

· 信息速递 ·

多学科甲胎蛋白异质体临床应用专家共识

上海市医学会分子诊断专科分会;上海市临床检验中心;上海东方肝胆外科医院;中华医学会检验医学分会临床免疫学组;中国中西医结合检验学会肝病学术委员会;全军肝胆外科专业委员会;上海免疫学会肿瘤免疫分会;上海抗癌协会肿瘤标志物分会

甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein, AFP)是目前临床应用最广泛的肝癌辅助诊断血清标志物。AFP诊断肝癌的敏感性约为60%~70%。但在肝脏良性疾病,特别是肝癌高危人群,如慢性肝炎、肝硬化中也有部分患者会出现AFP升高。妇女孕期及某些生殖系统疾病AFP也会升高^[1]。

AFP是一种单链糖蛋白,根据其与小扁豆凝集素(Lens culinaris agglutinin, LCA)的亲合力从低到高依次分为AFP-L1、AFP-L2和AFP-L3。AFP-L1主要见于良性肝病,AFP-L2主要由卵黄囊产生并多见于孕妇,而AFP-L3主要来源于肝癌细胞,也被称为甲胎蛋白异质体。

中国、日本及亚太肝癌诊疗指南中均将AFP作为肝癌的监测指标。日本肝病学会(Japan Society of Hepatology, JSH)制定的肝癌诊疗指南中建议将AFP、AFP-L3和异常凝血酶原[即脱 γ 羧基凝血酶原(Des gamma carboxy prothrombin, DCP),又称维生素K缺乏或拮抗剂II诱导的蛋白质(Protein induced by vitamin K absence or antagonist II, PIVKA II)]同时作为肝癌筛查的标志物,并建议高危人群每6个月做一次超声检查及AFP/AFP-L3/DCP检测以筛查肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC),超高危人群及预后随访则建议每3~4个月进行一次AFP/AFP-L3/DCP及影像学检查^[2]。我国原发性肝癌诊疗规范(2011年版)中指出:血清AFP及其异质体是诊断肝癌的重要指标和特异性最强的肿瘤标志物,国内常用于肝癌的普查、早期诊断、术后疗效监测和随访,且有助于鉴别肿瘤的来源^[1]。尽管美国肝病学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)并未将血液标志物纳入临床肝癌诊疗指南,但美国食品与药品监督管理局(U. S. Food and Drug Administration, FDA)已于2005年批准AFP-L3检测试剂和方法应用于临床肝癌预警。

目前检测AFP-L3的方法主要有:亲和免疫交

叉电泳、亲和免疫印迹、凝集素酶联免疫吸附试验(lectin-enzyme-linked immunosorbent assay, lectin-ELISA)、亲和吸附离心法(凝集素捕获微量离心柱法)、微流控免疫荧光检测法等。亲和免疫交叉电泳、亲和免疫印迹法由于操作繁琐,迄今未在临床广泛使用,lectin-ELISA由于检测敏感性和重复性仍需进一步优化,目前大多用于科学研究。亲和吸附离心法(凝集素捕获微量离心柱法)是最早获得国家食品药品监督管理局(China Food and Drug Administration, CFDA)批准在临床上使用的AFP-L3检测试剂盒,也是现阶段国内使用最广泛的方法。日本Wako公司的全自动微流控免疫荧光法于2016年9月在国内上市,目前已在逐步推广阶段。国产的全自动检测方法也正在向CFDA申报注册。

临床应用现状及近期上海市临床检验中心组织的质量调查等均提示,AFP-L3临床应用适应证、应用价值、结果报告及解读、操作标准化等存在不少问题,同时检测方法学的局限及不正确应用等又在一定程度上限制了AFP-L3的临床认知、使用和客观评价。

《多学科甲胎蛋白异质体临床应用专家共识》针对甲胎异质体检测的适用人群及临床意义、关键检测流程、检测结果报告形式及释义等,在多学科临床和实验室专家充分讨论的基础上形成以下共识。

1 AFP-L3的适用人群

原发性肝癌(Primary liver cancer, PLC)在全球常见恶性肿瘤中居第5位,在肿瘤患者的致死率中高居第3位。全球每年约有500 000例肝癌新发病例,其中约50%发生在我国,且多与乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染相关。慢性肝病,如肝纤维化、肝硬化患者均是PLC发病的高危人群,特别是慢性乙型肝炎患者和慢性丙型肝炎患者,其PLC发病率相对危险度远高于非感染者。慢性乙型肝炎患者5年有8%~20%的概率发生肝硬化。肝

硬化患者中每年有约 20% 的概率发生肝功能失代偿, 1% ~ 5% 的概率发生 PLC^[3,4]。而慢性丙型肝炎患者 20 年发生肝硬化的危险度为 15% ~ 30%, 这些肝硬化患者每年发生 PLC 的概率约为 2% ~ 4%^[5,6]。

AFP-L3 检测对肝癌影像学及病理学诊断具有重要补充价值, 有助于及时发现肿瘤或肿瘤的复发、转移, 提高预测和诊断的准确性, 从而有助于提高疗效, 改善预后^[7-10]。

建议 1: AFP-L3 检测适用于慢性肝病、肝纤维化、肝硬化等高危人群及肝癌患者病程、疗效等的动态监测。

2 AFP-L3 的临床意义

AFP-L3 在 PLC 的辅助预测、诊断、疗效评估、预后判断及复发监测中均有重要应用价值。因此, 对 PLC 的高危人群(慢性乙型肝炎患者、慢性丙型肝炎患者、肝纤维化患者、肝硬化患者等)、肝癌疑似患者(特别是 AFP 持续弱阳性或 AFP 不升高时)、肝癌患者及肝癌患者治疗后均推荐进行 AFP-L3 检测, 可及时辅助病情判断, 有助于改善患者预后。

2.1 AFP-L3 对于低水平 AFP 人群的检测意义

由于 AFP-L3 升高与肝癌密切相关, 且不受总 AFP 水平的影响, 因此检测 AFP-L3 占总 AFP 水平的百分比(AFP-L3%) 是 AFP 低浓度持续阳性患者及小肝癌 AFP 尚未明显升高时早期预报肝癌发生的重要指标。随访研究显示 AFP-L3% 能比影像学提前 3 ~ 28 个月发现肝癌, 在 AFP 不升高的情况下, 有 34.3% 的原发性 HCC 患者在确诊 1 年前出现 AFP-L3% 升高^[11]。以 10% 为 AFP-L3% 临界值时, 其对直径 < 5 cm 的 HCC 的检测敏感性为 22% ~ 33%, 特异性为 93% ~ 94%^[12]; 对 AFP 阴性(< 20 ng/ml) 的 PLC 检测敏感性为 12% ~ 21%, 特异性为 97% ~ 98%^[13,14]。AFP-L3 与 DCP 联合检测可提高早期 PLC 的诊断敏感性至 78% ~ 89%, 提高特异性至 41% ~ 86%^[15-17]。

上海东方肝胆外科医院单中心数据分析表明, AFP-L3% 在 AFP 10 ~ 20 ng/ml 的 PLC 中的阳性检出率为 16.67% ~ 39.60%, 表明 AFP 阴性者仍有部分患者可通过 AFP-L3% 被检出。

建议 2: 对于低水平 AFP 人群, AFP-L3 可辅助预测、诊断 PLC。

2.2 AFP-L3 的鉴别诊断价值 由于 AFP 升高可见于 PLC 及非肿瘤性肝病, 因此检测 AFP-L3 则有

助于肝癌与其他良性肝病, 如肝硬化、慢性肝炎等的鉴别诊断。以 AFP-L3% \geq 10% 为阳性临界值, 肝癌组阳性率为 70%, 明显高于良性肝病(慢性乙型肝炎、肝硬化、肝脏良性肿瘤)组(11.1%)^[18]。有研究显示, 肝癌组、肝硬化组及慢性肝炎组 AFP-L3% 的阳性率分别为 74.7%、29.8% 及 18.8%^[19]。另外, PLC 组 AFP-L3 和 AFP-L3% 均明显高于良性肝病组^[20]。上海东方肝胆外科医院近万例肝癌患者总体 AFP-L3% 阳性率为 47.1%, AFP 阳性肝癌患者 AFP-L3% 的阳性率为 73.8%, 而良性肝病中 AFP-L3% 的阳性率为 3.3% ~ 23.5%^[21]。

建议 3: AFP-L3 有助于良、恶性肝病的鉴别诊断。

2.3 AFP-L3 检测在 PLC 随访中的应用意义 血清 AFP-L3% 高水平往往和肿瘤倍增时间短、高侵袭性和预后较差相关^[22,23]。伴有低水平 AFP 但 AFP-L3% 阳性的恶性肝癌患者, 其临床病理学特征上常常表现为分化更低且预后更差^[24]。AFP-L3 检测还可作为肝癌复发及预测肝癌预后的指标^[25-28]。在肝癌根治术后, 当 AFP 转阴时, AFP-L3% 随之降低; 但若 AFP-L3% 变化不明显, 则提示有残瘤或转移灶存在; 研究表明, AFP-L3% > 5% 的肝癌患者的复发率远远高于 AFP-L3% < 5% 的患者^[29]。

建议 4: AFP-L3 可作为独立标志物监测 PLC 的预后及复发。

2.4 AFP-L3 与 PLC 病因学的相关性 我国 80% 以上的 PLC 与 HBV 感染有关^[30]。上海东方肝胆外科医院单中心近 5 年万余例的临床数据统计分析显示, 病理明确诊断为 PLC 的患者其乙型肝炎表面抗原(Hepatitis B surface antigen, HBsAg) 阳性率达 85% 以上。丙型肝炎感染标志物阳性则不足 5%。进一步分析显示, HBV 感染相关 PLC 患者 AFP 及 AFP-L3% 阳性率分别为 62%、45%, 明显高于非 HBV 感染相关 PLC 患者(40%、28%), 表明有 HBV 感染背景的 PLC 患者具有更高的 AFP 水平及 AFP-L3% 阳性率, 同时提示 AFP 及 AFP-L3% 也更适合于 HBV 感染人群的筛查和辅诊、随访。

建议 5: 具有 HBV 感染背景的 PLC 具有更高的 AFP 水平及 AFP-L3% 阳性率。

2.5 AFP-L3% 阳性率与 PLC 组织类型的相关性 PLC 包括 HCC、原发性肝内胆管细胞癌(Intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 以及两者的混合型。有研究显示, PLC 中约有 90% 为 HCC^[1,31]。东方肝胆外科医院近万例 PLC 回顾分析表明, HCC、ICC 和混合型比例分别为 88.8%、9.4% 和 1.8%。HCC 患者

AFP 和 AFP-L3% 阳性率分别为 60%、41%，明显高于 ICC (11%、14%)。ICC 患者血清 AFP-L3% 阳性往往提示伴 HCC，可与单纯血清 CA19-9 阳性的 ICC 进行鉴别^[32]。

建议 6: HCC 较 ICC 具有更高的 AFP-L3% 阳性率。

2.6 AFP-L3 与 AFP 水平的相关性 AFP-L3% 阳性率与 AFP 水平密切相关。上海东方肝胆外科医院单中心研究显示 AFP-L3 阳性率与 AFP 水平呈正相关。10 ng/ml ≤ AFP ≤ 20 ng/ml、20 ng/ml < AFP ≤ 200 ng/ml、200 ng/ml < AFP ≤ 400 ng/ml、400 ng/ml < AFP ≤ 800 ng/ml、800 ng/ml < AFP ≤ 1 210 ng/ml 及 AFP > 1 210 ng/ml 时 AFP-L3% 阳性率分别为 16.67% ~ 39.6%、43.16% ~ 60.4%、47.6% ~ 65.1%、54.9% ~ 69.2%、55.89% ~ 66.7%、81.76% ~ 88.8%。但以上数据均为凝集素捕获微量离心柱法的研究结果。由于方法学限制，目前国内临床尚无 AFP < 10 ng/ml 时的 AFP-L3 检测数据。

建议 7: AFP-L3% 阳性率与 AFP 水平呈正相关。

3 AFP-L3 检测的实验室基本质量要求

3.1 AFP-L3 检测的一般实验室要求 与开展的其他临床免疫学检测项目的实验室要求相同。

建议 8: 开展 AFP-L3 检测的实验室应具有开展临床免疫学定量检测资质并符合国家或上海市 (或其他地区) 质量督查的相关要求，包括但不限于参加室内、室间质量评价并成绩合格。

3.2 检测方法的主要原理

3.2.1 亲和吸附离心法 亲和吸附离心法 (凝集素捕获微量离心柱法) 是最早获得 CFDA 批准在临床上使用的 AFP-L3 检测方法，也是目前国内使用最广泛的方法，主要原理: 亲和吸附离心管中预装有亲和介质，标本中的 AFP-L3 与离心管内的亲和介质相结合，经过清洗和离心洗脱获得处理后标本，以 (电) 化学发光法检测处理前标本和处理后标本，通过计算可以获得检测标本中 AFP-L3 占总 AFP 的比例。优点是对于具有定量检测 AFP 的实验室，不需要特殊设备，缺点是需要手工操作，步骤多、耗时、重复性欠佳。

3.2.2 微流控免疫荧光法 日本 Wako 公司的微流控免疫荧光法于 2016 年 9 月在国内上市，检测体系基于微流控检测技术并采用了抗 AFP 不同抗原表位的荧光标记抗人 AFP 抗体 [荧光-Fab' (AFP)]、阴离子结合抗人 AFP 抗体 [DNA-Fab' (AFP)] 及

LCA。优点是实现了自动化检测，国外虽已有大量临床研究论文发表^[33,34]，但现阶段国内尚缺乏大量临床应用经验和数据。

建议 9: 依据实验室条件，推荐使用亲和吸附离心法 (凝集素捕获微量离心柱法) 或微流控免疫荧光法。

3.3 AFP-L3 的检测要求

3.3.1 标本的类型、保存及干扰因素 标本应及时检测，若不能当日检测，应及时分离血清或血浆，在 2 ~ 8℃ 保存一般不超过 7 d。超过 7 d，应置于 -20℃ 以下冷冻保存。需要保存 6 个月及以上时，应置于 -80℃ 以下保存，并避免反复冻融。亲和吸附离心法检测的干扰因素可参考所采用的 AFP 定量检测方法，以电化学发光为例，通常严重黄疸 [胆红素 > 1 112 μmol/L (65 mg/dl)]、溶血 [血红蛋白 > 1.4 mmol/L (22.5 g/L)]、脂血 (脂肪乳剂 > 1 500 mg/dl) 以及生物素 > 60 ng/ml (246 nmol/l)、类风湿因子 > 1 500 U/ml 对检测结果可能存在干扰; 采用微流控免疫荧光法时，黄疸 [胆红素 > 650 μmol/L (38 mg/dl)]、溶血 [血红蛋白 > 0.6 mmol/L (9.88 g/L)]、维生素 C > 0.5 g/L 对检测结果可能存在干扰。

建议 10: 标本类型依据不同检测方法要求，可采用血清或者血浆 (亲和吸附离心法可采用血清或血浆，微流控免疫荧光法推荐采用血清)。并注意结合采用的方法学，排除严重黄疸、溶血、脂血等对检测结果可能存在干扰的影响因素。

3.3.2 标本的预处理 (1) 亲和吸附离心法: 以采用电化学发光定量检测 AFP 为例。总 AFP 水平为 10 ~ 3 000 ng/ml 的标本，需对标本进行 1:2.5 倍稀释 (推荐 400 μl 血清加入 600 μl 清洗液)，按照操作要求进行 LCA 亲和柱层析。总 AFP 水平为 3 000 ~ 121 000 ng/ml 时，标本需 1:100 倍稀释，推荐 10 μl 血清加入 990 μl 清洗液。当总 AFP > 121 000 ng/ml 时，推荐标本分两次进行 1:1 000 倍稀释，即先 1:100 倍稀释 (10 μl 血清加入 990 μl 清洗液)，再 1:10 倍稀释 (100 μl 稀释后标本加入 900 μl 清洗液)。总 AFP < 10 ng/ml 的标本受检测灵敏度限制，不适用亲和吸附离心法定量检测 AFP-L3。结果报告形式参见“4.2 定量 (AFP-L3%)”。(2) 微流控免疫荧光法: 总 AFP 水平在仪器检测范围 (0.3 ~ 2 000.0 ng/ml) 内时，不需要进行标本预处理，可一次性全自动完成 AFP 定量及 AFP-L3% 检测; 当总 AFP > 2 000 ng/ml 时，仪器通常会报警，此时应按照仪器提示对标本进行手工稀释，“H”为 2 ~ 10 倍稀

释(推荐 100 μl 血清加入 100 μl 稀释液),“H!”为 10 倍稀释(推荐 20 μl 血清加入 180 μl 稀释液),“HH!”为 100 倍稀释(推荐采用 5 μl 血清加入 495 μl 稀释液)。

建议 11:依据不同方法学进行标本前处理。采用亲和吸附离心法检测时依据 AFP 检测系统的上限及总 AFP 水平进行不同倍数的稀释。采用微流控免疫荧光法检测时是否稀释及如何稀释依据仪器提示实施。

4 AFP-L3 结果的计算和报告形式

采用亲和吸附离心法时,柱层析后标本 AFP 浓度乘稀释倍数即为 AFP-L3 浓度。AFP-L3% 需要手工计算,推荐事先在实验室信息系统(Laboratory information system, LIS)中设定好以方便自动输出。采用自动预设模式时,应特别注意稀释倍数是否有变化。AFP-L3% 的计算见以下公式 1。

$$\text{公式 1: AFP-L3\%} = \frac{\text{AFP-L3} \times \text{稀释倍数}}{\text{总 AFP}} \times 100\%$$

采用微流控免疫荧光法时由仪器直接输出结果,计算见以下公式 2。若 AFP 水平过高,需要手工稀释时,需在仪器上输入稀释倍数,随后仪器自动给出计算结果。

$$\text{公式 2: AFP-L3\%} = \frac{\text{AFP-L3}}{\text{AFP-L1} + \text{AFP-L3}} \times 100\%$$

4.1 定性

4.1.1 阴性 提示 AFP-L3% < 10%。

4.1.2 阳性 提示 AFP-L3% \geq 10%。

4.1.3 未检出 不同方法对于未检出的释义存在一定差异。

4.1.3.1 亲和吸附离心法 总 AFP < 10 ng/ml 或虽然总 AFP \geq 10 ng/ml,但 AFP-L3 检测值低于检测下限。

4.1.3.2 微流控免疫荧光法:总 AFP \geq 0.3 ng/ml 时,AFP-L3 检测值低于检测下限或待测标本存在 L2 峰;总 AFP < 0.3 ng/ml,未到仪器测定下限,报告“未检出”。

4.2 定量(AFP-L3%) 采用亲和吸附离心法时参考公式 1 进行计算得到定量结果,计算时注意乘稀释倍数。

微流控免疫荧光法仪器直接输出结果,如果仪器出现报警时,应按仪器提示判断结果,必要时需要手工对标本进行稀释后再上机检测,具体稀释方法参见“3.3.2 标本的预处理”。

建议 12:无论是采用亲和吸附离心法还是微流控免疫荧光法,AFP-L3 检测结果的报告均应包括定

性与定量两种形式。计算 AFP-L3% 时勿忘乘以标本预处理时的稀释倍数。定性推荐临界值(Cut-off 值)为 10%,实验室及临床也可依据项目使用目的自行制定 Cut-off 值。注意检测结果为“未检出”和“阴性”之间的差别。

《多学科甲胎蛋白异质体临床应用专家共识》

专家组成员

临床专家:

吴孟超 叶胜龙 沈 锋 陆伦根 邱双健
万旭英

实验室专家(按姓氏笔画排序):

王兰兰 王华梁 仲人前 关 明 刘善荣
孙奋勇 朱宇清 吴文娟 张 健 李 敏
杨曦明 肖艳群 陈 瑜 陈福祥 周 琳
欧启水 姜加陶 郭 林 郭 玮 高春芳
傅启华

执笔者:

高春芳 房 萌 季 君

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Kokudo N, Hasegawa K, Akahane M, et al. Evidence-based Clinical Practice Guidelines for Hepatocellular Carcinoma: The Japan Society of Hepatology 2013 update (3rd JSH-HCC Guidelines)[J]. Hepatol Res, 2015, 45(2): 123-127
- [3] Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, et al. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop[J]. Hepatology, 2007, 45(4): 1056-1075.
- [4] Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences[J]. N Engl J Med, 2004, 350(11): 1118-1129.
- [5] Thein HH, Yi Q, Dore GJ, et al. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression[J]. Hepatology, 2008, 48(2): 418-431.
- [6] El-serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis[J]. Gastroenterology, 2007, 132(7): 2557-2576.
- [7] Sato Y, Nakata K, Kato Y, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein[J]. N Engl J Med, 1993, 328(25): 1802-1806.
- [8] Hu B, Tian X, Sun J, et al. Evaluation of individual and combined applications of serum biomarkers for diagnosis of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(12): 23559-23580.
- [9] Hadziyannis E, Siallevis K, Georgiou A, et al. Analysis of serum α -fetoprotein-L3% and des- γ carboxyprothrombin markers in cases

- with misleading hepatocellular carcinoma total α -fetoprotein levels [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(2):835-839.
- [10] Song P, Feng X, Zhang K, *et al.* Perspectives on using des- γ -carboxyprothrombin (DCP) as a serum biomarker; facilitating early detection of hepatocellular carcinoma in China [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2013, 2(4):227-231.
- [11] Kumada T, Toyoda H, Tada T, *et al.* High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma [J]. *J Gastroenterol*, 2014, 49(3):555-563.
- [12] Tateishi R, Yoshida H, Matsuyama Y, *et al.* Diagnostic accuracy of tumor markers for hepatocellular carcinoma: a systematic review [J]. *Hepatol Int*, 2008, 2(1):17-30.
- [13] Toyoda H, Kumada T, Tada T. Highly sensitive Lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein; a new tool for the management of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncology*, 2011, 81 (Suppl 1): 61-65.
- [14] Thomas MB, Jaffe D, Choti MM, *et al.* Hepatocellular carcinoma: consensus recommendations of the National Cancer Institute Clinical Trials Planning Meeting [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(25):3994-4005.
- [15] Hanaoka T, Sato S, Thbita H, *et al.* Clinical significance of the highly sensitive fucosylated fraction of α -fetoprotein in patients with chronic liver disease [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(4):739-744.
- [16] Volk ML, Hernandez JC, Su GL, *et al.* Risk factors for hepatocellular carcinoma may impair the performance of biomarkers: a comparison of AFP, DCP, and AFP-L3 [J]. *Cancer Biomark*, 2007, 3(2):79-87.
- [17] 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.
- [18] 徐万菊, 韩玉刚, 张 芊, 等. 甲胎蛋白异质体与高尔基体蛋白 73 在甲胎蛋白低浓度肝细胞癌诊断中的意义 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(2):174-176.
- [19] 胡敏华, 陈 燕, 梁亚嘉, 等. 新微量离心柱法测定甲胎蛋白异质体对原发性肝癌诊断的价值(附 297 例分析) [J]. *福建医药杂志*, 2009, 31(4):95-96.
- [20] 徐恩君, 陈秋莉, 李 涛, 等. 血清 AFP、AFP-L3 联合检测在原发性肝癌中的诊断价值 [J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(7):1066-1070.
- [21] 季 君, 顾 星, 高致远, 等. 凝集素微量离心柱法检测甲胎蛋白异质体在原发性肝癌中的应用评价 [J]. *检验医学*, 2011, 26(4):256-259.
- [22] Okuda H, Saito A, Shiratori K, *et al.* Clinicopathologic features of patients with primary malignant hepatic tumors seropositive for alpha-fetoprotein-L3 alone in comparison with other patients seropositive for alpha-fetoprotein-L3 [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(5):759-764.
- [23] Tada T, Kumada T, Toyoda H, *et al.* Relationship between Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein and pathologic features of hepatocellular carcinoma [J]. *Liver Int*, 2005, 25(4):848-853.
- [24] Okuda H, Nakanishi T, Takatsu K, *et al.* Clinicopathologic features of patients with hepatocellular carcinoma seropositive for alpha-fetoprotein-L3 and seronegative for des-gamma-carboxy prothrombin in comparison with those seropositive for des-gamma-carboxy prothrombin alone [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 17(7):772-778.
- [25] Matsuda M, Asakawa M, Amemija H, *et al.* Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of AFP is a useful prognostic biomarker for survival after repeat hepatic resection for HCC [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(4):731-738.
- [26] Saito Y, Shimada M, Utsunomiya T, *et al.* Prediction of recurrence of hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy using preoperative Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein [J]. *Hepatol Res*, 2012, 42(9):887-894.
- [27] Kiriyama S, Uchiyama K, Ueno M, *et al.* Triple positive tumor markers for hepatocellular carcinoma are useful predictors of poor survival [J]. *Ann Surg*, 2011, 254(6):984-991.
- [28] Nakagawa S, Beppu T, Okabe H, *et al.* Triple positive tumor markers predict recurrence and survival in early stage hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatol Res*, 2014, 44(9):964-974.
- [29] Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, *et al.* Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively [J]. *Hepatol Res*, 2011, 41:373-379.
- [30] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, *et al.* The global burden of liver disease: the major impact of China [J]. *Hepatology*, 2014, 60(6):2099-2108.
- [31] Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, *et al.* Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127:S35-S50.
- [32] Okuda H, Shiratori K, Yamamoto M, *et al.* Clinicopathologic features of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma who are seropositive for alpha-fetoprotein-L3 and those with combined hepatocellular and cholangiocarcinoma [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(5):869-873.
- [33] Choi J, Park Y, Kim J, *et al.* Evaluation of revisited fucosylated alpha-fetoprotein (AFP-L3) with an autoanalyzer μ TAS in a clinical laboratory [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413:170-174.
- [34] Kurosawa T, Watanabe M. Development of on-chip fully automated immunoassay system " μ TASWako i30" to measure the changes in glycosylation profiles of alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Proteomics*, 2016, 16(24):3056-3061.