

甲胎蛋白与肝癌

黄济群 编著

AFP₈HCC

A I α_1 α_2 B γ

a



b



广东科技出版社

46.5
51
5
1

甲胎蛋白与肝癌

AFP AND THE DIAGNOSIS
OF LIVER CANCER

黄济群 编著

广东科技出版社

甲胎蛋白与肝癌

黄济群 编著

※

广东科技出版社出版发行

广西新时代印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 5.125印张 100,000字

1985年12月第1版 1985年12月第1次印刷

印数1—10,000册

统一书号 14182·176 定价0.88元

内 容 提 要

本书介绍血清甲胎蛋白检测在原发性肝癌、肝母细胞瘤、睾丸和卵巢内胚窦瘤的诊断价值及用于产前检查预测胎儿先天性缺陷的临床意义，详细介绍本书作者创立的新检测方法及国际上有代表性的方法，简要介绍甲胎蛋白的生理生化知识及正常值。

本书可供临床医生、检验人员、肿瘤防治研究工作者和医学生参考。

前 言

检测血清甲胎蛋白 (A F P) 诊断原发性肝癌是癌症生化免疫诊断的重大突破。十余年来, 甲胎蛋白已广泛应用于原发性肝癌的诊断、鉴别诊断、疗效的观察和预后的判断, 睾丸和卵巢内胚瘤 (胚胎瘤) 的诊断和疗效观察, 肝母细胞瘤的诊断, 先天性酪氨酸血症的诊断, 并广泛应用于产前检查早期预测胎儿无脑畸形、开放性脊柱裂、先天性肾病、先天性消化道闭锁和脐膨出等疾患。鉴于从国外引进的甲胎蛋白测定方法中, 灵敏、特异、可靠的方法难以广泛推广, 而已经广泛推广的方法或者灵敏度较低, 或者存在假阳性和假阴性, 作者提出的新方法——A F P酶标对流参比电泳测定法既能满足临床检验和肝癌普查的要求, 收到国际先进方法同样的效果, 又适合国情。在推广这项方法中, 根据各方面临床工作者的要求, 编写了这本专书, 重点介绍A F P检测在原发性肝癌和各种疾病中的临床意义及有关的数据, 详细介绍A F P酶标对流参比电泳测定法, 择要介绍检测A F P的有代表性的方法并简要介绍A F P的生理生化知识, 供临床各科医务工作者和检验工作者参考。限于作者水平和时间仓促, 错误在所难免, 敬希读者批评指正, 不胜感激。

本书第一至四部分全部由本作者编写, 书末第五至七部分除方法特点和基本原理外, 为了如实介绍国外A F P检测

方法，将本作者翻译的 9 篇有代表性的文献（由李瑞骥副教授校对）的译文纳入本书以供读者参考。

编 者

一九八五年八月

于广州医学院生化教研室

目 录

绪 言	(1)
一、甲胎蛋白的生理生化知识及正常值	(3)
(一) A F P理化性质和免疫学特性的认识	(4)
(二) 人胎血清中 A F P的含量和来源	(8)
(三) 新生儿和成年人血清 A F P水平	(10)
(四) 正常孕妇血清 A F P水平	(12)
(五) 正常羊水 A F P水平	(14)
(六) A F P的生理功能	(16)
二、甲胎蛋白检测与原发性肝癌的诊断	(21)
(一) 原发性肝癌患者血清 A F P含量和阳性率	(23)
(二) A F P检测在原发性肝癌早期诊断的价值	(28)
(三) 原发性肝癌的诊断和鉴别诊断问题	(37)
(四) 儿童肝母细胞瘤的鉴别诊断问题	(45)
(五) 血清 A F P与肝癌病程及预后的关系	(46)
(六) 正确评价高灵敏度 A F P检测法	(51)
(七) 正常成人和肝癌病人 A F P的来源	(53)
三、甲胎蛋白检测在产前诊断的价值	(57)
(一) 羊水 A F P值升高的意义及原因	(58)
(二) 孕妇血清 A F P测定在开放性神经管缺损早期预测的价值	(64)

- (三) 标记抗原参入火箭电泳自显影法及其在
血清 A F P 测定中的应用 (118)

七、甲胎蛋白的 E L I S A 及双抗体酶免疫测定法
..... (126)

- (一) 方法的特点和基本原理 (126)

- (二) 血清 A F P 快速定量的两位点微量酶免
疫测定法 (Mac Donald 和 Kelly 法)
..... (128)

- (三) 夹心法酶免疫测定应用于大鼠和人 A F P
的检测 (Masseyeff 和 Maiolini 法) ... (133)

- (四) 胃蛋白酶消化抗体消除类风湿因子对
E L I S A 的干扰作用 (Hagenaars 法)
..... (140)

- (五) 人 A F P 的双抗体酶免疫测定法
(Belanger 法) (143)

附录：原发性肝癌诊断、分型分期与疗效评价标准
..... (154)

绪 言

本世纪六十年代 Abelev等人和 Tatarinov 先后在化学致癌物诱发的可移植的肝癌的小鼠血清中和肝细胞性肝癌病人血清中检测到一种胚胎性蛋白质——甲种胎儿蛋白 (α -fetoprotein, 简称甲胎蛋白, 英文缩写为 AFP)。这是人们盼望已久的癌症血清学诊断的重大突破, 随后提出了检测 AFP 的各种免疫学方法, 十幾年来的研究和大量临床实践表明, AFP 的检测, 不仅在原发性肝癌的早期发现和早期诊断上具有重要意义, 对于原发性肝癌的疗效和预后观察、某些生殖系胚胎肿瘤、胎儿的异常和某些先天性疾病的诊断也具有积极意义。对于 AFP 的理化性质、生理生化的研究也取得了一定的进展。

AFP 的检测方法对于原发性肝癌的早期发现和早期诊断起了重要作用, 一个好的检测方法必须是灵敏、特异、可靠并能作出定量估计, 为了便于推广到肝癌防治的第一线, 适合大量人群的检测, 同时还必须具备简便、快速、经济等特点。六十年代后期和七十年代初期, 世界各国主要采用琼脂扩散法和琼脂对流免疫电泳法作定性检查, 也有用园周扩散法和火箭电泳法进行定量测定, 前两种方法目前仍然是我国各级医院的常规使用方法。由于这些方法灵敏度不够理想, 七十年代初期世界各国努力探讨高灵敏度的检测方法, 先后提出了放射免疫测定法 (RIA法)、放射火箭电泳自显影术 (简称放射火箭法)、反向间接血凝法 (RPHA法)

和酶联免疫吸附测定法（E L I S A法）等。R I A法和放射火箭法灵敏可靠，但前者需贵重设备，后者测定流程太长，两者所用试剂较贵，由于放射性衰变，试剂有效期短，我国引进这两种方法虽有十余年的历史，但仍限于少数大医院在少数病人中使用。反向间接血凝法简易、快速、经济，但可靠性较差，容易出现假阳性和假阴性，习惯上用于肝癌普查，但不够理想。E L I S A法用酶标记法代替放射性同位素标记，灵敏简便，而且不存在放射性污染和放射性衰变问题，试剂稳定期较长，但由于类风湿因子的干扰，也存在假阳性问题，限制了其推广使用。鉴于上述情况，本作者于1983年提出A F P检测新方法——酶标对流参比电泳测定法，本法同时具备灵敏、快速、可靠、经济等优点，灵敏度与放射火箭法相近，不受类风湿因子干扰，未见假阳性和假阴性，用血量少，适用于末梢采血，测定简便，不需贵重设备，一小时半可出结果，试剂稳定，成本低廉，测定范围广，测定结果与国际先进方法基本一致，适合各级医院常规使用，也适用于肝癌普查。

以下将着重介绍A F P的测定方法及临床意义，特别是对原发性肝癌诊断的意义，也简要介绍A F P的有关生理生化知识。

一、甲胎蛋白的生理生化知识及正常值

内容提要： A F P 是主要由胎儿肝脏和卵黄囊合成的一种胎儿血清蛋白。人 A F P 分子量70,000，属糖蛋白，电泳时位于白蛋白与 α_1 球蛋白之间，过去曾经把 A F P 看做一种球蛋白，称之为胎儿甲种球蛋白（简称胎甲球），经生化研究证明其理化性质和肽链结构与白蛋白有许多相似之处，故改名为甲胎蛋白，其生理功能可能与白蛋白相似。

肝细胞癌变或受某些因素刺激时可重新合成 A F P，肝癌 A F P 和胎儿 A F P 是相同的蛋白质，正常人血清往往含有极微量 A F P，其理化性质与胎儿 A F P 也无差异。

本章还介绍 A F P 在胎儿、羊水、孕妇血清和成人血清中的含量数值。

A F P 是胎儿时期血清中的一种主要蛋白质，1956年 Bergstrand 和 Czar 首先在入胎儿血清中检出这种蛋白质，实际上，早在1944年 Pedersen 就在牛胎血清中发现类似的蛋白质，六十年代许多研究者先后在各种哺乳动物（如猴、狒狒、马、牛、绵羊、山羊、猪、狗、猫、兔、大鼠、小鼠、袋鼠等）和鸟类、鸡的胚胎中查到这类蛋白质，1974年 Gitlin 在比较低等的动物鲨鱼检出这种蛋

白质,可见, A F P是在进化过程中稳定保留下来并且分布较为普遍的“胚胎蛋白”。1963和64年先后在肝癌小鼠和原发性肝癌患者血清中检出这种蛋白质,所以又把这种蛋白质叫做“癌胚蛋白”。1965年Gold和Freedman发现的癌胚抗原(CEA)也属于癌胚蛋白。后者用于结肠癌的诊断。但A F P用于原发性肝癌的诊断是癌症免疫学诊断研究中最出色的成就,它引起人们的极大关注和深入探讨。

(一) A F P理化性质和免疫学特性的认识

人A F P是分子量70,000的糖蛋白,含糖量约为4%,沉降系数为4.5 S,等电点4.7~5.25,含氮量14.7~14.9%,百分消光系数为5.06~5.30。其他动物的A F P与人A F P在分子量、沉降系数、等电点、含糖量以及氨基酸组成等都颇相似。

醋酸纤维素膜电泳分离,人和动物A F P均出现单一区带,人A F P位于白蛋白与 α_1 -球蛋白之间(见图1),多数动物A F P位于 α_1 -球蛋白附近,兔A F P则位于 α_2 -球蛋白处,猴A F P电泳速度最快,位于前清蛋白区域(见图2)。

用分辨力更高的等电聚焦电泳可将人A F P分成两种成分,等电点分别为4.7和5.2~5.3,它们的免疫活性相同,用神经氨酸酶处理后又成为一种成分,因而认为两种等电点不同的A F P的差异是由于唾液酸含量不同所致,从不同个体分离的A F P,这两种形式的比例不同。用琼脂糖电泳结合等电聚焦电泳可将人A F P分成6个成分,同一病人的肝癌组织、血清和腹水中分离的A F P,6个成分的相对比例也不同,这些差异的意义尚不了解。动物A F P也呈现不均

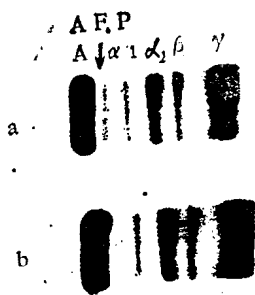
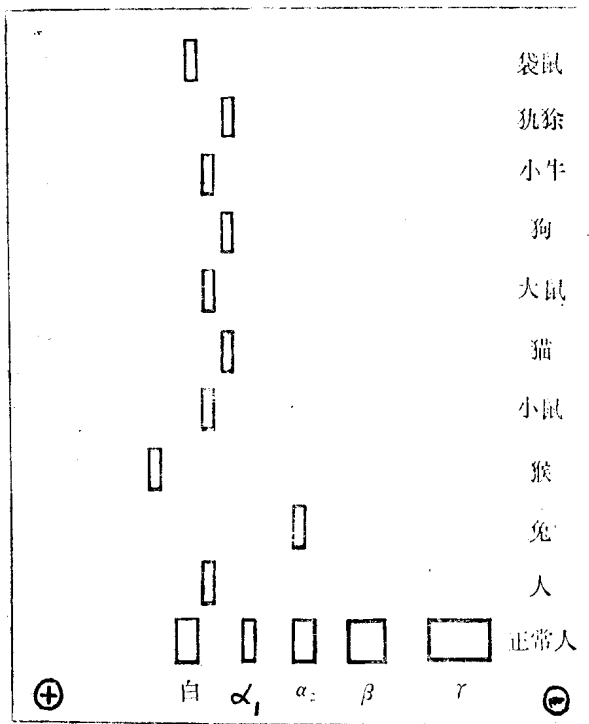


图1 正常人和原发性肝癌病人血清蛋白电泳谱
上、肝癌病人血清
下、正常人血清

图2

各种动物胚胎AFP醋酸纤维膜电泳谱



一性。

肝癌病人的 A F P 和胎儿的 A F P 是否属相同的蛋白质, 是一个颇受重视的问题。Ruoslahti 等、Alpert 等和我国肝癌研究协作组的实验结果均表明, 胎儿和肝癌这两种来源的 A F P 的理化性质没有本质差异。这两种来源的 A F P 的分子量、沉淀系数、等电点、百分消光系数、含氮量、含糖量基本一致(表 1), 它们的氨基酸组成(表 2)、溴化氰裂解片段的分子量(表 3)、在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳的迁移率、等电聚焦分析、免疫活性的热失活动力学等方面均基本一致。从正常成年人血清分离纯化的 A F P, 其理化性质与胎儿 A F P 也无明显区别。这些事实说明, 胎儿时期合成 A F P 的基因, 随着个体发育的成熟基本上处于阻遏状态, 在癌变条件下或者在某些因素的作用下, 合成 A F P 的基因发生去阻遏, A F P 的合成又重新活跃起来。如能进一步揭露这种基因调控的机理, 将会有很大意义。

表 1 人胎儿与肝癌 A F P 的理化性质比较

	分子量	沉降系数	等电点	百分消光系数*	含氮 %	含糖量 %
胎儿 A F P	70,000~71,000	4.5 S	4.7, 5.25	5.14~5.30	14.9	3
肝癌 A F P	70,000~71,000	4.5 S	4.7, 5.25	5.06~5.27	14.7	3.4

* E 1 %
1 cm 278nm :

表2 胎儿 A F P 和肝癌 A F P 的氨基酸组成 *

氨基酸	胎儿 A F P	肝癌 A F P	氨基酸	胎儿 A F P	肝 癌 A F P
赖	39.1	39.4	丙	42.0	43.1
组	13.7	14.8	胱	11.8—12.7	12.0
精	16.2	16.4	缬	25.4	25.1
天冬	38.0	38.9	甲硫	3.8—6.2	4.8
苏	28.4	27.9	异亮	23.9	23.5
丝	30.5	29.5	亮	46.6	46.0
谷	81.1	79.1	酪	12.2	11.5
脯	23.4	19.7	苯丙	22.4	21.4
甘	26.1	28.4			

* 以 A F P 克分子量作为 71000 克计算各氨基酸组成的克分子数。

表3 A F P 的 C N B r 裂解片段及其分子量

肽段	1	2	3	4	5	6	7
胎儿	<10000	10500 11700	13700 14500	16500 17000	28000 30000	37000 38000	53000 56000
肝癌	<10000	12000 15500	14500 17600	17000 17600	31000 39000	37000 39000	54000 56000

免疫化学性质的比较表明，人与其他动物 A F P 具有一部分相同的抗原决定簇，因而可发生免疫交叉反应。用 A F P 免疫其他种系动物可产生抗体，交叉反应程度与 A F P 来源和被免疫动物的种属有关。如人 A F P 免疫鸡得到的抗血清，可与人、狗、兔、大鼠和小鼠的 A F P 起交叉反应，其相对反应能力依次为 100%、71%、43%、26% 和 37%。因为鸡与人的种属差异较远，产生的交叉反应比较广泛。用人 A F P 免疫马，产生的抗体不仅能与人 A F P 起反应，也可与马 A F P 起交叉反应。人 A F P 免疫兔也有类似现象。说明这些动物 A F P 存在部分相同的抗原决定簇。

(二) 人胎血清中 A F P 的含量和来源

A F P 在妊娠一个月后（第 6 周）的人胚中开始合成，妊娠三个月左右（第 12~14 周）胎儿血清中 A F P 浓度达高峰，约为 $300\text{mg}/100\text{ml}$ （即 $3 \times 10^6\text{ng}/\text{ml}$ ，毫微克/毫升），妊娠第 32 周停止合成，胎儿血清 A F P 浓度急剧下降，通常于出生后一个月左右接近或达到正常成人血清 A F P 水平。Gislin 和 Boesman 的测定结果见表 4 及图 4（P.17）。

人和其他哺乳动物胎血 A F P 的主要来源是肝实质细胞和卵黄囊细胞，人胚胃肠道也有少量 A F P 合成，也有人提出胚肾和胎盘的滋养叶细胞可能产生很少量的 A F P，妊娠三个月后的人胎，绝大部分 A F P 来自肝脏。Raivio 等人在 14 周的人胎儿肝脏中测得 A F P 含量占总蛋白量的 17.6%，20 周时只占 4.2%。这和胎血 A F P 水平有平行关系。鸟类 A F P 只由卵黄囊合成，更低等的动物鲨鱼的 A F P 主要由胃肠道合成。