

肿瘤诊断与基因治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.2014.01.006

GP73 和 AFP-L3 在甲胎蛋白低浓度肝癌诊断中的临床意义

赵运胜¹, 廖 飞², 李洪臣¹, 崔辰莹¹, 王 猛¹

(1. 秦皇岛市第一医院检验科, 秦皇岛 066000; 2. 重庆医科大学检验医学院临床检验诊断重点实验室, 重庆 400016)

【摘要】目的: 考察血清高尔基体蛋白 73(Glogi glycoprotein 73, GP73) 和甲胎蛋白异质体 3(alpha-fetoprotein-L3, AFP-L3) 对诊断低浓度甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP, AFP<108.0 μg/L) 原发性肝癌(primary hepatic cancer, PHC) 的价值。**方法:** 收集低浓度 AFP PHC 患者 50 例, 非肝癌的消化系统疾病患者 60 例(其中慢性肝炎、肝硬化、其他消化系统恶性肿瘤患者各 20 例) 及健康对照者 40 例。用酶联免疫分析定量检测各组人群血清 GP73 含量, 微量离心柱分离 AFP-L3 后用电化学发光法测定总 AFP 和 AFP-L3 含量, 并计算 AFP-L3 占总 AFP 的百分含量; 比较各指标不同组间中值。**结果:** 肝癌组 GP73 含量(105.4 μg/L) 明显高于非肝癌的消化系统疾病组(39.7 μg/L) 和健康对照组(19.3 μg/L), P 均<0.01。AFP-L3(%) 在肝癌组(15.6%) 明显高于非肝癌的消化系统疾病组(9.5%) 和健康对照组(9.4%), P 均<0.01。肝癌组 GP73 和 AFP-L3(%) 阳性检出率均明显高于其他各组, P 均<0.01。单项检测中 GP73 和 AFP-L3(%) 灵敏度为 74.0% 和 62.0%; 特异性为 96.0% 和 93.0%; 准确率为 88.7 和 82.7%; ROC 曲线下面积分别为 0.828 和 0.778。联合检测中 GP73 或 AFP-L3(%) 任一阳性诊断灵敏度最高(80.0%), GP73 和 AFP-L3(%) 同时阳性诊断特异性最高(100.0%)。**结论:** 血清 GP73 和 AFP-L3 单独诊断低浓度 AFP 的 PHC 灵敏度和特异性都较高, 可用于 AFP 低浓度肝癌的辅助诊断; 二者联用可增加 PHC 诊断的准确性。

【关键词】 肝肿瘤; 高尔基体蛋白 73; 甲胎蛋白异质体 3; 甲胎蛋白

【中图分类号】 R735.7

【文献标志码】 A

【收稿日期】 2012-10-27

Clinical significance of serum GP73, AFP-L3 test in the diagnosis of primary hepatic carcinoma with low concentration of alpha-fetoprotein

Zhao Yunsheng¹, Liao Fei², Li Hongchen¹, Cui Chenying¹, Wang Meng¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the First Hospital of Qinhuangdao; 2. Key Laboratory of Clinical Laboratory Diagnostics, College of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the value of serum Glogi glycoprotein 73(GP73) and alpha-fetoprotein-L3(AFP-L3) in the diagnosis of primary hepatic cancer(PHC) exhibiting low levels of alpha-fetoprotein(AFP) (AFP<108.0 μg/L). **Methods:** Totally 50 cases of PHC with low levels of AFP, 60 cases of non-PHC digestive system disorders(20 cases of hepatitis, 20 cases of liver cirrhosis and 20 cases of malignant tumors of digestive system) and 40 cases of healthy controls were collected. Serum GP73 was analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay. AFP-L3 was separated by microspin column. Levels of AFP-L3 and AFP were quantified by electrochemiluminescence immunoassays. Percentage of AFP-L3 in total AFP was calculated. Different indicators among groups were compared. **Results:** Level of serum GP73 was higher in PHC patients(105.4 μg/L) than in non-PHC patients with digestive system disorders(39.7 μg/L) and healthy controls(19.3 μg/L)(all P <0.01). Level of AFP-L3(%) was higher in PHC patients(15.6%) than in non-PHC patients with digestive system disorders(9.5%) and healthy controls(9.4%)(P <0.01). Positive detection rates of GP73 and AFP-L3(%) in PHC group was higher than those in other groups(P <0.01). Sensitivity, specificity and accuracy rates in the diagnosis of PHC by GP73 alone were 74.0%, 96.0% and 88.7% respectively, while those via AFP-L3(%) alone were 62.0%, 93.0% and 82.7% correspondingly. Areas under ROC analysis curve were 0.828 and 0.778. In the combined detection, the highest sensitivity of GP73 or AFP-L3(%) positive diagnosis was 80.0% and the highest sensitivity of GP73 and AFP-L3(%) positive diagnosis was (100.0%). **Conclusions:** Both GP73 and AFP-L3 are effective tumor biomarkers to aid the diagnosis of PHC with low levels of AFP and their combination significantly improves the diagnosis of PHC.

【Key words】 liver neoplasms; Glogi glycoprotein73; alpha-fetoprotein-L3; alpha-fetoprotein

作者介绍: 赵运胜, Email: zhao_yun_sheng_sh@yahoo.cn,

研究方向: 临床检验诊断。

原发性肝癌(primary hepatic cancer,PHC)是目前世界上致死率最高的恶性肿瘤之一,在全世界范围内的发病率有逐年上升的趋势^[1]。早期诊断是治疗和延长 PHC 患者生存期的最主要策略。血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP)是目前检测 PHC 最常用的肿瘤标志物,但其灵敏度和特异性都不够满意,对低浓度 AFP 肝癌患者容易漏检^[2]。

血清高尔基体蛋白 73(Glogi glycoprotein 73, GP73)和甲胎蛋白异质体 3(alpha-fetoprotein-L3, AFP-L3)有望成为早期诊断 PHC 及预后的新标志物^[3]。GP73 是定位于高尔基体的一种 II 型跨膜蛋白,分子量为 73 kD。其编码基因位于第 9 号染色体,全长 3 042 bp。GP73 主要表达于人类多种组织的上皮细胞,正常肝脏组织表达甚微,但肝细胞受到病毒感染或肝癌时明显高表达^[4]。早在 2005 年,Block 等^[5]就提出,在肝癌患者血清中,GP73 水平显著升高。且有文献报道 GP73 检测肝癌的灵敏度可达 69%,特异性可达 90%^[6],但也有个别报道 GP73 的灵敏度和特异性与 AFP 相当甚至低于 AFP^[7]。AFP-L3 为肝癌细胞特有,曾有研究表明 AFP-L3(%)诊断肝癌的灵敏度和特异性分别为 72.3%和 97.2%,在肝癌恶性程度和肝病预后的判定方面有着重要的意义,有望成为比 AFP 更好的诊断及预测预后的标志物,尤其对 AFP 低浓度的肝癌或小肝癌的早期诊断意义较大^[8]。

为探讨 GP73 与 AFP-L3(%)对我国肝癌的诊断价值,解决 AFP 低浓度 PHC 患者漏检问题,本研究检测了 50 例 AFP 低浓度 PHC 患者血清中 GP73 与 AFP-L3(%)水平,并分析评价 GP73 与 AFP-L3(%)联合检测效能,以提高诊断和早期 PHC 预警的临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取我院 2011 年 4 至 9 月的住院、门诊和体检人员共计 150 例,其中 AFP 低浓度 PHC 患者 50 例(男 36 例,女 14 例),年龄 32~81 岁,平均 56 岁,通过电化学发光法检测 120 例 PHC 患者血清 AFP 并筛选出其浓度在 1.1~108.0 $\mu\text{g/L}$ 之间的部分而得到(本实验室之前通过 ROC 曲线确定 AFP 鉴别诊断 PHC 的临界值为 108.0 $\mu\text{g/L}$),该组病例均符合 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的“病毒性肝炎防治方案”中病毒性肝炎诊断标准及全国肿瘤防治办公室与中国抗癌协会合编的《新编常见恶性肿瘤诊治规范》中有关 PHC 的诊断标准;非肝癌的消化系统疾病患者 60 例(男 40 例,女 20 例),年龄 36~81 岁,平均 57 岁(其中慢性肝炎患者 20 例,血清乙型或丙型肝炎病毒检测阳

性,根据临床、B 超、CT 等综合检查排除肝硬化和肝占位病变;肝硬化患者 20 例,根据临床、B 超、CT 等综合检查诊断肝硬化,并排除有肝占位病变;其他消化系统恶性肿瘤患者 20 例,包括胆管癌 7 例,胃癌 5 例,直肠癌 4 例,结肠癌 4 例);健康对照者 40 例(男 22 例,女 18 例),年龄 35~80 岁,平均 54 岁,血清肝炎病毒检测、ALT 检测项目均为阴性且排除肝炎、肝硬化、肝胆囊肿、良性及恶性肿瘤等疾病。

1.2 主要仪器

CODA 全自动酶标仪和罗氏 2010 电化学发光仪。

1.3 主要试剂

GP73 测定试剂盒购自上海瑞奇科技有限公司;AFP 测定试剂盒购自上海罗氏诊断产品有限公司。AFP-L3 分离纯化试剂盒购自北京热景生物技术有限公司。

1.4 标本采集

用促凝管采集受检者清晨空腹肘静脉血 3 ml,离心半径 $r=16\text{ cm}$,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.5 检测方法

GP73 测定采用酶联免疫定量方法检测,按说明书操作;AFP-L3 分离采用微量离心柱法,按试剂盒中说明书操作。采用罗氏电化学发光法测定总 AFP 含量和分离洗脱液中 AFP-L3 含量,计算 AFP-L3 占总 AFP 的比例(%),以 AFP-L3(%)>15.0% 作为阳性标准。

1.6 观察内容

检测各组血清 GP73 和 AFP-L3(%)水平并比较其差异,分析各指标诊断 AFP 低浓度 PHC 的曲线下面积及 95%可信区间、临界值。评价多指标联合检测的意义,联合检测分为系列试验和平行试验。系列试验也称串联试验,是指采用几种筛查方法检测疾病,只有全部检测均为阳性者才判为阳性,凡有 1 项检测结果为阴性即判为阴性。平行试验也称并联试验,是指采用几种筛查方法检测疾病,凡有 1 项检测结果为阳性者即判为阳性,所有检测结果均为阴性才判为阴性。

1.7 统计学处理

利用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析。检测数据计量资料均为偏态分布,采用中位数(四分位数)表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验,多组间的两两比较采用 Nemenyi 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验。ROC 曲线评价 GP73 和 AFP-L3(%)对 PHC 诊断的灵敏度、特异性、准确率。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组血清 GP73 和 AFP-L3(%)检测结果比较

各组血清 GP73 水平比较,差异有统计学意义($P<0.01$),其中肝癌组明显高于非肝癌的消化系统疾病组和健康对照组($D=31.40$ 和 31.59 , P 均 <0.01),非肝癌的消化系统疾病组明显高于健康对照组($D=28.87$, $P<0.01$);各组血清 AFP-L3(%)水平比较,差异有统计学意义($P<0.01$),其中肝癌组明显高于非肝癌的消化系统疾病组和健康对照组($D=26.94$ 和 29.52 , P 均 <0.01),非肝癌的消化系统疾病组和健康对照组比较差异无统计学意义($D=12.25$, $P>0.05$),结果见表 1。

表 1 各组血清 GP73 和 AFP-L3(%)含量检测结果比较[M(Q₁,Q₃)]Tab.1 Comparison on serum GP73 and AFP-L3(%) levels in each group[M(Q₁,Q₃)]

组别	例数(n)	GP73(μg/L)	AFP-L3(%)
肝癌组	50	105.4(45.6,190.5) ^a	15.6(10.0~34.4) ^a
非肝癌的消化系统疾病组	60	39.7(29.5,59.4) ^b	9.5(7.8~14.4)
健康对照组	40	19.3(11.0,25.0)	9.4(7.6~10.2)
H 值		57.506	34.178
P 值		0.000	0.000

注:a,与其他各组相比,P均<0.01;b,与对照组比较,P<0.01

2.2 ROC 曲线分析 GP73 和 AFP-L3(%)单项检测对 PHC 的鉴别诊断效果

采用 ROC 曲线分析 GP73 和 AFP-L3(%)单独用于鉴别诊断肝癌和非肝癌的效果,曲线下面积分别为 0.828 和 0.778,各自 95%CI 分别为 0.744~0.911;0.689~0.867,P 均<0.001,见图 1。

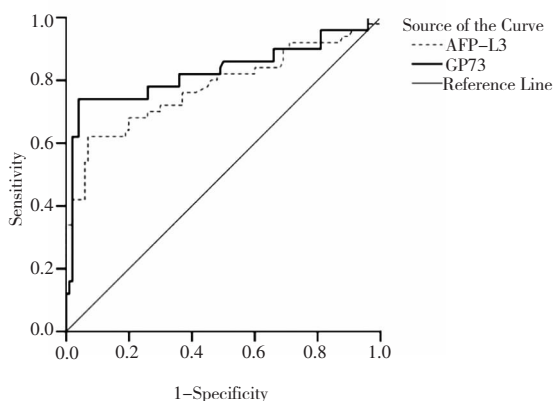


图 1 GP73 和 AFP-L3(%)鉴别诊断 PHC 的 ROC 曲线分析

Fig.1 ROC curve analysis of GP73 and AFP-L3(%) for the diagnosis of PHC

通过 ROC 曲线分析将 GP73 和 AFP-L3(%)鉴别诊断肝癌的临界值分别设定为 75.3 μg/L 和 15.0%(根据灵敏度+特异性最大的原则设定)。

2.3 各组血清 GP73 和 AFP-L3(%)阳性检出率的比较

PHC 患者中 GP73 阳性 37 例,阳性率为 74.0%(37/50);非肝癌的消化系统疾病患者中阳性 4 例,均为肝硬化患者,阳性率为 6.7%(4/60);40 名健康对照者中无阳性,阳性率为 0.0%(0/40)。PHC 组的阳性率高于非肝癌的消化系统疾病组与健康对照组(χ^2 值分别为 52.886 和 50.264,P 均=0.000);但非肝癌的消化系统疾病组的阳性率与健康对照组的差异无统计学意义(校正 $\chi^2=1.313$, $P=0.252$)。

PHC 患者中 AFP-L3(%)阳性 31 例,阳性率为 62.0%(31/50);非肝癌的消化系统疾病患者中阳性 7 例,其中肝硬化 3 例,慢性乙型肝炎 2 例,其他消化系统肿瘤 2 例,阳性率为 11.7%(7/60);40 名健康对照者中无阳性,阳性率为 0.0%(0/40)。PHC 组的阳性率高于非肝癌的消化系统疾病组与健康对照组(χ^2 值分别为 30.557 和 37.831,P 均=0.000);但非肝

癌的消化系统疾病组的阳性率与健康对照组的差异无统计学意义(校正 $\chi^2=3.386$, $P=0.066$)。

2.4 血清 GP73 和 AFP-L3(%)单项及其联合检测对 PHC 的诊断价值

联合检测中 GP73 与 AFP-L3(%)平行试验[GP73/AFP-L3(%)]的灵敏度最高(80.0%)。GP73 和 AFP-L3(%)系列试验[GP73+AFP-L3(%)]的特异性最高(100.0%)。50 例肝癌患者中 GP73 与 AFP-L3(%)同时阳性的患者有 28 例,AFP-L3 阳性而 GP73 为阴性的患者有 3 例,GP73 阳性而 AFP-L3(%)为阴性的患者 9 例。60 例非肝癌的消化系统疾病患者中无 AFP-L3(%)与 GP73 同时阳性的患者,AFP-L3(%)阳性而 GP73 为阴性患者有 7 例,GP73 阳性而 AFP-L3(%)为阴性患者有 4 例。40 名健康对照者中无 AFP-L3(%)或 GP73 阳性者。结果见表 2。

表 2 血清 GP73 和 AFP-L3(%) 单项及联检对 PHC 的诊断价值比较

Tab.2 Comparison on diagnosis value between single and combined examination of GP73 and AFP-L3(%) for PHC

项目组合	灵敏度 n(%)	特异性 n(%)	准确率 (%)
GP73	74.0(37/50)	96.0(96/100)	88.7
AFP-L3(%)	62.0(31/50)	93.0(93/100)	82.7
GP73+AFP-L3(%)	56.0(28/50)	100.0(100/100)	85.3
GP73/AFP-L3(%)	80.0(40/50)	89.0(89/100)	86.0

3 讨论

PHC 的早期诊断仍是目前肝癌诊治研究的热点之一。AFP 用于肝癌辅助诊断的报道较多,但是其诊断 PHC 的灵敏度和特异性不高,对 AFP 浓度小于诊断临界值的肝癌患者容易漏检^[2]。因之前本实验室曾进行过 AFP 等血清标志物在 PHC 早期诊断中的临床意义方面的研究,随机选取的 50 例 PHC 患者 AFP 测定范围从 1.1~1 210.0 μg/L,通过 ROC 曲线分析将 AFP 用于 PHC 鉴别诊断的临界值设定为 108.0 μg/L(根据灵敏度+特异性最大的原则)^[9],

因此,本文将 AFP<108.0 $\mu\text{g/L}$ 误判为阴性的 PHC 患者定义为 AFP 低浓度 PHC 患者作为研究对象。

GP73 和 AFP-L3(%)是新近发现的 PHC 血清标志物^[3]。本文通过检测 50 例 AFP 低浓度 PHC 患者血清中 GP73 与 AFP-L3 水平,评价 GP73 与 AFP-L3(%)对 AFP 低浓度 PHC 的检测效能,希望能对 AFP 起到互补诊断的作用。结果显示对于 AFP 低浓度肝癌患者 GP73 含量明显高于非肝癌的消化系统疾病患者与健康对照者,非肝癌的消化系统疾病患者相对于健康对照者也有所升高。之前也曾有过文献报道随着肝脏疾病的进展,GP73 会升高^[10],肝硬化和肝癌患者中 GP73 水平明显高于肝炎患者和正常人^[11]。另外,将各组的阳性检查率做比较,发现肝癌组的阳性检出率明显高于其他各组。GP73 的 ROC 曲线下面积 0.828,单项检测灵敏度和特异性也较高。因此,本文结果支持血清 GP73 含量对检测肝癌的临床意义,可用于 AFP 低浓度肝癌的辅助诊断。

本文结果显示肝癌患者 AFP-L3(%)含量明显高于非肝癌的消化系统疾病患者与健康对照者,同时肝癌组 AFP-L3(%)的阳性检出率也明显高于其他各组。AFP-L3(%)检测的灵敏度、特异性和 ROC 曲线下面积也较高。曾有研究发现肝癌患者血清 AFP-L3(%)水平高于慢性肝病患者,诊断肝癌的灵敏度和特异性分别为 72.3%和 97.2%^[8]。另有一些研究表明,AFP-L3 与肝病进展、肿瘤分化程度及生物学恶性行为相关^[12]。因此,AFP-L3 有望成为比 AFP 更好的诊断及预测预后的标志物,尤其对 AFP 低浓度的肝癌或小肝癌的早期诊断意义较大。

本文结果表明,GP73 和 AFP-L3(%)联合检测可提高诊断 PHC 的灵敏度和特异性,GP73 和 AFP-L3(%)同时阳性诊断 PHC 的特异性达 100.0%,可联合检测用于 PHC 的确诊。GP73 或 AFP-L3(%)任一阳性诊断 PHC 灵敏度升高到 80.0%,可作为排除肝癌的判断方法。

总体而言,血清 GP73 和 AFP-L3(%)单独诊断 AFP 低浓度 PHC 的灵敏度和特异性都较高,可用于 AFP 低浓度肝癌的辅助诊断。二者联合检测可提高对 PHC 诊断的可靠性。

但本文所收集的临床病例较少,只是进行了小

样本数据的统计分析,得出确切结论尚需进一步大量的临床数据支持。进一步的研究正在进行中,包括收集更大量的临床证据,矫正其中的灵敏度和特异性,进一步明确这些肝癌血清标志物的表达在肝癌早期诊断中的地位,在手术切除中的效果评价,肝癌复发的预测以及同肝癌预后之间的关系。

参 考 文 献

- [1] Gomaa AI, Khan SA, Leen EL, et al. Diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(11): 1301-1314.
- [2] 徐海峰, 杨华瑜, 张宏冰, 等. 改变肝癌早期诊断和治疗现状的新肝癌血清标志物[J]. 基础医学与临床, 2008, 28(1): 104-108.
- [3] 赵秀英, 李 宁, 丁惠国, 等. 血清高尔基体糖蛋白 73 在肝细胞癌诊断中的作用[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32(12): 943-946.
- [4] 李利军, 李新丰, 王高雄. GP73 联合 AFP、VEGF 检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(29): 3056-3060.
- [5] Block TM, Comunale MA, Lowman M, et al. Use of target glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and human[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(3): 779-784.
- [6] Drake RR, Schwegler EE, Malik G, et al. Lectin capture strategies combined with mass spectrometry for the discovery of serum glycoprotein biomarkers[J]. Mol Cell Proteomics, 2006, 5(10): 1957-1967.
- [7] Ozkan H, Erdal H, Tutkak H, et al. Diagnostic and prognostic validity of Golgi protein 73 in hepatocellular carcinoma[J]. Digestion, 2011, 83(1-2): 83-88.
- [8] 王永忠, 罗立波, 吴国祥, 等. 微量离心柱法分离检测甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 及其临床意义[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2007, 21(2): 135-137.
- [9] 赵运胜, 王 猛, 李军良, 等. 血清高尔基体蛋白 73、异常凝血酶原、磷脂酰乙醇蛋白聚糖-3 和甲胎蛋白联合检测对原发性肝癌的早期诊断价值研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(11B): 3730-3733.
- [10] Liu X, Wan X, Li Z, et al. Golgi protein 73 (GP73), a useful serum marker in liver diseases[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(8): 1311-1316.
- [11] Morota K, Nakagawa M, Sekiya R, et al. A comparative evaluation of Golgi protein-73, fucosylated hemopexin, α -fetoprotein, and PIVKA-II in the serum of patients with chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(4): 711-718.
- [12] Kinoshita Y, Tajiri T, Souzaki R, et al. Diagnostic value of lectin reactive α -fetoprotein for neoinfantile hepatic tumors and malignant germ cell tumors: preliminary study[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2008, 30(6): 447-450.

(责任编辑:冉明会)