

血清低浓度 AFP 放射免疫测定 及其临床意义

附属第一医院同位素室 杨以理 许志群 刘前进

内容提要 采用 AFP(RIA)药盒,用零标准品将 20ng/ml 标准品作倍比稀释得 10ng/ml 与 5ng/ml 两个新的标准品。灵敏度测定表明该药盒最小可测值低于 4ng/ml。350 例正常成人测定结果均低于 5ng/ml。作者分别以 $<20\text{ng/ml}$ (目前通行的正常界限)和 $<5\text{ng/ml}$ (本实验正常范围)作为诊断阈值,对 677 例各种肝脏良、恶性疾病的 AFP 测定结果进行评价,并对 3 例 PHC 术后病人作长期低浓度 AFP 监测。结果表明以 5ng/ml 为正常阈值有利于 PHC 的早期诊断和术后复发监测。

关键词 肝肿瘤/诊断;甲胎蛋白类/血液;放射免疫测定/方法

血清 AFP 测定是原发性肝癌(PHC)及其它肝脏疾病的诊断与鉴别诊断的最常用指标之一,目前国内外通用的成人正常值为 $<20\text{ng/ml}$,随着 AFP 检测技术灵敏度的提高,我们发现正常成人血清 AFP 浓度远远小于此值,而许多肝脏疾病患者的血清 AFP 浓度虽在此正常范围内,却明显高于正常成人。为此,我们将现用药盒稍作改进,使其可测范围低端达 5ng/ml,测定了 350 例正常成人和 677 例各种肝脏疾病患者的血清 AFP 浓度,并以 5ng/ml 为正常阈值,初步分析了低浓度 AFP 测定的临床意义。

1 资料与方法

1.1 测定对象 正常人组 350 例,其中男 245 例、女 105 例,年龄 28~65 岁,均为体检正常的健康人。肝脏疾病患者 677 例,为 1990 年 12 月至 1991 年 5 月在我室作 AFP 测定的诊断明确的门诊或住院病人,按疾病不同分为 PHC 未治组 152 例,PHC 治疗后组(治疗包括手术、肝动脉栓塞术、肝动脉插管化疗及中草药、气功等综合治疗手段)90

例,良性肝脏疾病 435 例(包括急性肝炎组 97 例,慢性肝炎组 107 例,肝硬化组 123 例,HBsAg(+)组 35 例以及肝血管瘤组 73 例)。

1.2 测定方法 采用上海生物制品研究所生产的双抗法 AFP(RIA)药盒,用零标准品将 20ng/ml 标准品作连续倍比稀释得 10ng/ml 与 5ng/ml 二个新标准品,其余操作按说明书进行。实验结果用 FMJ-82 型 γ 自动免疫计数仪(上海核子所生产)测量,以 B/B_0 法作标准曲线与数据处理,自动计算血清 AFP 浓度,5ng/ml~400ng/ml 为标准曲线可信范围。

1.3 药盒灵敏度测定 任取四个药盒(批号分别为 901101,920501,920901 和 921001),其中两个为新到之药盒,另二个为即将过期之药盒。测定各药盒零标准管均值与标准差,以 $\bar{B}_0 - 2S$ 所对应的剂量值作为该药盒的最小可测值。

2 结果

2.1 药盒灵敏度测定结果 四个药盒的 $\bar{B}_0 \pm S$ cpm 分别为 11793 ± 273 , 9958 ± 133 ,

11299±276 和 6707±172。以 $\bar{X}_0-2S$ 所对应的剂量值为最小可测值,分别为 4ng/ml、1ng/ml、2.5ng/ml 和 2ng/ml。

2.2 350 例正常成人血清 AFP 测定结果均小于 5ng/ml。

2.3 677 例各种良、恶性肝脏疾病患者血清 AFP 测定结果见表 1。

2.4 以 435 例良性肝病患者作为非 PHC 对照组,应用矩阵决策法(decision matrix)^[12]计算不同 AFP 阈值对 152 例 PHC 病人诊断的临床评价指标,见表 2。

2.5 3 例 PHC 术后病人的低浓度 AFP 测定动态观察结果:例 1,术前 177ng/ml,术后 24 周时出现低浓度 AFP 升高(9ng/ml),28 周时为 16ng/ml,30 周时为 22ng/ml,以后上

升加快,到 49 周时达 300ng/ml,行第二次手术,术后 4 周下降到 7ng/ml,5 周时测不出(<5ng/ml),8 周时又开始升高,为 6ng/ml,10 周时为 8ng/ml,14 周时为 64ng/ml,提示第二次复发。例 2,术前 259ng/ml,术后 4 周、5 周分别为 17、11ng/ml,未降至 5ng/ml 以下即迅速上升,6 周时为 91ng/ml,16 周时已达 39500ng/ml。例 3,术前 150ng/ml,术后 4、8、12 周时分别为 8、9、5ng/ml,16 周后连续三次均<5ng/ml,无复发表现。

2.6 在经 B 超或 B 超加 CT 证实的肝占位性病变 225 例中,以 152 例 PHC 作为非肝血管瘤对照组,以 AFP 低于正常阈值为肝血管瘤鉴别诊断指标,在不同 AFP 阈值时的鉴别诊断价值,见表 3。

表 1 677 例良、恶性肝病患者血清 AFP 测定值分布[例数(%)]

组 别	n	AFP(ng/ml)					
		<5	5~	20~	200~	400~	
PHC	治 疗 前	152	11 (7.2%)	21(13.8%)	34(22.4%)	4(2.6%)	82(53.9%)
	治 疗 后	90	21(23.3%)	16(17.8%)	33(36.7%)	6(6.7%)	14(15.6%)
良性肝病	急性肝炎	97	57(58.8%)	6 (6.2%)	18(18.6%)	6(6.2%)	10(10.3%)
	慢性肝炎	107	30(28.0%)	38(35.5%)	30(28.0%)	2(1.9%)	7 (6.5%)
	肝 硬 化	123	58(47.2%)	25(20.3%)	28(22.8%)	4(3.3%)	8(6.5%)
	HBsAg(+)	35	31(88.6%)	2(5.7%)	2(5.7%)	0	0
	肝 血 管 瘤	73	73(100%)	0	0	0	0
总 计		677	281(41.5%)	108(16.0%)	145(21.4%)	22(3.2%)	121(17.9%)

表 2 不同 AFP 阈值对 PHC 鉴别诊断临床评价

AFP 阈值 (ng/ml)	SS	SP	FP	FN	AC	PV+	PV-
>400	0.539	0.944	0.056	0.461	0.842	0.766	0.858
> 20	0.789	0.749	0.251	0.211	0.759	0.515	0.913
> 5	0.928	0.591	0.409	0.072	0.676	0.434	0.944

注:(1)计算公式见参考文献^[21],原始数据见表 1(以 PHC 治疗前组 152 例为 PHC 组,以 435 例良性肝病为非 PHC 对照组。)

(2)SS:灵敏度; SP:特异性; FP:假阳性率(误诊率); FN:假阴性率(漏诊率); AC:准确性; PV+:阳性预示值; PV-:阴性预示值

表 3 不同 AFP 阈值对 225 例肝占位性病变中肝血管瘤的鉴别诊断价值

AFP 阈值 (ng/ml)	SS	SP	FP	FN	AC	PV+	PV-
<20	1.00	0.789	0.211	0	0.858	0.695	1.00
<5	1.00	0.928	0.072	0	0.951	0.869	1.00

注:(1)计算公式同表 2。

(2)以 AFP<正常阈值为 73 例肝血管瘤的诊断指标,以 152 例 PHC 治疗前组作为非肝血管瘤对照组

3 讨论

3.1 关于血清 AFP 正常值问题 目前国内使用的正常标准是根据放射火箭电泳法和早期 RIA 药盒测定结果而来,由于灵敏度的限制,多定为 $<20\text{ng/ml}$,无具体的均值与标准差。随着 AFP 抗体与标记抗原质量的改进,AFP(RIA)的灵敏度已明显提高,但由于多数药盒的最低标准品浓度仍为 20ng/ml ,故标准曲线可信低限仍定为 20ng/ml ,临床上仍用 $<20\text{ng/ml}$ 作为正常标准。本实验表明国产 AFP(RIA)药盒的最小可测值可达 $1\sim 4\text{ng/ml}$,如增加 10ng/ml 与 5ng/ml 两个标准点,标准曲线可信范围低端即可扩展到 5ng/ml 。350 例正常成人测定结果表明,其血清 AFP 浓度远远低于 20ng/ml ,由于 100% 均小于 5ng/ml ,故以 5ng/ml 作为正常阈值是合理的,与最近报道的用高灵敏度 AFP(IRMA)对 512 例正常国人的测定结果相似^[2]。

3.2 低阈值 AFP 测定的临床意义 从表 1 可见,若以 5ng/ml 取代 20ng/ml 作为正常阈值,各种肝病的总体 AFP 阳性率可由 $42.5\% [(145+22+121)/677]$ 上升到 $58.5\% [(108+145+22+121)/677]$,即可将 $16\% (108/677)$ 的肝病病人 AFP 浓度从正常人中区别出来。在各种肝病中,AFP 的升高总代表着一定的病理意义,低阈值 AFP 的测定无疑有助于这些病理过程的早期发现。

3.2.1 低阈值 AFP 测定有利于 PHC 早期发现: AFP 作为 PHC 肿瘤标志物,其常用诊断界限为 400ng/ml 。然而由于 PHC 的 AFP 水平分布范围极广,约 $15\sim 20\%$ PHC 患者的 AFP 始终呈低浓度,约 10% 患者反复检测为阴性^[3],但显然这种“阴性”与检测方法灵敏度以及正常界限有关。如表 1 所示,若以 5ng/ml 为正常界限,152 例 PHC 患者中 AFP(—)者由 $21.1\% (\frac{11+21}{152})$ 下降到 $7.2\% (11/152)$ 。

而低浓度阳性组由 $22.4\% (34/152)$ 上升到 $36.2\% (\frac{21+34}{152})$ 。业已证实,AFP 持续低浓度阳性者是 PHC 的高危人群^[4]。肝细胞从癌变发展到亚临床称之为早期 PHC,在这十个月左右时间内,AFP 常呈低浓度升高^[3]。国内外学者一致认为提高早期 PHC 的检出率是提高 PHC 远期疗效的最重要途径,而力求在 AFP 低浓度时作出诊断又是早期发现的关键^[5]。从表 2 可见,若以 5ng/ml 为阈值,PHC 从各种肝病中的检出率可由 78.9% 提高到 92.8% ,而以 20ng/ml 为阈值时漏诊的那部分 PHC 病人,均为低 AFP 浓度者,早期肝癌的可能性较大。以 AFP 5ng/ml 为阈值时,虽然特异性和准确性均下降(由于本实验非 PHC 对照组中良性肝病尤其是慢性肝炎者 AFP 可呈低浓度升高所致),若同时采用其它肿瘤标志物(如 CA-50、CEA、AIF、AAT 及 GGT-II 等)联合测定,则有利于 PHC 更早期的定性诊断^[6~9]。

3.2.2 低浓度 AFP 测定有利于 PHC 术后早期复发的诊断: AFP(+)的 PHC 者术后 AFP 转阴时间是预报手术远期效果的重要指标之一,最近有作者通过回顾性分析认为,术后 2 个月内 AFP 转阴,尚不足以表明无残癌,应观察更长的时间^[10]。其根本原因是 AFP 正常阈值太高,忽视了残癌复发时 AFP 低浓度上升的趋势。从本实验对 3 例 PHC 术后病人的长期低浓度 AFP 动态观察中可见,在术后复发病人中,AFP 从 $<5\text{ng/ml}$ 发展到 20ng/ml 需要一定时间(约 $6\sim 30$ 周,见例 1 与例 2),因此对术后 AFP 已低于 5ng/ml 的 PHC 病人,复查时若出现低浓度升高,提示早期复发,宜及早采取再次手术或其它治疗措施,因此,低浓度阈值检测比以 20ng/ml 为阈值的检测法可提早作出复发诊断,有利于延长 PHC 术后生存期。反之,如术后 AFP 始终低于 5ng/ml ,则可认为无复发,如例 3。

3.2.3 有利于肝占位性病变的鉴别诊断:

B超发现的肝占位性病变大多是肝血管瘤,但单靠B超难以排除PHC的可能,因肝血管瘤患者AFP不会增高,故可以AFP低于正常阈值作为肝血管瘤的鉴别诊断指标^[4],如以5ng/ml为阈值,可使诊断特异性和准确性提高,见表3。

3.2.4 低浓度AFP测定有助于对急、慢性肝炎、肝硬化病情活动和治疗效果作更细致的观察,表1显示上述各组患者AFP浓度在5~20ng/ml内者分别有6.2%、35.5%和20.3%,以5ng/ml为阈值,可将他们与正常者分开。在35例HBsAg(+)组中,AFP大多低于5ng/ml(88.6%),与Bloomer报道相似^[11],但与Purves等报道结果不同^[12],可能与有无病毒复制和肝细胞破坏、再生等因素有关,本组均系健康携带者,故AFP大多正常。

综上所述,利用国产AFP(RIA)药盒作低浓度AFP测定,方法简单可行,有一定临

床意义,尤其是有利于PHC的早期诊断和术后复发的监视,值得在临床或PHC普查中推广。

参 考 文 献

1. 孝延龄,等. 主编. 核医学教程. 第1版,长春:吉林科学技术出版社,1987;70~71
2. 陈智周,等. 中华核医学杂志 1991;11(增刊):188
3. 江绍基,肖树东. 中华内科杂志 1986;25(5):304
4. 陆培新,张宝初. 中华医学杂志 1986;66:207
5. 汤钊猷. 实用肿瘤杂志 1988;3(1):2
6. 季良媛,等. 中华核医学杂志 1991;11(增刊):83
7. 曾维政,等. 中华内科杂志 1992;31(2):83
8. 汤德骥,等. 实用肿瘤杂志 1992;7(3):139
9. 孟宪镛,等. 中华内科杂志 1987;26(3):141
10. 黄兴耀,王能进. 实用肿瘤杂志 1992;7(3):164
11. Bloomer JR, et al. Gastroenterology 1975; 68(2):342
12. Purves LR, et al. Cancer 1973;31(3):578

(1991年11月12日收稿,1993年3月16日修回)

RIA MEASUREMENT OF LOW-LEVEL SERUM AFP AND ITS CLINICAL APPLICATIONS

Yang Yili, Xu Zhiqun and Lin Qianjing

Department of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital

With the help of the AFP(RIA) kit, 2 new standards of 10 ng/ml and 5 ng/ml were obtained by the double-dilution method. Sensitivity tests demonstrated the minimum detectable levels of the kits to be 1~4 ng/ml. All the AFP levels in the serum of 350 normal adults were under 5 ng/ml. With <20 ng/ml and <5 ng/ml as normal thresholds, the diagnostic efficacy of AFP(RIA) for PHC was determined in 677 cases of benign or malignant liver diseases, and serial low-level AFP measurements were carried out over a long period of time in 3 postoperated PHC patients. The results show that with 5 ng / ml as the normal threshold, it is beneficial to early diagnosis of PHC and the monitoring of postoperative recurrence.

KEY WORDS Liver neoplasms/diag; α -Fetoproteins/blood;
Radioimmunoassay/methods