

• 临床检验研究论著 •

# 高尔基体蛋白 GP73 在肝癌诊断中的临床意义

王 然, 王晓东<sup>△</sup>, 李凤焕, 李秀全

(中国人民解放军第二五四医院检验科, 天津 300142)

**摘要:**目的 定量检测样本血清中高尔基体蛋白 73(GP73)的水平,同时对比 GP73 与甲胎蛋白(AFP)的检出,探讨 GP73 用于肝癌诊断的临床意义。方法 收集肝癌患者、肝炎及肝硬化、其他癌症以及健康人员样本,分别检测 GP73 和 AFP,GP73 检测采用酶联免疫定量测定,AFP 检测用电化学发光法。结果 在 186 例肝癌标本中,GP73 阳性率 76.34%,AFP 阳性率 41.94%,经过  $\chi^2$  检验,两者差异有统计学意义( $\chi^2=22.78, P<0.01$ );在肝炎及肝硬化患者和其他肿瘤患者中的 GP73 阳性检出率分别为 10.66% 和 6.41%;AFP 的阳性检出率分别为 26.23% 和 26.92%,经过  $\chi^2$  检验,两者的检出率差异具有统计学意义( $P<0.05$ );在健康人员中,GP73 和 AFP 的检测特异性均为 100%;ROC 曲线分析显示,GP73 和 AFP 的曲线下面积分别为 0.932 和 0.770。**结论** GP73 用于诊断肝癌效果明显优于 AFP,可以显著提高对肝癌诊断的灵敏度和特异性,而且 GP73 相比 AFP 更不容易受到肝部炎症反应和其他部位肿瘤的影响。

**关键词:** 肝肿瘤; 高尔基体蛋白 73; 甲胎蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)13-1572-02

## Clinical significance of Golgi glycoprotein 73 detection for the diagnosis of liver cancer

Wang Ran, Wang Xiaodong<sup>△</sup>, Li Fenghuan, Li Xiuquan

(Department of Laboratory, The 254th Hospital of Chinese PLA, Tianjin 300142, China)

**Abstract: Objective** To investigate the clinical significance of the detection of serum level of Golgi glycoprotein 73(GP73) for the diagnosis of liver cancer. **Methods** GP73 was quantitatively analyzed by using enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) and alpha fetoprotein(AFP) was quantitatively detected by using Electrochemiluminescence immunoassay(ECLIA). **Results** There were significant differences in the positive rate between GP73(76.34%) and AFP(41.94%) in the serum of patients with liver cancer( $\chi^2=22.78, P<0.01$ ). There were significant differences in the positive rate between the GP73(10.66%, 6.41%) and AFP(26.23%, 26.92%) in the serum of patients with hepatitis and hepatocirrhosis and patients with other tumour( $P<0.05$ ). No significant difference between the detectable rate of GP73 and AFP was found in the serum of healthy subjects. ROC curve analysis showed that the area under the curve of GP73 and AFP were 0.932 and 0.770, respectively. **Conclusion** GP73 might be superior for the diagnosis of liver cancer than AFP, and GP73 could significantly improve the diagnostic sensitivity and specificity of liver cancer. GP73 might be less susceptible than AFP for the influencing of liver inflammation and tumors of other parts.

**Key words:** liver neoplasms; Golgi glycoprotein 73; alpha-fetoprotein

肝癌发病率在全世界是位列第四位、中国位列第二的恶性肿瘤,且在世界范围内呈逐年上升趋势,现总发病率已超过 56 万。肝癌发病之初较为隐匿,临床难以检出,临床诊断检出一多多为晚期,治疗效果差,如若早期发现肝癌并且及时治疗可以提高患者的 5 年存活率,因此肝癌的早期发现具有重要的临床意义。目前肝癌的检测手段包括肝超声影像分析和血清学标志物检测,其中最常使用的血清学标志物是甲胎蛋白(AFP),但是 AFP 在早期肝癌诊断中灵敏度不高,只有 50%~60% 的肝癌患者 AFP 呈阳性,并且慢性肝炎、肝硬化患者等肝癌高危人群也可引起甲胎蛋白的升高<sup>[1-2]</sup>。因此,临床需要一种更好地用于肝癌监测的标志物。近年来,随着基因组学、蛋白质组学、肿瘤免疫等相关研究的飞速发展,研究者筛选出一些潜在的新的肿瘤标志物,而高尔基体不但参与蛋白加工,还参与细胞分化及细胞间信号的转导,并在细胞凋亡中扮演重要角色,其功能障碍可能与肿瘤的发生密切相关,其中,高尔基体糖蛋白 73(GP73)是最值得期待的血清标志物之一。已经有多个研究组验证了 GP73 是一种新的肝癌标志物<sup>[3-5]</sup>。以往研究多使用免疫印迹方法,无法在临床上普及应用。本研究采用酶联免疫方法定量测定 GP73,研究中分别对肝癌患者、其他部位

肿瘤患者、肝炎及肝硬化患者以及健康人员进行检测,探讨高尔基体蛋白定量测定用于鉴别肝癌的临床意义。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取本院 2009 年 1 月至 2012 年 2 月住院、门诊患者及体检人员共计 416 例,其中肝癌患者 186 例,男 128 例,女 58 例;年龄 20~89 岁,平均年龄 53 岁。肝炎及肝硬化 122 例,男 83 例,女 39 例;年龄 15~81 岁,平均年龄 47 岁。其他部位肿瘤患者 78 例,男 46 例,女 32 例;年龄 24~83 岁,平均年龄 51 岁。健康体检者 30 例,男 19 例,女 11 例;年龄 18~68 岁,平均年龄 39 岁。肝病诊断标准和肿瘤诊断标准符合 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中华人民共和国卫生部医政司组织并由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》中有关原发性肝癌等肿瘤疾病的诊断标准,其中影像学为彩色多普勒超声及 64 排螺旋 CT 辅助诊断。健康献血员按国家《献血法》规定的 HBV、HCV 病毒检测、ALT 检测项目为阴性。

**1.2 方法** GP73 采用酶联免疫定量方法检测,试剂盒由北京热景生物技术有限公司提供,肝癌判定值大于或等于 150 ng/

△ 通讯作者, E-mail: xdwang4698@126.com。

mL;甲胎蛋白检测采用雅培 AXSYM 微粒子发光酶免疫分析系统,肝癌判定值大于或等于 400 ng/mL。试剂盒均在有效期内,严格按照使用说明书操作。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS13.0 软件进行统计分析,不同组别间的比较采用单因素方差分析。

**2 结果**

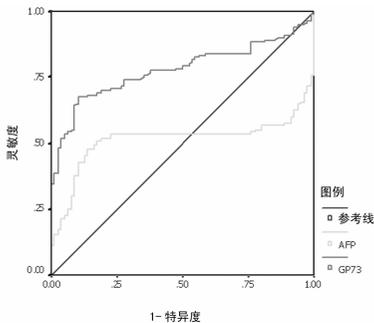
**2.1 肝癌和非肝癌患者样本中 GP73 和 AFP 的检出情况比较** 在 186 例肝癌患者中 GP73 阳性率为 76.34%(142/186),AFP 阳性率为 41.94%(78/186),经  $\chi^2$  检验,GP73 与 AFP 的阳性率差异有统计学意义( $\chi^2 = 22.78, P < 0.01$ );在共计 215 例非肝癌血清样本中 GP73 阳性率为 5.12%(11/215),AFP 阳性率为 13.95%(30/215),经  $\chi^2$  检验,GP73 与 AFP 的阳性率差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.87, P < 0.05$ )。

**2.2 肝炎及肝硬化患者、其他肿瘤患者和健康人员样本中 GP73 和 AFP 的检出情况比较** 122 例肝炎及肝硬化患者中,GP73 阳性率为 10.66%(13/122);AFP 阳性率为 26.23%(32/122),两者检出率差异具有统计学意义( $\chi^2 = 4.92, P < 0.05$ )。78 例其他部位肿瘤患者中,GP73 阳性率为 6.41%(5/78);AFP 阳性率为 26.92%(21/78),两者检出情况差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.91, P < 0.05$ )。30 例健康人员中 GP73 和 AFP 均未检出阳性。所有非肝癌患者中,GP73 的诊断特异性为 94%,AFP 的诊断特异性为 81%。肝炎及肝硬化患者、其他部位肿瘤患者 GP73 及 AFP 检测结果比较见表 1。

**表 1 肝炎及肝硬化患者、其他肿瘤患者和健康人员样本中 GP73 和 AFP 的检出情况比较(n)**

组别	GP73		AFP	
	阳性	阴性	阳性	阴性
肝炎及肝硬化患者	13	109	32	90
其他肿瘤患者	5	73	21	57
健康人员	0	30	0	30
合计	18	212	53	177

**2.3 ROC 曲线分析 GP73 和 AFP 鉴别诊断肝癌效果分析** 采用 ROC 曲线分析 GP73 和 AFP 鉴别肝癌和非肝癌的效果,GP73 曲线下面积为 0.779,95%可信区间 0.715~0.843,  $P < 0.0001$ ;AFP 曲线下面积为 0.512,95%可信区间 0.428~0.596,  $P < 0.0001$ ,结果见图 1。



**图 1 GP73 和 AFP 鉴别诊断肝癌的 ROC 曲线分析**

**3 讨论**

GP73 是高尔基 II 型跨膜蛋白,相对分子质量  $73 \times 10^3$ 。该蛋白的编码基因位于第 9 号染色体,全长 3 042 bp,内含惟一开放读码框(1 200~1 430 bp),两个真核细胞转录起始位

点——蛋氨酸密码子(第 151 和 178 个核苷酸),分别转录 400 和 931 个氨基酸产物。在稳定状态下,GP73 是高尔基体顺面膜囊上的一种整合膜蛋白,这使得其最初研究看起来不太可能成为肝癌的血清标志物,但是,与结构关联蛋白 GPP130 类似的是 GP73 也能够从高尔基体顺面膜囊上循环出来并到达胞内体以及细胞表面<sup>[6]</sup>。Bachert 等<sup>[7]</sup>报道其作为肝癌标志物的分子机制。致使肝癌血清中 GP73 水平升高的一个主要原因是肝细胞中 GP73 表达的增量调节。GP73 增量表达使其回收达到饱和并导致多余的 GP73 向位于高尔基体顺面远侧的含有前蛋白转化酶 Furin 的区室移动,这种情况下 GP73 与前蛋白转化酶 Furin 的接触大大增加,而在正常情况下,两者很少有接触。GP73 释放到胞外是通过前蛋白转化酶剪切其 R52VVR55 位点而实现的,剪切作用发生在 GP73 从高尔基体顺面运输到外侧网络和胞内体的过程中。

2005 年 Block 等<sup>[8]</sup>发现,在肝癌患者血清中 GP73 水平显著升高。在一项研究中,与肝硬化患者相比,144 例肝癌患者的血清 GP73 水平显著升高。GP73 诊断肝癌的敏感性为 69%,特异性为 75%。对于早期肝癌(T1:单个结节,直径小于 2 cm 及 T2:单个结节,直径位于 2~5 cm 或小于三个结节,每个直径小于 3 cm)的诊断,GP73 的敏感性(62%)显著优于 AFP(25%)。而且,AFP 水平低于 20 ng/mL 的肝癌患者中,有 57%(32/56)的人 GP73 水平显著升高。从而提示,肝癌患者血清中 GP73 水平明显增高,并且对于诊断早期肝癌,GP73 可能优于 AFP,因此提出 GP73 可能成为更好的诊断肝癌尤其是早期肝癌的血清标志物。

国内毛一雷等<sup>[9]</sup>进行的大样本多中心临床对照研究结果显示,健康人群和非肝病患者的 GP73 水平相当 ( $P = 0.2925$ ),而肝癌组( $n = 617$ )血清 GP73 水平与对照组( $n = 842$ )及乙型肝炎携带者组( $n = 339$ )相比显著增高( $P = 0.0005$  和  $0.0012$ )。GP73 诊断肝癌的敏感性达到 74.2%,特异性达到 94.4%,GP73 的高表达与以乙肝为基础的肝癌密切相关,它在 HBV 感染的患者中也有一定程度的升高<sup>[10]</sup>,酒精性肝炎和自身免疫性肝炎有报道,GP73 含量也在低水平<sup>[11]</sup>,GP73 对于肝癌的敏感性和特异性均高于目前常用的 AFP 检测。

本研究在 186 例肝癌标本中,GP73 的阳性率达到 76.34%,高于 AFP 的阳性率 41.94%,差异有统计学意义,  $P < 0.01$ ;在所有非肝癌患者中,GP73 的诊断特异性为 94%;AFP 的诊断特异性为 81%。GP73 在用于诊断肝癌的灵敏性以及特异性均优于 AFP。AFP 在肝炎及肝硬化患者和其他肿瘤患者中的阳性检出率分别为 26.23%和 26.92%;而 GP73 在肝炎及肝硬化患者和其他肿瘤患者中的阳性检出率分别为 10.66%和 6.41%,经过  $\chi^2$  检验,两者的检出率差异有统计学意义。研究结果显示,AFP 诊断肝癌容易受到肝部炎症反应以及其他部位肿瘤的影响,而 GP73 诊断肝癌则不易受肝部炎症反应以及其他部位肿瘤的影响。在健康人员中 GP73 和 AFP 均没有阳性检出,研究显示两者在健康人员中 GP73 和 AFP 均有良好的检出特异性。在进一步的 ROC 曲线分析中,GP73 诊断肝癌的曲线下面积为 0.779,明显高于 AFP 的 0.512。

在本研究中,作者针对 GP73 重组蛋白的单抗和多抗采用双抗体夹心方法对血清 GP73 进行酶联免疫定量检测,cut off 值设定为 90  $\mu\text{g/L}$ ,与 Gu 等<sup>[12]</sup>的研究接近,这种方法简单、快速,有利于临床上广泛地开展 GP73 的检测,对肝癌的诊断与鉴别有非常积极的意义。 (下转第 1575 页)

作 ROC 分析发现, 母体 28 孕周血清 hPL 的 ROC 曲线下面积 0.90, 95% 可信区间为 (0.83~0.97), 对 PE 预测有较高的准确性; 母体 28 孕周血清 uE3 的 ROC 曲线下面积 0.55, 95% 可信区间 (0.42~0.68), 对 PE 预测的准确性较差, 见图 1。

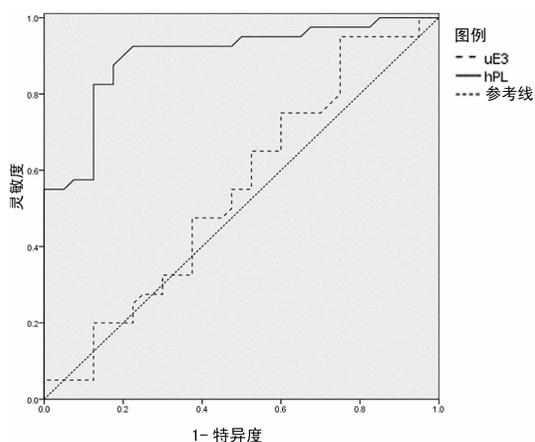


图 1 母体血清 hPL、uE3 水平的 ROC 曲线

### 3 讨论

妊娠期母体内 hPL 和 uE3 水平随妊娠进展和胎盘发育而逐渐升高, 其分泌量也持续增加, 且均是胎儿胎盘单位产生的主要激素<sup>[3]</sup>。hPL 是由胎盘合体滋养层细胞合成释放的蛋白激素, 妊娠 6 周时便可在母体血中检测出, 孕 34 周时母体血中水平达高峰, 以后维持此水平直至分娩。uE3 是由胎儿肾上腺皮质和肝脏分泌一种与胎儿代谢相关的甾体激素。其作为唐氏筛选的指标之一, 结合相关的指标 (如: 孕妇的预产期、体质量、年龄和采血时的孕周) 可以提高唐氏筛查的准确率<sup>[4]</sup>。Huang 等<sup>[5]</sup>指出, 孕中期 uE3 水平的降低是不良妊娠结局的风险因子。目前有关 hPL 或 uE3 与子痫前期关系的文献报道较少。Farina 等<sup>[6]</sup>报道, PE 患者外周血中循环 hPL mRNA 水平低于对照组。Schmidt 等<sup>[7]</sup>也发现, PE 患者的 hPL mRNA 水平下调, 只有对照组的十分之一。Ree 等<sup>[8]</sup>表明, uE3 对 PE 的预测没有价值。

本研究采用回顾分析的方法检测了 80 例 PE 病例 (于 36

孕周后临床确诊) 孕 28 周的血清 hPL 和 uE3 水平, 同时设立同孕周对照组, 统计分析后发现研究组 28 孕周血清 hPL 水平显著降低, ROC 曲线下面积达 0.90, 而 uE3 水平差异无统计学意义, 这表明孕中期母体血清 hPL 水平对后续 PE 的发生有较好的预测价值。该结果与文献 [6-8] 报道一致, 进一步在蛋白水平证实了低水平血清 hPL 在 PE 发生、发展中的价值。综上所述, 孕中期妊娠母体血清 hPL 水平可作为 PE 临床预测指标。

### 参考文献

- [1] 卢帅军, 朱长玲, 厉倩, 等. 子痫前期标记物的研究进展 [J]. 中国产前诊断杂志: 电子版, 2011, 3(4): 35-38.
- [2] Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy [J]. Am J Obstet Gynecol, 1999, 180: 499-506.
- [3] 乐杰. 妇产科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 92.
- [4] Sayin NC, Canda MT, Ahmet N, et al. The association of triple-marker test results with adverse pregnancy outcomes in low-risk pregnancies with healthy newborns [J]. Arch Gynecol Obstet, 2008, 277(1): 47-53.
- [5] Huang T, Hoffman B, Meschino W, et al. Prediction of adverse pregnancy outcomes by combinations of first and second trimester biochemistry markers used in the routine prenatal screening of Down syndrome [J]. Prenat Diagn, 2010, 30(5): 471-477.
- [6] Farina A, Sekizawa A, Purwosunu Y, et al. Quantitative distribution of a panel of circulating mRNA in preeclampsia versus controls [J]. Prenat Diagn, 2006, 26(12): 1115-1120.
- [7] Schmidt M, Hoffmann B, Kimmig R, et al. mRNA of placental origin in maternal serum of women with normal and preeclamptic pregnancies [J]. Fetal Diagn Ther, 2009, 25(2): 269-276.
- [8] Ree PH, Hahn WB, Chang SW, et al. Early detection of preeclampsia using inhibin A and other second-trimester serum markers [J]. Fetal Diagn Ther, 2011, 29(4): 280-286.

(收稿日期: 2011-12-30)

(上接第 1573 页)

### 参考文献

- [1] 殷正丰. 甲胎蛋白异质体作为肝癌标志物的临床应用 [J]. 实用肿瘤杂志, 2004, 19(1): 1-4.
- [2] 沈铮, 沈霞. 甲胎蛋白及其异质体检测的临床应用价值 [J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(6): 361-366.
- [3] Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 2005, 43(6): 1007-1012.
- [4] Riener MO, Stenner F, Liawen. Golgi phosphoprotein 2 (GOLPH2) expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas [J]. Hepatology, 2009, 49(5): 1602-1609.
- [5] Hu JS, Wu DW, Ling S, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is sensibility and specificity for hepatocellular carcinoma of diagnosis in a hepatitis B-endemic Asian population [J]. Med Oncol, 2010, 27(2): 339-345.
- [6] Puri S, Bachert C, Fimmel CJ, et al. Cycling of early Golgi proteins via the cell surface and endosomes upon luminal pH disruption [J]. Traffic, 2002, 3(3): 641-653.
- [7] Bachert C, Fimmel C, Linstedt AD. Endosomal trafficking and

- proprotein convertase cleavage of cis golgi protein GP73 produces marker for hepatocellular carcinoma [J]. Traffic, 2007, 8(10): 1415-1423.
- [8] Block TM, Comunale MA, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(3): 779-784.
- [9] 毛一雷, 杨华瑜, 徐海峰, 等. 新的肝癌血清标记物 GP73 在肝癌诊断中的初步研究 [J]. 中华医学杂志, 2008, 88(14): 948-951.
- [10] 郑邵敏, 韩绍磊, 杜文军, 等. 血清高尔基体蛋白 73 在乙型肝炎相关性肝细胞癌早期诊断中的价值 [J]. 中华实验和临床感染病杂志, 2011, 4: 459-464.
- [11] Raleigh D, Kladney, Xiaoyen Cui, et al. Expression of GP73, a resident Golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease [J]. Hepatology, 2002, 35(6): 1431-1440.
- [12] Gu Y, Chen W, Zhao Y. Quantitative analysis of elevated serum Golgi protein-73 expression in patients with liver disease [J]. Ann Chin Biochem, 2009, 46(1): 38-43.

(收稿日期: 2011-12-25)