

## 研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.09.012

# 甲胎蛋白联合载脂蛋白 A1、碱性磷酸酶等指标在 HBV 相关肝癌诊断中的价值

李媚 刘敏思 黄月华 许颖君

**【摘要】** 目的 探讨载脂蛋白 A1、碱性磷酸酶等指标在 HBV 相关肝癌中的变化，分析甲胎蛋白（AFP）联合其他指标对提高 HBV 相关肝癌诊断效能的临床价值。方法 收集慢性乙型肝炎、乙型肝炎后代偿性肝硬化、乙型肝炎后肝硬化失代偿和慢性乙型肝炎相关肝癌患者共 1 089 例。其中非肝癌患者（非肝癌组）745 例、HBV 相关肝癌（肝癌组）344 例。使用单因素和多因素的 Logistic 回归分析 HBV 相关肝癌影响因素，采用受试者操作特征曲线下面积（ROC AUC）评估 AFP 联合其他血清学指标对 HBV 相关肝癌的诊断效能。结果 血清载脂蛋白 A1、碱性磷酸酶、AFP 等血清学指标在非肝癌组和肝癌组间比较差异有统计学意义（ $P$  均  $<0.05$ ）。多因素 Logistic 回归分析显示性别、年龄、AFP、载脂蛋白 A1、碱性磷酸酶为 HBV 相关肝癌的影响因素（ $P$  均  $<0.05$ ）；这些指标形成联合模型诊断 HBV 相关肝癌的 ROC AUC 为 0.859，而单独甲胎蛋白诊断 HBV 相关肝癌的 ROC AUC 为 0.750，联合模型的诊断效能高于单独 AFP 的诊断效能（ $P < 0.05$ ）。结论 血清 AFP 和载脂蛋白 A1、碱性磷酸酶等指标的联合模型较单独 AFP 的诊断效能有所提高，对 HBV 相关肝癌的辅助诊断具有一定的价值。

**【关键词】** 甲胎蛋白；载脂蛋白 A1；慢性乙型肝炎；原发性肝癌

**Significance of alpha-fetoprotein combined with apolipoprotein A1 and alkaline phosphatase in the diagnosis of hepatitis B virus-related liver cancer** Li Mei, Liu Minsi, Huang Yuehua, Xu Yingjun. Guangdong Provincial Key Laboratory of Liver Disease Research, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author, Huang Yuehua, E-mail: huangyh53@mail.sysu.edu.cn; Xu Yingjun, E-mail: xuyj39@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the changes of apolipoprotein A1 (ApoA1) and alkaline phosphatase in hepatitis B virus (HBV)-related liver cancer, and evaluate the diagnostic performance of alpha-fetoprotein (AFP) combined with other indexes for HBV-related liver cancer. **Methods** 1 089 patients with chronic hepatitis B, compensated cirrhosis, non-compensated cirrhosis post-hepatitis B and chronic B-related liver cancer were enrolled. Among them, 745 cases were included in non-liver cancer group, and 344 cases in the HBV-related liver cancer group (liver cancer group). The influencing factors of HBV-related liver cancer were identified by univariate and multivariate Logistic regression analyses. The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) was adopted to evaluate the diagnostic efficacy of AFP combined with other serological indexes in HBV-related liver cancer. **Results** Significant differences were observed in serum levels of ApoA1, alkaline phosphatase and AFP between the non-liver cancer and liver cancer groups (all  $P < 0.05$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that sex, age, AFP, ApoA1 and alkaline phosphatase were the influencing factors of HBV-related liver cancer (all  $P < 0.05$ ). The AUC of the model consisting of these indexes combined for HBV-related liver cancer was 0.859, and 0.750 for AFP alone, indicating the model of these indexes combined yielded significantly higher diagnostic efficacy compared with AFP alone ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The model consisting of serum AFP, ApoA1 and alkaline phosphatase yields higher diagnostic efficacy than AFP alone. It possesses certain value for auxiliary diagnosis of HBV-related liver cancer.

**【Key words】** Alpha-fetoprotein; Apolipoprotein A1; Chronic hepatitis B; Primary liver cancer

目前，原发性肝细胞癌（肝癌）是我国第 4 位常见恶性肿瘤，其病死率位居肿瘤第 2 位<sup>[1]</sup>。原发性肝癌患者在早期的常见症状为肝区疼痛、乏

力、消瘦、食欲减退、腹胀等，无特异性；中晚期表现为贫血、黄疸、腹水、下肢水肿、皮下出血、肝大、恶病质等。当患者出现特异性症状和

体征时,疾病往往已进入中、晚期,所以原发性肝癌的早期诊断对于患者的预后具有重要的临床意义<sup>[2]</sup>。肝脏作为人体最大的实质性脏器,担负着分泌胆汁,参与糖类、脂质、蛋白质的合成及代谢,解毒,合成凝血因子,吞噬和免疫等重要的生理功能。当肝脏受损时,肝功能指标会发生异常变化<sup>[34]</sup>。近年来,载脂蛋白A1在脑卒中、心肌梗死、冠状动脉粥样硬化性心脏病等血管性疾病的预防和治疗中研究比较深入<sup>[58]</sup>。有数据显示,载脂蛋白A1对于HBV相关肝癌有很强的诊断意义<sup>[9]</sup>。但其在HBV相关肝癌中的变化、以及联合AFP能否提高其诊断效能的研究相对较少。本研究分析了ALT、AST、总蛋白、白蛋白、球蛋白、总胆红素、直接胆红素、 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶、载脂蛋白A1、载脂蛋白B、脂蛋白(a)、甲胎蛋白(AFP)等多项肝脏功能指标在肝脏疾病中的变化,对这些指标进行单因素及多因素Logistic回归分析,探讨其在HBV相关肝癌诊断中的意义。

## 对象与方法

### 一、研究对象

本研究为回顾性研究,患者分为非肝癌组和肝癌组。一般而言受试者操作特征曲线下面积(ROC AUC)在0.5~0.7说明评估指标具有较低的准确性,当建立的模型ROC AUC提升至0.8或以上时则认为诊断效能提高。设检验水平 $\alpha=0.025$ ,检验能效 $1-\beta=0.9$ ( $\beta$ 取0.1), $N^-/N^+=2$ ,运用PASS软件估算得出总样本量 $n=363$ ,其中肝癌组至少纳入121例。

选择2012年1月至2018年9月在本院确诊的慢性乙型肝炎(CHB)、乙型肝炎后代偿性肝硬化、乙型肝炎后肝硬化失代偿和慢性乙型肝炎相关肝癌患者共1 089例。回顾性收集其一般资料、入院时的实验室检查指标、临床病史资料和入院后的临床诊断。将患者分为HBV非肝癌组和HBV肝癌组。纳入标准:①慢性HBV感染患者,诊断标准参考2019年《慢性乙型肝炎防治指南》[HBsAg阳性超过6个月或既往有乙型肝炎病史,现HBsAg和(或)HBV-DNA阳性仍为阳性者,诊断为慢性HBV感染];②肝癌组为慢性HBV感染且经超声或病理活组织检查(活检)确诊为原发性肝癌的患者;③病史资料、实验室检查资料完

整者<sup>[10]</sup>。排除标准:①合并甲型、丙型、戊型肝炎病毒或HIV等其他病毒感染;②其他原因导致的慢性肝病者,如酒精性/非酒精性脂肪肝、药物性肝损伤、自身免疫性肝病等;③肝部转移性或继发性肿瘤的患者;④妊娠合并肝病者;⑤有主要功能脏器移植史或其他严重疾病的患者;⑥诊断不明确者。该研究经过中山大学附属第三医院医学伦理委员会批准(批件号:[2019]02-489-01)。

### 二、实验室检查指标

患者在入院时采集外周血标本,其中ALT、AST、总蛋白、白蛋白、球蛋白、总胆红素、直接胆红素、 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶、载脂蛋白A1、载脂蛋白B、脂蛋白(a)、AFP。白蛋白、总胆红素使用日立7180全自动生化分析仪或日立7600全自动生化分析仪检测,采用迈克生物股份有限公司的试剂;AFP用Cobas e601全自动电化学发光免疫分析仪及配套的AFP定量检测试剂盒(电化学发光法)检测。AFP值大于检测上限的按检测上限值处理,小于检测下限的按检测下限值处理。

### 三、统计学处理

应用SPSS 25.0处理数据,所有计量资料经Kolmogorov-Smirnov检验呈偏态分布,用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney  $U$ 检验。用R软件“Publish”包进行单因素、多因素Logistic回归分析,进行自变量的筛选,“car”包计算方差膨胀因子(VIF)进行共线性诊断,构建肝癌诊断模型,用ROC AUC进行模型诊断效能评价,由约登指数(Youden index)求得最佳截断值,根据该值计算灵敏度、特异度等。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、研究对象的一般资料

本研究共纳入1 089例CHB患者,年龄48(17, 83)岁,其中男929例(85.3%)、女160例(14.7%),非肝癌患者(HBV非肝癌组)745例、肝癌患者(HBV肝癌组)344例,AFP $<20 \mu\text{g/L}$ 患者624例(57.3%)、AFP 20~400  $\mu\text{g/L}$ 患者291例(26.7%)、AFP $>400 \mu\text{g/L}$ 患者174例(16.0%)。

## 二、非肝癌组和肝癌组患者的临床指标比较

非肝癌组和肝癌组中均以男性患者居多。与非肝癌组患者比较，肝癌组患者的年龄较大，AFP>400 μg/L 患者的比例和球蛋白、γ-谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶的水平均较高，而 AFP<20 μg/L 患者的比例、ALT、白蛋白、载脂蛋白 A1 的水平低于非肝癌组，组间比较差异均有统计学意义 ( $P$  均 <0.05)。见表 1。

## 三、临床指标的多因素分析

将  $P < 0.10$  的变量纳入多因素分析，计算 VIF 进行共线性诊断，将大于 5 的变量剔除后进行多

因素 Logistic 回归分析。Logistic 回归结果显示，性别、年龄、AFP、碱性磷酸酶、载脂蛋白 A1 均为 HBV 相关肝癌的影响因素 ( $P$  均 <0.05)。见表 2。

## 四、AFP 联合载脂蛋白 A1 等指标在 HBV 相关肝癌诊断中的价值

根据 Logistic 多因素回归的结果，使用性别、年龄、AFP、碱性磷酸酶、载脂蛋白 A1 构建肝癌诊断的联合模型，计算出对应预测概率进行 ROC 曲线分析。单独 AFP 诊断 HBV 相关肝癌的灵敏度为 70.93%、特异度为 70.34%，而联合指标模型诊断 HBV 相关的灵敏度为 73.55%、特异度

表 1 非肝癌组与肝癌组临床指标的差异

指 标	非肝癌组 (745 例)	肝癌组 (344 例)	$\chi^2/Z$ 值	$P$ 值
性别 / 例 (%)			18.789	<0.001
女	133 (17.9)	27 (7.8)		
男	612 (82.1)	317 (92.2)		
AFP / 例 (%)			260.468	<0.001
<20 μg/L	524 (70.3)	100 (29.1)		
20~400 μg/L	186 (25.0)	105 (30.5)		
>400 μg/L	35 (4.7)	139 (40.4)		
年龄 / 岁	45.00 (35.00, 54.00)	54.00 (47.00, 62.00)	-11.216	<0.001
AST / (U/L)	66.00 (33.00, 226.00)	70.50 (45.00, 149.00)	-0.619	0.536
ALT / (U/L)	58.00 (30.00, 341.00)	47.00 (31.00, 78.50)	-4.549	<0.001
总蛋白 / (g/L)	67.00 (62.30, 72.10)	66.15 (61.20, 70.45)	-1.918	0.055
白蛋白 / (g/L)	37.60 (31.80, 42.70)	33.70 (29.70, 38.85)	-6.286	<0.001
球蛋白 / (g/L)	28.60 (25.50, 33.00)	30.90 (27.40, 35.45)	-5.320	<0.001
总胆红素 / (μmol/L)	27.40 (14.50, 89.60)	26.30 (16.80, 54.30)	-0.315	0.753
直接胆红素 / (μmol/L)	12.10 (5.50, 59.10)	12.41 (7.35, 29.25)	-0.736	0.462
γ-谷氨酰转氨酶 / (U/L)	61.00 (27.00, 132.00)	127.50 (54.00, 244.50)	-9.275	<0.001
碱性磷酸酶 / (U/L)	103.00 (77.00, 140.00)	133.50 (94.50, 205.50)	-8.198	<0.001
载脂蛋白 A1 / (g/L)	1.21 (0.79, 1.43)	1.04 (0.69, 1.28)	-4.610	<0.001
载脂蛋白 B / (g/L)	0.87 (0.63, 1.12)	0.90 (0.65, 1.13)	-0.790	0.430
脂蛋白 (a) / (mg/L)	48.00 (22.00, 102.00)	49.50 (23.00, 113.50)	-0.089	0.929

表 2 HBV 相关肝癌的多因素分析

指 标	$B$ 值	标准误差	Wald $\chi^2$ 值	OR (95%CI)	$P$ 值
性别 (男性 vs. 女性)	1.511	0.301	25.282	4.532 (2.515~8.167)	<0.001
年龄	0.078	0.008	98.159	1.081 (1.065~1.098)	<0.001
AFP				1 (参照)	
<20 μg/L					
20~400 μg/L	1.269	0.202	39.617	3.556 (2.396~5.279)	<0.001
>400 μg/L	3.231	0.276	136.717	25.300 (14.721~43.482)	<0.001
总蛋白	0.004	0.014	0.063	0.996 (0.969~1.025)	0.802
白蛋白	0.006	0.017	0.138	1.006 (0.973~1.041)	0.710
γ-谷氨酰转氨酶	0.001	0.001	0.953	1.001 (0.999~1.002)	0.329
碱性磷酸酶	0.005	0.001	15.353	1.005 (1.003~1.008)	<0.001
载脂蛋白 A1	0.774	0.283	7.476	0.461 (0.265~0.803)	0.006

为 82.68%。单独 AFP 诊断 HBV 相关肝癌的 ROC AUC 为 0.750 (95%CI 0.716~0.783), 联合模型诊断 HBV 相关肝癌的 ROC AUC 为 0.859 (95%CI 0.835~0.883), 联合模型诊断的 ROC AUC 大于单独 AFP 诊断 ( $Z = 7.737, P < 0.001$ )。见图 1。

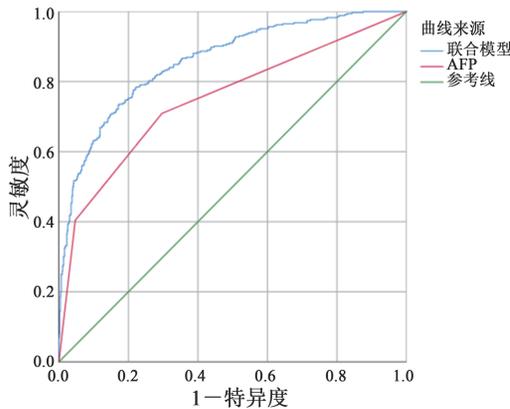


图 1 脂蛋白联合 AFP 诊断 HCC 的 ROC 曲线

## 讨 论

我国肝癌患者中约 80% 有 HBV 感染的背景<sup>[11]</sup>。HBV 感染引起的肝细胞损伤及炎症的反复发作是 CHB 患者进展为肝硬化甚至肝癌的重要因素, 严重危害人类身心健康<sup>[12]</sup>。

AFP 是目前肝癌诊断应用最广泛的血清学标志物, 但其灵敏度和特异度不够理想<sup>[13-15]</sup>。本研究同样显示, 单独 AFP 诊断 HBV 相关肝癌的灵敏度为 70.93%、特异度为 70.34%, 而联合模型的灵敏度为 73.55%、特异度为 82.68%。碱性磷酸酶是一组分布在人体多组织细胞膜上的同工酶, 其血清水平上升在肝脏病变中常表现为胆道梗阻, 碱性磷酸酶水平中度或重度升高则以肝癌最为明显, 本研究显示肝癌组中碱性磷酸酶的水平高于非肝癌组, 这与既往报道一致<sup>[4]</sup>。另外, 有学者认为碱性磷酸酶可以作为肝癌预后的评估指标<sup>[16-17]</sup>。载脂蛋白 A1 是 HDL 的主要蛋白成分, 能促进胆固醇从肝脏排泄, 是一种对脂质代谢有特殊作用的蛋白。本研究显示, 肝癌组血清载脂蛋白 A1 水平低于非肝癌组。该结果与张利红<sup>[18]</sup>的研究相一致: 肝癌组的载脂蛋白 A1 低于肝脏良性疾病 (肝硬化、脂肪肝、肝炎) 组和健康对照组。徐飞等<sup>[19]</sup>报道, 肝癌患者手术后血清载脂蛋白 A1 水平上升,

且术后高载脂蛋白 A1 水平的患者生存率较高, 提示载脂蛋白 A1 的升高有利于肝癌患者的生存。另外, 多项研究显示, 肝细胞严重受损时, 肝细胞合成能力降低协同 HBV 通过抑制载脂蛋白 A1 启动子活性造成了载脂蛋白 A1 的低水平表达, 表明 HBV 可以降低载脂蛋白 A1 的水平<sup>[20,21]</sup>。载脂蛋白 A 家族基因对 HBV 相关肝癌的诊断具有重要意义, 且可以通过调控过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) 信号通路影响肝癌进展, 因此其可能是潜在的诊断生物标志物<sup>[9]</sup>。载脂蛋白 A1 主要通过抑制肿瘤新生血管的生成、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 和凋亡抑制蛋白 (Survivin) 的表达等先天性和适应性免疫反应来实现抗肿瘤的作用, 且在小鼠中给予载脂蛋白 A1 能减少肿瘤生长, 提示载脂蛋白 A1 在肿瘤发生、发展中具有重要作用<sup>[22]</sup>。

总而言之, 血清载脂蛋白 A1 水平在 HBV 相关肝癌中发生变化, 且联合 AFP 后可以提高其诊断效能。本研究具有一定的局限性: 数据来源于单个中心, 需要多中心更大样本的研究进一步验证研究结果; 除了载脂蛋白 A1 外, 纳入其他肝脏功能指标评估可能有助校正混杂因素的影响。

## 参 考 文 献

- [1] 国家卫生健康委办公厅. 原发性肝癌诊疗指南 (2022 年版). 临床肝胆病杂志, 2022, 38 (2): 288-303.
- [2] 王子文, 邢雪. 原发性肝癌术前肝脏储备功能的综合评估研究进展. 临床普外科电子杂志, 2017, 5 (4): 44-49, 58.
- [3] Ren M, Li J, Xue R, et al. Liver function and energy metabolism in hepatocellular carcinoma developed in patients with hepatitis B-related cirrhosis. *Medicine*, 2019, 98 (19): e15528.
- [4] Chrostek L, Supronowicz L, Panasiuk A, et al. The effect of the severity of liver cirrhosis on the level of lipids and lipoproteins. *Clin Exp Med*, 2014, 14 (4): 417-421.
- [5] Theofilatos D, Fotakis P, Valanti E, et al. HDL-apoA-I induces the expression of angiopoietin like 4 (ANGPTL4) in endothelial cells via a PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathway. *Metabolism*, 2018, 87: 36-47.
- [6] Cabou C, Honorato P, Briceño L, et al. Pharmacological inhibition of the F1-ATPase/P2Y1 pathway suppresses the effect of apolipoprotein A1 on endothelial nitric oxide synthesis and vasorelaxation. *Acta Physiol*, 2019, 226 (3): e13268.
- [7] Castaing-Berthou A, Malet N, Radojkovic C, et al. PI3K $\beta$  plays a key role in apolipoprotein A-I-induced endothelial cell proliferation through activation of the ecto-F1-ATPase/P2Y1 receptors. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42 (2): 579-593.
- [8] Valanti E K, Dalakoura-Karagkouni K, Sanoudou D. Current and emerging reconstituted HDL-apoA-I and HDL-apoE

- approaches to treat atherosclerosis. *J Pers Med*, 2018, 8 (4): 34.
- [9] Wang X, Gong Y, Deng T, et al. Diagnostic and prognostic significance of mRNA expressions of apolipoprotein A and C family genes in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (10): 18246-18265.
- [10] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 (2019年版). *中华传染病杂志*, 2019, 37 (12): 711-736.
- [11] 丰先明. 甲胎蛋白异质体在乙型肝炎病毒相关肝癌中的临床价值. *检验医学与临床*, 2018, 15 (12): 1820-1823.
- [12] Sartorius K, Makarova J, Sartorius B, et al. The regulatory role of microRNA in hepatitis-B virus-associated hepatocellular carcinoma (HBV-HCC) pathogenesis. *Cells*, 2019, 8 (12): 1504.
- [13] 何娅娣, 吴振权, 侯国良. 血浆环状 RNA\_0002867 对 HBV 相关性肝癌诊断价值的初步研究. *新医学*, 2021, 52 (8): 572-575.
- [14] Si Y Q, Wang X Q, Fan G, et al. Value of AFP and PIVKA-II in diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma and prediction of vascular invasion and tumor differentiation. *Infect Agent Cancer*, 2020, 15 (1): 70.
- [15] Peng C, Li Z, Xie Z, et al. The role of circulating microRNAs for the diagnosis of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma with low alpha-fetoprotein level: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol*, 2020, 20 (1): 249.
- [16] Chicco D, Oneto L. Computational intelligence identifies alkaline phosphatase (ALP), alpha-fetoprotein (AFP), and hemoglobin levels as most predictive survival factors for hepatocellular carcinoma. *Health Informatics J*, 2021, 27 (1): 1460458220984205.
- [17] Huang C W, Wu T H, Hsu H Y, et al. Reappraisal of the role of alkaline phosphatase in hepatocellular carcinoma. *J Pers Med*, 2022, 12 (4): 518.
- [18] 张利红. 血脂检测在肝脏疾病诊断中的临床意义. *中国医药科学*, 2012, 2 (7): 103-104.
- [19] 徐飞, 汪光海, 邱伟. 肝癌手术前后血清甲胎蛋白和白蛋白及载脂蛋白水平的变化及意义. *中国肿瘤临床与康复*, 2021, 28 (9): 1107-1110.
- [20] 祝成亮, 李艳, 高国生, 等. 乙型肝炎病毒对载脂蛋白 A1 表达的影响及其机制探讨. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2012, 32 (6): 504-507.
- [21] 高国生, 董飞波, 颜卫华. 血清载脂蛋白 A-1 检测在 HBV 相关肝癌中的临床价值. *医学研究杂志*, 2017, 46 (4): 109-112.
- [22] 田华华, 周丽华, 高聪. 血清甲胎蛋白、碱性磷酸酶、维生素 K 缺乏诱导蛋白联合检查对原发性肝癌患者的临床意义及相关性分析. *中国基层医药*, 2020, 27 (23): 2846-2850.
- [23] Zamanian-Daryoush M, Lindner D, Tallant T C, et al. The cardioprotective protein apolipoprotein A1 promotes potent anti-tumorigenic effects. *J Biol Chem*, 2013, 288 (29): 21237-21252.

(收稿日期: 2022-09-14)

(本文编辑: 林燕薇)

