

• 临床检验研究论著 •

肝癌患者血清高尔基体蛋白 73 检测及其意义*

陈琳¹, 曹亚丽¹, 王峰², 吴月平¹, 邵建国^{1△}

(1. 江苏省南通市第三人民医院检验科, 江苏南通 226006;

2. 南通大学附属医院检验医学中心, 江苏南通 226001)

摘要:目的 探讨高尔基体蛋白 73(GP73)在原发性肝癌(PHC)诊断中的临床应用价值。方法 分别采用 ELISA 法和化学发光法定量检测 51 例 PHC 患者、35 例肝硬化患者以及 40 例健康体检者血清 GP73 以及甲胎蛋白(AFP)的水平。结果 血清 GP73 诊断 PHC 的临界值为 127.5 $\mu\text{g/L}$, 诊断灵敏度为 66.7%, 特异度为 93.3%。PHC 组中血清 GP73 水平 $[(185.1 \pm 62.9) \mu\text{g/L}]$ 显著高于肝硬化组 $[(69.8 \pm 28.2) \mu\text{g/L}]$ 及健康对照组 $[(36.7 \pm 13.3) \mu\text{g/L}]$, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 GP73 及 AFP 单项检测比较, 二者联合检测可提高 PHC 诊断的灵敏度以及总有效率($P < 0.05$), 而特异度差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 GP73 水平在 PHC 患者血清中明显增高, 可作为 PHC 诊断的血清标志物, 且与 AFP 联合检测可提高 PHC 诊断效率。

关键词: 肝肿瘤; 肝硬化; 高尔基体蛋白 73; 甲胎蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)17-2056-02

Clinical significance of serum GP73 in patients with PHC*

Chen Lin¹, Cao Yali¹, Wang Feng², Wu Yueping¹, Shao Jianguo^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, the Third People's Hospital of Nantong City, Nantong, Jiangsu 226006, China;

2. Department of Clinical Laboratory Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of serum Golgi protein 73(GP73) in diagnosing patients with primary hepatic carcinoma(PHC). **Methods** Total 126 subjects were recruited, including 51 patients with PHC, 35 patients with cirrhosis of liver and 40 healthy controls. Serum levels of GP73 and AFP were determined by ELISA and CLIA, respectively. **Results**

The critical value of GP73 was 127.5 $\mu\text{g/L}$, which was determined by ROC curve. The sensitivity of GP73 was 66.7%, and the specificity was 93.3%. The serum level of GP73 in patients with PHC was $(185.1 \pm 62.9) \mu\text{g/L}$, which was significantly higher than that in patients with cirrhosis $[(69.8 \pm 28.2) \mu\text{g/L}]$ and healthy controls $[(36.7 \pm 13.3) \mu\text{g/L}]$, $P < 0.05$. The sensitivity and total efficiency were increased when combination of serum GP73 and AFP in diagnosis patients with PHC, compared with single GP73 or AFP, respectively, $P < 0.05$. **Conclusion** The serum level of GP73 increases in patients with PHC and can be a good diagnostic marker for PHC. Moreover, the combination of serum GP73 and AFP can increase the diagnostic efficiency for PHC.

Key words: liver neoplasms; liver cirrhosis; Golgi protein 73; alpha-fetoprotein

原发性肝癌(PHC)是临床常见的恶性肿瘤,其发病率呈逐年上升趋势。由于临床上肝癌确诊时多属中、晚期,术后易复发及远处转移,预后较差。因此早期诊断与治疗显得尤为重要。血清甲胎蛋白(AFP)是目前临床应用最广泛的肝癌肿瘤标志物,对肝癌的诊断起了重要的作用,但仍具有一定的局限性,其敏感度和特异度仍不甚令人满意,提示仅检测 AFP 是不够的^[1-2]。因此,各国学者一直没有停止寻找更好的肝癌标志物,高尔基体蛋白 73(GP73)是新近被研究者发现的最值得期待的血清肝癌标志物之一^[3-6]。本研究通过检测 PHC 患者血清 GP73 和 AFP 水平,探讨 GP73 在 PHC 诊断中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 为 2011 年 1~10 月本院住院患者,PHC 组 51 例,均经临床、实验室、病理学确诊,诊断根据中国抗癌协会肝癌专业委员会 2001 年修订的《原发性肝癌的诊断与分期标准》进行,其中男 38 例,女 13 例,平均年龄 52.7 岁,包括 I 期 PHC 患者 24 例,II 期 PHC 患者 17 例,III 期 PHC 患者 10 例。肝硬化组 35 例,诊断根据中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会 2000 年联合修订的《病毒性肝炎防治方案》中

肝硬化的诊断标准进行,其中男 26 例,女 9 例,平均年龄 50.2 岁,包括代偿期肝硬化患者 23 例,失代偿期肝硬化患者 12 例。另选取 40 例本院健康体检者,其中男 22 例,女 18 例,平均年龄 49.5 岁,均排除肝脏良、恶性疾病。

1.2 仪器与试剂 ELISA 试剂盒由北京热景生物技术有限公司提供;美国雅培 i2000 化学发光免疫分析仪及其配套试剂。

1.3 方法 抽取待检者清晨空腹静脉血 3 mL,分离血清,−70℃保存待检。采用 ELISA 法定量检测 GP73,严格按试剂盒操作说明书进行;AFP 检测采用美国雅培 i2000 化学发光免疫分析仪及其配套试剂。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行统计分析,检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用 t 检验;率的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 血清 GP73 水平对 PHC 的诊断价值 根据 ROC 曲线,血清 GP73 诊断 PHC 最佳临界值为 127.5 $\mu\text{g/L}$,曲线下面积为 0.951,95%置信区间为 0.916~0.986;其诊断灵敏度为 66.7%,特异度为 93.3%,见图 1。各组血清 GP73 与 AFP 检

测结果见表 1。

表 1 各组血清 GP73 与 AFP 检测结果比较			
组别	n	GP73(μg/L)	AFP(μg/L)
PHC 组	51	185.1±62.9	452.7±136.2
肝硬化组	35	69.8±28.2*	95.2±69.5*
健康对照组	40	36.7±13.3*#	4.2±3.7*#

*: $P<0.05$, 与 PHC 组比较; #: $P<0.05$, 与肝硬化组比较。

2.2 GP73 与 AFP 联合检测对 PHC 的诊断价值 与血清

表 2 血清 GP73 与 AFP 联合检测对 PHC 的诊断价值 [% (n/n)]

指标	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	总有效率
GP73	66.7(34/51)	93.3(70/75)	87.2(34/39)	80.5(70/87)	82.5(104/126)
AFP	62.7(32/51)	90.7(68/75)	82.1(32/39)	78.2(68/87)	79.4(100/126)
GP73+AFP	86.3(44/51)*	94.7(71/75)	91.7(44/48)	91.0(71/78)#	91.3(115/126)*

*: $P<0.05$, 与单项 GP73 及 AFP 比较; #: $P<0.05$, 与单项 AFP 比较。

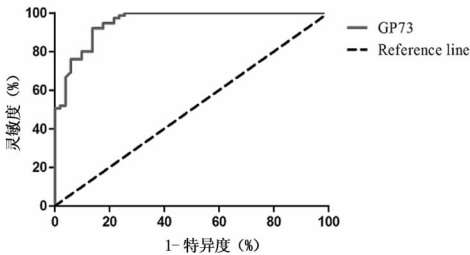


图 1 血清 GP73 诊断 PHC 的 ROC 曲线图

3 讨 论

肝癌因其发病率和死亡率高而受到全世界学者的广泛关注,如何早期诊断成为肝癌研究热点之一。AFP 是目前应用最广泛的肝癌肿瘤标志物,但其敏感度和特异度却不甚令人满意。GP73 作为潜在的能够改变肝癌早期诊断现状的血清标志物,逐渐引起人们的关注。

GP73 是存在于高尔基体的一种 II 型跨膜蛋白,基因位于 9 号染色体长臂,全长 3 042 bp,内含 1 个 1 200 bp 的开放阅读框,编码 400 个氨基酸,其相对分子质量为 73×10^3 , 因此得名 GP73。在正常的人体肝组织中,GP73 主要由胆管上皮细胞表达,而肝细胞表达很少甚至不表达。但是在肝细胞癌中 GP73 表达异常活跃,可能的原因是急性肝细胞损伤触发和慢性肝脏组织的重构和纤维化,GP73 可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,这可解释为在 PHC 和肝硬化中 GP73 表达上调的原因^[7-11]。

本研究结果显示,血清 GP73 诊断 PHC 最佳临界值为 127.5 μg/L,曲线下面积为 0.951,95% 置信区间为 0.916~0.986;诊断灵敏度为 66.7%,特异度为 93.3%。PHC 组患者血清 GP73 与 AFP 水平明显高于肝硬化组以及健康对照组 ($P<0.05$);肝硬化组血清 GP73 与 AFP 水平明显高于健康对照组 ($P<0.05$),说明血清 GP73 水平与肝脏是否受损以及损伤程度密切相关。有研究表明,血清 GP73 水平与患者肝炎病毒感染及复制程度相关,而本次肝癌患者有部分无肝炎病毒感染史,但其血清 GP73 水平显著升高,说明 GP73 水平的上

调存在着多种途径,不仅与肝炎病毒感染有关,还可能与患者肝细胞损伤或与 GP73 维持高尔基体结构的完整性有关^[12]。本研究还探讨了 GP73 与 AFP 联合检测对 PHC 的诊断价值,二者联合检测对 PHC 诊断的灵敏度为 86.3%,明显高于二者单项检测 ($P<0.05$);同时二者联合检测的总有效率为 91.3%,也明显高于二者单项检测 ($P<0.05$);而特异度比较差异无统计学意义 ($P>0.05$);另外,GP73 单项检测与 AFP 单项检测各指标之间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。说明单独 GP73 检测用于 PHC 的诊断优势可能并不十分明显,而二者联合检测可明显提高 PHC 的诊断效率,特别对于无临床症状及体征以及 AFP 阴性 PHC 患者的诊断有一定的临床价值,有助于 PHC 的早发现、早诊断、早治疗,延长 PHC 患者生存期。

GP73 作为新的肝癌早期诊断血清标志物,已经显示了其巨大的临床应用价值,但仍需要更广泛、更深入的实验室研究和临床试验来确立其所能扮演的角色。毋庸置疑,在未找到更加灵敏、特异的肝癌标志物之前,采取 AFP、GP73 等多个标志物联合检测的方式必将大大提高肝癌早期诊断率。

参考文献

[1] 万澹,刘协红. AFP 联合 3 种血清标记物检测提高原发性肝癌的诊断率研究[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(8):897-898.

[2] 李若林,秦雪. 蛋白质组学在原发性肝癌研究中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(7):688-689.

[3] 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.

[4] 石玉玲,曾兰兰,李林海,等. 高尔基体蛋白 73 及其基因检测对原发性肝癌诊断的价值[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(6):507-512.

[5] Mao Y, Yang H, Xu H, et al. Golgi protein 73(GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2010, 59(12):1687-1693.

[6] 赵建忠,李智山,许东强,等. 甲胎蛋白异质体 3 和高尔基体蛋白 73 检测在原发性肝癌诊断中的临床意义[J]. (下转第 2059 页)

表 2 213 例患者不同时间血清 ox-LDL 水平
($\bar{x} \pm s$, mg/L)

组别	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
PSI 组	13.25 $\pm$ 3.15*	16.45 $\pm$ 4.05*	15.25 $\pm$ 3.85*	12.35 $\pm$ 3.05*
非 PSI 组	10.06 $\pm$ 3.61	13.95 $\pm$ 3.45	13.05 $\pm$ 3.15	9.85 $\pm$ 3.05

*: $P < 0.01$, 与非 PSI 组比较。

3 讨 论

目前认为脑血管疾病的发生、发展与动脉粥样硬化密切相关,粥样斑块的不稳定性是急性脑血管病的发生、发展的主要原因^[6]。

MMP 是一组 Zn^{2+} 依赖性蛋白酶,主要功能为降解和重构细胞外基质。有研究表明 MMP-9 参与了脑血管的病理损伤过程,可作为临床上早期诊断急性脑卒中的生物标志物。既往研究表明 MMP-9 可能通过以下途径参与到缺血性脑血管病的病理过程:(1)起病后血管内皮功能紊乱或损伤,MMP-9 活性增加,降解细胞外基质,破坏动脉粥样硬化斑块纤维帽的结构,增加粥样斑块的不稳定性,激活凝血系统,促进血栓形成,导致动脉进一步狭窄或闭塞。(2)MMP-9 的活性增加可直接导致神经元凋亡和脑损伤。(3)MMP-9 可破坏血脑屏障并形成脑水肿。(4)MMP-9 在破坏血脑屏障的同时,诱发炎症因子的产生,在炎症反应过程中,MMP-9 进一步激活,加重脑组织损伤,形成恶性循环^[7]。因此,临床上通过对急性脑卒中患者 MMP-9 的检测,预测神经功能缺损症状可能进展。

ox-LDL 是 LDL 氧化修饰形成的脂蛋白,是血管损伤过程中的重要起始因子,可以从多方面、多途径损伤血管内皮细胞^[8]。ox-LDL 发挥作用需要自身特定受体识别。凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1(LOX-1)是近些年发现的主要表达于血管内皮细胞及血管丰富组织的 ox-LDL 特异受体。生理条件下 LOX-1 可以发挥结合或吞噬的清除功能;病理条件下,LOX-1 被炎症因子、氧化应激、流体剪切力等刺激所诱导,从而介导 ox-LDL 对内皮细胞的损伤作用^[9]。有研究发现 ox-LDL 引起的血管内皮舒张因子合成减少和黏附分子表达增加可以被 LOX-1 反义寡核苷酸抵消,更佐证了 ox-LDL 与 LOX-1 的相互作用可能是引起血管内皮功能障碍的重要分子机制^[10]。既往也有研究表明,急性脑卒中的病理过程中,血清 ox-LDL 通过氧化损伤、炎症反应等机制造成血管损伤和血管内皮功能紊乱^[11]。

本研究发现 PSI 患者血清 MMP-9 和 ox-LDL 水平在起病后第 1 天到第 3 天有升高趋势,第 5 天开始回落,且起病后第 1、3、5 和 7 天血清 MMP-9 水平 PSI 组均高于非 PSI 组,与临床观察到 PSI 的神经功能缺损症状多在起病 3 日内加重相一

致,证实了 MMP-9 和 ox-LDL 共同参与了 PSI 的病理生理过程,而 MMP-9 和 ox-LDL 通过相应机制造成血管内皮损伤和功能障碍,可能是造成患者神经功能缺损症状逐步进展的原因。

本研究为病例对照研究,只能说明 MMP-9 和 ox-LDL 共同参与了 PSI 的病理生理过程,不能阐述 PSI 疾病进展与 MMP-9 和 ox-LDL 升高之间的因果关系,将来还需进一步研究加以阐明。

参考文献

[1] Philipps J, Thomalla G, Glahn J, et al. Treatment of progressive stroke with tirofiban-experience in 35 patients[J]. Cerebrovasc Dis, 2009, 28(5): 435-438.

[2] Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, et al. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the biomarker rapid assessment in ischemic injury (BRAIN) study[J]. Stroke, 2009, 40(1): 77-85.

[3] Nedeljkovic ZS, Gokee N, Losealzo J. Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction[J]. Postgrad Med J, 2003, 79(930): 195-200.

[4] 中华医学会神经科学会. 各类脑血管病的诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379-380.

[5] Birschel P, Ellul J, Barer D. Progressing stroke: towards an internationally agreed definition[J]. Cerebrovasc Dis, 2004, 17(2/3): 242-252.

[6] 王大力, 朱卫香, 张立新, 等. 进展性缺血性脑卒中与血清基质金属蛋白酶 9 水平的相关分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2009, 11(8): 627.

[7] Gu Z, Cui J, Brown S, et al. A highly specific inhibitor of matrix metalloproteinase 9 rescues laminin from proteolysis and neurons from apoptosis in transient focal cerebral ischemia[J]. J Neurosci, 2005, 25(27): 6401-6408.

[8] Mehta JK, Chen J, Hermonat PL, et al. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1(LOX-1): a critical player in the development of atherosclerosis and related disorders[J]. Cardiovasc Res, 2006, 69(1): 36-45.

[9] Schwaag S, Nabavi DQ, Frese A, et al. The association between migraine and juvenile stroke: a case control study[J]. Headache, 2003, 43(2): 90-95.

[10] Weich KM. Stroke and migraine-the spectrum of cause and effect[J]. Funct Neurol, 2003, 18(3): 121-126.

[11] 王金松. 血清氧化低密度脂蛋白、白细胞介素 6 水平与急性脑梗死的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 739-740.

(收稿日期: 2012-03-09)

(上接第 2057 页)

中国实验诊断学, 2011, 15(9): 1522-1524.

[7] 顾剑锋, 李明峰, 顾树南. GP73 与肝癌关系的研究进展[J]. 肝胆胰外科杂志, 2011, 23(6): 520-522.

[8] 郑昭敏, 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: 电子版, 2011, 5(4): 41-43.

[9] Zhou Y, Yin X, Ying J, et al. Golgi protein 73 versus alpha-feto-protein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic meta-analysis[J]. BMC Cancer, 2012, 12: 17.

[10] Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, et al. AFP, AFP-L3, DCP,

and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of HCC[J]. J Gastroenterol, 2010, 45(12): 1272-1282.

[11] Shi Y, Chen J, Li L, et al. A study of diagnostic value of golgi protein GP73 and its genetic assay in primary hepatic carcinoma[J]. Technol Cancer Res Treat, 2011, 10(3): 287-294.

[12] 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.

(收稿日期: 2012-03-09)