

• 临床检验研究论著 •

高尔基体糖蛋白 73、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3、甲胎蛋白异质体百分比联合检测在原发性肝癌诊断中的应用*

叶迎宾,黄秀香,郭卫刚,章 健,赵斗贵

(河北邯郸市传染病医院检验科,河北邯郸 056002)

摘 要:目的 探讨高尔基体糖蛋白 73(GP-73)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(GPC3)、甲胎蛋白异质体百分比(AFP-L3%)联合检测在原发性肝癌诊断中的应用。方法 选择肝癌患者 154 例(肝癌组),肝硬化患者 78 例(肝硬化组),健康对照者 56 例(对照组),用酶联免疫法分别测出 GP-73、GPC3、AFP-L3 的浓度。然后分别按照检测项目统计分析。结果 肝癌组中 GP-73、GPC3、AFP-L3%的水平明显高于肝硬化组和对照组($P<0.05$);肝癌组中 GP-73、GPC3、AFP-L3%的阳性率分别为 66.2%、72.1%、53.2%。三项联合检测的阳性率可达到 97.9%。高于任何单项和联合检测的敏感度和准确度。肝癌组中 GP-73、AFP-L3%在 AFP 不同水平内比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 GP-73、GPC3、AFP-L3%三者联合检测提高原发性肝癌诊断的敏感度和准确度,对鉴别诊断早期肝癌有参考意义。

关键词:原发性肝癌; 高尔基体糖蛋白 73; 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3; 甲胎蛋白异质体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)16-2139-03

Application of combined detection of Golgi glycoprotein 73, phosphatidylinositol proteoglycan 3 and percentage of AFP heteroplasmon in diagnosis of primary hepatocellular carcinoma*

Ye Yingbin, Huang Xiuxiang, Guo Weigang, Zhang Jian, Zhao Dougui

(Department of Clinical Laboratory, Handan Municipal Infectious Disease Hospital, Handan, Hebei 056002, China)

Abstract:Objective To study the application of the combined detection of Golgi glycoprotein 73(GP-73), phosphatidylinositol proteoglycan 3(GPC3) and percentage of AFP heteroplasmon (AFP-L3%) in the diagnosis of primary hepatocellular carcinoma (PHC). **Methods** The concentrations of GP-73, GPC3 and AFP-L3 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 154 patients with PHC (PHC group), 78 patients with cirrhosis (cirrhosis group) and 56 healthy subjects (control group). Then the detection results were statistically analyzed. **Results** The levels of GP-73, GPC3 and AFP-L3% in the PHC group were significantly higher than those in the liver cirrhosis group and the control group ($P<0.05$). The positive rates of GP-73, GPC3 and AFP-L3% in the PHC group were 66.2%, 72.1% and 53.2% respectively. The positive rate in the combined detection of these three indices could reach 97.9%, which was higher than the sensitivity and accuracy in any single index detection and the combination detection. In the PHC group, the comparison between different levels of GP-73 and AFP-L3% with the AFP levels showed the statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** The combination detection of GP-73, GPC3 and AFP-L3% can improve the sensitivity and accuracy for diagnosing PHC and has reference significance in the differential diagnosis of early PHC.

Key words: primary hepatocellular carcinoma; Golgi protein-73; phosphatidylinositol proteoglycan 3; AFP heterogeneity

原发性肝癌我国已成为第二恶性肿瘤,普遍认为肝癌的发生时一个包括癌基因激活和抑癌基因失活的多因素、多步骤过程^[1]。但关于肝癌的确切病因尚不清楚,在我国主要以病毒性肝炎的慢性持续感染是肝癌发生的主要背景。往往当发现肝癌时,大多错过最佳的治疗时间,如何能及早发现肝癌呢?当务之急就是要找到一种对肝癌细胞灵敏度和特异性高的标志物。本文通过对肝癌患者的高尔基体糖蛋白 73(GP-73)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(GPC3)和甲胎蛋白异质体百分比(AFP-L3%)的检测数据的分析,探讨三者联合检测来诊疗原发性肝癌的效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 5 月至 2012 年 12 月,在本院肝病科住院且经病理学或符合 AFP 诊断标准证实的肝癌患者 154 例

(肝癌组),男 95 例,女 59 例,年龄 36~76 岁,平均年龄 53.9 岁。肝硬化患者 78 例(肝硬化组),男 56 例,女 22 例,年龄 30~66,平均 48.3 岁。肝硬化患者诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南》中肝硬化诊断标准^[2]。肝癌诊断符合原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)^[3]。健康体检者 56 例为对照组,男 39 例,女 17 例,年龄 20~36 岁,平均 25.4 岁。

1.2 仪器与试剂 仪器为 Thermo 公司的 MK3 酶标仪(简称“酶标仪”);GP-73、GPC3、AFP-L3 试剂盒均由上海雅吉生物科技有限公司提供。检测 AFP 的仪器为西安核仪器厂提供的 XH-6080 十探头全自动智能 γ 免疫计数器,其试剂盒有北京北方生物技术研究所提供,严格按照说明书操作。

1.3 检测方法 取被检者空腹静脉血 5 mL,分离血清,置-20℃冰箱保存备用。GP-73、GPC3、AFP-L3 三者检测均

* 基金项目:河北省医学科学研究青年科技课题(20130348)。 作者简介:叶迎宾,男,主管检验师,主要从事临床生化研究。

采用 ELISA 法,严格按照试剂盒说明书操作。用酶标仪检测其 OD 值,根据标准浓度曲线图,分别计算出其浓度。AFP 检测采用放射免疫法,AFP>20 μg/L,AFP-L3>150 μg/L,AFP-L3%>10%,GPC3>3.0 μg/L,GP-73>150 μg/L 视为阳性。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$

s 表示,不同组别实验数据比较采用方差分析(F 检验),进一步两两比较采用 LSD- t 检验。阳性率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组血清中各指标水平比较 见表 1。

表 1 3 组血清中各指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	AFP(μg/L)	GP-73(μg/L)	GPC3(μg/L)	AFP-L3(μg/L)	AFP-L3/ AFP(%)
肝癌组($n=154$)	2 124.0±2 183.0	174.2±53.78	10.7±3.1	338.6±379.2	13.8±4.0
肝硬化组($n=78$)	83.9±48.8	81.9±35.5	2.70±0.71	6.45±2.79	8.82±3.92
对照组($n=56$)	10.8±5.6	16.9±13.2	1.28±0.60	0.68±0.56	6.29±2.67
F	63.1	266.9	411.1	56.3	126.8
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 各项检测对原发性肝癌的诊断价值比较 GP-73、GPC3 和 AFP-L3%三者中有一项为阳性即为联合检测阳性(并联实验),敏感度 97.9%(282/288),特异性 79.5%(105/132),准确度 87.5%(387/442)。三者联合检测的敏感度和准确度高于任何两者联合和单项的敏感度和准确度,特异性比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 3 组中不同 AFP 水平者 GP-73、GPC3、AFP-L3%的阳性率比较 见表 3。

表 2 各项检测对原发性肝癌的诊断价值比较(%)

检测模式	敏感度	特异性	准确度
AFP-L3%(+)	53.2	100.0	75.0
GPC3(+)	72.1	100.0	85.1
GP-73(+)	66.2	97.8	80.9
AFP-L3%(+),GPC3(+)	72.7	93.3	82.3
AFP-L3%(+),GP-73(+)	63.0	99.3	75.9
GPC3(+),GP-73(+)	72.1	100.0	85.1
AFP-L3%(+),GPC3(+),GP-73(+)	97.9	79.5	87.5

表 3 3 组中不同 AFP 水平者 GP-73、GPC3、AFP-L3%的阳性率比较

项目		肝癌组[n (%)]	肝硬化组[n (%)]	对照组	χ^2	P
AFP≤200 μg/L	GP-73	3(1.9)	3(3.8)	0(0.0)	4.541	0.075
	GPC3	7(4.5)	34(43.6)	1(1.8)	100.777	0.000
	AFP-L3%	4(2.6)	18(23.1)	2(3.6)	0.097	0.908
300≥AFP>200 μg/L	GP-73	6(3.9)	0(0.0)	0(0.0)	15.193	0.008
	GPC3	16(10.4)	1(1.2)	0(0.0)	2.545	0.173
	AFP-L3%	7(4.5)	0(0.0)	0(0.0)	40.895	0.000
400≥AFP>300 μg/L	GP-73	10(6.5)	0(0.0)	0(0.0)	18.317	0.000
	GPC3	13(8.4)	0(0.0)	0(0.0)	7.700	0.007
	AFP-L3%	10(6.5)	0(0.0)	0(0.0)	16.253	0.001
AFP>400 μg/L	GP-73	88(57.1)	0(0.0)	0(0.0)	18.479	0.000
	GPC3	115(74.6)	0(0.0)	0(0.0)	12.409	0.000
	AFP-L3%	91(59.1)	0(0.0)	0(0.0)	50.797	0.000

3 讨 论

AFP 是目前临床上最主要、应用最广泛的原发性肝癌早期筛查血清标志。但是有 1/3 的慢性肝病、肝纤维化和肝硬化出现 AFP 不同程度的升高,有 1/3 的原发性肝癌患者不升高^[4]。导致 AFP 的敏感度和特异性不高,不能满足临床需要。由于不同研究的设计方案不同、样本量差异、AFP 临界值设定不同等多方面原因造成敏感性有差异^[5]。

AFP-L3 为肝癌细胞特异产生,表达 AFP-L3%的肝癌细胞有早期血管浸润和转移的倾向,ALF-L3%(AFP-L3/AFP)

越高提示肿瘤的恶性程度越高^[6]。AFP-L3 用于肝癌的诊断不受 AFP≥400 μg/L 作为肝癌诊断标准的限制^[7],AFP-L3%是 AFP 低浓度持续阳性患者及小肝癌 AFP 尚未明显升高时早期预报肝癌发生的重要指标^[8],同时适用于原发性肝癌和肝硬化鉴别诊断^[9]。从表 3 中得知,肝癌组中随着 AFP 水平越高 AFP-L3%的阳性(59.1%)率越高,与其他 3 个水平相比,差异有统计学意义($F=8.842,P=0.000$),此结论需进一步验证。在原发性肝癌和肝硬化的鉴别诊断,ALP-L3%运用具有明显的优势($F=126.8,P=0.000$)。

GPC3 是一类细胞表面的糖蛋白,参与调节细胞生长、发育、分化和迁移等行为,在机体的生长、发育中起着重要的作用^[10]。Bruix 等^[11]共同指出,小病灶的肝活组织病理学检查不能确认为肝癌组织,应用磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 进行染色,以提高诊断准确性。GPC3 在肝癌组织表达高于癌旁和正常肝组织,GPC3 与肿瘤大小、肿瘤数目、HBsAg 及 AFP 水平无明显相关,而与病理分级和临床分期有关^[12]。本研究结果中,原发性肝癌患者的 GPC3 明显高于肝硬化组和对照组,与后者相比差异有统计学意义($F=411.1, P=0.000$)。虽然 GPC3 随 AFP 的水平升高而阳性率增多,但差异无统计学意义($F=2.222, P=0.088$)。文献^[13-15]多次报道提示临床要慎重对待高于正常肝组织的 GPC3 的检测值,要科学合理地进行检查,防止漏检,进而提高肝癌的诊治率。

GP-73 是存在于高尔基体的一种跨膜糖蛋白,在健康的人体肝组织中主要由胆管上皮细胞表达,而肝细胞表达很少甚至不表达。在急、慢性肝炎或肝硬化中,GP-73 表达明显升高^[16]。有文献^[17]报道部分肝癌患者的 GP-73 升高并非都有病毒性肝炎史。本研究中,肝癌组明显高于肝硬化组和对照组($F=266.9, P=0.000$),与文献^[18]报道的一致。在 AFP 不同水平中肝癌组的 GP73 阳性率高于肝硬化组和对照组,差异有统计学意义($F=2.977, P=0.033$),说明血清中 GP73 的浓度与 AFP 的水平有关,这与 Sun 等^[19]报道不同,后者指出血清 GP73 与肿瘤大小、分化程度无相关,本实验结果有待进一步证实。

多项肿瘤标志物联合检测可降低有单一标志物所致的漏诊和误诊,能有效提高诊断的准确率,弥补单项的不足^[20]。本研究结果显示,联合检测 GP-73、GPC3 和 AFP-L3% 的敏感度(97.9%)和准确度(87.5%)高于单独检测或任两项联合检测,差异有统计学意义($P<0.05$),但特异性较低。GP-73、GPC3 和 AFP-L3% 在肝癌中的水平明显高于肝硬化组,这说明肝硬化向肝癌转化的过程中,定期观察标志物的浓度变化对肝癌早期的判断提供重要的依据。

总之,多项肿瘤标志物能提高原发性肝癌的诊断率,因此要通过大量实验组合的分析,发现具有高敏感度和高特异性的新型肿瘤标志物用于对早期肝癌的鉴别诊断。

参考文献

[1] 陈洪,王智,吴健. 肝癌循环肿瘤细胞的研究现状[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(8):796-800.

[2] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-34.

[3] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)[J]. 临

床肿瘤学杂志,2011,16(10):929-944.

[4] 房萌,高春芳. 肝细胞癌诊断标志研究与临床应用新进展[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(3):212-216.

[5] 孙璐,刘银坤. 肝癌早期诊断标志物[J]. 国际肿瘤学杂志,2011,38(4):296-299.

[6] 罗文明,陈琳,曹亚丽,等. 血清 GP73 及 AFP-L3 检测在原发性肝癌诊断中的意义[J]. 临床和实验医学杂志,2013,12(13):1005-1009.

[7] 丁贤,刘树业,周淑芬,等. 甲胎蛋白异质体在鉴别良恶性肝病中的应用价值[J]. 天津医药,2010,9(9):821-822.

[8] 邢卉春. 甲胎蛋白异质体检测在原发性肝癌诊疗中的价值[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(2):123-124.

[9] 何建伟,曹薇薇,李静,等. 甲胎蛋白异质体 3 及其比值对原发性肝癌和肝硬化的鉴别诊断价值研究[J]. 中国全科医学,2012,15(8):2640-2642.

[10] 宋婕,李官成. 肝癌相关肿瘤标志物研究新进展[J]. 国际病理科学与临床杂志,2011,31(1):54-58.

[11] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update[J]. Hepatology,2011,53(1):1020-1022.

[12] 宋孟铸,杨永飞,王冬冬,等. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 和甲胎蛋白联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(4):391-393.

[13] 付顺军,李绍强,林杰,等. 血清磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 蛋白测定在肝细胞癌诊断中的价值[J]. 中华普通外科学文献:电子版,2010,12(6):553-554.

[14] 王涛,王凤梅,高英堂,等. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 在肝穿刺活检标本中鉴别诊断的意义[J]. 世界华人消化杂志,2011,19(7):693-699.

[15] 刘斐烨,苏宁,梁继珍,等. Glypican-3 蛋白在肝癌患者血清中的表达及意义[J]. 山东医药,2010,50(1):55-56.

[16] 包永星,杨颖,赵化荣,等. 高尔基体蛋白 73 对早期肝癌的诊断价值及临床意义[J]. 中华肿瘤杂志,2013,35(7):505-508.

[17] 陈琳,曹亚丽,王峰,等. 肝癌患者血清高尔基体蛋白 73 检测及其意义[J]. 国际检验医学杂志,2012,23(17):2056-2059.

[18] 杨颖,木尼热·马合苏提,包永江,等. GP73 和 AFP 单项与联合诊断原发性肝癌的价值[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(11):1034-1037.

[19] Sun Y, Yang H, Mao Y, et al. Increased Golgi protein 73 expression in hepatocellular carcinoma tissue correlates with tumor aggression but not survival[J]. J Gastroenterol Hepatol,2011,26(1):1207-1212.

[20] 熊将军,曹阳,张雨相. 多项肿瘤标志物检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(2):157-160.

(收稿日期:2014-02-16)

欢迎投稿

欢迎订閱