

• 临床检验研究论著 •

GP73、AFP-L3 和 TGF β 1 联合检测在肝细胞癌早期诊断中的临床价值^{*}肖伟利¹, 哈斯², 任志宏³, 燕成岭¹, 丁海涛^{1△}

(内蒙古自治区人民医院:1. 检验科; 2. 科教处; 3. 输血科, 内蒙古呼和浩特 010017)

摘要:目的 探讨高尔基体糖蛋白 73(GP73)、甲胎蛋白异质体-L3(AFP-L3)和转化生长因子 β 1(TGF β 1)联合检测在肝细胞癌(HCC)早期诊断中的临床价值。方法 选取健康对照组 48 例, 乙型肝炎组 42 例, 肝炎后肝硬化组 50 例, HCC 组 58 例。对四组测试对象分别进行 GP73、AFP-L3、TGF β 1 水平检测, 并对结果进行分析比较。结果 (1)不同组别间 GP73、AFP-L3、TGF β 1 平均水平差异具有统计学意义($P < 0.05$); (2)三指标联合检测, 阳性检出率达到 96.55%, 高于两两指标联合检测和各指标单独检测。结论 (1)GP73、AFP-L3、TGF β 1 均可作为肝癌早期诊断血清标志物; (2)与传统肝癌标志物 AFP 比较, AFP-L3 具有较高的敏感度和特异性, 且在良性、恶性肝脏疾病的鉴别诊断中具有重要作用, 是一个较好的肝癌诊断血清标志物; (3)三指标联合检测后明显提高了对肝癌的检出率, 有较好的应用价值。

关键词:肝细胞癌; 高尔基体跨膜糖蛋白; 甲胎蛋白异质体-L3; 转化生长因子- β 1

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)14-1839-03

Clinical value of combined detection of GP73, AFP-L3 and TGF β 1 in early diagnosis of hepatocellular carcinoma^{*}Xiao Weili¹, Ha Si², Ren Zihong³, Yan Chengling¹, Ding Haitao^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Science and Education; 3. Department of Blood Transfusion, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010017, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of the combined detection of Golgi protein 73 (GP73), alpha-fetoprotein variant -L3 (AFP-L3) and transforming growth factor β 1 (TGF β 1) in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** 48 cases of healthy control, 42 cases of hepatitis B, 50 cases of posthepatitic cirrhosis and 58 cases of HCC were selected and detected GP73, AFP-L3 and TGF β 1. The detection results were compared among 4 groups. **Results** (1) The levels of GP73, AFP-L3 and TGF β 1 had statistical differences among 4 groups ($P < 0.05$); (2) The positive rate of the 3-marker combined detection reached 96.55%, which was higher than that of the 2-marker combined detection and the single marker detection. **Conclusion** (1) GP73, AFP-L3 and TGF β 1 may be used as the serum indicators for the early diagnosis of HCC; (2) Compared with the traditional HCC marker AFP, AFP-L3 has relatively high sensitivity and specificity and has the important role in the differential diagnosis of benign and malignant diseases of the liver, which is considered as a better serum marker in the HCC diagnosis; (3) The 3-indicator combined detection can significantly improve the positive detection rate of HCC and has better application value.

Key words: hepatocellular carcinoma; Golgi membrane protein; alpha-fetoprotein variant-L3; transforming growth factor beta 1

肝癌是一种发病率高、病死率高, 对社会危害极大的恶性肿瘤, 其中 80% 以上为肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)。HCC 发病与肝炎病毒感染密切相关, 尤其是乙型病毒性肝炎, 我国每年在乙型病毒性肝炎及疾病进展后所致的肝硬化和 HCC 方面的花销巨大^[1]。20 世纪 70 年代发现的甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)作为肝脏肿瘤的特异性标志物, 是诊断原发性 HCC 的重要指标, 在 HCC 的诊断和治疗方面起到了重要作用, 但在数十年的临床实践中, 发现其诊断的敏感度及特异性均偏低, 使部分早期 HCC 患者无法被及时发现, 同时, 有 30%~40% 的原发性 HCC 患者血清甲胎蛋白(AFP)为阴性^[2]。可见, 其作为 HCC 标志物的漏诊率较高, 因此, 寻找更理想的 HCC 诊断标志物显得尤为迫切。

随着基因技术、蛋白质组学、肿瘤免疫等研究飞速发展, 一

些潜在的新的标志物逐渐被关注^[3], 其中, 高尔基体糖蛋白 73 (Golgi protein 73, GP73)、甲胎蛋白异质体-L3(alpha-fetoprotein heteroplasm-L3, AFP-L3)及转化生长因子- β 1 (transforming growth factor-beta 1, TGF β 1)等在 HCC 的早期诊断、鉴别诊断及疗效监测中均具有重要意义^[4-5]。由于单指标检测敏感度和特异性普遍偏低, 多个肿瘤标志物联合检测逐渐成为研究趋势。本实验主要探讨 GP73、AFP-L3 和 TGF β 1 联合检测对于 HCC 早期诊断的价值, 旨在阐明各标志物与 HCC 早期诊断的关系及临床意义, 为 HCC 早期诊断的筛选提供理论依据和可行的标志物体系。

1 资料与方法**1.1 一般资料** 研究对象包括健康对照组 48 例, 乙型肝炎组 42 例, 肝炎后肝硬化组 50 例, HCC 组 58 例, 所有研究对象均

* 基金项目: 内蒙古杰出青年基金(2012JQ05)。 作者简介: 肖伟利, 男, 检验师, 主要从事临床免疫学研究。 △ 通讯作者, E-mail: dinght2005@yahoo.com.cn。

来自 2012 年 8 月至 2013 年 9 月内蒙古自治区人民医院体检人员及住院患者。其中健康对照组来自体检中心,其余病例分别来自感染科、消化内科、介入放射科的住院患者。乙型肝炎诊断标准参照 2010 版《慢性乙型肝炎防治指南》;肝炎后肝硬化组为通过病史、实验室及影像学检查后明确诊断的乙型肝炎后肝硬化患者,并排除有肝占位性病变;HCC 组均有乙型肝炎病毒感染史,均为原发性 HCC,其诊断参照 2001 版《原发性 HCC 的诊断和分期标准》。各组间性别、年龄组成差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 (1)实验仪器主要包括瑞士 E601 罗氏电化学发光免疫分析仪和芬兰的 MK3 雷勃酶标仪。(2)GP73 诊断试剂盒、AFP-L3 亲和吸附离心管由北京热景生物技术有限公司提供;TGF β 1 诊断试剂购自美国 R&D 公司;AFP 检测试剂盒购自瑞士罗氏诊断有限公司。

1.3 方法 (1)检测 GP73 和 TGF β 1 采用的是酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA),数据结由 CurveExpert 1.3 软件处理。(2)AFP-L3 检测采用亲和吸附离心管分离化学发光法。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件包整理录入资料;多组资料平均水平差异性比较采用方差分析,两两比较时采用 SNK 法;多组资料率的比较采用 χ^2 检验,两两比较时依据公式 $\alpha_1 = 2\alpha/[k(k-1)+2]$ (k 为构成比个数)调整检验水准^[6]; $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 四组测试对象血清 GP73、AFP-L3 和 TGF β 1 水平比较 不同组别间三个指标平均水平差异具有统计学意义($P < 0.05$);肝炎后肝硬化组、乙型肝炎组间 AFP-L3 平均水平差异无统计学意义($P > 0.05$),乙型肝炎组、健康对照组间 TGF β 1 平均水平差异无统计学意义($P > 0.05$),肝炎后肝硬化组、HCC 组间 TGF β 1 平均水平差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 四组测试对象 GP73、AFP-L3 和 TGF β 1 水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GP73 (ng/mL)	AFP-L3 (%)	TGF β 1 (ng/L)
HCC 组	58	283.93±81.14*	32.43±3.18*	124.06±103.38*
肝炎后肝硬化组	50	182.61±88.94*	8.83±3.44*	97.64±70.33*
乙型肝炎组	42	140.46±77.25*	7.76±3.27*	59.41±23.37*
健康对照组	48	71.45±29.64*	4.39±2.87*	55.58±19.94*

*: $P < 0.05$, 4 组间两两比较。

2.2 三个指标阳性率统计 不同组别间 GP73 阳性率总体差异具有统计学意义($P < 0.05$);HCC 组与肝炎后肝硬化组间以及肝炎后肝硬化组与乙型肝炎组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。不同组别间 AFP-L3 阳性率总体差异具有统计学意义($P < 0.05$),肝炎后肝硬化组、乙型肝炎组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。不同组别间 TGF β 1 阳性率总体差异具有统计学意义($P < 0.05$),肝细胞癌组与肝炎后肝硬化组间以及乙型肝炎组与健康对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 三指标及 AFP 敏感度、特异性、准确性、Youden 指数比

较结果显示,AFP 敏感度低于其他指标;AFP-L3 特异性、准确性均高于其他指标指标;Youden 指数显示 AFP-L3 对 HCC 诊断的真实性高于其他指标,见表 3。

表 2 三个指标阳性率统计[n(%)]

组别	n	GP73	AFP-L3	TGF β 1
肝细胞癌组	58	33(56.89)	39(67.24)	31(53.45)
肝炎后肝硬化组	50	25(50.00)	7(14.00)	15(30.00)
乙型肝炎组	42	11(26.19)	6(14.29)	3(7.14)
健康对照组	48	2(4.17)	0(0.00)	0(0.00)

表 3 三指标及 AFP 敏感度、特异性、准确性、Youden 指数比较

指标	敏感度[% (n/n)]	特异性[% (n/n)]	准确性[% (n/n)]	Youden 指数
AFP	50.00(29/58)	88.60(124/140)	77.27(163/198)	0.39
GP73	56.90(33/58)	72.90(102/140)	68.18(135/198)	0.30
AFP-L3	67.20(39/58)	90.70(127/140)	83.84(166/198)	0.58
TGF β 1	53.40(31/58)	86.40(121/140)	76.77(152/198)	0.40

2.4 三指标单独检测、两两检测、联合检测对 HCC 的阳性检出率比较 (1)三指标单独检测,AFP-L3 阳性检出率高于 GP73、TGF β 1。(2)三指标两两检测,阳性检出率高于各指标单独检测。(3)三指标联合检测,阳性检出率达到 96.55%,明显高于两两检测和各指标单独检测,见表 4。

表 4 三指标单独检测、两两检测、联合检测对肝细胞癌的阳性检出率

指标	n	阳性例数 (n)	阴性例数 (n)	阳性检出率(%)
GP73	58	33	25	56.90
AFP-L3	58	39	19	67.24
TGF β 1	58	31	27	53.45
GP73+AFP-L3	58	51	7	87.93
GP73+TGF β 1	58	41	17	70.69
AFP-L3+TGF β 1	58	48	10	82.76
GP73+AFP-L3+TGF β 1	58	56	2	96.55

3 讨 论

HCC 是一种具有高发病率和高病死率的恶性肿瘤,其发生与多种因素相关,其中约 90% 的 HCC 与乙型肝炎病毒感染有关,每年因此而导致 HCC 的患者数量惊人,而 HCC 的防治重点就是早发现、早治疗,可见, HCC 患者的早期诊治对于国民健康具有重大意义。在 HCC 的早期诊断中,血清标志物的检测起到了重要作用,AFP 几乎是唯一的 HCC 诊断血清标志物,一直沿用至今,但临床实践发现,其敏感度和特异性不够高,约 30% 甚至更多的 HCC 患者 AFP 呈阴性,漏诊率较高,不能满足临床需要。因此,寻找其他更为敏感的肿瘤标志物成为 HCC 防治领域的一项重要任务,下面就本实验所研究的 3 个指标及联合检测结果分别加以讨论:

3.1 GP73 因在电泳中显示相对分子质量为 7.3×10^4 , 故称为 GP73^[7], 主要由胆管上皮细胞表达, 肝细胞很少表达, 当肝脏病变, 尤其是癌变时可出现血清 GP73 水平增高^[8]。本实验结果显示 GP73 在 HCC 组水平明显高于其他组($P < 0.05$), 且 GP73 对 HCC 检测的敏感度高于 AFP, 分别为 56.6%、50%; 而特异性低于 AFP, 分别为 72.9%、88.6%, 说明 GP73 可以作为 HCC 诊断的标志物之一, 但与 AFP 相比较, 互有优劣。

3.2 AFP-L3 由于 AFP 糖链与扁豆凝集素之间亲和力的差异, 而将 AFP 糖链分为三种异质体^[9], 分别为 AFP-L1、AFP-L2 和 AFP-L3, 其中 AFP-L3 为肝细胞所特有, $AFP-L3 > 10\%$, 提示 HCC 的发生风险较高。有研究显示, AFP-L3 可作为独立的 HCC 早期诊断标志物, 在 HCC 预警及良恶性肝病鉴别诊断中有较高的敏感度和特异性^[10]。本实验结果表明 AFP-L3 具有较高的敏感度和特异性(67.2%、90.7%), 明显好于 AFP(50%、88.6%), Youden 指数结果提示 AFP-L3 对肝细胞癌诊断的真实性高于 AFP(0.58、0.39), 可以看出, AFP-L3 敏感度、特异性高, 准确性好, 是优于 AFP 的一个很好的 HCC 血清标志物。

3.3 TGF β 1 TGF β 是一种多肽性细胞生长调控因子, 目前, 已知在哺乳类动物有 3 种异构体, 其中 TGF β 1 是 HCC 的发生及发展过程中一个重要的细胞因子, 起着控制肝细胞生长和增殖的重要作用。研究发现, TGF β 1 在 HCC 患者中呈高表达, 且与肿瘤分化程度明显相关, TGF β 1 的表达水平随肿瘤细胞分化程度的降低而增强, 提示 TGF β 1 可作为 HCC 早期诊断的指标^[11]。本实验研究结果显示:(1)不同组别间 TGF β 1 平均水平差异具有统计学意义($P < 0.05$), 但乙型肝炎组与健康对照组之间、肝炎后肝硬化组与 HCC 组之间 TGF β 1 平均水平差异无统计学意义($P > 0.05$), 说明 TGF β 1 与 HCC 的发生、发展有关, 可以作为 HCC 诊断的标志物, 但不利于健康人群中良性肝病的筛查及鉴别。与许佳平等^[12]研究结果一致。(2)TGF β 1 对 HCC 的敏感度、特异性、准确性、Youden 指数与 AFP 接近, 说明该指标在 HCC 早期诊断方面并不优于 AFP, 漏诊率、误诊率偏高, 不适合单独作为 HCC 标志物用于 HCC 早期诊断。

3.4 联合检测意义及结果分析 目前, 尚没有一种单一标志物可以检测出所有的 HCC 患者。每一个 HCC 标志物在诊断上都即有一定的优势, 也有局限性, 因此, 对 HCC 患者进行标志物的联合检测, 将极大地提高检出率^[13-14], 最大程度地避免误诊及漏诊, 这也是 HCC 血清学诊断的发展方向, 尤其是有助于 AFP 阴性 HCC 患者的诊断, 具有重要临床应用价值。本实验研究结果显示 GP73、AFP-L3、TGF β 1 三指标单独检测、两两检测、联合检测的最高阳性检出率分别为 67.24%、87.93%、96.55%, 说明 GP73、AFP-L3、TGF β 1 联合检测使得 HCC 的阳性检出率得到大幅提高, 从而降低了漏诊率, 适用于 HCC 早期诊断。

综上所述, 通过本实验研究结果可以表明 GP73、AFP-L3、

TGF β 1 均可作为 HCC 早期诊断血清标志物, 但意义和作用不尽相同, 其中 AFP-L3 具有较高的敏感度和特异性, 且在肝脏良性、恶性疾病的鉴别诊断具有重要作用, 是一个较好的 HCC 诊断血清标志物; 三指标联合检测后对 HCC 的检出率大大提高, 有较好的应用价值。GP73、AFP-L3、TGF β 1 联合检测, 此前未见报道, 本研究尚属首例, 目的是为了阐明各指标与肝脏疾病的关系及临床意义, 为 HCC 早期诊断指标的筛选提供理论依据和可行的标志物体系。

参考文献

- [1] Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(1): 3-4.
- [2] Tang ZY, Ye SL, Liu YK, et al. A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2004, 130(4): 187-196.
- [3] 赵志辉, 司志龙, 杨盛力, 等. GP73 和 AFP 在早期肝癌组织中的表达及其意义[J]. 临床消化病杂志, 2012, 24(6): 345-347.
- [4] 王晓蕊, 黄彩云, 韩素桂, 等. 原发性肝癌患者血清中 AFP-L3、GP73 检测的评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2012, 19(6): 330-333.
- [5] 张彩彩, 褚瑞海, 韩鹏, 等. 血清 AFP、GPC3、TGF- β 1 单独及联合检测对原发性肝癌的诊断价值分析[J]. 青岛医药卫生, 2012, 44(2): 108-111.
- [6] 孙振球, 徐勇. 医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008. 150-150.
- [7] Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi localized protein upregulated by viral infection Gene[J]. 2000, 249(1/2): 53-65.
- [8] 徐海峰, 杨华瑜, 张宏冰, 等. 改变肝癌早期诊断和治疗现状的新肝癌血清标志物[J]. 基础医学与临床, 2008, 28(1): 104-108.
- [9] 陈燕, 林莺莺, 陈岩松, 等. AFP-L3 在肝癌早期诊断和疗效监测中的价值[J]. 现代免疫学, 2012, 32(6): 514-519.
- [10] Zhang XF, Yin ZF, Wang K, et al. Changes of serum alpha-fetoprotein and alpha-fetoprotein-L3 after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: prognostic significance[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2012, 11(6): 618-623.
- [11] Ozaki I, Hamajima H, Matsuhashi S, et al. Regulation of TGF- β 1-induced pro-apoptotic signaling by growth factor receptors and extracellular matrix receptor integrins in the liver[J]. Front Physiol, 2011, 2(78): 1-8.
- [12] 许佳平, 白光光. 肝炎、肝硬化、肝癌患者外周血 TGF β 1 的检测[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2002, 16(3): 235-238.
- [13] 侯飞. AFP、AFP-L3、GP73 联合检测在肝癌诊断中的应用[J]. 医学综述, 2012, 18(17): 2919-2920.
- [14] 许成新, 林黎, 石庆新. AFP、AFP-L3 和 TSGF 联检在 PHC 诊断中的价值[J]. 放射免疫学杂志, 2011, 24(4): 468-470.

(收稿日期: 2014-01-21)