

· 临床研究 ·

## 甲胎蛋白阴性肝细胞癌患者的预后分析

卢英<sup>1,2</sup>, 雍景超<sup>3</sup>, 吴志奇<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学第一附属医院检验学部, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>国家医学检验临床医学研究中心分中心, 江苏 南京 210029; <sup>3</sup>南京医科大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的: 分析探讨影响甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)阴性(AFP<20 ng/mL)肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者术后生存的风险因素。方法: 共纳入479例接受根治性切除的HCC患者。采用单因素和多因素Cox回归分析确定AFP阴性HCC的预后因素。Kaplan-Meier法评估生存概率, 并进行Log-rank检验。结果: 年龄(HR=1.047, 95% CI: 1.002~1.094)、癌胚抗原(HR=1.151, 95% CI: 1.027~1.290)、糖类抗原19-9(HR=1.053, 95% CI: 1.002~1.105)、天冬氨酸氨基转移酶(HR=1.031, 95% CI: 1.001~1.070)及肿瘤大小(HR=1.289, 95% CI: 1.161~1.432)是AFP阴性HCC患者生存的独立风险因素。5个风险因素值的升高与AFP阴性HCC患者较差的预后相关, 是影响总生存期(overall survival, OS)的危险因素( $P < 0.05$ )。AFP阴性HCC患者的OS明显长于AFP阳性HCC患者( $P < 0.001$ )。结论: 接受手术治疗的AFP阴性HCC患者, 需要注意其肝功能和肿瘤指标的检测, 特别是年龄超过65岁、肿瘤超过6 cm的患者。

**[关键词]** 甲胎蛋白; 肝细胞癌; 预后

**[中图分类号]** R735.7

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2023)11-1527-08

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20231108

## Prognostic analysis of AFP-negative patients with hepatocellular carcinoma

LU Ying<sup>1,2</sup>, YONG Jingchao<sup>3</sup>, WU Zhiqi<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; <sup>2</sup>Branch of National Clinical Research Center for Laboratory Medicine, Nanjing 210029; <sup>3</sup>the First Clinical Medical College, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** The study aims to determine the risk factors affecting postoperative survival in patients with alpha-fetoprotein (AFP) negative (AFP <20 ng/mL) hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** A total of 479 patients with HCC who underwent radical resection were recruited in the current study. Independent prognostic factors for AFP-negative HCC patients were determined using univariate and multifactorial Cox regression analysis. The Kaplan-Meier method was used to assess the probability of survival, and log-rank tests were performed. **Results:** Age (HR=1.047, 95% CI: 1.002–1.094), carcinoembryonic antigen (HR=1.151, 95% CI: 1.027–1.290), carbohydrate antigen 19-9 (HR=1.053, 95% CI: 1.002–1.105), aspartate aminotransferase (HR=1.031, 95% CI: 1.001–1.070) and tumor size (HR=1.289, 95% CI: 1.161–1.432) were independent risk factors for survival in AFP-negative HCC patients. The elevated values of the 5 risk factors had negative impacts on prognosis and were independent risk factors for overall survival (OS) ( $P < 0.05$ ). OS was longer in AFP-negative HCC patients than in AFP-positive HCC patients ( $P < 0.001$ ). **Conclusion:** AFP-negative patients undergoing surgical treatment for HCC are required attention to liver function and tumor markers, especially in patients older than 65 years and with tumor size larger than 6 cm.

**[Key words]** alpha-fetoprotein; hepatocellular carcinoma; prognosis

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(11): 1527-1534]

**[基金项目]** 国家临床重点专科项目; 江苏省实验诊断学重点实验室项目(ZDXKB 2016005)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: qiecho@126.com

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占肝癌的90%, 是全球第五大常见癌症, 也是癌症相关死亡的第三大原因<sup>[1]</sup>。近年来, 尽管HCC的诊断和

治疗水平有所提高,但由于术后复发率高,远期预后仍不理想<sup>[2]</sup>。临床常用肿瘤大小、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、肝功能等指标决定HCC的最佳治疗方案<sup>[3]</sup>。虽然已经发现了许多生物标志物,但在日常临床实践中,血清AFP检测仍然是应用最广泛的HCC生物标志物<sup>[4-5]</sup>。AFP升高可以促进肝细胞的恶性转化和肝癌的发生发展<sup>[6]</sup>,与HCC肿瘤侵袭性更强、预后和治疗反应更差有关<sup>[7]</sup>。AFP可用于肝癌的诊断和预测肝癌患者的预后。

值得注意的是,AFP阴性的概念是根据AFP的截点来确定的,而不考虑HCC的诊断和预后。AFP阴性HCC患者生存与AFP阳性患者生存的影响因素是否一致并不十分清楚。本研究根据临床常规检查结果评估影响AFP阴性患者生存的各种指标预测预后的效率,开发一种理想的工具来预测AFP阴性HCC患者的生存,为提高随访质量和患者后续治疗提供帮助。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

回顾性收集分析南京医科大学第一附属医院2009年1月—2017年8月收治的因原发性HCC接受肝切除术的患者。所有肝脏手术都由有经验的肝脏外科医生进行。纳入标准:①接受手术切除治疗并被病理证实为HCC;②术前检查资料完整。排除标准:①术前接受抗肿瘤治疗或合并其他器官的恶性肿瘤;②有其他恶性疾病病史及感染性疾病。符合条件的患者被纳入研究,本研究已获南京医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准(批准文号:2021-SR-253),所有患者知情同意。

### 1.2 方法

收集患者资料。肝切除术的术前评估包括心、肝、肺、肾脏常规影像学检查和临床实验室检测。

术前实验室检查有血液常规、肿瘤指标、肝功能等。包括白细胞(white blood cell, WBC)计数、中性粒细胞(neutrophil, NE)计数、淋巴细胞(lymphocyte, LY)计数、红细胞(red blood cell, RBC)计数、血红蛋白(hemoglobin, HB)、红细胞分布宽度变异系数(red cell volume distribution width, RDW)、血小板(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、血浆凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、血浆凝血酶时间(thrombin time, TT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、甲胎蛋白(alpha

fetoprotein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原19-9(carbohydrate antigen19-9, CA19-9)、血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transferase, GGT)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、总胆红素(total bilirubin, TB)、直接胆红素(direct bilirubin, DB)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、肌酐(creatinine, CR)以及乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)。

影像学检查由两名放射科医生独立评估,包括腹部磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)或CT检查,胸部X线或CT检查。参数主要有肿瘤大小、病灶数目、外生性生长、肿瘤边界、肿瘤中心坏死以及肝硬化。

患者术后随访评估,前2年每2~3个月例行血清AFP检测,术后3~6个月例行腹部超声检查。CT或MRI增强扫描每6个月例行1次,总生存期(overall survival, OS)定义为切除日期到死亡日期或最后一次随访的时间间隔。

### 1.3 统计学方法

所有统计分析均使用SPSS 26.0和GraphPad Prism 5进行。使用标准的描述性统计,不服从正态分布的连续变量用中位数(四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,用Mann-Whitney  $U$ 检验进行比较。分类变量以患者例数(百分比)[ $n(\%)$ ]表示,采用卡方检验。如计数变量理论数 $<10$ ,用Fisher精确概率检验得出。为了计算临床参数的最佳临界值(cut-off),进行了受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析,以评估ROC曲线下面积(area under curve, AUC)和置信区间(confidence interval, CI)。OS采用Kaplan-Meier方法估计,分析中用Log-rank检验评估生存曲线的差异。Cox分析中的风险比(hazard ratios, HR)和95%CI旨在确认OS的独立风险预后因素。所有统计学检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HCC患者的特点

根据本研究的纳入排除标准,对479例符合条件的HCC患者数据进行分析。男性83.92%(402/479),年龄56.00(47.00, 64.00)岁。AFP 113.70(8.39,

1 210.00)ng/mL, CEA 2.42(1.60, 3.70)ng/mL, CA19-9 16.91(9.98, 32.40)U/mL, ALT 34.90(24.30, 53.05)U/L, AST 38.10(27.70, 56.45)U/L, GGT 65.90(33.75, 124.10)U/L, LDH 197.00(170.50, 234.00)U/L, FIB 2.50(2.10, 3.20)mg/L, 肿瘤大小 5.05(3.07, 8.42)cm, OS为41.00(22.50, 65.00)个月。其中323例患者AFP $\geq$ 20 ng/mL为AFP阳性组,156例患者AFP $<$ 20 ng/mL为AFP阴性组。AFP阳性组中男性81.73%(264/323), 年龄54.00(47.00, 62.00)岁。AFP阴性组中男性88.46%(138/156), 年龄58.00(49.75, 66.00)岁。

## 2.2 AFP阴性组和AFP阳性组临床参数的比较

AFP阳性组和AFP阴性组之间的比较见表1。阳性组AFP为626.40(107.70, 1 210.00)ng/mL, 阴性组AFP为3.84(2.55, 7.93)ng/mL, 两者差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。两组患者年龄、肿瘤大小、肿瘤边界不清、肿瘤内部坏死、临床分级、巴塞罗那分期和Edmondson-Steiner分级、微血管侵犯(microvascular invasion, MVI), 以及临床实验室指标ALT、AST、GGT、LDH、CR、RDW和HBsAg阳性率之间差异均有统计学意义( $P$ 均 $< 0.05$ )。AFP阳性组OS为36.00(15.00, 60.00)个月, AFP阴性组OS为50.00(36.00, 74.50)个月, 差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。

## 2.3 AFP阴性HCC患者生存的Cox回归分析

单因素Cox分析发现, 年龄、病灶数目、外生性生长、肿瘤边界不清、肿瘤大小与AFP阴性HCC患者预后较差有关, 临床实验室参数中CEA、CA19-9、ALT、AST、GGT、LDH、FIB也与AFP阴性HCC患者预后较差相关(表2)。

在多因素Cox分析中, 年龄(HR=1.047, 95% CI: 1.002~1.094)、肿瘤大小(HR=1.289, 95% CI: 1.161~1.432)、CEA(HR=1.151, 95% CI: 1.027~1.290)、CA19-9(HR=1.053, 95% CI: 1.002~1.105)和AST(HR=1.031, 95% CI: 1.001~1.070)为AFP阴性HCC患者的独立预后因素(表2)。

## 2.4 比较AFP阴性和AFP阳性HCC患者生存的影响因素

通过Kaplan-Meier曲线分析发现, AFP阳性组与AFP阴性组的OS差异有统计学意义, AFP阳性明显与较差的OS有关( $P < 0.001$ , 图1)。

用同样的风险因素对AFP阳性HCC患者进行多因素Cox分析, 发现年龄、CEA、CA19-9和AST不是影响AFP阳性HCC患者生存的危险因素( $P > 0.05$ ), 而肿瘤大小是影响AFP阳性HCC患者生存的危险因素( $P < 0.001$ , 图2)。可见影响AFP阴性

和阳性HCC患者的生存因素是不相同的。

## 2.5 预测AFP阴性HCC患者生存的临床参数临界值

根据ROC曲线, 各因素预测生存的最佳截断值: 年龄为65.5岁(AUC=0.596, 95% CI: 0.471~0.721), 肿瘤大小为6.04 cm(AUC=0.695, 95% CI: 0.566~0.823), CEA为4.27 ng/mL(AUC=0.567, 95% CI: 0.430~0.704), CA19-9为39.0 U/mL(AUC=0.584, 95% CI: 0.438~0.731), AST为35.7 U/L(AUC=0.683, 95% CI: 0.570~0.797), 联合5因素的AUC值为0.867, 95% CI为0.781~0.953(图3)。

## 2.6 AFP阴性HCC患者生存的预测因素

以最佳截断值将患者分为高值组和低值组两个队列。Kaplan-Meier曲线显示,  $> 65$ 岁组的OS明显短于 $\leq 65$ 岁组( $P=0.026$ , 图4A), CEA $> 4.27$  ng/mL组的OS明显短于CEA $\leq 4.27$  ng/mL组( $P=0.007$ , 图4B), CA19-9 $> 39$  U/mL组的OS明显短于CA19-9 $\leq 39$  U/mL组( $P < 0.001$ , 图4C), AST $> 35.7$  U/L组的OS明显短于AST $\leq 35.7$  U/L组( $P=0.005$ , 图4D), 肿瘤大小 $> 6$  cm组的OS明显短于肿瘤大小 $\leq 6$  cm组( $P < 0.001$ , 图4E)。联合5个指标分组, 高风险组的OS明显短于低风险组( $P < 0.001$ , 图4F)。

## 3 讨论

AFP作为生物标志物, 可与影像学检查结合用于识别临床高危HCC患者, 这对指导HCC患者治疗方案的选择以及术后辅助治疗和监测有一定参考价值。本研究通过收集临床数据, 回顾性分析AFP与接受根治性切除的HCC患者的临床病理和预后的相关性。血清AFP水平不仅是HCC的诊断指标<sup>[8]</sup>, 也是反映肿瘤侵袭的指标<sup>[9-10]</sup>。有研究提示AFP对HCC预后的不良影响与肿瘤侵袭行为相关<sup>[11]</sup>。本研究发现术前血清AFP水平与HCC的预后相关, AFP阳性组的AFP水平显著高于AFP阴性组, 而OS明显低于AFP阴性组。

AFP是广泛应用于HCC的生物标志物<sup>[12]</sup>。值得注意的是, HBV相关HCC的AFP水平更高<sup>[8]</sup>。研究发现乙型肝炎病毒感染参与了HCC的发病机制<sup>[13]</sup>, 可通过结合并激活AFP基因启动子直接上调AFP的表达<sup>[14]</sup>。Wei等<sup>[15]</sup>进一步总结了乙型肝炎病毒感染和活跃复制与肝癌的炎症损伤、血管侵犯和肿瘤转移有关。本研究结果显示, AFP阳性组HBsAg阳性率更高( $P=0.046$ ), 这种差异的具体机制尚不清楚, 需要进一步研究。

事实上, GGT升高在许多肝脏疾病中常见, 现

表1 HCC患者的人口统计和临床特征

Table 1 The clinical and histologic characteristics of HCC patients

指标	AFP阳性组(n=323)	AFP阴性组(n=156)	P值
年龄[岁, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	54.00(47.00, 62.00)	58.00(49.75, 66.00)	0.001
男[n(%)]	264(81.73)	138(88.46)	0.064
肿瘤大小[cm, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	5.60(3.29, 9.36)	4.44(2.80, 6.80)	0.002
肝硬化[n(%)]	246(76.16)	112(71.79)	0.303
单个病灶[n(%)]	67(20.74)	23(14.74)	0.115
外生性生长[n(%)]	139(43.03)	59(37.82)	0.278
肿瘤边界不清[n(%)]	98(30.34)	18(11.54)	<0.001
肿瘤内部坏死[n(%)]	228(70.59)	93(59.62)	0.017
HBsAg阳性[n(%)]	264(81.73)	116(74.36)	0.046
AFP[ng/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	626.40(107.70, 1 210.0)	3.84(2.55, 7.93)	<0.001
CEA[ng/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	2.49(1.60, 3.55)	2.40(1.58, 3.87)	0.941
CA19-9[U/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	18.25(10.44, 33.46)	14.29(8.24, 28.48)	0.052
ALT[U/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	36.00(25.25, 55.30)	31.20(22.95, 47.03)	0.028
AST[U/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	43.30(29.90, 63.05)	30.90(25.68, 42.28)	<0.001
GGT[U/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	73.20(36.10, 142.50)	50.25(28.53, 87.20)	<0.001
LDH[U/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	207.00(174.50, 247.50)	185.00(163.75, 207.25)	<0.001
TB[ $\mu$ mol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	15.40(11.90, 20.60)	14.15(11.38, 20.60)	0.299
DB[ $\mu$ mol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	5.40(4.00, 7.50)	5.10(4.00, 7.15)	0.744
TC[mmol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	4.30(3.59, 5.01)	4.04(3.57, 4.67)	0.067
TG[mmol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.91(0.72, 1.22)	0.96(0.74, 1.23)	0.364
TP[g/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	70.70(66.40, 74.75)	70.90(66.20, 75.38)	0.898
ALB[g/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	41.10(37.95, 43.50)	41.25(37.73, 43.93)	0.916
CR[ $\mu$ mol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	69.40(59.60, 79.00)	71.80(62.70, 81.50)	0.049
WBC[ $\times 10^9$ 个/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	5.10(4.30, 6.41)	5.40(4.40, 6.83)	0.234
LY[ $\times 10^9$ 个/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	1.40(1.11, 1.77)	1.45(1.09, 1.90)	0.485
NE[ $\times 10^9$ 个/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	3.00(2.35, 4.10)	3.05(2.49, 4.24)	0.399
RBC[ $\times 10^{12}$ 个/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	4.59(4.22, 4.97)	4.60(4.24, 4.89)	0.537
HB[g/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	143.00(131.00, 154.00)	143.00(130.75, 151.00)	0.433
RDW[% , $M(P_{25}, P_{75})$ ]	13.50(12.90, 14.10)	13.30(12.70, 14.00)	0.033
PLT[ $\times 10^9$ 个/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	137.00(101.00, 181.00)	141.50(96.00, 179.00)	0.963
MPV[fL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	10.60(9.50, 11.80)	10.60(9.30, 11.58)	0.208
FIB[mg/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	2.56(2.10, 3.30)	2.41(2.10, 3.01)	0.124
Child Pugh分级[n(%)]			0.510
A	307(95.05)	146(93.59)	
B+C	16(4.95)	10(6.41)	
临床分级[n(%)]			<0.001
I级	164(50.77)	102(65.38)	
II级	66(20.43)	33(21.15)	
$\geq$ III级	93(28.79)	21(13.46)	
Edmondson-Steiner分级[n(%)]			<0.001
I	101(31.27)	91(58.33)	
II	185(57.28)	57(36.54)	
III	37(11.46)	8(5.13)	
巴塞罗那分期[n(%)]			
0+A	169(52.32)	116(74.36)	<0.001
B+C	154(47.68)	40(25.64)	<0.001
MVI[n(%)]	124(38.39)	20(12.82)	<0.001

表2 AFP阴性HCC预后影响因素的单因素及多因素Cox分析  
Table 2 Univariate and multivariate Cox analysis of AFP-negative HCC

指标	单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P值	HR(95%CI)	P值
性别	0.308(0.042~2.285)	0.249	—	—
年龄	1.032(1.000~1.072)	0.048	1.047(1.002~1.094)	0.041
肝硬化	1.076(0.449~2.581)	0.870	—	—
病灶数目	3.028(1.295~7.084)	0.011	2.464(0.995~1.042)	0.132
外生性生长	2.921(1.318~6.477)	0.008	1.934(0.611~6.122)	0.262
肿瘤内部坏死	2.308(0.994~5.358)	0.052	—	—
肿瘤边界不清	3.506(1.533~8.019)	0.003	2.275(0.774~6.687)	0.135
肿瘤大小	1.240(1.130~1.360)	<0.001	1.289(1.161~1.432)	<0.001
HBsAg 阳性	0.615(0.260~1.456)	0.269	—	—
CEA	1.150(1.059~1.249)	0.001	1.151(1.027~1.290)	0.015
CA19-9	1.002(1.001~1.004)	0.002	1.053(1.002~1.105)	<0.001
ALT	1.009(1.003~1.015)	0.002	0.995(0.977~1.013)	0.588
AST	1.005(1.003~1.008)	<0.001	1.031(1.001~1.070)	0.004
GGT	1.002(1.000~1.003)	0.036	1.000(0.998~1.003)	0.473
LDH	1.001(1.000~1.002)	0.012	0.999(0.998~1.001)	0.781
TB	1.009(0.983~1.036)	0.514	—	—
DB	1.013(0.979~1.049)	0.452	—	—
TC	1.087(0.695~1.700)	0.714	—	—
TG	1.092(0.471~2.530)	0.838	—	—
TP	1.012(0.954~1.073)	0.702	—	—
ALB	0.946(0.866~1.032)	0.213	—	—
CR	1.022(0.999~1.045)	0.059	1.020(0.983~1.059)	0.285
WBC	1.070(0.975~1.174)	0.153	—	—
LY	0.754(0.390~1.460)	0.403	—	—
NE	1.073(0.971~1.185)	0.166	—	—
NLR	1.018(0.932~1.112)	0.692	—	—
PLR	1.004(0.999~1.008)	0.129	—	—
RBC	0.699(0.324~1.506)	0.360	—	—
HB	0.992(0.968~1.016)	0.509	—	—
RDW	0.949(0.648~1.389)	0.786	—	—
PLT	1.002(0.996~1.008)	0.453	—	—
MPV	0.885(0.679~1.154)	0.368	—	—
PT	1.085(0.768~1.533)	0.643	—	—
APTT	0.981(0.889~1.082)	0.701	—	—
FIB	1.509(1.021~2.231)	0.039	0.653(0.350~1.216)	0.179
TT	0.804(0.609~1.063)	0.127	—	—

HR: 风险比; NLR: 中性粒细胞与淋巴细胞计数比值; PLR: 血小板与淋巴细胞计数比值。

有数据表明, GGT水平与总体癌症风险呈对数线性正相关<sup>[16]</sup>。Meta分析显示, 术前LDH升高与HCC患者不良预后显著相关<sup>[17]</sup>。Wu等<sup>[18]</sup>研究发现手术前常规检测的GGT和LDH, 与一些重要的临床病理参数密切相关, 可作为最广泛的肿瘤标志物。不仅在HCC的诊断中具有一定参考价值, 而且是重要的独立预后因素。本研究发现, AFP阳性组的GGT和

LDH都显著高于AFP阴性组。

Zhang等<sup>[19]</sup>通过对多中心的42 573例中国肝切除肝癌患者进行分析, 发现AFP阴性HCC患者为38.11%, 与本研究AFP阴性患者为32.57%(156/479)的结果相似。Chen等<sup>[20]</sup>通过监测、流行病学和最终结果数据库(Surveillance, Epidemiology, and End Results database, SEER)中2 225例HCC患者的

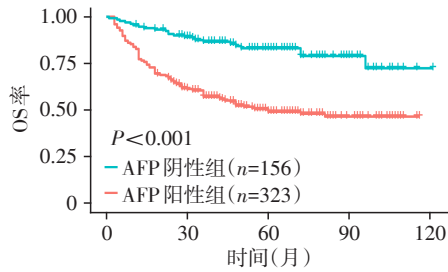


图1 基于AFP预测HCC患者的Kaplan-Meier生存曲线  
Figure 1 Kaplan-Meier analysis of HCC patients based on AFP

研究发现, AFP阴性患者占38.4%, 他们分析发现AFP是一个独立的预后因素, AFP阳性与阴性列线图分数的差值为11, 但没有AFP阴性HCC患者的预后结果。本研究显示手术后AFP阴性患者生存的累积风险明显小于AFP阳性患者。有研究显示AFP阴性HCC患者的预后好于AFP阳性患者<sup>[21]</sup>, 因此, 本研究重点探讨影响AFP阴性患者生存的因素, 期望帮助临床医生选择合适的治疗方式以提高患者的生存率。

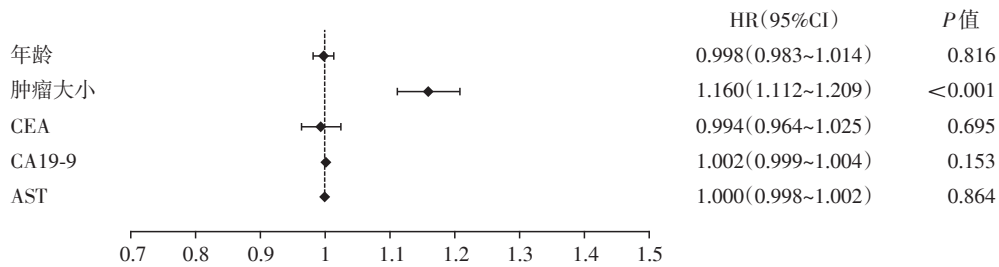


图2 AFP阳性组多因素Cox回归的结果  
Figure 2 Multivariable Cox regression results for AFP-positive groups

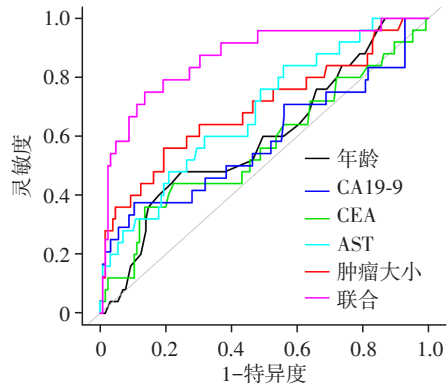


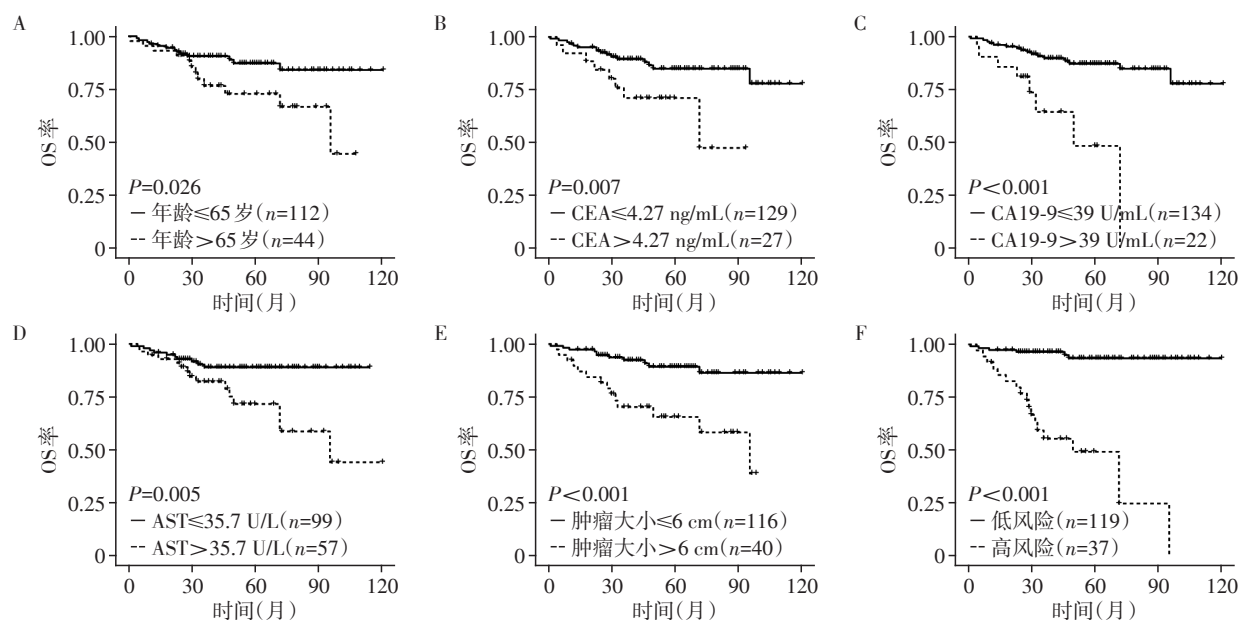
图3 ROC曲线用于确定年龄、CEA、CA19-9、AST和肿瘤大小的最佳截断值  
Figure 3 ROC curve for determining the optimal cut-off value of age, CEA, CA19-9, AST, tumor size

CA19-9提示HCC患者肝脏炎症和肝硬化更为严重, 在AFP阳性和阴性HCC患者中CA19-9升高都与较差的生存相关<sup>[25]</sup>。这与本研究结果一致, 随着CA19-9升高患者生存率降低。在AFP与CA19-9联合检测对肝切除术后肝癌预后的研究中发现, 无论AFP高或者低, 当CA19-9≥37 U/mL时, OS都短于CA19-9<37 U/mL组<sup>[26]</sup>。术前CA19-9升高患者预后不良, 可作为AFP阴性HCC患者的预后指标<sup>[27]</sup>, 然而长期以来其在AFP阴性HCC患者中的作用或被忽视。

AFP阴性患者通常有特殊的临床病理特征, 相比AFP阳性患者, 其肿瘤分化程度较高, 临床分级、Edmondson-Steiner分级和巴塞罗那分期较早, 肿瘤较小, 生存率较高。Liu等<sup>[22]</sup>通过差异基因的研究, 对AFP阴性HCC的发病机制提出新的见解, 从分子角度寻找AFP阴性HCC的诊断和预后生物标志物。AFP在正常范围内的微小变化会影响HCC的预后<sup>[23]</sup>。研究发现, AFP作为HCC侵袭行为的替代指标, 是HCC患者接受根治性切除术的独立预后因素<sup>[24]</sup>, AFP与传统巴塞罗那分期系统结合能显著提高预测预后的能力。

Gan等<sup>[28]</sup>发现术前血清AFP、CEA和CA19-9构建的肿瘤标志物评分是单纯性小肝癌患者术后复发的独立预后因素。AST是激活炎症活动的指标, 是反映肝脏炎症并影响长期生存的重要预测因素之一<sup>[29]</sup>。通过对10 966例原发性肝癌手术治疗患者的回顾性分析<sup>[30]</sup>, AST是肝切除术治疗的肝癌患者总生存率和无复发生存率的独立预后因素。AST升高提示肝脏损伤, 在AFP阴性HCC患者中, AST升高也是预后不良因素。

年龄也是影响HCC患者生存的因素。Tan等<sup>[31]</sup>将HCC患者年龄分为<70岁、70~79岁、≥80岁3个年龄组, 发现年龄每增加10岁, 会增加住院时间和术后并发症, 并且OS缩短。本研究结果显示, AFP阴性的HCC患者随着年龄的增长而预后更差。AFP阴性患者的多因素Cox分析发现, 肿瘤大小是总生存和无病生存的风险因素<sup>[24]</sup>。Lu等<sup>[32]</sup>研究显



A: 不同年龄组的生存曲线; B: 不同 CEA 水平组的生存曲线; C: 不同 CA19-9 水平组的生存曲线; D: 不同 AST 水平组的生存曲线; E: 不同肿瘤大小组的生存曲线; F: 联合 5 个指标分组, 高风险组和低风险组的生存曲线。

图4 AFP 阴性 HCC 患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

Figure 4 Kaplan-Meier survival curve of AFP-negative HCC patients

示,随着肿瘤大小的增加,HCC 患者预后不良增加。AFP 阴性患者的预后模型中,肿瘤大小都是独立的风险因素<sup>[33-34]</sup>,与本研究结果相似。

综上所述,年龄、CEA、CA19-9、AST 和肿瘤大小是 AFP 阴性 HCC 患者生存的独立风险因素,此结果可为 HCC 患者的术后管理提供参考,在 AFP 阴性接受手术治疗的 HCC 患者中,需要谨慎对待那些肝功能异常、肿瘤指标升高、肿瘤大小 >6 cm、年龄 >65 岁的患者,加强随访及后续治疗。本研究的不足之处在于数据收集中并没有特意选择 AFP 阴性的患者,而是按照纳入排除标准选择 HCC 手术患者,虽然可以比较客观地显示 AFP 阴性患者在总体中的情况,但是病例数不足,下一步需要更多的样本量及外部验证,为临床实际应用提供更多依据。

[参考文献]

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA A Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249

[2] DHIR M, MELIN A A, DOUAIHER J, et al. A review and update of treatment options and controversies in the management of hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Surg*, 2016, 263(6): 1112-1125

[3] CHEN L T, MARTINELLI T, CHENG A L, et al. Pan-Asian adapted ESMO Clinical Practice Guidelines for the management of patients with intermediate and advanced/

relapsed hepatocellular carcinoma: a TOS-ESMO initiative endorsed by CSCO, ISMPO, JSMO, KSMO, MOS and SSO [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(3): 334-351

[4] MONTAL R, ANDREU-OLLER C, BASSAGANYAS L, et al. Molecular portrait of high alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma: implications for biomarker-driven clinical trials [J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(4): 340-343

[5] GALLE P R, FOERSTER F, KUDO M, et al. Biology and significance of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma [J]. *Liver Int*, 2019, 39(12): 2214-2229

[6] ZHENG Y F, ZHU M Y, LI M S. Effects of alpha-fetoprotein on the occurrence and progression of hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(10): 2439-2446

[7] ZHU A X, KANG Y, YEN C J, et al. Ramucirumab after sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma and increased  $\alpha$ -fetoprotein concentrations (REACH-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(2): 282-296

[8] YANG T, XING H, WANG G Q, et al. A novel online calculator based on serum biomarkers to detect hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis B [J]. *Clin Chem*, 2019, 65(12): 1543-1553

[9] CUCCHETTI A, PISCAGLIA F, GRIGIONI A, et al. Pre-operative prediction of hepatocellular carcinoma tumour grade and micro-vascular invasion by means of artificial neural network: a pilot study [J]. *J Hepatol*, 2010, 52(6): 880-888

- [10] HALAZUN K J, NAJJAR M, ABDELMESSIH R M, et al. Recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg*, 2017, 265(3):557-564
- [11] CHAN A W H, BERHANE S, CUCCHETTI A, et al. Reply to: correspondence concerning "Development of pre and post-operative models to predict early recurrence of hepatocellular carcinoma after surgical resection" [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(3):573-574
- [12] JOHNSON J. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Liver Dis*, 2001, 5(1):145-159
- [13] LI M S, ZHU M Y, LI W, et al. Alpha-fetoprotein receptor as an early indicator of HB<sub>v</sub>-driven hepatocarcinogenesis and its applications in tracing cancer cell metastasis [J]. *Cancer Lett*, 2013, 330(2):170-180
- [14] ZHANG C, CHEN X M, LIU H, et al. Alpha fetoprotein mediates HB<sub>v</sub> induced carcinogenesis in the hepatocyte cytoplasm[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(8):1818-1829
- [15] WEI X B, LI N, LI S S, et al. Hepatitis B virus infection and active replication promote the formation of vascular invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):1-8
- [16] KUNUTSOR S K, APEKEY T A, VAN HEMELRIJCK M, et al. Gamma glutamyltransferase, alanine aminotransferase and risk of cancer: systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):1162-1170
- [17] KONG W H, ZUO X M, LIANG H, et al. Prognostic value of lactate dehydrogenase in patients with hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:1-10
- [18] WU S J, LIN Y X, YE H, et al. Prognostic value of alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transpeptidase and lactate dehydrogenase in hepatocellular carcinoma patients treated with liver resection[J]. *Int J Surg*, 2016, 36:143-151
- [19] ZHANG B H, ZHANG B X, ZHANG Z W, et al. 42, 573 cases of hepatectomy in China: a multicenter retrospective investigation [J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(6):660-670
- [20] CHEN S H, WAN Q S, ZHOU D, et al. A simple-to-use nomogram for predicting the survival of early hepatocellular carcinoma patients[J]. *Front Oncol*, 2019, 9:584
- [21] TAN X P, ZHOU K, ZENG Q L, et al. Influence of AFP on surgical outcomes in non-B non-C patients with curative resection for hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Exp Med*, 2023, 23(1):107-115
- [22] LIU Z J, PU Y W, BAO Y X, et al. Investigation of potential molecular biomarkers for diagnosis and prognosis of AFP-negative HCC[J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14:4369-4380
- [23] BLANK S, WANG Q, FIEL M I, et al. Assessing prognostic significance of preoperative alpha-fetoprotein in hepatitis B-associated hepatocellular carcinoma: normal is not the new normal[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(3):986-994
- [24] LIN K Y, HUANG Q Z, ZENG J X, et al. Clinical significance of alpha-fetoprotein in alpha-fetoprotein negative hepatocellular carcinoma underwent curative resection [J]. *Dig Dis Sci*, 2021, 66(12):4545-4556
- [25] ZHANG W, WANG Y Y, DONG X, et al. Elevated serum CA19-9 indicates severe liver inflammation and worse survival after curative resection in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma [J]. *Biosci Trends*, 2021, 15(6):397-405
- [26] ZHANG J, QIN S D, LI Y, et al. Prognostic significance of combined  $\alpha$ -fetoprotein and CA19-9 for hepatocellular carcinoma after hepatectomy [J]. *World J Surg Oncol*, 2022, 20(1):1-10
- [27] LU L H, ZHANG Y F, WEI W, et al. Preoperative carbohydrate antigen 19-9: its neglected role in alpha-fetoprotein-negative hepatocellular carcinoma patients [J]. *J Gastrointest Surg*, 2017, 21(12):2025-2032
- [28] GAN L J, REN S H, LANG M R, et al. Predictive value of preoperative serum AFP, CEA, and CA19-9 levels in patients with single small hepatocellular carcinoma: retrospective study [J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2022, 9:799-810
- [29] 李长贤, 张 慧, 吴晓峰, 等. 不同中国肝癌分期肝癌根治性切除术后的临床效果及预后因素分析 [J]. *中华外科杂志*, 2021, 59(2):134-143
- [30] 夏永祥, 张 峰, 李相成, 等. 原发性肝癌 10 966 例外科治疗分析 [J]. *中华外科杂志*, 2021, 59(1):6-17
- [31] TAN L L, CHEW V T, SYN N, et al. Effect of age on the short- and long-term outcomes of patients undergoing curative liver resection for HCC [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2022, 48(6):1339-1347
- [32] LU Y, REN S, JIANG J N. Development and validation of a nomogram for survival prediction in hepatocellular carcinoma after partial hepatectomy [J]. *BMC Surg*, 2023, 23(1):1-9
- [33] GAN W, HUANG J L, ZHANG M X, et al. New nomogram predicts the recurrence of hepatocellular carcinoma in patients with negative preoperative serum AFP subjected to curative resection [J]. *J Surg Oncol*, 2018, 117(7):1540-1547
- [34] HUANG J, LIU F C, LI L, et al. Nomograms to predict the long-time prognosis in patients with alpha-fetoprotein negative hepatocellular carcinoma following radical resection [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(8):2791-2802

[收稿日期] 2023-05-29

(本文编辑:陈汐敏)