

# AFP、AFP - L3、AFP - L3% 和 IL - 6 在乙肝肝硬化人群中诊断肝癌的价值

丁鹏鹏 田雅茹 林 芳 柏兆方 黄 昂 徐东平

**摘 要** **目的** 探讨不同血清肿瘤标志物在乙肝肝硬化人群中预测和诊断肝癌的临床价值。**方法** 分析 99 例乙肝肝硬化患者、99 例乙肝肝硬化合并原发性肝癌患者的临床资料,分别检测血清甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体(AFP - L3)和白介素 6(IL - 6)含量,并计算 AFP - L3% (AFP - L3/AFP),比较两组间各血清肿瘤标志物表达水平差异,并计算各血清肿瘤标志物诊断肝癌的敏感度及特异性。**结果** 乙肝肝硬化组与乙肝肝硬化合并肝癌组之间 AFP[3.2(2.1,8.5)ng/ml vs 14.1(3.9,128.3)ng/ml]、AFP - L3[0.2(0.1,0.5)ng/ml vs 0.8(0.2,13.8)ng/ml]、AFP - L3% [5.0%(5.0%,5.0%) vs 5.0%(5.0%,11.7%)]、IL - 6[8.7(6.3,11.4)pg/ml vs 13.5(10.7,16.5)pg/ml],差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。AFP 在乙肝肝硬化人群诊断肝癌的敏感度为 43.9%,特异性为 84.8%;AFP - L3 敏感度为 48.1%,特异性为 83.8%;AFP - L3% 敏感度为 29.3%,特异性为 97.5%;IL - 6 敏感度为 98.9%,特异性为 34.3%。**结论** 血清肿瘤标志物 AFP、AFP - L3、AFP - L3% 均能有效用于乙肝肝硬化人群预测和诊断肝癌,AFP - L3% 更具优势;IL - 6 敏感度虽高,但特异性低,不能有效用于肝癌的诊断。

**关键词** AFP AFP - L3 AFP - L3% IL - 6 肝硬化 肝癌

**中图分类号** R392

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.008

**Value of AFP, AFP - L3, AFP - L3% and IL - 6 in Diagnosing Liver Cancer among People with Hepatitis B Cirrhosis.** Ding Pengpeng, Tian Yaru, Lin Fang, et al. Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

**Abstract** **Objective** To assess the value of different serum tumor markers in predicting and diagnosing liver cancer among patients with hepatitis B cirrhosis. **Methods** We analyzed medical records of 99 patients diagnosed with hepatitis B cirrhosis, and 99 patients diagnosed with hepatitis B cirrhosis complicated with primary hepatic carcinoma. Serum level of AFP, AFP - L3, IL - 6 and AFP - L3% were measured. We calculated expression level difference of serum tumor markers between the two groups, as well as the sensitivity and specificity of these markers in diagnosing liver cancers. **Results** Serum level of each tumor marker expressed as median (interquartile range) for patients with and without primary hepatic carcinoma were as follows: AFP [3.2(2.1,8.5)ng/ml vs 14.1(3.9,128.3)ng/ml], AFP - L3 [0.2(0.1,0.5)ng/ml vs 0.8(0.2,13.8)ng/ml], AFP - L3% [5.0%(5.0%,5.0%) vs 5.0%(5.0%,11.7%)], IL - 6 [8.7(6.3,11.4)pg/ml vs 13.5(10.7,16.5)pg/ml]. All difference reached statistical significance ( $P < 0.05$ ). The sensitivity and specificity of each tumor markers in diagnosing primary hepatic carcinoma in patients with hepatitis B cirrhosis were 43.9% and 84.8% for AFP, 48.1% and 83.8% for AFP - L3, 29.3% and 97.5% for AFP - L3% and 98.9% and 34.3% for IL - 6. **Conclusion** The serum tumor markers AFP, AFP - L3, and AFP - L3% can be effectively used to diagnose primary hepatic carcinoma among patient with hepatitis B cirrhosis, and AFP - L3% was most superior. Although IL - 6 has high sensitivity, its low specificity precludes its value in diagnosing liver cancer in cirrhotic hepatitis B patients.

**Key words** AFP; AFP - L3; AFP - L3%; IL - 6; Cirrhosis; Primary hepatic carcinoma

原发性肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,恶性度高,最常见的原因因为慢性乙肝病毒感染引起的肝硬化进展而来。因早期肝癌一般无明显临床症状,发现时

多数已进展至中晚期肿瘤,而肿瘤的早期发现及诊断对患者的治疗和预后具有重要意义。目前临床上常用的诊断方法有影像学 and 血清学诊断,因影像学检查与操作者的技术水平高低密切相关,人为因素影响较大,费用相对较高,所以临床上均倾向于血清学诊断作为原发性肝癌的普查手段。目前,最常用的肝癌血清标志物为甲胎蛋白(AFP),但 AFP 的敏感度在 66% 左右,特异性在 82% 左右<sup>[1]</sup>,且容易受肝脏炎症

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81600453)

作者单位:100850 北京,中国人民解放军军事医学科学院(丁鹏鹏、徐东平);100039 中国人民解放军第 302 医院(丁鹏鹏、林芳、柏兆方、黄昂、徐东平);100049 北京,航天中心医院重症医学科(田雅茹)

通讯作者:徐东平,博士生导师,电子信箱:xdongping@yeah.net

状态和卵巢功能等影响,尤其 80% 的小肝癌患者血清中未见 AFP 升高,且在区分肝癌和肝硬化的鉴别诊断中有很大的误差<sup>[2,3]</sup>。近年来,甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 及 AFP-L3% (AFP-L3/AFP) 作为新的肝癌肿瘤标志物逐渐引起重视,亦有研究显示白介素 6 (IL-6) 与肝脏炎症及肝癌相关,有应用于早期肝癌普查的潜力<sup>[4]</sup>。然而不同的肝癌肿瘤标志物在肝硬化及肝硬化合并肝癌患者血清中的表达鲜见报道。本研究旨在观察 AFP、AFP-L3、AFP-L3% 和 IL-6 在乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并肝癌患者血清中的表达,探讨其在乙型肝炎肝硬化患者中发现和诊断肝癌的作用,试图发现最适合诊断早期肝癌的血清学指标。

资料与方法

1. 研究对象:自 2016 年 1 月 1 日起收集就诊中国人民解放军第 302 医院的初治肝硬化及肝硬化合并原发性肝癌患者,肝硬化、肝癌诊断主要依据病史、体格检查、血清学检查及腹部超声、增强 CT 及 MR 等,标准均符合我国国家卫生和计划生育委员会(原卫生部)及中华医学会制定的《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[5]</sup>,和《原发性肝癌诊疗规范》<sup>[6]</sup>,排除其他原因肝硬化、肝转移瘤及妊娠患者等;肝硬化失代偿期定义为合并腹水、静脉曲张、脾功能亢进及肝性脑病等失代偿期表现的肝硬化患者;肝癌分期参照最新的巴塞罗那临床分期,将 0 期、A 期定义为早期肝癌,其余分期定义为中晚期肝癌<sup>[7]</sup>。截止到 2016 年 6 月 30 日,共初次确诊乙型肝炎肝硬化合并肝癌患者 99 例(肝硬化合并肝癌组),随机选取同期就诊笔者医院并明确诊断为乙型肝炎硬化的初治患者 99 例(肝硬化组)。99 例乙型肝炎肝硬化患者中,男性 77 例,女性 22 例,患者年龄 24~70 岁,平均年龄 50.1±8.6 岁;99 例乙型肝炎肝硬化合并原发性肝癌患者中,男性 72 例,女性 27 例,患者年龄 30~77 岁,平均年龄 54.2±8.7 岁。

2. 检测方法:所有入选患者均在确诊后,并进一步治疗前,空腹 8h 后采集静脉血并及时分离血清,-80℃ 保存,以待进一步检验血清肿瘤标志物。AFP 采用罗氏公司电化学发光免疫分析仪测定,由罗氏公司提供配套试剂,严格按试剂说明书操作。AFP-L3

应用微量离心柱法进行分离,再用电化学发光法检测其含量,计算 AFP-L3/AFP 比值,微量离心柱及相关试剂由北京热景生物技术有限公司提供。IL-6 采用酶联免疫吸附试验法,试剂由深圳达科为公司提供配套试剂,严格按试剂说明书操作。同期采集静脉血化验 HBVDNA 及肝功能等相关指标,由笔者医院检验科执行。

3. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析,定性指标采用频数及率进行统计描述,组间差异采用卡方检验或 Fisher 检验;正态定量指标采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )进行统计描述,组间差异采用 *t* 检验或方差分析,非正态定量指标采用中位数(第一四分位数,第三四分位数)进行统计描述,组间差异采用 Wilcoxon 或 Kruskal-Wallis 秩和检验,两两比较采用 SNK 检验。不同指标的诊断能力采用 ROC 曲线分析,计算曲线下面积 (AUC)、95% 置信区间 (95% CI)、敏感度、特异性等指标。均采用双侧检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况:入选的乙型肝炎肝硬化组、乙型肝炎肝硬化合并肝癌组之间的性别、年龄、家族史等一般资料差异无统计学意义,两组间 ALT[33.5(23.0,48.0)U/L vs 32.0(23.0,48.5)U/L],AST[39.0(28.0,54.0)U/L vs 37.0(28.0,56.0)U/L],TBIL(20.40±14.30μmol/L vs 20.41±20.57μmol/L),差异无统计学意义(*P*>0.05)。

2. 血清 AFP、AFP-L3、AFP-L3% 和 IL-6 表达水平比较:乙型肝炎肝硬化组、乙型肝炎肝硬化合并肝癌组之间血清 AFP、AFP-L3、AFP-L3% 和 IL-6 表达水平均呈非正态分布,采用中位数(第一四分位数,第三四分位数)进行统计描述。乙型肝炎肝硬化合并肝癌组血清 AFP、AFP-L3、AFP-L3% 和 IL-6 表达水平均较乙型肝炎肝硬化组高,差异有统计学意义(*P*<0.05),详见表 1。组别细分为肝硬化代偿期、失代偿期和肝硬化合并早期肝癌、肝硬化合并中晚期肝癌组,组间血清 AFP、AFP-L3、AFP-L3% 和 IL-6 表达水平差异仍有统计学意义(*P*<0.05),详见表 2。

表 1 乙型肝炎肝硬化、乙型肝炎肝硬化合并肝癌组血清肿瘤标志物表达水平比较[中位数(第一四分位数,第三四分位数)]

| 项目             | 肝硬化组( <i>n</i> =99) | 肝硬化合并肝癌组( <i>n</i> =99) | <i>Z</i> | <i>P</i> |
|----------------|---------------------|-------------------------|----------|----------|
| AFP (ng/ml)    | 3.2(2.1,8.5)        | 14.1(3.9,128.3)         | 8.75     | <0.05    |
| AFP-L3 (ng/ml) | 0.2(0.1,0.5)        | 0.8(0.2,13.8)           | 9.04     | <0.05    |
| AFP-L3% (%)    | 5(5.0,5.0)          | 5.0(5.0,11.7)           | 5.97     | <0.05    |
| IL-6 (pg/ml)   | 8.7(6.3,11.4)       | 13.5(10.7,16.5)         | 12.35    | <0.05    |

表2 肝硬化代偿期、失代偿期和早期肝癌、中晚期肝癌间血清肿瘤标志物表达水平比较

[中位数(第一四分位数,第三四分位数)]

| 项目             | 肝硬化代偿期(n=43)   | 失代偿期(n=56)       | 早期肝癌(n=63)        | 中晚期肝癌(n=36)       |
|----------------|----------------|------------------|-------------------|-------------------|
| AFP (ng/ml)    | 2.4 (1.7, 5.8) | 5.0 (2.4, 11.3)  | 10.6 (3.6, 87.8)  | 20.5 (6.2, 307.7) |
| AFP-L3 (ng/ml) | 0.1 (0.1, 0.3) | 0.2 (0.10, 0.70) | 0.6 (0.20, 6.90)  | 2.0 (0.30, 51.0)  |
| AFP-L3% (%)    | 5.0 (5.0, 5.0) | 5.0 (5.0, 5.0)   | 5.0 (5.0, 8.5)    | 6.2 (5.0, 23.1)   |
| IL-6 (pg/ml)   | 6.3 (4.6, 7.5) | 11.1 (8.8, 13.3) | 12.2 (10.3, 14.5) | 17.4 (14.8, 20.0) |

各组间相同血清肿瘤标志物两两比较  $P$  均  $< 0.05$ 

3. 血清 AFP、AFP-L3、AFP-L3% 和 IL-6 在乙型肝炎肝硬化人群中诊断肝癌的价值:不同血清肿瘤标志物对乙型肝炎肝硬化人群诊断肝癌的价值不同,其诊断价值的 ROC 曲线及曲线下面积、95% CI,详见图1及表3。参照目前常用的检验阈值,AFP 为 20ng/ml, AFP-L3 为 1ng/ml, AFP-L3% 为 10%, IL-6 为 7pg/ml,计算出不同指标在乙型肝炎肝硬化人群中诊断肝癌的敏感度和特异性,详见表4,其中 IL-6 的敏感度最高,但其特异性过低,AFP-L3% 的特异性最高,更具优势。

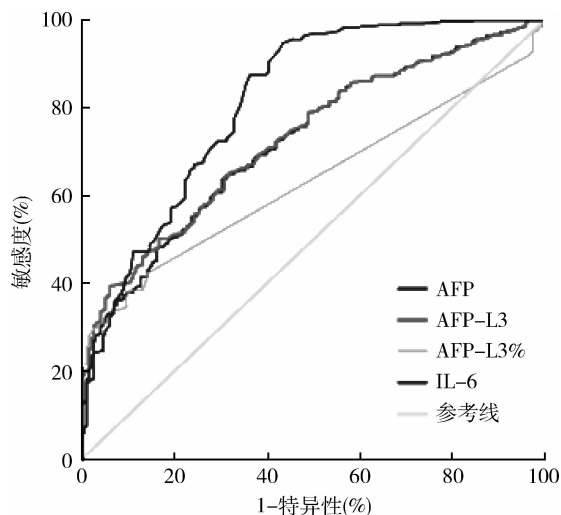


图1 各血清肿瘤标志物在乙型肝炎肝硬化人群中诊断肝癌的 ROC 曲线

表3 各指标在乙型肝炎肝硬化人群中诊断肝癌的曲线下面积及 95% CI

| 标志物     | 曲线下面积 | 回归系数  | 假定值   | 95% CI        |
|---------|-------|-------|-------|---------------|
| AFP     | 0.724 | 0.021 | 0.000 | 0.682 ~ 0.766 |
| AFP-L3  | 0.731 | 0.021 | 0.000 | 0.690 ~ 0.772 |
| AFP-L3% | 0.633 | 0.023 | 0.000 | 0.589 ~ 0.678 |
| IL-6    | 0.816 | 0.019 | 0.000 | 0.777 ~ 0.854 |

## 讨 论

嗜肝病毒感染可造成肝脏慢性炎症和损伤,逐渐

表4 各指标在乙型肝炎肝硬化人群诊断肝癌的敏感度和特异性

| 标志物     | 阈值      | 敏感度(%) | 特异性(%) |
|---------|---------|--------|--------|
| AFP     | 20ng/ml | 43.9   | 84.8   |
| AFP-L3  | 1ng/ml  | 48.1   | 83.8   |
| AFP-L3% | 10%     | 29.3   | 97.5   |
| IL-6    | 7pg/ml  | 98.9   | 34.3   |

引起肝硬化,最终可导致原发性肝癌的发生。原发性肝癌多起病隐匿,超过 60% 的患者在出现肿瘤转移后才被发现,导致整体 5 年生存率低于 16%<sup>[8]</sup>。早期诊断是改善肝癌预后的关键,但约 22% 的早期肝癌影像学表现并不典型<sup>[9]</sup>。病理学诊断虽是金标准,但早期肝癌病灶小,肝穿刺活检难度大,且具有一定创伤性<sup>[10]</sup>。因此,血清肝癌标志物具有比其他早期诊断方法更明显的优势<sup>[11]</sup>。

甲胎蛋白于 1956 年被发现,1964 年 Tatarinov<sup>[12]</sup>首次在原发性肝癌患者的血清中检测出 AFP。自此,AFP 一直用于肝癌的筛查、诊断、疗效评价及预后评估等。Liu 等<sup>[13]</sup>发现,约 1/3 早期肝癌 AFP 阴性,AFP 水平与肝癌病灶体积、血管侵袭及分化程度等相关,说明 AFP 诊断早期肝癌仍存在一定的漏诊率。本研究结果显示甲胎蛋白平均表达水平虽随着疾病进展而逐渐增高,但其在乙型肝炎肝硬化人群中诊断肝癌的敏感度只有 43.9%,特异性只有 84.8%,且其易受肝脏炎症状态及卵巢功能等影响,限制了其在临床应用的价值。

近年来研究发现,AFP 有 3 个糖链异质体,AFP-L3 只在癌细胞中产生。2005 年,美国食品药品监督管理局批准 AFP-L3% 作为肝癌的预警标志物,并将  $> 10\%$  定义为阳性<sup>[14]</sup>。多项研究表明 AFP-L3 及 AFP-L3% 特异性接近 90%,与 AFP 相比,它们与 HCC 直接相关,能排除良性肝病及妊娠的影响,特异性明显增高,但其敏感度只有约 40%,低的敏感度限制了其作为肝癌标志物的应用。本研究结果显示 AFP-L3 与 AFP 的敏感度及特异性相当,未见明显

优势。而 AFP-L3% 在乙肝肝硬化人群中诊断肝癌的特异性达到 97.5%, 明显高于 AFP 及 AFP-L3, 具有明显的优势, 但 AFP-L3% 的敏感度较低, 限制了其应用。可以将 AFP 筛查阳性的患者进一步检查 AFP-L3 通过 AFP-L3% 来提高肝癌诊断的准确性。联合应用 AFP、AFP-L3、AFP-L3%, 将有可能进一步提高肝癌诊断的敏感度和特异性。

血清 IL-6 由造血细胞和上皮细胞产生的一种多效应细胞因子, 被认为是肝细胞 CRP 合成的主要介质<sup>[15]</sup>。在肿瘤的微环境中, 其与 gp80/gp130 复合体结合, 导致 JAK 活化和 STAT3 磷酸化, 调节细胞增殖和阻止凋亡发生<sup>[16]</sup>。动物实验表明 IL-6 是一种重要的促癌因子, 亦有报道人 IL-6 基因的单核苷酸多态性和肝癌的发生密切相关<sup>[17]</sup>。因此, 近年来 IL-6 被广泛尝试用于早期肝癌的诊断, 但相关研究报道相对较少。本研究发现 IL-6 表达水平随着疾病病程进展而逐渐增高, 其在诊断肝癌方面有着很高的敏感度, 但其特异性差, 不能有效区分炎症及肿瘤等, 所以不能有效用于肝癌的诊断。

综上所述, 血清肿瘤标志物 AFP、AFP-L3 及 AFP-L3% 均能有效用于肝癌的筛查, 其中 AFP-L3% 更具有优势, 但单一应用效果均不理想, 需要联合检测相互补充, 相互印证, 从而提高原发性肝癌的检出率。IL-6 虽在肿瘤中表达水平增高, 但其易受炎症等多种因素影响, 不能用于肝癌的诊断。

#### 参考文献

- Marrero JA, Feng Z, Wang Y, *et al.* Alpha - fetoprotein, des - gamma carboxyprothrombin, and lectin - bound alpha - fetoprotein in early hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137 (1): 110 - 118
- Sangro B, Carpanese L, Cianni R, *et al.* Survival after yttrium - 90 resin microsphere radioembolization of hepatocellular carcinoma across Barcelona clinic liver cancer stages: a European evaluation[J]. *Hepatology*, 2011, 54 (3): 868 - 878
- Malaguarrera G, Giordano M, Paladina I, *et al.* Serum markers of hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55: 2744 - 2755
- Sander LE, Trautwein C, Liedtke C. Is interleukin - 6 a genderspecific

- ic risk factor for liver cancer ? [J]. *Hepatology*, 2007, 46 (4): 1304 - 1305
- 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. *中华肝脏病杂志*, 2005, 13 (12): 881 - 891
- 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
- Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. [J]. *Semin Liver Dis*, 1999; 19 (3): 329 - 338
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63 (1): 11 - 30
- Pahwa A, Beckett K, Channul S, *et al.* Efficacy of the American Association for the Study of Liver Disease and Barcelona Criteria for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Abdom Imaging*, 2014, 39 (4): 753 - 760
- Xu Y, Lu X, Mao Y, *et al.* Clinical diagnosis and treatment of alpha - fetoprotein - negative small hepatic lesions[J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25 (4): 382 - 388
- Tang XQ. Application of chemiluminescent enzyme immunoassay for tumor markers in primary liver cancer[J]. *Lab Med Clin*, 2013, 10 (19): 2580 - 2581
- Tatarinov IuS. Detection of embryo - specific alpha - globulin in the blood serum of a patient with primary liver cancer[J]. *Vopr Med Khim*, 1964, 10: 90 - 91
- Liu C, Xiao GQ, Yan LN, *et al.* Value of  $\alpha$  - fetoprotein in association with clinicopathological features of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19 (11): 1811 - 1819
- Food and Drug Administration, HHS. Medical devices; immunology and microbiology devices; classification of AFP - L3% immunological test systems. Final rule[J]. *Fed Regist*, 2005, 70 (191): 57748 - 57750
- Czarkowska - Paczek B, Bartłomiejczyk I, Gabrys T, *et al.* Lack of relationship between interleukin - 6 and CRP levels in healthy male athletes[J]. *Immunol Lett*, 2005, 99 (1): 136 - 140
- Bromberg J, Wang TC. Inflammation and cancer: IL - 6 and STAT3 complete the link[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15 (2): 79 - 80
- Liu Y, Gao SJ, Du BX, *et al.* Association of IL - 6 polymorphisms with hepatocellular carcinoma risk: evidences from a meta - analysis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35 (4): 3551 - 3561

(收稿日期: 2017 - 03 - 17)

(修回日期: 2017 - 03 - 29)

(上接第 23 页)

- Park KC, Song KH, Chung HK, *et al.* CR6 - interacting factor 1 interacts with orphan nuclear receptor Nur77 and inhibits its transactivation[J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19 (1): 12 - 24
- Tan JA, Bai S, Grossman G, *et al.* Mechanism of androgen receptor corepression by CKbetaBP2/CRIF1, a multifunctional transcription factor coregulator expressed in prostate cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382 (1): 302 - 313
- Suh JH, Shong M, Choi HS, *et al.* CR6 - interacting factor 1 represents the transactivation of androgen receptor by direct interaction[J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22 (1): 33 - 46

(收稿日期: 2017 - 03 - 28)

(修回日期: 2017 - 03 - 29)