

论著·临床研究

GP73、AFP-L3、TIP30 联合检测对乙型肝炎 源性肝癌肝硬化的诊断价值^{*}

刘彦明¹, 何 珊², 曹 越³, 蔡文灿¹

(1. 粤北人民医院检验科, 广东韶关 512026; 2. 南方医科大学检验与生物技术学院, 广东广州 510030;
3. 韶关学院医学院医学技术系, 广东韶关 512026)

摘 要:目的 探究血清高尔基体蛋白 73(GP73)、甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、Tat 结合蛋白 30(TIP30)联合检测对乙型肝炎源性肝癌、肝硬化的诊断价值。方法 收集乙型肝炎病毒携带患者血清标本 150 份, 其中慢性乙型肝炎患者 50 例、肝硬化患者 50 例、原发性肝癌患者 50 例, 及另外健康对照者血清标本 40 份。用酶联免疫分析定量检测各組人群血清 GP73、TIP30 水平, 微量离心柱分离 AFP-L3, 电化学发光法测定血清总 AFP 和分离洗脱液中 AFP-L3 水平, 并计算 AFP-L3/AFP 比例。结果 随着慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌的进程, GP73、AFP-L3 水平呈现上升趋势, 而 TIP30 呈下降趋势。GP73、AFP-L3、TIP30 对乙型肝炎源性肝硬化的诊断临界值分别为 0.72 IU/mL、9.81%、6.89 ng/mL, 单项 TIP30 诊断乙型肝炎源性肝硬化的灵敏度、特异度和曲线下面积最高, 分别为 70.00%(35/50)、67.78%(61/90)和 0.747; 联合检测 GP73、AFP-L3、TIP30 诊断乙型肝炎源性肝硬化的灵敏度、特异度及曲线下面积为 80.00%(40/50)、75.55%(68/90)和 0.767。肝癌组与对照组、肝炎组、肝硬化组血清 GP73、AFP-L3、TIP30 水平比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$)。GP73、AFP-L3、TIP30 对乙型肝炎源性肝癌的诊断临界值分别为 1.13 IU/mL、12.40%、3.50 ng/mL; 单项 TIP30 诊断乙型肝炎源性肝癌灵敏度、特异度和曲线下面积最高, 分别为 70.00%(35/50)、77.14%(108/140)和 0.936; 联合检测 GP73、AFP-L3、TIP30 诊断乙型肝炎源性肝癌灵敏度、特异度及曲线下面积为 92.00%(45/50)、91.43%(128/140)和 0.977。结论 单独检测 TIP30 对乙型肝炎源性肝硬化和肝癌的诊断价值较高, GP73、AFP-L3、TIP30 联合检测可提高诊断价值, 用于乙型肝炎源性肝硬化、肝癌辅助检测。

关键词:高尔基体蛋白 73; 甲胎蛋白异质体 3; Tat 结合蛋白 30; 乙型肝炎源性肝癌; 乙型肝炎源性肝硬化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.019

中图法分类号:R657.3+1

文章编号:1673-4130(2018)22-2794-06

文献标识码:A

The value of combined tests of serum GP73, AFP-L3 and TIP30 in diagnosis of HBV related hepatocellular carcinoma and cirrhosis^{*}

LIU Yanming¹, HE Shan², CAO Yue³, CAI Wencan¹

((1. Department of Clinical Laboratory, Yuebei People's Hospital, Shaoguan, Guangdong 512026, China; 2. School of Laboratory Medicine and Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510030, China; 3. Department of Medical Technology, Shaoguan Medical College, Shaoguan, Guangdong 512026, China))

Abstract: Objective To investigate the value of combined tests of serum golgi body protein 73 (GP73), α -fetoprotein-L3 (AFP-L3) and Tat binding protein 30 (TIP30) in the diagnosis of HBV derived hepatocellular carcinoma Hepatitis B cirrhosis. **Methods** The serum samples of 150 cases of hepatitis B virus carriers were collected, including 50 cases of chronic hepatitis B, 50 cases of liver cirrhosis, 50 cases of primary hepatic carcinoma, and the serum samples of 40 healthy people were also taken as controls. Serum GP73 and TIP30 levels in each group were detected by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). AFP-L3 was separated by microspin column. The level of AFP-L3 in separated eluent and total AFP were quantified by electrochemiluminescence immunoassays, and the percentage of AFP-L3 to AFP was calculated. **Results** With the process of

^{*} 基金项目:广东省医学科学技术研究基金资助项目(B2018262);韶关市卫生计生科研项目(Y18087)。

作者简介:刘彦明,男,副主任检验技师,主要从事肝癌抑癌基因甲基化与肿瘤标志物研究。

本文引用格式:刘彦明,何珊,曹越,等. GP73、AFP-L3、TIP30 联合检测对乙型肝炎源性肝癌肝硬化的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2794-2800.

chronic hepatitis B to cirrhosis to hepatic carcinoma, GP73 and AFP-L3 levels showed a rising trend, while TIP30 level showed a downward trend. The diagnostic thresholds of GP73, AFP-L3 and TIP30 for cirrhosis were 0.72 IU/mL, 9.81%, 6.89 ng/mL respectively. Among single index detection, the sensitivity, specificity and area under ROC curve of TIP30 for diagnosing cirrhosis were the highest, which were 70.00% (35/50), 67.78% (61/90) and 0.747 respectively. The sensitivity, specificity and area under ROC curve of combined detection of GP73, AFP-L3 and TIP30 for diagnosing cirrhosis were 80.00% (40/50), 75.55% (68/90) and 0.767. The levels of serum GP73, AFP-L3 and TIP30 in hepatic carcinoma group had significant differences when compared to the control group, chronic hepatitis B group and liver cirrhosis group ($P < 0.01$). The diagnostic thresholds of GP73, AFP-L3 and TIP30 for hepatocellular carcinoma were 1.13 IU/mL, 12.40% and 3.50 ng/mL respectively. Among single index detection, the sensitivity, specificity and area under ROC curve of TIP30 for diagnosing primary hepatic carcinoma were the highest, which were 70.00% (35/50), 77.14% (108/140) and 0.936 respectively; the sensitivity, specificity and area under ROC curve of combined detection of GP73, AFP-L3 and TIP30 for diagnosing primary hepatic carcinoma were 92.00% (45/50), 91.43% (128/140) and 0.977. **Conclusion** The single detection of TIP30 has higher diagnostic value for HBV derived hepatocellular carcinoma and Hepatitis B cirrhosis. The combined detection of GP73, AFP-L3 and TIP30 can improve the diagnostic value and is used in assisting the diagnosis of HBV related liver cancer Hepatitis B cirrhosis.

Key words: golgi body protein 73; α -fetoprotein-L3; tat binding protein 30; HBV related hepatocellular carcinoma; HBV derived cirrhosis

肝癌通常是指原发性肝癌 (PHC) 或肝细胞癌 (HCC), 全球发病率居第 5 位, 国内发病率居 2 位, 病死率居第 3 位, 是世界范围内因预后不良而导致癌症死亡的主要原因之一^[1-2]。HCC 主要发病原因有病毒性肝炎、食物中的黄曲霉素污染、吸烟、酒精等因素, 其中 HBV 感染与 PHC 的发生密切相关, 两者相关率高达 80%。若乙型肝炎 (简称乙肝) 患者不注意个人的饮食、生活习惯, 没有及时进行抗病毒、保肝护肝治疗, 大多数患者会经历慢性乙型肝炎 (CHB)——肝纤维化——肝硬化——肝癌的演变过程^[3]。甲胎蛋白 (AFP) 是目前诊断 PHC 最重要的肿瘤标记物, 应用了数十年, 其灵敏度 40%~65%, 特异度 76%~96% 均不令人满意^[4]。

近年来, 血清高尔基体蛋白 73 (GP73)、甲胎蛋白异质体 3 (AFP-L3) 有望成为 PHC 早期诊断的肿瘤标志物。GP73 作为高尔基体上一种跨膜蛋白, 主要由胆管上皮细胞表达而肝细胞很少甚至不表达, 研究发现, 病毒性肝炎 (乙肝或丙肝) 或者其他的慢性肝病 (酒精肝或脂肪肝) 时 GP73 水平会出现升高。GP73 诊断 PHC 的灵敏度为 69%, 特异性为 75%, 优于 AFP^[5-6]。根据 AFP 与植物外源性凝集素的亲和性不同, 可将其分为 AFP-L1、AFP-L2、AFP-L3, 其中 AFP-L3 是肝癌细胞所特有, 曾有研究报道, AFP-L3 诊断 PHC 的灵敏度和特异性分别为 72.3% 和 97.2%, 在肝癌的恶性程度和预后评估上有重要意义^[7-8]。Tat 结合蛋白 30 (TIP30) 也被称为 (HTATIP2), 是人类免疫缺陷病毒在体外转录时发现的一种分子量 30Kd 的结合蛋白, 以往的研究认为

其是一种抑癌基因表达产物, TIP30 的下调表达与肝癌的产生及转移有关^[9]。

目前, 已有关于 GP73、AFP-L3 单独及联合检测在 PHC 诊断中的意义的报道, 但鲜见关于血清 TIP30 在 PHC 诊断中的意义报道和这些指标在乙型肝炎—肝硬化—肝癌变过程中变化的研究报道。笔者收集了 150 例乙肝病毒携带者和 40 例健康对照者血清标本, 根据临床病情与诊断将乙肝病毒携带者分为 CHB 患者 50 例、肝硬化患者 50 例、原发性肝癌患者 50 例, 检测其外周血清 GP73、AFP-L3、TIP30 水平, 并分析评价 3 项指标联合检测对乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的诊断效能, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2017 年 1 月至 2017 年 9 月就诊的患者, 经乙肝五项定量 (时间分辨荧光免疫分析) 或乙肝病毒 DNA 检测确定为乙肝病毒携带者, 根据其临床病情与诊断分为 CHB 组 (肝炎组)、肝硬化组、肝癌组。其中尚未发展为肝硬化、肝癌的乙肝病毒携带者作为 CHB 组 (肝炎组); 其中与肝硬化构成相似且尚未发展为肝癌的乙肝病毒携带者作为肝硬化组; 其中被确诊为原发性肝癌的患者作为肝癌组。肝癌的诊断标准均符合全国肿瘤防治办公室与中国抗癌协会合编的《新编常见恶性肿瘤诊治规范》中有关原发性肝癌的诊断标准。选择本院体检中心体检健康者作为健康对照组, 所有研究对象至研究结束时均在世且临床资料完整。CHB 组、肝硬化组、肝癌组排除标准: (1) 合并其他类型肝炎病毒感染; (2) 由于酒精、药物引起的肝脏损伤; (3) 合并其他部位肿

瘤。健康对照组排除标准:(1)病毒性肝炎、脂肪肝、酒精肝、药物性肝炎等肝损伤疾病;(2)半年内有手术史;(3)慢性病史;(4)熬夜、饮酒、吸烟、吸毒等不良生活习惯人群;(5)慢性病史;(6)肝功能、乙肝五项、乙肝病毒 DNA 等结果异常者;(7)自述身体不适者。CHB 组 50 例中男 28 例、女 22 例,年龄 30~78 岁,平均(56.45±7.88)岁;肝硬化组 50 例中男 29 例、女 21 例,年龄 35~78 岁,平均(58±8.12)岁;肝癌组患者 50 例中男 29 例、女 21 例,年龄 39~81 岁,平均(57.50±9.25)岁;健康对照组 40 例中男 23 例、女 17 例,年龄 25~75 岁,平均(54±7.50)岁。经统计分析各组性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 CMax Plus 全自动酶标仪、罗氏 cobas e602 电化学发光分析仪。GP73、TIP30 测定试剂盒购于 CUSABIO 公司;AFP-L3 纯化柱购于购于北京热景公司;AFP 测定试剂盒购于上海罗氏公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 用肝素锂抗凝管采集受检者清晨空腹肘静脉血 5 mL,3 500 r/min 离心 10 min 分离血清,血清置于 3 mL EP 管,−80 ℃ 保存备用。

1.3.2 检测方法 GP73、TIP30 测定采用酶联免疫定量方法检测,按照说明书操作,根据各项目标准品浓度测得的吸光度值,进行多项式曲线拟合,得到 GP73 和 TIP30 的多项式拟合曲线和相关系数,分别为 $Y = 5.66X^2 - 2.89X + 0.65, r^2 = 0.97$; $Y = 4.97X^2 + 3.72X - 0.15, r^2 = 0.99$ (Y 为标本项目浓度, X 为标本吸光度)。AFP-L3 分离采取微量层析柱法,按照说明书操作。罗氏 cobas e602 上机检测总 AFP 水平和分离洗脱液中 AFP-L3 水平,并计算 AFP-L3/AFP 比例。

1.3.3 观察内容 检测各组血清 GP73、AFP-L3、TIP30 水平并比较其差异;受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析各指标诊断乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的曲线下面积、临界值(根据约登指数最大原则);评价联合检测上述指标在诊断乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌中的意义。

1.3.4 诊断效果验证 分别将对照组、肝炎组、肝硬化组、肝癌组按照待验证的肿瘤标志物的水平由低到高排序后分群,10 个为一群,从群中随机抽取 3 个,得到各组 30% 的数据将其作为验证组,剩下的 70% 的数据为实验组,进行单指标 ROC 曲线和 Logistic 回归后进行多指标联合 ROC 曲线分析,随机抽样 10 次,得到验证组和试验组各自的灵敏度、特异性、准确率,用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

1.4 统计学处理 利用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析。检测数据为计量资料呈正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采取方差分析 Kruskal-Wallis 检验,多组间两两比较采取 Bonferroni 检验,计数资料

采取 χ^2 检验。联合检测先采用二元 Logistic 回归分析预测模型,引入标准 $P<0.05$,剔除标准为 $P>0.10$,从而得出多指标联合预测概率的新的变量,由此作出多指标联合检测 ROC 曲线图,采用曲线下面积(AUC)评价对乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的诊断灵敏度、特异性和准确率。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 检测结果比较 肝炎组与肝硬化组 GP73 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),对照组与肝炎组 AFP-L3%、TIP30 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),其他各组检测各项目之间比较差异均有统计学意义($P>0.01$),肝癌组与对照组、肝炎组、肝硬化组血清 GP73、AFP-L3、TIP30 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。GP73 和 AFP-L3 水平在慢性肝炎肝炎-肝硬化-肝癌的发展呈现上升趋势,而 TIP30 水平呈现下降趋势,结果见表 1、图 1。

表 1 各组血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	GP73(IU/mL)	AFP-L3(%)	TIP30(ng/mL)
对照组	40	0.092±0.017	9.874±1.423	11.997±1.302
肝炎组	50	0.908±0.183	9.403±3.037	11.027±2.412
肝硬化组	50	1.087±0.230	13.176±2.022	7.634±2.261
肝癌组	50	1.319±0.270*	15.721±2.117*	4.946±1.366*
<i>F</i>		291.385	83.143	131.163
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注:与其他各组比较,* $P<0.01$

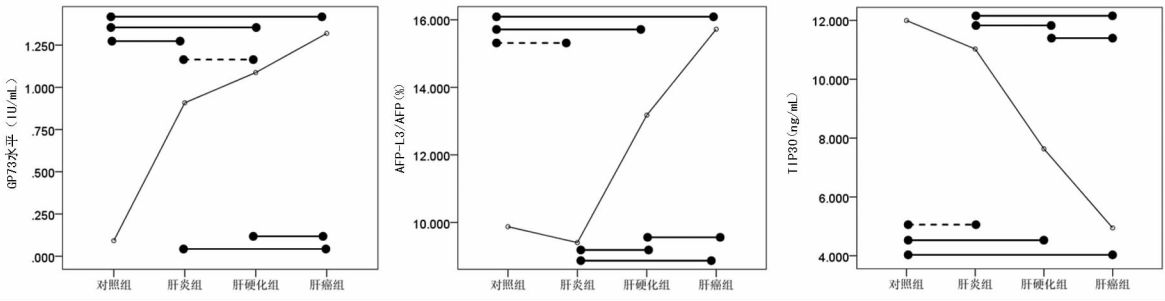
表 2 各组血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 诊断乙肝源性肝硬化的阳性率比较[$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	GP73	AFP-L3	TIP30
肝硬化组	50	31(62.00)*	33(66.00)*	35(70.00)*
肝炎组	50	25(50.00)	26(52.00)	27(54.00)
对照组	40	7(17.50)	5(12.50)	2(5.00)
χ^2		32.420	55.586	62.450
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注:与其他各组比较,* $P<0.01$

2.2 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项和联合检测对乙肝源性肝硬化的鉴别诊断效能 将对照组和肝炎组合并为非肝硬化组,依照 ROC 曲线分析约登指数最大原则,将 GP73、AFP-L3 和 TIP30 鉴别诊断乙肝源性肝硬化的临界值分别设定为 0.72 IU/mL、9.81%、6.89 ng/mL。肝硬化组 GP73、AFP-L3 和 TIP30 阳性检出率明显高于肝炎组和对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 2。用 ROC 曲线分析评价各指标单项和联合检测的诊断效果,见图 2 与表 3。单项检

测 TIP30 诊断效果最好,联合检测优于单项检测,见 表 4。



注:实线为 $P<0.01$,虚线为 $P>0.05$

图 1 各组血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 检测结果比较

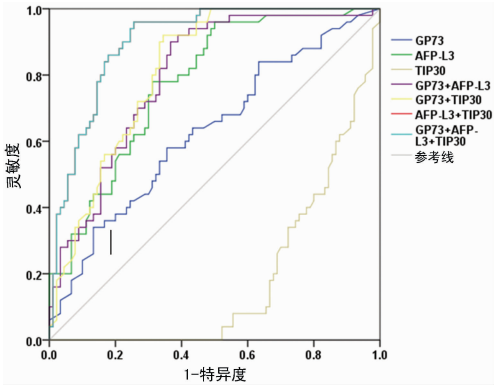


图 2 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测鉴别诊断乙肝源性肝硬化的 ROC 曲线分析

2.3 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检对乙肝源性肝硬化诊断效能验证 统计结果显示,试验组和验证组的灵敏度、特异性和准确率比较,差异无统计

学意义($P>0.05$),见表 5。

表 3 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测鉴别诊断乙肝源性肝硬化的 ROC 曲线下面积比较

检测项目	曲线下面积	标准误 ^a	显著性分析 ^b	95%置信区间	
				下限	上限
GP73	0.649	0.051	0.003	0.549	0.750
AFP-L3	0.673	0.051	0.001	0.574	0.773
TIP30 [*]	0.253	0.040	0.000	0.174	0.332
GP73+AFP-L3	0.673	0.051	0.001	0.574	0.773
GP73+TIP30	0.747	0.040	0.000	0.668	0.826
AFP-L3+TIP30	0.767	0.041	0.000	0.687	0.847
GP73+AFP-L3+TIP30	0.767	0.041	0.000	0.687	0.847

注:^a 表示非参数假设下,^b 表示零假设,面积=0.5,^{*} TIP30 与乙肝源性肝硬化呈负相关,TIP30 的 ROC 曲线下面积为 0.747

表 4 血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测对乙肝源性肝硬化的诊断价值比较[% (n/n)]

检测项目	灵敏度	特异性	准确率
GP73	62.00(31/50) * #	64.44(58/90) * #	75.71(89/140) * #
AFP-L3	66.00(33/50) * #	65.56(59/90) * #	75.00(92/140) * #
TIP30	70.00(35/50) * #	67.78(61/90) * #	81.42(96/140)
GP73+AFP-L3	68.00(34/50) * #	66.67(60/90) * #	77.14(94/140) * #
GP73+TIP30	72.00(36/50) * #	67.78(61/90) * #	79.28(97/140)
AFP-L3+TIP30	78.00(39/50)	72.22(65/90) * #	81.42(104/140)
GP73+AFP-L3+TIP30	80.00(40/50)	75.55(68/90)	82.14(108/140)

注:与 GP73+AFP-L3+TIP30 比较,* $P<0.05$,与 AFP-L3+TIP30 比较,# $P<0.05$

表 5 血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测对乙肝源性肝硬化的验证结果比较(% , $\bar{x}\pm s$)

检测项目	灵敏度		特异性		准确率	
	试验组	验证组	试验组	验证组	试验组	验证组
GP73	64.54 $\pm$ 2.30	67.02 $\pm$ 3.65 *	83.56 $\pm$ 2.30	84.35 $\pm$ 2.45 *	74.98 $\pm$ 2.02	75.58 $\pm$ 2.65 *
AFP-L3	58.46 $\pm$ 2.93	60.84 $\pm$ 2.05 *	85.60 $\pm$ 2.98	84.82 $\pm$ 2.56 *	76.32 $\pm$ 2.66	75.80 $\pm$ 2.16 *
TIP30	73.28 $\pm$ 2.66	75.36 $\pm$ 3.35 *	85.20 $\pm$ 2.24	87.06 $\pm$ 3.95 *	82.00 $\pm$ 2.44	83.28 $\pm$ 2.69 *
GP73+AFP-L3	69.12 $\pm$ 2.28	72.54 $\pm$ 3.32 *	80.46 $\pm$ 2.08	82.35 $\pm$ 2.84 *	75.35 $\pm$ 1.98	76.80 $\pm$ 2.44 *
GP73+TIP30	70.80 $\pm$ 2.47	73.35 $\pm$ 4.22 *	81.90 $\pm$ 1.99	83.05 $\pm$ 2.50 *	80.50 $\pm$ 2.40	82.56 $\pm$ 2.86 *
AFP-L3+TIP30	77.80 $\pm$ 2.85	75.64 $\pm$ 2.04 *	86.40 $\pm$ 2.72	85.32 $\pm$ 2.38 *	83.55 $\pm$ 3.03	84.82 $\pm$ 3.88 *
GP73+AFP-L3+TIP30	77.20 $\pm$ 3.65	79.04 $\pm$ 4.03 *	85.60 $\pm$ 3.18	84.85 $\pm$ 2.66 *	81.50 $\pm$ 2.62	83.54 $\pm$ 3.35 *

注:与试验组比较,* $P>0.05$

表 6 各组血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 诊断乙肝源性肝癌的阳性率比较[n(%)]

组别	n	GP73	AFP-L3	TIP30
肝癌组	50	32(64.00) *	34(68.00) *	35(70.00) *
肝硬化组	50	22(44.00)	25(50.00)	28(56.00)
肝炎组	50	22(44.00)	13(26.00)	14(28.00)
对照组	40	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
χ ²		55.46	78.02	95.33
P		0.000	0.000	0.000

注：与其他各组比较，* P<0.01

2.4 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项和联合检测对乙肝源性肝癌的鉴别诊断效能 将对照组、肝炎组、肝硬化组合并为非肝癌组，依照 ROC 曲线分析约登指数最大原则，将 GP73、AFP-L3 和 TIP30 鉴别诊断乙肝源性肝癌的临界值分别设定为 1.13 IU/mL、12.40%、3.50 ng/mL。肝癌组 GP73、AFP-L3 和 TIP30 阳性检出率明显高于肝硬化组、肝炎组和对照组(P<0.01)，结果见表 6。用 ROC 曲线分析评价各指标单项和联合检测的诊断效果，见图 3 与表 7。单项检测 TIP30 诊断效果最好，联合检测优于单项检测，见表 8。

2.5 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测对乙肝源性肝癌诊断效能验证 统计结果显示试验组和验证组的灵敏度、特异性和准确率比较，差异无统计

学意义(P>0.05)，见表 9。

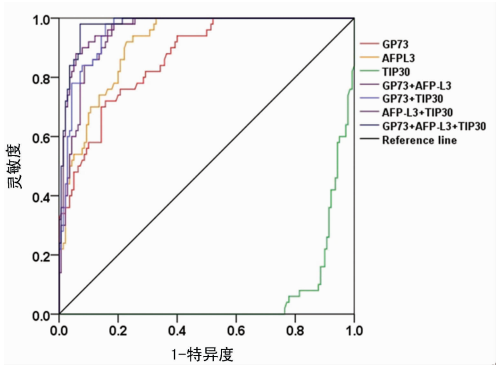


图 3 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测鉴别诊断乙肝源性肝癌的 ROC 曲线分析

表 7 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测鉴别诊断乙肝源性肝癌的 ROC 曲线下面积比较

检测项目	曲线下面积	标准误 ^a	显著性分析 ^b	95%置信区间	
				下限	上限
GP73	0.865	0.027	0.000	0.812	0.919
AFP-L3	0.910	0.020	0.000	0.871	0.950
TIP30 *	0.064	0.017	0.000	0.032	0.097
GP73+AFP-L3	0.945	0.015	0.000	0.916	0.975
GP73+TIP30	0.957	0.013	0.000	0.931	0.982
AFP-L3+TIP30	0.969	0.011	0.000	0.948	0.990
GP73+AFP-L3+TIP30	0.977	0.009	0.000	0.959	0.995

注：^a 表示非参数假设下，^b 表示零假设，面积=0.5，* TIP30 与乙肝源性肝癌呈负相关，TIP30 的 ROC 曲线下面积为 0.936

表 8 血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测对乙肝源性肝癌的诊断价值比较[% (n/n)]

检测项目	灵敏度	特异性	准确率
GP73	64.00(32/50) * #	68.57(96/140) * #	67.37(158/190) * #
AFP-L3	68.00(34/50) * #	72.86(102/140) * #	71.58(136/190) * #
TIP30	70.00(35/50) * #	77.14(108/140) * #	75.26(143/190) * #
GP73+AFP-L3	70.00(35/50) * #	75.00(105/140) * #	73.68(140/190) * #
GP73+TIP30	72.00(36/50) * #	78.57(110/140) * #	76.84(146/190) * #
AFP-L3+TIP30	82.00(40/50)	85.71(120/140)	84.21(160/190)
GP73+AFP-L3+TIP30	92.00(45/50)	91.43(128/140)	91.05(173/190)

注：与 GP73+AFP-L3+TIP30 比较，* P<0.05；与 AFP-L3+TIP30 比较，# P<0.05

表 9 血清 GP73、AFP-L3 和 TIP30 单项及联合检测对乙肝源性肝癌的验证结果比较(%， $\bar{x} \pm s$)

检测项目	灵敏度		特异性		准确率	
	试验组	验证组	试验组	验证组	试验组	验证组
GP73	74.86±2.30	75.02±2.50 *	93.26±3.30	95.75±3.45 *	86.78±2.82	88.58±3.65 *
AFP-L3	66.36±2.58	68.84±2.88 *	95.60±2.50	94.82±1.96 *	86.65±2.86	88.08±3.56 *
TIP30	83.58±2.96	85.36±3.28 *	97.20±3.54	95.06±2.65 *	92.45±2.04	93.88±2.89 *
GP73+AFP-L3	79.52±2.28	80.04±2.32 *	89.66±2.88	91.35±3.94 *	85.45±2.98	86.18±3.44 *
GP73+TIP30	85.80±3.40	83.35±2.82 *	96.56±2.99	94.85±2.10 *	90.50±2.36	92.56±3.90 *
AFP-L3+TIP30	86.40±2.03	85.64±1.88 *	97.80±2.80	98.52±3.08 *	93.55±3.55	94.82±3.97 *
GP73+AFP-L3+TIP30	87.54±3.05	89.04±3.58 *	91.60±2.48	93.85±3.46 *	91.36±2.77	93.54±3.60 *

注：与试验组比较，* P>0.05

3 讨 论

CHB 后肝硬化伴发的肝癌在我国的发生率极高,PHC 给中国带来的花费和社会负担排名第一,研究表明 PHC 预后差的主要原因之一是缺乏早期特异性诊断指标及手段。影像学检查有一定的局限性,不能成为高危人群的普查方式。AFP 是目前检测 PHC 最常用的肿瘤标志物,其敏感度报告各异,在 33%~85%,平均 56.3%,作为 PHC 早期诊断肿瘤标志物并不理想。在 HBV 感染→慢性肝炎→肝硬化→肝癌发病过程中,目前尚无简单易行且灵敏度及特异性均较高的检测指标能够独立的评估肝脏炎症、慢性纤维化程度及癌变。本试验通过分析 CHB 组、肝硬化组、肝癌组 GP73、AFP-L3 和 TIP30 水平,联合检测评价上述指标在乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌诊断中的临床意义。

GP73、AFP-L3 和 TIP30 是新发现的 PHC 肿瘤标志物。GP73 是存在于高尔基体的一种跨膜蛋白,主要由胆管上皮细胞表达,而肝细胞很少甚至不表达。研究发现,病毒性肝炎(乙肝或丙肝)或者其他的慢性肝病(酒精肝或脂肪肝)时 GP73 会出现升高,但远不及肝癌患者^[10]。文献报道 GP73 诊断肝癌的灵敏度 69%、特异度 75%,优于 AFP,并且与肝癌的 TNM 分期有一定相关性^[11]。文献报道约 57%的低 AFP 水平(<20 $\mu\text{g/L}$)的肝癌患者中 GP73 水平显著升高^[12]。但也有文献报道 GP73 与肝癌没有明显相关性^[13]。本文结果显示乙肝源性肝硬化组和乙肝源性肝癌组 GP73 水平和阳性检出率均明显高于其他各组,GP73 的乙肝源性肝硬化和乙肝源性肝癌 ROC 曲线下面积分别为 0.649 和 0.865,单项检测对乙肝源性肝硬化和乙肝源性肝癌的灵敏度和特异性也较高。因此,本文结果证实了血清 GP73 水平对检测乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的临床意义,其可用于上述疾病的辅助诊断。

因不同组织器官产生的 AFP 含有的糖基不同,与植物外源性凝集素的亲和性不同,将其分为 AFP-L1、AFP-L2、AFP-L3,其中 AFP-L3 是 PHC 所特有。以往的研究结果显示,PHC 患者血清 AFP-L3 水平明显高于慢性肝病患者,并且与 TNM 分期和转移相关^[14-15],但鲜见 AFP-L3 对乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的相关报道。本文结果显示,乙肝源性肝硬化组和乙肝源性肝癌组 AFP-L3 水平和阳性检出率均明显高于其他各组,AFP-L3 的乙肝源性肝硬化和乙肝源性肝癌灵敏度、特异性、ROC 曲线下面积比 AFP 高。本文结果证实 AFP-L3 水平对检测乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的临床意义,其有望成为比 AFP 更好的诊断、治疗、预后监测的标志物。

TIP30 是一种抑癌基因的表达产物,序列分析发现 TIP30 蛋白与肿瘤转移抑制基因 CC3 基因表达产物为同一蛋白,TIP30 可通过与 DNA 结合、跟 RNA

多聚酶 II 形成复合物等调节细胞增殖、凋亡及血管生成相关基因而达到抑制肿瘤发生和转移的作用^[16]。之前文献报道 TIP30 在肝癌、乳腺癌、口腔血管瘤、小细胞肺癌等中低表达,也进一步印证了抑癌基因的表达往往与肿瘤的发生、发展呈负相关^[17]。但也有报道称 TIP30 在卵巢浆液性癌中高表达,原因可能与雌激素受体有关系^[18]。现有文献多采用免疫组化方法检测肿瘤组织 TIP30 原位表达情况^[19-20],相比之下本文 ELISA 方法更适合大范围人群筛查。本文结果显示乙肝源性肝硬化组和肝癌组血清 TIP30 水平明显低于肝炎组和对照组,随着慢性肝炎→肝硬化→肝癌发病过程,血清 TIP30 水平呈现下降趋势,与之前报道的 TIP30 的表达与肝癌的发生呈负相关相符。TIP30 的乙肝源性肝硬化和乙肝源性肝癌 ROC 曲线下面积分别为 0.747 和 0.936,在研究的 3 个标志物中,单项检测对乙肝源性肝硬化和乙肝源性肝癌的灵敏度、特异度和准确率均最佳。通过随机抽样对 3 个标志物及其联合检测诊断效能进行验证,结果显示试验组和验证组的灵敏度、特异性和准确率均一致。

多种肿瘤标志物联合检测往往具有更好的诊断效能,本文结果表明,GP73、AFP-L3 和 TIP30 联合检测对乙肝源性肝硬化的灵敏度、特异度和 ROC 曲线下面积分别为 80.00%(40/50)、75.55%(68/90)和 0.767,高于单项检测。GP73、AFP-L3 和 TIP30 联合检测对乙肝源性肝癌的灵敏度、特异度和 ROC 曲线下面积分别为 92.00%(45/50)、91.43%(128/140)和 0.977,也优于单项检测。ROC 曲线下的面积值 0.5~<0.7 时有较低准确性,AUC 在 0.7~0.9 时有一定准确性,在 0.9 以上时有较高准确性。因为本文认为 3 项指标联合检测对乙肝源性肝癌的诊断价值优于乙肝源性肝硬化,其中 AFP-L3 和 TIP30 联合检测在所有的两项肿瘤标志物联合检测的灵敏度和特异性最佳,且可靠性也经过交叉验证无异。

但本文所收集的临床病例资料尚少,属于小样本的数据统计分析,还需要进一步大量的临床病例收集对初步的数据理论进行验证。同时,本研究的深入探讨正在进行中,包括收集更大量的临床数据来缩小小样本统计带来的灵敏度、特异度及准确率的统计误差,进一步明确这些指标在乙肝源性肝硬化和乙肝源性肝癌中的诊断意义。本课题还将围绕血清 TIP30 作为肝癌肿瘤标志物的组织特异度及与肝癌转移之间的关系展开研究。

4 结 论

AFP-L3 和 TIP30 联合检测可用于乙肝源性肝硬化、乙肝源性肝癌的早期筛查,这样既能减少检验成本又能兼顾诊断效能的灵敏度和特异度。

参考文献

- [1] ZUO T, ZHENG R, ZENG H, et al. Analysis of liver

- cancer incidence and trend in China[J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2015, 37(9): 691-696.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
 - [3] TU T, BUDZINSKA M A, SHACKEL N A, et al. HBV DNA integration; molecular mechanisms and clinical implications[J]. *Viruses*, 2017, 9(4): 75.
 - [4] BIRD T G, DIMITROPOULOU P, TURNER R M, et al. Alpha-Fetoprotein detection of hepatocellular carcinoma leads to a standardized analysis of dynamic AFP to improve screening based detection[J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0156801.
 - [5] WEI H, LI B, ZHANG R, et al. Serum GP73, a marker for evaluating progression in patients with chronic HBV infections[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e53862.
 - [6] XU Z, LIU L, PAN X, et al. Serum golgi protein 73 (GP73) is a diagnostic and prognostic marker of chronic HBV liver disease[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(12): e659.
 - [7] WU C, LEE T, CHOU R H, et al. Development of a highly sensitive glycan microarray for quantifying AFP-L3 for early prediction of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99959.
 - [8] PARK S J, JANG J Y, JEONG S W, et al. Usefulness of AFP, AFP-L3, and PIVKA-II, and their combinations in diagnosing hepatocellular carcinoma[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(11): e5811.
 - [9] ZHANG X, LV L, OUYANG X, et al. Association of TIP30 expression and prognosis of hepatocellular carcinoma in patients with HBV infection[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(9): 2180-2189.
 - [10] HU L, YAO W, WANG F, et al. GP73 is upregulated by hepatitis C virus (HCV) infection and enhances HCV secretion[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90553.
 - [11] AI N, LIU W, LI Z, et al. High expression of GP73 in primary hepatocellular carcinoma and its function in the assessment of transcatheter arterial chemoembolization[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4): 3953-3958.
 - [12] BA M, LONG H, TANG Y, et al. GP73 expression and its significance in the diagnosis of hepatocellular carcinoma; a review[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2012, 5(9): 874-881.
 - [13] SHAN S, GAO Y, XU Y, et al. 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]. *Hepatol Res*, 2013, 43(11): 1199-1210.
 - [14] LIM T S, KIM D Y, HAN K H, et al. Combined use of AFP, PIVKA-II, and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2016, 51(3): 344-353.
 - [15] SHI M, HUANG Z, YANG Y, et al. Diagnostic value of serum Golgi protein-73 (GP73) combined with AFP-L3% in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2015, 23(3): 189-193.
 - [16] OUYANG H, GORE J, DEITZ S, et al. microRNA-10b enhances pancreatic cancer cell invasion by suppressing TIP30 expression and promoting EGF and TGF- β actions[J]. *Oncogene*, 2014, 33(38): 4664-4674.
 - [17] FAN S, LIAO C, CAO Y, et al. A low serum Tat-interacting protein 30 level is a diagnostic and prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(6): 4208-4214.
 - [18] KUMTEPE Y, HALICI Z, SENGUL O, et al. High serum HTATIP2/TIP30 level in serous ovarian cancer as prognostic or diagnostic marker[J]. *Eur J Med Res*, 2013, 18(1): 18.
 - [19] WANG W, LIANG L, XU H, et al. The combination of HTATIP2 expression and microvessel density predicts converse survival of hepatocellular carcinoma with or without sorafenib[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(11): 3895-3906.
 - [20] ZHANG C, MORI M, GAO S, et al. Tip30 deletion in MMTV-Neu mice leads to enhanced EGFR signaling and development of estrogen receptor-positive and progesterone receptor-negative mammary tumors[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(24): 10224-10233.

(收稿日期: 2018-04-22 修回日期: 2018-07-12)

(上接第 2793 页)

- 会议. 各项脑血管诊断要点(1995)[J]. *中华神经内科学杂志*, 1996, 29(6): 379.
- [10] ELMORE S. Apoptosis: a review of programmed cell death[J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(4): 495-516.
 - [11] 吕建平, 骆锦标, 曹志恺, 等. 脑淀粉样血管病脑出血患者血清抗 A β 抗体检测及临床治疗[J]. *解剖学研究*, 2013, 35(1): 32-35.
 - [12] ZHANG X Q, ZHANG Z M, YIN X L, et al. Exploring the optimal operation time for patients with hypertensive intracerebral hemorrhage: tracking the expression and progress of cell apoptosis of prehematoma brain tissues[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(10): 1246-1250.
 - [13] 聂柳, 王洪军, 刘兴吉, 等. 脑出血大鼠颅内压及 Bcl-2、Bax 表达的变化与血肿周围水肿区细胞凋亡的关系[J]. *广东医学*, 2016, 37(4): 492-495.
 - [14] 鲍刚, 王茂德, 韩玉梁, 等. 脑出血血肿周围组织中 P75NTR 和 proNGF 的表达及其与细胞凋亡的关系[J]. *神经解剖学杂志*, 2010, 26(1): 78-81.

(收稿日期: 2018-06-01 修回日期: 2018-08-08)