

· 论著 · 临床研究 ·

血清 GP73、AFP、E-cadherin 在肝癌中的表达及在术后复发检测中的应用*

李 琪, 刘嘉林[△], 毕建刚, 刘利平, 刘树旺

(深圳市人民医院/暨南大学第二临床医学院肝胆胰外科, 广东深圳 518020)

摘要:目的 探讨血清高尔基体糖蛋白 73(GP73)、甲胎蛋白(AFP)、E-钙黏连蛋白(E-cadherin)在肝癌中的表达及在术后复发检测中的作用。方法 选择 2014 年 12 月至 2017 年 3 月于该院实施肝癌根治性切除术的 50 例肝癌患者(肝癌组)、50 例慢性肝炎患者(肝炎组)及 50 例健康人员(对照组),比较 3 组血清 GP73、AFP、E-cadherin 的表达,并观察肝癌患者术后 3 个月内的复发率,再次检测血清 GP73、AFP、E-cadherin 的表达。结果 肝癌组血清 GP73、AFP 明显高于肝炎组及对照组($P < 0.05$),血清 E-cadherin 明显比肝炎组及对照组低($P < 0.05$)。肝癌组 GP73、AFP 阳性率明显高于肝炎组及对照组, E-cadherin 阳性率明显比肝炎组及对照组低($P < 0.05$)。随访结果显示,有 18 例肝癌患者出现术后复发,32 例未复发,复发组术前、术后血清 GP73、AFP 均明显比未复发组高,血清 E-cadherin 低于未复发组($P < 0.05$),且复发组术后血清 GP73、AFP 明显高于术前,血清 E-cadherin 明显低于术前($P < 0.05$)。GP73、AFP、E-cadherin 联合诊断肝癌的特异度为 96.00%,明显高于各指标单项检测的特异度($P < 0.05$)。结论 联合检测血清 GP73、AFP、E-cadherin 在诊断肝癌中具有积极意义,且可作为预测肝癌术后复发的重要因子。

关键词:肝癌; 高尔基体糖蛋白 73; 甲胎蛋白; E-钙黏连蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.16.023

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2018)16-2018-04

文献标识码:A

The expression of serum GP73, AFP and E-cadherin in hepatocellular carcinoma and its application in the detection of postoperative recurrence*

LI Qi, LIU Jialin[△], BI Jiangan, LIU Liping, LIU Shuwang

(Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Shenzhen People's Hospital / Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen, Guangdong 518020, China)

Abstract: Objective To study the expression of serum golgi body glycoprotein 73(GP73), alpha fetoprotein(AFP) and E-cadherin in hepatocellular carcinoma and its application in the detection of postoperative recurrence. **Methods** 50 cases of liver cancer underwent radical resection of liver cancer (liver cancer group), 50 cases of chronic hepatitis (hepatitis group) and 50 cases of healthy persons (control group) from December 2014 to March 2017 in the hospital were selected as research objects, the expressions of serum GP73, AFP and E-cadherin were compared between the three groups, the recurrence rate of liver cancer patients within 3 months after operation was observed, and the expression of serum GP73, AFP and E-cadherin was tested again. **Results** The serum levels of GP73 and AFP in liver cancer group were higher than those in the hepatitis group and control group ($P < 0.05$), the serum level of E-cadherin was significantly lower than that in the hepatitis group and control group ($P < 0.05$). The positive rates of GP73 and AFP in liver cancer group were higher than that of the hepatitis group and control group, the positive rate of E-cadherin was significantly lower than that of the hepatitis group and control group ($P < 0.05$). Follow up results showed that 18 patients with liver cancer had recurrence after operation, and 32 cases had no recurrence, the serum levels of GP73 and AFP in the recurrent group were higher than those of the non recurrence group before and after the operation, and the serum E-cadherin levels were lower than that of the non relapse group ($P < 0.05$). The serum GP73 and AFP in the recurrent group were significantly higher than those before the operation, the serum E-cadherin was lower than that before the operation ($P < 0.05$). The sensitivity of GP73, AFP and E-cadherin in the di-

* 基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20150403101028193)。

作者简介:李琪,男,主治医师,主要从事肝胆胰外科疾病研究。△ 通信作者, E-mail: szliujialin@126.com。

agnosis of liver cancer were 96.00%, which was significantly higher than those of the individual test result of each index ($P < 0.05$). **Conclusion** The combined detection of serum GP73, AFP and E-cadherin has positive significance in the diagnosis of liver cancer, and could be used as an important factor in predicting the recurrence of liver cancer after operation.

Key words: liver cancer; Golgi body glycoprotein 73; alpha fetoprotein; E-cadherin

在全国范围内,所有恶性肿瘤中,肝癌的发病率居于第 6 位,病死率居于第 3 位,而随着吸烟人数的增加,生活环境的污染等因素,该病的发病率仍呈不断增长趋势^[1]。此类患者在发病早期无明显症状,多数患者在发现时已处于中晚期,丧失手术切除的最佳时机,且术后复发、远处转移的概率较大,预后较差^[2]。肿瘤标志物在恶性肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要作用,可反映肿瘤的生长情况,有助于辅助诊断、鉴别肿瘤及判断预后。高尔基体糖蛋白 73 (GP73)是近年来新发现的高尔基体的跨膜蛋白,在肝癌患者中的表达较高,和临床疗效、预后之间均具有较好的相关性^[3]。甲胎蛋白(AFP)是临床上较为常用的肿瘤标志物,但其敏感度欠佳,临床上通常将其与其余肿瘤标志物联合应用以提高诊断准确率^[4]。此外,表皮间质转化(EMT)在肿瘤的发生、发展中也发挥着关键性作用,而在众多 EMT 标志分子中,E-钙黏连蛋白(E-cadherin)是最重要的核心分子^[5]。但目前对于这 3 种指标联合检测应用的报道仍较少。因此,本研究旨在观察肝癌患者中血清 GP73、AFP、E-cadherin 的表达情况,并探讨其对术后复发的检测价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 12 月至 2017 年 3 月于本院实施肝癌根治性切除术的 50 例肝癌患者(肝癌组),肝癌诊断标准参照《原发性肝癌诊断与分期标准》^[6],并通过术后病理活检得以确诊,其中男 27 例,女 23 例,年龄 38~77 岁,平均(57.94±5.69)岁;选择同期接诊的 50 例慢性肝炎患者(肝炎组),肝炎诊断参照《慢性乙型肝炎防治指南》^[7],男 30 例,女 20 例,年龄 35~78 岁,平均(57.48±5.72)岁;并选择同期在本院接受健康体检的 50 例健康人群(对照组),男 28 例,女 22 例,年龄 35~79 岁,平均(58.13±5.39)岁,该组人群各类肝炎病毒标志物均为阴性,无心、肾、肝等功能异常。3 组一般资料比较无显著差异 ($P > 0.05$),且所有受试者均知情同意此研究,研究已获得本院伦理委员会批准实施。

1.2 方法 所有受试者采集 3 mL 空腹静脉血,待自然凝固后,以 2 500 r/min 离心 5 min 将血清分离,并置于冷冻箱内储存以备检测,所有标本均确保无乳糜血、溶血等现象。血清 GP73、E-cadherin 均使用 ELISA 法检测,选择美国伯乐 550 型酶联仪,GO73 试剂盒购于热景生物技术有限公司,GP73 $\geq 150 \mu\text{g/L}$ 则为阳性,E-cadherin 试剂盒购于美国 R&D 公司,E-cadherin $\geq 2 100 \mu\text{g/L}$ 则为阳性;血清 AFP 使

用美国雅培 AXSYM 免疫化学发光分析仪和配套试剂检测,当 AFP $> 120 \mu\text{g/L}$ 则为阳性。对所有实施手术的肝癌患者进行随访,记录 3 个月内复发率,并再次检测血清 GP73、AFP、E-cadherin 的表达。

1.3 统计学处理 以 SPSS18.0 软件包处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,所有数据经检验后均为正态分布,多组比较使用方差分析,组间两两比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,血清 GP73、AFP、E-cadherin 联合检测对肝癌复发的诊断价值使用 ROC 曲线评价,以串联试验进行, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 GP73、AFP、E-cadherin 比较 肝癌组血清 GP73、AFP 明显高于肝炎组及对照组,血清 E-cadherin 明显比肝炎组及对照组低 ($P < 0.05$),肝炎组血清 GP73、AFP 明显高于对照组,血清 E-cadherin 明显比对照组低 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 3 组血清 GP73、AFP、E-cadherin 比较 ($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	n	GP73	AFP	E-cadherin
肝癌组	50	283.84±45.46	245.85±40.15	988.45±143.83
肝炎组	50	100.45±17.94*	93.27±14.29*	1 778.31±217.48*
对照组	50	32.83±4.72*#	40.72±5.82*#	2 908.29±145.12*#
F		1 049.581	920.498	1 568.494
P		0.000	0.000	0.000

注:与肝癌组比较,* $P < 0.05$;与肝炎组比较,# $P < 0.05$

2.2 3 组血清 GP73、AFP、E-cadherin 阳性率比较 肝癌组 GP73、AFP 阳性率明显高于肝炎组及对照组,E-cadherin 阳性率明显比肝炎组及对照组低 ($P < 0.05$),肝炎组 GP73、AFP 阳性率明显高于对照组,E-cadherin 阳性率明显比对照组低 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 3 组血清 GP73、AFP、E-cadherin 阳性率比较 [$n(\%)$]

组别	n	GP73	AFP	E-cadherin
肝癌组	50	38(76.00)	35(70.00)	12(24.00)
肝炎组	50	7(14.00)*	8(16.00)*	28(56.00)*
对照组	50	0(0.00)*#	0(0.00)*#	49(98.00)*#
χ^2		38.828	29.743	57.082
P		0.000	0.000	0.000

注:与肝癌组比较,* $P < 0.05$;与肝炎组比较,# $P < 0.05$

2.3 肝癌患者术后复发组及未复发组血清 GP73、AFP、E-cadherin 比较 随访结果显示,有 18 例肝癌患者出现术后复发,32 例未复发,复发组术前、术后血清 GP73、AFP 均明显比未复发组高,血清 E-cadherin

低于未复发组($P < 0.05$),且复发组术后血清 GP73、AFP 明显高于术前,血清 E-cadherin 明显低于术前($P < 0.05$);未复发组术后血清 GP73、AFP 明显低于

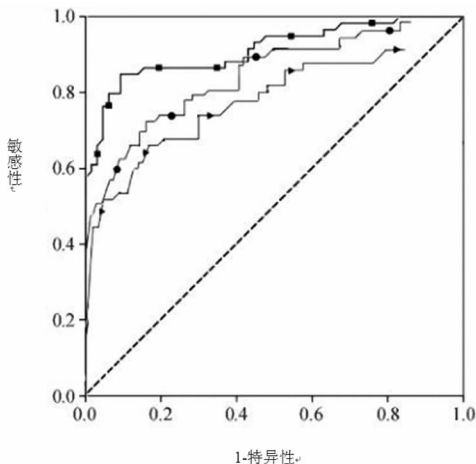
术前,血清 E-cadherin 明显高于术前($P < 0.05$),见表 3。

表 3 肝癌患者术后复发组及未复发组血清 GP73、AFP、E-cadherin 比较($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	GP73	AFP	E-cadherin
未复发组	18	术前	141.94 ± 25.93	113.94 ± 20.85	1691.93 ± 137.45
		术后 3 个月	93.87 ± 11.27*	87.94 ± 15.12*	1985.42 ± 140.23*
复发组	32	术前	308.13 ± 37.81#	273.84 ± 36.71#	896.83 ± 118.12#
		术后 3 个月	317.83 ± 40.94*#	299.47 ± 39.82*#	755.92 ± 106.61*#

注:与术前比较,* $P < 0.05$;与复发组比较,# $P < 0.05$

2.4 血清 GP73、AFP、E-cadherin 诊断肝癌的 ROC 曲线分析 当截断值为 150 $\mu\text{g/L}$ 时,GP73 诊断肝癌的灵敏度为 82.00%,特异度为 86.00%;当截断值为 120 $\mu\text{g/L}$ 时,AFP 诊断肝癌的灵敏度为 80.00%,特异度为 84.00%;当截断值取 2 100 $\mu\text{g/L}$ 时,E-cadherin 诊断肝癌的灵敏度为 78.00%,特异度为 86.00%;而 GP73、AFP、E-cadherin 联合诊断肝癌的灵敏度为 76.00%,特异度为 96.00%,明显高于各指标单项检测的特异度(86.00%、84.00%、86.00%),差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。



注:■为 GP73;●为 AFP;▲为 E-cadherin

图 1 血清 GP73、AFP、E-cadherin 诊断肝癌的 ROC 曲线

3 讨论

目前临床上对于肝癌的诊断依旧需借助影像学、病理检查等,但单独的影像学检测难以鉴别肝内良恶性病变,尤其是在鉴别肝癌和肝炎后肝硬化所致的结节性改变中较为困难。在我国的肝癌患者中,大多数患者是基于长期的慢性肝炎所致,而在此类高危人群中,对其进行早期的诊断及治疗可明显改善 5 年生存率^[8]。近年来,较多学者已逐渐开始重视肿瘤标志物对肝癌的诊断价值,并发现肿瘤标志物可在影像学发现肝癌之前便存在异常表达,可起到有效的监测及预警作用^[9-10]。

AFP 已是目前公认的肝癌辅助诊断指标,但仍有 20%~30% 的肝癌患者 AFP 浓度较低或呈阴性,而

在有些慢性肝炎患者中也检测出 AFP 的异常升高,极易增加漏诊、误诊率,为临床诊断带来诸多困难^[11-12]。且在肝癌复发的诊断中,应用单一的诊断标志物仍有一定局限性,而联合检测在解决不同标志物假阳性、假阴性中作用关键,有助于提高准确率。

GP73 作为 II 型跨膜基化修饰蛋白,主要在高尔基体上主要存在。YANG 等^[13]报道指出,在健康人群中,GP73 在肝细胞中表达较低,但在病变的肝癌细胞中,GP73 的表达较高,在细胞黏附、信号传导过程中有所参与,可影响到蛋白质的稳定性和分泌,和机体免疫调节、炎性反应密切相关,并指出 GP73 的上调可增加肝细胞损伤。范公忍等^[14]研究中也指出,在对照组、慢性乙型肝炎组、乙肝后肝硬化组、肝癌组中,GP73 的表达逐渐递增,和疾病严重程度存在着密切关系,并认为 GP73 可促使肝癌的发生、发展。

EMT 主要指在特定的生理病理状态下,上皮细胞向间质细胞所转化的一种表现,国内外均有研究指出,在成人中,其在多种疾病均有参与,包括组织器官纤维化及肿瘤的发生、发展等,目前也被认为是肿瘤转移的重要机制,可引发不良预后^[15-16]。E-cadherin 作为 EMT 事件的核心分子,LEE 等^[17]发现,肝癌患者中 E-cadherin 的表达和肝组织中的 Snail 调控作用相关,其可降低 E-cadherin 的表达,打破细胞间的紧密联系,降低细胞间黏附力,促使 EMT 的发生,进一步促进肝癌的复发及转移。黄建强等^[18]研究中也显示,在 81.00% 的肝癌患者中,血清 E-cadherin 的表达较低,且低表达的肝癌患者预后明显比中、高表达的患者差,并推测 E-cadherin 的低表达和肝癌的不良预后密切相关。WANG 等^[19]报道也指出,E-cadherin 可作为影响肝癌患者肝移植术后复发的独立预后因素。

本研究结果显示,在对照组、肝炎组及肝癌组中,血清 GP73、AFP 的表达及阳性率以此递增,而血清 E-cadherin 的表达和阳性率以此递减,显示出血清 GP73、AFP、E-cadherin 在判断疾病中具有积极意义,可了解肝脏疾病的良恶性。在随访过程中,复发患者血清 GP73、AFP 明显比未复发者高,血清 E-cadherin 较低,且复发者术后血清 GP73、AFP、E-cadherin 和

术前比较均具有显著差异,也进一步显示,血清 GP73、AFP 高表达及 E-cadherin 低表达的患者术后更容易复发,可为临床监测肝癌术后复发起到预警作用。此外,GP73、AFP、E-cadherin 联合诊断肝癌的特异度为 96.00%,明显高于各指标单项检测的特异度,也提示联合检测可明显提高诊断特异性,在判断肝癌术后复发中具有更好的临床价值。

4 结 论

目前对于 GP73、AFP、E-cadherin 联合检测在肝癌中的应用的报道仍较少。本研究观察了肝癌患者中血清 GP73、AFP、E-cadherin 的表达情况,发现联合检测血清 GP73、AFP、E-cadherin 对诊断肝癌具有积极意义,且可作为预测肝癌术后复发的重要因子。

参考文献

[1] 陈建国,朱健,张永辉,等.肝癌流行趋势的改变:基于启东 40 年癌症登记资料的分析[J].中国肿瘤,2014,23(8):621-628.

[2] 扈彩霞,郑加生,林伟,等.原发性肝癌微波消融术后早期复发危险因素分析[J].临床肝胆病杂志,2015,31(2):228-231.

[3] AI N, LIU W, LI Z, et al. High expression of GP73 in primary hepatocellular carcinoma and its function in the assessment of transcatheter arterial chemoembolization[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4):3953-3958.

[4] 崔冉亮,李悦国,张鹏宇,等.血清高尔基体蛋白 73 联合甲胎蛋白检测在原发性肝癌患者中的诊断价值[J].中国肿瘤临床,2015,42(4):222-225.

[5] BAYS J L, CAMPBELL H K, HEIDEMA C, et al. Linking E-cadherin mechanotransduction to cell metabolism through force-mediated activation of AMPK[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(6):724-731.

[6] 中国抗癌协会肝癌专业委员会.原发性肝癌的临床诊断与分期标准[J].现代实用医学,2002,14(4):213-220.

[7] 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(2015 年更新版)[J].临床肝胆病杂志,2015,31(12):1941-1960.

[8] 陈平圣.我国原发性肝癌病理诊断现状及展望[J].泸州医学院学报,2016,39(5):410-413.

[9] 汪晋,马金良.肝癌预后相关影响因素[J].中国普通外科杂志,2015,24(2):270-274.

[10] GAO J, SONG P. Combination of triple biomarkers AFP, AFP-L3, and PIVAKII for early detection of hepatocellular carcinoma in China: Expectation[J]. *Drug Discov Ther*, 2017, 11(3):168-169.

[11] MA H, SUN X, CHEN L, et al. Multiplex immunochips for High-Accuracy detection of AFP-L3% based on Surface-Enhanced Raman Scattering: implications for early liver cancer diagnosis [J]. *Anal Chem*, 2017, 89(17):8877-8883.

[12] 赵倩,王小平,胥冰,等.甲胎蛋白与肝癌免疫的研究进展[J].生物学杂志,2016,33(2):95-99.

[13] YANG Y, LIU Q, ZHANG H, et al. Silencing of GP73 inhibits invasion and metastasis via suppression of epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(2):1182-1188.

[14] 范公忍,王伟芳,韩聚强,等.血清 AFP、GP73 和 GPC3 联合检测在原发性肝癌诊断中的应用[J].检验医学,2014,29(9):884-888.

[15] 刘金霞,翟利帅,陆翠华,等.EHD2 与 E-cadherin 在肝细胞肝癌中的表达及其相关性[J].中国肿瘤临床,2017,44(3):118-122.

[16] TORABIZADEH Z, NOSRATI A, SAJADI SARAVI S N, et al. Evaluation of E-cadherin expression in gastric cancer and its correlation with clinicopathologic parameters[J]. *Int J Hematol*, 2017, 11(2):158-164.

[17] LEE S W, CHONG J U, MIN S O, et al. Are Adipose-Derived stem cells from liver falciform ligaments another possible source of mesenchymal stem cells? [J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(5):855-866.

[18] 黄建强,常瑞明,温立强,等.E-cadherin 在肝癌组织中的表达及其对肝癌患者预后的影响[J].第三军医大学学报,2014,36(22):2301-2303.

[19] WANG B O, LIU J Y, XIONG Y, et al. Soluble E-cadherin as a serum biomarker in patients with HBV-related liver diseases [J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(16/17):1232-1237.

(收稿日期:2018-01-28 修回日期:2018-03-10)

(上接第 2017 页)

suggest differential substrate conversion by glutaminyl cyclase isoenzymes[J]. *Biol Chem*, 2016, 397(1):45-55.

[13] 张铭予,黄涛,吉晓琴,等.α-硫辛酸对 2 型糖尿病肾病患者血清肿瘤坏死因子受体 1 浓度和 PCX 排泄的影响[J].中国药物与临床,2016,16(5):685-687.

[14] Baird J S. Sieving and extraction of peptides and proteins during hemofiltration: a systematic review [J]. *Clin Nephro*, 2017, 87(6):271-277.

[15] LIU J J, GHOSH S, KOVALIK J P, et al. Profiling of

plasma metabolites suggests altered mitochondrial fuel usage and remodeling of sphingolipid metabolism in individuals with type 2 diabetes and kidney disease[J]. *Kidney Int Rep*, 2016, 2(3):470-480.

[16] MUELLER M, WEINMANN D, TOEGEL S, et al. Compounds from *Caesalpinia sappan* with anti-inflammatory properties in macrophages and chondrocytes [J]. *Food Funct*, 2016, 7(3):1671-1679.

(收稿日期:2018-01-30 修回日期:2018-03-12)