

• 临床检验研究论著 •

AFP-L3、GP73、GPC3 联合检测在原发性肝癌诊断中的应用价值^{*}

谢明水, 刘杨, 陈丹丹, 张振建

(湖北省随州市中心医院检验科, 湖北随州 441300)

摘要:目的 探讨 3 项血清肿瘤标志物甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、高尔基体蛋白 73(GP73)和磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC-3)联合检测在原发性肝癌(PHC)诊断中的临床价值。方法 采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测 PHC 组 34 例, 肝硬化组 20 例, 慢性乙型肝炎组 20 例, 其他肿瘤组 37 例血清 AFP-L3、GP73、GPC-3 的表达水平, 同期选择 20 例门诊健康体检者作为对照组。对各指标表达情况进行比较和分析。结果 PHC 组 AFP-L3、GP73、GPC-3 表达水平明显高于对照组和其他肿瘤组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 3 项标志物单项检测 PHC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.909、0.832、0.817; 两两联合检测 ROC 曲线下面积分别为 0.935、0.945、0.912, 3 项指标联合检测 PHC 的 ROC 曲线下面积可高达 0.960。结论 联合检测 AFP-L3、GP73 和 GPC-3 可提高 PHC 的检出率, 对 PHC 的早期诊断具有重要的临床意义。

关键词: 甲胎蛋白类; 蛋白聚糖类; 肝肿瘤**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.004**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2014)05-0519-02**Application value of combined detection of AFP-L3,GP73 and GPC3 in diagnosing primary hepatic cancer^{*}**

Xie Mingshui, Liu Yang, Chen Dandan, Zhang Zhenjian

(Department of Laboratory, Suizhou Municipal Central Hospital, Suizhou, Hubei 441300, China)

Abstract: Objective To study the clinical value of the combination detection of serum tumor markers alpha fetal protein heterogeneity-L3(AFP-L3), Golgi protein 73(GP73) and phosphatidylinositol proteoglycan-3(GPC-3) in the diagnosis of primary hepatic cancer. **Methods** The serum AFP-L3, GP73 and GPC-3 levels were measured in 34 patients with primary hepatic cancer(PHC), 20 patients with liver cirrhosis, 20 patients with chronic hepatitis B, 37 patients with other tumors by the enzyme linked immunosorbent assay(ELISA). Meanwhile, 20 individuals with healthy physical examination were selected as the control group. The expression situation of various indexes were compared and analyzed. **Results** The expression levels of AFP-L3, GP73 and GPC-3 in the PHC group were significantly higher than those in the control group and the other tumors groups, difference was statistically significant ($P < 0.05$). The areas under the receiver operating characteristic(ROC) curve of PHC in the single item detection of 3 markers were 0.909, 0.832 and 0.817 respectively. The areas of the ROC curve in the combination examinations of two items were 0.935, 0.945 and 0.912 respectively. The area of the ROC curve in the 3-item combined detection of PHC could be up to 0.960. **Conclusion**

The combined detection of AFP-L3, GP73 and GPC-3 can increase the detective rate of PHC and has important clinical significance to early diagnosis of PHC.

Key words: alpha-fetoproteins; proteoglycans; liver neoplasms

原发性肝癌(PHC)是位列全世界第五、我国第三的恶性肿瘤且在世界范围内发病率逐年上升。目前肝癌患者的 5 年生存率不到 10%, 是恶性程度最高的肿瘤之一。甲胎蛋白(AFP)是诊断肝细胞癌的重要指标, 但 30% 的 PHC 患者 AFP 检测结果为阴性, 寻找特异度、敏感度更强的肿瘤标志物及诊断方法是肝癌研究的重要课题。多项肿瘤标志物的联合检测, 可望提高 PHC 诊断的敏感度和特异度。本文应用双抗体夹心酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、高尔基体蛋白 73(GP73)和磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC-3)这 3 项肿瘤标志物在血清中的表达水平, 探讨其联合检测在 PHC 诊断中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集来自本医院 2010 年 12 月至 2012 年 3 月门诊、住院患者血清标本 111 例, 年龄为 20~69 岁, 其中男性 62 例, 女性 49 例。包括 PHC 组 34 例, 年龄平均(42.33±7.28)岁, 肝硬化组 20 例, 年龄平均(36.29±10.11)岁, 慢性乙

型肝炎组 20 例, 年龄平均(27.27±8.64)岁, 其他肿瘤组(如胃癌、结肠癌、乳腺癌等)37 例, 年龄平均(37.42±12.22)岁。选择本医院同期体检健康者 20 例为对照组, 排除相关肝病。

1.2 方法 GP73、AFP-L3、GPC-3 均采用美国 RD Biosciences 公司提供的酶联免疫分析试剂盒, 生物参考区间分别为 25~80 ng/mL; 150~800 ng/L; 3~10 μg/L; 操作严格按照说明书执行, 使用试剂盒提供的原倍标准品倍比稀释, 用通过标准曲线计算样品中各种标志物浓度。复孔取平均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件包处理数据, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料组间及组内比较采用 *t* 检验, 不同组计量资料比较进行方差分析, 计数资料及率的比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组指标 ELISA 检测结果比较 见表 1。

2.2 ROC 曲线分析 见表 2。

2.3 敏感度及特异度分析 见表 3。

* 基金项目: 吴阶平医学基金会资助项目(LDWMF-SY-2011C011)。 作者简介: 谢明水, 男, 副主任技师, 主要从事临床免疫及分子生物学研究。

表 1 各组指标 ELISA 检测结果比较

组别	GP73(ng/mL)	AFP-L3(ng/L)	GPC-3(μg/L)
对照组	56.40±25.63	623.40±317.89	7.33±3.71
PHC 组	219.53±136.33 *▲	1 890.13±506.47 *▲	14.28±7.15 *▲
肝硬化组	89.47±50.72	1 481.61±303.48 *	7.61±2.92
慢性乙型肝炎组	62.85±33.42	539.93±502.62	7.75±4.13
其他肿瘤组	95.39±60.51	824.38±563.59	7.33±3.53

* : $P < 0.05$, 与对照组比较; ▲ : $P < 0.05$, 与其他肿瘤组比较。

表 2 ROC 曲线分析

项目	ROC 曲线 下面积	标准误	95% 置信区间
AFP-L3	0.909	0.025	0.861~0.958
GP73	0.832	0.051	0.733~0.931
GPC-3	0.817	0.046	0.727~0.908
AFP-L3+GP73	0.935	0.021	0.895~0.976
AFP-L3+GPC-3	0.945	0.018	0.910~0.981
GP73+GPC-3	0.912	0.032	0.848~0.975
AFP-L3+GP73+GPC-3	0.960	0.016	0.929~0.991

表 3 敏感度及特异度分析 (%)

项目	敏感度	特异度
AFP-L3+GP73	85.3	83.5
AFP-L3+GPC-3	83.9	87.6
GP73+GPC-3	82.8	86.6
AFP-L3+GP73+GPC-3	84.2	88.7

3 讨 论

肝癌是世界上常见的 10 种恶性肿瘤之一,发病较为隐匿,治疗难度大,手术并发症多,疗效通常较差,患者生存期短,一般发病后生存时间仅为 6 个月。 AFP 联合肝脏超声筛查和随访是早期诊断的主要途径,但对慢性肝病基础上较为常见的良性病变与小肝癌的鉴别仍较困难^[1]。高分化或分化很差的肝癌细胞往往不产生 AFP,而在病毒性肝炎和慢性肝脏疾病中亦可见不同程度升高,临床检测的敏感度较低^[2],特别是属于肝癌高危监测人群的慢性肝炎、肝硬化患者,女性妊娠期间,AFP 也会出现生理性升高。

AFP 存在多种异质体,造成异质性的主要原因是 AFP 糖链结构的差异,以 LCA 作为外源性凝集素,甲胎蛋白可被分为 LCA 非结合型(AFP-L1、AFP-L2)和 LCA 结合型(AFP-L3)。其中 AFP-L1 主要存在于良性肝病中,AFP-L2 存在于孕妇中,AFP-L3 为肝细胞癌所特有^[3],因此 AFP-L3 被广泛作为 PHC 的分子标志物^[4-5]。GP73 是高尔基Ⅱ型跨膜蛋白,相对分子质量为 73×10^3 ,该蛋白的编码基因位于第 9 号染色体,全长 3 042 bp^[6],在正常情况下,GP73 是高尔基体顺面膜囊上的一种整合膜蛋白,疾病状态时候 GP73 可从高尔基体顺面膜囊上循环出来并到达胞内体以及细胞表面^[7]。GPC-3 基因定位于 Xq26,编码的 GPC-3 通过磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上,属于分泌蛋白,调节生长因子及其受体间的相互作用,通过结合胞外基质、生长因子和蛋白酶等影响信号传递,对细胞生长、

分化、迁徙、肿瘤形成及转移有重要作用^[8-10]。

本研究显示,AFP-L3、GP73、GPC-3 这 3 项血清标志物在 PHC 组中的表达水平分别与对照组及其他肿瘤组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),3 项联合检测的 ROC 曲线下面积也明显大于单项或两项联合检测,虽然敏感度稍微低于 AFP-L3 与 GP73 的联合检测,但是特异度明显优于其他单项或两项联合检测的项目,由此可见,联合检测 AFP-L3、GP73 和 GPC-3 可提高 PHC 的检出率,对 PHC 的早期诊断具有重要的临床意义,值得临床广泛应用。

参考文献

- [1] Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver[J]. J Hepatol, 2001, 35(3): 421-430.
- [2] Marrero JA, El-Serag HB. Alpha-fetoprotein should be included in the hepatocellular carcinoma surveillance guidelines of the American Association for the study of liver diseases[J]. Hepatology, 2011, 53(3): 1060-1061.
- [3] Malaguarnera G, Giordano M, Paladina I, et al. Serum markers of hepatocellular carcinoma[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55 (10): 2744-2755.
- [4] 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.
- [5] Nakagawa T, Miyoshi E, Yakushijin T, et al. Glycomic analysis of alpha-fetoprotein L3 in hepatoma cell lines and hepatocellular carcinoma patients[J]. J Proteome Res, 2008, 7(6): 2222-2233.
- [6] Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection[J]. Gene, 2000, 249 (1/2): 53-65.
- [7] Puri S, Bachert C, Fimmel CJ, et al. Cycling of early Golgi proteins via the cell surface and endosomes upon luminal pH disruption [J]. Traffic, 2002, 3(9): 641-653.
- [8] Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, et al. Glycan-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 306(1): 16-25.
- [9] Capurro M, Wanless IR, Sherman M, et al. Glycan-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2003, 125(1): 89-97.
- [10] Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, et al. Identification of soluble NH2-terminal fragment of glycan-3 as a serological marker for early-stage hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64 (7): 2418-2423.