

· 临床检验研究论著 ·

肝细胞癌患者血清 GP73 检测的临床价值

徐艳霞, 李 芳

(东莞康华医院有限公司生殖医学中心, 广东东莞 523000)

摘要:目的 探讨血清 GP73 检测在肝细胞癌(HCC)诊断中的临床应用价值。方法 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量测定 52 例健康者、45 例非肝性疾病患者、43 例乙型病毒性肝炎患者、20 例肝硬化患者和 30 例 HCC 患者血清标本中 GP73 蛋白的表达水平;采用电化学发光法(ECL)检测 HCC 患者血清 AFP 水平,计算 ROC 曲线下面积及 GP73 和 AFP 对 HCC 诊断的敏感度和特异性。结果 非肝性疾病组(58.57±35.64) ng/mL、乙型肝炎组(70.36±49.88) ng/mL 和肝硬化组(114.47±51.27) ng/mL 以及 HCC 组(251.37±95.6) ng/mL 患者血清中的 GP73 水平显著高于健康对照组(34.03±15.20) ng/mL,差异均有统计学意义($P<0.05$);HCC 组血清 GP73 水平非常显著高于其他各组,差异均有统计学意义($P<0.01$);HCC 组血清 GP73 的阳性检测率(76.7%)显著高于非 HCC 组(3.12%),差异有统计学意义($\chi^2=108, P<0.05$);GP73 诊断 HCC 敏感度(75.1%)和特异性(94.9%)均高于 AFP 的敏感度(52.3%)和特异性(86.6%)。结论 GP73 可能成为 HCC 诊断的一个更好的血清标志物。

关键词:肝炎; 肝细胞癌; 肝硬化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)16-2168-03

Clinical value of serum GP73 detection in patients with hepatocellular carcinoma

Xu Yanxia, Li Fang

(Center for Reproductive Medicine, Dongguan Kanghua Hospital Co. Ltd., Dongguan, Guangdong 523000, China)

Abstract: Objective To explore the clinical application value of the serum GP73 detection in the diagnosis of hepatocellular carcinoma(HCC). **Methods** The expression level of serum GP73 protein was quantitatively detected by ELISA, including 52 cases of healthy individuals, 45 cases of non-hepatic disease, 43 cases of viral hepatitis B, 20 cases of liver cirrhosis and 30 cases of HCC; The levels of GP73 were compared among the 5 groups. Serum α -fetoprotein(AFP) level in the HCC patients was detected by electrochemiluminescence(ECL) method. The area of receiver operating curve(ROC), sensitivity and specificity of GP73 and AFP for diagnosing HCC were calculated. **Results** The serum level of GP73 was (58.57±35.64) ng/mL in the non-hepatic disease group, (70.36±49.88) ng/mL in the viral hepatitis B group, (114.47±51.27) ng/mL in the liver cirrhosis group and (251.37±95.6) ng/mL in the HCC group, which in the patients was significantly higher than (34.03±15.20) ng/mL in the healthy control group, the differences had statistical significance ($P<0.05$); The serum GP73 level in the HCC group was significantly higher than that in the other groups with statistical difference ($P<0.01$); The positive detection rate of serum GP73 in the HCC group was 76.7%, which was significantly higher than 3.12% in the non-HCC group, the difference had statistical significance ($\chi^2=108, P<0.05$); The sensitivity and specificity of GP73 for diagnosing HCC were 75.1% and 94.9% respectively, which were significantly higher than those of the AFP (52.3% and 86.6%). **Conclusion** GP73 could be to become a better serum marker for diagnosing HCC.

Key words: hepatitis; hepatocellular carcinoma; hepatic cirrhosis

肝细胞癌(HCC)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。目前 HCC 的检测最常使用的血清学标志物是甲胎蛋白(AFP),但只有 50%~60% 的 HCC 患者 AFP 呈阳性,并且慢性肝炎、肝硬化患者等 HCC 高危人群也可引起甲胎蛋白的升高^[1],其灵敏度及特异性不是很理想。自有研究报道高尔基糖蛋白 73 (GP73)与肝炎、肝硬化、HCC 的相关性后,GP73 成为近年来的研究热点,很可能成为诊断 HCC 的新标志物^[2-5]。本研究通过收集 190 例标本,采用 ELISA 方法测定 GP73 在健康人、肝炎、肝硬化和 HCC 患者血清中表达水平,初步探讨血清 GP73 在 HCC 诊断中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 190 例血清标本来自东莞康华医院 2011 年 6 月至 2012 年 6 月门诊或住院患者及体检者。其中

HCC 患者 30 例,年龄 42~80 岁,平均 55 岁,诊断依据为人民卫生出版社第七版内科学教材 HCC 影像学诊断标准以及病理切片,患者均行 CT 及病理检查;肝硬化患者 20 例,年龄 33~62,平均 52 岁,根据临床表现、生化指标、超声波、MRI 等综合检查确诊,并排除肝占位性病变;乙型肝炎患者 43 例,年龄 23~60 岁,平均 50 岁,肝炎诊断参照 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会联合修订的“病毒性肝炎防治方案”中病毒性肝炎的诊断标准;其他疾病患者 45 例,年龄 18~70 岁,平均 48 岁,均根据临床表现、生化指标、超声波、MRI 等综合检查确诊;健康对照组 52 例,年龄 25~71 岁,平均 52 岁,为康华医院健康体检人群。

1.2 标本采集 采用阳普公司无抗凝真空采血管抽取受检者空腹静脉血 2 mL,自然凝集 2 h,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清-80℃保存待测。

1.3 仪器与试剂 血清 GP73 检测使用北京热景生物有限公司提供的商品化 ELISA 试剂盒(批号为 20120101),瑞士 TE-CAN Sunrise 酶标仪,深圳汇松 PW960 型洗板机。AFP 检测使用西门子医学诊断产品(上海)有限公司的 Roche 电化学发光免疫分析仪 ADVIA Centaur XP 及配套试剂(批号为 041143)。

1.4 检测方法 采用双抗体夹心 ELISA 方法定量检测血清中 GP73 水平。通过酶标仪检测吸光度(A),按照 GP73 校准品(浓度分别为 0、70、180、300、500 ng)制作浓度曲线,计算样品中 GP73 水平。实验操作步骤严格按照诊断试剂盒说明书进行。AFP 测定采用 Roche 电化学发光免疫分析系统。

1.5 统计学处理 统计学检验均采用统计学软件 SPSS17.0 分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用 *t* 检验;计数资料采用百分比表示,率的比较采用卡方检验。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)来确定血清 GP73 和 AFP 诊断 HCC 的临界值、灵敏度及特异性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 190 例标本中 GP73 的表达水平 健康对照组 GP73 水平低于其他各组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而 HCC 组血清 GP73 水平高于其他各组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 各组血清 GP73 检测结果($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	样本例数(n)	GP73
健康对照组	52	34.03 ± 15.20 * #
非肝性疾病组	45	58.57 ± 35.64 △ *
乙型肝炎组	43	70.36 ± 49.88 △ * #
肝硬化组	20	114.47 ± 51.27 △ * #
HCC 组	30	251.37 ± 95.6 △ #

△: $P < 0.05$,与健康对照组比较;*: $P < 0.01$,与 HCC 组比较;#: $P < 0.05$,与非肝性疾病组比较。

2.2 HCC 患者与非 HCC 患者 GP73 阳性率比较 30 例 HCC 患者 GP73 阳性率为 76.7%(23/30),160 例非 HCC 组 GP73 阳性率为 3.12%(5/160),两者阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 108, P < 0.05$)。

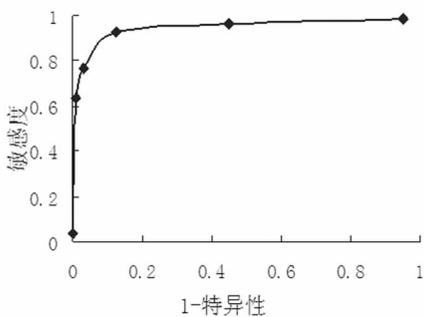


图 1 GP73 诊断 HCC 的 ROC 曲线

2.3 GP73 与 AFP 在 HCC 诊断中的灵敏度及特异性比较 健康对照组和 HCC 组的血清 AFP 与 GP73 的检测结果,见表 2。以各组 GP73 与 AFP 检测结果绘制 ROC 曲线,确定最佳临界值,见图 1、2。GP73 的 ROC 曲线下面积为 0.897;AFP 的 ROC 曲线下面积为 0.830。根据 ROC 曲线以“灵敏度+特

异性”取最大值的原則,确定 GP73 用于诊断 HCC 的临界值为 140 ng/mL,在此临界值下的敏感度和特异性分别为 75.1%、94.9%;AFP 用于诊断 HCC 的临界值为 400 ng/mL,其在此临界值下的敏感度和特异性分别为 52.3%、86.6%。

表 2 血清 AFP 与 GP73 的检测结果($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	n	GP73	AFP
健康对照组	52	34.03 ± 15.20	4.05 ± 3.66
HCC 组	30	251.37 ± 95.6 *	266.3 ± 106.8 *

*: $P < 0.01$,与健康对照组比较。

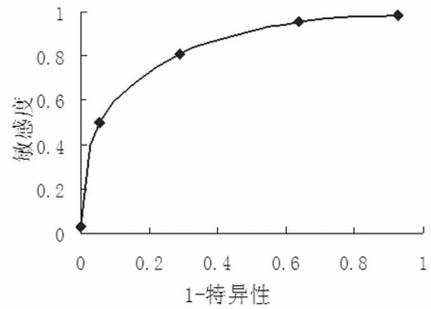


图 2 AFP 诊断 HCC 的 ROC 曲线

3 讨论

GP73 是存在于高尔基体的一种跨膜蛋白,Kladney 等^[4]于 2000 年首先描述了在健康人体肝组织中,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。Block 等^[6]于 2005 年首先提出,在 HCC 患者血清中,GP73 水平显著升高。GP73 很可能成为新的肿瘤标志物,成为近年来的研究热点。

随着影像检测技术的发展,部分 HCC 患者得以及时发现,患者 5 年存活率有了一定提高,但是影像技术检测用于诊断 HCC 仍受很多限制,使很多患者未能及时得到准确诊断,失去最佳治疗时机。血清中 AFP 一直被认为是 HCC 诊断的最佳指标,作为 HCC 的诊断及疗效随访观察指标已应用多年,但高分化或分化很差的 HCC 细胞往往不产生 AFP,再者其他疾病也会引起 AFP 的升高,特别是属于 HCC 高危监测人群的慢性肝炎、肝硬化患者,而且在女性妊娠期间,AFP 会出现生理性升高^[7-10],因此 AFP 并不是理想的指标。本研究 HCC 患者血清 GP73 的阳性率为 76.7%,回顾性分析表明,AFP 作为早期 HCC 的监测工具阳性预测值为 9%~32%^[8],GP73 检测 HCC 的阳性率明显高于 AFP。本研究中 ROC 曲线结果显示 GP73 用于诊断 HCC 的临界值为 140 ng/mL,曲线下面积为 0.897,在此临界值下对 HCC 诊断的敏感度和特异性(75.1%、94.9%)均高于 AFP(52.3%、86.6%),与国内外研究结果一致,提示 GP73 较 AFP 在 HCC 诊断方面有较好的敏感度及特异性。

毛一雷等^[9]首次报道了 GP73 在我国人群的表达情况,提出 HBV 携带者的 GP73 水平明显升高,且在郑昭敏等^[10]研究中结果表明 GP73 在慢性乙型肝炎及以此为基础的肝硬化和原发性 HCC 患者中的表达显著提高。本研究结果显示,乙型肝炎组、肝硬化组及 HCC 组血清 GP73 水平均显著高于健康对照组及非肝性疾病组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),与上述结果一致,提示血清 GP73 的水平可能与 HBV 感染有关。本研究中 HCC 组血清 GP73 水平非常显著高于其他各

组,差异均具有统计学意义($P < 0.01$),与石玉玲等^[7]研究一致,另外 GP73 诊断 HCC 的敏感度及特异性较 AFP 好,提示血清 GP73 可能成为诊断 HCC 的一项新的血清学标志物。

其他疾病组中 GP73 水平较健康对照组高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),提示 GP73 的水平可能与其他疾病相关。郭振英等^[11]在其研究中表明前列腺癌、肾癌等疾病可导致 GP73 水平升高,但对此些疾病表达的特异性和敏感度均不理想,如 GP73 在正常肾小管上皮高表达,但其表达与肾癌的诊断及预后均无相关性。本研究中其他疾病组血清 GP73 水平又显著低于慢性乙肝组、肝硬化组及 HCC 组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),提示 GP73 在肝脏疾病的诊断价值要大于其他疾病的诊断价值,GP73 在其他疾病的诊断价值上仍需更多的研究。

本实验采用 ELISA 方法检测血清 GP73 水平,操作简单,试剂稳定,相关曲线准确度高,适合大量临床血清标本检测,方便研究。本研究表明 GP73 具有良好的临床应用价值,其诊断 HCC 的灵敏度及特异性均较 AFP 好,可作为诊断 HCC 的新标志物。由于本次研究样本数量有限,GP73 的临床应用价值仍需多中心、大样本的临床研究进一步评价。

参考文献

[1] 王然,王晓东,李凤焕,等. 高尔基体蛋白 GP73 在肝癌诊断中的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(13):1572-1574.
 [2] Willyard C. Researchers look for sweet method to diagnose cancer [J]. Nature Med,2007,13(11):1267-1271.

[3] Maitra A, Thuluvath PJ. GP73 and liver disease; a (Golgi) complex enigma[J]. Am J Gastroenterol,2004,99(6):1096-1098.
 [4] Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection [J]. Gene, 2000, 249 (12):53-65.
 [5] Kladney RD, Cui X, Bulla GA, et al. Expression of GP73, a resident Golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease [J]. Hepatology,2002,35(6):1431-1440.
 [6] 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.
 [7] 石玉玲,曹兰兰,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.
 [8] 顾剑锋,李明峰,顾树南,等. GP73 与肝脏疾病关系的研究进展 [J]. 肝胆胰外科杂志,2011,23(6):519-522.
 [9] 毛一雷,杨华瑜,徐海峰,等. 新的肝癌血清标志物 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癌早期诊断中的价值[J]. 中华实验和临床感染病杂志,2011,5(4):459-464.
 [11] 郭振英,张爱霞,曹伯良,等. GP73 在肿瘤诊断中的研究进展 [J]. 中华检验医学杂志,2010,33(5):469-472.

(收稿日期:2014-02-24)

(上接第 2167 页)

意义($P < 0.05$)。笔者又根据 Ccr 水平分组研究显示出单纯高血压组与高血压肾病组的 LP(a) 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

高血压本身就是炎症性疾病之一,有研究发现^[6-7]在高血压患者中 CRP 呈明显升高,且与血压的升高呈高度正相关;还有研究表明^[8]:CRP 水平可作为老年高血压患者合并左室肥厚或动脉粥样硬化的独立预测指标。高血压与炎症相互影响、互为因果并恶性循环^[9],因为 CRP 可通过损伤血管内皮细胞来削弱血管的舒张功能,而升高的血压又可操作血管内皮细胞,激活炎症反应,使得 CRP 升高,升高的 CRP 可诱使缩血管物质(如内皮素 1 和 2 等)的释放,收缩血管,同时促进血管平滑肌细胞增生、迁移,血管壁增厚,阻力增加。因此,慢性炎症构成了高血压及其并发症的共同病理基础,反过来 CRP 与血压水平及动脉粥样硬化密切相关。高血压组血 CRP 水平明显升高,高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。根据血压升高程度分组研究,CRP 水平随患者血压的升高也呈趋势性升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。笔者又根据 Ccr 水平分组研究:单纯高血压组与高血压肾病组的 CRP 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

综上所述,监测老年高血压患者 SUA、 β 2-MG、LP(a) 和 CRP 水平,可有效监测老年高血压患者肾功能的早期受损,可更快地、更有效发现患者的肾脏病变,有利于临床医生早期对其进行诊治。

参考文献

[1] 周新,府伟灵. 临床生物化学与检验[M]. 北京:人民卫生出版社,

2007:213.
 [2] 刘力生,王文,姚崇华. 中国高血压防治指南(2009 年基层版)[J]. 中华高血压杂志,2010,18(1):11-30.
 [3] 杜松柏. 高血压病与高尿酸血症的相关性探讨[J]. 实用心脑血管病杂志,2012,20(3):501-502.
 [4] Chu NF, Wang DJ, Liou SH, et al. Relationship between hyperuricemia and other cardiovascular disease risk factors among adult males in Taiwan [J]. Epidemiol,2010,16(1):13-17.
 [5] 邱志亮,沈良兰,张芬,等. 慢性肾细胞衰竭患者血清脂蛋白(a)水平的变化及临床意义的探讨[J]. 医学综述,2007,1(6):284-286.
 [6] 高枫,苏伟,龚少愚,等. 原发性高血压患者高敏 C 反应蛋白与动脉弹性的关系[J]. 中国老年学杂志,2010,30(23):3442-3444.
 [7] 王妮妮,张红苗,张雯,等. 阿卡波糖对高血压伴糖耐量减低患者内皮素及 C 反应蛋白的影响[J]. 实用医学杂志,2011,27(4):667-669.
 [8] 珠勒皮亚·司马义,陈玉岚,布海力且木·买买提. 原发性高血压老年患者 C-反应蛋白、同型半胱氨酸水平变化与颈动脉粥样硬化、左室肥厚关系[J]. 中国临床保健杂志,2013,16(1):1-3.
 [9] Vaziri ND, Rodriguez-Iturbe B. Mechanisms of disease: Oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension [J]. Nat Clin Pract Nephro,2006,2(10):582-593.

(收稿日期:2014-02-12)