

• 临床检验研究论著 •

血清 GPC3 与 AFP-L3 检测在原发性肝癌诊断中的应用

周助权, 张民军[△], 宋胤

(解放军第八六医院检验科, 安徽当涂 243100)

摘要: 目的 探讨磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(GPC3)及甲胎蛋白异质体(AFP-L3)用于原发性肝癌(PHC)诊断的临床应用价值。方法 分别采用酶联免疫吸附法和亲和吸附法检测 53 例 PHC 患者(PHC 组)、36 例肝硬化患者(肝硬化组)以及 30 例健康体检者(健康对照组)血清 GPC3 水平以及 AFP-L3 占总 AFP 的比例。结果 GPC3 用于诊断 PHC 的最佳临界值为 283.5 ng/L, 受试者工作特征曲线(ROC)下面积 0.881, 95% 置信区间 0.815~0.947; 诊断灵敏度 56.6%, 特异度 89.4%; AFP-L3 用于诊断 PHC 的最佳界值为 11.25%, ROC 曲线下面积 0.901, 95% 置信区间 0.840~0.962; 诊断灵敏度 62.3%, 特异度 87.9%。PHC 组血清 GPC3 以及 AFP-L3 的含量明显高于肝硬化组以及健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 肝硬化组血清 GPC3、AFP-L3 水平明显高于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); PHC 患者 GPC3 与 AFP-L3 之间具有一定相关性($r = 0.613$, $P < 0.01$)。与 GPC3、AFP-L3 单项检测相比, 二者联合检测可明显提高 PHC 诊断的灵敏度及总有效率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 二者单项检测各指标之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 PHC 患者血清 GPC3 以及 AFP-L3 含量明显增高, 二者联合检测对 PHC 的诊断具有重要临床价值。

关键词: 肝肿瘤; 肝硬化; 蛋白聚糖类; 甲胎蛋白类

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.020

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)01-0049-03

Clinical value of serum GPC3 and AFP-L3 detection in diagnosis of primary hepatocellular carcinoma

Zhou Zhuquan, Zhang Minjun[△], Song Yin

(Department of Clinical Laboratory, the 86th Hospital of People's Liberation Army, Dangtu, Anhui 243100, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of Glycican-3 (GPC3) and alpha-fetoprotein heterogeneity (AFP-L3) in diagnosis of primary hepatocellular carcinoma (PHC). Methods Total of 53 patients with PHC, 36 patients with liver cirrhosis and 30 healthy subjects were enrolled in this study. Enzyme linked immunosorbent assay and affinity adsorption assay were used to detect the serum level of GPC3 and ratio of AFP-L3 in total AFP, respectively. Results The optimal critical value of serum GPC3 in the diagnosis of PHC was 283.5 ng/L, the area under the curve was 0.881, 95% confidence interval, 0.815~0.947, the sensitivity was 56.6%, and specificity was 89.4%. The optimal critical value of serum AFP-L3 in the diagnosis of PHC was 11.25%, the area under the curve was 0.901, 95% confidence interval, 0.840~0.962; the sensitivity was 62.3%, and specificity was 87.9%. Serum GPC3 and AFP-L3 in the PHC group were significantly higher than that in the liver cirrhosis group and healthy control group($P < 0.05$). Serum levels of GPC3 and AFP-L3 had a positive correlation in patients with PHC($r = 0.613$, $P < 0.01$). Compared with GPC3 and AFP-L3 separately, the two combined detection could significantly improve the sensitivity of the PHC diagnosis and the total efficiency($P < 0.05$), while specific and no significant difference($P > 0.05$). There was no significant difference in each index when AFP-L3 or GPC3 was detected individually($P > 0.05$). Conclusion Serum levels of GPC3 and AFP-L3 are increased significantly in patients with PHC, and the combined detection of these two markers has important clinical value in diagnosis of PHC.

Key words: liver neoplasms; liver cirrhosis; proteoglycans; alpha-fetoproteins

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是临床常见的恶性肿瘤,发病率呈逐年上升趋势。大多数患者确诊时已近中晚期,且术后易复发以及远处转移,预后较差。临幊上早期诊断、早期治疗对改善患者存活率显得尤为重要。血清肿瘤标志物是诊断 PHC 的重要指标,其中血清甲胎蛋白(AFP)应用最广泛,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,有必要寻找更加敏感、特异的肿瘤标志物用于 PHC 诊断。磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(GPC3)及甲胎蛋白异质体(AFP-L3)是近年来发现的新的肝癌血清学标志物^[1-4]。本研究拟通过联合检测 PHC 患者血清中 GPC3 以及 AFP-L3 含量,以探讨它们在 PHC 诊断中的潜在的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本院 2010 年 1 月至 2012 年 12 月期间 PHC 患者共 53 例(PHC 组),均经临床确诊,其中男 37 例,女 16

例,平均年龄(52.6 ± 9.3)岁。肝硬化组为 36 例,其中男 26 例,女 10 例,平均年龄(50.8 ± 10.2)岁。健康组 30 例,均排除良、恶性肝脏疾病,其中男 18 例,女 12 例,平均年龄(48.7 ± 8.6)岁。

1.2 方法 所有受试者均抽取空腹静脉血 3 mL, 分离血清, 超低温冰箱保存待检。酶联免疫吸附试验定量检测血清 GPC3 含量,试剂盒由美国 R&D 公司提供(货号 DY2119),严格按试剂盒说明书操作; 血清 AFP-L3 检测按照北京热景生物技术公司提供的甲胎蛋白异质体亲和吸附法洗脱 AFP-L3; 洗脱液与原血清标本用美国雅培公司 AXSYM 全自动免疫分析仪同时检测 AFP-L3 和 AFP,并计算出 AFP-L3 占总 AFP 的比例。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 15.0 统计软件进行统计学分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,样本间均数的比较使用方差分析以及 t

检验;样本间率的比较使用 χ^2 检验。Spearman等级相关分析GPC3与AFP-L3的相关性;受试者工作特征曲线(ROC曲线)评价血清GPC3与AFP-L3对PHC的诊断价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ROC曲线评价血清GPC3与AFP-L3对PHC的诊断价值 以ROC曲线诊断PHC的灵敏度与特异度二者之和的最高值界定临界值。血清GPC3用于诊断PHC的最佳界值为283.5 ng/L,曲线下面积0.881,95%置信区间0.815~0.947;诊断灵敏度56.6%,特异度89.4%,见图1A。血清AFP-L3用于诊断PHC的最佳界值为11.25%,曲线下面积0.901,95%置信区间0.840~0.962;诊断灵敏度62.3%,特异度87.9%,见图1B。

2.2 各组血清GPC3与AFP-L3水平比较 检测结果见表1。PHC患者血清GPC3以及AFP-L3水平均显著高于肝硬化组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);肝硬化组血清GPC3及AFP-L3水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。PHC患者GPC3与AFP-L3之间具有一定相关性($r=0.613\pm0.03$, $P<0.01$)。说明二者相关性较好,均可作为PHC诊断的血清学标志物。

2.3 GPC3与AFP-L3联合检测对PHC的诊断价值 GPC3、

AFP-L3联合检测与单项检测相比,二者联合检测可明显提高PHC诊断的灵敏度、阴性预测值及总有效率,差异有统计学意义($P<0.05$);GPC3及AFP-L3单项检测各指标间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

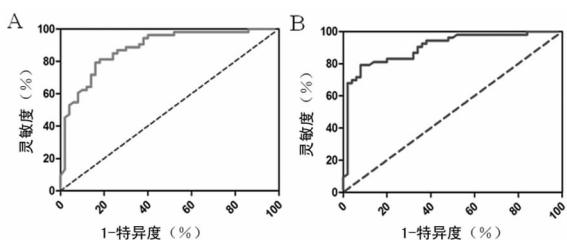


图1 血清GPC3(图A)及AFP-L3(图B)
诊断PHC的ROC曲线图

表1 各组血清GPC3及AFP-L3检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	GPC3(ng/L)	AFP-L3(%)
PHC组	53	341.6±41.8*	15.6±5.9*
肝硬化组	36	165.4±27.7#	8.8±2.7#
健康对照组	30	114.2±23.1	5.1±1.5

*: $P<0.05$,与肝硬化组及健康对照组比较;#: $P<0.05$,与健康对照组比较。

表2 血清GPC3与AFP-L3联合检测对PHC的诊断价值(%)

指标	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	总有效率
GPC3	56.6(30/53)	89.4(59/66)	81.1(30/37)	72.0(59/82)	74.8(89/119)
AFP-L3	62.3(33/53)	87.9(58/66)	80.5(33/41)	74.4(58/78)	76.5(91/119)
GPC3+AFP-L3	83.0(44/53)*	93.9(62/66)	91.7(44/48)	87.3(62/71)*	89.1(106/119)*

*: $P<0.05$,与单项GPC3及AFP-L3比较。

3 讨 论

PHC起病比较隐匿,在早期缺乏典型的症状,很多患者在发现时已近晚期,早期诊断对PHC患者的预后具有至关重要的作用。临幊上广泛应用的AFP诊断PHC的灵敏度仅有41%~61%且在少数的转移性肿瘤、生殖胚胎瘤、孕妇以及肝炎、肝硬化等情况时,AFP可出现假阳性。因此,AFP并不是PHC特异度检测指标,寻找新的、敏感度及特异度较高的肝癌标志物成为当前研究热点。

AFP-L3由肝癌细胞特异产生,其在总AFP的比例越高,提示肿瘤的恶性程度也越高。而在良性肝脏疾病中,肝细胞并不表达AFP-L3,因此,AFP-L3对PHC检测特异度比AFP要高。AFP-L3对PHC患者的早期诊断与鉴别诊断以及疗效评估与预后监测等都有着十分重要的作用^[5-7]。

GPC3是一种硫酸乙酰肝素聚糖蛋白,可与黏附分子、细胞外基质、细胞表面生长因子及受体、蛋白酶及抗蛋白酶等因子相互作用,进而参与调控细胞的增殖、分化、黏附以及迁移等过程。研究表明,GPC3在肝癌组织中特异度高表达,与肝癌的发生、发展密切相关且敏感度较高,有望成为肝癌诊断新的肿瘤标志物^[8-12]。

本研究显示,血清GPC3用于诊断PHC的最佳界值为283.5 ng/L,曲线下面积0.881,95%置信区间0.815~0.947;诊断灵敏度56.6%,特异度89.4%。血清AFP-L3用于诊断PHC的最佳界值为11.25%,曲线下面积0.901,95%置信区间0.840~0.962;诊断灵敏度62.3%,特异度87.9%。PHC组血清GPC3以及AFP-L3水平显著高于肝硬化组和健康对

照组,差异有统计学意义($P<0.05$);而肝硬化组血清GPC3及AFP-L3水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。PHC患者GPC3与AFP-L3之间具有一定相关性($r=0.613\pm0.03$, $P<0.01$)。说明二者相关性较好,均可作为PHC诊断的血清学标志物。

本研究还分析了GPC3及AFP-L3联合检测对PHC的临床诊断价值,血清GPC3及AFP-L3联合检测对PHC患者诊断的灵敏度、阴性预测值及总有效率显著高于GPC3、AFP-L3单项检测,差异有统计学意义($P<0.05$);GPC3、AFP-L3单项检测各指标间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。提示单独血清GPC3或AFP-L3含量检测对于PHC诊断可能没有十分明显的优势,而GPC3与AFP-L3联合检测可明显的提高PHC患者的诊断效率。

综上,GPC3已显示出其在PHC诊断中的重要临床价值,然而,GPC3参与肝癌发生、发展的详细机制有待进一步阐明,其在PHC临床诊断与鉴别诊断、疗效评估与预后判断、提示转移与复发以及抗肿瘤治疗等方面发挥怎样的作用仍有待其深入研究。

参考文献

- [1] Masuzaki R, Karp SJ, Omata M. New serum markers of hepatocellular carcinoma[J]. Semin Oncol, 2012, 39(4): 434-439.
- [2] Bertino G, Ardiri A, Malaguarnera M, et al. Hepatocellular carcinoma serum markers[J]. Semin Oncol, 2012, 39(4): 410-433.
- [3] Zhou L, Liu J, Luo F. Serum tumor markers for detection of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, (下转第53页)

(63.2%)下降了 6.7%，差异有统计学意义($P<0.05$)。说明 MRSA 的检出率呈逐年下降的趋势且 2011 年采取的干预措施效果更显著，这可能与多年坚持临床干预控制的累计效果及 2011 年进一步采取重点科室的 MRSA 主动筛查隔离措施有关。此外，最近全国细菌耐药监测报道 2010 年西南地区 MRSA 的检出率是 71.7%^[3-4]，而本院 MRSA 检出率低于本地区平均水平，再次充分说明本院临床干预措施的有效性。

通过研究本院近 3 年 MRSA 感染部位的变化比较差异无统计学意义($P>0.05$)，说明本院现采取的干预措施为通用措施，对临床所有科室控制 MRSA 感染效果较一致。研究结果还显示 MRSA 感染好发于呼吸系统和皮肤软组织系统，表明 MRSA 感染以下呼吸道、外科手术创伤和动静脉插管为主。这与国内外 MRSA 感染特点一致^[5-7]，提示控制好下呼吸道、外科手术和动静脉插管的 MRSA 感染可更有效降低医院 MRSA 的发生。因此，进一步提高医务人员对医院获得性肺炎的认识，采取针对性的预防措施，继续加强手卫生，严格执行消毒灭菌制度，尤其应继续加强呼吸机、动静脉插管以及外科手术器械的消毒灭菌的管理，是本院今后应加强针对性干预措施的重点。

医院内 MRSA 最重要的宿主是定植和感染 MRSA 的患者，MRSA 高发科室的定植率较高^[8-10]。如 ICU 和外科系统，这些科室收治的患者病情一般较重，患者免疫力低下，各种插管和外科手术创伤均容易导致 MRSA 定植和感染。本研究对本院 MRSA 感染科室分布结果分析也显示 MRSA 感染株数和构成比较高的前 6 位科室分别是脑外科、ICU、骨科、烧伤科和皮肤科，这些科室均属于外科系统，再次证实控制好外科手术创口及各类插管的 MRSA 感染，能降低医院 MRSA 的发生。另外统计数据还显示 ICU 2011 年 MRSA 检出率明显比 2010 年低，差异有统计学意义($P<0.05$)，提示 2011 年对进入 ICU 住院患者进行细菌学主动筛查 MRSA 携带者措施，有利于更好地及时隔离患者，减少传播概率，更有效地控制 MRSA 的医院感染。

从 2009~2011 年金黄色葡萄球菌对抗菌药物的敏感度和耐药性结果比较来看，MRSA 除对万古霉素、复方新诺明、利奈唑胺有较高的敏感度外，对其他常用抗菌药物如青霉素、左氧氟沙星、四环素、亚胺培南、红霉素、克林霉素、阿莫西林等，均具有高的耐药性，耐药率均大于 60% 且呈现多重耐药。通过比较可看出从 2009~2011 年金黄色葡萄球菌对氯霉素、左

氧氟沙星、苯唑西林、头孢唑啉的耐药率有不同程度的下降。这些数据证明了本院的临床干预措施对 MRSA 感染的降低是有效的。

综上所述，通过完善的 MRSA 检测系统，建立严格的多重耐药菌医院感染控制制度，严密监测 MRSA 动态变化，主动消毒隔离，合理使用抗菌药物等一系列措施可以有效降低 MRSA 的医院感染。

参考文献

- [1] Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, et al. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods [J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(4): 273-282.
- [2] 邓健康, 林芳, 廖涛, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性分析 [J]. 川北医学院学报, 2011, 26(6): 483-486.
- [3] 邹红波, 江凌晓. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌院内感染研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2008, 24(8): 1280-1282.
- [4] 黄湘宁, 喻华, 乔宁, 等. 卫生部全国细菌耐药监测网 2010 年西南地区细菌耐药监测 [J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(12): 954-958.
- [5] Forcade NA, Wiederhold NP, Ryan L, et al. Antibacterials as adjuncts to incision and drainage for adults with purulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) skin infections [J]. Drugs, 2012, 72(3): 339-351.
- [6] 温朝阳, 方怡, 邢丽珊, 等. MRSA 医院感染控制的效果分析 [J]. 实用医学杂志, 2011, 27(22): 4054-4056.
- [7] 林金兰, 李六亿. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌医院感染及社区感染的流行特点 [J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(12): 2604-2606.
- [8] 张爽, 赵英萍. ICU 常见致病菌耐药性监测 [J]. 实用医学杂志, 2011, 27(11): 2057-2059.
- [9] 余巍巍, 曾锦荣, 林云. 78 例危重症患者医院获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌肺炎的临床分析 [J]. 重庆医学, 2010, 39(21): 2951-2952.
- [10] 车红英, 庞晓军, 王小平. ICU 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染暴发原因分析及对策 [J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(9): 1792-1793.

(收稿日期: 2013-08-23)

(上接第 50 页)

2006, 12(8): 1175-1181.

- [4] Liu H, Li P, Zhai Y, et al. Diagnostic value of glypcan-3 in serum and liver for primary hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2010, 35(16): 4410-4415.
- [5] 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.
- [6] Li D, Mallory T, Satomura S. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma [J]. Clin Chim Acta, 2001, 313(1/2): 15-19.
- [7] Okuda H, Shiratori K, Yamamoto M, et al. Clinicopathologic features of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma who are seropositive for alpha-fetoprotein-L3 and those with combined hepatocellular and cholangiocarcinoma [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2006, 21(5): 869-873.
- [8] Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, et al. Glypcan-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Sci, 2009, 100(8): 1403-1407.
- [9] Gao W, Ho M. The role of glypcan-3 in regulating Wnt in hepatocellular carcinomas [J]. Cancer Rep, 2011, 20(1): 14-19.
- [10] Allegretta M, Filmus J. Therapeutic potential of targeting glypcan-3 in hepatocellular carcinoma [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2011, 11(6): 543-548.
- [11] Chen M, Li G, Yan J, et al. Reevaluation of glypcan-3 as a serological marker for hepatocellular carcinoma [J]. Clin Chim Acta, 2013, 423(2): 105-111.
- [12] Filmus J, Capurro M. Glypcan-3: a marker and a therapeutic target in hepatocellular carcinoma [J]. FEBS J, 2013, 280(10): 2471-2476.

(收稿日期: 2013-08-26)