

腹腔积液甲胎蛋白异质体检测在肝癌及疗效观察中的应用价值

卓连坤¹, 白振连¹, 闫道杰², 李海峰³, 毕研萍², 马爱芹¹ (山东省莱芜市人民医院: 1. 核医学科; 2. 肝病科; 3. 病理科, 山东莱芜 271100)

【摘要】 目的 探讨腹腔积液甲胎蛋白异质体(AFP-L3)检测在肝源性腹腔积液良恶性鉴别、肝细胞癌(HCC)预警及疗效观察中的应用价值。**方法** 应用 AFP-L3 亲和吸附离心管法, 分离 130 例次肝源性腹腔积液患者腹腔积液及同时段血清中的 AFP-L3, 用微粒子化学发光免疫法检测腹腔积液及血清 AFP 和 AFP-L3 的含量, 计算同一标本的 AFP-L3/AFP 比值, 记为 AFP-L3%。**结果** 48 例次肝细胞癌患者腹腔积液及血清中 AFP-L3% 明显高于其他肝病患者。若以 AFP-L3% $\geq 10\%$ 为肝癌阳性诊断指标, HCC 患者腹腔积液及血清中 AFP-L3% 阳性诊断率明显高于其他肝病患者, HCC 患者腹腔积液及血清阳性诊断率分别为 81.25%、68.75%。其他肝病患者阳性诊断率分别为 14.63%、13.41%。同组间比较 HCC 患者的腹腔积液和血清阳性诊断率差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其他肝病患者腹腔积液和血清阳性诊断率, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。腹腔积液和血清 AFP-L3% 诊断 HCC 的敏感度分别为 82.69% 和 71.15%; 特异性分别为 89.74% 和 91.31%; 准确度分别为 86.92% 和 83.85%。肝细胞癌患者治疗前后腹腔积液 AFP-L3% 阳性诊断率分别为 85.71%、76.00%; 血清 AFP-L3% 阳性诊断率分别为 78.57%、64.00%, 治疗前后差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。初步诊断非肝细胞癌患者 44 例, 其中 25 例不同时段动态检测腹腔积液及血清 AFP-L3%, 4 例两次以上阳性者, 最后确诊为 HCC。**结论** 腹腔积液 AFP-L3 检测在肝源性腹腔积液良恶性鉴别上较血清 AFP-L3 检测灵敏度更高, 特异性、准确度差别不大, 对肝细胞癌患者诊断及疗效观察具有一定意义。

【关键词】 腹腔积液; 甲胎蛋白异质体; 肝细胞癌; 鉴别诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.18.004 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)18-2264-02

Value of the detection of alpha-fetoprotein variants of ascites in identification, warning and curative effect observation of HCC ZHUO Lian-kun¹, BAI Zhen-lian¹, YAN Dao-jie², LI Hai-feng³, BI Yan-ping², MA Ai-qin¹ (1. Department of Nuclear Medicine; 2. Department of Liver Disease; 3. Department of Pathology, The People's Hospital of Laiwu, Shandong 271100, China)

【Abstract】 Objective To explore the application of alpha-fetoprotein variants (AFP-L3) of benign and malignant ascites in identification, warning and curative effect observation of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Ascites and serum AFP-L3 were separated by centrifugal column method in 130 patients with Liver-derived ascites, and the ascites and serum levels of AFP and AFP-L3 were detected by microparticle chemiluminescent immunoassay method. It calculated the ratio of AFP-L3/AFP in the same sample, that signed AFP-L3 (%). **Results** The ascites and serum levels of AFP-L3% in 48 patients with HCC group was significantly higher than these in other liver diseases. AFP-L3 (%) ≥ 10 ng/mL were taken as the diagnostic criterion, the levels of AFP-L3 (%) in patients with HCC were significantly higher than those in the patients with other liver diseases. The positive diagnostic rates of AFP-L3 in HCC patients ascites and serum were 81.25% and 68.75% respectively ($P < 0.01$), these in other liver diseases patients were 14.63% and 13.41% ($P > 0.05$). The sensitivities of AFP-L3 in HCC patients ascites and serum were 82.69% and 71.15%, and the specificities of them were 89.74% and 91.31%, the degrees of accuracy were 86.92% and 83.85%. The positive diagnostic rates of AFP-L3 between pre and post treatment were 85.71% and 76.00% in HCC patients ascites ($P < 0.01$), and these in serum were 78.57% and 64.00% ($P < 0.01$). **Conclusion** The levels of AFP-L3 in ascites can be used in differential diagnosis of benign and malignant ascites, and ascites AFP-L3 is more sensitive in differential diagnosis of benign and malignant Liver than that in the serum. The specificity and the degree of accuracy have no significant difference. The ascites level of AFP-L3 has certain significance in HCC observation of curative effect, and it has important value in the early warning of HCC.

【Key words】 ascites; alpha-fetoprotein variants; hepatocellular carcinoma; differential diagnosis

甲胎蛋白异质体(AFP-L3)的检测对肝细胞癌(HCC)的诊断价值, 国内外已有多篇研究报道。以往的研究从血清甲胎蛋白异质体(AFP-L3)的检测对肝细胞癌的诊断价值、临床应用以及诊断方法学等不同方面进行, 但目前少见对腹腔积液

AFP-L3 的检测对良恶性肝病鉴别、良性肝病预警肝癌及肝细胞癌疗效判断有何应用价值的研究报道。作者使用国产的微量亲和吸附离心管法分离腹腔积液及同时段血清中甲胎蛋白异质体(AFP-L3), 用微粒子化学发光免疫法检测腹腔积液及

血清 AFP 和 AFP-L3 的含量,计算同一标本的 AFP-L3/AFP 比值,结合影像、病理及临床诊断,探索腹腔积液中 AFP-L3 的检测在良恶性肝病鉴别,及肝细胞癌疗效判断、良性肝病预警肝癌中的应用价值,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2008 年 11 月至 2011 年 10 月本院住院的肝源性腹腔积液患者,共计 67 例作为研究对象。其中男 50 例,女 17 例,年龄 39~73 岁,平均 59 岁。临床已确诊为 HCC 23 例,其中 14 例患者于手术、介入或放化疗前后,分别采集腹腔积液及血清两次以上,计 39 例次,本组共合计 48 例次。非肝细胞癌腹腔积液患者 44 例(肝硬化 31 例,肝炎 7 例,其他肝源性腹腔积液 6 例),其中 25 例在间隔不同时段采集标本两次以上,计 63 例次,本组共合计 82 例次。HCC 诊断标准符合卫生部医政司组织由全国肿瘤防治办公室与中国抗癌协会合编的《新编常见恶性肿瘤诊治规范》中有关原发性肝细胞癌的诊断标准。所有腹腔积液及同时段血清标本,均在采集后立即送检,当日进行检测。

1.2 仪器 贝克曼 DXI800 微粒子化学发光免疫分析设备。试剂:AFP 为贝克曼 DXI800 微粒子化学发光免疫分析设备配套试剂;AFP-L3 亲和吸附离心管装置由北京热景生物技术有限公司提供。

1.3 方法 AFP-L3 亲和吸附离心管内,预先装有耦联了凝集素小扁豆凝集素的微球,可以特异结合 AFP-L3,加入标本后经一定时间的结合,经过离心洗脱后收集的洗脱液中含有 AFP-L3。然后使用贝克曼 DXI800 微粒子化学发光免疫分析设备及配套 AFP 试剂,对处理前标本和处理后样本进行 AFP 定量检测,分别获得总 AFP 和 AFP-L3 的检测值,通过计算获得 AFP-L3 占总 AFP 的比率,记为 AFP-L3%。按 AFP-L3%≥10%为肝癌阳性诊断指标,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS12.0 统计软件进行统计分析,采用 *t* 检验、方差分析、 χ^2 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 以 AFP-L3%≥10%为肝癌阳性诊断指标,临床已确诊为肝细胞癌(HCC)共计 48 例次,非肝细胞癌腹腔积液患者共计 82 例次,腹腔积液及同时段血清标本检测的 AFP-L3%结果比较见表 1。腹腔积液及同时段血清 AFP-L3%诊断 HCC 的敏感度分别为 82.69%和 71.15%;特异性分别为 89.74%和 91.31%;准确度分别为 86.92 和 83.85%。

表 1 HCC 与非 HCC 患者 AFP-L3%阳性率及均值结果					
临床诊断	标本	总例次	阳性例次	阳性率(%)	AFP-L3%($\bar{x}\pm s$)
HCC	腹腔积液	48	39	81.25	34.78±11.77
	血清	48	33	68.75 ^a	29.18±10.14 ^a
非 HCC	腹腔积液	82	12	14.63 ^b	4.69±3.35 ^b
	血清	82	11	13.41 ^{cd}	4.42±3.17 ^{cd}

注:与 HCC 腹腔积液结果比较,^a*P*<0.05,^b*P*<0.01;与非 HCC 腹腔积液结果比较,^c*P*>0.05;与 HCC 血清结果比较,^d*P*<0.01。

2.2 以 AFP-L3%≥10%为肝癌阳性诊断指标,HCC 患者治疗前后阳性率和 AFP-L3%均值见表 2。

2.3 非肝细胞癌腹腔积液患者 44 例,其中 25 例在间隔不同

时段采集标本两次以上,计 63 例次,以 AFP-L3%≥10%为肝癌阳性诊断指标,腹腔积液 12 例次阳性,血清 10 例次阳性,除 1 例一过性阳性外,4 例腹腔积液和血清均两次以上阳性,且进行性升高,AFP-L3%检测范围腹腔积液在 11.26%~33.71%,血清在 10.83%~29.25%,经结合影像、病理等临床确诊为肝细胞癌。其余 40 例非肝细胞癌患者的腹腔积液和同时段血清 AFP-L3%检测范围分别为 0.39%~11.24%和 0.33%~10.39%,因标本量太少,未进行统计学分析。

表 2 HCC 患者 AFP-L3%阳性率及均值结果					
临床诊断	标本	总例次	阳性例次	阳性率(%)	AFP-L3%($\bar{x}\pm s$)
治疗前	腹腔积液	14	13	85.71	35.15±10.43
	血清	14	12	78.57	27.03±8.91
治疗后	腹腔积液	25	19	76.00 ^a	25.68±9.35 ^b
	血清	25	16	64.00 ^b	21.10±8.17 ^c

注:与治疗前腹腔积液结果比较,^a*P*<0.01;与治疗前血清结果比较,^b*P*<0.01,^c*P*<0.05。

3 讨论

AFP-L3 的检测对 HCC 的诊断价值,是近几年国内外研究的前沿课题,国内也已有多篇研究报道。李永利等^[1]研究证明,AFP-L3 是一个独立肝细胞癌诊断因子,AFP-L3 测定对良恶性肝病的鉴别及肝癌的早期预警诊断具有重要意义。殷正丰^[2]认为 AFP-L3 检测有助于鉴别良恶性肝病、预警肝癌发生并有助于预测肝癌预后。卓传尚等^[3]证实微量离心柱法检测 AFP-L3 对肝细胞癌诊断准确度明显高于 AFP,且在良恶性肝病鉴别诊断中具有重要临床价值。研究早已证实,腹腔积液中多种肿瘤标志物包括 AFP 检测,可以提高良恶性腹腔积液鉴别诊断的准确性和灵敏度。陈晓琴等^[4]研究证明腹腔积液肿瘤标志物 AFP、癌胚抗原、糖链抗原(CA-199)等的联合检测有助于腹腔积液良恶性的鉴别。已有研究证明腹腔积液中的多种肿瘤标志物对良恶性疾病的鉴别诊断敏感性好、特异性高,较血清中具有更高的诊断阳性率^[5-7]。既然血清 AFP-L3 对肝癌的早期诊断具有重要价值,那么腹腔积液中 AFP-L3 的检测对良恶性肝病鉴别、良性肝病预警肝癌及肝癌疗效观察有何应用价值?这正是本研究的目的及意义。

本研究结果表明,以 AFP-L3%≥10%为肝癌阳性诊断指标,腹腔积液及同时段血清 AFP-L3%诊断 HCC 的阳性率分别为 81.25%、68.75%;敏感度分别为 82.69%和 71.15%;特异性、准确度相近;且腹腔积液较同时段血清 AFP-L3%检测均值也有差异,说明腹腔积液 AFP-L3 检测对 HCC 的诊断较血清价值更大。HCC 和非 HCC 的腹腔积液及同时段血清 AFP-L3%检测的阳性率、均值间均有明显差异,说明腹腔积液 AFP-L3 检测对腹腔积液的良恶性鉴别诊断同样具有重要价值。

本研究通过动态检测 39 例次 HCC 患者治疗前后 AFP-L3,计算其比率及均值看出,治疗后较治疗前腹腔积液和血清阳性率、检测均值均有明显降低,腹腔积液和血清 AFP-L3%阳性率分别由 85.71%降为 76.00%、78.57%降为 64.00%,均值间比较也有明显差异,说明腹腔积液 AFP-L3 检测对 HCC 疗效观察和血清具有同样重要价值。

本研究还对 44 例非肝细胞癌腹腔积液患者,其中 25 例在间隔不同时段采集标本 2 次以上,除 1 例一(下转第 2268 页)

存在。

表 2 显示,异常提示与人工镜检的符合率因异常细胞的种类不同而有较大差异。部分标本出现符合多种复检标准的现象,逐项进行镜检发现仪器报警提示白细胞计数异常、血小板减少的阳性率分别为 97.85%、99.46%,符合率较高;提示核左移的阳性率为 65.52%,符合率较好;提示原始细胞、未成熟粒细胞、异型淋巴细胞、有核红细胞的阳性率分别为 25.81%、37.78%、28.30%、25.00%,符合率相对较差。36 份仪器提示有核红细胞的标本中血涂片有 27 份未见有核红细胞,导致误报警的原因可能是 XE-2100 是根据侧向荧光和侧向散射光信号来计算 NRBC,所以导致仪器误把小淋巴细胞计为有核红细胞;也有可能是中荧光网织红细胞与高荧光网织红细胞(HFR)胞浆内核糖体等碱性物质含量增多,体积近似于红细胞,被荧光染色后造成计数上的误差;也有可能是因为各种原因所致的小血小板聚集或巨大血小板等因素引起计数上的误差。53 份仪器提示异型淋巴细胞的标本中血涂片有 38 份未见异型淋巴细胞,可能与实验者对异常淋巴细胞的辨认尚不够准确有关,也有可能是大颗粒淋巴细胞和单核细胞在体积、颗粒及染色质疏密程度上与异型淋巴细胞有一定的相似性^[6],造成了仪器识别异型淋巴细胞的困难。65 份仪器提示血小板聚集的标本中血涂片有 50 份未见血小板聚集,可能与血小板卫星现象、仪器提示阈值或细胞碎片等杂质有关,造成仪器识别错误。

表 3 显示,仪器假阳性率为 13.00%(39/300),造成假阳性较高的可能原因如下:有些标本仪器提示有未成熟的粒细胞,但镜检并没有发现。XE-2100 血细胞分析仪采用单独通道对未成熟粒细胞进行测定,原理是基于未成熟粒细胞膜上的脂质成分较成熟粒细胞少^[7],与硫化氨基酸结合的量多于较成熟的细胞、且对溶血剂有抵抗作用。当加入溶血剂时,成熟的粒细胞被溶解,只留下幼稚细胞得以计数。上述镜检未检测到阳性,可能是因为机体出现了炎症反应,使成熟粒细胞膜成分发生改变导致仪器的误报警^[8]。有些标本仪器提示有未成熟粒细胞而显微镜结果为中幼粒细胞 0.005,晚幼粒细胞 0.01 等,均未能达到镜检阳性的标准,但已接近临界值。有些标本提示单核细胞增加而显微镜结果为 0.10~0.14,均未能达到镜检阳性的标准,但已接近临界值。这种情况与仪器本身设计的灵敏度有关,而且与实验人员识别血细胞的能力有关,大家可以通过扩大检测样本量和加强检验人员的培训来减少人工镜检

的差异。

表 3 还显示,本室设定的显微镜复检标准的特异度为 81.16%,特异度不是很理想的原因可能与标本例数不足等因素有关,也可能与实验室设置仪器的参数有关。例如,该机设置提示阈值较低,以增高提示的灵敏度,减少漏掉异常细胞的机会。仪器这样设置也会同时会造成相应的特异度较低。

综上所述,XE-2100 全自动血细胞分析仪尚不能完全代替人工显微镜对各类血细胞(特别是骨髓细胞、异常细胞等)的识别和分类检查,为了保证血液分析仪检测结果的真实性和提供临床诊断价值,面对仪器报警信号,都应严格按照复检规则进行显微镜复检。同时,也要注意提高临床技术人员识别血细胞的能力,学会综合分析各种干扰因素,为临床提供全面、准确可靠的检验报告。

参考文献

[1] 陈小剑,王晓欧,李绵绵. XE-2100 血细胞分析仪血涂片复检标准制定及评价[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(4):384-387.

[2] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:135.

[3] 熊立帆,刘成玉. 临床检验基础[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2008,112-114.

[4] 倪宗璠. 卫生统计学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2002:165-167.

[5] 陈梅,肖旺贤,段朝辉,等. Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪对形态异常细胞提示功能评价[J]. 实用全科医学,2007,5(3):257-258.

[6] 陆惠强,杨伟杰,张建强,等. 全自动血细胞分析仪异常报警信息的评价及其临床应用[J]. 中国实验诊断学,2009,13(6):818-819.

[7] Herklotz R, Huber AR. Precision and accuracy of the leukocyte differential in the sysmex XE-2100[J]. Sysmex J Int,2001,11(11):8-21.

[8] Elkin Simson. 全自动血液分析仪的复检标准[J]. 中华医学检验杂志,2007,30(4):371-373.

(收稿日期:2012-02-22)

(上接第 2265 页)

过性阳性外,4 例两次以上阳性,且进行性升高,AFP-L3%监测范围腹腔积液在 11.26%~33.71%,血清在 10.83%~29.25%,均明显高于其他 40 例非肝细胞癌腹腔积液患者,经结合影像、病理等临床确诊为早期肝细胞癌。由此看出动态检测腹腔积液 AFP-L3 对非肝细胞癌腹腔积液患者预警 HCC 的发生具有重要意义。

参考文献

[1] 李永利,马洪滨,郭静霞,等. 甲胎蛋白异质体 L3 预警原发性肝癌的研究[J]. 中华实验和病毒学杂志,2008,22(5):336-338.

[2] 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):1-4.

[3] 卓传尚,柳丽娟,吴秋芳. 小扁豆凝集素结合型甲胎蛋白

异质体在肝癌诊断中的意义[J]. 中国实验诊断学,2009,13(2):208-210.

[4] 陈晓琴,齐香静,周力. 联合检测肿瘤标志物对鉴别良恶性腹水的价值[J]. 贵阳医学院学报,2011,36(5):497-499.

[5] 李炎梅. 多肿瘤标志物联合检测在鉴别良恶性腹水中的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2010,7(20):2259-2260.

[6] 周会祥,洪霞,江永青. 腹水 AFP,CEA,CA19-9 的联合检测[J]. 实验与检验医学,2009,27(4):356-357.

[7] 刘庆峰,王涛,刘贵建. 肿瘤标记物在消化系统肿瘤诊断中的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(5):1397-1399.

(收稿日期:2012-02-16)