

• 临床检验研究论著 •

血清 AFP-L3 与 GP73 联合检测对 AFP 低浓度肝癌的诊断价值

郭晓红

(河南省安阳市第三人民医院检验科,河南安阳 455000)

摘要:目的 探讨甲胎蛋白异质体(AFP-L3)与高尔基体蛋白 73(GP73)联合检测在低浓度 AFP 肝癌诊断中的价值。方法 收集近 3 年在该院进行治疗的低浓度 AFP 肝病患者 224 例临床资料和血清学检测作为研究。依据肝病种类分为肝癌组($n=112$),肝硬化组($n=67$),肝炎组($n=45$)。选择同时期健康体检中心进行健康查体者 63 例作为对照组,酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组 GP73 的表达情况;应用甲胎蛋白异质体亲和吸附离心管洗脱获得,同时化学发光法检测原始血清中总 AFP 和 AFP-L3,计算 AFP-L3 在总 AFP 中的比率。结果 肝癌组 AFP-L3 和 GP73 水平均显著高于肝硬化组、肝炎组、对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。肝癌组患者中 AFP-L3 和 GP73 阳性率均显著高于肝硬化组、肝炎组、对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。肝癌组患者 GP73 阳性率显著高于 AFP-L3 阳性率,差异具有统计学意义($P<0.05$)。采用 AFP-L3 和 GP73 联合检测的灵敏度和准确度最高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 AFP-L3 与 GP73 均可作为诊断低浓度 AFP 肝癌的血清标记物,二者联合检测具有更高的灵敏度和准确性,可提高低浓度 AFP 肝癌的诊断率。

关键词: 肝肿瘤; 甲胎蛋白类; 高尔基体蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)18-2379-02

Diagnosis value on combined detection of serum AFP-L3 and GP73 in primary liver cancer with low level of AFP

Guo Xiaohong

(Department of Clinical Laboratory, Anyang Municipal the Third People's Hospital of Henan province, Anyang, Henan 455000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the clinical values of alpha-fetoprotein-L3 (AFP-L3) and golgiprotein73 (GP73) in diagnosing primary liver cancer with low level of AFP. **Methods** The affinity microcentrifugal column method and enzyme-linked immunosorbent assay were employed to detect the serum level of AFP-L3 and GP73 in 112 cases of primary liver cancer, 67 cases of liver cirrhosis, 45 cases of chronic hepatitis B and 63 healthy controls. The level of AFP with all patients were low. The proportion of AFP-L3/AFP(%) was calculated in the following analyses. **Results** Serum level of AFP-L3(%) and GP73 were significant higher in primary liver cancer with low level of AFP group than other groups($P<0.05$). The positive rate of AFP-L3(%) and GP73 were significant higher in liver cancer group with low level of AFP than other groups($P<0.05$). The sensitivity and accuracy of combined detection of the two parameters were significant higher than detection of only one parameter($P<0.05$). **Conclusion** Both serum AFP-L3(%) and GP73 can be use as biomarkers in the diagnosis of primary liver cancer with low level of AFP. Combine detection can improve diagnostic accuracy, with a higher sensitivity in diagnosing primary liver cancer with low level of AFP.

Key words: liver neoplasms; alpha-fetoproteins; golgi protein

原发性肝癌作为临床上消化系统常见的恶性肿瘤之一,我国则是肝癌的高发国家并且其导致的死亡病例数仅次于肺癌^[1]。肝癌的早期诊断的准确性对临床治疗有重大意义^[2]。因此希望通过对早期肝癌患者血清甲胎蛋白异质体(AFP-L3)与高尔基体蛋白 73(GP73)水平检测减少低浓度 AFP 肝癌的漏诊率,本研究通过对低浓度 AFP 肝癌的血清 AFP-L3 和 GP73 水平的检测分析,进一步探讨 AFP-L3 和 GP73 单一及联合对低浓度 AFP 肝癌的检测效能,从而提高早期肝癌患者的诊断率以便及时进行干预治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2012 年 12 月本院进行治疗的肝病患者 224 例临床资料和血清学检测作为研究。所有患者经乙肝五项检测均为慢性 HBV 感染者且血清 AFP 浓度在 8.01~200.00 $\mu\text{g/L}$,依据肝病种类分为肝癌组 112 例,肝硬化组 67 例,肝炎组 45 例,均符合其诊断标准^[5-6]。选择同期健康体检中心进行健康查体者 63 例作为对照组,血清 AFP 为阴性且均排除肝脏病变、良恶性肿瘤等疾病。各组患者一般资料如年龄、性别等比较差异无统计学意义($P>0.05$)。患者

各项研究具有可比性。

1.2 仪器与试剂 DXI800 全自动化化学发光免疫分析仪(美国贝克曼);GP73 蛋白酶联免疫吸附检测试剂盒(北京中杉金桥公司);耦联有小扁豆凝集素微球的 AFP-L3 亲和吸附离心管(北京热景生物技术有限公司);Zenyth340 型酶标仪(英国 Biochrom 公司)。

1.3 采集测定方法 血样取自待检者清晨空腹静脉血 4 mL,室温静置 1 h 后 500 \times g 分离血清,依据试剂盒采用亲和吸附法测定 AFP-L3 和 ELISA 检测 GP73 以及化学发光免疫法测定 AFP。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 进行统计学分析。计数资料采用 χ^2 检验进行比较,计量资料多组间两两比较采用 Dunnett- t 检验进行比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组中 AFP-L3 和 GP73 水平比较分析 见表 1。

2.2 各组中 AFP-L3 和 GP73 阳性率比较分析 以 AFP-L3 $>10\%$ 和 GP73 $>112\text{ ng/mL}$ 为阳性^[7]。见表 2。

2.3 单项及联合检测对低浓度 AFP 肝癌的诊断价值 结果

见表 3。

表 1 各组中 AFP-L3 和 GP73 水平比较分析(̄x±s)			
组别	n	AFP-L3(%)	GP73(ng/mL)
肝癌组	112	16.72±6.15*	131.23±29.71*
肝硬化组	67	8.24±3.14	86.41±15.89
肝炎组	45	7.96±2.52	77.23±17.53
对照组	63	6.13±1.48	37.27±6.97

* :P<0.05,与其他组比较。

表 2 各组 AFP-L3 和 GP73 阳性率比较[n(%)]			
组别	n	AFP-L3	GP73
肝癌组	112	96(85.712)*	107(95.546)*#
肝硬化组	67	11(16.418)	9(13.433)#
肝炎组	45	7(15.556)	6(13.333)#
对照组	63	0(0.000)	0(0.000)#

* :P<0.05,与其他组比较;# :P<0.05,与 AFP-L3 阳性率比较。

表 3 单项及联合检测诊断价值比较(%)			
项目	灵敏度	特异度	准确度
单项 AFP-L3	85.7	89.7	88.2
单项 GP73	95.5	91.4	93.0
AFP-L3 和 G P73 联合检测	98.2	95.4	96.9

3 讨 论

随着生活习惯和居住环境的变化,肿瘤在人类中的发病率越来越高。原发性肝癌作为我国常见的消化系统肿瘤之一,发病率和致死率在逐年升高。研究发现,原发性肝癌早期及时进行治疗,可以提高患者的 5 年生存率^[8-9]。目前,临床普遍采用甲胎蛋白 AFP 作为临床常用的肝癌诊断筛查标准。但是,近年来在大样本的病例观测研究中发现有许多肝癌患者早期 AFP 并未出现明显的升高^[10]。另有研究显示虽然 AFP 作为肝癌早期诊断的重要血清学指标之一,但其假阳性率和假阴性率较高约为 40%,特别是针对于 AFP 浓度较低患者的肝癌诊断准确度和灵敏度较低^[11]。为此研究人员不断寻找有较高的敏感度的理想的肝癌血清标志物,能够更为准确的在低浓度 AFP 肝癌早期作出诊断,而且特异度较高可以将肝癌与其他肝病及其他部位的肿瘤区分。随着基因学和蛋白质组学的发展,近年来研究人员发现 AFP-L3 和 GP73 为肝癌两种新型较为理想血清肿瘤标记物^[12]。本研究旨在探讨 GP73 与 AFP-L3 在低浓度 AFP 原发性肝癌患者及相关肝病和健康人中的表达情况及二者联合检测低浓度 AFP 肝癌中的具体诊断价值。

研究发现 AFP 可分为非结合型和结合型小扁豆凝集素。非结合型小扁豆凝集素主要有良性病变肝细胞分泌的 AFP-L1 和孕妇体内分泌的 AFP-L2,而结合型小扁豆凝集素 AFP-L3 主要由肝癌细胞分泌,所以为肝癌所特有并称之为甲胎蛋白异质体。相关研究发现 AFP-L3 随着肝癌病灶的增大而不断升高,对于肝癌的诊断具有较好的特异性^[13-14]。依据文献中所列的原发性肝癌 AFP-L3 诊断的最佳临界值^[7],在本组研究结果中,原发性肝癌组的 AFP-L3 水平,AFP-L3 比值(%)以及阳性率均显著高于其他各组(P<0.05),进一步表明可以

应用血清 AFP-L3 水平作为临床检测原发性肝癌的有效分子标志物。

GP73 作为整合膜蛋白在正常机体内位于高尔基体顺面膜囊上,然而在机体出现异常出游疾病状态时,GP73 可以分离到细胞表面。许多学者致力于将其作为肝癌标志物的分子机制的研究中。国内学者应用 ELISA 对原发性肝癌、肝硬化和肝炎血清中 GP73 的含量进行检测,发现 GP73 在肝脏的恶性病变中具有较好的特异性和准确性,从而与 AFP 的检测互补进行原发性肝癌的检测^[15-16]。依据目前文献^[7]相关报道的原发性肝癌 GP73 诊断的最佳临界值,在本组研究结果中,原发性肝癌组的 GP73 水平和阳性率均显著高于其他各组(P<0.05)。且研究发现原发性肝癌组中 GP73 阳性率显著高于 AFP-L3,差异具有统计学意义(P<0.05)。由本研究得知,在原发性肝癌的血清分子生物学标记诊断中 GP73 水平测定比 AFP-L3 的测定更好的一些。

另外本研究采用单项 AFP-L3、单项 GP73 和联合二者进行低浓度 AFP 的原发性肝癌的临床诊断,经比较发现单独采用 AFP-L3 和 GP73 作为标志物进行诊断,其中 AFP-L3 的诊断灵敏度较高些,但 GP73 诊断的特异度要高些。多数研究结果表明在对于肿瘤的诊断中采用多个肿瘤分子标志联合检测进行诊断可以提高临床检测的准确度和敏感度^[17-18]。本研究中通过 AFP-L3 和 GP73 的联合检测发现对肝癌的诊断的灵敏度和准确度均高于单独检测,差异具有统计学意义(P<0.05)。

总之,血清中 AFP-L3 和 GP73 水平的测定可作为低浓度 AFP 肝癌的临床诊断分子标志物,联合检测的有助于提高低浓度 AFP 肝癌的诊断率,可以及时采取有效治疗措施改善患者预后。

参考文献

[1] 贾志凌,王莉,刘畅,等. 甲胎蛋白异质体对肝癌诊断的临床意义[J]. 中国肿瘤,2010,19(10):686.

[2] Marrero JA, E-I Serag HB. Alpha-fetoprotein should be included in the epatocellular carcinoma surveillance guidelines of the ameri can association for the study of liver diseases[J]. Hepatology, 2011,53(3):1060.

[3] 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.

[4] 朱国民,周晓庆,林长青,等. 新肝癌标志物高尔基体蛋白 GP73 在肝癌血清学诊断中的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(15):2350.

[5] 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]. 中华肝脏病杂志, 2001,9(6):324.

[6] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000,8(6):324-329.

[7] 姚建华. 高尔基体蛋白 73 和甲胎蛋白联检在原发性肝癌诊断中的临床应用[J]. 放射免疫学杂志, 2012,25(6):673-675.

[8] Choi JY, Jung SW, Kim HY, et al. Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP[J]. World J Gastroenterol, 2013,19(3):339-346.

[9] Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, et al. Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively[J]. Hepatol Res, 2011,41(11):1036-1045.

(下转第 2382 页)

续表 1 各组血清 PCT、hs-CRP 及 IL-6 水平比较(̄x±s)				
组别	n	PCT(μg/L)	hs-CRP(mg/L)	IL-6(ng/L)
治疗后	88	0.26±0.18	1.26±0.96	52.07±18.64 [#]
正常对照组	72	0.22±0.13	1.19±0.49	19.62±7.32

*: $P<0.05$,与 AECOPD 组治疗后和正常对照组比较。[#]: $P<0.05$,与正常对照组比较。

3 讨 论

PCT 是无激素活性的降钙素前肽物质,由 116 个氨基酸组成,相对分子质量为 13 000,血清中半衰期约为 25~30 h。生理情况下,甲状腺滤泡旁细胞可产生极少量的 PCT,正常情况下血清 PCT 水平很低($<0.1\text{ ng/mL}$)。细菌感染和脓毒血症等病理状态下,PCT 主要由甲状腺外组织、细胞(主要是肝脏)在细菌毒素和炎性细胞因子刺激下分泌。PCT 作为一种炎性细胞因子,对细菌感染敏感,当机体发生细菌感染时 PCT 浓度会显著升高,而在病毒感染的局部炎症反应时保持低水平,因此 PCT 可作为诊断细菌感染的一个新的理想指标^[3]。近年来,国内外均有研究证实 AECOPD 患者血清 PCT 浓度明显高于 COPD 稳定期患者及健康人群^[4]。

CRP 是一种重要的急性时相反应蛋白,经糖皮质激素介导在多种细胞因子如 IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)、淋巴细胞活化因子等参与下调控肝细胞合成和分泌并释放入血,其血清浓度不受性别、年龄、贫血、高球蛋白血症、妊娠等因素影响。CRP 半衰期为 6 h,经抗菌药物治疗后,随着炎症的消退,3~7 d 可迅速降至正常,故 CRP 可作细菌感染早期诊断敏感的但非特异性指标^[5]。hs-CRP 是近几年发展起来的特异性更强、敏感度更高的一种检测 CRP 的方法。hs-CRP 不仅具有重要的免疫调节作用,而且能增加巨噬细胞的活性和运动,促进对各种细菌、异物和病毒的吞噬,刺激单核细胞表面的组织因子表达及其他免疫调节功能。近年来研究显示,hs-CRP 作为一个炎症指标,对于早期诊断 AECOPD 患者有较高的临床应用价值^[6]。

IL-6 是体内由多种细胞产生的有多种生物学活性的细胞因子,在正常情况下可调节机体免疫应答,而在病理状态下,可诱导全身性的急性期反应物释放,引起免疫性组织病理损伤。IL-6 是宿主早期对炎性反应的重要介质,它在细菌感染入侵机体后几小时达高峰,普通感染时血清 IL-6 变化很小,只有在重症感染时才有明显升高^[7]。IL-6 作为 COPD 重要的炎性介质和损伤因子,在 COPD 的发病过程中具有重要意义^[8]。

本文对 AECOPD 患者治疗前后及正常对照组血清 PCT、hs-CRP 及 IL-6 进行检测,得出 PCT、hs-CRP 及 IL-6 水平在 AECOPD 患者中增高且差异有统计学意义。血清 PCT、hs-CRP 及 IL-6 在一定程度上可作为判断细菌感染的早期标志物,可提示病情的严重程度,在 AECOPD 患者诊治中早期联合检测血清 PCT、hs-CRP 及 IL-6 水平可作为反映感染情况程度指标,为临床早期诊断、早期治疗提供理论依据^[9-12]。

参考文献

[1] Saint S,Flaherty KR,Abrahamse P,et al. Acute exacerbation of chronic bronchitis disease-specific issues that influence the cost-effectiveness of antimicrobial therapy[J]. ClinTher,2001,23(3): 499-512.

[2] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志,2007,30(1):8-17.

[3] 邓拥军,格兰. 降钙素原在感染性疾病诊断及疗效观察的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(19):2430-2431.

[4] 呼新建,常晓悦,边喜明,等. AECOPD 血清 PCT 检测的临床价值及其与肺功能的关系[J]. 临床肺科杂志,2011,16(9):1388-1390.

[5] 郭彤,董国庆,袁世新,等. 急性上呼吸道感染患儿外周血 C-反应蛋白的测定及临床意义[J]. 小儿急救医学,2003,10(4):227-228.

[6] 傅冠华,张丽英,徐瑞龙,等. COPD 急性加重期患者血清 hs-CRP 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2012,25(2):227-228.

[7] de Bont ES,Martens A,van Raan J,et al. Tumor necrosis factor-alpha,interleukin-1 beta, and interleukin-6 plasma levels in neonatal sepsis[J]. Pediatr Res,1993,33(4 Pt 1):380-383.

[8] 牟小芬,田亚平,郭广宏,等. 探讨白细胞介素-8、白细胞介素-6 和 C-反应蛋白对慢性阻塞性肺疾病中气道炎症的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2005,15(6):615-617.

[9] 杨鑫玲. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期 C-反应蛋白水平临床价值探讨[J]. 吉林医学,2013,34(9):1643-1644.

[10] 陈军,季康. 血清降钙素原评价慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者感染及预后的临床价值[J]. 临床医药实践,2013,22(1):38-39.

[11] 朱艳霞. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期血清降钙素原水平变化[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2013,27(1):85-86.

[12] 周仁伟. 血清降钙素原联合 C-反应蛋白测定在慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床意义[J]. 右江医学,2012,40(6):809-810.

(收稿日期:2013-04-25)

(上接第 2380 页)

[10] Colombo M. Screening and diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Liver Int,2009,29(Suppl 1):143-147.

[11] Stefaniuk P,Cianciara J,Wiercinska-Drapalo A. Present and future possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol,2010,16(4):418-424.

[12] 孔祥亘,韩绍磊,郑昭敏,等. 高尔基体蛋白 73 联合甲胎蛋白异质体在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 山东大学学报:医学版,2011,49(4):110.

[13] 许文芳,费迎明,周建康,等. 血清 GP73、AFP 和 AFP-13 联合检测在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2011,25(4):286-288.

[14] Wright LM,Yong S,Picken MM,et al. Decreased survival and

hepato-renal pathology in mice with C-terminally truncated GP73 (GOLPH2)[J]. Int J Clin Exp Pathol,2009,2(1):34-47.

[15] 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.

[16] 张宏,叶迎宾,李淑敏,等. 新型肿瘤标志物用于原发性肝癌诊断的临床研究[J]. 河北医药,2012,34(21):3218-3220.

[17] 赵建军,刘洪莉,朱武. AFP 联合三种肿瘤标志物检测对原发性肝癌诊断价值的研究[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(3):81-82.

[18] 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.

(收稿日期:2013-04-17)