

• 论 著 •

AFP、GP73 及 TSGF 联合检测对原发性肝癌的诊断价值*

王甲甲, 张 娟[△], 钟佳伶, 黄文芳

(四川省医学科学院·四川省人民医院检验科, 四川成都 610072)

摘要:目的 评价肿瘤标志物甲胎蛋白(AFP)、高尔基体糖蛋白 73(GP73)、肿瘤特异性生长因子(TSGF)对原发性肝癌(PHC)的诊断价值及联合检测的意义。方法 分别检测 90 例 PHC 患者(PHC 组)、52 例肝癌转移患者(肝癌转移组)、41 例良性肝病组(良性肝病组)和 55 例体检健康者(健康对照组)血清 AFP、GP73 和 TSGF 水平,分析 AFP、GP73、TSGF 联合检测对 PHC 的诊断价值。结果 PHC 组血清 AFP、GP73、TSGF 水平均高于良性肝病组及健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。单独检测 AFP、GP73 和 TSGF 诊断 PHC 的特异度分别为 79.7%、71.6% 和 83.1%,灵敏度分别为 57.8%、74.4%、65.6%;三者联合检测可提高诊断 PHC 的灵敏度(96.6%),但特异度(68.9%)有所下降。联合检测 AFP、GP73、TSGF 可提高 AFP 阴性或低浓度 PHC 患者的早期诊断率。结论 联合检测 AFP、GP73 和 TSGF 作为诊断 PHC 的重要指标,可显著提高 PHC 的早期诊断率。

关键词:原发性肝癌; 甲胎蛋白; 高尔基体糖蛋白 73; 肿瘤特异性生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.18.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)18-2620-03

The combined detection value of AFP with GP73 and TSGF in the diagnosis of primary liver cancer*

Wang Jiajia, Zhang Juan[△], Zhong Jialing, Huang Wenfang

(Department of Clinical Laboratory, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: Objective To evaluate the diagnostic value of three tumor markers, including alpha-fetoprotein(AFP), golgi glycoprotein 73(GP73) and tumor specific growth factor(TSGF), and significance of combined detection in diagnosis of primary liver cancer(PHC). **Methods** Serum levels of AFP, GP73 and TSGF were detected in 90 cases of patients with PHC(PHC group), 52 cases of patients with liver metastasis(liver metastasis group), 41 cases of patients with benign liver disease(benign liver disease group), and 55 cases of healthy individuals(healthy control group). And clinical value of combined detection of AFP, GP73 and TSGF for diagnosing PHC was analysed. **Results** The serum levels of AFP, GP73 and TSGF were significantly higher than those in benign liver disease group and healthy control group, the differences were statistically significant($P < 0.05$). The specificity of AFP, GP73 and TSGF in diagnosis of PHC was 79.7%, 71.6% and 83.1%, respectively. The sensitivity of AFP, GP73 and TSGF in the diagnosis of PHC was 57.8%, 74.4% and 65.6%, respectively. The combined detection of AFP, GP73 and TSGF improved the sensitivity for diagnosing PHC(96.6%), while the specificity of combined detection was decreased(68.9%). And the diagnosis rates of PHC patients with negative AFP or low levels of AFP were increased when combined the three tumor markers. **Conclusion** Combined detection of AFP, GP73 and TSGF as a significant indicator for diagnosing PHC could improve the diagnosis rate of PHC.

Key words: primary liver cancer; alpha-fetoprotein; golgi glycoprotein 73; tumor specific growth factor

原发性肝癌(PHC)是常见的消化道恶性肿瘤,发病率高、病死率高^[1]。PHC 患者在早期大多无症状,多数患者确诊时已处于中晚期,因此迫切需要找到灵敏度、特异度高,且对 PHC 有早期诊断及鉴别诊断价值的肿瘤标志物。甲胎蛋白(AFP)已被广泛应用于肝癌的诊断,临床实践表明其诊断灵敏度及特异度均较低,约有 20%~40% 的 PHC 患者 AFP 呈阴性,有一定的漏诊率,而与其他肿瘤标志物联合应用很可能会显著增加 AFP 诊断的灵敏度^[2]。有研究报道,高尔基体糖蛋白 73(GP73)在 PHC 的表达灵敏度高于 AFP,其可能是诊断 PHC 的新的肿瘤标志物^[3]。肿瘤特异性生长因子(TSGF)常用于肿瘤的早期检测和良恶性的鉴别诊断,是一种灵敏度和特异度较高的广谱肿瘤标志物^[4]。因此,笔者推测 AFP 联合 GP73、TSGF 能够在一定程度上提高肝癌诊断的准确度。本研究通过检测 PHC、肝癌转移、良性肝病和健康对照者血清 AFP、GP73 和 TSGF 水平,探讨 3 种肿瘤标志物单独和联合检测诊断 PHC 的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 7 月至 2014 年 6 月于本院就诊的患者 183 例,其中 90 例 PHC 患者纳入 PHC 组,男 61 例,女 29 例,年龄 25~76 岁,中位年龄 55 岁,均经病理学、影像学及肝穿刺活检证实;52 例肝癌转移患者纳入肝癌转移组,男 34 例,女 18 例,年龄 26~69 岁,中位年龄 44 岁,其中原发于鼻咽部 9 例、肺部 15 例、乳腺 4 例、胃 16 例、结肠 6 例、胰腺 2 例;41 例良性肝病组患者纳入良性肝病组,男 27 例,女 14 例,年龄 20~51 岁,中位年龄 43 岁,其中肝血管瘤 7 例,肝脓肿 5 例,肝腺瘤 5 例,肝吸虫感染 10 例,肝硬化 8 例,慢性乙型肝炎 6 例,均根据 B 超、CT、肝功能检查及临床症状综合确诊,并排除肝脏占位性病变。另选取同期体检健康者 55 例作为健康对照组,男 40 例,女 15 例,年龄 25~70 岁,中位年龄 46 岁。肝癌的诊断参照《中华肝脏病杂志》新的肝癌诊断标准并经病理学确诊,肝硬化及乙型肝炎的诊断依据文献[5-6]的标准。

1.2 方法

* 基金项目:四川省医学科学院·四川省人民医院博士基金(30305030569)。 作者简介:王甲甲,女,主管技师,主要从事肿瘤免疫方面的研究。 [△] 通讯作者, E-mail:490907371@qq.com。

1.2.1 检测方法 所有患者均在未做任何治疗前、体检健康者均在体检时空腹抽取静脉血 4 mL 于真空采血管中,待室温自然凝集后,3 000 r/min 离心 5 min,分离血清后于当日测定。采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 GP73 水平,具体操作按照试剂盒说明书进行,检测试剂盒购自北京热景公司。血清 AFP 水平的检测采用化学发光免疫检测法,检测试剂盒购自美国雅培公司。TSGF 的检测采用比色法,试剂盒购自美国雅培公司,采用雅培全自动生化分析仪进行检测,并设置质控。

1.2.2 结果判断 根据受试者工作特征(ROC)曲线确定对 PHC 的诊断界值,假阳性和假阴性的病例数之和最小处为最佳临界点(cutoff 值),大于或等于 cutoff 值者为阳性,小于 cutoff 值者为阴性。联合检测时其中一项阳性即判断为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理与统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间及组内比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清中 AFP、GP73 及 TSGF 水平比较 PHC 组血清 AFP 水平高于其他组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);GP73 在各组血清中均有表达,以 PHC 组表达水平最高,高于其他组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);PHC 组血清 TSGF 水平较良性肝病组和健康对照组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),而与肝癌转移组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组血清 AFP、GP73 及 TSGF 水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	AFP (ng/mL)	GP73 (ng/mL)	TSGF (U/mL)
PHC 组	90	421.06±1 0621.15	264.60±1 140.53	83.01±13.39
肝癌转移组	52	62.43±9 800.21*	93.05±1 080.90*	81.37±14.51
良性肝病组	41	16.38±142.45*	27.17±110.25*	44.95±10.55*
健康对照组	55	9.37±7.66*	11.25±9.33*	40.28±11.04*

*: $P < 0.05$,与 PHC 组比较。

2.2 GP73 及 TSGF 单独与检测诊断 PHC 的效能 根据 ROC 曲线确定 AFP、GP73 和 TSGF 的 cutoff 值分别为 20 ng/mL、57 ng/mL、60 U/mL 时,诊断 PHC 的特异度和灵敏度达到最高。单独检测 AFP、GP73 和 TSGF 诊断 PHC 的特异度分别为 79.7%、71.6% 和 83.1%,灵敏度分别为 57.8%、74.4%、65.6%;联合检测 AFP、GP73 和 TSGF 可提高诊断 PHC 的灵敏度(96.6%),但诊断特异度(68.9%)有所下降。见表 2。

表 2 AFP、GP73 及 TSGF 对 PHC 的诊断效能[%(<i>n</i> / <i>n</i>)]			
肿瘤标志物	特异度	灵敏度	准确度
AFP	79.7(118/148)	57.8(52/90)	71.4(170/238)
GP73	71.6(106/148)	74.4(67/90)	76.4(173/238)
TSGF	83.1(123/148)	65.6(59/90)	76.5(182/238)
AFP+GP73	68.2(101/148)	83.3(75/90)	73.9(176/238)
AFP+TSGF	80.4(119/148)	86.7(78/90)	82.8(197/238)
GP73+TSGF	75.7(112/148)	87.8(79/90)	79.4(191/238)
AFP+GP73+TSGF	68.9(102/148)	96.6(87/90)	76.9(189/238)

2.3 GP73 及 TSGF 检测对 AFP 阴性及低浓度肝癌患者的诊断价值 在 PHC 组检出的 31 例 AFP 阴性者(AFP < 20 ng/mL,AFP 阴性组)中 GP73 阳性率为 77.4%,9 例 AFP 低浓度者(AFP 为 20~<200 ng/mL,AFP 低浓度组)中 GP73 阳性

率达 88.9%;GP73 在 12 例 AFP 阳性的非肝癌患者(AFP 阳性非肝癌组)中阳性率仅为 30.0%。在 AFP 阴性 PHC 患者中,TSGF 阳性率为 71.0%,AFP 低浓度 PHC 患者中 TSGF 的阳性率为 77.8%,而 TSGF 在 AFP 阳性的非肝癌患者中阳性率仅为 25.0%。这表明 GP73、TSGF 对 AFP 阴性及低浓度 PHC 患者有一定的诊断价值,联合检测 AFP、GP73、TSGF 可提高 PHC 患者的诊断率,尤其在诊断早期 PHC 时。见表 3。

表 3 不同 AFP 水平组 GP73 及 TSGF 的检测[%(<i>n</i>)]			
组别	<i>n</i>	GP73 阳性	TSGF 阳性
AFP 阴性组	31	24(77.4)	22(71.0)
AFP 低浓度组	9	8(88.9)	7(77.8)
AFP 阳性非肝癌组	12	4(30.0)	3(25.0)

3 讨论

目前,肝癌的诊断主要是通过血清肿瘤标志物,并辅助仪器检查,包括肝脏超声波、CT、磁共振成像和组织活检来确定[7]。长期以来,AFP 被认为是诊断 PHC 最好的肿瘤标志物,特异度较高,假阳性率较低,AFP 阳性结合临床症状对 PHC 的诊断多无困难,但其灵敏度仅为 40%~65%,仍有近 1/3 的 PHC 患者血清 AFP 呈阴性或低浓度,有相当高的漏诊率[8]。由于胚胎来源的 AFP 与人肝脏和血清来源的 AFP 之间存在大量共同的免疫和生化特征,因此急性病毒性肝炎、肝硬化活动期及睾丸癌或卵巢癌等非肝癌疾病通常也出现 AFP 升高,所以 AFP 作为肝癌早期诊断的标志物尚不够理想。TSGF 是恶性肿瘤形成和生长时产生的多肽物质,为多种恶性肿瘤细胞共有,具有恶性肿瘤特异性和瘤谱瘤种的广谱性,TSGF 与肿瘤的发生及肿瘤血管增殖有关,与肝硬化等良性肝病引起的肝细胞损伤及肝内胶原纤维增殖无关,在肿瘤形成早期即可释放至外周血液中,因此对恶性肿瘤具有早期诊断及鉴别诊断价值[9]。

GP73 主要在人类上皮细胞中表达,在健康人体肝脏中,GP73 只在胆管上皮细胞中表达,而肝细胞表达很少甚至不表达。然而,当肝脏发生病变后,肝脏细胞中 GP73 表达上调,同时伴随血清 GP73 水平增高,这种现象可能是由于 GP73 蛋白扩散进入血液循环引起的。因此,GP73 已经被证实为肝癌的一种新的血清标志物,且其诊断能力优于 AFP。相关研究提示,GP73 的上调可能与急性肝细胞损伤触发和慢性肝脏组织的重构和纤维化有关,后者可解释为在 PHC 和肝硬化中 GP73 表达上调[10]。因此,笔者合理地推测,联合检测 AFP、GP73 及 TSGF 可以提高 PHC 的早期诊断率。

在本研究中,笔者分别用化学发光免疫分析法、ELISA 法和比色法对 90 例 PHC 患者、52 例肝癌转移患者、41 例良性肝病患者的和 55 例体检健康者血清中 AFP、GP73 和 TSGF 水平进行检测,并对血清 AFP、GP73 和 TSGF 三者联合对 PHC 的诊断价值进行评估。与肝癌转移组、良性肝病组及健康对照组相比,PHC 组患者血清 AFP、GP73 表达水平明显上升;TSGF 水平在 PHC 组也明显高于良性肝病组及健康对照组。根据 ROC 曲线,笔者分别确立了 AFP、GP73 和 TSGF 的最佳 cutoff 值,当以 20 ng/mL 作为 AFP 的 cutoff 值时,AFP 诊断 PHC 的特异度和灵敏度达到最高,分别为 79.7%、57.8%;当确定 57 ng/mL 为 GP73 的 cutoff 值时,GP73 诊断 PHC 的特异度和灵敏度分别为 71.6%、74.4%;当确定 60 U/mL 为 TSGF 的诊断界值时,TSGF 诊断 PHC 的特异(下转第 2624 页)

范围,但其体内炎性细胞因子水平的升高,说明存在肝组织炎症;发现慢性 HBV 携带者 IFN- γ 和 IL-6 水平低于非活动性 HBsAg 携带者,而 IL-32 水平略高于非活动性 HBsAg 携带者,但差异均无统计学意义($P>0.05$),可提示非活动性 HBsAg 携带状态的患者虽然大部分肝组织炎症较轻微,但更有可能存在较严重的肝组织炎症,仍有较高的发展为肝炎肝硬化的风险^[11-12],且 IL-32 可能与患者体内病毒复制活跃程度有关;比较不同 HBV DNA 载量的外周血细胞因子水平,发现中病毒载量慢性 HBV 携带者外周血 IFN- γ 、IL-32 和 IL-6 水平均高于高病毒载量及低病毒载量携带者,但差异均无统计学意义($P>0.05$),提示中病毒载量携带者可能存在更高的慢性化进展的风险,对此类患者有待扩大样本量进行进一步研究;发现 HBV 携带者外周血细胞因子 IL-32 水平与 AST 水平呈正相关,与 ALB 水平呈负相关,提示 IL-32 与 HBV 携带者肝组织损伤及病情进展密切相关。

本研究探讨了 HBV 携带者外周血 IFN- γ 、IL-32 和 IL-6 水平的变化,并分别做了三者与 HBV DNA 载量和肝功能水平的相关性分析,发现并证实 IFN- γ 、IL-32 和 IL-6 间接或直接地参与了乙型肝炎的发生、发展进程,同时也有待进一步扩大样本量进行更深入的研究。

参考文献

[1] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病分会.慢性乙型肝炎防治指南[J].临床肝胆病杂志,2011,27(1):1-16.
[2] Tong MJ, Trieu J. Hepatitis B inactive carriers: clinical course and outcomes[J]. J Digest Dis, 2013, 14(6): 311-317.
[3] Shaikh S, Ram DB, Tanveer S, et al. Comparison of the histological and serological parameters of patients with hepatitis delta virus in active and inactive hepatitis B virus carriers[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2014, 24(2): 97-100.

(上接第 2621 页)
度和灵敏度分别为 83.1%,65.6%。而这些标志物的联合检测可以将诊断 PHC 的灵敏度提高至 96.6%。相反,其诊断 PHC 的特异度有所下降。因此,这就需要在临床应用时合理利用这些标志物。同时,对 AFP 阴性及低浓度 PHC 患者 GP73、TSGF 的阳性率进行统计,结果表明,GP73、TSGF 对 AFP 阴性及低浓度 PHC 患者有一定的诊断价值,联合检测 AFP、GP73 及 TSGF 可提高 PHC 患者的早期诊断率。

综上所述,AFP、GP73 及 TSGF 这 3 项肿瘤标志物诊断 PHC 时缺乏高度的特异性,使用单项进行检测时,易遗漏阳性患者,阳性率不高,而联合检测 3 项肿瘤标志物时,可明显提高诊断 PHC 的灵敏度。联合检测 AFP、GP73 和 TSGF 作为诊断 PHC 的重要指标,可互为补充,从而提高 PHC 的诊断率。

参考文献

[1] Lee JM, Yang J, Newell P, et al. β -Catenin signaling in hepatocellular Cancer: implications in inflammation, fibrosis, and proliferation[J]. Cancer Lett, 2014, 343(1): 90-97.
[2] Lai Q, Avolio AW, Graziadei I, et al. Alpha-fetoprotein and modified response evaluation criteria in solid tumors progression after locoregional therapy as predictors of hepatocellular Cancer recurrence and death after transplantation[J]. Liver Transpl, 2013, 19(10): 1108-1118.
[3] Zhang YL, Zhang YC, Han W, et al. Effect of GP73 silencing on proliferation and apoptosis in hepatocellular Cancer[J]. World J

[4] Kumar M, Sarin SK, Hissar S, et al. Virologic and histologic features of chronic hepatitis B virus-infected asymptomatic patients with persistently normal ALT[J]. Gastroenterology, 2008, 134(5): 1376-1384.
[5] 高杲,李丹,江红,等.慢性乙型肝炎病毒携带者 73 例肝组织病理结果分析[J].中华临床医师杂志:电子版[J/CD]. 2013, 7(18): 8475-8476.
[6] Fujiwara K, Yokosuka O, Ehata T, et al. The two different states of hepatitis B virus DNA in asymptomatic carriers: HBe-antigen-positive versus anti-HBe-positive asymptomatic carriers[J]. Dig Dis Sci, 1998, 43(2): 368-376.
[7] 任婷婷,徐光华,李春霞.非活动性 HBsAg 携带状态的自然转归[J].肝脏,2014,19(1):71-73.
[8] 陈旭丹,刘琼,李新华,等.慢性 HBV 感染者 HBV 特异性 CD8+T 细胞 Tim-3 和 PD-1 的表达水平及其与 IFN- γ 产生的相关性研究[J].中华实验和临床感染病杂志:电子版[J/CD]. 2013, 7(5): 665-669.
[9] Moschen AR, Fritz T, Clouston AD, et al. Interleukin-32: a new proinflammatory cytokine involved in hepatitis C Virus-Related liver inflammation and fibrosis[J]. Hepatology, 2011, 53(6): 1819-1829.
[10] 齐育英,林振忠,明德松. IL-6、IL-10、IL-17 在慢性乙型病毒性肝炎患者血中水平分析[J].中国免疫学杂志,2013,29(11): 1177-1180.
[11] 黄珊,何清,唐奇远,等.91 例非活动性 HBsAg 携带者肝组织病理特点的研究[J].中国病毒病杂志,2012,2(3): 58-61.
[12] 苏秋东,毕胜利.慢性乙型肝炎感染自然史[J].中华实验和临床病毒学杂志,2012,26(6): 494-496.

(收稿日期:2015-07-10)

Gastroenterol, 2014, 20(32): 11287-11296.
[4] Deng B, Tan QY, Fan XQ, et al. Clinical value of assaying tumor supplied group of factor/tumor specific growth factor in patients with solitary pulmonary nodule[J]. Clin Lung Cancer, 2011, 12(3): 192-196.
[5] 中国抗癌协会肝癌专业委员会.原发性肝癌诊断标准[J].中华肝脏病杂志,2000,8(3): 135.
[6] 中华医学会传染病与寄生虫病学会,肝病学会.病毒性肝炎防治方案[J].中华传染病杂志,2001,19(1): 56-62.
[7] Lee SY, Konstantinidis IT, Eaton AA, et al. Predicting recurrence patterns after resection of hepatocellular Cancer[J]. HPB (Oxford), 2014, 16(10): 943-953.
[8] Wang NY, Wang C, Li W, et al. Prognostic value of serum AFP, AFP-L3, and GP73 in monitoring short-term treatment response and recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(4): 1539-1544.
[9] Zhou G, Niu L, Chiu D, et al. Changes in the expression of serum markers CA242, CA199, CA125, CEA, TNF- α and TSGF after cryosurgery in pancreatic cancer patients[J]. Biotechnol Lett, 2012, 34(7): 1235-1241.
[10] Yao S, Zhang J, Chen H, et al. Diagnostic value of immunohistochemical staining of GP73, GPC3, DCP, CD34, CD31, and reticulin staining in hepatocellular carcinoma[J]. J Histochem Cytochem, 2013, 61(9): 639-648.

(收稿日期:2015-07-16)