

• 论 著 •

GP73 在酒精性肝病中的临床意义*

冯志刚¹, 岑晓红², 云俊木³, 赵 芹¹, 刘肖瑛¹, 林佩娜¹, 黄光日¹, 欧阳伟庆¹

(东莞康华医院: 1. 检验科; 2. 消化内科; 3. 输血科, 广东东莞 523080)

摘 要:目的 探讨高尔基体蛋白 73(GP73)在酒精性肝病中的临床应用价值。方法 选取 44 例酒精性脂肪肝、43 例酒精性肝炎、32 例酒精性肝硬化、67 例非酒精性脂肪肝患者和 120 例健康对照组, 用 ELISA 法检测血清中 GP73 浓度, 同时检测谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ 谷氨酰转肽酶(GGT)、清蛋白(Alb)、总胆红素(TBil)、甲胎蛋白(AFP)等项目, 使用 SPSS17.0 统计学软件对检测结果进行统计学分析。结果 酒精性脂肪肝组、酒精性肝炎组、酒精性肝硬化组、非酒精性脂肪肝组、健康对照组 GP73 水平分别为 (84.22 ± 26.22) 、 (157.98 ± 39.71) 、 (201.23 ± 61.14) 、 (62.00 ± 14.02) 、 (47.08 ± 22.75) ng/mL, 各组 GP73 水平与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。酒精性肝炎、酒精性肝硬化组治疗后 GP73 水平与治疗前比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。GP73 诊断酒精性肝病的敏感度 71.4%, 特异度 95.2%。结论 GP73 在各类酒精性肝病时有不同程度升高, 有辅助诊断意义, 在酒精性肝炎、酒精性肝硬化组中治疗后浓度下降, 可用于治疗效果的评估。

关键词: 高尔基体蛋白 73; 酒精性肝病; 酒精性肝炎; 酒精性肝硬化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.15.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)15-2214-03

Diagnostic value of GP73 in alcoholic liver disease*

Feng Zhigang¹, Cen Xiaohong², Yun Junmu³, Zhao Qin¹, Liu Xiaoying¹, Lin Peina¹, Huang Guangri¹, OuYang Weiqing¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Gastroenterology; 3. Department of Blood Transfusion, Dongguan Kanghua Hospital, Dongguan, Guangdong 523080, China)

Abstract: Objective To investigate diagnostic value of GP73 in alcoholic disease. Methods GP73 was measured by ELISA in 44 alcoholic fatty liver, 43 alcoholic hepatitis, 32 alcoholic cirrhosis, 67 non-alcoholic fatty liver patients and 120 healthy control persons. Meanwhile ALT, AST, ALP, GGT, Alb, TBil, AFP were measured. Results GP73 of alcoholic fatty liver, alcoholic hepatitis, alcoholic cirrhosis, non-alcoholic fatty liver patients and healthy control group were (84.22 ± 26.22) , (157.98 ± 39.71) , (201.23 ± 61.14) , (62 ± 14.02) , (47.08 ± 22.75) ng/mL respectively. The GP73 differences between patients and healthy control group had statistical significance($P < 0.05$). Before and after therapy of alcoholic hepatitis and alcoholic cirrhosis patients had statistical significance($P < 0.05$). Sensitivity of diagnostic value of GP73 in ALD was 71.4% and specification was 95.2%. Conclusion Serum GP73 elevates in types of alcoholic liver disease and show significant diagnostic value. Decrease of GP73 could be applied to assess treatment of alcoholic hepatitis and alcoholic cirrhosis.

Key words: golgi protein 73; alcoholic liver disease; alcoholic hepatitis; alcoholic cirrhosis

酒精滥用是世界上许多国家和地区面对的重大社会问题, 其导致的疾病尤其酒精性肝病更是一个社会问题和医疗事业的双重难题。2010 年美国肝病研究学会的《酒精性肝病》指南中指出^[1], 占三分之二的美国成人有饮酒行为, 且酒精滥用比例达 4.65%, 酒精依赖达 3.81%。2010 年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组的《酒精性肝病诊疗指南》中指出^[2], 我国的酒精性肝病占同期肝病住院患者的比例从 1991 年的 4.2% 增至 1996 年的 21.3%。近年来高尔基体蛋白 73(GP73)与肝脏疾病关系的研究有很大的进展^[3-4], 在原发性肝癌的临床应用得到广泛认可。有学者认为 GP73 在纤维化和组织重塑中表达上调^[5], 因而可能与肝脏疾病的进展相关, 本文拟探讨 GP73 在酒精性肝病的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 4 月至 2014 年 3 月本院住院和门诊酒精性肝病患者, 分为酒精性脂肪肝组 44 例, 酒精性肝炎组 43 例, 酒精性肝硬化组 32 例。选取非酒精性脂肪肝组 67 例, 健康对照组 120 例。病例组饮酒种类以 30~50 度白酒

为主, 折合酒精量为 50~460 g/d, 饮酒年限为 5~45 年, 中位数年限为 25 年。诊断标准和治疗方案均按照中国医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组 2010 年《酒精性肝病诊疗指南》和 2010 年《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》。诊断标准如下: (1) 长期的饮酒史, 一般超过 5 年, 折合乙醇量男大于或等于 40 g/d, 女大于或等于 20 g/d; (2) 肝脏损伤的临床症状; (3) 实验室指标谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、 γ 谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆红素(TBil)、凝血酶原时间(PT)、红细胞平均体积(MCV)等指标升高; (4) 肝脏超声或 CT 有典型表现; (5) 排除嗜肝病毒现症感染及药物、中毒性肝损伤和自身免疫性肝病等。符合 1、2、3、5 条或 1、2、4、5 条可诊断酒精性肝病, 仅符合 1、2、5 条可疑诊酒精性肝病。酒精性肝病的治疗原则是戒酒和营养支持, 减轻酒精性肝病的严重程度改善已存在的继发性营养不良和对症治疗酒精性肝硬化及其并发症。选择的药物根据患者病情包含腺苷蛋氨酸、甘草酸制剂、还原型谷胱甘肽、糖皮质激素等, 加强营养支持的同时补充维生素 B、维生素 C、维生素 K 及叶酸。在治疗方案实施 2 个月后, 检测

* 基金项目: 东莞市科技计划医疗卫生类项目(201210515059226)。 作者简介: 冯志刚, 男, 副主任技师, 主要从事临床生化和分子生物学诊断专业研究。

血清中 GP73 的变化情况,研究 GP73 对疗效的监测意义。

1.2 方法 抽取患者静脉血 4 mL 于无抗凝真空采血管中,30 min 内分离血清,ALT、AST、ALP、GGT、Alb、TBil 采用 SIEMENS ADVIA 2400 全自动生化分析仪及配套试剂检测,甲胎蛋白(AFP)采用 SIEMENS Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪及配套试剂,2 h 内检测。GP73 采用北京热景生物技术有限公司 GP73 测定试剂盒(酶联免疫法),如无法及时检测,−20 ℃ 冷冻保存 1 周内检测。

1.3 统计学处理 使用 SPSS17.0 统计软件对实验结果进行数据处理和统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,正态性检验使用 Shapiro-Wilk 检验,方差齐性采用 Levene 检验,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料之间相关性分析采用 Pearson 统计分析方法。

2 结 果

2.1 各组患者 GP73 检测结果比较 见表 1。酒精性肝炎、酒精性肝硬化组治疗前后 GP73 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组患者 GP73 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)					
组别	n	年龄(岁)	GP73(ng/mL)		
			治疗前	治疗 2 个月后	
酒精性脂肪肝组	44	43.40±9.99	84.22±26.22	72.63±32.63	
酒精性肝炎组	43	44.11±8.95	157.98±39.71	125.40±35.42 *	
酒精性肝硬化组	32	48.17±10.96	201.23±61.14	164.42±44.77 *	
非酒精性脂肪肝组	67	40.15±10.36	62.00±14.02	57.00±11.13	
健康对照组	120	39.61±9.70	47.08±22.75	—	

*: $P < 0.05$,与治疗前比较;—:无数据。

2.2 指标相关性分析 GP73 与其他指标 ALT、AST、ALP、GGT、Alb、TBil、AFP 的相关性分析,结果见表 2。GP73 与 GGT 呈正相关,与 Alb 呈负相关。

表 2 GP73 与其他实验室指标相关性分析							
项目	ALT	AST	ALP	GGT	Alb	TBil	AFP
r	0.182	0.217	0.062	0.431	−0.537	0.329	0.153
P	0.065	0.088	0.925	0.003	0.001	0.102	0.241

2.3 GP73 诊断酒精性肝病的敏感度和特异度 以中国医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组 2010 年《酒精性肝病诊疗指南》为诊断标准,以 GP73 > 150 ng/mL 为界限,分析 GP73 诊断酒精性肝病的敏感度和特异度。119 例酒精性肝病组患者中 85 例 GP73 大于 150 ng/mL,187 例对照组中(含非酒精性脂肪肝)9 例 GP73 大于 150 ng/mL,GP73 诊断酒精性肝病的敏感度 71.4%,特异度 95.2%,阳性预测值 90.4%,阴性预测值 83.9%,诊断符合率 85.9%,可见 GP73 的敏感度不高,特异度较高,适用于鉴别诊断。

3 讨 论

随着 2000 年人类基因组计划的完成,各种后续的发展方向和学科分支如功能基因组学、比较基因组学、结果基因组学、蛋白质组学、药物基因组学、整体生物学等不断涌现,其中在肿瘤诊断和治疗方面的应用也激起人们新一轮深入的研究。2000 年 Kladney 等^[6]通过对急性成人巨细胞肝炎患者和健康人的肝脏 cDNA 文库进行消减杂交发现,GP73 的 mRNA 巨细胞肝炎中的表达升高,从而揭开了 GP73 在各种肝脏疾病中应

用的序幕。2004 年 Iftikhar 等^[7]研究发现 GP73 在急性肝炎和肝硬化患者中表达明显升高,在酒精性肝病组中,肝纤维化 I 期,GP73 表达较低,在肝纤维化 II ~ IV 期,GP73 的表达显著上调,这表明,纤维化和组织重塑是慢性肝病中 GP73 表达上调的推动力量。

本文的实验结果表明,GP73 在酒精性脂肪肝、酒精性肝炎、酒精性肝硬化等疾病中比较健康对照组都有升高,而非酒精性脂肪肝患者组与健康对照组差异无统计学意义($P > 0.05$),结论与文献^[8]报道一致。而酒精性肝硬化患者组的 GP73 水平较酒精性脂肪肝和酒精性肝炎组高,也提示肝脏的纤维化病理改变与 GP73 的高表达相关,与 Iftikhar 等^[7]的研究结论一致。本文中,对比治疗前后 GP73 浓度发现,酒精性肝炎、酒精性肝硬化等组均有不同程度的降低,这也提示 GP73 浓度能够应用于酒精性肝病治疗效果的监测。酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝患者组的 GP73 变化差异无统计学意义($P > 0.05$),提示酒精性脂肪肝和非酒精性脂肪肝患者肝细胞仅发生单纯的脂肪变性,与 GP73 升高之间不存在明显的关联。酒精性肝病的病理学改变如肝脂肪变程度基础上炎症程度、肝纤维化分级可能与 GP73 的水平存在联系。

在与一些其他实验室指标如 ALT、AST、ALP、GGT、Alb、TBil、AFP 进行相关性分析后发现,GP73 与 GGT 呈正相关关系,与 Alb 呈负相关,但相关系数数值均不高,分析可能是由于肝脏疾病的病因中病毒感染、代谢病、药物性等多种因素易同时存在并综合作用,可能需要更多的样本例数和更加合理的调查实验设计来揭示其中的原因。

综上,GP73 在酒精性肝病中有不同程度的升高,敏感度不高,特异度较高,适用于酒精性肝病的鉴别诊断,而且可以用于酒精性肝炎、酒精性肝硬化治疗效果的评估。随着研究的深入和在临床应用的不断拓展,GP73 在前列腺癌、肾癌、精原细胞癌、肺癌等疾病中的应用也陆续有报道^[9-10]。此外,随着蛋白质组学技术的进一步发展,GP73 的异质体——岩藻糖基化的 GP73 也被发现^[11],而且显示出比 GP73 更高的敏感度和特异度^[11-12]。随着研究的不断深入,GP73 及其岩藻糖基化异质体展现出在临床应用的良好前景。

参考文献

[1] O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease [J]. Hepatology, 2010, 51(1): 307-328.

[2] 厉有名, 范建高, 王炳元, 等. 酒精性肝病诊疗指南(2010 年 1 月修订)[J]. 现代医药卫生, 2011, 20(6): 801-804.

[3] Malaguarnera G, Giordano M, Paladina I, et al. Serum markers of hepatocellular carcinoma [J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(10): 2744-2755.

[4] Mao Y, Yang H, Xu H, et al. Golgi protein 73(GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. Gut, 2010, 59(12): 1687-1693.

[5] Shan SG, Gao YT, Xu YJ, et al. The gradually increased Golgi protein 73 expression in the progression of benign liver diseases to precancerous lesions and hepatocellular carcinoma correlates with prognosis of patients [J]. Hepatology Research, 2013, 43(11): 1199-1210.

[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] Iftikhar R, Kladney RD, Havlioglu N, et al. Disease-(下转第 2217 页)

质控品同时以 ELISA 法检测 6 个月,其检测结果比较见表 1。

表 1 自制质控品与商品质控品的检测结果比较

项目	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb
自制(S/CO, $\bar{x}\pm s$)	3.2±0.40	3.1±0.37	2.9±0.41	0.4±0.06	0.42±0.06
自制 CV(%)	12.5	12.0	14.0	15.0	14.3
商品(S/CO, $\bar{x}\pm s$)	3.3±0.41	3.0±0.36	3.0±0.42	0.41±0.06	0.42±0.06
商品 CV(%)	12.4	12.0	14.0	14.6	14.6
<i>t</i>	0.931	0.873	0.784	0.751	1.000
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.2 自制质控品稳定性 连续检测 1 年,除 HBeAb CV 批间变异等于 15%,其余批间变异皆小于 15%。

3 讨 论

ELISA 法是一种传统的免疫学检测方法,该方法所需仪器简单、试剂成本低,在各级医疗机构尤其是基层医疗机构有较强的实用性。该方法是目前检测乙肝病毒标志物的首选和常用方法。

ELISA 法为定性试验,应具有灵敏度高、特异性好的特点。但操作中的各环节对试验的检测结果影响较大,如标本采集与处理、加样、孵育、洗板、显色、终止、比色及结果的判读,如不注意可导致假阳性或假阴性结果^[6]。因此必须加强分析全程质量管理尤其要加强室内质控,室内质控对提高检测质量起了一定的作用^[7],建立室内质控非常重要^[8-9]。

在室内质控环节中,质控品的质量极为重要,直接关系到室内质控结果的好坏。目前大多数医疗机构所用室内质控品为商业购买所得,价格昂贵,使用周期短,严重影响质控的可操作性^[10]。在一些偏僻的基层医疗机构,商品质控品甚至无法买到,致使室内质控无法开展,检验结果准确性不能保证。为此,自主研发简便、经济、重复性、稳定性好的乙肝五项医疗机构自用质控品,是一件非常必要的事情。

本研究本着节约医疗成本,提高检验质量之目的,自主研发乙肝 5 项室内质控品。由表 1 中可见,自制质控品的 5 个项目和商品质控品的 5 个项目在使用效果上差异均无统计学意义($P>0.05$)。而且自制质控品使用周期长,制备简单,成本低廉,避免了商品质控品价格昂贵,使用周期短,批号频繁更替而经常需要重新累积质控数据造成检测成本偏高的缺点。

有研究报道,稳定性是质控品最重要的特性,如果质控品缺乏应有的稳定性,就失去了做质控品的意义^[11],自制质控品连续检测 1 年,5 个项目其批间变异(CV%)除 HBeAb 为 15.0%外,其余皆小于 15%。符合目前行业公认的批间变异(CV%)小于或等于 15%的要求。

综上所述,自主研发之乙肝五项室内质控品,无论是有效性,还是稳定性皆符合临床和相关行业标准要求,而且制作方法简单、操作方便、成本低廉、性能优越,具有一定的临床推广价值。

参考文献

[1] 陈慧英,张锦峰,岑小鹏,等. ELISA 检测乙型肝炎 HBsAg 室内质控血清的试剂和使用[J]. 上海检验医学杂志,2000,15(4):203-206.

[2] 陶义训. 免疫学和免疫学检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:143-145.

[3] 王丽,朱立苇,徐宵勤,等. 4 项复合 ELISA 室内质控品制备方法的建立和评估[J]. 中国输血杂志,2011,24(6):488-489.

[4] 方裕森,翁雪芬,叶靖,等. 乙肝表面抗原室内质控血清的研制[J]. 实用医技杂志,2008,15(7):819-820.

[5] 樊冬碧,唐小兰. HBsAg 室内质控品的制备和应用[J]. 检验医学与临床杂志,2011,8(9):1033-1036.

[6] 龙聪. 酶联免疫吸附法测乙肝两对半的注意事项[J]. 基层医学论坛,2008,12(7):245.

[7] 方裕森,叶靖,翁雪芬,等. 灭活法研制乙肝表面抗原室内质控血清[J]. 河北医学,2009,15(4):402-404.

[8] 范秀芹,林凌云,岳志鹏,等. ELISA 测定 HBsAg 室内质控问题探讨[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2002,89-92.

[9] 李金明,王露楠,徐锡霞,等. 室内质量控制对乙肝表面抗原测定准确度的影响[J]. 中华检验医学杂志,2001,24(4):255.

[10] 卞茂红,张循善,杨鹏,等. HBsAg、抗-HCV、抗-TP 混合室内质控物的制备和应用[J]. 安徽医科大学学报,2004,39(5):402-404.

[11] 芮桥安. 血清免疫实验室弱阳性室内质控血清的制备及应用[J]. 昆明医学院学报,2012,20(1):296-297.

(收稿日期:2015-03-18)

(上接第 2215 页)

and cell-specific expression of GP73 in human liver disease[J]. Am J Gastroenterol,2004,99(6):1087-1095.

[8] 许文芳,费迎明,周亚娣. 血清 GP73 在肝病患者中的表达水平[J]. 放射免疫学杂志,2012,32(2):190-193.

[9] 江均昌,周林福. 高尔基体驻膜糖蛋白 73 的研究进展及其与肝癌等疾病的联系[J]. 浙江大学学报:医学版,2012,30(2):215-221.

[10] Kim HJ, Lv D, Zhang Y, et al. Golgi phosphoprotein 2 in physiology and in diseases[J]. Cell Biosci,2012,20(1):31.

[11] 黄玉波,李鑫,乔雍,等. N-糖基化修饰蛋白 gp73 与肝硬化患者 Child-Pugh 的关系[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2011,33(4):335-337.

[12] 杨春玲,夏薇,宋海春,等. 甲胎蛋白联合 α -L-岩藻糖苷酶及高尔基体膜蛋白-73 检测对原发性肝癌的早期诊断价值[J]. 中国实用医刊,2012,39(3):16-17.

(收稿日期:2015-03-17)