

研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.08.007

甲胎蛋白、AFP-L3%和DCP在HBV相关肝细胞癌早期诊断中的临床价值

段建平 杜镭 宋霆 刘振胜

【摘要】 目的 探讨甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体3比率(AFP-L3%)和脱- γ -羧基凝血酶原(DCP)不同组合用于HBV相关肝细胞癌患者的早期诊断。方法 纳入167例受试者,其中肝细胞癌组100例,HBV感染相关肝硬化组(肝硬化组)67例,通过化学发光酶免疫法检测血清甲胎蛋白、AFP-L3%和DCP水平,采用受试者操作特征(ROC)曲线进行分析。结果 肝细胞癌组甲胎蛋白、AFP-L3%和DCP水平明显高于肝硬化组(P 均 < 0.05)。肝细胞癌组0期和A期比较甲胎蛋白和AFP-L3%水平差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);肝细胞癌组0期DCP水平明显低于肝细胞癌组A期($P < 0.05$)。甲胎蛋白、AFP-L3%和DCP诊断早期肝细胞癌的灵敏度和特异度分别为51.5%、92.5%、28.3%和95.5%、60.0%、84.7%。ROC曲线下面积(AUC)结果分析显示甲胎蛋白、AFP-L3%和DCP诊断早期肝细胞癌的AUC值分别为0.760、0.619和0.749;甲胎蛋白和DCP联合检测的AUC值为0.810,具有最高诊断效能。结论 甲胎蛋白诊断早期肝细胞癌具有重要诊断价值,甲胎蛋白和DCP联合可提高HBV相关早期肝细胞癌的诊断效能。

【关键词】 肝细胞癌;肝硬化;甲胎蛋白;甲胎蛋白异质体比率;脱- γ -羧基凝血酶原

Clinical value of alpha-fetoprotein: alpha-fetoprotein-L3 isoform ratio and des- γ -carboxyprothrombin in early diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma Duan Jianping[△], Du Lei, Song Ting, Liu Zhensheng.[△] Department of Infective Center, Qingdao Sixth People's hospital infection center, Qingdao 266000, China

Corresponding author, Liu Zhensheng, E-mail: lixiang920912@163.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the value of different combinations of alpha-fetoprotein (AFP), alpha-fetoprotein-L3 isoform ratio (AFP-L3%) and des- γ -carboxyprothrombin (DCP) for early diagnosis of hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 167 patients were enrolled in this study, including 100 patients with HCC and 67 patients with infection-related liver cirrhosis (LC). The levels of serum AFP, AFP-L3% and DCP were detected by chemiluminescence enzyme immunoassay. The receiver operating characteristic (ROC) curve was delineated for subsequent analysis. **Results** The levels of AFP, AFP-L3% and DCP in HCC patients were significantly higher than those in LC patients (all $P < 0.05$). There was no significant difference in AFP and AFP-L3% levels between stage 0 and stage A patients in HCC group (both $P > 0.05$). DCP levels in stage 0 patients were significantly lower than those in stage A patients in HCC group ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of AFP, AFP-L3% and DCP in the diagnosis of early HCC were 51.5%, 92.5%, 28.3%, and 95.5%, 60.0%, 84.7%, respectively. Analysis of the area under the ROC curve (AUC) results showed that the AUC values of AFP, AFP-L3% and DCP for the diagnosis of early HCC were 0.760, 0.619 and 0.749, respectively. The AUC value of combined detection of AFP and DCP was 0.810, which yielded the highest diagnostic efficiency. **Conclusion** AFP has important diagnostic value in the diagnosis of early HCC. The combination of AFP and DCP can improve the diagnostic efficiency of HBV-related early HCC.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Liver cirrhosis; Alpha-fetoprotein; Alpha-fetoprotein isoform ratio; Des- γ -carboxyprothrombin

肝细胞癌是原发性肝癌的主要类型,是全球癌症相关死亡的第三大常见原因^[1-2]。肝癌的危险因素包括HBV感染相关肝硬化、各种致癌物、代

谢性疾病和饮酒等众多病因。我国的HBV相关肝细胞癌患者约占肝癌病例的85%^[3-4]。多数肝细胞癌患者发现即晚期,在有限的治疗选择下将

基金项目:青岛市科技惠民示范引导专项项目(22-3-7-smjk-l-nsh);青岛市医疗卫生重点学科建设项目(qwzz2022-06)

作者单位:266000 青岛,青岛市第六人民医院感染中心

通信作者:刘振胜, E-mail: lixiang920912@163.com

面临1年生存率为15%~39%，总体5年生存率为10%~20%^[5-6]。但是，早期诊断可以明显改善预后^[7]。尽管超声、磁共振和甲胎蛋白已用于筛查和监测肝癌，但早期诊断率仍很低，因此，联合各种血清肝癌标志物早期诊断肝癌至关重要^[8-9]。

甲胎蛋白异质体3 (AFP-L3) 是由肝癌细胞产生的。AFP-L3水平与肝细胞癌的发展线性相关。脱- γ -羧基凝血酶原 (DCP) 是维生素K缺乏或拮抗剂-II诱导的蛋白质，可出现于肝细胞癌患者的血清中。近年来，血清肿瘤生物标志物如甲胎蛋白、DCP和甲胎蛋白异质体3比率 (AFP-L3%)，已逐渐用于肝癌的早期诊断^[7, 10-11]。研究表明，甲胎蛋白对肝癌诊断的灵敏度和特异度较低，且不同病因相关肝癌的特异度和灵敏度大不相同^[12-14]。且目前很少有研究探讨多种血清肿瘤生物标志物联合在HBV相关肝细胞癌早期检测中的价值，尤其在我国国家HBV相关肝细胞癌占很大比例的情况下。因此，在本研究中，我们旨在探讨甲胎蛋白、AFP-L3%和DCP的不同组合在HBV相关肝癌患者早期诊断中的价值，提高患者肝癌早期诊断率。

对象与方法

一、研究对象

选取2012年1月1日至2020年11月31日来自青岛市第六人民医院肝病病房或者门诊年龄35~55岁的肝细胞癌患者 (肝细胞癌组) 及HBV感染相关肝硬化患者 (肝硬化组)。纳入标准: HBsAg阳性, HBeAg阳性或者HBeAg阴性的慢性HBV感染相关LC或肝细胞癌; ALT水平不超过正常上限值2倍, 正常上限为40 U/L, HBV DNA小于2 000 IU/mL; 腹部超声、磁共振和CT诊断明确肝硬化或肝细胞癌, 或者肝穿病理明确诊断肝硬化或肝细胞癌。所有入选的患者肝功能分级 (Child-Pugh评分系统) 均为A级或B级, 分期 [巴塞罗那肝癌临床分期 (BCLC分期)] 均为最早期或者早期阶段患者 (BCLC分期0期和A期), 排除其他肿瘤或其他严重的基础疾病、转移性肝癌、吸毒、合并其他肝炎病毒感染、HIV感染和其他原因引起的肝硬化。本研究获得了研究对象的书面知情同意书, 并经过青岛市第六人民医院伦理委员会许可 (批号: PJ2023-06-29)。

二、观察指标

检测研究对象的血清肿瘤生物标志物甲胎蛋白、DCP和AFP-L3%。抽取研究对象静脉血3~4 mL, 3 500 r/min离心10 min分离血清备用。血清甲胎蛋白使用全自动化学发光酶免疫法 (CLEIA) (型号LUMIPULSE G1200, 日本富士瑞必欧公司) 检测 (甲胎蛋白检测试剂盒: 上海一研生物科技有限公司)、DCP (ELISA试剂盒: 北京华健生物科技有限公司)、AFP-L3%采用磁微粒化学发光免疫分析双抗体夹心法检测 (北京热景C2000分析仪)。所有步骤均按照说明书进行。

三、统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行数据分析, 计量资料经Kolmogorov-Smirnov检验进行数据正态性检验, 符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验, 计数资料以例 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验, 多组间比较采用方差分析。偏态分布计量资料以中位数 (下四分位数, 上四分位数) 即 $M (P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用Mann-Whitney U 检验, 多组间比较采用Kruskal-Wallis H 检验。为了评估和比较肿瘤生物标志物的诊断性能, 绘制了每个肿瘤生物标志物单个及其组合受试者操作特征 (ROC) 曲线, 根据曲线下面积 (AUC) 计算各肿瘤生物标志物单个及其组合的灵敏度、特异度和准确度。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、研究对象入组时的基线特征和临床特征

共167例患者入选本研究, 其中肝细胞癌组100例, 肝硬化组67例; 肝细胞癌组中BCLC分期0期患者30例, BCLC分期A期患者70例。肝细胞癌组和肝硬化组患者的年龄、血红蛋白、肝功能 (总胆红素、AST和ALT)、血小板、HBeAg阳性及HBeAg阴性比例、HBV DNA < 2 000 IU/mL及HBV DNA 2 000 IU/mL、HBsAg阳性及HBsAg阴性比例、BCLC分期比较差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表1。

二、肝细胞癌组和肝硬化组甲胎蛋白、DCP和AFP-L3%水平比较

肝硬化组甲胎蛋白水平明显低于肝细胞癌组

患者；肝细胞癌组 AFP-L3% 水平高于肝硬化组，且差异有统计学意义；肝细胞癌组 DCP 水平明显高于肝硬化组。见表 2。

肝硬化组甲胎蛋白水平低于肝细胞癌组 0 期和 A 期，组间比较差异有统计学意义；肝细胞癌组 0 期和 A 期比较甲胎蛋白水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；肝细胞癌组 0 期和 A 期 AFP-L3% 水平明显高于肝硬化组；肝细胞癌组 0 期和 A 期 AFP-L3% 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；肝细胞癌组 A 期 DCP 水平高于肝细胞癌组 0 期和肝硬化组，差异有统计学意义；肝细胞癌组 0 期和肝硬化组 DCP 水平比较差异无统计学意义 ($P >$

0.05)。见表 3。

三、甲胎蛋白、AFP-L3% 和 DCP 在早期肝细胞癌的诊断性能

DCP 在早期诊断肝细胞癌的灵敏度为 60.0%，甲胎蛋白为 51.5%。甲胎蛋白与 DCP 诊断肝细胞癌的 AUC 值差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。甲胎蛋白和 DCP 联合检测诊断肝癌的灵敏度和特异度分别为 67.0% 和 83.1%，其中 AUC 值最大。甲胎蛋白与 DCP 联合检测时，与甲胎蛋白单独检测相比，灵敏度由 51.5% 提高到 67.0%，而特异度从 92.5% 仅下降到 83.1%，甲胎蛋白 +AFP-L3% 联合

表 1 入组患者基线特征

项 目	肝硬化组 (67 例)	肝细胞癌组 (100 例)	χ^2 值	P 值
年龄 / 岁	47.28 ± 7.99	49.34 ± 16.97	0.925	0.356
血红蛋白 / (g/L)	67.28 ± 8.31	69.20 ± 6.58	1.657	0.099
AST / (U/L)	34.49 ± 19.94	42.46 ± 15.18	1.238	0.219
ALT / (U/L)	28.49 ± 21.49	31.50 ± 21.58	1.473	0.143
总胆红素 / ($\mu\text{mol/L}$)	22.17 ± 15.59	19.95 ± 16.82	0.863	0.389
血小板 / ($\times 10^9/\text{L}$)	146.21 ± 96.52	141.97 ± 64.57	0.292	0.771
HBeAg 阳性	48 (71.64)	68 (68.00)	0.616	0.732
HBeAg 阴性	19 (28.35)	32 (32.00)		
HBV DNA < 2 000 IU/mL	45 (67.16)	100 (100.00)	3.575	0.059
HBV DNA > 2 000 IU/mL	22 (32.84)	0 (0)		
HBsAg (阳性)	45 (67.16)	100 (100.00)	3.575	0.059
HBsAg (阴性)	22 (32.84)	0 (0)		
BLCL 分期				
癌前病变	67 (100.00)	0 (0)		
0 期	0 (0)	30 (30.00)	0.651	0.618
A 期	0 (0)	70 (70.00)		

表 2 肝细胞癌组和肝硬化组甲胎蛋白、DCP 和 AFP-L3% 水平比较

项 目	分组	例数	$M (P_{25}, P_{75})$	Z 值	P 值
甲胎蛋白 / (ng/mL)	肝硬化组	67	3.00 (2.00, 6.00)	-4.462	<0.001
	肝细胞癌组	100	11.00 (3.00, 159.30)		
AFP-L3% / %	肝硬化组	67	1.00 (1.00, 2.00)	-3.358	<0.001
	肝细胞癌组	100	3.00 (3.00, 12.50)		
DCP / (mAU/mL)	肝硬化组	67	24.00 (17.00, 41.00)	-4.715	<0.001
	肝细胞癌组	100	66.50 (24.25, 358.80)		

表 3 LC 组与肝细胞癌组 0 期和 A 期的甲胎蛋白、DCP 和 AFP-L3% 水平比较

组 别	例数	甲胎蛋白 / (ng/mL)	AFP-L3% / %	DCP / (mAU/mL)
肝硬化组	67	3.00 (2.00, 6.00)	1.00 (1.00, 2.00)	24.00 (17.00, 41.00)
肝细胞癌 0 期	30	9.00 (2.50, 12.50)	2.50 (1.00, 10.50)	3.00 (2.00, 12.00)
肝细胞癌 A 期	70	11.50 (3.75, 225.80)	31.5 (22.50, 88.50)	80.50 (30.75, 517.30)
H 值		4.577	21.027	7.711
P 值		0.017	<0.001	0.009

注：使用独立样本 Kruskal-Wallis H 检验，组间检验通过 Bonferroni 校正法调整明显性值。

检测的灵敏度 53.5%，特异度 89.1%，AUC 值为 0.761。甲胎蛋白、AFP-L3% 和 DCP 联合检测的 AUC 值与甲胎蛋白和 DCP 联合检测的 AUC 值相同。见图 1。

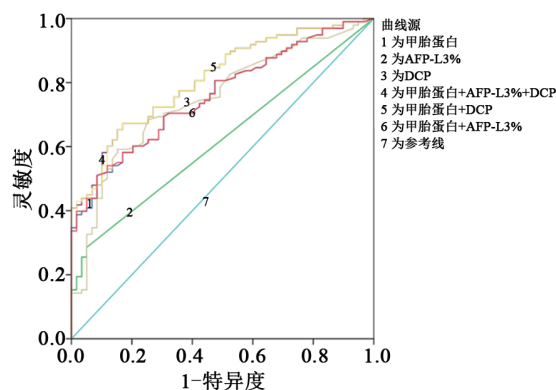


图 1 联合或单个应用甲胎蛋白、AFP-L3% 和 DCP 检测区分 HBV 相关肝硬化和 HBV 相关肝癌 ROC 曲线分析

讨 论

慢性 HBV 感染仍然是一个我国重要的公共卫生问题，HBV 感染是我国肝癌的主要原因^[15]。肝癌患者预后差的主要原因是症状出现晚和晚期诊断，早期诊断是提高肝癌患者长期存活率的最重要因素。

本研究评估了甲胎蛋白、AFP-L3% 和 DCP 诊断早期 HBV 相关肝癌的诊断效能，结果显示甲胎蛋白和 AFP-L3% 的联合表现出与单独甲胎蛋白检测具有相似的诊断效能（AUC 值分别为 0.761 和 0.760）。然而，我们的结果与 Helen 等（2010 年）报道不一致，这种明显的差异可能是因为本研究参与者是 HBV 相关的肝癌和肝硬化，而把酒精性和丙型肝炎病毒等相关的肝癌和肝硬化研究者已经被排除在外，而且我们入组的患者转氨酶水平 2 倍正常值以内，甲胎蛋白水平和转氨酶水平也具有相关性。

本研究表明甲胎蛋白诊断早期肝癌表现出最好的诊断效能。因此，甲胎蛋白目前认为是最好的肝癌监测肿瘤生物标志物，这和以前的研究报道一致^[16]。DCP 和甲胎蛋白诊断早期肝癌的 AUC 值相似（分别为 0.76 和 0.75）。DCP 在临床研究中被广泛用于检测早期肝癌，有研究报道 DCP 在早期诊断肝癌方面比甲胎蛋白具有更高的灵敏度^[17]。本研究结果显示 DCP 在

早期诊断肝癌的灵敏度为 60.0%，甲胎蛋白在早期诊断肝癌的灵敏度为 51.5%，DCP 的灵敏度高于甲胎蛋白，这和我们的研究结果相同；而且我们的研究结果还显示早期（A 期）肝癌患者血清 DCP 明显高于最早期（0 期）肝癌患者，而甲胎蛋白和 AFP-L3% 在早期（A 期）肝癌和最早期（0 期）肝癌血清无明显差异，提示 DCP 可能是诊断早期肝癌良好的辅助肿瘤生物标志物，这和以前的研究报道相一致^[18-19]。一项荟萃分析显示，DCP 诊断 HBV 相关性肝癌的灵敏度和特异度分别为 0.71 和 0.93，这与本研究中 DCP 的诊断价值总体相一致^[20]。Wu 等（2014 年）认为 AFP-L3% 是鉴别甲胎蛋白水平相对较低的肝癌的有效生物标志物。本研究结果显示 AFP-L3% 在诊断早期肝癌方面比甲胎蛋白和 DCP 具有更高的特异度，然而其灵敏度较低，可能限制其临床应用。另据报道，约 30%~40% 的早期肝癌患者血清甲胎蛋白水平正常，AFP-L3% 显示出高的特异度也可以作为甲胎蛋白检测肝癌的补充^[21-22]。

甲胎蛋白和 DCP 联合检测可以大大提高诊断早期肝癌的灵敏度，但特异度降低，这与以前研究结果相一致^[23]。早期检测肝癌的灵敏度增加是有益的，因为对于 HBV 相关肝癌的监测，灵敏度可能比特异度更重要，延迟的肝癌诊断，可能会导致肝癌从早期阶段进展到晚期阶段，错失了治愈性治疗手段如手术切除或肝移植等，从而影响患者的生存期。我们也可以将血清肿瘤生物标志物联合无创的超声或 CT 等影像学检查，进一步提高肝癌监测灵敏度，早期诊断从而及时治疗。

综上所述，甲胎蛋白目前仍然是诊断早期 HBV 相关肝癌的最佳血清肿瘤生物标志物。甲胎蛋白和 DCP 联合可进一步提高早期 HBV 相关肝癌的诊断效能，为早期诊断提供更多参考依据，具有较高的应用价值。

参 考 文 献

- [1] Wu J, Yang S, Xu K, et al. Patterns and trends of liver cancer incidence rates in Eastern and Southeastern Asian Countries (1983–2007) and predictions to 2030. *Gastroenterology*, 2018, 154 (2): 1719-1728.
- [2] Yang J D, Hainaut P, Gores G J, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and

- management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16 (10): 589-604.
- [3] 朱朋飞, 秦建民. 细胞自噬在原发性肝癌发生与防治中的生物学作用. *中国医药科学*, 2015, 5 (4): 24-28.
- [4] Yang L, Zou T, Chen Y, et al. Hepatitis B virus X protein mediated epigenetic alterations in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int*, 2022, 16 (4): 741-754.
- [5] Lurje I, Czigany Z, Bednarsch J, et al. Treatment strategies for hepatocellular carcinoma—a multidisciplinary approach. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (6): 1465.
- [6] Yu R, Tan Z, Xiang X, et al. Effectiveness of PIVKA-II in the detection of hepatocellular carcinoma based on real-world clinical data. *BMC Cancer*, 2017, 17 (1): 608.
- [7] Moldogazieva N T, Mokhosoev I M, Zavadskiy S P, et al. Proteomic profiling and artificial intelligence for hepatocellular carcinoma translational medicine. *Biomedicines*, 2021, 9 (2): 159.
- [8] Song P, Tang Q, Feng X, et al. Biomarkers: evaluation of clinical utility in surveillance and early diagnosis for hepatocellular carcinoma. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 2016, 245 : S70-S76.
- [9] Johnson P, Zhou Q, Dao D Y, et al. Circulating biomarkers in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19 (10): 670-681.
- [10] Song P, Gao J, Inagaki Y, et al. Biomarkers: evaluation of screening for and early diagnosis of hepatocellular carcinoma in Japan and China. *Liver Cancer*, 2013, 2 (1): 31-39.
- [11] Best J, Bechmann L P, Sowa J P, et al. GALAD score detects early hepatocellular carcinoma in an international cohort of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18 (3): 728-735.
- [12] Chen H, Zhang Y, Li S, et al. Direct comparison of five serum biomarkers in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Manag Res*, 2018, 10 : 1947-1958.
- [13] Ji J, Wang H, Li Y, et al. Diagnostic evaluation of des-gamma-carboxy prothrombin versus α -fetoprotein for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in China: a large-scale, multicentre study. *PLoS One*, 2016, 11 (4): e0153227.
- [14] Song T, Wang L, Xin R, et al. Evaluation of serum AFP and DCP levels in the diagnosis of early-stage HBV-related HCC under different backgrounds. *J Int Med Res*, 2020, 48 (10): 300060520969087.
- [15] 石之麟, 戴炜, 曾辉, 等. 基于乙肝病毒基因突变分析的乙肝个体化诊断与应用研究. *中国医药科学*, 2016, 6 (9): 124-127.
- [16] 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. *Z Gastroenterol*, 2016, 54 (12): 1296-1305.
- [17] Choi J, Kim G A, Han S, et al. Longitudinal assessment of three serum biomarkers to detect very early-stage hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2019, 69 (5): 1983-1994.
- [18] Chen H, Zhang Y, Li S, et al. Direct comparison of five serum biomarkers in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Manag Res*, 2018, 10 : 1947-1958.
- [19] Hayashi M, Yamada S, Takano N, et al. Different characteristics of serum alfa fetoprotein and serum des-gamma-carboxy prothrombin in resected hepatocellular carcinoma. *In Vivo*, 2021, 35 (3): 1749-1760.
- [20] Chen J, Wu G, Li Y. Evaluation of serum des-gamma-carboxy prothrombin for the diagnosis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Dis Markers*, 2018, 2018 : 8906023.
- [21] Ji J, Wang H, Li Y, et al. Diagnostic evaluation of des-gamma-carboxy prothrombin versus alpha-fetoprotein for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in China: a large-scale, multicentre study. *PLoS One*, 2016, 11 (4): e0153227.
- [22] 陈敏, 王永忠, 杭双荣, 等. 甲胎蛋白异质体 3 对肝细胞癌的预测作用——附 18 例分析. *新医学*, 2009, 40 (8): 514-515, 560.
- [23] Ayoub W S, Steggerda J, Yang J D, et al. Current status of hepatocellular carcinoma detection: screening strategies and novel biomarkers. *Ther Adv Med Oncol*, 2019, 11 : 1758835919869120.

(收稿日期: 2023-06-05)

(本文编辑: 杨江瑜)