

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

**甘胺酸甲基轉移酶剔除鼠作為肝病診斷轉譯研究之動物模式參數建
置**

**Utilization of glycine N-methyltransferase knockout mice as
translation research animal model of liver disease diagnosis to
develop the diagnosis parameters**

計畫編號：110A004

受委託機關(構)：高雄醫學大學

計畫主持人：田育彰

聯絡電話：07-3121101-2357-20

E-mail address：yctyan@kmu.edu.tw

核研所聯絡人員：詹振勳

報告日期： 110 年 12 月 12 日

目 錄

目 錄.....	2
中文摘要.....	3
英文摘要.....	4
壹、計畫緣起與目的.....	5
貳、研究方法與過程.....	13
一、血清樣本.....	13
二、肝功能指數.....	13
三、肝癌標誌.....	14
(一) Mouse AFP ELISA.....	14
(二) Mouse AFP-L3 ELISA.....	16
(三) Mouse DCP ELISA.....	18
四、病理切片.....	20
五、肝組織纖維化定量.....	20
六、超音波影像.....	22
參、主要發現與結論.....	23
一、肝功能指數.....	23
二、肝癌標誌.....	26
三、病理切片與肝組織纖維化定量.....	29
四、小鼠基因定序.....	35
五、超音波影像.....	36
肆、參考文獻.....	37
附錄 (小鼠病歷報告)	

中文摘要

肝癌的死亡率為國人癌症的第二名，本研究建立肝細胞癌之小動物模式，利用甘胺酸氮甲基轉移酶基因剔除小鼠產生自發性肝癌，由於肝癌的進程會影響殘餘肝功能，因此在本研究將在腫瘤形成的不同時期以目前臨床診斷肝癌技術(AFP-L3、alpha-fetoprotein、des-carboxy prothrombin, albumin, bilirubin)建置相關診斷資訊，並評估肝受體造影劑是否能作為檢測不同肝癌分期的殘存肝功能之診斷方法，進而完成肝癌診斷參數與腫瘤大小、發病時間等臨床表徵相關性之建立。定義不同肝癌分期的發病時間、肝癌標誌表現量和其肝功能參數的閾值，未來將有助於臨床肝癌的期數與殘餘肝功能的診斷。

英文摘要

The mortality rate of liver cancer is the second highest among all in Taiwan. In this study, an animal model of hepatocellular carcinoma was established. Spontaneous liver cancer was generated by knocking out the glycine N-methyltransferase gene in mice. Since the progress of liver cancer affects residual liver function, the current clinical diagnostic markers of liver cancer (ex. AFP-L3, alpha-fetoprotein, des-carboxy prothrombin, albumin and bilirubin,) will be adapted to construct relevant diagnostic information at different stages of tumor formation as well as evaluating the liver receptor contrast agent as a diagnostic method to detect the residual liver function among different liver cancer stages. This study will complete the establishment of the correlation between liver cancer diagnostic parameters and clinical features such as tumor size and onset time. Defining the onset time of different liver cancer stages, the expression of liver cancer markers and the threshold of its liver function parameters will assist the diagnosis of clinical liver cancer stages and residual liver function in the future.

壹、計畫緣起與目的

癌症是人體細胞的一種由控制細胞分裂增殖機制失常而引起的疾病，根據全球統計數據，每年有約 1400 萬例新腫瘤發生和 800 萬例與癌症相關的死亡[1]。癌細胞不受控制地快速增殖分裂外，還會侵犯至周遭正常組織甚至經由體內循環系統或淋巴系統轉移至身體其他部位，甚至可以產生生長信號，而對生長抑制的抵抗和凋亡的逃避，此外腫瘤可以通過與周圍基質細胞的相互作用來誘導血管生成，逃避免疫監視以及轉移至遠處[2]。所有這些因素都導致了癌症的難治性。根據行政院衛生署近年的統計數據顯示，惡性腫瘤為國人十大死因之第一位，而占十大死因之死亡百分比更高達 28 %，而其中肝癌是最常見的惡性腫瘤之一，其發生原因分為兩大類，其一為在肝臟內細胞產生病變，稱為原發性肝癌，另一種則為肝外之癌細胞經血液或其他途徑擴散至肝臟，則稱為轉移性肝癌[3]。此種癌症不只在台灣，在全世界也是相當常見的惡性腫瘤，若不經有效治療，在出現症狀到死亡，整個過程不超過半年，而肝癌發生的危險因子包括: B 型肝炎帶原、C 型肝炎感染、肝硬化、長期酗酒、帶有肝癌家族史或者長期暴露於其他化學藥品中(黃麴毒素或男性荷爾蒙)、肝硬化(酒精性或遺傳性)和脂肪肝 (肥胖或飲食習慣)等[4]。肝癌的形成非常複雜，很少由單一致病因子所引起，可能有多個因子

交互作用，經漫長的過程，才發展成肝癌。目前認為肝癌形成的過程，先是肝細胞受到致病因子的影響，引起反覆的慢性肝發炎促使肝細胞壞死，進而肝臟纖維化或是肝硬化，隨後肝細胞產生癌變而形成肝癌[4]。現今癌症的分期大多參考美國癌症聯合委員會(American Joint Committee on Cancer, AJCC)，分期的標準取決於發生之部位、生長程度或是有無發生遠端轉移，大致內容如下：第一期為單一顆腫瘤，並無血管侵襲；第二期為單一顆腫瘤，並帶有血管侵襲或多顆腫瘤但最大值經不超過 5 公分；第三期為多顆腫瘤，且最大直徑超過 5 公分、腫瘤侵襲到肝臟血管的主要分支、腫瘤侵襲到膽囊以外的鄰近器官或腫瘤有破裂；第四期則為腫瘤轉移至肝臟以外的器官。肝癌可以經由生化指標、影像學或是組織切片的檢查而診斷出來，再依照不同癌症的特性，選擇最好的治療方式進行治療。

肝臟主要是負責人體主要的新成代謝器官，功能有儲存肝糖維持能量平衡；分解紅血球代謝產生的毒素-膽紅素；且是主要合成維持血液滲透壓功能蛋白-白蛋白的組織，統稱為肝功能[5]，一旦以上指標異常通常表示有肝臟疾病的發生[6]。肝臟位於人體的上腹，右側橫膈膜下方，與許多內臟器官都有接觸，如胃、腸、胰、脾和腎臟。肝臟因為神經分佈在臟器的表面，當內部產生癌變形成腫瘤時，

大部分患者是不會有疼痛的感覺，此外，肝臟剩下 30 到 40% 的正常容積仍是可以維持正常的肝功能，加上肝臟與太多器官有接觸，都被認為可能是其他器官引起的疾病，往往到身體出現非常嚴重的警訊時，如昏睡、短期間體重過度減輕、嚴重黃疸，大多數患者經檢查已經是肝癌末期，屆時能進行的治療方式有限且預後狀況也不好，對於肝癌而言早期診斷早期治療是重要的。

對於肝癌的早期診斷是透過檢測血清內肝癌標誌的陽性表現[7]，目前臨床上常用的三種肝癌標誌分別為甲型胎兒蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP)[8]、結合片段第三型電泳膠體凝集素的甲型胎兒蛋白 (third electrophoretic form of lentil lectin-reactive AFP, AFP-L3)[9] 和血清脫羧基凝血酶 (des-carboxy prothrombin, DCP)[10-12]，但有少部分肝癌患者的 AFP，AFP-L3 或 DCP 的表現量正常[13, 14]，仍需再以腹部超音波或是電腦斷層掃描儀定期追蹤是否有肝腫瘤的形成，才能確定罹患肝癌[15]。隨著影像技術和造影劑的發展，目前已能透過肝臟造影來評估肝癌的分期[16]但卻無法評估肝臟有效殘餘功能的比例，雖然活體肝穿刺切片檢查是最準確地確定肝癌分期，過去的研究已發現接受活體肝穿刺切片確診的肝癌患者，容易有癌細胞沿著穿刺路徑蔓延的現象，如今肝穿刺切片的方式列為診斷肝癌的最後手段[17, 18]。

肝癌治療的方式包含肝臟移植、手術治療、酒精局部注射、電燒及肝動脈化學藥物栓塞，會依照患者本身肝癌分期選擇單一或是複合式療法[19, 20]，其中仍是以肝臟移植是最好治療方式，然受限於器官短缺和接受移植條件嚴苛[21]。因此手術切除仍是最有效的治療方式[22-24]。儘管如此，手術治療後肝癌五年復發率仍高達 60-70% [25-28]。造成肝腫瘤復發的原因，先前認為可能是未去除乾淨的腫瘤細胞再生，但現在認為患者殘餘肝功能不良，也是影響腫瘤復發的原因之一，因引起癌化的因子沒有移除[29]，同時也是導致術後肝衰竭致死的原因[30-32]，為評估肝癌患者是否直接接受手術切除或是肝臟移植治療的重要關鍵[21, 33]。

殘餘肝功能是指肝癌患者診斷時仍可以維持正常肝功能的肝臟容積。當肝細胞正常時會表現正常的肝功能。目前肝功能主要是藉由生化分析血液內膽紅素、白蛋白、谷丙轉氨酶（Alanine Aminotransferase，ALT 又稱 SGPT）和天門冬胺酸轉氨酶（Aspartate Aminotransferase，AST 又稱 SGOT）的數值來評估肝功能的狀況[34]，卻不一定能確切指出肝癌患者的殘餘肝功能，這些數值異常有可能是因為其他肝臟疾病。雖然影像技術可以透過計算沒有腫瘤的肝臟容積來表示肝癌患者的殘存肝功能，進而採取是切肝或是換肝的治療方式[35, 36]，由於晚期肝癌患者的肝腫瘤可能分布肝臟不

同的地方，受限於缺乏影像技術界定晚期肝癌患者的殘存肝功能之診斷方法，因此對於評估晚期肝癌患者的殘存肝功能是有困難的[37]。

過去的研究發現正常肝細胞表面會表現一個獨特的醣蛋白受體，稱為去唾液酸醣蛋白受體，對於末端有乳糖或半乳糖的醣胜肽具有高度親和力[38]，基於兩者間的交互作用，開發出去唾液酸醣蛋白造影劑。隨後日本 Ha-Kawa 教授研發出標定 Tc-99m 的半乳糖胺白蛋白造影劑可以顯著區分正常人和肝硬化患者的肝臟造影像的不同[39]，這結果顯示半乳糖或是乳糖胜肽在用來區分肝臟疾病的造影技術上的潛力。核能研究所透過專利技術研發出六聚乳糖正子肝受體造影劑，以下簡稱肝受體造影劑[40]，已成功制定能分析肝炎、肝硬化或是肝癌小鼠的殘餘肝功能的標準方法[41-43]，並且藉由臨床試驗可以成功評估肝硬化患者的殘餘肝功能，並建立需要等待肝臟移植的殘餘肝功能閾值，此外還能評估切肝患者殘餘肝功能的恢復效果，確保肝臟的恢復和維持狀態。先前研究已知肝癌患者的殘餘肝功能跟預後效果有關，且可能影響醫療人員選擇最佳治療方式的關鍵。肝癌的最佳治療方式的選擇也會受到患者本身的肝癌分期所影響。

核研所利用非自發性肝癌動物模式確定肝受體造影劑能區分出

正常肝與肝腫瘤[41-43]，加上此造影劑在臨床試驗可以評估切肝者或是肝硬化患者的殘存肝功能，暗示此造影劑可能具備能診斷不同肝癌分期的殘餘肝功能的閾值，來幫助醫療人員對於不同肝癌分期的患者建議更適當的治療方法，同時又能評估每個肝癌分期的預後療效，精進肝癌治療策略，有助於降低肝癌致死率。因此本計畫之目的：評估肝受體造影劑是否能作為檢測不同肝癌分期的殘存肝功能之診斷方法。然而非自發性肝癌動物模式卻無法反映臨床上肝癌進展的真實性，使得肝受體造影劑在不同肝癌分期的殘餘肝功能之診斷方式能應用於臨床試驗是一大考驗。在進行本計畫目的之前，需要先尋找可以反映人類肝臟癌化過程中各階段的變化，並能表現出正常人內應有生化數值，隨後以目前評估不同肝癌分期和肝功能的技術，建置此動物模式在不同肝癌分期之殘餘肝功能參數，作為肝受體造影劑進入臨床試驗的前期準備。

為建立肝細胞癌之小動物實驗，本研究使用甘胺酸氮甲基轉移酶基因剔除小鼠(Glycine N-Methyltransferase (-/-) Mice)，甘胺酸甲基轉移酶在不同致病因子引起的肝癌組織內的表現量較為低下[44]，透過基因剔除技術產生的甘胺酸甲基轉移酶基因剔除鼠被發現可以自發性產生肝癌，反映出臨床上人類肝臟癌化過程內各階段的病理變化[45, 46]。甘胺酸甲基轉移酶是一種在肝臟細胞中表現的蛋白質

且被認為是一種腫瘤抑制基因，在具有肝硬化危險因子的患者中發現甘氨酸甲基轉移酶的表現量是下降的，在缺乏 GNMT 的小鼠中發現有高含量的 S-adenosylmethionine 持續的過度表現會產生自發性脂肪病變，通過將 S-腺苷甲硫氨酸誘導為 S-腺苷高胱氨酸，可使 DNA 甲基化，進而發展成為脂肪性肝炎、肝硬化，甚至肝癌的生成。因此利用該小鼠在 6 至 8 個月會長出原發性肝臟腫瘤的特性，可作為此研究的肝癌小鼠模型，並且利用小動物超音波作為監測腫瘤生長的工具，觀察小鼠肝臟情形與是否有長腫瘤。

甘氨酸 N-甲基轉移酶 (glycine N-methyltransferase, GNMT) 是一種結合葉酸的糖蛋白 [47]。1960 年 Blumenstein 和 Williams 兩位科學家首次描述肝臟粗粹物內的 GNMT [48]。此蛋白質在肝臟含量非常豐富。除肝臟外，它還存在於前列腺、腎臟、胰腺、大腦、頷下腺和腸道中 [49-51]。已知 GNMT 通過結合葉酸來控制 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 與 S-腺苷高半胱氨酸 (SHM) 的相對比例和以 SAM 作為甲基的來源，催化甘氨酸的甲基化，從而產生肌氨酸 [49, 52, 53]。越來越多的證據表明，GNMT 是肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的腫瘤抑制因子 [54-60]。因 GNMT 不被表現在人類 HCC 腫瘤組織和 HCC 細胞系 [55, 56]，且 GNMT 敲除小鼠會自發產生 HCC，其癌化過程，類似於人類 HCC 的形成，從慢性肝炎、脂肪結節、血

管瘤、發育不良結節開始，到腫瘤形成或轉移結束 [54, 59-71]。

GNMT 通過各種策略發揮其對肝癌發生的抑制作用。在 GNMT 基因敲除小鼠中的研究表明，GNMT 可能會通過未知因素，使其可以控制肝癌發生相關的訊號傳遞路徑的活化，包括 Ras 和 JAK/STAT、Ras/ERK/LKB1 和 RASGRP3 路徑，典型的 Wnt 信號和 MAPK [54, 60, 62]。GNMT 一般存在於肝細胞的細胞質中，但可轉移至細胞核內。GNMT 入核可以透過改變 CYP 家族蛋白介導的解毒作用，以防禦肝臟中環境異生物質的致癌作用 [63, 64]。這過程是由於抑制 CYP 基因表達及其異生物質的激活造成的 [63, 64]。此外，GNMT 入核還會結合到 CYP1A1、PREX2、PARP1 和 NFκB 基因的啟動子，並通過抑制它們的表達來阻礙它們的致癌作用 [65]。GNMT 還通過與 DEPTOR/mTOR 訊號路徑相互作用和增強 E3 連接酶 HectH9 介導的泛素-蛋白酶體路徑，來調節用於細胞增殖的 AKT 訊號通路 [51, 66, 67]。GNMT 基因敲除小鼠的代謝組學分析表明，GNMT 缺失破壞色氨酸的分解和代謝，並導致肝臟中被激活的免疫細胞數量不足 [68]。進而讓免疫監測不足，使得 GNMT 基因敲除小鼠發產出慢性肝炎 [68]。

貳、 研究方法與過程

一、 血清樣本

使用採血針於小鼠臉頰取血 200 到 300 μl ，採血點為小鼠眼角及嘴角連線交接處，採集後於常溫下靜置血液 6 小時，以 1000g 離心 10 分鐘，收取血清體積約 50~200 μl 不等，樣本冰凍於負 80 度 C 保存。

二、 肝功能指數

肝臟是人體的代謝和合成器官之一，含有豐富的谷丙轉氨酶 (Alanine Aminotransferase，ALT 又稱 GPT) 和天門冬胺酸轉氨酶 (Aspartate Aminotransferase，AST 又稱 GOT)，也是人體代謝膽紅素 (Bilirubin，BIL) 和合成白蛋白 (Albumin，ALB) 的主要器官[5]。當肝功能異常時，血液內的谷丙轉氨酶、天門冬胺酸轉氨酶及膽紅素會增加，而白蛋白的含量會減少，臨床上常利用血液生化分析儀檢測上述物質在血液內的含量，以作為評估肝功能的指標。

使用富士全自動乾式生化分析儀 (FUJIFILM DRI-CHEM NX-500) 及試片 (Fuji-film) 檢測共 21 隻 (包含 16 隻 GNMT -/- 及 5 隻 Wild Type) 隨不同月齡 (4~11M) 小鼠之 GOT、GPT、T-Bil、D-Bil、ALB 五種生化值，每個月齡包含 5~10 隻小鼠，12 個月因樣本不足 (n=2) 故不納

入統計。

三、 肝癌標誌

臨床上診斷肝癌是先檢測血液內肝癌標誌的表現，篩選出疑似肝癌患者，隨後再以即時或定期肝臟超音波追蹤來確診肝癌患者。過去的研究已發現 36 周齡大的甘胺酸甲基轉移酶基因剔除鼠會有脂肪性肝發炎，顯示周齡大於 36 周之小鼠具有發展成為肝癌的可能性。在甘胺酸甲基轉移酶基因剔除鼠 16 周齡大時，相隔 4 周齡小鼠採集樣本，透過酵素免疫分析法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay，ELISA)檢測甲型胎兒蛋白、結合片段第三型電泳膠體凝集素的甲型胎兒蛋白和血清脫羧基凝血酶的表現量。

(一)Mouse AFP (Alpha-Fetoprotein) ELISA Kit (E-EL-M2405, Elabscience, USA)

1. 試劑準備：

(1) 試劑使用前需先於室溫下放置 30 分鐘。

(2) Wash Buffer (1X):

以 720 毫升 DDW 稀釋 30 毫升濃縮 Wash Buffer (25X)得到 750 毫升的 Wash Buffer (1X)，若濃縮的 Wash Buffer 中有晶體沉澱，用隔水加熱(40°C)並輕輕混合直到晶體完全溶解。

(3) 標準溶液：

將標準粉末於 10000g 離心 1 分鐘，加入 1 毫升的標準稀釋液，得到 1 毫升的原始標準液(10 ng/ml)，靜置 10 分鐘後，來回翻轉使其完全溶解即可進行連續稀釋。準備 7 個 Eppendorf，先各加入 500 μ l 的標準稀釋液。原始標準液 pipetting 後取 500 μ l 加入 Eppendorf 中(5 ng/ml)，以此類推可得濃度梯度(10 ng/ml、5 ng/ml、2.5 ng/ml、0.63 ng/ml、0.31 ng/ml、0.16 ng/ml)，濃度為 0 ng/ml 作為 blank，不須稀釋。

(4) Biotinylated 抗體溶液：

計算所需的量，每孔需 100 μ l，以 Biotinylated 抗體稀釋液稀釋 100 倍。可多準備些許以避免吸取誤差，使用前需離心。

(5) HRP 共軛溶液：計算所需的量，每孔需 100 μ l，以 HRP 共軛稀釋液稀釋 100 倍。可多準備些許以避免吸取誤差，使用前需離心。

2. 步驟：

- (1) 將標準液由濃度高到低加入孔洞中，每孔需 100 μ l，以建立標準曲線，再加入需測之樣本，每孔 100 μ l，從最底部加避免碰到管壁，封貼後在 37°C 培養 90 分鐘。
- (2) 移除每孔的液體，先不要 wash，立即加 100 μ l 的 Biotinylated 抗

體溶液到每一孔，封貼並輕輕混合後，在 37°C 培養 60 分鐘。

- (3) 吸出每孔的溶液後，每孔再加入 350µl 的 Wash Buffer，使其浸泡 1~2 分鐘後倒掉，再將其於紙上輕輕拍乾，重複此步驟 3 次。
- (4) 加 100µl 的 HRP 共軛溶液到每一孔中，封貼後在 37°C 培養 30 分鐘。
- (5) 倒掉液體後 wash 5 次。(與步驟 3 相同)
- (6) 加 90µl 的呈色劑到每孔中，封貼並以鋁箔紙包覆避光後於 37°C 培養 15 分鐘。
- (7) 加 50µl 的終止溶液到每孔中，加入的順序要跟呈色劑的順序一致，溶液會從藍色變為黃色。
- (8) 量測 OD 值(Multiskan, Thermo)，波長設在 450 nm，並使用 Ascent 軟體 version 2.6 中的四參數回歸方程式(four parameter logistic regression，4PL)建立標準曲線。

(二) Mouse AFP-L3 ELISA kit (E0095Mo, BT Lab, China)

1. 試劑準備：

(1) 試劑使用前需先於室溫下放置 30 分鐘。

(2) Wash Buffer (1X):

以 480 毫升 DDW 稀釋 20 毫升濃縮 Wash Buffer (25X) 得到 500 毫升的 Wash Buffer(1X)。若濃縮的 Wash Buffer 中有晶體沉澱，

隔水加熱(40°C)並輕輕混合直到晶體完全溶解。

(3) 標準溶液：

將 120µl 原始標準液(8000 ng/L)加入 120µl 標準稀釋液後，可得濃度為 4000 ng/L 的標準溶液，靜置 15 分鐘後並輕輕混合使其完全溶解即可進行連續稀釋。準備 6 個 Eppendorf，先各加入 120µl 的標準稀釋液。原始標準液 pipetting 後取 120µl 加入 Eppendorf 中(2000 ng/L)，以此類推得到濃度梯度(4000 ng/L、2000 ng/L、1000 ng/L、500 ng/L、250 ng/L)，濃度 0 ng/L 作為 blank，不須稀釋。

2. 步驟:

- (1) 將六種不同濃度之標準溶液由濃度高到低加入孔洞中，每孔需 50µl 且只對應一種濃度以建立標準曲線。加入樣本 40µl 至其他孔中後，再加入 10µl 的 anti-AFP-L3 antibody。接著再將 50µl streptavidin-HRP 加入每一孔中，應從最底部加入避免碰到管壁，封貼後在 37°C 培養 60 分鐘。
- (2) 移除封貼並倒掉孔洞的液體後，每孔加入至少 350µl 的 Wash Buffer 並浸泡 30 秒至 1 分鐘，再將其於紙上輕輕拍乾，重複此步驟 5 次。
- (3) 先加入 50µl 的 substrate solution A 至每孔中後，再加入 50µl 的

substrate solution B，封貼並以鋁箔紙包覆避光後，在 37°C 培養 10 分鐘。

(4) 培養完立刻加入 50 μ l 的終止溶液到每孔中，加入的順序要跟加呈色劑的順序一致，溶液會從藍色變為黃色。

(5) 量測 OD 值(Multiskan，Thermo)，波長設為 450 nm，並使用 GainData(<https://www.arigobio.com/elisa-analysis>)中的四參數回歸方程式(four parameter logistic regression，4PL)建立標準曲線。

(三) Mouse DCP ELISA kit (E1650Mo，BT Lab，China)

1. 試劑準備：

(1) 試劑使用前需先於室溫下放置 30 分鐘。

(2) Wash Buffer (1X):

以 480 毫升 DDW 稀釋 20 毫升濃縮 Wash Buffer (25X)得到 500 毫升的 Wash Buffer(1X)。若濃縮的 Wash Buffer 中有晶體沉澱，隔水加熱(40°C)並輕輕混合直到晶體完全溶解。

(3) 標準溶液：

將 120 μ l 原始標準液(64 ng/ml)加入 120 μ l 標準稀釋液，得濃度為 32 ng/ml 的標準溶液，靜置 15 分鐘後並輕輕混合使其完全溶解即可進行連續稀釋。準備 6 個 Eppendorf，先各加入 120 μ l 的標準稀釋液。原始標準液 pipetting 後取 120 μ l 加入 Eppendorf 中(16

ng/ml)，以此類推得到濃度梯度(32 ng/ml、16 ng/ml、8 ng/ml、4 ng/ml、2 ng/ml)，濃度 0 ng/ml 作為 blank，不須稀釋。

2. 步驟：

- (1) 將六種不同濃度之標準溶液由濃度高到低加入孔洞中，每孔需 50 μ l 且只對應一種濃度以建立標準曲線。加入樣本 40 μ l 至其他孔中後，再加入 10 μ l 的 anti-DCP antibody。接著再將 50 μ l 的 streptavidin-HRP 加入每一孔中，應從最底部加入避免碰到管壁，封貼後在 37°C 培養 60 分鐘。
- (2) 移除封貼並倒掉孔洞的液體後，每孔加入至少 350 μ l 的 Wash Buffer 並浸泡 30 秒至 1 分鐘，再將其於紙上輕輕拍乾，重複此步驟 5 次。
- (3) 先加入 50 μ l 的 substrate solution A 至每孔中後，再加入 50 μ l 的 substrate solution B，封貼並以鋁箔紙包覆避光後，在 37°C 培養 10 分鐘。
- (4) 培養完立刻加入 50 μ l 的終止溶液到每孔中，加入的順序要跟加呈色劑的順序一致，溶液會從藍色變為黃色。
- (5) 量測 OD 值(Multiskan, Thermo)，波長設為 450 nm，並使用 Ascent 軟體 version 2.6 中的四參數回歸方程式(four parameter logistic regression, 4PL)建立標準曲線。

四、 病理切片

將不同月齡的小鼠取出肝臟包含肝臟腫瘤，利用福馬林進行固定，進行石蠟包埋與蘇木素-伊紅染色(hematoxylin and eosin stain, H&E stain)以確認腫瘤型態與發炎程度。

五、肝組織纖維化定量

當肝臟纖維化時會有膠原蛋白沉積的現象，使肝臟組織結構改變，且會伴隨結疤的傷痕，進而使回流到肝臟的血液不順，導致肝功能的異常，因此也能作為肝功能的指標之一。本研究以 Picro Sirius Red Stain kit (Connective Tissue Stain) (ab150681)將 6~12 月齡之甘胺酸甲基轉移酶基因剔除鼠的肝臟切片進行纖維化染色，並以光學顯微鏡(Nikon ECLIPSE E600)觀察組織是否有存在因結疤導致的雞絲狀竇狀纖維化，再利用影像軟體 ImageJ (version 1.48v; National Institutes of Health) 於 200X 倍率下經手動選取隨機 10 個視野取平均值，對沉積在竇狀纖維化位置的紅色染色的膠原蛋白進行定量。

以 Metavir system 做為評估肝臟纖維化程度之標準並與 H&E 染色對照；F0：正常肝組織(無纖維化)，F1：輕度纖維化(纖維化侷限在肝門脈區中，無間隔)，F2：中度纖維化(少許纖維束自肝門區伸出至小葉中，有少數間隔)，F3：重度纖維化(許多纖維束自肝門區

伸出至小葉中，有多數間隔)，F4：嚴重纖維化(厚厚的纖維組織把肝細胞圍成一團一團的)。

(一) 步驟:

1. 石蠟切片:

以迴轉式石蠟切片機 (LEICA RM2235)將肝組織切成厚度5 μm 的薄片後使其漂浮於伸展水浴槽(48°C)中黏貼於載玻片上。並至於烘片機(48°C)上將其水分烘乾。

2. 烤片:

將玻片放置於60°C烘箱中，烘烤30分鐘使組織上的蠟軟化。

3. 脫蠟:

將玻片浸置於xylene中20分鐘兩次以去除玻片上的蠟。

4. 復水:

將玻片依序浸置於梯度酒精(99.9%、95%與85%75%)中每種濃度5分鐘三次。

5. 染色:

將玻片浸置天狼星紅染劑中一個小時，確保組織都有被溶液覆蓋到。

6. 醋酸溶液沖洗兩次每次一秒快速拿起。

7. 脫水:

將玻片浸置於99.9%酒精中三次，每次五分鐘。

8. 透明:

將玻片浸置於xylene中10分鐘兩次。

9. 封片:

玻片滴上封片膠並蓋上蓋玻片，於抽氣櫃中待其乾燥後即可使用
光學顯微鏡觀察。

六、超音波影像

利用Vevo2100非侵入式小動物超音波系統觀察小鼠肝臟隨月齡之變化，透過氣體麻醉機以Isoflurane將小鼠麻醉，待動物進入麻醉狀態30秒後將其固定於生理監控平台，並以除毛膏替除其腹部毛髮，使用B-Mode (Brightness Mode)觀察肝臟有無腫瘤生長情形，肝細胞癌在超音波影像下的特徵:較高回音的腫塊、具瀰漫性或兩種皆有，詳見病例附檔。

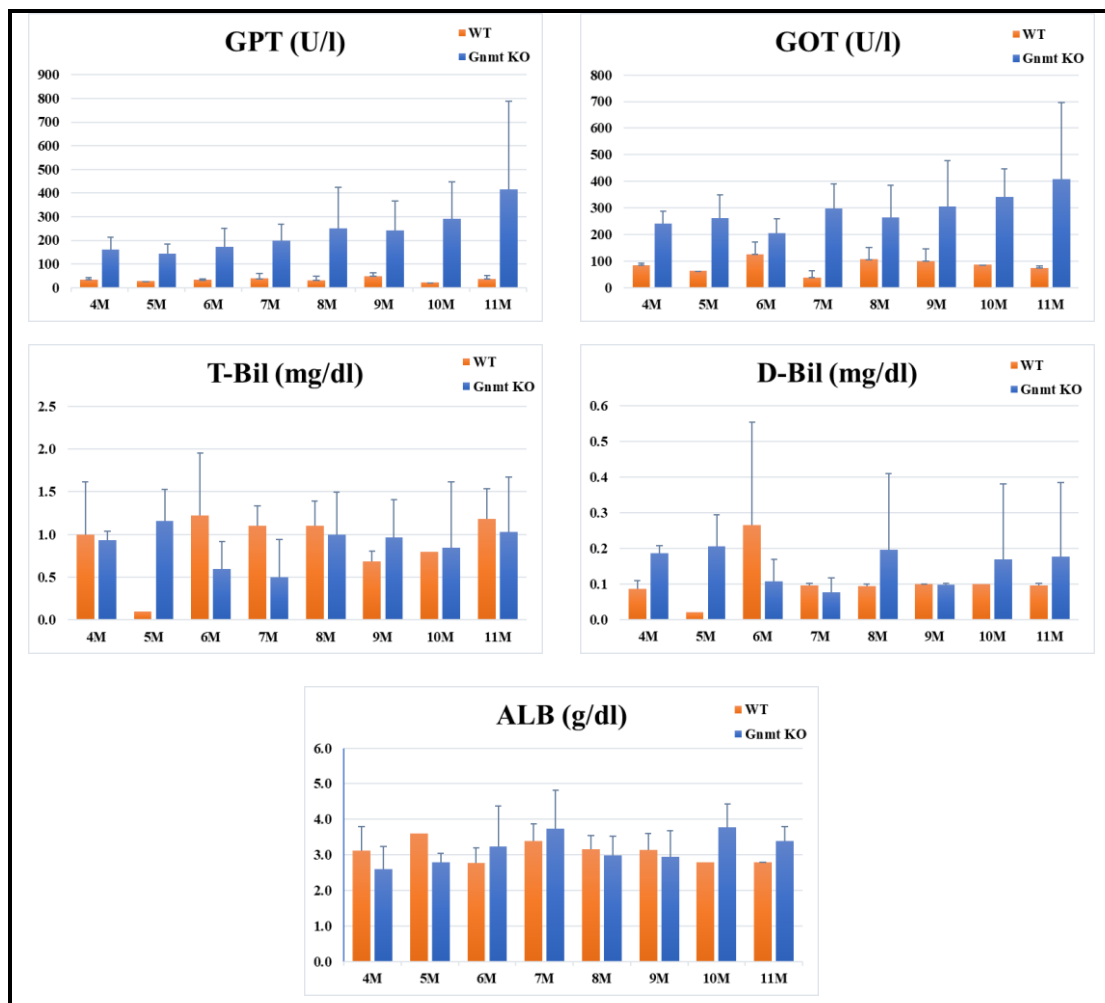
參、主要發現與結論

一、肝功能指數

GNMT(-/-)						
月齡			4M	5M	6M	7M
項目	單位	正常範圍	(n=6)	(n=6)	(n=8)	(n=7)
GPT	U/L	17~77	162.33±51.25	142.87±42.10	171.46±78.86	199.00±67.96
GOT	U/L	54~298	242.67±44.87	262.67±87.85	205.83±54.24	299.24±91.70
TBIL	mg/dl	0.1~0.9	0.93±0.11	1.16±0.36	0.60±0.32	0.50±0.44
DBIL	mg/dl	0~0.27	0.19±0.02	0.21±0.09	0.11±0.06	0.08±0.04
ALB	g/dl	2.5~4.8	2.60±0.64	2.79±0.25	3.24±1.14	3.73±1.10
月齡			8M	9M	10M	11M
項目	單位	正常範圍	(n=10)	(n=8)	(n=8)	(n=6)
GPT	U/L	17~77	250.20±173.72	242.38±124.50	292.50±155.83	414.50±372.37
GOT	U/L	54~298	263.70±120.46	305.00±172.38	340.50±107.55	409.17±286.96
TBIL	mg/dl	0.1~0.9	1.00±0.49	0.97±0.44	0.84±0.77	1.03±0.64
DBIL	mg/dl	0~0.27	0.10±0.01	0.10±0.00	0.08±0.03	0.09±0.02
ALB	g/dl	2.5~4.8	2.99±0.54	2.95±0.72	3.78±0.64	3.38±0.42

Wild Type						
月齡			4M	5M	6M	7M
項目	單位	正常範圍	(n=3)	(n=1)	(n=3)	(n=2)
GPT	U/L	17~77	33.67±8.96	28	33.00±5.00	39.00±21.21
GOT	U/L	54~298	86.00±6.56	64	126.67±44.84	39.50±24.75

TBIL	mg/dl	0.1~0.9	1.00±0.61	0.1	1.22±0.73	1.10±0.24
DBIL	mg/dl	0~0.27	0.09±0.02	0.02	0.10±0.00	0.10±0.01
ALB	g/dl	2.5~4.8	3.12±0.67	3.6	2.78±0.42	3.40±0.47
月齡			8M	9M	10M	11M
項目	單位	正常 範圍	(n=3)	(n=2)	(n=1)	(n=2)
GPT	U/L	17~77	31.00±16.52	48.00±14.14	23	37.00±14.14
GOT	U/L	54~298	107.33±45.35	100.50±45.96	88	75.00±7.07
TBIL	mg/dl	0.1~0.9	1.10±0.29	0.68±0.12	0.8	1.18±0.35
DBIL	mg/dl	0~0.27	0.09±0.01	0.10±0.00	0.1	0.10±0.01
ALB	g/dl	2.5~4.8	3.17±0.38	3.13±0.47	2.8	2.80±0.00



肝指數 GPT(又稱為 ALT)、GOT(又稱為 AST)，是肝細胞製造的兩種最多酵素。當肝臟發炎時，肝細胞會壞死，GPT、GOT 就會進入血液中，造成肝指數升高，因此常以此作為肝臟發炎或受損程度的評估，一般稱之為肝功能指標。GNMT-/-小鼠 GPT 值均超過高標，且有明顯隨著月齡上升的趨勢，表示肝臟受損或發炎之可能越顯嚴重。4~7 個月的 GOT 落在正常值範圍但仍偏高，而 8~11 個月則有隨著月齡上升的趨勢。由於 GPT 是判斷肝臟發炎的重要指標，如果異常即表示肝臟正在發炎，因 GOT 未大量增加，因此以 GPT 高於正常值約 2-3 倍，僅能判斷小鼠肝臟已有輕微發炎，並未達到脂肪肝或是肝硬化，即使兩者指數異常其比值也非常接近 1，頂多只有脂肪肝或脂肪肝炎，未達到肝硬化的表現。只檢測這兩種轉氨酶數值，並無法完全確認肝臟功能，因此會同步檢驗由肝臟合成的白蛋白(Albumin)數值，如果數值降低，就表示肝臟的合成能力出現了問題，可能有肝硬化或猛爆型肝炎的問題，而檢測的標準值為 2.5~4.8 g/dl，GNMT-/-小鼠的 ALB 皆屬正常。紅血球平均壽命大約是 120 天，老舊的紅血球功成身退時，在脾臟中被破壞而釋出血紅素。這些血紅素大部份經由肝細胞進行化學作用排入膽汁中，再由膽管注入腸道內，經糞便排出體外。如果肝細胞受損或膽管阻塞，膽紅素無法順利排出，就逆流進入血液中，而在正常情況下 D-BIL 只佔 T-

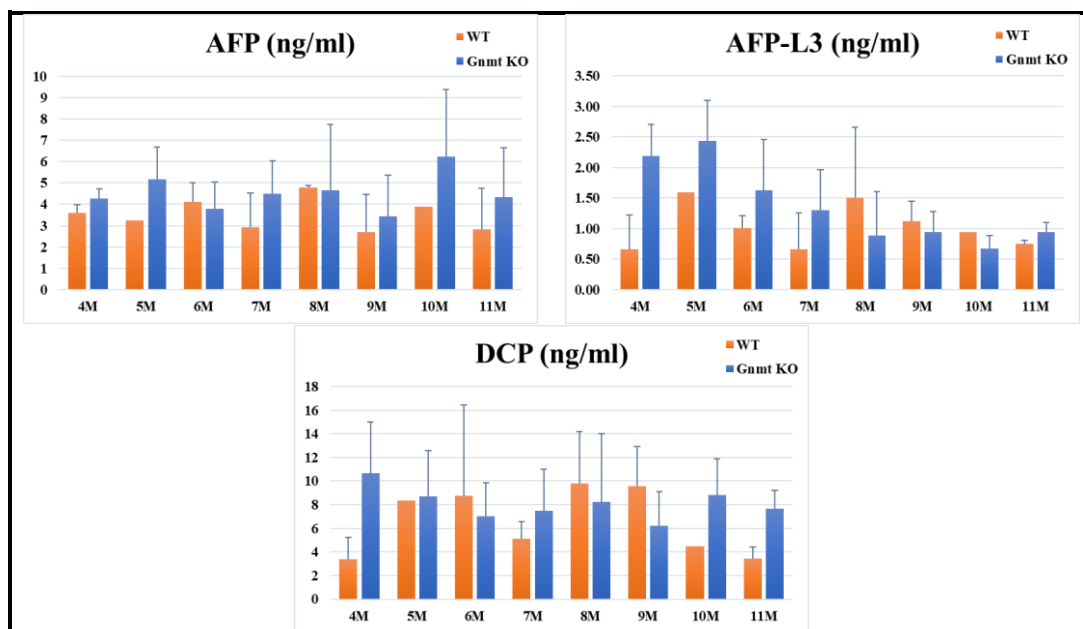
BIL 的 20%左右，當比例超過 50%才會懷疑有肝膽問題，目前 GNMT^{-/-}小鼠的 T-BIL 僅些許超標或正常，D-BIL 均在正常值範圍內，以目前數值評估 4~11 個月齡 GNMT^{-/-}小鼠肝臟應由健康狀態逐漸傾向脂肪肝甚至脂肪肝炎發展。表格中若數值異常以紅字標示，12 月齡小鼠因缺少對照組故不納入統計。

月齡	耳號	GPT	GOT	T-Bil	D-Bil	ALB
12M	2	113	141	1.0	0.1	3.1
	3	118	146	0.8	0.1	3.1

二、 肝癌指標

GNMT ^(-/-)					
月齡		4M	5M	6M	7M
項目	單位	(n=6)	(n=6)	(n=8)	(n=7)
AFP	ng/ml	4.28±0.46	5.17±1.50	3.81±1.24	4.50±1.53
AFP-L3	ng/ml	2.18±0.52	2.44±0.66	1.62±0.84	1.30±0.66
AFP-L3%		0.51±0.11	0.52±0.22	0.45±0.26	0.29±0.13
DCP	ng/ml	10.65±4.36	8.68±3.89	7.02±2.85	7.48±3.54
月齡		8M	9M	10M	11M
項目	單位	(n=10)	(n=8)	(n=8)	(n=6)
AFP	ng/ml	4.66±3.07	3.43±1.94	6.23±3.16	4.32±2.33
AFP-L3	ng/ml	0.89±0.71	0.95±0.34	0.67±0.21	0.94±0.16
AFP-L3%		0.25±0.19	0.35±0.19	0.13±0.06	0.29±0.20
DCP	ng/ml	8.24±5.76	6.22±2.89	8.84±3.03	7.64±1.59

Wild Type					
月齡		4M	5M	6M	7M
項目	單位	(n=3)	(n=1)	(n=3)	(n=2)
AFP	ng/ml	3.60±0.37	3.25	4.10±0.93	2.91±1.61
AFP-L3	ng/ml	0.67±0.56	1.59	1.01±0.19	0.66±0.59
AFP-L3%		0.19±0.18	49%	0.26±0.09	0.34±0.39
DCP	ng/ml	3.38±1.82	8.36	8.78±7.67	5.10±1.46
月齡		8M	9M	10M	11M
項目	單位	(n=3)	(n=2)	(n=1)	(n=2)
AFP	ng/ml	4.78±0.10	2.70±1.77	3.87	2.81±1.95
AFP-L3	ng/ml	1.51±1.16	1.12±0.34	0.94	0.75±0.06
AFP-L3%		0.31±0.23	0.58±0.51	24%	0.34±0.22
DCP	ng/ml	9.80±4.37	9.58±3.34	4.47	3.41±1.00



AFP (Alpha-fetoprotein)由胎兒的肝臟、卵黃囊等處所分泌，一般由抽血檢驗血中濃度，正常值應介於 7~ 10ng/ ml，血液中 AFP 濃度

上升通常是疑似發生肝腫瘤，目前 GNMT-/-小鼠均低於正常值。因為並非所有的肝癌都會使 AFP 數值升高，根據臺大許金川教授研究及其他研究顯示，有 1/3 的肝癌病人，此一數值小於 20 ng/ml，1/3 是 20 ng/ml 到 400 ng/ml，1/3 大於 400 ng/ml。數值是否會升高，跟腫瘤大小、數量、特性等均有關，因此以 AFP 來篩檢肝癌並不是非常理想。

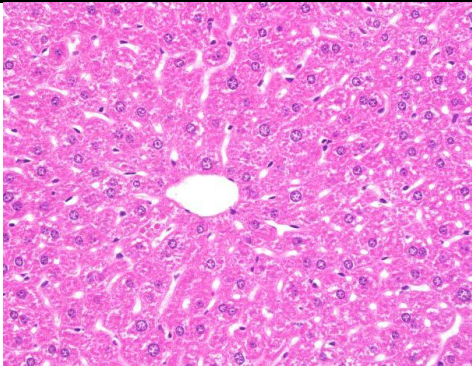
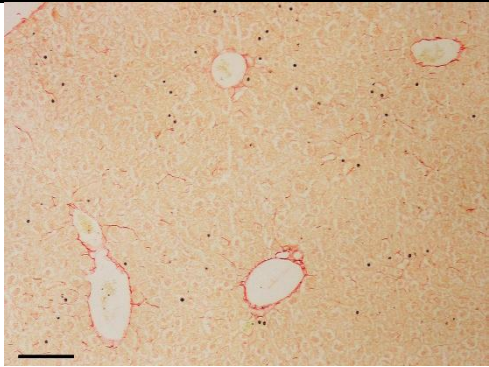
AFP-L3 為 AFP 其中一種亞型，其分子中的乙醯氨基葡萄糖的氨基端(N-acetylglucosamine)增加了岩藻糖 (α 1-6 fucose)殘基而使之能與凝集素(LCA)強力結合，親和力大於 AFP-L1 與 AFP-L2，而 AFP-L3 只能由腫瘤細胞產生，是 HCC 的一個特異性標記物。血清中總 AFP 和 AFP-L3 可以提供不同的關於肝癌的訊息，總 AFP 升高可能表示肝癌患者肝臟有大的腫瘤存在，而 AFP-L3 可以預測肝癌細胞的惡性程度。肝癌的腫瘤標記除了 AFP 外，還有 AFP-L3 和 DCP（或稱 PIVKA-II），如果合併起來檢查，可減少偽陰性。一般而言 AFP-L3 與 AFP 的比值大於 10%時腫瘤診斷為陽性，但因為本次實驗 AFP 值相當低，故 AFP-L3 與 AFP 的比值暫時無法提供有效判斷。

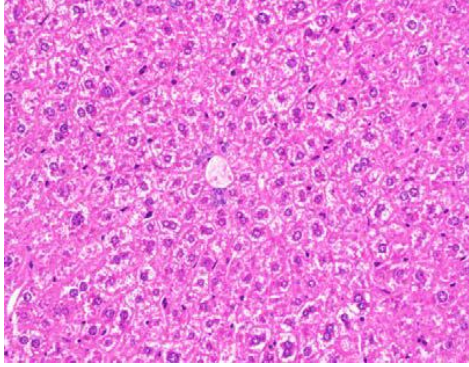
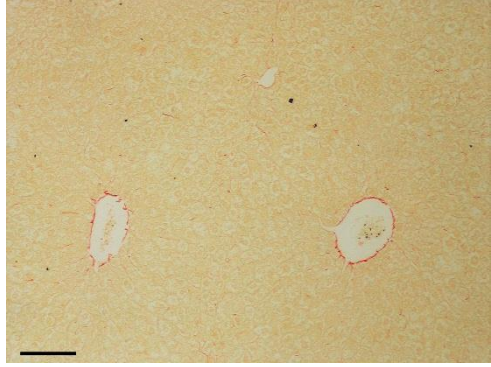
DCP 是一種維生素 K 缺乏誘導蛋白，其 γ -羧基穀氨酸結構中 1 個或多個穀氨酸殘基不完全羧化為 γ -羧基穀氨酸，導致其失去正常凝血功能。1984 年 Liebman 等人首次提出 DCP 水平在肝癌患者中升

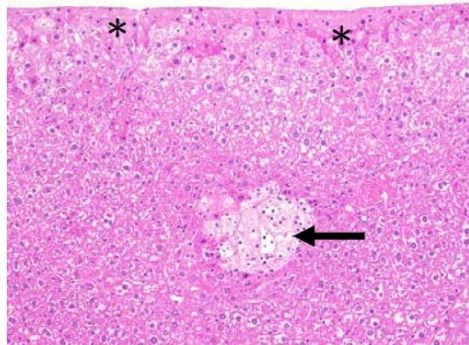
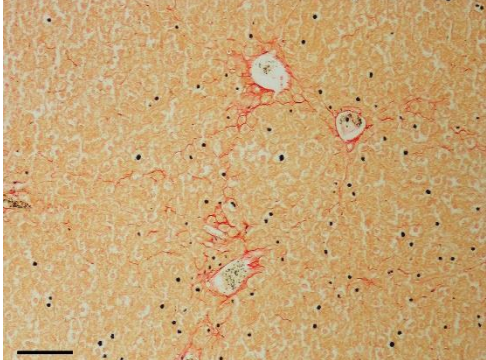
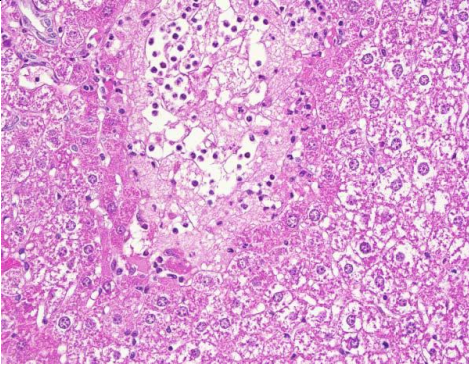
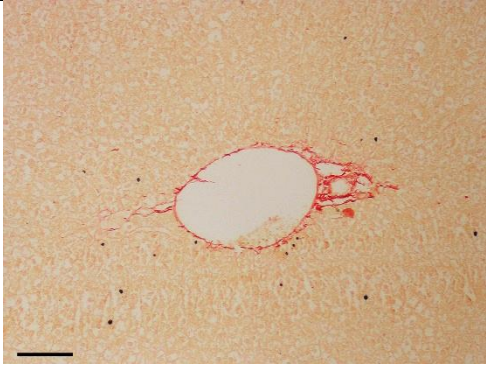
高。近年來，大量臨床研究表明 DCP 有較好的敏感度和特異度，因此 DCP 逐漸地作為肝癌篩檢和診斷的指標，而腫瘤直徑越大，血清 DCP 濃度顯著升高，且 DCP 濃度與腫瘤 TNM 分期呈正相關性。實驗室設定 DCP 正常參考值為 9.1~27.8 ng/ml，臨床診斷肝癌以 40 ng/ml 為臨界值，本次實驗之小鼠檢測數據均低於臨界值，12 月齡小鼠因缺少對照組故不納入統計。

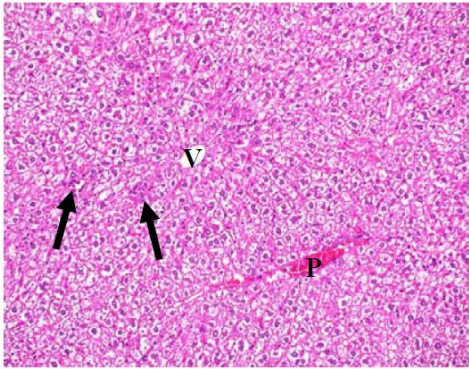
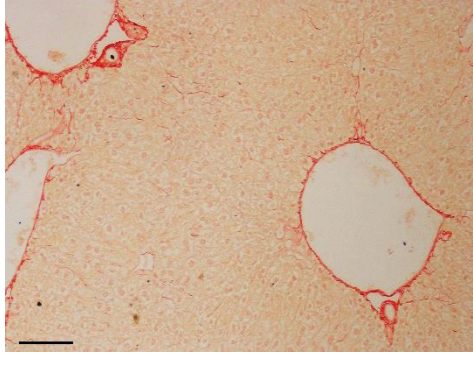
月齡	耳號	AFP	AFP-L3	AFP-L3%	DCP
12M	2	5.51	0.64	12%	4.29
	3	1.72	0.32	19%	2.09

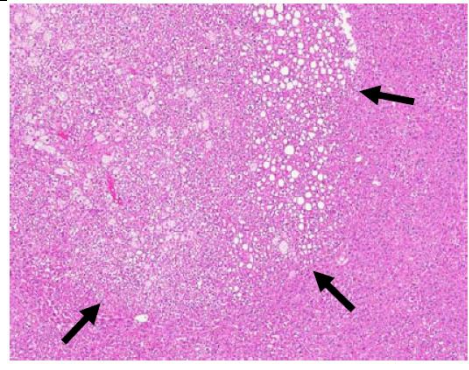
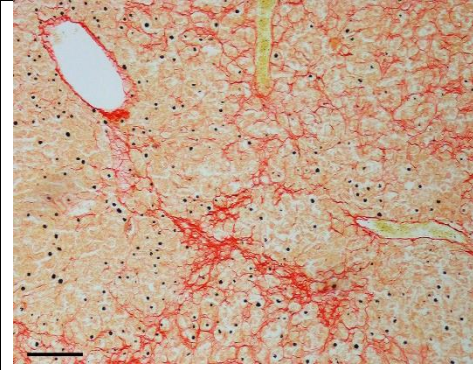
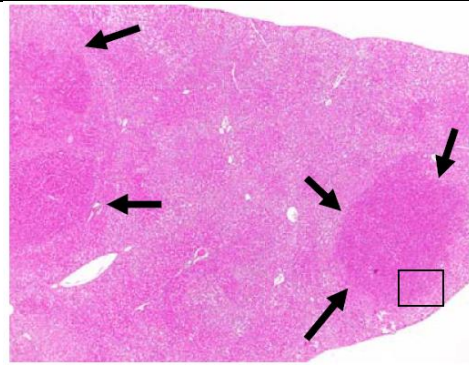
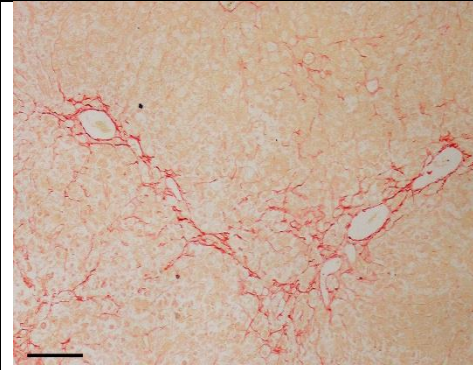
三、 病理切片與肝組織纖維化定量

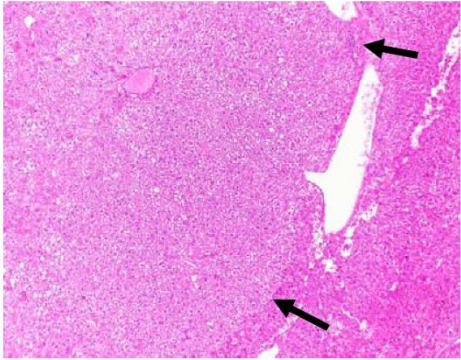
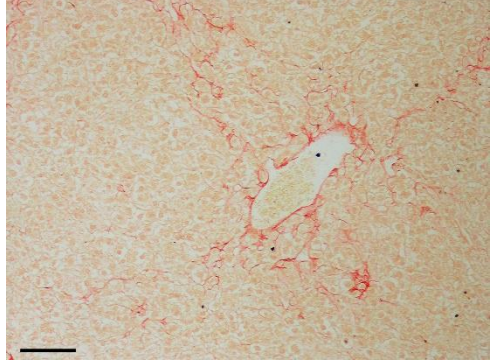
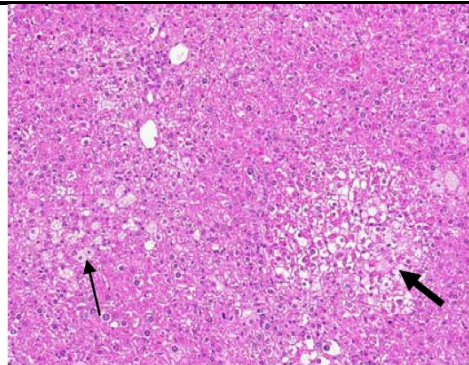
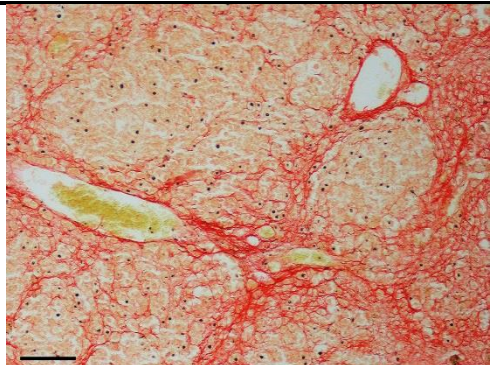
WT		
8M		
	無肝糖堆積，400X	無纖維化，100X，bar scale=100μm

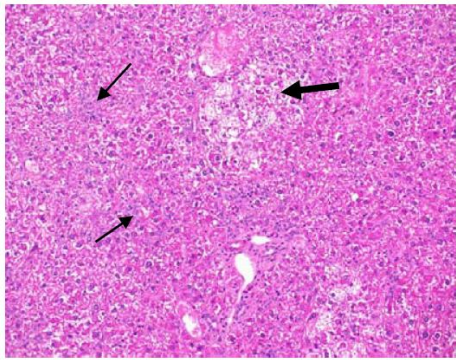
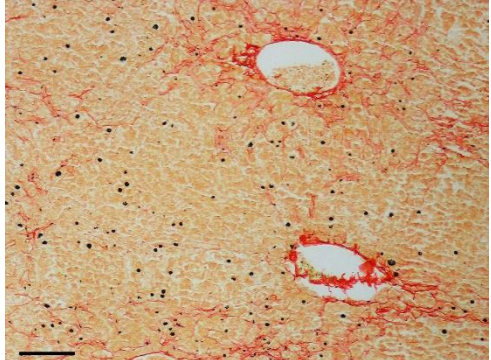
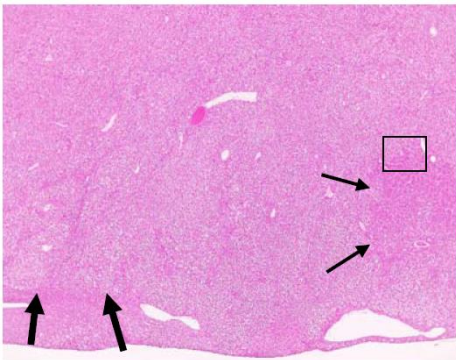
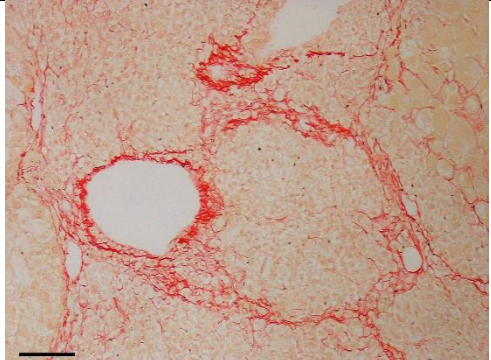
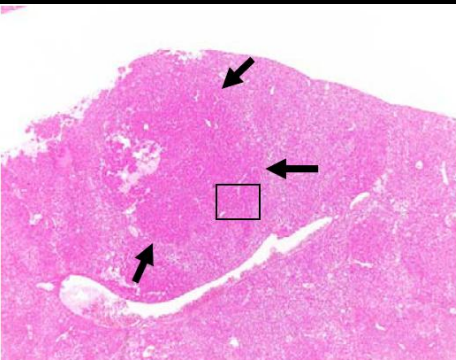
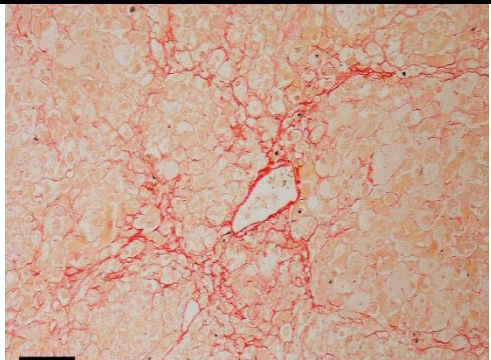
10M		
	肝醣堆積(第二級)， 400X	無纖維化， 100X， bar scale=100μm

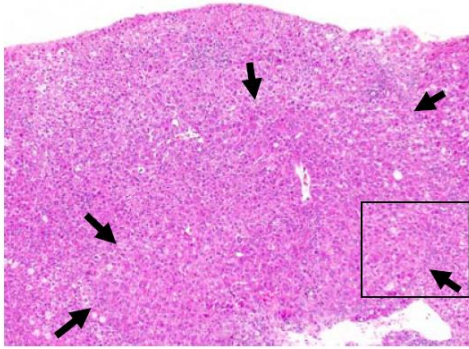
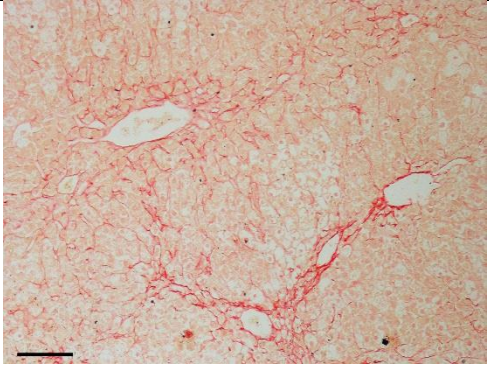
GNMT(-/-) 無腫瘤		
6M		
	局部肝細胞水腫變性與壞死伴隨炎症細胞浸潤(箭頭處)， 200X	纖維化侷限在肝門脈區中，無間隔， 100X， bar scale=100 μm
8M		
	局部肝細胞水腫變性與伴隨炎症細胞浸潤之壞死，肝醣	無纖維化， 100X， bar scale=100μm

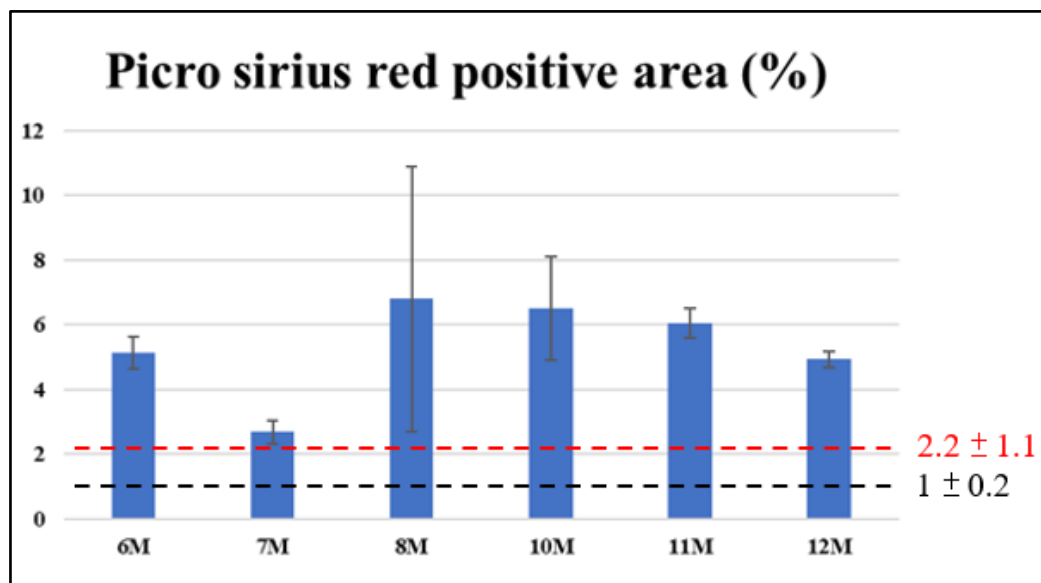
	堆積，400X	
12M		
	瀰漫肝醣堆積，多焦點炎性細胞浸潤(箭頭)，200X	纖維化侷限在肝門脈區中，無間隔，100X，bar scale=100 μ m

GNMT(-/-) 有腫瘤		
6M		
	細胞改變之混合細胞焦點(箭頭指出焦點邊界)，100X	許多纖維束自肝門區伸出至小葉中，有多數間隔，100X，bar scale=100 μ m
		

	肝細胞腺瘤(箭頭指出腫瘤邊界)，40X	少許纖維束自肝門區伸出至小葉中，有少數間隔，100X，bar scale=100 μ m
7M		
	細胞改變之混合細胞焦點(箭頭指出焦點邊界)，100X	纖維化侷限在肝門脈區中，無間隔，100X，bar scale=100 μ m
10M		
	細胞改變之混合細胞焦點(箭頭處)，大囊泡性脂肪改變(細箭頭)，炎性細胞浸潤與肝醣堆積，200X	許多纖維束自肝門區伸出至小葉中，有多數間隔，100X，bar scale=100 μ m

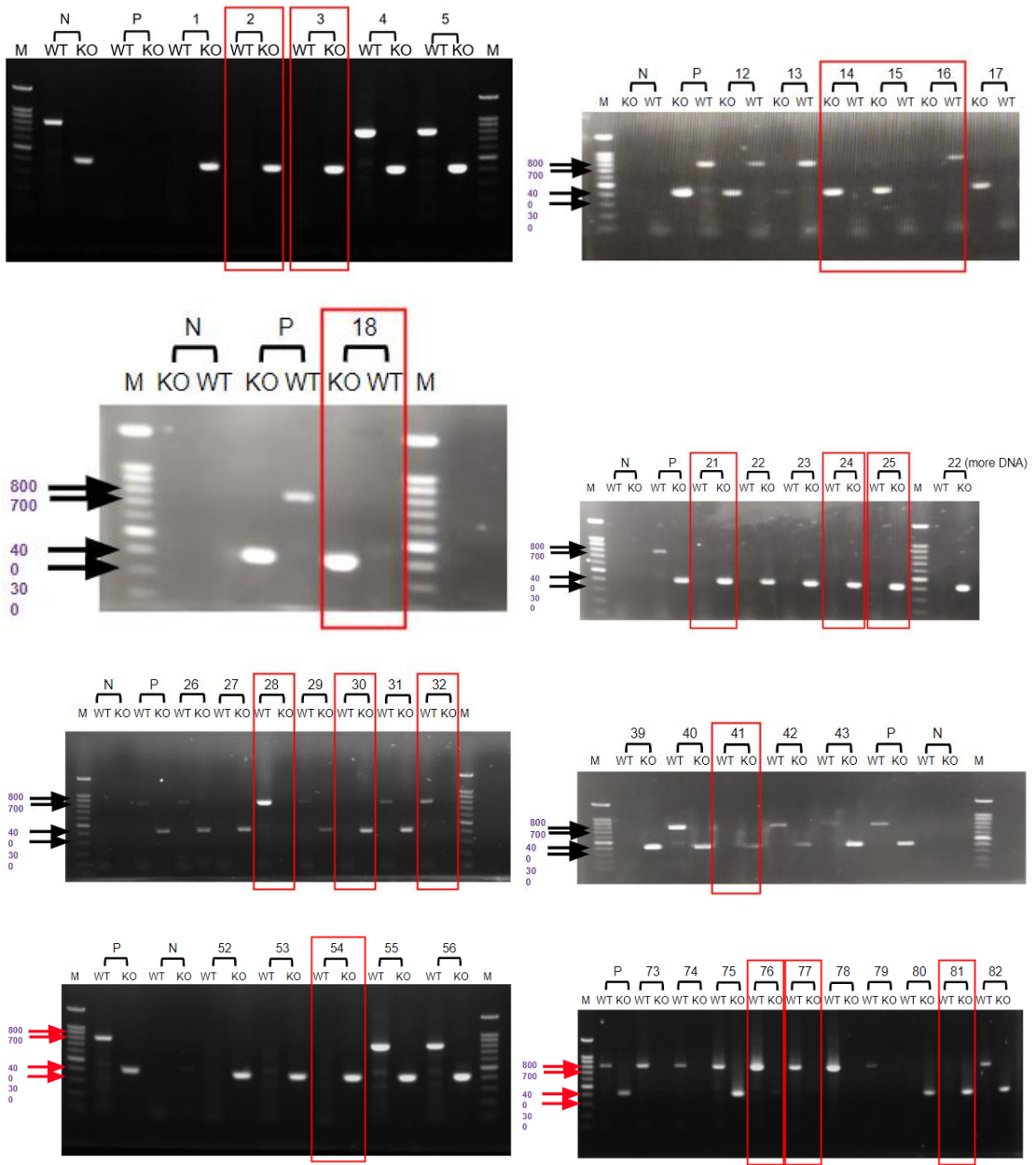
11M		
	細胞改變之混合細胞焦點(箭頭處)，卵圓細胞增生(細箭頭)，200X	纖維化侷限在肝門脈區中，無間隔，100X，bar scale=100 μ m
12M		
	肝細胞腺瘤(箭頭指出腫瘤邊界)與出現於腺瘤中之肝細胞癌(細箭頭指出腫瘤邊界)，40X	少許纖維束自肝門區伸出至小葉中，有少數間隔，100X，bar scale=100 μ m
12M		
	肝細胞腺瘤(箭頭指出腫瘤邊界)，40X	少許纖維束自肝門區伸出至小葉中，有少數間隔，100X

		bar scale=100 μ m
		
	肝細胞癌(箭頭指出腫瘤邊界), 40X	少許纖維束自肝門區伸出至小葉中, 有少數間隔, 100X, bar scale=100 μ m



隨著 GPT 與 GOT 的上升, 表示肝臟受損或發炎越顯嚴重, 因纖維化產生之膠原蛋白也有所增加, 但並未與月齡呈正相關, 月齡越大其腫瘤體積也越大, 因此正常肝體積相對減小, 纖維化比例也略為下降。黑線為 WT 控制組, 平均數 $\pm$ 標準差為 1 ± 0.2 ; 紅線為 GNMT (-/-)無腫瘤, 平均數 $\pm$ 標準差為 2.2 ± 1.1 。

四、 小鼠基因定序

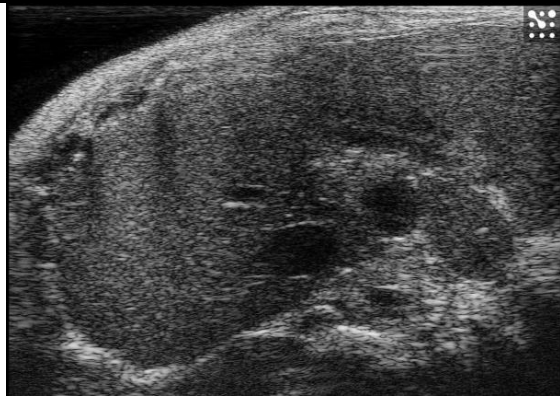
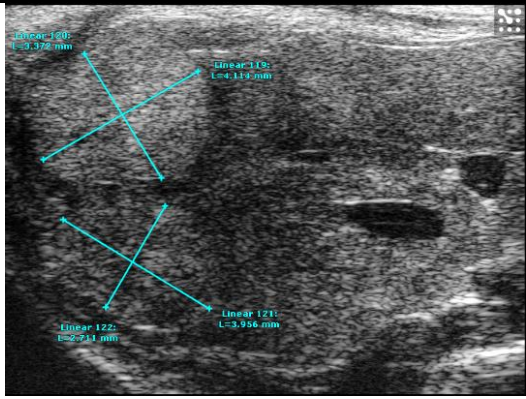
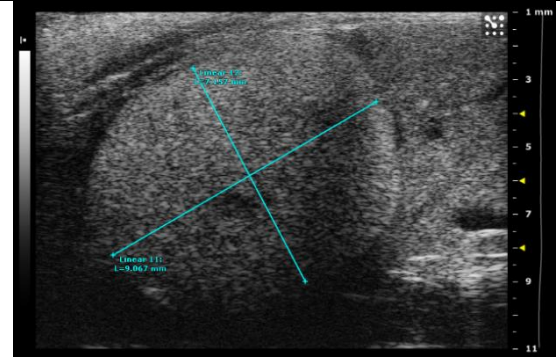
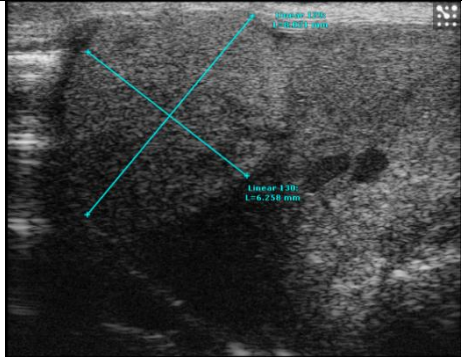


M: Maker (100bp DNA ladders)
KO: Neomycin (300-400bp)
WT: GNMT (700-800bp)
N: Negative control
P: Positive control

耳號	性別	基因型	耳號	性別	基因型
2	母	-/-	41	母	-/-
3	母	-/-	54	公	-/-

14	母	-/-	81	公	-/-
15	公	-/-	16	公	+/+
18	母	-/-	28	公	+/+
21	公	-/-	32	公	+/+
24	母	-/-	76	母	+/+
25	公	-/-	77	母	+/+
30	母	-/-			

五、 超音波影像

WT (8M)	GNMT (-/-) 有腫瘤 (10M)
	
肝臟組織在超音波下大致呈現回音均勻。	肝右葉有 2 顆橢圓形腫塊，腫瘤內部不均勻，瀰漫高回音且邊界模糊，具有肝細胞癌在超音波影像下的特徵。
GNMT (-/-) 有腫瘤 (12M)	GNMT (-/-) 有腫瘤 (14M)
	
肝右葉有顆高回聲腫塊，表面平	肝右葉有顆高回聲腫塊，表面

滑且外圈邊緣有黑色模糊低回音。	平滑且外圈邊緣有黑色模糊低回音。
-----------------	------------------

肆、參考文獻

1. McGuire S. World Cancer Report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015. *Adv Nutr.* 2016;7(2):418-419.
2. You SL, Hwang JM, Pu YS, et al. Cancer Registry Annual Report, 2018 Taiwan. Taipei Taiwan: Health Promotion Administration Ministry of Health and Welfare, 2020.
3. Suresh D, Srinivas AN, Kumar DP. Etiology of Hepatocellular Carcinoma: Special Focus on Fatty Liver Disease. *Front Oncol.* 2020;10:601710.
4. Macek Jilkova Z, Kurma K, Decaens T. Animal Models of Hepatocellular Carcinoma: The Role of Immune System and Tumor Microenvironment. *Cancers (Basel).* 2019;11(10):1487.
5. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol.* 2017;27(21):R1147-R1151.
6. Knell AJ. Liver function and failure: the evolution of liver physiology. *J R Coll Physicians Lond.* 1980;14(3):205-208.
7. Gish RG. Early detection of hepatocellular carcinoma through surveillance using biomarkers. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2014;10(2):121-123.
8. Johnson PJ. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis.* 2001;5(1):145-159.
9. Li D, Mallory T, Satomura S. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta.* 2001;313(1-2):15-19.
10. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, et al. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 1984;310(22):1427-1431.
11. Shimada M, Yamashita Y, Hamatsu T, et al. The role of des-gamma-carboxy prothrombin levels in hepatocellular carcinoma and liver tissues. *Cancer Lett.* 2000;159(1):87-94.
12. Zhou L, Liu J, Luo F. Serum tumor markers for detection of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2006;12(8):1175-1181.
13. Stefaniuk P, Cianciara J, Wiercinska-Drapalo A. Present and future

- possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2010;16(4):418-424.
14. Tateishi R, Yoshida H, Matsuyama Y, Mine N, Kondo Y, Omata M. Diagnostic accuracy of tumor markers for hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Hepatol Int*. 2008;2(1):17-30.
 15. Lee JM, Trevisani F, Vilgrain V, Wald C. Imaging diagnosis and staging of hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl*. 2011;17 Suppl 2:S34-S43.
 16. Hennes T, Venkatesh SK. Imaging of hepatocellular carcinoma: diagnosis, staging and treatment monitoring. *Cancer Imaging*. 2013;12(3):530-547.
 17. Huang GT, Sheu JC, Yang PM, Lee HS, Wang TH, Chen DS. Ultrasound-guided cutting biopsy for the diagnosis of hepatocellular carcinoma--a study based on 420 patients. *J Hepatol*. 1996;25(3):334-338.
 18. Takamori R, Wong LL, Dang C, Wong L. Needle-tract implantation from hepatocellular cancer: is needle biopsy of the liver always necessary?. *Liver Transpl*. 2000;6(1):67-72.
 19. Kumari R, Sahu MK, Tripathy A, Uthansingh K, Behera M. Hepatocellular carcinoma treatment: hurdles, advances and prospects. *Hepat Oncol*. 2018;5(2):HEP08.
 20. Lurje I, Czigany Z, Bednarsch J, et al. Treatment Strategies for Hepatocellular Carcinoma - a Multidisciplinary Approach. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6):1465.
 21. Mazzaferro V, Bhoori S, Sposito C, et al. Milan criteria in liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an evidence-based analysis of 15 years of experience. *Liver Transpl*. 2011;17 Suppl 2:S44-S57.
 22. Zhong JH, Ke Y, Gong WF, et al. Hepatic resection associated with good survival for selected patients with intermediate and advanced-stage hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*. 2014;260(2):329-340.
 23. Guo Z, Zhong JH, Jiang JH, Zhang J, Xiang BD, Li LQ. Comparison of survival of patients with BCLC stage A hepatocellular carcinoma after hepatic resection or transarterial chemoembolization: a propensity score-based analysis. *Ann Surg Oncol*. 2014;21(9):3069-3076.
 24. Zhu SL, Ke Y, Peng YC, et al. Comparison of long-term survival of patients with solitary large hepatocellular carcinoma of BCLC stage A after liver resection or transarterial chemoembolization: a propensity score analysis. *PLoS One*. 2014;9(12):e115834.
 25. Tsilimigras DI, Bagante F, Moris D, et al. Recurrence Patterns and Outcomes after Resection of Hepatocellular Carcinoma within and beyond the Barcelona Clinic Liver Cancer Criteria. *Ann Surg*

- Oncol.* 2020;27(7):2321-2331.
26. Imamura H, Matsuyama Y, Tanaka E, et al. Risk factors contributing to early and late phase intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Hepatol.* 2003;38(2):200-207.
 27. Minagawa M, Makuuchi M, Takayama T, Kokudo N. Selection criteria for repeat hepatectomy in patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg.* 2003;238(5):703-710.
 28. Zhang X, Li C, Wen T, et al. Appropriate treatment strategies for intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma initially within the Milan criteria: according to the recurrence pattern. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2015;27(8):933-940.
 29. European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinom. *J Hepatol.* 2012;56(4):908-943.
 30. Schroeder RA, Marroquin CE, Bute BP, Khuri S, Henderson WG, Kuo PC. Predictive indices of morbidity and mortality after liver resection. *Ann Surg.* 2006;243(3):373-379.
 31. Paugam-Burtz C, Janny S, Delefosse D, et al. Prospective validation of the "fifty-fifty" criteria as an early and accurate predictor of death after liver resection in intensive care unit patients. *Ann Surg.* 2009;249(1):124-128.
 32. Benzoni E, Lorenzin D, Baccarani U, et al. Resective surgery for liver tumor: a multivariate analysis of causes and risk factors linked to postoperative complications. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2006;5(4):526-533.
 33. Allaire M, Goumard C, Lim C, Le Cleach A, Wagner M, Scatton O. New frontiers in liver resection for hepatocellular carcinoma. *JHEP Rep.* 2020;2(4):100134.
 34. Lala V, Goyal A, Bansal P, Minter DA. Liver Function Tests. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; July 4, 2020.
 35. Yoon JH, Lee JM, Kang HJ, et al. Quantitative Assessment of Liver Function by Using Gadoteric Acid-enhanced MRI: Hepatocyte Uptake Ratio. *Radiology.* 2019;290(1):125-133.
 36. Ryeom HK, Kim SH, Kim JY, et al. Quantitative evaluation of liver function with MRI Using Gd-EOB-DTPA. *Korean J Radiol.* 2004;5(4):231-239.
 37. Reeder SB. Quantification of Liver Function with MRI: Is It Ready?. *Radiology.* 2019;290(1):134-135.
 38. Ashwell G, Morell AG. The role of surface carbohydrates in the

- hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1974;41(0):99-128.
39. Ha-Kawa SK, Tanaka Y. A quantitative model of technetium-99m-DTPA-galactosyl-HSA for the assessment of hepatic blood flow and hepatic binding receptor. *J Nucl Med.* 1991;32(12):2233-2240.
 40. Lin WJ, Wang MH, Yu HM, Lin KL, Jiang YF, Chen RY. Hexa-lactoside-triazanonane triacetic acid (nota) derivative, method for radiolabeling hexa-lactoside positron emission tomography (pet) imaging agent for liver receptor with ga-68, and hexa-lactoside pet imaging agent for liver receptor. U.S. Patent No. 20190343971A1. 2019.
 41. Wang MH, Lin WJ, Lee SC, Shen LH, Chen HJ. Glyco-molecular imaging method for grade classification of liver fibrosis and its glyco-molecular imaging agent thereof. TW. Patent No. I417110B. 2013.
 42. Wang MH, Lin WJ, Chien CY, Yu HM, Lee RT, Lee YC. Quantification method for remaining liver function and novel liver receptor imaging agent. U.S. Patent No. 8435491B2. 2013.
 43. Wang MH, Chien CY, Yu HM, Wang PY, Lin WJ. Use of ¹¹¹In-Hexavalent Lactoside for Liver Reserve Estimation in Rodents with Thioacetamide-Induced Hepatic Fibrosis. *Mol Pharm.* 2018;15(10):4417-4425.
 44. Tseng TL, Shih YP, Huang YC, et al. Genotypic and phenotypic characterization of a putative tumor susceptibility gene, GNMT, in liver cancer. *Cancer Res.* 2003;63(3):647-654.
 45. Liu SP, Li YS, Chen YJ, et al. Glycine N-methyltransferase-/- mice develop chronic hepatitis and glycogen storage disease in the liver [published correction appears in *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):769.
 46. Liao YJ, Liu SP, Lee CM, et al. Characterization of a glycine N-methyltransferase gene knockout mouse model for hepatocellular carcinoma: Implications of the gender disparity in liver cancer susceptibility. *Int J Cancer.* 2009;124(4):816-826.
 47. Cook, R.J. and C. Wagner, Glycine N-methyltransferase is a folate binding protein of rat liver cytosol. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984. 81(12): p. 3631-4.
 48. Blumenstein, J. and G.R. Williams, The enzymic N-methylation of glycine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1960. 3(3): p. 259-263.
 49. Yeo, E.J. and C. Wagner, Tissue distribution of glycine N-methyltransferase, a major folate-binding protein of liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994. 91(1): p. 210-4.
 50. Chen, Y.M., et al., Genomic structure, expression, and chromosomal localization of the human glycine N-

- methyltransferase gene. *Genomics*, 2000. 66(1): p. 43-7.
51. Yen, C.H., et al., Functional characterization of glycine N-methyltransferase and its interactive protein DEPDC6/DEPTOR in hepatocellular carcinoma. *Mol Med*, 2012. 18: p. 286-96.
 52. Heady, J.E. and S.J. Kerr, Purification and characterization of glycine N-methyltransferase. *J Biol Chem*, 1973. 248(1): p. 69-72.
 53. Yeo, E.J., W.T. Briggs, and C. Wagner, Inhibition of glycine N-methyltransferase by 5-methyltetrahydrofolate pentaglutamate. *J Biol Chem*, 1999. 274(53): p. 37559-64.
 54. Liao, Y.J., et al., Characterization of a glycine N-methyltransferase gene knockout mouse model for hepatocellular carcinoma: Implications of the gender disparity in liver cancer susceptibility. *Int J Cancer*, 2009. 124(4): p. 816-26.
 55. Chen, Y.M., et al., Characterization of glycine-N-methyltransferase-gene expression in human hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 1998. 75(5): p. 787-93.
 56. Tseng, T.L., et al., Genotypic and phenotypic characterization of a putative tumor susceptibility gene, GNMT, in liver cancer. *Cancer Res*, 2003. 63(3): p. 647-54.
 57. Liang, C.R., et al., Proteome analysis of human hepatocellular carcinoma tissues by two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 2005. 5(8): p. 2258-71.
 58. Luka, Z., et al., A glycine N-methyltransferase knockout mouse model for humans with deficiency of this enzyme. *Transgenic Res*, 2006. 15(3): p. 393-7.
 59. Liu, S.P., et al., Glycine N-methyltransferase-/- mice develop chronic hepatitis and glycogen storage disease in the liver. *Hepatology*, 2007. 46(5): p. 1413-25.
 60. Martinez-Chantar, M.L., et al., Loss of the glycine N-methyltransferase gene leads to steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology*, 2008. 47(4): p. 1191-9.
 61. Chen, M., et al., Tumor suppressor gene glycine N-methyltransferase and its potential in liver disorders and hepatocellular carcinoma. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019. 378: p. 114607.
 62. Martinez-Lopez, N., et al., Hepatoma cells from mice deficient in glycine N-methyltransferase have increased RAS signaling and activation of liver kinase B1. *Gastroenterology*, 2012. 143(3): p. 787-798 e13.
 63. Chen, S.Y., et al., Glycine N-methyltransferase tumor susceptibility gene in the benzo(a)pyrene-detoxification pathway. *Cancer Res*, 2004. 64(10): p. 3617-23.

64. Yen, C.H., et al., Glycine N-methyltransferase affects the metabolism of aflatoxin B1 and blocks its carcinogenic effect. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009. 235(3): p. 296-304.
65. Simile, M.M., et al., Nuclear localization dictates hepatocarcinogenesis suppression by glycine N-methyltransferase. *Transl Oncol*, 2021. 15(1): p. 101239.
66. Li, C.H., et al., Characterization of the GNMT-HectH9-PREX2 tripartite relationship in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 2017. 140(10): p. 2284-2297.
67. Yang, M.H., et al., Somatic mutations of PREX2 gene in patients with hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 2019. 9(1): p. 2552.
68. Eudy, B.J., et al., Targeted and untargeted metabolomics provide insight into the consequences of glycine-N-methyltransferase deficiency including the novel finding of defective immune function. *Physiol Rep*, 2020. 8(18): p. e14576.

編號:2

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/9/30

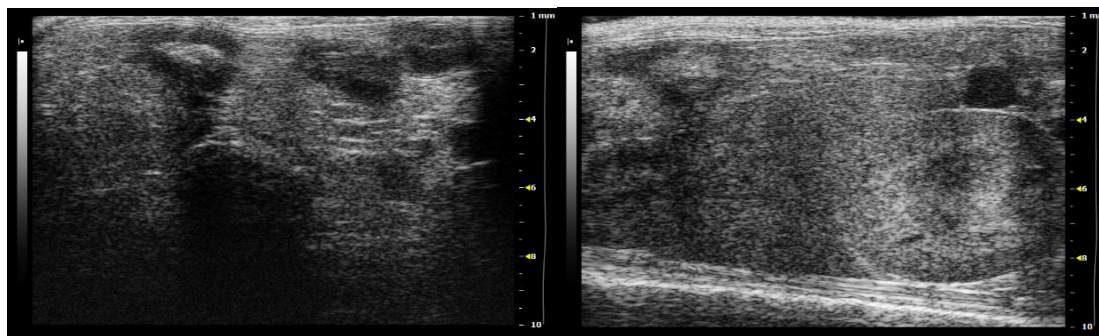
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

項目	單位	6M	8M	10M	12M
GPT	U/l	45	134	169	113
GOT	U/l	140	107	312	141
T-BIL	mg/dl	0.6	1.1	--	1.0
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	--	0.1
ALB	g/dl	2.4	2.9	4.2	3.1
AFP	ng/ml	6.56	2.55	3.49	5.51
AFP-L3	ng/ml	1.63	0.77	0.74	0.64
AFP-L3%		25%	30%	21%	12%
DCP	ng/ml	8.62	7.34	4.29	4.29

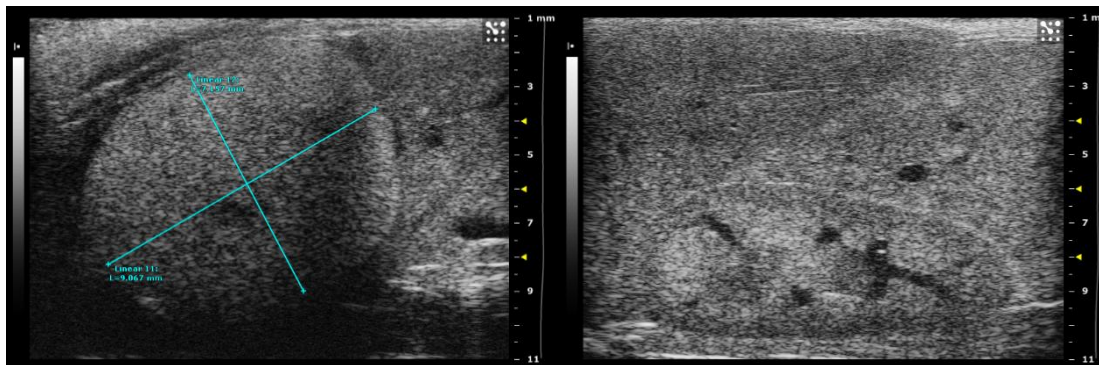
三、 超音波影像

11M



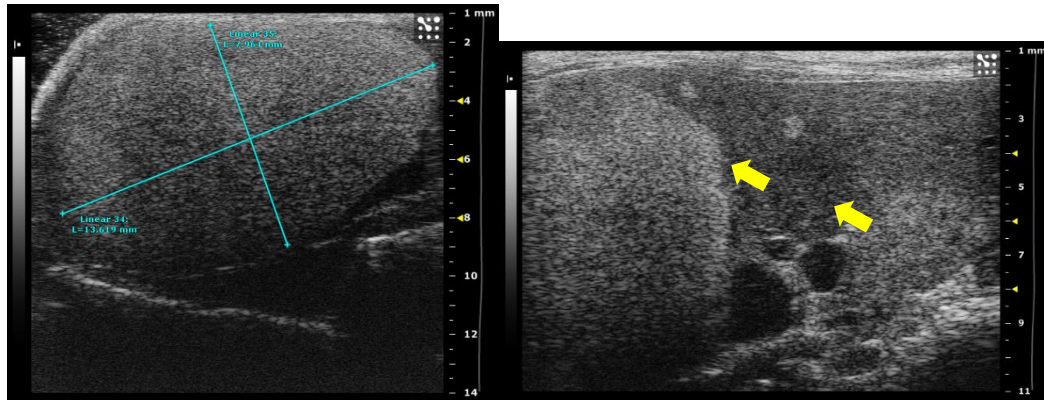
因腸子與糞便遮蔽無發現腫瘤，但肝臟的回聲已略接近腎臟，表示肝臟有中度脂肪肝甚至纖維化的現象。

12M



肝右葉 S7 有顆 0.9 cm 的高回聲腫塊，表面平滑且外圈邊緣有黑色模糊低回音，肝右葉下半部也有因纖維化而形成的邊界。

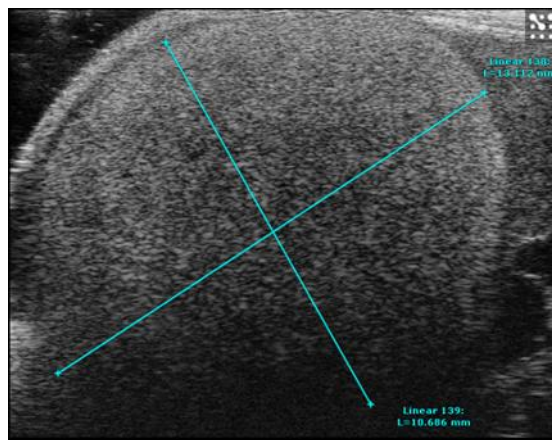
13M



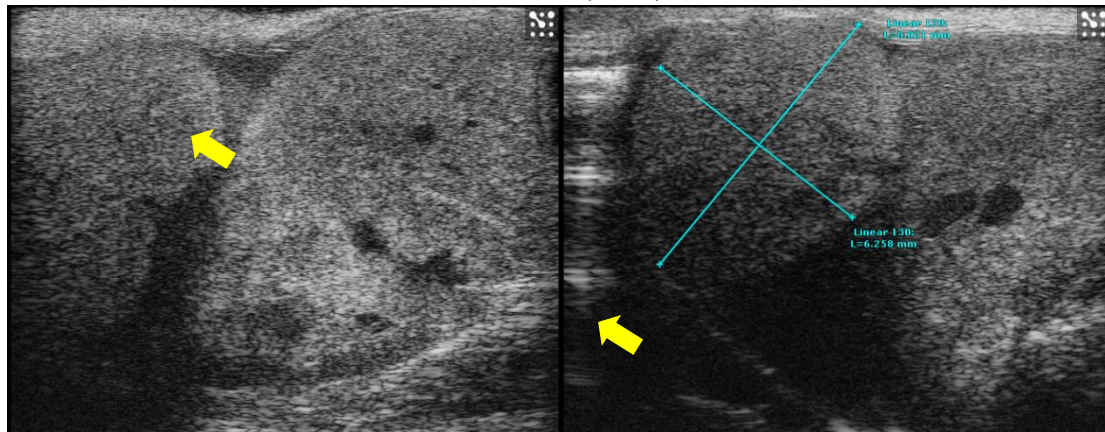
腫塊變大為 1.3 cm，並於於腫塊右側另外發現 2 顆高回聲腫塊(箭頭處)。

14M

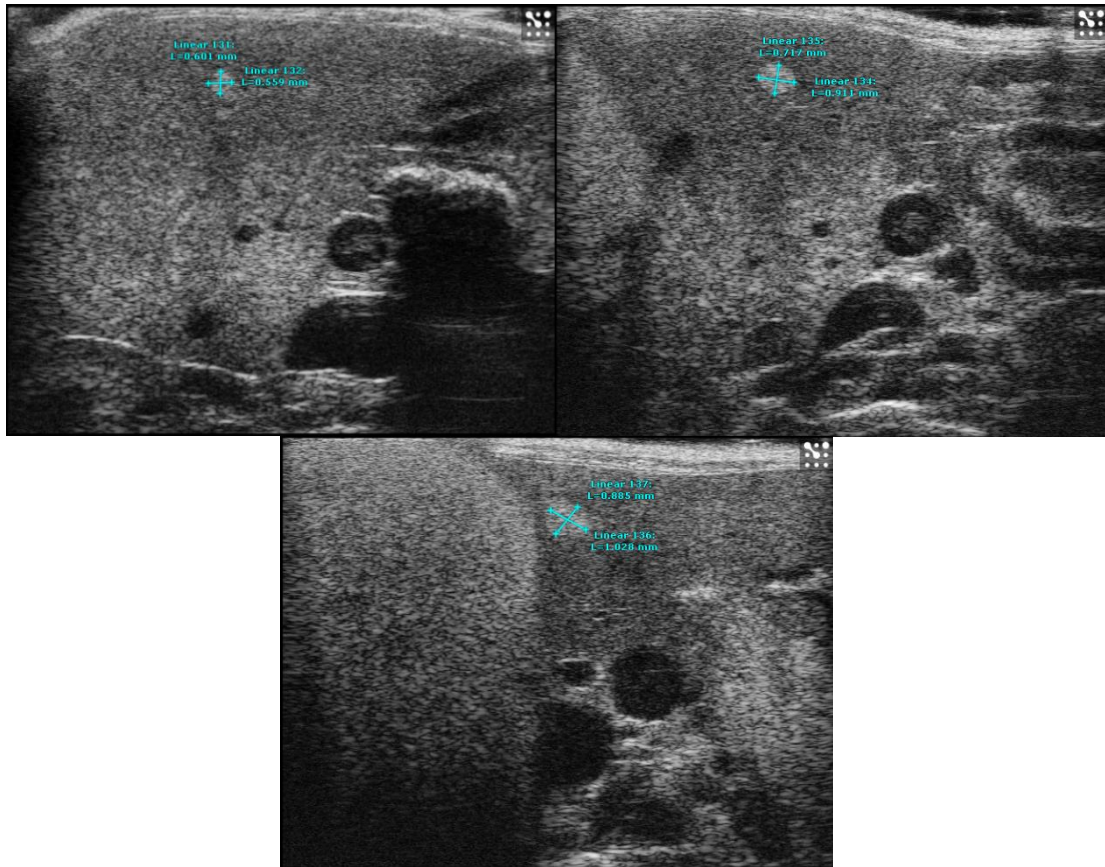
1. 腫塊變大為 1.0 cm * 1.3 cm。



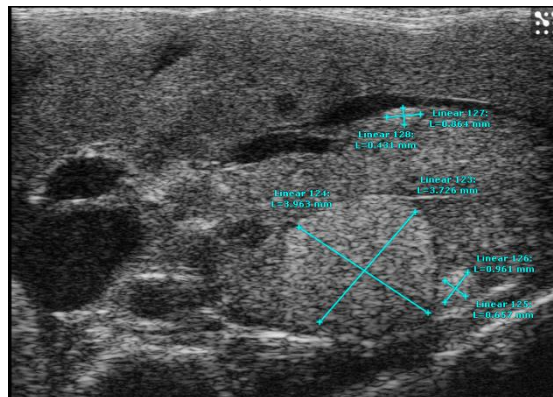
2. 於腫塊上方另外發現另 1 顆高回聲腫塊(箭頭)，大小為 0.8 cm。



3. 於腫塊右側另外發現 3 顆高回聲腫塊。



4. 在肝左葉發現 3 顆大小不一的高回聲腫塊



編號:3

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/9/30

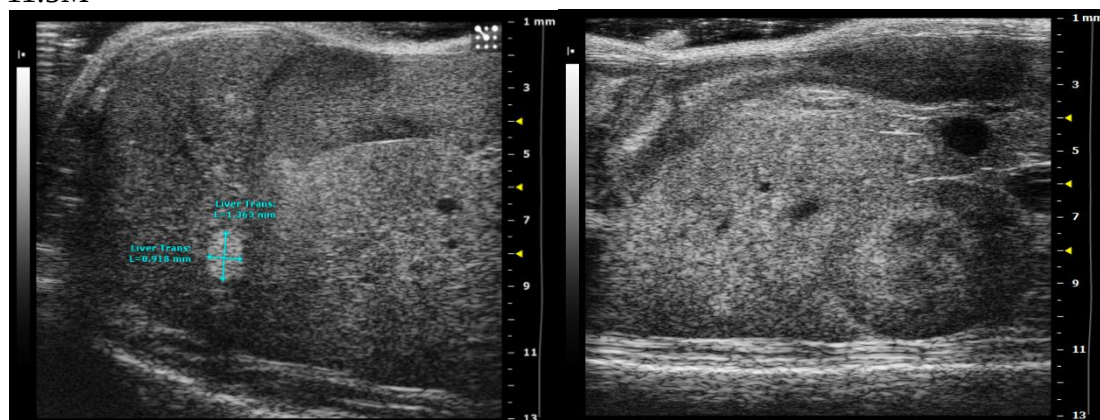
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

項目	單位	7M	9M	11M	12M
GPT	U/l	266	404	259	118
GOT	U/l	384	472	347	146
T-BIL	mg/dl	0.6	1.6	1.1	0.8
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	5.9	3.4	3.2	3.1
AFP	ng/ml	5.93	4.50	1.61	1.72
AFP-L3	ng/ml	1.52	1.18	1.05	0.32
AFP-L3%		26%	26%	65%	19%
DCP	ng/ml	3.90	9.94	4.77	2.09

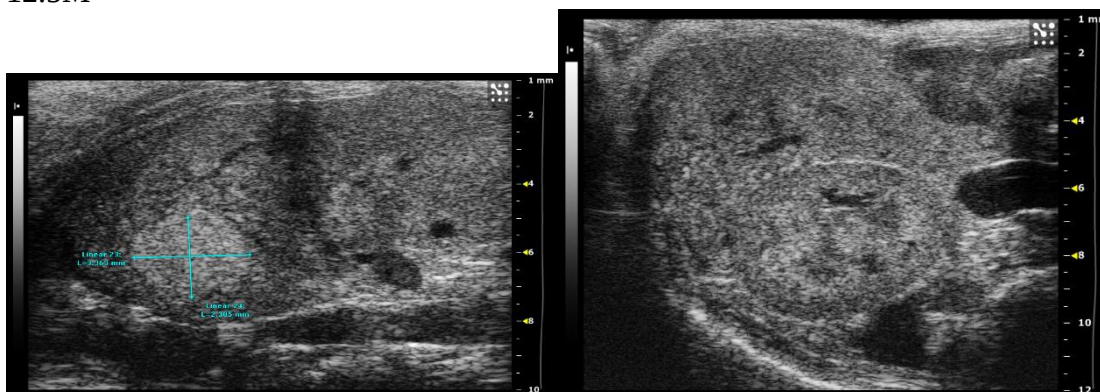
三、 超音波影像

11.5M



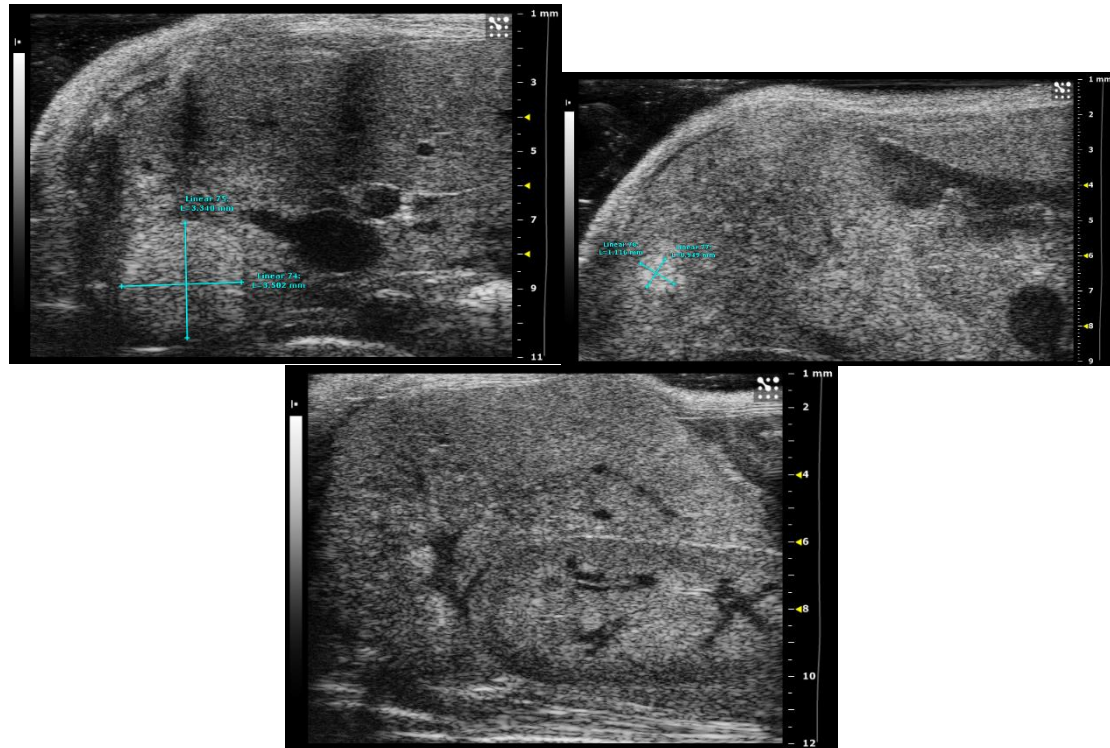
肝右葉 S6 有顆 0.13 cm 的高回聲腫塊，表面平滑且外圈邊緣有黑色模糊低回音，但後方有回音陰影不確定是鈣化或 HCC。

12.5M



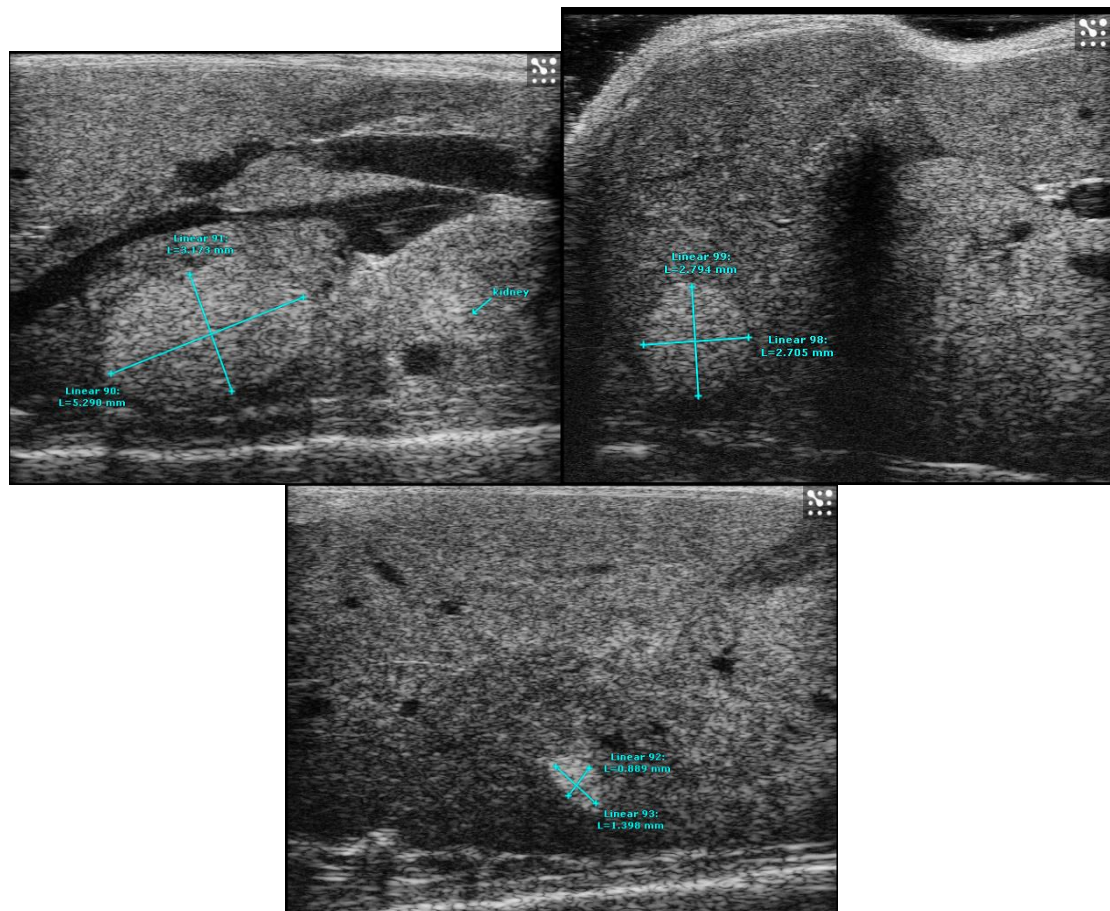
S6 腫塊變大為 0.33 cm。

13.5M



腫塊變大為 0.33 cm，且在肝右葉上半部 S7 發現另一顆 0.13 cm 的高回聲腫塊。

14M



S6 腫塊變大為 0.33 cm，肝右葉上半部 S7 腫塊變大為 0.27 cm，且在肝右葉下半部 S5 發現另一顆 0.13 cm 的高回聲腫塊。

編號:14

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/12/13

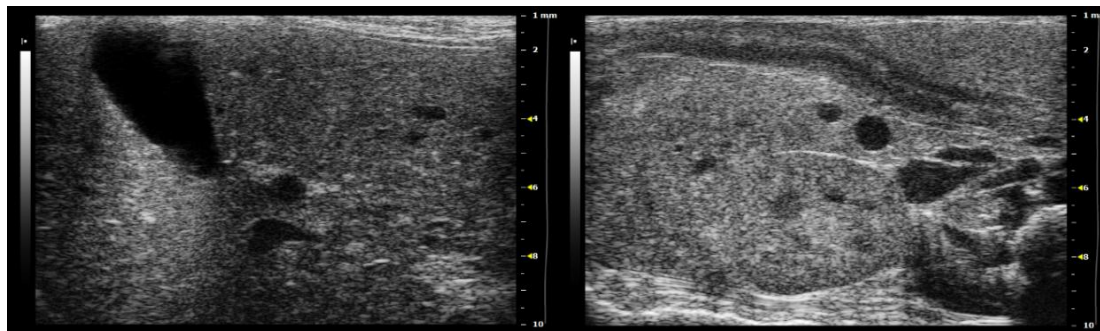
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

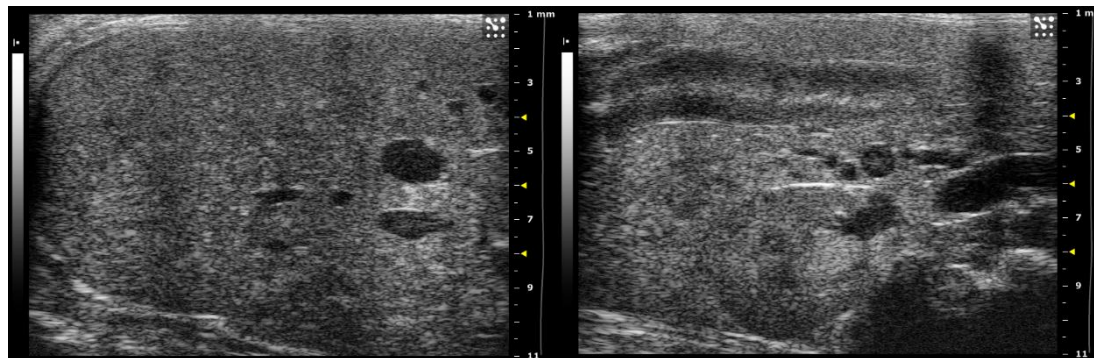
項目	單位	5M	7M	9M	11M
GPT	U/l	97	--	234	184
GOT	U/l	334	--	342	222
T-BIL	mg/dl	1.4	0.5	1.4	1.3
D-BIL	mg/dl	0.3	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	2.4	2.7	2.4	3.9
AFP	ng/ml	4.68	5.06	1.37	4.36
AFP-L3	ng/ml	3.00	2.33	0.94	0.91
AFP-L3%		64%	46%	69%	19%
DCP	ng/ml	7.39	8.07	4.48	8.22

三、 超音波影像

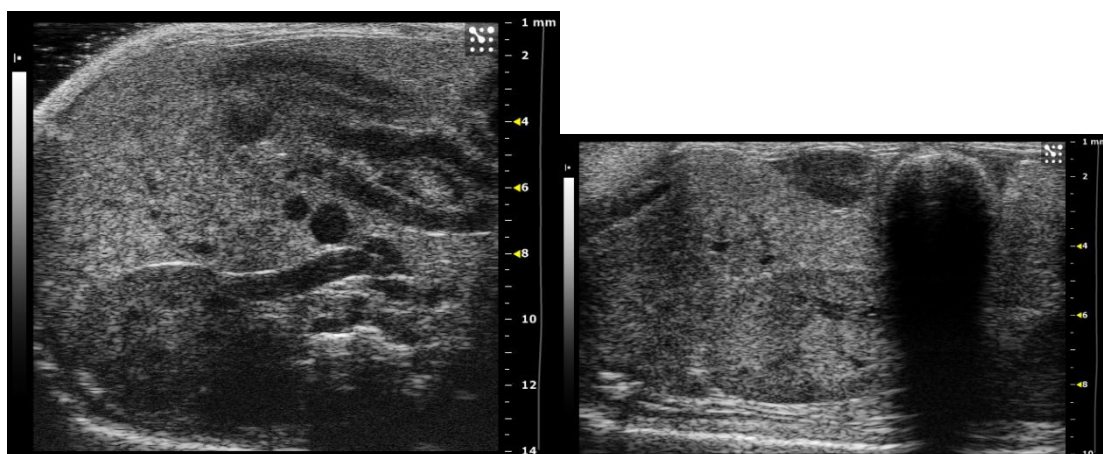
9M



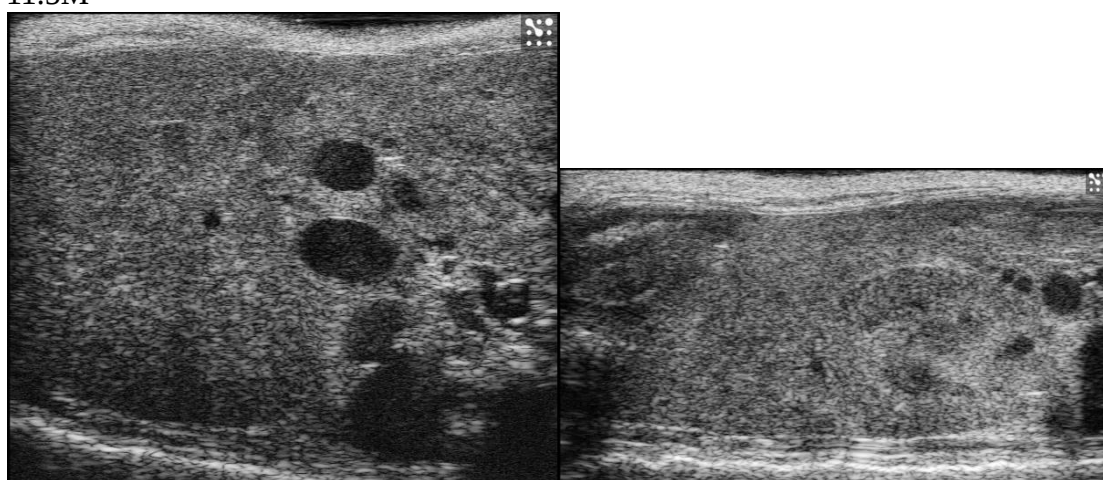
10M



11M



11.5M



結語:

脂肪肝嚴重程度逐漸提高，不排除發炎與纖維化，尚未發現腫瘤。

編號:15

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/12/16

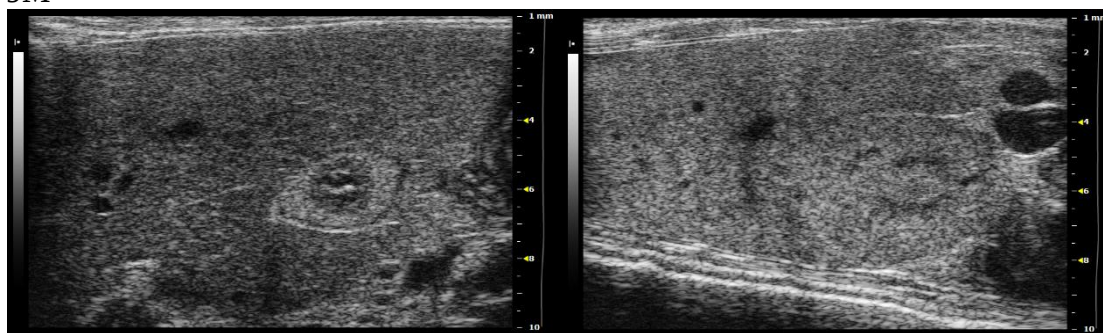
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

項目	單位	5M	7M	9M	11M
GPT	U/l	--	183	199	229
GOT	U/l	--	310	272	237
T-BIL	mg/dl	1.1	0.3	1.1	0.3
D-BIL	mg/dl	0.2	< 0.1	0.1	< 0.1
ALB	g/dl	2.9	4.6	1.9	2.7
AFP	ng/ml	7.38	3.46	1.29	5.24
AFP-L3	ng/ml	1.25	1.30	0.71	1.13
AFP-L3%		17%	38%	55%	19%
DCP	ng/ml	4.85	2.53	2.08	7.32

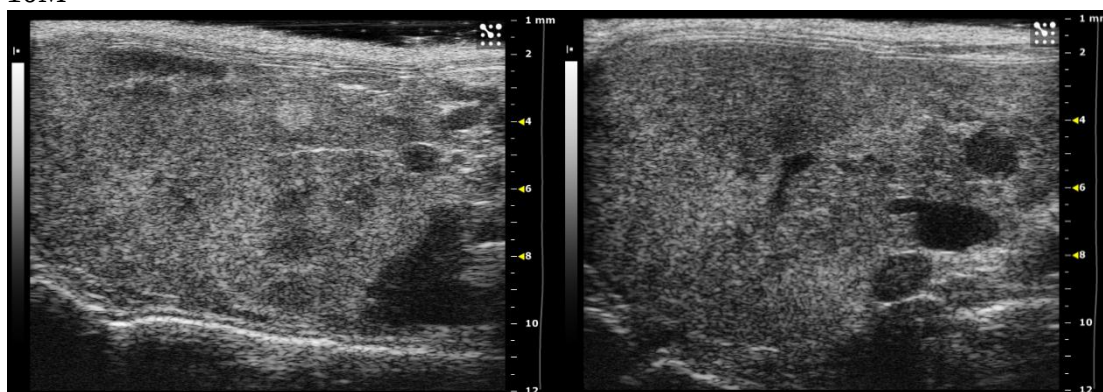
三、 超音波影像

9M



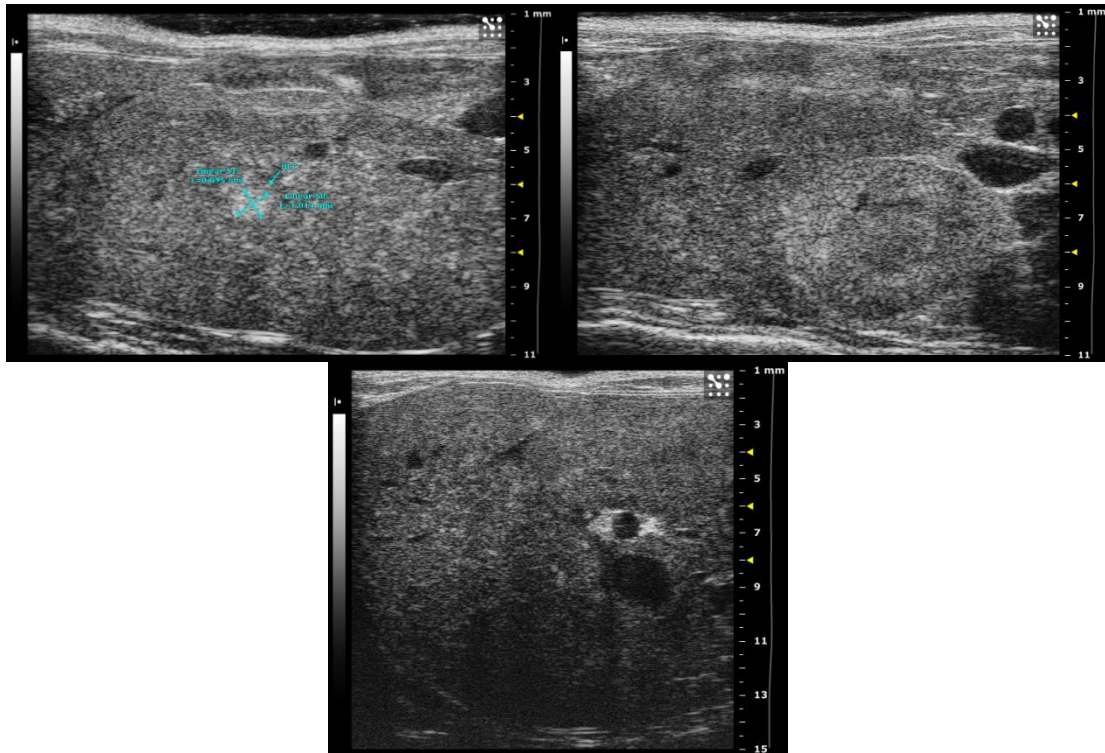
肝臟質地大致均勻但粗糙，回聲接近腎臟，有脂肪肝甚至纖維化，尚未發現腫瘤。

10M

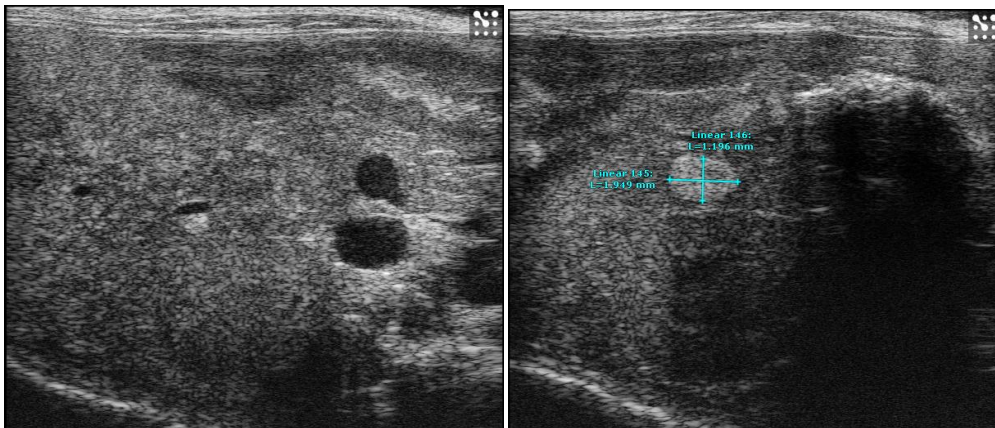


肝右葉 S5 有顆高回聲腫塊，但後方有回音陰影不確定是鈣化或 HCC。

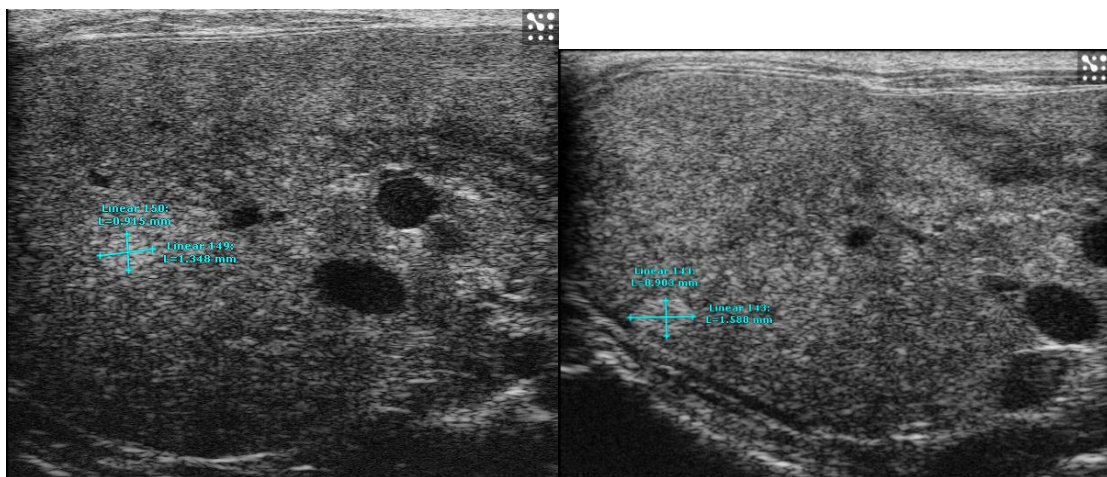
11M



肝右葉 S5 有顆 0.10 cm 的高回聲腫塊。
11.5M



肝右葉 S5 腫塊變大為 0.19 cm。



肝右葉 S7 發現兩顆大小分別為 0.13 cm、0.15 cm 的高回聲腫塊。

編號:18

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/12/16

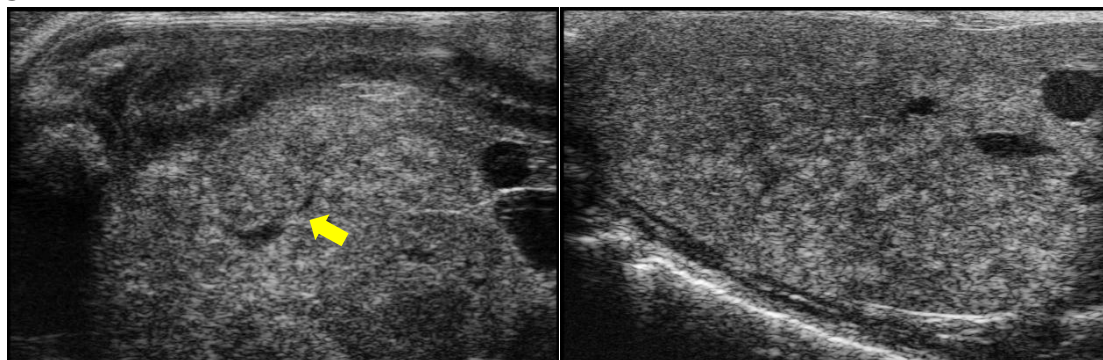
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

項目	單位	5M	7M	9M	11M
GPT	U/l	169	313	189	509
GOT	U/l	334	384	152	532
T-BIL	mg/dl	1.6	0.1	1.1	0.8
D-BIL	mg/dl	0.3	< 0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	2.9	3.6	3.9	3.2
AFP	ng/ml	4.98	7.51	3.14	3.82
AFP-L3	ng/ml	2.81	1.79	0.50	1.00
AFP-L3%		56%	24%	16%	22%
DCP	ng/ml	5.33	3.71	4.14	9.57

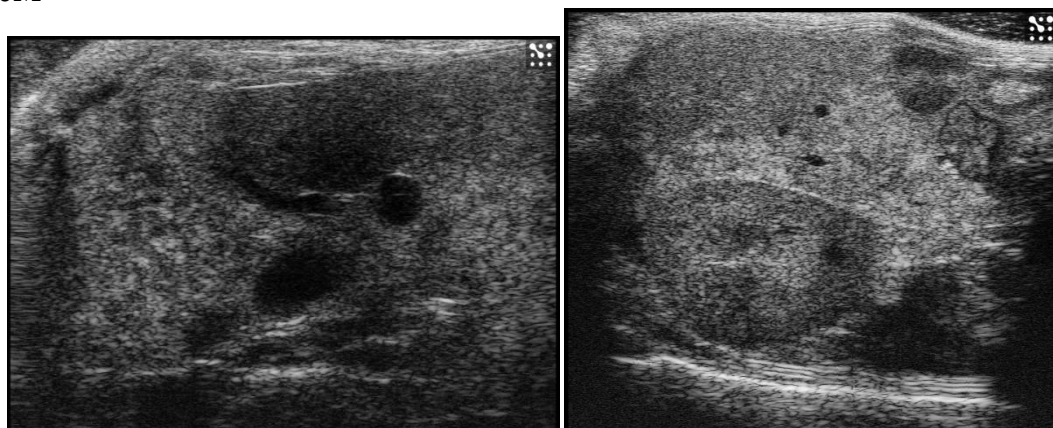
三、 超音波影像

9M



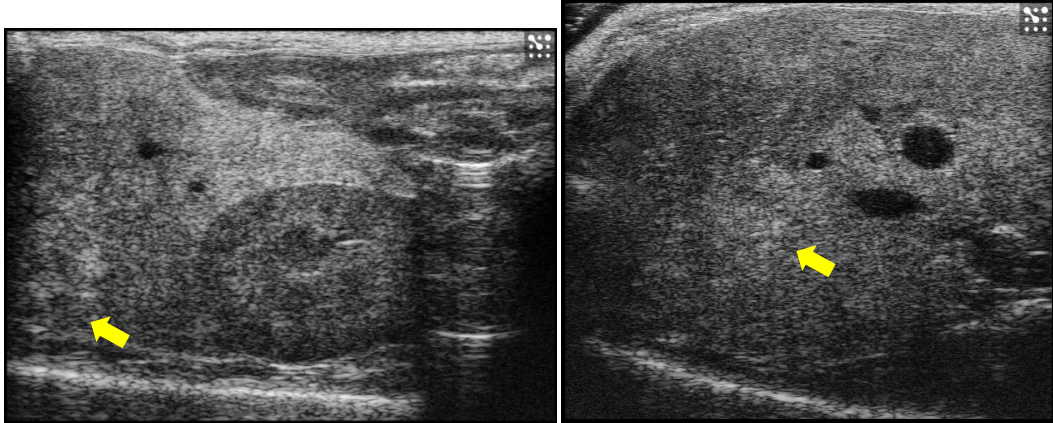
嚴重脂肪肝，箭頭處疑似為 HCC 但後續追蹤並未發現。

10M



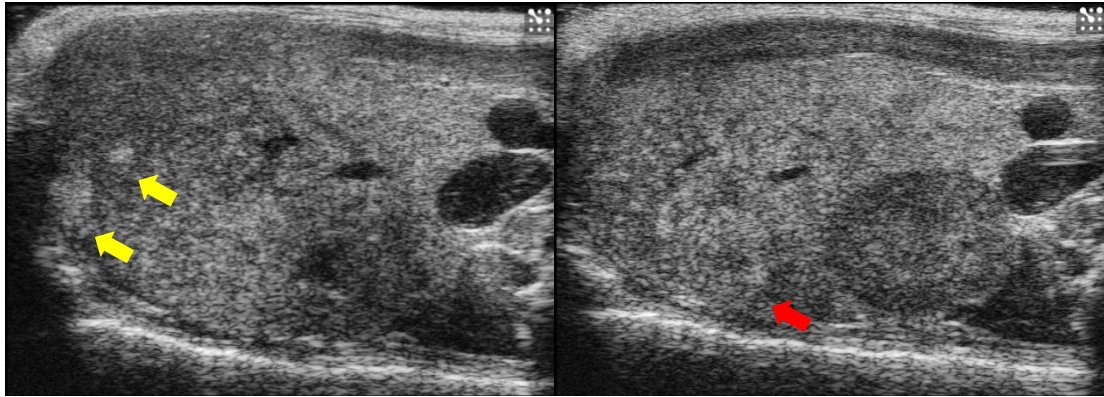
嚴重脂肪肝不排除發炎與纖維化，尚未發現腫瘤。

11M



嚴重脂肪肝不排除發炎與纖維化，箭頭處疑似為 HCC。

11.5M



肝右葉 S7 有兩顆剛形成的高回聲腫塊(黃箭頭)，肝右葉 S6 疑似為 HCC(紅箭頭)。

編號 21

一、 基本資料

基因型 Gnm1 KO

生日 2020/12/28

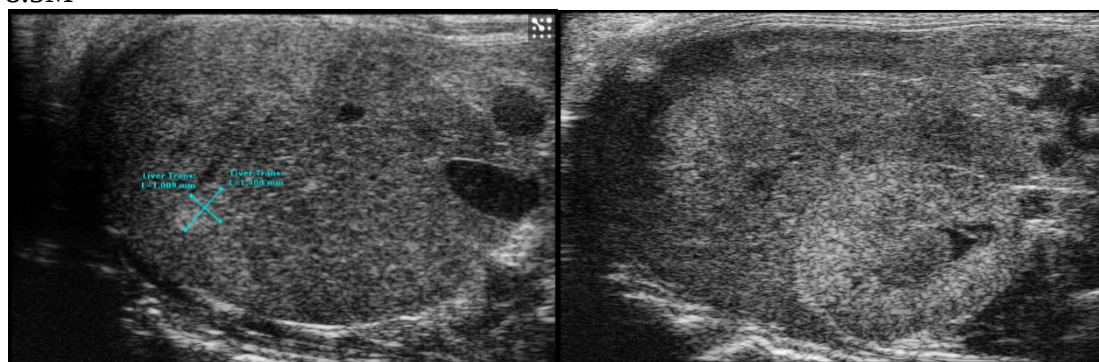
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

項目	單位	4M	6M	8M	10M
GPT	U/l	129	191	469	179
GOT	U/l	194	222	442	147
T-BIL	mg/dl	0.9	0.1	0.9	0.2
D-BIL	mg/dl	0.2	< 0.1	0.1	< 0.1
ALB	g/dl	2.3	1.8	2.2	2.9
AFP	ng/ml	4.16	3.12	4.59	6.19
AFP-L3	ng/ml	2.75	1.63	2.58	0.76
AFP-L3%		66%	52%	56%	5%
DCP	ng/ml	13.90	2.25	18.29	9.80

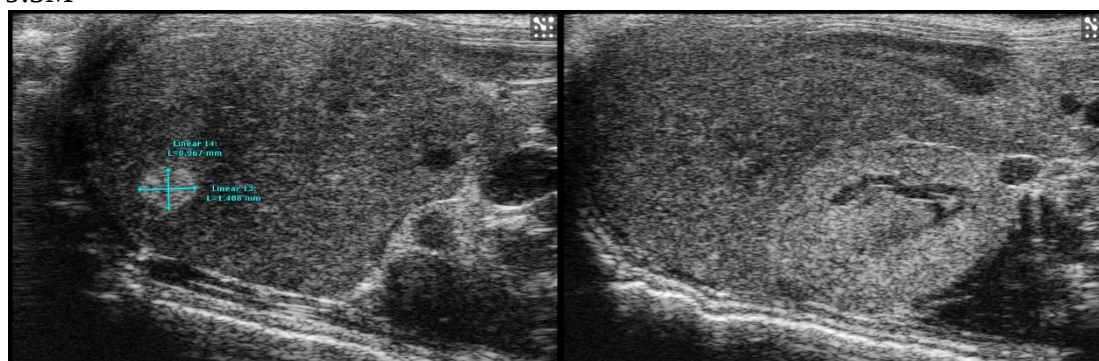
三、 超音波影像

8.5M



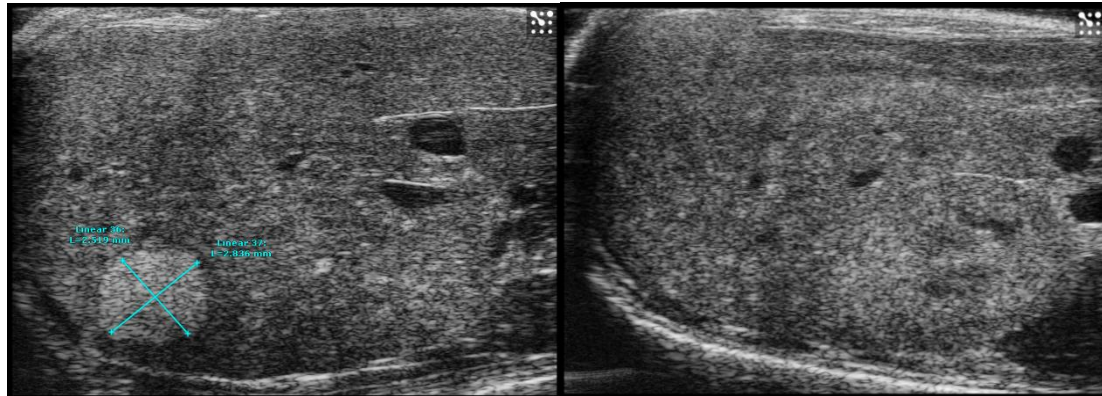
肝右葉 S7 有顆 0.14 cm 的高回聲腫塊，表面平滑且外圈邊緣有黑色模糊低回音，疑似為 HCC 需後續追蹤。

9.5M



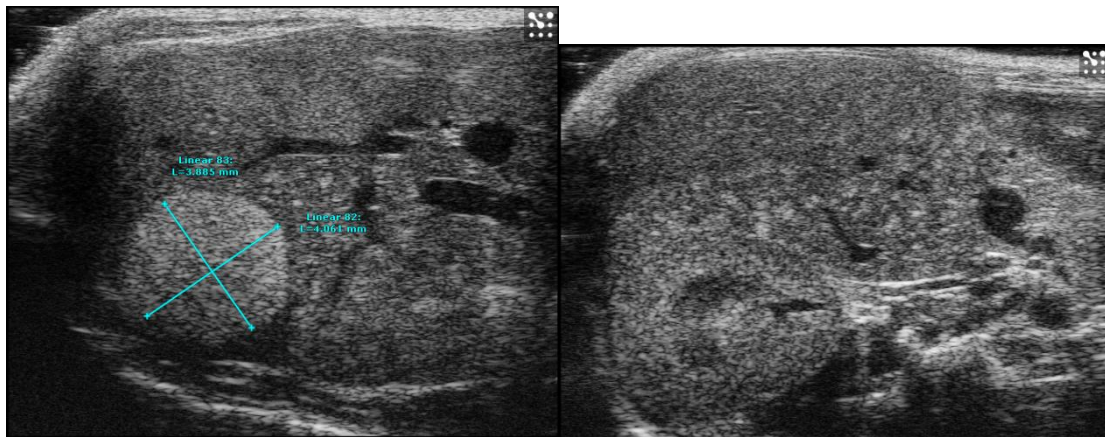
肝右葉 S7 腫塊大小與上個月接近。

10.5M



肝右葉 S7 腫塊變大為 0.28 cm。

11M



肝右葉 S7 腫塊變大為 0.40 cm。

編號:24

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/12/28

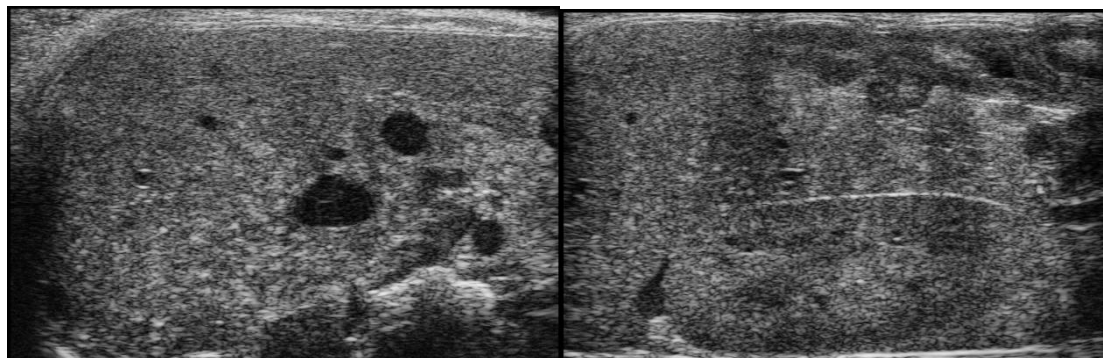
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

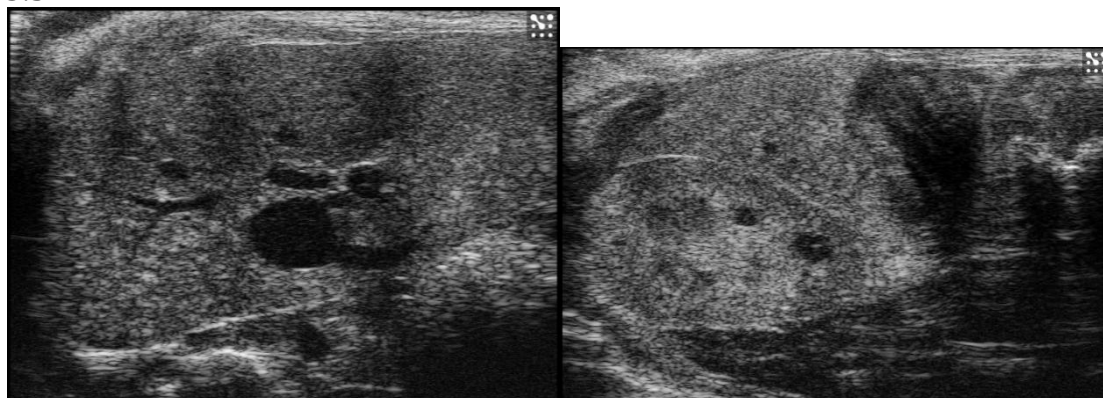
項目	單位	4M	6M	8M	10M
GPT	U/l	118	78	174	354
GOT	U/l	220	147	392	452
T-BIL	mg/dl	0.9	0.6	1.9	0.5
D-BIL	mg/dl	0.2	0.1	--	0.1
ALB	g/dl	2.1	4.1	3.6	3.9
AFP	ng/ml	4.93	4.16	2.47	6.36
AFP-L3	ng/ml	2.52	0.71	0.80	0.89
AFP-L3%		51%	17%	32%	7%
DCP	ng/ml	6.54	8.44	6.04	5.45

三、 超音波影像

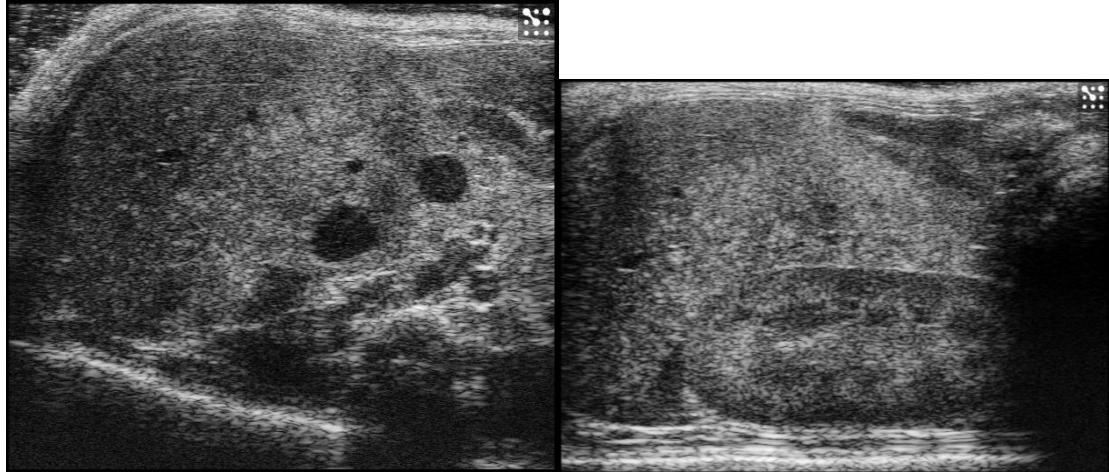
8.5M



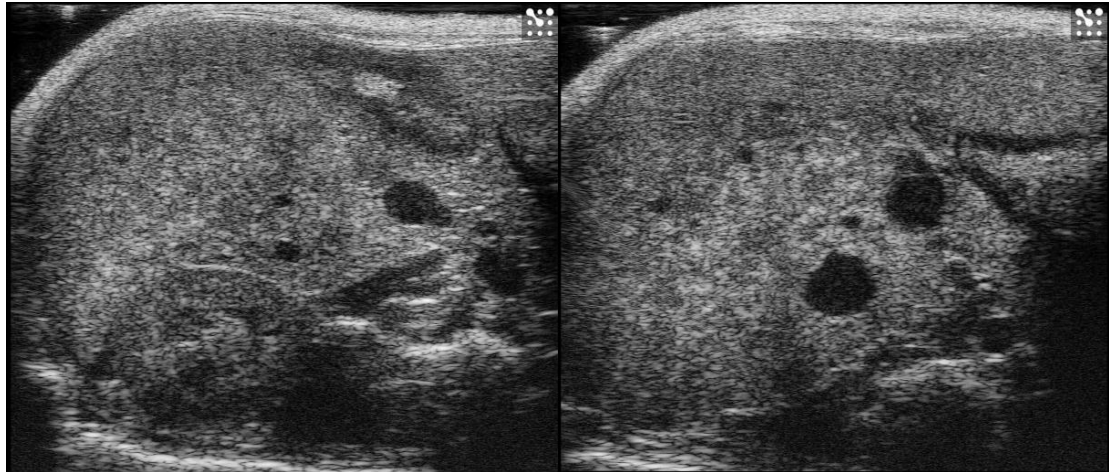
9.5M



10.5M



11M



結語:

脂肪肝嚴重程度逐漸提高，不排除發炎與纖維化，尚未發現腫瘤。

編號:25

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/12/28

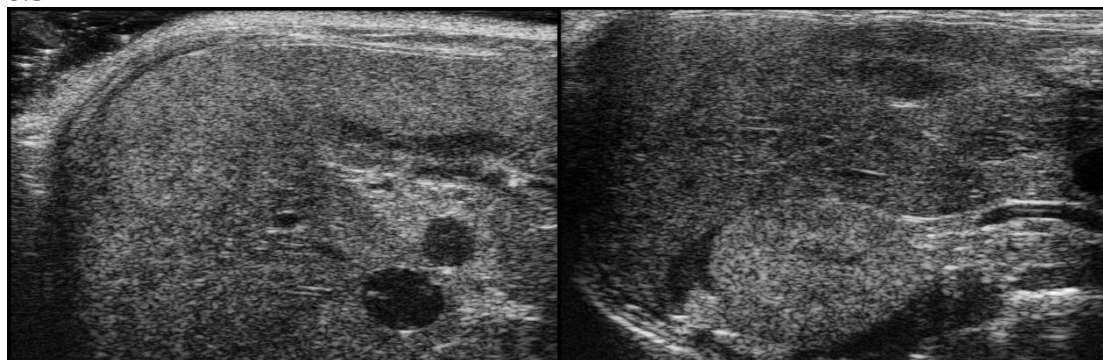
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

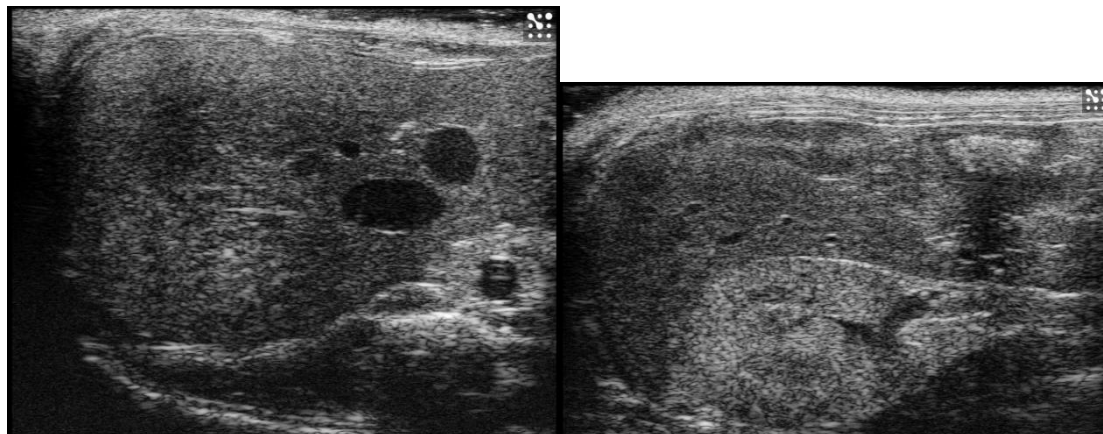
項目	單位	4M	6M	8M	10M
GPT	U/l	201	221	219	314
GOT	U/l	314	234	232	362
T-BIL	mg/dl	1.1	0.5	1.4	0.7
D-BIL	mg/dl	0.2	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	2.9	4.7	3.2	3.4
AFP	ng/ml	3.78	2.74	10.49	2.90
AFP-L3	ng/ml	1.39	2.31	0.22	0.86
AFP-L3%		37%	84%	2%	31%
DCP	ng/ml	5.99	3.77	13.94	13.52

三、 超音波影像

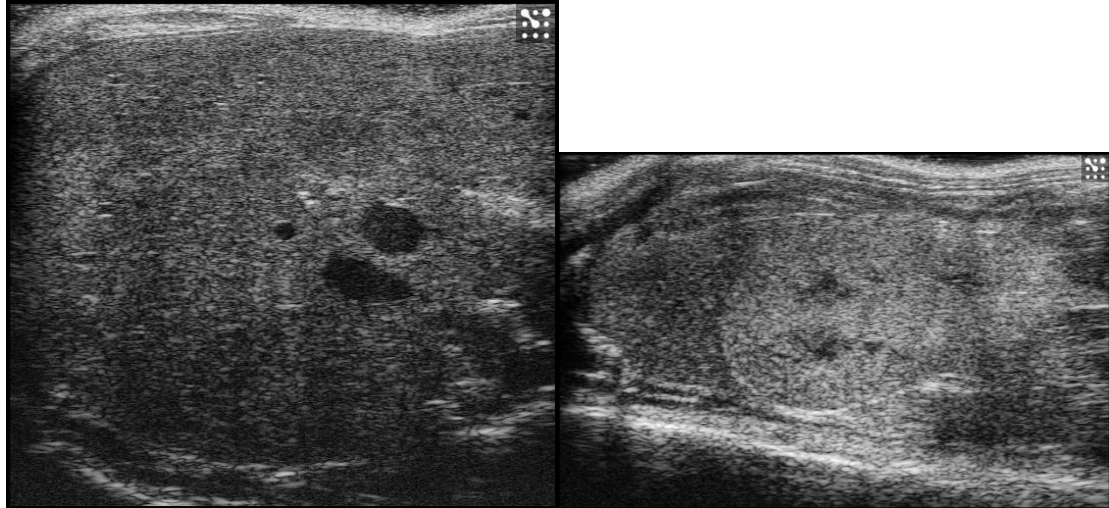
8.5M



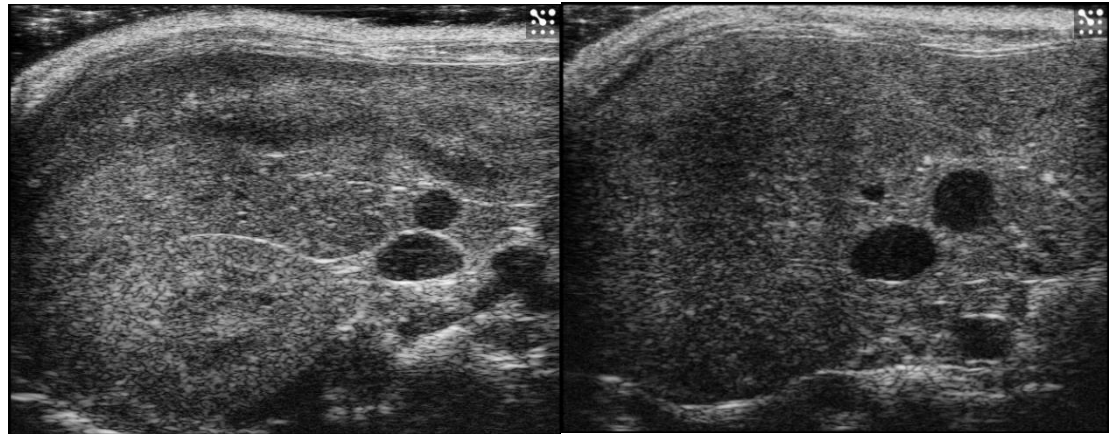
9.5M



10.5M



11M



結語:

脂肪肝嚴重程度逐漸提高，不排除發炎與纖維化，尚未發現腫瘤。

編號: 30

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日: 2021/1/15

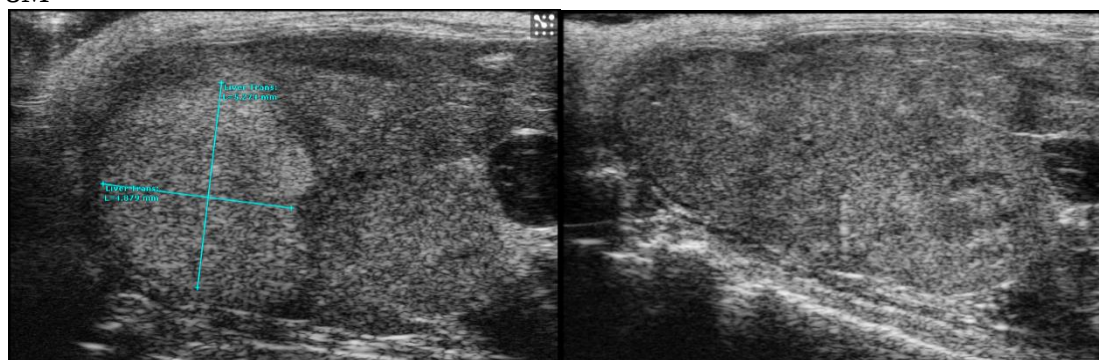
性別: 母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

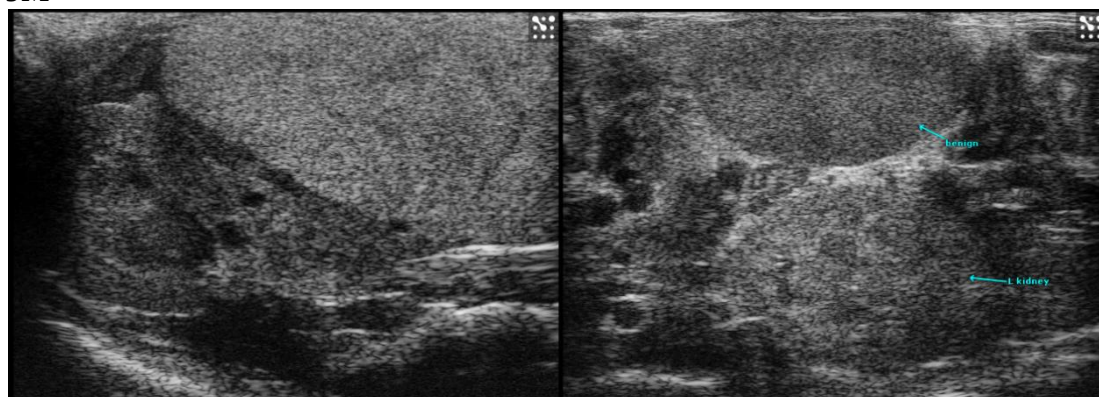
項目	單位	5M	9M	11M
GPT	U/l	189	453	1132
GOT	U/l	312	628	935
T-BIL	mg/dl	0.6	0.8	2.1
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	--
ALB	g/dl	2.8	2.8	3.5
AFP	ng/ml	6.51	3.56	3.95
AFP-L3	ng/ml	2.26	1.04	0.72
AFP-L3%		35%	5%	22%
DCP	ng/ml	7.49	8.96	7.86

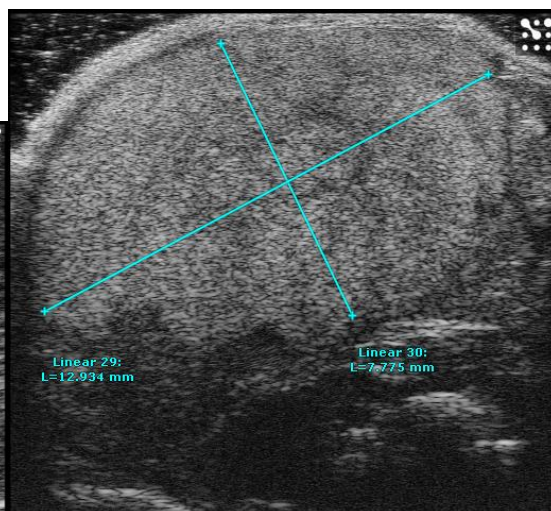
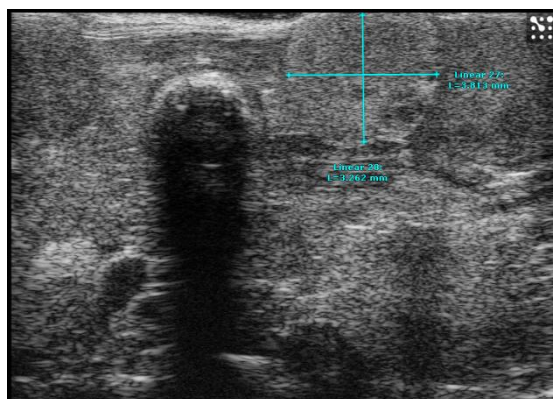
三、 超音波影像

8M

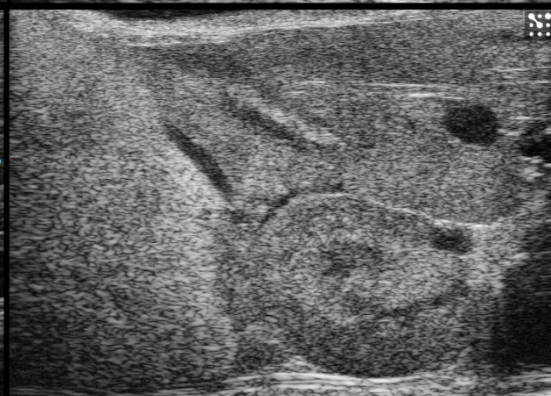
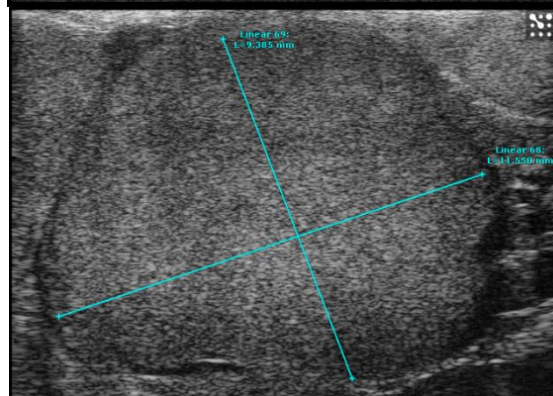
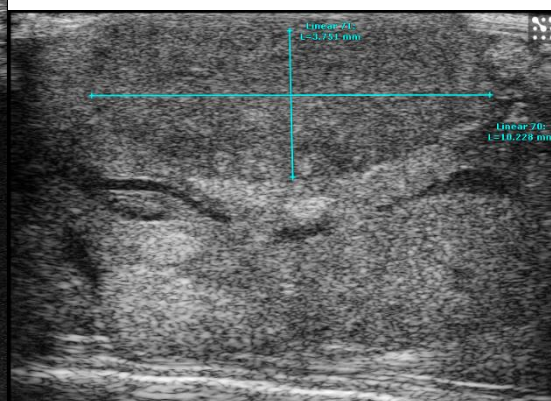
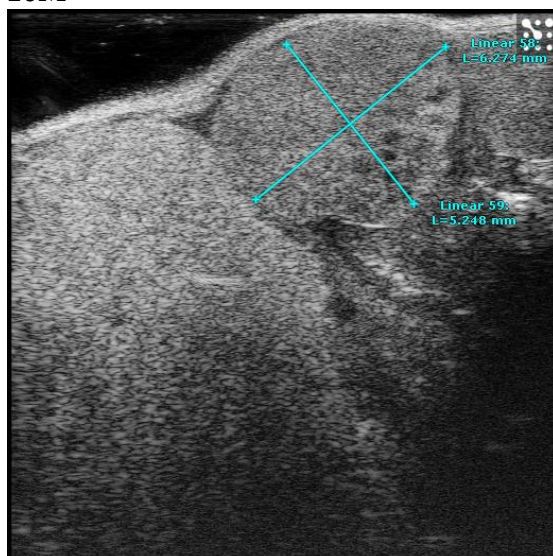


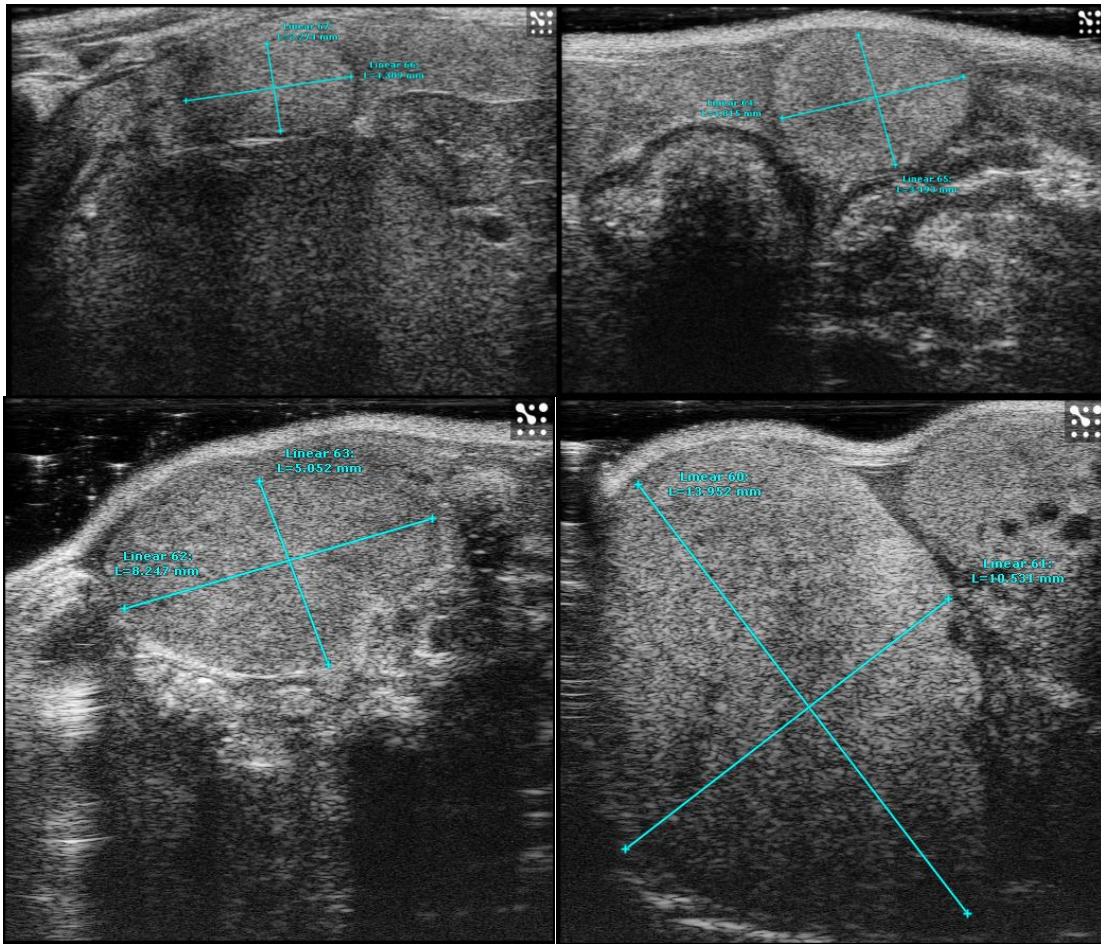
9M



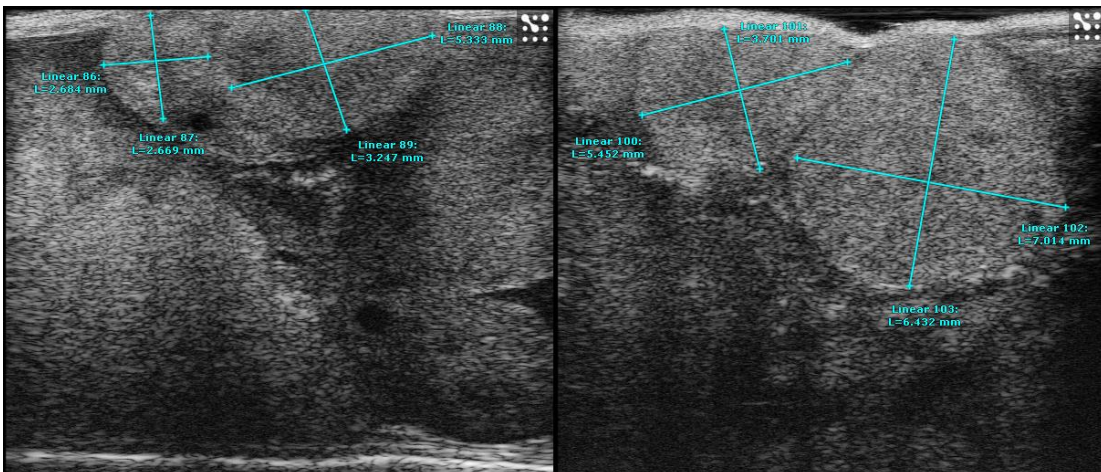


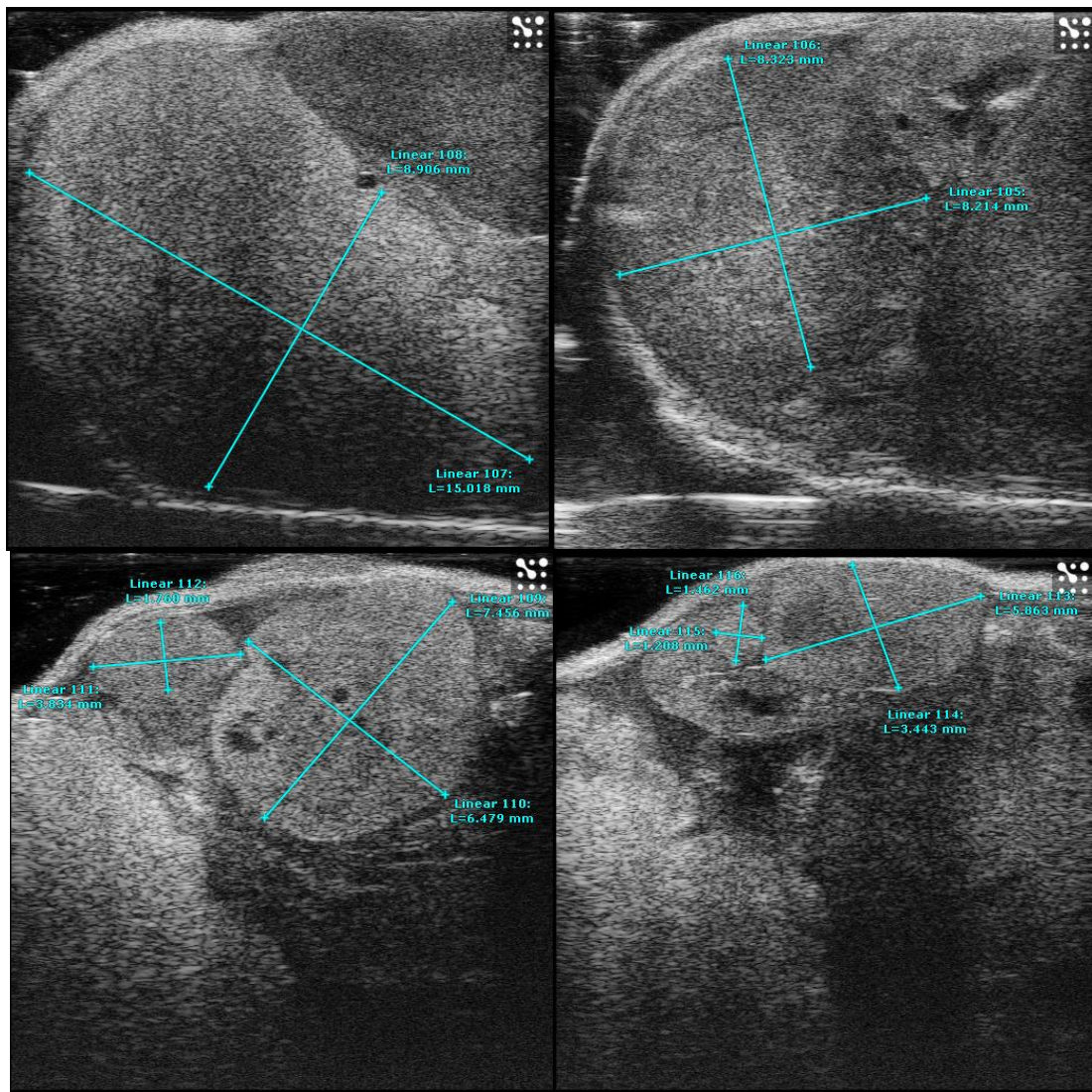
10M





10.5M





結語:
肝臟瀰漫多顆大型腫瘤。

編號:41

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2021/2/1

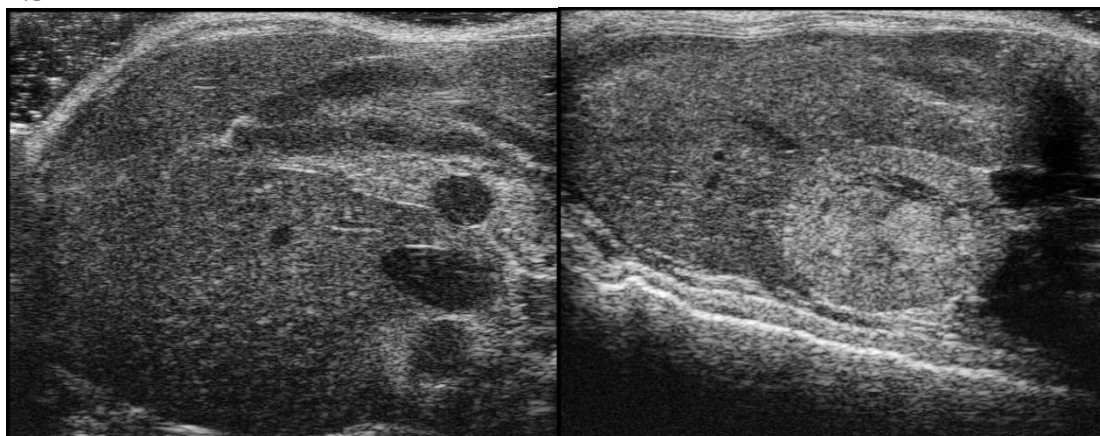
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

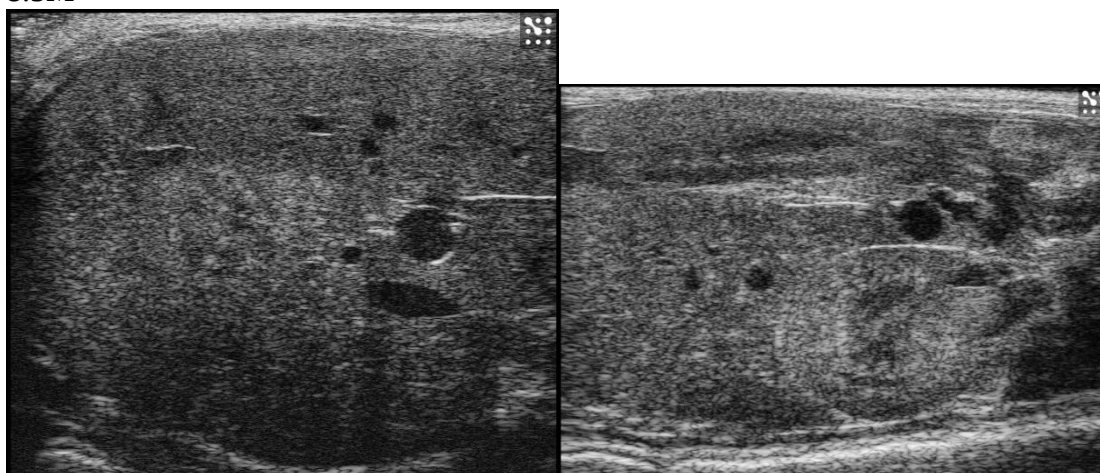
項目	單位	7M	8M	9M	10M
GPT	U/l	204	143	219	142
GOT	U/l	382	176	277	320
T-BIL	mg/dl	1.4	1.0	0.4	0.9
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	3.2	2.4	2.9	3.1
AFP	ng/ml	3.56	2.30	7.78	4.68
AFP-L3	ng/ml	1.46	0.10	1.03	0.54
AFP-L3%		41%	4%	11%	20%
DCP	ng/ml	9.59	2.44	8.45	7.72

三、 超音波影像

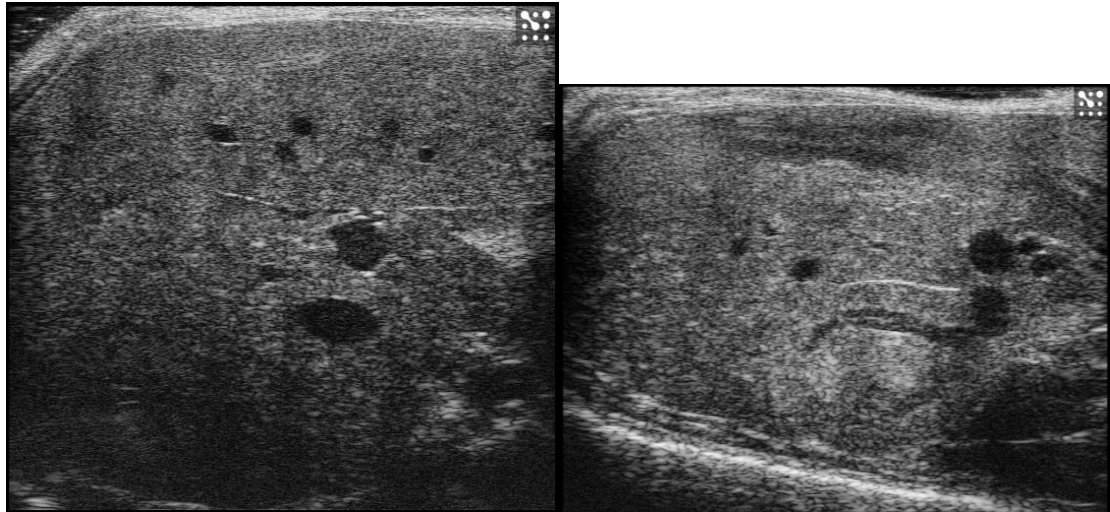
7.5M



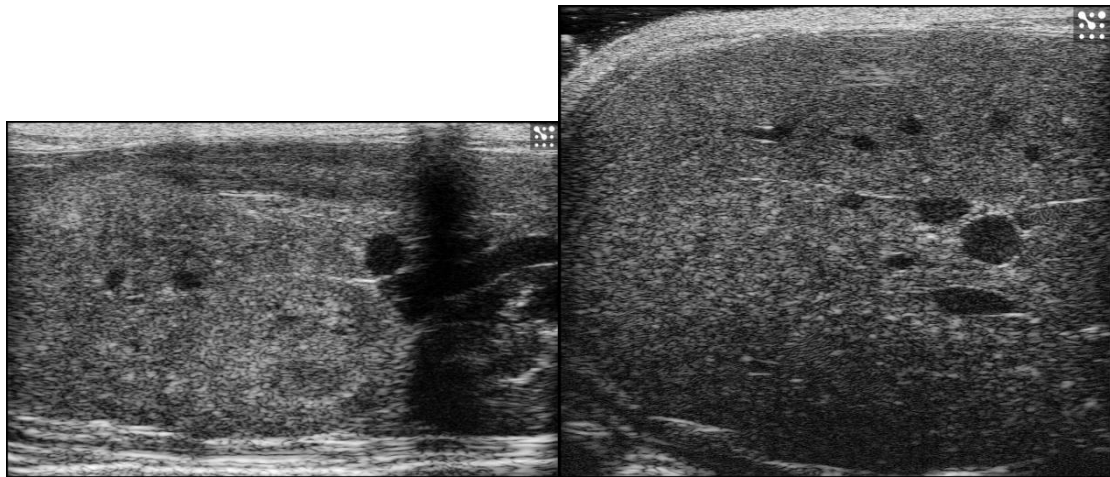
8.5M



9.5M



10M



結語:

脂肪肝嚴重程度逐漸提高，不排除發炎與纖維化，尚未發現腫瘤

編號:54

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/3/2

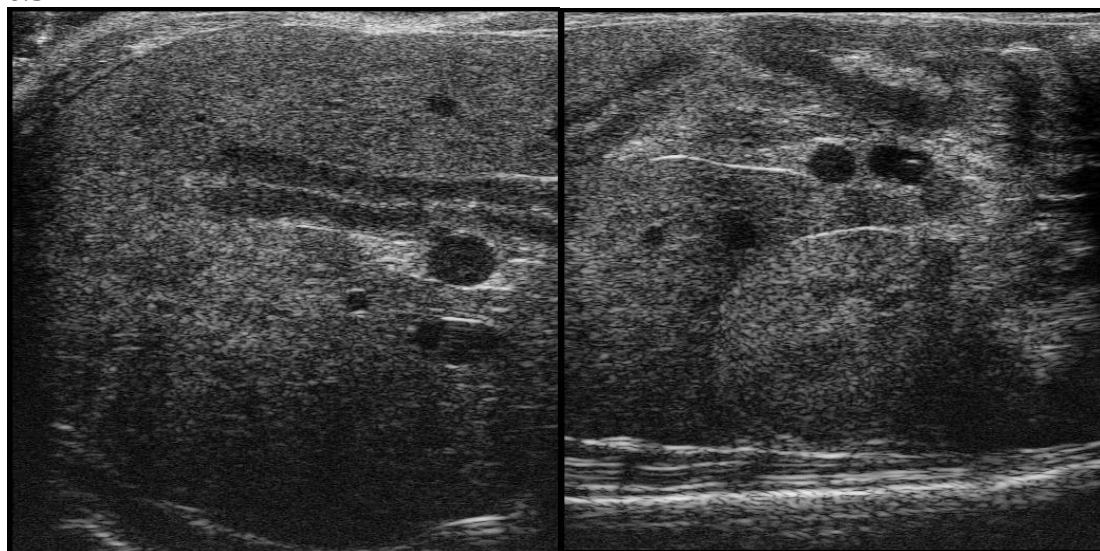
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

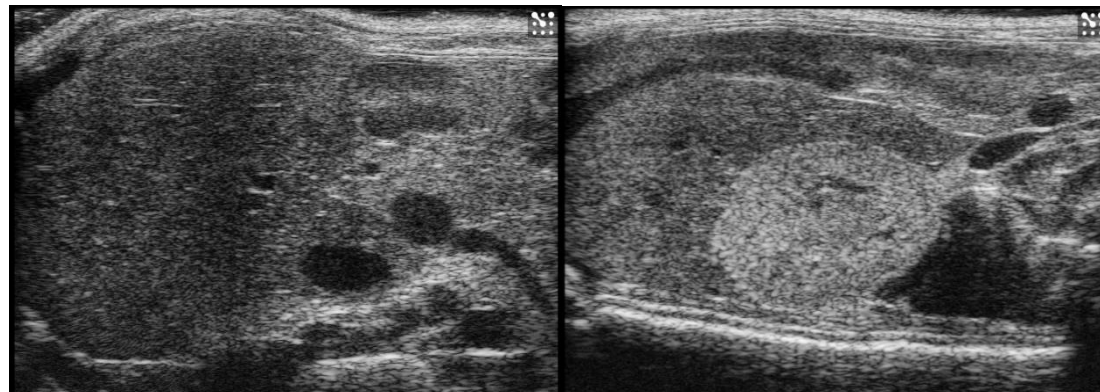
項目	單位	6M	7M	8M	9M
GPT	U/l	194	133	109	82
GOT	U/l	247	201	187	140
T-BIL	mg/dl	0.8	0.8	0.4	0.9
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	< 0.1	< 0.1
ALB	g/dl	1.7	2.6	2.9	2.5
AFP	ng/ml	2.25	3.38	4.79	4.79
AFP-L3	ng/ml	0.36	0.74	0.86	1.55
AFP-L3%		16%	22%	16%	15%
DCP	ng/ml	7.94	10.54	15.34	7.76

三、 超音波影像

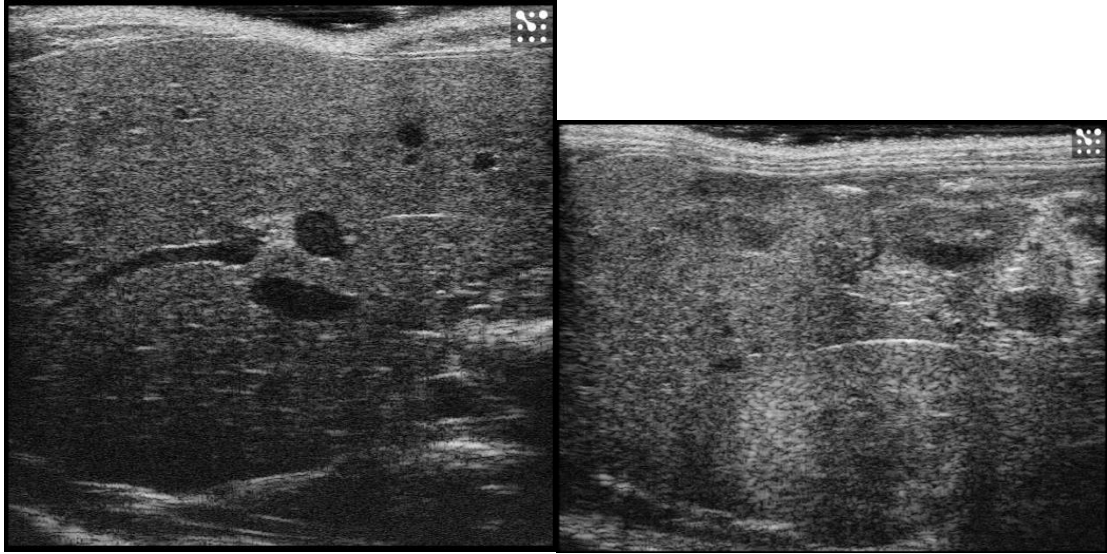
6.5M



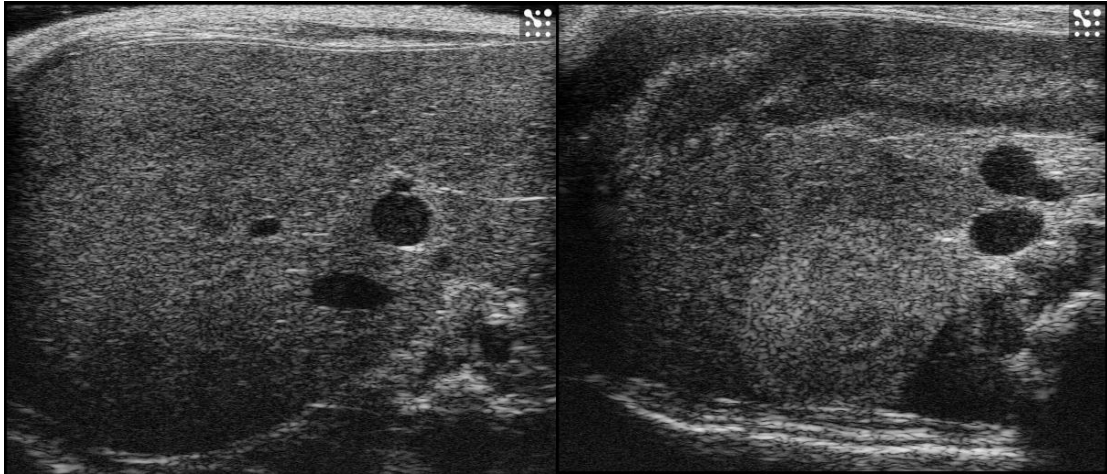
7.5M



8.5M



9M



結語:

肝臟回音大致均勻，輕度脂肪肝，尚未發現腫瘤。

編號:81

一、 基本資料

基因型:Gnmt KO

生日:2020/4/11

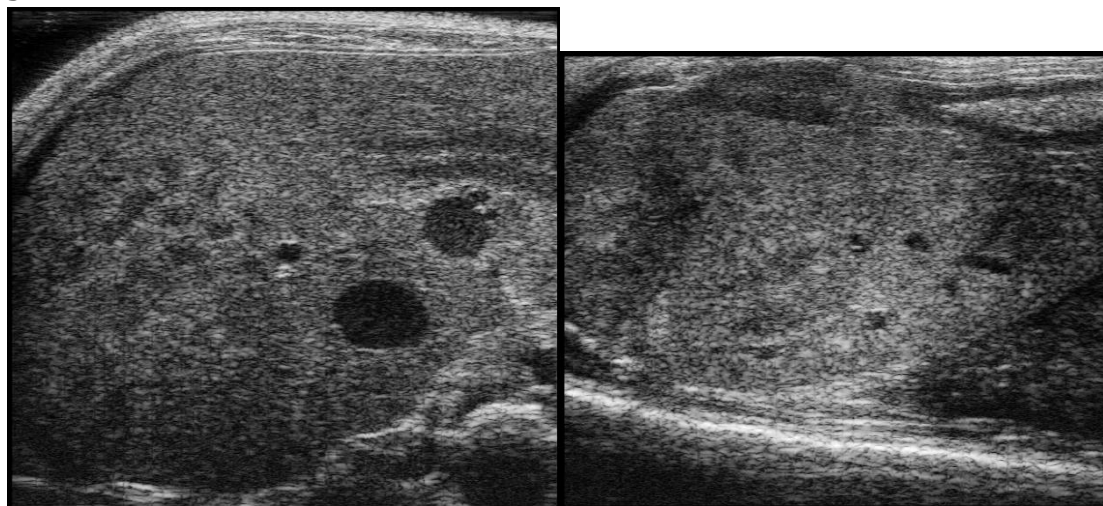
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

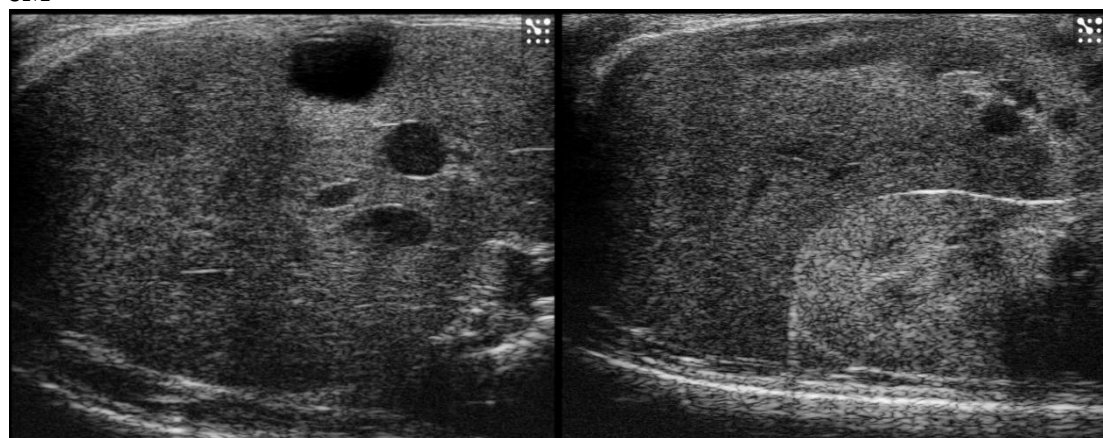
項目	單位	5M	6M	7M	8M
GPT	U/l	159	173	154	127
GOT	U/l	162	141	272	120
T-BIL	mg/dl	1.3	0.7	0.2	0.4
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	2.6	2.9	3.2	2.5
AFP	ng/ml	4.01	3.70	4.82	5.13
AFP-L3	ng/ml	2.97	0.82	0.17	0.56
AFP-L3%		74%	22%	22%	19%
DCP	ng/ml	13.24	4.59	11.22	3.53

三、 超音波影像

5M



6M



7M



7.5M



結語:

肝臟回音大致均勻，輕度脂肪肝，尚未發現腫瘤。

編號:16

一、 基本資料

基因型:WT

生日:2020/12/16

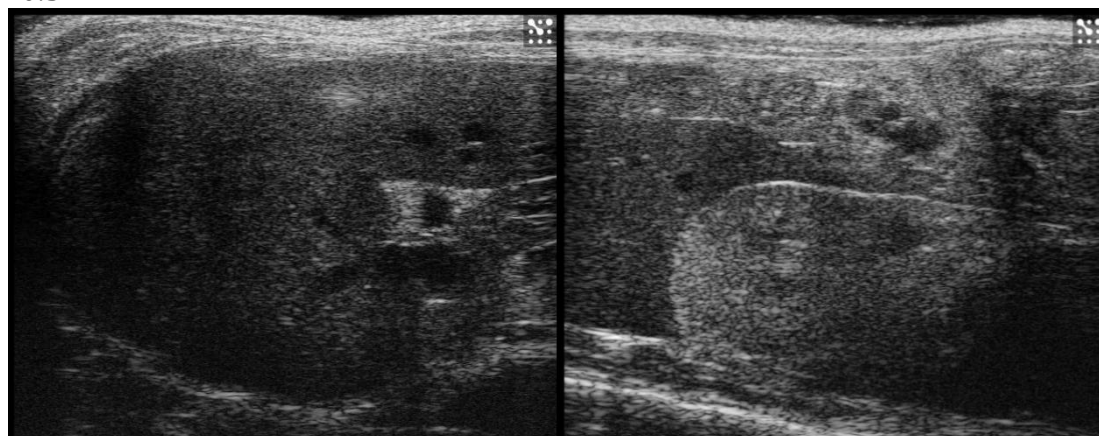
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

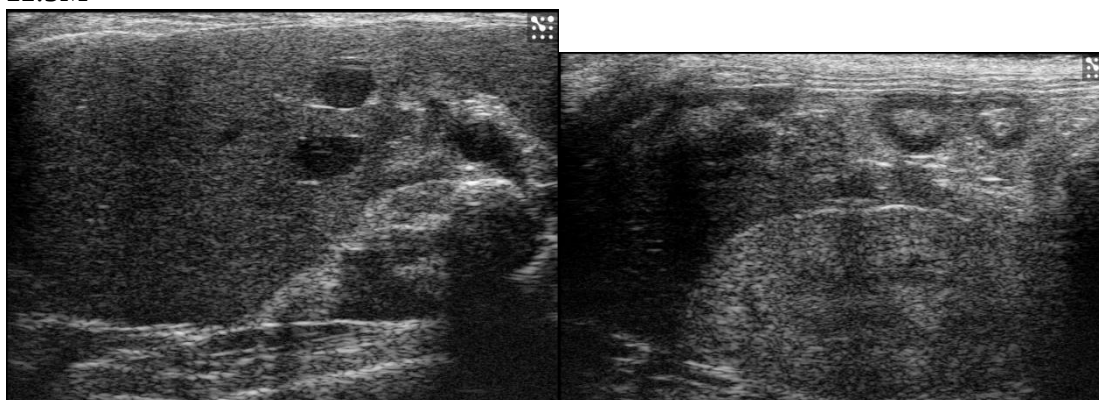
項目	單位	4M	6M	8M	10M
GPT	U/l	28	28	14	23
GOT	U/l	78	79	57	88
T-BIL	mg/dl	0.3	0.5	1.4	0.8
D-BIL	mg/dl	< 0.1	0.1	< 0.1	0.1
ALB	g/dl	3.9	3.1	2.7	2.8
AFP	ng/ml	3.31	3.34	4.88	3.95
AFP-L3	ng/ml	1.30	1.22	2.84	0.94
AFP-L3%		39%	37%	58%	14%
DCP	ng/ml	5.41	0.05	5.44	4.47

三、 超音波影像

10.5M



11.5M



結語:

肝臟組織大致呈現回音均勻，並未發現腫瘤。

編號:28

一、 基本資料

基因型:WT

生日:2021/1/15

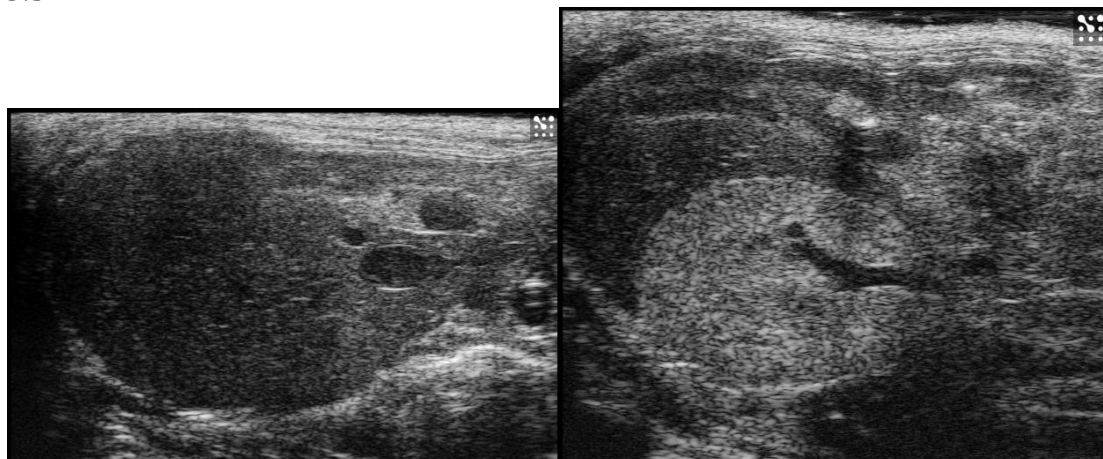
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

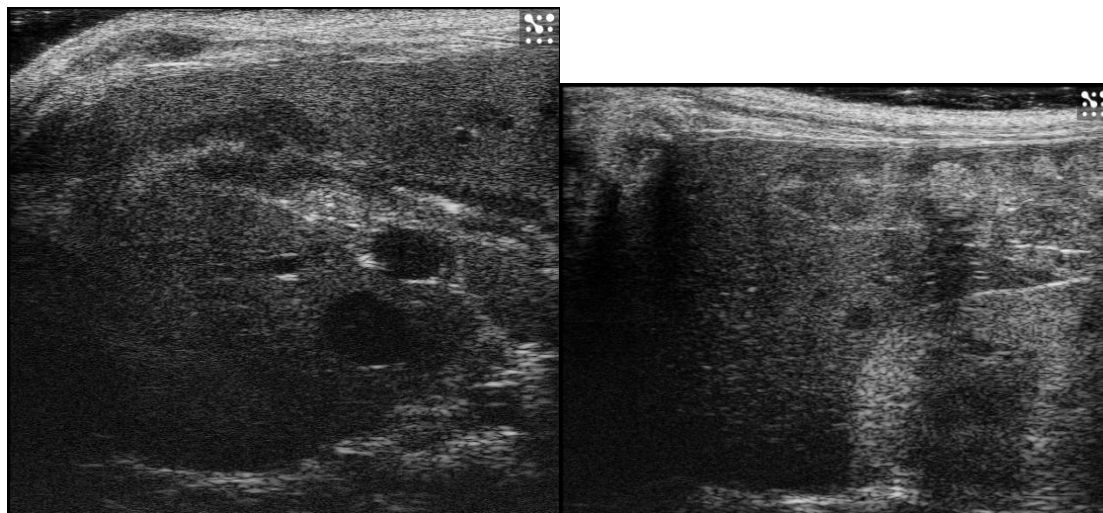
項目	單位	5M	7M	9M	11M
GPT	U/l	28	24	38	27
GOT	U/l	64	22	133	80
T-BIL	mg/dl	0.1	1.3	0.8	1.4
D-BIL	mg/dl	< 0.1	< 0.1	0.1	< 0.1
ALB	g/dl	3.6	3.7	3.5	2.8
AFP	ng/ml	3.25	4.05	4.84	4.19
AFP-L3	ng/ml	1.59	0.25	0.88	0.79
AFP-L3%		49%	6%	12%	19%
DCP	ng/ml	8.36	4.07	11.95	2.71

三、 超音波影像

9.5M



10.5M



結語:

肝臟組織大致呈現回音均勻，並未發現腫瘤。

編號:32

一、 基本資料

基因型:WT

生日:2021/1/15

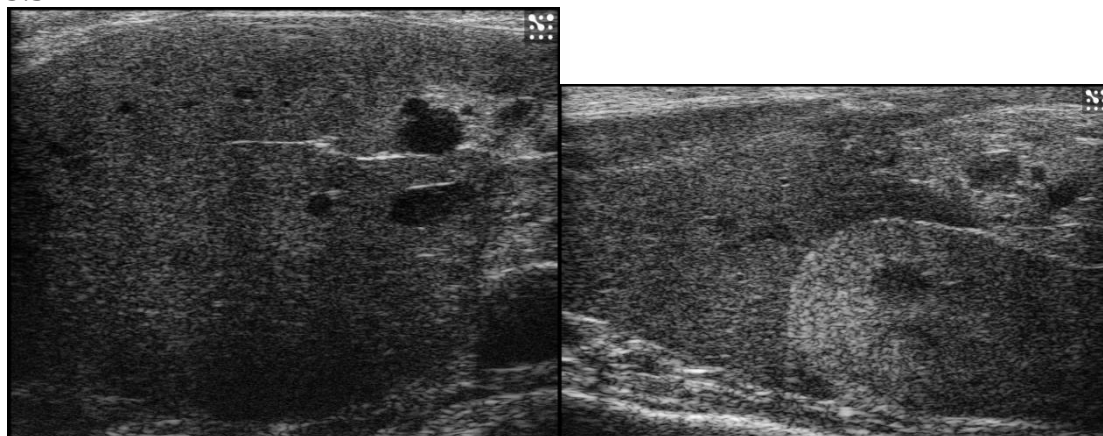
性別:公

二、 肝功能指數與肝癌標誌

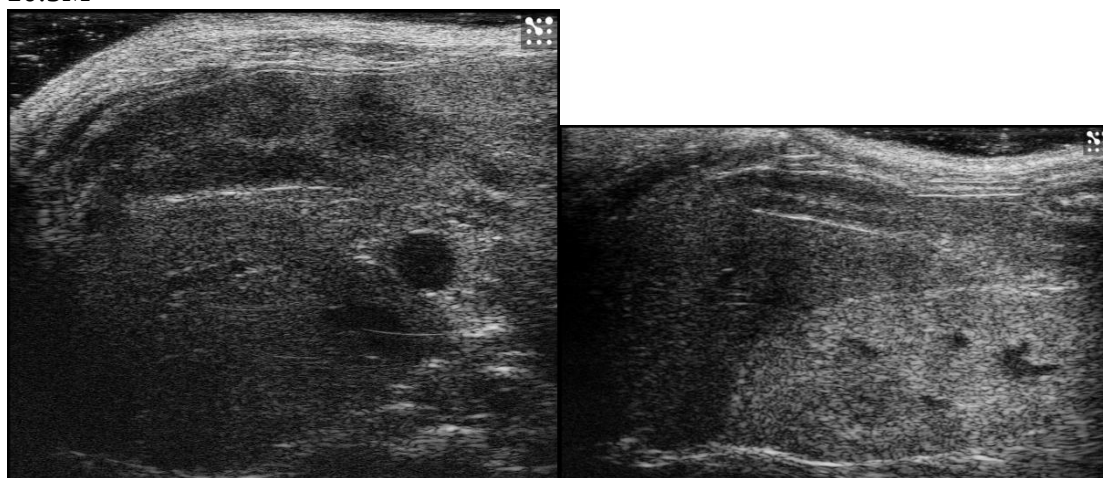
項目	單位	7M	9M	11M
GPT	U/l	54	58	47
GOT	U/l	57	68	70
T-BIL	mg/dl	0.9	0.6	0.9
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	3.1	2.8	2.8
AFP	ng/ml	1.77	4.79	1.43
AFP-L3	ng/ml	1.08	1.35	0.71
AFP-L3%		61%	32%	50%
DCP	ng/ml	6.14	7.22	4.12

三、 超音波影像

9.5M



10.5M



結語:

肝臟組織大致呈現回音均勻，並未發現腫瘤。

編號:76

一、 基本資料

基因型:WT

生日:2021/4/11

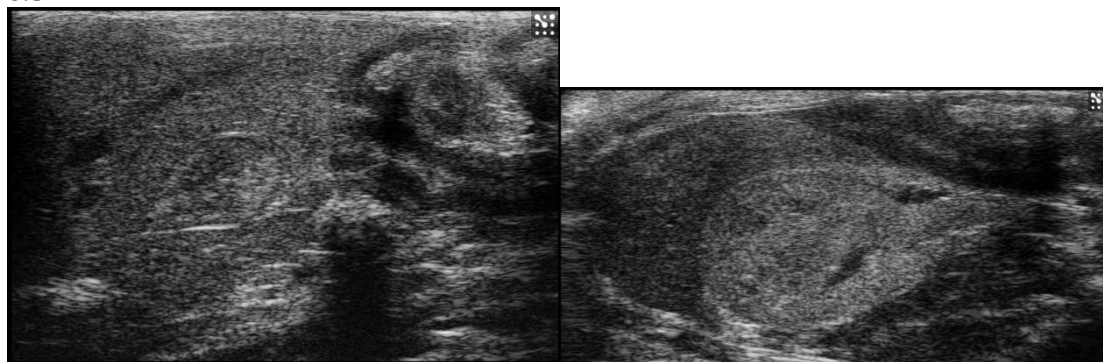
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

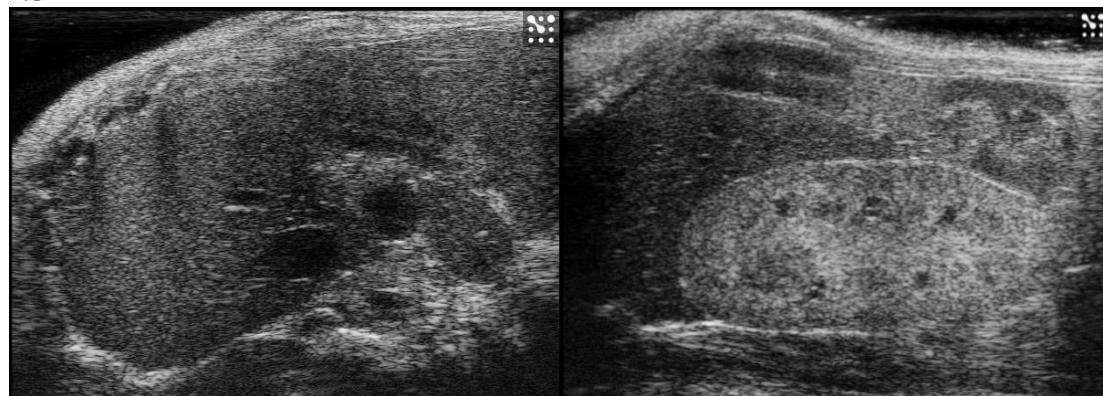
項目	單位	4M	6M	8M
GPT	U/l	29	38	47
GOT	U/l	87	133	120
T-BIL	mg/dl	1.3	1.9	0.9
D-BIL	mg/dl	0.1	--	< 0.1
ALB	g/dl	2.7	3.0	3.5
AFP	ng/ml	3.49	6.7	1.44
AFP-L3	ng/ml	0.27	0.83	0.73
AFP-L3%		8%	13%	94%
DCP	ng/ml	1.87	11.89	9.78

三、 超音波影像

6.5M



7.5M



結語:

肝臟組織大致呈現回音均勻，並未發現腫瘤。

編號:77

一、 基本資料

基因型:WT

生日:2021/4/11

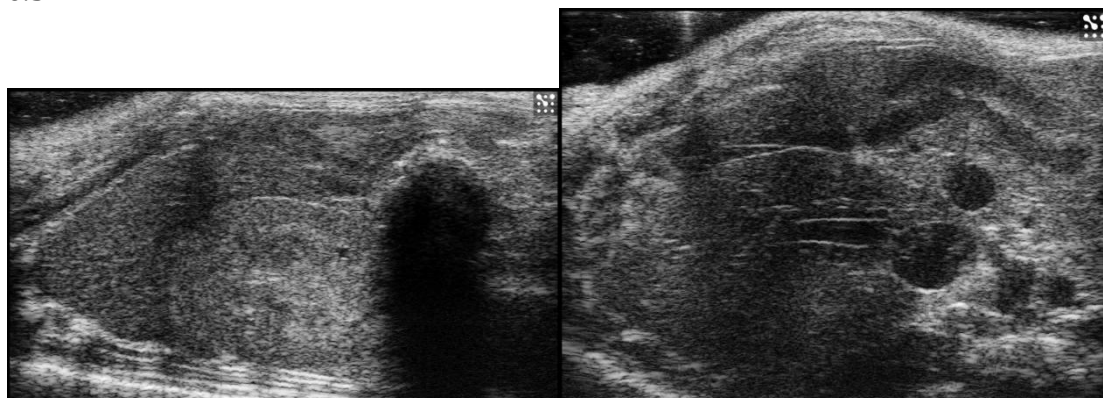
性別:母

二、 肝功能指數與肝癌標誌

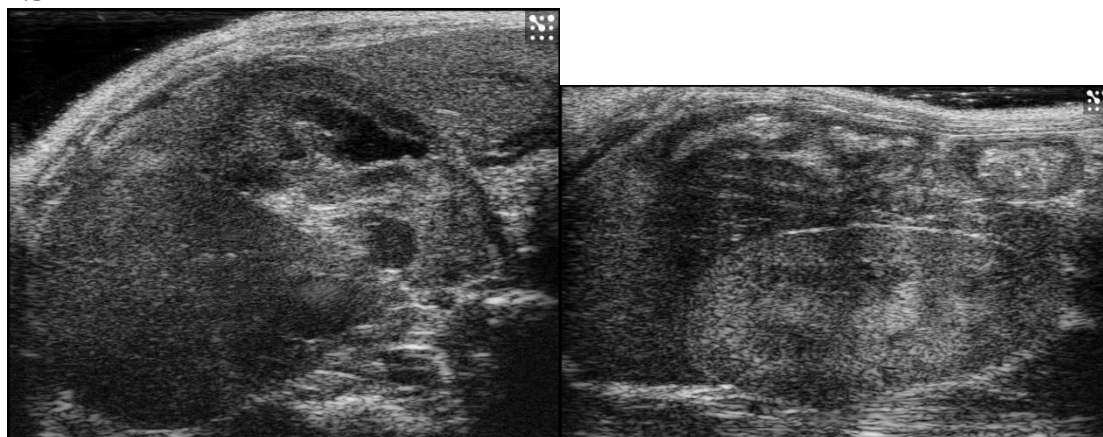
項目	單位	4M	6M	8M
GPT	U/l	44	33	32
GOT	U/l	92	168	145
T-BIL	mg/dl	1.4	1.3	0.9
D-BIL	mg/dl	0.1	0.1	0.1
ALB	g/dl	2.7	2.3	3.3
AFP	ng/ml	4.02	6.24	3.87
AFP-L3	ng/ml	0.43	0.98	0.96
AFP-L3%		11%	16%	24%
DCP	ng/ml	2.87	14.41	14.19

三、 超音波影像

6.5M



7.5M



結語:

肝臟質地均勻不粗糙，稍被腸道與糞便遮蔽，大致呈現回音均勻，並未發現腫瘤。