(n=28)	P
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	53.89 $\pm$ 12.32	54.82 $\pm$ 12.27	47.50 $\pm$ 10.94	0.02
性别[n(%)]				
男	182(83.11)	158(82.72)	24(85.71)	<0.001

续表 1 各组患者临床病理特征和肿瘤标志物水平比较				
项目	合计(<i>n</i> =219)	观察组(<i>n</i> =191)	对照组(<i>n</i> =28)	<i>P</i>
女	37(16.89)	33(17.28)	4(14.29)	<0.001
病因学[<i>n</i> (%)]				
HBV	93(42.47)	82(42.93)	9(32.14)	<0.001
酒精	76(34.70)	64(33.51)	13(46.43)	<0.001
原因不明	41(18.72)	37(19.37)	5(17.88)	<0.001
HCV	9(4.11)	8(4.19)	1(3.57)	<0.001
实验室指标				
ALT($\bar{x}\pm s$, U/L)	71.87±36.71	71.55±35.72	74.06±43.59	0.773
AST($\bar{x}\pm s$, U/L)	49.00±24.84	47.25±24.00	60.92±27.55	0.018
TBIL($\bar{x}\pm s$, μmol/L)	25.42±13.82	24.09±13.04	34.46±15.75	0.002
ALB($\bar{x}\pm s$, g/L)	39.97±26.14	40.83±27.46	34.07±13.00	0.036
肿瘤标志物[ng/mL, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]				
AFP	45.42(9.64, 1 992.16)	71.54(11.49, 2 295.16)	14.91(7.05, 32.83)	<0.001
AFP-L3	9.89(1.24, 349.49)	16.41(2.05, 606.23)	1.03(0.73, 5.38)	0.008
HSP90α	94.01(49.30, 177.60)	100.40(53.10, 195.60)	55.03(38.16, 90.98)	<0.001

表 2 AFP、AFP-L3、HSP90α 诊断 HCC 价值的 ROC 曲线分析						
项目	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	AUC(95%CI)	标准误差	<i>P</i>
AFP	61.90	76.92	0.388 3	0.721(0.663~0.774)	0.0321	<0.000 1
AFP-L3	51.05	91.27	0.423 2	0.744(0.688~0.795)	0.0301	<0.000 1
HSP90α	50.00	86.01	0.360 1	0.676(0.616~0.731)	0.0399	<0.000 1
AFP+AFP-L3+HSP90α	68.25	86.11	0.542 7	0.817(0.765~0.861)	0.0266	<0.000 1

表 3 AFP、AFP-L3、HSP90α 诊断 HCC 患者 BCLC-A 分期的 ROC 曲线分析						
项目	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	AUC(95%CI)	标准误差	<i>P</i>
AFP	57.07	82.14	0.392 1	0.686(0.620~0.747)	0.040 0	<0.000 1
AFP-L3	39.27	96.46	0.392 7	0.703(0.638~0.763)	0.041 3	<0.000 1
HSP90α	81.68	50.00	0.316 8	0.666(0.600~0.728)	0.054 4	0.006 4



注:A为BCLC-A期HCC与LC的ROC曲线分析;B为BCLC-B期HCC与LC的ROC曲线分析;C为BCLC-C期HCC与LC的ROC曲线分析;D为BCLC-D期HCC与LC的ROC曲线分析。

图 2 ROC 曲线分析

3 讨 论

慢性乙型肝炎被认为是 LC 和 HCC 的主要原 因^[9-10]。GIANNINI 等^[11]研究了肝癌患者 AFP 升高的决定因素,这项研究表明,病毒性感染与肝癌患者

的 AFP 升高独立相关。本研究中, HCC 患者与对照患者之间的感染可能是由 HBV 引起的。

以前研究证实了 AFP、AFP-L3 作为检测 HCC 的肿瘤标志物的价值, 而且 LC 患者中 AFP、AFP-L3 的升高是发展为 HCC 的危险因素^[12-14]。HSP90 α 被广泛识别为具有调节致癌蛋白的构象、稳定性和功能的作用, 并且它参与细胞增殖、凋亡、细胞周期进程、迁移和侵袭, 在 HCC 细胞、血清和组织中的高表达, 与肝癌转移行为之间有一定的相关性^[15]。

本研究中发现 AFP-L3 是区分 HCC 和 LC 的最佳肿瘤标志物, 与单独检测肿瘤标志物相比, AFP+AFP-L3+HSP90 α 联合检测的诊断价值明显更高, 可提高 LC 患者 HCC 的诊断准确性, 与其他研究报道结果一致^[16]。因此, 推测血清 AFP+AFP-L3+HSP90 α 联合检测有助于区分诊断 HCC 和 LC。本研究中联合检测诊断性能不高可能是与 LC 患者比较, 且部分 LC 患者的 AFP、HSP90 α 水平升高有关。

本研究中, 研究者重点比较 3 个肿瘤标志物对 LC 和 BCLC-A 期 HCC 的诊断能力, 3 个肿瘤标志物在 BCLC-A 期中 HSP90 α 灵敏度最高, AFP-L3 特异度最高, 与先前的研究结果一致^[5-6], AFP-L3 水平能区分肝脏良性病变与 HCC 的 BCLC-A 期病变。此外, 本研究分析了血清 AFP、AFP-L3 和 HSP90 α 水平与 BCLC 分期比较, 随着其 BCLC 分期发展, AUC 值越来越大, 诊断能力越来越明显。

近年来诊断 HCC 的肿瘤标志物较多, 除了常见 AFP、AFP-L3 外, 还有异常凝血酶原、骨桥蛋白等对其诊断有帮助^[17]。文献^[17]还建议在良性结节对 HCC 的鉴别诊断中, AFP-L3 比单独使用 AFP 更有用, 同时对于 LC 患者, 建议采用动态 CT 或动态 MRI 进行检测。本研究有一些不足: 它为回顾性设计, 数据在单个中心获得, 研究人群小, 入组患者病因学占比不同。

AFP、AFP-L3 和 HSP90 α 肿瘤标志物联合检测可提高 HCC 诊断性能, 在 BCLC-A 期 AFP-L3 是区分 HCC 和 LC 病变较好的指标, 随着其 BCLC 分期的发展, 肿瘤标志物 AFP、AFP-L3 和 HSP90 α 的诊断能力越明显。

参考文献

- [1] YIN L, HE N, CHEN C, et al. Identification of novel blood-based HCC-specific diagnostic biomarkers for human hepatocellular carcinoma[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 1908-1916.
- [2] NIENDORF E, SPILSETH B, WANG X, et al. Contrast enhanced MRI in the diagnosis of HCC[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2015, 5(3): 383-398.
- [3] NICOLINI L A, ORSI A, TATARELLI P, et al. A global view to HBV chronic infection: evolving strategies for diagnosis, treatment and prevention in immunocompetent

- individuals[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(18): 3307.
- [4] BENSON A B, D'ANGELICA M I, ABBOTT D E, et al. NCCN guidelines insights: hepatobiliary cancers, version 1. 2017[J]. *J Ntl Compr Can Netw*, 2017, 15(5): 563-573.
- [5] LIU Y M, CAO Y, CAI W C, et al. Combined detection of AFP-L3, GP73 and TIP30 enhances diagnostic accuracy for HBV-related cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. *J Pak Med Assoc*, 2019, 69(9): 1279-1286.
- [6] LIM T S, KIM D Y, HAN K H, et al. Combined use of AFP, PIVKA- II , and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2016, 51(3): 344-353.
- [7] FU Y, XU X, HUANG D, et al. Plasma heat shock protein 90 α as a biomarker for the diagnosis of liver cancer: an official, large-scale, and multicenter clinical trial[J]. *Ebio Med*, 2017, 24(1): 56-63.
- [8] TELLAPURI S, SUTPHIN P D, BEG M S, et al. Staging systems of hepatocellular carcinoma: a review[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2018, 37(6): 481-491.
- [9] 刘熙称, 王艺颖, 童曼曼, 等. 肝细胞癌早期诊断中的生物标志物[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(1): 176-179.
- [10] KIM D W, TALATI C, KIM R. Hepatocellular carcinoma (HCC): beyond sorafenib-chemotherapy[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2017, 8(2): 256-265.
- [11] GIANNINI E G, SAMMITO G, FARINATI F, et al. Determinants of alpha-fetoprotein levels in patients with hepatocellular carcinoma: implications for its clinical use[J]. *Cancer*, 2014, 120(1): 2150-2157.
- [12] PARK S J, JANG J Y, JEONG S W, et al. Usefulness of AFP, AFP-L3, and PIVKA- II , and their combinations in diagnosing hepatocellular carcinoma[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(11): 5811.
- [13] QI F, ZHOU A, YAN L, et al. The diagnostic value of PIVKA- II , AFP, AFP-L3, CEA, and their combinations in primary and metastatic hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(5): 23158.
- [14] BEST J, BILGI H, HEIDER D, et al. The GALAD scoring algorithm based on AFP, AFP-L3, and DCP significantly improves detection of BCLC early stage hepatocellular carcinoma[J]. *Z Gastroenterol*, 2016, 54(12): 1296-1305.
- [15] ZHOU Y, DENG X, ZANG N, et al. Transcriptomic and proteomic investigation of HSP90 α as a potential biomarker for HCC[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21(1): 4039-4049.
- [16] WEI W, LIU M, NING S, et al. Diagnostic value of plasma HSP90 α levels for detection of hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 6.
- [17] BALACEANU L A. Biomarkers vs imaging in the early detection of hepatocellular carcinoma and prognosis[J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7(12): 1367-1382.