

· 短篇论著 ·

全自动微流控免疫荧光法检测血清低水平甲胎蛋白慢性乙肝患者甲胎蛋白异质体比率的临床应用价值*

黄素钦, 陈力, 林城

福建医科大学孟超肝胆医院检验科, 福建福州 350025

摘要:目的 探讨应用全自动微流控免疫荧光法检测血清低水平甲胎蛋白(AFP)慢性乙型肝炎(简称乙肝)患者甲胎蛋白异质体比率(AFP-L3%)的临床价值。方法 选取 2018 年 4 月至 2019 年 8 月在该院住院的 178 例慢性乙肝患者作为研究对象,其中包括 50 例轻中度慢性乙肝(轻中度慢性乙肝组)、45 例重度慢性乙肝(重度慢性乙肝组)、40 例慢性乙肝后肝硬化(肝硬化组)、43 例慢性乙肝后肝癌(肝癌组)。回顾性分析所有患者的 AFP-L3%水平。结果 慢性乙肝患者 AFP-L3%阳性率为 24.2%。轻中度慢性乙肝、重度慢性乙肝、肝硬化、肝癌组的 AFP-L3%阳性率分别为 0.0%、22.2%、25.0%、53.4%,组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 36.23, P < 0.01$);重度慢性乙肝组 AFP-L3%阳性率明显高于轻中度慢性乙肝组,肝癌组明显高于肝硬化组,差异有统计学意义($\chi^2 = 12.41, 7.02, P < 0.05$);肝硬化组与重度慢性乙肝组比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.09, P > 0.05$)。重度慢性乙肝组 AFP-L3%明显高于轻中度慢性乙肝,肝癌组明显高于肝硬化组($t = 2.71, 8.70, P < 0.05$),肝硬化组与重度慢性乙肝组比较,差异无统计学意义($t = 1.40, P > 0.05$)。随访 10 例 AFP-L3% > 10.0% 的肝硬化患者,有 4 例在 9~15 个月内相继诊断为肝癌。肝癌术后 AFP 水平降为 < 20 ng/mL 的肝癌复发者 AFP-L3%阳性率明显高于未复发者,差异有统计学意义($\chi^2 = 24.34, P < 0.01$)。结论 低水平 AFP 慢性乙肝人群的 AFP-L3%并不一定在正常检出范围内,采用高敏感检测方法可检测低水平 AFP 慢性乙肝人群 AFP-L3%。AFP-L3%既能对低水平 AFP 肝癌起预警作用,又能对肝癌术后 AFP 降到低水平的患者是否会复发起预警作用。

关键词:低水平甲胎蛋白; 慢性乙型肝炎; 甲胎蛋白异质体比率; 全自动微流控免疫荧光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.06.022

中图分类号:R512.6+2

文章编号:1673-4130(2021)06-0734-03

文献标志码:A

原发性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,其病死率位居恶性肿瘤病死率的第 3 位,其中 80% 的原发性肝癌与慢性乙型肝炎(简称乙肝)病毒感染有关^[1-2]。肝细胞癌的早期诊断和有效治疗是患者获得长期生存的关键。目前,甲胎蛋白(AFP)联合影像学检查是肝细胞癌的常规诊断方法,虽然 AFP 是目前运用最广泛的肝细胞癌筛查和诊断标志物,但是 30%~40% 的原发性肝癌患者 AFP 水平并不会升高^[3]。研究表明,AFP 异质体比率(AFP-L3%) 在肝细胞癌的风险评估、早期诊断和预后评估等方面均有重要的临床应用价值^[4-6]。AFP-L3% 传统检测方法重复性差,检测灵敏度低,尤其在低水平 AFP 标本中无法进行有效检测,目前,应用微流控免疫荧光技术可检测出低水平 AFP 标本中 AFP-L3%,可克服传统检测方法的不足^[7-8]。本研究旨在采用全自动微流控免疫荧光法来检测低水平 AFP 标本中 AFP-L3%,从

而研究其对低水平 AFP 肝癌患者的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 4 月至 2019 年 8 月在本院住院的 178 例慢性乙肝患者作为研究对象,其中包括 50 例轻中度慢性乙肝(轻中度慢性乙肝组)、45 例重度慢性乙肝(重度慢性乙肝组)、40 例慢性乙肝后肝硬化(肝硬化组)、43 例慢性乙肝后肝癌(肝癌组)。轻中度慢性乙肝组中,男 32 例,女 18 例;年龄(45.3±15.2)岁。重度慢性乙肝组中,男 30 例,女 15 例;平均年龄(52.1±17.2)岁。肝硬化组中,男 31 例,女 9 例,平均年龄(55.3±16.8)岁。肝癌组中,男 33 例,女 10 例;平均年龄(57.6±17.8)岁。原发性肝癌、肝硬化和慢性乙肝诊断分别符合《原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)》^[9]和《慢性乙型肝炎防治指南(2015 年更新版)》^[10],肝硬化和慢性乙肝患者经影像

* 基金项目:福建省临床重点专科建设项目资助项目;福州市感染性疾病医学中心资助项目(2018080306)。

本文引用格式:黄素钦,陈力,林城.全自动微流控免疫荧光法检测血清低水平甲胎蛋白慢性乙肝患者甲胎蛋白异质体比率的临床应用价值[J].国际检验医学杂志,2021,42(6):734-736.

学检查(CT、MRI 和/或 B 超)排除原发性肝癌。所有研究病例血清 AFP 水平 < 20 ng/mL, 且乙肝表面抗原和/或乙肝 DNA 阳性, 排除酒精性肝病和其他甲、丙、戊型肝炎患者。所有患者均知情同意并签署知情同意书, 本研究通过医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 采用进口的日本富士胶片和光纯药株式会社 μ TASWako i30 仪器及配套试剂检测 AFP-L3%, 检测原理是高敏感的全自动微流控免疫荧光法。采用日本富士瑞必欧株式会社的 LUMI-PULSE@G1200 化学发光免疫分析仪及其配套试剂检测 AFP 水平, 检测原理是化学发光法。

1.3 方法 AFP-L3% 以 10.0% 作为临界值, > 10.0% 为阳性; AFP 以 10 ng/mL 作为临界值, > 10 ng/mL 诊断为 AFP 阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理及统计分析。计数资料采用频数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。非正态分布的计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 AFP-L3% 结果比较 178 例患者 AFP-L3% 阳性数为 43 例, 阳性率 24.2%。肝癌组 AFP-L3% 阳性率最高, 各组 AFP-L3% 阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 36.23, P < 0.01$); 重度慢性乙肝组 AFP-L3% 阳性率明显高于轻中度慢性乙肝组, 肝癌组明显高于肝硬化组, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 12.41, 7.02, P < 0.05$), 肝硬化组与重度慢性乙肝组比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.09, P > 0.05$)。肝癌组 AFP-L3% 最高, 各组 AFP-L3% 差异有统计学意义 ($F = 10.35, P < 0.01$)。重度慢性乙肝组 AFP-L3% 明显高于轻中度慢性乙肝组, 肝癌组明显高于肝硬化组 ($t = 2.71, 8.70, P < 0.05$), 肝硬化组与重度慢性乙肝组比较, 差异无统计学意义 ($t = 1.43, P > 0.05$)。见表 1。

2.2 随访结果 通过随访 10 例 AFP < 20 ng/mL 且 AFP-L3% > 10.0% 肝硬化患者, 发现有 4 例在 9~15 个月内经影像学检查(CT, MRI 和/或 B 超)、病理检查及临床症状相继诊断为肝癌。

2.3 术后 AFP < 20 ng/mL 肝癌患者中有 20 例复发, 25 例未复发。术后复发组中, 18 例 AFP 水平为 5~20 ng/mL, 18 例 AFP-L3% > 10%; 术后未复发组中, 18 例 AFP 水平 < 5 ng/mL, 21 例 AFP-L3% < 10%。术后复发组的 AFP 水平和 AFP-L3% 分别为 (18.3 ± 8.7) ng/mL、(13.2 ± 7.8)%, 均明显高于术后未复发组的 (4.2 ± 2.4) ng/mL 和 (5.3 ± 3.2)%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 19.66, 24.34, P < 0.01$)。

表 1 各组 AFP-L3% 结果比较

组别	n	AFP-L3% 阳性 [n(%)]	AFP-L3% [M(P ₂₅ , P ₇₅), %]
轻中度慢性乙肝组	50	0(0.0)	4.2(0.1, 18.3)
重度慢性乙肝组	45	10(22.2) ^a	11.5(4.0, 33.5) ^a
肝硬化组	40	10(25.0) ^b	12.0(5.0, 36.0) ^b
肝癌组	43	23(53.4) ^c	36.0(8.0, 70.0) ^c
χ^2/F		36.23	10.35
P		<0.01	<0.01

注: 与轻中度慢性乙肝组比较, ^a $P < 0.05$; 与重度慢性乙肝组比较, ^b $P < 0.05$; 与肝硬化组比较, ^c $P < 0.05$ 。

3 讨 论

中国每年都会有相当比例的慢性肝炎患者发展成为肝硬化, 肝硬化患者进展成为肝癌, 多数患者在确诊时已经处于肝癌中晚期, 错过了最佳治疗时机, 所以早期诊断非常重要。虽然 AFP 是最常用的诊断肝癌的血清学标志物之一, 但是其灵敏度和特异度不高, 30%~40% 的肝癌患者 AFP 水平并不升高。近年来, AFP-L3% 被认为是一种新的早期诊断肝癌的有效肿瘤标志物^[11]。《原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)》中也提到, AFP-L3% 可作为肝癌早期诊断的标志物, 特别是针对血清 AFP 水平 < 10 ng/mL 的人群^[12], 虽然 AFP-L3% 是一个比较好的鉴别肝癌的血清学标志物, 但是由于 AFP-L3% 的传统检测方法灵敏度低, 当 AFP 水平低时无法准确测定 AFP-L3%^[13], 因此限制了 AFP-L3% 在低水平 AFP 慢性乙肝患者中的诊断效能, 从而造成肝癌漏诊。本研究用相较传统方法更敏感的检测方法——全自动微流控免疫荧光法检测血清低水平 AFP 慢性乙肝患者的 AFP-L3% 水平, 发现有相当比例的患者 AFP-L3% 为阳性 (AFP-L3% > 10.0%), 并发现 AFP-L3% 和 AFP-L3% 阳性率最高的都是肝癌组, 其次是肝硬化和重度慢性乙肝组。

有时候肝癌早期阶段很难与肝硬化鉴别开来, 超声是临床最常用的诊断手段, 但美国肝病研究协会的分析报告显示, 该方法在肝硬化患者中检出肝癌的灵敏度仅为 63%, 其主要原因是由于肝癌可被粗糙回声的肝硬化背景所掩盖^[14]。通过随访 10 例 AFP < 20 ng/mL 且 AFP-L3% > 10.0% 的肝硬化患者, 显示有 4 例在 9~15 个月内经影像学检查(CT、MRI 和/或 B 超)相继诊断为肝癌, 因此在预警从肝硬化进展为肝癌方面 AFP-L3% 检测阳性比影像学诊断在时间上有所提前, 这与文献^[15]报道的结果一致。该研究发现在 AFP 水平不升高的情况下, 有 34.3% 的原发性肝癌患者在确诊 1 年前即出现 AFP-L3% 升高, 表明部分低水平 AFP 肝癌患者可通过 AFP-L3% 变化

情况被检出。由于研究的病例数较少,本研究将继续跟踪随访更多病例。

肿瘤标志物不仅应该在诊断方面起关键作用,还应该在术后监测中发挥及早、准确预判是否复发的作用。肝癌术后要监测患者是否会复发,如能提前预测复发对患者获得最佳治疗时机是有很有效的。AFP 是一项很重要的监测指标,临床常认为 AFP 降到较低水平提示预后良好,但是在本研究中发现肝癌术后 AFP 水平即使降到 <20 ng/mL,也并不一定代表预后良好,一些患者 AFP 降到 <20 ng/mL 而 AFP-L3% 却很高,甚至达到 70% 以上,这些患者肝癌复发率明显高于 AFP-L3% 正常者。这些肝癌术后复发者的 AFP 水平多集中在 5~20 ng/mL, AFP-L3% 多集中在 $>10\%$,未复发者的 AFP 多集中在 <5 ng/mL, AFP-L3% 多集中在 $<10\%$,复发者的 AFP 水平和 AFP-L3% 均明显高于未复发者。因此,当患者 AFP 水平在 5~20 ng/mL 时应及时检测其 AFP-L3%,如出现 AFP-L3% 升高应高度警觉患者是否会肝癌复发,随后应密切随访检测患者的 AFP-L3%。

血清低水平 AFP 慢性乙肝患者中有相当比例人群出现 AFP-L3% 阳性,采用高敏感法检测可以提高其诊断效能,避免因传统检测方法灵敏度低造成肝癌漏检的情况。AFP-L3% 不仅能对低水平 AFP 肝癌患者起预警及辅助诊断作用,还能对肝癌术后 AFP 降到低水平的患者是否复发起预测作用。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] WANG F S, FAN J G, ZHANG Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. Hepatology, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [3] 刘田田, 左维泽. 慢性乙型肝炎患者血清中甲胎蛋白、糖链抗原 19-9 的临床意义分析[J]. 吉林医学, 2014, 35(8): 1577-1579.
- [4] ODA K, IDO A, TAMAI T, et al. Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease[J]. Oncol Rep, 2011, 26(5): 1227-1233.
- [5] LIM T S, KIM D Y, HAN K H, et al. Combined use of AFP, PIVKA I, and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for patocellular carcinoma in cirrhotic patients[J]. Scand J Gastroenterol, 2016, 51(3): 344-353.
- [6] ZHANG X F, LAI E C, KANG X Y, 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, 18(8): 2218-2223.
- [7] TAMURA Y, IGARASHI M, KAWAI H, et al. Clinical advantage of highly sensitive on-chip immunoassay for fucosylated fraction of alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(12): 3576-3583.
- [8] TOYODA H, KUMADA T, TADA T, et al. Clinical utility of highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in epatocellular carcinoma patients with alpha-fetoprotein 20 ng/mL [J]. Cancer Sci, 2011, 102(5): 1025-1031.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(10): 929-946.
- [10] 中华医学会肝病学会和中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. 胃肠病学, 2016, 21(4): 219-240.
- [11] KAGEBAYASHI C, YAMAGUCHI I, AKINAGA A, et al. Automated immunoassay system for AFP-L3% using on-chip electrokinetic reaction and separation by affinity-electrophoresis[J]. Anal Biochem, 2009, 388(2): 306-311.
- [12] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)[J]. 外科理论与实践, 2020, 25(1): 6-9.
- [13] 杨璇, 孙桂荣, 席强, 等. 高敏甲胎蛋白异质体比率在肝细胞癌诊治中的临床应用[J]. 中华消化杂志, 2019, 39(3): 181-186.
- [14] 秦燕, 肖毅, 王曦, 等. AFP、PIVKA-II 联合 AFP-L3 诊断肝硬化患者合并肝癌的价值研究[J]. 成都医学院学报, 2016, 11(5): 585-588.
- [15] KUMADA T, TOYODA H, TADA T, et al. High-sensitivity lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma [J]. J Gastroenterol, 2014, 49(3): 555-563.

(收稿日期: 2020-06-02 修回日期: 2020-10-26)